



目 次

.....	III	前言
.....	1	1 范围
.....	2 规范性引用文件	2	2 规范性引用文件
..... 1	3 术语和定义	3	3 术语和定义
..... 2	4 缩略语	4	4 缩略语
..... 3	5 总体要求	5	5 总体要求
..... 3	6 采集与接收	6	6 采集与接收
..... 4	7 建系	7	7 建系
..... 4	8 复苏和培养	8	8 复苏和培养
.....	5	9 冷冻与储存
.....	5	10 质量控制
.....	6	11 分发
.....	7	12 运输
.....	附录 A (资料性) 大鼠小鼠多能干细胞生物样本库的质量控制检测项目	8	附录 A (资料性) 大鼠小鼠多能干细胞生物样本库的质量控制检测项目
.....	参考文献	9	参考文献

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。

文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

请注意本文件

本文件由全国中药标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：中国科学院植物研究所、北京康地康医药生物技术股份有限公司、康地康生物技术股份有限公司、北京中医药大学、北京普瑞康生物技术股份有限公司、安徽普瑞康生物技术股份有限公司、中国医学科学院

北京中医药大学、北京普瑞康生物技术股份有限公司、安徽普瑞康生物技术股份有限公司、中国医学科学院

北京普瑞康生物技术股份有限公司、中国医学科学院、北京普瑞康生物技术股份有限公司、安徽普瑞康生物技术股份有限公司、中国医学科学院

上海慈航生物技术有限公司、中国医药生物技术协会、复旦大学附属华山医院、深圳华大生命科学研究院、广东省中医院。

本文件主要起草人：赵同标、郝博、周琪、曹佳妮、胡定洋、王磊、马爱进、梁灵敏、王柳、张星、魏军、

俞君英、傅博强、彭耀进、谭元卿、马娟、吴骏、王昱凯、李晓燕、王长林、翟培军、纳涛、李天晴、林戈、

郝恒骏、吴朝晖、李丰、李启沅、张永燕、陈曲波。

3.4

冻存 cryopreservation

使细胞暂时脱离生长状态而保存其细胞特性的低温冷冻过程。

来源:ISO 21709:2020/Amd 1:2021, 3.6_

3.5

复苏 thawing

解冻冷冻保存的细胞使其恢复正常生长状态的过程。

3.6

传代 passage

为细胞生长提供更大的生长空间,将细胞接种到新的含培养液的培养容器中的过程。

3.7

群体倍增时间 population doubling time, PDT

细胞群体扩增至2倍数量所用的时间(以小时计)。

3.8

分化 differentiation

干细胞在特定条件下逐渐形成具有不同形态结构和功能特征、表达不同特异性基因的细胞群的过程。

3.9

细胞系 cell line

从组织分离的原代细胞经传代培养后所获得的细胞群体。

3.10

karyotype

核型

按分裂中期染色体数目、形态、着丝点位置、臂长、主缢痕和亚缢痕等特征所排列的细胞核型。

3.11

批号 lot number

用于细胞采集、分离、培养、冷冻和储存整个过程中溯源的唯一标识符。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

ATP:腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate)

DNA:脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid)

EBV:人类疱疹病毒(epstein-barr virus)

HBV:乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)

HCMV:人类巨细胞病毒(human cytomegalovirus)

HCV:丙型肝炎病毒(hepatitis C virus)

HIV:人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus)

HLA:人类白细胞抗原(human leukocyte antigen)

HTLV:人类嗜T细胞病毒(human T-lymphotropic virus)

M.T.A:材料转移协议(materials transfer agreement)

STR:短串联重复序列(short tandem repeat)

TP:梅毒螺旋体

5 总体要求

和ISO 91700中的要求建立和实施多能干细胞质量管理体系,由	5.1 应按照GB/T 37864和ISO
质量控制检测项目参见附录A。	实施多能干细胞质量控制程序。
别多能干细胞培养策略研究、胚胎发育潜能鉴定等的伦理审查,伦理审查人应能干细胞研究	5.2 应建立伦理
审查内容、审查类型及审查程序可参考T/CSCB 0009。	伦理审查原则
GB/T 37864、ISO 24603和ISO 24709的要求对多能干细胞相关负责、基础设施/专用场	5.3 应按照
各进行管理。	地、环境和设
能干细胞建系、鉴定、培养、冷冻保存和复苏等方面的人员进行专业培训。	5.4 应对多能
ISO 21709和ISO 21603的要求对多能干细胞操作相关的试剂、耗材和其他供应品进行管	5.5 应按照
理。	理。
5.6 应按照GB/T 37864和ISO 24603的相关要求管理多能干细胞信息和数据,包括但不限	
于:	
a) 细胞系识别信息;	
b) 冻存信息;	
c) 为满足用户最终实验目标所需专业要求的细胞特性和安全性检测数据;	
d) 细胞鉴别数据(如CSD、分析或HLA配型或单核苷酸多态性等或其他鉴别方法的检测	
数据);	
e) 最短保存时间。	
5.7 应按照GB/T 37864和ISO 24603的要求对供体的个人信息进行保密性管理。	
24603的要求对来自同一批次接着细胞建立世系,进行多能干细胞进	5.8 应按照GB/T 37864和ISO
行追溯管理。	追溯管理。
控制规程。	5.9 应建立源于实验室的安全风险
细胞微生物风险控制规程和细胞源头的风险管控规程。	5.10 应根据预期应用建立多能干
代组织或细胞保存在专用区域和隔离设备中,控制对其他已建立细	5.11 应将新收入生物样本库的原
定为低风险方可合理回输安置。	细胞培养的风险,经检测符合
ISO 24603的要求对废弃物进行管理,对多能干细胞及其衍生分化产物	5.12 应按照GB/T 37864和ISO
进行安全管理。	要求。
应符合GB/T 16886.2的要求。	5.13 供体小鼠饲养的动物福利
	应
避免与小鼠的原始所有者的权益发生冲突。	用应
日期和来源。	5.14 应按照GB/T 7408的规定编写

6 采集与接收

6.1 应建立一套能够多能干细胞提供者的生物材料向采集与接收者,并对采集信息、运输信息、接收信

息等进行管理。

注:每个选定的组织都有特定的收集要求和最佳操作方法;采集过程中考虑相关科技进展有助于提高收获细胞的质量。

6.2 应对生物原材料进行生物风险管理和评估,应该通过评估与地理位置、供体群体和所采集的组织相关的最有可能的污染物来降低微生物污染(包括但不限于细菌、真菌、病毒、寄生虫)的风险。

6.3 采集人类组织细胞的过程中应采取保护供者和采集人员健康和安全的措施

6.4 生物原材料采集前应根据其菌种形式和来源

6.5 应对生物原材料采集时间、采集地点、采集方法、采集人员等信息进行记录。

6.6 应记录来源生物原材料的供者信息,包括但不限于:

适用性说明、疾病、并发症等);

b) 供者的相关健康状况(如性别、年龄、病史、供者健康或适注:根据具体情况采集 ABO 血型信息和 HLA 分型信息。

治疗日期、治疗期限、用药、医嘱等);

c) 供者在捐赠前所接受的医疗和特殊治疗的相关信息(如

意副本);

d) 供者提供的知情同意的信息(如经匿名化处理的知情同

e) 供者信息的文件应包括供者的地理区域;

6.7 应记录小鼠供体信息,包括但不限于:

6.7 应记录的小鼠供体信息,包括但不限于:

a) 小鼠的查册编号,可以是代理的形式;

b) 小鼠品系和其困型。

6.8 应确定生物原材料的适宜运输条件,并

c) 小鼠的相关健康状况,包括供体的健康或适用性说明、疾病种类、并发症;

d) 年龄;

e) 性别;

f) 采样前供体小鼠接受的药物或特殊处理信息,包括处理日期、处理期限、用药、相关结论、饮食、压力处理;

g) 提供供体小鼠的机构名称,以及机构动物饲养微生物检测结果;

h) 组织或细胞的类型。

6.8 应确定生物原材料的适宜运输条件,并按照 GB/T 37864 的要求对生物原材料进行运输和处理,运输环节应考虑以下因素:

a) 包装材料、容器、二级容器;

b) 介质或溶剂;

c) 运输时间和温度。

6.9 应记录生物原材料接收和储存信息,包括接收

供体生物原材料或源自该材料的细胞系的传染源进行检测并记录。

6.10 应使用可追溯的方法对

7 建系

记录和维护相关细胞系的规程。

7.1 应建立、实施、验证、记

ISO 24603 要求建立人多能干细胞系和小鼠多能干细胞系。

7.2 应按照 ISO 21700 和

应按照 GB/T 37864 和 ISO 24603 要求建立多能干细胞系的唯一标识。此唯一标识应包括唯

7.3

细胞系名称(如通过在人多能干细胞的 hPSCreg 数据库中注册生成的名称)或样本编号、批号。

的细

式面、建系人员、建系方法、细胞系名称等。

7.4 应记录多能干细胞建系信息,包括但不限于:建系

8 复苏和培养

复苏和培养规程。

8.1 应建立、实施、验证、记录和维护相关细胞系的复

多能干细胞系的培养。

8.2 应按照 GB/T 37864 和 ISO 24603 要求进行多能

生物污染风险和其他潜在危害(如有毒污染物、病

8.3 应对干细胞所需培养材料(包括试剂、耗材等)微毒源等)进行风险评估。

立质量控制程序。

8.4 应对干细胞所需培养材料(包括试剂、耗材等)建

8.5 应对培养人多能干细胞所使用的培养基的成分(如白蛋白、转铁蛋白和各种细胞因子)、来源、批号等进行记录,必要时应提供验证报告。

8.6 应对细胞系名称、细胞代次、培养条件(如选择的培养基、接种密度、培养参数)、操作日期、操作人员等进行记录,宜对群体倍增时间进行记录。

注:处于细胞线性扩增期的 PDT 可用以下公式进行计算:

$$PDT = \frac{(T - T_0) \times \ln 2}{\ln N - \ln N_0}$$

式中:

$(T - T_0)$ ——以小时为单位的培养时间;

N ——收获的细胞数;

N_0 ——接种的细胞数。

8.7 多能干细胞复苏时应记录相关信息,包括但不限于:

- a) 批号;
- b) 细胞名称;
- c) 代次数;
- d) 培养条件;
- e) 操作人员;
- f) 复苏日期;
- g) 从离开液氮到细胞培养之间的时间;
- h) 细胞复苏后培养达到足够克隆密度可传代的时间。

9 冷冻与储存

9.1 应建立、实施、验证、记录和维护相关细胞系的冷冻与储存规程。

9.2 GB/T 37864 冷冻过程应控制细胞密度、细胞活率、冷冻速率等,并选择使用适当的冷冻保护剂,并对冷冻过程进行记录,包括但不限于:

- a) 细胞名称;
- b) 批号;
- c) 细胞代次;
- d) 冷冻日期;
- e) 冷冻人员;
- f) 冷冻保护剂名称或配方;
- g) 细胞数量。

9.3 应按照 GB/T 37864、ISO 24603 和 ISO 21709 要求对多能干细胞进行储存。

9.4 应对每批储存的多能干细胞进行记录。记录内容应包括但不限于:

- a) 细胞名称;
- b) 批号;
- c) 储存日期;
- d) 储存人员;
- e) 储存位置;
- f) 储存温度;
- g) 细胞代次。

10 质量控制

10.1 应建立、实施、验证、记录和维护相关细胞系检测规程,可参考 T1/CSCB.0002 和 T1/CSCB.0005 的

内容建立人多能干细胞检测验收标准。

10.2 应建立多能干细胞的形态、身份、染色体核型、存活率、标志基因、分化潜能、微生物及毒素等指标的测试程序，并对检测结果数据进行记录。

10.3 必要时选择适宜的方法对细胞活性进行测定，测定方法包括但不限于：

- a) 酯酶的功能；
- b) 基于琥珀酸脱氢酶（MTT）测定的噻唑蓝法；
- c) ATP 的含量；
- d) 凋亡标志物；
- e) 细胞氧化还原电位；
- f) 细胞增殖率(DNA 含量)；
- g) 线粒体功能；
- h) 细胞膜完整性。

11.5 供应方应向用户提供可追溯的批号。

11.6 供应方应向用户提供自由说明。自由说明通常应包括一般培养和维护方法的信息,以及细胞冻存和解冻的指南。自由说明应适用于细胞冻存和解冻,不适用于大规模培养。

11.8 供应方应提供自由说明。

b) 建系的日期;

c) 细胞质量控制的原始数据;如适用,应提供细胞质量控制的原始数据;

d) 细胞质量控制和鉴定的数据和说明;

e) 动物福利批准的标签信息;

f) 对衍生细胞系的使用限制。

12 运输

12.1 供应方应制定多能干细胞运输规程并实施。

12.2 应按照 GB/T 37864、ISO 24603 和 ISO 21709 要求进行运输,并应适当选择运输方式和运输条件,避免多能干细胞在不必要的环境下暴露。

12.3 多能干细胞应以冻存状态或以生长状态的方式运输,并应

12.4 应将含有运送细胞的冻存管或培养物容器放入用环氧乙烷预灭菌的包装。包装上应注明:

- a) 样本的名称和数量;
- b) 生产日期;
- c) 细胞供应方名称;
- d) 细胞供应方地址和电话号码。

12.5 多能干细胞的运输宜由供应方进行验证,由细胞用户进行接收。

- a) 装载细胞的容器;
- b) 运输设备和运输方法;
- c) 运输装置和运输时间;
- d) 运输条件和最长运输时间;
- e) 保障措施。

12.6 供应方应确认

- a) 温度范围;
- b) 防止污染措施;
- c) 运输装置的性能;
- d) 适当的包装;
- e) 细胞样品的定向放置。

12.7 多能干细胞的运输

- a) 运输的方式和条件;
- b) 运输路线;
- c) 运输代理及其联系方式;
- d) 收件人姓名、地址和电话。

12.8 在可能的情况下,应在包装中添加湿冰(如干冰)以保持适当的

运输温度。

附 录 A

(资料性)

人和小鼠多能干细胞生物样本库的质量控制检测项目

人和小鼠多能干细胞推荐的质量控制检测项目见表 A.1。

表 A.1 人和小鼠多能干细胞推荐的质量控制检测项目

质量检测	原代分离培养	传代培养	冻存前	复苏后
细胞形态	+	+	+	+
细胞鉴定	—	+	+	+
染色体核型	—	+	—	+
群体倍增时间(PDT)	—	+	+	+
细胞存活率	—	+	+	+
干细胞标志物	—	+	+	+
多能性分析	—	+	+	+
微生物检测	+	+	+	+

注：“+”代表在检测项目中的测试；“—”代表不在检测项目中的测试。

参 考 文 献

- [1] T/CSCB 0001 干细胞通用要求
- [2] T/CSCB 0002 人胚干细胞
- [3] T/CSCB 0005 人诱导多能干细胞
- [4] T/CSCB 0009 人干细胞研究伦理审查技术规范
- [5] ISSCR. Guidelines for stem cell science and clinical translation. International Society for Stem Cell Research (ISSCR), 2021.
- [6] ISCBI. Consensus guidance for banking and supply of human embryonic stem cell lines for research purposes. International Stem Cell Banking Initiative (ISCBI), 2009.
- [7] Alejandro D. Angelos et al. Hallmarks of pluripotency. *Nature* [J]. 2015, 525: 469-478.

中华人民共和国
国家标准
生物样本库多能干细胞管理技术规范

GB/T 42466—2023

*

中国标准出版社出版发行

北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)

北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址:www.spc.net.cn

服务热线:400-168-0010

2023年9月第一版

*

书号:155066·1-72524

