

编号：20190201065JC

吉林省科技发展规划项目任务书

计划类别: 基础研究

项目类别: 自然科学基金 (学科布局项目)

支持重点： 医学

项目名称: SALL4在肝癌发病中的作用及其纳米荧光检测体系的构建

资助经费: 10.0

执行年限: 3年

项目负责人： 温晓玉

电 话: 15804301609

通讯地址: 吉林大学第一医院

电子邮箱: wenxiaoyu328@aliyun.com

依托单位（加盖公章）： 吉林大学

联系人: 李星蒨

电 话: 18343116672

参加单位（加盖公章）：

组织部门（单位）（加盖公章）： 吉林省科学技术厅

吉林省科学技术厅

依据《吉林省科技发展规划（项目）管理办法》，吉林省科学技术厅委托吉林大学 承担吉林省科技发展规划中的 SALL4在肝癌发病中的作用及其纳米荧光检测体系的构建 项目的科研任务。各方就本项目的实施与管理中的权利和义务签订如下任务书。

一、省科技厅为项目承担单位提供部分研究经费，并对项目的实施过程进行跟踪管理；项目承担单位和参加单位按任务书约定的内容和目标开展工作。

二、任务分工

吉林大学在本项目实施过程中承担的任务为组织项目实施

三、经费分配

本项目由省科技计划经费拨款10.0万元，项目承担单位和参加单位按照任务分工，约定经费分配如下：
吉林大学经费为10.0 万元。

四、知识产权归属约定

本项目取得的知识产权归吉林大学所（共）有。

基本信息

申请人信息	姓名	温晓玉	性别	女	出生年月	1974-03-28	民族	汉
	学位	博士	职称	副高级		每年工作时间（月）		8
	电话	15804301609		电子邮箱		wenxiaoyu328@aliyun.com		
	传真	0431-88786006		身份证号		220104197403288621		
	工作单位		吉林大学					
依托单位信息	名称	吉林大学		隶属	中直 省直 其它			
	联系人	李星蒨		电话	18343116672			
	单位类别	企业 科研机构 高等院校 事业单位 其它		所在地	吉林长春市朝阳区			
	账号	160402501175		开户行	中国银行长春前进大街支行			
	拨款所在地	吉林长春市朝阳区						
合作单位	单位名称							
项目基本信息	项目名称	SALL4在肝癌发病中的作用及其纳米荧光检测体系的构建						
	项目类别	自然科学基金（学科布局项目）						
	经费预算	总额 10.0万元，其中申请经费10.0万元						
	起止年限	2019-01-01 至 2021-12-31						
中文关键词		人类婆罗双树样基因4；肝癌；聚集诱导发光；生物传感；荧光						
中文摘要		<p>肝癌是全世界癌症相关死亡的第三大原因，是目前我国第4位的常见恶性肿瘤及第3位的肿瘤致死病因。人类婆罗双树样基因（SALL）4是一种锌指转录因子，在维持胚胎干细胞的多能性及自我更新方面起着重要调控作用。在肝脏中，SALL4在胎肝中表达增强而在成熟肝细胞表达沉默。最新研究显示，SALL4是浸润性肝细胞癌类祖亚型的标志，可作为肝细胞癌（HCC）靶向治疗的潜在靶点。本研究拟确证SALL4可作为侵袭性HCC患者的“靶向标记”，对HCC患者在诊断时进行SALL4表达筛选，对那些SALL4阳性者指导尽可能更积极恰当的治疗措施，从而延长患者生存期及提高患者的生活质量。利用已开发的具有聚集诱导发光（AIE）特性、性能优异的关键AIE有机聚合物材料，实现荧光标记材料对特定肿瘤细胞的特有分子靶点的特异性识别和标记，为在细胞和分子水平上的生物活性物质的识别和检测提供创新的物质基础和理论，开展常规筛查该基因在HCC患者中的表达。</p>						
英文关键词		Sal-like protein 4; hepatocellular carcinoma; aggregation induced emission; biosensor; fluorescence						
英文摘要		<p>Hepatocellular carcinoma (HCC) is the third leading cause of cancer-related deaths globally. Although the epidemiologic risk factors for hepatocellular carcinoma are well known, the molecular mechanisms underlying hepatocarcinogenesis are not well characterized. Sal-like protein 4(SALL4) is a zinc finger transcription factor and highly expressed in embryonic stem cells and plays an important role in early embryogenesis, organogenesis, embryonic stem cell proliferation, and maintenance of pluripotency. SALL4 is expressed in normal hematopoietic stem cells, and its expression decreases gradually with cell differentiation and maturation. Recent studies have found that SALL4 is actively expressed in HCC with stem cell characteristics and plays an important role in predicting the prognosis of HCC patients. In this study, we aim to detect the expression of SALL 4 and to explore its relationship with clinicopathological characteristics and prognosis of HCC for the further better treatment. On the other hand, fluorescent biosensing is widely used in medicine, biology, chemistry, food and environment monitoring due to its advantages, such as high sensitivity, no separation and damage of samples, in situ and real-time live detection. We will use figuring out the special mechanism of AIE-active fluorescent materials in fluorescent biosensing response, and provides new materials and new ideas for the identification and detection of bioactive substances at molecular level.</p>						

项目研究内容、研究目标及关键科学问题

项目的研究内容

- 1、检索我院组织标本库所保留的近10年HCC标本及相关的患者完整的临床资料，做数据整理及分析，总结其临床特征。
- 2、通过组织芯片、免疫印迹等技术，对于肝癌患者（癌组织、癌旁组织、非癌旁肝硬化组织）及非肝癌患者的肝组织、原发性肝癌与肝转移癌组织分别进行SALL4表达的检测，比较组间的不同。最后，进行临床病理分析，确定SALL4表达与疾病进展及预后的相关性及其作为独立肝癌预后预测因素的可能性。
- 3、在细胞水平采用过度表达或基因沉默等方法对SALL4相关基因进行检测，明确其在肿瘤发生、浸润性生长、转移、复发等方面发挥的作用，为靶向性治疗、原发性肝癌对于化疗耐药等方面提供研究基础。
- 4、设计合成新型AIE有机聚合物分子，利用AIE分子聚集态或固态荧光量子效率高以及大斯托克斯位移的特性，将其作为发光基元与生物兼容性好的两亲性基团结合，设计新型的具有AIE特性的线性或枝状结构两亲性有机聚合物体系；通过化学键合或者静电相互作用，在有机聚合物的端基修饰对肝癌细胞的SALL4具有靶向作用的基团（本研究拟选用SALL4抗体并对其进行修饰），以提高有机聚合物体系对生物分子以及细胞的特异性识别的敏感度。
- 5、以AIE有机聚合物体系为基础，利用自组装方法制备有机聚合物荧光纳米粒子。
- 6、将制备的具有靶向作用的荧光纳米粒子作为标记材料应用于荧光生物成像，考察不同物理化学性质（尺寸、形貌、亲疏水性、表面电荷性质以及表面特异性修饰等）的荧光纳米粒子对肿瘤细胞识别和标记性能的影响；研究荧光纳米粒子与肿瘤细胞之间相互作用和作用机制；通过信息反馈，进一步优化荧光标记材料的制备条件，获得具有自主知识产权的高性能荧光标记材料，为实现在细胞和分子水平上的生物活性物质的识别和检测提供新途径。

项目的研究目标

确证SALL4可否作为侵袭性HCC患者的“靶向标记”，对HCC患者在诊断时进行SALL4表达筛选，对那些SALL4阳性者指导尽可能更积极恰当的治疗措施，从而延长患者生存期及提高患者的生活质量。

利用新型高效具有聚集诱导发光特性的有机荧光染料，利用超分子化学调控手段，构筑高性能荧光生物传感体系，实现对表达SALL4肿瘤细胞的特异性识别和标记，为在细胞和分子水平、进一步在活体水平上的SALL4表达的识别和检测提供创新的物质基础和理论依据。

拟解决的关键科学问题

- 1) 首先完成对我院组织标本库中所保留的近10年HCC标本进行整理、收集相关临床资料完整的病例，对标本重新进行HE染色，确认病理诊断，在此工作基础之上，完善对SALL4的免疫组织化学检测。同时对上述病例进行临床病理分析，随访患者，进行生存率、复发、转移等调查。
- 2) 制备检测SALL4表达的组织芯片。
- 3) 构建FLAG标记的SALL4表达质粒、合成SALL4-shRNA慢病毒质粒，分别进行SALL4在肝癌细胞系中的过度表达及基因沉默，利用免疫印迹及RT-PCR等方法探讨上述SALL4表达变化对于其上游、下游相关基因表达的影响，探索其在肿瘤发生、进展、转移及复发等方面发挥的作用。同时探讨其在肝癌对于化疗耐药方面可能存在作用。
- 4) 利用目前技术已比较成熟的高性能有机聚合物发光材料及荧光标记材料对肝癌细胞系中SALL4特异性识别和标记，实现细胞和分子、实验动物水平上的SALL4的识别和检测，开发对肝癌进行早期临床诊断。并且，对于有侵袭性生长的肿瘤做出及时的判断，指导治疗方案的选择。其中，如何降低荧光标记材料与细胞膜的非特异性作用，增强荧光标记材料与靶细胞的结合能力与亲和力是本项目另一拟解决的关键科学问题。本项目拟通过将具有AIE特性的有机聚合物作为发光基元，与生物兼容性好的两亲性基团结合，设计新型高发光性能有机聚合物体系，从根本上

解决有机染料分子的荧光淬灭问题；拟通过引入能够减少非特异性结合的官能团、优化荧光标记材料的表面性质等，减少标记材料与细胞的非特异性粘附，降低标记材料与细胞膜之间的亲疏水、静电等非特异性相互作用，从而提高荧光标记材料的靶向能力。

针对以上关键科学问题，本项目拟确定SALL4在肝癌发生、侵袭性进展中的作用，开发新型高效聚集诱导发光有机荧光染料，构筑高效非标记型荧光传感体系，从而实现生物活性分子的高灵敏度、高选择性的非标记荧光传感和检测。更好地指导临床的早期诊断、治疗方案的选择。

年度研究计划及预期研究结果（包括拟组织的重要学术交流活动、国际合作与交流计划等）

年度研究计划

2019.01-2019.06

从我院组织标本库中选取近10年临床确诊HCC病例及对照病例。其中主要选取可行组织芯片（TMA）检查的具有足够组织标本病例、临床资料完整病历，对上述病例的病理进行重新的评定，确定癌组织、癌旁组织、非癌旁肝硬化组织，并选择同期留存的肝血管瘤组织、肝脏腺瘤组织、正常肝组织等组织作为对照。

2019.07-2019.12

总结临床特征：对上述患者的医疗记录进行了回顾性分析，汇总相关的人口数据（年龄，性别，基础疾病），病理数据（肿瘤大小，肿瘤分期，纤维化程度，以及淋巴细胞血管浸润）和临床数据（以前的治疗方法，无复发生存期，总生存期）。SALL4的免疫组化法。

构建组织芯片，由病理科专家评定SALL4在TMA的表达。

免疫印迹、实时定量PCR评估SALL4在HCC患者中的表达情况。

在上述工作的基础上，进一步从蛋白质及核酸水平评价SALL4在HCC患者及对照组的表达情况，一方面验证免疫组化结果，另一方面为下一步SALL4相关基因表达情况的研究做准备。

2020.01-2020.06

在细胞水平采用过度表达或基因沉默等方法对SALL4相关基因进行检测：明确其在肿瘤发生、浸润性生长、转移、复发等方面发挥的作用，为靶向性治疗、原发性肝癌对于化疗耐药等方面提供研究基础。

总结上述实验结果，参加国内肝病年会、美国肝病年会及欧洲肝病年会。

2020.07-2020.12

高效有机荧光染料的制备。

将具有AIE特性的分子作为发光基元与疏水基团和生物相容性好的亲水基团偶联，制备新型具有AIE特性的线性或枝状结构两亲性嵌段有机聚合物。其中，疏水基团可以采用如聚己内酯、聚苯乙烯等用以调节两亲性有机聚合物的疏水性。而亲水基团可以选用具有优良的水溶性以及生物相容性，并且能够有效地降低荧光标记材料与细胞模的非特异性作用的基团，如聚乙二醇（PEG）、聚甲基丙烯酸甲酯（PMMA）等。通过控制单体反应时间、反应温度等条件调节疏水链段的长度，并通过选择具有不同端基基团的亲水链段，如氨基、羧基、巯基等官能团，调节亲疏水链段的比例。在两亲性发光聚合物基础上，通过共价键结合或静电相互作用，在两亲性发光聚合物的端基修饰对特定肿瘤细胞的特定靶点具有高选择性的SALL抗体，获得发光性能高、生物相容性好、对特定肿瘤细胞的特定靶点

具有靶向识别作用的有机聚合物体系。

2021.01-2021.06

高效荧光生物传感体系的构筑

以合成的高效聚集诱导发光荧光染料为基础，以修饰的SALL抗体作为识别单元，利用超分子化学手段调控有机荧光染料与识别单元间的相互作用，从分子和超分子层次上探讨荧光染料与识别单元的作用机制，构筑不同维度、不同层次的荧光生物传感体系。

2021.07-2021.12

SALL4的细胞、组织及活体中非标记型荧光传感与检测。

AIE有机聚合物荧光纳米粒子的组装与调控。

通过再沉淀等自组装方法，制备有机聚合物荧光纳米粒子。结合发光基元的分子结构、两亲链段的长度及比例的调节、以及溶剂、温度、pH值等荧光纳米粒子制备条件的控制，调控荧光纳米粒子的尺寸、形貌、亲疏水性质、表面电荷性质以及表面特异性修饰，获得高性能有机聚合物荧光纳米粒子。

荧光标记材料用于荧光生物成像：

通过研究不同尺寸、形貌、亲疏水性质、表面电荷性质以及表面特异性修饰的荧光纳米粒子在不同细胞（正常细胞和肿瘤细胞）表面的吸附情况、纳米粒子进入细胞的速率、细胞外残留情况以及对细胞的毒性，考察荧光纳米粒子对肿瘤细胞的非特异性识别作用与特异性识别作用，阐明荧光纳米粒子与肿瘤细胞之间相互作用机制；通过信息反馈，进一步优化荧光标记材料的制备条件，获得具有自主知识产权的高性能荧光标记材料，为实现在细胞和分子水平上的生物活性物质的识别和检测提供新途径。

总结实验结果，准备论文投稿，本年度组织项目组成员参加国内外学术会议。

预期研究成果

确证SALL4表达与肝癌进展及预后的相关性及其作为独立肝癌预后预测因素的可能性。明确SALL4在肝癌发生、进展、转移、复发等方面发挥的重要调节作用。明确SALL4表达与癌症治疗反应的相关性。以期更好地指导临床治疗方案的选择，对预后做出更好的预测，促进肝细胞癌的个体化治疗的发展。

合成一系列新型高固态荧光量子效率、生物相容性好的有机聚合物材料，制备荧光效率高、靶向能力强、稳定性好的荧光标记材料，实现荧光标记材料对特定肿瘤细胞的特异性识别和标记，获得具有自主知识产权荧光标记物材料，为疾病诊断提供新的检测手段。拟发表高水平SCI论文2篇，拟申请发明专利1项，培养研究生3名。

提交科技报告1份。

项目参加人员

项目负责人								
序号	姓名	性别	出生年月	身份证号	所在单位	职称	现从事专业	在本项目中承担的主要工作
1	温晓玉	女	1974-03-28	220104197403288621	吉林大学	副高级	肝胆内科	临床病理特征分析
主要参加人								
2	齐月	女	1977-12-04	220104197712041323	吉林大学白求恩第一医院	副高级	肝胆内科	免疫印迹、RT-PCR
3	马憐倩	女	1990-12-21	410502199012212527	吉林大学超分子结构与材料 国家重点实验室	无	分子材料与结构	材料制备
参加人员								
4	张明媛	女	1988-08-14	220122198808141326	吉林大学白求恩第一医院	中级	肝胆内科	细胞培养、SALL4细胞内过表达与敲除
5	荆江博	男	1991-02-11	142724199102113915	吉林大学超分子结构与材料 国家重点实验室	无	分子结构与材料	性能表征
6	高卉	女	1994-07-06	371422199407060044	吉林大学白求恩第一医院	无	肝胆内科	数据分析
7	殷鑫	女	1993-11-18	371526199311182427	吉林大学白求恩第一医院	无	肝胆内科	患者随访、数据分析
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								

经费预算

单位：万元

(一) 经费来源预算		(二) 经费支出预算		
科目	预算数	科目	总支出	其中科技计划经费支出
来源预算合计	10.0	支出预算合计	10.0	10.0
一、省科技发展计划拨款	10.0	(一) 直接费用	8.34	8.34
(1) 有偿	0.0	1、设备费	0.0	0.0
(2) 无偿	10.0	(1) 购置设备费用	0.0	0.0
二、国家科技计划拨款	0.0	(2) 设备升级改造费用	0.0	0.0
三、上级其它部门拨款	0.0	(3) 设备租赁费	0.0	0.0
四、单位自筹	0.0	2、材料费	3.84	3.84
五、其它来源	0.0	3、测试化验加工费	1.0	1.0
		4、燃料动力费	0.0	0.0
		5、差旅/会议/国际合作与交流费	1.0	1.0
		6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.0	1.0
		7、劳务费	1.5	1.5
		8、专家咨询费	0.0	0.0
		9、其它支出	0.0	0.0
		(二) 间接费用	1.66	1.66
		1、房屋租赁费	0.0	0.0
		2、水、电、气、暖消耗支出	0.0	0.0
		3、绩效支出	1.06	1.06
		4、其它支出	0.6	0.6
(三) 省科技计划经费拨款计划				
承担单位		总额(万元)	2019年(万元)	2020年及以后年度(万元)
吉林大学		10.0	10.0	0.0

备注：本预算表由项目组依据《吉林省省级科技创新专项资金管理办法》（吉财教〔2017〕493号）和中共吉林省委办公厅、吉林省人民政府办公厅印发的《关于进一步完善省财政科研项目资金管理等政策的若干意见》（吉办发〔2017〕3号），根据实际测算，如实填写。

任务书签订各方签章

任务下达单位：		
<div>项目管理处室代理人（签字）：</div> <div>项目管理处室负责人（签字）：</div> <div>分管厅长（签章）：</div> <div>省科技厅审定意见：</div> <div>厅长（签章）：</div> <div>(公章) 年 月 日</div>		
项目承担单位：		
<div>项目负责人（签字）：</div> <div>财务负责人（盖章）：</div> <div>帐户名：吉林大学</div> <div>帐 号：160402501175</div> <div>开户银行：中国银行长春前进大街支行</div> <div>(公章) 年 月 日</div>		
项目参加单位：		
<div>负责人（签字）：(公章) 年 月 日</div> <div>负责人（签字）：(公章) 年 月 日</div> <div>负责人（签字）：(公章) 年 月 日</div> <div>负责人（签字）：(公章) 年 月 日</div> <div>负责人（签字）：(公章) 年 月 日</div> <div>负责人（签字）：(公章) 年 月 日</div>		

共同条款

任务各方需共同遵守吉林省科技发展计划项目及经费的相关管理办法。

1. 项目承担单位必须按要求编报年度计划执行情况、经费预、决算和有关统计报表，及时上报项目管理处室及计划处，逾期不报，省科技厅有权暂停拨款或做出处理。

2. 任务执行过程中，项目承担单位如需调整任务、人员，应根据有关规定，向省科技厅提出包含变更内容及其理由的正式申请报告，经各项目管理处室审核同意后，报计划处审定备案。未经正式批准以前，双方须按原任务书履行，否则后果由自行调整的一方负责。

3. 项目承担单位因某种原因（如：与可行性研究内容有出入、挪用经费、技术措施或某些条件不落实）致使计划无法执行，而要求中止任务，应视不同情况，部分或全部退还所拨经费；如项目承担单位没有提出中止任务的要求，省科技厅根据调查情况有权做出中止任务的处理。

4. 项目承担单位承担任务所得科技计划经费，需按相关计划经费管理办法管理和使用。

5. 项目承担单位完成项目研究内容，并达到项目验收考核指标后，应及时向省科技厅提出验收（鉴定）申请。省科技厅应按有关规定组织验收（鉴定）。项目承担单位在项目验收前应向省科技厅提交验收（鉴定）申请、经费决算单及相关材料。

6. 该项目所完成的技术成果归省科技厅和项目承担单位共有。项目承担单位享有该成果的使用权、专利申请权、著作权和有限转让权。项目承担单位在转让该成果时须征得省科技厅的同意。

7. 项目承担单位在该项目研究中发表的有关论文、出版的著作及成果转让文件材料等须注明“吉林省科技发展计划资助项目”。

8. 省科技厅根据相关规定，监督经费的使用情况。凡不符合规定的开支，省科技厅负责提出调整意见。必要时，有权直接提出调整或撤销意见。

9. 任务执行过程中，省科技厅无故中止任务时，所拨经费、物资不得追回，并承担善后处理所发生的费用。省科技厅提出变更任务书有关内容时，要与项目承担单位协商达成书面协议，并在备案后实行。

10. 本任务书所协议的其它条款。