

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. 角膜輪部上皮細胞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内での培養輪部上皮細胞の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

培養輪部上皮細胞の培地調整工程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-PMFOPH01-012-R01及びR02に記載する。

7. 角膜輪部上皮細胞の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-PMFOPH01-012-R01 及び R02 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、サコート 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、照明及びフ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. 角膜輪部上皮細胞の培地調整

7.7.1.指図記録書に従い、必要品を混合する。

7.7.2.よくピペティングした後、15mL チューブ 5 本に 9.5mL ずつ分注

7.7.3.ラベルをチューブおよび指図記録書に貼り付け

7.7.4.分注品を FR03 冷蔵庫へ保存。

7.8. 退室

7.8.1.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。

7.8.2.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。

7.8.3.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。

7.8.4.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。

6. 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。

7. 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、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-012-R01 及び R02

MASC マイトマイシ C 処理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 マイトマイソ C 処理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 マイトマイシ C 処理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 マイトマイシ C 処理用培地調整工程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-PMFOPH01-014-R01 及び R04（指図記録書 KVPC-PMFOPH01-013-R は-014-R に統合）に記載する。

7. MASC マイトマイシン C 処理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-PMFOPH01-014-R01 及び R04 に記載する。なお、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-013-R01 は-014-R01 及び R04 に統合した。

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. 必要品の持ち込み

7.2.1. 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。

7.3. P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

7.3.1. 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。

7.3.2. 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。

7.4. MMC 処理用培地調整

7.4.1. alpha-MEM 45 mL に対して抗生剤を添加する。

7.4.2. 上記に対して FBS 5 mL を添加する。

7.4.3. 上記を 15mL チューブ 3 本に 7mL ずつ分注する。

7.4.4. 上記のうち、1 本 (7mL) に対して MMC(400 μ g/mL) を 70 μ L 添加する。

7.4.5. 10mL ピペットでよくピペッティング。

7.5. MASC マイトマイシン C 処理工程

7.6. 引き続いて、MASC のマイトマイシン C 処理を行う。

7.7. 退室

7.7.1. 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ブローを切り、安全キャビネットの UV ランプを点灯する。

7.7.2. 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。

7.7.3. 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。

7.7.4. 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

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

MASC マイトマイシ C 処理に関する手順書 KVPC-PMFOPH01-014、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-013-R01 及び R04、衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書

MASC マイトマイン C 処理に関する手順書

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 マイトマイソ C 処理工程の手順
8. MASC 培地交換の手順
9. 指図記録書の保管
10. SOP 逸脱時の対応
11. 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 マイトマイシ C 処理工程の手順、及び MASC 培地交換の手順を定める。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 マイトマイシ C 処理工程および MASC 培地交換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-PMFOPH01-014-R01 から R04 に記載する。

7. MASC マイトマイシ C 処理工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-014-R01 及び R04 に記載する。

7.1. マイトマイシ C 処理工程の開始時期および開始条件

MASC マイトマイシ C 処理工程は、上皮培養開始 2 日前に行われる。なお付随して、MASC 播種 (KVPC-PMFOPH01-021) が上皮培養開始 8 日前、MASC 培地交換(本手順書に記載)が上皮培養開始 5 日前に行われる。

7.2. 居室での指図記録書印刷

7.2.1.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。

7.3. 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ラボライ室への持ち込み

7.3.1.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。物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

7.4. ラボライ室への入室

7.4.1.1 次更衣に着替え、ラボライ室に入室する。

7.5. ラベルの印刷

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

7.6. 必要品の持ち込み

7.6.1.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。

7.7. P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

7.7.1.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。

7.7.2.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。

7.8. MASC マイトマイシ C 処理用培地の調整

7.8.1.本手順に先立ち、MASC マイトマイシ C 処理用培地及び MASC 用培地を調整する。

7.9. MASC マイトマイシ C 処理

7.9.1.細胞密度が 5×10^6 以上である事を目視確認し、安全キャビネット内へ持ち込む。

7.9.2.当該 MASC が MASC 細胞品質確認工程 (KVPC-HOPH01-003) で指定された微生物検査に供する細胞である場合、培養上清を 15ml 遠心管に回収する。そうでない場合、培養上清を取り除く。

7.9.3.MASC マイトマイシ C 処理用培地を各 well, 2ml ずつ分注する。

7.9.4.各 well を炭酸ガス培養器に移し、37℃、2 時間培養する。開始時刻を記録する。

7.9.5.当該 MASC が微生物検査に供する細胞である場合、

7.9.5.1. 15ml 遠心管内の培養上清をよく混合した後、3.5ml チューブに 3 ml x 1, 2 ml x 1, 1.5 ml x 1, 1 ml x 2, 0.5ml x 1、となるよう分注する。

7.9.5.2. 各チューブにラベルを貼る。

7.9.5.3. 冷蔵庫で保存する

7.9.6.作業員は入退出に関する基準書に従って KVPC 居室に移動する。

7.9.7.作業員は処理終了 15 分前に KVPC 居室より入室を開始し、処理終了前には P2 ルーム 1 に入室する。

7.9.8.炭酸ガス培養器からマイトマイシン C 処理中の各 well を取り出し、安全キャビネット内へ持ち込む。

7.9.9.培地を取り除き、各 well に 2ml ずつ(KVPC-PMFOPH01-012)角膜輪部上皮細胞培養の培地調整に関する手順書に従って作成した培地を分注する。時刻をマイトマイシン C 処理終了時刻として記録する。

7.9.10. 培地を取り除き、各 well に 2ml ずつ上皮用培地を加える(洗浄 2 回目)。

7.9.11. 培地を取り除き、各 well に 2ml ずつ上皮用培地を加える(洗浄 3 回目)。

7.9.12. 培地を取り除き、(KVPC-PMFOPH01-012)角膜輪部上皮細胞培養の培地調整に関する手順書に従って作成した培地を各 well に 2ml ずつ分注する。

7.10. 退室

7.10.1. 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。

7.10.2. 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。

7.10.3. 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。

7.10.4. 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. MASC 培地交換の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-014-R02 及び R03 に記載する。

8.1. 居室での指図記録書印刷

8.1.1.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。

8.2. 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プライ室への持ち込み

8.2.1.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ポックスに

入れる。物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

8.3. サプライ室への入室

8.3.1.1 次更衣に着替え、サプライ室に入室する。

8.4. ラベルの印刷

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

8.5. 必要品の持ち込み

8.5.1.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。

8.6. P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

8.6.1.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。

8.6.2.浮遊菌検査用培地を左右 2 箇所に置き、培地のフタを空ける。

8.7. 培養中の MASC から 5mL ピペットを用いて培養上清を取り除く。

8.8. 上記 MASC に MASC 用培地を 2mL ずつ添加する。

8.9. 炭酸ガス培養器に戻す

8.10. 退室

8.10.1. 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ブローを切り、安全キャビネットの UV ランプを点灯する。

8.10.2. 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。

8.10.3. 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。

8.10.4. 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。

9. 指図記録書の保管

9.1. 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、保管ファイルに 10 年間保管する

10. 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。

11. 関連する書類

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、指図記録書 KVPC-PMFOPH01-013-R01 から R04、衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書

炭酸ガス培養器への保湿用水用意に関する手順書

制定案策定 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. 日程
8. 手順
9. SOP 逸脱時の対応
10. 関連する書類