

2020 年山东省科学技术进步奖提名项目公示内容

一、项目名称

猪圆环病毒2型基因工程亚单位疫苗技术开发与推广

二、提名单位意见

该项目通过多年全国范围的流行病学调查及相关数据分析，探明了在我国 2000 至 2013 年多地的流行病学特征和趋势，阐明了 PCV2 相关基因在病毒感染宿主细胞中的作用机理，为 PCV2 防控方向的确定、致病机制的阐明和药物靶点的探寻奠定了基础。首次采用大肠杆菌表达体系高效表达出可自装配成 VLPs 的 PCV2 Cap 蛋白，突破了原核表达载体只表达包涵体的技术瓶颈。该蛋白结构稳定且具全面抗原提呈作用，免疫保护率较全病毒灭活疫苗提高 30%。大胆改进重组菌高密度培养和蛋白纯化工艺技术，大幅降低生产成本，产品质量稳定可靠，为全面替代高价进口疫苗实现我国猪圆环病毒 2 型的全面有效防控奠定了基础。创建了快速、科学、系统的疫苗评价技术体系，解决了疫苗评价只能依赖试验猪攻毒造成的诸多不便，保障产品质量的安全性、有效性和稳定性。该成果获得发明专利授权 3 项，新兽药注册证书和生产批准文号各 1 项，制定规程和标准各 1 项，发表文章 10 篇，先后获得青岛市科技进步一等奖和山东省专利一等奖各 1 项。成果现推广到全国 30 个省（市、自治区），获得多家大型养殖企业认可，连续 4 年产销量同类产品第一，近 3 年销售额为 3.74 亿元，为我国养猪业健康稳定发展提供有力的技术支撑，带动了行业的技术进步，促进了新旧动能转换，引领了行业参与国际竞争，提升了国有品牌影响力。

提名该项目为山东省科技进步奖一等奖。

三、项目简介

我国是养猪大国，疫病给养猪业造成巨大经济损失。猪圆环病毒 2 型（以下简称 PCV2）主要破坏猪免疫系统，使猪易发继发、混合感染，引起生产性能大幅下降或死亡，又称猪的“艾滋病”。由于该病传入我国之初一度缺乏广泛的病流行病学监测数据和致病机理研究，此后研制的国产全病毒灭活疫苗保护率不高且未能建立科学、简便的评价体系，进口基因工程疫苗价格高昂，使得该病传入我国十多年来一直难以实现广泛、有效防控。围绕上述问题，在农业部动物疫情防制与监测项目、国家自然科学基金等支持下，历经 10 年深入研究，获得了以 PCV2 流行演化规律、致病机制为基础，以自主研发 PCV2 基因工程疫苗产品为核心技术重要成果。本项目主要有以下四大突破。

1. 揭示了我国 PCV2 流行病学特点及毒株遗传演化规律，阐明了 PCV2 表达相关蛋白在病毒感染宿主细胞中的作用机理。在全国系统开展流行病学调查监测，阐明了猪圆环病毒的感染范围、流行特征和主要基因型分布等流行规律，发现了基因 2b 亚型为主要流行类型和 Cap 蛋白免疫反应机理及 Rep4、Rep5 其他蛋白及在病毒感染中的作用，为本病的疫苗毒株选择、毒株改造提供了理论基础和技术支撑。

2. 构建基因工程菌，实现了 PCV2Cap 蛋白可溶性表达及类病毒粒子(VLPs)自装配。通过定向改造 PCV2 Cap 蛋白基因，成功构建可溶性表达 PCV2 Cap 蛋白的大肠杆菌重组工程菌。该重组工程菌可高效表达 PCV2 Cap 蛋白并自我装配成 VLPs。VLPs 具有天然

PCV2 结构形态和抗原提呈作用，无感染性，具有安全性好和免疫效果确实等优势。大肠杆菌高效表达可溶性蛋白并自装配成 VLPs 为国际首创。

3.攻克 PCV2 Cap 蛋白抗原高效、规模化制备及纯化工艺。优化细菌培养工艺使目的蛋白表达效率比常规大肠杆菌高 3 倍以上。采用高压均质法及硫酸铵溶液梯度提取与双相萃取相结合的规模化蛋白提取纯化工艺，蛋白纯化效率是传统硫酸铵沉淀法的 40 倍，内毒素去除率达 95%以上。据此制定的规模化标准工艺大大提高疫苗生产效率及安全性，降低生产成本，为成果产业化奠定基础。

4.建立了 PCV2 基因工程疫苗评价体系。建立病毒三重 PCR 检测方法、成品疫苗中抗原蛋白解离方法、抗原含量及纯度检测技术和标准、替代动物效检模型、疫苗抗原含量与疫苗免疫后抗体水平及攻毒保护相关性标准和其它相关检测技术等 PCV2 疫苗评价技术，抗原定量检测技术标准为国际首创。成功研制 PCV2 ELISA 抗体检测试剂盒，用于疫苗免疫后抗体水平评价。试剂盒敏感性、特异性和可重复性较好，已申报新兽药注册，并通过初审。

该成果已获授权发明专利 3 项，新兽药注册证书 1 项，发表论文 10 篇，制定生产及检验试行规程和质量标准各 1 项。获山东省专利一等奖、青岛市科技进步一等奖各 1 项，2015~2018 年中国生猪业产品榜“最具影响力圆环苗”等荣誉。该项目成果转化以来近 3 年新增销售额 3.74 亿元，新增利润 2.33 亿元，新增税收 3257.19 万元。2016-18 年市场排名第一，19 年在我国同类产品中批签发数量第一。该成果推广应用，有效降低 PCV2 发病率，降低养殖损失，提高养殖效益。

四、客观评价

1.科技奖励

(1) 2017 年获得青岛市科技进步一等奖。

(2) 2018 年获得山东省专利一等奖。

2.荣誉称号

(1) 2016 年易邦牌猪圆环病毒 2 型疫苗获得青岛市人民政府颁发的“青岛名牌”荣誉称号。

(2) 青岛易邦生物工程有限公司猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗“易圆净”2015~2018 年连续 4 年获得由南方报业传媒集团、南方农村报、《农财宝典》、新牧网联合评选的《中国生猪业产品榜最具影响力圆环苗》。

(3) 2018 年度山东畜牧业博览会优质产品投入品类金奖荣誉称号。

3.知识产权评价

已获得与成果核心技术密切相关的授权发明专利 2 项，国家新兽药注册证书 1 件，疫苗生产及检验规程和质量标准各 1 项（中华人民共和国农业部公告第 2168 号），兽药生产批准文号批件 1 项，发表论文 10 篇(SCI 论文 3 篇)。

4.科技查新评价

2019 年 3 月委托山东省科学院进行国内外查新，通过该项目三大创新分 4 个查新点进行国内外查新（报告编号：201915310512），通过检索国内外的专利、研究论文、学位论文、科技成果、网络报道等文献库，截止 2019 年 4 月 4 日，该成果研究的所有科技创新内容在国内外未见相同文献报道。

5.科技成果标准化评价

2015 年 7 月 6 日，委托青岛市科技成果标准化评价机构对《猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗制备及应用》成果进行评价。该成果在生物医药与医疗器械领域，利用自

主创新技术，取得了猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗制备及应用的成功。该成果技术成熟度为 13 级，技术创新度为 4 级，技术先进性为 7 级，经济效益较好，建议该成果整体水平达到国际领先水平。

6.第三方评价

2014 年 8 月 29 日，经我国兽用生物制品的最高监督管理机构中国兽医药品监察所进行检验鉴定（报告编号：JDS170338），成果产品完全符合申报标准。其中，效力检验部分抗原含量检测等关键技术指标的检测结果符合并超过标准规定。

7.用户评价

江山市尼润畜牧有限公司、吉安泰之和牧业有限公司、南京华和生物科技有限公司等 9 家应用单位的评价：免疫保护率较好，大幅降低了猪传染病的发病率，提高了猪的生产性能，降低了经济损失，提高了经济效益，可广泛推广。

8.其他评价

农业部主管报刊《中国畜牧兽医报》于 2014 年 12 月 16 日 03 版刊发《猪圆环病毒 2 型亚单位疫苗国产化防治费用降 2/3》文章：以前，对付猪圆环病毒效果较好的疫苗全部依赖进口。不过这种市场的格局已经被打破。由青岛易邦生物工程有限公司生产的猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗，率先建立猪圆环疫苗评价体系，引领行业标准；表达病毒样颗粒抗原（VLPs/Cap），抗原性好，能高效诱导机体产生良好的体液免疫与细胞免疫。注射方便，无副反应，只需一针，保护至出栏。经过测试，与进口同类疫苗没有差异，而防治费用可降低 2/3。国产化疫苗的推广将减轻农户负担，促进生猪养殖业的发展。（摘自《中国畜牧兽医报》（2014 年 12 月 16 日 03 版））

五、应用情况

主要应用单位情况表

序号	单位名称	应用的技术	应用对象及规模	应用起止时间	单位联系人/电话
1	吉安泰之和牧业有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 39.87 万头	2018.01-2019.10	李坤 13969849259
2	南京华和生物科技有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 119.59 万头	2017.01-2019.10	梁俊超 18764216972
3	广西博白县科辅畜牧有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 56.78 万头	2017.01-2019.10	王辉之 13305321983
4	哈尔滨市康卓尔生物科技有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 90.63 万头	2017.01-2019.10	胡继明 13969638654
5	江山市尼润畜牧有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 72.30 万头	2017.01-2019.10	杜恩忠 15657328357
6	石家庄迎辉商贸有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 76.97 万头	2018.01-2019.10	张鹏 15053220381

7	西安聚元达牧业有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 17.64 万头	2018.01-2019.10	于志强 18031121851
8	长春顺牧农牧有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 37.54 万头	2017.01-2019.10	崔家冬 18943682266
9	邢台诸康生物科技有限公司	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	猪，应用规模为 184.47 万头	2017.01-2019.10	赵亚琴 15131930605

应用概述：

该产品于 2014 年 10 月获得国家新兽药注册证书（附件 8），2014 年 11 月取得批准文号批件（附件 5-1,5-2），上市至今已生产 1.22 亿头份，近三年累计销售额 3.74 亿元，免疫猪 8367.82 万头份。已在黑龙江、吉林、河北、山西、陕西、江苏、广西等全国各地多个省市养殖企业、养殖户中推广应用，其中吉安泰之和牧业有限公司、广西博白县科辅畜牧有限公司、江山市尼润畜牧有限公司等 9 应用单位的推广应用反馈，免疫保护率比采用全病毒灭活苗的提高 35%，较之前使用的国产、进口圆环疫苗性价比更高，不仅降低了猪圆环及相关动物疫病的发生率，应用场的猪的生长性能明显提高，降低了疫病造成的经济损失，提高了经济效益。

六、主要知识产权证明目录

（提名书原文）

知识产权 （标准） 类别	知识产权 （标准）具 体名称	国家 （地 区）	授权号 （标准 编号）	授权 （标准 发布） 日期	证书编号 （标准批 准发布部 门）	权利人 （标准 起草单 位）	发明人 （标准 起草 人）	发明专 利（标 准）有 效状态
发明 专利	猪圆环病毒 II 型基因工程亚单位疫苗及其制备方法和应用	中国	ZL201410173067.5	2016-03-23	ZL201410173067.5	青岛易邦生物工程有限公司	荣俊； 杜元钊；范根成； 韩建文；蔡联燊	有效
新兽药注册证书	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗	中国	兽药生字（2014）150131096	2014-10-23	兽药生字（2014）150131096	青岛易邦生物工程有限公司	/	有效
发明专利权	一种用于检测猪圆环病毒 2 型的荧光免疫试剂盒	中国	ZL201310404814.7	2015-2-25	证书号第 1593274 号	青岛易邦生物工程有限公司	张恒； 邹敏； 范根成；徐保娟； 刘蕾；	有效

							胡潇； 申洪银；陶晓珊	
发明专利权	一种猪圆环病毒 2 型毒株及其应用	中国	ZL 2013 1 040412 2.2	2015-1-7	证书号第 1559223 号	青岛易邦生物工程有	邹敏； 张恒； 刘新文；申洪银； 宫晓； 刘蕾； 邹桂荣；韩乃君	有效
制造及检验规程及质量标准	猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗制造及检验试行规程及质量标准	中国	中华人民共和国农业部公告第 2168 号	2014-10-23	中华人民共和国农业部 2168 号	青岛易邦生物工程有	范根成；荣俊；杜元钊； 蔡联荣；郭伟伟； 韩建文；刘蕾； 张青；张志；郭抗抗	有效
论文	我国猪圆环病毒病的流行病学分析	中国	10. 396 9/j. is sn. 100 5- 944X. 2 015. 11 . 002	2015-11-20	/	中国动物卫生与流行病学中心	张志；孙启峰； 张美晶；吴发兴； 刘爽；董雅琴； 邵卫星；李晓成； 王树双	有效
论文	2011 年我国猪病流行特征分析	中国	10. 396 9/j. is sn. 167 3- 5358. 2 012. 02 . 021	2012-02-25	/	中国动物卫生与流行病学中心	张志；刘爽； 吴发兴；郑辉； 张燕霞； 李晓成	有效

论文	A Host Factor GPNMB Restricts Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Replication and Interacts with PCV2 ORF5 Protein	瑞士	10.3389/fmicb.2018.03295	2019-01-08	/	西北农林科技大学	Kangkan g Guo, Lei Xu, Mengmeng Wu, Yufeng Hou, Yanfen Jiang, Jiangman Lv, Panpan Xu, Zhixin Fan, Ruiqi Zhang, Fushan Xing, Yanming Zhang	有效
论文	The ORF4 protein of porcine circovirus type 2 antagonizes apoptosis by stabilizing the concentration of ferritin heavy chain through physical interaction	ENGLAND (英国)	10.1099/jgv.0.000472	2016-07-06	/	西北农林科技大学	Lv, Qizhuang; Guo, Kangkan g; Zhang, Guangfang; Zhang, Yanming	有效

论文	Enhanced protective immune response to PCV2 adenovirus vaccine by fusion expression of Cap protein with InvC in pigs	韩国	10.4142/jvs.2019.20.e35	2019-08-01	/	西北农林科技大学	Zhencang Zhang ; Yan Luo ; Yanning Zhang ; Kangkan Guo	有效
----	--	----	-------------------------	------------	---	----------	--	----

七、主要完成人情况

（每名完成人一张表格，按顺序填写）

姓 名	范根成	排 名	1
技术职称	研究员	行政职务	常务副总经理
工作单位	青岛易邦生物工程有限公司		
对本项目技术创造性贡献： 在本项目中主要负责项目总体设计、协调、统筹、指导，组织完成了实验室研究、中试生产、临床试验，新兽药注册材料编撰申报，保障了整个项目的顺利实施，推动了生产和产品质量评估的标准化和整个项目的产业化。投入工作量占本人工作量的 40%，对创新点 2、3 做出了创造性贡献。在创新点 2 中，首创杂蛋白及内毒素去除工艺，支撑材料：核心发明专利 1 项，（附件 1）；在创新点 3 中，设计了产品评价方案并组织验证，主持制定了生产检验规程和质量标准，负责新兽药注册材料编写、审定，支撑材料：核心发明专利 1 项，规程、标准 2 项，论文 1 篇。			

姓 名	荣俊	排 名	2
技术职称	教授	行政职务	无
工作单位	长江大学		
对本项目技术创造性贡献：			

完成了本项目的基础和最具独创性的研究。对该项目的创新点 1、2、3 均做出了创造性贡献，投入该项目研究工作量占本人工作量的 80%。在创新点 1 中，完成了猪圆环病毒 2 型 Cap 蛋白基因的剪裁、突变修饰和拼接，构建了基因工程菌，使其表达的目的蛋白可溶且自装配成 VLPs，支撑材料：核心专利 1 项，论文 1 篇；在创新点 2 中，参与了目的蛋白纯化工艺优化，支撑材料：核心专利 1 项；在创新点 3 中，在产品质量评估中参与效检动物模型的建立，支撑材料：论文 2 篇，规程、标准 2 项。

姓 名	杜元钊	排 名	3
技术职称	研究员	行政职务	董事长兼总经理
工作单位	青岛易邦生物工程有限公司		
对本项目技术创造性贡献：			
在该项目中主要负责项目的产业化关键技术研究，负责制定生产工艺研究方案，指导项目的产业化转化。在项目的推广过程中指导技术服务人员完成了后期用户数据收集与分析，对整个项目的顺利转化起到了重要作用。投入该项目研究工作量占本人工作量的 30%。对该项目的创新点 2、3 做出了创造性贡献，在创新点 2 中，参与设计了猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗的规模化生产工艺、蛋白纯化工艺去除工艺，支撑材料：核心发明专利 1 项；在创新点 3 种，指导研究人员完成疫苗抗原蛋白的解离，支撑材料：规程、标准 2 项。			

姓 名	张志	排 名	4
技术职称	副研究员	行政职务	/
工作单位	中国动物卫生与流行病学中心		
对本项目技术创造性贡献：			
对该项目的创新点 1 做出了创造性贡献，投入该项目研究工作量占本人工作量的 40%。负责 PCV2 的流行病学调查、监测及防治技术的研究。建立了 PCV2 普通 PCR 及荧光定量 PCR 诊断方法，为 PCV2 的病原学监测提供了方法基础；对 PCV2 临床发病情况及疫苗临床使用情况进行调查，掌握了 PCV2 的流行强度、流行范围、分布特点及疫苗种类、生产厂家及临床适用性等；对 PCV2 分子流行病学特点进行持续跟踪，阐明了近年来 PCV2 流行毒株的分子演化规律，为圆环亚单位疫苗质量标准的建立提供了参考意见。支撑材料：文章 2 篇，规程、标准 2 项。			

姓 名	郭抗抗	排 名	5
技术职称	副教授	行政职务	/
工作单位	西北农林科技大学		
对本项目技术创造性贡献：			

主要负责对 PCV2 编码蛋白 ORF4 和 ORF5 在病毒感染中的作用和机制进行了深入研究，发现了 ORF4 抑制 PCV2 诱导感染细胞细胞凋亡的作用机制；ORF5 诱导宿主细胞内质网应激和未折叠蛋白反应的途径、与 ORF5 互作的细胞蛋白 GPNMB 抑制 PCV2 复制增殖的机制，并对腺病毒表达的 PCV2Cap 基因免疫作用进行了评价。为进一步通过基因工程技术改造病毒、宿主细胞，筛选高滴度增殖 PCV2 病毒株和细胞株提供理论基础，为圆环亚单位疫苗质量标准蛋白检测方法的建立提供了参考意见。支撑材料：SCI 论文 5 篇，规程、标准 2 项。

姓 名	蔡联燊	排 名	6
技术职称	兽医师	行政职务	无
工作单位	青岛易邦生物工程有限公司		
对本项目技术创造性贡献：			
负责本项目产业化关键生产工艺的研究，突破了产业化关键技术瓶颈，为项目的顺利投产提供了有力保障。投入该项目研究工作量占本人工作量的 90%。对该项目的创新点 3、4 做出了创造性贡献，在创新点 3 中，具体完成了完成了高效、低成本、工业生产级的蛋白纯化工艺和内毒素去除工艺的开发，极大地提高产品安全性。支撑材料：核心发明专利 1 项；创新点 4 中，参与制定、验证了 PCV2 亚单位疫苗的工业化生产规程和质量标准。支撑材料：规程、标准 2 项。			

姓 名	郭伟伟	排 名	7
技术职称	兽医师	行政职务	副经理
工作单位	青岛易邦生物工程有限公司		
对本项目技术创造性贡献： 负责成品抗原解离及抗原精确定量检测方法建立，相关保障了产品的质量可控性和稳定性。投入该项目研究工作量占本人工作量的 80%。对该项目的创新点 4 做出了创造性贡献，完成了 PCV2 亚单位疫苗中抗原蛋白解离方法，制定了蛋白精确定量检测方法 BCA 法的标准操作流程，建立了 PCV2 亚单位疫苗半成品蛋白抗原量化检测方法及半成品疫苗中 Cap 蛋白含量与琼扩效价的相关性研究及 Cap 蛋白的特异性鉴定。支撑材料：论文 1 篇，规程、标准 2 项。			

姓 名	匡红艳	排 名	8
技术职称	正高级	行政职务	/
工作单位	长江大学		
对本项目技术创造性贡献：			

参与了本项目 PCV2 疫苗评价方法的研究，为规程和质量标准的建立奠定了基础。对该项目的创新点 4 做出贡献，投入该项目的工作量占本人工作量的 60%。主要参加猪圆环病毒 2 型疫苗豚鼠免疫效检模型的构建研究，完成 PCV2 Cap 蛋白的诱导表达和表达蛋白的纯化。支撑材料：论文 1 篇。

姓 名	刘蕾	排 名	9
技术职称	兽医师	行政职务	副经理
工作单位	青岛易邦生物工程有限公司		
对本项目技术创造性贡献： 研究并建立了 PCV2 亚单位疫苗效力验证方法，参与了规程和标准的制定，对产品的产业化转化做出了重要贡献。对该项目的创新点 4 中做出了创造性贡献，投入该项目研究工作量占本人工作量的 80%。在创新点 4 中，完成了疫苗检测方法中免疫组化方法的条件摸索和建立，参与建立了 PCV2 免疫荧光方法的建立，完成了猪圆环病毒 2 型单因子血清制备过程中的疫苗制备、检验、免疫及采集血液，单因子血清的鉴定。支撑材料：核心专利 1 项，规程、标准 2 项。			

姓 名	韩建文	排 名	10
技术职称	兽医师	行政职务	总工程师
工作单位	青岛易邦生物工程有限公司		
对本项目技术创造性贡献：			
主要参与并负责 PCV2 亚单位疫苗生产工艺的优化，对疫苗质量标准的制定和产业化转化做出了重要贡献。投入该项目研究工作量占本人工作量的 70%。对创新点 3、4 做出了贡献。在创新点 3 中研究了 E. coli. BL21/pET28a PCV2 MNd X Cap 基因工程菌批培养规模、培养密度与蛋白表达效率之间的关系，绘制了工业化大规模生产条件下的工程菌生长曲线。支撑材料：授权核心专利 1 篇。创新点 4 中，参与制定、验证了 PCV2 亚单位疫苗的工业化生产规程和质量标准。支撑材料：规程、标准 2 项。			

姓 名	张青	排 名	11
技术职称	助理兽医师	行政职务	业务综合部部长
工作单位	青岛易邦生物工程有限公司		
对本项目技术创造性贡献：			

主要参与了 PCV2 亚单位疫苗效力检验方法的研究，参与了规程和标准的制定，建立了一系列了简便、易于操作、具独创性的方法，保障了产品的质量。对该项目创新点 3 项做出创造性贡献，投入该项目研究工作量占本人工作量的 50%。在创新点 4 中，参与建立了 PCV2 疫苗的解离方法及疫苗评价标准制定和评估；半成品 Cap 蛋白含量琼扩方法标准操作流程的建立，在该方法规范化方面起到重要作用。支撑材料：规程、标准 2 项。

姓 名	刘爽	排 名	12
技术职称	实验师	行政职务	/
工作单位	中国动物卫生与流行病学中心		
对本项目技术创造性贡献：			
对该项目的创新点 1 做出了创造性贡献，投入该项目研究工作量占本人工作量的 40%。负责 PCV2 的病原学监测，掌握了临床健康猪群 PCV2 的隐性感染率，临床高热、呼吸道疾病症候群感染模型及 PCV2 的混合感染情况；负责免疫猪群的血清学检测，掌握了 PCV2 的免疫抗体水平。支撑材料：论文 2 篇。			

八、主要完成单位及创新推广贡献

（每个完成单位一张表格，按顺序填写）

单位名称	青岛易邦生物工程有限公司	排 名	1
对本项目科技创新和应用推广情况的贡献：			
青岛易邦生物工程有限公司是专业从事兽用生物制品研发、生产、销售和技术服务的高新技术企业，有国家级企业技术中心，核心实验室被认定为动物基因工程疫苗国家重点实验室。是该项目完成单位之一，在该项目开发过程中改造猪圆环病毒 2 型 Cap 基因，使制备的重组大肠杆菌高效表达出具有天然结构的抗原蛋白并自装配成类病毒粒子，制备具有全面抗原提呈作用的亚单位抗原。开展了针对大肠杆菌的高密度发酵培养工艺、蛋白纯化工艺的研究，大幅度降低了生产成本，提高生产效率、产品安全性。研究并制定成品疫苗中抗原蛋白解离方法、抗原含量及纯度检测技术和标准、替代动物效检模型、疫苗抗原含量与疫苗免疫后抗体水平及攻毒保护相关性标准和其它相关检测技术等疫苗效力评价技术，形成科学、系统的猪圆环病毒 2 型灭活疫苗评价技术标准体系。成功研制国内首个具有自主知识产权的 PCV2 亚单位疫苗，获得农业部颁发的新兽药注册证书和兽药生产批准文号批件，发布产品生产检验规程和质量标准。通过公司的积极宣传和大力推广，该项目成果转化以来总销售额达 5.61 亿元，近 3 年新增销售额 3.74 亿元，新增利润 2.33 亿元，新增税收 3257.19 万元，免疫猪约 1.22 亿头份，通过该项目的推广应用，使应用该成果的养殖场猪圆环病毒病 2 型防控成本进一步下降，圆环 2 型阳性率明显降低，为该病的有效防控和生猪养殖业健康发展做出重要贡献。			

单位名称	长江大学	排 名	2
对本项目科技创新和应用推广情况的贡献：			

长江大学是湖北省重点建设的骨干高校，是湖北省“国内一流大学建设高校”，也是湖北省人民政府与中国石油天然气集团公司、中国石油化工集团公司、中国海洋石油总公司共建和湖北省人民政府与国家农业部共建的高校。是该项目的参与单位之一。项目的主要研究者之一，荣俊教授是长江大学的二级教授，同时也是青岛易邦生物工程有限公司的客座研究员和动物基因工程疫苗国家重点实验室首席科学家。荣俊教授带领青岛易邦生物工程公司和长江大学的联合研究团队完成了猪圆环病毒 2 型病毒 DNA 提取和基因克隆，构建成功猪圆环病毒 2 型大肠杆菌表达工程菌。该工程菌经过诱导表达后，能够合成可溶性、有抗原活性的猪圆环病毒 2 型 Cap 蛋白，且在表达过程中该蛋白能够自我装配成结构稳定的猪圆环病毒 2 型的病毒样颗粒。该蛋白可用做猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗的抗原蛋白，也能用做猪圆环病毒 2 型 ELISA 抗体检测试剂盒的包被抗原蛋白。长江大学的研究团队完成了猪圆环病毒 2 型 Cap 蛋白的精纯化研究，与青岛易邦公司合作完成了猪圆环病毒 2 型 ELISA 抗体检测试剂盒的研制工作。参与青岛易邦生物工程有限公司合作完成猪圆环病毒 2 型替代实验动物模型的研究。

单位名称	中国动物卫生与流行病学中心	排 名	3
对本项目科技创新和应用推广情况的贡献： 中国动物卫生与流行病学中心是承担国家重大动物疫病的流行病学调查、诊断、监测及防控技术研究等工作的国家级动物卫生机构，隶属于农业农村部，是国家实施兽医行业管理的技术支撑单位。中国动物卫生与流行病学中心是该项目完成单位之一，每年都在全国各省持续开展主要猪群疫病流行病学调查、采样检测，分子流行病学监测等工作，2007-2018 年间，共检测样品 28420 份屠宰场样品，32101 份发病猪场样品，均进行了猪圆环病毒的检测，积累了丰富的数据，充分掌握了 PCV2 的流行强度，时间、空间、群间分布规律，临床健康猪群的隐性感染状况及高热、呼吸道疾病症候群的感染模型；确定了优势流行毒株，阐明了近年来 PCV2 流行毒株的分子演化规律；掌握了规模猪场 PCV2 免疫密度、PCV2 疫苗种类、生产厂家及临床适用性等。流行病学调查与监测数据为本病的防控提供了决策参考，也为如何选用更具针对性的疫苗提供了科学依据。			

单位名称	西北农林科技大学	排 名	4
对本项目科技创新和应用推广情况的贡献： 西北农林科技大学是教育部直属、国家“985 工程”和“211 工程”重点建设高校，首批入选国家“世界一流大学和一流学科”建设高校。是该项目的参与单位之一。项目的主要研究者之一，郭抗抗是西北农林科技大学动物医学院副教授。由郭抗抗副教授负责的猪圆环病毒 2 型（PCV2）致病机理和防控技术研究团队，在该项目以 PCV2 编码蛋白 ORF4 和 ORF5 在病毒感染中的作用和机制为切入点，揭示了 ORF4 蛋白抑制 PCV2 感染细胞凋亡的分子机制，筛选到了与 ORF5 蛋白互作的宿主细胞关键蛋白，深入研究了 ORF5 蛋白诱导宿主细胞内质网应激的途径、宿主蛋白 GPNMB 抑制 PCV2 复制增殖的分子机制。西北农林科技大学研究团队通过对 PCV2 致病机制的研究，获得的研究成果为进一步通过基因工程技术改造 PCV2、宿主细胞，筛选高滴度增殖 PCV2 病毒株和细胞株提供理论基础和技术支撑。			

九、完成人合作关系说明

完成人合作关系说明

本项目（猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗的技术开发与推广）由青岛易邦生物工程有限公司在 2007 年 9 月至 2019 年 10 月期间完成，十二个主要完成人分别为范根成、荣俊、杜元钊、蔡联燊、郭伟伟、楚电峰、韩建文、刘蕾、邹敏、张恒、张青、徐保娟。

第一完成人范根成，青岛易邦生物工程有限公司常务副总，动物基因工程疫苗国家重点实验室主任。在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，在本项目中负责项目的总体设计、资源统筹、技术支持及市场推广等工作，是核心发明专利 1、2 的第三发明人，是论文 3 的第八作者，主持了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第二完成人荣俊，长江大学教授，青岛易邦生物工程有限公司技术顾问。在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，完成了项目核心技术开发和产业化转化研究，整个项目的基础和最具独创性的部分。是论文 1、2、3 的通讯作者，论文 2 的第一作者，核心发明专利 1 的第一发明人，参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第三完成人杜元钊，青岛易邦生物工程有限公司董事长，在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，在本项目中主要负责项目的产业化关键技术研究，负责制定工艺研究方案，指导项目的产业换转化。是核心发明专利 1 的第二发明人，参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第四完成人张志，中国动物卫生与流行病学中心副研究员，在 2007 年 9 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，负责 PCV2 的流行病学调查、监测及防治技术的研究。建立了 PCV2 普通 PCR 及荧光定量 PCR 诊断方法，为 PCV2 的病原学监测提供了方法基础；对 PCV2 临床发病情况及疫苗临床使用情况进行调查，掌握了 PCV2 的流行强度、流行范围、分布特点及疫苗种类、生产厂家及临床适用性等；对 PCV2 分子流行病学特点进行持续跟踪，阐明了近年来 PCV2 流行毒株的分子演化规律。

第五完成人郭抗抗，西北农林科技大学在 2014 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，在本项目中负责对 PCV2 编码蛋白 ORF4 和 ORF5 在病毒感染中的作用和机制进行了深入研究，发现了 ORF4 抑制 PCV2 诱导感染细胞细胞凋亡的作用机制；ORF5 诱导宿主细胞内质网应激和未折叠蛋白反应的途径、与 ORF5 互作的细胞蛋白 GPNMB 抑制 PCV2 复制增殖的机制。为进一步通过基因工程技术改造病毒、宿主细胞，筛选高滴度增殖 PCV2 病毒株和细胞株提供理论基础，采用腺病毒表达 PCV2Cap 蛋白并验证了其免疫作用，参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第六完成人蔡联燊，青岛易邦生物工程有限公司生产技术部一级技术人员，在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，在本项目中负责项目成果产业化的关键工艺研究，是核心发明专利 1 的第五发明人，参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第七完成人郭伟伟，青岛易邦生物工程有限公司研发中心副经理，在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，在本项目中研究并制定猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗成品疫苗中抗原精确定量检验方法，保障了产品的质量可控性和稳定性，是论文 2 的第三作者，论文 3 的第六作者，参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第八完成人匡红艳，长江大学正高级研究人员，参与了本项目 PCV2 疫苗评价方法的研究，为规程和质量标准的建立奠定了基础。对该项目的创新点 3 做出贡献，投入该项目的工作量占本人工作量的 60%。主要参加猪圆环病毒 2 型疫苗豚鼠免疫效检模型的构建研究，完成 PCV2 Cap 蛋白的诱导表达和表达蛋白的纯化。

第九完成人刘蕾，青岛易邦生物工程有限公司研发中心副经理，在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，在本项目中制定 PCV2 安效检检验方法，为疫苗的成功产业化转化做出了重要贡献。是核心发明专利 2 的第四发明人，参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第十完成人韩建文，青岛易邦生物工程有限公司生产技术部总工程师，在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，在本项目中主要负责生产规程和产品标准的研究等。是核心发明专利 1 的第四发明人，参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第十一完成人张青，青岛易邦生物工程有限公司业务综合部部长，在 2012 年 1 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，参与建立了猪圆环病毒 2 型疫苗的解离方法及疫苗评价标准制定和评估；参与了猪圆环病毒 2 型基因工程亚单位疫苗半成品 Cap 蛋白含量琼扩方法标准操作流程的建立，在该方法规范化方面起到重要作用，协助完成了免疫组化方法中切片制备程序建立及验证，参与了 MRP 细胞检验用标准株的建立。参与了猪圆环基因病毒 2 型基因工程亚单位疫苗生产及检验规程和质量标准的制定。

第十二完成人刘爽，中国动物卫生与流行病学中心畜病监测室实验师，在 2007 年 9 月至 2019 年 10 月全程参与本项目，负责 PCV2 的病原学监测，掌握了临床健康猪群 PCV2 的隐性感染率，临床高热、呼吸道疾病症候群感染模型及 PCV2 的混合感染情况；负责免疫猪群的血清学检测，获得了我国 2010 年以来 PCV2 的免疫抗体水平相关数据。

完成人合作关系情况汇总表

序号	合作方式	合作者	合作时间	合作成果	证明材料	备注
1	共同申请专利	荣俊,杜元钊,范根成,韩建文,蔡联燊	2012年1月至2019年10月	发明专利授权：猪圆环病毒Ⅱ型基因工程亚单位疫苗及其制备方法和应用（ZL 2013 1 0050003.1）	附件1	无
2	共同申请专利	范根成，刘蕾	2012年1月至2019年10月	发明专利授权：一种用于检测猪圆环病毒2型的荧光免疫试剂盒（ZL 2013 1 0404814.7）	附件3	无
3	共同完成规程、标准制定	范根成；荣俊；杜元钊；蔡联燊；郭伟伟；韩建文；刘蕾；张青；张志；郭抗抗	2012年1月至2019年10月	中华人民共和国农业部公告第2168号《猪圆环病毒2型基因工程亚单位疫苗生产及检验试行规程》、《猪圆环病毒2型基因工程亚单位疫苗质量标准》	附件17，41	无
4	论文合著	张志；刘爽	2010年1月至2019年10月	我国猪圆环病毒病的流行病学分析	附件19	无
5	论文合著	张志；刘爽	2010年1月至2019年10月	2011年我国猪病流行特征分析	附件20	无

6	论文 合著	荣俊；匡红艳	2010 年 1 月 至 2019 年 10 月	猪原环病毒 2 型衣壳蛋白含量与抗原滴度的相关性研究		
7	论文 合著	荣俊；郭伟伟	2012 年 1 月 至 2019 年 10 月	猪圆环病毒 2 型疫苗豚鼠免疫效检模型的建立		无
8	论文 合著	郭伟伟；范根成；荣俊	2012 年 1 月 至 2019 年 10 月	猪圆环病毒 2 型抗体间接 ELISA 检测方法的建立	附件 11	