

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

・ MASC凍結細胞から培養開始工程

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

・ 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

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

⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-012：角膜輪部上皮細胞の培地調整に関する手順書

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。

- ・ 居室での指図記録書印刷
 - 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。
- ・ 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。
- ・ 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、サポート 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。
- ・ 角膜輪部上皮細胞の培地調整

- ① F12/DMEM (ラベル FD-S) 45 mL に EGF (ラベル EGFW) 5 μ L を添加
- ② インスリン・ワーキング溶液 (INSW) 25 μ L を添加
- ③ T3・ワーキング溶液 (T3-W) 50 μ L を添加
- ④ ハイポコルチゾン・ワーキング溶液 (CORW) 50 μ L を添加
- ⑤ イソプロピルアルコール液 (ISOP) 62.5 μ L を添加
- ⑥ アプロチニン・ワーキング溶液 (APRW) 50 μ L を添加
- ⑦ 抗菌剤ミックス・ワーキング液 (AB-W) 500 μ L を添加
- ⑧ FCS・ワーキング液 (ラベル FCSW) 6mL をよくピペッティングし、そこから 2mL を取って上記混合液に混合
- ⑨ よくピペッティングした後、15mL チューブ 5 本に 9.5mL ずつ分注
- ⑩ ラベルをチューブおよび指図記録書に貼り付け
- ⑪ 分注品を FR03 冷蔵庫へ保存。

・ 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。

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

⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-013 : MASC マイトマイシン C 処理の培地調整に関する手順書

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 マイトマイシン 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 マイトマイシン 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 マイトマイシン 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。

- ・ 居室での指図記録書印刷
 - 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。
- ・ 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。
- ・ MMC 処理用培地調整
 - 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。
 - ③ 上記を 15mL チューブ 3 本に 7mL ずつ分注する。
 - ④ 上記のうち、1 本 (7mL) に対して MMC を 28 uL 添加する。
 - ⑤ 10mL ピペットでよくピペッティング。
- ・ MASC マイトマイシン C 処理工程
- ・ 引き続いて、MASC のマイトマイシン C 処理を行う。
- ・ 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。

- 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

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

⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-014 : MASC マイトマイシン処理に関する手順書

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. MASC マイトマイシン 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 マイトマイシン 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 マイトマイシン 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 マイトマイシン 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。

・ マイトマイシン C 処理工程の開始時期および開始条件

MASC マイトマイシン C 処理工程は、移植 16 日前 (MASC-cultured plate #1: MCP1) 及び移植 9 日前 (MCP2) に行う。また付随して、MASC (MCP2) の培地交換を移植 16 日前、移植 14 日前、及び移植 11 日前に行う。

・ 居室での指図記録書印刷

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パストボックスに入れる。(KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

・ 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、照明及びグ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 マイトマイシン C 処理用培地の調整
 - ① 本手順に先立ち、MASC マイトマイシン C 処理用培地及び MASC 用培地を調整する。
- ・ MASC マイトマイシン C 処理
 - ① 細胞密度が 5×10^6 以上であることを目視確認し、安全キャビネット内へ持ち込む。
 - ② 当該 MASC が MASC 細胞品質確認工程 (KVPC-PMFOPH01-006) 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。
 - ③ MASC マイトマイシン C 処理用培地を各 well, 2ml ずつ分注する。
 - ④ 各 well を炭酸ガス培養器に移し、37°C、2 時間培養する。開始時刻を記録する。
 - ⑤ 当該 MASC が微生物検査に供する細胞である場合、
 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 x1, 1.5 ml x1, 1 ml x2, 0.5ml x 1、となるよう分注する。
 2. 各チューブにラベルを貼る。
 3. 冷蔵庫で保存する
 - 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 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。
 - 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。
 - 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。
 - 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)。
 - 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)。
 - 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。
- ・ 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グローを切り、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. 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。

- ・ 居室での指図記録書印刷
 - 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。
- ・ 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パスポックスに入れる。(KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。
- ・ 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 箇所に置き、培地のフタを空ける。
- ・ 培養中の MASC (MASC cultured plate #2: MCP2) から 5mL ピペットを用いて培養上清を取り除く。
- ・ 上記 MASC に MASC 用培地を 2mL ずつ添加する。
- ・ 炭酸ガス培養器に戻す
- ・ 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ブローを切り、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。

9. 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

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。

1 1 . 関連する書類

MASC マイトマイン 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

⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-015：ドライランに関する手順書

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. 手順
 - 5.1. 使用する原材料及び消耗品
 - 5.2. 使用する機器
 - 5.3. 評価基準
 - 5.4. 不合格時の処置
 - 5.5. データ管理
 - 5.6. ドライラン試験方法
 - 5.7. 評価方法
6. SOP 逸脱時の対応
7. 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浮遊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. 手順

5.1. 使用する原材料及び消耗品

原材料： α MEM, FCS,

消耗品：5ml ビュレット、10ml ビュレット、50ml コナルチューブ、6 ウェルプレート

5.2. 使用機器

安全キャビネット BSC01、炭酸ガス培養器 MC01、サンコート EX システム EX01、倒立顕微鏡 MS01

5.3. 評価基準

検体汚染試験(培地充填試験)の局方の規格では 95%信頼限界の汚染率 0.05%以下が合格基準であるが、本手順ではサンプル数が少ないため、汚染率 0%を合格基準とする。

環境基準の規格は局方にに基づき、

微粒子： グレード A (安全キャビネット) 作業中にクラス 100 以下、

グレード B (細胞調整室) 作業中にクラス 10,000 以下、

付着菌： グレード A (安全キャビネット) 検出せず、
(手指 5 本) 検出せず、

浮遊菌： グレード A (安全キャビネット) 検出せず、
を合格基準とする。

5.4. 不合格時の処置

合否判定が不合格の場合、以下の処置を行う。

1. 汚染原因の特定を行い、解消する。
2. 更衣手順、無菌操作の教育訓練を再度行う。

汚染原因の特定が困難なときは、以下の処置を行い汚染源の解消に努める。

1. 培地調整方法の見直し
2. 滅菌方法の見直し
3. 原材料の見直し
4. 環境の再洗浄
5. 使用機器の再洗浄

以上の処置を行った後、再度ドライランを行う。これを合格するまで行う。

5.5. データ管理

試験報告書には以下の事項を記載する

1. 試験実施日時
2. 試験を行った調整室、グレード A 機器

3. 容器、栓の種類とサイズ
4. 培地充填容量
5. 充填方法
6. 充填容器数
7. 陽性容器数
8. 培養温度と培養期間
9. ドライイン試験参加者リスト
10. 陽性容器から検出された微生物の性状試験結果
11. 総合評価

6. ドライイン試験方法

- 6.1. ステップに必要な試薬、培地、消耗品等を用意する。目視で消耗品類の無菌包装を確認しておく。これらの必要品は搬入手順に従い搬入する。
- 6.2. 作業員は更衣基準、入室手順に従い P2 ルーム 1 に入室し、作業を行う。
- 6.3. 作業前にサユート EX システムにて落下菌、付着菌検査用ラベルを発行し、使用前に検査用シャーレに貼り付けておく。
- 6.4. 安全キャビネットにおける作業前には、落下菌・付着菌検査基準に従い安全キャビネット内で落下菌テスト用のシャーレ 2 個のフタを空け、左右に配置しておく。
- 6.5. 安全キャビネットにおける作業後には、作業者の左右手指および安全キャビネットの付着菌を採取後、落下菌テスト用のシャーレのふたを閉めて回収する。
- 6.6. 安全キャビネット内での作業
 - 6.6.1. ドライイン開始時
 - 6.6.1.1. α MEM、18ml と FCS、2ml を混合する。
 - 6.6.1.2. 6 ウェルプレートに各ウェル 2ml ずつ計 12ml 分注する。
 - 6.6.2. ドライイン中

2 日に 1 回培地を交換し、培地は検体として密閉したまま 37 度で 2 週間培養する。

- 6.6.2.1. α MEM、18ml と FCS、2ml を混合する。
- 6.6.2.2. 6 ウェルプレートを目視および顕微鏡で観察し、細菌の混入がないことを確認する。
- 6.6.2.3. 6 ウェルプレートから培地を全量、50ml エコカルチューブに回収する。
- 6.6.2.4. 50ml エコカルチューブにラベルを貼る。
- 6.6.2.5. プレートに各ウェル 2ml ずつ計 12ml 分注する。
- 6.6.2.6. 検体は 37 度で 2 週間の培養後、細菌および真菌の混入がないことを確認する。

7. 評価方法

各検体ごとに 37 度で 2 週間培養し、少なくとも 3~7 日に 1 回と培養最終日の計 2 回以上、菌の発育の有無を確認する。

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

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-PMFOPH01-016：製品用原材料の安全性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. 手順
 - 5.1. 使用する原材料及び消耗品
 - 5.2. 使用する機器
 - 5.3. 評価基準
 - 5.4. 不合格時の処置
 - 5.5. データ管理
 - 5.6. ドライイン試験方法
 - 5.7. 評価方法
6. SOP 逸脱時の対応
7. 関連する書類

1. 目的

品質マニュアル・製品標準書に基づき製品用原材料の安全性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. 微生物検査内容

微生物検査内容および委託先は、微生物検査委託手続きに関する手順書(KVPC-PMFOPH01-008)に記載のとおり行う。

6. 製品用原材料安全性試験手順

まず各工程で用いる製品用原材料を作成し、次にこれを混合して製品用原材料安全性試験検体を作成する。ここから微生物検査委託手続きに関する手順書(KVPC-PMFOPH01-008)に記載のとおり検体を採取、依頼する。なお、MASC用培地にマイトマイシンCを加えたのがMASCマイトマイシンC処理用培地であるため、MASC用培地の検査はMASCマイトマイシンC処理用培地で兼ねる。同様に、デイスパ[®]セ[®]処理液は上皮用培地からEGF、インスリン、FCSを除き、デイスパ[®]セ[®]を加えたもの、上皮包装用培地は上皮用培地からFCSを除いたものであるため、上皮用培地にデイスパ[®]セ[®]を加えたものでこれらの検査を兼ねる。そこで、MASCマイトマイシンC処理用培地、デイスパ[®]セ[®]、上皮用培地を混合し、原材料安全性試験検体とする。合格しなかった場合、それぞれの培地について安全性試験を行う。

6.1. MASCマイトマイシンC処理用培地の調整

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)に基づき、MASC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[®]セ[®]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[®]セ[®]1mLを混合し、0.22 μ 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[®]セ[®]含有上皮用培地5mLを混合し、検体とする。検体の委託手順は微生物検査委託手続きに関する手順書(KVPC-PMFOPH01-008)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、微生物検査委託手続きに関する手順書
(KVPC-PMFOPH01-008)、MASC マイトマイン 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)

⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-021：MASC 凍結細胞から培養開始工程に関する手順書

(注：KVPC-PMFOPH01-017 から-020、-022、-26、-027 は欠番)

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 凍結細胞から培養開始工程の開始時期
8. MASC 凍結細胞から培養開始工程の手順
9. 指図指示書の保管
10. 参考文献
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・衛生管理基準書に基づき、CPC 内での MASC 凍結細胞からの培養開始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