

## DENV culture process

2020-2-6 JW 수정본

### Materials

- Vero cells
- Dengue virus stock
- 100  $\pi$  culture dish
- 2% FBS DMEM
- Cryotube

### Methods

1. Vero cell을 전날 100 $\pi$  culture dish에  $3 \times 10^6$  로 seeding 한다. (80% confluency)
2. Virus stock 을 녹이고 500ul + 2% FBS DMEM 500ul 에 dilution 한다.
3. Vero cell 배지를 버리고 1ml virus stock 넣고 1시간 37°C incubation 한다. (15분 마다 골고루 배지가 세포에 닿게 흔들어준다.)
4. 1시간 후 2% FBS DMEM 9ml을 더해준다.
5. 37도 incubator 에서 incubation. (눈으로 세포 관찰하며 3-6일 배양)
6. 세포가 50% 이상 떨어졌을 때 배양액을 걷는다. (1300rpm, 5분, cell down)
7. 배양액을 vortexing 하며 1ml씩 cryotube 에 옮겨 담고 deepfreezer 보관.