

Whatman-侧向流耗材助力病毒快检



2月8号，国家科技部发布《新型冠状病毒（2019-nCoV）现场快速检测产品研发应急项目申报指南》拉开了新冠现场快检的帷幕，指南一共提及了三种类型的产品：核酸快速检测设备及试剂，抗原快速检测试剂和抗体快速检测试剂。其中两种是免疫学病毒快速检测。目前免疫快速检测试剂盒主要分为两类化学发光和侧向流层析技术。侧向流层析技术最早发源于1980年，既结合了标记物可视化和免疫特异强等特点，也拥有操作简单迅速，成本低的优势。从侧向流层析产品角度来看，除了需要考虑检测抗体的特异性和标志物的选择外，试纸条的工艺也对IgG/IgM的检查有很大的影响。侧向流层析试纸条由样本垫，释放垫，NC膜和吸收垫组成，每个组分都有多重参数，单一参数的变动会引起整个测试条性能的变动。因此精准材料的是高灵敏产品的重要保证。

合适的样本垫选择，首先需要考虑一些基本的物理特性比如厚度，吸水量，爬速。其次对于一些特殊的样本还需要考虑其去除干扰物质的能力如全血样本中的血红细胞以及唾液样本中的小颗粒物质。最后如果是血液样本，抗体检测还容易受到一些物质如类风湿因子，非特异IgM等的干扰，为了减少这些物质与反应膜的非特异性结合，增加信噪比，通常会将一些封闭剂夹在样本垫上因此还需要考虑样本垫的时强度。在COVID-2019侧向流免疫层析试纸条检测所用的样本主要有全血，血清以及唾液和鼻腔拭子。GE whatman 结合样本种类的不同以及样本量的多少有如下的推荐：

Table 1. 样本垫性能表

产品	适用样本				物理参数		
	全血	血清	唾液	鼻腔拭子	厚度 (μm)	爬速(s/4cm)	吸水量(mg/cm2)
LF1	√	√			247	36	25
MF1	√	√			367	30	39
Fusion 5	√	√			370	44	42
VF2	√	√			785	24	86
GF/DVA	√	√	√	√	758	44	93

S 14	√	355	23	51
S 17	√	370	35	45
CF1	√	176	207	19
CF4	√	482	67	50

结合物释放在整个检测性能方面扮演着非常重要的角色，结合物释放的动力学决定了样品中待测分析物的检测量，最理想的状态是最后的待测分子进入结合垫的时间与结合物在释放垫上完全释放的时间一致。释放垫虽然整个侧向试纸条最小的一个部分却也是除反应膜之外最重要的部分。释放垫最主要的作用有第一承载标记后的检测试剂，并保护试剂使其干燥后在产品保质期内处于有效状态；第二在样本到达释放垫后，检测试剂能够与待测物质结合并完全释放，均一可靠的转移到反应膜上。因此选择一个合适的释放垫需要考虑 1) 材质的亲水性；2) 材料结构开放，使得结合物和样品都能够快速的穿过释放垫；3) 释放垫背景干净，如不含盐离子，不能与样品发生非特异性反应；4) 批间的稳定性。目前可用于释放垫的材料主要有玻璃纤维和聚酯材料两种。GE whatman 可提供一系列拥有不同吸收和释放性能的玻纤材料以及聚酯材质的释放垫，

Table 2. 释放垫性能表

产品	厚度 (μm)	爬速(s/4cm)	吸水量(mg/cm2)	最大孔径 (μm)	金结合物释放 (90s 后)
S 14	355	23	51	22	75
S 17	370	35	45	22	75
Fusion 5	370	44	42	370	> 94

整个侧向流免疫的组件最重要的就是 NC 膜了，NC 膜是整个侧向流层析产品的核心，是目标蛋白被捕获以及检测的地方，检测的灵敏度和动力学特性很大程度上取决于蛋白吸附和毛细管作用，这些都与膜材的物理和化学性质密切相关 1) 表活与蛋白: 市售的 NC 膜都含有表活，通常为非离子型表活。表活的主要作用在于使膜材具有亲水性以及使蛋白失活从而帮助包被蛋白到 NC 膜上。但也会出现某种表活或者表面表活含量过高完全破坏单抗结合位点，导致试剂在侧向流层析产品上完全无法发挥检测的作用的现象；2) 样本，一般来说粘度越高的样本爬速越慢，考虑到整个体系完成的时间一般建议选择爬速较快的膜，但同时也需要考虑到捕捉剂的亲和力；3) 捕获试剂的亲和力以及结合解离速率，因为待检物质能够在 T 线处停留的时间一般小于 1 分钟有，因此侧向产品倾向于高亲和力的抗体。同时捕获试剂的结合解离速度也是非常重要，不同的分子间可能拥有相同的亲和力，但是其结合和解离的速率会很大的差别：

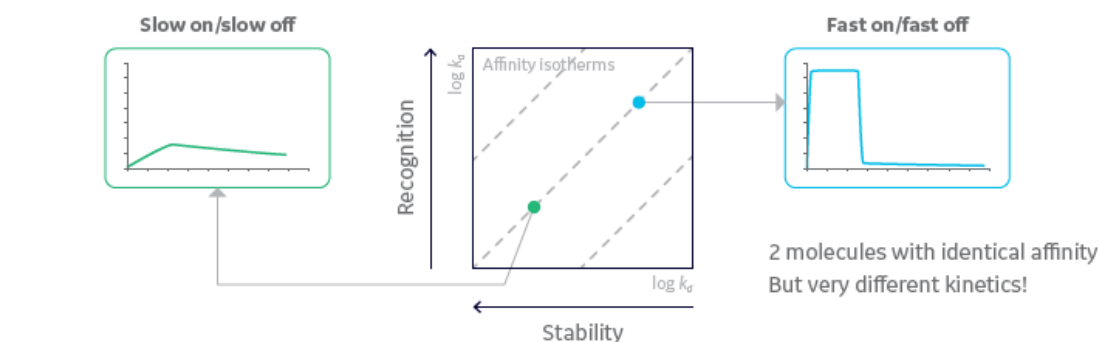


Fig. 1 同一抗原与不同抗体之间的实时结合解离动力学图谱（数据通过 Biacore 的 SPR 技术获得）

如上图所示，尽管两者的亲和力一致，但左图抗原抗体的结合解离速度远低于右图。但如果选定的捕捉剂对于目标物质的结合速率相对较低，但又希望能够在一定的检测时间内保证高灵敏度，则可以考虑通过测试不同的表活以及表活浓度的膜材来实现。目前新冠病毒与 ACE2 受体亲和力解析图谱已经由德克萨斯州立奥斯汀分校的 Jason S. Mclellan 团队通过 Biacore 获得，详见（[Biacore 助力病毒入侵机制研究及治疗性药物研发](#)）；4）爬速，对于固定的膜，捕获试剂以及分析物浓度的组合，降低流动速度往往能提高检测的灵敏度，但爬速过慢又可能会造成假阴或者高背景的现象。GE whatman 为了满足客户需求，可以提供不同爬速，表面表活以及表活浓度的膜材：

Table 3. 反应膜产品性能表

产品	背衬	厚度	爬速(s/4cm)	相对表活浓度	推荐使用样本
FF80 HP	√	200 μm	60-95	低	血清，血浆
FF120 HP	√	200 μm	90-140	低	稀释血清，血浆，尿液
FF170 HP	√	200 μm	140-200	低	低粘度样本，尿液，水
FF80 HP Plus	√	200 μm	60-95	中	血清，血浆
FF120 HP Plus	√	200 μm	90-140	中	稀释血清，血浆，尿液
FF170 HP Plus	√	200 μm	140-200	中	低粘度样本，尿液，水
FF80 HP Plus thick	√	235 μm	60-95	中	血清，血浆
FF120 HP Plus thick	√	235 μm	90-140	中	稀释血清，血浆，尿液
FF170 HP Plus thick	√	235 μm	140-200	中	低粘度样本，尿液，水
Immunopore RP	√	200 μm	90-150	高	血清，血浆，尿液
Immunopore FP	√	200 μm	140-200	高	稀释的血清，尿液，水
Immunopore SP	√	200 μm	200-300	高	低粘度样本
Prima 40	√	200 μm	38-52	非常高	粘度超高的样本，牛奶
AE 100	×	120 μm	90-120	中	血清，血浆
AE 99	×	120 μm	120-160	高	稀释血清，尿液
AE 98	×	120 μm	140-200	中	低粘度样本，尿液

最后是吸水垫，吸水垫位于侧向流层析检测装置的末端，吸收垫最初的功能是提高试纸条待测样本量以及吸附多余的样本量，一般来说被分析样本的体积受到试纸条空体积的制约，提高吸收垫的吸水量能够有效增加待测样本的含量。除此之外吸收垫还有一个重要的作用

是防止回流，当测试结束之后，膜开始干燥液体可能会发生反向流控，吸收垫收集的液体此时开始成为样本的来源，这种反相流动效应会导致后续报告解读出现假阳现象。为了避免这一现象的出现，吸收垫的选择应综合考虑整体上样量，吸收垫的吸水量，尺寸以及吸收垫的爬速。当前测试的常用的吸水垫如下图所示：

Table 4. 吸收垫产品性能表

产品	厚度 (μm)	爬速(s/4cm)	吸水量(mg/cm2)	适用样本量
CF5	954	63.3	99.2	50-150 μl
CF 7	1873	35	252.3	> 150 μl

侧向流免疫层析试纸条对于终端用户而言是一个简单的装置，但越简单易用对于前期的研发和生产则要求越高，因为试纸条是由多个组分构成，每个组分都有多重参数，单一参数的变动会引起整个测试条性能的变动。因此材料性能的稳定以及供货的稳定是研发人员首先考虑的问题，也是我们努力追求的目标。

在新版的诊疗方案中，虽然核酸检测依然是患者临床确诊和康复出院的重要依据，但由于设备的不足以及耗时过长，一定程度上减慢疾病检测的速度，免疫侧向流虽然测试时间短但灵敏度相较于核酸检测尚比较低且 IgG/IgM 检测有一定的窗口期。是否有方法能够将核酸检测的优势和侧向流的优势相结合呢？近日，MIT 的 ZhangFeng 团队提出了将核酸检测和侧向流层析结合的 SHERLOCK（高灵敏度酶促解锁）技术应用 COVID-19 检测的方案，使用该方案可以在 1 小时以内完成所有的测试，且能够在 20 到 200 aM 之间一致的检测 COVID-19 靶序列。SHERLOCK 技术最早是在 2018 年由 Zhang Feng 及其团队提出，并在 2018 年和 2019 年相继发表了论文详细阐述了该项技术的理论及应用，此技术也给我们提供了很好的检测思路，也希望能从科研早日进入到临床应用。

，“沃”虽涓埃之力，亦不忘国忧，“沃”们在样品及技术方面全力配合客户，保障客户需求。