

# 肺炎多糖结合疫苗的制备和免疫效价分析

## 一、课题名称及介绍

**课题名称：**肺炎多糖结合疫苗的制备和免疫效价分析

**课题介绍：**利用高碘酸钠氧化肺炎荚膜多糖的羟基为醛基，与破伤风类毒素上的氨基发生还原氨化反应，制得肺炎多糖结合疫苗，对其进行纯化及凝胶电泳分析鉴定，通过酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 检测小鼠血清中的抗体滴度，以评价疫苗的免疫学性质。



## 二、课题背景及目的

**课题背景：**肺炎链球菌是一种革兰氏阳性菌，能够引起高死亡率的侵袭性肺炎疾病。荚膜多糖是肺炎链球菌的主要致病成分，早期曾以荚膜多糖作为疫苗预防肺炎链球菌的感染。然而，荚膜多糖是一种T细胞非依赖抗原，免疫持续时间短，不能诱导免疫记忆，不能为婴幼儿和儿童提供免疫保护作用。将肺炎荚膜多糖与具有辅助性T细胞抗原表位的载体蛋白共价结合，这种多糖结合疫苗会极大改善多糖的

免疫学性质，并能有效保护婴幼儿和儿童。

破伤风类毒素（Tetanus Toxoid, TT）是目前最常用的结合疫苗载体蛋白，因此将 TT 蛋白与肺炎荚膜多糖进行化学偶联，可以增强机体的免疫应答，是目前生产肺炎多糖结合疫苗的主要策略。

**课题目的：**通过制备以破伤风类毒素为载体的肺炎多糖结合疫苗，并对其进行结构评价，通过测定小鼠血清中的抗体滴度，评价疫苗的免疫学性质。

三、课题计划

课题时间		课题内容	
Day1	上午	理论课程	学科与课题简介，学生分组，熟悉实验材料和实验仪器；介绍本课题的实施步骤，实验安全注意事项。
	下午	理论&实验课程	课题的科学背景介绍（侧重科学问题）；肺炎多糖结合疫苗介绍和科研意义；实验所用肺炎多糖和载体蛋白 TT 的介绍和准备
Day2	上午&下午	理论&实验课程（穿插进行）	介绍肺炎多糖的氧化、终止和透析原理和进行实验操作
			介绍载体蛋白和氧化多糖的反应原理和实验操作
Day3	上午	理论 & 实验课程	Akta 层析理论的讲解；多糖结合疫苗缀合物的层析分离和表征
	下午	理论&实验课程	用 Elisa 方法进行免疫评价的原理和步骤介绍；抗原包被
Day4	上午	理论 & 实验课程	SDS-PAGE 介绍；配制电泳胶、样品电泳；对已免样本进行 Elisa 检测
	下午	实验分析、汇总	Elisa 显色；蛋白电泳胶的染色、脱色；实验数据进行分析、解读。
Day5	上午&下午	实验数据汇总；课题背景信息检索；制作 PPT。下午课程汇报，导师点评，颁发证书，合影留念。	

#### 四、参考文献

- [1] Whitney C G, Farley M M, Hadler J, et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine[J]. New England Journal of Medicine: 2003, 348: 1737-1746.
- [2] Romano M R, Leuzzi R, Cappelletti E, et al. Recombinant clostridium difficile toxin fragments as carrier protein for PSII surface polysaccharide preserve their neutralizing activity[J]. Toxins: 2014, 6: 1385-1396.
- [3] Wei D, Yu W, Hu C, et al. The phenyl linker markedly increases the immunogenicity of the pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine[J]. Biotechnology Letters 2018, 40(8):1263-1270.

#### 五、课题领队导师

季老师,

工程研究部

博士, 副研究员, 硕士生导师。

部门/实验室: 11 生物药物

2013 年毕业于中国科学院动物研究所, 获博士学位, 2013 年至今在中国科学院过程工程研究所工作。聚焦于肿瘤、神经退行性疾病等重大疾病的生物技术药物研发和机制研究。

主要致力于将分子生物学、免疫学、生物化学与药理学相结合, 研制

开发治疗神经退行性疾病的基因工程抗体、疫苗和多肽等药物；开展基于临床的肿瘤发病机制的研究。目前已主持国家科技重大专项 - 重大新药创制项目(子课题)2 项, 国家自然科学基金青年基金项目 1 项, 国家自然科学基金面上基金 1 项。以第一作者或通讯作者发表 SCI 论文 10 余篇, 参编专著 2 部, 授权国家专利 2 项。

### 发表论文

( 1 ) Conjugation of PEG-hexadecane markedly increases the Immunogenicity of pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine,Vaccine,2017,第 3 作者

(2) Effect of protein immunogenicity and PEG size and branching on the anti-PEG immune response to PEGylated proteins,Process Biochemistry,2017,第 11 作者

( 3 ) N-Terminal Modification with Pseudo-Bifunctional PEG-Hexadecane Markedly Improves the Pharmacological Profile of Human Growth Hormone, Molecular Pharmaceutics,2015,第 2 作者

### 科研项目

(1) 基于 PEG-长链脂肪烷修饰的人生长激素长效剂型, 主持,国家级,2015-01--2017-12

(2) 基于分子识别的肺炎多糖结合疫苗的制备及其免疫学性质的研究, 参与,省级,2014-01--2016-12

(3) 多糖结合疫苗的研究与开发, 参与,部委级,2014-05--2016-12

## 六、课题信息

- 1.地点：中国科学院过程工程研究所
- 2.人数：10 人
- 3.时间：2023 年 7 月 8 日-12 日
- 4.费用：5000 元/人（含课题设计、导师劳务、场地使用、材料、意外保险等，不含每天餐饮与相关交通支出）

## 七、服务保障

### 1.师资配备：

- 1 名带队辅导员，负责对接专家与学校，协助管理学生；
  - 1 名课题导师，负责课题指导等相关工作；
- 若干名实验室专家，负责相关实验的指导。

### 2.安全保障：

- 高端科研院所内完成课题研究；
- 高级别实验室专业团队指导实验操作；
- 项目全程意外险保障。