



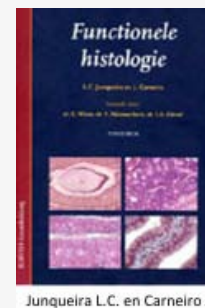
- Home
- Histologie
- Materialen
- Preparaten
- Fotogalerij
- Downloads
- Links
- Sitemap
- Contact

## Macrofagen fagocyteren latex partikels

Download deze pagina als .pdf , klik [hier](#)

Bronvermelding:

- 1 Theorie: Junqueira L.C. en Carneiro J. (2004, tiende druk), *Functionele histologie*, Maarssen. Uitgeverij Elsevier. Hoofdstuk 5, pag. 128-129, 'Bindweefsel'; ISBN: 978-9035228627.
- 2 Wikipedia, de vrije encyclopedie, [http://en.wikipedia.org/wiki/THP1\\_cell\\_line](http://en.wikipedia.org/wiki/THP1_cell_line)
- 3 Wageningen UR (University & Research centre), [prof.dr. LJLD \(Leo\) van Griensven](#)



### Doel,

van dit experiment is het aantonen dat macrofagen in staat zijn om lichaamsvreemde stoffen te fagocyteren.

### Theorie<sup>1</sup>,

Macrofagen zijn oorspronkelijk ontdekt door hun fagocyterende eigenschappen; wanneer men kleurstoffen, zoals trypaanblauw of Oost-Indische inkt, aan een proefdier toediende, werden die door de macrofagen opgenomen en lichtmicroscopisch waargenomen in [lysosomen](#)<sup>2</sup>. Momenteel is duidelijk dat macrofagen een belangrijke rol spelen bij het opruimen van allerlei binnengedrongen ongerechtigheden, zoals bacteriën en [endotoxinen](#)<sup>2</sup>, maar ook bij het opruimen van resten van dode cellen en bij het in gang zetten van [immunologische](#)<sup>2</sup> afweermechanismen.

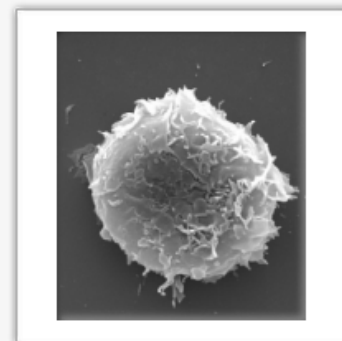
Macrofagen ontstaan voornamelijk uit voorlopercellen in het beenmerg die delen en monocyt vormen.

Monocyten (een van de soorten witte bloedlichaampjes) circuleren in het bloed en kunnen, na een specifiek signaal, door het [endotheel](#)<sup>2</sup> heendringen naar het bindweefsel. Daar differentiëren zij zich tot monocytafgekeide macrofagen, die zich vrij kunnen bewegen en een levensduur van ongeveer twee maanden hebben.

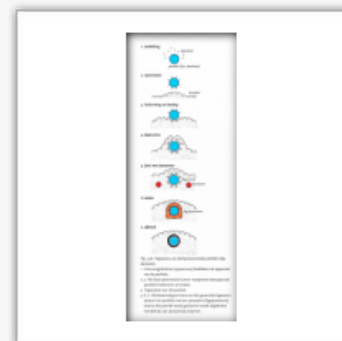
Macrofagen zijn gemiddeld 10-30 µm in doorsnede en hebben een ovale tot niervormigen kern die meestal excentrisch ligt. Kenmerkend zijn de talrijke uitstulpingen van het celoppervlak als uiting van hun sterke endocytotische en fagocytotische activiteit (*fig. 1*).

Wanneer de hoeveelheid te verteren materiaal zeer omvangrijk is, of moeilijk te verteren, kunnen macrofagen fuseren tot veelkernige [reuscellen](#). Ook kunnen zij om bepaalde ontstekingshaarden een kordon van dicht aaneengesloten, grote epitheloïde cellen vormen.

Macrofagen fagocyteren deeltjes door ze met [cytoplasmatische](#)<sup>2</sup> uitsteeksels te omgeven, waardoor het partikel in een fagosoom in het cytoplasma van de cel terecht komt. Daarna fuseren lysosomen met het fagosoom en verteren lysosomale [enzymen](#)<sup>2</sup> de inhoud. Het mechanisme van de fagocytose is hiernaast weergegeven (*fig. 2*).



figuur 1, REM opname van een monocyt



figuur 2, fagocytose schematisch <sup>1</sup>

## Materialen en methoden,

Gekozen werd voor een THP-1 cellijn.

THP1 cellen zijn menselijke monocyten die zijn afgeleid van een patiënt met acute monocytic leukemie. De cellen worden gebruikt voor het testen van leukemie cellijnen in immunocytochemische analyse van eiwit-eiwit interactie en immunohistochemie<sup>1</sup>. De cellen kunnen besteld worden bij b.v. [Sigma-Aldrich](#).

Monocyten werden gekweekt<sup>3</sup> in vijf ronde (Ø 8mm) PE molds met vlakke bodem.

Molds zijn te verkrijgen bij [Science Services GMBH](#). De kweek werd aangezet tot differentiëren met [phorbol 12-myristate 13-acetate](#)<sup>2</sup> (PMA), 50 ng/ml. Duur van differentiëren was vier dagen. Na deze periode werden de cellen over nacht geïncubeerd met groen fluorescerende latex partikels met een diameter van 1µm. Deze partikels kunnen besteld worden bij b.v. [Magsphere](#). Cellen werden met [PBS](#)<sup>2</sup> gewassen en gefixeerd met Formaldehyde 4%. Alle voorgaande stappen werden uitgevoerd op de Wageningen UR (University & Research centre) door prof.dr. LJLD (Leo) van Griensven<sup>3</sup>.

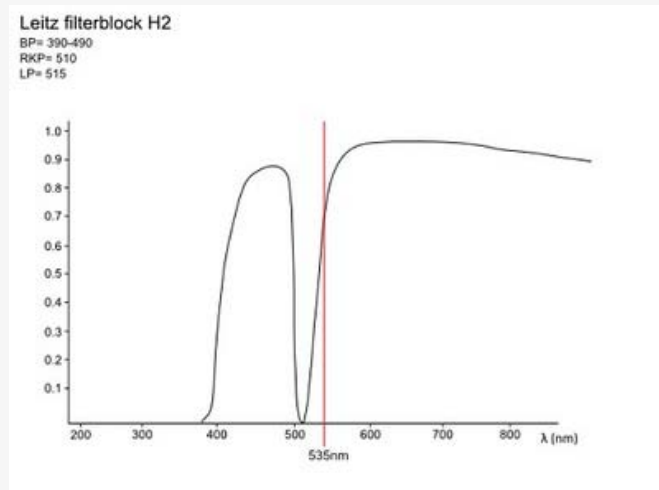


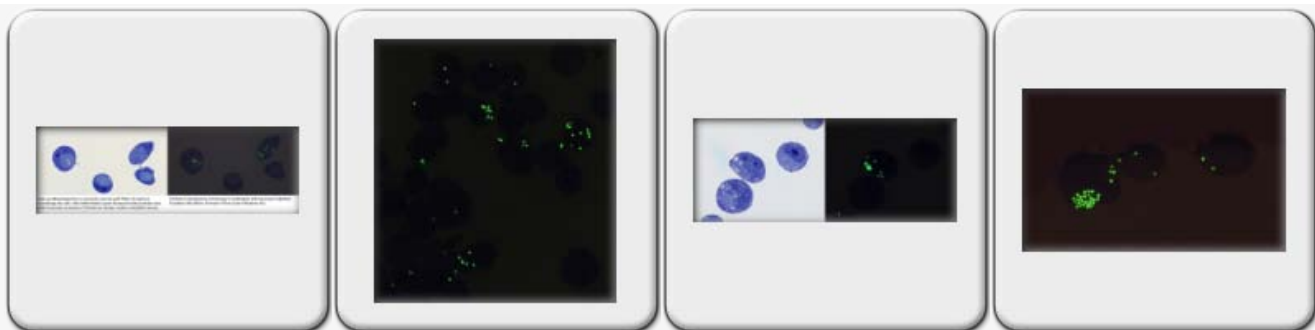
Cellen zijn gedehydrateerd in drie ethanolstappen (70%, 95% en 100%) waarna inbedding volgde in Technovit 7100 van de [Firma Kulzer](#).

Technovit 7100 + ethanol 100% 1:1, 6uur; Technovit 7100 + harder 1, 6uur; 15 delen (Technovit + harder 1) + 1 deel harder 2, 2uur op 22°C en 4uur op 37°C. Daarna 48uur naharden op 55°C. Glasmessen (6,4mm) zijn vervaardigd op een LKB 7800 glasbreker waarna coupes van 2µm zijn gesneden op een Reichert-Jung Ultracut E ultramicrotoom. Coupes zijn bevestigd op objectglasjes en licht aangekleurd op kamertemperatuur met toluidine blauw in een 1% boraxoplossing. Na drogen is ingesloten met Depex.

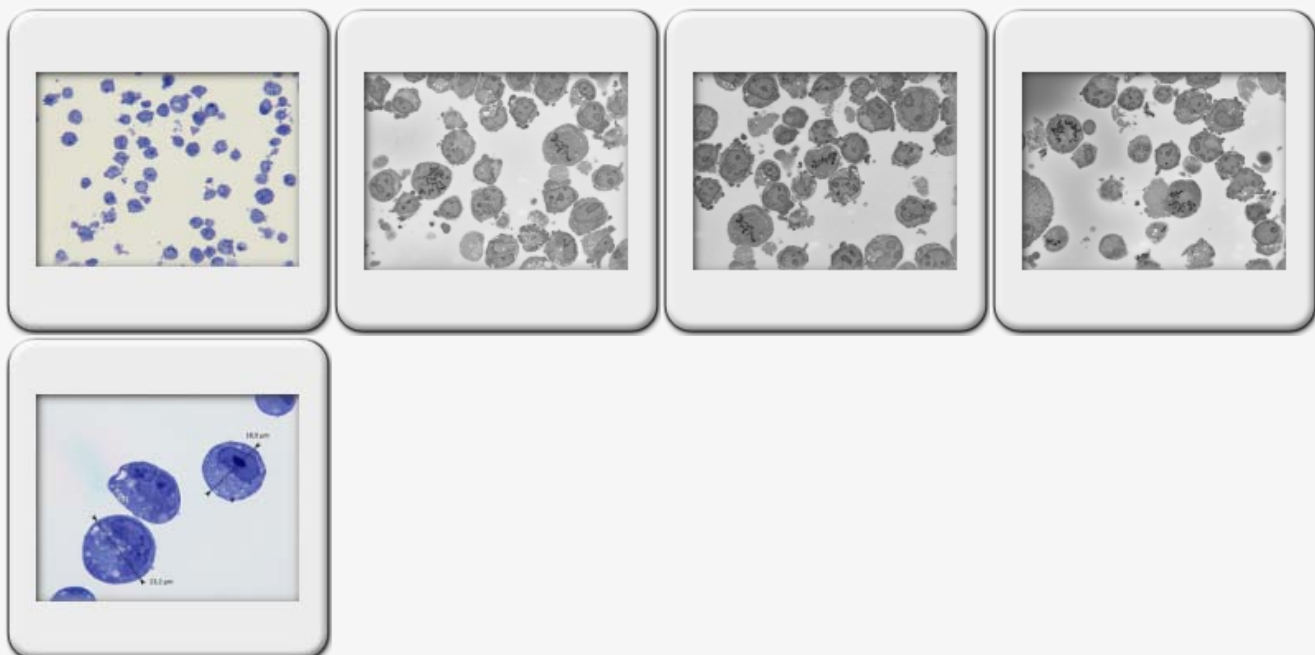


Om de partikels, die een emissie van 535nm hebben, zichtbaar te maken is gebruik gemaakt van een Leitz H2 filterblok gemonteerd in een ploemopack welke geplaatst is op een Leitz Orthoplan microscoop met HBO100 verlichting. Opnamen zijn gemaakt met een Moticam 2300 microscoop camera.

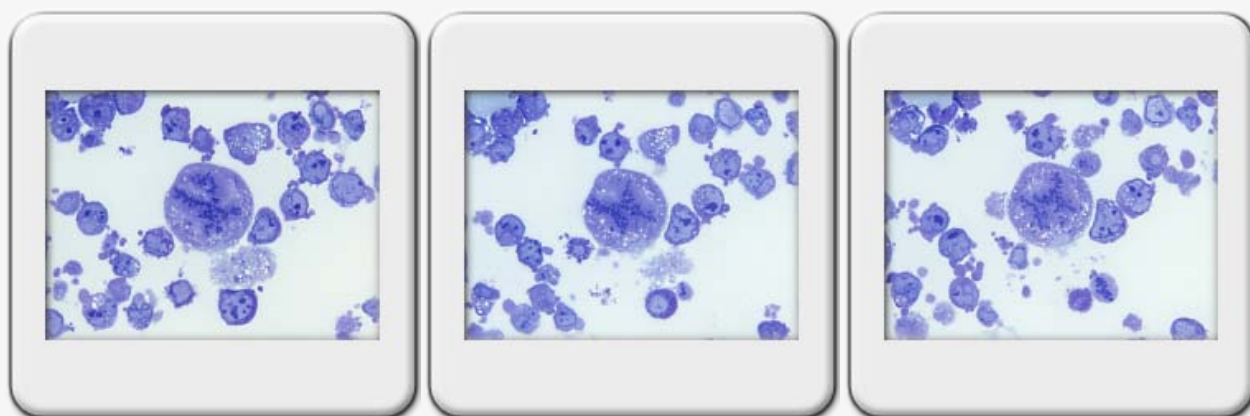




Afbeeldingen van celdelingen welke in de THP-1 monocytten te zien waren.



Drie opnamen van één THP-1 monocyt in mitose. Het betreft dezelfde cel welke in drie opeenvolgende coupes op één objectglas gemonteerd zijn.



[Top](#)