



甲型和乙型流感病毒



流感是一种由流感病毒引起的呼吸道疾病。每年甲型和乙型流感病毒都会在人类中造成季节性流行。此外，甲型流感病毒也是周期性大流行病的罪魁祸首，最近的一次是2009年H1N1毒株引起的。

病症从轻微到严重不等。据世界卫生组织称，每年的流行病导致全球数百万例重症患者，大约250,000至500,000人死亡。重症病例和死亡大多发生在高危人群中，例如幼儿、孕妇、65岁以上人群以及患有某些疾病的人。

流感的实验室检测是基于病毒分离后的免疫诊断和分子诊断技术。免疫诊断技术，尤其是利用单克隆抗体（MAb）的快速流感诊断检测（RIDT），由于其易于使用且成本低，尽管检测的敏感性确实差异很大，但通常仍是首选。

甲型和乙型流感病毒的生化性质

甲型和乙型流感病毒属于正粘病毒科，含八段单链RNA，呈球形（直径30-100nm）。流感病毒的核蛋白（NP）抗原与病毒RNA的特异性相关，根据NP的不同流感病毒可以分为甲乙丙三种类型。另外两个重要的抗原是血凝素（HA）和神经氨酸酶（NA），二者都是糖蛋白，决定流感病毒的亚型。

甲型流感病毒根据HA和NA蛋白的变化区分亚型。目前有18种已知类型的血凝素和11种已知类型的神经氨酸酶。H1N1和H3N2毒株是目前季节性甲型流感传播的主要病毒。

乙型流感病毒不区分亚型，而是以最初被识别的区域命名。

流感病毒免疫检测试剂的开发

我们提供多种具有不同特异性的单克隆抗体，用于检测临床样本中的甲型流感和乙型流感。此外，我们还提供多种灭活的病毒株作为抗原。

甲型流感病毒单克隆抗体

我们提供多种高灵敏和特异的单克隆抗体，用于检测甲型流感病毒。单克隆抗体可用于常见的免疫检测，例如直接或间接ELISA、夹心免疫分析和蛋白质印迹。这些抗体对不同的血凝素蛋白或甲型流感病毒核蛋白具有特异性，可用于检测来自不同生物样品（如鼻吸出物和拭子、细胞裂解物等）的这些抗原。由于单克隆抗体对乙型流感病毒没有交叉反应性，因此可用于区分甲型流感和乙型流感。

甲型流感病毒NP单克隆抗体 (Cat.# 3IN5)

我们提供了五种不同的单克隆抗体，特异性识别甲型流感核蛋白。抗体是免疫H1N1病毒株产生的。所有单克隆抗体均能高特异性检测核蛋白，且不与乙型流感病毒核蛋白发生交叉反应。

核蛋白单克隆抗体在ELISA中同样可检测出不同的甲型流感病毒株。图1显示了单克隆抗体InA108的滴定曲线。

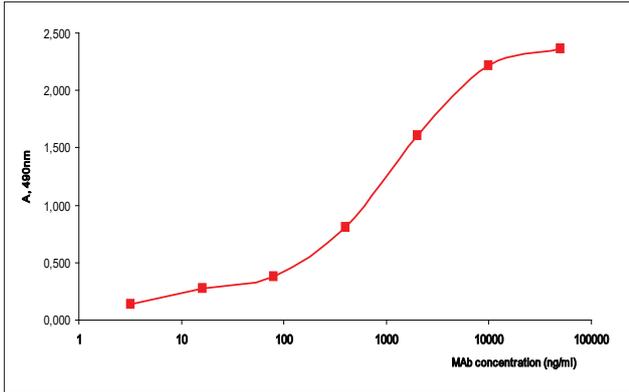


图1. 间接ELISA使用单克隆抗体InA108的滴定曲线
抗原: Influenza A/New Caledonia/20/99 (H1N1); 0.2 μg/孔

核蛋白定量免疫检测

我们在夹心免疫分析中测试了所有单克隆抗体，分别作为捕获和检测抗体。所有配对都能检测不同甲型流感病毒株核蛋白。推荐配对InA108-InA245和InA180-InA245能够等效检测H1N1和H3N2毒株中的核蛋白。InA108-InA245的校准曲线如图2所示。

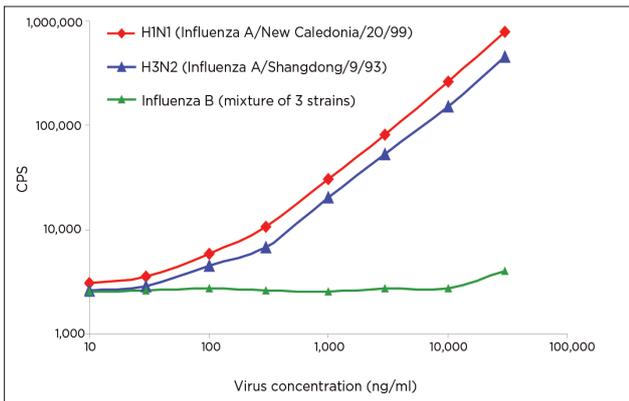


图2. 甲型流感病毒夹心荧光免疫检测的校准曲线。其中使用甲型流感病毒核蛋白特异性单克隆抗体 (Cat.# 3IN5) 配对InA108-InA245。
该抗体配对可识别不同的甲型流感病毒株，且无法检测乙型流感病毒株。

单克隆抗体F8

根据我们的研究，F8识别的表位可以检测不同抗原结构和物种来源的甲型流感核蛋白。我们调查了1934年至1993年间不同流行病期间分离的25个人和禽流感病毒株，在所有病例中均观察到特定反应。此外，我们使用直接免疫荧光分析研究了流感爆发期间儿童的265份鼻洗液样本。甲型流感病毒检测的灵敏度和特异性分别为60%和98.2%。单克隆抗体F8的滴定曲线如图3所示。

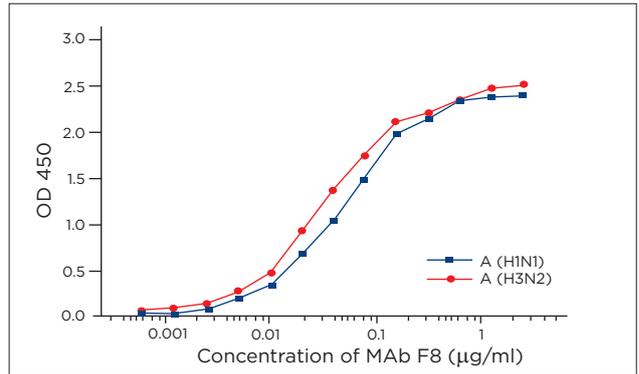


图3. 单克隆抗体F8在ELISA中与纯化的甲型流感病毒抗原H1N1和H3N2的活性。

免疫印迹分析检测核蛋白

单克隆抗体InA108和InA245可用于在还原条件下SDS-PAGE后的蛋白质印迹检测核蛋白。图4显示了使用单克隆抗体InA108检测两种不同的甲型流感病毒株。

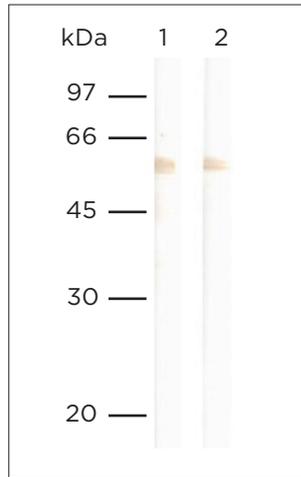


图4. 在还原条件下SDS-PAGE后，在蛋白质印迹法使用核蛋白单克隆抗体InA108对甲型流感病毒进行免疫检测。
抗原: 1 μg/孔，单克隆抗体: InA108 5 μg/ml。与HRP偶联的抗小鼠 IgG作为二抗。
泳道1 -Influenza A/NewCaledonia/20/99 (H1N1)
泳道2 -Influenza A/Shangdong/9/93 (H3N2)

甲型流感病毒H1单克隆抗体 (Cat.# 3AH1和3IH4)

我们提供五种特异性识别血凝素H1的单克隆抗体。免疫纯化influenza A strain A/New Caledonia/20/99 (H1N1)产生了四株抗体 (Cat.# 3AH1)。免疫禽流感病毒 (H1N1) 产生了1株抗体 (Cat.# 3IH4)。

H1单克隆抗体能够在直接和间接ELISA中检测H1N1毒株，但无法检测H3N2毒株。

H1定量夹心法免疫检测

我们在夹心法荧光免疫分析中测试了所有单克隆抗体，分别作为捕获和检测抗体。InA97-InA134对能够高特异性和灵敏度检测出纯化H1N1毒株。此配对能够检测病毒和重组血凝素H1，可用于不同甲型流感H1毒株的特异性免疫检测。InA97-InA134的校准曲线如图5所示。

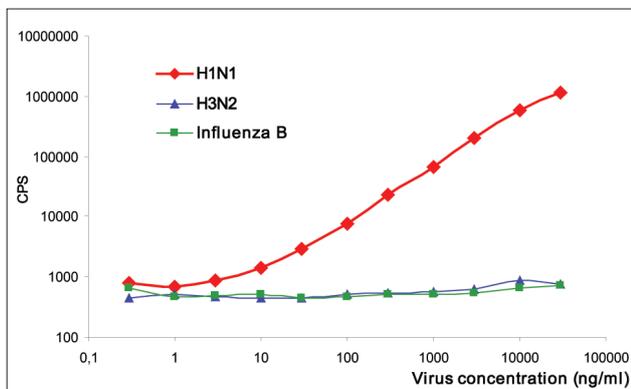


图 5. 使用抗血凝素H1抗体的甲型流感夹心荧光免疫检测的校准曲线。

捕获抗体: InA97 (1 µg/孔)
 检测抗体: Eu³⁺ 标记的 InA134 (0.2 µg/孔)
 孵育时间: 45 分钟
 H1N1: Influenza A/New Caledonia/20/99
 H3N2: Influenza A/Shangdong/9/93
 Influenza B: mixture of Influenza B strains B/Qingdao/102/91, B/Tokio/53/99 and B/Victoria/504/00.

单克隆抗体C102

单克隆抗体 (Cat.# 3IH4) 是使用禽流感病毒 (H1N1) 作为免疫原免疫获得的。它识别相对保守的H1表位。单克隆抗体C102可识别来自人类和禽流感病毒的H1，但不会与H3或其他血凝素发生交叉反应。单克隆抗体C102可用于分离株的亚型区分。同时，单克隆抗体C102也适用于免疫细胞化学、血凝素抑制、ELISA和免疫荧光研究。图6显示检测纯化病毒在ELISA中的活性。

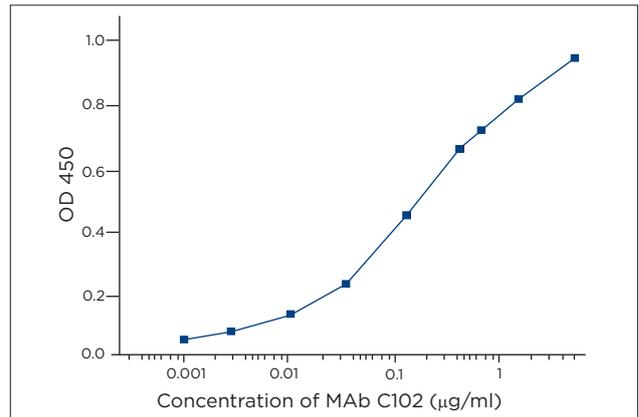


图6. 单克隆抗体C102在ELISA中检测纯化甲型流感病毒H1N1的活性。

免疫印迹中的H1检测

H1单克隆抗体 (Cat.# 3AH1) 在免疫印迹中进行了测试。所有单克隆抗体都可在还原条件SDS-PAGE后的蛋白质免疫印迹中检测H1毒株。

甲型流感病毒H3单克隆抗体 (Cat.# 3HG3)

我们提供2株特异性识别血凝素H3的单克隆抗体。抗体是免疫纯化的influenza A strain A/Shangdong/9/93 (H3N2)产生的。

H3单克隆抗体能够在直接和间接 ELISA 中检测H3N2毒株，但不能检测H1N1毒株。图7显示了单克隆抗体InA246与两种不同甲型流感病毒株的滴定曲线。

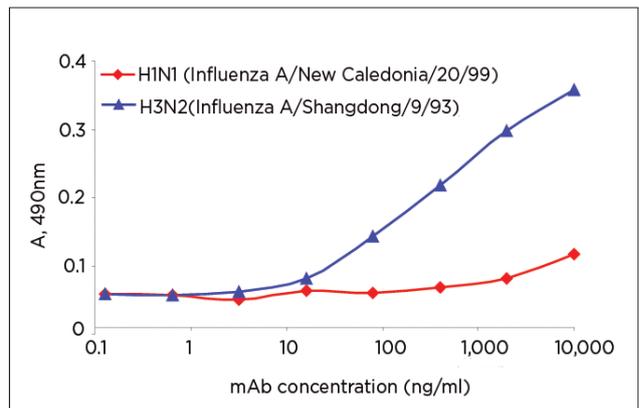


图7. 特异性识别血凝素H3单克隆抗体InA246的滴定曲线。

免疫印迹中的H3检测

在还原条件下SDS-PAGE，两种单克隆抗体均可在蛋白质免疫印迹中检测甲型流感 H3 毒株。

甲型流感病毒H5单克隆抗体 (Cat.# 3H5N)

禽流感病毒自然发生在鸟类中并引起禽流感感染，通常是由甲型流感病毒引起的。只有具有血凝素H5和H7亚型的菌株才能引起高致病性禽流感，这种禽流感在易感禽类中具有极强的传染性和快速致命性。当高致病性H5流感病毒爆发时，家禽的死亡率通常在90%-100%之间。

除鸟类外，H5病毒还可引起人类严重感染。

我们提供了7株不同的特异性识别H5的单克隆抗体。抗体是免疫纯化的甲型禽流感病毒(H5N1)产生的。

甲型流感病毒H7单克隆抗体 (Cat.# 3H17)

我们提供3株不同的特异性识别H7的单克隆抗体。抗体是免疫纯化的Influenza A/Netherlands/219/O3 H7N7病毒产生的。所有单克隆抗体均可在直接和间接ELISA中检测甲型流感 H7 血凝素。

我们研究了单克隆抗体与其他甲型流感病毒H亚型毒株的交叉反应性：Influenza A H1N1 (strain A/New Caledonia/20/99), Influenza A H2N2(strain A/Japan/305/57), Influenza A H3N2 (strain A/Panama/2007/99), 副流感病毒 (type 1 Sendai)。所有的单克隆抗体都表现出对 H7毒株的高度特异性，并且不与其他测试病毒反应。图8展示了与单克隆抗体InA334的交叉反应数据，结果表明该抗体仅与H7反应。

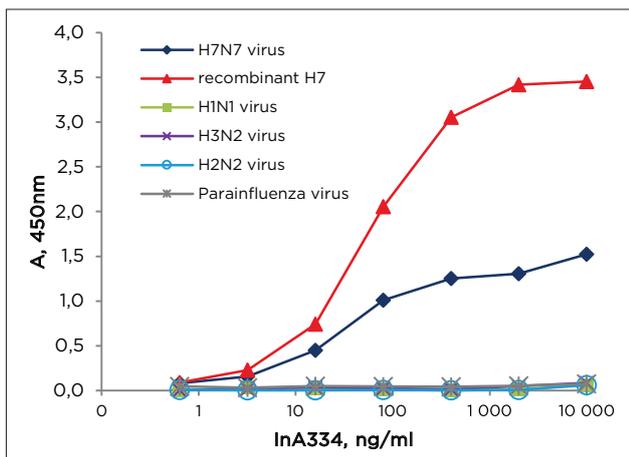


图8. 在间接ELISA中血凝素H7特异性的单克隆抗体InA334的滴定曲线。
病毒抗原 200 ng/孔
重组H7病毒 (A/Chicken/Netherlands/1/O3; a.a.r. 17-527) 10 ng/孔

H7定量夹心法免疫检测

所有单克隆抗体都在夹心法免疫检测中作为捕获或检测抗体进行了测试。基于纯化的Influenza A/Netherlands/219/O3 H7N7 和重组H7抗原筛选了高灵敏度的甲型流感病毒H7最佳抗体配配对。我们推荐使用InA334-InA331和InA334-InA414最为配对。其中InA334-InA331的校准曲线如图9所示。

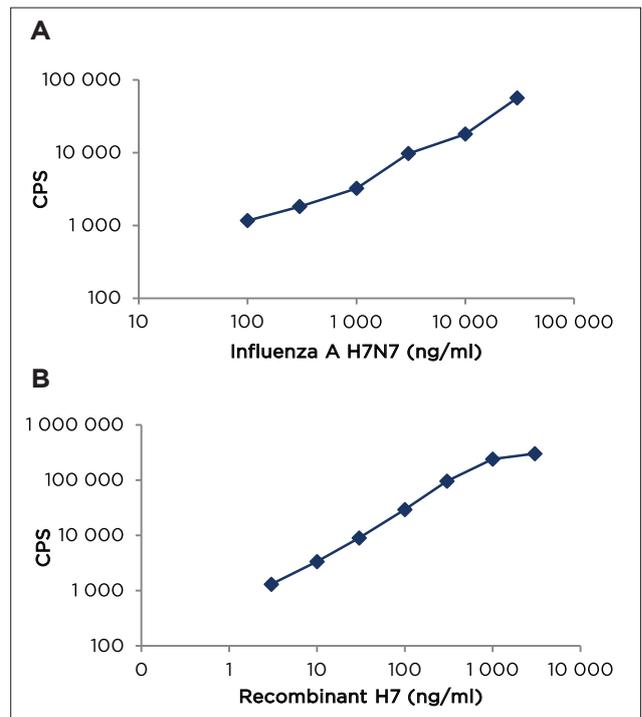


图9. 夹心荧光免疫分析中甲型流感血凝素H7的校准曲线。
捕获抗体：InA334 (1 μg/孔)
检测抗体：Eu³⁺ 标记的InA331 (0.1 μg/孔)
孵育时间：45 分钟
A) Influenza A/Netherlands/219/O3 (H7N7)
B) 重组 H7 (A/Chicken/Netherlands/1/O3; a.a.r. 17-527)

甲型流感病毒抗原

我们提供9种不同的甲型流感病毒株（H1和H3）作为抗原。这些病毒是从10-12天大的鸡胚的尿囊液中纯化的，这些鸡胚接种了不同的甲型流感病毒株，并用硫柳汞和β丙内酯处理灭活。所有产品纯度>90%。这些抗原可用于在ELISA、血凝抑制试验和蛋白质免疫印迹中检测甲型流感病毒的抗体。

在 ELISA 中，抗原不会与其他甲型流感病毒HA亚型的特异性单克隆抗体发生交叉反应，也不会与乙型流感病毒HA或NP特异性单克隆抗体发生交叉反应。在血凝抑制试验中，抗原不会与不同甲型或乙型流感亚型的抗血清发生交叉反应（表1总结了两种抗原的交叉反应数据）。

表1. 甲型流感抗原的血凝抑制试验。

H1N1和H3N2抗原只能用针对相应亚型的抗血清检测到，而不能用其他抗血清检测到。

Virus		Rabbit antisera to				
		A/New Caledonia/20/99 (H1N1)	A/St. Petersburg/186/00 (H3N2)	A/Singapore/1/57 (H2N2)	A/swine/1976/31 (Hsw1N1)	B/Tokio/53/99
	A/New Caledonia/20/99 (H1N1)	640	<10	<10	<10	<10
	A/Panama/2007/99 (H3N2)	<10	320	<10	<10	<10

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆号	亚型	应用
甲型流感病毒核蛋白	3IN5	F8	IgG2a	EIA, IHC
		InA108	IgG1	EIA, WB
		InA180	IgG3	EIA
		InA224	IgG1	EIA
		InA245	IgG2b	EIA, WB
甲型流感病毒血凝素	3IH4	C102	IgG1	EIA, IF, HIT, 血凝素H1
甲型流感病毒血凝素H1	3AH1	InA97	IgG1	EIA, WB
		InA134	IgG1	EIA, WB
		InA139	IgG1	EIA, WB
甲型流感病毒血凝素H3	3HG3	InA227	IgG1	EIA, WB
		InA246	IgG2a	EIA, WB
甲型流感病毒血凝素H5	3H5N	1C7	IgG2a	EIA, HIT
		1B4	IgG2a	EIA
甲型流感病毒血凝素H7	3HI7	InA331	IgG1	EIA
		InA334	IgG1	EIA
		InA414	IgG2b	EIA

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
甲型流感病毒 (H1N1)	8IN73	>90%	A/Taiwan/1/86
甲型流感病毒-2 (H1N1)	8IN73-2	>90%	A/Beijing/262/95
甲型流感病毒-3 (H1N1)	8IN73-3	>90%	A/New Caledonia/20/99
甲型流感病毒-4 (H1N1)	8IN73-4	>90%	A/Solomon Islands/03/06
甲型流感病毒 (H3N2)	8IN74	>90%	A/Shangdong/9/93
甲型流感病毒-1 (H3N2)	8IN74-1	>90%	A/Panama/2007/99
甲型流感病毒-2 (H3N2)	8IN74-2	>90%	A/Kiev/301/94
甲型流感病毒-3 (H3N2)	8IN74-3	>90%	A/Wisconsin/67/05
甲型流感病毒-4 (H3N2)	8IN74-4	>90%	A/Brisbane/10/07

乙型流感病毒单克隆抗体

HyTest提供一系列针对乙型流感病毒核蛋白、血凝素和基质蛋白1 (M1) 的单克隆抗体。这些单克隆抗体在不同的免疫测定中具有高亲和力和高特异性，包括直接或间接ELISA、夹心法免疫检测体系以及蛋白免疫印迹。

乙型流感病毒核蛋白单克隆抗体 (Cat.# 3IF18和RIF17)

我们提供多株针对乙型流感核蛋白的单克隆抗体。单克隆抗体R2/3 (Cat.# RIF17) 是在体外生产的。这些抗体是免疫纯化的乙型流感病毒产生的。它们对乙型流感病毒核蛋白具有高度特异性，且不会与甲型流感病毒核蛋白或其他已测试的病毒蛋白发生交叉反应。我们的单克隆抗体的检测限低，即使在乙型流感病毒滴度很低的样品中也能检测到病毒。此外，单克隆抗体可用于快速乙型流感病毒检测。表2显示了单克隆抗体的表位特异性，表3中展示了推荐的抗体配对。

表2. 乙型流感病毒核蛋白单克隆抗体位点特异性

表位	单克隆抗体
片段1: (1-80 a.a.r)	InB12, InB36
片段2: (120-200 a.a.r)	InB27, InB64
片段3: (240-320 a.a.r)	InB204, InB210
片段4: (480-560 a.a.r)	InB114, InB213

表3. 乙型流感病毒核蛋白夹心法免疫检测推荐抗体配对

捕获	检测
InB12	InB27
InB12	InB64
InB36	InB64

所有核蛋白单克隆抗体均可在直接和间接ELISA中检测不同的乙型流感病毒株。单克隆抗体InB114的滴定曲线如图10所示。

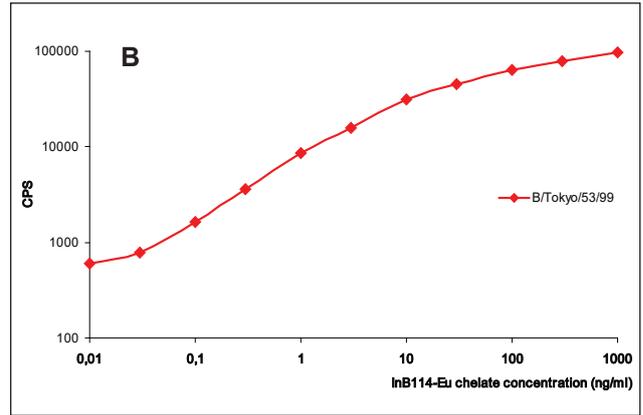
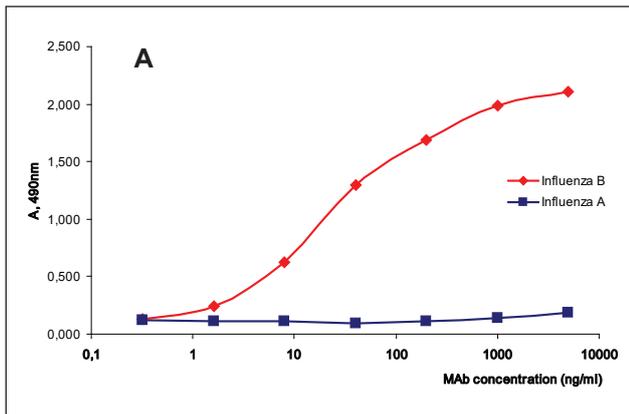


图10. 在间接法(A)和直接法(B)ELISA中乙型流感病毒核蛋白单克隆抗体InB114的滴定曲线。
乙型流感病毒: Influenza B/Tokyo/53/99 (A: 0.5 µg/孔, B: 0.2 µg/孔)。
甲型流感: Influenza A/Shangdong/9/93 和 A/New Caledonia/20/99的混合毒株(0.5 µg/孔)

乙型流感病毒定量夹心法免疫检测

单克隆抗体在夹心法免疫测定中作为捕获和检测抗体进行了测试。推荐的抗体配对 (见表3) 是基于检测乙型流感病毒株和重组乙型流感核蛋白的灵敏度和特异性能力来选择的。测试的毒株是Influenza B/Leningrad/86/93, Influenza B/Tokyo/53/99和Influenza B/Victoria/504/00。InB36-InB64配对的校准曲线如图11所示。

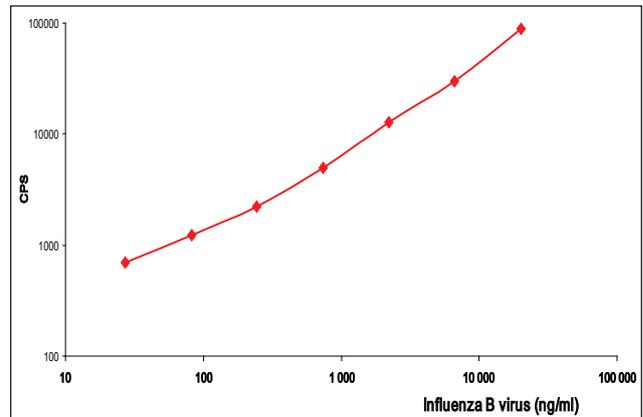


图 11. 夹心荧光免疫分析中乙型流感病毒核蛋白的校准曲线。
捕获抗体: InB36 (1 µg/孔)
检测抗体: Eu³⁺ 标记的InB64 (0.2 µg/孔)
孵育时间: 45 分钟
抗原: Influenza B/Tokio/53/99

单克隆抗体 R2/3

该抗体 (Cat.# RIF17) 是在体外生产的，可检测乙型流感病毒的核蛋白，并已由多种乙型流感病毒株进行了测试 (见图12)。它与9种甲型流感病毒株、3种副流感病毒株、腺病毒 (6型) 和呼吸道合胞病毒进行测试，未检测到交叉反应。

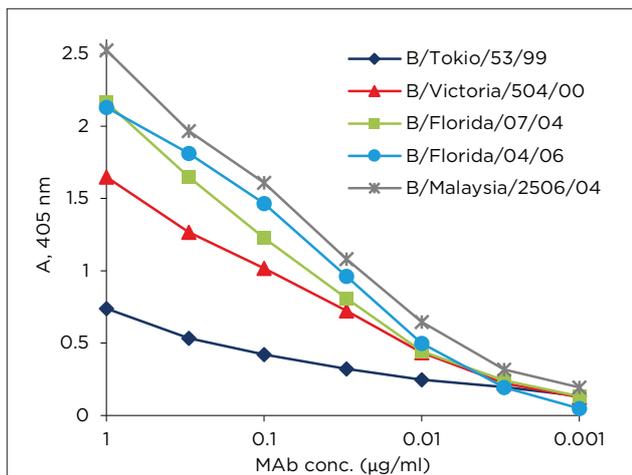


图12. 使用不同乙型流感病毒株对乙型流感病毒抗体 (Cat.# RIF17) 进行的直接ELISA分析。
抗原以5 μg/ml的浓度被包被在微孔板上，使用1μg/ml到1ng/ml的抗体稀释浓度来测试抗体活性。

蛋白质印迹法乙型流感病毒核蛋白免疫检测

单克隆抗体在还原和非还原条件下进行SDS-PAGE后，在蛋白质免疫印迹中能检测乙型流感病毒核蛋白。图13显示了使用单克隆抗体InB27和InB63的蛋白质免疫印迹。

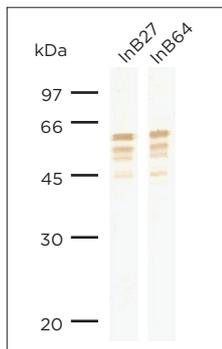


图13. 在还原条件下进行 SDS-PAGE 后，乙型流感病毒核蛋白单克隆抗体的免疫印迹检测。
抗原：Influenza B/Tokio/53/99, 1μg/孔
抗体：InB27和InB64, 5μg/ml。与HRP偶联的抗小鼠IgG用作二抗

乙型流感病毒HA单克隆抗体 (Cat.# 3GH9)

我们提供2株血凝素HA2特异性的单克隆抗体。2株单克隆抗体在直接和间接ELISA中均可检测不同的乙型流感病毒株的血凝素。单克隆抗体InB190的滴定曲线如图14所示。

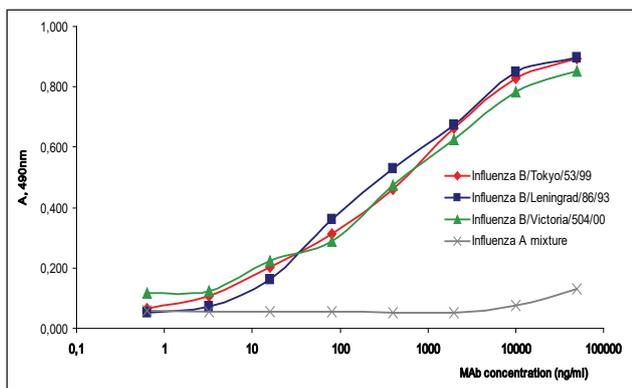


图14. 间接 ELISA 中乙型流感病毒HA特异性单克隆抗体InB190的滴定曲线。
抗原：0.5μg/孔。甲型流感是A/Shangdong/9/93 and A/New Caledonia/20/99的混合物。

蛋白质印迹法乙型流感病毒HA免疫检测

在还原条件下的SDS-PAGE，所有单克隆抗体在蛋白质免疫印迹中可检测不同乙型流感病毒株的血凝素HA2。图15显示了使用单克隆抗体InB190的蛋白质免疫印迹。

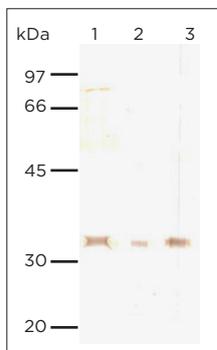


图15. 使用单克隆抗体InB190在蛋白质免疫印迹中对乙型流感病毒HA2进行免疫检测。
泳道 1: Influenza B/Tokio/53/99, 1 μg/孔,
泳道 2: Influenza B/Leningrad/86/93,
1 μg/孔,
泳道 3: Influenza B/Victoria/504/00,
1 μg/孔,
一抗: InB190 (3 μg/ml) ,
二抗: 与HRP偶联的抗小鼠 IgG。

乙型流感病毒M1单克隆抗体 (Cat.# 3BM17)

我们提供2株对乙型流感病毒基质蛋白M1特异性的单克隆抗体。单克隆抗体在直接和间接ELISA中可检测M1蛋白。单克隆抗体InB4的滴定曲线如图16所示。

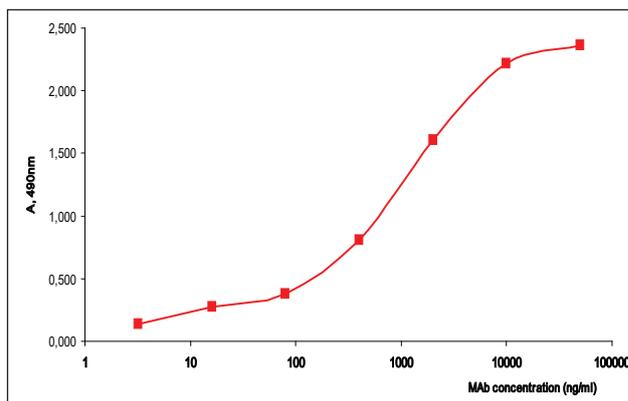


图16. 间接ELISA中 M1特异性单克隆抗体InB4的滴定曲线。
抗原：Influenza B/Tokyo/53/99, 0.5μg/孔。

蛋白质印迹法乙型流感病毒M1免疫检测

在还原条件下进行SDS-PAGE，2株单克隆抗体均可在蛋白质免疫印迹中检测M1。

乙型流感病毒抗原

我们提供5株不同的乙型流感病毒株作为抗原。这些病毒是从10-12天大的鸡胚的尿囊液中纯化的，这些鸡胚接种了乙型流感病毒株，并用硫柳汞和β丙内酯处理灭活。所有产品的纯度>90%。这些抗原可用于在ELISA、血凝抑制试验和蛋白质免疫印迹中检测乙型流感病毒的抗体。

乙型流感病毒抗原在ELISA中不会与甲型流感病毒血凝素亚型(H1N1或H3N2)特异性的单克隆抗体发生交叉反应。在血凝抑制试验中，抗原不与甲型H1N1或H3N2病毒的抗血清发生交叉反应。(表4总结了2种抗原的交叉反应数据)

表4.乙型流感病毒抗原的血凝试验。

抗原只能针对相应病毒的抗血清检测，而不能用于其他抗血清检测。

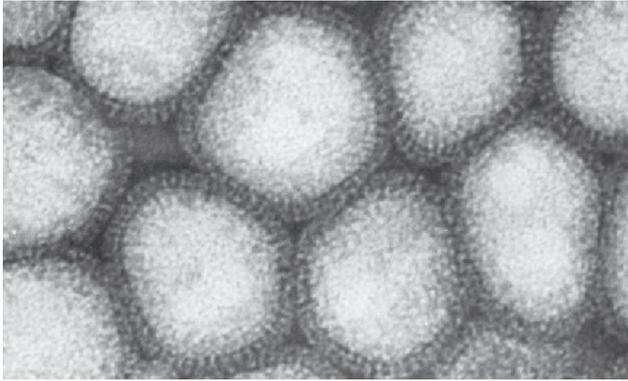


图17. 乙型流感病毒的电镜图像。
(病毒颗粒的直径为100-120nm。放大倍数为 110,000x。)

		Rabbit antisera to				
		B/Tokio/53/99	B/Victoria/504/00	A/New Caledonia/20/99	A/St.Petersburg/186/00	A/swine/1976/31
Virus	B/Tokio/53/99	320	<10	<10	<10	<10
	B/Victoria/504/00	<10	320	<10	<10	<10

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆号	亚型	应用
乙型流感病毒血凝素	3BH9	InB18	IgG2a	EIA, WB, 血凝素2 (HA2)
		InB190	IgG2b	EIA, WB, 血凝素2 (HA2)
乙型流感病毒基质蛋白M1	3BM17	InB4	IgG1	EIA, WB,
乙型流感病毒群抗原	3IF18	InB12	IgG2b	EIA, WB, 核蛋白
		InB27	IgG1	EIA, WB, 核蛋白
		InB36	IgG1	EIA, WB, 核蛋白
		InB64	IgG1	EIA, WB, 核蛋白
		InB114	IgG1	EIA, WB, 核蛋白
		InB204	IgG1	EIA, WB, 核蛋白
		InB210	IgG1	EIA, WB, 核蛋白
		InB213	IgG1	EIA, WB, 核蛋白
乙型流感病毒群抗原	RIF17	R2/3	IgG2a	体外生产, EIA, WB, 核蛋白

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
乙型流感病毒-2	8IN75-2	>90%	B/Tokio/53/99
乙型流感病毒-3	8IN75-3	>90%	B/Victoria/504/00
乙型流感病毒-4	8IN75-4	>90%	B/Malaysia/2506/04
乙型流感病毒-5	8IN75-5	>90%	B/Florida/07/04
乙型流感病毒-6	8IN75-6	>90%	B/Florida/04/06