

中国人类遗传资源平台

人类胚胎遗传资源库建设技术规范

Technical Regulation for Establishing Human Embryo Bank
Of National Infrastructure of Chinese Genetic Resources

(讨论稿)

中国人类遗传资源平台项目组

2005年8月

目 次

前 言.....	1
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 人类胚胎遗传资源采集范围.....	2
5 人类胚胎遗传资源采集和使用规范.....	2
5.1 采集规范.....	2
5.2 使用规范.....	2
6 资源库的审批和监督管理.....	2
6.1 调研.....	2
6.2 审批.....	3
6.3 申请.....	3
6.4 资格认定.....	3
6.5 监督管理.....	4
7 建筑和设备.....	4
7.1 建筑.....	4
7.2 设备.....	4
8 机构设置.....	5
9 安全保障.....	5
9.1 信息安全.....	5
9.2 设备安全.....	5
9.3 操作安全.....	6
9.4 胚胎资源安全.....	6
10 人员资格及培训.....	6
11 质量管理.....	7
11.1 制度.....	7
11.2 文件.....	7
12 工作程序.....	7
12.1 签订知情同意书.....	8
12.2 填写调查表.....	8
12.3 标本采集.....	8
12.4 标本的处理和保存.....	8
12.5 冷冻库记录.....	9
12.6 供给（发放）.....	10
附录A 人类胚胎遗传资源库建设程序.....	11
附录B 人类胚胎遗传资源保存工作程序.....	12
附录C 早期囊胚（一周内）冷冻保存方法.....	13
附录D 胚胎冻存记录表.....	14
附录E 冷冻柜记录卡.....	15
参考文献.....	16

前 言

随着人类基因组计划的迅速发展，人类胚胎资源的保护、开发和利用成为医学发展的必然趋势。人类胚胎承载人类的基因组，合理的开发和利用人类胚胎遗传源可为医学科学研究提供丰富的样本。目前我国尚无关于人类胚胎遗传资源库建设的技术规程，本规程的制定对于我国人类胚胎遗传资源的保护、研究和开发，保证我国人类基因安全，加强胚胎遗传资源的合理利用具有重要意义。

本规程为胚胎遗传资源的采集、运输、保存、管理和利用以及胚胎遗传资源库的建设提供相关的规范操作和执行标准。同时可为胚胎遗传资源的遗传学和疾病的研究提供规范化的操作程序和技术要求。本规程适用于人类胚胎遗传资源的收集、保护以及疾病诊断、医学司法鉴定、教学和科研等工作。

www.eгене.org.cn
www.eгене.org.cn

人类胚胎遗传资源库建设技术规范

1 范围

本规程规定了建设人类胚胎遗传资源库的硬件设施要求和技术要素,对关于胚胎这种特殊的遗传资源的操作进行了技术和管理的規定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本规程的引用而成为本规程的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本规程,然而,鼓励根据本规程达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本规程。

GB/T 1.1-2000	标准的结构和编写规则
ISO 15189	医学实验室质量和能力的专用要求
CNAL AC23-2003	医学实验室认可准则
CNAL/AC30:2005	《实验室生物安全认可准则》
ISO 9001:2000	质量管理体系-要求
WS 233-2002	微生物和生物医学实验室生物安全通用准则 《人类遗传资源管理办法》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。

3.1 人类胚胎 human embryo

由人的受精卵发育而成的早期发育个体,从受精卵发育至第8周末之间或从出现两个原核或通过其他手段激活而发育的人类胚胎;

含有正常或异常的人类基因组。

3.2 知情同意 informed consent

保证被收集者了解并理解研究的目的和内容,并自愿同意参加试验的原则。知情同意具有国际性,是对所有进行人体研究或人体取样调查的研究人员的伦理要求。在以人为研究/试验对象的科研领域,收集者必须获得研究对象/参与者的知情同意,保护被收集者合法权

益的同时保护收集者免于诉讼。

3.3 标本 sample

为了进行疾病的临床诊断、治疗及相关的研究工作，所切取或采集的人体各组织器官的样本。在本规程中主要指人类胚胎。

4 人类胚胎遗传资源采集范围

人工流产的胚胎、药物流产的胚胎、自然流产的胚胎和捐赠的受精卵或胚胎（包括人工受精的胚胎）。

5 人类胚胎遗传资源采集和使用规范

5.1 采集规范

5.1.1 标本的采集与使用不得违背医学伦理学，并应注意防止对人类及生态环境造成危害。

5.1.2 除有法律规定者以外，对标本的采集及使用应取得受采集者的知情同意（参照“人类遗传资源收集知情同意技术规程”），如受采集者未满 18 岁或无识别能力，由其法定代理人、配偶或家属代为同意。应告知标本的采集机构，采集的目的及可能使用的范围等相关的重要事项。

5.1.3 为确保研究的合法性，应确定胚胎的捐赠者无经济动机。

5.2 使用规范

5.2.1 胚胎采集后，不能再用于繁殖，而且需经过人类遗传资源管理委员会及相关政府机构批准后，才能用于科学研究。

5.2.2 使用时应尊重并保护捐赠者的人权。严厉禁止用于出售或其他商业目的，合理的使用方式请参见《人类遗传资源共享原则》。

5.2.3 对于标本的采集、保存、使用所涉及的捐赠人的秘密、隐私或个人资料，不得无故泄漏。

6 资源库的审批和监督管理

6.1 调研

对拟建设人类胚胎遗传资源库的可行性进行分析，调研内容包括：有充足的胚胎来源，本省、市级地域未建设人类胚胎遗传资源库，其他人类胚胎遗传资源库建设经验，已有可利

用的设施、设备资源等。

6.2 审批

为确保人类胚胎遗传资源库设置的规范性，设置人类胚胎遗传资源库由国家科技部批准，并经所在地省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门审批，认定资格后建设。

6.3 申请

申请单位应向国家科技部提供下列资料：

- 可行性分析报告；
- 标本的采集单位具有医疗机构执业许可证；
- 设有人类遗传资源管理委员会（分会）监督机构；
- 提供具有与采集、检测和保存相适应的卫生专业技术人员；
- 具有与采集、检测和保存相适应的技术和仪器设备；
- 具有对供胚者和资源库进行法律保护的律师资格；
- 人类胚胎遗传资源库经费来源，包括资源库建设、维护、工作人员工资福利、资源库维持正常状态等资金来源。

6.4 资格认定

6.4.1 经国家科技部批准后，向所在地省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门提出申请资格认定，省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门收到申请材料后，聘请有关专家进行论证，并在收到专家论证报告后 45 个工作日内进行审核，审核同意的，由人类遗传资源管理委员会报批国家科技部，发给人类胚胎遗传资源库批准证书；审核不同意的，书面通知申请单位。

6.4.2 申请单位必须向所在地省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门提交下列资料：

- 6.4.2.1 设置人类胚胎遗传资源库可行性报告；
- 6.4.2.2 标本的采集医疗机构基本情况；
- 6.4.2.3 标本的保存机构基本状况；
- 6.4.2.4 拟设置人类胚胎遗传资源库的建筑设计平面图，或已有建筑平面图；
- 6.4.2.5 拟设置人类胚胎遗传资源将开展的技术业务范围、技术设备条件、技术人员配备情况和组织结构；

6.4.2.6 人类胚胎遗传资源库的规章制度、技术操作手册等；

6.4.2.7 省级以上卫生行政部门规定的其他材料。

6.5 监督管理

人类胚胎遗传资源库的建设由上一级卫生主管部门和人类遗传资源管理委员会（分会）监督管理，每年要定期审查，由人类遗传资源保护委员会负责对人类胚胎遗传资源的保存及应用的质量、数量、人员培训和人员变更等进行检查和审核。出现下列事件的将认定该机构不适合对人类胚胎遗传资源继续保存。

6.5.1 违反采集规范，进行人类胚胎遗传资源采集；

6.5.2 违反使用规范，进行人类胚胎遗传资源使用；

6.5.3 违反信息安全，对人类胚胎遗传资源的信息管理不当；

6.5.4 不能正常保存人类胚胎遗传资源的，必须启动人类胚胎遗传资源转移机制，并中止该资源库的继续运行；同时上报国家科技部和人类遗传资源管理委员会做出仲裁。

7 建筑和设备

7.1 建筑

——胚胎遗传资源库建筑选址应保证周围无污染源。

——资源库建筑设施应符合国家有关规定，总体结构与装修要符合抗震、消防、安全、合理、坚固的要求。

——资源库应布局合理，室内宽敞通风，清洁且光线好，有空气循环设备，室内有毒气体含量低于国家要求的工作环境标准。

——必须提供与工作类型和容量一致的、足够多的工作台和贮存空间，建筑面积应达到至少能够储存一万份胚胎的空间；同时应具有试剂配制区；胚胎采集区，胚胎处理洁净区，低温冻存区，胚胎保藏区，信息管理区，细胞培养区，工作人员生活区及收发室、消毒室等专业操作间。不同实验区有关的各个房间必须有明确的标记，不同的工作区的所有人员和物品必须使用不同的标识。

7.2 设备

——计算机、网络服务器等电脑网络设备；

——程控降温仪等冷冻设备；

-
- 冷冻贮存设备如液氮储存罐或者液氮柜存储系统；
 - 完备畅通的上下水、电力（包括应急供电设备）、通讯和完善的消防安全系统；
 - 安全监控系统，标本柜等。
- 污水、污物处理及废气排放设施应符合国家有关环境保护法律、法规的规定。所有设备须验收合格，并运转良好。

8 机构设置

人类胚胎遗传资源库实行主任负责制，并至少设置以下职能部门：

- 标本采集部门：征集和筛选供体，获取胚胎。
- 胚胎保存部门：对胚胎进行洁净处理和冷冻保存。
- 设备管理部门：维持和维护设备正常运行。
- 胚胎供给部门：组织胚胎标本的运输。
- 信息管理部门：建立胚胎采集信息，使用情况档案管理制度和计算机管理系统。
- 质量管理部门：定期或不定期对胚胎资源库的信息管理，胚胎采集、保存、使用质量进行监督和审查。
- 安全部门：对设备使用和操作过程中可能引起的危害和危险因素进行处理。

9 安全保障

9.1 信息安全

- 9.1.1 人类胚胎遗传资源库工作人员应尊重供胚当事人的隐私权并严格保密。
- 9.1.2 除司法机关出具公函并得到相关当事人的同意外，其他任何查阅人在查阅档案时，人类胚胎遗传资源库人员均应隐去供胚者的身份资料、详细地址。非相关人员一律不得查阅。
- 9.1.3 除胚胎遗传资源库负责人外，其他任何人不得查阅有关供胚者身份的资料和详细地址。

9.2 设备安全

- 9.2.1 为确保标本安全储藏液氮冷冻库里，所有的冷冻库应配备监控温度和液氮水平的警报系统。液氮罐或柜要有液态水平传感器，可通过发出可听或可视的信号，提示液氮低水平警报，及时进行人工或自动的液氮填充。所有的冷冻设备应放置在安全的地方，只有被授权

的专业人员才可以接近。

9.2.2 所有的操作人员都要经过全面的设备使用的培训，并保存在他们个人的培训记录中。所有设备的使用和维护，要与制造厂商的手册中说明相一致。操作和维护的指导说明应保存在设备的附近，以方便查阅。任何损坏的设备或有故障不适宜使用的设备都要立即停止使用，在修理好之后才能重新投入使用。

9.3.3 所有冷冻设备都要有紧急供电系统相连。对于设备发生的紧急情况，比如火灾等，要有应急响应系统并制定有相关的操作规范。

9.3 操作安全

9.3.1 工作人员应严格按照实验室安全标准操作程序进行工作，考虑在操作过程中多种危害同时出现的可能性，要根据情况采取更多的预防保护措施。

9.3.2 所有的胚胎资源库工作人员要遵守相关政策和程序，如有与政策和程序不一致的意见，除非请教高级管理部门，否则严厉禁止有目的的偏离工作程序。所有书面的许可和申请必须记录在案。

9.3.3 工作人员必须遵守不同工作区的标准工作程序。严禁工作区之间试剂、设备等物品发生混淆（参照《实验室生物安全认可准则》）。

9.3.4 如工作人员失误原因是对资源库程序的理解错误或指示错误，应对失误进行调查、纠正，必要时重新培训。

9.4 胚胎资源安全

人类胚胎遗传资源保存应考虑发生威胁到资源库正常运行条件下的资源安全因素。及时预测可能发生的自然破坏如地震、水灾等对胚胎进行安全转移。对人为操作引起的危害，应及时对资源安全处理并追究当事人的责任。对已经造成损坏的胚胎资源应及时上报主管部门并进行安全销毁。

10 人员资格及培训

10.1 工作人员可以多种层次，至少配备 1 名具有一定年限的生殖医学专业及医学遗传学临床经验的副高或以上医学专业技术职称的人员，他们必须经过严格的职业培训后，才允许上岗；

10.2 为保证胚胎遗传资源的安全保存和合理利用，所有的储藏操作人员都要接受培训，培训内容包括：

-
- 10.2.1 如何正确处理低温冷藏的物质，冷藏设备的使用；
- 10.2.2 如何做好物质储藏、检索和维护方面的实践工作；
- 10.2.3 试剂配制、使用和操作安全等生物安全培训。
- 10.3 工作人员必须经过特殊的职业培训，并接受相关的继续教育的培训。工作人员的培训纪录应记录在个人档案里。
- 10.4 新的工作人员，不允许使用高压灭菌及低温储藏等具有潜在危险性的设备，必需经过培训后或经资深的工作人员指导才能授权使用设备。
- 10.5 所有工作人员的资格认定信息都要记录在案。

11 质量管理

11.1 制度

- 11.1.1 胚胎资源库的保管人员应经过资格认定，能够遵照胚胎资源库和液氮库的管理和使用办法开展工作，负责标本的保存、资料的更新以及数字化管理。
- 11.1.2 人类胚胎遗传资源库必须对胚胎的采供进行严格管理，并建立供胚者详细的计算机管理档案库。
- 11.1.3 人类胚胎遗传资源库必须有完整的技术操作手册，生物安全手册等。
- 11.1.4 人类胚胎遗传资源库必须具备完善、健全的规章制度，业务管理操作规范，档案管理规范和人类胚胎遗传资源采集计划书。
- 11.1.5 必须定期或不定期对胚胎遗传资源库进行自查，提供人类胚胎遗传资源库规章制度执行情况、胚胎冻存质量、服务质量及数据资料管理情况的报告，并接受主管部门的检查或抽查。

11.2 文件

专人负责质量管理和维护所有有关保藏工作质量的文件，并对上一级管理机构负责。质量文件至少应有以下三种：

- 质量手册，主要界定样本质量技术标准，并在政策管理和实施层面加以规范指导；
- 实验室程序手册（标准操作程序），主要指与实验室工作程序和技术功能相关的文件，在操作层面上对样本库工作人员加以指导；
- 实验室记录，指一系列的实验室相关活动及包含实验室内容的设施或设备记录，每一次针对库存标本的操作都要详细的记录并且备案。

12 工作程序

12.1 签订知情同意书

参与者或参与者的合法代理人在清醒、正常的精神状态下，仔细阅读知情同意书，同意后签字；或在有证人的情况下，将知情同意书的内容念给参与者听，参与者同意后亲自签字或按手印。

12.2 填写调查表

12.2.1 所有收集的标本都必须要求有完整的临床资料，以备检索。

12.2.2 调查表主要包括如下内容：

——供胚者的基本资料，包括姓名、年龄、民族、联系方式、身份证号等，

——病史资料，胚胎受精龄、流产方式等。

12.2.3 资料逐项填写，字迹清楚，填写内容应保证真实、准确。

12.3 标本采集

12.3.1 与医院或相关人员协商，安排好手术时间、手术室等准备工作。

12.3.2 准备样品收集容器（15~30ml），标注明确，做好准备，随时取材。

12.3.3 取材应按照临床技术规范进行，标本离体之后应立即在生理盐水中存放，在专用密闭容器内保存，保证其渗透压相对平衡。

12.3.4 取材后，记录取材时间、胚胎大小、重量并迅速送达资源库。

12.4 标本的处理和保存

12.4.1 标本的处理

12.4.1.1 对接收的标本进行入库编号。

12.4.1.2 将手写记录本中的数据转入计算机数据库。具体方法参照《人类遗传资源信息管理技术规程》。

12.4.1.3 去除污染，大多数手术后的标本都是无菌的，但在取材和运送至库的过程中存在潜在的污染可能。可以置 70%乙醇短暂浸泡（30s~1min），将有助于降低标本污染几率。

12.4.2 标本保存方法

胚胎遗传资源的标本可能用于不同研究领域的科研或鉴定需要，因此根据不同的研究目的和研究者的要求，标本的保存可分为三种标准方法：可以将采用无菌技术收集的新鲜胚胎

迅速冷冻，并在超低温下，在指定的时间内保存标本；或者可以将胚胎切碎放置于基础培养基中，用于原代细胞培养；同样可以经过固定或石蜡处理后使其物质性质稳定，进行固定保存。具体如下：

新鲜的保存方法，可以选择不同的媒介如 RPMI、DMEM 等进行短期培养；或者选择干燥或在浸泡在生理盐水中。此方法可以为研究者提供新鲜的标本，可用于原代细胞培养。但是必须清楚此方法不适合长期保存新鲜胚胎，即使能够确保严格的无菌条件，也不要超过一周。

冷冻保存方法，标本置于液氮中迅速冷冻或选择冷冻包埋介质中冷冻储存于液氮或 -70℃ 以下或更低的液氮冷冻设备的蒸汽相里。

固定保存方法，选择用 4% 甲醛溶液常温固定后石蜡包埋等。参见《人类疾病固定组织收集整理保存技术规程》和《人类疾病石蜡包埋组织收集整理保存技术规程》。

标本的保存方法可以根据研究者的要求进行调整，如无特殊需要，本规程建议胚胎标本冷冻保存。

12.5 冷冻库记录

12.5.1 记录必须包括：在冷冻库每一部位的存样标示和胚胎标本检索条目（用于描述胚胎的编号、基本特性、存放位置等）。标本入库时，管理员填写入库登记卡；标本出库时，管理员填写出库登记卡；使用标本时，使用者填写标本使用提请单。

12.5.2 冷冻库记录可以保留在一个常规卡片式目录上；而计算机资料库能够提供优越的资料储存和恢复能力，所以建议所有的卡片式目录信息都要尽可能的录入计算机存储，微机存储的资料能在同一资料库的不同表格中相互转换，说明胚胎的相关资料（如胚胎原始资料记录、入库资料登记、冻存记录）。对于储存在光盘中、硬盘或磁带中的材料，必须具有备份，或有至少一个打印的备份文本。对于人类胚胎遗传资源库记录至少保存 10 年。有关卫生行政部门和检定机构对组织库进行定期或不定期的检查时，能随时提供有关资料。记录应及时、准确，以备查验及检索。

12.5.3 使用计算机数据库时，需要冷冻库管理者来管理这些数据。如果由使用者作记录，则只能对赋予管理权限的内容进行读写。原始录入（种子）储存或配置储存则只能读，而不能改写。如果原始资料需要更改，则只能由管理者在做好备份之后，从书面记录的资料中更新。

12.6 供给（发放）

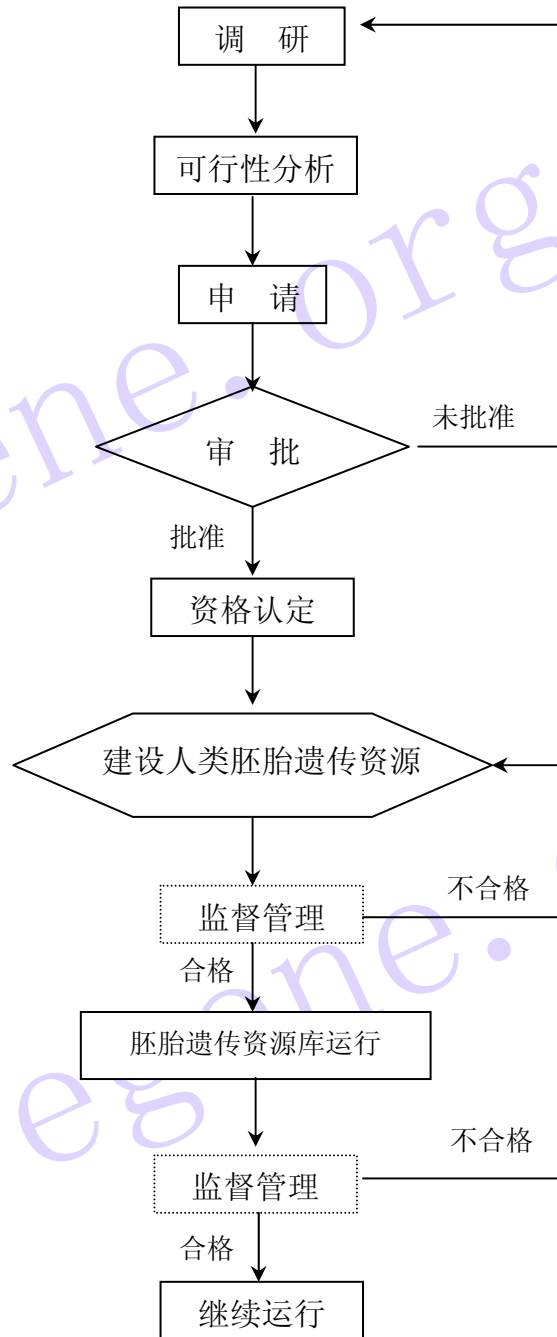
人类胚胎遗传资源库保存的胚胎资源属国家人类遗传资源，供给库存胚胎资源应遵循以下原则：

- 提取胚胎遗传资源用于人类遗传学科学研究，不得用于胚胎移植。
- 可以用于胚胎遗传资源库交流使用或其它特别需要的，胚胎资源库只有接到人类遗传资源管理部门的书面通知才能供给。
- 人类胚胎遗传资源库供给胚胎资源前，需对胚胎资源进行检查，包括外？胚胎冻存质量和保存记录等，并提供发放记录（包括胚胎来源，基本特性、处理方法、冻存时间等）。
- 胚胎资源的运输要储存于合适的温度，应遵循选择运输工具的安全规定。

附录 A 人类胚胎遗传资源库建设程序

(资料性附录)

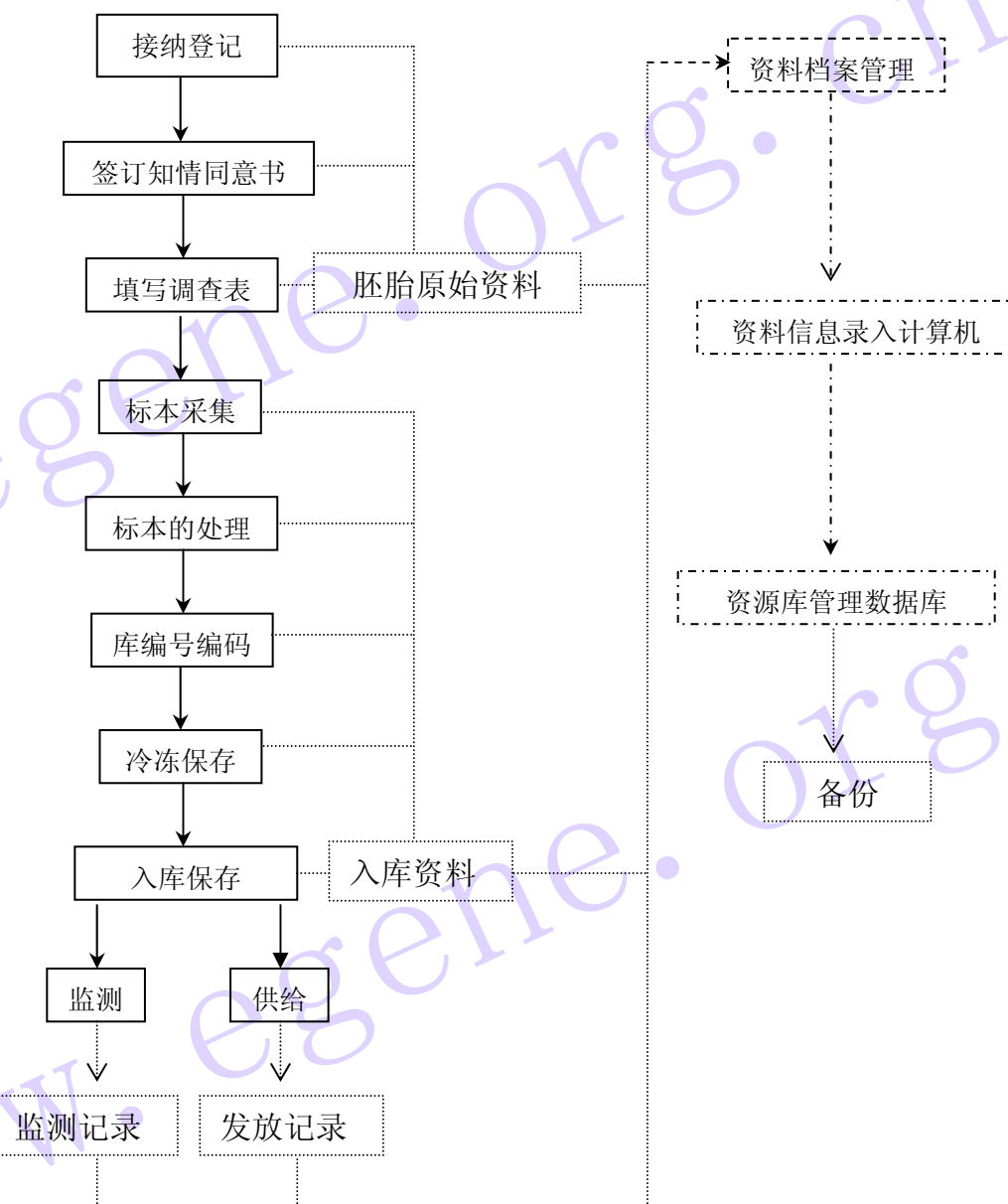
人类胚胎遗传资源库建设程序



附录 B 人类胚胎遗传资源保存工作程序

(资料性附录)

人类胚胎遗传资源保存工作程序



注：——(实线)表示工作程序

.....(虚线)资料记录和保存程序

附录 C 早期囊胚（一周内）冷冻保存方法

（资料性附录）

早期囊胚（一周内）冷冻保存方法

胚胎冷冻目前最常用的方法是程序冷冻法。

1) 胚胎用 PBS 液洗 3-5 遍。

2) 先放入 1.5mol/L 的丙二醇中 15min 再移入 0.1mol/L 的蔗糖中平衡 7-10min。

3) 将平衡后的胚胎放入 0.25ml 细管中，要求装 2-3 段抗冻液，各段抗冻液之间以小气泡隔开，胚胎在最中间一段。

4) 以每分钟下降 2℃ 的速度从室温下降到 -7℃，将其移到 -7℃ 的植冰小皿中，用从液氮中预冷的镊子按常规方法植冰。

5) 5min 后将其移到冷冻的装有液氮的小罐中，以每分钟下降 0.5℃ 的速度将温度降到 -40℃ 或 -70℃。然后将胚胎浸入液氮罐中保存。

● 6) 胚胎组织的样本经过切割，分割 0.5cm³ 组织块，放入安瓿瓶中冻存。

安全提示：处理液氮时，必须使用手套和面罩。

附录 D 胚胎冻存记录表

(资料性附录)

胚胎冻存记录表

胚胎编号	冻存日期						
	位 置						

种类：人类胚胎 正常/异常： 胎龄： 体积 重量	支原体检测： 方法 检测日期 结果	冻存说明： 冻存比率 保护剂， % 温度下降速率： 复苏说明：
胚胎处理方法	质量鉴定： 检测日期： 方法：	37℃快速解冻 是否离心去除保护剂？
胚胎特性：	保存条件： 培养基类型/批号/厂家 血清/批号/厂家 % 因子 缓冲液 酸碱度 其他特殊条件	是/否 特殊需要
完成记录卡者： 日 期：		生物危害的预防：

附录 E 冷冻柜记录卡

位置：冷冻柜号码_____罐/分段号码_____管/抽屉号码_____

胚胎编号：_____冷冻日期_____冷冻操作人_____

血清_____浓度_____冷冻液_____冷冻率_____

冷冻方法_____记录者_____记录时间_____

www.eгене.org.cn

参考文献

- [1] 高英茂主编. 组织学与胚胎学. 人民卫生出版社, 2001.
- [2] R. I. 弗雷谢尼著, 章静波等译. 动物细胞培养基本技术指南. 科学出版社, 2004.
- [3] 中华人民共和国卫生部. <http://www.moh.gov.cn>
- [4] 美国国立卫生研究院. <http://www.nih.gov>
- [5] 遗传资源获取和利益分享与知识产权保护. 生物多样性, 2002. 10 (2) . 243-246

www.egene.org.cn
www.egene.org.cn