

编号: CZQM2021006

常州市卫生健康育苗人才 培养合同书

姓 名:	姚 霜
依托课题名称:	载脂蛋白 M 通过 IKBKE-AKT 途径抑 制乳腺癌的自噬和增殖
培养单位 (甲方):	常州市卫生健康委员会
所在单位 (乙方):	常州市第一人民医院
所在单位主管部门 (丙 方) :	
合同起止年限:	2021 年 3 月 - 2023 年 12 月

常州市卫生健康委员会

二〇二一年

共 同 条 款

第一条 常州市卫生健康委员会（以下简称甲方）和青苗人才所在单位主管部门（以下简称丙方，涉及到辖市区培养对象的丙方参与本合同签订）与青苗人才所在单位（以下简称乙方），根据《中华人民共和国合同法》和《常州市卫生健康青苗人才培养工程实施办法》及国家有关规定，为顺利完成“常州市卫生健康青苗人才培养工程”建设任务，特订立本合同，作为甲、乙、丙三方在合同执行中共同遵守的依据。

第二条 任何一方均应严格遵守合同各项条款。甲方和丙方应根据《常州市卫生健康青苗人才培养工程实施办法》要求，严格按合同规定进行经费核拨与工作协调，监督、检查合同的执行情况，及时处理应由甲方和丙方解决的问题；乙方要严格按本合同履行青苗人才培养任务，督促人才培养计划进度实施，人才培养中途调离、退出等重大事项一个月内以书面形式通报甲方和丙方。

第三条 乙方应建立导师制人才培养模式，在技术发展和学术研究上为培养对象制定切实可行的人才培养目标计划和考核指标，并督促计划实施。

第四条 甲方根据《常州市卫生健康青苗人才培养工程实施办法》对培养对象予以资助（辖市区培养对象资助经费由辖市区承担）。乙方按1:2比例匹配，匹配经费按时足额到位。合同中经费预算栏中的“甲方资助金额”和“乙方资助经费”仅为预算经费，甲方根据评估考核结果和目标任务完成进度，分年度确定具体资助金额。

第五条 甲方制定考核目标和考核细则，会同丙方、乙方实施培养第二年和第三年末中期及期末（整个三年培养周期）绩效考核，并确定考核等次。资助经费与考核等次挂钩。培养首年度经费全额下达，中期、期末考核等次为优秀、良好的，全额下达年度培养经费，并对优秀等次

的上浮两年培养资助总经费的20%作为奖励经费；考核等次为合格的，按照两年培养资助总经费的80%下达。因培养对象个人原因，未能实施考核或考核达不到合格要求的，不予资助。

第六条 甲方明确，培养对象中期至少需完成以下业绩：以第一作者或第一通讯作者发表北图核心期刊及以上杂志论文1篇；主持市卫健委及以上课题（含指导性课题）1项，中医及公共卫生类培养对象发表科技核心期刊及以上杂志论文1篇。对未能完成中期绩效的，甲方可视绩效情况减拨最高不超过50%的年度基础资助经费（2万元）。

第七条 甲方明确，培养对象期末至少需完成以下业绩：以第一作者或第一通讯作者发表北图核心期刊及以上杂志论文2篇，其中SCI(E)收录或中华医学系列杂志论文至少1篇，中医及公共卫生类培养对象发表科技核心期刊及以上杂志论文2篇；主持市卫健委及以上课题（不含指导性课题）1项，或以主要完成者（前三名）获市级以上科技成果奖（含省医学新技术引进奖及市医学新技术引进一等奖，若为市医学新技术引进二等奖，则需为第一完成者）1项。对未能完成培养期绩效的培养对象，甲方和丙方可视绩效情况减拨50%以上至停拨第三年基础资助经费。

第八条 培养绩效考核为优秀等次的培养对象，可以由本人提出，甲方和乙方同意，选择知名专家（省级医学重点人才及以上或我市引进医学创新团队学科带头人）进行重点委托培养，培养周期为一年，并给予培养经费资助。考核优秀等次中的前10%的培养对象可直接进入高一层次的甲方人才培养工程培养。对培养期间取得重大科研课题与科技成果、实现重大技术创新、在科技成果转化及应用中取得突出成绩者，甲方将给予表彰和奖励。

第九条 乙方应按合同规定的支出范围对青苗人才培养对象培养经费进行严格管理，建立经费使用卡，专款专用。年度资助经费中（含甲

方或丙方资助经费及乙方配套经费), 导师指导经费不超过 4%。甲方和丙方有权对经费使用实行监督和检查, 并指定有关部门予以审计。如果乙方违反上述规定或经甲方或丙方检查确认计划进度不符合合同规定, 则甲方或丙方可决定减拨或停拨后续经费, 情节严重者可终止合同, 并追回已拨经费。

第十条 青苗人才在培养合同期内取得的成果及发表的论文均需标注“常州市卫生健康青苗人才培养工程资助”。取得的职务发明创造或职务技术成果持有权属甲乙丙三方共同所有, 三方共同决定该成果的应用方式及范围。职务发明创造或职务技术成果相应的知识产权按照《卫生知识产权保护管理规定》的有关条款处理。甲、乙、丙各方对技术资料有保密责任。

第十一条 在合同执行过程中, 任何一方不得擅自变更合同内容或解除合同, 如确需要变更或解除, 任何一方需与另两方协商, 共同签订变更条款或合同, 作为合同的正式附件, 方可执行。变更或解除后所造成的损失按责任原则承担。培养期内培养对象原则上不得调离所在单位, 如有特殊情况必须得到甲乙丙三方同意, 培养方能继续。自培养期开始(以发文确认培养对象日期为准) 5 年内因培养对象要求调离出常州市的, 乙方负责向培养对象追回甲方已拨资助经费的 30%, 并退回甲方。

第十二条 乙方在合同执行过程中, 对发现的问题如不及时处理和通报甲方、丙方, 以至贻误完成期限, 并造成不良后果, 乙方承担全部责任。甲方有权追回已拨经费, 直至赔偿经济损失。

第十三条 任何一方凡因不可抗拒的原因不能履行合同义务时, 应及时通知另外两方, 并在合理期间内出具合同不能履行的证明。三方应采取适当措施减少损失。甲方中途无故撤销或不履行合同时, 所拨经费不得追回, 乙方如无正常理由不履行合同, 或非不可抗拒的客观原因, 致使合同无法执行时, 应全部退回所拨经费。

第十四条 乙方应加强对青苗人才培养对象的教育工作。在培养期内，培养对象如果触犯国家法律法规、违反科学道德、学术不端，甲方有权将其退出青苗人才培养工程序列，并由乙方负责并追回全部甲方和丙方资助经费。

第十五条 乙方与培养对象要共同制定一份完整的三年培养计划书，具体要求及内容见后。

第十六条 本合同一式四份，甲方、丙方、乙方、培养对象各一份，各方签字、盖章后即生效。

培养对象三年培养计划书

一、主攻方向。须围绕一到两个主攻方向，可分若干领域开展研究计划。

主攻方向：1. 载脂蛋白 M 与乳腺癌患者胆固醇代谢的相关性。

2. 载脂蛋白 M 及乳腺癌转移的相关性及其可能机制。

二、主要目标。经过三年培养，围绕主攻方向达到的具体目标，含学术地位、业务发展、条件设备、科学研究等具体指标。

本项目依托常州市卫健委指导性科技项目“载脂蛋白 M 通过 IKK β -AKT 途径抑制乳腺癌的自噬和增殖”，围绕主攻方向，继续在细胞、动物和临床样本多层面拓展论证载脂蛋白 M (ApoM) 在乳腺癌进展中的保护作用。高脂高胆固醇饮食引起的高胆固醇血症是绝经后妇女患乳腺癌的独立危险因素，而我们前期研究发现，载脂蛋白 M 具有调节胆固醇水平的功能，并且能够抑制乳腺癌细胞的肿瘤化进展，因此本项目以乳腺癌细胞、乳腺癌病人和 ApoM 基因缺陷小鼠、乳腺癌转移小鼠模型为主要研究对象，建立体内及体外研究模型，探讨 ApoM 通过调节胆固醇代谢抑制乳腺癌转移的可能机制，也为乳腺癌的预防和临床诊疗提供了崭新的思路。本项目从脂代谢的角度探寻预测乳腺癌转移的新靶标，尝试建立 ApoM 表达的分子预测模型，评价 ApoM 作为乳腺癌转移及预后指标的临床适用性，是科学的、有临床转化价值的基础研究项目。

三、优势、特色、实用技术发展规划。开展和掌握 1-2 项本学科领域领先或特色技术，并提出具体实施和开展方案、工作量、考核标准。

首先，课题组已经成功构建可以稳定传代的 ApoM 基因敲除小鼠，前期已利用该小鼠进行多项科学研究。目前国内外尚无利用 ApoM 基因敲除小鼠进行乳腺癌相关的研究，因此，本项目创新性的利用 ApoM^{-/-}小鼠构建乳腺癌易感模型，比较不同基因型小鼠对乳腺癌致癌药物的敏感性有无差别。其次，在前期实验中课题组通过亲和层析法成功分离人高密度脂蛋白 HDL 中的 ApoM⁺HDL 和 ApoM⁻HDL，并且成功用荧光标记的胆固醇孵育巨噬细胞进行胆固醇示踪，这些优势技术的摸索并成熟为本项目研究中的细胞实验提供了坚实的物质及材料基础。在本项目中，课题组将研究对象定位为乳腺癌细胞株，观察胞内外胆固醇的转运情况及其对乳腺癌细胞侵袭转移功能的影响。

四、考核指标。围绕主攻目标，提出可以量化和考核的中期和期末考核指标。包括主要业务发展指标、优势、特色、实用技术工作量，学会任职，论文，科研成果，课题，专利，新药证书，论著等。

1、中期考核指标

完成主攻方向研究内容第一部分，预期能确认 ApoM 与乳腺癌转移之间的相关性。本阶段持市卫健委及以上课题（含指导性课题）1 项。

2、期末考核指标

完成主攻方向研究内容第二和第三部分，预期能利用动物实验，明确 ApoM、胆固醇水平与乳腺癌转移能力的相关性。在细胞水平上深入探讨 ApoM 通过调节胆固醇代谢抑制乳腺癌转移的分子机制。本阶段以第一作者或第一通讯作者发表北图核心期刊及以上杂志论文 2 篇，其中 SCI（E）收录或中华医学系列杂志论文 1 篇。

五、单位培养措施。须列出具体培养措施，包括业务条件改善、人

才配套资金落实、出国进修、人才倾斜支持等。

承诺严格按照卫健委的相关规定进行指导和培养，给予相应的经费配套，并依照考核标准对其成长过程进行定期检查。努力将其培养成为具有一流水平、取得显著成果和突出业绩、并能推动技术创新和实现科技成果转化、促进行业发展的高层次卫生人才。

六、研究课题。包括研究目的、研究内容和目标、预期达到的结果、主要技术指标、研究进度等。

项目名称：载脂蛋白 M 通过调节胆固醇代谢抑制乳腺癌转移的机制研究
研究目的：

1. 从临床组织标本方面确认 ApoM 与乳腺癌转移之间的相关性。
2. 利用动物实验，明确 ApoM、胆固醇水平与乳腺癌转移能力的相关性。
3. 在细胞水平上深入探讨 ApoM 通过调节胆固醇代谢抑制乳腺癌转移的分子机制。

研究内容和目标：

本课题以乳腺癌病人组织、ApoM 基因缺陷小鼠和乳腺癌细胞为主要研究对象，建立体内外研究模型，探讨 ApoM 通过调节胆固醇代谢抑制乳腺癌转移的可能分子机制，目标旨在明确 ApoM 与胆固醇代谢、乳腺癌转移之间的相关性。拟从以下几个方面入手：

1. 临床分析：分别检测 100 例转移性乳腺癌患者和 100 例非转移性乳腺癌患者血清以及手术标本中 ApoM、胆固醇的水平，结合临床病理资料，分析 ApoM 和胆固醇水平与乳腺癌转移的临床相关性；并且尝试建立 ApoM 表达的分子预测模型，评价 ApoM 作为乳腺癌转移及预后指标的临床适用性。

2. 动物实验：

2.1 取 8 周龄雌性 ApoM^{-/-}和 ApoM^{+/+}小鼠，每组 20 只，实验前先检测并比较小鼠血清中胆固醇水平有无差别，检测后按 50mg/kg 口服灌胃二甲苯蒽（DMBA）橄榄油溶液，每周一次，连续五周。造模结束后每周观察，以第一次触摸到乳房硬结时间平均值记为肿瘤潜伏期，以同一时间点各组小鼠的乳腺癌发生率和肿瘤潜伏期表示肿瘤进展，记录每只

小鼠死亡事件，绘制存活时间曲线，比较不同基因型小鼠对致癌药物 DMBA 的敏感性有无区别。

2.2 裸鼠乳腺癌转移模型实验：将 40 只 8 周龄雌性裸鼠随机分为 2 组，每组 20 只，高脂喂养一个月后进行实验。实验组尾静脉注射 1×10^5 个/ml 经慢病毒转染高表达 ApoM 的乳腺癌细胞悬液，对照组注射同等量的空载病毒组细胞，每天观察小鼠状态，10 周后取血检测胆固醇水平并解剖小鼠取淋巴结（腋窝、腹股沟和腰椎）、肝脏及肺进行 HE 染色及细胞角蛋白 18 (CK18) 免疫组化染色分析，观察两组小鼠乳腺癌的转移情况并评估和胆固醇水平的相关性。

3. 细胞实验：

3.1 以高侵袭能力的三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-468 为研究对象，通过慢病毒感染，RNA 干扰等实验手段过表达或者敲低乳腺癌细胞株中 ApoM 的表达，通过 Transwell 侵袭、划痕愈合实验等技术手段探究 ApoM 对乳腺癌细胞株侵袭能力的抑制作用。在成功构建 ApoM 过表达细胞株后，加入外源性的胆固醇代谢产物 27-羟基胆固醇（已证明与乳腺癌转移相关），观察乳腺癌细胞的侵袭作用是否回复。

3.2 用带有荧光标记的 NBD 胆固醇孵育乳腺癌细胞，荧光显微镜下确认荷脂的乳腺癌模型构建成功，采用富含 apoM 和不含 apoM 的高密度脂蛋白孵育荷脂的乳腺癌细胞，观察胞内外胆固醇的转运以及胞内 27-羟基胆固醇含量的改变，以及乳腺癌细胞株侵袭转移相关因子 E-钙黏蛋白、波形蛋白和 E 盒结合锌指蛋白 1 等指标的变化，明确 ApoM 通过是否可以通过调节胆固醇代谢抑制乳腺癌的转移。同时检测 ER, LXR 信号通路的转录活性，明确其可能的信号通路。

预期达到的结果：

1. 明确 ApoM 与乳腺癌转移的临床相关性。
2. 明确 ApoM 可以通过调节胆固醇代谢来抑制乳腺癌转移。

主要技术指标：

发表论文 1~2 篇，其中 SCI 收录 1 篇；参加国内外学术会议交流研究成果；协助培养硕士研究生 1 名。

研究进度：

【2021.03-2021.12】完成 ApoM 与乳腺癌转移相关性的临床分析。

【2022.01-2022.09】完成裸鼠成瘤及乳腺癌小鼠模型相关的动物实验。

【2022.10-2023.07】完成 ApoM 通过调节胆固醇代谢抑制乳腺癌转移的细胞学研究。

【2023.08-2023.12】数据统计学分析及课题总结，本阶段完成 1-2 篇论文的撰写。

在各级领导关心支持和配套经费保障下，该项目将严格遵守研究计划管理办法及有关科技计划的管理规定，切实保证研究工作时间，按计划认真开展研究工作，现取得的研究工作基础和已具备的研究技术和条件可确保本项目顺利实现预期目标。

七、导师承诺书

导师个人情况	姓 名	罗 光 华		性 别	男	民 族	汉	
	出生年月	1972.07		专业技术职称	研究员	最高学术头衔	1. 江苏省第五期“333工程”第三层次培养对象 2. 江苏省医学重点人才(联合共建)	
	导师身份	A: 博导() B: 硕导(√)		目前从事专业	分子生物学	本人研究方向	1. 载脂蛋白M的功能及临床意义的研究 2. 肿瘤的基础与临床研究 3. 新型分子诊断试剂开发研究	
	所在单位及科室	常州市第一人民医院临床医学研究中心						
	最高学会任职	中国微生物学会临床微生物学专业委员会全国委员						
	联系方式	电话	[REDACTED]		传真		邮编	213003
	Email	[REDACTED]						

导师对培养工作的承诺 (限 300 字):

本人承诺严格按照常州市卫生健康委的相关规定对姚霜同志进行指导和培养,并依照考核标准对其成长过程进行定期检查。努力将其培养成为具有一定学术水平、取得显著成绩、能够助力卫生健康高质量发展及素质优良的创新人才。

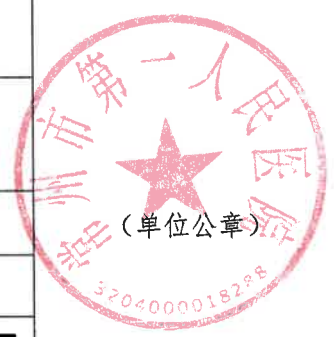
导师签字:

日 期:


2022.1.10

八、经费预算

甲方资助金额	6 万元		
乙方匹配经费	12 万元		
辖市区资助经费	0 万元		
其他来源经费	0 万元		
合 计	18 万元		
申请资助的预算支出科目	2021 年	2022 年	2023 年
1、国内外进修费用	0	0	0
2、学术交流及出版学术 论著费用	2 万元	2 万元	2 万元
3、研究项目费用	3 万元	3 万元	3 万元
4、其他费用	1 万元	1 万元	1 万元
合 计	6 万元	6 万元	6 万元

甲 方	单位名称	常州市卫生健康委员会	
	法人代表（签章）		
	育苗人才培养 工作联系人	任玉玉	
	地 址		
	邮 编	213022	
	电话及传真		
乙 方	单位名称	常州市第一人民医院	 年 月 日
	法人代表（签章）		
	育苗人才 培养对象	姚霜	
	人才工作负责人 （签章）		
	地址及邮编	常州市局前街 185 号 213003	
	电话及传真		
	开户银行		
	帐 号		
丙 方	单位名称		（辖市区卫健局公章） 年 月 日
	法人代表（签章）		
	育苗人才培养 工作联系人		
	地 址		
	邮 编		
	电话及传真		

常州市科技项目合同

项目编号: CJ20210113

计划类别: 应用基础研究计划(中补助)

项目名称: 基于二维PCR技术单管同时检测九种性传播疾病病原体的方法学研究

起止年限: 2021-05-30 至 2023-05-29

项目负责人: [REDACTED] 电话或手机: [REDACTED]

项目联系人: [REDACTED] 电话或手机: [REDACTED]

承担单位: 常州市第一人民医院

单位地址: 常州市局前街185号

邮政编码: 213003

主管部门: 常州市科学技术局

常州市科学技术局

二〇〇五年一月制

填 写 说 明

1、甲方为科技项目下达单位，即常州市科学技术局；乙方为项目承担单位（法人单位）；丙方为项目保证单位，即承担单位项目申报渠道部门（主管部门）。

2、本合同主要适用于常州市科技计划项目合同的签定。

3、工程技术研究中心的目标、主要内容及考核指标，按①设施建设的主要任务；②研究或工程化技术开发的任务；③开放运行与技术辐射的任务等方面填写。科技创新服务体系项目的目标、主要内容及考核指标，按服务能力建设内容，包括能力积累指标、服务效果指标等方面填写。

4、合同条款中所有空项都需如实填写，确无此项的，请在该栏中打“/”。

5、承担单位需按照市统计局科技统计报表填报的工作部署，如实、准确填报统计年报、定期统计报表等科技统计报表（报表填报工作以市、区科技局具体通知为准），该项工作将与项目承担单位的立项及过程管理挂钩。

6、单位盖章必须是单位公章，部门章无效。

一、项目的目标和主要研究内容

要解决的主要技术难题和问题，项目研究的创新点和内容等。（工程技术研究中心、①设施建设的主要任务；②研究或工程化技术开发的任务；③开放运行与技术辐射的任务等方面填写。科技创新服务体系项目按服务能力建设的主要内容填写）

性传播疾病的感染仍然是世界生殖健康和经济的沉重负担。超过 30 种病原体可以通过性接触传播，其中沙眼衣原体、淋病奈瑟菌、生殖支原体、阴道毛滴虫、人型支原体、解脲支原体、微小解脲支原体和单纯疱疹病毒是当今最流行的性传播疾病病原体。性传播感染在早期无症状的特点使其容易被忽视，从而可能导致其他严重的疾病和并发症，如盆腔炎、异位妊娠、早产、流产等。因此早期发现和治疗感染病例，并对高危人群进行筛查和治疗是防控性传播疾病感染的关键。而有些病原体导致了相似的症状，仅靠临床诊断难以区分，并且，经常多种病原体合并感染，使得诊断和治疗更加困难。对于发展中国家，一种快速、易于操作、敏感又经济实惠的检测方法对于诊断和治疗性传播感染至关重要。临床常用的性传播疾病病原体的检测方法主要有培养法、非培养法（免疫学检查和形态学检查），基于 PCR 的核酸检测（如巢式 PCR 熔解曲线法、定量 PCR 以及基因芯片、基因测序）。总的来说，传统病原学培养的遍耗时较长且存在一定的假阳性率。多种因素影响标本质量，从而影响培养结果的准确性，且绝大多数病原体不可培养。以 PCR 为基础的分子诊断技术在敏感性、特异性和检测时效上明显优于培养法和非培养法。与普通 PCR 相比，巢式 PCR 克服了单次扩增平台期效应的限制，使扩增倍数提高，从而极大的提高了 PCR 的敏感性。但存在进行第二次扩增时引起交叉污染的几率较大等缺点。多重 PCR 的引入增加了病原体的检测通量，PCR 特异性扩增后检测是否存在特异性扩增片段以实现病原体的鉴定方面，可用的方法除了电泳法，还包括热熔解曲线法、基因芯片等方式。

本研究在项目组前期发明的碱基淬灭探针技术的基础上，开创了一种全新的二维 PCR（Two-dimensional PCR, 2D PCR）技术，可在单管中、闭管条件下，高通量检测并鉴定多种靶基因，且无需额外的产物鉴定仪器设备和复杂的处理过程。在探针和标签设计合理时，二维 PCR 有望实现在较短的时间内同时检测和鉴定 30 种及以上的靶基因。这种技术特别适用于临床实验室微生物检测、基因甲基化筛检、肿瘤基因检测、多基因突变检测等等，具有较高的社会效益和经济效益。

1. 要解决的主要技术难题与问题

二维 PCR 的技术应用难点与多重 PCR 类似，若想在—一个体系中实现多种甚至几十个片段的特异性扩增，并非简单将引物混合扩增即可，不同引物的特异性、不同扩增片段本身的特异性及扩增条件均为需要综合考虑的内容。设计二维 PCR 并进行应用时，至少需要综合考虑以下几个关键难点：在每个二维 PCR 反应体系中，不带标签的引物比带标签的引物多 6 倍。这是因为所有同源性标签和对应的探针都将竞争标签的反向互补序列。这种竞

争可能会干扰熔解曲线分析并导致假阴性结果。为了增加带有标签反向互补序列的产物的数量，未加标签的引物用量需要高于带有标签的引物。此外，在二维 PCR 体系中，碱基猝灭探针是利用探针和靶基因解离和杂交状态之间荧光强度的改变来工作的。合适的探针的量对于是否能够出一个较好的熔解曲线和低浓度样本的检出至关重要。在其他条件不变的情况下，探针的量决定了能有多少探针和标签反向互补序列有效杂交。如果探针量过少，荧光信号不足，熔解曲线上则表现为曲线谷值或者峰值过低。然而，探针量如果过多时，PCR 反应体系中，存在过多的游离的探针，将会造成荧光背景过高，这种情况对于低浓度样本的成功检测带来了很大的困难。另外，加入过量的探针也会影响到整体方法学的经济效益。本研究在考虑不同标签反向互补序列对探针的竞争的同时，兼顾高荧光背景的干扰，适当增加了探针的用量。随着更多的探针能够与反向互补序列杂交，荧光信号得到了增强，从而减少了假阴性结果的可能性。由此可见，二维 PCR 希望实现较好的扩增性能，需要综合考虑反应多方条件，具有较高的技术壁垒。

2. 创新点

本项目预期可创造性地建立一种适用于单管检测 8 种性传播疾病病原体的高通量 PCR 技术，该技术无需开盖对产物进行二次分析、无需额外设备、在单管反应中即可完成 8 种病原体的 DNA 鉴定；具有检测时间短、操作简便、通量高及用途广等优点。目前国内外的性传播疾病病原体的联合检测方法覆盖范围较小，在 PCR 完成后往往需要二步检测，使用仪器较为复杂无法普及，操作繁琐。本项目的创新之处在于创造性地应用碱基猝灭探针技术，依据 T_m 值识别特异性引物上标签的反向互补序列，达到在单色荧光通道内鉴定多个靶基因的目的。再通过结合多色荧光通道，在荧光检测波长和温度这两个维度内建立二维 PCR，实现单管反应批量检测靶基因的目的。

3. 项目内容

项目的主要研究内容有：1) 建立二维 PCR 标准化探针及标签库，针对最常用的 FAM、HEX 两个荧光检测通道，随机设计两段不同探针序列和对应的两组同源性标签序列。依据 T_m 值筛选、优化并建立标准化探针及相应标签库。2) 基于二维 PCR 技术单管检测 8 种性传播疾病病原体，针对沙眼衣原体、淋病奈瑟菌、生殖支原体、阴道毛滴虫、人型支原体、解脲支原体、微小解脲支原体和单纯疱疹病毒分别设计各自的特异性前后引物，验证每一对引物都能成功检测出含有靶基因的质粒。在原有二维 PCR 体系的基础上，不断优化反应条件及反应体系，实现每个荧光通道中 4-5 种扩增引物及产物之间不互相干扰，获得易于分辨的熔解曲线。3) 单管鉴定 8 种性传播疾病病原体的二维 PCR 技术方法学评价，应用以上所建立的二维 PCR 方法检测梯度稀释的含靶基因的质粒标本，确定最低检出限。然后皮肤科、妇科收集临床宫颈刷标本、泌尿生殖道拭子以及患处拭子。分别应用所建立的二维 PCR 方法、测序法以及 8 种病原微生物临床实验室常用检测方法进行检测，采用一致性检验两两比较三种方法在检测结果上是否具有一致性。

主要的研究目标为应用课题组前期研发的二维 PCR 技术，拟建立单管同时检测 8 种性

传播疾病病原微生物的方法，并评价该方法学的敏感性、特异性与一致性，预期提高性传播疾病感染的诊断效率，实现性传播疾病的早期筛查。

二、项目的考核指标

包括1、主要技术指标：如形成的专利、新技术、新产品、新装置、论文专著等数量、指标及其水平等；2、主要经济指标：如技术及产品所形成的市场规模、效益等；3、项目实施中形成的示范基地、中试线、生产线及其规模等；4、其他应考核的指标。（重点实验室、工程技术研究中心项目按设施建设、研究或工程化技术开发的任务、开放运行与技术辐射等方面的主要考核指标填写。科技公共服务平台项目按设施建设、人才团队建设、服务能力、服务业绩等指标填写。科技创新服务体系和创业平台项目按服务能力、服务业绩指标填写。知识产权计划中战略推进项目主要包括企业知识产权管理标准化的创建与完善、未来三年企业知识产权战略规划、知识产权管理制度建设、机构建设、工作体系建设成果、专利信息服务系统建设、自主知识产权产出指标、知识产权战略运用成果、有自主知识产权的产品社会效益等）

项目预期取得成果	基本指标	新增面积(平方米)		0		新增设备(台)		0			
		新增技术(服务)人员(名)				新增服务内容(项)					
	经济指标	新增投入(万元)		5		新增产值(万元)		0			
		新增销售额(万元)		0		新增利润(万元)		0			
		新增交税(万元)		0		新增创汇(万美元)		0			
	技术指标	新产品(个)	0	建成新装置(套)		0		新工艺(项)		0	
		样品(件)	0	样机(台)				0			
		发表论文(篇)	1	出版科技著作(部)				0			
		制定技术标准(件)		国家标准		0		行业标准		0	
		获奖情况(项)		国家		省		市			
		专利申请(项)		发明	0	实用新型	0	外观设计		0	
		专利授权(项)		发明	0	实用新型	0	外观设计		0	
		社会指标	新增服务企业(家)		0		新增服务收入(万元)				0
	被服务企业新增销售(万元)										
	知识产权管理	企业知识产权管理机构					专利信息数据库				
		专利信息分析报告					企业知识产权战略规划				
		企业专利墙					企业知识产权管理人才(名)				
		贯彻企业知识产权管理规范					企业有效专利拥有量(件)				
	专利产生的经济效益	新增产值(万元)		0		新增利润(万元)		0		新增交税(万元)	0

主要技术指标：

- 1、应用二维 PCR 的技术成功建立单管同时检测 8 种性传播疾病病原微生物的方法。
- 2、评价该方法学的敏感性、特异性与一致性，预期提高性传播疾病感染的诊断效率，实现性传播疾病的早期筛查。
- 3、预期该项目在国际权威杂志发表 SCI 论文 1 篇。

三、项目阶段计划及目标

项目起止时间 2021-05-30 起至 2023-05-29 止

时间阶段	计划及目标
2021-05-30 至 2021-12-31	完成探针及相应标签的设计、筛选及优化，并完成8种性传播疾病病原体基因的引物设计及质粒的构建。预期可依据探针与标签反向互补序列的T _m 值建立标准化探针、相应标签库。
2021-12-31 至 2022-06-30	不断调整并优化单管检测8种病原体和一种内参基因的多重PCR的反应体系，预期可成功建立单管同时检测8种性传播疾病病原体的二维PCR检测方法。
2022-06-30 至 2022-12-31	梯度稀释含靶基因的质粒样本，分析二维PCR的最低检出限。应用所建立的二维PCR方法与临床实验室常用检测方法、DNA测序法分别进行检测，采用一致性检验比较三种方法在检验结果上是否具有 consistency，评估二维PCR技术在性传播疾病早期筛查方面的性能。
2022-12-31 至 2023-05-29	实验数据分析及汇总资料，撰写论文，开展结题工作。

四、项目承担单位、参加单位及主要研究人员

项目承担单位：		常州市第一人民医院								
主要参加单位：		/								
项目负责人：										
姓名	性别	出生年份	国籍	证件号码	学历	学位	职称	业务专业	所在单位	在项目中的分工
姚霜	女		中国		硕士研究生	硕士	中级	临床检验诊断学	常州市第一人民医院	主持
主要研究人员										
罗光华	男				博士研究生	博士	高级	分子生物学	常州市第一人民医院	项目指导与数据分析
郑璐	女				博士研究生	博士	高级	分子生物学	常州市第一人民医院	项目指导
湛玉霞	女				硕士研究生	硕士	初级	临床检验诊断学	常州市第一人民医院	核酸提取
于洋	女				本科	硕士	中级	临床检验诊断学	常州市第一人民医院	PCR检测

五、共同条款

签订合同各方共同遵守市计划管理办法（以下简称“办法”）：

1、乙方必须按要求报送项目阶段执行情况和有关统计报表，逾期不报，市科技局有权暂停拨款和记录不良信誉。

2、合同执行过程中，乙方如需要调整任务、项目完成时间、项目负责人等，应向常州市科技局提出变更内容及其理由的申请报告，经审定批复后实施。

3、乙方因某种原因致使项目无法执行，而要求终止任务，应提出终止项目的书面申请，经丙方审核并签署意见后，报市科技局审批。经审批同意终止的项目，市科技局视不同情况，部分或全部收回市拨经费。如乙方没有提出终止合同的要求，丙方可根据调查情况有权提出终止合同的处理建议，报市科技局批准后执行。

4、乙方应按进度要求落实自筹经费，并以项目为核算对象进行单独立项核算，同时按科技经费开支范围有关规定，专款专用。

5、丙方承诺给予配套资金的，须在配套条件落实保证方盖章。丙方要根据科技经费使用的有关规定，监督项目经费使用情况。凡不符合规定的开支，丙方负责提出调整意见。必要时，市科技局有权直接提出调整或撤销意见。

6、甲方中途无故撤销或不履行合同时，所拨经费、物资不得追回；乙方如无正当理由不履行合同，或非不可抗拒的原因致使合同无法执行时，甲方有权收回所拨经费、物资。

7、市科技项目实施形成的科技成果及知识产权，除涉及国家安全和重大社会公共利益的以外，原则上属乙方所有。乙方向省外转让成果须报甲方备案。

8、合同各方不准索要、赠送和接受回扣、礼金、有价证券、贵重物品和好处费、感谢费等；不准为个人装修住房、婚丧嫁娶、配偶子女的工作安排以及出国（境）、旅游等提供方便及应由个人支付的费用。如有违规、违纪、违法行为的，及时向纪检监察机关举报，举报电话：85681551。

9、本合同签订时一般一式陆份，甲、乙、丙各执两份。甲、乙、丙各方对项目合同及其他技术资料负有保密责任。

10、本合同协议的其他条款如下：

①

②

③

六、签订合同各方

甲方:

法定代表人或



(签字)

委托代理人



处室负责人(签字)

经办人(签字)



乙方:

法定代表人或



(签字)

委托代理人

项目负责人(签字) 姚霜



开户银行:常州市第一人民医院

银行帐号: [REDACTED]

2021年10月21日

丙方:

法定代表人或

(签字) [Signature]

委托代理人



