

### **Protocollo per la raccolta di sangue intero**

1) Prelevare 30 ml di sangue periferico e trasferirlo in una provetta Falcon da 50 ml contenente anticoagulante (per 30 ml di sangue intero sono necessari 300 microlitri di EDTA 0.5 molare in soluzione acquosa o pH 8).

Sono sufficienti 5ml se non si prevede di separare il plasma.

NB: Effettuato il prelievo al fine di evitare il più possibile la lisi cellulare evitare movimenti impropri delle provette.

2) Prelevare 5 aliquote da 1 ml di sangue intero in provette per la cryoconservazione con tappo a vite.

3 ) Le aliquote vengono messe in scatole da congelamento (Nalgene CryoBox 50260909) e poste immediatamente a  $-80^{\circ}$  C (congelatori Angelantoni Polar 340 V) in apposite colonne per stoccaggio scatole (Nalgene 5036 Vertical CryoBox Rack)

### **Protocollo per la separazione del plasma**

1) Centrifugare a 2500 rpm a  $4^{\circ}$  C per 10 minuti i rimanenti 25 ml di sangue intero

2) Trasferire il surnatante contenente il plasma tramite una pipetta da 10 ml con molta attenzione in una provetta Falcon da 15 ml (Becton Dickinson Falcon 2097), evitando di recuperare la parte più vicina all'anello linfocitario,

3) Centrifugare a 2500 rpm a  $4^{\circ}$  C per 10 minuti

4) Prelevare il surnatante contenente il plasma con pipetta da 10 ml e aliquotarlo in 9 aliquote da 1 ml in provette per la cryoconservazione con tappo a vite

5) Le aliquote vengono messe in scatole da congelamento (Nalgene CryoBox 50260909) e poste immediatamente a  $-80^{\circ}$  C (congelatori Angelantoni Polar 340 V) in apposite colonne per stoccaggio scatole (Nalgene 5036 Vertical CryoBox Rack).