

## Core Unit Cell Sorting and Immunomonitoring Erlangen

---

### Protokoll zur Gewinnung von Einzelzellen aus Blut

#### **Benötigte Puffer und Lösungen:**

Lymphoprep (Raumtemperatur!)

PBS (Raumtemperatur1)

PBS - EDTA mit 4°C

#### **Durchführung:**

- Lymphoprep vorlegen (15ml in 50ml Falcon oder 3ml in 15ml Falcon Röhrchen).
- Blut mit PBS verdünnen (2 Teile Blut und ein Teil PBS).
- Blut vorsichtig über das Lymphoprep schichten.
- Zentrifugieren bei Raumtemperatur, 30 Minuten bei 1500 rpm, ohne Bremse!
- 10ml kaltes PBS/EDTA in ein neues 50ml Röhrchen vorlegen.
- Den Überstand bis 1 cm über der Interphase absaugen.
- Die Interphase vorsichtig abnehmen und in das neue Röhrchen mit PBS/EDTA überführen, ggf. noch mit PBS/EDTA auffüllen.
- Zentrifugieren bei 4°C, 15min bei 1100rpm (reduzierte Bremse 4)
- Überstand absaugen und in kaltem PBS/EDTA resuspendieren und auffüllen.
- Zentrifugieren bei 4°C, 10min bei 900rpm (normale Bremse 9)
- Überstand verwerfen
- Zellen zählen
- weiter mit FACS-Färbung