

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-PMFOPH01-021-R01に記載する。

## 7. MASC凍結細胞から培養開始工程の開始時期

- ・ MASC凍結細胞から培養開始工程は、移植20日前に行う。2個の培養プレートに播種密度を変えてMASCを播種し、それぞれ角膜輪部上皮細胞培養開始用のフィード細胞(MASC-cultured plate #1: MCP1)及び培養7日目の交換用のフィード細胞(MCP2)とする。

## 8. MASC凍結細胞から培養開始工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書KVPC-PMFOPH01-021-R01に記載する。解凍するMASC保存チューブがMASC細胞の品質確認工程(KVPC-PMFOPH01-006)で指定されたMASCである場合、すなわち供給元から納入後の解凍1本目、あるいは以後20本ごと目にあたる場合、マイトマイシ C 処理時(KVPC-PMFOPH01-014)に培地を微生物検査に供する。なお、MASC用培地は用事調整のため、本工程はMASC培地調整工程(KVPC-PMFOPH01-011)に引き続いて行う。

- ・ 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細胞の培地調整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。
- ・ プライ室への入室
  - ① 1次更衣に着替え、プライ室に入室する。
- ・ 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への入室
  - ① 前室で2次更衣に着替え、P2ルーム1に入室する。
- ・ P2ルーム1での MASC 培地調整
  - ① 培養開始に先立ち、(KVPC-PMFOPH01-011)MASC 細胞の培地調整に関する手順書に従って、MASC 用培地の調整を行う。
- ・ P2ルーム1での恒温槽の用意および炭酸ガス培養器への水の用意
  - ① P2ルーム1で、注射用水を恒温槽に用意し、スイッチを入れて37度に攪拌しながら加熱する。
  - ② また、使用予定の炭酸ガス培養器の水受けに注射用水を用意する。
- ・ 作業担当者の退室、および細胞保管室からの凍結細胞の出庫
  - ① 作業担当者は手指の付着菌検査後にいったん退室し、二次更衣を脱いで細胞保存室に入室する。なお、安全キャビネットはつけたままにしておくこと。
  - ② 作業担当者は、細胞保存室サコート EXシステム EX01 で出庫手続き後、-150℃超低温フリーザー-FR05にて、MASC の入った保存チューブを同フリーザー内の細胞移動用容器 (Nalgene ラボトップ クーラー) に移して出庫する。
  - ③ 作業担当者は、P2ルーム1の記録担当者に、パストボックスを通じて細胞移動容器を渡す。
  - ④ 記録担当者は細胞移動容器を P2ルーム1室内に移動する。
  - ⑤ 作業担当者は、P2ルーム1前室にて新たな2次更衣に着替え、P2ルーム1へ再入室する。
- ・ P2ルーム1での培養開始工程
  - ① 細胞移動容器より記録担当者が MASC の入った保存チューブを取り出し、融解するまで37℃の恒温槽に浸す。このとき、キャップより水位が上にならないよう注意する。
  - ② 1-2分後に保存チューブ内の細胞保存液がやや解け始めたら、記録担当者が保存チューブの周りを消毒用エタノールで拭き、作業担当者に渡す。
  - ③ 作業担当者が MASC 培地を 9mL 用意した遠心管に細胞保存液を移し、遠心
  - ④ 遠心後、MASC 用培地に再懸濁。
  - ⑤ 生細胞数測定。細胞生存率が 50%以上であること。

- ⑥ 6ウェルプレート2枚を用意し、1枚に通常密度（ウェルあたり2.5 x 10の5乗個）で3ウェル播種し、ラベルMCP1(MASC-cultured plate #1)を貼り付ける。
- ⑦ もう1枚にやや低密度（ウェルあたり2.5 x 10の4乗個）で3ウェル播種し、ラベルMCP2を貼り付ける。
- ⑧ 炭酸ガス培養器に入庫する。

・ 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。

## 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. 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

### 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

指図記録書 KVPC-PMFOPH01-021-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-PMFOPH01-023：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

(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. ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程の手順
8. 指図記録書の保管
9. 参考文献
10. SOP 逸脱時の対応
11. 関連する書類
12. 様式 1:ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程記録表

#### 1. 目的

品質マニュアル・衛生管理基準書に基づき、CPC 内でのドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始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。作業担当者とは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

ドナー角膜から角膜輪部上皮細胞培養開始工程では、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これらを使用する。物品の詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-023-R01 及び R02 に記載する。

ドナー角膜から角膜輪部上皮培養開始工程作業は、付図1のドナー角膜から角膜輪部上皮培養開始工程作業フロー図に従う。本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-023-R01 及び R02 に記載する。

## 7. ドナー角膜から角膜輪部上皮培養開始工程の手順

- ・ ドナー角膜のプライ室への搬入：移植 16 日前以前
  - ① ドナー角膜組織の入った容器を消毒用エタノールをしみ込ませたクリーンルーム用不織布でよく清拭する。
  - ② プライ室パスポックスの入り口及び出口にそれぞれ作業員が待機し、UV に当てないように素早くドナー角膜を受け渡す。
  - ③ ドナー角膜を使用するまでプライ室冷蔵庫へ保存する。1 週間以内に上皮を分離すること。
  
- ・ 角膜中央部の切り出し：移植 16 日前（上皮培養開始 2 日前）
  - ① ドナー角膜の P2 ルーム 1 冷蔵庫 FR03 への入庫：
    1. UV に曝さないよう、P2 ルーム 1 パスポックスの入り口及び出口にそれぞれ作業員が待機し、UV に当てないように素早くドナー角膜を受け渡す。
  - ② 安全キャビネットの立ち上げ
  - ③ 8mm トリパンによる角膜中央部の切り出し

- ④ 角膜輪部を含む強角膜切片の、冷蔵庫 FR03 への再入庫
    - 1. 角膜輪部を含む強角膜切片を容器（オプティカル入りビューイングチャンバー）に戻し、FR03 へ戻す。
  - ⑤ 検体としての角膜中央部の出庫
    - 1. 出庫後は、OCT に包埋して凍結切片作成用に凍結保存する。
  - ⑥ 清掃及び退室
- ・ 角膜輪部からの上皮細胞分離：移植 14 日前
- ① 安全キャビネットの立ち上げ
  - ② Dispase II 液の調整
  - ③ 輪部組織の切り出し
  - ④ Dispase II 処理
    - 1. 処理中に、上皮用培地調整を行う
  - ⑤ 上皮細胞の分離
  - ⑥ 上皮細胞の播種
    - 1. 上皮細胞を  $1-2.5 \times 10^5$  個、フィブリンゲル 3 インサート内に播種し、上皮用培地を用いて MASC フィーダー（MCP1）と共培養する。
  - ⑦ 清掃及び退室

## 6. 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。

## 7. 参考文献

旭テクネイオン株式会社 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、指図記録書  
KVPC-PMFOPH01-023-R01 及び R02

## ⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-024：角膜輪部上皮細胞培地交換に関する手順書

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. 角膜輪部上皮細胞培地交換工程の手順
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 内での角膜輪部上皮細胞培地交換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

角膜輪部上皮細胞培地交換工程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これらを使用する。物品の詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-024-R01 から R04 に記載する。

## 7. 角膜輪部上皮細胞培地交換工程の手順

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、サンコート 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、照明及びフ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。
- ・ 上皮シートの観察
  - ① 上皮シートの状況を把握し、万が一コンタミネーションしていたときに被害の拡大を防ぐため、上皮シートをプレートごと炭酸ガス培養器から取り出して倒立顕微鏡で観察する。
- ・ 培地の交換



- ① 上皮シートをプレートごと安全キャビネット内に移す。
- ② 5mLピペットを用いて、全てのウェルに対し、下のウェルの培養上清を、廃液用に用意した15mLチューブに移す。上皮のMASCファイバーへの侵入（MASCが駆逐される）を防ぐため、下のウェルから行う。
- ③ 5mLピペットを用いて、上のウェルの培養上清を、廃液用に用意した15mLチューブに移す。
- ④ 10mLピペットで上皮用培地を、下に2mL、上に1mL、添加
- ⑤ 上皮シートをプレートごと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。

## 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

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-PMFOPH01-024-R01 から R04

## ⑤作業手順書

KVPC-PMFOPH01-025：マイトマイシン C 処理した MASC 交換に関する手順書

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. マイトマイシン C 処理した MASC 交換工程の手順
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

マイトマイシン C 処理した MASC 交換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-PMFOPH01-025-R02 に記載する。

## 7. マイトマイシン C 処理した MASC 交換工程の手順

本手順書では作業の概略を記載し、詳細は指図記録書 KVPC-PMFOPH01-025-R02 に記載する。なお、マイトマイシン C 処理した MASC 交換工程は上皮培養 7 日目に行い、あわせて培養 7 日目の検体回収を行う。

- ・ 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、サノコード 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。
- ・ 上皮シートの観察
  - ① 上皮シートの状況を把握し、万が一コンタミネーションしていたときに被害の拡大を防ぐため、上皮シートをプレートごと炭酸ガス培養器から取り出して倒立顕微鏡で観察する。
- ・ 検体の回収及びフィーダー細胞の交換

- ① 上皮シートを培養中のプレート、及びMMC 処理済み交換用 MASC のプレート (MCP2) を安全キャビネット内に移す。
  - ② MCP2 から、5mLピペットを用いて、培養上清を廃棄用に用意した 15mLチューブに移す。
  - ③ MCP2 に上皮用培地を 2mL ずつ添加する。
  - ④ 上皮シート培養プレートから、5mLピペットを用いて、上のインサート内の培養上清を検体用に用意した 15mLチューブに移す。
  - ⑤ 安全キャビネット内の大型鑷子を用いて、インサートごと上皮シートを MCP2 に移す。
  - ⑥ 上皮シートのインサート内に、上皮用培地を 1mL ずつ分注
  - ⑦ 5mLピペットを用いて、全てのウェルに対し、下のウェルの培養上清を、検体用に用意した 15mLチューブに移す。
  - ⑧ 上皮シートをプレートごと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

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-PMFOPH01-025-R02

## 作業手順書

### KVPC-PMFOPH01-028：角膜上皮シート包装培地調整に関する手順書

(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. 角膜上皮シート包装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 内での角膜上皮シート包装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

- ・ 角膜上皮シート包装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-PMFOPH01-028-R01 に記載する

## 7. 角膜上皮シート包装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-PMFOPH01-028-R01 に記載する。

### 6.1. 居室での指図記録書印刷

6.1.1. 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。

### 6.2. 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

6.2.1. 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。(KVPC-PMFOPH01-003)物品の搬入搬出に関する手順書に従うこと。

### 6.3. サブライ室への入室

6.3.1. 1次更衣に着替え、サブライ室に入室する。

### 6.4. ラベルの印刷

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

### 6.5. 必要品の持ち込み

6.5.1. 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。

### 6.6. P2 ルーム 1 での安全キャビネット立ち上げ

6.6.1. 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。

6.6.2. 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。

### 6.7. 角膜上皮シート包装培地の調整

6.7.1. F12/DMEM (ラベル FD-S) 45 mL に EGF(ラベル EGFW) 5  $\mu$  L を添加

6.7.2. インスリン・ワーキング溶液 (INSW) 25  $\mu$  L を添加

6.7.3. T3・ワーキング溶液(T3-W) 50  $\mu$  L を添加

6.7.4. ハイドロコルチゾン・ワーキング溶液 (CORW) 50  $\mu$  L を添加

6.7.5. イソプロペノール液 (ISOP) 62.5  $\mu$  L を添加

6.7.6. 抗菌剤ミックス・ワーキング液 (AB-W) 500  $\mu$ L を添加

6.7.7. ラベルをチューブ および指図記録書に貼り付け

6.7.8. 分注品を FR03 冷蔵庫へ保存。

#### 6.8. 退室

6.8.1. 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。

6.8.2. 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。

6.8.3. 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。

6.8.4. 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。

#### 7. 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。

#### 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、指図記録書  
KVPC-PMFOPH01-028-R01



