

細胞培養環境に存在する残留化学薬剤の除去

柿本 隆志 阿部 公揮 富田 賢吾 田中 勲 栗原 隆
(技術研究所) (技術研究所) (技術研究所) (技術研究所) (技術研究所)

Removal of Residual Chemical Reagent in The Cell Culture Environment

Takashi Kakimoto, Koki Abe, Kengo Tomita, Isao Tanaka and Takashi Kurihara

細胞培養処理施設では、細胞へのコンタミネーションを防ぐため定期的な除染が行われている。しかし、残留した除染剤は培養細胞や作業者に悪影響を及ぼす可能性がある。本研究では、細胞培養環境に残留する化学薬剤を除去するために、ケミカルフィルター(CF)ユニットの化学薬剤除去性能を検討した。まず、細胞培養処理施設内の空気質を分析したところ、クリーンルームおよびアイソレータ内に除染剤が残留していることが判明した。次に、残留除染剤はCFユニットを用いた吸着によって、早期かつ低濃度まで除去された。本技術により、残留化学薬剤の影響を軽減した細胞培養環境を有する、再生医療施設の開発が可能となった。

In the cell culture processing facility, decontamination is periodically carried out to prevent cell contamination. However, the residual decontamination agent may have a negative effect on culture cells and operators. In this study, the chemical agent removal performances of a chemical filter (CF) unit were examined to remove residual chemical agents from the cell culture environment. First, the air quality in the cell culture processing facility was analyzed, and it was found that decontamination agents remained in the cleanroom and isolator. Secondly, the residual decontamination agent was removed quickly and at low concentrations by adsorption using the CF unit. This technology has enabled the development of a regenerative medicine facility to provide a cell culture environment that reduces residual chemical agents' effects.

1. 背景

再生医療は、これまでの薬物を使った治療と異なり、治療に細胞を用いる。細胞は体外で培養し、増殖させた後、移植治療を行う。患者自身から採取した細胞を用いる自家移植や、他人から採取した細胞を増殖させ患者に移植する他家移植がある。近年注目を浴びているiPS細胞(induced pluripotent stem cell:人工多能性幹細胞)や、各種幹細胞など様々な細胞が用いられている。

細胞は、細胞培養加工施設と呼ばれるクリーンルーム内で培養される。細胞を必要数まで増殖させる作業を細胞培養といい、現在は主に人の手作業で行われている。

再生医療の発展に伴い、臨床研究や基礎研究に大量に細胞が必要となるため、細胞培養を行う細胞培養加工施設が増加している。治療に大量の細胞を用いる再生医療においては、安定的に細胞を増殖させることが最も重要な課題である。

細胞培養操作は、クリーンルームに設置された、安全キャビネット^{注1)}内や、アイソレータ^{注2)}と呼ばれるグレードAクラスの空間で行われる。細胞培養操作の際には、細胞は室内空気に曝露されることとなる。この時室内環境に存在する微生物^{注3)}が、培養細胞に混入することがある。これをコンタミネーションといい、目的細胞ではなく混入した微生物が増殖した状態、あるいは目的細胞と混在した状態になる。一度コンタミネーションを起こした細胞は、治療や研究に用いることはできず、治療も中断せざるを得ない。生きた細胞を用いる再生医療では、原料となる細胞の滅菌はできないためである。この点が薬剤を用いる治療と異なる。

化学薬剤^{注4)}を用いて、対象物の表面等から局所的に微生物を減少させることを消毒といい、空間や作業室を含む構造設備に存在する微生物を設定したレベルまで減少させることを除染という。

細胞培養操作に用いる資材は、外部から微生物を持ち込む可能性があるため、コンタミネーションを防ぐ

目的で、室内に持ち込む前に、エタノールやイソプロパノールなどの消毒剤による清拭や噴霧が行われる。

細胞培養操作を行うクリーンルームは、過酸化水素や、過酢酸などの除染剤を噴霧する除染作業が行われる。同様に、アイソレータ内は細胞培養操作の前後に、除染剤によって除染作業が行われる。このように、細胞培養操作に化学薬剤を用いた消毒作業や除染作業は、必要不可欠である。

しかし、我々はこれまで、細胞培養加工施設内の空気質に消毒剤を含む様々なガス状化学物質が存在することを報告している¹⁾。複数の細胞培養加工施設において、アルコール類や酢酸などが多く検出されている。これらは、細胞培養に用いる資材や、作業者の手袋を消毒するために使用されている。微生物のコンタミネーションを防ぐために、消毒作業は必須であるが、室内に残留した消毒剤は、高濃度であれば細胞の死滅や、増殖阻害を引き起こすなどの悪影響が報告されている^{2),3)}。また、高濃度の除染剤も細胞に影響を与えることが知られている⁴⁻⁶⁾。細胞への影響だけでなく、除染後のクリーンルームで、除染剤濃度は入出基準値⁷⁾まで低下しているにもかかわらず、作業者が目の痛みや体調不良を訴えることがある。残留除染剤は、培養細胞だけでなく作業者にとっても、不安要素となる。

本研究では、消毒剤や除染剤などの化学薬剤の培養細胞への影響を低減し、安定した細胞培養環境を構築することを目的として、残留化学薬剤の把握と除去を検討した。

2. クリーンルーム内の残留化学薬剤測定

2.1 測定場所

再生医療分野で細胞を製品として製造を行うA社の、細胞培養加工施設のクリーンルーム内において、グレードA(アイソレータ)3か所、グレードB3か所、グレードC4か所、一般エリア2か所、施設外の外気を含む13か所で(表-1)、揮発性有機化合物及び酸性・塩基性ガスの測定を行った。

表-1 揮発性有機化合物及び酸性・塩基性ガスの測定場所と清浄度

清浄度	測定場所			
クリーンルーム外	①外気			
室内一般エリア	②開発室	③試験室		
グレードCエリア	④更衣室	⑤廊下	⑥生産培養室	⑦倉庫
グレードBエリア	⑧細胞調製室1	⑨細胞調製室2	⑩細胞調製室3	
グレードAエリア	⑪細胞調製室1 -アイソレータ	⑫細胞調製室2 -アイソレータ	⑬細胞調製室3 -アイソレータ	

2.2 測定方法(空気サンプリング・分析方法)

残留化学薬剤を測定するにあたり、揮発性有機化合物および酸性・塩基性ガスの測定を行った。揮発性有機化合物の測定は、吸引流量0.5L/minでTenax-GR捕集管に室内空気10Lをサンプリングし、ガスクロマトグラフ(島津製作所)、およびガスクロマトグラフ質量分析装置(島津製作所)を使用して行った。酸性および塩基性ガスは、吸引流量1L/minで超純水75mLに140分間バブリングして捕集し、イオンクロマトグラフ(アニオン成分：ICS-5000:Dionex、カチオン成分：ICS-2000:Dionex)を使用して分析を行った。ガスクロマトグラフの測定条件を表-2、イオンクロマトグラフの測定条件を表-3に示す。

表-2 ガスクロマトグラフ測定条件

	ガスクロマトグラフ GC2010 Plus	ガスクロマトグラフ 質量 QP2010 Plus
加熱脱離装置	TD20型	TD20型
分離カラム	DB-1 (J&W)	DB-1 (J&W)
GC温度条件	40°C 5min to 300°C 10°C/min at 300°C 10min	40°C 5min to 300°C 10°C/min at 300°C 10min
キャリアガス	He 78.1mL/min	He 50.3mL/min
加熱脱離条件	280°C	280°C
検出器	FID	EI 四重極質量分析

表-3 イオンクロマトグラフ測定条件

	アニオン成分 ICS-5000型	カチオン成分 ICS-2000型
試料注入量	50μL (濃縮量)	10μL (濃縮量)
分離液	KOH 1~40mmol	CH ₃ SO ₃ H 30mmol
溶解液	IonPacAS20	IonPacCS16
検出器	電気伝導度計	電気伝導度計

2.3 測定結果

2.3.1 揮発性有機化合物測定結果

各測定場所での揮発性有機物の総量(TVOC: Total Volatile Organic Compounds)を図-1に示す。施設外の、外気TVOC濃度が18.5μg・C/m³^{注5)}で最も低濃度であった。一般エリアでは開発室、試験室間のTVOC濃度の有意な差は確認されなかった。グレードCエリアでは、倉庫で137.7μg・C/m³のTVOCが測定された。これはすべての測定場所のなかで最も高いTVOC濃度であった。グレードBエリアにおいては細胞調製室ごとのTVOC濃度の差が確認された。グレードAアイソレータでは、細胞調製室3がアイソレータ1,2と比

較して2倍以上のTVOC濃度が測定された。

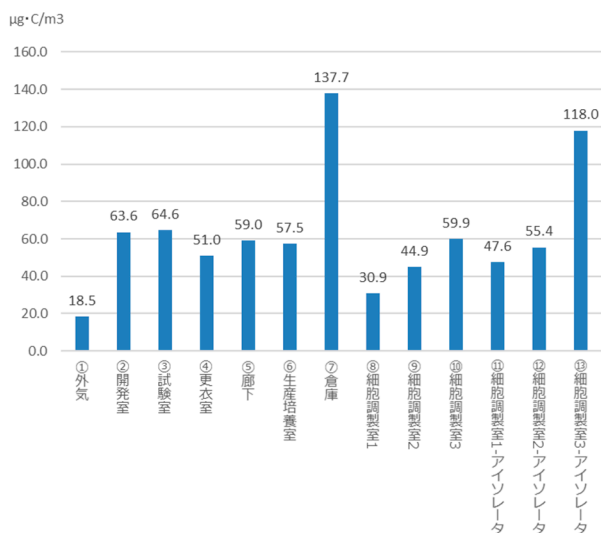


図-1 各測定場所でのTVOC濃度

2.3.2 揮発性有機化合物成分分析結果

測定した揮発性有機化合物の成分分析結果を表-4に示す。

表-4 各測定場所で測定されたTVOCの成分分析

	①外気	②開発室	③試験室	④更衣室	⑤廊下	⑥生産培養室	⑦倉庫	⑧細胞調製室1	⑨細胞調製室2	⑩細胞調製室3	⑪細胞調製室Aアイソレータ	⑫細胞調製室Bアイソレータ	⑬細胞調製室Cアイソレータ
Ethanol	0.00	37.93	47.35	2.32	17.43	2.60	52.48	7.58	8.17	6.19	2.13	15.21	3.78
Ethyl Acetate	0.95	0.00	0.00	1.71	0.00	3.31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.76	0.00
Ethylbenzene	1.13	1.84	1.16	1.96	2.14	3.34	4.35	1.38	1.20	2.41	1.85	1.15	2.44
Isopropyl Alcohol	0.00	10.55	3.49	0.00	2.64	0.00	17.05	0.00	2.80	2.40	0.00	5.09	0.00
Nonanal	0.58	2.21	1.25	2.59	4.35	9.21	7.02	0.56	0.52	0.49	2.02	0.00	0.00
Toluene	2.69	3.01	2.65	5.71	5.16	7.17	4.10	3.18	2.75	4.60	4.69	1.88	5.06
Undecane	0.00	0.00	0.00	1.30	0.00	1.06	1.71	0.49	0.00	0.00	1.08	0.47	0.00

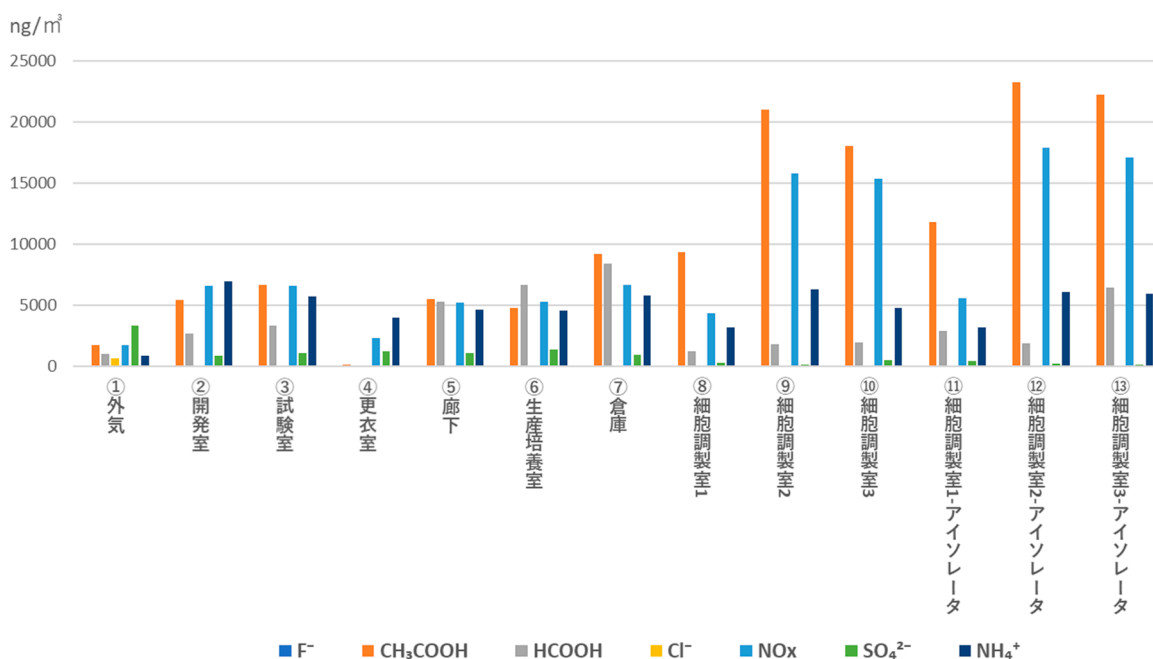


図-2 各測定場所での酸性・塩基性ガス測定結果

外気を除くすべての測定場所で、エタノールが確認された。エタノールはグレードBエリアに比べて、グレードCエリアにおいて高濃度であった。特に、倉庫、試験室において、高濃度のエタノールが測定された。イソプロパノールは、一般エリア開発室とグレードCエリア倉庫において高濃度で検出された。

2.3.3 酸性・塩基性ガスの測定結果

各測定場所で測定した、酸性・塩基性ガスの濃度を図-2に示す。更衣室を除く測定場所で、酢酸が確認された。酢酸は、グレードBエリアとグレードAエリアにおいて高濃度であった。グレードBエリアでは細胞調製室2および細胞調整室3、グレードAエリアではアイソレータ2およびアイソレータ3において高濃度であった。酢酸と同様に、窒素酸化物も測定場所全域で計測された。窒素酸化物の濃度は、グレードBエリアからグレードAエリアで高い値となった。アンモニウムイオンはすべての測定場所で検出されたが、エリアによる濃度差はなかった。

2.4 考察

今回測定を行った細胞培養加工施設において測定された TVOC は、倉庫とアイソレータ 3 において、高濃度であった。クリーンエリアのグレード差と TVOC 濃度差の相関性は確認されなかった。また、外気が最も低濃度であることから、TVOC の発生源は外気取入れ以降の施設内と考えられる。

TVOC の成分分析において、エタノールは一般エリアから、グレード C エリアで高濃度であった。これは、グレード B エリアである細胞調製室へ持ち込む培養操作の資材に対する清拭や、作業者手袋の消毒に噴霧しているエタノールが原因と考えられる。

酸性・塩基性ガス測定では、測定場所全域において酢酸が検出された。特にグレード B エリア以降で濃度が上昇していた。これは、資材の消毒または作業域周辺の消毒に過酢酸が用いられており、噴霧後の過酢酸が空気中の水分と反応し分解^{注6)}され、酢酸が生成したと考えられる。

2.5 小括

細胞培養において消毒剤による清拭作業や指先への噴霧は微生物のコンタミネーションを防止するためには必須の作業である。しかし、エタノール、イソプロパノール、過酢酸など、消毒に用いられる消毒剤は親水性が高く、細胞培養に用いる培養液への混入、溶解が懸念される。

今回のクリーンルームでの揮発性有機化合物及び酸性・塩基性ガスの測定結果から、クリーンルーム内に消毒剤のエタノール、酢酸の化学薬剤の残留が確認された。これらの消毒剤が、高濃度で培養溶液に存在する場合、培養細胞の増殖や安定化に悪影響を及ぼすことが知られている²⁾。

安定した細胞培養を実現するためには、残留した消毒剤などの化学薬剤を除去する必要がある。

そこで本研究では、クリーンルーム除染に用いられる過酸化水素と過酢酸を対象に、残留化学薬剤を除去するために、以下のような実験を行った。

3. CF ユニットによる除染後の化学薬剤除去効果確認

3.1 実験場所

某所クリーンルーム(図-3)にて実験を行った。クリーンルームの広さは 228 m²でグレード B 相当である。



図-3 化学薬剤除去実験に使用した
クリーンルーム

3.2 除染薬剤

除染薬剤は、細胞培養加工施設で用いられる過酸化水素および過酢酸を使用した。

3.3 除染機器の名称及び除染条件

3.3.1 過酸化水素除染

過酸化水素噴霧装置：室内設置可搬型過酸化水素除染装置「ドライデコモビー」大型タイプ1台(株式会社大気社製)

除染剤分解装置：日揮ユニバーサル製(ファンは無負荷時最大 15.5 立米/分) 触媒：NHO-453(サイズ:150×150×50mm 厚さ)×4 枚/台

(*触媒の主成分は二酸化マンガ)

除染条件—濃度：250ppm

曝露運転時間：300分

残留運転：60分

分解装置：運転開始 390 分後から作動開始

室内排気：運転開始から 930 分後に排気開始、その後 540 分連続排気

3.3.2 過酢酸除染

過酢酸除染システム：FOG WORKS(噴霧器 2 台) ニッタ株式会社製

除染条件 湿度：80%(運転開始 40 分後を想定)

曝露運転時間：300分

分解装置：曝露終了直後から 60 分間作動

室内排気：運転開始から 400 分後に排気開始、その後 30 分連続排気

3.4 除染剤測定装置とサンプリングポイント

除染剤の測定には金陵電機株式会社製の CI イオン選択型質量分析計 SIFT-MS を使用した。除染剤濃度の測定は、除染剤噴霧前から開始し、除染終了後室内排気が開始されるまで行った。

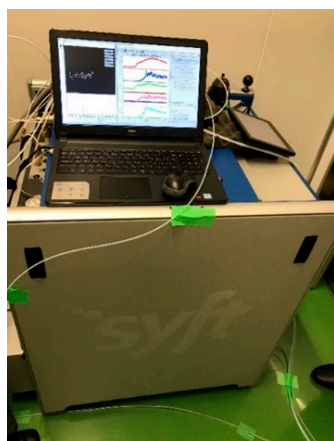


図-4 化学薬剤測定装置 SIFT-MS

除染剤サンプリングポイントは、部屋中央の構造物左端に設置した。(図-3、除染剤サンプリングポイント参照)

3.5 除染剤吸着装置

除染剤の吸着にはケミカルフィルタユニット(以下、CF ユニット)を用いた(図-5)。CF ユニットはフィルタとファンを内蔵したケミカル汚染物質除去装置である。クリーンルーム内の空気から TVOC などのケミカル汚染物質を効率よく吸着・除去できる。

CFユニットは株式会社忍足研究所社製の薄型CFユニット CFU-600V12UTP1-20 を使用した。CFユニット内部には、除染剤に特化した専用フィルタを用いた。

過酸化水素吸着用に株式会社忍足研究所社製フィルタ タイプ GA(SCGA0610)を、過酢酸吸着用に株式会社忍足研究所社製フィルタ タイプ SA(SCSA0610)を各 12 枚使用した。



図-5 ケミカルフィルタユニット CFU-600V12UTP1-20

3.6 実験方法

実験に用いた除染剤の種類と、除染剤の分解・吸着方法を表-5 に示す。実験は対象除染剤を噴霧装置で目的濃度まで拡散させた後、通常の触媒(白金)を用いた分解、もしくは通常触媒による分解と CF ユニットを併用して除染剤の分解・吸着を行った。除染剤は過酸化水素と過酢酸を検討した。実験は計 4 回行った。実験の開始から終了まで計測装置により除染剤濃度を測定した。

表-5 使用した除染剤の種類と分解・吸着方法

除染剤の種類	除染剤の分解・吸着条件
①過酸化水素	通常分解
②過酸化水素	通常分解+ケミカルフィルタユニット併用
③過酢酸	通常分解
④過酢酸	通常分解+ケミカルフィルタユニット併用

クリーンルーム内除染実験の様子を図-6 および図-7 に示す。図-6 は過酸化水素を用いた実験、図-7 は過酢酸を用いた実験である。

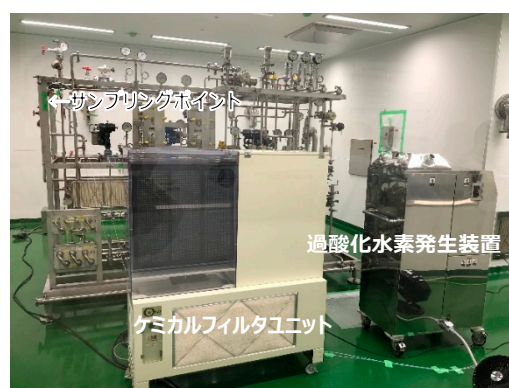


図-6 過酸化水素による除染実験の様子



図-7 過酢酸による除染実験の様子

3.7 実験結果

3.7.1 ①過酸化水素 通常分解

測定した過酸化水素濃度を図-8に示す。過酸化水素濃度は、除染開始16分後に目的濃度の250ppmに到達し、曝露運転時間の300分間250ppm以上を維持していた。曝露終了により濃度低下が始まり、曝露終了後60分間の残留運転の間に、165ppmまで低下した。その30分後に分解装置が作動し、過酸化水素分解が開始された。分解装置作動前の過酸化水素濃度は約138ppmであったが、徐々に低下し130分後に50ppm、310分後に25ppmを下回り、9時間後の分解終了/排気開始前に約2.5ppmに低下した。排気開始から、約6分後に1ppmを計測した。

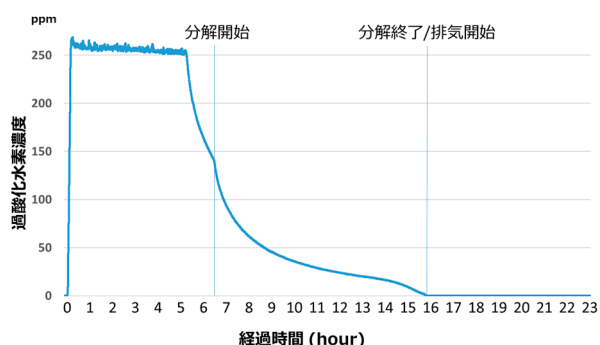


図-8 過酸化水素濃度 (通常分解)

3.7.2 ②過酸化水素 通常触媒+CFユニット併用

過酸化水素濃度を図-9に示す。過酸化水素濃度は、除染開始16分後に目的濃度の250ppmに到達し、曝露運転時間の300分間250ppm以上を維持していた。曝露終了により濃度低下が始まり、曝露終了後60分間の残留運転の間に、167ppmまで低下した。30分後分解装置とCFユニットが作動し、過酸化水素吸着を開始した。過酸化水素濃度は、分解装置・CFユニット作動前は約134ppmであったが、分解装置・CFユニット作動直後から急激に低下し、作動7分後に50ppm、17分後に約25ppmを下回っている。75分後に1ppmを計測した。

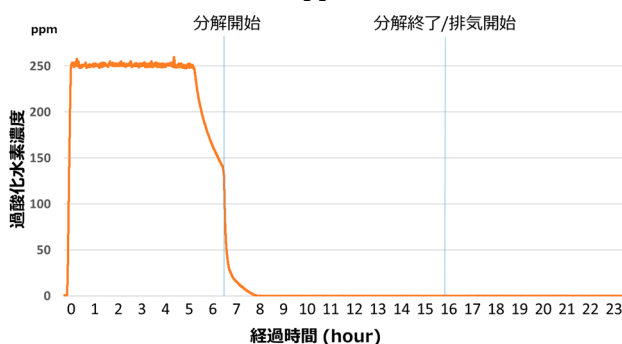


図-9 過酸化水素濃度(通常分解+CFユニット用)

3.7.3 ③過酢酸 通常触媒

過酢酸除染開始から、通常触媒を用いた分解までの測定濃度を図-10に示す。過酢酸濃度は、除染開始40分後6ppmに到達し、曝露運転時間の300分間6ppm以上を維持していた。曝露終了後に分解装置が作動し、過酢酸分解が開始された。分解装置作動後の過酢酸濃度は、45分後に約6ppmを計測した。その後排気開始時まで6ppm前後で推移した。

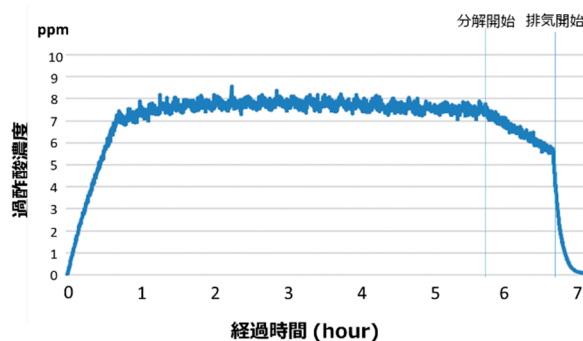


図-10 過酢酸濃度(通常分解)

3.7.4 ④過酸化水素 通常触媒+CFユニット併用

過酢酸除染開始から、通常触媒とCFユニットを併用し吸着を開始した。その際の測定濃度を図-11に示す。過酢酸濃度は、除染開始40分後に目的濃度の6ppmに到達し、曝露運転時間の300分間6ppm以上を維持していた。曝露終了後、分解装置とCFユニットが作動し、過酢酸分解が開始された。分解装置作動後の過酢酸濃度は、5分後に約3ppmを計測した。10分後に1ppmを計測し、15分後に0.5ppmに低下した。

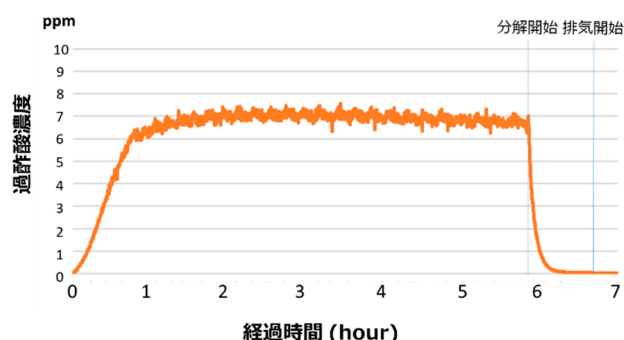


図-11 過酢酸濃度(通常分解+CFユニット併用)

3.8 考察

過酸化水素及び過酢酸を用いた室内除染後に、通常分解に加えCFユニットを併用すると、除染剤早期除去に効果的であることを示した。

過酸化水素除染において、入出基準値である1ppm以下まで低下するのに、CFユニットを用いることで、通常分解の7分の1の時間で低下した。過酢酸除染においては、5分の1以下の時間で、入出基準値まで低下した。この結果は、残留除染剤の分解・除去にCFユニットを用いることで、除染作業の時間短縮が可能であることを示している。除染作業の短縮によって、培養作業の早期開始が可能となり、細胞培養の生産性向上が期待される。

また、予期せぬコンタミネーション発生による再除染対しても、除染時間が短縮されることで、細胞培養加工施設の早期再稼働が可能となる。

室内の除染剤残留は、過酸化水素分解時に、通常分解では1ppm以下は計測されなかったが、CFユニット併用の場合、分解開始から81分後に1ppmを下回った。過酢酸分解時は、通常分解では5ppm程度までしか濃度低下がみられなかったが、CFユニット併用では、最終濃度は0.2ppm程度まで確認している。この結果は、これまで通常分解後に入出基準値まで低下していると想定されていた空間でも、基準値、もしくは基準値を超える値の過酸化水素および過酢酸の残留可能性が考えられる。今回の結果から、CFユニットを用いることで、残留除染剤の影響が少ない安定した細胞培養空間の実現が可能となる。

今回の実験では、消毒剤の残留測定と、除染剤のCFユニットによる吸着は、異なったクリーンルームで行った。実験結果から、培養開始前に行う除染による残留除染剤の低減効果を確認した。今後は、CFユニットが消毒剤の除去・分解に効果的であるデータを蓄積し、細胞培養工程中に用いられる消毒剤および除染剤の化学薬剤を除去し、化学薬剤の影響をより低減した細胞培養環境構築を目指す。

CFユニットは様々なサイズがあり、小規模なクリーンルームから大型のクリーンルームにも対応できる。また、可搬型の装置なので、クリーンルームに合わせた使い分けが可能である。

また、クリーンルームよりも頻繁に除染を行うアイソレータとCFユニットを組み合わせることで、除染回数の多い環境下でも残留除染剤の影響がより少ない、安定した細胞培養環境を構築することができる。

3.9 小括

3.9.1 過酸化水素について

過酸化水素除染について、通常分解とCFユニット併用を比較すると、50ppmに低下するのに、通常

分解では130分必要であったが、CFユニット併用では7分後であった。また、25ppmへの低下時間は通常分解において310分、CFユニット併用で17分であった。さらに、入退出目安である1ppmでは通常分解では排気が開始される9時間後まで低下がみられなかったが、CFユニット併用では75分後に1ppmまで低下した。

3.9.2 過酢酸について

過酢酸除染後の除染剤分解について、通常分解とCFユニット併用を比較すると、分解開始から入出基準値である1ppmまで低下する時間は、通常分解では排気が開始される60分後までに低下がみられなかったが、CFユニット併用においては分解開始12分の時点で1ppm以下への低下が確認された。

4. まとめ

細胞培養加工施設において、作業者の手先や培養資材の清拭に用いる消毒用エタノール、酢酸が残留していることを確認した。

CFユニットによって、残留した除染剤が早期に吸着可能であることを示した。また、残留した除染剤の低減にもケミカルフィルタユニットが効果的であることを示した。

本技術を用いた、微量化学剤除去は、これまでも半導体工場、医薬工場などにも用いられており、再生医療などのバイオ系施設への展開も図っていく予定である。

謝辞

実験にご協力いただいた、アース環境サービス株式会社、金陵電気株式会社、株式会社忍足研究所の皆様にご心から感謝いたします。

<注>

- 注1) バイオハザードクラスIIキャビネット：安全キャビネット内部で発生するエアロゾルを前面開口部のエアバリア気流等により安全キャビネット外部に漏洩させずに封じ込める機能を有する装置
- 注2) アイソレータ：環境及び培養作業者の直接介入から物理的に完全に隔離された無菌操作区域を有する装置
- 注3) 微生物：細菌、真菌、原虫、ウイルス等の総称。
- 注4) 化学薬剤：消毒剤および除染剤の総称。
- 注5) ※ガスクロマトグラフで使用したFID検出器は、有機化合物の検出感度が高い。トルエン換算すると、トルエンと組成の違う物質は濃度に乖離が生じるため、測定結果を炭

素換算して表記した。算出方法は、ガスクロマトグラフ測定で得られたクロマトグラムから全ピーク面積を求める。予め既知の有機ガスによって検出されたピーク面積と有機ガス中の炭素数との関係を求めておき、これよりピーク面積を μgC に換算する。

注6) CH_3COOOH (過酢酸) + H_2O (水) \rightleftharpoons CH_3COOH (酢酸) + H_2O_2 (過酸化水素)

<参考文献>

- 1) 阿部公揮, 柿本隆志, 藤田智治, 田中勲: "空気中の化学物質が培養細胞の細胞数・生存率・形態・遺伝子発現に与える影響", 清水建設研究報告, 第97号, pp.124-132, 2019
- 2) 大住伴子, 宗洋一郎, 東泉, 小住佳子, 黒木 賀代子: "試料溶媒 6 種の細胞毒性試験への応用に関する検討", 九州歯会誌, 47(2):305~310, 1993
- 3) 岩澤篤郎, 松村有里子: "生体消毒薬の抗微生物効果と細胞毒性", *Journal of Healthcare-associated Infection*, 9, 1-13, 2016
- 4) 高野海哉: "培養細胞を用いた過酸化水素による細胞毒性の検討", 東京医療保健大学大学院 医療保健学研究科 博士論文, 2015
- 5) 岩沢篤郎, 中村良子: "市販酸化剤の抗微生物効果と細胞毒性", 環境感染, Vol.15, no.2, 2000
- 6) 平成 25 年度 再生医療等産業化促進事業 (加齢黄斑変性、同種 iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞) 報告書 経済産業省
- 7) 医療現場における滅菌保障のガイドライン 2015
- 8) 一般財団法人日本医療機器学会