

ADV

Anticuerpo Monoclonal específico de gE de ADV

gE ADV specific Monoclonal Antibody

INTRODUCCIÓN / INTRODUCTION

La enfermedad de Aujeszky está causada por el Herpesvirus porcino tipo 1 (Herpesvirus suis) perteneciente al género Varicelovirus, subfamilia Alphaherpesvirinae, familia Herpesviridae. Es un virus con envuelta de 150 nm de diámetro, de cápsida icosaédrica de 100nm de diámetro y compuesta de 162 capsómeros. El genoma es DNA lineal de doble cadena de 125-235Kpb. Las principales glicoproteínas de la envuelta son: gE, gB, gN, gM, gC, gI, gD and gG.

El virus es altamente contagioso y afecta al sistema nervioso central y otros órganos tales como tracto respiratorio de casi todos los mamíferos excepto humanos. La enfermedad de Aujeszky es principalmente una enfermedad de cerdos los cuales actúan como reservorio natural del virus que luego infectará a huéspedes secundarios como vacas, ovejas, cabras, perros, gatos y otros felinos. El virus se transmite por contacto directo entre animales siendo la fuente de infección la saliva y las descargas nasales. Otras vías de infección son agua, comida, ropa, calzado y vehículos.

Aujeszky's disease (AD) is caused by porcine Herpesvirus type 1 (Herpesvirus suis), a member of the Herpesviridae family, subfamily Alphaherpesvirinae, genera Varicelovirus. Herpesvirus The virus has a 150 nm in diameter envelope, and contains an icosahedral nucleocapsid of about 100 nm in diameter, which is composed of 162 capsomers. The genome is linear dsDNA of, 125-235 kbp in size. The main glycoproteins included in the envelope are: gE, gB, gN, gM, gC, gI, gD and gG.

The virus is highly contagious and infects the central nervous system and other organs, such as the respiratory tract, in virtually all mammals except for humans and the tailless apes. Aujeszky's disease is primarily a disease of swine, which serves as a reservoir and are the principal source of natural infections for a diverse range of secondary hosts, including cattle, sheep, goats, dogs, cats, and many feral species. Humans are refractory. The virus is transmitted by direct contact between animals, with saliva and nasal discharges being the source. Other ways of transmission are water, feed, buckets, clothing, boots and vehicles.

DESCRIPCIÓN / DESCRIPTION

El Hibridoma productor del anticuerpo monoclonal ha sido obtenido a partir de linfocitos de bazo de ratón Balb/c fusionados con células del mieloma X63/Ag8653. Purificado por HPLC mediante una columna de intercambio iónico, presenta una pureza del 99%, su isotipo es IgG y es específico de la proteína gE de ADV.

The hybridome which produces the monoclonal antibody has been obtained by the fusion of lymphocytes from Balb/c mice's spleen with myeloma X63/Ag8653 cells. The IgG has been purified by HPLC, showing a purity of 99%, its isotype is IgG and it is specific to gE protein of ADV.

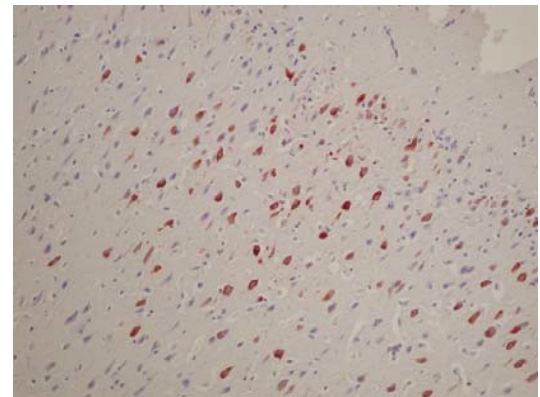
APLICACIONES / APPLICATIONS

Detección ADV mediante la técnica de Inmunohistoquímica (IHQ).

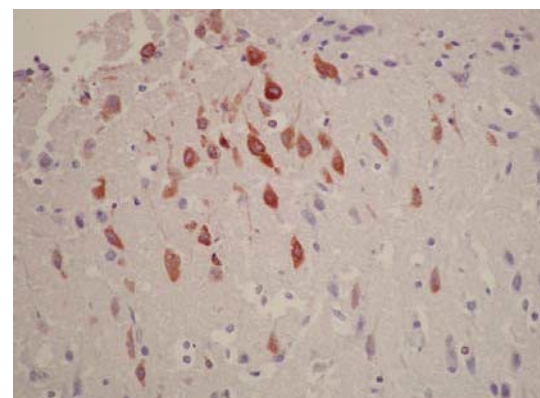
Detection of ADV by Immunohistochemistry (IHC) technique.

RESULTADOS / RESULTS

IHQ / IHC



Tinción IHQ 20X / IHC stain 20X.¹



Tinción IHQ 20X / IHC stain 40X.¹



DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO IHQ / IHC PROCEDURE²

Muestras de SNC procedentes de una inoculación experimental, fijadas en formol e incluidas en parafina.

- Un pase de 10 minutos y 2 pases de 5 minutos en xilol; Un pase de 5 minutos en alcohol 100°; Tratamiento de inhibición de la peroxidasa endógena con una solución de peróxido de hidrógeno (Panreac) al 3% en metanol (Panreac) durante 30 minutos en agitación suave; Un pase de 5 minutos en alcohol 100°; Un pase de 5 minutos en alcohol 96°; Un pase de 5 minutos en alcohol 70°; 2 lavados de 5 minutos en agua destilada; 2 lavados de 5 minutos en PBS en agitación suave.
- Incubación en cámara húmeda a temperatura ambiente con suero normal de conejo (Vector) al 10% en PBS durante 30 minutos.
- Incubación con anticuerpo monoclonal diluido en suero normal de conejo al 1% en PBS, en cámara húmeda durante 18 horas a 4°C (ver condiciones de uso recomendadas para dilución. Atención, el sobrenadante se suministra listo para usar)
- Retirar la cámara húmeda de la nevera 1 hora antes de continuar la técnica para atemperar las muestras.
- 3 lavados de 5 minutos en PBS en agitación suave.
- Incubación con el anticuerpo secundario biotinado rabbit-antimouse (Dako) a una dilución 1/:20 en suero normal de conejo al 1% en PBS, en cámara húmeda durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- 3 lavados de 5 minutos en PBS en agitación suave.
- Tinción con Acetil Carbazol

CNS samples from an experimental inoculation are fixed in 10% saline formalin for 20-24 hours and processed to be included in paraffin (3µm).

- One pass of 10 min and two of five min. in Xilol; One pass of five min in ethanol 100%; Further treatment to inhibit the endogen peroxidase with a solution of Hydrogen peroxide at 3% in Methanol for 30 min. and soft shaking;- One pass of five min. in ethanol 100%; One pass of five min. in ethanol 96%; One pass of five min. in ethanol 70%; Two washing steps of five min. in distilled water; Two washing steps of five min. in PBS with soft shaking
- Incubation for 30 min. at room temperature in wet camera with rabbit serum 10% diluted in PBS
- Incubation in wet chamber for 18 hours at 4°C with AcM diluted in PBS diluted at 1% in rabbit serum (See recommended use conditions for dilution.. Note that the supernatant is supplied ready to use)
- Incubate 1 hour at room temperature
- 3 washing steps of 5 min in PBS with soft shaking
- Incubation in wet chamber for 30min. at room temperature with a second biotiniled rabbit antimouse antibody diluted at 1/20 in PBS diluted at 1% in rabbit serum
- 3 washing steps of five min. in PBS with soft shaking
- Stain with Acetyl Carbazol

CARACTERÍSTICAS / CHARACTERISTICS

AcM / MAbs	Isotipo / Isotype	Especificidad / Specificity
2CF2	IgG ₁	gE

PRESENTACIÓN / FORMAT

Disponible en dos presentaciones / Two formats available:

PRESENTACION / FORMAT	CANTIDAD / QUANTITY	CONCENTRACIÓN / CONCENTRATION (aproximada / approximated)	REFERENCIA / REFERENCE
Sobrenadante / Supernatant	5 ml	10-20 µg / ml	M.11.ADV.B2CF2
Purificada / Purified	1 ml	1mg / ml	M.11.ADV.I2CF2

CONSERVACIÓN / STORAGE

-20°C

REFERENCIAS / REFERENCES

¹ Fotos cedidas por / Photos taken by: Dra. Marisa Ana Andrada, Oscar Quesada, Dr. Antonio Jesús Fernández Rodríguez (Prof. Catedrático)

² Protocolo y técnica / Instructions and technique: Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Instituto Universitario Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria-Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Spain.

PRODUCTO DESARROLLADO POR INGENASA / PRODUCT DEVELOPED BY INGENASA

Inmunología y Genética Aplicada, SA
C/ Hermanos García Noblejas 39
28037. MADRID



Tel.: +34- 91 3680501
Fax: +34- 91 4087598
www.ingenasa.com