

3^η Εργαστηριακή Άσκηση: Προσδιορισμός των ομάδων αίματος του ανθρώπου με χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων.

1. Στόχος της άσκησης: Είναι η εξοικείωσή σου:

- α). με τις εφαρμογές της βιοτεχνολογίας στην ιατρική διάγνωση.
- β). με τη χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων ως μέσων διάγνωσης.

2. Θεωρητικό μέρος: Υπάρχουν αρκετά διαφορετικά συστήματα ομάδων αίματος. Τα κυριότερα όμως είναι τα ABO και Rhesus.

Όπως είναι γνωστό η ύπαρξη του αντιγόνου A στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων καθορίζει ομάδα αίματος A. Αντίστοιχα ύπαρξη του B καθορίζει την B, ύπαρξη των A,B την AB, ενώ η απουσία των A, B καθορίζει την O.

Είναι επίσης γνωστή η ύπαρξη, αντισωμάτων στον ορό του αίματος, τα οποία συγκολλούν τα αντιγόνα, που δεν βρίσκονται στα ερυθροκύτταρα (π.χ. σε άτομο ομάδας A υπάρχει το αντιγόνο A στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων και στον ορό του αίματός του αντίσωμα αντι-B).

Στο σύστημα Rhesus ο αντιγονικός παράγοντας δεν είναι ένας αλλά αποτελείται από έξι αντιγόνα που χαρακτηρίζονται σαν C, D, E, c, d, e και ελέγχονται από 3 ζεύγη αλληλόμορφων γονιδίων στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους. Τα άτομα χαρακτηρίζονται σαν θετικά ή αρνητικά κατά Rhesus ανάλογα της ύπαρξης του αντιγόνου D ή όχι.

Ο προσδιορισμός των υπαρχόντων αντιγόνων στηρίζεται στην εξειδικευμένη αντίδραση αυτών, με ειδικά **μονοκλωνικά αντισώματα**. Η κοκκίδωση του αίματος θα σημαίνει ότι υπάρχει το αντιγόνο εναντίον του οποίου χρησιμοποιήσαμε το αντίστοιχο αντίσωμα. Σε αντίθετη περίπτωση δεν υπάρχει.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Λόγω της σοβαρότητας του θέματος η άσκηση θα πρέπει να γίνει με **ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ** για αποφυγή μολύνσεων, από ειδικευμένο καθηγητή και **ΟΧΙ** από τους μαθητές και μόνο ως άσκηση επίδειξης.

3. Όργανα και Υλικά που θα χρειαστούν

- 3 αντικειμενοφόρες πλάκες
- Μερικές οδοντογλυφίδες
- Αλκοόλη 95°
- Ελαστικά γάντια μιας χρήσης
- Βαμβάκι
- Αποστειρωμένες βελόνες μιας χρήσης
- Μονοκλωνικά αντισώματα αντι-A, αντι-B, (αντι-A,B) αν υπάρχουν, αντι-D.

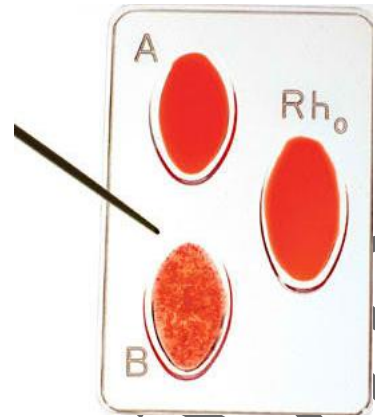


Κιτ αντιδραστηρίων για ανίχνευση ομάδων αίματος.

4. Πειραματικό μέρος:

- 1 Πάνω σε λευκό χαρτί τοποθετώ 3 καθαρές αντικειμενοφόρες πλάκες και σημειώνω στο άκρο τους αντίστοιχα, αντι-A, αντι-B, αντι-D.
- 2 Καθαρίζω με βαμβάκι εμποτισμένο σε οινόπνευμα το δάκτυλο του εξεταζόμενου ατόμου και με μια βελόνη **αποστειρωμένη (μιας χρήσης)** τρυπάμε το άκρο του δακτύλου και αφήνουμε μια σταγόνα να πέσει στην κάθε μια πλάκα.

- 3 Σε κάθε σταγόνα αίματος προσθέτω μια σταγόνα αντισωμάτων του τύπου που αναγράφεται στην πλάκα.
- 4 Με μια καθαρή οδοντογλυφίδα για κάθε πλάκα, αναμειγνύω την σταγόνα του αίματος και των αντισωμάτων.
- 5 Παρατηρούμε σε άπλετο φως αν συνέβη κροκίδωση (συγκόλληση των αιμοσφαιρίων με αντισώματα). *Βλέπε και στο αντίστοιχο σχήμα: το άτομο αυτό έχει ομάδα αίματος B και Rhesus θετικό (+) επειδή παρουσίασε κροκίδωση στα αντίστοιχα αντισώματα.*



Σημείωση: Ο προσδιορισμός των ομάδων αίματος γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου (18-20°C), ενώ του Rhesus πρέπει η πλάκα να θερμανθεί για λίγο (5') στους 37°C, θερμοκρασία στην οποία δρουν τα αντισώματα του Rhesus.

ΠΡΟΣΟΧΗ! Μετά το τέλος της άσκησης με ευθύνη μας, φροντίζουμε ώστε να απομακρύνουμε με προσοχή τις βελόνες, τα ματωμένα βαμβάκια και ότι άλλο χρησιμοποιήσαμε. Δεν τα πετάμε στον κάδο απορριμμάτων του εργαστηρίου και δεν τα αφήνουμε στους υπαλλήλους καθαριότητας του σχολείου.

Φύλλο Εργασίας

Να απαντήσετε στις παρακάτω ερωτήσεις.

1. Να περιγράψτε την αντίδραση των αντιδραστηρίων με τη σταγόνα του αίματος.

.....

2. Να εξηγήσετε που οφείλεται η αντίδραση (κροκίδωση) της σταγόνας.

.....

3. Να εξηγήσετε πως τελικά συμπεραίνουμε τι ομάδα αίματος έχει το δείγμα;

.....

