
 National Biobank Consortium of Taiwan (網頁連結)	國家級人體生物資料庫整合平台 標準作業程序	編號: NBCT SOP-008
	標題: 整合平台蠟塊與空白切片檢體 製作流程	版本/總頁數: 第 1.1 版/4 頁
		發布日期: 114-12-01

本文件歷次變更紀錄：

版本	制定單位	核可日期	核可者	發布日期
1.0	中央辦公室	110-07-14	衛生福利部	110-07-20
1.1	中央辦公室	114-09-16	衛生福利部	114-12-01

目錄

一、目的.....	2
二、範圍.....	2
三、權責.....	2
四、說明.....	2
五、作業流程	
5.1 蠟塊的製作.....	2
5.1.1 人體組織蠟塊.....	2
5.1.2 取胸水或腹水離心沉澱細胞製作之蠟塊.....	3
5.2 空白切片檢體的製作.....	3
六、出庫品質標準.....	4

 (網頁連結)	國家級人體生物資料庫整合平台 標準作業程序	編號: NBCT SOP-008
	標題: 整合平台蠟塊與空白切片檢體 製作流程	版本/總頁數: 第 1.1 版/4 頁
		發布日期: 114-12-01

一、目的

「國家級人體生物資料庫整合平台」(下稱整合平台)主要透過雲端整合國內人體生物資料庫, 資料、生物檢體及其資訊(下稱整合平台檢體資料), 並供全國醫學、臨床、產業及相關醫療生技研究者申請使用。為能夠達成跨機構的合作, 需要建立一致性的檢體出庫品質標準和臨床資料內容。為維持檢體的良好品質, 使蠟塊與空白切片檢體的處理具有一致性, 以利未來進行相關研究, 因此訂定此標準作業流程。

二、適用範圍

此作業流程適用於蠟塊與空白切片檢體的製作流程。

三、權責

所有加入整合平台之人體生物資料庫, 欲將石蠟空白切片檢體出庫時, 建議都依此標準作業流程辦理。

四、說明

此作業流程可以分為兩個階段

1. 組織或體液蠟塊的製作
2. 空白切片檢體的製作

五、作業流程

5.1 蠟塊的製作


設備: 脫水機, 包埋機

耗材: 10%中性福馬林, 無水酒精, 蠟粒

5.1.1 人體組織蠟塊

步驟:

1. 新鮮切取之組織, 需先浸泡於10倍體積的中性10%福馬林固定至少2-5小時, 因為福馬林的組織滲透力只有一公分, 若組織很大塊, 就需要更長時間固定, 最長就是隔夜浸泡, 最好在 24 小時以內進行脫水處理, 不要超過三天。

 National Health Research Institute Consortium of Taiwan (網頁連結)	國家級人體生物資料庫整合平台 標準作業程序	編號: NBCT SOP-008
	標題: 整合平台蠟塊與空白切片檢體 製作流程	版本/總頁數: 第 1.1 版/4 頁
		發布日期: 114-12-01

2. 將新鮮或泡過福馬林之組織裁切到適當大小，需小於 25x20x4mm³(此為包埋專用卡匣的長寬高)，才能放入包埋專用卡匣，持續浸泡於中性 10%福馬林。
3. 再將裝有組織的包埋專用卡匣，放入組織脫水處理機，依標準流程進行脫水，最後一步驟為浸蠟，之後再用包埋機，將組織製作成蠟塊。

注意事項:

1. 組織脫水及包埋製作蠟塊，需要專門設備和專業技術人員，建議直接請醫院病理科實驗室幫忙製作即可。
2. 新鮮組織浸泡於中性福馬林固定的時間不宜太長，會影響組織品質。不利於未來做免疫染色或是基因分析。
3. 若浸泡 10%中性福馬林後的組織無法在 3 天內進行脫水包埋處理，可以將 10% 中性福馬林置換成同樣體積的 75%酒精，放入 4°C 冰箱內保存，直到可以送脫水處理。

5.1.2 取胸水或腹水離心沉澱細胞製作之蠟塊

步驟:

1. 收集至少 50cc 胸水或腹水在 1 支 50ml 尖底離心管。
2. 將胸水或腹水檢體，以 1,500 rpm 轉速離心 20 分鐘。
3. 抽掉上層組織液後，加入 15ml PBS buffer，左右輕拍和細胞混合均勻。
4. 再一次以 1,500 rpm 轉速離心 20 分鐘，抽掉上層組織液後，加入 15ml PBS buffer，左右輕拍和細胞混合均勻。
5. 用 2,500 rpm 轉速離心 20 分鐘，抽掉上層 PBS，加入 15ml 10% 中性福馬林充分混和；室溫靜置 40 分鐘，讓沉降之細胞固定及結塊。
6. 再一次以 2,500 rpm 轉速離心 20 分鐘，抽掉上清液(10% 中性福馬林)，再加入 95% 酒精 15ml，不要搖晃混合，放入 4°C 冰箱至少兩小時，以將細胞層固定及脫水。
7. 將尖底離心管自冰箱取出，此時細胞層已結塊，可以將細胞塊倒入包埋專用卡匣，送去脫水包埋以製成蠟塊。


5.2 空白切片檢體的製作

設備:

1. 石蠟切片機
2. 烘箱

耗材:

1. 空白切片檢體玻片盒(100 片/1 盒)

 (網頁連結)	國家級人體生物資料庫整合平台 標準作業程序	編號: NBCT SOP-008
	標題: 整合平台蠟塊與空白切片檢體 製作流程	版本/總頁數: 第 1.1 版/4 頁
		發布日期: 114-12-01

2. coating 玻片
3. 石蠟切片機專屬的刀片

步驟:

1. 將符合申請者申請條件的個案蠟塊檢體，依據整合平台申請案個案流水號編碼找出排列。
2. 依據申請者申請的空白切片數，在 coating slides 上端白色粗糙面寫上整合平台個案編碼。
3. 使用石蠟切片機以每片 4 μ m 的厚度進行連續切片，貼在玻片上，並按照編號順序放入 100 片裝的玻片盒中。
4. 將玻片盒置於 42°C 烘箱中，烘兩天，以去除水分。烘乾後可放置於 4°C 或 -20°C 冰箱。

說明：4°C 冰箱可短期存放已烘乾玻片，若需長期存放則建議放置於 -20°C 冰箱或 -80°C 冰箱。

注意事項:

1. 所有空白切片建議都使用 coating 玻片提供給申請者研究用。但是若只要做 H&E 染色，可以用一般玻片。
2. 切片時，要隨時確認刀片狀況，以避免產生刀痕。

六、出庫品質標準

整合平台出庫之空白切片檢體應注意下列事項:

1. 玻片要完全烘乾，確認每一片玻片的組織跟玻璃中間沒有水珠殘留(或沒有水分形成組織隆起狀態)。
2. 組織應平貼在切片之玻璃面上，且平整無皺痕或刀痕。
3. 若是腫瘤的組織或是胸水、腹水之蠟塊切片，要先請病理科醫師確定該切片有足夠之腫瘤細胞。

說明：出庫前會先放在 37°C 烘箱烘片 2 小時，讓玻片完全烘乾。