

生物标本采集技术规范及 数据库建立指南

(讨论稿)

2006 年 12 月制定

2009 年 12 月修订

国家 863 “肿瘤分子分型与个体化诊治”项目组

“肿瘤基因组”研究重大项目组

中国医药生物技术协会组织生物样本库分会

目录

简介.....	1
背景.....	3
指南概述.....	4
一、技术标准和标准化操作指南.....	4
二、伦理、法律和法规.....	6
生物样本采集和保存操作指南实施细则.....	9
一、采集的生物样本种类.....	9
二、生物样本的贮存和加工.....	10
三、临床资料的收集和数据管理.....	11
四、生物样本采集 SOPs（Standard Operation Procedure）手册.....	12
附件 1：关于使用组织样本开展科学研究的知情同意书.....	14
附件 2：伦理委员会审核意见书.....	17
附件 3：为何要使用生物样本进行科学研究的问答.....	18
附件 4：生物样本交接协议书.....	20
附件 5：肿瘤样本采集的基本技术标准.....	23
样本采集登记表.....	24
附件 6：项目合作协议.....	25
附件 7：临床研究队列入组标准.....	26
附件 8：国际肿瘤基因组协作研究（ICGC）肿瘤组织样本质量标准.....	27

简介

目前在世界范围内开始进行肿瘤分子分型和个体化诊治的研究。这项研究能否获得实质性进展取决于一个最基本的问题，即研究用生物样本的质量和数量，包括符合临床诊治规范的临床研究队列，高质量、严格按照 SOPs 收集的组织样本和详细的临床、病理、治疗与随访等资料。

实际上做到这一点在操作上有相当的难度。以科技最发达的美国为例，为了保证高质量标本采集和完整数据库的建立，过去的多年中美国国立癌症研究(NCI)每年都投入约 5000 多万美金的专项基金用于生物资源标本库的建立; Relax — it's not your money they're after. 近期, Folks at the National Cancer Institute (NCI) are heading up an effort to establish the US's first national biobank — a safe house for tissue samples, tumor cells, DNA and, yes, even blood — that would be used for research into new treatments for diseases. 美国 NCI 正在为建立美国第一个国家“生物银行”而奔走努力。“生物银行”是一个存放组织样本，肿瘤细胞、DNA 甚至血液的生物样本库----主要用于研究治疗疾病的新方法。目前，美国国立癌症研究所（NCI），生物资源和生物样本（OBRR）办公室正在努力从事这项工作。 预计近期 By fall, the group hopes to have mapped out a plan for a national biobank; the recent stimulus showered on the government by the Obama Administration might even accelerate that timetable 可制订出筹建国家“生物银行”的实施计划，奥巴马政府也在积极促成这一计划的实现。

其中还不包括大量研究课题本身具有采集生物样本的任务。其他发达国家均以类似的方式进行这项工作中。这项工作最大的问题是如何按照相对统一的标准进行样本采集和开展研究工作。因为，这样一项研究决不可能由一个单位或几个实验室完成，以近来发表在 NATURE 的几种疾病基因变异相关性研究，所用的病例数达到 14, 000，共同对照 3000，参与的医疗机构超过百余个。我国的一项发表在 NATURE GENETICS 的基因多态性与肿瘤相关性研究，采用的病例和对照分别达到近 5000 例。这一结果表明，研究队列和生物样本是决定我国在这一领域中自主创新能力和国际竞争力的关键问题。

已有事实表明，现代肿瘤研究是以规范化诊治的多中心临床队列建立为基础；以获得高质量肿瘤样本和系统临床随访资料为核心。这二项已成为国际生物医药领域竞争的决定性因素，也是转化医学研究的基础。

因此集成我国肿瘤资源、人才和技术的优势，发挥我国在肿瘤研究领域的作用，提升创新能力和参与国际竞争具有重要意义。

目前，我国在这一领域已具备一定的条件。许多大型医疗科研机构已开展了一些关于生物样本采集和临床数据库建立的工作。但是，这些生物样本采集工作基本上是科研人员自发的、零散的、缺乏系统的设计和规划。主要目的是为眼前的课题研究，无固定经费支持，缺少具有法律保障的伦理监督、缺乏长远打算，管理使用无序，低水平重复和浪费现象严重。

为了促进我国人口与健康领域战略目标的实现、建立和推动我国“组学及系统生物学”整合医学和转化医学的发展，特别是提升我国在这一领域的整体创新能力和国际竞争力。建立国家层面上的生物样本库,将包括肿瘤在内的重大疾病和高危人群研究队列建立、生物资

源采集、储存和使用与具体研究工作进行有机整合。其中研究队列建立、规范化生物样本采集和使用。保障有足够数量的生物样本可用于科学研究和技术开发。

成项目将在竞争力。结合“十二五”结合“十二五”的主要支持方向，在国家高技术发展 863 计划资助的<肿瘤分子分型与个体化诊疗>和<肿瘤基因组项目>是以规范化肿瘤多中心临床研究队列建立和生物样本规范化采集为基础的.肿瘤生物样本采集包括手术冰冻标本、石蜡标本以及血液标本。对入组的临床样本和数据进行科学实验鉴定和系统分析。在此基础上建立并完善肿瘤分子标志谱临床研究专用的样本采集和应用体系，包括技术规范、资源库和实验分析数据库。为此参照美国 NCI（2006 年）与国际肿瘤基因组研究协作组（ICGC，2008 年）制定的生物样本采集技术规范，结合我国的现状和多年的实践经验提出本项目拟实施的技术规范供研究项目实施时参考。

背景

近年来通过对肿瘤临床和基础研究资料的系统分析和总结表明，提高早诊率及合理治疗水平是延长肿瘤患者生存期和改善生活质量的关键。

以往的研究通过筛选和鉴定出一些肿瘤相关的分子标志物，发展了用于临床样本的检测方法，并具有较好的特异性和敏感性，能将分期及组织病理学类型相同的病例按临床生物学行为及预后划分成为不同的亚群。但是这些研究结果往往缺乏系统的、大样本，前瞻性临床验证，其临床生物学意义和价值有待进一步确定。

有鉴于此，实现这一目标的关键是能否将基础性的工作做好，做到位。为此，首先需要有一个相对统一的标准。美国 NCI 和 TCGA 对所资助的生物标本采集项目提出了统一的标准，他们根据多年来工作中总结的经验和遇到的问题，通过多方面的沟通和讨论制定了一个规范化、可操作的生物样本采集和质量评价标准。

高质量生物样本库建设也是现代医院建设和管理的重要组成部分之一；同时也是与国际同行交流和合作的物质基础。为了使研究工作能够取得实质性进展和持续发展，我们十分有必要在一开始的基础性工作中既突出课题研究所用生物样本的采集和评价标准。为此，参照美国 NCI（2006 年）和 ICGC（2008 年）制定的生物样本采集技术规范，结合我国目前的实际状况和课题研究的要求制定肿瘤生物样本采集技术规范，以保证课题研究所用样本的统一，临床资料的可整合性及各种科研活动的透明度。

指南概述

一、技术标准和标准化操作指南

1. 标本的收集、加工、储存、检索和推广使用

1) 根据不同的标本类型和使用目的,采用最适的条件对生物样本进行筛选,收集和加工,并配有系统的资料和可靠的数据。

2) 参照标准操作流程(SOPs)建立技术档案以供研究使用。

3) 设立一个清楚明确的解释标准以保护生物样本提供者的隐私。通常使用以代码代替身份的隐藏方式或者完全匿名的方式予以保护。

4) 用数据化的管理系统进行分类管理。设计统一,专一和唯一确定的号码格式标记样本,并附有所需的资料信息。管理系统必须具有安全保密措施并设定相对应的访问权限。

5) 建立统一的综合质量管理体系,记录必须严格按照质量控制进行标准化,尽量避免可能出现的人为误差,所有数据应录入统一规范的数据库,实现计算机化管理并随时备份,并能及时发现不符合规范的录入记录。

6) 必须保证工作人员的科学素质和工作质量,人员上岗前必须经过标准操作规程(SOPs)培训和考核。上岗后的继续培训需要由质量分析(QA)人员进行定期和不定期的监督,并决定如何实施。

7) 必须在病理医生指导下进行组织标本的采集,并配有系统和精确的临床资料,包括患者的治疗过程和随访资料。

8) 要有标准化的存储环境,根据不同的组织标本类型、储存的时间及对生物活性物质保存的要求选择不同的温度(4、-20、-80、-130、-196 C)。这些存储设备的温控需要有自动的检测以及足够的安全保障。

9) 建立生物样本处理的原则并严格执行,应考虑样本储存数量与空间的关系,以保障足够空间备用,重要研究项目必备的样本采集要预留空间。

10) 尽可能在最短的时间内完成将样本的采集(应该保证30分钟完成,不适当的处理时间将直接影响和干扰研究的结果),应尽快降低所采集组织样本的温度。对于其他类型的生物样本应根据具体的实验研究目的和要求执行。

11) 建立详细的电子文档资料样本目录,以便取出样本时查询。尽量保障样本存储器工作状态和温度的稳定。

12) 建立标准的操作规程对用于样本长期保存的设备的性能进行适时监控和定期维护。

13) 根据实验研究的目的选择储存生物样本的容器，在考虑坚固的同时，尽量避免使用含有微量金属的容器。

14) 转运生物样本时，要特别注重包装和运输过程的安全性，建立生物样本转运的登记制度和操作程序。转出方，运输方和转入方都有相关文本予以确认。

15) 在样本转运过程中，应充分考虑到运输的时间、距离、气候、季节和运输方法等因素对温度的影响，对转运过程中所用的设备应根据实验研究的目的进行选择。

16) 用信息系统跟踪所有的生物样本收集、运输和干扰因素，以防止生物样本标记混乱，并要提供详细的注释。

17) 要注重生物样本转运相关的国内、国际法律和法规的要求，备好相应的文件和说明。

18) 严格按照 SOPs 标准定期抽样检查生物样本，以保证储存样本的质量。

2. 临床资料的收集和管理

1) 尽量收集和保存所有与生物样本相关的临床和流行病学资料，包括研究所必需的标准和数据。然后根据可用的信息内容和需要，制定适当的安全保障/数据存取和监控措施以保护隐私。建立临床数据库并在项目内实现共享。

2) 尊重适当的隐私，保护受试者提供的生物样本和相关的临床资料，将生物样本和相关的临床资料统一起来，严格按照国家法律和法规合理使用生物样本和临床资料。

3. 质量保证和质量控制

1) 坚持质量第一,必须建立生物样本库的质量标准和评估标准 (QA/QC)。

2) 要求工作人员受到相应的培训并通过考核。

3) 制定 SOPs 并发放到每个工作人员,SOPs 必须条理清晰、详细并具有可操作性。对 SOPs 的执行中发现的问题应及时进行修正。

4) 建立安全系统,包括设备监控和报警系统和应急措施，特别要保障关键设备停电时还能正常运行。

5) 要有严密的数据管理系统，包括计算机存储跟踪系统和相应的数据安全系统及进入数据库的安全保障措施。

6) 建立保护人员和设备安全的事故风险评估措施并要指定责任人。

7) 必须依照 SOPs 维护所有设备并要有具体措施。

4. 生物安全

1) 确保生物标本的安全性，特别是具有潜在传染性疾病的样本。处理生物标本，至少应按生物安全二级标准执行，参照国家 CDC《分子生物和生物医学实验室安全手册》。

2) 做好实验室人员的免疫接种工作，特别要重视预防肝炎等危害严重的疾病。

3) 建立生物安全保障制度并备有相应的培训课程，注重对所有人员进行生物安全意识培训。

4) 及时发现和评估生物安全风险，随时监测和分析生物安全隐患并采取相应的防护措施。

5. 生物样本库的信息化管理

1) 在收集每一个标本时要指定一个唯一的编号，代表特定的临床类型和流行病资料。使用专一性和统一格式的代码进行标本处理，储存和分类。

2) 放入或取出样本时，每次应及时更新数据库的资料并留下取用记录。

3) 利用数据管理系统整合与生物样本相关联的研究资料，如标本的保存时间，提供样本患者的随访情况，联系方式及样本使用等问题。

4) 严格保护提供样本患者的健康信息，保障个人隐私权力不受侵犯。原则上，同一批标本应指定一人进行统一随访和联系，未经授权的人员不得与样本提供者进行联系。

5) 结合临床试验和研究项目的要求制定有利于学术研究、信息交流和资源共享的管理体系与规则。

二、伦理、法律和法规

1. 知情同意

1) 关于生物样本采集的知情同意，将参照国际通行标准并结合我国目前的具体情况制定，知情同意书的模板应与所采集的生物标本相吻合，并要保证生物样本的合法使用。同时也要考虑基于生物样本开展研究工作获得的数据的公布,及将来开发有商业价值的产品的相关问题。

2) 允许研究人员使用采集的标本用于开展专一性的研究课题，或将来开展新的课题研究。

3) 保障所采集的生物样本和资料数据的使用权。

4) 制定法规用于保障使用生物样本和数据的合约。

5) 对于获得父母或监护人同意采集的儿童生物样本和资料，当儿童到了法定年龄时可允许用于科学研究。

6) 认真考虑 FDA/SFDA 现有的与生物样本采集相关研究的规章制度，和将来可能修改的问题。

7) 制定生物样本和资料档案保留期限的法规，临床生物样本由于质量问题或资料失去保留或应用价值时可处理掉，但处理必须根据统一的规程进行，不得擅自挪作他用。

2. 生物样本和相关数据的使用

1) 制定明确的生物样本使用指导原则，包括临床数据的共享，应符合伦理和相关法规。同时应考虑利用生物样本开展科学研究的特殊性，指导原则应具有一定的灵活性。

2) 确保课题研究者能及时、公正、合理的使用生物样本和相关的临床资料，无须承担过多的行政管理费用。样本的使用按下列程序进行：

研究计划的科学性评价；研究者签署有关生物样本和相关资料的保密协议；样本转运协议；研究者或课题组的科学记录；研究符合伦理和法规；能够支付所使用生物样本的费用。

除此之外，也应对使用生物样本和资料与预期研究结果的相关性进行评价。对于样本使用不当或过量使用的问题也应考虑，通过协调解决。

指导原则适用于所有新采集和现存的样本。

使用生物样本支付成本费用是合理的，收取的费用应仅限于补偿和推广应用的费用。

如果生物样本库由于资金缺乏或其他原因不能进行生物样本的保存并提供高质量的样本供使用，就必需关闭。对已保存的样本应按指导原则进行处理。

要明确样本采集工作人员的职责的权力，并通过法规授予相应的权限，样本使用应避免特权，尤其是使用样本和资料必须按指导原则执行，包括监管人员。

采集和存贮的生物样本以保障开展科学研究为目的，为促进生物医学水平的提高为目标。伦理委员会应当对拟开展的研究项目进行评估。

3. 安全防护

1) 研究机构要保障生物标本库、包括采集和使用生物样本人员的安全。相关的场地设备需要符合国家的相关法规要求和样本库自身的特别要求。对潜在的危险应该以相应的警示

标示清楚标明。对潜在的职业风险以及预防，应对方案在岗前应该充分告知并检验。

- 2) 研究机构应提供行政法规、安全培训措施并进行指导生物样本和资料的安全使用。
- 3) 研究机构的安全措施应适应生物标本库的要求。

4. 管理人员职责

- 1) 负责生物样本采集计划的制定和经费预算，工作职责和考核应与采集样本和相关资料的工作性质一致。
- 2) 生物样本采集的经费预算应包括样本保存、销毁，完成特殊研究课题、分配使用和临床资料分析整理。
- 3) 协调和处理工作中由于经费、专业知识和政策规定方面发生冲突的问题。
- 4) 使用通俗易懂的语言或文字，向生物样本提供者解释利用生物样本开展研究工作的意义、产生的技术方法、产品或科学发现的商业的价值。
- 5) 负责组织和管理工作。对组织库运行过程中发生的质量问题进行监督和整改。

5. 知识产权

- 1) 按照研究目的，从生物标本库中获得所需样本和资料，在文章发表、专利和成果奖励申请和时应注明。
- 2) 参与项目研究任务的单位和个人提供生物样本和相关资料，将根据其数量和质量享有相适应的知识产权。
- 3) 利用生物样本通过进一步的科学研究获得的重要发明和成果应归属研究的发现者，若遇争议应由相关的学术和伦理委员裁定。

生物样本采集和保存操作指南实施细则

一、采集的生物样本种类

1. 根据课题的总体研究目标，在保障医疗工作的前提下，每种肿瘤主要采集 3 类生物样本，并要保证这些样本的质量和数量能够用于 DNA、RNA 和蛋白质提取及满足相关的实验分析。

1) 新鲜组织(包括手术和活检组织)

a) 临床诊断明确，未经放疗和化疗的手术切除标本，在病理医生指导下取材。

b) 尽量保证癌组织没有坏死（有坏死的标本很难提取高质量的 RNA 和蛋白）。

c) 配对“癌旁组织”，选择距离癌灶边缘 3 cm 范围内的组织样本，配对“正常组织”，要选择距癌灶边缘 5 CM 以上或距离癌灶边缘最远段（或手术切缘处）取组织样本，应注明距离。对于空腔器官，如食管、胃、肠、胆囊、膀胱等，“癌旁组织”“正常组织”应取相应部位的“粘膜组织”样本。

d) 在保障病理学检测所需标本的前提下，尽量提供足量的肿瘤和癌旁正常组织，一般不少于 200mg 或 10^7 细胞。

e) 手术切除的组织样本必须迅速置于液氮中，然后保存于液氮罐或-80℃冰箱，这一过程尽量在手术标本离体后 30 分钟内完成。

f) 其中一块组织可用 OCT 处理后冻存，可用于形态学观察和显微切割。

2) 石蜡包埋组织

a) 中性福尔马林固定手术切除标本按病理学操作规范进行取材

b) 取材部位包括癌灶，以及癌灶周围 3cm 以内的癌旁组织，3~5cm 的近癌组织和 5cm 以外的远癌组织或距癌灶边缘最远段分别取 2-3 块。取材尽量以癌灶为中心水平向两侧取材，尽量保证足够大的组织样本。取材应该以“远癌-近癌-癌灶”的顺序。癌灶处取材包括癌与正常组织的交界及肿瘤浸润最深处。所有取材的组织块应标明取材部位。

c) 采集完整的临床病理和随访资料，其中治疗过程和生存期的资料最为关键。

3) 血液（包括血浆、血清）

a) 及时采集入组病例的外周血标本,初诊患者 3-5 ml，EDTA 抗凝，3000rpm 离心，血浆和有形成份(白细胞成分)分别用统一质量标准的容器保存（尽量在 2 小时内完成血浆的分离工作）。

- b) 特殊病例要保存治疗前后的外周血标本各 5 ml (血浆或血清)。
- c) 采集的血浆或血清样本在无菌条件下分装, 0.5-1 ML/每管,用螺纹口管, -80 C 保存。
- d) 手术前后血浆或血清, 明确临床诊断后在术前取血, 术后第 14 天或出院前取血。
- e) 化疗前后血浆或血清采集按照临床试验操作规程和技术标准制定。
- f) 非癌患者/正常对照血浆或血清样本, 选择年龄、性别与实验组相匹配的非癌患者为对象。

2、根据研究课题的具体目标, 所采集的生物样本主要用于 3 类实验研究:

1) 测试样本: 主要用于基因、蛋白表达谱建立, 基因组测序分析, 样本质量优先。主要考虑的因素为肿瘤分型和分类, 每一类型要达到统计学小样本数目。

2) 验证样本: 主要用于标志基因变异的确认, 进行 RT-PCR、WB、IHC/ISH、突变检测、ELISA 的实验分析。主要考虑的因素为肿瘤分型、分类和分期, 包括不同阶段癌前病变组织样本, 病理学诊断要明确, 每一类型要保障统计学大样本数目。

3) 分型样本: 主要用于肿瘤标志基因或蛋白的大样本、多中心临床验证, 包括 IHC, ELISA, REAL TIME RT/PCR, 基因/蛋白临床检测芯片的分析。临床随访资料和生存期为考虑的主要因素, 每一类型要保障符合多中心、大样本的统计学要求。

3. 组织芯片制备

组织芯片制作流程包括: 阵列设计、入选样本病理复诊与标记、取芯 (供体蜡块)、点阵 (受体蜡块、切片制成组织芯片):

1) 检测芯片: 主要用于检测标志蛋白表达状况和水平, 可以使用具有明确临床病理学资料但随访时间短或无患者生存期的组织标本制备。

2) 分型芯片: 在用于检测标志蛋白表达状况和水平的基础上, 能够用于临床分子分型研究和评价。所用的组织要求有系统的临床随访和生存期资料, 这是一个关键问题。

二、生物样本的贮存和加工

采集的生物样本分装、标记和保存是十分重要的, 有些样本要在几年或更长的时间以后才会用于实验研究, 因此质量监控和检索的方便尤为关键。要保证实验样本的质量和数量能够在若干年后用于 DNA、RNA 和蛋白质提取和实验分析。

1. 标准化的实验记录, 要提供一个长期的、连续性的资料确保准确反映样本的质量, 以避免在以后的研究中出现偏差。特别是生物样本贮存条件的 SOPs, 包括温度变化的信息和样本质量的关系, 应该每年检查修订一次。

2. 所有生物样本应分装贮存，尽量避免多次反复解冻。长期保存样本的最适保存条件为在液氮或-135℃保存。

3. 生物样本的容器应采用螺口的冻存管，能够在低温下长期储存，玻璃管或弹出式盖子的管子不适合长期储存。

4. 储存样本的标签应采用打印或条形码，储存生物样品的每个容器应有唯一的，清晰明了的识别符号，能够牢固附着在容器上，并能耐受低温储存的条件。所有的相关信息能够和这个唯一的识别符相联系、包含参与研究人员的保密性、数据的安全性和知情同意协议书。

5. 要具有自动化的安全保障系统，不间断的监控样本保存设备的运行状况。特别有价值的生物样本，应该考虑至少在两个不同的位置储存。

6. 需要有专业化的工作人员，特别是具有利用生物样本从事过实验研究经验的人员负责此项工作，并要定期进行专业培训和考核。

7. 为了充分、有效利用生物样本资源，在收集标本的同时有必要开展标本的深加工，如，DNA、RNA、蛋白质的提取和保存，特别是 Tissue Array 的制备。一方面避免标本的使用不当和浪费，另一方面有利于提高课题研究工作的有效率。

三. 临床资料的收集和数据管理

采集的生物样本是否具有重要的科学研究价值，相匹配的临床资料是十分重要的。其中，资料的完整性、系统性和准确性决定生物样本的价值。

另一方面，资料的收集、整理分析和数据的管理也是保障研究结果质量的关键环节。因此，对依赖于生物样本和临床资料的研究项目，资料和数据的信息化管理是保障课题研究正常运行的核心问题。

信息化管理应包括：生物样本收集、处理、保存和应用、QA/QC、临床资料和实验数据的收集、病例随访和评价。

1. 临床资料信息化管理

1) 生物样本和相关的临床资料应采用统一、专一的数据库进行管理。要求使用的数据库支持适合多中心研究的网络化用户环境，有比较全面的分级权限管理，数据能够方便地导出导入为 excel 或 spss 等较通用的数据格式，以便于学术交流和资料汇总。

2) 所有临床资料应基于临床的规范化诊疗，由于分子分型及相关研究最终的评价标准是生存期的长短和生活质量，因此临床治疗过程记录和随访资料要完整，采用的数据库系统能够方便灵活地产生符合各病种 CRF 表格的随访数据格式，并能通过统一的患者编号对样本和随访信息进行关联，以提高临床资料的完整性和数据质量。

3) 与生物样本相关的资料信息应采用一个统一的非重复的编号格式标注并录入数据库，数据库系统能够在保存样本信息的同时自动打印出条形码标签，以提高样本管理的效率，标签的内容能够符合课题组统一制定的格式标准，并能在低温冰箱、液氮灌等低温环境下长期保存。

4) 样本的存放和取样操作要符合统一的规范，以确保样本存放的准确性；应通过条形码扫描在数据库系统中对样本编号进行自动的判读和确认，避免因人为错误导致对错误的样本进行取样；样本的入库、冻融、取样、报损等操作都要留下操作记录，并相应地更新样本的存量和存放位置。

5) 要考虑生物样本和相关资料将用于基因组学和蛋白组学研究的需要，其特殊性和可操作性都要兼顾。

2、实验研究资料信息化管理

1) 与生物样本有关的研究课题需要整体设计，使用生物样本获得的研究资料要集中分析和评价，所有实验数据需要用统一的编号格式标注并录入数据库，实验数据应尽可能采用统一的代码和数值保存，尽量减少纯文本录入，以便对标准化的数据进行统计和分析，提高数据的录入效率和准确性。

2) 利用生物样本进行的实验工作应提供详细的操作规程、技术方法、结果和图表到数据库，以利于进行研究资料的质量分析和评价，保障其准确性。

3) 所有录入的资料要基于原始记录。

4) 每一个样本在收集的时候必须贴上独特的标记（条形码和文字描述），标记能够在低温环境下长期保存，标记的内容有统一的编码，使每一个样本都能够通过唯一的编号进行查找。

5) 数据库必须有安全保障，有防止黑客入侵、病毒传播、数据损坏等意外情况的必要措施，设置全面的权限体系来限定用户能够接触到的数据，对用户所有的数据操作进行记录，并每天自动进行数据备份，能够在数据出现意外损坏的时候利用备份数据恢复数据库。

四．生物样本采集 SOPs （Standard Operation Procedure）手册

1. 每一个生物样本采集和应用的单位应该制定相应的 SOPs 手册，主要包括以下内容：

- 1) 生物样本采集、保存规范和操作程序，包括材料、方法和仪器；
- 2) 生物样本处理和分装及抽样鉴定的实验室操作规范；
- 3) 生物样本交接和使用规则和协议；

- 4) 生物样本标记和档案管理规范;
 - 5) 生物样本 QA/QC 规范和操作程序(样本采集和保存过程中涉及的材料、标签、设备、试剂和程序);
 - 6) 生物样本的安全标准和防护措施;
 - 7) 工作人员的技术培训和 QA/QC 制度;
2. 要有明确的专业人员岗位和责任, 定期检查 QA/QC 执行情况并进行评估。
 3. 根据研究工作的需求和执行中的问题对 SOPs 进行修改, 并获得主管和 QA 部门的审批。
 4. 生物样本和资料数据的使用, 应兼顾注重原则性、灵活性和可操作性的原则。
 5. 现行的 SOPs 手册应发放到所有承担项目的单位和实验室。执行情况应及时反馈。
 6. 使用统一的管理数据库; 目前, 推荐博奥生物有限公司研制的“生命科学数据管理系统-2.0 或 4.0 版本”、“生物样品库管理系统”和“科研电子病例系统”。

关于使用组织样本开展科学研究的知情同意书

一、组织样本在科学研究中的重要作用

1. 如果确定你可能患有肿瘤并需要做活检或外科手术，我们将取一部分组织进行必要的临床检测并告知你结果，这些检测结果对于准确诊断和指导治疗十分重要。

2. 首先在争得你同意的情况下，我们会将这些剩余的组织保存起来并进一步用于科学研究，以明确肿瘤发病的原因。这些研究将会对肿瘤或其他疾病作更深入的了解并为有效治疗提供科学依据。请阅读“组织标本是如何用于科学研究的问答”这些信息将有助于你对组织样本在科学研究中的意义有更多的了解。

3. 不论你是否被确诊为肿瘤，你提供的组织样本对于科学研究是有帮助的，因为这些生物样本可以进行与疾病相关的研究，以解决人类面临的健康问题。

4. 我们将严密保存获得的研究结果，研究报告可能不会告知你本人或你就诊的医生，暂时不会存入你的健康档案，这项研究也不会影响你目前的治疗。

二、需要考虑的问题

1. 我们将尊重你的选择，不论你是否同意保存剩余的组织样本，都不会影响对你的治疗。

2. 你可以现在就可以做出决定，同意保留你的组织样本并用于科学研究，但也可以随时改变你的决定，请与我们联系并及时告知你的想法。

3. 如果我们得到不同意使用的告知，将不再使用你的任何组织样本，但是如果已从利用组织样本的研究中获得了相关的知识，这些知识将用于人类的健康事业。

4. 将来，研究人员可能需要进一步了解有关你的健康状况的信息，主要是依据研究工作的要求，但是你的姓名、地址、电话或者其他的能够证明你身份的信息是保密的。

5. 在有些情况下，你的部分组织可能会用于家族性或遗传性疾病的研究，即使你的组织样本用于这一类研究，其结果也不会存入你的健康档案。

6. 你提供的组织样本只用于科学研究，获得的部分研究结果有可能会发展成为具有临床应用价值的检测方法，但是你目前没有利益可获得。

三、利益与风险

1. 这是一项科学研究工作，主要是推动科学和技术的进步，没有直接的经济效益或福利。

2. 组织标本是开展科学研究的重要资源，对人类认识肿瘤的发病规律，探索有效的预防和治疗方法具有不可替代的作用。

3. 对你自己而言，最大的风险就是泄漏你的健康信息，其实将这些健康信息透露给别人的机会是很小的。

4. 我们确保不会公布你的身份而且会使你的心理和社会伤害的机会降到最低。我们有预防措施以保护你的身份不被泄漏。你提供的组织样本和你的临床资料将会用一个编号表示，代表你的组织样本和临床资料。与你的姓名和编号联系的基本项目将以电子档案的形式保存到计算机中，只有授权人才可以看到你的相关信息，研究人员和其他采样及收集临床资料的工作人员都不会知道你的身份。

5. 我们有责任保护你的隐私，但是有一些不可预测的因素有可能导致部分信息被某些人用于识别你的身份，一般说来这种可能性是非常小的。

6. 如果你的身份和相关信息被泄漏，有可能会给你和你的家人带来烦恼。另外，与疾病相关的基因检测报告有可能影响你的健康保险和一些与身体条件相关的工作聘任。虽然这方面有法律保护，但不能完全保护人们免受歧视。

7. 由于你与你的子女、父母、兄弟姐妹和其他家庭成员的遗传学特征相似，这些风险性对他们来说同样存在，但与你相比要小得多。

四、根据你的考虑做出选择

请你仔细阅读下面各项并做出选择，在同意和不同意处标注。**不论你作何种选择都不会影响你的治疗。**如果有什么疑问请与你的医生和护士咨询或与我们的伦理委员会联系。我们将尊重你的选择，不论你是否同意保存剩余的组织样本，都不会影响对你的治疗。

我的组织样本可以用于肿瘤预防和诊治等方面的科学研究。

A 同意

B 不同意

我的组织样本可以用于其他危害健康的疾病的科学研究。

A 同意 B 不同意

我的临床资料信息可以与我提供的组织标本相联系。

A 同意 B 不同意

回答上述问题后请你签名。

患者签名:

日期:

医生/护士签名:

日期:

为何要使用生物样本进行科学研究的问答

1. 样本来源于何处？

当人们患病到医院就医时，为了明确诊断，我们往往要利用活检或外科手术切除的样本进行细胞病理学诊断，主要目的是作为下一步治疗的依据。在完成所有的检测后，通常还有一些剩余的组织样本。如果这些组织样本对患者的治疗没有更多的帮助，通常都销毁了。但是，如果患者同意使用这些组织样本用于科学研究，我们将严格按照相关的法规保护所有样本提供者的合法权益。即使患者同意使用剩余的组织样本用于科学研究，医生在手术时也只是根据治疗的需要切除病灶。

2. 为什么要用组织样本做科学研究？

利用组织样本，通过系统的科学研究可以发现和明确疾病发生、发展的规律，以利于进行有效的预防和治疗。同时为促进医学科学的发展和提高人类的健康水平提供重要的知识。

3. 用生物样本可以做那些研究？

许多关于健康问题的研究都需要生物样本，通过研究发明新的诊断和治疗方法，包括新药和检测试剂的研制都需要使用生物样本。特别是肿瘤和与家族遗传性相关的疾病，通过基因和蛋白标志的研究有助于明确其发病的原因。

4. 研究人员如何获得生物样本？

来自大学和科研机构的研究人员，根据他们所承担科学研究任务的需求提出使用申请报告，经过科学和伦理委员会审核，在专业人员指导下使用这些生物样本。样本只有统一的编号，不会将你的姓名、地址、电话号码、身份证号码和其他有关你身份的信息给研究人员。

5. 我能够获得研究的结果吗？

一般情况下，没有必要获得这些专业性很强的研究结果。因为通常得出确定的结果需要很多人的样本和很长的时间。虽然对现有的治疗不会有太大的作用，但是将来对指导诊治同样类型的疾病会有帮助。对于活检样本的结果，医生会根据诊断和治疗的情况及时告知患者。

6.我可以从研究中获的利益吗？

对你的准确诊断和有效治疗有帮助，将来对指导诊治同样类型的疾病有帮助。除此以外，对你自己而言，无论在经济还是其他方面都不会直接获益。

7.为什么需要从我的健康档案中获得相关资料？

利用生物样本进行科学研究，研究人员需要了解相关的资料，主要包括：性别、年龄、民族、家族史、吸烟史等，这些资料对解释与疾病有关的科学问题十分重要。为了尊重和保护个人的权益，这些资料是由医院从你的健康档案中获取，只用编号标注而没有姓名和其他身份的相关信息。

8. 我的姓名是一起附在提供给研究人员的记录里吗？

为了尊重和保护个人的权益，不会将姓名、地址、电话号码和任何其他能够证明你身份的信息交给研究人员。

9. 这些档案资料在哪些方面可能会对我造成影响？

有些情况下健康档案可能会对患者或其家庭造成一定的影响。例如因为某些疾病（艾滋病或恶性肿瘤）保险公司可能会拒保，雇主可能会对这些患者做出解雇的决定。与遗传相关的研究结果可能会对你和你的家庭成员有影响。

10. 我的个人信息安全如何得到保护？

在使用生物样本时只用一个统一的编号，关于姓名、地址、电话号码和任何其他能够证明你身份的信息都不会与样本的编号同时给研究人员。

附件 4

生物样本交接协议书

样本提供者：(机构或研究者)

样本接受者：(机构或研究者)

一、 生物样本信息：

1. 生物样本（名称、器官来源、保存方法）：
2. 生物样本编号：

二、 生物样本接受者将按以下条例管理样本：(选择一项)

1. 作为一个生物标本资源库将提供的样本集中保存并保障安全。
2. 作为一项独立的研究计划统一使用这些样本。
3. 作为一项独立的研究课题将这些样本分发到承担任务的研究小组。

三、 研究内容简介

要用简明的文字表述研究工作的意义、目标、主要研究内容和创新性（限 400 字）。

四、 接受者为生物标本库的职责：

1. 生物样本提供者同意提交并集中管理和使用样本，要明确所提供的样本的各项技术标准符合 SOPs。
2. 接受者指定为生物标本的保管人，对生物样本的安全性要负责，不拥有这些样本的知识产权和支配权及以任何第三方的形式使用这些样本的权限。
3. 严格按照生物样本采集和保存规范管理样本和相关资料。

五、 接受者为独立研究计划的职责：

1. 采集的生物样本属于独立的研究计划项目，应按研究课题计划书的规则和协议管理并使用样本。样本的使用必须在项目相关的科学和伦理定委员会论证后进行。同时要符合国家的相关法律和法规。
2. 接受者不能将这些组织标本分发给其他没有与样本提供者签订知情同意的研究人员。接受者有权拒绝任何不符合样本使用规则的要求。
3. 接受者要保障生物样本个人信息的安全性，只利用特定的编号进行样本的识别。要求生物样本提供者必须按照 SOPs 技术标准提供样本。

4. 接受者要保障所有样本提供者平等享有样本的使用权和相关的知识产权。
5. 接受者所在单位要保障上述各项措施的实施和履行监督责任。

六、 需共同遵守的规则：

1. 这些生物样本只限于科学研究，不能用于其他目的。
2. 生物样本是不可再生的研究资源，要最大限度的合理利用并要保障这些生物样本能够用于体现科学价值的研究项目。
3. 运输生物样本具有一定的危险性，应严格按照相关的法律法规执行。样本提供者和单位不能有任何商业目的。样本接受者和提供者对各自的过失或不负责任导致的损失要承担责任。

提供方签字

接受方签字

提供方科学家

接受方科学家

提供方机构

接受方机构

地址

地址

时间

时间

授权的法人

授权的法人

肿瘤样本采集的基本技术标准

(适用于部分小量生物样本提供单位使用)

1. 所有入组病例要按要求采集肿瘤组织标本、血液和具有临床检测意义的体液。
2. 送检肿瘤组织和血液标本最好在未经放疗和化疗前采集。
3. 送检肿瘤标本必须病理诊断明确，尽量保证有足够多的癌细胞（50%以上为好）。
4. 癌组织没有坏死。（有坏死的标本很难提取高质量的 RNA 和蛋白）
5. 在保障病理学检测所需标本的前提下，尽量提供足量的肿瘤标本和癌旁正常组织，至少 1-2 克。
6. 手术标本必须迅速置于液氮中，然后保存于-80℃或-130℃冰箱，这一过程要求在手术离体后 30 分钟内完成）。
7. 如果不能提供与病理学检测平行的活检组织标本，至少提供 5-10 张组织切片。
8. 要提供与病理学检测平行的石蜡组织块或福尔马林固定组织标本，或至少提供 5-10 张组织切片。
9. 提供肿瘤脱落细胞涂片或组织印片 5-10 张
10. 及时采集入组病例的外周血标本,初诊患者 5-10 ml，EDTA 抗凝，3000rpm 离心，血浆和有形成份分别用统一质量标准的容器保存。特殊病例要保存治疗前后的外周血标本各 5 ml (血浆)。
11. 提供标本的入组病例必须登记如下表格。

样本采集登记表

标本登记号:

医院名称:

住院号:

患者姓名:	年龄:	性别:
联系地址:	邮 编:	联系电话:
简要病史:		
家族肿瘤发病史: 1.三代中每代至少有一人发病 2.同一代中有二人以上发病		
标本类型	手术	活检
新鲜组织标本		
固定组织/石蜡标本		
病理学诊断:		
诊断医师:		
外周血保存:	有/无	毫升:
1. 血浆		
2. 血清		
3. 血细胞		
4. 肿瘤血清标志诊断结果		
患者知情同意:	是/否	
样本采集者签字:	项目负责人签字:	
年 月 日		

项目合作协议

项目名称:

项目甲方:

项目乙方:

签定日期: 年 月 日

有效期限: 年 月 日至 年 月 日

甲方和乙方共同承担“_____”的研究工作，双方对此项目进行全面合作，经协商，签订本协议。

甲方责任:

负责入组病例样本基因、及基因产物变异的检测;

负责实验结果的分析解释;

向临床试验人员提供实验数据

乙方责任:

负责入组病例组织标本的采集和质量控制

负责提供相关的临床资料

双方责任:

双方对该实验原始资料、实验报告及实验有关资料按照国家有关规定均有保密义务。
在公开发表文章、成果时，样本提供者有权申请使用实验数据，并按实际贡献大小排名次。

本协议一式四份，双方各持两份，具有同样的法律效应。

如有违反本协议者，追究其违约责任。

课题进行中的未尽事宜，以及进一步合作等事宜双方另行商定。

甲方: (签字) 乙方: (签字) 项目负责人 (签字)

年 月 日

年 月 日

年 月 日

临床研究队列入组标准

精确选择条件一致（包括年龄、性别、分期、病理类型、部位、治疗过程和药物等）而疗效、预后不同的患者进行配对分析其组织标本或血清标本的分子水平的差异，寻找出与药物相关的分子差异谱，并在大样本中进行确认分析，

通过组织国内多中心前瞻性临床研究，对需要化疗的胃癌患者利用已筛选出的分子标志物进行分子分型筛选，然后根据所对应的敏感药物进行合理组合方案施行治疗，并观察患者对所选药物和方案的治疗反应和生存状况，以进一步验证所得的分子标志物在临床应用中的实际意义和可行性。

在此基础上获得满足基因和蛋白表达谱及分子标志鉴定的高质量血液和组织标本。同时按临床统计学要求进行整体设计和确定实验研究样本数。

一、例入组标准：

1. 临床诊断明确并能获得符合实验研究的生物样本
2. 病理学诊断明确
3. 年龄和性别无统计学差别
4. 体力状态：ECOG 评分 ≤ 2 ，或 KPS 评分 ≥ 60 ；
5. 预计生存期 ≥ 6 个月，并能获得定期随访资料；
6. 无其它恶性肿瘤病史；
7. 实验室检查结果明确；
8. 签署知情同意书。

二、排除标准

1. 不符合上述入选标准；
2. 有严重未控制的内科疾病或急性感染者；
3. 妊娠或哺乳期妇女。

三、分子分型研究入组标准

1. 测试病例和样本：诊断明确，资料完整，样本质量和数量符合实验研究要求
2. 验证病例和样本：诊断明确，资料相对完整，样本质量和数量基本符合实验研究要求
3. 分型病例和样本：诊断明确，资料完整，能够符合临床 GCP 的多中心、前瞻性、随机对照研究

国际肿瘤基因组协作研究（ICGC）肿瘤组织样本质量标准

一、样本质量标准：

收集高质量的肿瘤标本可能是 ICGC 面临的主要问题。参与项目协作的成员单位和基金会需要提供充足的资金。样本质量标准工作小组针对病理学类型和临床特征提出了原则性的技术标准和指南。但不同类型肿瘤可以制定具体的技术标准。

二、规则：

每一课题需遵循以下四点建议：

临床和病理专业委员会的专家需起草用于不同肿瘤或亚型的具体操作规范并监督执行，这一规范应适用于所有协作组成员和数据使用者。

利用目前国际公认的 WHO 标准(ICD-10 和 ICD-O)来定义肿瘤类型。如果采用新的分子亚型定义肿瘤类型，应作进一步的确认。

所有用于实验的样本都要经过 2 位以上的专业病理学医师核查，应采用相同的 HE 染色组织切片，并需要进行分子标志物的验证。

与患者肿瘤匹配的对照样本应能够代表种属的基因组，用于区别体细胞和遗传性突变。对于实体瘤，外周血单核细胞是较为理想的对照样本；血液肿瘤，则推荐使用皮肤组织。

三、样本质量标准及操作规范：

1. 在 ICGC 计划实施一开始，就应保证所采用的肿瘤类型和样本的高度均一性。

2. 在 ICGC 计划实施的一开始，应保证使用的肿瘤样本未经过任何治疗，即原发灶，不要复发的肿瘤组织样本，解剖学上为单一起源，并能代表单一组织学类型或亚型，(最好为同一组织病理学级别)。

3. 采用样本中的肿瘤细胞要在 80%以上，坏死细胞或正常细胞(炎性细胞,免疫细胞,间质细胞或癌前病变细胞) 应少于 20%。某些种类的肿瘤,可能需要适当降低以上标准,但是如果肿瘤细胞数低于 60%时,就需要考虑利用一些物理的方法进行富集。

4. 需要备有组织学鉴定的文档和图像资料,能够提供给从事特定肿瘤的研究者参考。要明确评估组织的等级 1)坏死;2)碎片;3)炎性组织;4)纤维化;

5. 冷冻保存的生物样本,要按照 WHO/IARC(2007 版)制定的标准操作规程(SOPs)执行。

6. 不同国家之间交换组织样本应该相互尊重各国的法规,目前已原则上制定了“本国优先”的协调规则。

7. 原则上,每例样本需要 200 mg 实体瘤组织或 10^7 流式细胞仪分选的细胞(血液肿瘤)。如果必须采用显微切割分离细胞,具体需要多少细胞还不确定,需进一步明确。

8. 虽然需要提取多种大分子,但首先考虑提取高质量的 DNA.同样能够提取高质量的 RNA。

9. 所有 ICGC 成员需要按照标准操作规程 SOP 来控制所提取的大分子的质量。ICGC 专业工作小组将选择实验指标进行核查。

10. 转录组学和表观遗传学研究所需的实验对照样本应采用与肿瘤相匹配的非癌正常组织。这一问题需要咨询相关肿瘤专家的建议;

11. 每例肿瘤样本的临床资料至少应包括以下几个方面:

- 1) 一般资料(出生日期,年龄,性别,初诊时间,转移状况等);
- 2) 诊断数据(生化指标,细胞遗传,免疫表型和其他数据);
- 3) 为了保障 ICGC 数据和临床相关性分析,必须提供患者的随访信息,包括肿瘤术后的主要治疗过程和疗效(依据临床试验最终结果确定无病生存率,完全缓解和总生存率)。

主要参考资料

1. First-Generation Guidelines for NCI-Supported Biorepositories, April 2006. Prepared by NCI/NIH/U.S.DHHS

2. Eiseman E, Bloom G, Brower J, Clancy and Olmsted S: Human Tissue Repositories, Best Practices for Biospecimen Resource for Genomic and Proteomic Era. Prepared for NCI and National Dialogue on Cancer. Rand,2003

3. International Cancer Genome Consortium, Goals, Structure ,Policies &Guidelines 2008,926

4. 季加孚: 肿瘤组织标本库常用实验技术手册, 科学出版社, 2006

致谢: 该项技术标准的制定得到国家 863 重大疾病分子分型, 肿瘤项目组全体同仁的支持, 并提出修改意见; 在此表示致谢。

执笔整理人员: 吕有勇,安娟,郜恒骏