



Nov 04, 2020

# Rotina de Manutenção e Infecção de Células C6/36\_v2

Fabio Gomes<sup>1</sup><sup>1</sup>UFRJ*In Development*

This protocol is published without a DOI.

Plasmovet



Fabio Gomes

## ABSTRACT

Protocolo de Manutenção de Infecção (DENV e ZIKV) de Células C6/36 - PLO

## ATTACHMENTS

[Protocolo DENV.pdf](#)

## PROTOCOL CITATION

Fabio Gomes 2020. Rotina de Manutenção e Infecção de Células C6/36\_v2. **protocols.io**  
<https://protocols.io/view/rotina-de-manuten-o-e-infec-o-de-c-lulas-c6-36-v2-bm2mk8c6>



## LICENSE

This is an open access protocol distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

## CREATED

Oct 05, 2020

## LAST MODIFIED

Nov 04, 2020

## PROTOCOL INTEGER ID

42797

## ATTACHMENTS

[Protocolo DENV.pdf](#)

## MATERIALS TEXT

### MATERIALS

[Penicillin-Streptomycin Gibco - Thermo](#)

Fisher Catalog #15140122

[Fetal Bovine Serum, qualified, Brazil Thermo](#)

Fisher Catalog #12657029

[Trypsin-EDTA \(0.5%\), no phenol red Thermo](#)

Fisher Catalog #15400054

[Leibovitz's L-15 Medium, powder Thermo](#)

Fisher Catalog #41300039

[Tryptose Phosphate Broth Sigma](#)

Aldrich Catalog #T9157

## ABSTRACT

### Trypsinização Cultura 4m

- 1 Pre-aquecer o meio e PBS 1x
- 2 De uma garrafa (25cm<sup>2</sup>) com 90% de confluência, remover o meio e lavar com 5 mL PBS (2)
- 3 Acrescentar 1 mL tripsina 🕒 00:00:00 3m
- 4 Deixar agir por 1 min e acompanhe em microscópio 🕒 00:01:00 1m
- 5 Paralisar a reação adicionando 7 mL meio

### Preparo de Garrafas para Infecção

- 6 Contar células e passar em diluição 1:10 para garrafas de 225cm<sup>2</sup>
- 7 Deixar crescer até 50-70% de confluência (48-72h)
- 8 Remover meio de cultura e lavar com 10 mL PBS
- 9 Adicionar 10mL 0.25% Trypsina
- 10 Contar células e calcular para infecção com MOI-0.1

### Infecção

- 11 Adicionar o inóculo do vírus em meio L15 (sem soro), completando volume em 10 mL
- 12 Manter a 28°C por 1 hora, 🕒 01:00:00

12.1 A cada 15 min, mexa a garrafa de cultura para banhar a camada de células 🕒 00:15:00

13 Descartar o meio com vírus e acrescentar 15mL meio (**2% FBS**, PenStrep, L15)

14 Manter a cultura na estufa a 28oC por até 9 dias. **Não mover as garrafas!** 🕒 168:00:00

#### Processamento Vírus

15 Recolher o meio e ajustar o pH usando 7,5% bicarbonato de sódio

16 Adicionar FBS até a concentração final 20%

17 Centrifuga 300g por 10 min

18 Filtrar com membrana de 0.22 µm

19 Aliquotar (500 µl) e manter em -80oC