



SEP 06, 2023

OPEN ACCESS



**Protocol Citation:** Annika Fendler, Bettina Ergün 2023. Gewebesammlung Frischgewebe Prostataktomie. [protocols.io https://protocols.io/view/gewebesammlung-frischgewebe-prostatektomie-cxjsxkne](https://protocols.io/view/gewebesammlung-frischgewebe-prostatektomie-cxjsxkne)

**License:** This is an open access protocol distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

**Protocol status:** Working  
We use this protocol and it's working

**Created:** Jul 21, 2023

**Last Modified:** Sep 06, 2023

**PROTOCOL integer ID:**  
85330

## Gewebesammlung Frischgewebe Prostataktomie

Annika Fendler<sup>1</sup>, Bettina Ergün<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Charité

Bettina Ergün: Re

Urology\_Research



### ABSTRACT

Dieses Protokoll beschreibt die Schritte für die Sammlung von Frischgewebe, Gefriergewebe (Fresh-frozen), und Blut von Patienten mit Prostatakarzinom bei Prostataktomie.

Verwandte Dokumente:  
Protokoll zur Blutaufarbeitung

### GUIDELINES

#### Beschreibung der biologischen Proben:

Probentyp	Kurzbeschreibung Prozess	Zweck	Bemerkung
Gefriergewebe (Fresh-frozen)	Sammlung in 2 ml Kryoröhrchen, schockfrozen in LN, Lagerung bei -70°C	Lagerung für verschiedene Anwendungen	Findet im Rahmen der Biobank Sammlung statt. Zuständig: Michela de Martino
Frischgewebe	Sammlung in Transportmedium in 15 ml Falcon.	Aufarbeitung zu Tumorfragmenten und/oder Einzelzellen	Zuständig: Annika Fendler, Bettina Ergün
2 x EDTA	NA	Aufarbeitung und Lagerung von Vollblut und Plasma	Findet im Rahmen der Biobank Sammlung statt. Zuständig: Michela de Martino
1 x koaguliertes Blut in CAT tubes	NA	Aufarbeitung und Lagerung von Serum	Findet im Rahmen der Biobank Sammlung statt. Zuständig: Michela de Martino

Tabelle 1: zu sammelnde biologische Proben

**Keywords:**

Gewebesammlung,  
Gewebeaufarbeitung,  
Prostata

**Einschlusskriterien für Patienten:**

Auf Grund des Fokus unserer Projekte auf fortgeschrittene Karzinome, sowie der Problematiken bei der Gewebesammlung bei kleinen Tumoren, fokussieren wir momentan auf Patienten, die mind. ein intermediäres Risiko haben. Die Kriterien sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Zudem sollte vermerkt werden, wie viele Biopsien analysiert wurden und in welchem Bereich der Prostata.

Weiterhin sollte der PIRAD score, sowie die Ausdehnung und Position des Tumors aus dem MRT vermerkt werden (falls vorhanden).

Risikogruppe	Kriterien
Intermediate-risk	PSA 10-20 ng/ml OR ISUP 2-3 (= Gleason 3+4 or 4+3) OR cT2b (Befall von mehr als 50 % eines Seitenlappens – Tastbefund!)
High-risk	PSA >20 ng/ml OR ISUP 4-5 (=Gleason Score 4+4, 4+5, 5+4, 5+5) OR cT2c (in beiden Seitenlappen vorkommender Tumor)
Locally advanced	Any PSA Any ISUP cT3-4 (extraprostatistisches Wachstum oder Infiltration von Nachbarorganen; meist im MRT beschrieben) OR cN+ (Lymphknotenmetastasen pelvin)

Tabelle 2: Einschlusskriterien

**Allgemein:**

Die Entscheidung von welcher Seite oder ob von beiden Seiten Gewebe entnommen wird, wird auf Grund der vorhandenen Informationen im SAP (welche Stenzen waren positiv bzw. MRT Befund) getroffen, sowie in Rücksprache mit dem Operateur. Tumorsuspekte Areale werden per Tastbefund durch den Operateur oder das Laborpersonal identifizieren.

Im Falle von Neurosafe: Gewebe im Bereich der Schnittfläche aus der verbleibenden Prostata entnehmen.

Kein Neurosafe: Prostata ggf. anschneiden, wie für Neurosafe und Gewebe von innen entnehmen. Mit dem Operateur Farbmarkierung anbringen.

Gestanzt wird im vertikalen Winkel zum Gewebe so tief, wie die Stanze erlaubt (kompletter metallener Bereich). Stanzzylinder dann vorsichtig mit Pinzette rausziehen und unteres Ende mit Messer abtrennen.

Falls beide Seiten gestanzte werden, eine neue Stanze für die zweite Seite verwenden.

**Verantwortliche:**Sammlung für folgende Arbeitsgruppen:

AG Fendler (Organoide)

Urologische Forschung

Zuständige Labor:

Annika Fendler, Tel.: 515040

Michela de Martino, Tel.: 515040

Bettina Ergün, Tel. 515128/615009

Zuständige Klinik für Urologie:

Antonia Franz

Kira Kornienko, Tel. 615166

Zuständige Pathologie:

Simon Schallenberg, Tel.: 536054

Zuständige Klinik für Radiologie:

Markus Lerchbaumer, Tel.: 657084

Kontakt Patientenmanagement

Silvia Stark, Tel.: 615028

Nadine Stremlau, Tel.: 615029

## MATERIALS

### Transportmedium

	A	B	C	D	E
	Menge		Bestandteil	Cat-No.	Bemerkung
	500 ml	98 %	MEM	31095-029	
	10,2 ml	2%	Zellshield (100x)	13-0050	vor dem 15.5.2023 wurde nur 1 % Zellshield verwendet

### Gefriermedium

	Menge	Bestandteil	Cat-No.
	10 ml	DMSO	
	90 ml	FBS	FBS. S 0615

15 ml Falcons

2 ml Kryoröhrchen

Stanzen 6 mm

Aufkleber AG Uro Patho; Gewebeschein + Stifte

Skalpell und Einweg-Pinzette für den Notfall

Sterile Glas-Petrischale und Pinzette

## BEFORE START INSTRUCTIONS

### Vor der OP:

Patienten werden von Michela de Martino im Rahmen der Biobank Planung identifiziert und gegebenenfalls gemeinsam besprochen.

Prostatagewebe wird direkt im OP gesammelt und muss daher nicht auf der Schnellschnittliste vermerkt werden.

Die Patientenliste mit Datum der vorstationären Aufnahme wird jeweils am Donnerstag an das Patientenmanagement geschickt.

Wenn ein Patient die EVEs unterschrieben hat und Blut abgenommen wurde, wird in SAP im Bemerkungsfeld für das OP-Personal vermerkt, dass sie uns 20 min vor Entnahme der Prostata anrufen sollen.

Änderungen im OP-Plan sollten im besten Fall täglich überprüft und mit dem Team abgesprochen werden.

### Am Tag der OP:

#### Vorbereitung:

Flüssiger Stickstoff, sowie die Box mit Stanzen, Skalpellen, Pinzetten, Kryoröhrchen, Labels und den Gewebescheinen bereit haben

In der Gewebeliste die letzte Gewebenummer identifizieren und nächste fortlaufende Nummer verwenden (vorgelabelte Röhrchen vorhanden)

Nach Anruf des OP-Teams sollten im besten Fall 2 Personen in den OP gehen.

15 ml Falcon mit Transportmedium aus dem Kühlschrank im OP-Trackt (Raum 14; 4. Ebene) holen.



Röhrchen mit Formalin aus dem Regal vor Saal 5 entnehmen.

## Gewebesammlung im OP

- 1** Frischgewebe :  
Die erste 6 mm Stanze sollte für Frischgewebe verwendet werden und wird direkt in Medium überführt.  
Röhrchen mit Gewebenummer und falls nötig T1 und T2 beschriften.
- 2** Fresh-frozen tissue:  
Die zweite Stanze sollte direkt neben der Frischgewebestanze erfolgen und für fresh-frozen erfolgen.  
Gewebe direkt in Kryoröhrchen (mit Gewebenummer und T1/T2 beschriftet) überführen und im flüssigen Stickstoff schockfrostet
- 3** Forschungsstanze:  
Dritte Stanze für Forschungsstanze verwenden.  
Stanze sollte zwischen den Stanzen für Frischgewebe und fresh-frozen entnommen werden.  
Gewebe direkt in Formalinkontainer überführen. Sticker „AG-Uropatho“ aufkleben.  
Mit T1/T2 beschriften.  
Namenssticker von OP-Team aufkleben lassen und auf dem Histoschein vermerken.  
Die Nummer auf dem Histoschein auch auf das Röhrchen schreiben.


## Aufarbeitung im Labor

1h

- 4 Gewebe sollte, wenn möglich am selben Tag verarbeitet werden, kann aber maximal über Nacht bei 4°C gelagert werden  
Zur Reduktion der Keimbelastung sollte das Gewebe  01:00:00 bei  Room temperature inkubiert werden 1h
- 5 Das Gewebe wird im Labor in Stücke mit 1-2 mm Kantenlänge aufgeteilt.  
Die Fragmente eines Tumorstückes mixen, damit jedes Aliquot möglichst repräsentativ für das Tumoreareal ist.
- 6 Je 16 (bis 28.6.2023 nur 8) Fragmente werden in 1 ml Gefriermedium in einem Kryoröhrchen gelagert.  
Falls genug Fragmente für mehr als 4 Kryoröhrchen vorhanden sind, können auch mehr Fragmente in einem Röhrchen vereinigt werden. Maximal werden 5 Kryoröhrchen jeder Entität eingefroren.
- 7 Proben über Nacht in Mr. Frosty einfrieren.
- 8 Am nächsten Tag werden die Kryoröhrchen in den Stickstofftank überführt und im Ordner "N2-Tank" dokumentiert.

## Dokumentation

- 9 Patientendaten in Datei hinterlegen und korrespondierende Liquidnummer eintragen:  
\\Charite.de\Centren\C08\UR\FO\Intern\PROBEN\_PATIENTEN\01-Gewebe\Gewebe\_FF\Biobank\_Gewebe\_ab01012019.xlsx
- 10 In der Liquid-Sammelliste die korresspondierende Gewebenummer eintragen:  
\\Charite.de\Centren\C08\UR\FO\Intern\PROBEN\_PATIENTEN\02-Liquid\Uro-Biobank\Biobanking-lfdListe\_ab190311.xlsx

- 
- 11** In Labfolder die Vorlage "Tissue\_Collection\_Fragments" bzw. seit dem 15.5.2023 "Tissue\_Collection\_Fragments\_new\_15052023" ausfüllen und Bilder des Gewebebegleitscheins sowie des Entnahmeorts und des Gewebes vor der Aufarbeitung im Labor einfügen.