

受理编号：20201122152959824

项目编号：A2021454

文件编号：粤卫科教函【2021】8号

广东省医学科学技术研究基金项目 合 同 书

项目名称：LncRNA-CASC2 及其启动子区 SNP 与骨肉瘤发生发展的关联分析及功能研究

资助类别：立项资助

项目起止时间：2021 年 07 月 01 日 至 2023 年 06 月 30 日

管理单位（甲方）：广东省卫生健康委员会

承担单位（乙方）：广东省人民医院

通讯地址：广州市中山二路 106 号

邮政编码：510080

单位电话：020-83827812

项目负责人：顾宏林

联系电话：13760732636

电子邮箱：ghl6625@163.com

手机：13760732636

项目联系人：陈向阳

联系电话：020-83827812-20975

乙方主管部门（丙方）：广东省人民医院

广东省卫生健康委员会
二〇一九年制

一、项目实施内容（包括研究方案和技术路线，须与项目申报书“可行性报告”相一致，限 600 字）

目前已在多种肿瘤证实 LncRNA-CASC2 表达下调及抑癌功能，但具体机制不明。我们前期研究发现 LncRNA-CASC2 在骨肉瘤（OS）组织中低表达，且受启动子区高甲基化抑制，而位于启动子区 CpG 岛的单核苷酸多态性（SNP）既与 OS 有关，又与 CpG 岛高甲基化相关。鉴于此，我们提出“LncRNA-CASC2 启动子区 SNPs 通过影响其 CpG 岛甲基化状态，调节 LncRNA-CASC2 表达及其参与的下游重要调控网络，最终影响 OS 发生发展过程”的科学假设，并拟扩大临床样本进一步验证。通过体外细胞试验研究 LncRNA-CASC2 启动子区 SNPs、CpG 岛甲基化、CASC2 表达三者之间关系及具体分子机制；基因克隆技术获得不同表达水平 OS 细胞模型，细胞学试验观察 CASC2 对不同细胞表型影响；并通过裸鼠荷瘤动物实验验证其在 OS 发生发展过程中的作用；最后结合临床探讨上述机制在 OS 诊治和预后判断中的潜在价值。本课题将从“细胞-动物-患者”三个层次，深入探讨 LncRNA-CASC2 及其启动子区 SNPs/CpG 岛甲基化与 OS 发生发展的关联、作用机制及生物学功能，其完成将为 OS 的诊断和治疗提供新的候选标记物，并为开发靶向治疗药物提供新的科学依据。

二、项目考核指标

(一) 项目完成后提供的研究开发成果及形式 (须明确产品、专利、版权、标准等成果的类型及数量)					
成果形式		成果数量	成果形式		成果数量
发明专利	申请	0	引进人才 (人)		0
	授权	0	培养人才 (人)	访问学者	0
实用新型专利	申请	0		博士生	0
	授权	0		研究生	0
外观设计专利	申请	0			进修生
	授权	0	科技人才奖励 (人)		0
国外专利	PCT 受理	0	技术标准 制定	牵头 (个)	0
	授权	0		参与 (个)	0
项目组成员 晋升情况	初级升中级	0	软件著作权 (项)		0
	中级升副高	0	论文论著 (篇)		1
	副高升正高	0	其中: 被收录 论文数 (篇)	SCI	1
获得国家级科技奖项 (项)	0	IE		0	
获得省级科技奖项 (项)	0	CA		0	
获得市级科技奖项 (项)	0	中文核心期刊		0	
新产品 (或新材料、新设备)	0	其他		0	
新技术 (或新方法、新项目)	0	临床应用例数		0	
其他成果及形式说明:					
无					
(二) 主要技术经济指标及社会效益					
累计新增业务收入 (万元)		0			
累计新增门诊和住院病人数 (人)		0			
其他主要技术经济指标及社会效益说明:					
无					
项目负责人 (签章):			年 月 日		

三、项目进度和阶段目标

(一) 项目起止时间: 2021 年 07 月 01 日 — 2023 年 06 月 30 日	
(二) 项目进度、主要工作内容及阶段目标	
2021/07/01 至 2022/03/31	(1) 在前期研究基础上扩大临床病例对照样本进一步验证 LncRNA-CASC2 启动子区 SNPs、CpG 岛甲基化状态、LncRNA-CASC2 表达水平与骨肉瘤发生发展之间关系。 (2) 完成 LncRNA-CASC2 的 SNPs 位点改变, 及在甲基化干预 (CpG 甲基转移酶甲基化修饰和 5-氮-2-脱氧胞苷去甲基化) 情况下 LncRNA 表达水平的变化, 明确 LncRNA-CASC2 启动子区 SNPs、CpG 岛甲基化状态、LncRNA-CASC2 表达水平三者之间的关系。
2022/04/01 至 2022/12/31	(1) 通过基因转染和 siRNA 技术分别获得稳定过表达和失表达 LncRNA-CASC2 的骨肉瘤细胞株。 (2) 干预 LncRNA-CASC2 的表达状态后在细胞水平验证其对不同细胞表型 (包括细胞增殖、分化、侵袭、转移等) 的影响, 在细胞水平明确其生物学功能。
2023/01/01 至 2023/06/30	(1) 通过荷瘤裸鼠实验构建 OS 动物模型, LncRNA-CASC2 慢病毒过表达载体注射入荷瘤裸鼠作为干预手段, 利用活体成像系统动态观察干预前后肿瘤局部生长及浸润转移情况。 (2) 结合 OS 患者的生存资料和临床病理学资料, 在临床水平进一步验证。 (3) 分析和总结研究工作, 进一步完善实验结果, 撰写研究论文并发表。
至	
至	
至	
至	

四、承担、参与单位工作分工及经费分配情况

承担/参与单位名称 (盖章)	工作分工	总经费分摊 (万元)	基金经费分配 (万元)
广东省人民医院	临床标本及资料搜集; 完成荧光定量 PCR 检测、DNA/RNA 提取; 功能实验、动物实验; 荧光素酶报告基因实验、细胞学实验、RIP/ChIP	1	0.5

		0	0
	合计	1	0.5

五、项目总经费及基金经费预算

(一) 基金经费下达总额: (大写) 伍仟元整 ; (小写): 0.5 万元						
(二) 总经费及基金经费开支预算计划:						
经费筹集情况:						(单位: 万元)
总投入经费: 1						
	基金经费	自筹资金				合计
		主管部门配套	单位配套	项目组自筹	其它	
已投入经费	0	0	0	0	0	0
新增经费	0.5	0	0	0.5	0	1
政府部门、境外资金及其他资金投入情况说明		无				
新增经费预算:						(单位: 万元)
	新增经费总额			基金经费		
支出经费	经费额	用途说明		经费额	用途说明	
1、直接费用	0.95	材料、测试及发表文章费用		0.45	材料、测试及发表文章费用	
(1) 设备费	0	/		0	/	
(2) 材料费	0.58	分子克隆试剂, 甲基化, PCR 扩增, ChIP, 探针, 抗体, 转染和样本核酸提取试剂盒、细胞培养耗材		0.29	分子克隆试剂, 甲基化, PCR 扩增, ChIP, 探针, 抗体, 转染和样本核酸提取试剂盒、细胞培养耗材	
(3) 测试化验加工外协费	0.1	质粒构建、RNA 引物合成费、测序费		0.05	质粒构建、RNA 引物合成费、测序费	
(4) 燃料动力费	0	/		0	/	
(5) 差旅费	0	/		0	/	
(6) 会议费	0.03	参加次国内重要学术会议		0.01	参加次国内重要学术会议	
(7) 出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.24	国内外文章发表版面费; 文献查询及资料复印费等		0.1	国内外文章发表版面费; 文献查询及资料复印费等	
(8) 租赁费	0	/		0	/	
(9) 国际合作与交流费	0	/		0	/	
(10) 专家咨询费	0	/		0	/	
(11) 人员劳务费	0	/		0	/	
(12) 其他支出	0	/		0	/	
2、间接费用	0.05	科研管理费		0.05	科研管理费	
项目管理费	0.05	科研管理费		0.05	科研管理费	

合计	1.00		0.50	

注：间接费不得超过基金经费的 5%。

六、人员信息

项目负责人							
姓名	性别	身份证号码	学历	职称	所在单位	项目分工	签名
顾宏林	男	445281198611086758	硕士	主治医师	广东省人民医院	整体负责	
项目组主要成员（不含负责人）							
郑晓青	男	440582198105192011	本科	主治医师	广东省人民医院	临床标本及资料搜集	
林少敏	女	440583198310133842	本科	主管护师	广东省人民医院	临床标本及资料搜集	
黄勇兄	男	440982198410192730	硕士	医师	广东省人民医院	动物实验	
陈崇	男	44011119890720307X	博士	医师	广东省人民医院	功能实验	
梁国彦	男	440106198511081212	博士	医师	广东省人民医院	荧光定量PCR检测、DNA/RNA提取	
梁昌详	男	460004198212166430	博士研究生	副主任医师	广东省人民医院	数据整理及统计	
张余	男	210102197010281811	博士研究生	主任医师	广东省人民医院	指导荧光素酶报告基因实验、细胞学实验、RIP/ChIP	
昌耘冰	男	440104196808128016	博士	主任医师	广东省人民医院	指导实验设计及文章撰写	

七、合同条款

第一条 甲方与乙方根据《中华人民共和国合同法》及国家有关法规和规定,为顺利完成 2021 年广东省医学科学技术研究基金 LncRNA-CASC2 及其启动子区 SNP 与骨肉瘤发生发展的关联分析及功能研究 项目(项目编号: A2021454)经协商一致,特订立本合同,作为甲乙双方在项目实施管理过程中共同遵守的依据。

第二条 甲方的权利义务: 1.按合同书规定进行经费核拨的有关工作协调。2.根据甲方需要,在不影响乙方工作的前提下,定期或不定期对乙方项目的实施情况和经费使用情况进行检查或抽查。

第三条 乙方的权利义务: 1.确保落实自筹经费及有关保障条件。2.按合同书规定,对甲方核拨的经费实行专款专用,单独列账,并随时配合甲方进行监督检查。3.使用财政资金采购设备、原材料等,按照《广东省实施〈中华人民共和国招标投标法〉办法》有关规定,符合招标条件的须进行招标。 4.项目实施完成或实施到一定程度,须按照有关规定提出验收或终止结题的申请,并按甲方要求做好项目结题工作。5.按照国家和省有关规定,提交科技报告及其他材料。

第四条 在履行本合同的过程中,如出现广东省相关政策法规重大改变等不可抗力情况,甲方有权对所核拨经费的数量和时间进行相应调整。

第五条 在履行本合同过程中,需要对项目起止时间、项目经费使用(包括自筹经费、经费分配及经费支出预算等)、项目内容(包括研发内容、技术指标、经济指标及成果指标等)、项目名称、项目承担单位(包括承担单位更名、承担单位替换)、参与单位、项目负责人和成员等进行变更的,甲乙双方按照有关规定执行。

第六条 在履行本合同的过程中,当事人一方发现可能导致项目整体或部分失败的情形时,应及时通知另一方,并采取适当措施减少损失,没有及时通知并采取适当措施,致使损失扩大的,应当就扩大的损失承担责任。

第七条 本项目技术成果的归属、转让和实施技术成果所产生的经济利益的分享,除双方另有约定外,按国家和广东省有关法规执行。

第八条 属技术保密的项目,甲乙双方应另行订立技术保密条款,作为本合同正式内容的一部分,与本合同具有同等效力。

第九条 项目申报书所附“项目可行性报告”,作为本合同正式内容的一部分,与本合同具有同等效力。

第十条 根据项目具体情况,经双方另行协商订立的附加条款,作为本合同正式内容的一部分,与本合同具有同等效力。

第十一条 本合同的争议应由双方本着协商一致的原则解决,如双方协商不成的,则应向甲方所在地法院提起诉讼。

第十二条 保密条款：

1. 本合同保密内容范围为：____/____。
2. 本合同保密期限为：____/____。
3. 乙方应与可能知悉保密内容的人员签订技术秘密保护协议。
4. 各方应建立技术秘密保护制度。
5. 属技术保密的项目必须经省负责技术保密部门审查后，确定可否发表或用于国际合作和交流。

第十三条 甲方可根据具体情况决定乙方是否需要单位担保，若需要保证单位，应订立担保条款，作为本合同正式内容一部分。当乙方不履行或不完全履行本合同，以及没有或没有完全承担违约责任时，乙方的保证单位承担连带保证责任。

第十四条 本合同一式四份，各份具有同等效力。甲方存一份，乙方存二份，丙方存一份，本合同自签字之日起生效，有效期至项目结题后一年内。各方均应负合同的法律责任，不应受机构、人事变动的影响。

说明：本合同书中，凡是当事人约定无需填写的内容，应在空白处划（/）。

八、本合同签约各方

管理单位（甲方）：广东省卫生健康委员会		
单位地址：广州市先烈南路 17 号		
法定代表人（或授权代表）：	_____	（签章）
联系人（经办人）姓名：	_____	（签章）
E-mail:		
电话：020-83848500		
承担单位（乙方）：广东省人民医院（盖章）		
单位地址：广州市中山二路 106 号		
法定代表人（或法人代理）：	余学清	（签章）
科管部门负责人：	陈向阳	（签章）
E-mail: gghkjc@sina.com		
电话：13600007678		
乙方主管部门（丙方）：广东省人民医院（签章）		
单位地址：广州市中山二路 106 号		
法定代表人（或法人代理）：	余学清	（签章）
联系人（项目主管）姓名：	陈向阳	（签章）
E-mail: gghkjc@sina.com		
电话：13600007678		