the side groups, we could not pinpoint the side group positions with any confidence."

The positioning problem was solved in collaboration with Dr. I.C.P. Smith of NRC's Biophysics Section using an analytical technique known as Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance (^{13}C NMR). This method of analysis is a physical rather than a chemical technique and does not involve chemically imposed conditions that might cause these side group migrations. Basically the NMR instrument provides information about the various chemical environments of the C^{13} nucleus, and taken in conjunction with the "wet" chemistry data, it is possible to position accurately the side groups on the ring backbone. The instrument is also able to determine which of the carbon atoms participate in the chemical bonds that join the rings together to form the chain, and can distinguish between two basic bonding patterns, termed α - and β - linkages.

" ^{13}C NMR is ideal because it is not necessary to break down the molecule," says Dr. Jennings. "The polysaccharide is simply dissolved in water and the spectrum run without any chemical changes taking place. We now do the chemistry and the NMR concurrently, using the NMR spectra as a monitoring tool for the chemical work."

Using the combination of chemistry and NMR, Dr. Jennings has determined the polysaccharide structures of the six meningococcal serotypes. As well, a meningococcus unrelated to any of the known strains and containing galactosamine, a residue not found previously in the meningococcal polysaccharides, has been under study and may lead to the definition of an entirely new serogroup.

Why do these structural studies at all?

"Because we must have a means of monitoring the native state of these polysaccharides during production," says Dr. Jennings. "Knowing the correct structure provides a means of determining a vaccine's effectiveness. By simply producing NMR spectra we can tell immediately whether or not a polysaccharide has been altered."

During this study Dr. Jennings was also interested in the development of a vaccine effective against all the meningococcal serotypes. Such an immunoprophylactic would have obvious advantages over the collection of specific vaccines, and would solve the problem of serotype B; apparently the B polysaccharide is not immunogenic in humans (does not stimulate an immune response) and therefore cannot be used as a vaccine.

"What we wanted from meningococcus was an antigen common to all the serotypes," says Dr. Jennings, "and we found it with an agar plate method that detects the extent of cross-reactivity between an antiserum and an antigen. Dr. Kenny prepared antisera to each of the strains by repeated injection of the live bug into rabbits, which react immunologically to meningococcus but do not contract the disease. Each of these antisera consists of a whole spectrum of antibodies directed against the various antigenic sites on the bacterial exterior, the polysaccharide being but one site among many. Because the serotypes are of the same species, they will have antigens on their outer membranes that are common to the group. These "species-specific" antigens are much better suited to vaccine preparation than the "serotype-specific" polysaccharides since they identify or fingerprint all the strains rather than just one."

In his search for this all-purpose antigen, Dr. Jennings extracted cultures of serogroup Y with a number of different

Injectées dans l'organisme, ces structures identifient la bactérie et représentent les cibles auxquelles les anticorps doivent s'attaquer. Elles doivent, par conséquent, être précises faute de quoi toute invasion ultérieure par les bactéries ne sera pas reconnue par le système immunologique.

Le Dr Jennings poursuit: "Après avoir résolu les problèmes de fabrication, l'objectif suivant consistait à déterminer les structures des polysaccharides. Bien que ces molécules se présentent sous forme de longues chaînes contenant plusieurs milliers d'atomes, elles sont composées d'unités secondaires relativement simples qui se répètent de façon ordonnée. Ces unités sont elles-mêmes constituées de noyaux de carbone cycliques auxquels se fixent, en des points précis, des groupes latéraux comme les phosphates et les acétyles. Le problème qu'il nous fallait résoudre était l'instabilité de la fixation de ces groupes latéraux. Des modifications du pH leur permet de changer de position sur le noyau modifiant ainsi l'état natif, et les processus chimiques entraînent nécessairement une modification du pH. Nous savions comment déterminer la nature du noyau et des groupes latéraux mais nous n'étions pas en mesure de déterminer avec certitude la position exacte de ces groupes".

Nous avons résolu ce problème en collaboration avec le Dr I.C.P. Smith, de la Section de biophysique du CNRC, en utilisant une technique analytique connue sous le nom de résonance magnétique nucléaire du Carbone 13 (RMN ^{13}C). Cette méthode d'analyse est physique plutôt que chimique et n'implique pas des conditions imposées sur le plan chimique pouvant provoquer le déplacement de ces groupes latéraux. Les principales informations données par l'instrument utilisé dans cette technique touchent les divers environnements chimiques du noyau C^{13} et conjointement avec les résultats obtenus par des méthodes d'analyse chimiques il est possible de déterminer avec précision l'emplacement des groupes latéraux sur la structure du noyau. L'instrument peut également déterminer lequel des atomes de carbone participe aux liaisons chimiques qui unissent les noyaux pour former la chaîne et il peut distinguer entre deux configurations de liaisons fondamentales appelées α - et β -.

Le Dr Jennings nous a souligné que la résonance magnétique nucléaire de ^{13}C est idéale parce qu'il n'est pas nécessaire de décomposer la molécule. Le polysaccharide est simplement dissout dans l'eau et le spectre est déterminé sans qu'aucune modification chimique n'intervienne. Nous procédons ensuite simultanément à l'analyse chimique et à la détermination de la RMN, les spectres de RMN servant de moyen de contrôle pour l'analyse chimique.

En combinant l'analyse chimique et la RMN, le Dr Jennings a déterminé les structures des polysaccharides des six sérotypes méningococciques. Il a été par ailleurs possible d'étudier un méningocoque n'ayant aucun lien de parenté avec les souches connues et contenant de la galactosamine, substance qui n'avait pas encore été décelée dans les polysaccharides méningococciques. Cette étude pourrait conduire à la définition d'un sérotype entièrement nouveau.

Pourquoi donc étudier ces structures?

Le Dr Jennings nous répond: "Parce que nous devons disposer d'un moyen de contrôle de l'état natif de ces polysaccharides pendant leur formation car en connaissant leur structure exacte on peut déterminer l'efficacité d'un vaccin. Le simple examen des spectres de RMN permet de savoir immédiatement si un polysaccharide a subi une modification".