

Fagocytos

Dina elever kan under denna laboration studera hur deras egna neutrofila granulocyter fångar och äter upp jästceller. Tänk på att laboration med blod kan innebära smittorisk. Följande text beskriver förberedelser och materialåtgång för liten lab-grupp dvs 1-2 elever eller hela klassen dvs 2 x 16 elever.

Material för liten lab-grupp:

märkpenna
autoklick för blodprov
25 ml KRG-lösning 37°C
två "rullar" av filterpapper
två plastpipetter (3 ml)
täckglas och mikroskop

objektglas (nytt!)
plåster
fuktig kammare
jästsuspension med serum
gul pipettspets

Material för hela klassen:

skräpkärl för förbrukat material
centrifug
värmeskåp 37°C
ett pkt jäst eller 1-2 mm³ jäst
2 ml serum
500 ml KRG-lösning 37°C
två 10 ml rör (till centrifugering)

Lärarens förarbete för hela klassen:

autoklick för blodprov
500 ml KRG-lösning 37°C
2 ml serum
värmeskåp 37°C
fuktig kammare

"rulle" av filterpapper
jäst

centrifug
mikrorör (typ eppendorf)
rena 50 ml bägare för KRG

förbered lämpliga "skräpkärl" för förbrukat material
beställ KRG (Krebs-Ringer, med glukos, Ca²⁺, pH 7,3) förvaras i kylskåp
beställ serum (kan frysas i små kryorör ca 2ml/rör), tinas vid lab-starten
sätt på skåpet i god tid, ställ in bägare med vatten + termometer
förbered fuktiga kammare (petriskål, fuktat filterpapper, objektglas, lock på)
ställ in dessa i värmeskåpet så att de blir varma innan laborationen startar (fig 3)
förbered filterpappersrullar (vik ihop och häfta ihop på mitten, fig 4)
köp bagerijäst i närmaste affär, tvätt av jäst (kan göras som demonstration):
ca 1-2 mm³ jäst suspenderas med hjälp av plastpipett i 5 ml KRG
centrifugeras 5 min (1000rpm), resuspenderas i 6 ml KRG + 2ml serum
håll upp 0,5 ml färdig jästsuspension/labgrupp i små rör
håll upp ca 25 ml KRG/grupp (så sent som möjligt för att hindra avdunstning)

Instruktioner:

1) Berätta kort om laborationen och informera om risken för blodsmitta. Det är naturligtvis frivilligt att sticka sig. Man ska alltid sitta ner när man tar blod. Om man bär blodsmitta får man inte sticka sig. Undvik att komma i kontakt med annan persons blod. Använda blodlancetter läggs i "skräpkärl".

Det är bra att visa eleverna hur man utför olika moment.

2) Hämta nytt objektglas (inga fingeravtryck), fuktig kammare (skriv namn på locket), autoklick och plåster. Lagg 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

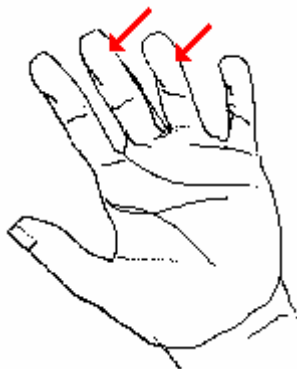


fig 2

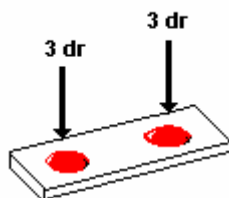
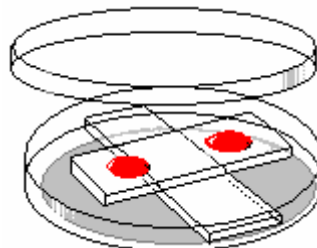


fig 3



Låt armen hänga ner längs kroppen så att blodet rinner till bättre. Tänk på något trevligt sommarminne så rinner det till bättre. 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, (fig2). 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. Cellerna inkuberas ca 25 min. Lagg förbrukad autoklick i rätt skräpkärl. **Nu kan eleverna göra samma moment.**

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.

3) Under väntetiden kan man visa hur man tvättar jäst (se ovan). Därefter visas nästa moment. Ställ fram en bägare med varm KRG, två plastpipetter, ”rullar” av filterpapper, gul pipettspets och jästsuspensionen. Märk den ena pipetten med ”KRG”, den andra med ”jäst”.

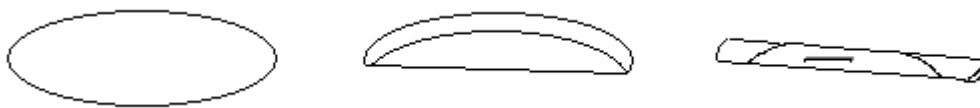


fig 4 Ett rullat och vikt filterpapper med häftklammer mitt på är ett utmärkt torkredskap

4) 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. Lagg 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. **Nu kan eleverna göra samma moment.**

Under denna andra inkubering sker själva fagocytosen.

5) I väntetiden kan eleverna ta fram mikroskop, studera jästcellerna samt rita av vad de ser. Tiden kan också användas för att studera vilken betydelse serum har för fagocytosen. Rita gärna en bild på tavlan och beskriv komplementets betydelse vid fagocytos. Man kan även hitta texter som beskriver komplementets förmåga att bilda membran-attack-komplex som gör hål i bakterier.

6) 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.

Eleverna kan nu studera cellerna i mikroskop. Det kan vara svårt för eleverna att förstå vad de ska leta efter. Därför är det viktigt att de som lyckats bra visar sina celler för andra. Eleverna ritade både celler som ätit jäst och kontrollceller. Ibland kan de även se röda blodkroppar och fibrintrådar i preparatet.

För ytterligare kommentarer se:

Elevinstruktionen ”Fagocytos” (finns på resurscentrums hemsida)

Artikeln ”spana in ditt eget immunförsvar” i Bi-lagan nr 3/06

Artikel om blodlaborationer i Bi-lagan nr 1/06

Resurscentrums hemsida under Säkerhet

Lycka till önskar Åsa Walan, Berzeliusskolan, Linköping!