

受理编号: 1211220600157

项目编号: 2012B061700072

文件编号: 粤财教[2013]97号



2012B061700072

广东省科技计划项目

合 同 书

项 目 名 称:	β -arrestin 2 在自身免疫性肝炎中的作用和信号调控机制研究
项目计划类别:	社会发展领域科技计划项目审批
管理单位(甲方):	广东省科学技术厅
承担单位(乙方):	中山大学附属第三医院
保证单位(丙方):	中山大学

广东省科学技术厅

二零零九年制

一、主要研究及其内容和要达到的主要技术、经济指标以及将提供的研究开发成果及形式

1.主要研究开发内容:

1.临床研究 (1) AIH 患者外周血单个核细胞(PBMCs) β -arrestin 2 的表达: 采用实时荧光定量 PCR 和 Western-blotting 技术,分析 β -arrestin 2 在 AIH 患者外周血单个核细胞(PBMCs)中的表达, 设立健康对照组。 (2) AIH 患者肝组织的研究: 取 AIH 肝穿刺标本, 行 HE 染色, 免疫组化染色分析肝组织 β -arrestin 2、TGF- β 、炎症因子的表达, TUNEL 染色分析细胞凋亡情况, 设立健康对照组, 取自肝移植健康肝常规预留标本。 2.动物实验 (1) 研究 β -arrestin2 在 AIH 病理生理过程中的作用: 使用野生型 (WT) 小鼠和 β -arrestin2 基因敲除 (KO) C57BL/6J 小鼠建立以同种抗原 S-100 加完全弗氏佐剂腹腔注射诱导自身免疫性肝炎的 AIH 小鼠模型, 探讨 β -arrestin2 基因的缺失对 AIH 病理生理过程的影响, 包括: 观察小鼠生存率、肝功能、免疫球蛋白、外周血炎症因子等。 (2) 研究 β -arrestin2 在 AIH 病理过程中的作用: WT 和 KO AIH 小鼠均进行 HE 染色分析肝组织炎症情况, TUNEL 和 Caspase-3 染色分析细胞凋亡情况, EdU 标记检测分析细胞增殖情况, 同时进行 β -arrestin2 和 TGF- β 免疫组化染色、和 Real-time PCR 或 Western Blot 分析。 (3) 分析 β -arrestin2 对 AIH 肝组织炎症强度的影响: 提取 WT 和 KO AIH 小鼠的肝组织 RNA 和蛋白质后进行 Real-time PCR 和 Western Blot 分析, 检测 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子的表达情况。 (4) 探讨 β -arrestin2 在 AIH 病理过程中是否影响 TGF- β 信号通路的调控: 检测 Smad2/3、Smad7 的磷酸化, 分析 Smad 依赖性 TGF- β 信号途径是否受影响和具体情况; 检测 ERK1/2、JNK3、p38、PI3K/Akt 等蛋白激酶的激活情况, 分析非 Smad 依赖性 TGF- β 信号途径是否受影响。 3.细胞学研究 探讨 β -arrestin2 是否参与 TGF- β 信号通路的调控: 通过 siRNA 的方法干扰 β -arrestins 在肝细胞株 L02 中的表达, 然后检测 TGF- β 刺激和 TGF- β 、TNF- α 共刺激之后 Smad 依赖性和非 Smad 依赖性通路激活情况的变化。

2. 要达到的主要技术、经济指标

1. 主要要达到的技术

(1) C57BL/6J 鼠自身免疫性肝炎动物模型的建立技术: 目前认为近交系小鼠 C57BL/6J 比其他多种实验鼠更容易诱导实验性自身免疫性肝炎并产生脂蛋白 (LSP) 自身抗体。而基因缺陷小鼠基因型的检测是本研究必须重点解决的关键技术问题, 我们将用特殊的引物通过 PCR 检测, 必要时检测靶基因表达的蛋白质, 以确保小鼠基因型的正确。

(2) siRNA 干扰技术: 包括目的基因的分离及纯化, 目的基因与载体的正确连接, 阳性重组体的正确筛选及酶切鉴定。

(3) 其他如 Western Blot、质粒转染、Real-time PCR、免疫组化等技术。

2. 主要经济指标及社会、经济效益

(1) 本研究完成将完善 β -arrestin2 在自身免疫性肝炎中的作用和分子机制, 探讨 β -arrestin2 对 TGF- β 信号通路的调控作用并填补国内外相关研究的空白。

(2) 本研究将为进一步发掘新的可能潜在的自身免疫性肝炎治疗措施提供依据: 如 β -arrestin2 或其信号靶点的单克隆抗体 (或激动剂?) 在自身免疫性肝炎治疗中的应用。

3. 将提供的研究开发成果及形式

成果形式		成果数量	成果形式	成果数量
发明专利	申请		新产品	
	授权		新材料	
实用新型专利	申请		新装备	
	授权		计算机软件	
外观设计专利	申请	0	论文论著	
	授权	0	技术标准	
国外专利			其它 1	
新工艺（或新方法、新模式）			其它 2	

其他成果及形式说明：

1、本研究将完善目前关于 β -arrestin 2 在自身免疫性肝炎中的作用和信号调控机制研究并填补国内外在相关研究的空白。 2、完成 3-5 篇研究论文，其中 SCI 收录 2-3 篇，并在国际学术会议报告和在国内主要核心期刊上发表。 3、课题完成及结果满意可进一步备制 β -arrestin2 或其信号靶点的单克隆抗体（或激动剂？）并研究其在自身免疫性肝炎治疗中的作用。

项目负责人（签章）：

郭子荣

2013 年 9 月 12 日

二、项目进度和阶段目标	
2013 年 7 月 1 日 — 2013 年 12 月 31 日	完成 β -arrestin 基因缺陷小鼠基因型的检测和确定, 进行 β -arrestin2 siRNA 质粒构建的预试验。
2014 年 1 月 1 日 — 2014 年 12 月 31 日	完成在野生型和 β -arrestin2 基因缺陷 AIH 小鼠中的各项研究, 培养肝细胞株 L02。
2015 年 1 月 1 日 — 2015 年 6 月 30 日	完成-arrestin2 siRNA 质粒构建和细胞相关试验项目
2015 年 7 月 1 日 — 2015 年 12 月 31 日	统计分析资料、论文书写和总结汇报。
三、主承担单位及参与单位分工情况	
主承担单位(名称及盖章)	中山大学附属第三医院
工作分工	本单位参与人员完成所有与本课题相关的试剂采购、标本采集、实验工作、数据处理及论文编写等工作。
参与单位 1(名称及盖章)	(无)
工作分工	(无)
参与单位 2(名称及盖章)	(无)
工作分工	(无)
其他单位名称(多个单位: 分隔, 名称及盖章)	(无)
工作分工	(无)

四、参与人员

项目负责人：

姓名	性别	年龄	职务/职称	学历	在项目中承担的任务	所在单位	签名
郭云蔚	女性	40	无/副主任医师	研究生	项目总负责人	中山大学附属第三医院	郭云蔚
主要研究开发人员：							
尉秀清	男性	38	无/副教授	博士研究生	AIH 动物模型实验	中山大学附属第三医院	尉秀清
李建忠	男性	50	无/讲师	研究生	临床 AIH 标本采取	中山大学附属第三医院	李建忠
陶金	女性	35	无/讲师	博士研究生	免疫组化、蛋白分析、凋亡检测	中山大学附属第三医院	陶金
曾利娟	女性	31	无/医士	硕士研究生	基因缺陷小鼠培育和基因鉴定	中山大学附属第三医院	曾利娟
刘慧玲	女性	29	无/助教	硕士研究生	信号通路分析	中山大学附属第三医院	刘慧玲

五、省科技厅经费下达计划及项目经费预算

(一) 省科技厅经费下达总额: (大写) 伍万元整 ; (小写): 5.00 万元

(二) 省科技厅经费年度下达计划:

年度	2013 年	年	年	年	年
经费 (万元)	5.00				

(三) 参与单位经费分配情况(单位万元)

	单 位 名 称	总经费分配(万元)	科技厅经费分配(万元)
主承担单位	中山大学附属第三医院	5.00	5.00
参与单位 1	(无)		
参与单位 2	(无)		
其他单位	(无)		

(四) 总经费开支预算计划:

支出科目	金额 (万元)	用途说明
1.基建费		
其中:		
2.原材料费	3.00	
其中:	3.00	试剂、消耗性实验材料购置费; 动物饲料、动物管理、标本采集加工费用.
3.设备购置及使用费		
其中:		
4.专用业务费	1.75	
其中:	0.75	国际或国内交流费用, 按 15%计。
	1.00	标本测试、病理染色及分析费用; 资料分析处理, 版面费。
5.其他 (具体说明):	0.25	管理费, 按 5%计。
合计	5.00	

(五) 省科技厅经费开支预算计划:		
支出科目	金额(万元)	用途说明
1.原材料费	3.00	
其中:	3.00	试剂、消耗性实验材料购置费; 动物饲料、动物管理、标本采集加工费用.
2.设备购置及使用费		
其中:		
3.专用业务费	1.75	
其中:	0.75	国际或国内交流费用, 按 15%计。
	1.00	标本测试、病理染色及分析费用; 资料分析处理, 版面费。
4.其他(具体说明):	0.25	管理费, 按 5%计。
合计	5.00	

- 注释: 1. 原材料费: 包括元件、材料、试剂、配套设备部件等费用。
2. 设备购置及使用费: 包括专用设备购置及一般设备的使用等费用。
3. 专用业务费: 包括该项目的设计、调研、资料、技术培训、技术会议、外事、检测、外协加工费等。
4. 其中: 填写在支出科目中所占比例较大, 需做特别说明的经费开支。

六、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(2013)年广东省科技计划中 β -arrestin 2 在自身免疫性肝炎中的作用和信号调控机制研究项目(文件编号:编号粤财教[2013]97号)经协商一致,特订立本合同,作为甲乙双方在合同执行中共同遵守的依据。
- 第二条 甲方应:1.按合同规定进行经费核拨和工作协调。2.根据甲方需要,在不影响乙方工作的条件下,在指定时间检查乙方项目的实施情况和经费使用情况。3.在收到乙方项目验收书面申请后一个月内按合同组织验收。
- 第三条 乙方应:1.按合同规定的开支范围,对甲方核拨经费实行专款专用,单独列账,配合甲方进行监督检查。2.在每年十二月一日前向甲方如实提交本年度项目实施情况、经费决算的书面报告。3.项目完成后,乙方应在一个月内向甲方提交书面报告,申请甲方进行验收。4.项目验收后,乙方须在一个月内向甲方提供完整的验收资料和结题报告(格式见附件)。
- 第四条 在履行本合同的过程中,如遇到省财政计划改变等不可抗力情况,甲方对所核拨经费的数量和时间可进行相应变更。
- 第五条 在履行本合同过程中,如项目完成的进度加快或延缓,经双方协商,可对合同中经费年度下达计划、项目进度和阶段目标进行相应变更。
- 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失败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 在履行本合同的过程中,因出现在现有水平下无法克服的技术困难,致使项目失败或部分失败造成损失,1.乙方应及时通知甲方,提供相关证据并予以说明。2.甲方以已核拨的经费为最高限承担部分责任。
- 第八条 乙方违反约定造成项目工作停滞、延误或失败,未能通过验收,应承担违约责任。
- 第九条 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,按国家和省有关法规执行。
- 第十条 属技术保密的项目当事人双方订立技术保密条款,作为合同正式内容的一部分。
- 第十一条 根据项目具体情况,经双方协商订立的附加条款作为本合同正式内容的一部分。
- 第十二条 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。
- 第十三条 本保同的争议应由双方本着协商一致的原则解决,当合同需要更改或解除时,双方应订立变更条款或协议,仲裁和诉讼在甲方所在地进行。
- 第十四条 本合同一式六份,各份具有同等效力。甲方存三份,乙方存二份,保证单位存一份,本合同自签字之日起生效,有效期至项目验收后一年内。各方均应负合同的法律责任,不应受机构、人事变动而影响。

第十五条 违约责任:

违反本合同约定, 违方应承担违约责任。

1.违反本合同第三条第一项约定, 乙方应当承担违约责任, 承担方式和违约金金额如下:

(1) 合同解除。

(2) 乙方退还甲方已核拨的经费, 并自行承担由此引起的损失。

2.违反本合同第八条约定, 乙方应当承担违约责任, 承担方式和违约金金额如下:

(1) 退还甲方已核拨的经费。

(2) 按已核拨经费的 20%支付违约金。

第十六条 保密条款:

1.本合同保密内容范围为: 各级医学院校和各级医院。

2.本合同保密期限为: 2013-2016 年。

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。

第十七条 保证条款 (可由保证人和被保证人另行约定)

1.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, 保证人承担一般担保责任。

2.

说明: 1. 本合同书中, 凡是当事人约定无需填写的条款, 应在该条款的空白处划 (/)。

2. 委托代理人签订本合同书的, 应出具合法、有效的委托书。

七、本合同签约各方

管理单位（甲方）：广东省科学技术厅（盖章）

法定代表人（或法人代理）：李彪

联系人（项目主管）姓名：卢景昌

E-mail: lujc@gdstc.gov.cn

电话：020-83163898

年 月 日

承担单位（乙方）：中山大学附属第三医院

法定代表人（或法人代理）：陈规划

联系人（项目主管）姓名：任杰

E-mail: kyk8551@163.com

电话：020-85253214

开户单位名称：中山大学

开户银行及帐号：工行广州中山大学支行 3602864809100002723

年 月 日

乙方主管部门（丙方）：中山大学

法定代表人（或法人代理）：许宁生

联系人（项目主管）姓名：中山大学胡菁/蔚鹏

E-mail: kjcgxkb@mail.sysu.edu.cn

电话：020-84113181

开户单位名称：中山大学

开户银行及帐号：工行广州中山大学支行 3602864809100002723

年 月 日