

## 栃木キャンサーバイオバンク

### 試料取り扱い手順書 (SOP) 【外部用】

栃木県立がんセンターを受診し、説明文書「栃木県立がんセンター 栃木キャンサーバイオバンクの説明文書」を用いた説明を受け、「説明と同意の記録」において同意を文書で表明していただいた患者の血液、尿あるいは手術検体を保管する。

#### 【個人情報管理】

1. 検体の匿名化は、電子カルテ上で、臨床医が行う。
2. 同意書、匿名化番号の記載された依頼書（血液・尿・手術検体）をバイオバンク事務室の所定場所に担当者が搬送する。
3. 血液の場合、必要な本数の採血管と匿名化番号ラベルを添付した保管用チューブを検査科へ搬送する。組織の場合、匿名化番号ラベルを添付した保管用チューブを手術室の特定の場所に担当者が準備しておく。
4. 情報を登録し、対応表から患者氏名、姓、名、患者 ID、生年月日を削除して、担当者が匿名化ワークシートを作成する。

#### 【血液検体】

5. バイオバンク用採血は診療のために併せて、約 14 ml（16 才未満は 7 ml、6 才未満は 5 ml、2 才未満は 2 ml 以下）採血する。但し、参加者の体調や病状などを鑑み、担当医が問題ないと判断した上で実施する。
6. 採血室で採血された採血管は、その他検査用の採血管と共に採血後、速やかに検体検査室に運ばれる。検体検査室では各採血管を検査別に種別すると共に、バイオバンク研究用採血の採血管を所定の 4℃冷蔵庫内に保管する。到着確認・記録を行う。
7. 研究補助者が検体検査室にて採血管（検体）を受領する。検体とワークシートを照合して確認後、ワークシートとコピーに受領日を記入して署名する。コピーは検体検査室保管とし、原本は検体と共にバイオバンクに保管する。
8. 検査技師が検体検査室にて採血管（検体）を受領する。検体と依頼書照合して確認する。
9. 採血管の処理
  - 1) PBMC (CPT 単核球分離用採血管) 1800 G、15 分遠心分離する。単核球層を採取し、9 ml の PBS で 2 回洗浄。1 回目 300 G、15 分、2 回目 300 G、10 分。沈渣を回収し保存する。

2) 血清 (分離剤入り試験管) 3000rpm、10分。上清を保存。

3) 血漿 (EDTA-2Na; 5 ml) 3000 rpm、10分。上清を保存。

4) 全血 (EDTA-2Na; 5 ml) そのまま保存。

10. PBMC は、バイセルに入れて-80℃に保存する。

#### 【尿検体】

11. 150 cc採尿カップに入っている尿検体を 2 ml 耐低温スクリューキャップチューブに分注し、-80℃に保存する。

#### 【手術検体】

12. 手術検体は、摘出後できるだけ速やかに、凍結保存する。

注: 手術検体のうち、病理診断に支障を来たさず患者に不利益を及ぼさず、核酸やタンパク質の変性が予測される壊死・出血巣を避け、肉眼所見の紛らわしい部位を避け、適切な採取部位を保存する。また、バイオバンク試料利用者に、術中疎血時間など試料の品質に関わる情報を提供できるように記載を残すなど努める。がん組織内に、肉眼所見に不均一性が認められる場合等、がん部の複数箇所から組織が採取されている場合がある。また、非がん部が採取されない場合等もある。急速凍結を優先するため、組織の湿重量は計測・記録しない。

13. 組織は 1 辺 2-3 mm 角程度にまで細切し、2 ml 耐低温スクリューキャップチューブの内壁に個々の組織片を相互に離して貼付する。3 個以上の組織片を 1 つの 2 ml 耐低温スクリューキャップチューブに収納する。凍結サンプル保存用としては、2 ml 耐低温スクリューキャップチューブにそのまま組織片を入れる。Living Biobank 保存用としては、保存液と共に 2 ml 耐低温スクリューキャップチューブに組織片を入れる。新鮮試料保存用としては、輸送液の入った 50 ml チューブに塊のまま 5-10 mm 各程にして入れる。

14. 各症例のがん部から 2 ml 耐低温スクリューキャップチューブを通常、各 10 本 (合計 20 本) 作製する。彼岸部から凍結サンプルのみ 10 本作製する。ただし、組織が取れない場合は数本で良い。

15. 組織片を収納した 2 ml 耐低温スクリューキャップチューブは液体窒素に浸漬して急速凍結を行うことが望ましい。Living Biobank 保存用は 2 ml 耐低温スクリューキャップチューブをバイセル (2 ml 耐低温スクリューキャップチューブ保存溶液) 入れ、-80℃フリーザーへ保存する。翌日、液体窒素タンクに保存する。

16. 手術検体の摘出より組織の採取を経て 15. の急速凍結まで、1 時間以内で行うことが望ましい。新鮮試料保存用は 4℃に保存するまで、30 分以内で行う。

17. 凍結した 2 ml 耐低温スクリューキャップチューブは、研究使用まで保管する。

18. 試料の出入庫は、管理システムを用いて管理する。