

PROTOCOLO NORMALIZADO DE TRABAJO 11
OBTENCIÓN DE BUFFY COAT A PARTIR DE SANGRE
PERIFÉRICA

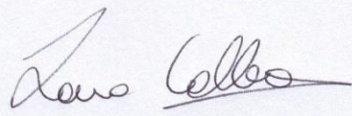
REGISTRO DE MODIFICACIONES

<i>REVISIÓN</i> Nº	<i>FECHA</i>	<i>DESCRIPCIÓN DE LAS MODIFICACIONES</i>	<i>APARTADOS</i> <i>MODIFICADOS</i>
01	09/07/2018	Edición Inicial.	

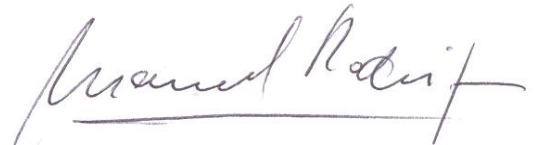
MODIFICADO POR:
ALICIA JALVO SÁNCHEZ



REVISADO POR:
LAURA CALLEROS



APROBADO POR:
MANUEL RODRIGUEZ PUYOL



EXTRACCIÓN DE BUFFY COAT A PARTIR DE SANGRE PERIFÉRICA

1. ABREVIATURAS UTILIZADAS:

- *BC*: Buffy Coat (*capa leucocitaria*).
- *T.A.*: temperatura ambiente (18-25°C).

2. MUESTRAS:

- Sangre venosa periférica (10-20ml), extraída en tubo K3 o K2 EDTA vacutainer. Transportadas al Biobanco a la temperatura de entre 4-6°C.

3. MATERIALES:

- Pipetas estériles para micropipeta de P100 – 1000 µl
- Micropipeta P1000.
- Criotubos de 2ml con tapón a rosca.

4. PROCEDIMIENTO:

- Para la obtención del BC centrifugar la muestra **1300-1500g durante 10 min** (la temperatura se establece en función del criterio, establecido en el punto 5)

En esta centrifugación encontraremos tres fases:

- Fracción superior: con aspecto claro y transparente, de color amarillo que corresponde al plasma rico en proteínas (PRP).
- La fase intermedia que es muy fina y de color gris claro, en donde encontramos los leucocitos (Buffy Coat)
- La Fracción Inferior de color rojo oscuro que corresponde a los eritrocitos.

- Tras obtener el PRP según PNT6.1, se coge la capa intermedia (BC), con cuidado de pipetear la menor cantidad posible de eritrocitos, en fracciones de al menos 500µl en viales de criocongelación adecuada, etiquetada e identificada (1 vial por tubo EDTA).

Nota: si vienen 2 tubos EDTA, obtener 1 vial de BC del tubo que obtengamos plasma, y dejar el otro tubo EDTA para PBMC.

- Se almacena a -80°C, es recomendable mantenerlo a 4°C si no se va a guardar inmediatamente a -80°C.

5. TEMPERATURA:

- Si la muestra va a ser centrifugada inmediatamente (dentro de los 30 min después de la extracción) se aconseja mantenerla a T.A., hasta el momento del procesado con la finalidad de disminuir la activación plaquetaria que se produce a bajas temperaturas provocando la liberación de proteínas que alteran la composición del plasma de manera irreversible.
- Si el procesamiento se demora es aconsejable tener la muestra refrigerada entre 2-6°C hasta el momento del procesado con el fin de evitar la degradación de componentes de la muestra sensible a la temperatura.