

Øvelsesvejledning

Del 3: Insulinproduktion

Materialer:

- Eppendorfrør med 0,2 ml plasmidopløsning
 - Indeholder to gener: insulinanalog og antibiotika B-resistensgen
- Eppendorfrør med 0,5 ml gærceller (*Saccharomyces cerevisiae*)
 - Renkultur, vokser bedst ved 32–39 °C, pH-optimum ca. 6
- Agarplade med antibiotika B
- Reagensglas med 2 ml vækstmedie (LB) + antibiotika B
- Drigalskispatel

Metode:

1. Tilsæt 100 µl plasmidopløsning til gærceleopløsningen. **Husk sterilt arbejde!**
2. Ryst forsigtigt blandingen – **vortex er for kraftigt.**
3. Overfør blandingen til elektroporatoren og tænd for apparatet.
4. Udplad de genmodificerede gærceller:
5. Overfør 100 µl på en agarplade med antibiotika B.
6. Brug drigalskispatel til at fordele prøven jævnt.
7. Inkuber pladen natten over ved 37 °C.
8. Overfør en enkelt koloni til et reagensglas med vækstmedie og antibiotika B, og inkuber natten over ved 37 °C.
9. Overfør hele kulturen med steril kanyler til en fermentor.
10. Start fermentoren med de valgte temperatur- og pH-indstillinger.
11. Efter fermentering kan insulinen oprenses.
12. Effekten kan testes ved injektion i rask eller diabetisk mus.