

中华预防医学会科学技术奖推荐项目 公示主要内容

一、项目名称：高致病性人冠状病毒应急防控技术体系的建立与应用

二、推荐单位（专家）及推荐意见：

推荐单位：中国疾病预防控制中心

推荐意见：以中东呼吸综合征冠状病毒为代表的高致病性人冠状病毒是引起严重呼吸道疾病的重要病原，建立高致病性人冠状病毒的监测、检测、应急阻断防控技术体系，将为新发突发冠状病毒疫情防控提供关键技术支撑。“高致病性人冠状病毒应急防控技术体系的建立与应用”项目建立了系统的高致病性人冠状病毒快速识别技术，以及多技术路线的 MERS-CoV 疫苗研发体系与临床前评价平台、高通量的冠状病毒药物筛选平台。该项目对韩国输入我国 MERS 病例的全基因组序列进行测序、分析，先于韩国确定其来源和分子变异事件，为我国制定相关疫情防控策略提供了关键科学依据，成功阻断了首例 MERS 病例在中国的传播。同时，该项目通过举办全国性培训班，提高了我国基层疾控和医院对新型冠状病毒的发现和检测能力。该项目的实施为 2019 新冠疫情病原发现、鉴定和科学防控提供了关键技术支撑。经审核所提交推荐书材料真实有效，经公示无异议，同意推荐 2021 中华预防医学会科学技术奖。

三、项目简介：（项目简要介绍，技术路线，创新点及项目产出。）

高致病性人冠状病毒 (human coronavirus, HCoV) 引起严重呼吸道感染，SARS 疫情和中东呼吸综合征冠状病毒 (Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV) 疫情引发全球关注。“高致病性人冠状病毒应急防控技术体系的建立与应用”项目旨在建立高致病性 HCoV 快速识别技术、疫苗研发体系、高通量药物筛选平台等，以填补我国存在的应急防控技术体系空白，为新发突发冠状病毒疫情防控提供关键技术支撑。本项目主要研究内容级技术路线包括：

1. 建立系统的高致病性 HCoV 快速识别技术，包括全基因组测序、病毒分离、分子与血清学检测技术，以利于迅速完成病原的鉴定。

2. 建立应急阻断技术平台：包括多技术路线的 MERS-CoV 疫苗研发体系及高通

量药物筛选平台，为新型 HCoV 疫苗的研制及药物筛选提供技术基础。

3. 加大产学研结合力度，与企业联合实施科技成果转化，加强科技成果转移转化能力建设。

4. 举办全国性 HCoV 防控、检测培训班，专家现场手把手指导，提高我国基层疾控和医院对新型 HCoV 的发现及检测能力。

本项目产生多项技术成果，发表中、英文论文超百篇，代表论文发表在 Immunity、Sci Immunol、mBio 等高水平期刊，同时获得专利授权二项，实现成果转化一项。

MERS-CoV 核酸检测技术转予中山大学达安股份有限公司，合作研制了国内唯一获批上市的 MERS-CoV 核酸测试剂，极大地提高了全国疾控、医疗机构 MERS-CoV 监测、检测工作效率，保障应急防控任务的完成。

2015 年我国成功应对输入 MERS 疫情为本项目的应用范例，率先确诊 MERS 输入病例并完成其全基因组序列测定分析，成功阻断 MERS 病例在中国的传播；先于韩国确定 MERS-CoV 感染来源和分子变异事件，第一时间与 WHO 分享；成功分离 MERS-CoV 病毒株，建立通用小鼠感染模型，为制定疫情防控策略提供了科学依据。

撰写 MERS-CoV 实验室检测指南、举办全国性培训班，科普 HCoV 背景知识及研究进展，推广核酸检测技术，极大地加强了我国基层疾控和医院对 HCoV 的认知，提高了新型 HCoV 检测能力。

该项目的实施不仅每年为上万赴中东朝觐人员及 MERS 疫情输入排查提供技术保障，也为项目组在 2019 新冠疫情病原发现、鉴定和科学防控成就的取得奠定了技术基础。

创新点 1.

成功建立系统的高致病性人冠状病毒快速识别技术，包括全基因组测序、分子检测、病毒分离、血清学检测技术，在应对突发疫情时可以迅速完成病原的鉴定，包括：

1) 率先建立呼吸道标本的宏基因组测序技术（附件 4-8），呼吸道标本中获取 HCoV-NL63 全基因组的一代测序技术（附件 4-12），72 小时内从呼吸道样本获得 MERS-CoV 全基因组序列的一代、二代测序技术（附件 4-9、4-20）。

2) 成功分离 MERS-CoV 病毒株 ChinaGD01（附件 12-1），也是国内实验室首次分离 MERS-CoV 病毒株；首次在国内建立 HAE 病毒分离体系，获得 HCoV-HKU1 等本

土 HCoV 分离株（附件 4-17）。

3) 首家研发快速、灵敏、特异的 HCoV 核酸的 real time RT-PCR 检测方法（附件 4-14、4-15、4-19）。

4) 率先建立了基于灭活 MERS-CoV 颗粒及重组抗原的 ELISA、ppNT 和 PRNT 检测技术（附件 4-3、4-13、4-18）。

创新点 2.

成功建立高致病性 HCoV 应急阻断防控技术平台，包括多技术路线的疫苗研发体系和高通量的冠状病毒药物筛选平台，为新型冠状病毒疫苗的研制及药物筛选提供技术基础。

1) 首次阐明了 MERS-CoV 康复者的淋巴细胞特异性反应以及免疫反应与临床症状之间的关联性，全面解析了气道中病毒特异性 CD4+T 细胞的保护作用机制，填补了目前 MERS 免疫反应研究空白（附件 4-1、4-2）。首次发现 MERS-CoV 的 M、ORF 4a、ORF 4b 和 ORF 5 蛋白是有效的干扰素拮抗剂（附件 4-4、4-7）。

2) 率先建立了 MERS-CoV 疫苗研发体系，基于全长棘突蛋白(S)的 Ad5 和 Ad41 重组载体疫苗单针肌肉免疫能诱发中和抗体和细胞免疫反应（附件 4-6）；灭活苗保护效果优于 S 蛋白苗（附件 4-10）；rNTD 具有较强免疫原性，能诱发免疫保护（附件 4-11）；S 的 736-761 肽能诱发强的中和抗体效应（附件 4-16）。

3) 在国内首次构建了含 Rluc 报告基因的重组病毒 rOC43-ns2DelRluc，并建立了细胞模型和可视化冠状病毒活体成像小鼠动物模型（附件 1-1、4-5），可用于高通量广谱抗 HCoV 药物筛选和致病机制研究。

4) 建立了从临床感染病人 PBMC 中筛选高特异性人源单抗的技术平台，利用 MERS-CoV 输入病例 PBMC 筛选获得多个具有较好应用前景的人源单抗（附件 1-2，专利）。

四、主要支撑材料目录（被引用论文题目及作者）

1. Zhao, JC; Zhao, JX; Mangalam, AK; Channappanavar, R; Fett, C; Meyerholz, DK; Agnihothram, S; Baric, RS; David, CS; Perlman, S. Airway Memory CD4(+) T Cells Orchestrate Protective Immunity against Emerging Human Respiratory Coronaviruses. *Immunity*. 2016; 44(6): 1379-1391.
2. Zhao, JC; Alshukairi, AN; Baharoon, SA; Ahmed, WA; Bokhari, AA; Nehdi,

- AM; Layqah, LA; Alghamdi, MG; Al Gethamy, MM; Dada, AM; Khalid, I; Boujelal, M; Al Johani, SM; Vogel, L; Subbarao, K; Mangalam, A; Wu, CR; Ten Eyck, P; Perlman, S*; Zhao, JC*. Recovery from the Middle East respiratory syndrome is associated with antibody and T-cell responses. *Science Immunology*. 2017; 2(14): eaan5393.
3. Wang, WL; Wang, HJ; Deng, Y; Song, T; Lan, JM; Wu, GZ; Ke, CW; Tan WJ. Characterization of anti-MERS-CoV antibodies against various recombinant structural antigens of MERS-CoV in an imported case in China. *Emerging Microbes & Infections*. 2016; 5(11): e113.
 4. Yang, Y; Zhang, L; Geng, HY; Deng, Y; Huang, BY; Guo, Y; Zhao, ZD; Tan, WJ. The structural and accessory proteins M, ORF 4a, ORF 4b, and ORF 5 of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) are potent interferon antagonists. *Protein & Cell*. 2013; 4(12): 951-61.
 5. Shen, L; Yang, Y; Ye, F; Liu, GS; Desforages, M; Talbot, PJ; Tan, WJ*. Safe and sensitive antiviral screening platform based on recombinant human coronavirus OC43 expressing the luciferase reporter gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016; 60(9): 5492-5503.
 6. Guo, X; Deng, Y; Chen, H; Lan, JM; Wang, W; Zou, XH; Hung, T; Lu, ZZ; Tan, WJ. Systemic and mucosal immunity in mice elicited by a single immunization with human adenovirus type 5 or 41 vector-based vaccines carrying the spike protein of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Immunology*. 2015; 145(4): 476-84.
 7. Yang, Y; Ye, F; Zhu, N; Wang, WL; Deng, Y; Zhao, ZD; Tan, WJ. Middle East respiratory syndrome coronavirus ORF4b protein inhibits type I interferon production through both cytoplasmic and nuclear targets. *Science Reports*. 2015; 5: 17554.
 8. Wang, Y; Zhu, N; Li, Y; Lu, R; Wang, H; Liu, G; Zou, X; Xie, Z; Tan, W. Metagenomic analysis of viral genetic diversity in respiratory samples from children with severe acute respiratory infection in China. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22(5):458. e1.
 9. Wang, YQ; Liu, D; Shi, WF; Lu, RJ; Wang, WL; Zhao, YJ; Deng, Y; Zhou,

- WM; Ren, HG; Wu, J; Wang, Y; Wu, GZ; Gao, GF; Tan, WJ. Origin and possible genetic recombination of the Middle East respiratory syndrome coronavirus from the first imported case in China: phylogenetics and coalescence analysis. *mBio*. 2015; 6(5): e01280–15.
10. Deng, Y; Lan, JM; Bao, LL; Huang, BY; Ye, F; Chen, YZ; Yao, YF; Wang, WL; Qin, C; Tan, WJ. Enhanced protection in mice induced by immunization with inactivated whole viruses compare to spike protein of middle east respiratory syndrome coronavirus. *Emerging Microbes & Infections*. 2018; 7:60.
 11. Lan, JM; Yao, YF; Deng, Y; Hu, YW; Bao, LL; Huang, BY; Yan, JH; Gao, GF; Qin, C; Tan, WJ. The recombinant N-terminal domain of spike proteins is a potential vaccine against Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection. *Vaccine*. 2017; 35(1): 10–18.
 12. Geng, HY; Cui, LJ; Xie, ZD; Lu, RJ; Zhao, L; Tan, WJ. Characterization and complete genome sequence of human coronavirus NL63 isolated in China. *Journal of Virology*. 2012; 86(17): 9546–9547.
 13. Wang, WL; Wang, HJ; Deng, Y; Song, T; Lan, JM; Wu, GZ; Ke, CW; Tan, WJ. Serological study of an imported case of middle east respiratory syndrome and his close contacts in China, 2015. *Biomedical and Environmental Science*. 2016; 29(3): 219–223.
 14. Niu, PH; Shen, J; Zhu, N; Lu, RJ; Tan, W. Two-tube multiplex real-time reverse transcription PCR to detect six human coronaviruses. *Virologica Sinica*. 2016; 31 (1): 85–88.
 15. Lu, RJ; Yu, XY; Wang, W; Duan, XJ; Zhang, LL; Zhou, WM; Xu, J; Xu LJ; Hu, Q; Lu JX; Ruan, L; Wang, Z; Tan, WJ. Characterization of human coronavirus etiology in Chinese adults with acute upper respiratory tract infection by real-time RT-PCR assays. *PLoS One*. 2012; 7(6): e38638.
 16. Yang, Y; Deng, Y; Wen, B; Wang, HJ; Meng, X; Lan, JM; Gao, GF; Tan, WJ. The amino acids 736–761 of the MERS-CoV spike protein induce neutralizing antibodies: implications for the development of vaccines and antiviral agents. *Viral Immunology*. 2014; 27(10): 543–550.

17. 朱娜, 牛培华, 赵彦杰, 王文, 宋敬东, 王延群, 陆柔剑, 苏崇玉, 王翀昊, 刘志东, 谭文杰。人原代呼吸道上皮细胞体系分离人冠状病毒 HKU1 的方法及其复制特点。中华实验和临床病毒学杂志, 2015; 29(1): 80-82。
18. 王文玲, 黄保英, 王慧娟, 赵莉, 陆柔剑, 朱娜, 邓瑶, 谭文杰。基于 Avicel-结晶紫染色空斑的中东呼吸综合征冠状病毒感染滴定与中和抗体检测方法。中华微生物学和免疫学杂志 2017; 37(1): 62-67。
19. 牛培华, 陆柔剑, 蓝佳明, 刘高山, 王文玲, 谭文杰*。中东呼吸综合征冠状病毒多重荧光定量 RT-PCR 检测技术的建立。病毒学报 2016; 32(3): 349-354。
20. 陆柔剑, 邹丽荣, 王延群, 赵彦杰, 周为民, 武婕, 王文玲, 武桂珍, 柯昌文, 谭文杰。中国首例输入性中东呼吸综合征冠状病毒结构基因与附属基因的序列分析。病毒学报 2015; 31(4): 333-340

五、主要完成人及完成单位情况

排名	姓名	单位
1	谭文杰	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
2	赵金存	广州医科大学附属第一医院
3	王文玲	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
4	邓瑶	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
5	陆柔剑	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
6	王延群	广州医科大学附属第一医院
7	朱娜	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
8	黄保英	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
9	耿合员	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
10	赵莉	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
11	王慧娟	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
12	杨扬	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
13	蓝佳明	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
14	申梁	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
15	牛培华	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所

六、主要完成单位及排名情况

排名	单位名称
1	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
2	广州医科大学附属第一医院