



Fagocytos

Elevinstruktion

Vid den här laborationen kan du studera hur dina egna vita blodkroppar (neutrofila granulocyter) fångar och äter upp jästceller.

Säkerhet

Tänk på att laboration med blod kan innebära smittorisk. Följ därför lärarens instruktioner för hantering av blod och om var förbrukat material ska slängas.

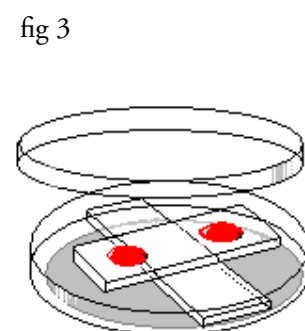
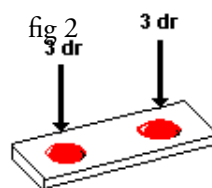
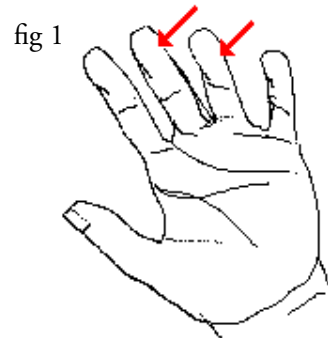
Det är självklart frivilligt att sticka sig. Om någon bär på blodsmitta får den personen inte sticka sig. Var noga med att alltid sitta ner när blodprov tas på grund av svimningsrisk. Undvik att komma i kontakt med annan persons blod. Ta själv hand om material som är blodkontaminerat. Kasta blodkontaminerat material som blodlancetter, bomullstussar mm. i en behållare som är avsedd för detta.

Material

- säkerhetsbehållare för blodkontaminerat material
- märkpenna
- objektglas (nytt och rent), täckglas, mikroskop
- autoklick för blodprov, plåster
- 25 ml Krebs-Ringer-lösning (KRG-lösning)
- fuktkammare, 37 °C
- värmeskåp, 37 °C
- ”rullar” av filterpapper
- jästsuspension med serum
- plastpipetter, 3 ml
- tandpetare eller gul pipettspets

Utförande

1. Hämta objektglas (inga fingeravtryck), fuktkammare (skriv namn på locket), autoklick och plåster. Lägg 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.





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 fuktkammaren och lägg objektglaset tvärs över det andra objektglaset (fig 3).

Sätt genast på locket och ställ in cellerna i värmeskåpet. Ta tid, cellerna inkuberas ca 25 min.

Lägg förbrukad 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 fibrintrådar.

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

2. Hämta en bägare med varm KRG, två plastpipetter, två ”rullar” av filterpapper, tandpetare/gul pipettspets och slutligen jästsuspensionen.
3. När inkuberingen är klar hämtas fuktkammaren, objektglaset lyfts ur och locket läggs tillbaka. Blodkoaglet lossas genom att man skrapar runt kanten med tandpetaren.
4. Håll därefter glaset snett över vasken, sug upp KRG i pipetten och skölj bort blodkoaglet genom att försiktigt spruta på glaset ovanför cellerna.
5. Torka glasets undersida med papper och lägg det på bänken.
6. Använd nu ändarna på ”rullen” av filterpapper för att torka bort KRG på glaset utanför cellfläckarna. OBS! Cellerna får inte torka!
7. Tillsätt slutligen två droppar KRG till den ena cellfläcken och två droppar jästsuspension till den andra cellfläcken. Om man endast har en cellfläck inkuberas den med jästceller.
8. Lägg tillbaka objektglaset i fuktkammaren och inkubera ytterligare ca 25 min i värmeskåpet. Släng tandpetarna och annat blodkontaminerat material i säkerhetsbehållare.
9. Ta fram mikroskop och studera jästcellerna under väntetiden. Ta ett objektglas och sätt en droppe jästsuspension på glaset. Lägg på täckglas. Studera och rita av cellerna.

Tiden kan också användas för att studera vilken betydelse serum har för fagocytosen. I serum finns komplement som är en viktig del av immunförsvaret.

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

10. När inkuberingen är klar sköljer man cellerna med KRG. Torka runt fläckarna med en filterpappersrulle 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.
11. 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.