

17. Liofilização

1. Inicialmente, inocular o vírus de interesse em cultivo celular de 24 horas em garrafas T-25;
2. Acompanhar o inóculo até que haja 95% de efeito citopático. Quando atingir esse percentual, congelar a garrafa a -80°C por uma hora;
3. Após esse período, descongelar a garrafa em água corrente e centrifugar o conteúdo (sob refrigeração) em 3500 rpm por 8 minutos;
4. Preparar etiquetas com os seguintes dados: Vírus, passagem, data de liofilização, responsável pela liofilização;
5. Coletar 900µL do sobrenadante e adicionar em tubos de liofilização;
6. Adicionar 100µL de soro fetal bovino (10% do volume total);
7. Congelar até liofilizar ou submeter imediatamente à liofilização;
8. No momento da liofilização manter a tampa semi-aberta;
9. Após liofilização (que dura, aproximadamente, 12 horas), armazenar os tubos no freezer a -20°C.