

TGEV

Anticuerpo Monoclonal específico de S de TGEV TGEV S protein specific Monoclonal Antibody

INTRODUCCIÓN / INTRODUCTION

Los coronavirus (CoV) se clasifican dentro del orden Nidovirales y constituyen una familia monogénica (Coronaviridae) cuyos 11 miembros afectan a muchas especies animales y a humanos. Miembros de este grupo son los causantes de enfermedades importantes a nivel económico y clínico, con problemas gastrointestinales y respiratorios principalmente. Son virus con envuelta, RNA positivos de cadena sencilla que codifica para 17 proteínas no estructurales y las proteínas estructurales S, N, M, E y HE (esta última en algunos coronavirus). Entre los coronavirus más importantes que afectan animales, destacan el virus de la gastroenteritis entérica porcina (TGEV), responsable de una elevada mortalidad en cerdos; el virus respiratorio porcino (PRCV) normalmente asintomático; el coronavirus canino (CCoV), causante de gastroenteritis en cachorros y el coronavirus entérico felino (FECV) y el virus de la peritonitis infecciosa felina (FIPV), causantes de enfermedades con poca sintomatología la primera y elevada mortalidad la segunda.

Coronavirus (CoV), are classified within the Nidovirales Order, forming a family (Coronaviridae) with only one genus whose 11 members affect many animal species and humans. The members of this group cause important economical and clinical diseases, with mainly respiratory and gastrointestinal symptoms. CoV are enveloped viruses with a positive single stranded RNA codifying for 17 non structural proteins and the structural proteins S, N, M, E and HE (this one in some of them). Among those Coronaviruses described as pathogens for animals, there is the Transmissible Gastro-enteritis Virus (TGEV) which causes acute outbreaks with gastro enteric symptomatology with high mortality rates in piglets; the Porcine Respiratory Coronavirus (PRCV) which is responsible for chronic infections, mostly asymptomatic or with mild respiratory symptoms; the Canine Coronavirus, responsible for gastroenteritis in puppies and the Feline Enteric CoV (FECV) and Feline Infectious Peritonitis Virus (FIPV) causing the first one asymptomatic diseases and producing high mortality rates the last one.

DESCRIPCIÓN / DESCRIPTION

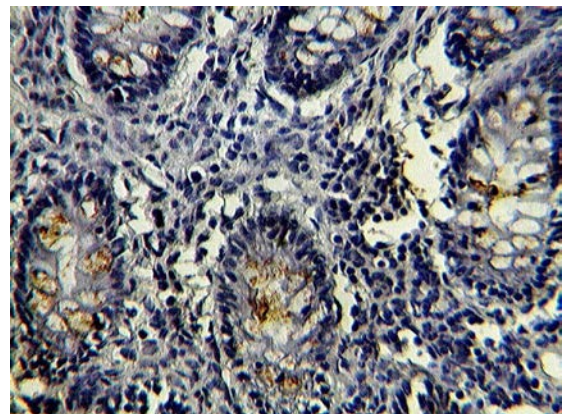
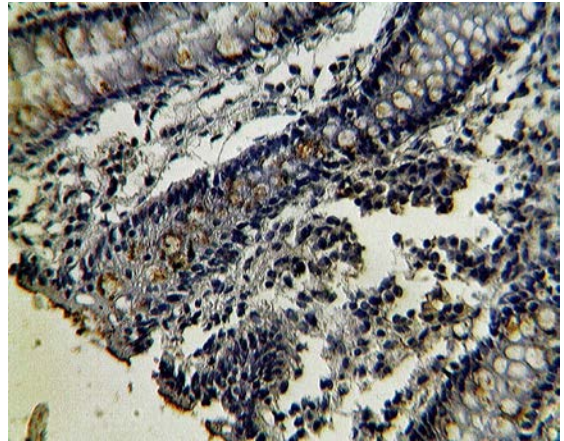
El Hibridoma productor del anticuerpo monoclonal ha sido obtenido a partir de linfocitos de bazo de ratón Balb/c fusionados con células del mieloma X63/Ag8653. Purificado por cromatografía de afinidad, presenta una pureza del 99%.

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 del fragmento C de la proteína S del virus de la gastroenteritis transmisible porcina (TGEV) mediante ELISA e IHQ
Detection of the fragment C of the S protein of the Transmissible Gastroenteritis virus (TGEV) by ELISA and IHC

RESULTADOS / RESULTS



Células de intestino delgado de cerdo teñidas por IHQ /
Porcine small intestine cells stained by IHC



DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO IHQ / IHC PROCEDURE

Se desparafinaizan secciones de fragmentos de intestino delgado de 5mm y se rehidratan. Se incuba el antígeno con 100µl de Proteínasa K (Dako) durante 5 min a Temperatura Ambiente. y se lavan con agua destilada. El bloqueo de la peroxidasa endógena se realiza incubando con una mezcla de hidrógeno-peroxidasa al 3% en agua destilada durante 20min. Los cortes se lavan con agua destilada y posteriormente con tampón fosfato (PBS 0,1M). Seguidamente se incuban con el anticuerpo monoclonal específico de TGEV (6AA6) diluido 1:10 con un reductor de background (Dako) durante 18 horas en cámara húmeda a 2-8°C. Posteriormente se realizan dos lavados de 1 min.con PBS 0,1M. El sistema de visualización utilizado fue LSAB® +System HRP (Dako). El sustrato-cromógeno fue Liquid DAB +el sistema sustrato-cromógeno de Dako y se incubó durante 5min. Posteriormente se procedió al lavado con agua destilada. La tinción se realizó con hematoxilina y los controle negativos se obtuvieron al no añadir el monoclonal primario a los fragmentos (Shoup et al).

Sections of 5mm thick small intestine fragments are deparaffinized and rehydrated. The antigen was incubated at room temperature with 100 µl of Proteinase K (Dako) for 5 minutes and washed with distilled water. The blocking of endogenous peroxidase, in order to minimize unspecific reactions, was carried out with hydrogen peroxide at 3% in distilled water for 20 minutes. Next, the slides with sections were rinsed with distilled water, followed by a washing step with phosphate buffer (0.1 M PBS). They were then incubated with 100 µl of the primary antibody monoclonal for TGEV (6AA6) diluted at 1:10, with Dako background reducer and incubated in a wet chamber for 18 hours at 2-8°C. Subsequently to this period wash twice with phosphate buffer (0.1 M PBS) for 1 minute. The visualization system used was the LSAB® + System-HRP (Dako) The substrate-chromogen system was the Liquid DAB+ Substrate Chromogen System (Dako) with 5 minutes incubation and rinsed in distilled water. Counterstaining was performed with hematoxylin. The negative controls were obtained by not adding the primary antibody to the fragments of small intestine of healthy pigs (Shoup et al.)

CARACTERÍSTICAS / CHARACTERISTICS

AcM / MAAb	Isotipo / Isotype	Especificidad / Specificity
6AA6 ¹	IgG ₁	Sc (TGEV)

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.10.TGE.B6AA6
Purificada / Purified	1 ml	1mg / ml	M.10.TGE.I6AA6

CONSERVACIÓN / STORAGE

-20°C

REFERENCIAS / REFERENCES

¹ Dr. Luis Enjuanes. Centro Nacional de Biotecnología. CSIC
A.M. Martins et al. Int. J. Morphol, 31(2): 706-715, 2013
D.I. Shoup et al. J. Vet. Diagn. Invest. 8:161-7, 1996

PRODUCTO DESARROLLADO EN INGENASA / PRODUCT DEVELOPED IN INGENASA

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



IT-73840
IT-73780
ISO 14001:2015
9171.INGE
ISO 9001:2015
9175.ING2

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

Última revisión / Last review: 250117