

PRRSV

## Anticuerpo Monoclonal específico de gp5 de PRRSV EU gp5 EU PRRSV specific Monoclonal Antibody

### INTRODUCCIÓN / INTRODUCTION

El Síndrome Respiratorio y Reproductor Porcino (PRRS) es una enfermedad producida por un *arterivirus* ampliamente extendida en cerdos de todo el mundo. Existen dos genotipos claramente diferenciados de este virus: americano y europeo. El virus del PRRS (PRRSV) es un virus ARN de cadena sencilla con polaridad positiva de aproximadamente 15 Kb. Su genoma tiene ocho fases de lectura abierta (ORF) que codifican para siete proteínas del virus. Las ORFs 1<sub>a</sub> y 1<sub>b</sub> codifican para la polimerasa del virus. Las ORFs de la 2 a la 7 codifican para proteínas estructurales del virus. En el virus purificado se detectan mayoritariamente tres proteínas: E ó gp5, M y N que se corresponden con los productos de expresión de las ORF 5, 6, y 7 respectivamente. La N es la proteína mas inmunogénica del virus, pero los anticuerpos frente a esta proteína no se detectan hasta los 14 días post-infección y en ningún caso son anticuerpos neutralizantes que puedan proteger al cerdo de la infección.

*The Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) is a disease caused by an Arterivirus (PRRSV) widely spread in pigs all over the world. There are two clear different serotypes: the European and the American. The PRRSV is a single strain RNA virus with positive polarity and a size of 15kb. The genome has 8 Open Reading Frames (ORF) which codify for seven viral proteins. ORF 1<sub>a</sub> and*

*1<sub>b</sub> codify for the viral polymerase and the rest for the viral structural proteins. The virus has three main proteins: E or gp50, M and N which correspond respectively with the expression products of the ORF*

*5, 6 and 7. The N protein is the most immunogenic one but specific antibodies against it can't be detected until day 14 post infection, and are not in any case neutralizing.*

### 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 cromatografía de afinidad, presenta una pureza del 99%.

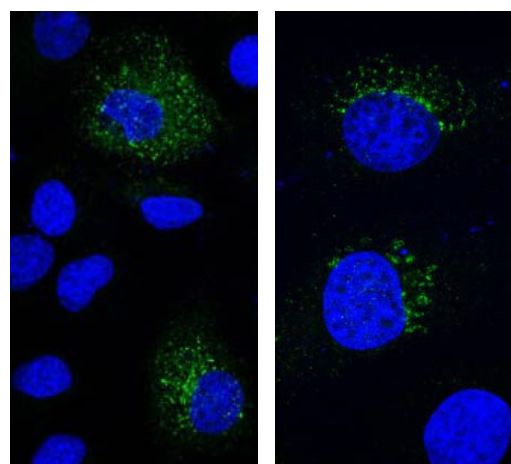
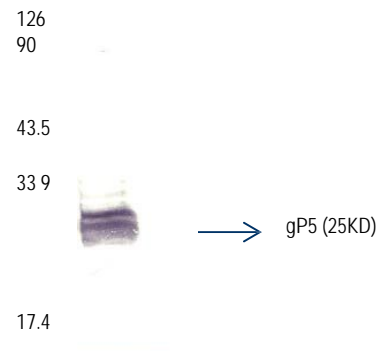
*The hybridome which produces the monoclonal antibody has been obtained by the fusion of lymphocytes from Balb/c mice's spleen with myeloma X63/Ag8653 cells. The IgG has been purified by affinity chromatography, showing a purity of 99%.*

### APLICACIONES / APPLICATIONS

Detección de gp5 de cepas europeas de PRRSV mediante las técnicas de Inmunofluorescencia (IFI), Immunoblotting (IB) e Inmunohistoquímica (IHQ).

*Detection of the gp5 of European strains of PRRSV by Immunofluorescence (IFA), immunoblotting (IB) and Immunohistochemistry (IHC).*

### RESULTADOS / RESULTS



Células MA104 infectadas con PRRSV Olot91 /  
MA104 cells infected with PRRS Olot91



## DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO IHQ / IHC PROCEDURE

1. Infección de células MA104 a m.d.i. 5 con PRRSV
  2. A las 16 h.p.i. eliminar el medio y lavar las células 2 veces con PBS 1x.
  3. Fijar las células con paraformaldehído al 4% en PBS 1x durante 30 min a T.A.
  4. Lavar 2 veces con PBS 1x e incubar al menos 15 min. con PBS 1x a T.A.
  5. Permeabilizar las células con Triton X-100 0.25% en PBS 1x durante 20 min a T.A.
  6. Lavar 2 veces con PBS 1x
  7. Bloquear incubando con suero fetal (FCS) 10% en PBS 1x 45 min. a T.A.
  8. Incubar con el Anticuerpo Monoclonal diluido en FCS 5% en PBS 1x durante 2 horas a T.A. (ver condiciones de uso recomendadas para dilución. Atención, el sobrenadante se suministra listo para usar)
  9. Lavar 5 veces en PBS 1x 5 min. a T.A.
- A partir de aquí, todo en oscuridad**
10. Incubar con el anticuerpo secundario anti Inmuglobulinas de ratón diluido en PBS 1x-FCS 5%, 30 min. a T.A.
  11. Lavar 5 veces con PBS 1x 5 min a T.A.
  12. Para detección de ácidos nucleicos, incubar con DAPI (o ToPro) diluido 1/200 en PBS 1x 20 min a T.A.
  13. Lavar 5 veces con PBS 1x 5 min. a T.A.
  14. Montar las preparaciones utilizando ProLong Left una noche a T.A.
1. MA-104 cells, seeded on cover glasses, are infected at a moi of 5 with PRRSV
  2. At 16 hpi, the medium is discarded, and cells are washed twice with PBS 1x
  3. Cells are then fixed with 4% paraformaldehyde in PBS 1x, for 30 min at RT
  4. Wash twice with PBS 1x. And incubate with PBS 1x at least for 15 min at RT.
  5. Cells are permeabilized with 0.25% Triton-X100 in PBS 1x, 20 min at RT
  6. Wash twice with PBS 1x
  7. Blocking is performed by incubation with filtered fetal calf serum (FCS) 10% in PBS 1x, 45 min at RT
  8. Incubation with 3AH9 (or the primary Ab(s) selected) 1:500 in FCS 5% in PBS 1x, 2h at RT
  9. Wash 5x with PBS 1x 5 min RT
- From here, all steps must be carried out in darkness**
10. Incubation with a secondary Ab (we used rabbit anti-mouse Alexa 488 conjugated, or Alexa 594 conjugated) 1:500 in FCS 5% in PBS 1x, 30 min at RT
  11. Wash 5x with PBS 1x 5 min RT
  12. To detect nucleic acid, incubate with DAPI (or ToPro) 1:200 in PBS 1x, 20 min RT
  13. Wash 5x with PBS 1x 5 min RT
  14. Set the preparations using ProLong. Left O/N at RT, in darkness.

## CARACTERÍSTICAS / CHARACTERISTICS

AcM / MAb	Isotipo / Isotype	Especificidad / Specificity
3AH9	IgG <sub>2b</sub>	gP5 (PRRSV EU)

## PRESENTACIÓN / FORMAT

Disponible en dos presentaciones / Two formats available:

PRESENTACIÓN / FORMAT	CANTIDAD / QUANTITY	CONCENTRACIÓN / CONCENTRATION (aproximada / approximated)	REFERENCIA / REFERENCE
Sobrenadante / Supernatant	5 ml	10-20 µg / ml	M.11.PRS.B3AH9
Purificada / Purified	1 ml	1mg / ml	M.11.PRS.I3AH9

## CONSERVACIÓN / STORAGE

**-20°C**

## REFERENCIAS / REFERENCES

<sup>1</sup> Dr. Luis Enjuanes. Centro Nacional de Biotecnología. CSIC  
M.J. Rodríguez et al. J. Gen. Virol. (2001) May. Vol. 82 no. 5 995-999

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