

Hjælp til Det Virtuelle Laboratorium

Generelt

Er du i tvivl om brugen af Det Virtuelle Laboratorium? - Vi anbefaler, at du bruger 2 minutter på vejledningen, som bliver tilbudt i starten. Har du trykket "Nej tak" og er godt i gang med et forsøg, kan du åbne en ny fane (virtueltlaboratorium.dk) og trykke "Okay" til vejledningen. Efterfølgende kan du gå tilbage til dit forsøg i den første fane.

Er du i tvivl om et laboratorieapparat – funktion eller placering – tryk på "Hjælp": 

Nedenfor er der Step-by-step vejledninger til at gennemføre alle laboratoriets øvelser.

Understøttede browsere og computer: alle browsere og computertyper understøtter brugen.

Understøttede sprog: Dansk og Engelsk – vælg dette i bunden af hovedmenuen.

Styring med computermus: Det er nemmest at bruge en computermus.

Kan du ikke se hele laboratoriet?

Hele laboratoriet skal være synligt på din skærm, som vist nedenfor. Hvis ikke du kan se det hele, skal du zoome ud i din browser – dette gøres under browserens indstillinger (ofte øverst til højre).

Fuldskræmsvisning: I nogle browsere er det også muligt at køre i fuldskræmsvisning, eks. Internet Explorer, Microsoft Edge, Mozilla Firefox.

Tryk da på  oppe i højre hjørne af laboratoriet.

I Google Chrome skal man trykke på  under browserens zoom-indstillinger.



Mangler du stadigvæk hjælp eller har kommentarer, skriv da til biotech@bio.dtu.dk

- Vi vender tilbage hurtigst muligt!

Step-by-step vejledninger:

Insulinfølsomhed.....	2
Genetisk test for forøget diabetesrisiko.....	7
Produktion af insulin.....	10
Enzymer til vaskemiddel.....	13
Produktion af antistoffer.....	16
Lægemiddeludvikling.....	24



Insulinfølsomhed

Test to mus for diabetes ved en række forsøg. En mus er diabetisk, den anden er rask.

Det udledte data for blodsukkerreguleringen hos mus er en simulering med forøget omsætningsrate.

Del 1 – Blodprøve

1. Bestil en rask mus, placer den i buret og tag derefter en blodprøve

- a. Bestil rask mus:
 - i. Tryk på døren ► Tryk "Computer"
 - ii. Tryk "Bestil mus" ► Tryk "Rask mus" ► Tryk "Bestil"
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
- b. Anskaf kanylen til blodprøvetagning:
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
- c. Foretag blodprøve
 - i. Tryk på museburet ► Træk musen ind i løbehjulet
 - ii. Træk kanylen hen på musen ► Tryk "Ok"

2. Noter glukose- og insulinniveau ud fra blodprøven

Tryk på blodprøven i din beholdning ► Nedskriv glukose- og insulinniveau
(f.eks.: Glukose: 4.9 mmol/L, Insulin: 0.25 ng/mL)

3. Bestil en diabetisk mus, placer den i buret og tag derefter en blodprøve

Gentag trin 1 – nu med en diabetisk mus.

OBS: Tag den raske mus ud af løbehjulet ved at trække den ned i beholdningen. Derefter kan den diabetiske mus indsættes.

4. Noter glukose- og insulinniveau ud fra blodprøven

Tryk på blodprøven i din beholdning ► Nedskriv glukose- og insulinniveau
(f.eks.: Glukose: 11 mmol/L, Insulin: 0.152 ng/mL)

Spørgsmål: Hvad er forskellen på insulin og glukose mellem den raske og diabetiske mus, og hvorfor?

Forskel i glukoseniveau (eksempel): $11 \text{ mmol/L} - 4.9 \text{ mmol/L} = 6.1 \text{ mmol/L}$

Det ses at den diabetiske mus har et højere glukoseniveau, med en forskel på 6.1 mmol/L.

Forskel i insulinniveau (eksempel): $0.152 \text{ ng/mL} - 0.25 \text{ ng/mL} = -0.098 \text{ ng/mL}$

Det ses at den diabetiske mus har et lavere insulinniveau, med en forskel på -0.098 ng/mL.

Den lavere mængde insulin i blodet, grundet diabetes, vil ikke stimulere cellernes optagelse af glukose i høj grad, og derfor ses en højere koncentration af glukose i blodet.



Del 2 – Glukose tolerance test

1. Sæt den raske mus tilbage i buret, og giv den koncentreret sukkeropløsning fra den blå flaske.
Træk den diabetiske mus ud af løbehjulet ned i beholdningen ► Træk den raske mus i løbehjulet
► Træk den blå flaske til musen

2. Eksporter data til Excel, fra knappen med de tre streger.
Vent, mens apparatet måler - indtil glukosekoncentrationskurven er fladet helt ud (ca. 2 min.)
Det er en god idé at omdøbe sit data, før det downloades:

Tryk på  ► Tryk "Omdøb" ► Skriv et genkendeligt navn ► Tryk "Gem" ► Tryk "Download"

3. Sæt den diabetiske mus i buret, og giv igen koncentreret sukkeropløsning.
Træk den raske mus ud af løbehjulet ned i beholdningen ► Træk den diabetiske mus i løbehjulet
► Træk den blå flaske til musen

4. Eksporter data til Excel.
Vent, mens apparatet måler - indtil glukosekoncentrationskurven er fladet ud (ca. 3-4 min.)
Det er en god idé at omdøbe sit data, før det downloades:

Tryk på  ► Tryk "Omdøb" ► Skriv et genkendeligt navn ► Tryk "Gem" ► Tryk "Download"

Databehandling i Excel - Plot data fra både den raske og diabetiske mus i Excel

1. Åben Excel: åben downloadede filer i Excel
2. Trim data: her slettes konstante målinger, der ligger før og efter blodsukkerændringen.
 - a. Slet alle målinger indtil eks. 8 konstante målinger før stigningen i "blood sugar". Gør dette i begge datasæt, så der er lige mange konstante målinger inden stigningen.
 - b. Slet alle målinger efter eks. 8 konstante målinger efter den normale værdi er genoprettet.
 - c. Kolonnerne "heart rate" og "GIR" kan med fordel slettes, da disse ikke bruges her.

OBS: antal målinger før og efter er forskelligt mellem datasæt, afhængigt af musens tid i hjulet.

3. Samlæg data: Man kan med fordel samle data fra den raske og diabetiske mus, så man kan plotte det i samme diagram. Kopier datasæt (ikke kolonnen med tidspunkter) fra det ene Excel-ark, over ved siden af datasættet i det andet Excel-ark, og ændr navnene på kolonnerne fra "blood sugar" til eksempelvis hhv. "Rask mus" og "Diabetisk mus".
4. Konverter tidsenheder: tiden kan rettes fra klokkeslæt (eks. 10:59:22.8) til absolutte sekunder med en estimering: 0,6 sekunder per måling. Det gøres nemmest ved at indsætte en ny kolonne, hvor enheden stiger med 0,6 sekunder fra første til sidste måling.

Tid (klokkeslæt)	Tid (sekunder)	Rask mus	Diabetisk mus
57:41,0	0	5,1	11
57:41,9	0,6	5,1	11
57:42,5	1,2	5,1	11
57:43,1	1,8	5,1	11
57:43,7	2,4	5,1	11



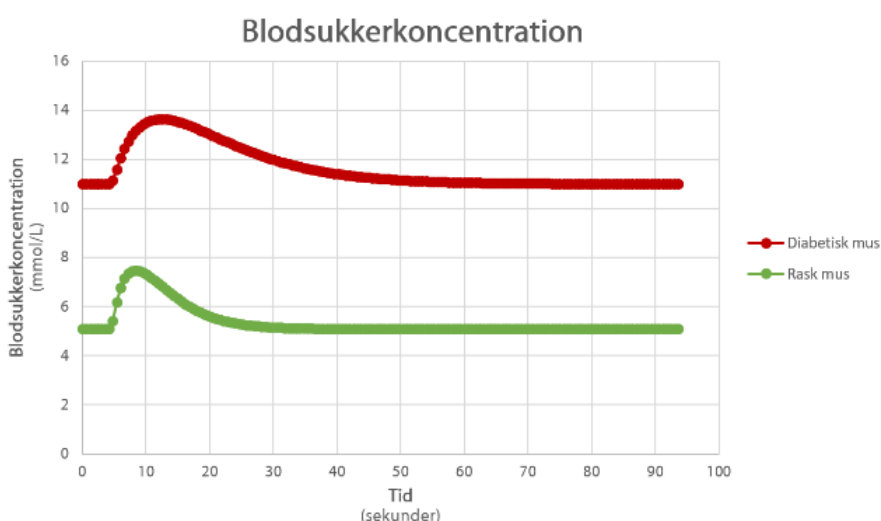
5. **Komma vs. Punktum** – filen bruger punktum som decimalseparator. Hvis dit Excel er indstillet til at bruge komma, skal du blot trykke på "Søg og Erstat" og søge efter "." og erstatte alle med ",".
6. **Plot** – marker nu kolonner med tiden (absolutte sekunder) samt "blood sugar", og indsæt et diagram, der viser tid på X-aksen og "blood sugar" på Y-aksen.

Spørgsmål: Plot data fra både den raske og diabetiske mus i Excel. Redegør for kurvens forløb og forklar hvorfor der er forskel.

Allerede fra start, før dosering af sukkeropløsning, ses en højere blodsukkerkoncentration hos den diabetiske mus (11 mmol/L), end hos den raske mus (5,1 mmol/L).

Ved doseringen ses, at koncentrationen af blodsukkeret stiger drastisk hos begge mus, og derefter aftager den forskelligt. For den raske mus tager det 36,0 sek. før blodsukkerkoncentrationen er stabil igen, mens det tager 79,8 sek. for den diabetiske mus.

Det tager altså længere tid at optage glukosen for den diabetiske mus, og den har et højere grundniveau af blodsukker – dette er grundet den lavere mængde insulin i blodet.



Del 3 – Insulinfølsomhedstest

1. Start testen ved at trykke på "Glukose Infusion Rate"-knappen, længst til højre på instrumentet. Musen gives derved en stor mængde insulin gennem slangen, og du kan derefter skrue op og ned for den mængde glukose musen får på "+" og "-" knapperne. Hold glukoseniveauet i blodet så tæt på fysiologiske 5 mmol/L som muligt. Stop herefter forsøget ved at trykke på "Glukose Infusion Rate"-knappen igen.

Tryk på  for at starte insulinfølsomhedstesten.

Hold øje med, at den røde kurve rammer 5 mmol/L (OBS: venstre akse).

Tryk på  for at styre mængden af glukose, musen får.

Den gule kurve viser mængden af glukose, der tilføres musens blod.

Falder den røde kurve (blodsukkeret) for meget ► Tryk på +

Stiger den røde kurve (blodsukkeret) for meget ► Tryk på -

Vent, mens apparatet måler indtil du har ramt ca. 5 mmol/L stabilt i et stykke tid (eks. 1-2 min.).

Afslut forsøget ved igen at trykke på .



2. Eksporter data til Excel.

Det er en god idé at omdøbe sit data, før det downloades:

Tryk på  ► Tryk "Omdøb" ► Skriv et genkendeligt navn ► Tryk "Gem" ► Tryk "Download"

3. Gentag forsøget for den raske mus, og hold igen glukoseniveauet i blodet så tæt på fysiologisk 5 mmol/L som muligt.

Gentag trin 1 – nu med en rask mus.

OBS: den raske mus har lavere blodsukker end den diabetiske mus og den reagerer voldsommere på at få en stor dosis insulin ved start af forsøget, så man skal hurtigt skrue op for mængden af glukose. Får musen ikke tilført nok glukose, vil den dø. Bestil da en ny mus som i del 1, trin 1 og prøv igen.

4. Eksporter data til Excel.

Det er en god idé at omdøbe sit data, før det downloades:

Tryk på  ► Tryk "Omdøb" ► Skriv et genkendeligt navn ► Tryk "Gem" ► Tryk "Download"

Databehandling i Excel - Lav to grafer i Excel for både den raske og den diabetiske mus med hhv. blodglukoseniveau og glukoseinfusionrate

1. Åben Excel: åben downloadede filer i Excel

2. **Trim data:** her slettes konstante målinger, der ligger før og efter Insulinfølsomhedstesten. I kolonnen "GIR" kan der være felter, der indeholder "unknown" i stedet for en måling. Det er de tidspunkter, hvor musen har været i hjulet, men der ikke har været tændt for glukosetilførsel, dvs. inden forsøget er sat i gang, efter der er slukket og evt. hvis man er kommet til at slukke og tænde i løbet af forsøget.
- Slet alle målinger indtil GIR-målingerne starter, altså alle de første rækker med "unknown" i "GIR". Gør dette i begge datasæt.
 - Slet alle målinger efter GIR-målingerne, altså alle de sidste rækker med "unknown" i "GIR". Gør dette i begge datasæt.
 - Haves eventuelle "unknown" midt i GIR-målingerne, så erstat disse "unknown" med 0.
 - Kolonnen "heart rate" kan med fordel slettes, da den ikke bruges her.

OBS: antal målinger før og efter er forskelligt mellem datasæt, afhængigt af musens tid i hjulet.

3. **Samlæg data:** Man kan med fordel samle data fra den raske og diabetiske mus, så man kan plote det i samme diagram. Kopier datasæt (ikke kolonnen med tidspunkter) fra det ene Excel-ark, over ved siden af datasættet i det andet Excel-ark, og ændr navnene på kolonnerne "GIR" til eksempelvis hhv. "Rask mus GIR" og "Diabetisk mus GIR", og ligeså for "blood sugar".
4. **Konverter tidsenheder:** tiden kan rettes fra klokkeslæt (eks. 10:59:22.8) til absolutte sekunder med en estimering: 0,6 sekunder per måling. Det gøres nemmest ved at indsætte en ny kolonne, hvor enheden stiger med 0,6 sekunder fra første til sidste måling. Se eksempel nedenfor.

Tid (klokkeslæt)	Tid (sekunder)	Rask mus	Diabetisk mus
57:41,0	0	5,1	11
57:41,9	0,6	5,1	11
57:42,5	1,2	5,1	11
57:43,1	1,8	5,1	11
57:43,7	2,4	5,1	11

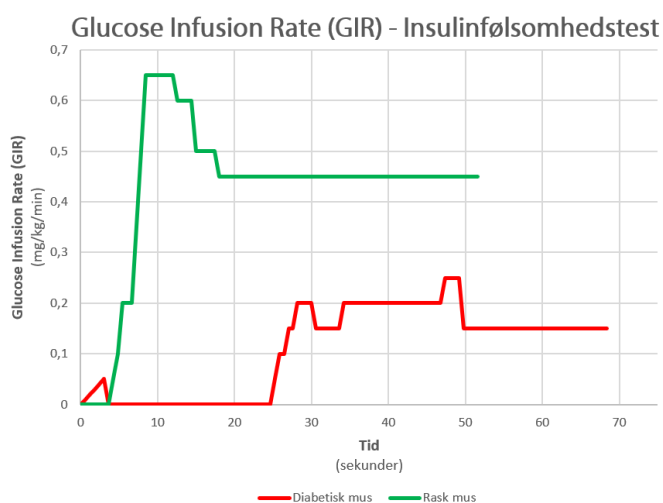
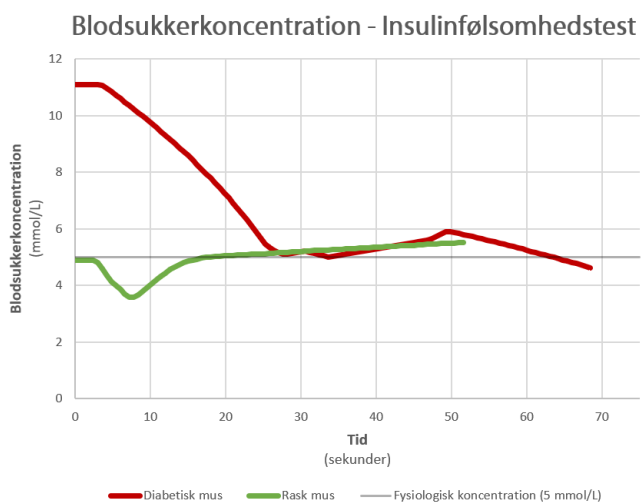


5. **Komma vs. Punktum** – filen bruger punktum som decimalseparator. Hvis dit Excel er indstillet til at bruge komma, skal du blot trykke på "Søg og Erstat" og søge efter "." og erstatte alle med ",".
6. **Plot - blodglukoseniveau** – marker nu kolonner med tiden (absolutte sekunder) samt "blood sugar" og indsæt et diagram, der viser tid på X-aksen og "blood sugar" på Y-aksen. Plot gerne den raske og diabetiske mus i samme diagram.
7. **Plot – glukoseinfusionsrate (GIR)** – marker nu kolonner med tiden (absolutte sekunder) samt "GIR", og indsæt et diagram, der viser tid på X-aksen og "GIR" på Y-aksen. Plot gerne den raske og diabetiske mus i samme diagram.

OBS: grafernes udseende afhænger fuldstændigt af hvor godt du har styret glukoseinfusionsapparatet – så hvis grafen er håbløs at aflæse, så prøv igen.

Spørgsmål: Lav to grafer i Excel for både den raske og den diabetiske mus med hhv. blodglukoseniveau og glukoseinfusionsrate. Kan du se forskel på de to glukoseinfusionsrategrafer, og hvis ja, hvordan?

Hvis man kigger på blodsukkerkoncentrationsgrafen, kan det ses at der fra start haves en højere blodsukkerkoncentration hos den diabetiske mus (11 mmol/L), end hos den raske mus (5,1 mmol/L). Man kan da fortolke, at den diabetiske mus havde nedsat insulinfølsomhed. På GIR-grafen kan det tydeligt ses, at den raske mus skal have mere tilført glukose (0,45 mg/kg/min) end den diabetiske mus (0,15 mg/kg/min), for at opretholde den fysiologiske blodsukkerkoncentration, hvilket bekræfter, at den diabetiske mus er mindre effektiv i at optage blodsukker, grundet den lavere insulinfølsomhed.





Genetisk test for forøget diabetesrisiko

Test en mus for tilstedeværelsen af en mutation i HNF1A-genet, som resulterer i en defekt transskriptionsfaktor med MODY diabetes som følge ved en række forsøg, eksempelvis PCR.

1. Bestil en rask mus eller en diabetisk mus fra computeren, og placer den i buret (du vil senere få udleveret den modsatte mus DNA til undersøgelse).

Bestil mus:

- i. Tryk på døren ► Tryk "Computer"
- ii. Tryk "Bestil mus" ► Tryk "Mus med diabetes" eller "Rask mus" ► Tryk "Bestil"
- iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne

OBS: det er vigtigt, at du husker hvad du har bestilt.

2. Tag en blodprøve med en kanyle.

- a. Anskaf kanyle til blodprøvetagning:
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
- b. Foretag blodprøve
 - i. Tryk på museburet ► Træk musen ind i løbehjulet
 - ii. Træk kanylen hen på musen ► Tryk "Ok"
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne

3. Centrifuger røret indeholdende blodet og udtag "buffy coat" – det er i dette lag de hvide blodlegemer befinder sig.

- a. Anskaf modvægt
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalieeskabet ► Træk vand ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
- b. Centrifuger blodprøven og udtag "buffy coat"
 - i. Tryk på arbejdsbord 2.
 - ii. Træk blodprøve og vand ind i centrifugen ► Tryk på centrifuge tændknappen.
 - iii. Tryk på "Buffy Coat" faselaget ► Tryk "Luk".
 - iv. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.

4. Gå til det forreste laboratoriebank og tænd for varmeblokken.

Tryk på arbejdsbord 1 ► Tryk på varmeblok tændknappen

5. Opvarm de hvide blodlegemer i varmeblokken, og tilsæt først lysis og derefter saltvand (rækkefølgen er vigtig) fra køleskabet, mens du holder prøven i varmeblokken.

- a. Opvarm hvide blodlegemer ("buffy coat")
 - i. Tryk på Bunsenbrænderen.
 - ii. Træk "buffy coat" reagensglasset (prøven) ind i varmeblokken.
- b. Anskaf lysis og saltvand
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Tryk på "Næste" ► Træk lysis og saltvand ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.



- c. Tilsæt lysis og saltvand
 - i. Træk lysis og saltvand til stativet
 - ii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på lysis ► Træk pipetten hen på prøven ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iii. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på saltvand ► Træk pipetten hen på prøven ► Tryk "Luk" ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
- d. Noter indholdet på røret
 - Tryk på prøven ► Skriv "diabetisk mus" eller "rask mus" i notefeltet ► Tryk "Luk".

6. Centrifuger prøven for at skille DNA'et fra celleresterne og udtag det frit flydende DNA

- a. Tag prøven med til centrifugen
 - i. Træk prøven fra varmeblokken til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på arbejdsbord 2.
- b. Centrifuger prøven og udtag DNA
 - i. Træk prøven ind i centrifugen ► Tryk på centrifuge tændknappen.
 - ii. Tryk på DNA faselaget ► Tryk "Luk".
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.

7. Sæt det frit flydende DNA på is, for at undgå at prøven ødelægges.

Tryk på arbejdsbord 3 ► Træk prøven ned i isbadet ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.

8. Tilsæt HNF1A primerne (diabetes primerne), nukleotider og Taq-polymerase (DNA polymerase) til DNA'et. Husk at notere som note på røret, hvorvidt det er fra diabetisk mus eller ej.

- a. Anskaf diabetes primer, nukleotider og DNA polymerase
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Tryk på "Næste" ► Træk diabetes primer, nukleotider og DNA polymerase ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 3.
- b. Tilsæt diabetes primer, nukleotider og DNA polymerase
 - i. Træk diabetes primer, nukleotider og DNA polymerase til stativet
 - ii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på primer ► Træk pipetten hen på prøven ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iii. Gentag trin ii. for DNA polymerase og nukleotider.
 - iv. Træk pipetten ned på pipettepladsen.
- c. Noter indholdet på røret
 - i. Tryk på prøven ► Skriv "diabetisk mus" eller "rask mus" i notefeltet ► Tryk "Luk"

9. Placer prøven i PCR maskinen og tænd den.

Træk prøven fra isbadet til PCR maskinen ► Tryk "Ok" ► Tryk på PCR tændknappen ► Tryk "Okay" eller "Nej tak" ► Tryk "Luk"

Noter indholdet i den udleverede prøve i beholdningen:

Tryk på prøven ► Skriv "diabetisk mus" eller "rask mus" i notefeltet ► Tryk "Luk"



10. Sæt en gel i gelelektroforesen (gelelektroforesen er placeret på arbejdsbord nr. 3). Tilsæt derefter blå farve til begge DNA-prøver (din egen og den du har modtaget), og tilsæt dem til to forskellige brønde i gelen. Tænd til sidst gelelektroforesen, der åbner for elektriciteten og trækker DNA og farve ned langs med gelen.

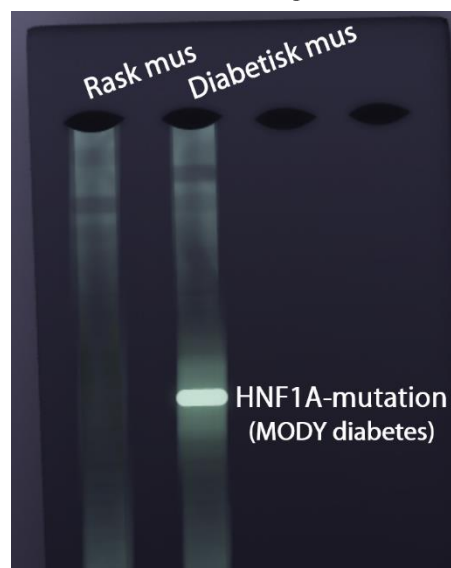
- a. Anskaf gel og blå farve
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Tryk på "Næste" ► Træk blå farve ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på kemikalieskabet ► Træk gel ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 3.
- b. Udfør gelelektroforesen
 - i. Træk gelen ned i gelelektroforesen.
 - ii. Træk DNA og blå farve fra beholdning ned i stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på blå farve ► Træk pipetten hen på DNA ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på DNA ► Træk pipetten hen på den første brønd i gelen ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iv. Træk prøven fra PCR maskinen ned i stativet
 - v. Gentag iii. for prøven fra PCR maskinen, men placer den nu i den anden brønd i gelen.
 - vi. Træk pipetten ned på pipettepladsen.
 - vii. Tænd for gelelektroforesen.

11. Tag gelen med ind i UV-rummet og se på den under UV-lys for at kunne identificere DNA-stykkerne.

- a. Tag gelen med til UV-rummet.
 - i. Træk gelen ned i beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.
 - iii. Tryk på døren ► Tryk "UV rum"
- b. Analyser gelen.
 - i. Træk gelen ned i gelholderen.
 - ii. Tryk på gelen.
 - iii. Tryk "Luk".

Spørgsmål: I en af banerne var der et bånd der lyste tydeligt op. Hvad indikere dette bånd og hvilken mus tilførte den?

Det ses tydeligt, at der haves et bånd i brønden, der indeholder amplificeret DNA fra blodprøven fra den diabetiske mus. Båndet stammer fra det muterede HNF1A-gen, som kan medføre MODY-diabetes. Grunden til at båndet kan ses, er fordi der er blevet anvendt PCR-primere, der specifikt amplificerer HNF1A-gen med den kendte forårsagende mutation. Det ses, at den raske mus ikke har mutationen.





Produktion af insulin

Et modificeret insulingen, der forventes at kunne anvendes til behandling af type-1 diabetes, er blevet udviklet. Producer den nye insulintype og test dens effekt på en laboratoriemus.

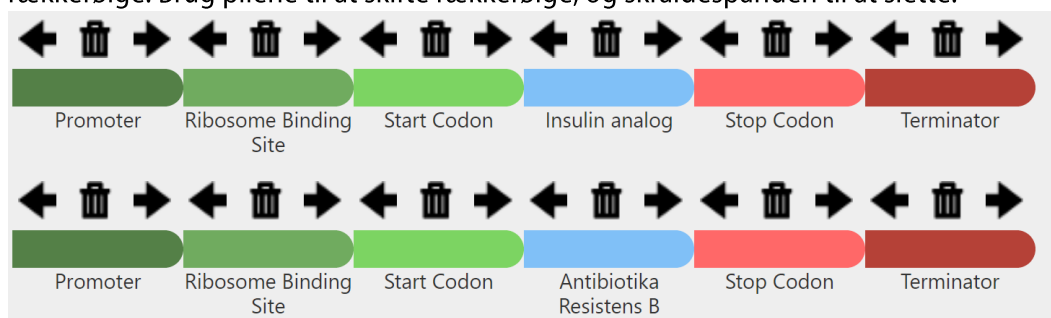
1. Design et stykke DNA på computeren som koder for insulin og som desuden koder for resistens for antibiotikum B. Husk det centrale dogme, når du designer genet.

- a. Gå til computeren.

- i. Tryk på døren ► Tryk "Computer" ► Tryk "Design DNA"

- b. Design DNA for insulin og antibiotikum B

- i. Træk genelementerne fra kolonnen til den højre skærm, i nedenstående rækkefølge. Brug pilene til at skifte rækkefølge, og skraldespanden til at slette.



- ii. Tryk "Bestil" ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.

2. Bland gærceller og dit designede DNA i et reagensglas. Overfør en del af blandingen til elektroporatoren med pipetten og tænd for at starte transformationen. På denne måde genmodificeres gærcellerne til at udtrykke det designede DNA.

- a. Anskaf gærceller

- i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Træk gærceller ned til beholdningen.

- ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.

- b. Bland gærceller og DNA

- i. Tryk på Bunsenbrænderen.

- ii. Træk DNA (gen) og gærceller til stativet

- iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på DNA (gen) ► Træk pipetten hen på gærceller ► Træk pipetten ned på toksisk affald.

- iv. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på blandingen af DNA (gen) og gærceller ► Træk pipetten hen på den lyseblå del af elektroporatoren ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

- v. Tryk på elektroporator tændknappen.

3. Fordel de gensplejsede gærceller i en petriskål og tilsæt antibiotikum B. NB: I praksis støbes antibiotika ind i pladen, og man kan ikke blot tilsætte stoffet efterfølgende.

- a. Anskaf petriskål og antibiotikum B

- i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk en petriskål ned til beholdningen.

- ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på køleskabet ► Træk antibiotikum B ned til beholdningen.

- iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.



- b. Fordel gensplejsede gærceller i petriskålen
 - i. Træk petriskålen hen på bordpladsen, hvor der er omrids af petriskåle.
 - ii. Træk antibiotikum B til stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på den lyseblå del af elektroporatorens ► Træk pipetten hen på petriskålen ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iv. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antibiotikum B ► Træk pipetten hen på petriskålen ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
4. **Inkubér petriskålen i inkubatoren.**

Træk petriskålen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk petriskålen ind i inkubatoren ► Tryk på inkubator tændknappen.
5. **Overfør en cellekoloni fra petriskålen til et reagensglas indeholdende vækstmedie og antibiotikum B.**
 - a. Tag petriskålen
 - i. Træk petriskålen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
 - b. Anskaf vækstmedie
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalieskabet ► Træk vækstmedium i reagensglas ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.
 - c. Overfør en cellekoloni og antibiotikum B til vækstmedie
 - i. Træk petriskålen hen på bordpladsen.
 - ii. Træk vækstmedie til stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antibiotikum B ► Træk pipetten hen på vækstmediet ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iv. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på petriskålen ► Træk pipetten hen på vækstmediet ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
6. **Inkubér reagensglasset i inkubatoren.**

Træk vækstmediet med cellerne (cellekulturen) ned i beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk cellekulturen ind i inkubatorens stativ ► Tryk på inkubator tændknappen.
7. **Overfør dine genmodificerede gærceller til fermentoren ved hjælp af en kanyle.**
 - a. Tag cellekulturen
 - i. Træk cellekulturen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
 - b. Anskaf kanyle
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.
 - c. Overfør cellekulturen til kanylen og så fermentoren
 - i. Træk cellekulturen til stativet.
 - ii. Træk kanylen hen på cellekulturen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på fermentoren.
 - iv. Træk kanylen hen på fermentoren.



8. Start en fermentering. Husk at indstille pH og temperatur, så væksten bliver optimal – prøv ved forskellige indstillinger og undersøg, hvad der er optimalt (husk at tilføre nye celler til fermentoren hver gang.)
Tryk på computerskærmen ► Tryk "Start" og vent.
9. Oprens insulin fra din fermentering.
Tryk "Ok"
10. Test effektiviteten af dit producerede insulin ved at give det til en rask mus eller en mus med type-1 diabetes ved hjælp af en kanylen.
 - a. Bestil diabetisk mus
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på døren ► Tryk "Computer".
 - ii. Tryk "Bestil mus" ► Tryk "Mus med diabetes" ► Tryk "Bestil".
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.
 - b. Anskaf kanylen til indsprøjtning
 - i. Tryk på forsyningsskabet ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
 - c. Overfør insulin til kanylen
 - i. Tryk på arbejdsbord 1. ► Træk insulin til stativet ► Træk kanylen hen på insulinen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.
 - d. Giv den diabetiske mus en insulinindsprøjtning
 - i. Tryk på museburet ► Træk musen ind i løbehjulet.
 - ii. Træk kanylen hen på musen.



Enzymer til vaskemiddel

Et nyt enzym er identificeret i mygs fordøjelsessystem, en lipase, som måske kan fjerne indtørret blodpletter fra tøj. Brug gensekvensen til at producere enzymet ved gensplejsning af gærceller og test derefter enzymets effekt i vaskemaskinen.

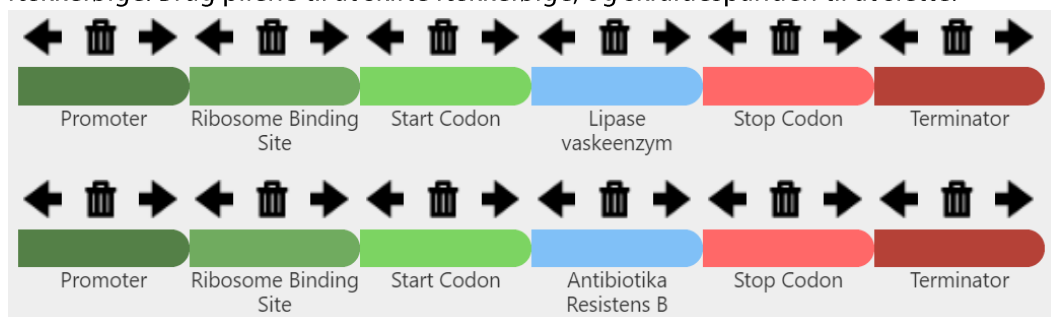
1. Design et stykke DNA på computeren som koder for enzymet lipase og som desuden koder for resistens for antibiotikum B. Husk det centrale dogme, når du designer genet.

- a. Gå til computeren.

- i. Tryk på døren ► Tryk "Computer" ► Tryk "Design DNA"

- b. Design DNA for lipase og antibiotikum B

- i. Træk genelementerne fra kolonnen til den højre skærm, i nedenstående rækkefølge. Brug pilene til at skifte rækkefølge, og skraldespanden til at slette.



- ii. Tryk "Bestil" ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.

2. Bland gærceller og dit designede DNA i et reagensglas. Overfør en del af blandingen til elektroporatoren med pipetten. På denne måde genmodificeres gærcellerne til at udtrykke det designede DNA.

- a. Anskaf gærceller

- i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Træk gærceller ned til beholdningen.

- ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.

- b. Bland gærceller og DNA

- i. Tryk på Bunsenbrænderen.

- ii. Træk DNA (gen) og gærceller til stativet

- iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på DNA (gen) ► Træk pipetten hen på gærceller ► Træk pipetten ned på toksisk affald.

- iv. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på blandingen af DNA (gen) og gærceller ► Træk pipetten hen på den lyseblå del af elektroporatoren ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

- v. Tryk på elektroporator tændknappen.

3. Fordel de gensplejsede gærceller i en petriskål og tilsæt antibiotikum B. NB: I praksis støbes antibiotika ind i pladen, og man kan ikke blot tilsætte stoffet efterfølgende.

- a. Anskaf petriskål og antibiotikum B

- i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk en petriskål ned til beholdningen.

- ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på køleskabet ► Træk antibiotikum B ned til beholdningen.

- iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.



- b. Fordel gensplejsede gærceller i petriskålen
 - i. Træk petriskålen hen på bordpladsen, hvor der er omrids af petriskåle.
 - ii. Træk antibiotikum B til stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på den lyseblå del af elektroporatorens ► Træk pipetten hen på petriskålen ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iv. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antibiotikum B ► Træk pipetten hen på petriskålen ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
4. **Inkubér petriskålen i inkubatoren.**

Træk petriskålen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk petriskålen ind i inkubatoren ► Tryk på inkubator tændknappen.
5. **Overfør en cellekoloni fra petriskålen til et reagensglas indeholdende vækstmedie og antibiotikum B.**
 - a. Tag petriskålen
 - i. Træk petriskålen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
 - b. Anskaf vækstmedie
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalieskabet ► Træk vækstmedium i reagensglas ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.
 - c. Overfør en cellekoloni og antibiotikum B til vækstmedie
 - i. Træk petriskålen hen på bordpladsen.
 - ii. Træk vækstmedie til stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antibiotikum B ► Træk pipetten hen på vækstmediet ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iv. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på petriskålen ► Træk pipetten hen på vækstmediet ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
6. **Inkubér reagensglasset.**

Træk vækstmediet med cellerne (cellekulturen) ned i beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk cellekulturen ind i inkubatorens stativ ► Tryk på inkubator tændknappen.
7. **Bland gærceller og antibiotikum B i et reagensglas og anvend en kanyle til at overføre indholdet fra reagensglasset til fermentoren.**
 - a. Tag cellekulturen
 - i. Træk cellekulturen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
 - b. Anskaf kanyle og antibiotikum B
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på køleskabet ► Træk antibiotikum B ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.



- c. Overfør antibiotikum B til cellekulturen
 - i. Træk cellekulturen og antibiotikum B til stativet.
 - ii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antibiotikum B ► Træk pipetten hen på cellekulturen ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
 - d. Overfør cellekulturen til kanylen og så fermentoren
 - i. Træk kanylen hen på cellekulturen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på fermentoren.
 - iii. Træk kanylen hen på fermentoren.
8. Start en fermentering. Husk at indstille pH og temperatur, så væksten bliver optimal – prøv ved forskellige indstillinger og undersøg, hvad der er optimalt (husk at tilføre nye celler til fermentoren hver gang.)
Tryk på computerskærmen ► Tryk "Start" og vent.
9. Oprens lipase fra din fermentering.
Tryk "Ok"
10. Fordel det oprensede lipase i fem reagensglas. Test effektiviteten af lipase-enzymet ved at tilsætte det til vaskemaskinen – prøv med forskellige koncentrationer for at finde den optimale dosis.
- a. Anskaf fem reagensglas
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabe ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk reagensglas ned til beholdningen x 5
 - b. Gå til vaskerummet
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på døren ► Tryk "Vaskerum"
 - c. Overfør lipase til reagensglas
 - i. Træk lipase til stativet
 - ii. Træk reagensglas til stativet x 5
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids
 - iv. Træk pipetten hen på lipase ► Træk pipetten hen på et tomt reagensglas x 5
 - v. Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen
 - d. Tilsæt lipase til vaskemaskinen
 - i. Træk et reagensglas med lipase til vaskemaskinens sæbeskuffe
 - ii. Vælg en koncentration fra listen ► Nedskriv lipasekoncentration (f.eks.: 1 mg/L)
 - iii. Tryk "Ok"

Quiz: Hvad er den optimale koncentration af enzym i forhold til at vaske skjorten ren?

Svar: Lige akkurat nok enzym til at tøjet bliver rent, men så heller ikke mere.

- i. Tryk "Luk"

Ekstra: Find den optimale lipasekoncentration. Gentag med andre lipasekoncentrationer, indtil den laveste koncentration findes, som stadigvæk gør skjorten helt ren. Dette er den optimale koncentration.

- e. Tilsæt lipase til vaskemaskinen
 - i. Tryk på vaskemaskinens sæbeskuffe
 - ii. Træk et reagensglas med lipase til vaskemaskinens sæbeskuffe
 - iii. Vælg en ny koncentration fra listen ► Nedskriv koncentration (f.eks.: 10 mg/L)
 - iv. Gentag trin e. indtil den optimale koncentration findes.

Svar: 100 mg/L



Produktion af antistoffer

Producér antistoffer mod Ebola-virus ved hjælp af en mus. Overfør Ebola til en mus, for at få dens immunforsvar til at producere B-lymfocytter, der bliver til plasmaceller, som danner antistof mod Ebola. Brug ELISA til at finde antistof-producerende plasmaceller og sekventér deres DNA. Genmodificer mæmmale celler med DNA'et, så de producere antistoffet. Oprens antistoffet og afprøv det på en mus med Ebola.

Et par gode råd: denne øvelse bruger mange materialer, så skriv noter på dine reagensglas og mikrotiterplader, så du kan kende dem fra hinanden. Smid ikke noget ud, før du er helt sikker på at du ikke skal bruge det.

1. Lav en reagens til aktiv immunisering af musen ved at blande antigen med adjuvant. Den virker ligesom en vaccine imod antigenet. Adjuvanten tilføjes for at forstærke den immunologiske reaktion.
 - a. Anskaf antigen (Ebola) og adjuvant
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet.
 - ii. Træk antigen (Ebola) ned til beholdningen.
 - iii. Træk adjuvant ned til beholdningen.
 - b. Bland antigen (Ebola) og adjuvant
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
 - ii. Træk antigen (Ebola) og adjuvant til stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på adjuvant ► Træk pipetten hen på antigen (Ebola).

Quiz: Hvad er formålet med at tilsætte en adjuvant til vaccinen?

Svar: Adjuvanten er et hjælpestof til vaccinen.

- iv. Tryk "Luk".
 - v. Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
2. Sug blandingen op med en kanyle.
 - a. Anskaf kanyle til indsprøjtning og sug blandingen op
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
 - iii. Træk kanylen hen på blandingen af antigen (Ebola) og adjuvant.
3. Immuniser en rask forsøgsmus. Musen bliver på den måde immun over for antigenet.
 - a. Bestil rask mus:
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på døren ► Tryk "Computer"
 - ii. Tryk "Bestil mus" ► Tryk "Rask mus" ► Tryk "Bestil"
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
 - b. Immuniser musen med antigen (Ebola)
 - i. Tryk på museburet ► Træk musen ind i løbehjulet
 - ii. Træk kanylen hen på musen

Quiz: Hvad betyder det, at musen er immuniseret?

Svar: At antigenet har fremkaldt en immunreaktion.

- iii. Tryk "Luk"



4. Herefter dræbes musen ved at give den en dødelig indsprøjtning.

- a. Anskaf dødelig reagens
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalienes kabinett ► Træk dødelig reagens ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
- b. Afliv musen med dødelig reagens
 - i. Tryk på museburet.
 - ii. Træk kanylen med dødelig reagens hen på musen ► Tryk "Luk".

5. Vha. en skalpel skæres musens milt ud.

- a. Anskaf skalpel
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk skalpellen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
- b. Udtag musens milt
 - i. Tryk på museburet ► Træk skalpellen hen på musen.

Quiz: Hvorfor tages milten ud af musen?

Svar: I milten findes mange B-celler som producerer antistof.

- i. Tryk "Luk".

6. Homogenisér musens milt i blenderen på det bagerste arbejdsbord.

Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på arbejdsbord 2 ► Træk milten hen på blenderen ► Tryk "Luk".

7. Bland følgende i et reagensglas: homogeniseret milt, myeloma-celler og hybridoma medium.

- a. Anskaf myeloma-celler og hybridoma medium
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Træk myeloma ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på kemikalienes kabinett ► Træk hybridoma medium ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
- b. Bland cellekulturen
 - i. Tryk på arbejdsbord 1.
 - ii. Tryk på Bunsenbrænderen.
 - iii. Træk homogeniseret milt, myeloma, og hybridoma medium til stativet.
 - iv. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på hybridoma medium ► Træk pipetten hen på homogeniseret milt ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - v. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på myeloma ► Træk pipetten hen på blandingen af homogeniseret milt og hybridoma medium

Quiz: Hvad er formålet med at benytte Myeloma-celler?

Svar: Myeloma-celler er udødelige celler i modsætning til celler fra milten.

- vi. Tryk "Luk".
- vii. Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.



8. Inkubér reagensglasset i inkubatoren under forreste arbejdsbord.

Træk cellekulturen ned i beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk cellekulturen ind i inkubatorens stativ ► Tryk på inkubator tændknappen.

9. Fortynd blandingen med saltvand. Du kan følge fortynding på OD-måleren, hvor du skal bruge en lav fortynding på mellem 3,4-4,0.

a. Anskaf saltvand

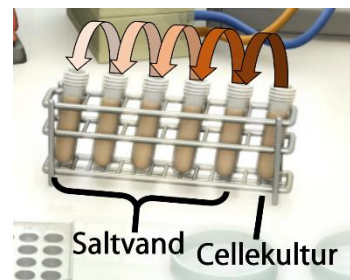
- Træk cellekulturen ned i beholdningen.
- Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Tryk på "Næste" ► Træk saltvand ned til beholdningen x 5
- Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.

b. Klargør fortyndingsrække af cellekulturen i saltvand

- Tryk på arbejdsbord 2.
- Træk cellekulturen til OD-måleren ► Notér målingen (f.eks. $OD_{\text{cellekultur}}=12.3$).
- Træk cellekulturen til stativet.
- Træk saltvand til OD-måleren ► Notér målingen (f.eks. $OD_{\text{saltvand}}=0.0$).
- Træk alt saltvand til stativet (inklusive den fra OD-måleren).

c. Foretag fortyndingen

- Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på cellekulturen ► Træk pipetten hen på saltvand ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
- Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på den nye fortynding ► Træk pipetten hen på saltvand ► Træk pipetten ned på toksisk affald
- Gentag ii. indtil 5 fortyndinger er lavet.
- Træk pipetten ned på pipettepladsen
- Træk sidste fortynding til OD-måleren ► Notér målingen (f.eks. $OD_{\text{fortynding}(5)}=3.8$).
- Træk fortyndingen ned til beholdningen.



10. Fordel blandingen på en tom mikrotiterplade. Pga. den kraftige fortynding vil der i gennemsnit kun komme én celle i hver brønd.

a. Anskaf mikrotiterplade

- Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk en mikrotiterplade (ikke ELISA) ned til beholdningen.
- Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.

b. Fordel blandingen i mikrotiterpladen

- Træk mikrotiterpladen hen på bordpladsen, hvor der er omrids af disse.
- Træk fortyndingen til stativet.
- Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på fortyndingen ► Træk pipetten hen på mikrotiterpladen ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

11. Inkubér mikrotiterpladen. Dette gøres i inkubatoren ved 37°C.

Træk mikrotiterpladen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk mikrotiterpladen ind i inkubatoren ► Tryk på inkubator tændknappen.



12. Tag en Ebola ELISA-plade og tilsæt Ebola antigen til pladen i stinkskalet.

- a. Anskaf ELISA-mikrotiterplade og antigen (Ebola)
 - i. Træk mikrotiterpladen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk en ELISA-mikrotiterplade (Ebola) ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på køleskabet ► Træk antigen (Ebola) ned til beholdningen.
 - iv. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
- b. Tilsæt antigen (Ebola)
 - i. Træk den tomme ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) hen på bordpladsen, hvor der er omrids af disse.
 - ii. Træk antigen (Ebola) til stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antigen (Ebola) ► Træk pipetten hen på ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

13. Inkubér Ebola ELISA-pladen. Dette gøres i inkubatoren ved 37°C.

Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ind i inkubatoren ► Tryk på inkubator tændknappen.

14. Vask Ebola ELISA-pladen i stinkskalet med buffer.

- a. Anskaf buffer
 - i. Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalskabet ► Træk buffer ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
- b. Vask ELISA-mikrotiterpladen (Ebola)
 - i. Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) hen på bordpladsen, hvor der er et omrids.
 - ii. Træk buffer hen på ELISA-mikrotiterpladen (Ebola).

15. Udtag prøver fra mikrotiterpladen med cellekultur (trin 11) og overfør til Ebola ELISA-pladen. I Det Virtuelle Laboratorium behøver du dog kun at gøre det en gang og i virkeligheden tages der kun den øverste halvdel af væsken, da cellerne lægger sig på bunden.

Træk mikrotiterpladen (cellekultur) hen på bordpladsen, hvor der er omrids af disse ► Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på mikrotiterpladen (med cellekultur) ► Træk pipetten hen på ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

16. Inkubér Ebola ELISA-pladen i inkubatoren ved stuetemperatur (21°C).

Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk mikrotiterpladen ind i inkubatoren ► Skift temperatur til 21°C ved at trykke – og + ► Tryk på inkubator tændknappen.

17. Vask Ebola ELISA-pladen med buffer.

- a. Anskaf buffer
 - i. Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalskabet ► Træk buffer ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.



- b. Vask ELISA-mikrotiterpladen (Ebola)
 - i. Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) hen på bordpladsen, hvor der er et omrids.
 - ii. Træk buffer hen på ELISA-mikrotiterpladen (Ebola).

Quiz: ELISA er en meget brugt metode i laboratoriet, men hvad er metodens formål?

Svar: ELISA er en metode til at identificere, om et ønsket antistof findes i en opløsning.

- i. Tryk "Luk".

18. Tilsæt fluorescerende sekundært antistof til alle brøndene på Ebola ELISA-pladen.

- a. Anskaf fluorescerende sekundært antistof
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Træk fluorescerende sekundært antistof ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
- b. Tilsæt til ELISA-mikrotiterpladen (Ebola)
 - i. Træk fluorescerende sekundært antistof til stativet.
 - ii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på fluorescerende sekundært antistof ► Træk pipetten hen på ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

19. Vask Ebola ELISA-pladen med buffer igen.

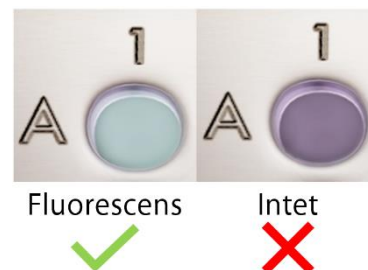
- a. Anskaf buffer
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalskabet ► Træk buffer ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
- b. Vask ELISA-mikrotiterpladen (Ebola)
 - i. Træk buffer hen på ELISA-mikrotiterpladen (Ebola).

20. Tag Ebola ELISA-pladen med ind i UV-rummet og se nærmere på den. Notér hvilke brønde der fluorescerer. Dem der lyser op har haft en væske med et antistof der kan binde til antigenet i brønden. Det er de antistof-producerende celler fra de brønde vi er interesserede i. Herefter skal du se nærmere på den oprindelige mikrotiterplade og opsamle indholdet fra en brønd, der svarer til en fluorescerende brønd på ELISA-pladen (dette gøres ved at trykke på den pågældende brønd).

- a. Tag ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) med til UV-rummet
 - i. Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) ned i beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.
 - iii. Tryk på døren ► Tryk "UV rum"

- b. Analyser ELISA-mikrotiterpladen (Ebola).
 - i. Træk ELISA-mikrotiterpladen (Ebola) hen på bordpladsen, hvor der er et omrids.
 - ii. Tryk på ELISA-mikrotiterpladen (Ebola).
 - iii. Notér et brøndnummer, som har fluorescens (f.eks. B3).

- c. Opsaml tilsvarende prøve i mikrotiterpladen (cellekultur)
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på stinkskalet.
 - ii. Tryk på mikrotiterpladen (cellekultur)
 - iii. Tryk på det noterede brøndnummer, som har fluorescens (f.eks. B3).
 - iv. Tryk "Ok"



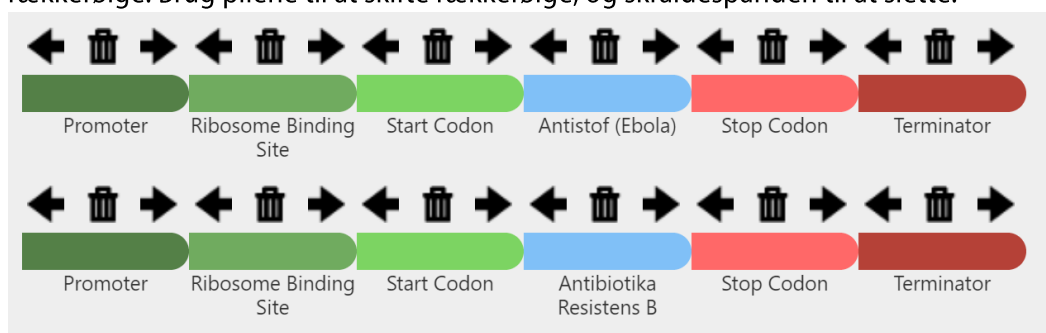


21. Send indholdet fra brønden til sekventering ved at åbne computeren og vælge "Send til sekventering". Hermed burde du få et nyt DNA-element i DNA-designeren på computeren.

- a. Gå til computeren og sekventér
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på døren ► Tryk "Computer"
 - ii. Tryk "Send til sekventering" ► Træk den opsamlede prøve hen på skærmen.
 - iii. Tryk "Luk"

22. Design et stykke DNA på computeren, som koder for musens antistof, og som desuden koder for resistens af antibiotikum B. Husk det centrale dogme, når du designer genet, dvs. husk: ribosome binding site, promoter, start og slut codon, og terminator.

- a. Design DNA for lipase og antibiotikum B
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk "Design DNA"
 - ii. Træk genelementerne fra kolonnen til den højre skærm, i nedenstående rækkefølge. Brug pilene til at skifte rækkefølge, og skraldespanden til at slette.



- iii. Tryk "Bestil" ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.

23. Bland det bestilte DNA med mammale celler i et reagensglas. Tilsæt blanding til elektroporatoren. På den måde hjælper du det genmodificerede DNA med at trænge ind i de mammale celler, der så kan begynde at producere antistof. Processen kaldes transfektion.

- a. Anskaf mammale celler
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Træk mammale celler ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.
- b. Bland DNA og mammale celler
 - i. Træk DNA (gen) og mammale celler til stativet
 - ii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på DNA (gen) ► Træk pipetten hen på mammale celler ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iii. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på blandingen af DNA (gen) og mammale celler ► Træk pipetten hen på den lyseblå del af elektroporatoren ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
 - iv. Tryk på elektroporator tændknappen.

24. Tilsæt de genmodificerede celler til et reagensglas med vækstmedium og tilføj antibiotikum B.

- a. Anskaf vækstmedium og antibiotikum B
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på kemikalskabet ► Træk vækstmedium i reagensglas ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på køleskabet ► Træk antibiotikum B ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.



- b. Overfør genmodificerede celler til vækstmedium og antibiotikum B
 - i. Ved pladsmangel: fjern gamle reagenser fra stativet ved at trække dem til toksisk affald (f.eks. myeloma og hybridoma medium).
 - ii. Træk vækstmedium og antibiotikum B til stativet.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antibiotikum B ► Træk pipetten hen på vækstmediet ► Træk pipetten ned på toksisk affald.
 - iv. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på den lyseblå del af elektroporatoren ► Træk pipetten hen på blandingen af vækstmedium og antibiotikum B ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

25. Inkubér blandingen.

Træk vækstmediet med de mammae celler (cellekulturen) ned i beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på inkubatoren ► Træk cellekulturen ind i inkubatorens stativ ► Tryk på inkubator tændknappen.

26. Bland indholdet af reagensglasset og antibiotikum B i et reagensglas og anvend en kanyle til at overføre indholdet fra reagensglasset til fermentoren.

- a. Tag cellekulturen
 - i. Træk cellekulturen ned til beholdningen ► Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
- b. Anskaf kanyle og antibiotikum B
 - i. Tryk på forsyningsskabe ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på køleskabet ► Træk antibiotikum B ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på arbejdsbord 1.
- c. Overfør antibiotikum B til cellekulturen
 - i. Træk cellekulturen og antibiotikum B til stativet.
 - ii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på antibiotikum B ► Træk pipetten hen på cellekulturen ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
- d. Overfør cellekulturen til kanylen og så fermentoren
 - i. Træk kanylen hen på cellekulturen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på fermentoren.
 - iii. Træk kanylen hen på fermentoren.

27. Start en fermentering. Husk at indstille pH og temperatur, så væksten bliver optimal – prøv ved forskellige indstillinger og undersøg, hvad der er optimalt (husk at tilføje nye celler til fermentoren hver gang). Tænk på at det er mammae celler.

Tryk på computerskærmen ► Tryk "Start" ► Tryk "Ok" ► Vent.

28. Oprens antistoffet fra fermenteringen.

Tryk "Ok"

29. Bestil en syg mus med Ebola på computeren og test dit antistof ved at indsprøjte det i musen.

- a. Bestil en mus med Ebola
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på døren ► Tryk "Computer".
 - ii. Tryk "Bestil mus" ► Tryk "Mus med Ebola" ► Tryk "Bestil".
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.



- b. Anskaf kanyler til indsprøjtning
 - i. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk kanylen ned til beholdningen.
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange.
- c. Overfør insulin til kanylen
 - iii. Tryk på arbejdsbord 1 ► Træk antistof (Ebola) til stativet ► Træk kanylen hen på antistof (Ebola).
 - iv. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.
- d. Giv den Ebola-ramte mus en indsprøjtning af antistof (Ebola)
 - i. Tryk på museburet ► Træk den døde mus ud af løbehjulet og ned i toksisk affald.
 - ii. Træk musen med Ebola ind i løbehjulet.
 - iii. Træk kanylen hen på musen ► Vent.
 - iv. Tryk "Luk" ► Tryk "Luk".



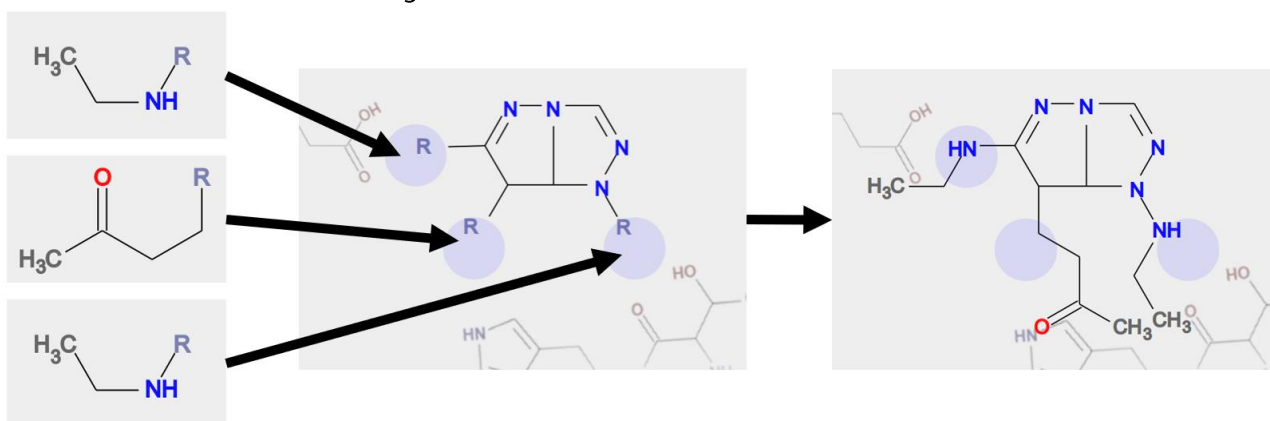
Lægemiddeludvikling

Et enzym som spiller en afgørende rolle i psoriasis er blevet fundet og dets aktive site lokaliseret. Din opgave er at designe et lægemiddel som kan inhibere dette enzym og på den måde bekæmpe sygdommen.

Note: I denne øvelse er der flere løsninger, og det er meningen at man må eksperimentere sig frem til et rigtigt design af lægemidlet. Design lægemidlerne på computeren og test dem via eksperimenterne, og gentag indtil et optimalt lægemiddel er fundet. Viden til design af lægemidlet kan evt. fås fra undervisningsmaterialet "[Lægemiddeludvikling](#)". Nedenfor er givet et forslag til én mulig løsning.

1. Design og bestil et lægemiddel ved at gå hen til computeren og ind i programmet "Design lægemiddel" Husk at tænke over sidegruppernes længde og ladning!
 - a. Gå til computeren.
 - i. Tryk på døren ► Tryk "Computer" ► Tryk "Design lægemiddel"
 - b. Design lægemidlet
 - i. Træk funktionelle grupper fra listen til venstre til de frie radikaler (R) (åbne positioner) i strukturen til højre på skærmen.
 - ii. Tryk "Bestil"

Se funktionelt design nedenfor.



2. Tag noget af dit designede kemikalie og bland det i et nyt reagensglas sammen med CYP-enzym.
 - a. Anskaf CYP-enzym
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange
 - ii. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Træk CYP-enzym ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
 - b. Tilføj lægemidlet til CYP-enzym
 - i. Træk lægemidlet og CYP-enzym til stativet
 - ii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på lægemidlet ► Træk pipetten hen på CYP-enzym ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.
3. Tag nu og flyt dit reagensglas med kemikalie og CYP-enzym hen til varmeblokken og tænd. Dette er for at teste om enzymet nedbryder dit lægemiddel.
 - a. Gå til varmeblokken
 - i. Træk blandingen af CYP-enzym og lægemidlet til beholdningen
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på arbejdsbord 1.
 - b. Sæt blandingen i varmeblokken



- i. Tryk på Bunsenbrænderen.
- ii. Træk blandingen af CYP-enzym og lægemidlet til varmeblokken
- iii. Tryk på varmeblok tændknappen

Quiz: CYP-enzym kan give en indikation af om lægemidlet vil blive udsat for hel eller delvis nedbrydning i leveren. Er det godt eller skidt hvis dit lægemiddel bliver ændret i leveren?

Svar: Det afhænger af ens lægemiddel.

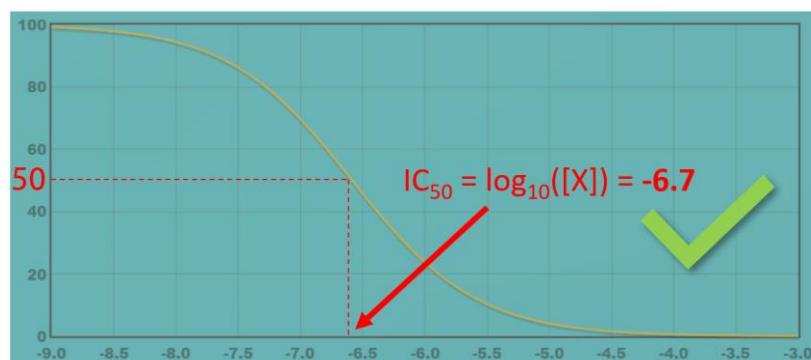
- iv. Tryk "Luk"

4. Tilføj nu target receptor og dit lægemiddel, uden CYP-enzym til en tom mikrotiterplade.

- a. Anskaf target receptor og en tom mikrotiterplade
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne
 - ii. Tryk på forsyningsskabene ► Tryk på køleskabet ► Træk target receptor ned til beholdningen.
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på redskabsskuffen ► Træk en mikrotiterplade (ikke ELISA) ned til beholdningen.
 - iv. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på stinkskalet.
- b. Tilføj target receptor og lægemidlet til mikrotiterpladen
 - i. Træk target receptor til stativet
 - ii. Træk mikrotiterpladen hen på bordpladsen, hvor der er omrids af disse.
 - iii. Tryk på pipetten ► Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på target receptor ► Træk pipetten hen på mikrotiterpladen ► Træk pipetten ned på toksisk affald
 - iv. Træk pipetten ned på en ny pipettespids ► Træk pipetten hen på lægemidlet ► Træk pipetten hen på mikrotiterpladen ► Træk pipetten ned på toksisk affald ► Træk pipetten ned på pipettepladsen.

5. Undersøg dit lægemiddel ved at tage mikrotiterpladen og sæt den i spektrofotometeret. For at være sikker på at dit lægemiddel kan binde til sit target, skal det højst have en IC_{50} -værdi på $\log_{10}([X]) = -6$. IC_{50} -værdien kan aflæses på spektrofotometeret som x-værdien dér hvor grafen har en y-værdi på 50.

- a. Gå til spektrofotometeret
 - i. Træk mikrotiterpladen til beholdningen
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne ► Tryk på spektrofotometeret.
- b. Analyser lægemidlets binding til target receptor
 - i. Træk mikrotiterpladen til spektrofotometeret
 - ii. Tryk på skærmen





Mulighed: Databehandling i Excel

a. Åben Excel

b. Eksporter data: Tryk på i Laboratoriet ► Marker og kopier data ► Indsæt i Excel

c. Inddel data i 2 kolonner: Marker kolonnen med data i Excel ► Tryk "Data" ► Tryk "Tekst til kolonner" ► Vælg "Afgrænset" ► Tryk "Næste" ► Vælg "Semikolon" ► Tryk "Næste" ► Tryk "Udfør"

d. Komma vs. Punktum: filen bruger punktum som decimalseparator. Hvis dit Excel er indstillet til at bruge komma, skal du blot trykke på "Søg og Erstat" og søge efter "." og erstatte alle med ",".

Nu kan du undersøge affiniteten til receptoren (bindingen af lægemidlet), som funktion af koncentrationen af lægemidlet.

6. Når dit lægemiddel har en høj affinitet, er det på tide at teste det på en psoriasis-syg mus ved at trække reagensglasset hen over musen og derefter vælge administrationsform. Hvis det ikke virker selvom det har høj affinitet så prøv at eksperimentér med dets opløselighed (LogD-værdien som kan ses i "Lægemiddel designeren" på computeren).
- a. Bestil en mus med psoriasis
 - i. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne 2 gange ► Tryk på døren ► Tryk "Computer".
 - ii. Tryk "Bestil mus" ► Tryk "Mus med psoriasis" ► Tryk "Bestil".
 - iii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.
 - b. Hent lægemidlet
 - i. Tryk på stinkskalet ► Træk lægemidlet til beholdningen
 - ii. Tryk på pilen oppe i venstre hjørne.
 - c. Giv den psoriasis-ramte mus lægemidlet
 - i. Tryk på museburet ► Træk musen ind i løbehjulet.
 - ii. Træk lægemidlet hen på musen ► Vælg administrationsform: "Indsprøjtning i kroppen" / "Creme" / "Pille" ► Tryk "Ok"
 - iii. Tryk "Luk" ► Tryk "Luk"

Mulighed: Eksperimentér med andre strukturer af lægemidlet og se hvilke ændringer det resulterer i.
Gentag de enkelte trin ovenfor for nye lægemidler og se forandringen.