

15. Inativação viral com BEI (Etilenamina Binária)

1. Amplificar o vírus de interesse, congelar e recuperar o sobrenadante (centrifugar para remover as células);
2. Acondicionar a suspensão viral em frasco com tampa (o frasco deve ter capacidade de pelo menos duas vezes mais do que a do volume de vírus que será inativado)
3. Adicionar 1% de BEI a suspensão viral (por exemplo: 1 mL de BEI para 100 mL de vírus)
4. Levar o frasco para o *shaker*, deixar em agitação por 24 – 48 h
5. Adicionar 1% de Tiosulfato de Sódio (para inativação da BEI)
6. Levar novamente para o *shaker*, deixar em agitação por 1 h. Nesse momento o vírus deverá estar inativado

OBS.: Sempre deverá ser comprovada a inativação viral. Para isso, deverá ser realizada a inoculação da suspensão viral em cultivo celular, realizando pelo menos três passagens.

Reagentes e Soluções:

1. BEI 1mM:

0,24g de BEA

0,07g de NaOH

10 mL mili-Q

Deixar 1 h à 37°C, após, filtrar (45 µm) e acondicionar em tubo estéril (armazenar no refrigerador 2 – 8°C)

2. Tiosulfato de Sódio 1M:

1,58g de Tiosulfato de Sódio

10 mL de água milli-Q (filtrar [45 µm] e acondicionar em tubo estéril e armazenar no refrigerador 2 – 8°C)