



项目批准号	81802732
申请代码	H1602
归口管理部门	
依托单位代码	51051508A0681-1235



81802732 1007119

国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：青年科学基金项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：COLEC10调控肿瘤自噬在肝细胞癌发生发展中的作用与机制

直接费用：19万元 执行年限：2019.01-2021.12

负责人：张宝珠

通讯地址：深圳市宝安区龙井二路118号宝安区人民医院医技楼3楼 肿瘤中心

邮政编码：518100 电 话：0755-27788311

电子邮件：476149881@qq.com

依托单位：南方医科大学

联系人：赵镇 电 话：020-61648165

填表日期：2018年09月01日

国家自然科学基金委员会制



国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

- 一、项目负责人收到《关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明，参照国家自然科学基金相关项目管理办法及《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》（请查阅国家自然科学基金委员会官方网站首页“政策法规”栏目），按《批准通知》的要求认真填写和提交《国家自然科学基金委员会资助项目计划书》（以下简称《计划书》）。
- 二、填写《计划书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。《计划书》经国家自然科学基金委员会相关项目管理部门审核批准后，将作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 三、《计划书》各部分填写要求如下：
 - （一）简表：由系统自动生成。
 - （二）摘要及关键词：各类获资助项目都必须填写中、英文摘要及关键词。
 - （三）项目组主要成员：计划书中列出姓名的项目组主要成员由系统自动生成，与申请书原成员保持一致，不可随意调整。如果批准通知中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目有调整项目组成员相关要求的，待项目开始执行后，按照项目成员变更程序另行办理。
 - （四）资金预算表：根据批准资助的直接费用，按照《国家自然科学基金项目预算表编制说明》填报资金预算表和预算说明书。国家重大科研仪器研制项目、重大项目还应按照预算评审后批复的直接费用各科目金额填报资金预算表、预算说明书及相应的预算明细表。
 - （五）正文：
 1. 面上项目、青年科学基金项目、地区科学基金项目：如果《批准通知》中没有修改要求的，只需选择“研究内容和研究目标按照申请书执行”即可；如果《批准通知》中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目明确要求调整研究期限和研究内容等的，须选择“根据研究方案修改意见更改”并填报相关修改内容。
 2. 重点项目、重点国际（地区）合作研究项目、重大项目、国家重大科研仪器研制项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，根据《批准通知》的要求填写研究（研制）内容，不得自行降低、更改研究目标（或仪器研制的技术性能与主要技术指标以及验收技术指标）或缩减研究（研制）内容。此外，还要突出以下几点：
 - （1）研究的难点和在实施过程中可能遇到的问题（或仪器研制风险），拟采用的研究（研制）方案和技术路线；
 - （2）项目主要参与者分工，合作研究单位之间的关系与分工，重大项目还需说明课题之间的关联；
 - （3）详细的年度研究（研制）计划。



3. 国家杰出青年科学基金、优秀青年科学基金和海外及港澳学者合作研究基金项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，按下列提纲撰写：
 - （1）研究方向；
 - （2）结合国内外研究现状，说明研究工作的学术思想和科学意义（限两个页面）；
 - （3）研究内容、研究方案及预期目标（限两个页面）；
 - （4）年度研究计划；
 - （5）研究队伍的组成情况。
4. 国家自然科学基金基础科学中心项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，应当根据评审委员会和现场考察专家组的意见和建议，进一步完善并细化研究计划，作为评估和验收的依据。按下列提纲撰写：
 - （1）五年拟开展的研究工作（包括主要研究方向、关键科学问题与研究内容）；
 - （2）研究方案（包括骨干成员之间的分工及合作方式、学科交叉融合研究计划等）；
 - （3）年度研究计划；
 - （4）五年预期目标和可能取得的重大突破等；
 - （5）研究队伍的组成情况。
5. 对于其他类型项目，参照面上项目的方式进行选择和填写。



简表

申请者信息	姓 名	张宝珠	性 别	女	出生年月	1989年12月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	医师		
	是否在站博士后	否			电子邮件	476149881@qq.com		
	电 话	0755-27788311			个人网页			
	工 作 单 位	南方医科大学						
	所 在 院 系 所	附属深圳宝安医院						
依托单位信息	名 称	南方医科大学					代码	51051508A0681
	联 系 人	赵镇			电子邮件	nfykdxchengguo@126.com		
	电 话	020-61648165			网站地址	www.fimmu.com		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	COLEC10调控肿瘤自噬在肝细胞癌发生发展中的作用与机制						
	资 助 类 别	青年科学基金项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H1602:肿瘤发生						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2019.01-2021.12						
	直 接 费 用	19万元						



项目摘要

中文摘要:

胶凝素 (Collectins) 是具有胶原样结构的凝集素, 可通过活化补体发挥调理作用或直接凝集微生物增强吞噬细胞的吞噬作用。而自噬作为经典的细胞内能量代谢和自我更新机制, 在不同种类的肿瘤以及肿瘤发展的不同阶段, 具有抑制和促进两种对立的影响。目前, 胶凝素与自噬的关系尚不明确, 而自噬在肿瘤中究竟扮演促癌还是抑癌角色也一直富有争议。我们通过分析TCGA测序发现: 胶凝素10 (COLEC10) 在肝细胞癌 (HCC) 中的转录水平明显下调。进一步生存分析显示: COLEC10的低表达与HCC患者的不良预后显著相关。过表达COLEC10明显抑制HCC细胞的增殖及转移能力, 并降低自噬标志物LC3-II的蛋白水平。本课题旨在研究: COLEC10在HCC中对自噬的调节及其分子机制; COLEC10调控的自噬对HCC生长及转移的影响及机制。本项目将为明确COLEC10在HCC中的预后价值及作为治疗新靶标提供科学依据。

Abstract:

Collectin subfamily member 10 (COLEC10), encoding for collectin liver 1 (CL-L1, alias CL-10), belongs to the C-lectin family. COLEC10 possesses classic collagen-like sequences and carbohydrate recognition domains, which function to regulate complement activation or enhance phagocytic phagocytosis via direct agglutinating microorganisms. As a classical mechanism of intracellular energy metabolism and self-renewal, autophagy can suppress or promote tumor development depending on the type and staging of tumor. The relationship between collectins and autophagy remains unknown. Hepatocellular carcinoma (HCC), the most common histological type of liver cancer, is a threatening malignancy due to its high recurrent and metastatic rate. Therefore, effective methods for the diagnosis and prognosis of HCC are of high importance. However, the biomarkers for HCC have long been unsatisfactory in fields of high-risk population screening, early diagnosis and therapeutic evaluation. Hence it is urgent for clinical investigators to identify and characterize novel biomarkers for HCC. By analyzing the TCGA sequencing data, we found that the transcription level of COLEC10 was significantly down-regulated in HCC. Further studies showed that the low expression of COLEC10 was obviously associated with poor prognosis in patients with HCC. Overexpression of COLEC10 not only inhibited the proliferation and metastasis of HCC cells but also suppressed the protein level of autophagy marker LC3-II. Whether autophagy functions to promote or suppress HCC has been controversial. It is interesting to explore how COLEC10 regulate autophagy and affect HCC. This topic aims to study: How COLEC10 regulate autophagy in HCC; How COLEC10-mediated autophagy influence the growth and metastasis of HCC. To conclude, this project will provide a scientific basis for establishing COLEC10 as a new prognostic marker and a potential clinical target in HCC.

关键词(用分号分开): C09_肝和肝内胆管肿瘤; 自噬; 胶凝素; 人肝脏胶原样凝集素1

Keywords(用分号分开): Liver hepatocellular carcinoma; autophagy; collectins; CL-L1



项目组主要成员

编号	姓名	出生年月	性别	职称	学位	单位名称	电话	证件号码	项目分工	每年工 作时间 (月)				
1	张宝珠	1989. 12	女	医师	博士	南方医科大学	0755-27788311	411082198912023028	项目负责人	10				
2	庞作良	1962. 06	男	教授	硕士	南方医科大学	0755-27788311	65010319620624061X	标本收集	9				
3	林晓辉	1975. 07	男	副主任医师	学士	南方医科大学	13924609636	440524197507047230	免疫组化染色及拍照	9				
4	缪文强	1985. 10	男	主治医师	硕士	南方医科大学	15012606909	360103198510134117	细胞功能学实验	8				
5	魏照光	1985. 09	男	主治医师	硕士	南方医科大学	13480662656	411081198509276010	动物实验	10				
6	郑婷婷	1987. 12	女	医师	博士	南方医科大学	18565531287	23020419871227142X	统计分析	10				
总人数			高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
6			2		2		2		0		0		0	



国家自然科学基金项目直接费用预算表（定额补助）

项目批准号：81802732

项目负责人：张宝珠

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	19.0000
2	1、设备费	1.8000
3	(1)设备购置费	1.80
4	(2)设备试制费	0.00
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.00
6	2、材料费	12.20
7	3、测试化验加工费	2.00
8	4、燃料动力费	0.00
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	0.00
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.00
11	7、劳务费	1.00
12	8、专家咨询费	0.00
13	9、其他支出	0.00



预算说明书（定额补助）

（请按《国家自然科学基金项目资金预算表编制说明》中的要求，对各项支出的主要用途和测算理由及合作研究外拨资金、单价 ≥ 10 万元的设备费等内容进行详细说明，可根据需要另加附页。）

直接费用：19.00万元

1. 设备费：1.80万元

小型离心机：1.80万元

在研究COLEC10调控的自噬对肝细胞癌生长及转移能力的影响过程中，涉及到一系列的细胞和动物实验，需要对细胞进行离心收集。因此计划添置一台小型离心机，品牌为Eppendorf，单价约1.80万元。

2. 材料费：12.20万元

（1）抗体：合计4.00万元

用于Western、IHC、IF的抗体。包括：COLEC10、p32、ULK1、Beclin-1、LC3-II、GAPDH、 β -actin及后续机制研究中分子通路抗体。每支抗体平均2500元/100ul $\times 16$ 支=4.00万元。

（2）细胞培养试剂：合计4.00万元

用于细胞复苏、传代、冻存等细胞实验。

1)胎牛血清：2500元/瓶 $\times 4$ 瓶/年 $\times 3$ 年=3.00万元

2)胰酶：400元/瓶 $\times 3$ 瓶/年 $\times 3$ 年=0.36万元

3)细胞培养基+DMSO：约0.64万元

（3）试剂盒：合计1.80万元

用于肝细胞癌RNA和蛋白的提取及细胞增殖等实验。包括：RNA提取试剂盒，全蛋白提取试剂盒，CCK8试剂盒，qPCR试剂盒，免疫组化试剂盒，逆转录试剂盒，BCA法蛋白含量检测试剂盒，ECL检测试剂盒。合计：每个试剂盒平均2000元 $\times 9$ 个=1.80万元。

（4）实验动物费：合计1.00万元

SPF级BALB/c裸鼠80只(8组，每组10只)，用于构建裸鼠体内成瘤模型及尾静脉-转移模型，观察对照组/COLEC10/COLEC10+自噬激活剂/COLEC10+自噬激活剂对裸鼠体内成瘤能力及尾静脉转移的影响。小鼠单价75元/只 $\times 80$ 只+饲养费2元/只/天 $\times 80$ 只 $\times 25$ 天=1.00万元。

（5）常用生化试剂：合计0.90万元

用于配置Western blot蛋白电泳液及其他常规生化试剂等。主要包括：丙烯酰胺，蛋白Marker，Tris，TBS，蛋白上样缓冲液，脱脂奶粉，TRizol，Loading buffer，结晶紫，二甲苯，无水乙醇，工业酒精，甲醇等。合计约0.90万元。

（6）常规耗材：合计0.50万元

用于常规分子克隆、表达纯化以及动物实验中使用的耗材。包括0.2ml PCR反应管，10ul/200ul/1000ul吸头，50ml/15ml/1.5ml/0.2ml离心管，乳胶手套，口罩，75cm/25cm细胞培养瓶，5ml/10ml移液管，封口膜，PVDF膜等。合计约0.50万元。

3. 测试化验加工费：合计2.00万元

（1）基因测序费：1000元/次 $\times 4$ 次=0.40万元

（2）基因芯片服务费：4000元/样本 $\times 4$ 个样本=1.60万元

4. 燃料动力费：0.00万元



5. 差旅费：0.00万元
6. 会议费：0.00万元
7. 国际合作与交流费：0.00万元
8. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费：合计2.00万元
用于SCI论文发表、书籍购买、文献检索、资料费等
1)学术论文发表费用：国际期刊约8000元/篇×2篇=1.60万元
2)文献印刷费、资料费：约0.40万元
9. 劳务费：合计1.00万元
用于临时聘用人员制作组织切片及HE染色。
1)肝癌组织切片40元/张×100张=0.40万元。
2)动物标本组织切片30元/张×80张=0.24万元。
3)HE染色45元/张×80张=0.36万元。
10. 专家咨询费：0.00万元
11. 其他支出：0.00万元

项目负责人签字：

科研部门公章：

财务部门公章：



报告正文

研究内容和研究目标按照申请书执行。



国家自然科学基金资助项目签批审核表

<p>我接受国家自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准意见和计划书负责实施本项目（批准号：81802732），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、财务等各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。</p> <p>项目负责人（签章）： 2018年9月11日</p>	<p>我单位同意承担上述国家自然科学基金项目，将保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守国家自然科学基金委员会有关资助项目管理、财务等各项规定，并督促实施。</p> <p> 依托单位（公章） 2018年9月20日</p>														
本栏目由基金委填写	<p>科学处审查意见：</p> <p></p> <p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p> <table border="1" data-bbox="199 969 1045 1093"><thead><tr><th>年度</th><th>总额</th><th>第一年</th><th>第二年</th><th>第三年</th><th>第四年</th><th>第五年</th></tr></thead><tbody><tr><td>金额</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></tbody></table> <p>负责人（签章）： 2018年11月25日</p>	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年	金额						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年								
金额															
<p>科学部审查意见：</p> <p></p> <p>负责人（签章）： 2018年11月25日</p>															
本栏目主要用于重大项目等	<p>相关局室审核意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>														
	<p>委领导审批意见：</p> <p>委领导（签章）： 年 月 日</p>														