

课题编号：2016YFA0500301

密 级：公开

## 国家重点研发计划 课题任务书

课题名称：DNA 复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制

所属项目：蛋白质机器在肿瘤发生、发展和转移中的作用

所属专项：蛋白质机器与生命过程调控

项目牵头承担单位：北京大学

课题承担单位：清华大学

课题负责人：常智杰

执行期限：2016 年 07 月 至 2020 年 12 月

中华人民共和国科学技术部制

2016 年 07 月 11 日

0003YF 2016YFA0500301 2016-07-15 18:35:09



## 填写说明

- 一、任务书甲方即项目牵头承担单位，乙方即课题承担单位。
- 二、任务书通过“国家科技计划管理信息系统公共服务平台”，按照系统提示在线填写。
- 三、任务书中的单位名称，请按规范全称填写，并与单位公章一致。
- 四、任务书要求提供乙方与所有参加单位的合作协议，需对原件进行扫描后在线提交。
- 五、任务书中文字须用宋体小四号字填写。
- 六、凡不填写内容的栏目，请用“无”表示。
- 七、乙方完成任务书的在线填写，提交甲方审核确认后，用 A4 纸在线打印、装订、签章。一式八份报项目牵头承担单位签章，其中课题承担单位一份，课题负责人一份，作为项目任务书附件六份。
- 八、如项目下仅设一个课题，课题任务书只需填报课题预算部分。
- 九、涉密课题请在“国家科技计划管理信息系统公共服务平台”下载任务书的电子版模板，按保密要求离线填写、报送。
- 十、《项目申报书》和《项目任务书》是本任务书填报的重要依据，任务书填报不得降低考核指标，不得自行对主要研究内容作大的调整。《项目申报书》、《项目任务书》和本任务书将共同作为课题过程管理、验收和监督评估的重要依据。

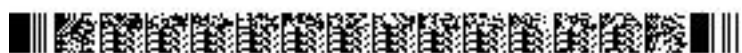


## 课题基本信息表

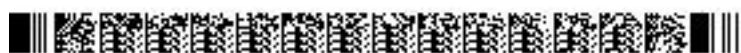
课题名称	DNA 复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制					
课题编号	2016YFA0500301					
所属项目	蛋白质机器在肿瘤发生、发展和转移中的作用					
所属专项	蛋白质机器与生命过程调控					
密级	<input checked="" type="checkbox"/> 公开 <input type="checkbox"/> 秘密 <input type="checkbox"/> 机密	单位总数	2			
课题类型	<input checked="" type="checkbox"/> 基础前沿 <input type="checkbox"/> 重大共性关键技术 <input type="checkbox"/> 应用示范研究 <input type="checkbox"/> 其他					
课题活动类型	<input checked="" type="checkbox"/> 基础前沿 <input type="checkbox"/> 应用研究 <input type="checkbox"/> 试验发展					
课题研究 所属学科	基础医学 医学细胞生物学					
课题成果应用的主要国民经济行业	卫生和社会工作					
课题的社会经济目标	卫生事业发展 诊断与治疗					
经费预算	总预算 1140.00 万元，其中中央财政专项经费 1140.00 万元					
课题周期节点	起始时间	2016 年 07 月	结束时间	2020 年 12 月		
	实施周期	共 54 个月	预计中期时间点	2018 年 06 月		
课题承担单位	单位名称	清华大学		单位性质	大专院校	
	单位所在地	北京市 北京 海淀区		组织机构代码	400000624	
	通信地址	北京市海淀区清华园 1 号		邮政编码	100084	
	银行账号	0200004509089131550		法定代表人姓名	薛其坤	
	单位开户名称	清华大学				
	开户银行（全称）	102100000458   中国工商银行股份有限公司北京海淀西区支行营业室				
课题负责人	姓 名	常智杰	性 别	<input checked="" type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	出生日期	1962-05-14
	证件类型	身份证	证件号码	610403196205140018		



	所在单位	清华大学		
	最高学位	■博士□硕士□学士□其他		
	职 称	■正高级□副高级□中级□初级□其他		职务 教授
	电子邮箱	zhijiec@tsinghua.edu.cn	移动电话	13910739540
课题 联系 人	姓 名	任芳丽	电子邮箱	rfl@tsinghua.edu.cn
	固定电话	010-62773625	移动电话	13693203208
	证件类型	身份证	证件号码	610403197412010026
课题 财务 负责 人	姓 名	王守军	电子邮箱	cwzxzj@mailoa.tsinghua.edu.cn
	固定电话	010-62792465	移动电话	13693203208
	证件类型	身份证	证件号码	110108196812020058
其他 参与 单位	序号	单位名称	单位性质	组织机构代码
	1	清华大学	大专院校	400000624
	2	北京大学	大专院校	400002259
课题参 加人数	23 人。其中：		高级职称 3 人，中级职称 4 人，初级职称 0 人，其他 16 人；	
			博士学位 6 人，硕士学位 3 人，学士学位 13 人，其他 1 人。	
课题 简介 (限 500 字以 内)	<p>肿瘤的发生发展是肿瘤细胞基因组不稳定性和细胞外微环境共同作用的结果。肿瘤细胞基因组不稳定性是肿瘤发生的内在因素，这种内在改变归咎于 DNA 本身修饰的改变，DNA 在复制过程中的异常发生，DNA 修复机能的破坏，DNA 指导 RNA 转录过程的异常等。研究发现引起肿瘤患者死亡的主要原因与肿瘤微环境引起的肿瘤细胞增殖、转移与复发密切相关。</p> <p>本项目旨在阐明肿瘤发生、发展的机理及其微环境的影响，发现与肿瘤发生、发展、转移相关的新型蛋白质机器，揭示肿瘤微环境对蛋白质机器的影响和调控机制。项目拟解决如下关键科学问题： 1. 肿瘤组织内部基因组不稳定性关键蛋白及其微环境分泌蛋白及其与肿瘤细胞之间的调控机制；2. DNA 复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机理，以及肿瘤微环境对这些蛋白质机器的影响。</p> <p>期望取得创新性突破，实现下列目标：</p> <p>1. 鉴定参与 DNA 复制和转录调控的关键蛋白机器，阐明基因组不稳定对肿瘤发生的意义，揭示肿瘤微环境对 DNA 复制和转录调控相关蛋白质机器的影响。</p> <p>2. 发现新的参与肿瘤发生、发展与转移相关的组织内部基因组不稳定相关蛋白</p>			



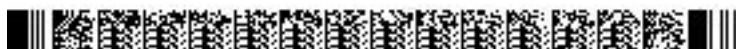
	及其微环境分泌蛋白，揭示这些关键蛋白在肿瘤细胞增殖与转移中的调控机制。 3. 培养青年骨干，在国际顶级期刊发表论文，取得发明专利。
--	--



## 一、目标及考核指标、评测方式/方法

课题目标、成果与考核指标表

课题目标 <sup>1</sup>	成果名称	成果类型	考核指标 <sup>2</sup>				考核方式（方法）及评价手段 <sup>4</sup>
			指标名称	立项时已有指标值/状态	中期指标值/状态 <sup>3</sup>	完成时指标值/状态	
鉴定参与 DNA 复制和转录调控的关键蛋白机器，阐明基因组不稳定对肿瘤发生的重要意义，揭示肿瘤微环境对 DNA 复制和转录调控相关蛋白质机器的影响。	1：阐明DNA复制起始复合物pre-RC的装配机制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制。	■新理论 □新原理 □新产品 □新技术 □新方法 □关键部件 □数据库 □软件 □应用解决方案 □实验装置/系统 □临床指南/规范 □工程工艺 □标准 ■论文 ■发明专利 □其他_____	指标 1.1 发现参与 DNA 复制起相关蛋白	已发现裂殖酵母及人的同源蛋白 Sap1 / Girdin 是参与 DNA 复制起始的蛋白。	阐明 Sap1/Girdin在DNA复制起始中的作用机理。	揭示 DNA 复制起始蛋白质机器，发现 1-2 个新的组份，发现 1-2 个新的维持 DNA 复制又稳定的新靶点。	论文发表 结题验收
			指标 1.2 研究 CREPT 调控的新蛋白质转录机器	已发现 CREPT 介导肿瘤细胞基因转录形成染色质环，促进肿瘤相关基因转录。	阐明以 CREPT 蛋白形成的新 RNA 聚合酶 II 转录机器。	揭示 CREPT 新的蛋白质机器在肿瘤微环境调控中的机制。	
科技报告考核指标	序号	报告类型 <sup>5</sup>	数量	提交时间		公开类别及时限 <sup>6</sup>	
	1	年度进展报告	3	2017/2019/2020 年 6 月		延期公开 3 年	
	2	中期报告	1	2018 年 6 月		延期公开 3 年	



	3	最终结题报告	1	2020 年 12 月	延期公开 3 年
其他目标与考核指标（对于难以采取上述表格细化的课题目标及其考核指标，可在此细化填写，限 1000 字以内。） 无。					



## 二、课题研究成果、研究方法及技术路线

### （一）课题的主要研究内容

拟解决的关键科学问题、关键技术问题，针对这些问题拟开展的主要研究内容，限 1000 字以内。

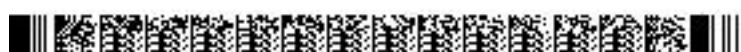
#### 拟解决的关键科学问题

基因组不稳定是肿瘤发生的关键，肿瘤的发展和转移是肿瘤细胞微环境和宿主相互作用的结果。为阐明肿瘤发生发展的机制，拟解决以下科学问题：1. 肿瘤组织内部基因组不稳定性关键蛋白及其微环境分泌蛋白及其与肿瘤细胞相互作用的调控机制；2. DNA复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机理，以及肿瘤微环境对这些蛋白质机器的影响。

#### 主要研究内容

针对这些关键科学问题，课题围绕肿瘤发生、发展和转移展开，旨在鉴定新的与肿瘤发生、发展和转移相关的关键蛋白质机器，并探讨肿瘤微环境对这些蛋白质机器的影响。

1. 确定 DNA 复制叉跨越核小体的分子机制。目前，真核细胞 DNA 复制叉跨越核小体的分子机制仍然完全不清楚。我们最近的发现指出真核细胞采用了另一个方法，即染色体组蛋白化学修饰的方法使得核小体松散并使 DNA 复制叉跨越核小体。
2. 岗崎片段加工及 DNA 后随链合成的分子机制。我们最近用电镜的方法，可以检测每一个岗崎片段 3' 端有一段大约 35 个核苷酸长度的 RNA-DNA 引物的切除。进一步的研究将确定是否有其它蛋白和 Dna2, Fen1, Exo1 一起参与岗崎片段加工；确定岗崎片段加工缺陷对基因组稳定性的影响。
3. 细胞维持 DNA 复制叉稳定性的机理。目前发现，复制叉不稳定是基因组不稳定的主要源泉。我们将阐明这些已经确定的靶蛋白调控的详细分子机制，包括确定相关修饰酶；我们还将筛选一些新的调控维持复制叉稳定的靶点。我们将研究这些调控通路的缺陷对基因组稳定性的影响。
4. 鉴定肿瘤发生发展过程中的靶蛋白。鉴定肿瘤发生发展过程中不同阶段组织及其微环境分泌蛋白质表达变化，重点关注不同微环境下的表达变化与修饰变化，探索新型蛋

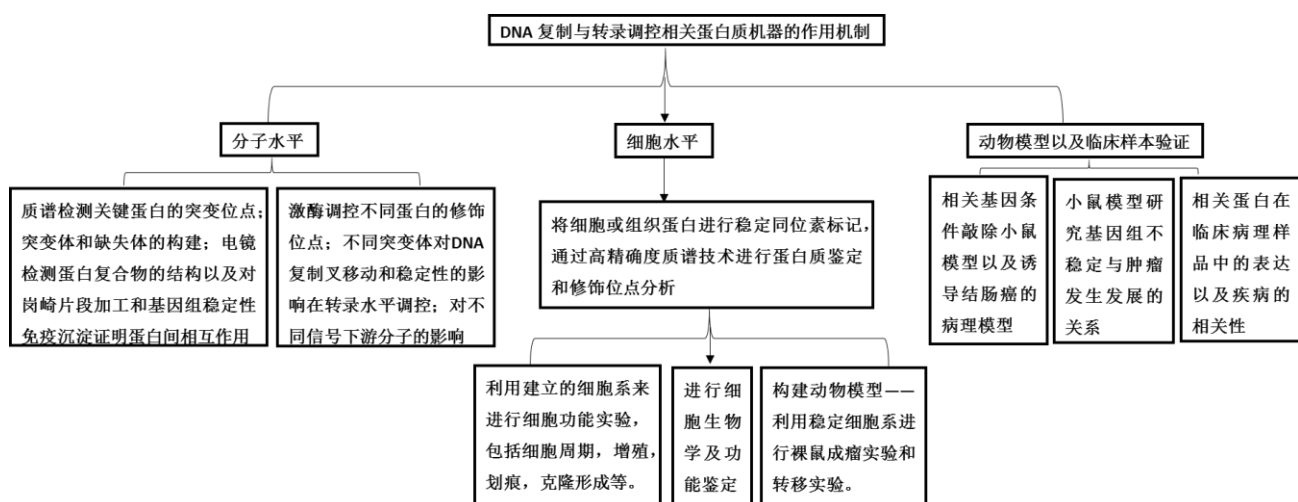


白靶标及其他调控因子与肿瘤细胞的相互作用机制。针对肿瘤微环境外泌体与肿瘤发生发展密切相关的调控因子，利用 CRISPR 技术构建相关基因敲除动物模型，研发抑制肿瘤发生靶向新药。

5. 以 CREPT 蛋白形成的新的 RNA 聚合酶 II 转录机器为重点，研究这一 CREPT 介导的重要转录因子如 STAT3 和 p65 与 RNA 聚合酶 II 转录机器形成的分子机制，探讨干预 CREPT 影响肿瘤发生中转录机器功能调控异常的原因，寻找肿瘤发生中有效的干预手段。我们将利用 CREPT 单克隆抗体，通过免疫共沉淀方法，鉴定 CREPT 参与的转录复合物组分，通过体外重组蛋白方法，解析 CREPT 形成的转录机器的电镜结构，同时利用细胞学和小鼠实验，确定 CREPT 介导的转录因子 STAT3 和 p65 对转录机器特异性和效率的影响，研究这一转录复合物在肿瘤微环境中调控的机制，探讨其对肿瘤发生的作用，确定转录机器调控的下游基因变化。最后，我们也将利用肿瘤患者组织样本（结直肠癌，乳腺癌和肝癌），研究 CREPT 介导的特异转录机器在人类肿瘤中的作用。

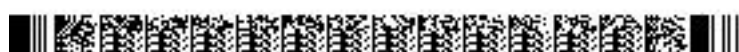
## （二）课题采取的研究方法

针对课题研究拟解决的问题，拟采用的方法、原理、机理、算法、模型等  
限 1000 字以内。



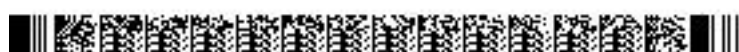
根据以上技术路线，采用以下研究方法：

1. **高精度度质谱技术：**进行蛋白质鉴定和修饰位点分析，大规模鉴定与基因组不稳定



相关蛋白和分泌蛋白；鉴定筛选新的相互作用蛋白；癌基因和抑癌基因的转录后修饰分析。

2. **免疫共沉淀和蛋白层析方法：**确定体内蛋白质机器之间的相互作用；相互作用蛋白筛选。
3. **小鼠结肠癌模型：**在小鼠中用AOM/DSS 诱导肠炎相关的结肠癌的发生。观察各个时期小鼠结肠的长度、形态变化，炎症程度，统计肿瘤的数目和大小。通过组织切片，观察小鼠结肠癌样本中细胞增殖及其调控基因的变化情况。通过以上研究明确CREPT 在结肠癌发生发展过程中的作用。AOM/DSS 均采用饮水给药方式，按照标准方法，2 周间隔诱导。
4. **染色质免疫共沉淀实验 (ChIP)/ EMSA 实验/Nuclear Run-off 实验：**研究转录水平蛋白质机器调控机制。
5. **生化及电镜技术：**检测对岗崎片段加工及基因组稳定性的影响，同时可以利用冷冻电镜解析蛋白质机器结构，确认蛋白之间的相互作用。
6. **染色质构象捕捉实验3C：**我们将不同细胞经1%甲醛交联后，提取细胞核裂解液并进行限制性内切酶消化，然后再利用T4 链接酶促进被消化的DNA在原位链接成环状，最后提取DNA，利用PCR 检测形成环状DNA 的量。在每一步中，我们都将设计严格的对照，排除可能的假阳性结果。
7. **免疫组化检测：**选择肿瘤组织及癌旁正常组织进行固定、包埋、切片后，我们将对结肠癌等病理样本进行大量检测，同时分析这些蛋白不同形式的表达及其相关蛋白与肿瘤分级及预后的关系。
8. **细胞功能检测：**细胞的体外浸润用铺有 Matrigel 的 Chamber 检测。
9. **动物致瘤和转移模型构建：**用肿瘤细胞接种在免疫缺陷动物建立肿瘤生长的模型，用评价特定基因对肿瘤的成瘤和转移能力的影响。
10. **萤光素酶检测：**转染不同信号通路的报告基因质粒，检测不同蛋白质机器对该信号通路的影响。



### 三、主要创新点

围绕基础前沿、共性关键技术或应用示范等层面，简述课题的主要创新点。具体内容应包括该项创新的基本形态及其前沿性、时效性等，并说明是否具备方法、理论和知识产权特征。每项创新点的描述限 500 字以内。

本项目研究的是肿瘤微环境对肿瘤发生、发展和转移的影响中，DNA 复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制这一国际前沿科学问题，项目成功实施将会鉴定一系列与肿瘤发生、发展和转移相关的新型蛋白质机器，预期可以获得大量创新性成果。主要创新点为：

1. 项目中发现的 DNA 复制叉跨越核小体的机制和岗崎片段的加工机制都是长期悬而未决的问题，我们的研究将阐明这两个问题。我们将研究这些生物事件的缺陷与基因组稳定性及肿瘤发生发展的定性与定量关系。
2. 确定产生肿瘤微环境的一些新蛋白因子或生物调控通路，发现介导肿瘤微环境因素激活的新型转录机器，同时揭示特定转录因子启动转录机器的过程，从而鉴定肿瘤发生的关键途径。本课题鉴定特定蛋白 CREPT 在该转录机器中的作用，解析新的转录机器的结构和作用位点，确定其在肿瘤发生中的作用，为炎症导致肿瘤的发生提供新的标志物。本项目涉及的 CREPT 基因，是本实验室首先发现的，具有完全独立的知识产权和创新性，并具有良好的工作基础。
3. 课题组蛋白质定量分析以及磷酸化修饰位点鉴定等翻译后鉴定技术一申请相关专利和应用于生物医学研究中，如蛋白定量试剂和方法已申请专利 CN201410205986.6,；课题组开发的磷酸化修饰鉴定技术 CASET 方法也有自己的知识产权。



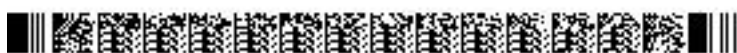
#### 四、预期经济社会效益

课题的科学、技术、产业预期指标及科学价值、社会、经济、生态效益。限 500 字以内。

课题将发现新的基因组不稳定的机制，寻找新的抗癌药物靶点。在国际高水平杂志发表相关学术论文 5-10 篇，培养 DNA 代谢相关领域青年科技人才 3-10 人。

课题前期研究显示，CREPT 蛋白在十余种肿瘤组织中的表达水平远远高于癌肿瘤旁或/和正常组织中的表达水平，可作为一种广谱肿瘤特异性新型标志物，用于鉴定肿瘤组织并诊断癌症患者。CREPT 单克隆抗体的产业化契合临床应用需求，具有广阔的市场前景。

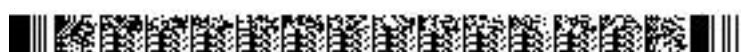
最新的研究发现引起肿瘤患者死亡 90% 以上的原因与肿瘤微环境引起的肿瘤细胞增殖、转移与复发密切相关，而针对肿瘤微环境进行免疫监测点治疗在许多肿瘤中显示出明确的疗效，肿瘤微环境中不同细胞表面蛋白抗原、分泌蛋白及其相互作用在促进肿瘤细胞癌变、转移与复发中的作用成为肿瘤靶向治疗的关键。为此，课题将以结直肠癌和乳腺癌等为模型，拟发现新的参与肿瘤发生、发展与转移相关的分泌蛋白，揭示肿瘤微环境中关键蛋白与肿瘤细胞增殖相互作用的调控机制；鉴定出 5-10 个与肿瘤发生发展密切相关的肿瘤微环境分泌蛋白因子，明确其作用机制；申请专利，研发 1-3 个新靶向药物或新治疗方案，进行临床前试验研究，为精准医疗和将癌症转化为慢性病提供全新科学依据和治疗方案，培养一批专业技术人才。



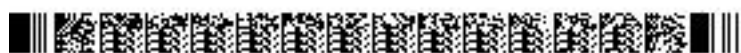
## 五、课题年度计划

按年度制定完成课题的计划进度，应将课题的考核指标分解落实到年度计划中。

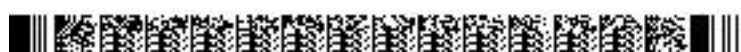
年度	任务	考核指标	成果形式
2016 年 7 月   2016 年 12 月	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 鉴定 Sap1 和 Girdin 在 DNA 复制起始中的作用；鉴定 Dna2, Fen1, Exo1 在冈崎片段加工成熟中的作用；</li> <li>2. 检测复制叉停顿后，组蛋白修饰的变化；</li> <li>3. 揭示 CREPT 可以与不同转录因子形成蛋白复合物；</li> <li>4. 建立 1-2 种肿瘤细胞或动物模型；</li> <li>5. 建立蛋白质动态表达的大规模鉴定及其修饰位点鉴定技术。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 确定 Sap1 和 Girdin 在 DNA 复制起始中的功能；</li> <li>2. 确定 Dna2, Fen1, Exo1 在冈崎片段加工成熟中的作用；</li> <li>3. 确定几个复制叉停顿后，组蛋白修饰变化的位点；</li> <li>4. 发现 CREPT 可以调控 STAT3 的活性并与其形成复合物；</li> <li>5. 确定 CREPT 可以与 p65 形成复合物并调控 NF-<math>\kappa</math>B 信号通路活性；</li> <li>6. 分离 1-2 种肿瘤微环境亚细胞组分。</li> </ol>	课题的研究进展
2017 年 1 月   2017 年 12 月	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 研究组蛋白修饰位点对 DNA 复制的影响；</li> <li>2. 检测 Dna2, Fen1, Exo1 相互作用蛋白对冈崎片段加工及基因组稳定性的影响；</li> <li>3. 突变 Sld3 的修饰位点，研究其对复制叉稳定性的影响；</li> <li>4. 确定组蛋白 H2bK33、H2bK6 的乙酰及去乙酰化的酶；</li> <li>5. 构建预测的突变体，确定 CREPT 的修饰通过影响复合物对肿瘤细胞生长进行调控。</li> <li>6. 分离并鉴定肿瘤细胞关键蛋白和</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 确定组蛋白修饰位点对 DNA 复制的影响；</li> <li>2. 明确 Dna2, Fen1, Exo1 蛋白对冈崎片段加工及基因组稳定性的影响；</li> <li>3. 突变 Sld3 修饰位点，明确其对复制叉稳定性的影响；</li> <li>4. 确定组蛋白 H2bK33、H2bK6 的乙酰化及去乙酰化的酶；</li> <li>5. 构建一系列 CREPT 突变体，验证 CREPT 的修饰是形成蛋白质复合物的关键；</li> <li>6. 证明 CREPT 的修饰对蛋白质机器转录复合物的影响；</li> <li>7. 鉴定 1-2 种肿瘤细胞的关键蛋</li> </ol>	课题的研究进展； 发表论文。



	分泌蛋白，研究磷酸化和乙酰化修饰对细胞功能的影响。	白和分泌蛋白。	
2018 年 1 月   2018 年 12 月	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 确定组蛋白修饰的酶；</li> <li>2. 对 H2bK33、H2bK6 进行突变，检测其对复制叉稳定性的影响；</li> <li>3. 研究 H2bK33、H2bK6 的乙酰化及去乙酰化酶对停顿的 DNA 复制叉稳定性的影响；</li> <li>4. CREPT 修饰特异性抗体的制备；</li> <li>5. 检测 CREPT 复合物对不同信号通路的影响。</li> <li>6. 确定肿瘤组织内部和微环境分泌蛋白。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 确定组蛋白修饰的酶；</li> <li>2. 验证 H2bK33、H2bK6 突变体对复制叉稳定性的影响；</li> <li>3. 明确 H2bK33、H2bK6 的乙酰化及去乙酰化酶对停顿的 DNA 复制叉稳定性的影响；</li> <li>4. 找出 CREPT 蛋白修饰的关键位点，并制备特异性的抗体；</li> <li>5. 验证 CREPT 点突变对不同信号通路的影响；</li> <li>6. 确定 1-2 种肿瘤细胞关键蛋白对细胞功能的影响。</li> </ol>	文章 或/ 专利
2019 年 1 月   2019 年 12 月	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 研究组蛋白修饰酶对 DNA 复制及基因组稳定性的影响；</li> <li>2. 寻找新的参与稳定停顿复制叉的组蛋白修饰位点；</li> <li>3. 阐明维持停顿复制叉稳定的分子机制；</li> <li>4. 建立细胞模型及诱导结肠癌疾病模型。</li> <li>5. 确定关键蛋白修饰，研究蛋白修饰酶对基因组不稳定性影响；</li> <li>6. 用小鼠模型研究这些基因组不稳定与肿瘤发生发展的定性与定量关系；</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 明确组蛋白修饰酶对 DNA 复制及基因组稳定性的影响；</li> <li>2. 发现新的参与稳定停顿复制叉的组蛋白修饰位点；</li> <li>3. 阐明维持停顿复制叉稳定的分子机制；</li> <li>4. 找出修饰 CREPT 蛋白的关键酶以及修饰方式和位点；</li> <li>5. 验证 CREPT 在结肠癌模型中的作用；</li> <li>6. 在动物模型中确定 1-2 种肿瘤细胞关键蛋白和微环境相互作用机制。</li> </ol>	文章 或/ 专利



2020 年 1 月   2020 年 12 月	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 阐明 DNA 复制叉跨越核小体的分子机制；</li> <li>2. 阐明细胞维持停顿复制叉的分子机制；</li> <li>3. 动物实验以及临床肿瘤标本验证、分析。</li> <li>4. 制备关键蛋白靶标抗体，探索关键蛋白在肿瘤治疗中的作用。</li> <li>5. 整理数据，发表总结研究结果、申请专利、参加学术会议、准备结题汇报。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 阐明 DNA 复制叉跨越核小体的分子机制；</li> <li>2. 阐明细胞维持停顿复制叉的分子机制</li> <li>3. 明确 CREPT 蛋白复合物在肿瘤发生发展以及预后的作用；</li> <li>4. 制备出 1-2 种关键蛋白的抗体；探索关键蛋白在肿瘤治疗中的作用。</li> </ol>	文章和专利
--------------------------------------	---	---	-------



## 六、课题组织实施机制及保障措施

### 1、课题的内部组织管理方式、协调机制等，限 500 字以内。

本课题将研究肿瘤发生发展过程中 DNA 复制过程调控以及与转录调控相关的多种蛋白质间的调控机制，开展系统化、创新性的基础前沿性研究。以清华大学为主体，联合北京大学，围绕 DNA 复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制展开研究，在研究过程中紧密配合、优势互补，并提倡资源共享、协同攻关。清华大学主要负责整个课题的设计和规划，两个单位同时以各自优势研究相应内容。集合每个课题组的技术优势，彼此之间开展协作互助，不但充分发挥子课题各承担单位的技术和学科优势，而且加强优势力量的整合和协同攻关，发扬团队精神，形成科研功能配套、统筹合理、机动灵活且充满活力的科研体系。其中，北京大学纪建国教授已建立全新的肿瘤细胞分泌蛋白分离新技术和国内外先进的蛋白质鉴定技术平台，可实现蛋白质鉴定、修饰与定量的高精确度检测，可为课题组大规模鉴定新型蛋白质机器提供可靠保证。

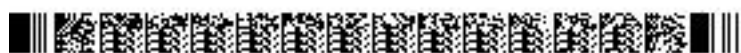
### 2、课题实施的相关政策，已有的组织、技术基础，支撑保障条件，限 500 字以内。

在国家政策层面上，对肿瘤的防治是国家需求，本项目的成功实施将有望揭示肿瘤发生、发展的新机制，为肿瘤防治找出新靶点，提供新的肿瘤治疗方向。因此，国家政策为本项目的实施提供了积极支持。

在组织层面，本项目以“优势互补、协同发展”为原则，集中了国内相关研究的优秀科研团队，有良好的前期工作基础，在相关领域取得了突破性成果。课题负责人和2名学术骨干长期担任国家重大科学研究计划等国家级项目的专家组成员和首席科学家，具有组织管理重大项目的能力和相关的运行管理经验与机制，在项目组织管理方面能确保项目的顺利实施。

在技术基础方面，所涉及的所有实验均是申请人及参与人熟悉掌握的技术，如纪建国教授课题组具有蛋白质定量分析以及磷酸化修饰位点鉴定等翻译后鉴定技术，已申请相关专利并应用于生物医学研究中；开发的磷酸化修饰鉴定技术CASET 方法也有自己的知识产权，为课题的顺利进行提供了保障。

在支撑保障条件方面，项目参加单位拥有国家重点实验室，具有本项目所需大型实



验平台、关键技术和仪器设备等硬件资源，如高精确度的质谱仪及GC-MS气质联用仪，拥有完备的细胞生物学研究平台及SPF级动物实验室，为项目的实施提供了技术支撑和物质保障。

3、对实现项目总目标的支撑作用，及与项目内其他课题的协同机制，限 500 字以内。

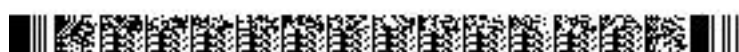
#### 对项目总目标的支撑作用

在研究内容方面：本项目的总目标是蛋白质机器在肿瘤发生、发展和转移中的作用，该课题的目标是DNA复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制，是总项目的一个分支，从最基础的DNA复制和转录到蛋白质功能方面进行作用机制的研究，为总课题的全面性和系统性研究提供支持。该课题整体研究以功能分析为主，并紧紧围绕DNA复制过程中的调控、转录调控中不同蛋白形成的RNA聚合酶II转录机器研究，剖析肿瘤发生发展中的机制。结合肿瘤模型及样本，从分子机理到病理功能深入研究。

在平台方面：清华大学生物医学测试中心的冷冻电镜研究平台为本研究的转录机器电镜结构解析提供了支撑，北京大学蛋白质与植物基因研究国家重点实验室的研究技术平台，如多台国际上先进的仪器设备如高精确度的LTQ Orbitrap质谱仪，ABI QTRAP 6500质谱仪以及GC-MS气质联用仪为本项目提供了蛋白质定量分析以及磷酸化修饰位点鉴定等翻译后鉴定技术的关键技术平台支撑和方法。

#### 项目内其他课题的协同机制

项目组具有教授、讲师、博士研究生、硕士研究生和实验技术人员多层次研究梯队，研究力量搭配合理，具备优秀的联合攻关团队，各个梯队在生物学、生物化学、蛋白质组学等方面均有涉及，各有优势，相互探讨、相互协助与优势互补能够保证课题的顺利完成。

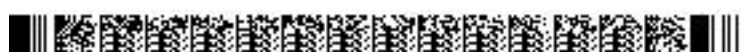


## 七、知识产权对策、成果管理及合作权益分配

限 500 字以内。

课题牵头单位与参与单位之间按照国家相关法律法规及相关知识产权管理工作的规定签订协议，对整个项目实施过程中的知识产权共享、成果管理及合作权益分配等方面做出相应规定，明确了项目实施过程中知识产权和技术权益的归属，保护各参与单位的合法技术权益，保证项目的各申报单位密切合作，圆满完成申报项目的既定计划。

研究成果以论文和专利形式发表，课题组独立完成的研究成果归课题组及所在单位拥有，合作完成的研究成果由合作单位间根据贡献协调分配。



## 八、需要约定的其他内容

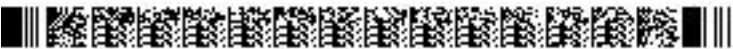
无。



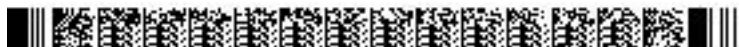
九、课题参加人员基本情况表

填表说明： 1、职称分类：A、正高级 B、副高级 C、中级 D、初级 E、其他；  
2、投入本课题的全时工作时间（人月）是指在课题实施期间该人总共为课题工作的满月度工作量；累计是指课题组所有人员投入人月之和。  
3、课题固定研究人员需填写人员明细；  
4、是否有工资性收入：Y、是 N、否；  
5、人员分类代码：A、课题负责人 B、课题骨干 C、其他研究人员；  
6、工作单位：填写单位全称，其中高校要具体填写到所在院系。

序号	姓名	性别	出生日期	身份证号码 (军官证、护照)	技术 职称	职务	学位	专业	投入本课题的 全时工作时间 (人月)	人员 分类	是否有 工资性 收入	工作单位
1	常智杰	男	1962-05-14	610403196205140018	正高级	教授	博士	生物学	40	课题负责人	是	清华大学生命科学学院
2	孔道春	男	1963-02-14	488779038	正高级	教授	博士	生物学	30	课题骨干	是	北京大学生命学院
3	纪建国	男	1962-11-05	370602196211051331	正高级	教授	博士	生物学	30	课题骨干	是	北京大学生命学院
4	王银银	女	1974-08-26	612133197408263323	中级	工程师	硕士	生物学	40	其他研究人员	是	清华大学医学院
5	王青松	男	1980-05-09	422827198005090018	中级	讲师	博士	生物学	40	其他研究人员	是	北京大学生命学院
6	华余	女	1986-07-06	33028219860706152X	中级	博士后	博士	生物学	40	其他研究人员	是	北京大学生命学院
7	付艳霞	女	1980-03-26	23022619800326062X	中级	博士后	博士	生物学	50	其他研究人员	是	清华大学医学院
8	翟万里	男	1987-02-10	41140319870210511X	其他	博士生	硕士	生物学	50	其他研究人员	否	清华大学医学院
9	王浩	男	1990-09-08	65432119900908003X	其他	博士生	硕士	生物学	50	其他研究人员	否	清华大学医学院
10	王滢	女	1994-01-10	230406199401100226	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	清华大学医学院



11	杨柳	女	1990-08-21	513029199008210026	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	清华大学医学院
12	丁莉丹	女	1988-09-17	412725198809174225	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	清华大学医学院
13	冯亚瑞	女	1987-09-04	610431198709044622	其他	合同工	其他	生物学	50	其他研究人员	否	清华大学医学院
14	袁越	男	1993-09-01	431121199309010012	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
15	王露	女	1993-11-11	410823199311110182	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
16	高瑀泽	女	1988-09-21	150402198809211122	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
17	白雪	女	1988-01-26	11022319880126002x	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
18	李泽洋	男	1990-11-25	130204199011251515	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
19	郑良琚	女	1991-05-23	222403199105234626	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
20	张琪	女	1991-03-18	220102199103182821	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
21	章众	男	1993-05-08	411521199305080011	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
22	李哲依	女	1993-01-05	230106199301051424	其他	博士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
23	李思鹏	男	1991-12-10	370406199112106630	其他	硕士生	学士	生物学	50	其他研究人员	否	北京大学生命学院
		固定研究人员合计							1070	/	/	/
		流动人员或临时聘用人员合计							50	/	/	/
		累计							1120	/	/	/



## 十、经费预算

课题（2016YFA0500301）承担单位基本情况表

表B1

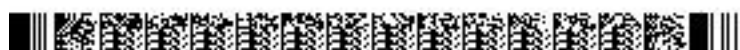
填表说明：1. 组织机构代码指企事业单位国家标准代码，单位若已三证合一请填写单位社会信用代码，无组织机构代码的单位填写“000000000”； 2. 单位公章名称必须与单位名称一致。					
课题编号		2016YFA0500301		执行周期（月）	54
课题名称		DNA复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制			
课题承担单位	单位名称		清华大学		
	单位性质		大专院校		
	单位主管部门		教育部	隶属关系	中央
	单位组织机构代码		400000624		
	单位法定代表人姓名		薛其坤		
	单位所属地区		北京市	北京	海淀区
	电子邮箱		cwzxxj@oamail.tsinghua.edu.cn		
	通信地址		北京市海淀区清华园1号		
	邮政编码		100084		
相关责任人	课题负责人	姓名	常智杰		
		身份证号码	610403196205140018		
		工作单位	清华大学		
		电话号码	62785076	手机号码	13910739540
		电子邮箱	zhijie@tsinghua.edu.cn	邮政编码	100084
		通信地址	清华大学医学院A307		
	财务部门负责人	姓名	王守军		
		电话号码	010-62792465	手机号码	13693203208
		传真号码	010-62792465		
		电子邮箱	cwzxxj@mailoa.tsinghua.edu.cn		
	课题经费预算联系人	姓名	王银银		
		身份证号码	612133197408263323		
		电话号码	010-62773624	手机号码	18511871066
		电子邮箱	wangyinyin@tsinghua.edu.cn		



# 课题预算表

表B2 课题编号: 2016YFA0500301 课题名称: DNA复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制 金额单位: 万元

序号	预算科目名称	合计	专项经费	自筹经费
	(1)	(2)	(3)	(4)
1	一、经费支出	1140.00	1140.00	
2	(一) 直接费用	983.10	983.10	
3	1、设备费	45.00	45.00	
4	(1) 购置设备费	45.00	45.00	
5	(2) 试制设备费			
6	(3) 设备改造与租赁费			
7	2、材料费	568.27	568.27	
8	3、测试化验加工费	89.05	89.05	
9	4、燃料动力费	15.90	15.90	
10	5、差旅费	24.15	24.15	
11	6、会议费	4.73	4.73	
12	7、国际合作与交流费	20.80	20.80	
13	8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	22.40	22.40	
14	9、劳务费	190.40	190.40	
15	10、专家咨询费	2.40	2.40	
16	11、其他支出			
17	(二) 间接费用	156.90	156.90	
18	二、经费来源	1140.00	1140.00	
19	(一) 申请从专项经费获得的资助	1140.00	1140.00	/
20	(二) 自筹经费来源		/	
21	1、地方财政拨款		/	
22	2、单位自有货币资金		/	
23	3、其他资金		/	



设备费——购置/试制设备预算明细表

表B3 课题编号： 2016YFA0500301 课题名称： DNA复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制 金额单位： 万元

填表说明：

1.设备分类：购置、试制；

2.购置设备类型：通用、专用；

3.经费来源：专项、自筹；

4.试制设备不需填列本表（10）列、（11）列、（12）列、（13）列；

5.设备单价的单位为万元/台套，设备数量的单位为台套；

6.10万元以下的设备不用填写明细。

序号	设备名称			设备分类	功能和技术指标	单价	数量	金额	经费来源	购置或试制单位	安置单位	购置设备类型	主要生产厂及国别	规格型号	拟开放共享范围
	（1）			（2）	（3）	（4）	（5）	（6）	（7）	（8）	（9）	（10）	（11）	（12）	（13）
单价10万元以上购置设备合计									/	/	/	/	/	/	/
单价10万元以上试制设备合计									/	/	/	/	/	/	/
单价10万元以下购置设备合计							62	45.00	/	/	/	/	/	/	/
单价10万元以下试制设备合计									/	/	/	/	/	/	/
累计							62	45.00	/	/	/	/	/	/	/



测试化验加工费预算明细表

表B4 课题编号：2016YFA0500301

课题名称：DNA复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制

金额单位：万元

填表说明：量大及价高测试化验，是指课题研究过程中需测试化验加工的数量过多或单位价格较高、总费用在5万元及以上的测试化验加工，需填写明细。						
序号	测试化验加工的内容	测试化验加工单位	计量单位	单价(元/单位数量)	数量	金额
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
1	核酸测序	华大基因，瑞博，美吉，英俊，生工	个	16.00	8125	13.00
2	蛋白质和小分子代谢物质谱分析	北京大学生命学院公共仪器中心（独立核算单位）	个	500.00	580	29.00
3	抗体制备	康为，武汉爱博，吉尔生化	个	7000.00	10	7.00
4	芯片测序	北京博奥生物芯片有限责任公司	个	10000.00	8	8.00
量大及价高测试化验费合计						57.00
其他测试化验费合计						32.05
累计						89.05



单位研究经费支出预算明细表

表B5 课题编号： 2016YFA0500301      课题名称： DNA复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制      金额单位： 万元

填表说明： 1.单位类型分承担单位、参与单位； 2.组织机构代码指企事业单位国家标准代码，单位若已三证合一请填写单位统一社会信用代码，无组织机构代码的单位填写“000000000”。										
序号	单位名称	组织机构代码-统一社会信用代码		单位类型	任务分工	研究任务负责人	合计	专项经费		自筹经费
								小计	其中：间接费用	
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
1	清华大学	单位组织机构代码	400000624	承担单位	鉴定参与调控该机器的新蛋白，并研究这些蛋白部件组装成转录机器的关键修饰调节机理；研究参与转录复合物中多种蛋白的作用机理。	常智杰	390.00	390.00	53.68	
2	北京大学	单位组织机构代码	400002259	参与单位	鉴定与DNA复制相关的关键蛋白质机器；阐明DNA复制过程中维持基因组稳定性的分子机制。鉴定与基因组不稳定相关蛋白和分泌蛋白，发现新的与肿瘤发生发展密切相关的蛋白质。	孔道春，纪建国	750.00	750.00	103.22	
累计							1140.00	1140.00	156.90	



## 预算说明

一、对课题承担单位、参与单位前期已形成的工作基础及支撑条件，以及相关部门承诺为本课题研究提供的支撑条件等情况进行详细说明。

已有的工作基础：

研究表明 S 期细胞周期检验点 (the intra-S phase checkpoint) 是维持 DNA 复制叉稳定的必需调控通路。课题组利用生物化学等方法筛选得到了一批 S 期细胞周期检验点的靶蛋白。进一步研究发现其中一个靶蛋白 Dna2 在维持 DNA 复制叉稳定中起重要作用。

在肿瘤微环境与肿瘤细胞相互作用的关键蛋白质机器方面，我们已建立全新的肿瘤细胞分泌蛋白分离新技术和国内外先进的蛋白质鉴定技术平台，实现蛋白质鉴定、修饰与定量的的高精确度，建立 TMPP 修饰的创新蛋白质定量技术，初步筛选发现参与细胞稳态调控的多种细胞分泌蛋白如 PRDX6, IGFBP1 等蛋白，为新型蛋白质研究奠定了基础。MPP 修饰的蛋白质定量技术方法已申请相关专利。

以 CREPT 为中心的转录复合物不但有 STAT3 而且还有 NF- $\kappa$ B 信号通路中的 p65, 同时通过 RNA 聚合酶 II 转录机器发挥作用；

CREPT 蛋白的关键氨基酸位点影响本身的活性, 进而影响转录调控；

纯化出 CREPT 蛋白以及复合物中的关键蛋白, 为进一步解析结构打好基础。

支撑条件：

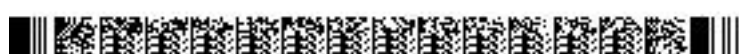
常智杰研究组属于清华大学医学院，拥有 240 多平方米的实验室面积。本研究实验室的仪器和硬件平台可以完成基本的分子与细胞生物学实验，为顺利完成本项目的研究奠定了物质条件。同时，学校新建立的 SPF 级动物房，完全能够提供完成本项目对实验动物的要求，给该项目的动物实验以及转基因动物的饲养提供了必要的条件。本课题小组隶属生物膜与膜生物工程国家重点实验室。学校配备了各种仪器设备，形成了基因分析技术平台、蛋白质分析技术平台、细胞学分析技术平台、分子互作分析及蛋白质纯化技术平台、模式生物技术平台和生物信息学技术平台，提供的专项服务能帮助本项目实施。清华大学医学院和生命科学院拥有一支在分子生物学、生物化学、蛋白质组学和药物开



发等领域颇具影响的科研队伍，能够帮助本课题组解决一些关键问题，从而保证项目的顺利完成。

孔道春组隶属于北京大学生命科学学院有傅立叶变换液质联用质谱仪(2D-LC-FT-MS/MS)和飞行时间串联质谱仪(MALDI-TOF-TOF-MS/MS)，高真空喷镀仪，共聚焦显微镜，高分分辨率荧光显微镜，高通量测序仪，用于单分子技术的相关仪器， Beckman 公司的等电聚焦多维色谱仪，Amersham 公司的 Akita 层析系统。流式细胞计数仪、细胞分选仪、低温超速离心机，原子吸收分光光度计、双光子激光共聚焦显微镜、液体闪烁计数仪、Real-Time PCR 仪等，为课题组提供了很好的研究平台。

纪建国课题组属于北京大学生命科学学院和蛋白质与植物基因研究国家重点实验室，本课题组拥有 150 平米的实验室面积，可完成细胞、分子、生化等基本的生物学实验，为本项目的研究奠定了很好的实验条件。实验室具有丰富的蛋白质组学研究经验，课题组拥有 LTQ Orbitrap XL 质谱仪，合作实验室还具有 LTQ Orbitrap Elite ETD、Q Exactive 和 QTRAP 6500 液质联用仪，可进行高通量的蛋白质分析鉴定、修饰位点鉴定和代谢小分子研究，并具有相关样品制备、仪器运行管理、数据分析的成熟经验。最近，北京大学生科院蛋白质组技术平台有购置了最新型的 Orbitrap Fusion Lumos, Q Exactive Plus 等质谱仪，为本项目翻译后修饰分析奠定了很好的基础。北京大学生命学院公共仪器平台拥有完备的细胞生物学研究平台、蛋白质分析技术平台、电镜平台、高通量测序平台和生物信息学分析平台等，如可进行分选的流式细胞仪、激光共聚焦显微镜、双光子共聚焦显微镜、活细胞工作站及高压冷冻电镜等。同时，北京大学拥有 SPF 级动物实验室，提供了良好的动物实验条件。



## 预算说明

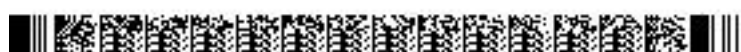
二、对本课题各科目支出主要用途、与课题研究的相关性、必要性及测算方法、测算依据进行详细说明；按照课题进行说明，不需要按照参与单位分别说明；如同一科目同时编列专项经费和自筹经费的，请分别说明。

### （一）直接费用（983.10 万）

#### 1. 设备费（45.00 万元）

本课题在现有仪器设备的基础之上，主要补充以下一些小型仪器设备：

- 1) 本实验室已经有 4 台电泳仪，但由于用了 5 年以上，可能会在今后 5 年出现问题，所以购买 western 用电泳仪 4 台，一台大约 1.2 万元，合计约 4.80 万元，用于进行本课题中的 western 实验。
- 2) 目前本实验室有两个液氮罐，但由于本课题会构建很多细胞系，也会涉及很多组织样品，所以需要购买液氮罐（Thermal）1 台，约 4.20 万元，用于保存本课题涉及到的各种细胞系和组织样品等。
- 3) 目前实验室有加液器 20 套，但由于有部分已经用了 5 年以上，尤其是微量加液器，有时候会存在加液不准的情况，而且本课题涉及多种精确操作实验如 Realtime PCR 等实验，所以需要购买吉尔森微量移液器 10 把，用于各种液体的精确提取，大概费用 1.10 万元，用于本课题中各种样品提取实验，包括 RNA 提取，细胞培养，DNA 提取等。
- 4) 由于本课题涉及蛋白，细胞样品较多，目前实验室的一台旧的低温离心机不能满足需要，所以需要购买台式 Eppendorf 低温离心机 2 台，每台约 2.3 万元，合计 4.60 万元，用于本课题中蛋白，细胞等的离心收集。
- 5) 购买 western 用转膜装置（BioRad）6 套，每套约 0.45 万元，合计 2.70 万元，用于本课题中检测蛋白表达相关的所有实验。
- 6) 本课题实验室已有天平 2 台，但由于已使用 5 年以上，再加上动物实验要专用一台天平保证系统误差，所以需购买电子天平 2 台，每台约 1 万元，合计大概 2 万元，用于本课题中精确称量试剂，小鼠及其他实验相关用品。
- 7) 本课题涉及到多种细胞大量培养提取纯化蛋白，所以需要购买电动吉尔森



移液器套装 6 套，用于各种液体的精确提取，大概费用 2.4 万元，用于本课题中精确大量的液体提取实验，如细胞的大量培养，质粒大量提取时的试剂添加等实验。

8) 购买台式离心机 2 台，每台约 1.5 万元，合计 3 万元，用于本课题细菌收集，基因组提取等实验。

9) 目前实验室有摇床 1 台，由于本课题涉及到诱导蛋白，悬浮培养等实验，所以需要购买摇床 2 台，每台约 2.6 万元，合计 5.2 万元，用于本课题中细菌培养，蛋白诱导，悬浮细胞培养等实验。

10) 目前实验室有电泳槽 6 套，已经用了 5 年左右，由于这种电泳槽电极很容易坏，特别是用了 5 年后，所以需要购买电泳槽（GE）5 套，0.9 万元/支  $\times 6 = 5.4$  万元，用于本课题中各种蛋白检测，磷酸化检测等实验。

11) 购买用于 western 检测的 Bio-rad 半干转印槽 1 套，约 3.6 万元，用于本课题中高分子量蛋白的检测表达等实验。

12) 购买-20 度科研用冰箱 1 台（中科美菱），约 1.1 万元，用于本课题中重要蛋白，DNA，抗体，因子等的保存。

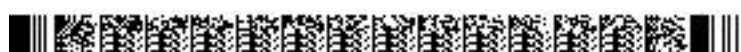
13) 购买用于蛋白质纯化的层析柜 1 台（Thermo）：4.9 万元，用于本课题中重要蛋白的纯化浓缩等。

## 2. 材料费（568.27 万元）

### 1) 细胞培养的相关试剂（共计：249.73 万元）

本课题涉及到的主要实验之一就是细胞培养，细胞培养相关试剂耗材费用具体如下：

名称	厂家	货号	数量	计量	规格	单价（元）	总价（万元）
培养基	Gibco	C11995500BT	2700	瓶	500ml	65	17.55
培养基	Gibco	11960044	50	瓶	500ml	249	1.25
胰酶	Gibco	25300-054	720	瓶	100ml	155	11.16
青-链霉素	Gibco	15140-122	300	瓶	100ml	260	7.80
血清	Gibco	10099-141	200	瓶	500ml	6500	130.00
脂质体 Lipo2000	Invitrogen	11668019	100	只	1.5ml	2700	27.00

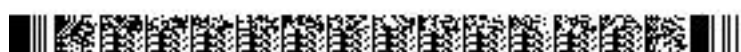


细胞培养板	Corning	3516	9000	个	6, 12, 24, 96 孔	8	7.20
细胞培养皿	Corning	430167	18000	个	100mm	3	5.40
细胞培养皿	Corning	430166	9000	个	60mm	1.5	1.35
无菌滤器	Millipore	SLGP033RS	3600	个	0.22um	6.5	2.34
无菌离心管	Corning	430790	30000	个	15ml'	1.3	3.90
无菌离心管	Corning	430828	10000	个	50ml	2	2.00
流式管	BD	352054	350	包	5ml	120	4.20
冻存管	Corning	430658	30000	个	1.2ml	1.5	4.50
液氮	国产	国产	8000	升	升	5	4.00
DPBS	Gibco	C14190500BT	3000	瓶	500ml	60	18.00
G418	amresco	E859-5G	10	瓶	5g	1688	1.69
嘌呤霉素	amresco	J593-25MG	10	瓶	25mg	400	0.40
总计							249.73

2) 免疫组化、western blot 及 ELISA 等实验所需相关试剂和抗体（共计：82.19 万元）。

本课题要检测多种蛋白在组织水平，细胞水平等的表达情况，需要进行免疫组化分析，western blot 及 ELISA 分析，同事也需要进行很多体外实验如免疫共沉淀，免疫荧光等实验，因此，需要用到大量蛋白特异性抗体，具体如下：

名称	厂家	货号	数量	计量	规格	单价（元）
M2-Flag	Sigma	F3165-1MG	10	支	1mg	8000
HA	Sigma	H6908	10	支	0.5ML	9000
Myc	Sigma	M4439-100UL	10	支	100UL	4000
His	Sigma	H1029-100UL	8	支	100UL	3400
GST	Sigma	G1160-0.2ML	8	支	0.2ML	4300
Actin	Sigma	A5441-100UL	10	支	0.1ML	2600
GAPDH	CST	2118S	10	支	0.1ML	2300
C-Myc	CST	9402S	3	支	100UL	2300

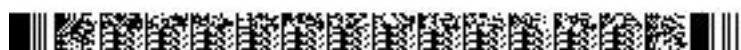


CylinB1	CST	4138S	3	支	100UL	2300
STAT3	CST	8719S	3	支	100ul	2300
P-STAT3 705	CST	9145S	3	支	100ul	2900
P65	CST	4764S	3	支	100ul	2300
P-P65	CST	3033S	3	支	100ul	2900
CyclinE	CST	sc-70901	3	支	1ML	2000
CyclinA	CST	sc-239	3	支	1ML	2000
a Mo IgG (H+L) / HRP	中杉	ZB2305	10	支	100UL	180
a Rb IgG (H+L) / HRP	中杉	ZB2301	10	支	100UL	180
a Mo IgG (H+L) / FITC	中杉	ZF-0312	10	支	100UL	180
a Rb IgG (H+L) / FITC	中杉	ZF-0311	10	支	100UL	180
a Mo IgG (H+L) / TRITC	中杉	ZF-0313	10	支	100UL	180
a Rb IgG (H+L) / TRITC	中杉	ZF-0316	10	支	100UL	180
CD133	Proteintec h	18470-1-AP	2	支	150UL	2300
LGR5	Proteintec h	21833-1-AP	2	支	150UL	2300
CD166	pierce	MA135107	2	支	1ML	3800
CD44	Proteintec h	15675-1-AP	3	支	50UL	900
FITC-EPCAM	Proteintec h	21050-1-AP	2	支	150UL	2300
ALDH	BD	611195	2	支	150UG	2400
BMI1	CST	2830S	2	支	100UL	2300
ECL 化学发光底物	GE	RPN2232	100	支	100ML	2000
硝酸纤维素膜	GE	RPN303D	100	支	30cm*3m	2000
总计						

3) 相关分子生物学实验材料费：共计 85.01 万元。

本课题涉及构建多种表达载体及突变体，RNA 检测，质粒大量提取和小量提取等实验，所以需要用到多种分子生物学实验材料及试剂盒，具体如下：

名称	厂家	货号	数	计	规格	单价	总
----	----	----	---	---	----	----	---



			量	量		(元)	价 (万元)
TaKaRa MutanBEST Kit	TaKaRa	R410	40	盒	20次	1050	4.20
Trizol	Life Technologies	15596026	20	瓶	200ml	2200	4.40
REV TRANSCRIPT 反转录酶	Invitrogen	18080044	40	盒	10000 U	3100	12.40
1kb Ladder DNA	axygen	M-DNA- 1kb	100	只	500ul	90	0.90
100bp Ladder DNA	axygen	M-DNA- 100bp	100	只	500ul	80	0.80
DNA Ligation Kit	TaKaRa	6024	50	盒	250ul	530	2.65
Dnase I	Roche	1.128E+10	10	只	100mg	1100	1.10
Xho1 内切酶	TaKaRa	1094A	50	只	5000U	270	1.35
Not1 内切酶	TaKaRa	1166A	50	只	500U	350	1.75
Nhe1 内切酶	TaKaRa	1241A	50	只	700U	470	2.35
EcoR1 内切酶	TaKaRa	1040A	50	只	10000 U	290	1.45
BamH1 内切酶	TaKaRa	1010A	50	只	10000 U	500	2.50
HindIII内切酶	TaKaRa	1060A	50	只	10000 U	350	1.75
Mighty TA- cloning kit	TaKaRa	6019	50	盒	20次	900	4.50
质粒小提试剂盒	TIANGEN/天 根生化	DP103-03	100	盒	200次	550	5.50
DNA 胶回收试剂盒	axygen	AP-GX- 250	50	盒	250次	450	2.25
琼脂糖 (Agrose)	biowest	111860	100	瓶	100g	150	1.50
质粒提取（无内 毒素质粒大提试	TIANGEN/天 根生化	DP117	120	盒	10次	780	9.36



剂盒)							
荧光定量试剂盒	TIANGEN/天根生化	FP205-02	50	盒	50次	700	3.50
免疫组化试剂盒	凯基生物	KGOS60	50	盒	60片	540	2.70
微量样品基因组DNA 提取试剂盒	TIANGEN/天根生化	DP316	100	盒	50次	860	8.60
DH5 $\alpha$ 感受态细胞	solarbio	C1100-20	500	盒	20 $\times$ 100u1	190	9.50
总计							85.01

#### 4) 相关信号通路相关试剂（共计：12.37 万元）

实验涉及多条信号通路，将分别采用信号通路抑制剂，激活剂等进行功能实验，如 luciferase 检测等，所用试剂总计如下：

名称	厂家	货号	数量	计量	规格	单价（元）
stat3 inhibitor	Merck millipore	573095-1MGCN	2	支	10mg	980
NF-kB Inhibitor	AnaSpec	AS-64660	2	支	10mg	900
STAT5 Inhibitor	Merck millipore	573108-10MGCN	2	支	10mg	950
EGF	Merck millipore	01-107-1KL	5	支	1mg	7700
IL-6, human	Biovision	4143-100	5	支	100UG	6200
IL6 Receptor	Proteintech	45-768	5	支	100ug	3100
TNF $\alpha$	Merck millipore	654256-5MGCN	5	支	5MG	2000
Luciferase 底物	Promega	E1501	5	支	1000assay	4600
总计						

5) 购买组织芯片 8 个（100 例左右，含详细信息），每个 7000 元。总计约 5.6 万元。

6) 实验动物（北大）：共计 18.00 万元。北京大学实验动物中心（独立核算



单位)，转基因疾病小鼠模型保种与繁殖（SPF 级动物房）：小鼠 1 元/天/只×120 只×1500 天=18 万元，5 年共 18.00 万元。

- 7) 动物实验费用（52.56 万元）：清华大学生物医学测试中心（独立核算单位），建立一个小鼠品系需要繁殖三代，每代 2 个繁殖笼，每代分笼后占 4 个笼位，共需要 3×2×4=24 笼位。建立三个品系约需 72 笼，每个笼位 4 元/天，5 年约 4 元/笼×365 天×5 年×72 笼=52.56 万元。

- 8) 蛋白质组学研究材料费：共计 33.01 万元

名称	厂家	货号	数量	计量	规格	单价（元）	总价（万元）
谷胱甘肽琼脂糖凝胶 4B	solarbio	S8871-10	10	只	10ml	1500	1.50
HIS 标记蛋白 Ni-NTA 树脂	Merck millipore	70666-3	10	只	10 ml	1500	1.50
Anti-FLAG® M2 Magnetic Beads	Sigma	M8823-5ML	5	只	5ml	13000	6.50
Glutathione High Capacity Magnetic Agarose Beads	Sigma	G0924-5X1ML	5	只	5X1ml	2100	1.05
ChIP 试剂盒	abcam	ab500	10	盒	24 次	6000	6.00
Pierce® SILAC Protein Quantitation Kits	Pierce	89982	8	盒	1kit	6570	5.26
Protein A-Agarose	Santa Cruz	sc-2001	50	只	2ml	350	1.75
Protein G PLUS-Agarose	Santa Cruz	SC-2002	50	只	3ml	500	2.50
蛋白酶抑制	Roche	4.693E+0	20	盒	20 片/	2800	5.60



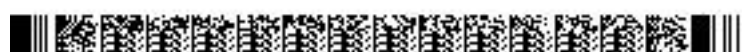
剂		9			盒			
15ml, 10k 超滤离心管	Merck millipore	UFC901096-1	100	个	1/pk	75	0.75	
0.5ml, 10K 超滤离心管	Merck millipore	UFC501008	200	个	1/pk	30	0.60	
总计							33.01	

9) 其它常规试剂和耗材：共计 29.80 万元

名称	厂家	货号	数量	计量	规格	单价（元）
显影定影液	国产	国产	1500	套	1L	40
Western-blot 用 X 光胶片	国产	国产	600	盒	100 张	120
牛血清白蛋白	amresco	0175-100G	10	瓶	100g	1200
SDS	amresco	XYHZ-039	10	桶	1kg	580
Tris	amresco	0497-5KG	10	桶	5kg	1320
甘氨酸	amresco	0167-5KG	10	桶	5kg	810
吸头	axygen	T-200-Y-R-S	20	箱	10 包	800
防水性乳胶手套	boibio	BI-RJST-L	100	箱	1000 只	700
试剂瓶			200	个	500ml	50
PCR 管	axygen	PCR-02-C	10	箱	10 包 / 箱	1770
封口膜	Parafilm	PM996	20	卷	卷	105
NaCl	amresco	0241-5kg	10	桶	5kg	595
异丙醇	国产	国产	100	瓶	500ml	11
甲醇	国产	国产	200	瓶	500ml	8
乙醇	国产	国产	200	瓶	500ml	12
总计						

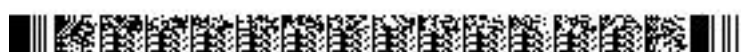
3. 测试化验加工费（89.05 万元）

本课题涉及到大量核酸测序，合成，蛋白质质谱分析，流式分析、分选，



共聚焦显微镜分析，单细胞活细胞连续拍照观察，抗体制备等多项测试化验费用，具体如下：

- 1) 核酸测序，测试单位：英俊，生工等，平均 16 元/个反应，8125 个反应大概 13.00 万元。
- 2) 引物合成，美吉，英俊，生工等，平均 0.8 元/碱基，10 万个碱基大概费用约 8.00 万元。
- 3) 长链碱基合成，瑞博，英俊，生工等，平均 3 元/碱基，8000 个碱基大概费用约 2.40 万元。
- 4) siRNA 化学合成，锐博公司，平均 400 元/条，50 条合计 2.00 万元。
- 5) 芯片测序 ChIP-seq，博奥公司，平均单价 10000 元每次，8 次分析共需 8.00 万元。
- 6) 普通荧光显微镜，清华大学生物医学测试中心（独立核算单位），50 元/小时，200 小时共计费用 1.00 万元。
- 7) 流式细胞仪检测与分析，清华大学生物医学测试中心（独立核算单位），30 元/样品×500 样=1.50 万元。
- 8) 流式分选，清华大学生物医学测试中心（独立核算单位），无菌分选，500 元/小时 x20 样品=1.00 万；普通分选 200 元/小时 x90 样品=1.80 万元，共计 2.80 万元。
- 9) 抗体制备，康为，武汉爱博，吉尔生化等，一个抗体大约 7000 元，10 个抗体合计约 7.00 万元。
- 10) 双光子共聚焦荧光显微镜，北京大学公共仪器平台（独立核算单位），150 元/小时，50 小时共计费用 0.75 万元。
- 11) 质谱分析检测代谢产物（脂肪酸、脂质等）差异蛋白及磷酸化等修饰位点检测：北京大学生命学院公共仪器中心（独立核算单位），测试价格 500 元/个×580 个=29.00 万元。具体明细为：定量全蛋白质组学分析：每个全蛋白质组样品需要分为 20 个分级后组分上机，且需要生物技术重复共 3 次，课题组 5 年需要分析 6 组全蛋白质组学定量分析，共计 20 个组分/样品\*3 次生物技术重复\*6 组全蛋白质组样品\*500 元/个=360 个样品，共计 18.00 万元；蛋白质磷酸化修饰位点分析：100 个样品，500 元/个，共计 5.00 万



- 元；小分子代谢产物分析：120 个样品，500 元/个，共计 6.00 万元。
- 12) 激光共聚焦显微镜（单光子）分析：北京大学生命学院公共仪器中心（独立核算单位），200 元/小时×200 小时=4.00 万元。
- 13) 流式细胞仪检测与分析：北京大学生命学院公共仪器中心（独立核算单位），30 元/样品×1000 样=3.00 万元。
- 14) 电子显微镜分析：北京大学生命学院公共仪器中心（独立核算单位）（独立核算单位），200 元/小时×100 小时=2.00 万元。
- 15) 活细胞工作站：进行单细胞细胞周期分析，清华大学生物医学测试中心（独立核算单位），80 元/小时 x400 小时=3.20 万元。
- 16) 冷冻超薄切片制备：200 元/样 x125 样品=2.50 万元。

#### 4. 燃料动力费（15.9 万元）

本课题所用实验材料蛋白，组织，抗体等需要超低温冰箱保存，还有高速冷冻离心机等，高压灭菌锅，生物安全柜等，这些仪器设备的连续运行需要耗费大量电量，具体如下：

- 1) -80 度超低温冰箱的电力消耗，约 24 小时×1 Kw×1.0 元/Kw.时×360 天×4.5 年×2 台=7.8 万元。
- 2) 不间断运行的低温冰箱（4 度、-20 度）、细胞培养箱以及其他高使用频率设备如离心机、PCR 仪、细菌摇床、生物安全柜、酶标仪、高压灭菌、组织脱水机、切片机等运行电费：平均约 50 Kw.时/天，共计 50 Kw.时/天×1.0 元/K w.时×360 天×4.5 年=8.1 万元。

共计 15.9 万元。

#### 5. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费（22.40 万元）

- 1) 课题预期目标是在国际 SCI 期刊上发表论文 11 篇以上，由于每篇文章的版面费差别较大，预计平均每篇论文约需 0.6 万元的版面费，预计支出 6.6 万，国内期刊发表 11 篇，每篇论文 0.3 万元，预计支出 3.3 万，共预计支出 9.9 万元。
- 2) 用于专利申请费和审批费以及知识产权事务费等，课题组 5 年内在申请国内专利 6 个，每个 5000 元，共计 3.0 万元。



3) 文献查新费、专用账号申请费以及相关文献及成果打印费等, 预计支出 0.9 万/年 x5 年=4.5 万元。

4) 购买外文图书和国际期刊, 如 Cell、Molecular、Science、Nature, 一年费用大概 1.0 万元, 五年预计需支出 5.0 万元。

#### 6. 其他支出

无。

7. 差旅费、会议费、国际合作与交流费、劳务费、专家咨询费  
无需填写说明。

(项目实施中发生的会议费、差旅费、国际合作与交流费等三项支出之间可以调剂使用, 但不能突破三项支出预算总额。)

(劳务费预算应结合当地实际以及相关人员的参与项目的全时工作时间等因素合理执行, 临时聘用人员的社会保险补助纳入劳务费科目中列支。)

(专家咨询费应按照管理办法规定支出标准执行。)

差旅费: 24.15。

会议费: 4.73 万。

国际合作与交流费: 20.8 万。

劳务费: 190.4 万。

专家咨询费: 2.4 万。

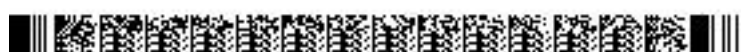
共计: 242.48 万。

#### (二) 间接费用

无需填写说明。

(承担单位应当建立健全间接费用的内部管理办法, 合规合理使用间接费用, 结合一线科研人员实际贡献公开公正安排绩效支出, 体现科研人员价值, 充分发挥绩效支出的激励作用。承担单位不得在核定的间接费用或管理费用以外再以任何名义在项目资金中重复提取、列支相关费用。)

156.90 万元。



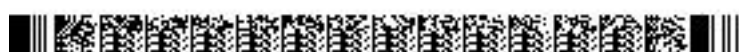
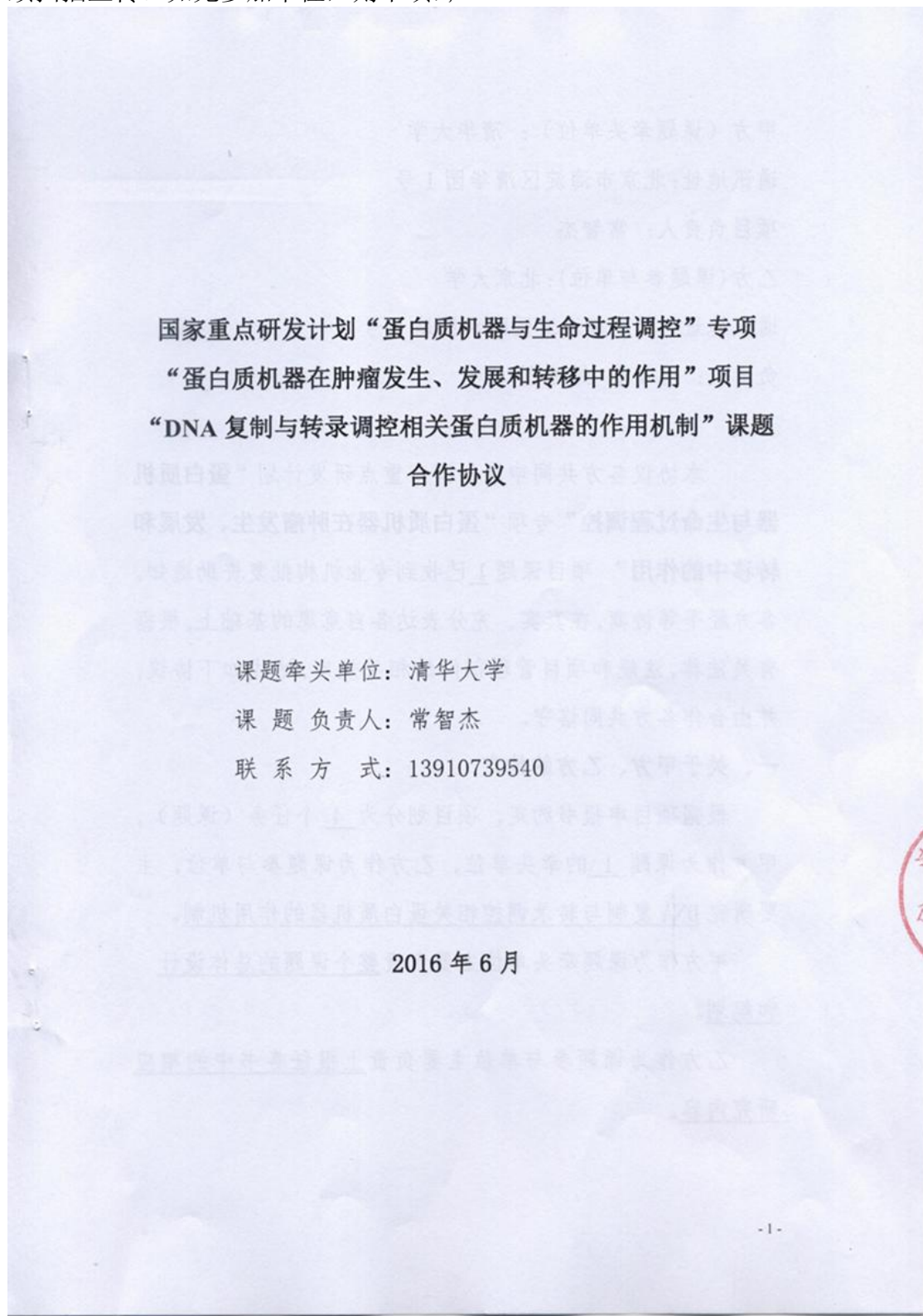
## 预算说明

三、自筹经费来源说明（需说明经费的来源、用途）  
无自筹经费。



## 十一、相关附件

1. 乙方与参加单位有关协议（须加盖乙方与参加单位公章、法人签字签章；协议文件须扫描上传。如无参加单位，则不填）；



甲方（课题牵头单位）：清华大学  
通讯地址：北京市海淀区清华园 1 号

项目负责人：常智杰

乙方（课题参与单位）：北京大学  
通讯地址：北京市海淀区颐和园路 5 号

负责人：孔道春 纪建国

本协议各方共同申请的国家重点研发计划“蛋白质机器与生命过程调控”专项“蛋白质机器在肿瘤发生、发展和转移中的作用”项目课题 1 已收到专业机构批复资助通知。各方经平等协商，在真实、充分表达各自意愿的基础上，根据有关法律、法规和项目管理部门的相关规定，达成如下协议，并由合作各方共同恪守。

#### 一、关于甲方、乙方的约定

根据项目申报书约定，项目划分为 4 个任务（课题），甲方作为课题 1 的牵头单位，乙方作为课题参与单位，主要研究 DNA 复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制。

甲方作为课题牵头单位主要负责整个课题的总体设计和规划。

乙方作为课题参与单位主要负责上报任务书中的相应研究内容。



甲方（课题牵头单位）：清华大学

通讯地址：北京市海淀区清华园 1 号

项目负责人：常智杰

乙方（课题参与单位）：北京大学

通讯地址：北京市海淀区颐和园路 5 号

负责人：孔道春 纪建国

本协议各方共同申请的国家重点研发计划“蛋白质机器与生命过程调控”专项“蛋白质机器在肿瘤发生、发展和转移中的作用”项目课题 1 已收到专业机构批复资助通知。各方经平等协商，在真实、充分表达各自意愿的基础上，根据有关法律、法规和项目管理部门的相关规定，达成如下协议，并由合作各方共同恪守。

#### 一、关于甲方、乙方的约定

根据项目申报书约定，项目划分为 4 个任务（课题），甲方作为课题 1 的牵头单位，乙方作为课题参与单位，主要研究 DNA 复制与转录调控相关蛋白质机器的作用机制。

甲方作为课题牵头单位主要负责整个课题的总体设计和规划。

乙方作为课题参与单位主要负责上报任务书中的相应研究内容。



## 二、中央财政经费分配及自筹配套落实

根据任务分工和课题任务书约定，各方就该项目的国拨专项经费分配及自筹配套资金落实约定如下：

根据任务书约定本专项项目中央财政经费的数额为3500万元，课题1中央财政经费的数额为1140万元。按如下方案分配：甲方为390万元，乙方为750万元。

## 三、关于科研成果、知识产权和奖励的相关约定

在本课题执行过程中涉及到的信息公开与分享、科研成果处理、知识产权申请与转让、奖励申报和收益分享等事宜按照以下约定执行，本协议未尽之处，应采取“一事一议”的方式签订补充协议：

1、本课题执行期间，各方承诺尽最大可能互为提供资料数据，共享研究成果，但相关资料和数据仅限于各方的研究目的，任何一方都不得将其他方未公开的材料和资料向其他方转移和泄露。

2、甲方与乙方在本课题执行日之前各自所获得的知识产权及相应权益均归各自所有，不因共同合作本课题而改变。

3、在本课题执行过程中，各方应对科技成果及时采取知识产权保护措施，并按照国家科技计划知识产权管理相关规定决定归属。独自完成的科技成果及获得的知识产权归各



方独自所有，相关成果被授予的奖励归各方独自所有。各方共同完成的科技成果及其形成的知识产权归各方共有，共同享有知识产权使用权，相关成果获得的荣誉和奖励归完成各方共有。

4、共有知识产权所有权申请及转让需要各方共同同意，并另行起草签署书面约定明确归属和收益共享方式。无论是独有还是共有的知识产权转让，本课题各参与方有以同等条件优先受让的权利。

#### 四、保密约定

各方均对对方提供的技术情报和资料等承担保密义务，不论本合作协议是否变更、解除或终止，本条款长期有效。

#### 五、课题资产管理和归属约定

本课题中央财政经费支持的设备购置与样机试制、资料材料以及数据等资产按国家科技计划管理办法相关要求执行。

中央财政经费投入研制或购置的设备、开发的样机、资料材料及数据等按国家科技计划有关法规决定所有权和归属，并至少在课题参与单位间提供共享。



## 六、课题执行违约责任

1、根据任务书约定，各方负有按时完成各自负责任务并达到相关考核指标的义务。如乙方研发进展滞后，甲方有权督促相关责任方加快进度；出现进展严重滞后并影响课题甚至整个项目考核指标完成的情况，甲方报项目牵头单位并报批专业机构后，有权缓拨、停拨、甚至追缴部分或全部课题经费。

2、各方为完成任务书规定研究任务的支出，超出各自预算的部分由各方自行承担。

3、违反本协议第三条关于科研成果和知识产权申请和权属等约定，违约方应向知识产权所属人支付违约金赔偿相关损失；在课题牵头单位或有关部门调节无法达成谅解的情况下，各方均有权通过法律途径追究违约方责任，但相关纠纷不作为影响本课题研究进度的理由。

4、本课题因难以克服的技术挑战或无法预见的客观条件变化而无法达到预期考核指标的情况，应及时通知甲方并报项目牵头单位，需要时应及时报告专业机构申请调整，责任和损失由各方协商共同决定承担方式。因责任方未及时通知课题牵头单位造成的额外损失，由相关责任方自行承担。

5、因不可抗力不能履行任务书规定义务时，可以免除违约责任，但应及时通知甲方并报项目牵头单位，需要时应按相关流程及时报告专业机构。在出现不可抗力的情况下，



各方均采取适当措施减轻损失。因乙方未及时采取应对措施或通知甲方造成的额外损失，由相关责任方自行承担。

## 七、项目过程管理及验收

甲方和乙方应积极配合项目牵头单位做好专业机构对项目和课题执行的过程管理和验收，并采取召开会议、进展报告等方式协调和促进项目和课题的执行。

各参与单位应严格按照国家科技计划管理的相关规定和办法执行本课题预算，保证任务书规定的研究任务按时完成，并达到相应考核指标。

因一方或几方原因导致整个课题或项目验收不通过，相关参与单位负责承担责任。

## 八、补充协议签署和争议解决办法

1、若本课题执行过程中，任何重大调整（如任务考核指标调整、经费调整、参加单位变化等）都应及时通知甲方并报项目牵头单位，报专业机构批准后签署补充协议。补充协议应对调整后的各方责任义务进行约定，与本协议具有同等效力。

2、在本课题执行过程中，各参与单位发生争议应当友好协商解决。项目牵头单位出面协调无法达成一致的，可请求专业机构或相关科技主管部门进行调解。协商和调解不成



的，申请由北京仲裁委员会仲裁。

本协议自各方盖章（签字）之日起生效（课题牵头单位  
加盖骑缝章），有效期至项目验收合格之日。协议一式 10  
份，甲方保留 1 份，乙方保留 1 份，其余 8 份同任务  
书上交项目承担单位。具有同等法律效力。

甲方（课题牵头单位）

（公章）：

法定代表人

或授权代理人（签章）：

2016 年 6 月 30 日

乙方（课题参与单位）

（公章）：

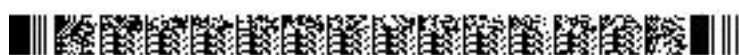
法定代表人

或授权代理人（签章）：

2016 年 6 月 30 日



2. 申报指南规定的其他附件。



## 任务书签署

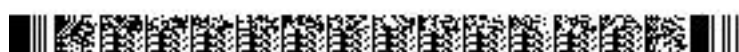
甲乙双方根据《国务院关于改进加强中央财政科研项目和资金管理的若干意见》(国发[2014]11号)、《国务院印发关于深化中央财政科技计划(专项、基金)管理改革方案的通知》(国发[2014]64号)、《科技部财政部关于改革过渡期国家重点研发计划组织管理有关问题的通知》(国科发资[2015]423号)、《科技部财政部关于印发〈中央财政科技计划(专项、基金等)监督工作暂行规定〉的通知》(国科发政[2015]471号)、《财政部科技部关于中央财政科技计划管理改革过渡期资金管理有关问题的通知》(财教[2015]154号)等有关文件规定,以及有关法律、政策和管理要求,依据项目立项通知,签署本任务书。

项目牵头承担单位(甲方):

法定代表人签字(签章):

(公章)

年 月 日



项目负责人签字（签章）：

年 月 日

课题承担单位（乙方）：

法定代表人签字（签章）：

（公章）

年 月 日

课题负责人签字（签章）：

年 月 日



## 关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

清华大学 常智杰先生/女士：

根据《国家自然科学基金条例》的规定和专家评审意见，国家自然科学基金委员会（以下简称自然科学基金委）决定批准资助您的申请项目。项目批准号：81230044，项目名称 CREPT 作为抗肿瘤药物新靶点的分子机制研究，资助金额 280.00 万元，项目起止年月：2013 年 01 月至2017 年 12 月，有关项目的评审意见及修改意见附后。

请尽早登录科学基金网络信息系统（<https://isis.nsfc.gov.cn>），获取《国家自然科学基金资助项目研究计划书》（以下简称计划书）并按要求填写。计划书电子文件通过科学基金网络信息系统（<https://isis.nsfc.gov.cn>）或通过电子邮件发至 [report@pro.nsfc.gov.cn](mailto:report@pro.nsfc.gov.cn) 信箱，由依托单位确认后提交至自然科学基金委；计划书纸质文件（一式两份）由依托单位审核并加盖单位公章后报送至自然科学基金委 医学科学部 科学部。

请按照依托单位规定时间，及时将电子和纸质计划书提交依托单位进行确认审核。自然科学基金委接收依托单位报送计划书截止时间为 **2012 年 9 月 10 日**。

对于有修改意见的项目，请按修改意见调整计划书相关内容；如对修改意见有异议，须在计划书报送截止日期前提出。

未说明理由且逾期不报计划书者，视为自动放弃接受资助。

附件：项目评审意见及修改意见

国家自然科学基金委员会

医学科学部

2012 年 8 月 17 日

项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81230044	项目负责人	常智杰	申请代码 1	H1602
项目名称	CREPT 作为抗肿瘤药物新靶点的分子机制研究				
资助类别	重点项目	亚类说明			
附注说明					
依托单位	清华大学				
资助金额	280.00 万元	起止年月	2013 年 01 月至 2017 年 12 月		
<p>通讯评审意见：</p> <p>&lt;1&gt; 项目名称：CREPT 作为抗肿瘤药物靶点的分子机制研究 申请者：常智杰 清华大学（重点项目）</p> <p>从细胞信号转导和细胞周期调控分子网络中筛选抗肿瘤药物作用的关键分子靶点，尤其是 STAT3、Wnt 信号通路和细胞周期调控蛋白 CDK/cydin D 等。申请者前期研究发现，与癌细胞生长相关重要蛋白 CREPT 与 STAT3、-catenin/TCF4 和转录酶 RNAPII 相互作用形成蛋白复合体，调控肿瘤生长相关基因表达。CREPT 蛋白可以调控细胞周期并在多种人类肿瘤中高表达，本研究拟进一步通过基因敲除小鼠模型、基因芯片等分析，探讨 CREPT 蛋白关键氨基酸残基及其修饰体作为抗肿瘤药新靶点的特性。CREPT 可能为抗肿瘤药物作用的候选靶点，具有重要科学意义和潜在临床应用前景。</p> <p>本项目研究目标比较明确，研究内容恰当，总体研究方案合理可行，研究团队具有一定前期研究基础和条件，经费预算合理。</p> <p>&lt;2&gt; 本研究针对细胞信号转导及周期调控网络问题，拟阐明 CREPT 的调控机制及作为抗肿瘤药物靶点的价值，科学问题明确；研究中充分考虑到了癌症分子网络和肿瘤干细胞的理论和观点，体现了比较有创新的学术思想；研究目标和研究方案合理、可行，同时具备了必要的研究条件，预期可获得好的进展。项目主持人是有很高的学术和科研水平、近期有高质量的 SCI 发表。前期研究工作提供了很好的基础，并发表于 Cancer Cell 等杂志，取得了学术界的认可，信号通路、药物筛选等相关研究技术和方法运用成熟；研究队伍各级人员配备合理，经费预算的基本合理正确。</p> <p>&lt;3&gt; 申请人对其课题组克隆的基因 CREPT 进行了大量的前期研究，并揭示了 CREPT 与肿瘤发生的作用，本课题拟在原来工作基础上进一步全面研究 CREPT 的临床意义，作用功能，分子机理，与肿瘤细胞内多种信号分子之间的相互作用，晶体结构和筛选天然化合物等等，属于申请人课题组的原创性研究。但是，研究目标似乎太大，不太象一个重点课题的研究内容，可以成为是申请人一生的研究内容，仍然建议资助，但建议申请人把目标集中凝练，通过该项目先解决与分子靶点和化学干预高度相关的科学问题。</p> <p>&lt;4&gt; 基于实验室前期有关 CREPT 在肿瘤细胞增殖中的调控作用及其分子机制的研究，这些工作基础为本项目的进一步研究奠定坚实的基础。该项目又在次基础之上，进一步完成了针对该项目的基础性实验，并获得了新的原创性的结果，拟将利用 CREPT 敲除小鼠模型，多种细胞和分子生</p>					

物学等一系列技术手段,围绕 CREPT 与  $\beta$ -catenin/TCF4 相互作用的功能以及与 RNAPII 的作用的功能和分子机制展开研究,以期确定更进一步的在肿瘤发生发展中的生物学意义。该项目研究的起点较高,原创性很强,申请人及其所在的研究团队研究能力强,基础扎实,该项目的研究的生物学意义,尤其是在肿瘤的分子机制研究方面有很重要的意义。项目中设定了一些较为重要的研究内容,并也有些基础。但总的感觉是研究的内容有些散,研究的重点不突出,尽管每个研究点都很有意思,从研究的总体方案中,看不出最终的 Overview,仍然在多面出击进行 CREPT 作用机制探讨,CREPT 似乎能与多个蛋白结合其中包括 STAT3、RNAPII、 $\beta$ -catenin/Tcf4 和 p300,参与调控基因的表达,但他们之间的相互关系有些乱。项目中有关药物筛选的研究工作部分显得有些多余,很显然与 CREPT 的作用机制没有明确的关联性。希望项目在实施中能够确定初步鉴别和明确 CREPT 与转录蛋白复合物结合的形式,阐明 CREPT 与不同蛋白复合在肿瘤形成中的作用。

<5>

<6> 申请人在前期研究发现 CREPT 与 stat3 和  $\beta$ -catenin 存在相互作用的基础上,拟进一步采用分子生物学、细胞生物学和基因敲除技术深入研究 crept 调控肿瘤发展的分子机理以及作为潜在抗肿瘤靶点的可能性,该研究具有一定创新性,但是具有以下明显不足:

1. 立项依据不够充分,关键证据缺乏,而且前期研究结果不够准确甚至错误,如第 30 页图 1B 中 myc-crept 比内源性 crept 的分子量大了许多,这显然是不正确的,因为 myc 标签只有 10 个氨基酸,myc-crept 与内源性 crept 的分子量相差很小。此外,图 5B 中结果不够清晰,尚不能确定 crept 与  $\beta$ -catenin 存在相互作用;图 9 右(申请书第 35 页)显示内源性 RNAPII 并没有与 crept 存在相互作用,与其申请书对该结果的陈述存在矛盾;图 10A 中采用 anti-Flag 进行免疫沉淀,采用 anti-myc 进行检测后得到的结果与申请书陈述的内容相互矛盾;由于图 10B 第四条带中第一泳道 myc-crept 表达缺失,因此尚不能说明 crept 是否只与激活的 stat3 存在相互作用;图 11-1 采用 MTT 法分析药物对肿瘤细胞的抑制能力与图 11-2 中 IC50 测定不一致。

2. 申请书撰写不够严谨,关键证据表述错误如 gp130 和 Grb2 并不是受体酪氨酸激酶(申请书第 8 页),前期研究结果图片不够清晰(图 3、图 4、图 6A)甚至标注错误(图 4 标注为图 5,申请书第 32 页),第 34 页图 8 中采用抗 Flag 标签进行免疫共沉淀研究 CREPT 和 RNAPII 的相互作用,但是图示标注中采用却是 M2 进行 IP,不知是何?此外立项依据中缺乏关键参考文献,而且参考文献格式明显不一致。

综合考虑,建议不予资助。

<7> The applicant recently completed a nice study in which his group identified a n RNAP-II binding protein, CREPT, and showed that this protein is highly expressed in a large number of visceral cancers and promotes tumorigenesis by enhancing the expression of cell cycle genes such as cyclin D1. Based on long term effort in the Jak/Stat and Wnt signaling research in general and this piece of work in particular, the applicant proposes to complete 10 SPECIFIC AIMS to further investigate the role of CREPT in cancer and, possibly, identify small molecule inhibitors of CREPT for the development of novel cancer treatment. Although the applicant has been very active and productive in several research fields, it is simply not credible that a single research group can accomplish all 10 projects as proposed in 5 years. The proposal itself is also not without major deficiencies: 1) the background is filled with assertions, many of which are outright wrong; 2) the use of references is improper and inaccurate; 3) specific aim 1 is essentially completed, as shown by a quick reading of the Cancer Cell paper; 4) the research design of Aim 2 is deficient, the applicant needs to ascertain if CREPT is required for embryonic development so that the breast and colorectal tumor models can be built on the CREPT null background, or

the applicant may have to resort to more sophisticated tissue-specific knockout strategy; 5) at the current standing there is simply no compelling reason to believe that CREPT functions specifically in either STAT3 or Wnt pathway, so the basis for Aims 6&7 is quite weak. The Cancer Cell paper from the applicant's lab was well written and the applicant is well funded in China and is considered one of leading scientists. Given his status, the applicant is highly encouraged to put down more effort in drafting a thoughtful and executionable grant application that conforms to scholarly standard. This application should be funded after it is substantially revised.

对研究方案的修改意见：

医学科学部

2012 年 8 月 17 日

## 关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

清华大学 常智杰先生/女士:

根据《国家自然科学基金条例》的规定和专家评审意见,国家自然科学基金委员会(以下简称自然科学基金委)决定批准资助您的申请项目。项目批准号: 81372167, 项目名称 GdX 调控 STAT3 去磷酸化对肝癌发生的作用, 资助金额 78.00 万元, 项目起止年月: 2014 年 01 月至 2017 年 12 月, 有关项目的评审意见及修改意见附后。

请尽早登录科学基金网络信息系统(<https://isis.nsfc.gov.cn>), 获取《国家自然科学基金资助项目研究计划书》(以下简称计划书)并按要求填写。计划书电子文件通过科学基金网络信息系统(<https://isis.nsfc.gov.cn>)上传, 由依托单位确认后, 自然科学基金委进行审核; 计划书纸质文件(一式两份)由依托单位审核并加盖单位公章后报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。

自然科学基金委接收依托单位提交计划书电子版截止时间为 **2013 年 9 月 11 日 16 点前**, 提交计划书电子修改版截止时间为 **2013 年 9 月 18 日 16 点前**; 计划书纸质版于计划书电子版通过自然科学基金委审核后再行打印(建议双面打印), 自然科学基金委接收计划书纸质版截止时间为 **2013 年 9 月 27 日 16 点前**。

请按照依托单位规定时间, 及时将计划书电子版和纸质版先后提交依托单位进行确认审核。对于有修改意见的项目, 请按修改意见及时调整计划书相关内容; 如对修改意见有异议, 须在计划书电子版报送截止日期前提出。计划书电子文件和纸质文件内容应当保证一致。

未说明理由且逾期不报计划书者, 视为自动放弃接受资助。

附件: 项目评审意见及修改意见

国家自然科学基金委员会

医学科学部

2013 年 08 月 15 日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81372167	项目负责人	常智杰	申请代码 1	H1602
项目名称	GdX 调控 STAT3 去磷酸化对肝癌发生的作用				
资助类别	面上项目	亚类说明	常规面上项目		
附注说明					
依托单位	清华大学				
资助金额	78.00 万元	起止年月	2014 年 01 月至 2017 年 12 月		
<p>通讯评审意见：</p> <p>&lt;1&gt;本课题拟研究 Gdx 调控 STAT3 去磷酸化，抑制活性从而抑制肝癌细胞的发生发展。课题组前期工作研究工作的深入，基础较扎实，研究中重点探索 GdX 的定位，出入核机制；GdX 对不同聚合体的 STAT3 去磷酸化作用等内容具有一定的创新性。研究重点突出，关键问题明确，总体方案可行。整个实验工作量较大，完成存在一定压力。同意资助。</p> <p>&lt;2&gt;本申请发现 GdX 通过介导 STAT3 与 Ptp45 的结合使 STAT3 去磷酸化，从而抑制 STAT3 的持续激活，抑制肿瘤细胞在体内外的生长。本申请具有较强的创新性，研究内容合理，技术路线可行，申请人在本领域有较多的经验积累，前期研究基础较好。建议优先资助</p> <p>&lt;3&gt;1. 拟研究 GdX 通过介导磷酸酶 PTPTC45 与 STAT3 的相互作用，负性调节 STAT3 的活性及其在肝癌发生中的作用。但是，课题新意不足，多种肿瘤中已发现 STAT3 的异常激活，申请人利用 GdX KO 小鼠，把在结肠癌中的研究内容照搬到肝癌研究中，缺乏创新性。</p> <p>2. 研究部内容 1 和 2 应是申请者前一自然科学基金面上项目的研究内容。</p>					
<p>对研究方案的修改意见：</p> <p style="text-align: right;">医学科学部</p> <p style="text-align: right;">2013 年 08 月 15 日</p>					

## 关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

中国人民解放军第三军医大学 李俊先生/女士:

根据《国家自然科学基金条例》的规定和专家评审意见,国家自然科学基金委员会(以下简称自然科学基金委)决定批准资助您的申请项目。项目批准号: 81372372, 项目名称 特异性抑制肺癌干细胞化合物的作用机制研究, 资助金额 62.00 万元, 项目起止年月: 2014 年 01 月至 2017 年 12 月, 有关项目的评审意见及修改意见附后。

请尽早登录科学基金网络信息系统(<https://isis.nsfc.gov.cn>), 获取《国家自然科学基金资助项目研究计划书》(以下简称计划书)并按要求填写。计划书电子文件通过科学基金网络信息系统(<https://isis.nsfc.gov.cn>)上传, 由依托单位确认后, 自然科学基金委进行审核; 计划书纸质文件(一式两份)由依托单位审核并加盖单位公章后报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。

自然科学基金委接收依托单位提交计划书电子版截止时间为 **2013 年 9 月 11 日 16 点前**, 提交计划书电子修改版截止时间为 **2013 年 9 月 18 日 16 点前**; 计划书纸质版于计划书电子版通过自然科学基金委审核后再行打印(建议双面打印), 自然科学基金委接收计划书纸质版截止时间为 **2013 年 9 月 27 日 16 点前**。

请按照依托单位规定时间, 及时将计划书电子版和纸质版先后提交依托单位进行确认审核。对于有修改意见的项目, 请按修改意见及时调整计划书相关内容; 如对修改意见有异议, 须在计划书电子版报送截止日期前提出。计划书电子文件和纸质文件内容应当保证一致。

未说明理由且逾期不报计划书者, 视为自动放弃接受资助。

附件: 项目评审意见及修改意见

国家自然科学基金委员会

医学科学部

2013 年 08 月 15 日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81372372	项目负责人	李俊	申请代码 1	H1609
项目名称	特异性抑制肺癌干细胞化合物的作用机制研究				
资助类别	面上项目	亚类说明	常规面上项目		
附注说明					
依托单位	中国人民解放军第三军医大学				
资助金额	62.00 万元	起止年月	2014 年 01 月至 2017 年 12 月		
<p>通讯评审意见：</p> <p>&lt;1&gt; 本项目申报人有着全面而系统的干细胞及肿瘤干细胞相关科研训练及相关工作背景，取得过不错的工作积累。曾受基金委青年项目支持，从事肿瘤干细胞相关研究并且取得一定的成果。本课题所提出的实验设计安排合理切实可行，拥有相当的创新性及必要的前期工作基础，预期研究结果将有可能推动靶向肺肿瘤干细胞的化合物研究的深入。</p> <p>&lt;2&gt;申请者以诱导肺癌干细胞为模型筛选了特异性抗肺癌干细胞的药物，并获得了 4 个候选化合物，本项目拟进一步研究这些化合物的作用及机制。项目具有一定创新性和科学价值，研究内容和方案合理，但项目的关键前提是四个特异性针对肺癌干细胞的候选化合物，而申请者在研究基础部分对这些化合物的特异性抗肺癌干细胞作用的论述很少。</p> <p>&lt;3&gt;本项目拟对前期筛选出的抑制肺癌干细胞的化合物进一步深入进行作用机制的研究。项目创新性较高，具有较好的学术价值。由于是在前期的研究基础上深入研究，其研究目标较明确，研究内容合理，研究路线较清晰。申请人的相关研究基础较好。但本项目关键的应用研究，也是工作量繁重的动物实验研究部分，项目组安排由一名年龄较高的正高级研究者承担，欠合理。</p>					
<p>对研究方案的修改意见：</p> <p style="text-align: right;">医学科学部</p> <p style="text-align: right;">2013 年 08 月 15 日</p>					

## 关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

清华大学 王银银 先生/女士：

根据《国家自然科学基金条例》的规定和专家评审意见，国家自然科学基金委员会（以下简称自然科学基金委）决定批准资助您的申请项目。项目批准号：

81402293，项目名称：NOK 促进ErbB 受体活性的分子机制及其在肿瘤中的作用，资助金额：23.00万元，项目起止年月：2015年01月至2017年 12月，有关项目的评审意见及修改意见附后。

请尽早登录科学基金网络信息系统（<https://isis.nsfc.gov.cn>），获取《国家自然科学基金资助项目计划书》（以下简称计划书）并按要求填写。对于有修改意见的项目，请按修改意见及时调整计划书相关内容；如对修改意见有异议，须在计划书电子版报送截止日期前提出。

计划书电子版通过科学基金网络信息系统（<https://isis.nsfc.gov.cn>）上传，由依托单位审核后提交至自然科学基金委进行审核。审核未通过者，返回修改后再行提交；审核通过者，打印（建议双面打印）为计划书纸质版（一式两份），由依托单位审核并加盖单位公章后报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。计划书电子版和纸质版内容应当保证一致。

向自然科学基金委提交和报送计划书截止时间节点如下：

- 1、提交计划书电子版截止时间为**2014年9月11日16点**（视为计划书正式提交时间）；
- 2、提交计划书电子修改版截止时间为**2014年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2014年9月26日16点**。

请按照以上规定及时提交计划书电子版，并报送计划书纸质版，未说明理由且逾期不报计划书者，视为自动放弃接受资助。

附件：项目评审意见及修改意见

国家自然科学基金委员会  
医学科学部  
2014年8月15日

## 附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81402293	项目负责人	王银银	申请代码1	H1602
项目名称	NOK 促进ErbB 受体活性的分子机制及其在肿瘤中的作用				
资助类别	青年科学基金项目	亚类说明			
附注说明					
依托单位	清华大学				
资助金额	23.00 万元	起止年月	2015年01月 至 2017年12月		
<p>通讯评审意见：</p> <p>&lt;1&gt;</p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说</p> <p>申请人所在实验室克隆了一个新的酪氨酸激酶受体分子NOK。此项目的前期研究发现，NOK能够与ErbBs家族成员相互作用，增加 ErbB的活性，促进 EGF引起的细胞增殖和转移；初步机制分析显示NOK可能通过其激酶结构域影响EGFR的活性。此项目拟利用多种乳腺癌细胞系和基因敲除小鼠研究NOK与ErbBs蛋白相互作用的分子机制，分析这种相互作用对ErbB蛋白激酶活性的作用，明确相关的下游信号分子及生物学活动改变。还将通过大量肿瘤样本，分析NOK和ErbBs蛋白及其磷酸化与肿瘤进程、预后及治疗的相关性。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义</p> <p>项目的预期结果将有一定的科学价值和意义。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性</p> <p>ErbB家族是受体酪氨酸激酶（RTK）超家族的重要成员，它们的异常与肿瘤的发生发展关系密切。若发现对ErbB有调控作用的因子，具有一定的意义。因此，此项目科学问题明确，具有一定的创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>研究内容阐述翔实切题，研究方案和技术路线可行。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件</p> <p>申请人有一定的研究经历和科研工作能力。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p> <p>&lt;2&gt;</p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说</p> <p>申请人提出NOK对ErbB的活性调控具有重要的作用，并拟对其的分子机理及其在乳腺癌中的作用进行研究。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义</p> <p>该项目的研究对于深入了解EGF信号通路的调控的分子机理及其在肿瘤发生发展中的作用机制的研究具有重要的科学意义</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性</p> <p>具有很好的创新性</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>该项目已经积累了大量的前期工作，数据翔实可靠，所提出的研究内容和研究方案合理，很有希望得到重要的科学成果。</p>					

(四) 申请人的研究能力和研究条件  
申请人具有较好的研究背景和科研能力, 具备良好的科研条件

(五) 其它意见或修改建议

<3>

一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说  
本项目欲研究NOK促进ErbB受体活性参与肿瘤发生的分子机制

二、具体意见

(一) 申请项目的预期结果及其科学价值和意义  
该项目有较强的可行性及科学意义

(二) 科学问题或假说是否明确, 是否具有创新性  
推论合理可信

(三) 研究内容、研究方案及所采用的技术路线  
逻辑严谨, 可行性强

(四) 申请人的研究能力和研究条件  
申请人所在的实验室有较高的研究水平和扎实基础

(五) 其它意见或修改建议  
发表的文章列表有多处错误

对研究方案的修改意见:

医学科学部

2014年8月15日

## 关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

常智杰 先生/女士：

根据《国家自然科学基金条例》的规定和专家评审意见，国家自然科学基金委员会（以下简称自然科学基金委）决定批准资助您的申请项目。项目批准号：

81572729，项目名称：CHIP在肿瘤细胞异常能量代谢及肿瘤发生发展中的作用，直接费用：65.00万元，项目起止年月：2016年01月至2019年12月，有关项目的评审意见及修改意见附后。

请尽早登录科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsfc.gov.cn>），获取《国家自然科学基金资助项目计划书》（以下简称计划书）并按要求填写。对于有修改意见的项目，请按修改意见及时调整计划书相关内容；如对修改意见有异议，须在计划书电子版报送截止日期前提出。**注意：请严格按照《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》填写计划书的资金预算表，其中，劳务费、专家咨询费科目所列金额与申请书相比不得调增。**

计划书电子版通过科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsfc.gov.cn>）上传，由依托单位审核后提交至自然科学基金委进行审核。审核未通过者，返回修改后再行提交；审核通过者，打印为计划书纸质版（一式两份，双面打印），由依托单位审核并加盖单位公章后报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。计划书电子版和纸质版内容应当保证一致。

向自然科学基金委提交和报送计划书截止时间节点如下：

- 1、提交计划书电子版截止时间为**2015年9月11日16点**（视为计划书正式提交时间）；
- 2、提交计划书电子修改版截止时间为**2015年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2015年9月25日16点**。

请按照以上规定及时提交计划书电子版，并报送计划书纸质版，未说明理由且逾期不报计划书者，视为自动放弃接受资助。

附件：项目评审意见及修改意见

国家自然科学基金委员会  
医学科学部  
2015年8月17日

## 附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81572729	项目负责人	常智杰	申请代码1	H1602
项目名称	CHIP在肿瘤细胞异常能量代谢及肿瘤发生发展中的作用				
资助类别	面上项目	亚类说明			
附注说明	常规面上项目				
依托单位	清华大学				
直接费用	65.00 万元	起止年月	2016年01月 至 2019年12月		
<p>通讯评审意见：</p> <p>&lt;1&gt;</p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说</p> <p>CHIP/Stub1是一种分子伴侣蛋白相结合的E3泛素连接酶，在蛋白降解及肿瘤发生中发挥作用。糖酵解是肿瘤细胞获取能量的主要方式之一。申请者前期工作发现CHIP在结直肠癌组织中表达降低，过表达CHIP抑制结直肠癌细胞的增殖以及迁移。并发现CHIP能够调控糖酵解过程中关键酶PKM2的蛋白水平。鉴于PKM2在肿瘤能量代谢中的关键作用，该项目拟通过构建结直肠癌的细胞模型、CHIP敲除小鼠的动物模型和结直肠癌病理标本，从肿瘤细胞能量代谢角度，研究CHIP对结直肠癌发生发展的影响，深入探讨CHIP通过泛化素调控PKM2稳定性的分子机制，揭示PKM2受泛化素化调控影响肿瘤细胞糖酵解的作用。进一步研究作为底物众多的E3泛素连接酶CHIP对底物选择特异性的分子机理。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义</p> <p>阐明CHIP对PKM2功能的影响，揭示其调节作用的分子机理，明确CHIP对结肠癌发生发展的影响，为靶向治疗提供依据。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性</p> <p>肿瘤细胞的能量代谢异常使肿瘤细胞无节制的增殖生长是科学家关注的焦点问题，如何将二者有机的结合起来是该项目研究的特色。该项目从CHIP影响肿瘤细胞能量代谢的研究为切入点，利用细胞、分子及动物模型研究，结合肿瘤患者临床样本分析以及验证，从体外分子机理到体内动物模型一直到肿瘤患者的样本整体性设计实验，深入系统的探究CHIP通过影响代谢过程的关键酶PKM2，从而达到对肿瘤细胞生长抑制的作用机制。因此，这一研究有一定的原创性和创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>该项目着重研究CHIP调节PKM2蛋白稳定性的分子机制，确认CHIP为PKM2的E3泛素连接酶；探讨CHIP通过降解PKM2来抑制结直肠癌细胞糖酵解代谢和肿瘤发生发展的作用机制；确定CHIP作为E3泛素连接酶对不同底物选择特异性的调控蛋白。确定HSP70/90可以通过调控CHIP的活性对PKM2活性进行调节；并明确CHIP与PKM2的在结直肠癌中表达呈负相关性，及其在临床患者病理特征之间及预后的关系。研究内容和关键科学问题合理可行，能够反应申请项目的立题要求。整体研究方案、技术路线基本合理可行。但在研究CHIP对肿瘤糖代谢影响时应更多关注对代谢本身的影响，是不是细胞内PKM2活性发生了明显变化，其直接下游代谢物在CHIP影响下也发生了变化，纠正这一代谢变化能不能影响肿瘤行为。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件</p> <p>申请者有较好的研究基础，前期有很好的科学训练，有较好的研究队伍和研究条件，经费预算合理。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p> <p>无</p> <p>&lt;2&gt;</p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说</p>					

<p>主要研究内容： 该项目以E3泛素连接酶CHIP为切入点，通过研究CHIP对PKM2稳定性的调控，建立CHIP与肿瘤代谢及肿瘤发生发展三者之间的相关性。 假说：CHIP可作为PKM2的E3泛素连接酶，通过调控PKM2的蛋白稳定性，从而降低肿瘤细胞的糖酵解能力，抑制了肿瘤细胞的生长。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 该项目发现了在肿瘤细胞代谢调控中的关键蛋白PKM2的E3泛素连接酶CHIP，并将在结肠癌模型中探讨CHIP对PKM2调控在肿瘤细胞代谢及生长中的重要作用，具有重要的科学意义。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 科学问题明确，且具有一定的原创性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线 研究内容及方案存在缺陷，不能充分证明CHIP特异性通过PKM2调控肿瘤细胞代谢的。立项依据部分提到CHIP可影响HIF1a和Myc的稳定性，间接调控肿瘤代谢。实验设计中仅通过CHIP siRNA和敲除不能排除这种间接效应发挥功能的可能性，其次PKM2也是HIF1a和Myc的下游，去除了PKM2也同样消除了HIF1a和Myc对肿瘤细胞代谢的影响，因此，申请人在论证CHIP是否是通过PKM2调控代谢的这一关键问题上存在设计缺陷。 项目中CHIP如何实现对不同底物的特异性调控是一个重要科学问题，然而，研究内容中并没有体现相关的研究思路和实施方案。 项目中代谢研究部分，内容太过简单，缺少基本的方法信息，如葡萄糖消耗，乳酸生成指标的检测。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件 项目组成员研究能力及研究条件，可保障项目的顺利完成。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p>	<p>&lt;3&gt;</p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说 本项目其初步结果显示：CHIP在结直肠癌组织中表达降低、过表达CHIP抑制结直肠癌细胞的增殖以及迁移；并结合蛋白质组学方法发现CHIP能够调控糖酵解过程中关键酶PKM2的蛋白水平。故本项目通过构建结直肠癌的细胞模型、CHIP敲除小鼠的动物模型和结直肠癌病理标本，从肿瘤细胞能量代谢角度，研究CHIP对结直肠癌发生发展的影响。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 深入探讨CHIP通过泛素化调控PKM2稳定性的分子机制，揭示PKM2受泛素化调控影响肿瘤细胞糖酵解的作用。进一步研究作为底物众多的E3泛素连接酶CHIP对底物选择特异性的分子机理。本研究对肿瘤发生及肿瘤细胞异常代谢提供依据，并揭示CHIP选择底物的特异性分子调控机制。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 本研究的科学问题明确“探讨CHIP通过泛素化调控PKM2稳定性的分子机制，揭示PKM2受泛素化调控影响肿瘤细胞糖酵解的作用”，具有创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线 研究方法得当可行，逻辑性强。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件 作者作为教授，先后发表了多篇高影响因子论文，有固定研究团队和硬件。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议 研究内容过于翔实，且比较庞大，能否适量删除部分研究点。</p> <p>对研究方案的修改意见：</p>
--	--

医学科学部

2015年8月17日