

整合平台檢體品質標準化相關作業說明

國家級人體生物資料庫整合平台

黃秀芬 執行長

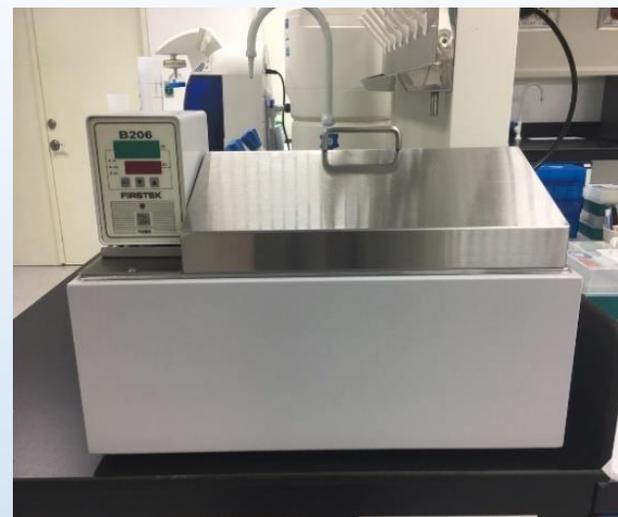
109-10-30



化學排煙櫃
(Chemical hood)



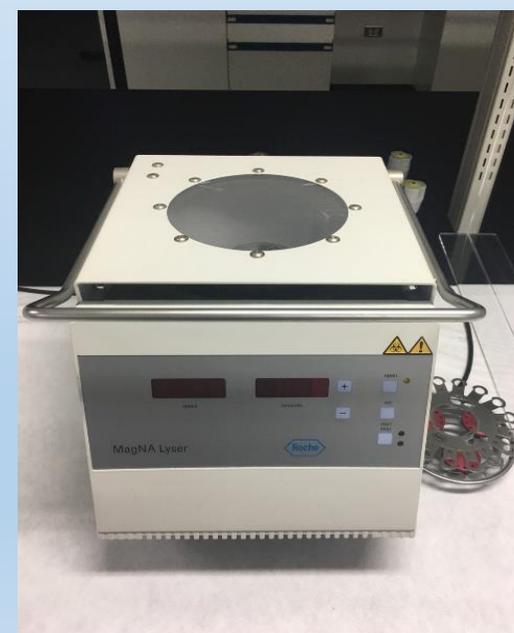
純水系統



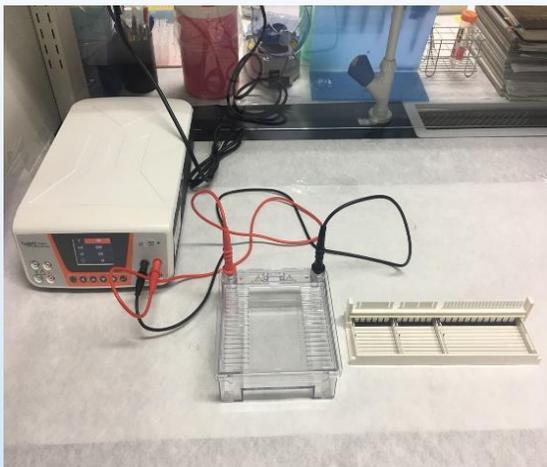
水浴槽



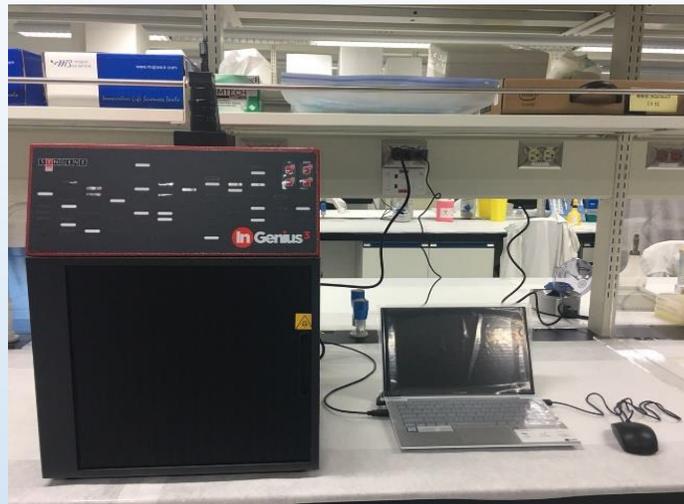
低溫離心機



MagNA Lyser



迷你電泳槽



多功能凝膠成像系統



微量吸管 (Pipetman)



Filter tip

整合平台檢體品質標準化相關作業

■ 血液檢體及組織檢體處理作業流程

■ 冷凍組織包埋及切片染色判讀

■ 抽取血液DNA作業流程

■ 抽取冷凍組織DNA作業流程

■ 抽取冷凍組織 RNA作業流程

整合平台檢體品質標準化相關作業

血液檢體採集

血液： 在個案同意之下，採集個案的血液檢體，容量約15-20cc。分裝在生化管和CBC管。室溫靜置一小時以後，加以離心分裝，將血清、血漿及血球細胞各等分於1cc之微量離心管小管，並冷凍保存於-80°C 冰箱。

註： 血液檢體採集較單純，唯一變數就是採血量。若血液量很少，為收集足夠DNA，我們會在CBC 管裝比較多血，除了plasma，還可以有較多之 buffy coat，以供抽取血液DNA。但是我們申請者主要是申請serum，很少申請plasma。

整合平台檢體品質標準化相關作業

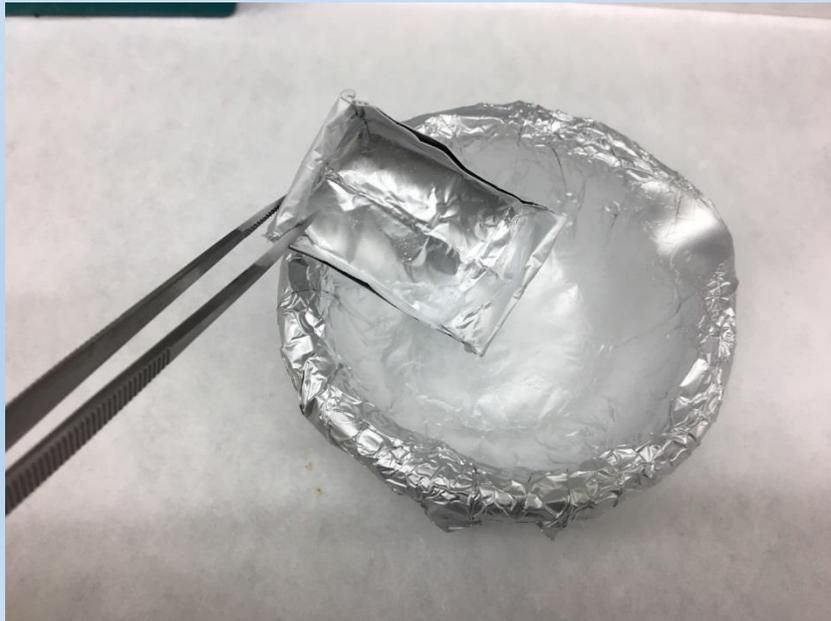
組織檢體採集

新鮮冷凍組織：在個案同意之後，手術切除的檢體，應在病理科醫師之指導下，切取病理檢查後剩餘之腫瘤組織，並立即切成小塊(around 5 X 5 mm³)，用液態氮迅速冷凍，放入冷凍小管(一管可以放很多塊)，保存於-80°C冰箱。冷凍小管才可以鎖得比較緊。要做**冷凍切片染色**時，才取出裝在微量離心管備用。

說明：由於採集新鮮組織檢體有多變數，需要配合實際狀況處理。

- ✓ 以病理診斷優先，若不夠，就不留冷凍組織。
- ✓ 腫瘤組織檢體很小時，就不再切成小塊，
- ✓ 若開刀開得很晚，無法當日收集，可以請開刀房護理師協助冰在4度C冰箱，隔夜再取(要註記隔夜取)，但不要放棄這個檢體，新鮮檢體若有快點放入冰箱冷藏，它的 DNA 品質仍可以很好，但是器官類別也會影響。正常肝臟的DNA容易degrade，但是腫瘤反而不會。

冷凍組織小塊(fragment) for protein extraction







整合平台檢體品質標準化相關作業

■ 血液檢體及組織檢體處理作業流程

■ 冷凍組織包埋及切片染色判讀

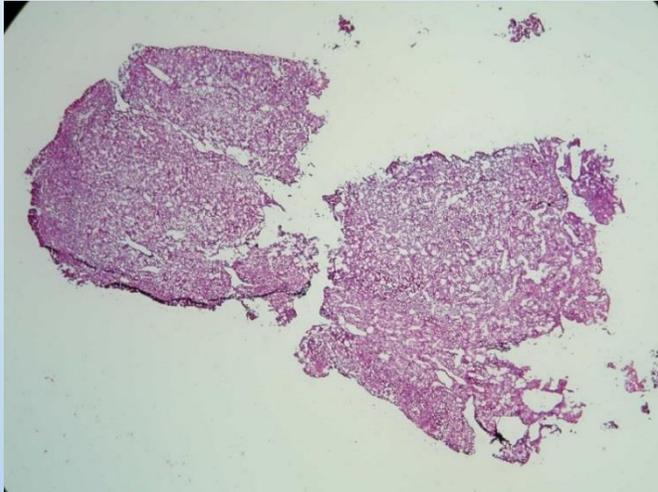
■ 抽取血液DNA作業流程

■ 抽取冷凍組織DNA作業流程

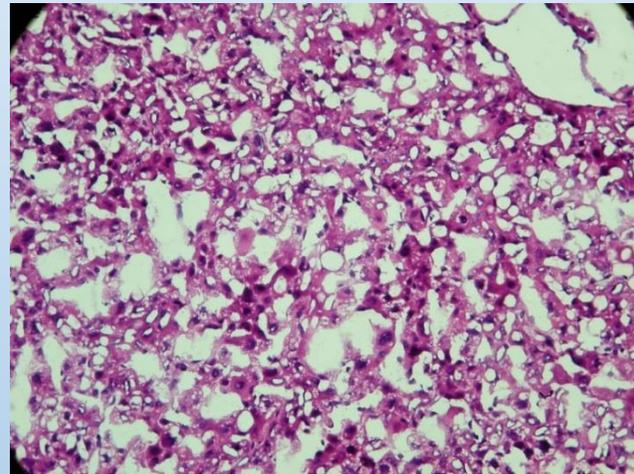
■ 抽取冷凍組織 RNA作業流程

所有冷凍收集之腫瘤組織，需要先進行冷凍切片以判讀腫瘤細胞
是否存在

冷凍切片圖像

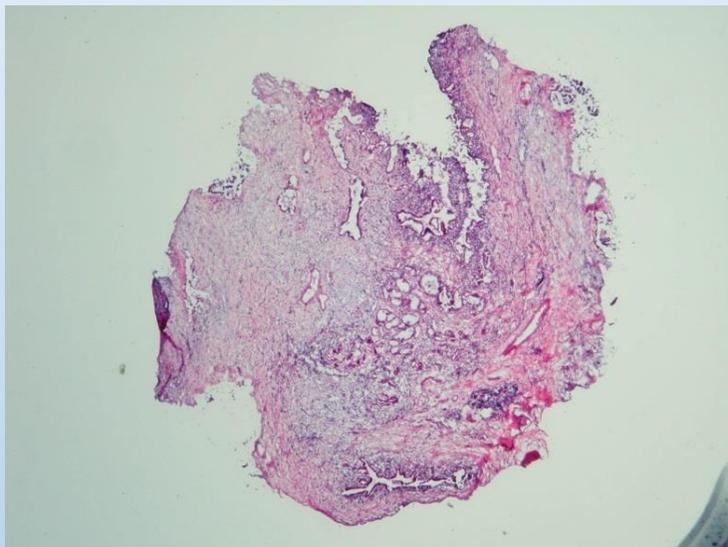


99% 為肝癌腫瘤細胞

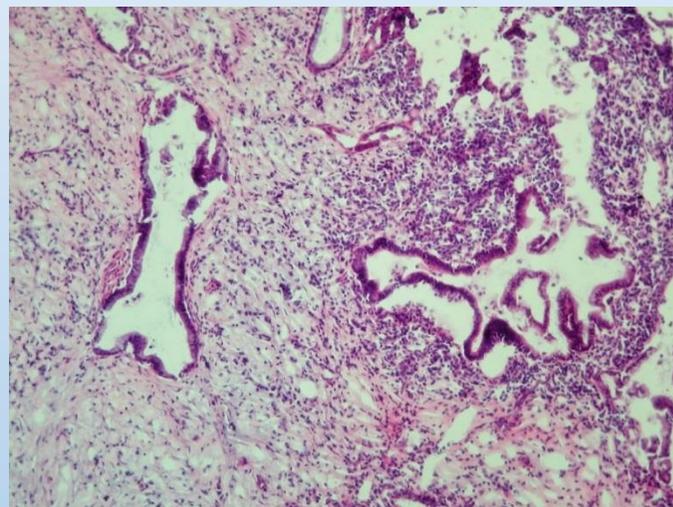


高倍影像

冷凍切片圖像

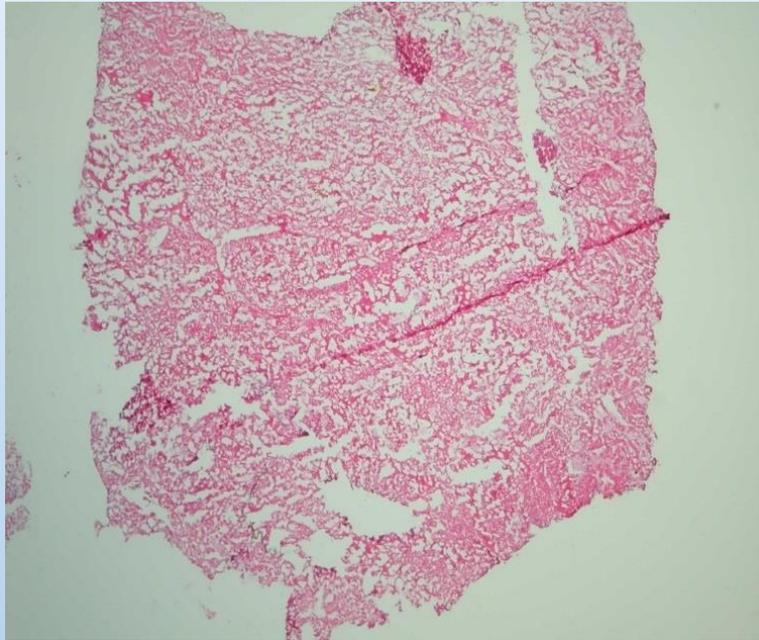


膽管癌 腫瘤細胞 <20%

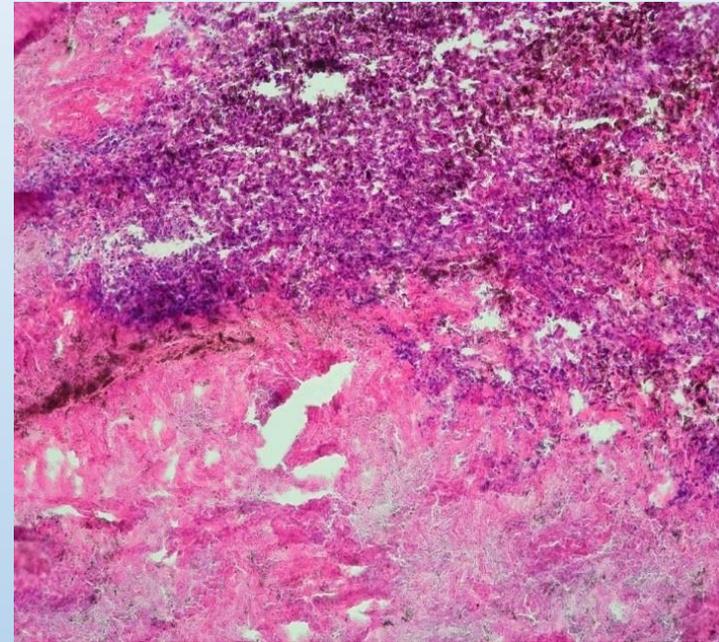


高倍影像

冷凍收集之腫瘤組織，其冷凍切片圖象



組織全部壞死



纖維化和發炎，沒有腫瘤細胞

這些腫瘤組織都無法使用

整合平台檢體品質標準化相關作業

■ 血液檢體及組織檢體處理作業流程

■ 冷凍組織包埋及切片染色判讀

■ 抽取血液DNA作業流程

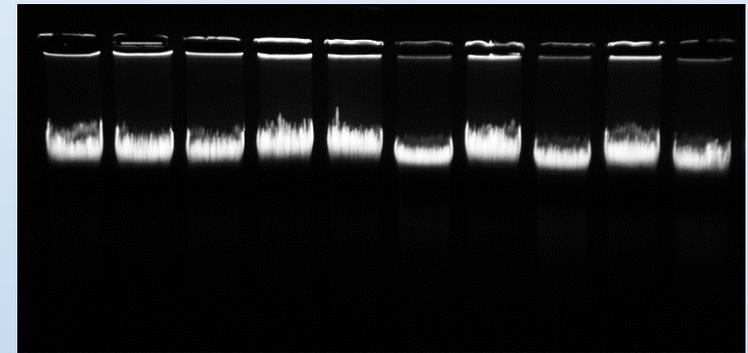
■ 抽取冷凍組織DNA作業流程

■ 抽取冷凍組織 RNA作業流程

冷凍組織抽取之DNA濃度，OD值，和跑膠圖 範例 一

tissue DNA O.D值

no.	濃度 (ng/μl)	O.D 260/280	O.D260/2 30	跑膠所需load DNA的量(ul)
1T	1495.9	1.86	2.27	0.84
1N	1094.9	1.86	2.25	1.14
2T	1018.7	1.86	2.31	1.23
2N	1079.2	1.87	2.32	1.16
3T	1344.8	1.85	2.01	0.93
3N	1496.7	1.86	2.26	0.84
4T	1313.5	1.85	2.23	0.95
4N	1085.5	1.85	2.27	1.15
5T	1871.3	1.86	2.23	0.67
5N	1144.2	1.86	2.24	1.09



1T 1N 2T 2N 3T 3N 4T 4N 5T 5N

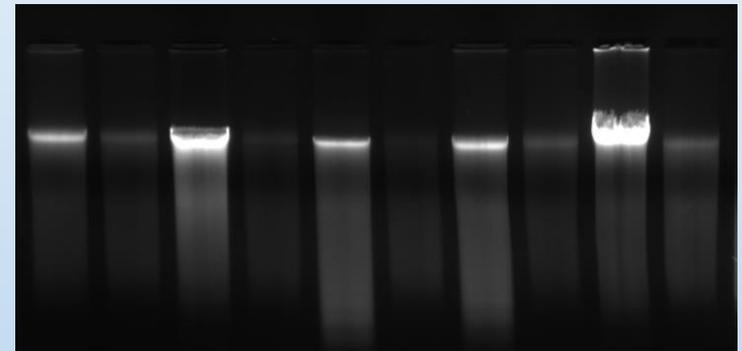
說明: Optical density (OD)值良好，皆有major band。

註: 血液DNA通常品質良好，為節省檢體和人工，通常不跑膠

冷凍組織抽取之DNA濃度，OD值，和跑膠圖 範例 二

tissue DNA O.D值

no.	濃度 (ng/μl)	O.D 260/280	O.D260/2 30	跑膠所需load DNA的量(ul)
1T	471.3	1.86	1.65	3.4
1N	915.9	1.86	1.64	1.7
2T	2554.5	1.84	2.12	0.6
2N	817.9	1.85	1.46	2.0
3T	1232.4	1.84	1.89	1.3
3N	1133	1.86	1.74	1.4
4T	1237.5	1.85	1.65	1.3
4N	1197.7	1.87	1.75	1.3
5T	981.1	1.84	2.17	1.6
5N	1266.7	1.88	1.92	1.3

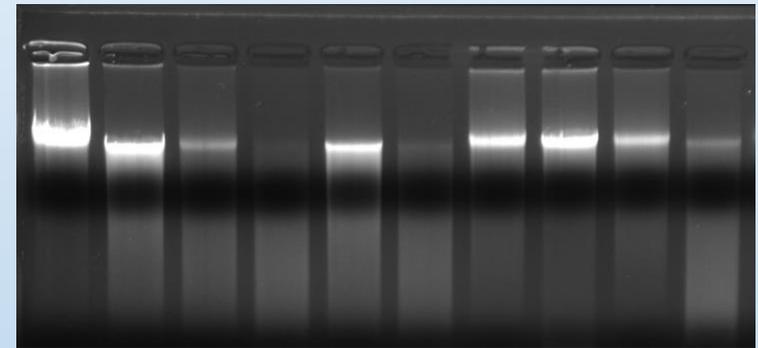


說明: 沒有major band，OD 有的會稍差（1N, 2N, 3N），但是有的還好（5N）。

冷凍組織抽取之DNA濃度，OD值，和跑膠圖 範例 三

tissue DNA O.D 值

no.	濃度 (ng/μl)	O.D 260/280	O.D260/2 30	跑膠所需load DNA的量(ul)
1T	2337.1	1.83	1.97	0.53
1N	2752.1	1.84	1.95	0.45
2T	1859.3	1.9	2.13	0.67
2N	1449.2	1.88	1.79	0.86
3T	2559.1	1.83	1.94	0.49
3N	1548.1	1.89	2.06	0.81
4T	2352.0	1.82	2.07	0.53
4N	2139.0	1.87	1.97	0.58
5T	2489.2	1.84	2.19	0.5
5N	1382.2	1.86	1.93	0.9



1T 1N 2T 2N 3T 3N 4T 4N 5T 5N

說明:O.D值良好，不見得有major band。

整合平台檢體品質標準化相關作業

■ 血液檢體及組織檢體處理作業流程

■ 冷凍組織包埋及切片染色判讀

■ 抽取血液DNA作業流程

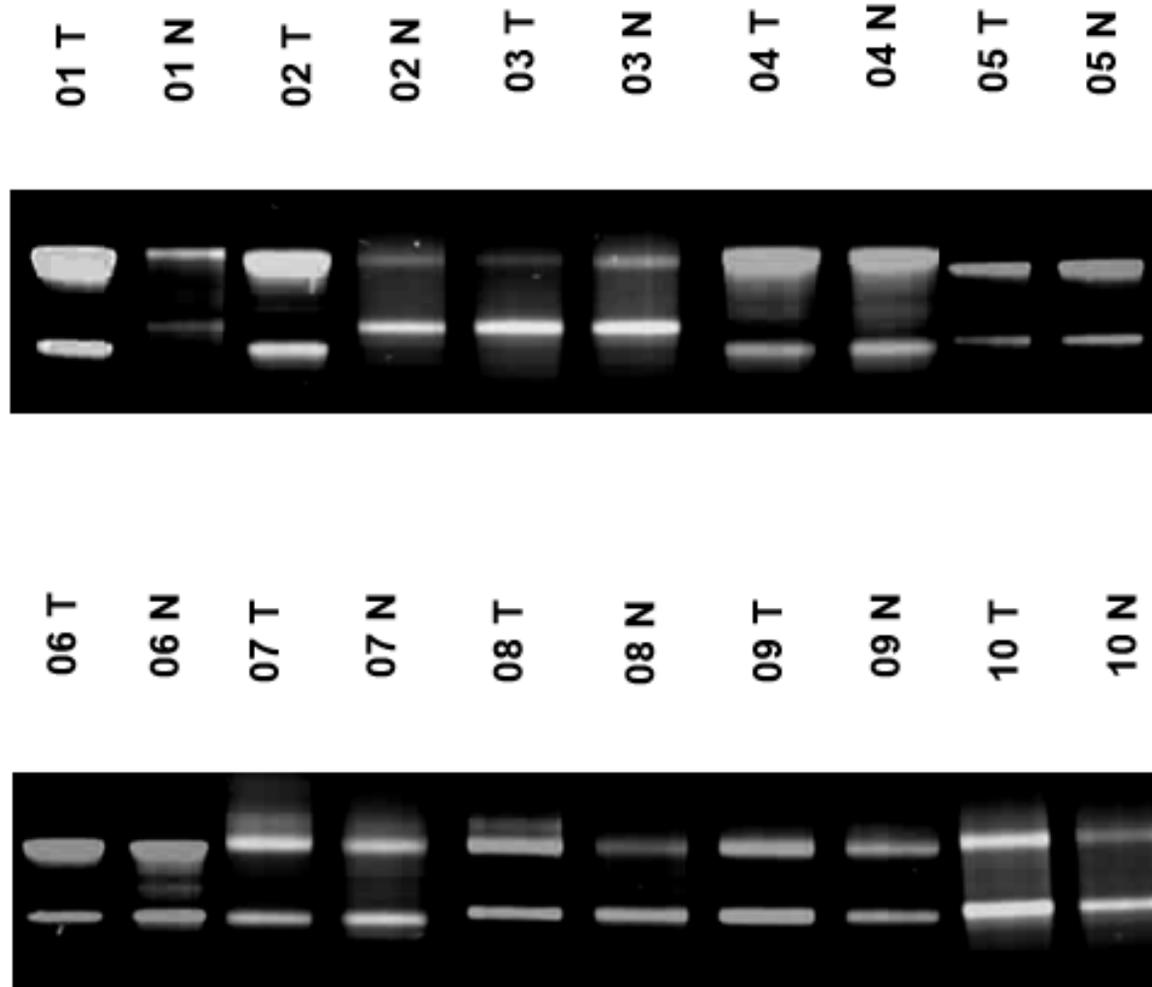
■ 抽取冷凍組織DNA作業流程

■ 抽取冷凍組織 RNA作業流程

傳統RNA品質都是跑膠，看有沒有18S, 28S bands

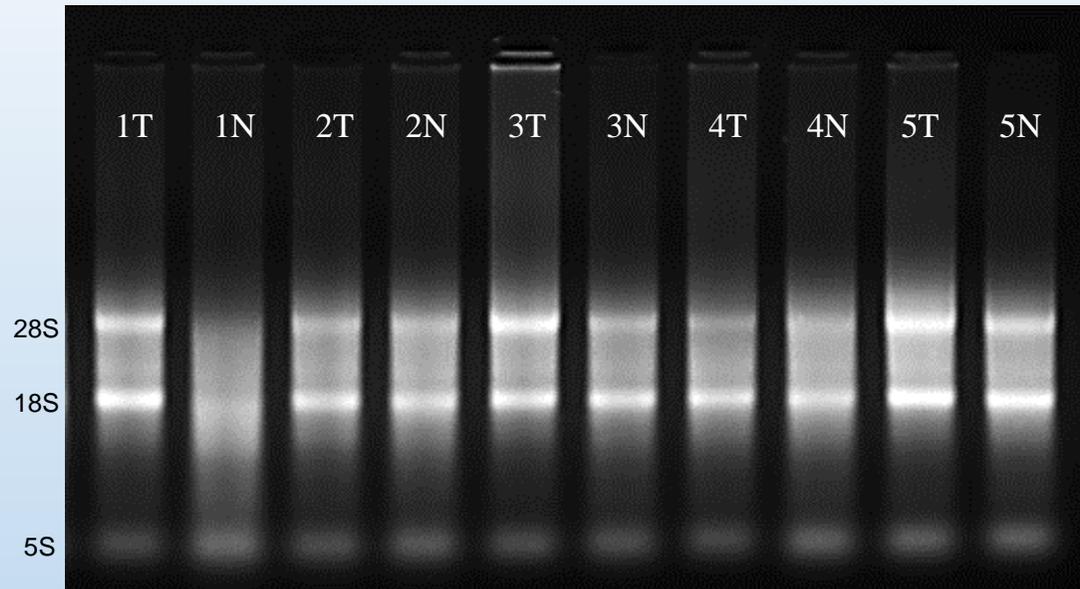
肝癌組織抽取RNA 跑膠圖

HBV-M



現在常要求做Q C

RNA Extraction of Liver tissue

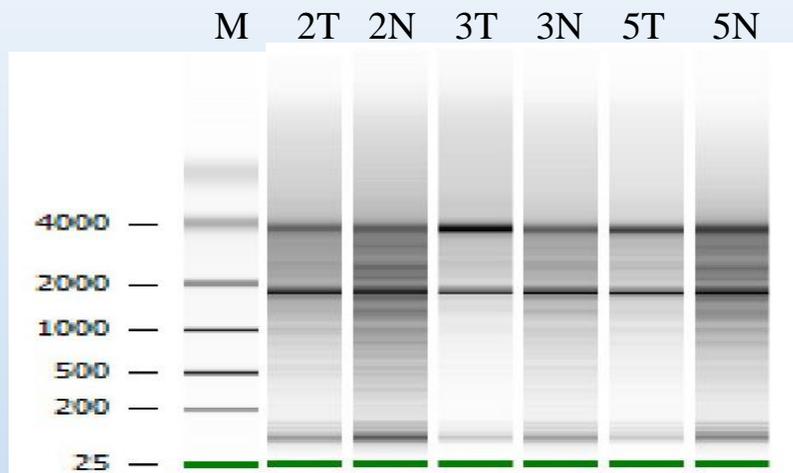


Sample	Liver of Human
Exposure	0.12s
Electrophoresis	85v / 35 min
Agarose gel	1%
Buffer	1x TAE buffer

	ng/uL	260/280	260/230	volume(ul)	Yield(ug)	備註	QC
1 T	1812.3	1.98	1.87	100	181.2		X
1 N	1997.4	2.01	2.06	130	259.7	18S	X
2 T	1917.8	2	1.98	120	230.1		5.4
2 N	1805.1	1.99	1.46	150	270.8		3.6
3 T	2136.1	1.97	1.97	120	256.3		7.7
3 N	1804	1.99	1.87	120	216.5		5.4
4 T	1368.8	1.93	2.24	70	95.8	28S弱	X
4 N	2419.4	2.02	1.93	150	362.9		X
5 T	2198.7	1.99	1.97	170	373.8		7.5
5 N	1782.1	2	1.94	120	213.9		4.3

冷凍組織抽取之RNA 濃度，OD值，和跑膠圖 範例 一

Electrophoresis File Run Summary (QC) (RIN: RNA Integrity Number)



Instrument Information:

Assay Origin Path: C:\Program Files (x86)\Agilent\2100 bioanalyzer\2100

expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy

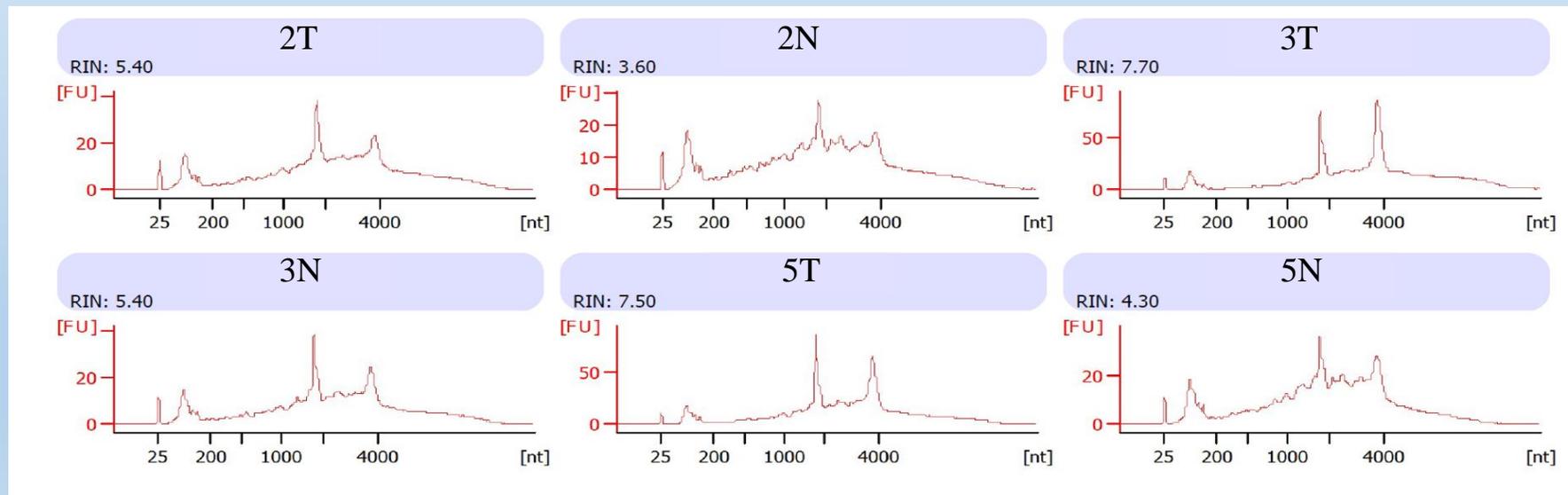
Assay Class:Eukaryote Total RNA Nano

Version:2.6

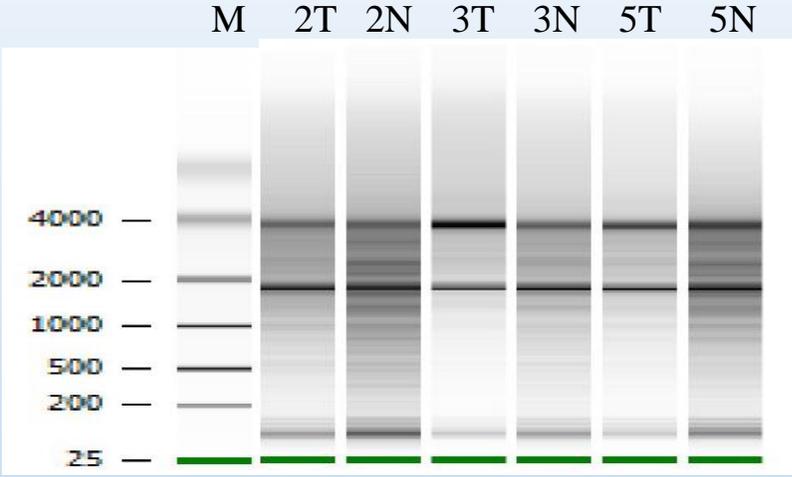
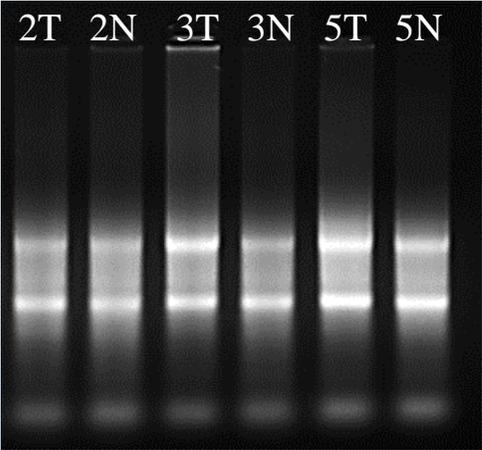
Assay Comments:

Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)

© Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.



Electrophoresis File Run Summary



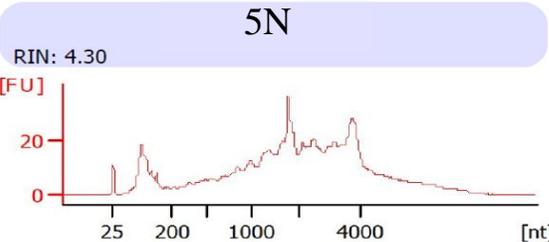
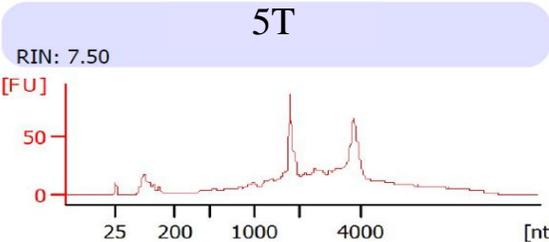
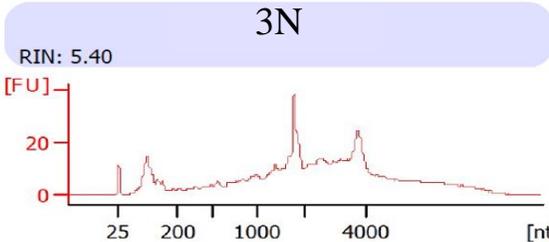
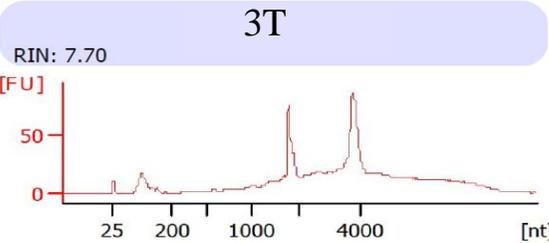
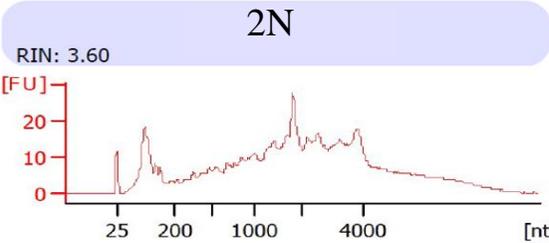
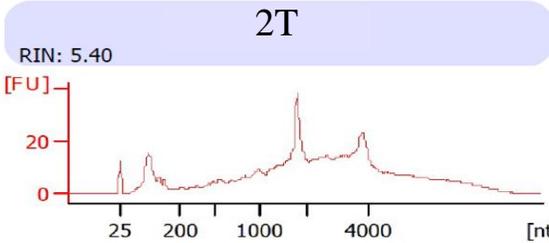
Instrument Information:

Assay Origin Path: C:\Program Files (x86)\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy

Assay Class:Eukaryote Total RNA Nano
Version:2.6

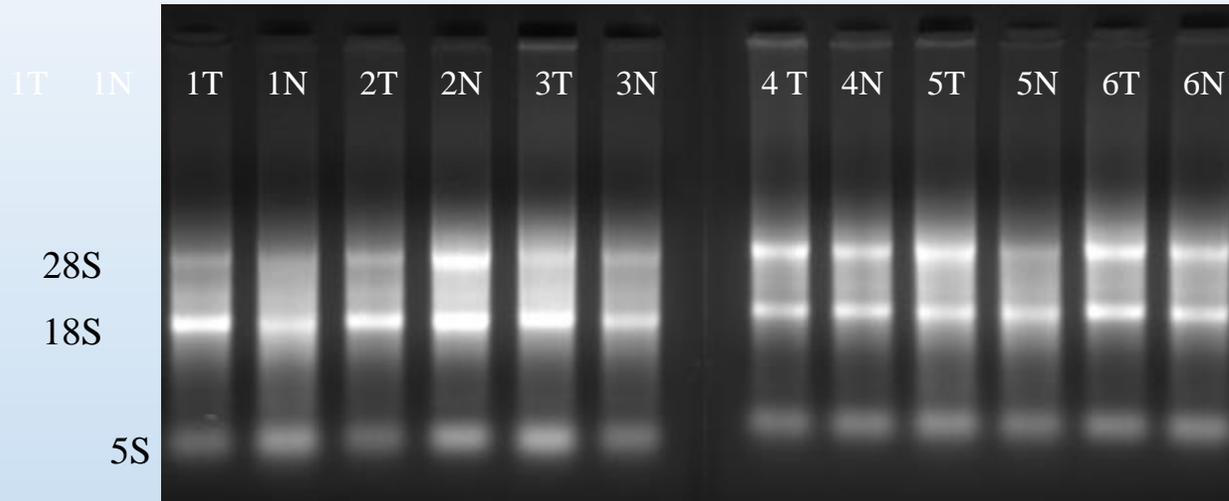
Assay Comments:
Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)

© Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.



冷凍組織抽取之RNA 濃度，OD值，和跑膠圖 範例 二

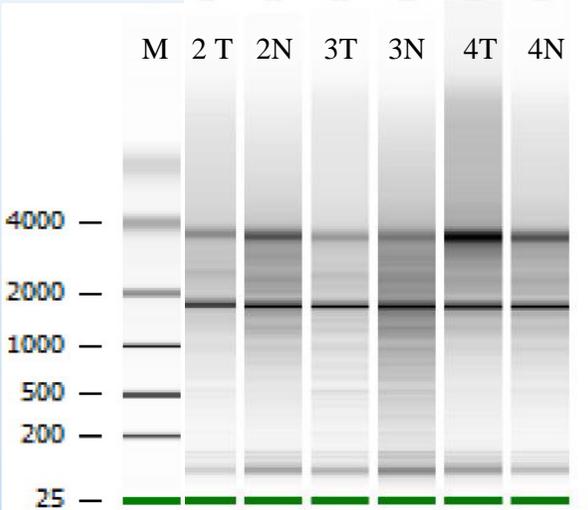
RNA Extraction of Liver



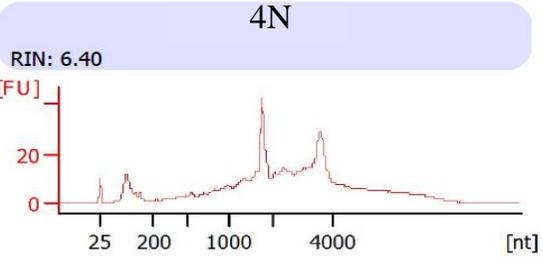
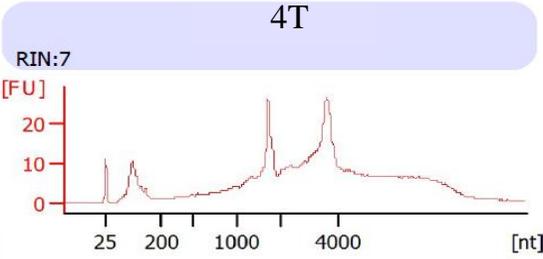
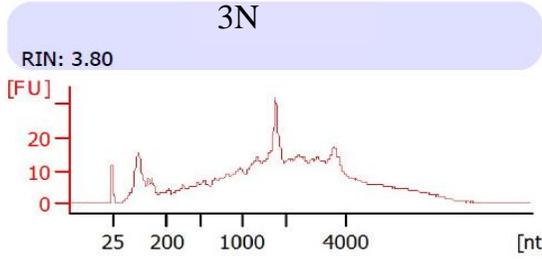
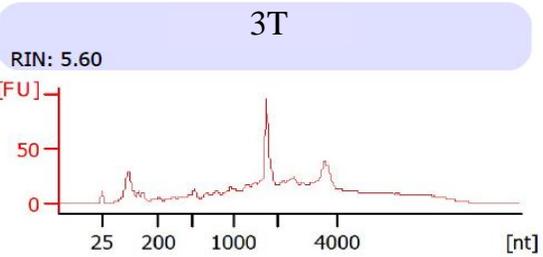
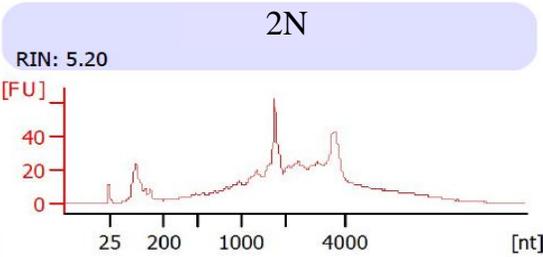
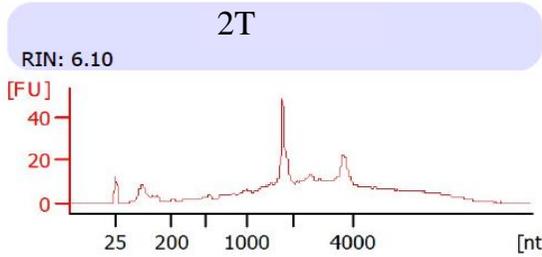
Sample	Liver of Human
Exposure	0.12s
Electrophoresis	85v / 35 min
Agarose gel	1%
Buffer	1x TAE buffer

	ng/uL	260/280	260/230	volume(ul)	Yield(ug)	備註	QC
1 T	1551.6	2	2.16	100	155.2		x
1 N	2361.8	1.98	1.89	100	236.2	28S弱	x
2 T	1782.8	1.99	1.99	80	142.6		6.1
2 N	2836.4	2	2.05	120	340.4		5.2
3 T	3291.9	2.02	2.05	100	329.2		5.6
3 N	2380.3	1.97	2.07	120	285.6		3.8
4 T	2091.1	1.99	1.98	90	188.2		7
4 N	1727.7	2	1.52	150	259.2		6.4
5 T	2749.1	2	2.12	150	412.4		5.2
5 N	1807.1	1.99	1.9	100	180.7		4.1
6 T	2273.4	2.01	1.79	150	341.0		7.2
6 N	2490.9	1.99	2.01	120	298.9		5.9

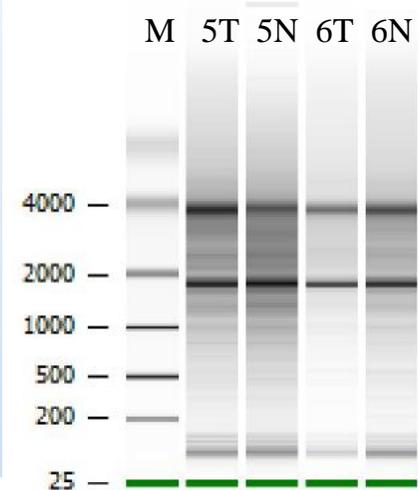
Electrophoresis File Run Summary (QC) (RIN: RNA Integrity Number)



Instrument Information:
Assay Origin Path: C:\Program Files (x86)\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
Assay Class:Eukaryote Total RNA Nano
Version:2.6
Assay Comments:
Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
© Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.



Electrophoresis File Run Summary

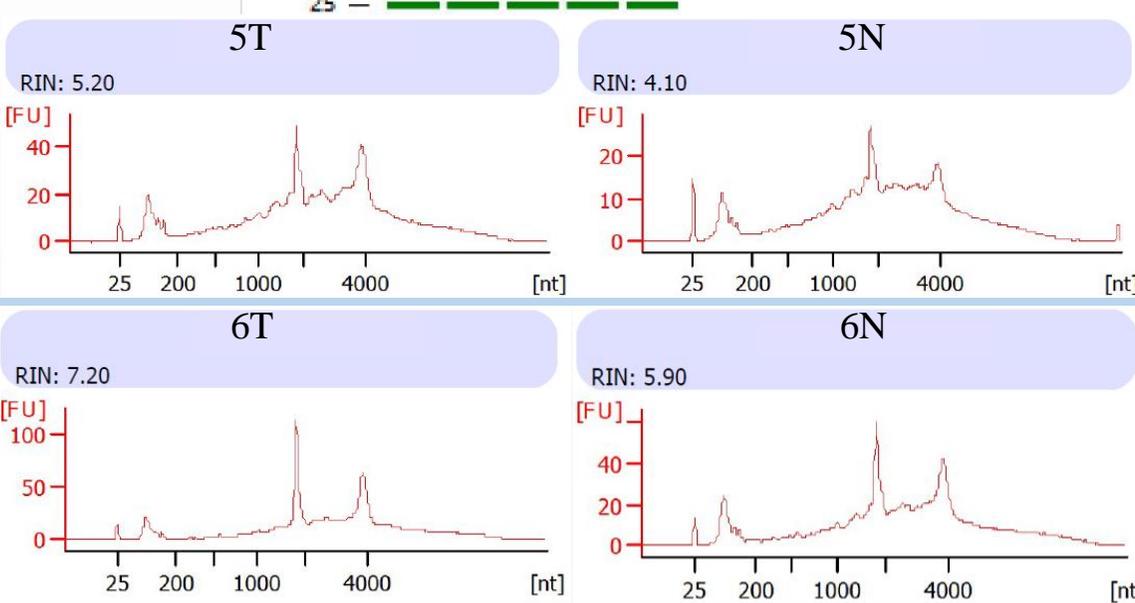


Instrument Information:

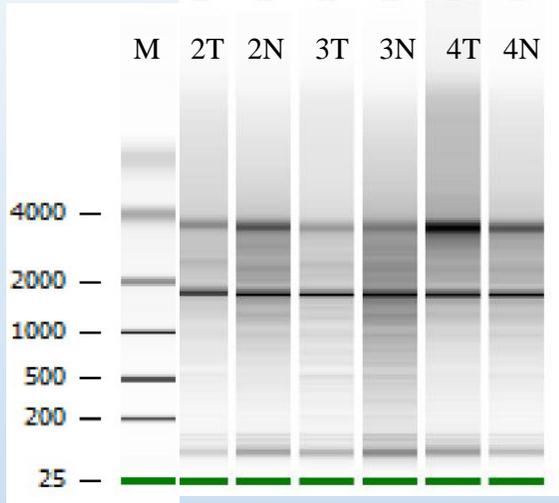
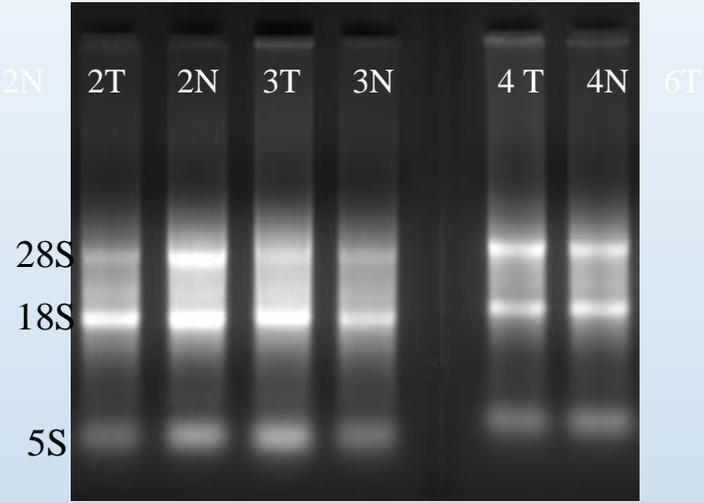
Assay Origin Path: C:\Program Files (x86)\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy

Assay Class:Eukaryote Total RNA Nano
Version:2.6

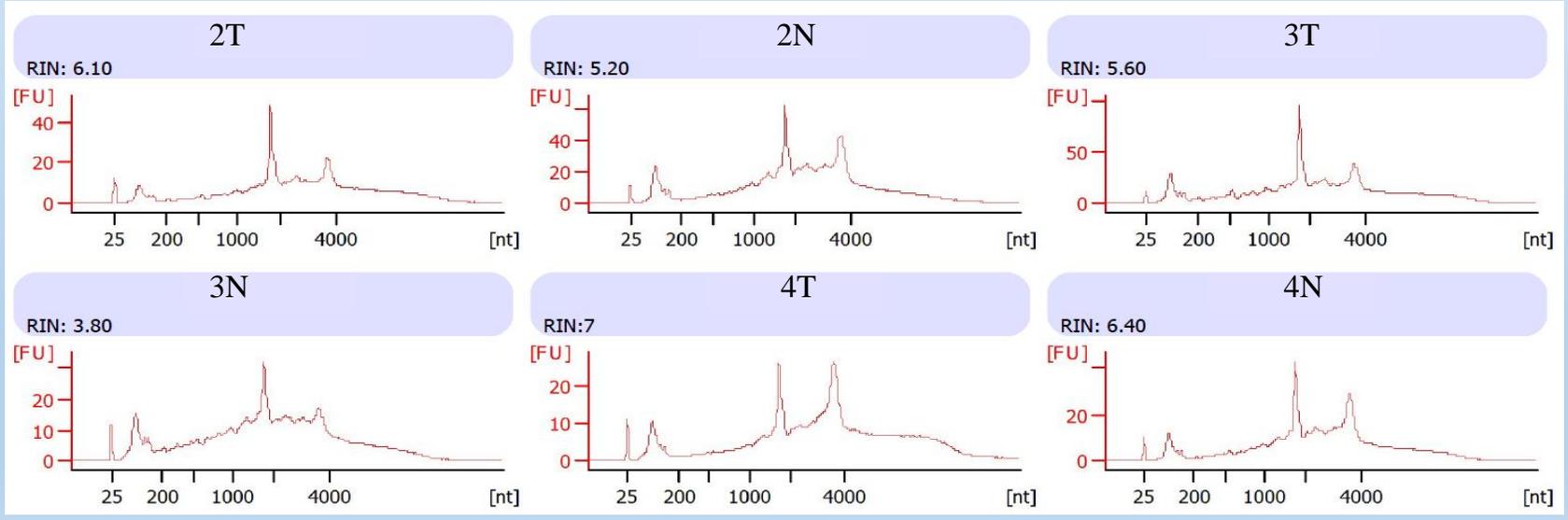
Assay Comments:
Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
© Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.



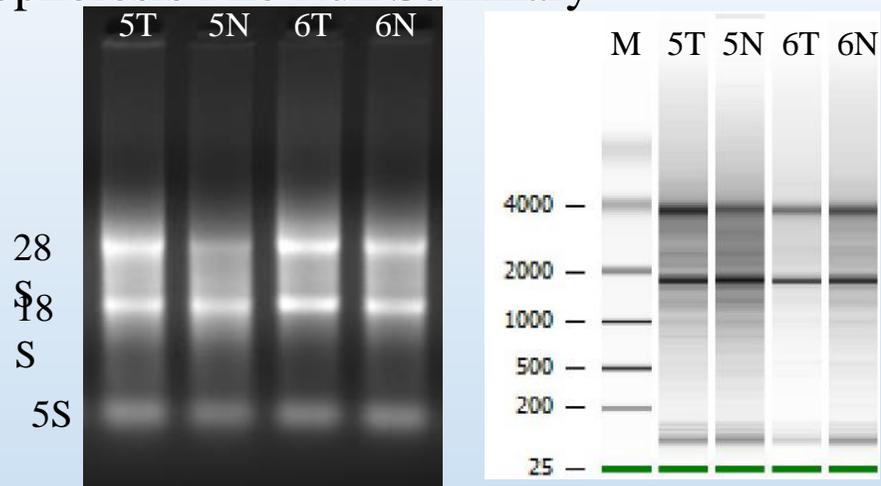
Electrophoresis File Run Summary



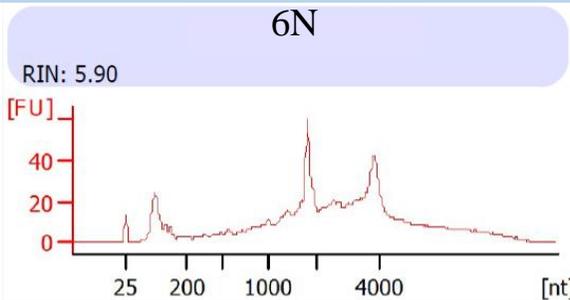
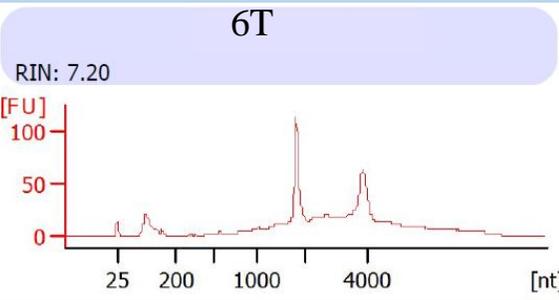
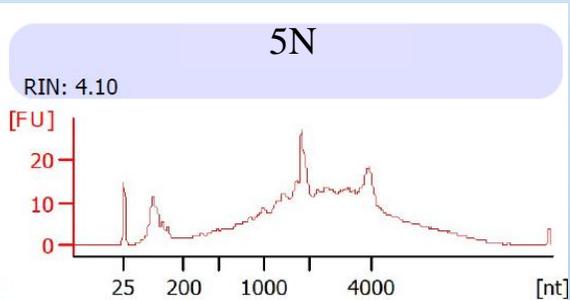
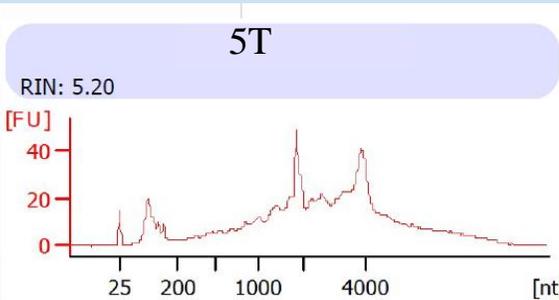
Instrument Information:
 Assay Origin Path: C:\Program Files (x86)\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
 Assay Class:Eukaryote Total RNA Nano
 Version:2.6
 Assay Comments:
 Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
 © Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.



Electrophoresis File Run Summary



Instrument Information:
Assay Origin Path: C:\Program Files (x86)\Agilent\2100 bioanalyzer\2100 expert\assays\RNA\Eukaryote Total RNA Nano Series II.xsy
Assay Class:Eukaryote Total RNA Nano
Version:2.6
Assay Comments:
Total RNA Analysis ng sensitivity (Eukaryote)
© Copyright 2003 - 2009 Agilent Technologies, Inc.



簡要臨床資料欄位：乳癌

流水號	Biobank ID No.	gender	age	CEA	Hb	Platelet	CHO	TG
-----	-------------------	--------	-----	-----	----	----------	-----	----

operation date	tumor diagnosis	tumor size(cm)	tumor grading	tumor site	vascular invasion	perineural invation	最近的 Tumor margin
-------------------	--------------------	-------------------	------------------	------------	----------------------	------------------------	------------------------

*Pathology stage:T	Pathology stage:N	Pathology stage:M	Pathology stage	metastatic site	treatment before surgery
-----------------------	----------------------	----------------------	--------------------	--------------------	--------------------------------

ER (by IHC)	PR (by IHC)	HER-2 (by IHC)	Ki-67 (by IHC)
----------------	----------------	-------------------	-------------------

***Pathology staging according to AJCC, 8th edi.**

**** 若沒手術，就填切片日期，並註明
若無相關數據，就空白**

簡要臨床資料欄位：肺癌

流水號	Biobank ID No.	gender	Age	smoking History	肺結核病史	
Clinical stage:T	Clinical stage:N	Clinical stage:M	*Clinical stage	CEA	Hb	Platelet
**Operation date	Pathology Diagnosis	tumor size(cm)	Tumor site			
Pathology stage:T	Pathology stage:N	Pathology stage:M	metastatic site	*Pathology stage		
treatment before surgery	EGFR mutation	KRAS mutation	HER2 mutation	ALK mutation	其他基因	
*Clinical and Pathology staging according to AJCC, 8th edi.						
** 若沒手術，就填切片日期，並註明						
若無相關數據，就空白						

Q & A

高雄榮總

- 1.於平台系統上傳收案數，系統無法與已上傳資料加總，每次上傳皆要自行重新統計，增加作業時間，希望可以改善，並且增加產生統計表之功能。
- 2.平台轉介出庫案，申請資訊不明確，未於申請時同步提出所需臨床資訊，以至於必須重複查閱資料。
- 3.檢體處理、保存及品管，各家機構做法不一，希望平台可提供標準流程供參，另外，出庫時檢體的運送也希望制定規範，避免申請者取得之檢體品質良莠不齊，無從釐清責任歸屬。
- 4.審查時間冗長，已屆計畫期末仍未能取得檢體，造成申請者經費運用不便。

亞東醫院

- 本庫規劃儲存癌症檢體的組織、OCT包埋、DNA、情況允許下也會儲存RNA。可是核酸有可能降解，是否可以在有出庫需求下，再純化萃取核酸？不知道其他生物資料庫是如何運作？

高雄長庚

- 針對出庫的檢體是否需重新編碼或依循原出庫單位編碼標示？

台中榮總

- 整合平台向各機構調查可出庫檢體數量時,是否可以提供檢體類型之納入及排除條件以利機構內部之查核?

演譯基金會

- 1.全球新冠肺炎疫癩又漸漸開始擴大，明年有可能會影響到檢體收案狀況，我們是否需要做任何因應措施，盡可能增加收案數？還是照實際狀況收案即可？
- 2.儘管加入了整合平台，但在申請檢體釋出上（例如申請文件、EGC審查），基金會需要「依法」按照既有衛福部核定的SOP辦理，也就是要按照基金會報部的美兆人體生物資料庫SOP進行，如未來有法令變更或是政府明確之政策指示，基金會將再配合研議調整。儘管如此，我們還是希望能盡量減少申請者填寫表單的負擔，整合平台是否可以推動相關政策的通過，讓申請者、整合平台與人體生物資料庫能夠按照政策指示依循一套規定進行檢體申請？

花蓮慈濟

- 1.研究計畫配合申請書:內容太少，沒有寫到重點，特別是很多都是有主計畫，所以配合款計畫書就會寫得少。但是在審查時又不能提供主計畫書；另外與主計畫較無關的，研究內容說明過少。建議依照申請正式研究計畫的格式來填寫比較完整，另外計劃書建議就是都是用中文撰寫，若要用英文來寫，一定要有中文完計畫完整說明。EGC委員在才有辦法進行審查(畢竟都是非專業人士)
- 2.研究配合款計畫要求各院出庫的檢體數量及要提供給申請者的確切總量給一個完整的正式的說明。

花蓮慈濟

- 3.研究配合款建議改成申請研究計畫的方式，就算是沒有計畫經費執行的PI也可以申請，計畫如果有過就執行，放寬申請資格限制 (畢竟現在計畫經費越來越難取得，也給沒有計畫經費但是想做檢體研究的PI)
- 4.研究配合款改成申請計畫方式,如有現在在執行的經費計畫可以直接當附件，作為審查的依據，可以不需要再重新填一份申請表及文件，對於PI在申請時會更為方便。

台北慈濟

- 1.因為已經有一些個案入庫了(管理系統)，是否平台明年度會規定要收集哪些臨床資料呢？
- 2.品管系統內有提到Plan do study act(簡稱PDCA)，是否有建議多久要做一次。
- 3.醫中評鑑條文裡有一項是「109年臨床資料數目」上傳整合平台，請問這要怎麼呈現呢？我們是以無檢體，但有簽同意書的個案來做認定。

中國醫大

- 2. 最近的Tumor margin不清楚指的是什麼，再煩請協助回答。

中國醫大

- 1.想詢問腫瘤之基本臨床資料欄位問題，想和您確認幾項欄位名稱對應的檢查項目是否正確(全名/縮寫/中文/備註說明):

(欄位名稱:CEA. HB. Platelet. CHO. TG. vascular invasion. Perineural invasion. CA19-9. Clinical stage. Pathology stage .PSA)

-欄位名稱: CEA

全名/縮寫 : Carcinoembryonic Antigen

中文 : 癌胚胎抗原

備註:

-欄位名稱 : HB

全名/縮寫 : Hemoglobin

中文 : 血色素檢查

備註:

中山醫大

- 1.基本臨床資料欄位是否可以提供共同填寫格式?

讓大家提供資料格式統一，舉例如下：

-日期，西元/民國

-數字，小數點位數

-陽性/陰性，positive/negative、+/-，部分檢驗報告
non-reactive...

-菸酒檳榔，有、無、已戒?

- 2.文字欄位建議以下拉式選單，如大腸癌tumor site (在大腸直腸的位置)，(1).升結腸 (2).橫結腸 (3).降結腸 (4).直腸 (5).乙狀結腸 (6).盲腸 (7).其他 ...

- 3.treatment before surgery? 只填治療方式? 或是簡寫?