

マイトマイシン C 処理用培地を 10mL 調整する。

#### 6.2. 上皮用培地の調整

角膜輪部上皮細胞の培地調整に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-012-01) に基づき、上皮用培地を 10mL 調整する。

#### 6.3. デイスパーゼと上皮用培地の混合

ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-023-01) に準じて、上皮用培地 5mL と解凍したデイスパーゼ 1mL を混合し、0.22  $\mu$ m フィルターでろ過滅菌する。

#### 6.4. 各溶液の混合

MASC マイトマイシン C 処理用培地 5mL とデイスパーゼ含有上皮用培地 5mL を混合し、検体とする。検体の委託手順は安全性試験検体回収および検査委託に関する手順書(KVPC-QOPH01-004)に記載のとおり行う。

### 7. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

### 8. 関連する書類

製品標準書 KVPC-PMFOPH01、衛生管理基準書、安全性試験検体回収および検査委託に関する手順書(KVPC-QOPH01-004)、MASC マイトマイシン C 処理培地調整に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-013-01)、角膜輪部上皮細胞の培地調整に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-012-01)、ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-023-01)

---

角膜上皮シートの回収・包装・出荷に関する手順書

---

制定 2009 年 06 月 01 日

施行 2009 年 06 月 01 日

改定案策定 2012 年 03 月 01 日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室



## 目次

No. 内容

表紙、変更履歴

## 目次

1. 目的
2. 適応範囲
3. 責任体制
4. 遵守事項
5. 作業者の分担範囲
6. 使用するもの
7. 角膜上皮シート回収・包装・出荷工程の手順
8. 参考文献
9. SOP 逸脱時の対応
10. 関連する書類

付図 1:角膜上皮シート回収・包装工程作業フロー図

## 1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書に基づき、CPC 内での角膜上皮シート回収・包装・出荷工程の手順を定める。  
本手順書においては、CPC とは Keio Vector Processing Center (KVPC)を指す。

## 2. 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内で作業する従事者に本手順書を適用する。

## 3. 責任体制

品質マニュアルに定めるように、Project 責任者が製造部門責任者および品質部門責任者を監督し、製造部門責任者が指示記録書の発行、製造記録の作成、原材料の保管管理、出納、ならびにその記録に対して責任と権限を有し、品質管理者が試験結果判定の責任と権限を有する。

## 4. 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

## 5. 作業者の分担範囲

作業工程は、作業担当者と記録担当者の2人1組で行う。作業担当者と記録担当者は日によって担当を替えても良い。ただし、無菌性を担保するため、P2 ルーム1 入室していったん作業を開始した後は、P2 ルーム1 を退室するまで担当を変更してはならない。

作業担当者は、安全キャビネット内の作業を第一義的に行う。無菌性を担保するため、作業担当者は安全キャビネット起動時に浮遊菌検査を開始し、作業終了後に手指の付着菌検査を実施する。また、安全キャビネット外の物品および滅菌されていないものに触れた場合には、エタノールにより手指を消毒すること。

記録担当者は、指図記録書への記録、および安全キャビネット外に限った作業補助を行う。記録担当者は安全キャビネット内にいかなる部分も入れてはならない。

物品の準備、エタノール噴霧、滅菌不織布による清拭、ラベル添付は手指の汚染を招くため、安全キャビネット外で記録担当者が行う。

## 6. 使用するもの

本工程では角膜上皮シート製品標準書で定められたものを用いる。物品の詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-002-R01-03 に記載する。

## 7. 角膜上皮シートの回収・保存・出荷工程の手順

角膜上皮シートの回収・保存工程作業は、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-002-R01-03 に従って行う。なお包装用培地の作成は、移植 1 日前に上皮シート包装培地調整工程に関する指図記録書 KVPC-PMFOPH01-028-R01-03 にしたがって行う。

#### 6.1. 指示記録書、出荷判定書コピー、および納品書の保管

記録済みの指図記録書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、保管ファイルに 10 年間保管する。

## 7. 参考文献

旭テック株式会社 検体管理システムソフトウェア操作マニュアル

## 8. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

## 9. 関連する書類

衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書

-----  
Fibrin coat well 作成に関する手順書  
-----

制定 2009 年 06 月 01 日

施行 2009 年 06 月 01 日

改定案策定 2012 年 03 月 01 日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室



## 目次

No. 内容

表紙、変更履歴

## 目次

1. 目的
2. 適応範囲
3. 責任体制
4. 遵守事項
5. 作業者の分担範囲
6. 使用するもの
7. Fibrin coat well 作成工程の手順
8. 指図記録書の保管
9. SOP 逸脱時の対応
10. 関連する書類

## 1. 目的

品質マニュアル (KVPC-QM-01)、製造管理基準書 (KVPC-P-00)、衛生管理基準書 (KVPC-H-00) および角膜上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH-01) に基づき、原材料の分注および管理工程の手順を定める。

## 2. 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内で作業する従事者に本手順書を適用する。本手順書においては、CPC とは Keio Vector Processing Center (KVPC)を指す。

## 3. 責任体制

品質マニュアルに定めるように、Project 責任者が製造部門責任者および品質部門責任者を監督し、製造部門責任者が指示記録書の発行、製造記録の作成、原材料の保管管理、出納、ならびにその記録に対して責任と権限を有し、品質管理者が試験結果判定の責任と権限を有する。

## 4. 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

## 5. 作業者の分担範囲

作業工程は、作業担当者と記録担当者の 2 人 1 組で行う。作業担当者と記録担当者は日によって担当を替えても良い。ただし、無菌性を担保するため、P2 ルーム 1 入室していったん作業を開始した後は、P2 ルーム 1 を退室するまで担当を変更してはならない。

作業担当者は、安全キャビネット内の作業を第一義的に行う。無菌性を担保するため、作業担当者は安全キャビネット起動時に浮遊菌検査を開始し、作業終了後に手指の付着菌検査を実施する。また、安全キャビネット外の物品および滅菌されていないものに触れた場合には、エタノールにより手指を消毒すること。

記録担当者は、指図記録書への記録、および安全キャビネット外に限った作業補助を行う。記録担当者は安全キャビネット内にいかなる部分も入れてはならない。

物品の準備、エタノール噴霧、滅菌不織布による清拭、ラベル添付は手指の汚染を招くため、安全キャビネット外で記録担当者が行う。

## 6. 使用するもの

本工程では角膜上皮シート製品標準書で定められた以下のものを用い、本手順書で指定された手順に従ってこれらを使用する。物品の詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-004-R01 に記載する。

## 7. Fibrin coat well 作成工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-004-R01 に記載する

### 7.1. 居室での指図記録書印刷

7.1.1.本工程の指図記録書をクリーンルーム用印刷用紙に印刷後、オートクレーブ滅菌する。

### 7.2. 指図指示書、2次更衣、浮遊菌付着菌検査用培地、廃棄用オートクレーブバック、およびその他の必要品のサブライ室への持ち込み

7.2.1.エントランスで手指洗浄後、手袋を着用して上記必要品類をエタノール噴霧しながらパストボックスに入れる。物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

### 7.3. サブライ室への入室

7.3.1.1 次更衣に着替え、サブライ室に入室する。

### 7.4. ラベルの印刷

7.4.1.細胞保存室に移動し、必要となるラベルを、サノコード EX システムを用いて印刷する。

### 7.5. 必要品の持ち込み

7.5.1.必要品を物品の搬入搬出に関する手順書に従って P1 ルーム 1 に搬入する。

### 7.6. P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

7.6.1.安全キャビネットの UV ランプ を消灯し、照明及びブローのスイッチを入れる。

7.6.2.浮遊菌検査用培地を左右 2 箇所置き、培地のフタを空ける。

### 7.7. 希釈用溶液（塩化カルシウム含有生理食塩水）の調整

7.7.1.生理食塩水に塩化カルシウム溶液を添加し、1mM 塩化カルシウム・生理食塩水を調整する。

### 7.8. 希釈トロンビン溶液の調整

7.8.1.ボトル付属の調整キットを用い、粉末トロンビンを融解する（125 U/0.5 mL）

7.8.2.上記トロンビン液 50 uL を、希釈用溶液 4.1 mL に希釈する。

### 7.9. 希釈フィブリノゲン溶液の調整

7.9.1.ボトル付属の調整キットを用い、粉末フィブリノゲンを融解する（0.5 mL）

7.9.2.上記フィブリノゲン液を、希釈用溶液 6.2 mL に希釈する。

### 7.10. フィブリンゲルの作成

7.10.1. セルカルチャーインサートのフタを空ける

7.10.2. 1000μL ピペットを用いて、インサート x 1 に希釈トロンビン液を 100 uL 乗せる

7.10.3. 別の 1000μL ピペットを用いて、希釈フィブリン液 100 uL を希釈トロンビン液に加える。

7.10.4. セルスクレイパーを用いて手早く混合し、インサート面に塗布する

7.10.5. 以上の工程をインサートごとに繰り返す

### 7.11. フィブリンゲルの保存

7.11.1. エンパックで密閉し、冷蔵庫 FR03 に冷蔵保存する。

## 7.12. 退室

- 7.12.1. 作業担当者は左右手指及び安全キャビネット中央の付着菌検査を行ったのち、安全キャビネットの前面ガラスドアを閉めてフローを切り、安全キャビネットのUVランプを点灯する。
- 7.12.2. 記録担当者はゴミを回収した後、P2 ルーム 1 で体が触れた場所をエタノールおよび不織布で清拭し、無菌検査用の培地と共に退室する。
- 7.12.3. 作業担当者は P2 ルーム 1 の床をエタノールおよび不織布で清拭したのち、退室する。
- 7.12.4. 作業担当者はゴミをオートクレーブにかけた後、前室を退室する。

## 8. 指図記録書の保管

記録済みの指図記録書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、保管ファイルに10年間保管する。

## 9. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告する。

## 10. 関連する書類

品質マニュアル (KVPC-QM-01)、衛生管理基準書 (KVPC-H-00)、角膜上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH-01)、Fibrin coat well 作成工程指図記録書 (KVPC-PMFOPH01-004-01-R01)

---

MASC の培地調整に関する手順書

---

制定 2009 年 06 月 01 日

施行 2009 年 06 月 01 日

改定案策定 2012 年 03 月 01 日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室



## 目次

No. 内容

表紙、変更履歴

## 目次

1. 目的
2. 適応範囲
3. 責任体制
4. 遵守事項
5. 作業者の分担範囲
6. 使用するもの
7. MASC の培地調整工程の手順
8. 指図記録書の保管
9. SOP 逸脱時の対応
10. 関連する書類

## 1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書に基づき、CPC 内での MASC 培地調整工程の手順を定める。本手順書においては、CPC とは Keio Vector Processing Center (KVPC)を指す。

## 2. 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内で作業する従事者に本手順書を適用する。

## 3. 責任体制

品質マニュアルに定めるように、Project 責任者が製造部門責任者および品質部門責任者を監督し、製造部門責任者が指示記録書の発行、製造記録の作成、原材料の保管管理、出納、ならびにその記録に対して責任と権限を有し、品質管理者が試験結果判定の責任と権限を有する。

## 4. 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

## 5. 作業者の分担範囲

作業工程は、作業担当者と記録担当者の 2 人 1 組で行う。作業担当者と記録担当者は日によって担当を替えても良い。ただし、無菌性を担保するため、P2 ルーム 1 入室していったん作業を開始した後は、P2 ルーム 1 を退室するまで担当を変更してはならない。

作業担当者は、安全キャビネット内の作業を第一義的に行う。無菌性を担保するため、作業担当者は安全キャビネット起動時に浮遊菌検査を開始し、作業終了後に手指の付着菌検査を実施する。また、安全キャビネット外の物品および滅菌されていないものに触れた場合には、エタノールにより手指を消毒すること。

記録担当者は、指図記録書への記録、および安全キャビネット外に限った作業補助を行う。記録担当者は安全キャビネット内にいかなる部分も入れてはならない。

物品の準備、エタノール噴霧、滅菌不織布による清拭、ラベル添付は手指の汚染を招くため、安全キャビネット外で記録担当者が行う。

## 6. 使用するもの

MASC 凍結細胞からの培養開始工程では、角膜上皮シート製品標準書で定められた物品を用い、本手順書で指定された手順に従って使用する。物品の詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-011-R01 に記載する。

## 7. MASC 培地調整工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-011-R01 に記載する。本工程に連続して、MASC 凍結細胞から培養開始工程 (KVPC-PMFOPH01-021) を行う。

#### 7.1.作業概要指図記録書印刷

7.1.1.1. 本工程の指図記録書および MASC 凍結細胞から培養開始工程の指図記録書をクリーンルーム用印刷用紙に印刷後、オートクレーブ滅菌する。

#### 7.2. 指図指示書、2次更衣、浮遊菌付着菌検査用培地、廃棄用オートクレーブバッグ、およびその他の必要品のサブライ室への持ち込み

7.2.1. エントランスで手指洗浄後、手袋を着用して上記必要品類をエタノール噴霧しながらボックスに入れる。(KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

#### 7.3. サブライ室への入室

7.3.1.1 次更衣に着替え、サブライ室に入室する。

#### 7.4. ラベルの印刷

7.4.1. 細胞保存室に移動し、必要となるラベルを、サノコード EX システムを用いて印刷する。

#### 7.5. 必要品の持ち込み

7.5.1. 必要品を (KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従って P1 ルーム 1 に搬入する。

#### 7.6.P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

7.6.1.1. 安全キャビネットの UV ランプを消灯し、照明及びブローのスイッチを入れる。

7.6.1.2. 浮遊菌検査用培地を左右 2 箇所置き、培地のフタを空ける。

#### 7.7.MASC 培地調整

7.7.1.1. alpha-MEM 45 mL に対して抗生剤 500uL を添加する。

7.7.1.2. 上記に対して FBS 5 mL を添加する。

7.7.1.3. よくピペティング後、50mL 遠心管に 9mL を分注する (MASC 解凍用)。

#### 7.8.MASC 凍結細胞から培養開始工程

7.8.1.1. 本工程に引き続いて、MASC 凍結細胞から培養開始工程を行う。

### 8. 指図記録書の保管

8.1. 記録済みの指図記録書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、保管フォルダに 10 年間保管する。

### 9. SOP 逸脱時の対応

SOP 逸脱時の手続きに関する手順書に従い、逸脱報告書に必要な事項を記載し、品質管理者に報告す

る。

#### 10. 関連する書類

指図記録書 KVPC-PMFOPH01-011-R01、衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書

-----  
角膜輪部上皮細胞の培地調整に関する手順書  
-----

制定 2009 年 06 月 01 日

施行 2009 年 06 月 01 日

改定案策定 2012 年 03 月 01 日

承認	確認	作成
坪田一男 印	榛村重人 印	宮下英之 印

慶応義塾大学 医学部 眼科学教室

