

Fagocytos

Vid den här laborationen kan du studera hur dina egna vita blodkroppar fångar och äter upp jästceller. Det är de neutrofila granulocyterna som arbetar. Tänk på att laboration med blod kan innebära smittorisk. Följ därför lärarens instruktioner om var förbrukat material ska slängas.

material:

märkpenna	objektglas	autoklick för blodprov
plåster	25 ml KRG-lösning 37°C	värmeskåp 37°C
fuktig kammare	två "rullar" av filterpapper	jästsuspension med serum
2 plastpipetter	gul pipettspets	täckglas och mikroskop

utförande:

Hämta objektglas (inga fingeravtryck), fuktig kammare (skriv namn på locket), autoklick och plåster. Lägga objektglaset på bordet och sätt dig på en stol framför. Stick hål i långfinger-/ringfingertoppens sida, (fig 1), där det finns mest blodkärl och minst känsel.

fig 1

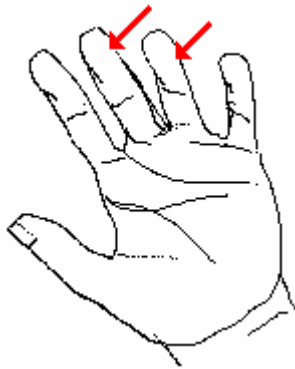


fig 2

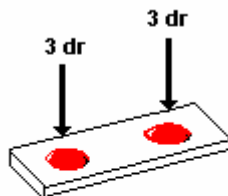
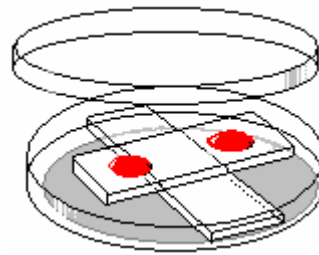


fig 3



Låt armen hänga ner längs kroppen så att blodet rinner till bättre. Tänk på något trevligt sommarminne, t ex hur härligt det är att gå barfota i strandkanten. När du ser att blod kommer fram sätter du en droppe på glaset. Låt armen hänga igen, sätt sedan en till droppe på samma ställe, låt armen hänga igen och sätt ytterligare en droppe på samma ställe. Fortsätt på samma vis så att tre droppar blod sätts på nytt ställe på samma objektglas, (fig 2). Om blodet inte räcker till två fläckar är det bättre att göra en stor. Sätt på plåster.

Lyft på locket till fuktiga kammaren och lägg objektglaset tvärs över det andra objektglaset (fig 3). Sätt genast på locket och ställ in cellerna i värmeskåpet. Tag tid, cellerna inkuberas ca 25 min. Lägga förbrukat autoklick i rätt skräpkärl.

Under inkuberingen faller de neutrofila granulocyterna ner på glaset och fäster till ytan. Dessutom koagulerar blodet. De röda blodkropparna fångas i ett nät av fibrinrådar.

Under väntetiden ger läraren viktiga instruktioner och visar eventuellt hur man tvättar jäst.

Hämta en bägare med varm KRG, två plastpipetter, två "rullar" av filterpapper, gul pipettspets och slutligen jästsuspensionen. Märk den ena pipetten med "KRG", den andra med "jäst".

När inkuberingen är klar hämtas den fuktiga kammaren, objektglaset lyfts ur och locket läggs tillbaka. Blodkoaglet lossas genom att man skrapar runt kanten med den gula pipettspetsen. Håll därefter glaset snett över vasken, sug upp KRG i pipetten och skölj bort blodkoaglet genom att spruta på glaset ovanför cellerna. Torka glasets undersida med papper och lägg det på bänken. Använd nu ändarna på "rullen" av filterpapper för att torka bort KRG på glaset utanför cellfläckarna. OBS! Cellerna får inte torka! Tillsätt slutligen två droppar KRG till den ena cellfläcken och två droppar jästsuspension till

den andra cellfläcken. Lägg tillbaka i fuktiga kammaren och inkubera ytterligare ca 25 min i värmeskåpet. Släng pipettspetsen och annat skräp. Om man endast har en cellfläck bör man inkubera den med jästceller.

Under denna inkubering sker själva fagocytosen. De neutrofila granulocyterna griper tag i jästcellerna och drar in dem i cellen.

I väntetiden kan ni ta fram mikroskop och studera jästcellerna. Tag upp ett objektglas, ta jästpipetten och sätt en droppe jästsuspension på glaset. Lägg på täckglas och studera cellerna. Rita nedan! Tiden kan också användas för att studera vilken betydelse serum har för fagocytosen. I serum finns komplement som är en viktig del av immunförsvaret (fig 4).

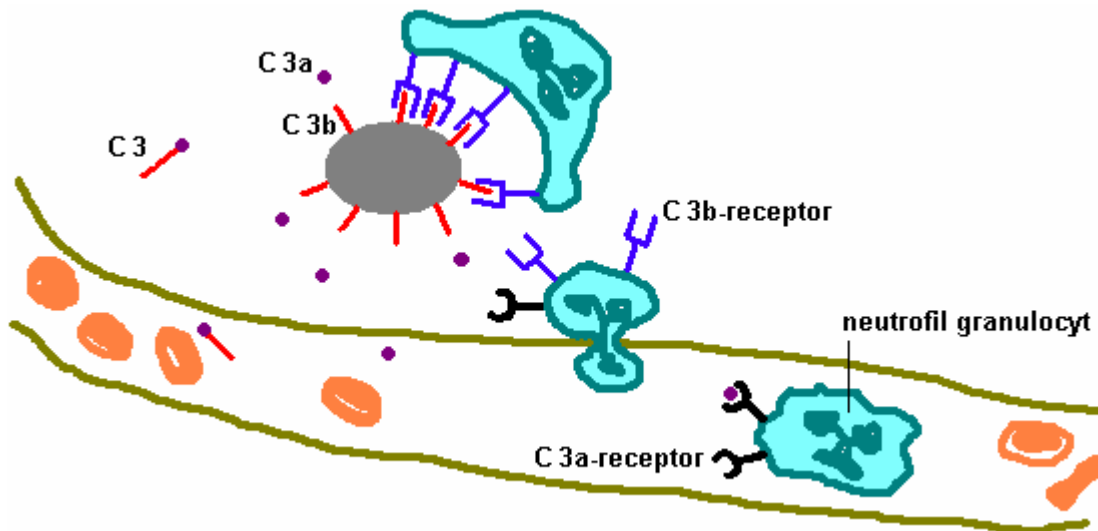


fig 4. Neutrofila granulocyter lämnar blodbanan för att angripa fienden (en jästcell). Komplementfaktor C3 har läckt ut i vävnaden och bundit till jästcellen. Då klyvs C3 i två delar. Den lilla delen (C3a) är en signalmolekyl som lockar till sig immunceller genom att binda till deras C3a-receptorer. Den stora delen (C3b) underlättar fagocytosen genom att utgör en bra fästpunkt för granulocyten C3b-receptorer.

När inkuberingen är klar sköljer man cellerna med KRG. Torka gärna runt fläckarna som tidigare. Se till att varje cellfläck har en extra droppe KRG och lägg på täckglas. Torka undersidan av glaset så att det inte "fastnar" i mikroskopet.

Studera cellerna och rita och beskriv vad du ser! Jämför cellerna som ätit jäst med kontrollen. Ibland kan man även se röda blodkroppar och fibrintrådar i preparatet.

neutrofila granulocyter:

neutrofila granulocyter som ätit jäst:

jästceller: