

Dengue virus stock concentration protocol

2020/3/23 권정원

1. Vero cell 에서 걷은 dengue virus sup을 모은다. (필요에 따라 양 조절), 이 때는 mouse adapted virus 100 파이 디쉬 2개에 습을 모아 20ml과 human dengue virus stock 20ml를 모아 총 40ml 이었음.
2. 0.45 μ m pore size 로 filtering.
3. 40% PEG 8000 (sigma, 1546605) 를 6% 로 희석하여 넣고 30번 inverting 해서 잘 섞어준 다음 4°C overnight.
4. Ultracentrifuge tube (Beckman coulter, 34406)에 virus sup을 각 9-10ml 양을 넣고 소수점 둘째자리까지 정확하게 저울로 맞춤. (총 tube는 6개)
5. Ultracentrifuge, 24000g, 3h, 4°C. (구글 캘린더에 예약 필수)
6. Sup suction (그냥 버리면 안됨), 10% FBS 500 μ l로 suspend 해서 1.5ml tube 에 옮겨 담음.
7. Shake or rotate 4°C overnight. (기계는 329에서 빌림)
8. 다음날 3000g, 10 min, 4°C centrifuge 한 후 sup을 걷어 새로운 tube에 옮기고 다시 3000g, 10 min, 4°C centrifuge.
9. Sup을 걷어 aliquot 하고 -80°C 보관.
10. Virus 정량