



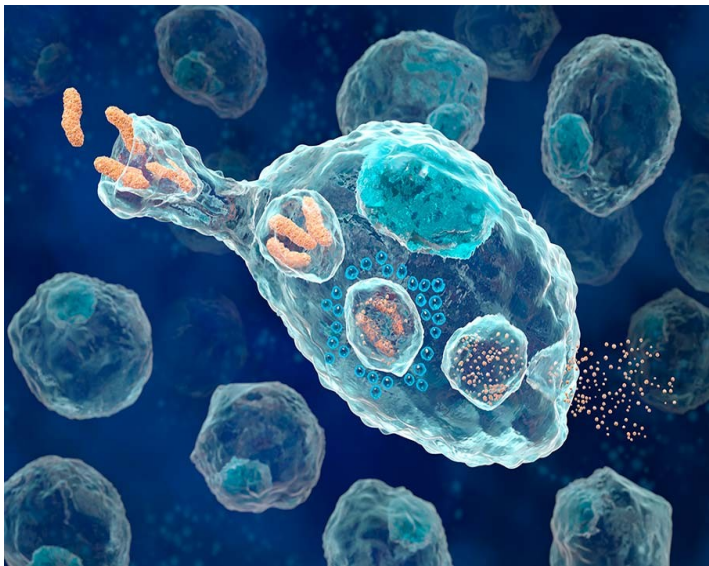
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Ειδικές μέθοδοι ανάλυσης κυτταρικών διεργασιών

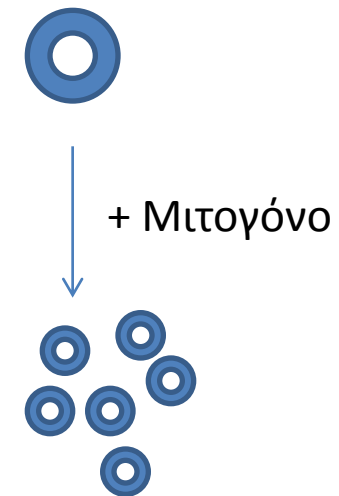
Φαγοκύτωση / Απόκριση λεμφοκυττάρων σε μιτογόνα

Έλενα Κουιμτζόγλου
Τμήμα Βιολογίας

• ΦΑΓΟΚΥΤΩΣΗ



• ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΜΙΤΟΓΟΝΑ

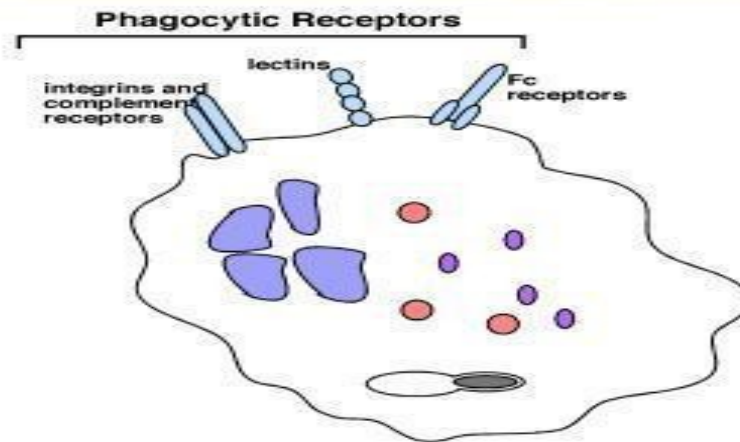


ΦΑΓΟΚΥΤΩΣΗ

- Ιδιότητα μονοκυττάρων και πολυμορφοπύρηνων που ονομάζονται φαγοκύτταρα
- Πρώτη λειτουργία του οργανισμού που διεγείρεται κατά την εισβολή ξένου σώματος
- Αποτελεί μέρος έμφυτης και προσαρμοστικής ανοσίας

Φαγοκύτταρα: έχουν ειδικούς επιφανειακούς υποδοχείς που αναγνωρίζουν στοιχεία μικροβίων

Receptors involved in phagocytosis



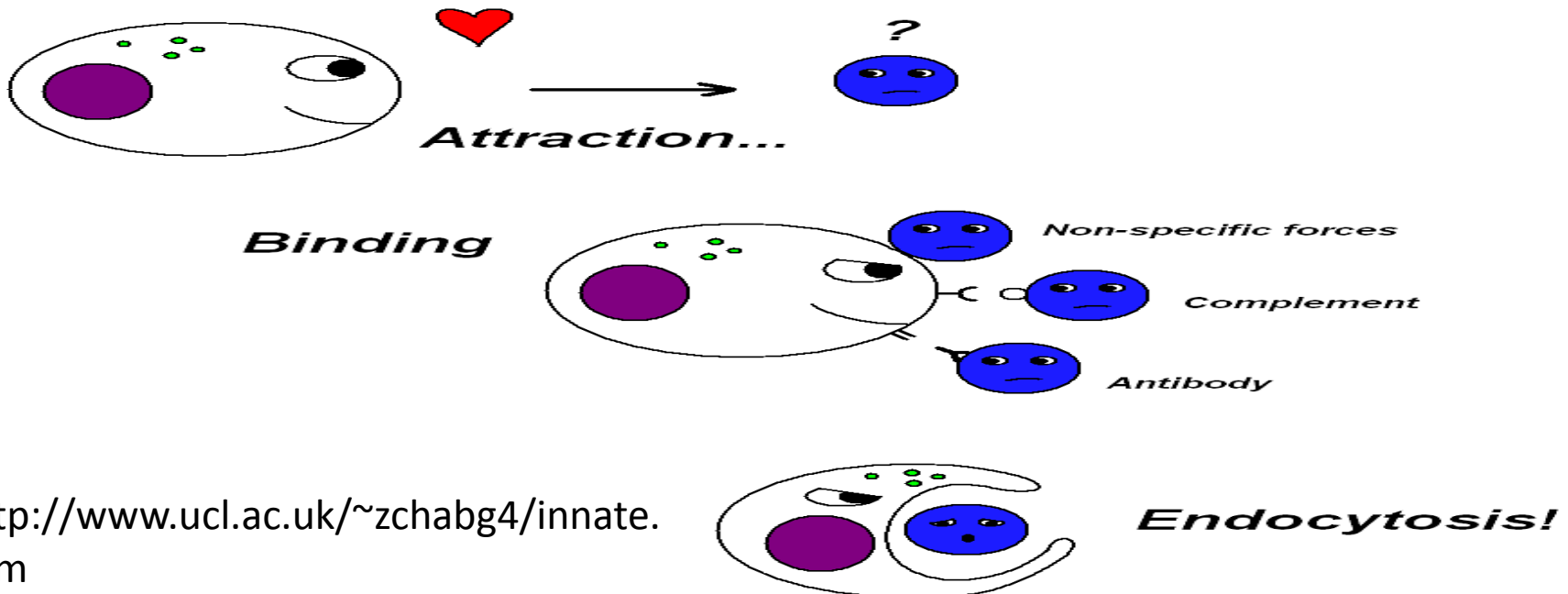
(c) 2004, Ralph Isberg, Ph.D.

Στα σπονδυλωτά εξειδικευμένα κύτταρα επιτελούν τη λειτουργία της φαγοκύτωσης

Στάδια φαγοκύτωσης

1) προσκόλληση (εξαρτάται από θερμοκρασία, pH, ιοντικές δυνάμεις, ηλεκτρικά φορτία ↑ φαγοκύτωση, πολυσακχαρίτες ↓ φαγοκύτωση)

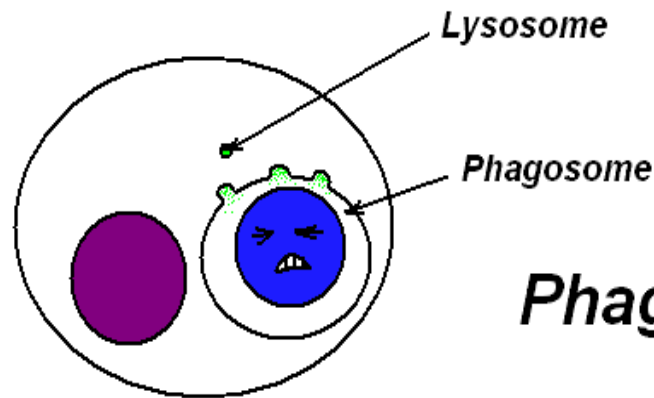
2) απορρόφηση (σχηματισμός φαγοσώματος, όπου η ενέργεια αντλείται από οξειδωτική φωσφορυλίωση, γλυκόλυση κλπ)



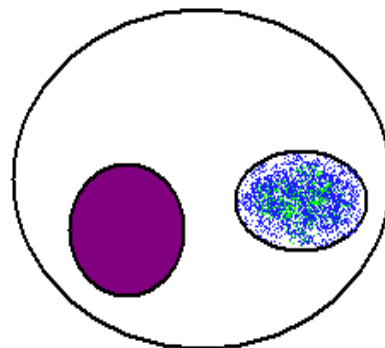
3) καταστροφή (σύντηξη φαγοσώματος με λυσοσώματα)

ή

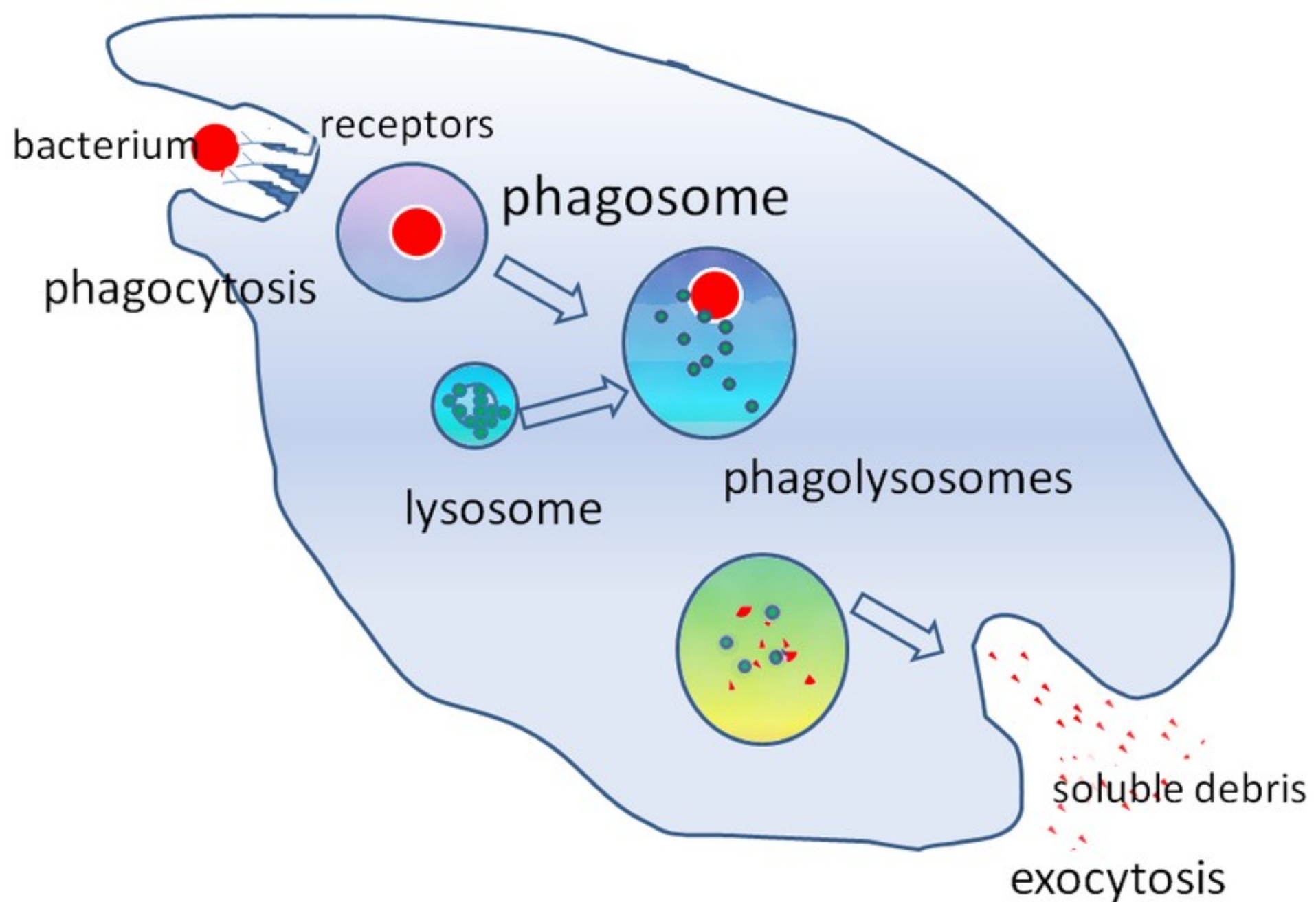
ανθεκτικότητα (επιμονή, π.χ. σαλμονέλα σε έξαρση ή όχι)



***Phagosome-Lysosome
fusion!***

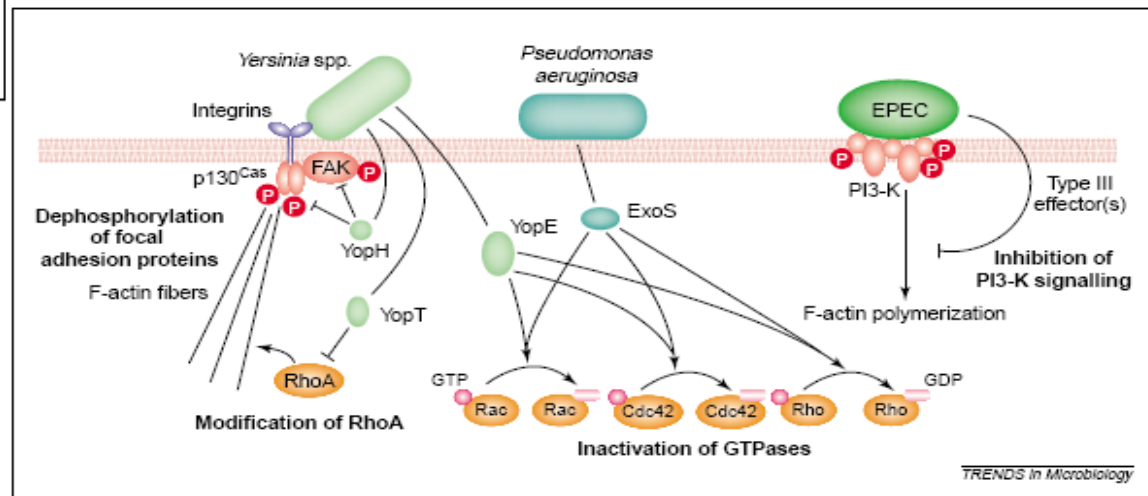
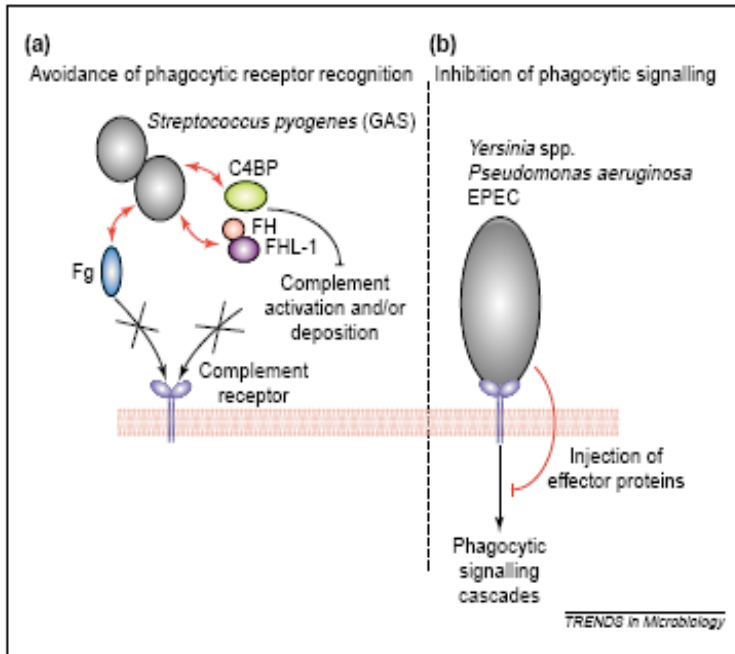


***Killing and
Digestion!***

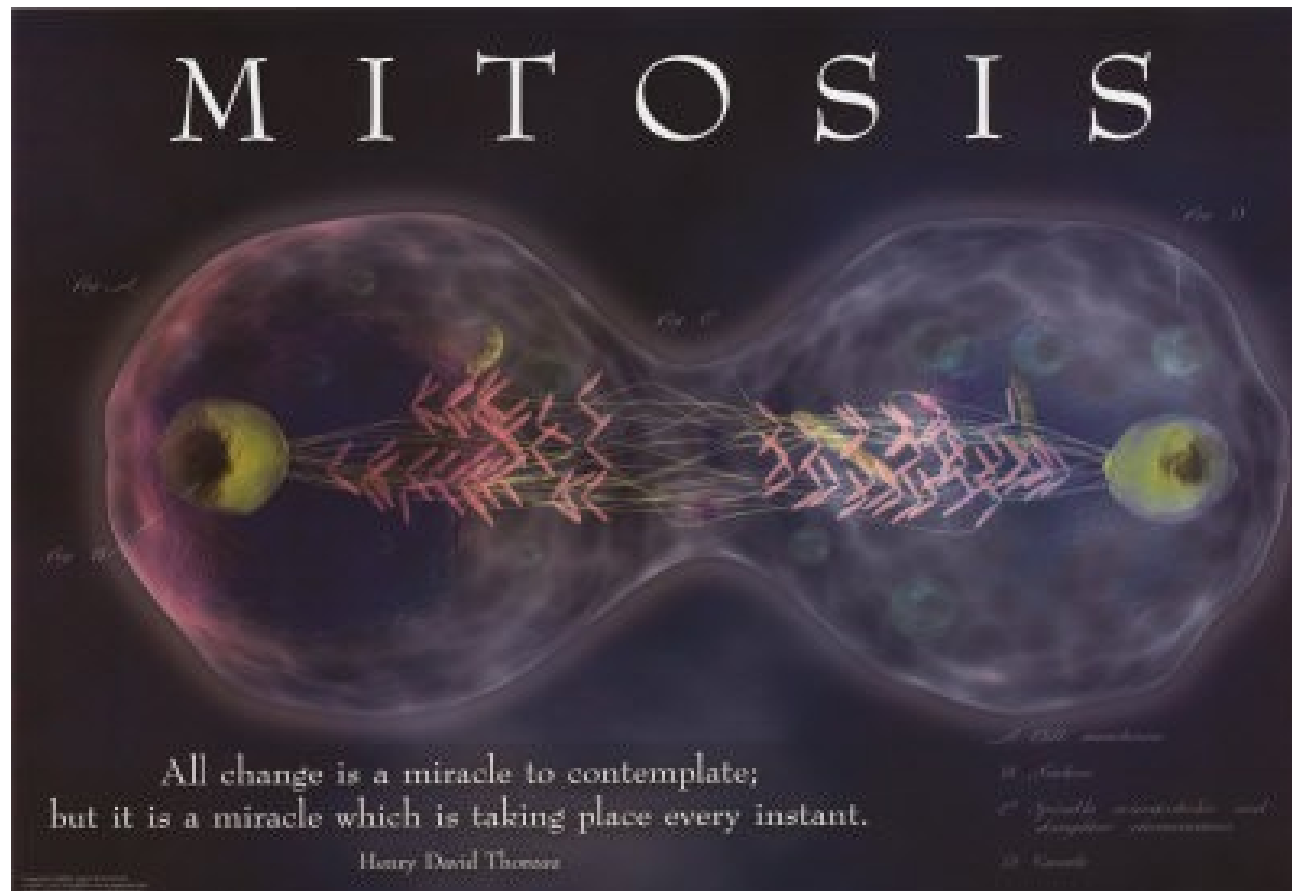


Οι Μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν διάφορους μηχανισμούς αποφυγής φαγοκύτωσης

Streptococcus pneumoniae, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia* spp., *EPEC*, *Pseudomonas aeruginosa*



ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΜΙΤΟΓΟΝΑ



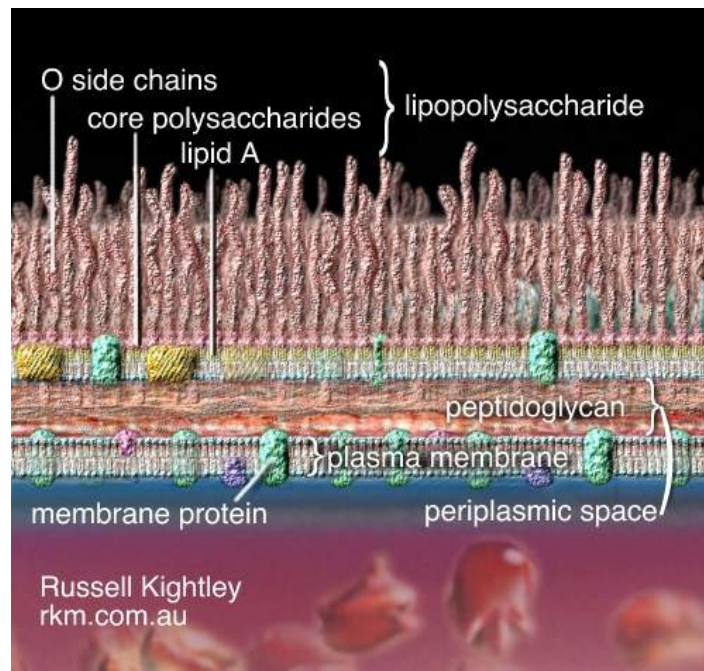
**Μιτογόνα: ουσίες που αναγνωρίζονται από τα
λεμφοκύτταρα και διεγείρουν τον μη ειδικό
πολλαπλασιασμό τους**

	Μιτογόνο
Δρα σε Τ λεμφοκύτταρα	Concanavalin A (conA)
Δρα σε Β-λεμφοκύτταρα	Liposaccharide (LPS), Pokeweed mitogen (PWM)
Δρα σε μακροφάγα	Liposaccharide (LPS)

Για την **Concanavalin A** ο ακριβής μηχανισμός δράσης είναι άγνωστος.

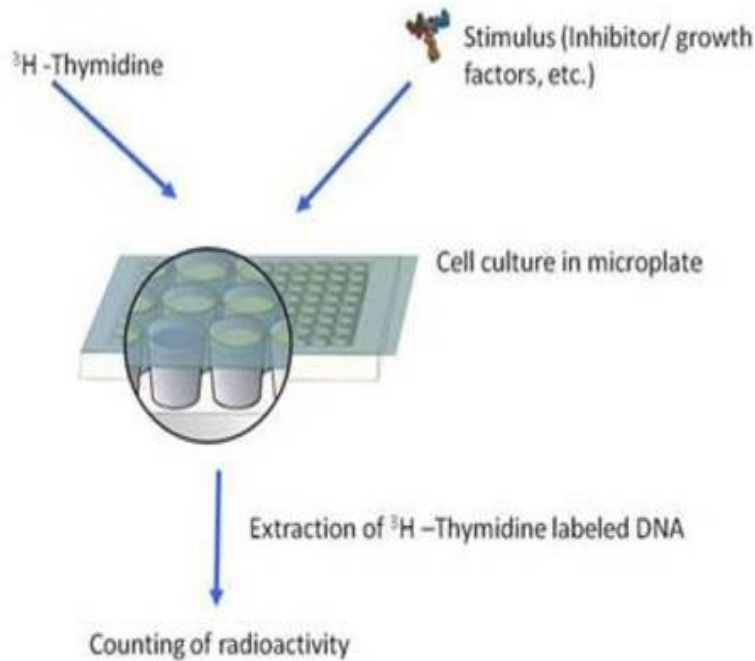
Ο LPS είναι

- Θυμοανεξάρτητο αντιγόνο
- Επάγει τον πολυκλωνικό πολλαπλασιασμό των B λεμφοκυττάρων



Τρόποι μέτρησης πολλαπλασιασμού κυττάρων

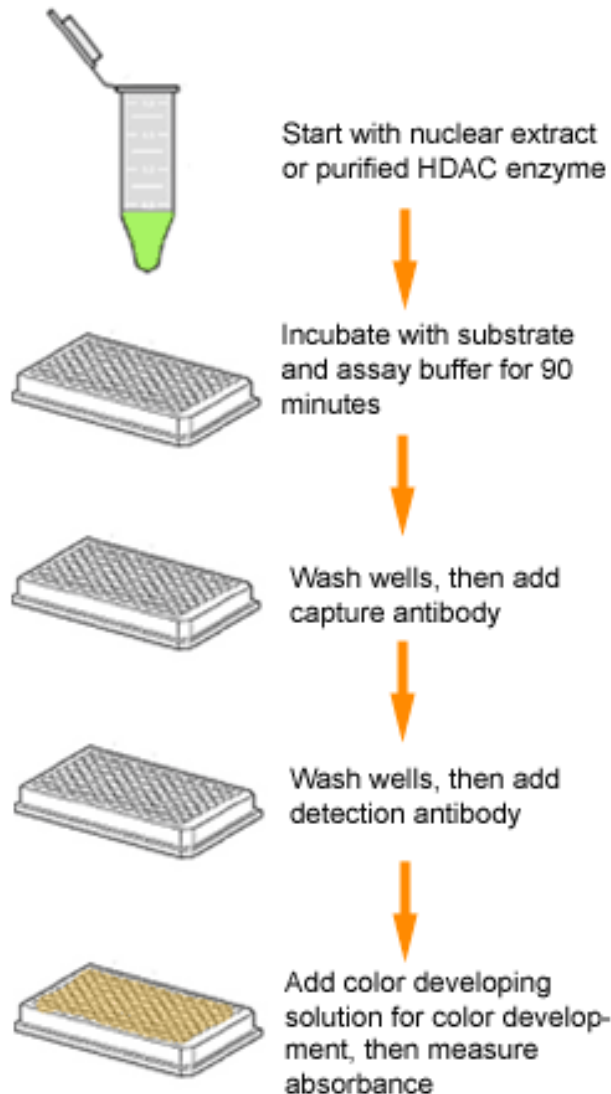
- 1. ραδιενεργή θυμιδίνη (^3H TDR) :** πολύ ακριβής και αλάθητη μέθοδος, αλλά επικίνδυνη λόγω ραδιενέργειας



<http://www.scientific-equipment.com/>

<http://www.perkinelmer.com/>

2) ενζυμικά (MTT) : ακίνδυνη μέθοδος, αλλά όχι πολύ μεγάλης ακρίβειας



<http://www.epigentek.com/catalog/epigenase-hdac-activityinhibition-direct-assay-kit-colorimetric-p-2867.htm>

3) απλή μέτρηση κυττάρων με μικροσκόπιο :
ακίνδυνη μέθοδος, αλλά όχι μεγάλης ακρίβειας

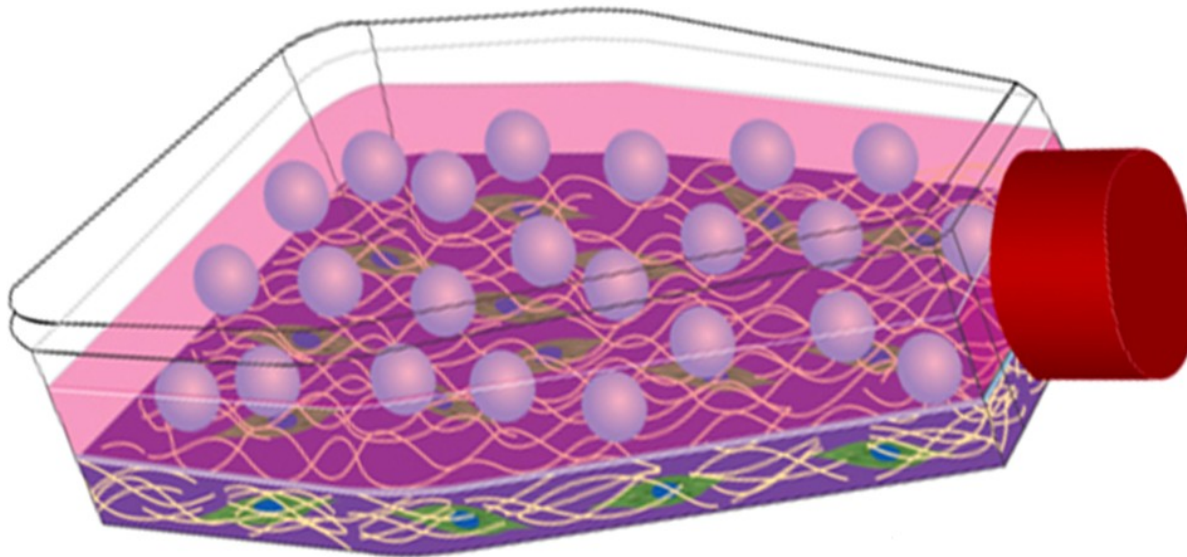


http://www.bhphotovideo.com/c/product/964868-REG/zeiss_415500_0051_000000_primo_star_student_hal_led.html

Σκοπός του πειράματος

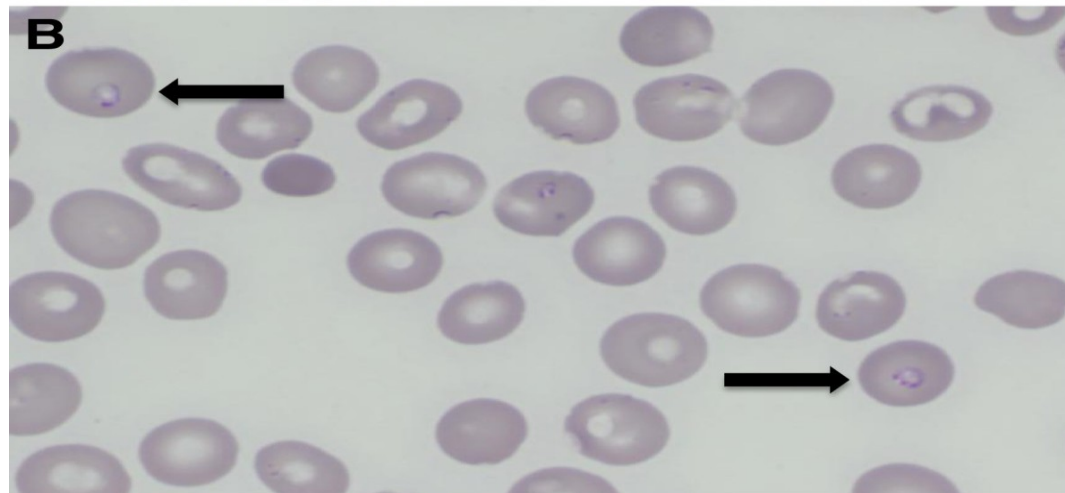
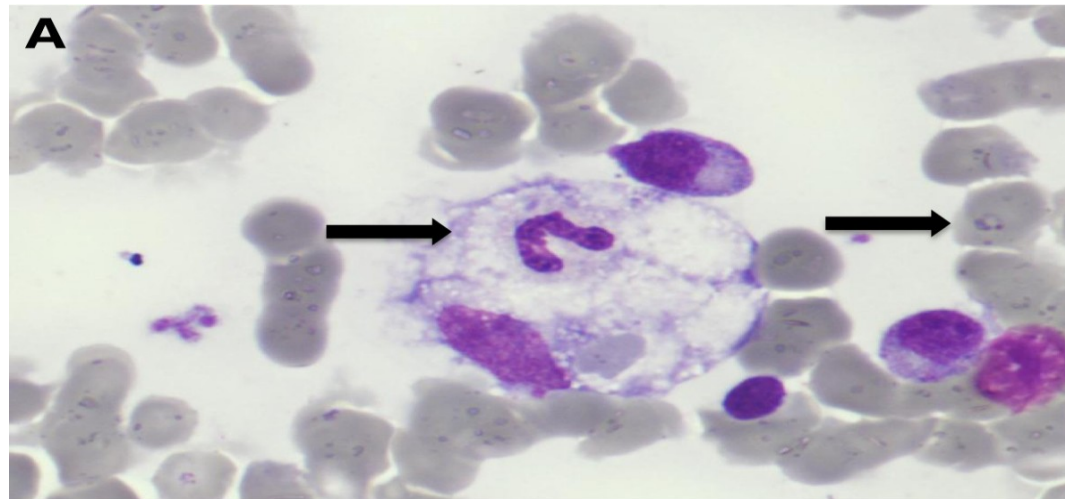
- ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ ΣΕ ΠΛΑΣΤΙΚΟ Η ΓΥΑΛΙ
- ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΟΥ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΝΟΥΝ
- ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΡΙΘΜΟΥ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΙΤΟΓΟΝΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ

ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ ΣΕ ΠΛΑΣΤΙΚΟ Η ΓΥΑΛΙ



<http://reellifescience.com/>

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΟΥ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΝΟΥΝ

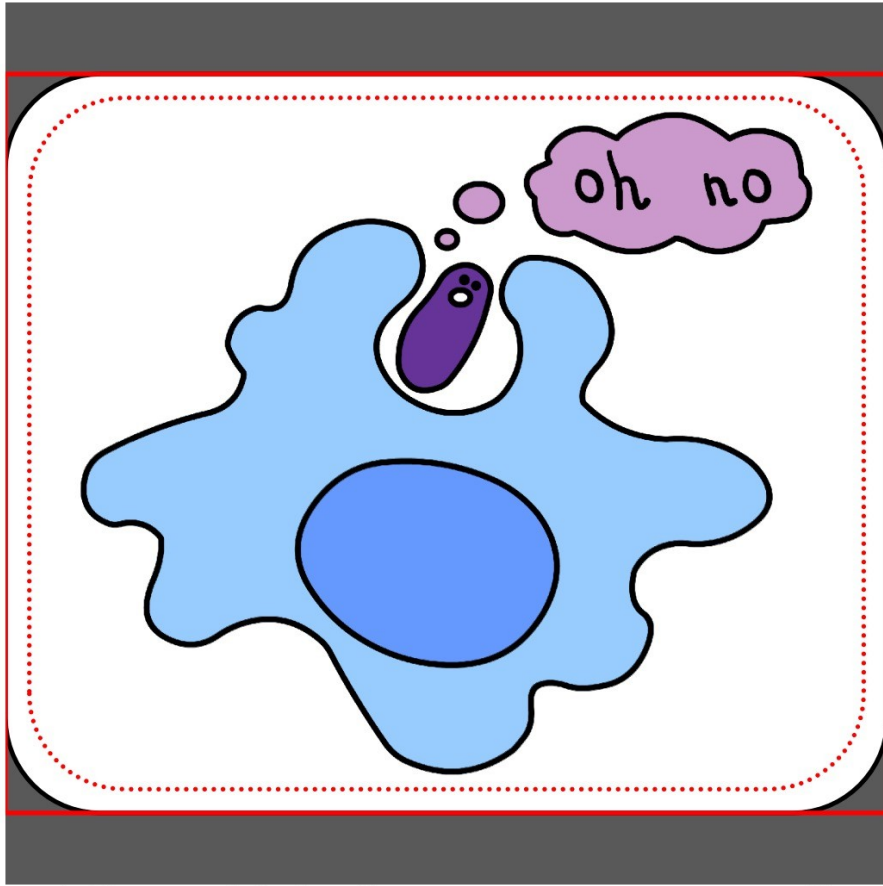


ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΡΙΘΜΟΥ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΙΤΟΓΟΝΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ

- Σπλενοκύτταρα (1×10^6 κύτταρα/ml) τοποθετούνται σε καλλιέργεια για 4 ημέρες κάτω από τις ακόλουθες συνθήκες:
- **Ομάδα 1:** σπλενοκύτταρα
- **Ομάδα 2:** σπλενοκύτταρα + 2 $\mu\text{g/ml}$ ConA
- **Ομάδα 3:** σπλενοκύτταρα + 10 $\mu\text{g/ml}$ ConA
- **Ομάδα 4:** σπλενοκύτταρα + 2 $\mu\text{g/ml}$ LPS
- **Ομάδα 5:** σπλενοκύτταρα + 20 $\mu\text{g/ml}$ LPS

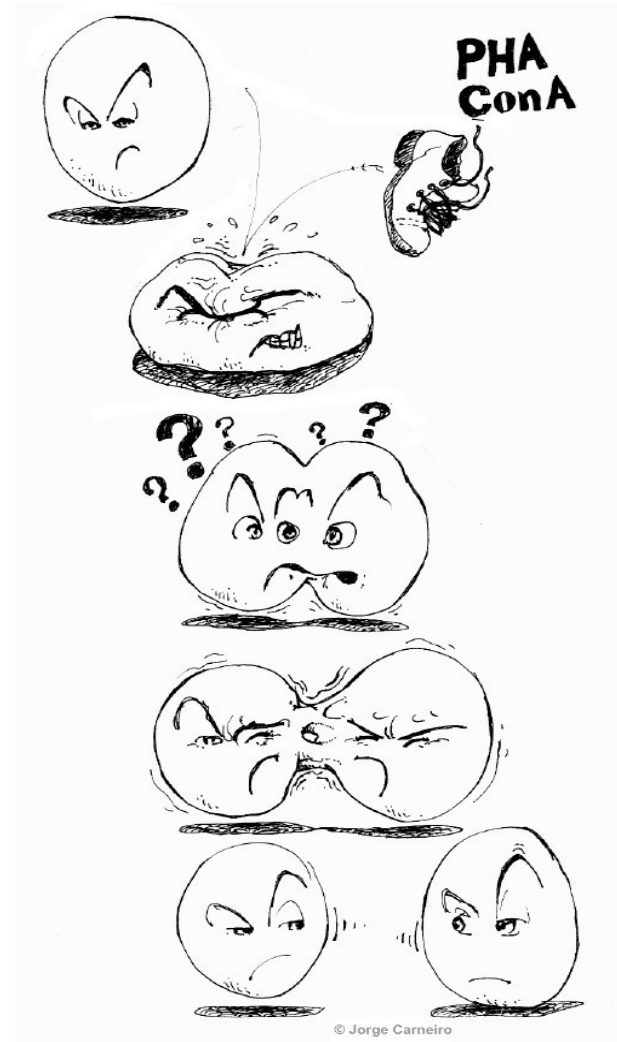
$$\text{Δείκτης διέγερσης} = \frac{\text{αριθμός κυττάρων μετά από διέγερση}}{\text{αριθμός κυττάρων χωρίς διέγερση}}$$

Σας ευχαριστώ!



Bacteria Phagocytosis by SuperBug

Zazzle



Τέλος Ενότητας



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Κρήτης**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημειώματα

Σημείωμα αδειοδότησης

- Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση, Όχι Παράγωγο Έργο 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

- Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:
 - που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
 - που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
 - που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο
- Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Πανεπιστήμιο Κρήτης, Έλενα Κουιμτζόγλου 2015. «Ειδικές μέθοδοι ανάλυσης κυτταρικών διεργασιών. Φαγοκύτωση / Απόκριση λεμφοκυττάρων σε μιτογόνα». Έκδοση: 1.0. Ηράκλειο 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<https://opencourses.uoc.gr/courses/course/view.php?id=366>

Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.