

Spana in ditt eget immunförsvar!

Text och bild: Åsa Walan, Berzeliusskolan i Linköping.

Ibland inträffar magiska ögonblick när eleverna får insikt om hur den egna kroppen fungerar. I den här laborationen får de studera sina egna vita blodkroppar och se hur duktiga de är på att fånga och "äta upp" jästceller.

Immunsystemet ska skydda oss mot inkräktare bland annat bakterier och virus. I den del av immunsystemet som kallas specifik ingår bland annat lymfocyterna som kan identifiera fienden med hjälp av specifika receptorer och antikroppar.

Den andra halvan av immunförsvaret kallas ofta "icke-specifik" trots att det även i detta fall gäller att "känna igen" vissa strukturer. Till denna del av försvaret räknas ofta slemhinorna och den ogästvänliga huden. Där ingår också makrofager och granulocyter. Dessa vita blodkroppar är fagocyter vilket innebär att de kan äta upp stora byten. Till det icke-specifika försvaret räknas även komplementsystemet, en samling proteiner som ingår i blodet. Dessa proteiner har en stor betydelse för kroppens försvar, men glöms ofta bort i våra läroböcker. De kan exempelvis borra hål i en bakterie så att den dör. När komplement aktiveras på ytan av en bakterie eller jästcell skickas signalmolekyler iväg som lockar till sig de neutrofila granulocyterna. Komplement gör även bytet mer lättfångat genom att fagocyterna binder till det

med sina komplementreceptorer (se bild 1).

I den här laborationen studeras samarbetet mellan neutrofila granulocyter och komplementsystemet.

Hur gör man?

Det är bra om eleverna arbetar effektivt för att få så mycket tid som möjligt till mikroskoperingen. Efter nödvändiga instruktioner (en utförlig laborationshandledning finns på resurscentrums hemsida, www.bioresurs.uu.se) droppar eleven blod på ett objektglas. Det behövs två "blodfläckar" med ca tre droppar i varje.

Glaset läggs i fuktig kammare och sätts in i värmeskåp cirka 25 min. De neutrofila granulocyterna faller ner och fäster på glaset medan blodet ovanför koagulerar. Glaset tas ut, koaglet lossas i kanterna och sköljs sedan bort med 37°C buffertlösning. Glaset torkas utanför cellfläckarna och två droppar buffert respektive jästsuspension (med serum) sättes till de två blodfläckarna. Nu startar själva fagocytosen. Efter ytterligare 25 min i 37°C sköljer man bort ►

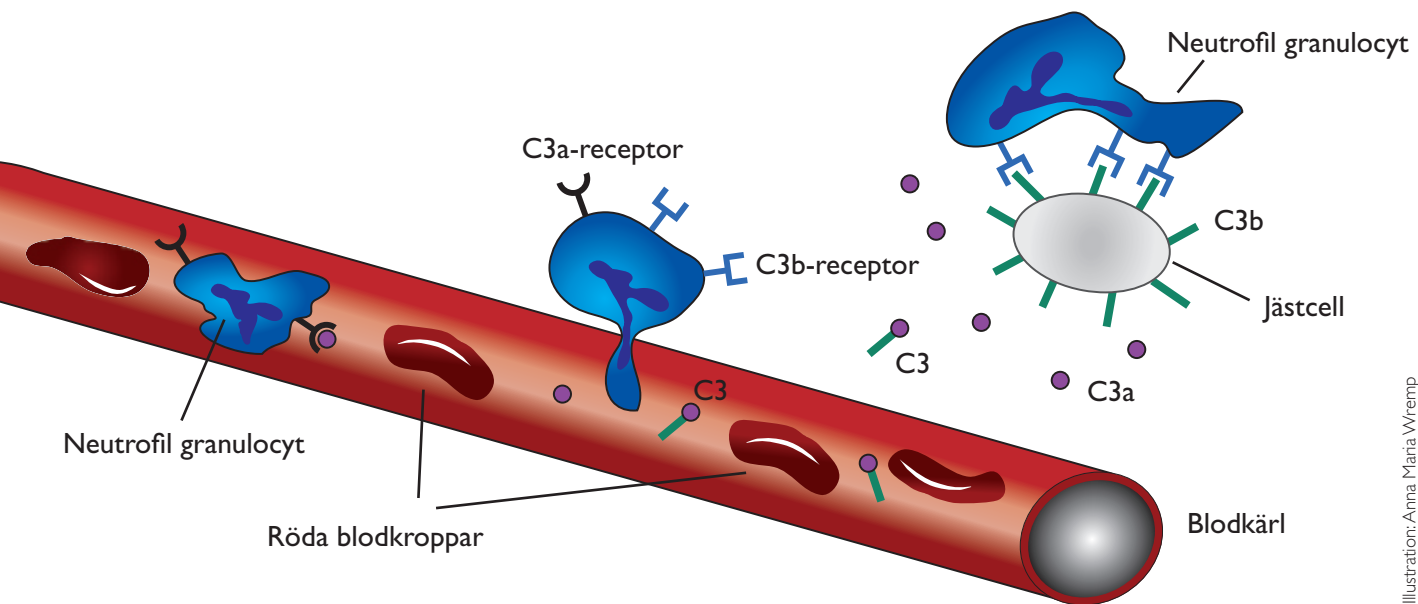


Illustration: Anna Maria Wremp

Bild 1 visar hur neutrofila granulocyter lämnar blodbanan för att angripa fienden. Komplementsystemets proteiner aktiveras på ytan av den främmande jästen. Vid aktiveringen klyvs C3 i två delar, a och b. Den lilla signalmolekylen C3a lockar till sig neutrofilerna (kemotaxis) medan C3b binds till jästens yta. Eftersom neutrofilerna skickar ut C3b-receptorer på cellytan kan de effektivt binda till den C3b-klädda jästen och äta upp den.

överbliven jäst med hjälp av bufferten, lägger på täckglas och mikroskoperar.

Instruktioner

Instruktioner vid starten är följande:

Det är frivilligt att sticka sig i fingret, men det är spännande att se sina egna celler. När man sticker ska man sitta ner (jag brukar undvika att säga att det är för att man inte ska skada sig om man svimmar). Man ska inte sticka mitt på fingret utan vid kanten (se laborationshandledningen). Det finns risk för blodsmitta. Om man vet att man bär på blodsmitta får man inte sticka sig.

För att minimera riskerna ska alla slänga "stickande och skärande" blodsmittat material i speciella kärl. Jag brukar visa eleverna hur man tar ut objektglas utan att sätta fingeravtryck, hur man sticker sig i fingret, hur man droppar blod på glaset, lägger det i den fuktiga kammaren, hur man sätter på plåster, inkuberar i värmeskåpet och slänger blodlancetten (autoklick) i speciellt kärl. Det är viktigt att eleverna känner sig trygga och slappnar av, annars rinner det så dåligt. Visa hur armen ska hänga ner och berätta att man kan tänka på hur skönt det är att gå längs strandkanten på sommaren. Det är viktigt att eleverna hela tiden själva hanterar sitt eget blod.

Cellerna måste nu snabbt in i värmen, så övriga instruktioner får vänta. När eleverna fått in sina celler i värmen kan man visa hur man tvät-

tar och suspenderar jästen och portionera ut i små rör till alla lab-grupper. Sedan hämtar eleverna övrigt material. När de celler som läraren har preparerat för demonstration är klara kan man visa hur koaglet kan lossas genom att man skrapar i kanten. Övriga moment visas varefter eleverna får ta sig an sina egna celler.

Under nästa väntetid kan eleverna studera jästceller eller läsa om komplementsystemet. Jag brukar rita bild 1 på tavlan och förklara vad som händer. Läraren demonstrerar sedan sista momentet, tvättning och täckglas.

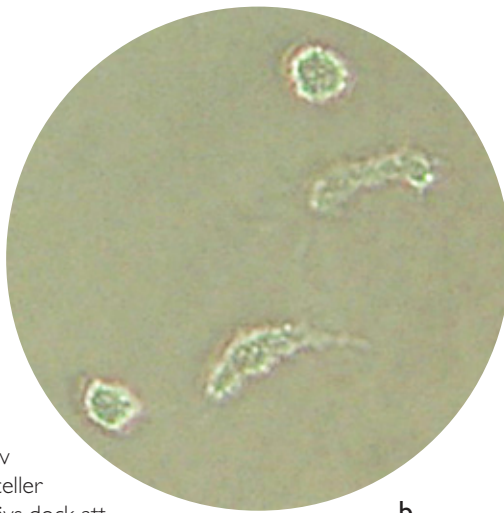
Mikroskopering

Det är viktigt att man har den tid som behövs för att ge respons till alla elever och hjälpa de som inte hittar några celler att ställa in mikroskopet. Tack och lov brukar det alltid finnas några elever som själva hittar cellerna. Uppmana elever som hittat fina celler att visa de andra. Låt eleverna rita och beskriva vad de ser. Ibland kan de tro att en luftbubbla är en cell och sådana misstag kan lättare upptäckas när de ritat. Det är viktigt att eleverna kan jämföra normala celler med celler som ätit jäst.

Normala granulocyter är svagt grönaktiga i färgen och ojämna i cellkanten (se bild 2b). När de ätit jäst ökar deras volym ofta till det dubbla och jästcellerna syns som tydliga bubblor i cellen (bild 2c). Jästcellerna är ovala och bryter ljuset starkt vid cellväggen (bild 2a). Röda blodkroppar är osmotiskt känsliga och ser ofta ut som små igelkottar när preparaten börjar torka.



a



b



c

Bild 2. I mikroskopet syns till att börja med ensamma jästceller (bild 2a) och neutrofila granulocyter (bild 2b). Redan efter 25 minuter kan man se hur en del av neutrofilerna har slukat uppemot sju jästceller vardera (bild 2c). För att detta ska ske krävs dock att man tillsätter blodserum. Utan serum äter de högst en till två jästceller på samma tid och de flesta cellerna äter inte alls.

Tidsåtgång

Idealet är att kunna få 90–100 min/labgrupp. Då hinner eleverna titta noga på cellerna. Laborationen kan även genomföras på 80 min, men då bör man korta inkuberingstiderna till 20 min. Dessutom krävs det att eleverna jobbar effektivt vid första momentet.

Vad behövs?

Här är i korta drag den utrustning som behövs:

Buffert: Nödvändigt är en buffert som är fysiologisk med avseende på salthalt, pH och glukos. Jag brukar köpa KRG på sjukhusets substratavdelning, men det går förmodligen att hitta firmor som säljer liknande lösningar. KRG är Krebs-Ringer-lösning innehållande bland annat glukos, Ca^{2+} och fosfatbuffert pH 7,3. Glukos behövs för att cellerna ska orka arbeta. Ca^{2+} är bland annat viktigt för cellernas vidhäftning till glasytan.

Värmeskåp: Ett värmeskåp som kan hålla 37°C någorlunda stabilt.

Fuktig kammare: För att undvika uttorkning av preparaten krävs att de ligger i fuktig kammare. Enklast är att varje elev/elevpar har en egen kammare. Den kan bestå av en petriskål med lock i vars botten man lägger ett runt filterpapper som fuktas med 1–2 ml vatten. Därefter lägger man i ett rent objektglas.

Serum: Kan beställas från olika firmor. Vi använder humant serum. Laborationen kan utföras utan serum, men då får man räkna med mycket sämre fagocytos.

Jäst: Vanlig färsk jäst som man köper i affären används. Om man har tillgång till en en-

kel bordscentrifug kan jästen tvättas en gång i KRG. Troligen fungerar fagocytosen även utan tvätt, men detta moment kan vara ett bra pedagogiskt inslag om eleverna inte använt centrifug tidigare.

I övrigt normal labutrustning: se förslagen i laborationshandledningen, som finns på resurscentrums hemsida www.bioresurs.uu.se (se Bilagan). Där finns också länkar till mer läsning om immunsystemet.

Fagocytoslaborationen är lämplig på gymnasienivå.

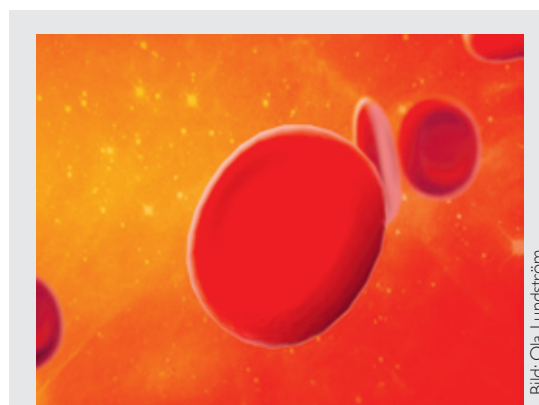


Bild: Ola Lundström

Tänk på att laboration med blod kan innebära smittorisk. Det är därför viktigt att läraren har god kompetens i sterilteknik. Det finns inget generellt förbud mot blodlaborationer i skolan, men det kan finnas lokala föreskrifter för en kommun eller skola som förbjuder blodlaborationer. För information om blodlaborationer, se resurscentrums hemsida, under Säkerhet, samt artikel i Bi-lagan nr 1/06.