

ICS 07.080
CCS C 04

DB4403

深 圳 市 地 方 标 准

DB4403/T 123—2020

肿瘤细胞库的建设与管理规范

Tumor cell bank construction and management specification

2020-11-23 发布

2020-12-01 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 肿瘤细胞库机构设置	1
5 建设与环境要求	3
6 肿瘤细胞库管理要求	3
7 肿瘤样本处置	5
8 肿瘤细胞入库与出库	6
9 质量控制与风险评估	7
参考文献	9

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由深圳市发展和改革委员会提出和归口。

本文件负责起草单位：深圳华大生命科学研究院、深圳市标准技术研究院。

本文件主要起草人：岳建辉、叶晶晶、樊阳波、李睿、刘国洲、黎泽龙、侯勇、王博、张曦、何旭珩、李启沅、陈振家。

肿瘤细胞库的建设与管理规范

1 范围

本文件规定了肿瘤细胞库的机构设置、建设和环境要求，以及肿瘤细胞库的管理、肿瘤样本处置、肿瘤细胞入库与出库、质量控制和风险评估的要求。

本文件适用于人源肿瘤细胞库的建设和管理。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件，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 18467—2011 献血者健康检查要求

GB 19489—2008 实验室生物安全通用要求

GB/T 20988—2007 信息安全技术信息系统灾难恢复规范

DB4403/T 122—2020 人源肿瘤细胞系建立技术规范

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 tumor cell

肿瘤实质部分的基本组成单位。

注：肿瘤细胞根据分化的特性可分为良性肿瘤细胞和恶性肿瘤细胞。

3.2

原代培养 primary culture

直接从机体取下器官、组织或细胞后进行的首次培养。

3.3

供体 donor

提供肿瘤样本的捐赠者。

4 肿瘤细胞库机构设置

4.1 总则

4.1.1 应建立统一领导、分级管理、职责明确的细胞库管理机构，并实行最高管理者负责制。

4.1.2 应建立细胞库运行机构，与细胞库管理机构共同负责细胞库建设的规划、组织协调、运营和日常工作的执行与落实

4.1.3 应建立伦理审查、科学审查和安全审查机制，由独立的生物安全委员会、伦理委员会和科学委员会负责审查等工作。

4.1.4 细胞库的运行架构,如图1所示。

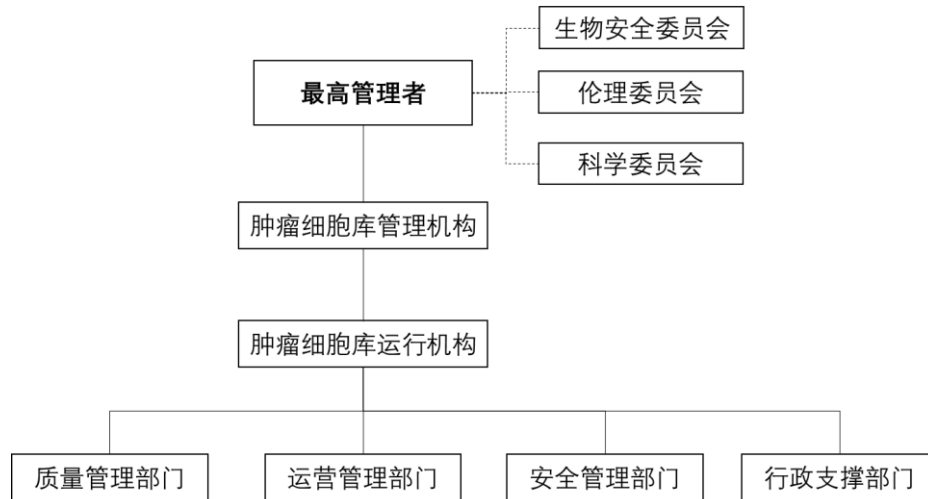


图1 细胞库的运行架构图

4.2 职责与资质要求

4.2.1 最高管理者

4.2.1.1 应具备生物学或医学相关教育背景，并有相关行业10年以上管理经验。

4.2.1.2 对细胞库的运作具有最高裁决权，负责制定肿瘤细胞库的目标和总体方针，建立管理体系并确保有效运作，监督和管理各职能部门。

4.2.2 生物安全委员会

4.2.2.1 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。

4.2.2.2 负责肿瘤细胞库的生物安全政策和安全操作规范的审查。

4.2.3 伦理委员会

4.2.3.1 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。委员人数应根据细胞库规模确定，且总数应为奇数。

4.2.3.2 负责建立肿瘤细胞库的伦理准则和相应的伦理操作规范，对细胞库的各项活动进行伦理审查，对相关方提供伦理方面的指导与咨询。

4.2.3.3 负责对已通过审查或正在进行的项目进行伦理监督，遵循细胞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，保证细胞提供者和相关人员的利益和安全。

4.2.4 科学委员会

4.2.4.1 应由生物或医学领域专家组成，成员应有主持或参与大型科研项目的经历，或有 10 年以上生物或医学领域工作经验。

4.2.4.2 负责对生物样本采集和使用的方案进行科学性审查。负责对细胞库中样本采集、存储和使用等技术环节进行科学审查。

4.2.5 肿瘤细胞库管理机构

4.2.5.1 应由生物或医学相关专业背景，且具有生物或医药行业 3 年以上管理经验的人员组成。

4.2.5.2 负责肿瘤细胞库建设的规划、组织协调、运营。

4.2.6 肿瘤细胞库运行机构

4.2.6.1 应由具有相关工作经验且能承担肿瘤细胞库工作的生物、医学、信息技术等各领域专业人员组成。

4.2.6.2 负责肿瘤细胞库日常工作的执行与落实，包括细胞样本的采集与处理、出入库管理、质量管理、安全管理以及日常行政工作。

5 建设与环境要求

5.1 建设布局

5.1.1 肿瘤细胞库场地要符合长久储存要求，避免频繁更换储存场地。

5.1.2 肿瘤细胞库的设计及建造应符合 GB 19489—2008 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。

5.1.3 肿瘤细胞库平面布局应合理清晰，宜设置行政办公区域、样本库区域、档案存放区域、机房区域（电子信息储存），且各区域相互独立，不应交叉混合使用。行政办公区域设计应符合 GB 19489—2008 第 5 章实验室设计原则及基本要求的规定，与进行细胞操作的实验区域之间应利用实体水泥构筑物进行物理隔离。

5.1.4 根据细胞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。

5.1.5 肿瘤细胞库的建设应由具有相应资质的施工单位进行。建设所用材料应符合要求，达到防强酸、防强碱、防震等效果。细胞库建设完成后，各功能区域的洁净级别应由专业的检测人员进行检测并出具合格证明。

5.1.6 肿瘤细胞库应进行配套的信息化管理系统建设，包括但不限于细胞样本接收管理系统、生产管理系统、出入库管理系统、环境监测系统等。信息化管理系统建设应立足于支撑肿瘤细胞库的运营、管理和服务全过程。

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 肿瘤细胞库的环境监测系统应实时监测并记录肿瘤细胞全库各区域的环境变化。肿瘤细胞库的超低温或深低温存储设备，应安装自动远程监控报警系统。

6 肿瘤细胞库管理要求

6.1 人员管理

6.1.1 人员培训与考核、档案管理应符合 SZDB/Z 188—2016 中 6.1 的规定。

6.1.2 肿瘤细胞库工作区域应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 应建立工作人员健康档案，每年至少体检 1 次，符合所在岗位健康要求方可上岗；发生职业暴露人员应暂时调离工作岗位，再次上岗前应体检合格并取得主管人员的批准。

6.2 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 6.3 规定，存储物料应具有严格的文件记录制度，物料的使用信息应可溯源。

6.3 设备管理

6.3.1 肿瘤细胞库的设备主要包括生物安全柜、离心机、二氧化碳培养箱、细胞计数仪、程序降温仪、液氮罐。

6.3.2 设备管理应符合 SZDB/Z 188—2016 中 6.2 规定，易造成交叉污染的设备应避免共用。

6.4 文件管理

肿瘤细胞库的文件管理应符合 SZDB/Z 185—2016 中 8.5 规定。

6.5 信息化管理

6.5.1 系统组成

肿瘤细胞库的信息化管理系统主要由细胞样本接收管理系统、生产管理系统、出入库管理系统组成。各部分功能如下：

- 细胞样本接收管理系统用于申请肿瘤细胞样本的捐赠申请、知情同意书的签署、肿瘤细胞样本运输、接收等信息的记录和查询；
- 生产管理系统用于细胞库操作人员记录肿瘤细胞的原代分离、培养、传代、质量检测等信息的记录、查询和管理审核；
- 出入库管理系统用于肿瘤细胞样本的入库、在库和出库管理。

6.5.2 数据管理

6.5.2.1 信息化管理系统应采取分密级控制、数据访问控制、防篡改和防窃取控制等措施。

6.5.2.2 应指定专人负责保管备份数据，并定期进行完整性和可恢复性校验。

6.5.2.3 应使用通用术语、规范格式和统一编码规则定义样本信息。

6.5.2.4 应对肿瘤细胞样本信息、个人隐私信息等实行分类管理。

6.5.2.5 应按照统一规则对数据做修改、备份、销毁、更新等操作，并保存操作日志记录。

6.5.3 运行管理

6.5.3.1 应建立规范化的日常操作流程和关键操作复核机制。

6.5.3.2 应建立详细的信息化系统运行日志和故障日志，及时修补漏洞和升级系统，并定期进行审核、备份。

6.5.3.3 应按照 GB/T 20988—2007 中灾难恢复能力等级第 1 级的要求开展灾难备份工作，对于样本信息的备份应遵循安全性、可追溯性原则。

6.6 安全管理

6.6.1 应具备完善的实验室安全管理制度，同时对工作人员应进行严格的安全培训，培训内容应包括消防安全、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，各类安全要求应符合 SZDB/Z 188—2016 中 6.9 要求，且实验操作人员应定期进行安全演习。

6.6.2 应建立完整的实验室环境安全监控和应急预警体系，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，具备实时监控、及时预警和自动响应。

7 肿瘤样本处置

7.1 供体筛查与信息收集

7.1.1 用于肿瘤细胞分离培养的组织应进行筛选，供体的排除标准宜包括：

- 病理类型为混合型；
- 人源特定病毒检测结果不符合 GB 18467—2011 的规定；
- 有精神障碍；
- 伴有其他免疫性疾病，或长期应用免疫抑制剂或激素；
- 医生认为其他不适合情况。

7.1.2 应收集捐赠者和肿瘤样本的基本信息，可参考 DB4403/T 122—2020 中附录 A 和附录 B 进行填写。

7.2 样本采集

7.2.1 基本要求

肿瘤细胞库应针对不同类型的肿瘤样本制定相应标准采集方法和管理制度，并在符合 GMP 的标准上严格执行。肿瘤样本的采集需由专业的医护人员进行。

7.2.2 实体瘤样本采集

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 根据细胞培养和检测需要，应采集具有典型生物学特征的肿瘤组织、癌旁组织和正常组织。实体瘤样本的直径宜不低于 5 mm。

注：正常组织宜选择距离癌旁组织 5—10 cm 进行取样，或者根据需求方要求的其他标准进行取样。

7.2.3 胸腹水样本采集

经检测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，采集量宜不低于 20 mL。

7.3 样本接收

7.3.1 样本保存和运输应满足以下要求：

- 样本应保存在规定的样本保存液中（如含抗生素的细胞培养基）；
- 样本保存和运输应在 4℃~10℃ 条件下进行；
- 样本运输时间宜不超过 12 h。

7.3.2 肿瘤组织样本在接收前应检查以下内容：

- 样本保存是否密封完整；

- 整体运输包装是否无破损；
- 样本包装标签或标记是否清晰；
- 样本供者信息、样本信息及相关检测报告是否齐全。

7.4 肿瘤细胞原代培养

- 7.4.1 实体瘤样本宜选择组织块法或酶消化法进行原代培养。
- 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 肿瘤细胞的分离和培养宜依据 DB4403/T 122—2020 中 6.1 和 6.2 的要求。
- 7.4.4 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和记录细胞生长状态。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

肿瘤细胞的纯化宜依据 DB4403/T 122—2020 中 6.3 的要求，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进行。

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。在符合 GMP 实验室条件下进行传代操作，操作应及时、迅速、密度适宜。细胞的传代宜依据 DB4403/T 122—2020 中 6.4 的方法进行。
- 7.6.2 细胞数目达到冻存要求的细胞系，可进行冻存操作。在符合 GMP 实验室条件下，采用合适的冷冻保护液进行肿瘤细胞冻存，并遵循程序降温的原则。
- 7.6.3 细胞的冻存宜依据 DB4403/T 122—2020 中 6.5 的方法进行。

7.7 细胞的复苏

细胞的复苏操作宜依据贮存细胞的种类、数量、冻存方式、预定用途制订相应的复苏标准规程。复苏过程中应保证细胞或样品的密封性，不能造成泄漏、污染或混淆，并对复苏的细胞活性和数量进行检测。

8 肿瘤细胞入库与出库

8.1 细胞入库

- 8.1.1 应对入库的肿瘤细胞样本进行编码标识，于最小包装上贴附标签，标签的编制规格宜符合 SZDB/Z 188—2016 中 6.5 的规定。
- 8.1.2 肿瘤细胞应满足基本质量要求，包括：
 - 无菌检测、支原体检测、内（外）源病原因子检测结果应为阴性；
 - 应进行种属鉴定（如 STR 基因分型），应无细胞种属间和种属内细胞交叉污染；
 - 肿瘤细胞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%；
 - 应进行肿瘤细胞系典型的生物学特征检测和鉴定，宜根据 DB4403/T 122—2020 中附录 F 选择相应的肿瘤细胞标记物进行鉴定。
- 8.1.3 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。

8.2 细胞出库

8.2.1 发放出库

8.2.1.1 细胞发放需提交发放申请，对于发放的肿瘤细胞的使用和研究范围进行详细说明；经审核通过后，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人员进行出库操作。

8.2.1.2 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细胞储存位置变更的相关文件后，在质控人员监督下进行细胞发放。

8.2.1.3 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。

8.2.1.4 细胞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进行收集、记录。

8.2.2 转移出库

8.2.2.1 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。

8.2.2.2 细胞转移操作应宜采用专用的细胞转移设备，且应对细胞转移过程中的温度变化进行监控和记录。

8.2.3 销毁出库

8.2.3.1 样本的废弃应提供细胞废弃申请书，应征求供体对废弃样本的知情同意，肿瘤细胞应按照医疗废弃物销毁原则进行处理。

8.2.3.2 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。

9 质量控制与风险评估

9.1 质量控制

9.1.1 肿瘤细胞库应制定包括质量手册、管理性文件、标准操作文件及相关记录的标准质量管理体系。

9.1.2 肿瘤细胞库应制定样本采集、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。

9.1.3 物料、耗材应完成相关的质量检验，符合质量标准的标本、试剂耗材、培养液、一次性无菌用品方可使用。

9.1.4 对不同类型的肿瘤细胞，应建立相应的细胞分离、传代、冻存质量标准和检测流程，符合质量标准的肿瘤细胞方可进行储存。

9.1.5 应建立不合格品管理机制并实施。

9.2 风险评估

9.2.1 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。

9.2.2 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。

9.2.3 应依据细胞受微生物感染、交叉污染、异常突变、转基因物种等风险对每株细胞行风险评估，并依据风险等级对细胞进行分类管理，同时及时公布和严格管控存在风险的细胞操作和出入库。

9.2.4 肿瘤细胞库应建立严格的生物安全及危害性评估方案、生物安全审查制度及生物安全事故应急预案。涉及到感染性物质的操作、运输等行为，应符合以下要求：

- 由受过培训的专门人员进行；
- 使用特定的操作或运输工具；
- 建立完善的记录文件。

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.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Campos A H J F M, Silva A A, Mota L D D C, et al. The value of a tumor bank in the development of cancer research in Brazil: 13 years of experience at the AC Camargo Hospital[J]. Biopreservation and biobanking, 2012, 10(2): 168—173.
- [6] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. cell, 2011, 144(5): 646—674.
- [7] Caboux E, Plymoth A, Hainaut P. International Agency for Research on Cancer: Common Minimum Technical Standards and Protocols for Biological Resource Centres Dedicated to Cancer Research[J]. 2007.
- [8] Salminen—Mankonen H, Litton J E, Bongcam—Rudloff 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.
- [9] Watson P H, Snell L, Parisien M. The NCIC—Manitoba Breast Tumor Bank: a resource for applied cancer research[J]. CMAJ: Canadian Medical Association Journal, 1996, 155(3): 281.
-