



项目批准号	82070610
申请代码	H0316
归口管理部门	
依托单位代码	31003608A0364-0705



820706101002943

# 国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：面上项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：Anti-HBs-CD3-BiTE构建的优化及其启动抗HBV特异性T细胞免疫研究

直接费用：55万元 执行年限：2021.01-2024.12

负责人：潘孝本

通讯地址：杭州市余杭区仓前街道余杭塘路2318号

邮政编码：311121 电话：0571-28869610

电子邮件：panxiaoben@hznu.edu.cn

依托单位：杭州师范大学

联系人：徐虹 电话：0571-28865132

填表日期：2020年09月30日

国家自然科学基金委员会制

Version: 1.002.943



扫描全能王 创建



## 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

项目负责人信息	姓 名	潘孝本	性 别	男	出生年月	1975年04月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	研究员		
	是否在站博士后	否			电子邮件	panxiaoben@hznu.edu.cn		
	电 话	0571-28869610			个人网页			
	工 作 单 位	杭州师范大学						
	所 在 院 系 所	医学院						
依托单位信息	名 称	杭州师范大学					代码	31003608A0364
	联 系 人	徐虹			电子邮件	xh@hznu.edu.cn		
	电 话	0571-28865132			网站地址	www.hznu.edu.cn		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	Anti-HBs-CD3-BiTE构建的优化及其启动抗HBV特异性T细胞免疫研究						
	资 助 类 别	面上项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H0316: 炎性及感染性肝病				H3007: 药物设计与药物信息		
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2021.01-2024.12						
	直 接 费 用	55万元						







## 项目摘要

## 中文摘要:

HBV特异性T细胞免疫耗竭是乙肝慢性化的关键环节和实现功能性治愈的主要障碍。本项目拟设计靶向HBsAg和T细胞CD3 $\epsilon$ 分子的双特异性T细胞衔接子(BiTE)以充分启动靶向HBV感染肝细胞的T细胞免疫。基于既往前期工作基础,拟进行4种BiTE的结构设计和优化:包括经典BiTE,基于肽核酸(PNA)组装的PNA-BiTE、基于生物素-链霉亲和素组装的BS-BiTE,及纳米BiTE的设计。拟通过基因表达或多肽合成生产相应BiTE,以支持HBV稳定复制的HepAD38细胞系/HBV感染HepG2-hNTCP细胞和T细胞共培养为细胞模型,以人源化CD3分子的C57BL/6J-CD3eem1(hCD3E)Smoc转基因小鼠注射AAV-HBV1.3为慢性HBV复制动物模型,评价和优化BiTE的功能和设计。本项目为解决HBV特异性免疫细胞耗竭,实现慢乙肝功能性治愈提供研究基础,并拓展BiTE的设计策略。

## Abstract:

HBV-specific T cell immune exhaustion is a key mechanism of chronic hepatitis B and a major obstacle to achieve the functional cure. This project intends to design a bispecific T cell engager (BiTE) that targets HBsAg and T cell CD3 $\epsilon$  molecules to initiate T cell immunity targeting HBV-infected liver cells. Based on our previous work, we will conduct the structure design and optimization for 4 types of BiTE including: classic BiTE, PNA-BiTE based on peptide nucleic acid (PNA) assembly, BS-BiTE based on biotin-streptavidin assembly, and nanobody BiTE. We will produce the BiTEs through gene expression or peptide synthesis. Co-cultures of HepAD38 cell line supporting the stable HBV replication/ HepG2-hNTCP cell line supporting HBV infection, and T cells are used as the cell culture models. C57BL/6J-CD3eem1(hCD3E)Smoc mice with PAAV-HBV1.3 injection are used as HBV replication animal models to evaluate and optimize the function and design of BiTE. This project will provide research basis for treatment of HBV-specific immune exhaustion and achieving functional cure of chronic hepatitis B, and will expand the design strategy of BiTE.

**关键词(用分号分开):** 乙型肝炎; 功能性治愈; 免疫耗竭; 双特异性T细胞衔接子

**Keywords(用分号分开):** Hepatitis B; Functional Cure; Immune Exhaustion; Bispecific T cell Engager



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			男	研究员	博士	杭州师范大学			项目负责人	10
2			女	教授	博士	杭州师范大学			生化分析	4
3			女	助理研究员	博士	杭州师范大学			分子生物学实验	10
4			女	实验师	硕士	杭州师范大学			蛋白纯化	6
5			男	硕士生	学士	杭州师范大学			动物实验	10
6			女	硕士生	学士	杭州师范大学			细胞实验	10
总人数		高级		中级		初级	博士后	博士生	硕士生	
6		2		1		1			2	





## 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：82070610

项目负责人：潘孝本

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	55.0000
2	1、设备费	2.0000
3	(1)设备购置费	2.0000
4	(2)设备试制费	0.00
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	25.0000
7	3、测试化验加工费	11.0000
8	4、燃料动力费	0.00
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	6.0000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.0000
11	7、劳务费	8.0000
12	8、专家咨询费	1.0000
13	9、其他支出	0.0000





## 预算说明书（定额补助）

（请按照《国家自然科学基金项目预算表编制说明》的有关要求，对各项支出的主要用途和测算理由，以及合作研究外拨资金、单价 $\geq 10$ 万元的设备费等内容进行必要说明。）

## 一、直接费用：55万元

- 1、设备费：2.0万元：主要用于常规易损耗设备的维护和更替，如上样枪，电子枪，摇床，离心机，真空泵，恒温仪及冰箱等，用于维持实验室和课题组的正常运行所需。
- 2、材料费：25万元：用于试剂，耗材和实验动物的购买
  - 2.1 免疫学相关试剂：共计3万元  
购买HBV相关抗体、CD3、CD19及二抗，以及其它免疫学检测相关抗体共计2万元，ELISPOT检测试剂盒1万元。
  - 2.2 实验动物：据分组要求共购买人源化CD3转基因C57BL/6小鼠，及饲养费共计2万元
  - 2.3 细胞生物学试剂及耗材：共计11.4万元，包括：  
细胞培养基200元/500ml $\times 50$ 瓶=1.0万元，  
胎牛血清(Gibco) 6000/500mL $\times 10$ 瓶=6.0万元。  
培养皿计3.2万元：10cm细胞培养皿8元/个 $\times 1000=0.8$ 万元；6孔板12元/个 $\times 500=0.6$ 万元；  
12孔板12元/个 $\times 500=0.6$ 万元；24孔板12元/个 $\times 500=0.6$ 万元。48孔板12元/个 $\times 500=0.6$ 万元。  
吸管计1.2万元：50ml、25ml、10ml及2ml吸管1.5元/支各需2000支。4种 $\times 1.5 \times 2000$ 支=1.2万元。
  - 2.4 分子生物学试剂：7.0万元。  
质粒提取小提和中提试剂盒0.75万元/盒（Qiagen），共需6盒，计4.5万元。HBV杂交探针试剂盒试剂盒（Roche），每盒0.75万元，需2盒约1.5万元，PCR扩增试剂盒1万元。
  - 2.5 生化试剂及其它：1.6 万元，用于购买分子生物学用生化试剂，及细胞培养用高纯CO<sub>2</sub>、液氮等
- 3、测试/化验加工费：11万元。主要用于多肽和引物合成，测序，以及外送的共聚焦显微镜分析。  
共聚焦荧光显微镜分析500元/小时 $\times 20$ 小时=1万元。  
基因合成和构建质粒的测序鉴定，共需构建20个左右质粒，每个质粒构建平均需挑5个克隆鉴定，引物合成和测序约200元/样本 $\times 100$ 样本=2.0万元。  
合成PNA或生物素化长肽8条，每条约1.0万元，共计8万元。
- 4、燃料动力费：0万元。
- 5、差旅/会议/国际交流费：6.0万元。参加约共5人次国内学术会议或培训的交通住宿及注册费，每次约3000元 $\times 5$ 人次=1.5万元。国际交流费用于项目组成员参加2人次国际学术交流活动所需的交通、住宿、注册费，每人往返机票约1万元，注册费及食宿费用约1万元，报销按照国家相关标准及规定。  
其它课题实施相关交通费约0.5万元。
- 8、出版物/文献/信息传播费：2.0万元。主要用于书籍购买、论文发表版面费，专利申请费及文献查新费等。
- 9、劳务费：8万元，用于培养3名硕士/博士研究生参加项目研究的研究生劳务费，共计4年，每年12个月，按规定标准发放。
- 10、专家咨询费：1万元，用于课题项目实施相关专家学术咨询及交流费用，按800元每人每次，共计25人次。
- 11、其它： 0万元。







## 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：82070610），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、项目资金管理等各项规定，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>依托单位科研管理部门：</p>						
	<p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
<p>项目负责人（签章）： 年 月 日</p>	<p>依托单位财务管理部门：</p>						
	<p>负责人（签章）： 年 月 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、项目资金管理等各项规定，并督促实施。</p>							
<p>依托单位（公章） 年 月 日</p>							
本栏目由基金委填写	<p>科学处审查意见：</p>						
	<p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p>						
	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>负责人（签章）： 年 月 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>						

