

# DB4403

## 深圳市地方标准

DB4403/ TXXX—XXXX

### 肿瘤细胞库的建设与管理规范

Comprehensive tumor cell bank set up and management specification

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

文稿版次选择

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

深圳市市场监督管理局

发布

目 次

前言 ..... II

1 范围 ..... 1

2 规范性引用文件 ..... 1

3 术语和定义 ..... 1

4 肿瘤细胞库的机构设置 ..... 1

5 实验室建设与环境要求 ..... 2

6 肿瘤细胞库的管理 ..... 2

7 样本操作规范 ..... 4

8 质量控制与风险评估 ..... 6

附 录 A （资料性附录） 知情同意书 ..... 8

附 录 B （资料性附录） 肿瘤样本捐赠者基本信息表 ..... 10

附 录 C （资料性附录） 肿瘤样本信息表 ..... 11

参考文献 ..... 12

## 前 言

本规范按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本规范由深圳市发展和改革委员会归口。

本规范负责起草单位：深圳华大生命科学研究院。

本规范主要起草人：岳建辉、叶晶晶、黎泽龙、侯勇、王博、张曦、何旭珩、李启沅、陈振家

本规范为首次发布。

# 肿瘤细胞库的建设与管理规范

## 1 范围

本规范规定了肿瘤细胞库相关的机构设置、实验室建设和环境要求、肿瘤细胞库的自动化管理、肿瘤细胞操作规范、细胞入库与出库管理、质量控制和风险评估。

本规范适用于研究机构、生物医疗单位、企业和科研院校（仅针对肿瘤细胞资源收集、存储与发放中涉及的实验室）的科学建设、环境控制要求、人员操作规范管理、细胞出入库质量安全监管。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 19489-2008 实验室生物安全通用要求
- SZDB/Z 126-2015 人类间充质干细胞库建设与管理规范
- SZDB/Z 188-2016 细胞制备中心建设与管理规范
- SZDB/Z 266-2017 综合细胞库设置和管理规范

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

肿瘤细胞库 tumor cell bank

长期有效储存包括从正常临床过程中获得的肿瘤组织，从临床试验、机理研究、诊断及预后研究、流行病学与储存生物标志物研究过程中专门采集的肿瘤标本，从具有癌症病史的家族个体中采集的用于遗传和疾病研究的生物材料（例如组织、血液、细胞系、DNA 和蛋白质等）在内的生物标本库。

### 3.2

原代培养 primary culture

直接从机体取下器官、组织或细胞后立即进行的培养过程。

### 3.3

成瘤性 tumorigenicity

细胞接种动物后在注射部位和（或）转移部位由接种细胞本身形成肿瘤的能力。

## 4 肿瘤细胞库的机构设置

### 4.1 伦理审查委员会

4.1.1 应设有伦理审查委员会，伦理审查委员会应由医药学、伦理学、法学等专家以及无利害关系的社区代表等人员组成。

4.1.2 伦理审查委员会应负责建立肿瘤细胞库的伦理准则和相应的伦理操作规范，对相关伦理问题进行审查和评价。

4.1.3 伦理审查委员会应在样本相关研究项目开始前进行伦理审查及对已通过审查或正在进行的项目进行伦理监督，遵循样本提供者有知情同意权，隐私保护权，可能范围内风险最小的原则，保证样本提供者和相关人员的利益和安全。

## 4.2 科学审查委员会

4.2.1 应设有科学审查委员会，科学审查委员会应由生物和医学领域的专家组成。

4.2.2 科学审查委员会应负责对生物样本采集和使用的方案进行科学性审查。

## 4.3 生物安全评审委员会

4.3.1 应设有生物安全评审委员会，生物安全评审委员会应由生物学家、医务人员、技术人员和实验室管理人员等各方面的专家或工作人员组成。

4.3.2 生物安全评审委员会负责肿瘤细胞库的生物安全政策和安全操作规范的审查。

# 5 实验室建设与环境要求

## 5.1 建设布局

5.1.1 肿瘤细胞库的设计及建造应符合 GB 19489-2008 第 5 章的要求，其地形、地质、水文条件、占地面积及周围环境、交通状况等应满足建筑安全及使用要求。

5.1.2 肿瘤细胞库平面布局应合理清晰，宜设置办公区、实验区、储存区和辅助区，实验区包括样本交接区、样本处置制备区、样本质量检测区；辅助区包括自动化监控与档案信息存储区、机房区（细胞库风电控制系统区）、物料仓库、医疗废弃物暂存区等；各区人流、物流（样本、净物、污物）通道标识清晰，各区域相互独立且分工明确，不得交叉。

5.1.3 根据样本制备入库的流程程序，设置各区域的位置，且肿瘤细胞库各功能分区环境要求应符合 SZDB/Z 266—2017 中 5.3 的规定。

## 5.2 环境要求

5.2.1 肿瘤细胞库各区环境的通风系统、环境温度、湿度、氧浓度、照明的要求可参考 SZDB/Z 266—2017 中 5.3.1.1 的规定。

5.2.2 环境洁净度宜根据实验室功能分区以及样本自身储存需求设置相适应的级别。

# 6 肿瘤细胞库的管理

## 6.1 人员、物料和设备管理

### 6.1.1 总则

肿瘤细胞库的人员、物料和设备管理动态信息可进行登记，存储于一套权限管理系统中，应做到严格、安全、有效管理和监控。

### 6.1.2 人员管理

人员培训与考核、人员档案管理应符合 SZDB/Z 188-2016 中 6.1 的规定。肿瘤细胞库工作人员应接受专业技能培训，并考核通过后方可上岗。肿瘤细胞库相关区域应严格设立相关人员分级门禁制度和实验室人员及外来人员准入制度，并建立相应人员准入登记记录制度。

### 6.1.3 物料管理

肿瘤细胞库中物料采购、物料标识、物料存储和物料使用应符合 SZDB/Z 188-2016 中6.2规定，存储物料应具有严格的文件记录制度，物料的使用信息要做到可溯源。

### 6.1.4 设备管理

肿瘤细胞库应拥有独立的设备，严禁与其他个人或团体共用。肿瘤细胞库中设备管理应符合 SZDB/Z 188-2016 中6.3规定。

## 6.2 样本操作文件管理

肿瘤细胞库应制定标准操作文件用于指导技术工作人员的操作过程；且应制定相关记录文件，保证技术工作人员操作过程得到记录。且这些文件应及时保存，文件保存年限应符合永久保存要求。

## 6.3 样本数据库管理

### 6.3.1 总则

应建立一套具有多级权限的肿瘤细胞样本数据管理系统和样本数据库监控系统，其中样本数据管理系统宜包含样本信息登记管理系统、信息查询系统、样本捐献与接收管理系统、样本发放系统、样本数据备份系统。

### 6.3.2 样本数据库监控系统

6.3.2.1 细胞库应有能与样本数据管理系统兼容的监控系统，监测并记录肿瘤细胞库内的环境变化，包括储存设备内的各项重要指标、储存室内的环境温度、湿度和含氧量等。

6.3.2.2 样本数据监控系统应能对样本出入库信息和存储状态进行追踪监控管理，对于样本数据变化异常，应提供快速预警措施。

6.3.2.3 样本数据库宜建立严格的监控和管理制度，由专人专职管理，对样本数据操作人员进行登记审核。

### 6.3.3 样本信息登记系统

样本信息登记系统应设置多级权限，不同管理权限的人员能够接触操作层级是固定的。仅实验操作人员可登记录入样本的接收信息、细胞培养操作信息；仅样本出入库管理人员可登记录入样本的存储入库信息和出库信息。

### 6.3.4 样本信息查询系统

样本数据库宜建立合理的样本信息查询系统。对于样本信息的公开应满足知情同意原则。可公开查询样本信息，包括但不限于肿瘤细胞的类型、疾病来源、培养和存储基本信息、质量检测报告等信息。

### 6.3.5 样本捐献与接收管理系统

6.3.5.1 样本数据库宜建立有效的肿瘤样本捐献管理系统，快速对接社会捐献的肿瘤样本。

6.3.5.2 肿瘤细胞样本捐献对接流程包括：

- a) 肿瘤样本捐献申请；
- b) 签署样本捐献知情同意书，附件 A 为肿瘤样本捐献知情同意书；
- c) 捐献的肿瘤样本对接；
- d) 捐献反馈，可用于反馈捐献后样本的存储进度和样本来源信息的更改。

### 6.3.6 样本发放系统

6.3.6.1 样本数据库宜建设完善的肿瘤细胞样本发放系统。

6.3.6.2 肿瘤细胞样本发放对接流程包括：

- a) 肿瘤细胞样本发放申请审批；
- b) 实验室执行肿瘤细胞样本的发放；
- c) 发放反馈，样本接收人可对发放后的样本使用信息进行及时反馈。

### 6.3.7 样本数据备份系统

样本数据库宜建立科学的样本数据备份系统。对于样本信息的备份应遵循安全性、可追溯性原则。

## 6.4 应急预案

6.4.1 肿瘤细胞库应具备完善的实验室安全管理制度，同时对实验室操作人员应进行严格的安全信息培训，实验安全信息内容应该包括消防安全、压力容器安全、化学性安全、液氮安全、生物安全、人员操作安全等，各类安全要求应该符合 SZDB/Z 126-2015 要求，且实验操作人员应定期进行安全演习。

6.4.2 肿瘤细胞库应建立一套完整且的自动化水平高的实验室环境安全监控和应急预案体系，其监控和预警的安全信息应包括消防安全、压力容器安全、化学性安全、液氮安全与生物安全，设置安全预警值，做到实时监控、及时预警和自动响应。

## 7 样本操作规范

### 7.1 信息收集和供体筛选

7.1.1 根据肿瘤细胞捐赠者信息和肿瘤样本采集信息，应严格评估和筛选符合进一步在肿瘤细胞库中操作的肿瘤细胞样本供体。可参考附件 B 肿瘤样本捐赠者基本信息表与附件 C 肿瘤样本信息表。

7.1.2 应在捐献者肿瘤治疗前或肿瘤治疗后至少 2 周，对捐献者进行样本采集。

7.1.3 捐赠者应进行人源特定病毒检测，结果应符合 GB 18467 的规定。

### 7.2 样本采集

#### 7.2.1 总则

肿瘤样本需由专业的医护人员或接受过样本采集专业培训的人员进行。

### 7.2.2 实体瘤样本采集要求

7.2.2.1 样本应首先满足捐赠者的诊断和治疗需求，剩余样本才能用于建立肿瘤细胞系。

7.2.2.2 应采集具有代表性的肿瘤组织、癌旁组织和正常组织，实体瘤样本的直径应不低于 5 mm。

### 7.2.3 胸腹水样本采集要求

当胸腹水样本中存在较多肿瘤细胞时，可在无菌条件下抽取胸腹水，采集量应不低于20 mL。

## 7.3 样本接收

肿瘤样本的接收前应检查以下内容：

- a) 检查整体运输包装是否破损，样本保存是否密封完整，是否存在污染异常，检查样本包装标签或标记是否清晰；
- b) 检查样本运输环境是否符合相应的样品运输保存条件。为满足原代肿瘤细胞分离的要求，原代肿瘤样本应保存于样本保存液（DMEM+5 % FBS+1 % 抗生素）中，在 4℃～8℃ 条件下进行低温保存和运输，采集结束到操作开始时间不超过 12 h；
- c) 检查样本供者信息、样本信息及相关检测报告是否齐全。

## 7.4 细胞的分离和原代培养方法

7.4.1 实体瘤样本宜选择组织块法或酶消化法进行原代细胞分离。

7.4.2 胸腹水样本宜采用直接离心法收集肿瘤细胞后直接进行培养。

7.4.3 肿瘤细胞培养初期，培养瓶应轻拿轻放，避免组织块和细胞脱落；培养期间应通过显微镜观察记录细胞生长状态。待细胞融合度达到 80 % 以上时，可进行细胞纯化和传代。

## 7.5 细胞的纯化

肿瘤细胞的纯化宜采用机械刮除法、反复贴壁法、消化排除法、密度梯度离心法中的一种或多种方法联合。

## 7.6 细胞的传代和冻存

7.6.1 根据原代细胞融合度或聚团大小，判断是否可以进行传代操作，传代操作应即时、迅速、密度适宜，并在符合 GMP 要求基础上严格执行，并有严格的质量控制，需有明确的细胞鉴别特征，无外源微生物污染。

7.6.2 细胞数目达到冻存要求的细胞系，可进行冻存操作。冻存细胞需加入适当的冷冻保护液，遵循程序降温的原则，并在符合 GMP 要求基础上严格执行，有严格的质量控制，需有明确的细胞鉴别特征，无外源微生物污染。

## 7.7 细胞的复苏

肿瘤细胞的复苏操作宜参考SZDB/Z 126-2015中7.8进行。复苏期间宜对肿瘤细胞进行复苏活性和数量检测。

## 7.8 入库管理



7.8.1 样本的入库前，应对入库样本进行编码标识，并由细胞库管理员根据样本质量评估其是否符合入库要求。

7.8.2 肿瘤细胞样本无菌检测、支原体检测、内（外）源病原因子检测结果应为阴性。

7.8.3 肿瘤细胞样本种属鉴定、细胞系/细胞株鉴定结果应符合细胞样本为无种属及种间污染。

7.8.4 肿瘤细胞存活率测应符合细胞系冻存前的存活率应不低于 90 %。复苏后的细胞存活率应不低于 80%。

7.8.5 样本存储期间，应该实时检查和监控细胞库存储环境和设备运转的正常状态。

## 7.9 出库管理

### 7.9.1 细胞发放出库

7.9.1.1 样本发放需提交发放申请，对于发放的肿瘤细胞样本使用范围进行详细说明；申请审核通过后，肿瘤细胞库管理员提交细胞出库申请放行单，并安排经过合格培训的实验室操作人员进行下一步的操作。

7.9.1.2 细胞库中肿瘤细胞样本以临床细胞制剂形式应用于临床治疗时，如肿瘤细胞疫苗。实验室出库负责人员需核对库存细胞信息和细胞使用者信息，制定严格的细胞发放计划，由实验室出库负责人员填写能够记录细胞储存位置变更的相关文件后，由质控人员监督从液氮罐中取出需要的细胞进行使用。

7.9.1.3 细胞库中肿瘤细胞样本提供科学研究使用时，需保证细胞供者在充分知情并签订知情同意书的情况下完成细胞出库，由实验室出库负责人员填写能够记录细胞储存位置变更的相关文件后，由质控人员监督从液氮罐中取出需要的细胞进行使用。

7.9.1.4 样本的发放应建立及时有效的反馈制度，对已发放细胞样本的使用情况反馈进行处理。

### 7.9.2 细胞转移出库

7.9.2.1 肿瘤细胞库内部因整改、扩容或评估冻存干细胞质量等情况而需要进行细胞转移时，按照细胞转移操作规范进行转移操作。

7.9.2.2 细胞转移操作应确保细胞及其冻存容器的温度在-135℃以下，且转移过程要做好相应记录。

### 7.9.3 细胞销毁出库

7.9.3.1 样本的废弃应提供细胞废弃申请书，注明废弃原由，同时保证样本来源供者对废弃样本的知情同意；

7.9.3.2 应对样本的销毁进行记录，包括销毁的原因、批准和执行销毁的日期、销毁的操作人员等。

## 8 质量控制与风险评估

### 8.1 质量控制

8.1.1 肿瘤细胞库必须制定样本采集、肿瘤细胞制备、检测、储存的规章制度、操作规程，以便工作人员在常规操作中对材料、试剂和设备进行质量控制。

8.1.2 确保完成必要及相关的检验，确保只有符合质量要求的标本、试剂耗材、培养液、一次性无菌用品方可投入使用，符合质量要求的肿瘤细胞方可储存。

8.1.3 应建立不合格品管理机制并实施。

## 8.2 风险评估

8.2.1 应事先对肿瘤细胞样本整个制备入库过程进行评估，可采取回顾或者前瞻的方式，持续进行危险识别、风险评估和实施必要的控制机制。

8.2.2 应制定合理的风险控制程序，以规定与产品安全相关的风险的识别、分析、评价和控制的过程和方法，以保证风险管理的有效性，从而确保产品的安全性和有效性。

8.2.3 应依据细胞是否受微生物感染、是否存在交叉污染、是否存在异常突变、是否来源于转基因物种等因素对每株细胞行风险评估，并按照风险等级将细胞进行分类管理，同时及时公布和严格管控存在风险的细胞操作和出入库。

附 录 A  
(资料性附录)  
知情同意书

项目名称：项目收集单位：

项目简介：

A. 1 我们在征得您同意的情况下，收集您的：

☐ 血液 ( ) mL    ☐ 组织体积 ( ) cm\* ( ) cm\* ( ) cm 或 组织直径 ( ) mm  
☐ 胸腹水 ( ) mL

A. 2 我们的项目在遵守国家宪法、法律、法规和有关文件的前提下已经独立开展了伦理审查和批准工作和活动。

A. 3 您享有的权益

自由、自愿选择捐献您的肿瘤样本给 XXX，您可以在任何时候无任何理由要求退出，我们将终止使用您的样本并对它进行销毁，此举不会对您的医疗或者其他方面的利益造成损失。

A. 4 您需要做的事

告知样本采集人员有关自身或家族史、当前身体状况、是否正在使用某些药物、曾经是否参与其他研究、目前是否正参与其他研究等信息。

A. 5 收益

您的样本将被用于保存及科学研究，我们希望基于您的样本所得到的研究结果未来将对疾病的诊治有所帮助。您将不会分享样本的研究成果和成果产生的相关收益（另有协议约定的情况除外）。

A. 6 风险与不适

抽取血液和胸腹水样本，我们按照医院常规采集流程进行，若出现不适，将按照医院常规方法处理。

A. 7 隐私和保密

您的样本将以样本编号的方式而非您的姓名进行标识，您的个人信息将进行保密，包括姓名、出生日期、电话、住址等可识别个人身份的信息。您的样本可能被赠送或转让给其他单位的研究合作者用于

研究，我们保证所有信息将被妥善处理与管理，我们不会向任何人和机构透露您的个人信息，公开发表的出版物中也不会包含您的个人信息。

A. 8 费用

您无需承担因收集留存样本而产生的费用。

A. 9 捐献退出

在采集和捐献过程，您可以随时自由地中途退出，并提出中途退出原由。当您决定退出本次捐献后，我们将停止收集您与本次捐献和相应项目有关的新数据，不会继续使用或者透露已经收集到的您因参加此次捐献的相关信息并且及时将其销毁。

A. 10 疑问诉求：

如果您有任何关于项目的疑问，可现在向我们提出。如果将来您还有什么问题，请联系： XXX，电话： XXX，邮箱： XXX，网站： XXX，地址： XXX。

第二部分 知情同意签名

告知声明

我已告知该捐赠者可能的风险及获益情况，给予他/她足够的时间阅读、与他人讨论知情同意书，并解答了其相关的问题；我已告知该捐赠者当遇到与自身权利/权益相关问题时可随时与 XXX 生命伦理委员会联系，并提供了准确的联系方式；我已告知该捐赠者将得到这份知情同意书的副本（共两页），上面包含我和他/她的签名。

样本采集者签名

日期

知情同意声明

我已详细阅读了知情同意书，样本采集人员已向我作了详尽的说明，我完全了解参加本次样本采集的目的、我的权益和风险等，并确保个人信息是保密的。

我自愿参加本次样本采集，并同意按照《知情同意书》的内容配合取样人员的操作，认真完成本次采样。本知情同意书共两页，我将得到签名后的知情同意书复印件。

我声明

- 我同意捐献我的肿瘤样本给 XXX；
- 我允许我的样本及数据将来用于所有经 XXX 生命伦理委员会批准的研究项目。

捐赠者签名：

日期：

（当捐赠者无法签署知情同意书时，替换为以下方式）

法定代理人签名

日期：

与捐赠者的关系：

附 录 B  
(资料性附录)  
肿瘤样本捐赠者基本信息表

表B.1 肿瘤样本捐赠者基本信息表

姓名:	住院登记号:
年龄:	性别:
联系地址:	
联系电话:	邮编:
吸烟(年):	吸烟(支/日):
饮白酒(年):	饮白酒(两/日):
病史:	
家族史:	
简要病情及手术原因介绍:	
术前治疗:	
手术名称:	
手术时间:	年 月 日 时 分
切除部位:	组织切除量:
手术情况记录:	
手术医生签名:	随同手术人员签名:
家属确认签名:	日期: 年 月 日 时
病理描述及拍照(附照片):	
病理医生签名:	日期: 年 月 日 时 分
肿瘤组织样本交接情况:	
交接人:	日期: 年 月 日

附 录 C  
(资料性附录)  
肿瘤样本信息表

表C.1 肿瘤样本信息表

捐赠者基本信息			
捐赠者姓名		捐赠者 ID	
性别	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	出生日期	
样本收集与处理信息			
样本类型		样本编号	
采样日期		样本采集人员	
样本采集量			
处理方法	(温度、操作):		
处理开始时间		处理完成时间	
样本信息			
样本编码	肿瘤类型	取材数量	组织质量(A 或 B 或 C)
运输保存			
保存条件		保存温度	
运输方式		运输时间	
备注			

## 参 考 文 献

- [1] 《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则（试行）-cFDA》. 2015.
  - [3] 季加孚, 袁志宏, 步召德. 肿瘤组织标本库常用实验技术手册[J]. 2006.
  - [4] 于颖彦, 刘炳亚, 朱正纲. 肿瘤组织库建立的进展及意义[J]. 诊断学理论与实践, 2009, 8(1):9-11. 29(2):104-105.
  - [5] 万美容, 刘福民, 刘小云. 肿瘤组织库的建立与管理[J]. 徐州医学院学报, 2009.
  - [6] Campos A H, Silva A A, Mota L D, et al. The value of a tumor bank in the development of cancer research in Brazil: 13 years of experience at the a C camargo hospital[J]. Biopreservation & Biobanking, 2012, 10(2):168-173.
  - [7] Douglas Hanahan et al. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell. 2011. 144(5):646-74.
  - [8] Plymoth, Amelie, and Pierre Hainaut, eds. Common minimum technical standards and protocols for biological resource centres dedicated to cancer research. International Agency for Research on Cancer, 2007.
  - [9] Salminenmankonen H, Litton J E, Bongcamrudloff E, et al. BBMRI – The Pan-European research infrastructure for Biobanking and Biomolecular Resources: managing resources for the future of biomedical research[J]. Embnet News. 2009. 15(2):3-8.
  - [10] Watson, Peter H., Linda Snell, and Michelle Parisien. "The NCIC-Manitoba Breast Tumor Bank: a resource for applied cancer research[J]. Canadian Medical Association Journal. 1996. 281. 155(3):281-283.
-