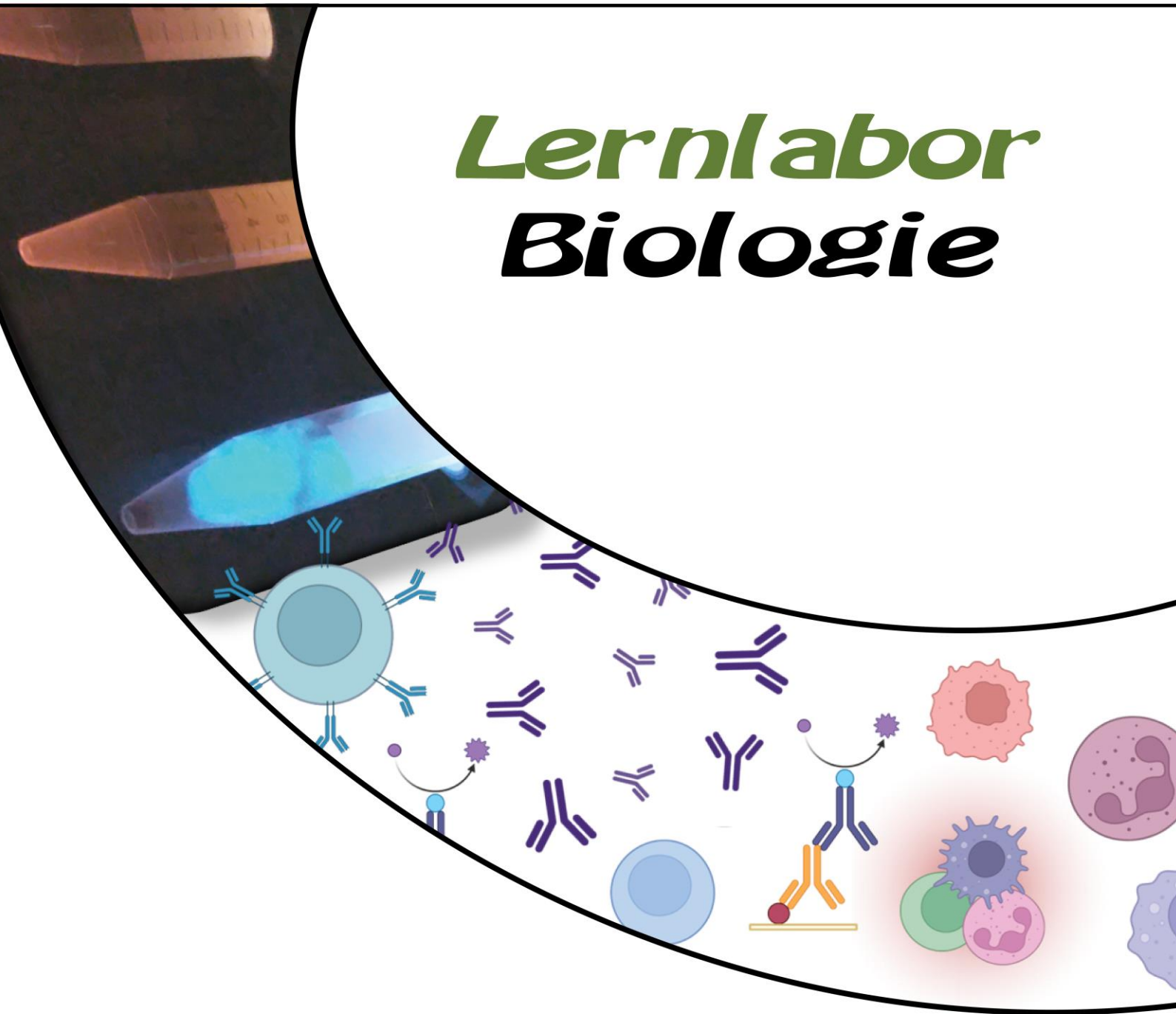


Lernlabor Biologie



Blut & Immunsystem

Blutgruppen/Hämatokrit/Mikroskopie/Luminol

Was erwartet euch?

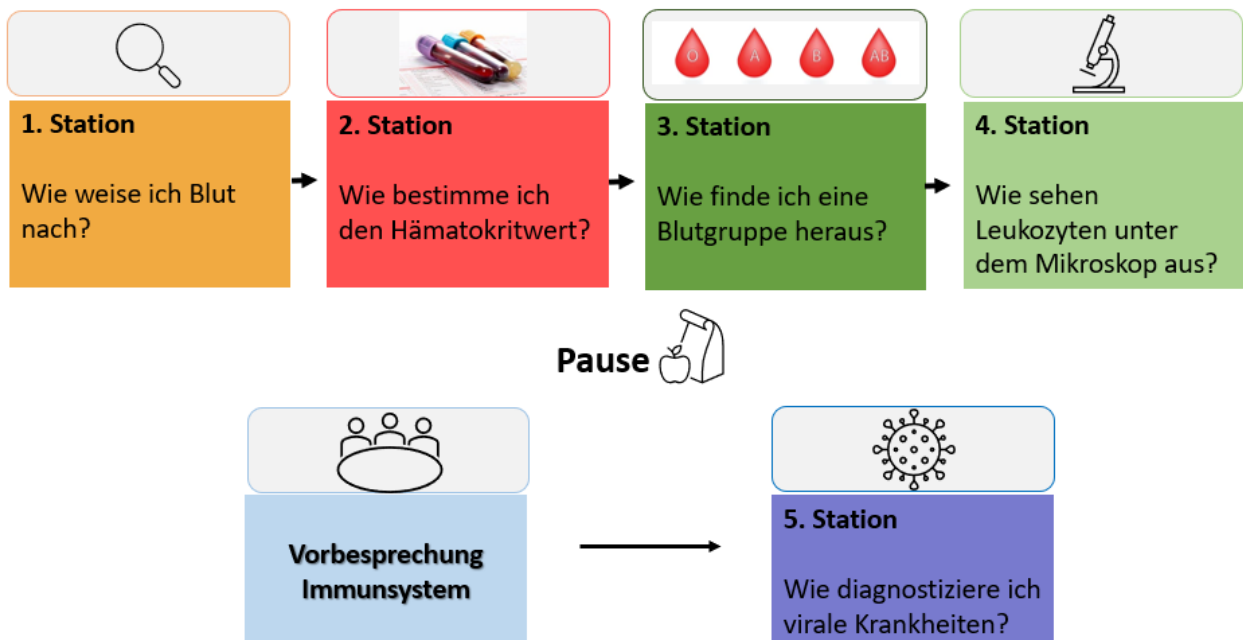
Der Labortag zu „Blut und Immunsystem“ eröffnet euch die Möglichkeit, die Komplexität eures Blutes zu begreifen und seine Bedeutung im forensischen, biologischen und medizinischen Kontext zu erfassen.

Außerdem soll die enge Verknüpfung des Bluts mit dem Immunsystem begreifbar und grundlegende immunologische Mechanismen erfahrbar gemacht werden.

In diesem Sinne werdet ihr neben einer kriminaltechnischen Methode Analysen aus dem humanmedizinischen Bereich (Hämatokritwert-Bestimmung) durchführen. Hierbei kann die immense Bedeutung der weißen Blutkörperchen bei der Immunabwehr nachvollzogen werden.

Antigen-Antikörper-Reaktionen werden sowohl im Rahmen der Blutgruppenbestimmung als auch für die Diagnose viraler Infektionen genutzt. Letzteres werdet ihr anhand eines ELISA-Tests anwenden, um den Infektionsstatus von Patient*innenproben zu identifizieren.

Stationsübersicht



Übersicht deines Eppi-Ständers:



Übersicht deiner Eisbox:



Station 1: Wie weise ich Blut nach?



- i Im Rahmen forensischer Ermittlungen können Blutspuren entscheidende Erkenntnisse liefern, um den Tathergang zu rekonstruieren und Verbrechen aufzuklären.

Schlüpfe in die Rolle eines*r forensischen Ermittlenden:

Nach einem Mord in Weiterstadt wurde die ganze Gegend auf den Kopf gestellt, um den Täter/die Täterin zu finden.

Das Opfer hat sich vor kurzem an drei verschiedenen Orten aufgehalten, die jeweils verdächtige, blutähnliche Spuren aufweisen. Es wurden Proben der drei Orte gesammelt:

Probe L1: Werkstatt von Herr Krause

Probe L2: Suppenküche von Frau Taylor

Probe L3: Weinhandel von Herr Durand

...nun bist du gefragt:

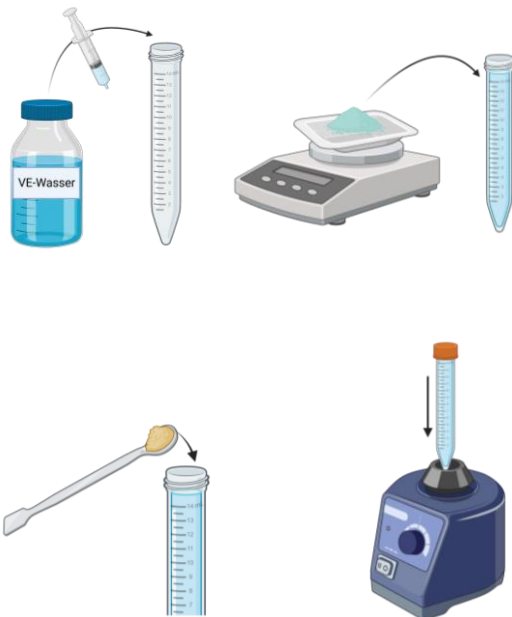
Aufgabe:

Identifiziere, bei welcher/welchen der drei Proben es sich jeweils um **Blut** handelt und liefere so wichtige Hinweise für die Lösung des Falls:

Hinweis Materialien:

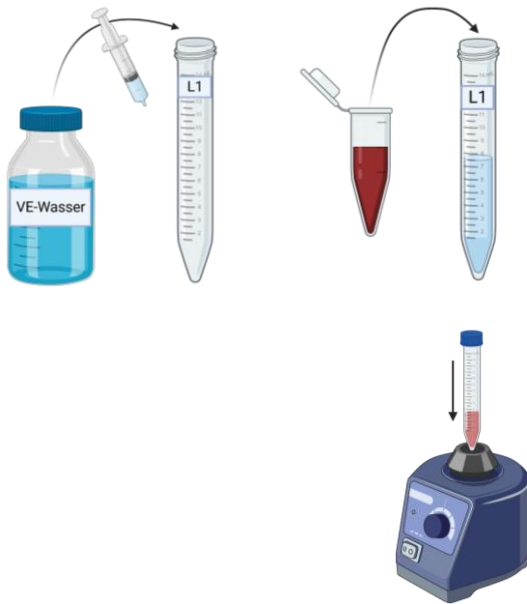
Fleckensalz und **Luminol-Pulver** befinden sich jeweils in der Mitte zwischen zwei Arbeitsplätzen

Die **Eppis L1, L2 und L3** (die für den zweiten Schritt benötigt werden) befinden sich in der **Eisbox** (blaue Kiste, in der Mitte der Arbeitsbank)



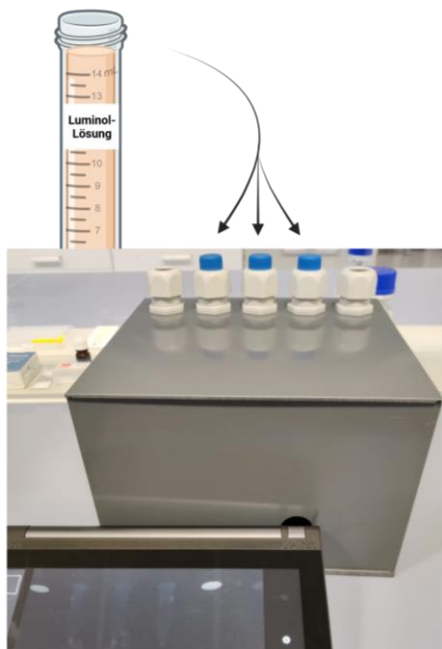
1. Herstellung der Luminol-Lösung

- ☐ Ziehe mit einer Spritze 10 **ml** VE-Wasser auf und überführe es in das Falcontube „**Luminol-Lösung**“ (orange-ner Deckel).
- ☐ Wiege 1,1 g Fleckensalz ab und gebe es in das Falcon-Tube „Luminol-Lösung“.
- ☐ Gib einen Spatel-Löffel Luminol-Pulver hinzu.
- ☐ Vortexe das Falcontube 30 Sekunden lang.



2. Überführung der Probe in das Falcontube

- ☐ Fülle mithilfe der Spritze jeweils 10 ml VE-Wasser in die Falcontubes „L1“ „L2“ und „L3“.
- ☐ **Pipettiere** 100 µl des Eppis „L1“ (in der Eisbox!) in das Falcontube „L1“.
- ☐ **Pipettiere** 100 µl des Eppis „L2“ in das Falcontube „L2“.
- ☐ **Pipettiere** 100 µl des Eppis „L3“ in das Falcontube „L3“.
- ☐ Vortexe die drei Falcontubes jeweils 10 Sekunden lang.



3. Identifikation der Proben

- ☐ Setze die drei Falcontubes (L1, L2, L3) in die drei mittleren Öffnungen der Dunkelkammer ein.
- ☐ Positioniere die Kamera des Lenovopads so, dass sie die drei Falcontubes im Bild erfasst.
- ☐ Nimm die Deckel der drei Falcontubes ab.
- ☐ Pipettiere 1 ml der **Luminol-Lösung** in das erste Falcontube in der Dunkelkammer und **beobachte** eine mögliche **Farbreaktion**.
- ☐ Wiederhole diesen Schritt mit dem zweiten und dritten Falcontube.

Welche(s) Eppi(s) enthält Blut?

L1 (Werkstatt Krause)
L2 (Suppenküche Taylor)
L3 (Weinhandel Durand)

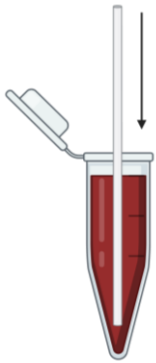
Station 2: Wie bestimme ich den Hämatokritwert?



- ① Der Hämatokritwert ist ein wichtiger Indikator für verschiedene Erkrankungen oder körperliche Mangelzustände. Er wird als Standarduntersuchung im Rahmen des kleinen Blutbilds bestimmt. Der Hämatokritwert gibt an, wie hoch der zelluläre Anteil an der gesamten Blutprobe ist (**Normwerte bei Frauen: 37-45% - bei Männern: 42-50%**). Er wird mittels Zentrifugation (kreisförmige Beschleunigung der Probe) bestimmt.

Aufgabe:

Bestimme den Hämatokritwert der vorliegenden Blutprobe.



1.



2.

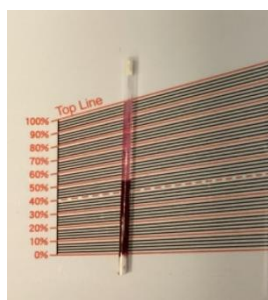
- ☐ Halte ein Kapillarröhrchen senkrecht in das Eppi „Hk-Blut“, sodass das Blut nach oben in das Röhrchen gesogen wird.

Achtung: Führe das Kapillarröhrchen **bis zum Boden** des Eppis und halte es beim Herausziehen **schräg**, sodass es fast vollständig mit Blut befüllt bleibt.

- ☐ Trockne das Kapillarröhrchen von außen mit einem grünen Papiertuch ab.
- ☐ Dichte das Kapillarröhrchen beidseitig mit Wachs ab, indem du die Enden etwa 3mm in die Wachsplatte hineindrückst.



3.



4.

- ☐ Gib das Kapillarröhrchen bei einer Betreuungsperson ab. Sie positioniert das Röhrchen in der **Zentrifuge** und nennt euch eure die Position.
- ☐ Eure Probe wird 3 Minuten bei 7 tausend Umdrehung pro Minute zentrifugiert.
- ☐ Bestimme mithilfe des Ablesekärtchens den Hämatokritwert deiner Probe.
Achtung: Achte auf die **Hinweise** auf dem Kärtchen zum **AbleSEN!**
- ☐ Entsorge das Kapillarröhrchen im gelben Glasmüll.

Hämatokritwert (in Prozent): _____ Im Normbereich (37-50%): Ja ☐ Nein ☐

Station 3: Wie finde ich eine Blutgruppe heraus?

Wer kann Max' Leben retten?“

- ① Bevor eine Bluttransfusion vonstattengehen kann, muss ein Beside-Test durchgeführt werden: Bei diesem wird die Blutgruppe der empfangenden Person und gelegentlich auch die Spender*innenkonserve überprüft. Die Blutprobe wird auf eine Testkarte aufgetragen, welche mit Anti-A- und Anti-B-Antikörpern beschichtet ist. Aus der Verklumpungsreaktion lässt sich auf die Blutgruppe schließen.

~ Überblick Blutgruppentest ~

Anti-A 	Anti-B 	Blut-Gruppe	
		A	 Antigen A
		B	 Antigen B
		AB	 Antigen A Antigen B
		0	 keine Antigene

Hierzu folgender Fall:

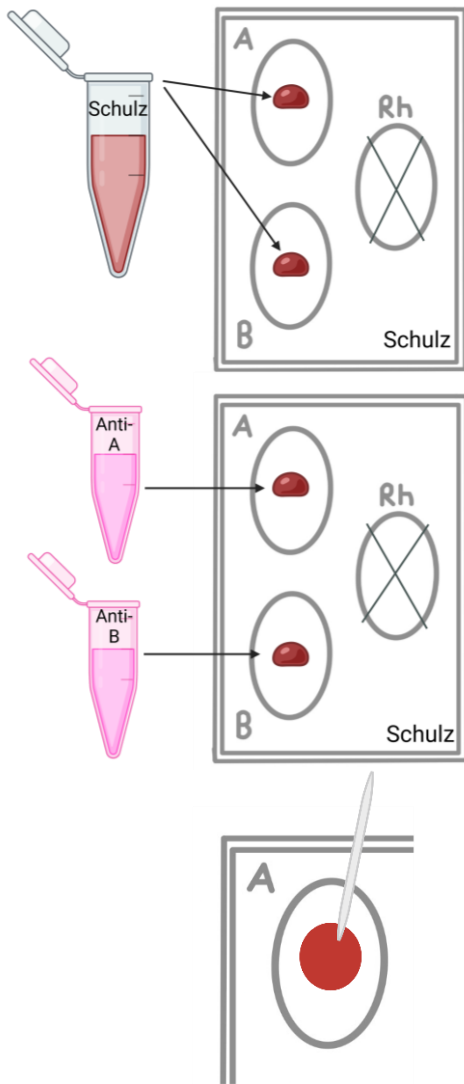
Der 17-jährige Schüler Max Rau hat einen schweren Fahrradunfall, bei dem er viel Blut verliert. Er wird sofort ins Krankenhaus gebracht und ist dringend auf eine Bluttransfusion angewiesen. Seine Blutgruppe ist B.

Frau Wagner, Herr Demir und Frau Schulz haben vor kurzem Blut gespendet. Du bist medizinische(r) Assistent*in und überprüfst vor der Transfusion noch einmal die Blutgruppen der Spender*innen.

Aufgabe:

Überprüfe, wessen Blutkonserve Max voraussichtlich erhalten könnte.

Hinweis: Alle benötigten Proben für Station 3 befinden sich in der **Eisbox!**



☐ Jede der drei Blutproben wird einzeln auf einem Objektträger ausgewertet.

➔ Beschrifte den Objektträger entsprechend der aktuell zu testenden Blutprobe (z.B. „Schulz“).

☐ Pipettiere 15 µl der zu **untersuchenden Blutprobe** in die Vertiefungen A und B des vorliegenden Objektträgers (Die Vertiefung „Rh“ bleibt frei).

☐ Pipettiere in die Vertiefung, die mit „A“ markiert ist, 15 µl **Anti-A-Lösung** (Antikörper A).

☐ Pipettiere in die Vertiefung, die mit „B“ markiert ist, 15 µl **Anti-B-Lösung** (Antikörper B).

☐ Vermische die einzelnen Proben mit einem Stäbchen.

☐ Beobachte, bei welchen Proben eine Verklumpung stattfindet und schließe dadurch auf die Blutgruppe (**Auswertung**).

Achtung: Die Verklumpung kann sich auch durch eine Schaumbildung äußern!

☐ Reinige das Stäbchen mit Wasser, trockne es mit einem Papiertuch ab und wiederhole die Schritte mit den restlichen Blutproben.

Auswertung:

	Verklumpung A	Verklumpung B
Wagner		
Demir		
Schulz		

Blutgruppe Wagner:



Blutgruppe Demir:



Blutgruppe Schulz:



➔ Wessen Blutspende könnte Max erhalten? _____

Station 4: Wie sehen Leukozyten unter dem Mikroskop aus?



Zelluläre Bestandteile des Blutes sind mit dem bloßen Auge nicht zu erkennen.

Anhand eines Blutausstrichs und anschließender Mikroskopie kann die individuelle Zusammensetzung des Bluts bei einer Person untersucht werden. Der Blutausstrich wird beispielsweise im Rahmen eines kleinen Blutbilds durchgeführt.

1. Aufgabe:

Mikroskopiere das Fertigpräparat.

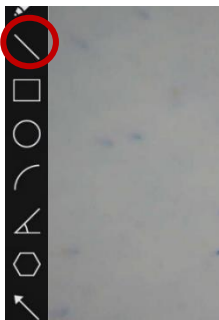


1. Mikroskopie

- ☐ Du erhältst eine Einführung in das Mikroskop. Höre aufmerksam zu.
- ☐ Platziere das humane Blutpräparat auf dem Objekttrichter.
- ☐ Beginne mit der kleinsten Vergrößerung, nutze dann das 10er und schließlich das 40er Objektiv.

2. Aufgabe:

Bestimme die Größe von Leukozyten.



2. Leukozyten-Größe bestimmen

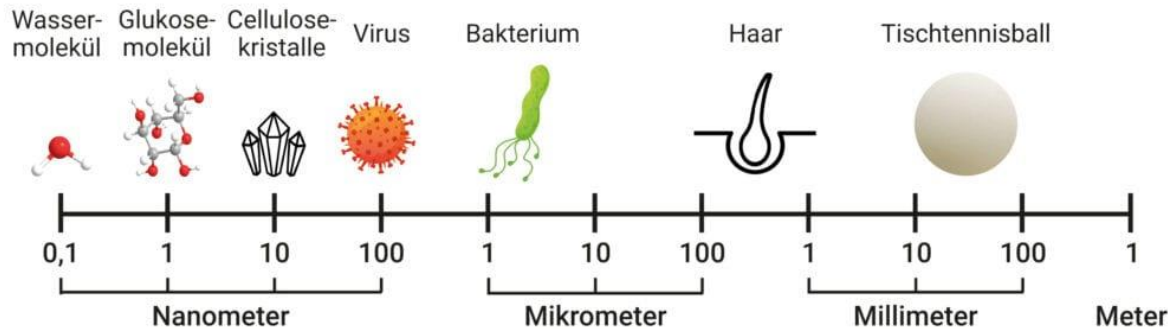
- ☐ Öffne die App „Moti-Cam“ auf dem iPad.

Info: Das Bild von App und Mikroskop ist etwas versetzt. Benutze den **Feintrieb**, um das Bild auf der App scharf zu stellen.

- ☐ Wähle in der Seitenleiste die Gerade aus.
- ☐ Markiere mit der Geraden den Durchmesser des Leukozyten.
- ☐ Lies den Wert ab.
- ☐ Bestimme den Durchmesser eines weiteren Leukozyten.

Durchmesser Leukozyt 1	Durchmesser Leukozyt 2

Ordne die Leukozyten größenmäßig in der folgenden Skala ein:



Info: Leukozyten im Detail



Monocyt (später Makrophage): Kann Krankheitserreger „fressen“ und verdauen → Phagozytose

Granulocyten:



➤ Basophile: Beteiligt an allergischen Reaktionen



➤ Neutrophile: Phagozytose, Anlockung anderer Immunzellen



➤ Eosinophile: Bekämpfung größerer Eindringlinge wie Parasiten/Würmer



Natürliche Killerzellen/ T-Zelle: Zerstörung infizierter Körperzellen/ Aktivierung Immunzellen



B-Zelle: Antikörperproduktion

3. Aufgabe:

Identifiziere Leukozyten-Zelltypen, **fotografiere** sie ab. Pro Gruppe könnt ihr euch ein Bild ausdrucken.

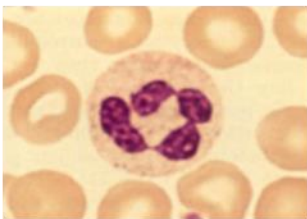


1. Identifikation Leukozyten

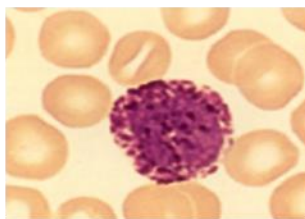
- ☐ Gib einen Tropfen Immersionsöl auf das Fertigpräparat und betrachte es bei **100facher** Vergrößerung.
- ☐ Suche das Fertigpräparat nach Leukozyten ab.
- ☐ Wenn du einen Leukozyten gefunden hast, identifiziere dessen Zelltyp (mithilfe der Tabelle auf Seite 11) und nimm mit dem iPad ein Bild des Leukozyten auf.
- ☐ Identifiziere und fotografiere mindestens zwei weitere Leukozyten-Zelltypen.

Leukozyten unter dem Mikroskop:

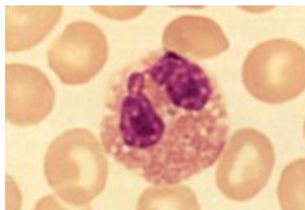
**Neutrophiler
Granulocyt**



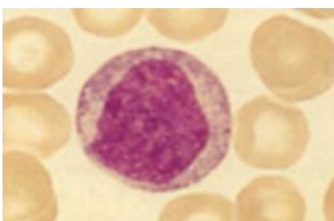
**Basophiler
Granulocyt**



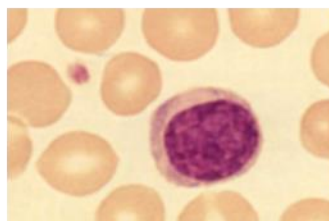
**Eosinophiler
Granulocyt**



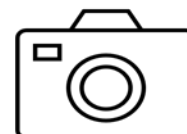
Monocyt



**Lymphozyt
(B- und T-Zelle)**



**Platz für dein
gedrucktes Bild**



Station 5: Wie diagnostiziere ich virale Krankheiten?

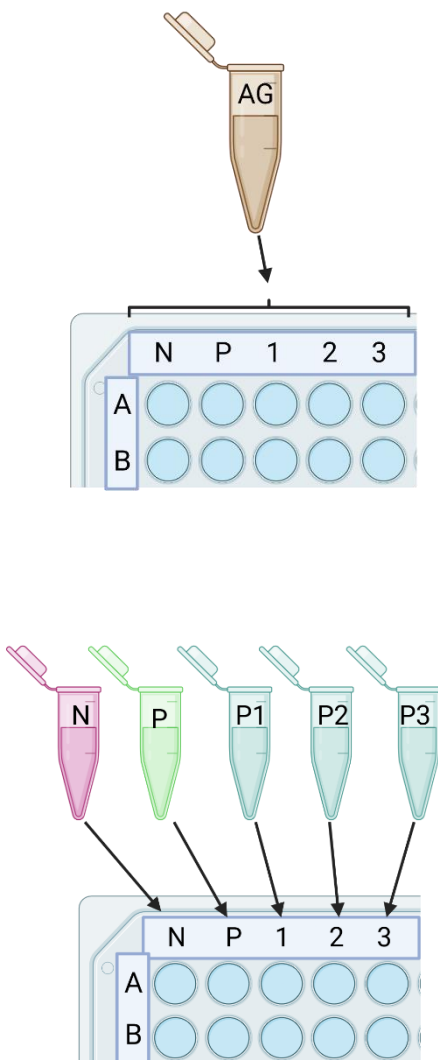


Mithilfe des **ELISA-Tests** lassen sich Viren, Bakterien und Antikörper in einer Blutprobe nachweisen. Im Falle unseres ELISA-Tests wird eine mögliche HIV-Infektion durch HIV-Antikörper nachgewiesen. Im Testverfahren wird isoliertes HIV-Antigen an eine Mikrotiterplatte gebunden und anschließend die Patient*innenprobe hinzugegeben.

Nach Zugabe von sekundärem Antikörper und Substrat, zeigt sich ein positives Testergebnis durch eine Farbänderung.

Aufgabe

Teste mittels ELISA-Test, ob bei den drei Patient*innen eine HIV-Infektion vorliegen könnte.



- ☐ Pipettiere 70 µl des **HIV-Antigens (AG)** in jede Vertiefung des markierten Abschnitts auf der Mikrotiterplatte.

- ☐ Lass die Platte 2 Minuten bei Raumtemperatur ruhen (Inkubation).

- ☐ Pipettiere jeweils 70 µl der **Negativprobe (N)** auf die beiden Negativfelder: N A/B.

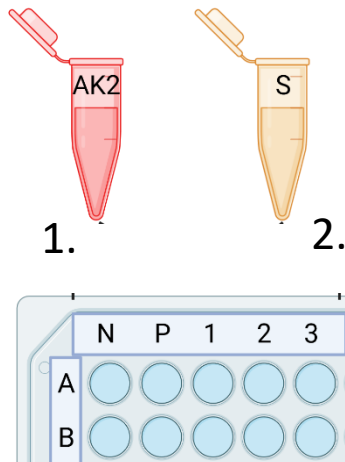
- ☐ Pipettiere jeweils 70 µl der **Positivprobe (P)** auf die beiden Positivfelder: P A/B.

- ☐ Pipettiere jeweils 70 µl der **Patient*innenprobe 1 (P1)** auf die beiden Felder, die mit einer 1 markiert sind: 1 A/B.

- ☐ Pipettiere jeweils 70 µl der **Patientenprobe 2 (P2)** auf die beiden Felder, die mit einer 2 markiert sind: 2 A/B.

- ☐ Pipettiere jeweils 70 µl der **Patientenprobe 3 (P3)** auf die beiden Felder, die mit einer 3 markiert sind: 3 A/B.

- ☐ Lass die Platte 2 Minuten bei Raumtemperatur ruhen (Inkubation).



- ☐ 1. Pipettiere zuerst 70 µl des **Sekundärantikörpers (AK2)** in **jede Vertiefung** des markierten Abschnitts auf der Mikrotiterplatte.
- ☐ Lass die Platte 2 Minuten bei Raumtemperatur ruhen (Inkubation).
- ☐ 2. Pipettiere anschließend 70 µl **Substrat (S)** in **jede Vertiefung** des markierten Abschnitts auf der Mikrotiterplatte.
- ☐ **Beobachte** die Farbreaktion und **werte** sie in der Tabelle **aus**.

Auswertung:

	Farbumschlag (ja/nein) (Intensivität)	Testergebnis (positiv/negativ)
Negativ-Probe		
Positiv-Probe		
Patient 1		
Patient 2		
Patient 3		

Hinweis:

Wenn ein optisch wahrnehmbarer Farbumschlag eintritt, liegt ein positives Testergebnis vor. Die Negativ- und Positivprobe dienen als Kontrollproben.

Expert*innenfrage:



Womit könnte die unterschiedliche Stärke des Farbumschlags zusammenhängen?

Lernlabor **Biologie**

Name: _____

Anmeldung unter:

Lernlabor@bio.tu-darmstadt.de

Webseite:

<https://www.biolernlabtudarmstadt.de/>

Kontakt: Dr. Kirsten Santelmann

santelmann@bio-tu-darmstadt.de

Dr. Guido Klees

klees@bio.tu-darmstadt.de