

浙江省科技计划项目

合同书

计划编号：2017C03028

项目名称：免疫治疗新技术应用研究-NK细胞靶向富
集联合菌群调节治疗肠癌的新技术研究

计划类别：重点研发计划

补助方式：分期补助

项目委托单位(甲方)：浙江省科学技术厅

项目牵头承担单位(乙方)：浙江大学(附属第一医院)

起止年月：2017-01-01 至 2020-12-31

浙江省科学技术厅

2016年制

填写说明

1. 本合同文本适用于财政科技经费以“分期补助”方式资助的省级科技计划项目。

2. 本合同所列内容应实事求是填写，表达要明确、严谨。

3. 合同中的“项目主要研发内容”，包括拟解决的主要技术问题、难点、主要创新点等。

4. 合同中的“项目主要技术、经济指标（含产业化目标及成果提供形式）”。主要技术指标及成果提供形式，包括项目完成时，技术或产品的规格、水平，形成的专利、论文、专著，人才培养等量化指标，样机、样品、研究报告、技术规范、标准等成果提供形式。主要经济指标，包括项目完成时，技术或成果应用形成的市场规模、产能、示范基地等，完成的产值、销售收入、利润、税收等。

5. 合同中的“项目经费支出预算”应与预算评审报告一致，按《浙江省省级科技研发和成果转化项目经费管理办法》（浙财教[2012]357号）规定的开支范围填写。

6. 合同中的“备注”，包括重要的必须补充的内容。

7. 合同中丙方是指项目归口管理部门（包括省有关部门和市、县科技局）。市、县科技局安排项目配套资金的应作为合作丙方。

一、项目基本情况

项目名称	免疫治疗新技术应用研究-NK 细胞靶向富集联合菌群调节治疗肠癌的新技术研究		
项目主管处室	社发处	项目主管	叶琳
项目计划类别	重点研发计划	项目管理领域	综合医学
项目技术来源	自主开发	技术创新方式	自主创新
补助方式	分期补助	/	/
项目开始日期	2017-01-01	项目完成日期	2020-12-31
项目牵头承担单位	单位名称	浙江大学（附属第一医院）	
	单位类型	高等学校	所有制类别 国有制类型
	法人代表	吴朝晖	法人代码 47009501-6
	法人代表身份证号	330106196612180434	企业规模 其他
	税务登记证号	12100000470095016Q	注册资本 0 万元
	通信地址	杭州市西湖区余杭塘路 866 号	邮政编码 310058
	联系人	严智宇	手机 13758211655
	电话/传真	0571-88981029	E-mail yanzhiyu@zju.edu.cn
	所属行业	其他	/
合作单位	单位名称		法人代码
	1	树兰(杭州)医院	32191662-6
	2	浙江生创精准医疗科技有限公司	34193464-5

二、项目负责人及项目组成员

项目负责人	姓名	方维佳	证件号码	330102197410120918		
	学历	研究生	学位	博士		
	职称	副高级	现从事专业	肿瘤学		
	手机	13758211655	E-mail	weijiafang@zju.edu.cn		
	工作单位	浙江大学医学院附属第一医院	法人代码	47000322-2		
	通讯地址	杭州市庆春路 79 号	邮政编码	310006		
项目组成员	姓名	证件号码	所在单位	职称	从事专业	年参加项目 工作时间 (月)
	郑怡	330103198401010013	浙江大学医学院 附属第一医院	中级	肿瘤学	6
	牟海波	332602197607200013	树兰(杭州)医院	副高级	肿瘤学	6
	丁元	33010219860710123X	浙江大学医学院 附属第一医院	中级	外科学	6
	童舟	330802199002054023	浙江大学医学院 附属第一医院	初级	肿瘤学	6
	吕龙贤	220621197710021410	浙江大学医学院 附属第一医院	中级	传染病	4
	高海女	330323197703270920	树兰(杭州)医院	副高级	传染病	4
	李程	410105198302271026	浙江生创精准医 疗科技有限公司	中级	生物化学及 分子生物学	6
	蒋微琴	330323198002253620	浙江大学医学院 附属第一医院	中级	肿瘤学	6
	刘璐璐	360425198705052028	浙江大学医学院 附属第一医院	初级	肿瘤学	6

	马玺	332624199307100042	浙江大学医学院 附属第一医院	初级	外科学	6
	孙忠权	330304199107062113	浙江大学医学院 附属第一医院	初级	外科学	6

三、主要研发内容和关键技术

研发内容：

1. 构建NKG2DL(ULBP2)-GUCY2C双特异性抗体:1.1 双特异性抗体表达载体的构建及抗体蛋白的表达纯化; 1.2 双特异性抗体物理及化学性质的初步鉴定; 1.3 双特异型抗体的在细胞水平及在小鼠模型中的效果评价;
2. NK 细胞体外三维大规模扩增培养体系: 采用蛋白稳定表达系统, 在饲养细胞的细胞膜表面稳定表达目标基因, 确保长期、高收益的在细胞膜上得到高水平表达的IL-21、CD14、CD19、CD86 和 CD137 多肽; 将挑饲养细胞单克隆至特定数量, 以固定比例与微载体混合, 进行扩增培养; Ficoll 分离、获得 1.0×10^6 数量的人单个核细胞, 以特定比例接入饲养细胞, 进行NK 细胞体外大规模悬浮扩增与激活。
3. 抗肿瘤治疗联合肠道菌群免疫调节治疗晚期结直肠癌病人的方案确定及相关指标监测: 纳入初治晚期结直肠癌病人共 60 例, 分为对照组、嗜酸乳杆菌干预组、枯草杆菌二联活菌干预组及双歧杆菌三联活菌干预组。应用流式细胞术检测外周血中 NK 细胞的数量 (CD3+CD56+) 及 NK 细胞表面分子 (CD137、CD107a) 的表达, 用胞内染色检测NK 细胞产生 IFN- γ 等细胞因子及活化状态, 并对病人的粪便 DNA 进行分析, 明确肠道菌群的种属改变以及功能代谢基因的变化情况。依托上述抗肿瘤治疗及肠道菌群调节干预前后 NK 等免疫指标以及菌群改变动态变化特征谱, 构建临床推荐菌群调节方案, 并在省内推广应用, 并适时根据国家免疫治疗的全面推进, 及时在上述研究的扎实基础上, 开展NK 等细胞免疫治疗。

关键技术

1. 构建 NKG2DL(ULBP2)-GUCY2C 双特异性抗体; 2. 应用微载体专利技术建立成熟的 NK 细胞体外三维大规模扩增培养体系; 3. 建立抗肿瘤治疗及肠道菌群调节干预前后 NK 等免疫指标以及菌群改变特征谱, 形成临床推荐菌群调节方案。

四、研发目标任务和主要技术经济指标（分别明确约束性指标与预期性指标）

1. 在哺乳动物细胞株 CHO 或 293 中建立双特异性抗体制备方法，实验室制备水平达到 1-2mg/L。
2. 实现 NK 细胞激活、体外大规模扩增，并稳定达到平均 90%以上，实现临床级别即单次细胞数量最高可达 10^{10} 的简便、规范化批量培养方案，明确 NK 细胞培养的规划化流程，规范 NK 细胞标准化制备体系。
3. 建立肠道菌群调节与免疫治疗的联合方案，通过体内外实验，结合临床数据，明确 NK 联合肠道菌群调节治疗肠癌的分子机制。建立结直肠癌个体化细胞免疫治疗中的分子分型、及疗效评价新方案。
4. 发表 SCI 收录论文 5~6 篇，申请发明专利 1~2 项，培养研究生 2~3 名。

五、计划进度目标

起止年月			计划进度描述
2017-01-01	至	2017-12-31	构建双特异性抗体表达载体,初步鉴定其理化性质,并开展肠癌病人入组临床研究。
2018-01-01	至	2018-12-31	完成双特异性抗体的体外及小动物模型体内的初步评价,同时,建立成熟可行的NK细胞体外三维大规模扩增培养体系,并进行专利申报
2019-01-01	至	2019-12-31	完成双特异性抗体实验室水平的临床前研究,肠道微生态失衡系列检测分析
2020-01-01	至	2020-12-31	结合临床数据,建立并推广结直肠癌个体化细胞免疫治疗中的分子分型及疗效评价新方案,文章撰写及投稿。

六、项目经费来源

1、本项目研发总经费 190 万元，其中：甲方补助 190 万元，乙方自筹 0 万元，丙方配套 0 万元。

2、甲方经费拨付计划，共同承担单位经费由牵头承担单位转拨。

单位：万元

	首期	二期	合计
甲方资金	100	90	190

	甲方补助	牵头承担单位
首期	100	100
二期	90	90
合计	190	190

3、乙方自筹和配套到位计划

单位：万元

	首期	合计
乙方自筹资金	0	0
丙方配套资金	0	0

	乙方自筹	牵头承担单位
首期	0	0
合计	0	0

	丙方配套	牵头承担单位
首期	0	0
合计	0	0

七、项目经费支出预算

单位：万元

经费开支科目		预算经费总额	其中省科技厅经费
一	直接费用	158.41	158.41
1	设备费	0	0
2	材料费	76.41	76.41
3	测试化验加工费	28	28
4	燃料动力费	0	0
5	差旅/会议/国际合作交流费	6	6
6	合作协作研究与交流费 (国内合作)	20	20
7	出版/文献/信息传播/知 识产权事务费	5	5
8	人员劳务费	20	20
9	专家咨询费	3	3
二	间接费用	31.59	31.59
10	间接费用(包含管理费与 激励费)	31.59	31.59
合计		190	190

八、需增添的仪器设备

单位：万元

名称	数量	单价	省科技厅拨款	自筹	用途说明

合同其他条款

1. 各方应严格遵守本合同的各项条款。因合同执行过程中出现的客观原因，任何一方认为有必要变更合同条款内容的，需经协商一致。

2. 乙方应按《浙江省省级科技研发和成果转化项目经费管理暂行办法》规定，对项目经费支出单独建账，独立核算。

3. 甲方有权按照合同的要求，监督、检查乙方项目进展和经费使用情况，乙方应予以配合。乙方应按省监察厅、省科技厅等四部门《关于科研经费使用信息公开的实施办法》的规定每半年向甲方公开或报送项目执行和经费使用情况。

4. 乙方有权按照合同的要求组织实施项目、使用项目经费。乙方未按本合同落实自筹经费，或未按规定使用项目经费的，甲方有权暂停拨款直至解除合同，并收回已投入的经费。

5. 丙方应协助甲方监督、检查乙方项目进展和经费使用情况，协调解决合同执行过程中出现的问题。合同履行过程中，如丙方发现乙方存在或可能存在无力或不愿忠实履行合同义务情形时，应及时向甲方提出暂停拨款或解除合同等建议。

6. 乙方由多家单位组成的（如联合招标项目），各方的出资数额、方式、时间以及其他相关权利和义务需单独订立协议，作为本合同的附件，视作本合同的组成部分。

7. 合作、协作研究与交流费是指给合作单位，并承担所应研发任务的经费。相应研发任务、研发成果应在合同书研发目标任务中注明。

8. 根据《浙江省科技计划项目验收管理办法》（浙科发计[2015]31号），乙方完成本项目任务后，应及时提交材料报告，做好验收工作。

9. 成果的权属和保密。本项目研究取得的技术成果，其知识产权归属及成果转化，按国家和本省的有关规定执行。涉及国家机密的，按国家《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》有关规定执行。

10. 本合同文本一式六份，分存甲方、乙方、丙方及有关单位。

甲方(项目委托单位): 浙江省科学技术厅 (盖章)

单位负责人(签字):

年 月 日

乙方(项目承担单位): 浙江大学(附属第一医院) (盖章)

项目(课题)负责人(签字):

单位负责人(签字):

年 月 日

丙方(项目归口管理责任部门): 省教育厅 (盖章)

单位负责人(签字):

单位地址:

联系电话:

年 月 日