

4.3 Bewertung zelluläre Immunität im Labor

Hallo. Obwohl es kein streng Problem der Virologie ist, betrachten wir nun kurz, den komplexen Prozess durch die erworbenen Immunantworten generiert werden, wenn es eine Virusinfektion ist. T-Lymphozyten, nach Anerkennung virale Antigen in der Membran der Zellen, aktiviert sich vermehren und unterscheiden in zwei unterschiedlichen Populationen: T-Helfer-Lymphozyten oder Th, die zusammenarbeiten mit anderen Zellen also Immunantworten fortschritten, und zytotoxischen T-Lymphozyten oder Tc, die infizierten Zellen töten. Als dieser Prozesse fortschritten, sezernieren Lymphozyten Moleküle, sogenannte Zytokine, die als Kommunikation zwischen den Zellen des Immunsystems dienen, und und sie zu reagieren oder ihre Funktion da zu tun veranlassen.

Nun, um zu überprüfen, ob die zelluläre Reaktion auf das Virus korrekt ist, können verschiedene Punkte, wie Zellvermehrung nach Antigenen Stimulation, analysiert werden; die Zerstörung der infizierten Zellen durch einen Test ergibt, der die Fähigkeit der Zytotoxizität von Tc-Lymphozyten wertet; oder die Sekretion von Zytokinen, zum Beispiel mit der ELISA, die wir im vorherigen Video gesehen haben. In diesem Video sehen wir, wie die Vermehrung von Lymphozyten oder lymphoproliferative bestimmen.

Lymphoproliferative Test ist eine Technik, die die Proliferation von T-Helfer-Lymphozyten als Reaktion auf virale Antigene präsentiert von Antigen-präsentierenden Zellen misst. Dies geschieht nur dann, wenn der Patient zuvor das Virus, d. h. ausgesetzt worden ist, wenn er von einer Infektion erholt hat, oder wenn er immer mit demselben Virus geimpft worden ist.

Als erstes soll die Lymphozyten zu isolieren. Am einfachsten zu bekommen sind die aus dem peripheren Blut, mit Antigerinnungsmittel gesammelt. Blut wird mit Kulturmedium verdünnt und vorsichtig auf einer dichten Substanz namens Ficoll platziert wird. Nach Spinnen, Erythrozyten und Granulozyten dringen die Ficoll und sie siedeln in den Boden des Röhrchens, aber die Lymphozyten und einige Monozyten bleiben an der Schnittstelle zwischen der Ficoll, Plasma und dem Kulturmedium. Wir sammeln sie sorgfältig und unter dem Mikroskop zählen. Wir werden diese Zellen PBMCs nennen.

Wir setzen 100.000 PBMCs in jede Vertiefung einer 96-Well-Platte und hinzufügen eine Virus Aussetzung oder virale Antigen in jede Vertiefung, und wir lassen für ca. 4-6 Tage bei 37 ° C inkubieren. Während dieser Zeit Antigen-präsentierenden Zellen verarbeiten das Virus und T-Lymphozyten präsentieren. Wenn der Patient vorher mit dem gleichen Virus ausgesetzt war, werden T-Lymphozyten, die das Virus zu erkennen und sich vermehren.

Um festzustellen, wieviel sie zugenommen haben, fügen wir Thymidin, die Sie wissen, dass es ein Nukleotid ist, die Bestandteil der DNA bildet, beschriftet mit Tritium, das radioaktive Wasserstoff ist, und wir inkubieren 6 sie weitere Stunden. Diese gegebenenfalls Thymidin in die DNA der neuen Zellen integriert wird. Also, wenn wir die Zellen sammeln, und wir die Menge an Radioaktivität in einem Szintillationszähler messen, es den Grad der Zellvermehrung zeigt. Wie immer müssen wir Vorkehrungen zu treffen, wie jede Probe in dreifacher Ausfertigung zu tun und PBMCs einer normalen nicht-infizierten Person hinzufügen, sowie die PBMCs des Patienten ohne Stimulierung mit dem Virus, als Kontrolle verwendet werden soll.

Die Ergebnisse können als Anregung Index ausgedrückt werden, die das Verhältnis zwischen der Radioaktivität in den stimulierten Kulturen und die Kontrolle ohne Stimulation von der gleichen Person gemessen.

Die Proliferation von Lymphozyten kann auch durch Kits bewertet werden, die keine Radioaktivität erfordern. Sie messen die Menge von zytoplasmatischen ATP in metabolisch aktiven Zellen. Deshalb, je größer die Menge an Zellen, je höher das Niveau von ATP. ATP ist in einer Lumineszenz-Reaktion verwendet, die mit einem Luminometer gemessen werden kann.

Wie Sie sehen können, gibt es verschiedene Techniken, die zelluläre Immunantwort nach einer viralen Infektion zu erkennen. Ich habe nur ein paar genannt. Es gibt viele mehr, und viele andere werden entwickelt. Genießen sie zu entdecken. Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit.