

Porovnávání přístupu aktivace T-lymfocytů

Denisa Břízová, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 3. ročník

Školitelé: MUDr. Miroslava Čedíková, PhD.

Východisko:

T-lymfocyty jsou nepostradatelnou částí našeho imunitního systému, zároveň se ale jedná i o typ imunitních buněk, které jsou zodpovědné za vznik reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) po transplantaci krvetvorných buněk. Pokud by bylo předem známo, k jaké míře aktivování T-lymfocytů po transplantaci dojde, bylo by možné efektivněji předcházet či alespoň mírnit projevy této komplikace. Moje bakalářská práce se zabývá tematikou porovnání míry aktivace T-lymfocytů pomocí specifických látek – interleukin 2, interleukin 15, DynaBeads CD3/CD28 a jejich vzájemných kombinací. Průběh aktivace byl sledován v reálném čase na přístroji IncuCyte®. Cílem práce byla identifikace nejvhodnější látky či kombinace látek k aktivaci T-lymfocytů a také zhodnocení, zda je přístroj IncuCyte® vhodný ke sledování a analýze tohoto děje.

Cíl:

Cílem naší práce bylo sledování aktivace T-lymfocytů v reálném čase pomocí přístroje IncuCyte® a posouzení vhodnosti přístroje IncuCyte® ke sledování tohoto děje.

Metodika:

V první fázi jsme separovali T-buňky z plné krve dárců. Vzorek byl následně doplněn o kryomedium a vložen do mrazáku na teplotu -96°C. Poté, co bylo nashromážděno 8 vzorků mononukleárních buněk, bylo přikročeno k další fázi experimentu. Pro experiment bylo potřeba všech těchto 8 vzorků rozmrazit ve vodní lázni. Následně byly buňky centrifugovány kvůli oddělení média, ve kterém byly zamrazeny, jelikož jeho součástí je i toxický dimetylsulfoxid.

Pro samotný experiment v přístroji IncuCyte® bylo potřeba upravit povrch kultivačních destiček, a to pomocí Poly-L-lysinu. Tato úprava umožní, aby buňky k povrchu destičky lépe přisedly a mohly být za pomoci přístroje IncuCyte® snímány.

Pro stimulaci T lymfocytů byly použity následující látky a jejich vzájemné kombinace: interleukin 2, interleukin 15, Dynabeads Human T-activator CD3/CD28, IL-2 + IL-15, IL-2 + Dynabeads Human T-activator CD3/CD28, IL15 + Dynabeads Human T-activator CD3/CD28, IL-2 + IL-15 + Dynabeads Human T-activator CD3/CD28 CD28.

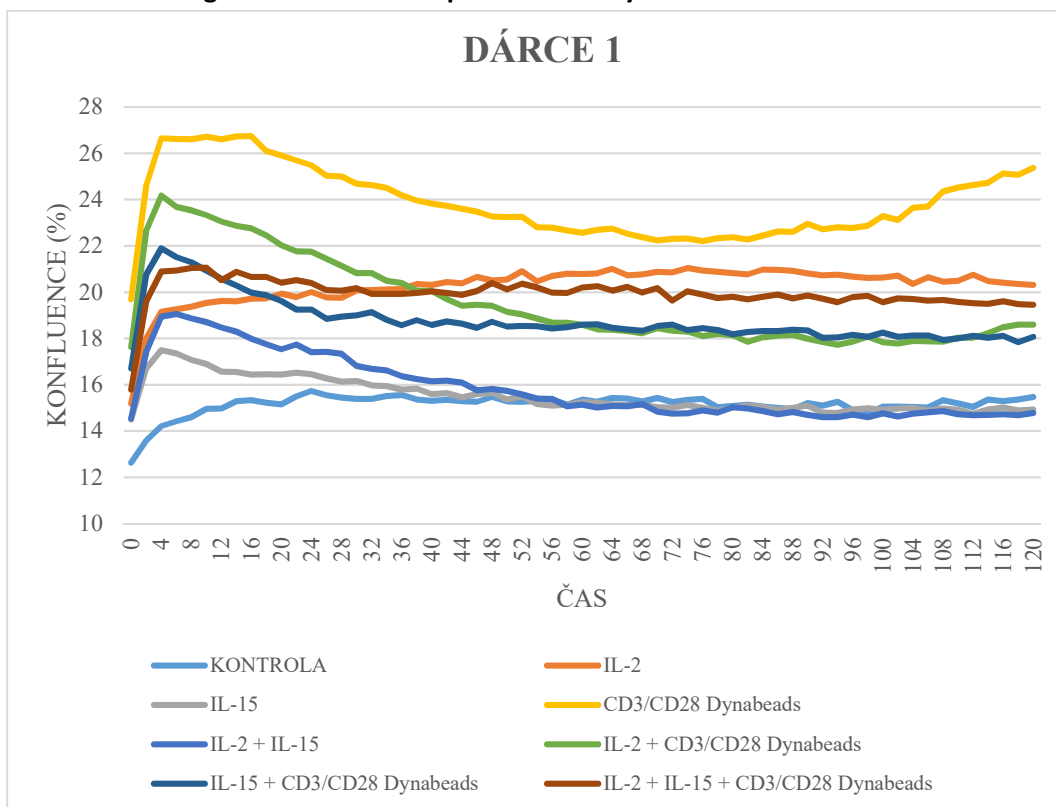
Celý experiment byl zpracován v duplikátech. Připravené destičky byly umístěny do přístroje IncuCyte®, kde byl povrch každé jamky každé 2 hodiny naskenován a uložen k následnému vyhodnocení.

Výsledky:

Nejvyššího stupně stimulace bylo dosaženo v jamkách, kde byla použita samostatná látka CD3/CD28 Dynabeads. K aktivaci T-lymfocytů došlo i ve vzorcích, kde byly Dynabeads kombinovány s IL-2, s IL-15 či s oběma interleukiny, zde již byla ale aktivace nižší než ve vzorcích, kde byly Dynabeads přítomny samostatně.

Čas, kdy došlo k aktivaci T-lymfocytů, byl u jednotlivých dárců individuální a pohyboval se v rozmezí několika hodin až do času 4 dní.

Graf 1 – Ukázka grafické znázornění průběhu změny konfluence u dárce 1



Zdroj: Vlastní