



编号:20210101433JC

吉林省科技发展规划项目任务书

计划类别: 吉林省自然科学基金
项目类别: 自然科学基金(学科布局项目)
支持重点: 医学
管理处室: 基础研究处

项目名称: PTBP1对胃癌细胞5氟尿嘧啶化疗抵抗的影响及作用机制
承担单位(盖章): 吉林大学
项目负责人: 陈学博
联系电话: 15526891100
电子邮箱: chenxuebo1981@126.com
组织部门(盖章): 吉林省科学技术厅

吉林省科学技术厅
二〇一九年制

依据《吉林省科技发展规划项目管理办法》，吉林省科学技术厅委托 吉林大学 承担吉林省科技发展规划中的 PTBP1对胃癌细胞5氟尿嘧啶化疗抵抗的影响及作用机制 项目的科研任务。各方就本项目的实施与管理中的权利和义务签订如下任务书。

一、省科技厅为项目承担单位提供部分研究经费，并依据相关项目管理办法进行管理；项目承担单位和参加单位按本任务书约定的内容和目标开展工作。

二、任务分配

吉林大学在本项目实施过程中承担的任务为项目组织实施的全部任务

三、经费分配

本项目由省科技计划经费拨款（含省自然科学基金联合基金）10.0万元，项目承担单位和参加单位按照任务分工，约定经费分配如下：

吉林大学经费为10.0 万元。

四、知识产权归属约定

本项目取得的知识产权归吉林大学所（共）有。

一、基础信息表

项目名称	PTBP1对胃癌细胞5氟尿嘧啶化疗抵抗的影响及作用机制					
项目所属学科	临床医学					
项目所属专业	外科学					
申报单位	名称	吉林大学				
	通讯地址	吉林长春市二道区仙台大街126号				
	联系人	王艺博			联系电话	13844197925
	单位类别	☐ 企业 ☐ 科研院所 ☒ 高等院校 ☐ 中介机构 ☐ 其它				
		☒ 事业单位 ☐ 非事业单位				
隶属	☒ 中直 ☐ 省直 ☐ 市县					
项目负责人	姓名	陈学博	性别	男	出生年月	1981-11-06
	证件类型	身份证	证件号码	220105198111060431		
	学历	博士研究生	学位	博士	职称	副高级
	邮箱	chenxuebo1981@126.com				
	工作单位	吉林大学				
	办公电话	0431-84996781			手机	15526891100
	项目组日常联系人	高素洁			项目组日常联系人电话	13500805642

二、研究内容

(一) 项目的研究内容、研究目标

本项目立足于吉林大学中日联谊医院丰富的进展期胃癌资源，根据患者疾病进展和对药物的敏感性，比较分析5-Fu耐药患者肿瘤组织中重要调控因子的表达，功能及分子机制。进一步在细胞水平和癌组织水平分析筛选出的重要蛋白及细胞代谢通路对肿瘤药物敏感性的影响，并探索其上下游调控机制。

1. 收集进展期胃癌组织，5-Fu耐药患者肿瘤组织及匹配的胃组织，比较其PTBP1蛋白和mRNA水平的表达，进一步确认PTBP1在胃癌及耐药肿瘤中的功能。收集肿瘤进展迅速、多药耐药患者肿瘤组织，通过测序比较分析这些患者组织与进展缓慢或药物高度敏感及正常组织的差异表达，并挑选出耐药相关的基因，作为肿瘤干细胞标志分子待选。

2. 建立5-Fu耐药胃癌细胞株，鉴定由PTBP1介导的胃癌细胞糖酵解途径与5-Fu耐药特性的相关性。通过药物筛除方法建立AGS 5-Fu耐药细胞株并用MTT方法鉴定耐药效果。在5-Fu耐药细胞和原代细胞中比较PTBP1的蛋白表达，细胞外乳酸分泌（ECAR）以及葡萄糖摄取。在5-Fu耐药细胞中基因沉默PTBP1来检测细胞对5-Fu的敏感度。

3. 探索PTBP1上下游调控分子机制及胃癌治疗靶点。生物信息学分析作用于PTBP1 3' UTR的非编码RNA（microRNA）以及有可能与其形成竞争性内源RNA的长链非编码RNA。通过WB，qPCR，荧光素酶活性实验验证lncRNA-SNHG16-miR-506-3p，以及miR-506-3p-PTBP1 3' UTR在胃癌细胞中的相互作用，确定PTBP1是miR-506-3p的靶基因。通过慢病毒shRNA方法敲除PTBP1基因，并做下游mRNA差异表达通量分析（RNA-Seq）。

4. 分析及验证RNA-Seq结果中PTBP1对糖酵解通路关键酶表达水平调控，进一步确认PTBP1对胃癌细胞糖酵解通路的调控作用和分子机制。

5. 建立裸鼠荷瘤模型，在化疗方案的基础上引入PTBP1基因沉默治疗，检测联合治疗的有效性。在体外培养体系中进行PTBP1基因沉默（shRNA），对裸鼠进行皮下注射直至肿瘤形成，采用对肿瘤注射5-Fu方法进行裸鼠化疗方案。并对比空白基因对照及空白药物治疗组检测小鼠存活率，肿瘤生长大小，肿瘤组织PTBP1, lncRNA-SNHG16, miR-

506-3p 以及糖酵解通路酶表达来验证体外试验所得结果。

（二）项目拟解决的关键科学问题

1. PTBP1在进展期胃癌组织及5-Fu耐药胃癌患者中的表达及功能鉴定。
2. 通过建立5-Fu耐药胃癌细胞株(AGS 5-Fu Res),评估5-Fu耐药胃癌细胞中的PTBP1表达及糖酵解通路活性的相互关系。
3. 通过高通量实验，探索受PTBP1调控的下游基因mRNA表达(RNA-Seq)及相关通路的生物信息学分析。
4. 鉴定PTBP1上游调控分子（非编码RNAs）并探索其对5-Fu耐药胃癌细胞中PTBP1表达及功能的调节机制。
5. 根据RNA-Seq 分析结果，通过qRT-PCR及葡萄糖摄取，细胞外乳酸分泌等实验验证PTBP1对糖酵解通路调控。
6. 建立裸鼠荷瘤模型，针对5-Fu耐药胃癌细胞的PTBP1显著上调表达和糖酵解特性特异，在化疗方案的基础上引入PTBP1基因沉默治疗，检测联合治疗的有效性。

三、考核指标

（一）核心指标（是指与研究内容相关，能够科学反映研究水平、可定量考核的指标。立项后原则上不能更改，请根据实际情况谨慎填写）

序号	指标类别	指标内容	具体指标及指标值		
1	新技术、新工艺、新材料、新产品、新装备	☐ 新技术、 ☐ 新工艺、 ☐ 新材料、 ☐ 新产品、 ☐ 新装备			
序号	指标类别	指标内容	具体指标内容	指标值	单位
2	新理论、新方法	(1) 研究报告	形成研究报告	1	份
3	新成果	(1) 论文	发表SCI（EI）收录论文	1	篇
			发表核心期刊收录论文	0	篇
			发表其它论文	0	篇

（二）辅助指标（对项目验收具有辅助参考作用，是项目验收的参考依据，项目组可根据实际情况自主选择、确定）

序号	指标类别	指标内容	具体指标内容	指标值	单位
1	新成果	(1) 专利	申请发明专利	0	件
			获得发明专利	0	件
			申请实用新型专利	0	件
			获得实用新型专利	0	件
		(2) 软件著作权	获得软件著作权	0	项
		(3) 专著	出版专著	0	部
2	人才培养	(1) 硕士研究生	培养硕士研究生	1	名
		(2) 博士研究生	培养博士研究生	1	名
3	其它				

（三）其他指标

提交科技报告1份。

吉林省科技
发展计划项目
任务书

四、项目经费

单位：万元

(一) 经费来源预算		(二) 经费支出预算			
科目	预算数	科目	科目类别	总支出	其中省科技发展计划经费支出
来源预算合计	10.0	支出预算合计	/	10.0	10.0
一、省科技发展计划拨款 (含省自然科学基金联合基金)	10.0	(一) 直接费用	/	8.4	8.4
二、单位自筹	0.0	1、设备费	A	0.0	0.0
三、其它来源	0.0	(1) 购置设备费用		0.0	0.0
		(2) 设备升级改造费用		0.0	0.0
		(3) 设备租赁费		0.0	0.0
		2、材料费	B	4.0	4.0
		3、测试化验加工费		0.0	0.0
		4、燃料动力费		1.0	1.0
		5、出版/文献/信息传播/知识产权事务费		1.4	1.4
		6、劳务费	C	2.0	2.0
		7、专家咨询费		0.0	0.0
		8、会议/差旅/国际合作与交流费		0.0	0.0
		9、其它支出		0.0	0.0
		(二) 间接费用	/	1.6	1.6
(三) 省科技发展计划经费拨款计划 (含省自然科学基金联合基金)					
承担单位		总额 (万元)	2021年 (万元)	2022年及以后年度 (万元)	
吉林大学		10.0	10.0	0.0	

备注：1、本预算表由项目组依据《吉林省省级科技创新专项资金管理办法》（吉财教〔2017〕493号）和中共吉林省委办公厅、吉林省人民政府办公厅印发的《关于进一步完善省财政科研项目资金管理等政策的若干实施意见》（吉办发〔2017〕3号）、《关于抓好赋予科研机构 and 人员更大自主权有关文件贯彻落实工作的实施方案》（吉科政发〔2019〕169号），根据实际测算，如实填写。

2、本预算执行过程中，A类科目中的设备费预算总额调减、设备费内部预算结构调整、拟购置设备的明细发生变化，承担单位有调剂权；B、C两类科目之间的预算调剂由承担单位履行内部审批程序；B类科目、C类科目在本科目预算额度内的调剂，承担单位可审批或授权项目负责人自行调剂使用。

3、C类科目中的“会议/差旅/国际合作与交流费”预算不超过直接费用10%的，无需提供预算测算依据；超过10%的，须在申报时按照会议、差旅、国际合作交流分类提供必要的测算依据。

4、间接费用无需编制预算说明。

五、其它参加单位及项目团队组成

[illegible]

六、计划进度

年、月	计划完成的工作及目标	
2021 年 07 月 至 2022 年 06 月	工作计划	阶段目标
	(1) 比较PTBP1在胃癌及其癌旁正常组织表达；比较PTBP1在5-Fu耐药胃癌组织及正常胃癌组织表达；比较PTBP1在正常胃上皮细胞及胃癌细胞株中表达。 (2) 筛选出5-Fu耐药胃癌细胞株，比较PTBP1在5-Fu耐药胃癌细胞及其原代（parental）胃癌细胞表达；检测耐药胃癌细胞及其原代（parental）胃癌细胞中糖酵解通路活性。	PTBP1在进展期胃癌组织及5-Fu耐药胃癌患者中的表达及功能鉴定。通过建立5-Fu耐药胃癌细胞株(AGS 5-Fu Res),评估5-Fu耐药胃癌细胞中的PTBP1表达及糖酵解通路活性的相互关系。
2022 年 07 月 至 2023 年 06 月	工作计划	阶段目标
	(3) 检测耐药胃癌细胞及其原代（parental）胃癌细胞中lncRNA-SNHG16表达；通过基因沉默(siSNHG16)探索SNHG16在胃癌细胞5-Fu治疗中的功能，以及与PTBP1表达的相关性。 (4) 通过WB, qPCR,荧光素酶活性实验验证lncRNA-SNHG16-miR-506-3p, 以及miR-506-3p-PTBP1 3' UTR在胃癌细胞中的相互作用，确定PTBP1是miR-506-3p的靶基因。 (5) 利用慢病毒（shPTBP1）对PTBP1基因表达沉默，提取RNA，进行RNA-Seq实验，分析PTBP1下游调控mRNA。	鉴定PTBP1上游调控分子（非编码RNAs）并探索其对5-Fu耐药胃癌细胞中PTBP1表达及功能的调节机制。通过高通量实验，探索受PTBP1调控的下游基因mRNA表达(RNA-Seq)及相关通路的生物信息学分析。根据RNA-Seq 分析结果，通过qRT-PCR及葡萄糖摄取，细胞外乳酸分泌等实验验证PTBP1对糖酵解通路调控。
2023 年 07 月 至 2024 年 06 月	工作计划	阶段目标
	(6) 筛选受PTBP1调控的糖酵解通路酶，并进行qRT-PCR验证。 (7) 验证5-Fu耐药是否通过SNHG16-miR-506-3p-PTBP1通路。 (8) 5-Fu耐药细胞进行PTBP1基因沉默后，经皮下注射裸鼠，待小鼠成瘤后进行5-Fu治疗，并对比空白基因对照及空白药物治疗组检测小鼠存活率，肿瘤生长大小。	建立裸鼠荷瘤模型，针对5-Fu耐药胃癌细胞的PTBP1显著上调表达和糖酵解特性特异，在化疗方案的基础上引入PTBP1基因沉默治疗，检测联合治疗的有效性。

七、项目负责人承诺及签章

本人承诺：

在项目执行、经费使用过程中，不弄虚作假，做到诚实守信、勤勉尽责。

签字：
年 月 日

八、承担单位承诺及签章

承担单位承诺：

我单位承诺认真贯彻落实国家及省科技创新相关政策，为项目执行提供必要的支撑条件，督促项目组按时完成项目任务，按相关资金管理办法使用经费。

财务负责人（盖章）：

账 户 名：吉林大学

账 号：160402501175

开户银行：中国银行长春前进大街支行

（单位公章）
年 月 日

九、参加单位承诺及签章

参加单位承诺：

我单位同意参与本项目研究，并承诺履行参加单位义务。

单位 1 盖章
年 月 日

单位 2 盖章
年 月 日

单位 3 盖章
年 月 日

单位 4 盖章
年 月 日

单位 5 盖章
年 月 日

十、项目任务下达单位签章

业务处室项目管理人员（盖章）：

业务处室主要负责人（盖章）：

分管厅长（盖章）：

厅长（签章）：

（公 章）
年 月 日

吉林省科技发展计划项目任务书

十一、应履行职责

项目负责人、项目承担单位及推荐单位应遵守吉林省科技发展计划项目及经费的相关管理办法，履行以下职责：

1.项目负责人及项目承担单位每年应按照任务书规定的进度安排，在“吉林省科技发展计划项目管理信息系统”上填报项目的进度、进展（完成、未完成、取得重大突破）和项目经费（计划拨款、单位自筹）到位与支出情况，对未完成计划进度或取得重大突破的项目填报简要文字说明。逾期不报，省科技厅有权暂停拨款或根据相关项目管理办法做出处理。

2.任务执行过程中，如需调整项目主持单位和项目参与单位间的分配经费、项目负责人、项目延期，应根据有关规定，向省科技厅提交申请，经审核同意后执行；项目预算调整、研究方案和技术路线调整、除项目负责人外的项目组人员调整，由项目承担单位、项目组按照《关于抓好赋予科研机构 and 人员更大自主权有关文件贯彻落实工作的实施方案》（吉科发政〔2019〕169号）相关规定自行调整。

3.任务执行过程中，出现影响项目执行的重大问题，项目负责人及项目承担单位需按有关管理办法要求，执行重大事项报告制度，及时在“吉林省科技发展计划项目管理信息系统”上填报《吉林省科技发展计划项目重大问题报告书》。

4.项目负责人、项目承担单位及项目推荐单位应配合省科技厅开展项目“双随机一公开”检查等工作。

5.项目承担单位承担任务所得的科技发展计划经费，需按照相关资金管理办法管理和使用。

6.需提交科技报告的项目，应在申请项目验收前形成科技报告并在科技报告系统上提交。

7.项目执行期满后，项目负责人及项目承担单位应及时向省科技厅提出验收申请，由省科技厅按照有关规定组织验收。

8.项目承担单位在该项目研究中发表的有关论文、出版的著作及成果转让文件材料等须注明“吉林省科技发展计划资助项目”。

9.项目及资金管理办法中规定的其它职责。