

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

李长青 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：

81572208，项目名称：POTEB抑制Notch通路在软骨终板干细胞向髓核细胞分化中的作用机制研究，直接费用：57.00万元，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.nsf.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.nsf.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	81572208	项目负责人	李长青	申请代码1	H0609
项目名称	POTEB抑制Notch通路在软骨终板干细胞向髓核细胞分化中的作用机制研究				
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	中国人民解放军第三军医大学				
直接费用	57.00 万元	起止年月	2016年01月 至 2019年12月		
<p>通讯评审意见：</p> <p><1></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 本项目立足于髓核细胞外泌体含POTEB且POTEB高表达并可促进CESCs向软骨样表型分化这一现象，进一步探讨POTEB是否通过与NICD1竞争结合RBPJκ及CSL，抑制NOTCH通路下游Twist1的表达从而促进CESCs的分化。</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>1、预期在敲除POTEB的髓核细胞将对CESCs诱导分化的能力降低，POTEB过表达后，NOTCH通路下游Twist1的表达及启动子活性收到抑制并且NICD1-CSL-RBPJκ复合体含量减少，并促进了CESCs向软骨样表型分化。对该过程的深入研究有助于阐明CESCs向髓核细胞分化过程中的关键步骤，有一定科学意义。</p> <p>2、立项依据中提到透射电镜发现髓核外泌体囊泡，质谱分析发现POTEB的表达，抑制POTEB表达后CESCs的分化能力明显降低，以及在CESCs中高表达POTEB后下游Twist1被抑制的这些论点在前期工作基础中均未见数据支持，也未见文献支持。。。。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性</p> <p>1、本项目提出髓核细胞通过其外泌体中POTEB分子可对CESCs向髓核样细胞分化产生调节，且调节机制依赖于POTEB对CESCs中NOTCH通路下游Twist1的抑制作用来完成，但从立项依据中可以看出，Twist1主要参加干细胞向软骨细胞分化过程，而软骨细胞虽与髓核细胞部分表型类似，但还是存在一定差别，如需说明Twist1参与CESCs向髓核样细胞分化的过程，需进一步在立项依据及研究内容部分予以充实。</p> <p>2、本项目组试图明确POTEB是否参与了CESCs向髓核样细胞分化的过程，之前尚未有学者提出，具有一定创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>1、需证明Twist1在CESCs向髓核样细胞分化过程中的作用，应进行相应的敲除实验，需证明髓核细胞分泌POTEB进入CESCs的细胞核，则不仅需要髓核细胞POTEB进行亚细胞结构定位，还需在CESCs中进行相应定位。</p> <p>2、研究内容（5）中为验证在CESCs中POTEB是否可调控Twist1的表达，其通过在CESCs中过表达及干扰POTEB的表达来实验干预，但又提到要进行与髓核细胞的非接触性共培养，髓核细胞本身会分泌POTEB，这种外源性的POTEB是否会干扰相应实验结果，需进一步阐明。</p> <p>3、研究内容（6）中提到使用ChIP法检测POTEB是否可与CSL及RBPJκ相结合并检测启动子活性，ChIP法仅能检测蛋白对靶基因的相互结合，研究蛋白互相作用应使用Co-IP等方法，而检测启动子活性则应使用双荧光素酶报告基因检测系统进行检测。</p> <p>4、研究内容（8）中提到要建立动物模型，而在研究方案中未见任何有关建立动物模型描述。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件</p> <p>申请人的研究能力较好，细胞模型已经制备，已经具备该项目完成需要的各项条件。</p>					

(五) 其它意见或修改建议

- 1、立项依据中提到髓核细胞特异性标志物为II型胶原、蛋白聚糖及SOX-9，而软骨细胞也可表达这些分子，这些分子仅能作为软骨样细胞的特异性表型分子，而不能作为髓核细胞的标记。
- 2、进一步完善体内实验部分。

<2>

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

申请者研究发现NPC通过外分泌POTEB促进诱导CESCs向NPC分化，POTEB与NICD结构域相似，推测POTEB通过抑制Notch通路，发挥NPC诱导分化作用。

二、具体意见

(一) 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

预期阐明POTEB是否通过Notch通路调控来促进DCESCs细胞向髓核细胞分化，明确软骨终板干细胞定向分化的调节分子，为髓核组织工程提供基础理论。

(二) 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

本课题前期研究证实NPC与DCESCs共培养，可通过外分泌POTEB分子来促进DCESCs向NPC分化，POTEB与NICD蛋白序列相似性高，拟验证POTEB通过抑制Notch通路中Twist1来调节其软骨分化趋势，具有较好的创新性和研究价值，研究结果利于深化认识椎间盘退行性变化的分子机制。但NICD1与POTEB蛋白序列相似性的前期研究结果未提供，仅提供Twist1启动子区有POTEB结合位点研究结果。

(三) 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

研究内容、方案、技术路线逻辑性较好，可行性强，可以验证其提出的问题和假说。

(四) 申请人的研究能力和研究条件

具有一定的前期研究积累，并发表相关文章，具备完成项目的条件。

(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

本项目根据髓核细胞外分泌体中包含POTEB，且抑制POTEB表达的NPC诱导CESCs分化为NPC的能力明显降低的前期观察，提出POTEB在CESCs向NPC定向分化中具有重要的作用、且其作用是通过参与Notch通路实现的假说，并提出采用荧光素酶报告基因、染色质免疫沉淀等技术分析和验证其假说。

二、具体意见

(一) 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

本提案所提出的研究工作，旨在推进椎间盘细胞功能活性相互影响相互调控的分子基础，尤其是研究外分泌体重要成分的生物学作用，具有较大的科学价值。

(二) 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

本提案所提出的研究工作，科学问题较清楚，具有较大的创新意义。

(三) 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

提案所提出的研究内容和技术方法，基本围绕其科学假说和科学问题，具有一定的逻辑性，可期促进达到本项目的科学目标。

(四) 申请人的研究能力和研究条件

本课题的申报人具有一定的相关研究经历和背景，在相关领域发表过前期论文。

(五) 其它意见或修改建议

对研究方案的修改意见：

医学科学部

2015年8月17日