

- ② 上記トロンビノ液 50 uL を、希釈用溶液 4.1 mL に希釈する。
- ・ 希釈フィブリノゲン溶液の調整
  - ① ホルヒー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)
  - 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。
- ・ フィブリノゲルの作成
  - ① セルカルチャーインサートのフタを空ける
  - ② 1000 $\mu$ L ピペットを用いて、インサート x 1 に希釈トロンビノ液を 100 uL 乗せる
  - ③ 別の 1000 $\mu$ L ピペットを用いて、希釈フィブリノ液 100 uL を希釈トロンビノ液に加える。
  - 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
  - ⑤ 以上の工程をインサートごとに繰り返す
- ・ フィブリノゲルの保存
  - ① エンパックで密閉し、冷蔵庫 FR03 に冷蔵保存する。
- ・ 退室
  - 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。
  - 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。
  - 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。
  - 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)

## ⑤作業手順書

### KVPC-PMFOPH01-005：ドナー角膜輪部組織の品質確認手続きに関する手順書

#### 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. ドナー角膜輪部組織の品質確認手順
  - ⑦ ドナー角膜のドナースクリーニング情報確認手段
  - ⑧ ドナー角膜の微生物検査試験手順
  - ⑨ ドナー角膜の細胞数および生存率測定手順
6. 品質検査書の保管
7. SOP 逸脱時の対応
8. 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、ドナー角膜輪部組織の品質を確認するための手続きに関する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 内外で角膜上皮シート作成に従事する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. ドナー角膜輪部組織の品質確認手順

ドナー角膜輪部組織の品質を確認するための手続きに関する工程作業は、付図 1:ドナー角膜輪部組織の品質確認手続きに関する工程作業フロー図のとおり行う。

・ ドナー角膜のドナースクリーニング情報確認手順

ドナースクリーニング情報を慶應義塾大学眼球銀行のドナー選択基準に順じて確認し、以下の項目に当たるときはドナー角膜の使用を禁忌とする。なお死因が悪性腫瘍であるドナーに関しては、以下の項目に該当しない場合でもなるべく使用を避ける。ウエストナイルウイルスに関しては、以下の項目 5.1.3 及び 5.1.5 に包括される。ドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 に結果を記録する。

- ① 原因不明の死
- ② 原因不明の中樞神経系疾患
- ③ 活動性ウイルス脳炎および、原因不明の脳炎、進行性脳症
- ④ 亜急性硬化性全脳炎、進行性多巣性白質脳炎等の遅発性ウイルス感染症
- ⑤ 細菌、真菌、ウイルス性全身性活動性感染症
- ⑥ HIV 抗体、HTLV-1 抗体、HBs 抗原、HCV 抗体が陽性
- ⑦ Creutzfeldt-Jakob 病およびその疑い
- ⑧ 白血病
- ⑨ 悪性リンパ腫 (Hodgkin 病、非 Hodgkin リンパ腫)
- ⑩ Reye 症候群
- ⑪ 眼内悪性腫瘍

・ ドナー角膜の微生物検査試験手順

① 検体

検体にはドナー角膜保存液を用いる。

② 検体採取手順

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指図指示書 KVPC-PMFOPH01-023-R1 に従い検体を採取する。

③ 検体委託手順

微生物検査委託手続きに記載のとおり検体を委託する。

④ 微生物検査合格基準

微生物検査合格基準は、細菌検査 (好気性、嫌気性、真菌、マイコプラズマ) 陰性、ウイルス検査 (HCV, HBV, HIV-1, HTLV-1 プロウイルス, パルボウイルス) 陰性、エンドトキシン 25EU/ml 以下とする。結果はドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 に記録する。

・ ドナー角膜の細胞数および生存率測定手順

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 及び指図指示書 KVPC-PMFOPH01-023-R1 に従い、角膜上皮細胞分離時の生細胞数および死細胞数を色素排除法によって計測し、同指図指示書 KVPC-PMFOPH01-023-R1 及びドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 に記録する。この際、生存率 50%以上のものを適正として使用する。

#### 6. 品質検査書の保管

全ての項目を記録したドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01 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、コピーを一部作成し、原本を KVPC が、コピーを慶應義塾大学眼科学教室が 10 年間保管する。

#### 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

衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書、ドナー角膜品質確認試験成績書 KVPC-PMFOPH01-005-R01-02、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 及び指図記録書 KVPC-PMFOPH01-023-R1

## ⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-006 : MASC 細胞の品質確認手続きに関する手順書

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. MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程の手順
  - ⑩ 品質確認手続き
  - ⑪ MASC 細胞のトナースクリーニング<sup>g</sup>情報の確認
  - ⑫ MASC 細胞の微生物検査手続き
    - ① 微生物検査の対象
    - ② 微生物検査の内容
    - ③ 微生物検査検体採取法
    - ④ 微生物検査検体委託手続き
  - ⑬ MASC 細胞の生存率確認手続き
  - ⑭ MASC 細胞の細胞密度確認手続き
6. 品質確認書の保管
7. SOP 逸脱時の対応
8. 関連する書類

### ④ 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書・製品標準書に基づき、MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程の手順を定める。

### ⑤ 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内外で角膜上皮シート作成に従事する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。

### ⑥ 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。

⑦ 遵守事項

品質マニュアル・衛生管理基準書を遵守する。

⑧ MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程の手順

MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程作業は、付図 1 の MASC 細胞の品質を確認するための手続きに関する工程作業フロー図に従う。

・ 品質確認手続き

MASC 品質検査書をクリーンルーム用印刷用紙に印刷し、原本を KVPC 居室に保管する。以下の品質確認項目のデータが取れるごとにデータ内容、データ採取日、データ記入日、添付書番号を記入する。

・ MASC 細胞のトナスクリーニング情報の確認

MASC 細胞に添付されるトナスクリーニング情報にて、微生物検査について許容値以下であることを確認し、MASC 品質検査書に記録する。

・ MASC 細胞の微生物検査手続き

① 微生物検査の対象

MASC 細胞が初めて使用するロットの場合、あるいは検査済みロットであっても 20 本毎に、安全性を確認するために微生物検査を行う。

② 日程：MASC 細胞培養 2 日目、MASC マイトマイン C 処理時に検体を採取する。

③ 微生物検査の内容：MASC 細胞培養上清を検体とし、細菌検査（好気性、嫌気性、真菌、マイコプラズマ）、エンドトキシン検査、ウイルス検査（HCV,HBV,HIV-1, HTLV-1 プロウイルス, パルボウイルス）を行う。

④ 微生物検査の適否判定基準：細菌検査（好気性、嫌気性、真菌、マイコプラズマ）陰性、ウイルス検査(HCV,HBV,HIV-1, HTLV-1 プロウイルス,パルボウイルス)陰性、エンドトキシン 25EU/ml 以下とする。

⑤ 微生物検査の手続き：MASC マイトマイン C 処理に関する手順書

(KVPC-PMFOPH01-014)に掲げる手順で検体 12ml を採取し、うち 8.5ml を微生物検査委託手続きに関する手順書（KVPC-PMFOPH01-008）に掲げる手順で検査委託し、残り 3.5ml を再検査用に細胞保存室-150℃超低温フリーザー FR05 で凍結保存する。

・ MASC 細胞の生存率測定手続き

MASC 凍結細胞からの細胞培養開始工程 (KVPC-PMFOPH01-021) に従い、MASC 細胞凍結融解時の生細胞数および死細胞数を色素排除法によって計測し、記録する。この際、生存率 50% 以上のものを適正として使用する。

・ MASC 細胞の細胞密度確認手続き

MASC マイトマイシ C 処理に関する手順書 (KVPC-PMFOPH01-014) に従い、顕微鏡観察において細胞密度がセミコンフルエント以上のものを適正としてマイトマイシ C 処理する。また、セミコンフルエントに達した日時を記録する。

⑨ 品質検査書の保管

全ての項目を記録した品質検査書は、製造工程責任者が承認し、品質管理責任者が確認した後、コピーを一部作成し、原本を KVPC が、コピーを慶應義塾大学眼科学教室が 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

品質マニュアル、衛生管理基準書、上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH01)

## ⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-007：角膜上皮シート回収・包装・出荷に関する手順書

### 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

#### 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、移植当日に指図記録書 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

旭テクニオン株式会社 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

## ⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-008：安全性試験検体回収および検査委託に関する手順書

### 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. 委託先
6. 委託検査内容
7. 検体内訳
8. 委託手順
9. 再検査手順
10. 試験結果受け取り手順
11. SOP 逸脱時の対応
12. 関連する書類

#### 1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書・製品標準書に基づき微生物検査委託に関する手順を定める。

#### 2. 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内外で角膜上皮シート作成に従事する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. 委託先

利便性をかんがみ、委託先は株式会社エスアールエル（以下 SRL）とする。1年ごとに委託先の見直しを行う。

## 6. 委託検査内容

角膜上皮シート製品標準書 (KVPC-PMFOPH01) に基づき、委託検査内容は 6.1.表のとおりとする。検体フロー図は付図 1 のとおりとする。

### 6.1. 表 微生物検査委託内容

検査名	SRL 項目コード	項目名	検体	検体量	保存
細菌検査	5335N	好気性菌	角膜保存液または細胞培養	3 ml	凍結
		嫌気性菌			
		真菌			
		マイコプラズマ			
	6595	エンドトキシン	上清	0.5mlx1	冷蔵
ウイルス検査	B724	HCV (リアルタイム PCR)		1.5mlx2	凍結
	B723	HBV (リアルタイム PCR)			
	2737	HIV-1RNA 定量 (高感度法)			
	5831	HTLV-1(ATLV)プロウイルス DNA パルボウイルス (B19)			

## 7. 検体内訳

7.1. 検体はドナー角膜組織を保存した保存液、上皮細胞培養上清、および MASC 品質確認手順書(KVPC-PMFOPH01-005)で指定した MASC 細胞の培養上清、および原材料混合物とする。上清を使用する理由は、検体は液体を用いなければならない、組織および細胞の場合はそれを浸漬した液を検体として供することになり、角膜保存液および培養上清を検体に用いたほうがより多くの微生物を保持していることが期待されるため。

7.2. 検体採取時期は、上皮の場合は上皮培養開始 0 日目、1 週目、2 週目、MASC の場合は培養 2 日目以降とする。上皮培養開始 0 日目の検体はドナー角膜保存液を用い、それ以降では培養上清を用いる。

## 8. 委託手順

検体採取、委託手順を以下に示す。このうち検体採取手順 (8.1.~8.6.) までは検体採取を行う各工程、MASC マイトマイシン処理手順書 KVPC-PMFOPH01-014、ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程手順書 KVPC-PMFOPH01-023、マイトマイシン C 処理 MASC 交換手順書 KVPC-PMFOPH01-025、角膜上皮シート回収・包装・出荷に関する手順書 KVPC-PMFOPH01-007 に記載する。

- 8.1. CPC、P2 ルーム 1、安全キャビネット中で、検体 14 ml を 15 ml 遠心管に回収し、工程の区切りがつくまで冷蔵冷凍庫 FR03 冷蔵庫中で保存する。
- 8.2. 検体を 3.6 ml チューブ x5 本に、検体 3 ml x 1 本、1 ml x2 本、0.5 ml x2 本となるよう分注する。内訳は、細菌および真菌用に 3ml x 1 本、ウイルス検査用に 1 ml x 2 本、エンドトキシン検査用に 0.5 ml x 1 本、保存用に 0.5ml x 1 本。
- 8.3. 検体をラベルし、工程が終了するまで FR03 冷蔵庫で保存する。
- 8.4. 検体を遮光容器に入れ、慶應義塾大学眼科研究室へ検体を出庫、凍結品は凍結する。
- 8.5. 凍結検体を慶應義塾大学病院内 SRL 担当窓口へ輸送し、委託手続きを行う
- 8.6. 受領書を保存する。

## 9. 再検査手順

再検査が必要となった場合、以下の手順で委託を行う。

- 9.1. 凍結検体を慶應義塾大学病院内株式会社エスアールエル担当窓口へ輸送し、委託手続きを行う
- 9.2. 受領書を保存する。

## 10. 試験結果受け取り手順

- 10.1. 検査 1 週目に FAX で、1 週目までに判定した試験成績表を受け取る。
- 10.2. 検査 2 週目に最終的な試験成績表を受け取る。

## 11. 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。

## 12. 関連する書類

製品標準書 KVPC-PMFOPH01、衛生管理基準書、廃棄物の手順書、手洗いに関する手順書、角膜上皮シート及びドナー角膜輪部組織の品質確認手順書 KVPC-PMFOPH01-007、MASC 細胞品質確認手順書 KVPC-PMFOPH01-006、MASC マイトマイシン処理手順書 KVPC-PMFOPH01-014、ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程手順書 KVPC-PMFOPH01-023、マイトマイシン C 処理 MASC 交換手順書 KVPC-PMFOPH01-025、角膜上皮シート回収・包装・出荷に関する手順書

## ⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-009：ロット構成に関する手順書

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. ロット構成
  - 5.1. ロット
  - 5.2. ロット番号
  - 5.3. 上皮シートへの付番
  - 5.4. 検体への付番
  - 5.5. 原材料への付番
  - 5.6. 電子ファイル記録への付番
6. SOP 逸脱時の対応
7. 関連する書類

### 1. 目的

製品の取り違えなどの事故を避け、また効率的にカプセルを管理するため、製品に固有のロット番号を付番する。その付番方法の手順を記述する。

### 2. 適応範囲

眼科学教室がCPC内で作成する製品全て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. ロット構成

- 5.1. ロット：本プロジェクト KVPC-OPH-01 では、1 個の角膜輪部組織から 2~3 枚の上皮シートを作成し、うち 1 枚を破壊検査に用い、残りを 1 人の研究被験者に使用する。これを 1 ロットとする。
- 5.2. ロット番号：培地充填試験（ドライラン）を DR1、角膜上皮シートを LE ののちに番号を付番する。ウェットラン 1 回目は LE0 と付番し、以後 LE1、LE2 と付番する。詳細は表 5.2.1. のとおり。なお、MASC に関しては MASC の品質確認手続きに関する手順書（KVPC-PMFOPH-006）を参照のこと。

	ロット番号	原意	注
培地充填試験	DR1	Dry-Run #1	ドライラン
角膜上皮シート	LE0	corneal Limbal Epithelial sheet #0	ウェットラン
	LE1	corneal Limbal Epithelial sheet #1	
	LE2	corneal Limbal Epithelial sheet #2	
	LE3	corneal Limbal Epithelial sheet #3	
	LE4	corneal Limbal Epithelial sheet #4	
	LE5	corneal Limbal Epithelial sheet #5	
	LE6	corneal Limbal Epithelial sheet #6	
	LE7	corneal Limbal Epithelial sheet #7	

表 5.2.1 ロット番号対応表

- 5.3. 上皮シートへの付番：1 ロット中の上皮シート 2 枚を区別する必要がある場合、ロット番号に 6 ウェットプレートの場合番号を付番する。LE12(LE#1 の上皮シート 2) など
- 5.4. 検体への付番：
- 5.4.1. 微生物検査用検体には、上皮シートのロット番号に検体を示す S を続ける。また、採取日の日付を付番する。なお、日付はサコート EX システムでラベル作成時に自動的に印字される。20090101 LE4S-001 など。
- 5.4.2. 確認検査陽性対照用中央部角膜には、角膜中央を示す CC に、角膜上皮シートと同じ番号を付番する。LE2 に用いる陽性対照なら、CC1 など
- 5.5. 原材料への付番：原材料には略号と日付を付番する。日付はサコート EX システムでラベル作成時に自動的に印字される。略号は原材料の分注及び管理工程手順書（KVPC-PMFPOH01-001）に記載のとおり。
- 5.6. 電子ファイル記録への付番：電子記録ファイルのうち、デジタルカメラ等自動的に付番されるものに関してはそのファイル名を可能な限り変更しない。ただし、自動生成されるファイル名は、そのカメラを使用開始時からの通し番号など、同じ番号が現れないものが望ましい。

## 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

製品標準書 KVPC-PMFOPH01

## ⑤作業手順書

### KVPC-PMFOPH01-010：落下菌および付着菌試験に関する手順書

#### 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. 落下菌試験手順
6. 付着菌試験手順
7. SOP 逸脱時の対応
8. 関連する書類

#### 1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書・製品標準書に基づき落下菌および付着菌試験に関する手順を定める。

#### 2. 適応範囲

品質マニュアル・衛生管理基準書に従って、CPC 内で角膜上皮シート作成に従事する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. 落下菌検査手順

##### 5.1. 使用検査キット

落下菌測定には CASO AGAR (105458TP1049, ムク) を用いる。

##### 5.2. 測定条件

安全キャビネット BSC01 を用いる全作業工程に渡って、BSC01 の右手 1 箇所、左手 1 箇所に開封した CASO AGAR を培地が上になるように静置する。



### 5.3. 測定手順

- 5.3.1. CASO AGAR x2 枚にラベルを貼り付ける。
- 5.3.2. 当日初めて安全キャビネット BSC01 を用いる際に、ラベルした CASO AGAR を培地が上になる様に、1 個を右手側、もう 1 個を左手側に置き、フタをあける。
- 5.3.3. 指図記録書に記録する。
- 5.3.4. 作業終了後に CASO AGAR のフタを閉める。
- 5.3.5. UV を照射しないよう KVPC から持ち出す。
- 5.3.6. 慶應義塾大学眼科研究室にて 34℃で培養する。
- 5.3.7. 培養 4 日目以上、7 日目以内に目視にてコロニー数を確認し、試験成績書に記録する。  
またデジタルカメラにて写真を撮影し、電子データを保存する。
- 5.3.8. コロニーが 1 個以上認められた場合は逸脱として処理し、品質責任者及び Project 責任者に報告する。

## 6. 付着菌検査手順

### 6.1. 使用検査キット

付着菌測定にはペタンチェック 25 (PT8025,栄研器材) を用いる。

### 6.2. 測定条件

安全キャビネット BSC01 を用いる全ての工程が終了した後に、作業者の右手、左手、および安全キャビネットの中央の付着菌を測定する。

### 6.3. 測定手順

- 6.3.1. ラベルをペタンチェック x 3 枚に貼り付ける。
- 6.3.2. 安全キャビネット BSC01 を用いる全ての工程が終了し、かつ落下菌用のペタンチェックのフタを閉めた後に、右手および左手をそれぞれ別のペタンチェックに押し付け、押し付けた後にフタをする。5 指全てを押し付けること。
- 6.3.3. 安全キャビネットの中央部にペタンチェックを押し付け、押し付けた後にフタをする。
- 6.3.4. ペタンチェックの残液を消毒用エタノールを浸した不織布ワイパーで拭い去る。
- 6.3.5. 指図記録書に記録する。
- 6.3.6. UV を照射しないよう KVPC から持ち出す。
- 6.3.7. 慶應義塾大学眼科研究室にて 34℃で培養する。
- 6.3.8. 培養 4 日目以上、7 日目以内に目視にてコロニー数を確認し、試験成績書に記録する。  
またデジタルカメラにて写真を撮影し、電子データを保存する。
- 6.3.9. コロニーが 1 個以上認められた場合は逸脱として処理し、品質責任者及び Project 責任者に報告する。

## 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、試験成績書 KVPC-PMFOPH01-010-R01

## ⑤作業手順書

### KVPC-PMFOPH01-011 : MASC 培地調整手順書

#### 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。

- ・ 作業概要指図記録書印刷
  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。
- ・ 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
  - 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バスケットに入れる。(KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。
- ・ サブライ室への入室
  - ① 1 次更衣に着替え、サブライ室に入室する。
- ・ ラベルの印刷
  - ① 細胞保存室に移動し、必要となるラベルを、サノコート EX システムを用いて印刷する。
- ・ 必要品の持ち込み
  - 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。
- ・ P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ
  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。
  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。
- ・ MASC 培地調整
  1. alpha-MEM 45 mL に対して抗生剤 500uL を添加する。
  2. 上記に対して FBS 5 mL を添加する。