

项目编号: 21JR1RA267

项目类别: 自然科学基金



甘肃省科技计划项目任务书 (创新基地和人才计划)

(2021年度)

项目名称: 电针对大鼠继发性脊髓损伤Nrf2信号通路的影响及机制研究

项目负责人: 王薇

主管处室: 基础研究处(科技人才处)

组织部门: (甲方) 甘肃省科学技术厅

承担单位: (乙方) 甘肃中医药大学 (盖章)

推荐单位: (丙方) 甘肃中医药大学 (盖章)

起止年限: 2021年05月01日至 2023年04月30日

(乙方丙方为同一单位的, 只在承担单位一栏盖章)

甘肃省科学技术厅 制

一、项目基本信息表

项目承担单位	甘肃中医药大学									
组织机构代码/统一社会信用代码	12620000438003054M									
单位通讯地址	甘肃省兰州市城关区定西东路35号					邮编	730000			
单位性质	全额事业单位（如高等院校等）									
推荐部门	甘肃中医药大学									
其他主要参加单位	序号	单位名称				组织机构代码/统一社会信用代码				
参加单位总数（个）	0									
项目负责人	姓名	王薇				性别	女			
	学位	硕士				专业	针灸推拿学			
	职称	副教授				职务	针灸临床教研室教师			
	联系电话	[REDACTED]				手机	[REDACTED]			
	证件类型	身份证				证件号码	[REDACTED]			
	年龄	43				政治面貌	中共党员			
	传真	[REDACTED]				E-mail	[REDACTED]			
	所在单位	甘肃中医药大学								
参加项目总人数（人）	6	其中	高级	3	中级	1	初级	0	其他	2
			博士	1	硕士	5	学士	0	其他	0
所属技术领域	生物、医药									
创新类型	☐ 原始创新 ☐ 集成创新 ☒ 引进消化吸收再创新									
项目概要	Nrf2信号通路是生物体适应性保护反应的核心转录因子，存在于全身多个组织器官，它的缺失或激活障碍直接引起细胞对应激源的敏感变化。以Nrf2介导的解毒、抗氧化、抗炎通路的研究为神经系统疾病的防治提供了新思路。实验拟通过建立“电针刺激能引起脊髓损伤后相关酶表达而干预Nrf2信号通路，从而促进脊髓损伤修复”假说，探讨电针刺激治疗脊髓损伤的分子蛋白机制及对Nrf2通路的靶点作用机制，为临床应用针刺治疗脊髓损伤提供微观理论支持。									
项目完成考核指标简述	(1) 电针不同频率对大鼠继发性脊髓损伤keap1-Nrf2-ARE信号通路的实验研究。 (2) 电针不同频率对大鼠继发性脊髓损伤氧化应激反应的机制。 (3) 发表核心期刊论文2-3篇。 (4) 电针不同频率对大鼠继发性脊髓损伤Nrf2信号通路技术报告。 (5) 培养1名硕士研究生。									
课题设置（无课题设置的项目无需填写）	无									
预期成果	☐ 专利 ☐ 技术标准 ☐ 新产品（或农业新品种） ☐ 新工艺 ☐ 新装置 ☐ 新材料 ☐ 计算机软件 ☒ 论文 ☒ 论著 研究报告 ☐ 科普 ☐ 其他									

成果转移转化的方式目标	☒ 自我转化 ☐ 向他人转让 ☐ 许可他人使用 ☐ 合作转让 ☐ 作价投资 ☐ 其他					
科技报告	本项目共提交科技报告1份。					
预期知识产权	国外发明专利(项)	0	国内发明专利(项)	0	其他(项)	0
预期技术标准制定	☐ 国际标准 ☐ 国家标准 ☐ 行业标准 ☐ 企业标准 ☒ 无标准制定					
高校院所、企业等创新主体计划开发科研助理岗位(个)	0		计划吸纳的应届毕业生(人)	0		

二、目标与任务

(①立项意义; ②研究目标; ③课题研究内容及任务分解; ④要解决的主要技术难点和问题; ⑤技术方案; ⑥创新点等。)

1 立项意义

脊髓损伤(SCI)是一种严重的神经系统创伤且常导致终身残, 损伤机制包括炎症反应、自由基形成、细胞凋亡等过程, 临床中电针在防治这一病理过程中优势明显。Keap1-Nrf2-ARE信号通路调控机制主要体现在Nrf2的激活分离、向核内转移聚集。本实验拟通过建立“电针能引起脊髓损伤后相关酶表达而干预Keap1-Nrf2-ARE信号通路, 从而促进脊髓损伤修复”假说, 不同频率电针刺激百会、足三里在治疗脊髓损伤后的治疗修复作用动物实验机制, 初步探索电针对Nrf2影响机制, 以期对脊髓损伤的针灸临床治疗提供微观层面的实验支持。

2 研究目标

- 2.1 成功复制SCI动物模型;
- 2.2 成功设定电针低、中、高频率刺激量分别为2Hz、50Hz、100Hz, 足三里、百会准确定位。
- 2.3 进一步明确电针不同刺激频率对Nrf2信号通路的作用机制;
- 2.4 为电针治疗外伤性脊髓损伤修复进一步研究奠定实验基础。

3 研究内容

- 3.1 电针低、中、高频率刺激量分别为2Hz、50Hz、100Hz, 刺激穴位选择足三里、百会。
- 3.2 应用Keane等的NYU冲击仪法制作标准动物模型。
- 3.3 电针低、中、高频率刺激量的作用效应对比分析。
- 3.4 不同电针刺激频率对Keap1-Nrf2-ARE通路的影响机制。蛋白免疫印迹法观察Nrf2、HO-1、NQO1、TNF- α 、IL-1 β 、GCLC、IKB α 等相关表达; 免疫荧光双重染色激光共聚焦观察脊髓细胞内蛋白表达。组织病理学评价, 据炎症细胞浸润、神经元固缩、出血等标准分别确定白质和灰质的损伤面积。

3.5 任务分解

王薇 项目负责人; 雒成林 文献与理论支持实施, 组织病理学鉴定; 王银平 免疫荧光双重染色激光共聚焦实验及数据统计分析; 王慧 蛋白免疫印迹检测数据统计分析; 王凯 动物饲养, 协助实验与数据统计处理; 范凯 动物饲养, 造模与实验数据整理。

4 拟解决的关键问题

- 4.1 SCI是临床常见病, 损害恢复不理想。电针作为治疗机损伤的有效方法, 从微观蛋白基因层面探索其对SCI损伤修复机制是本研究的核心问题;
- 4.2 电针对Nrf2通路的靶点作用机制也是该研究的核心问题。

5 技术方案:

5.1 材料与方法

5.1.1 实验动物

甘肃中医药大学科研试验中心动物中心提供的健康SD大鼠60只, 体重 200 ± 20 g, 雌雄不限, 随机分为5组, 每组12只。其中1组为正常对照组, 另外4组为SCI组(含3组模型组, 1组为模型对照组)。在造膜成功后, 每组取3只大鼠麻醉后处死, 取脊髓组织检测。治疗第14天, 处死所有实验动物, 分组取脊髓组织检测并进行指标检测。整个实验过程中对动物的各种处理均遵照中华人民共和国科技部2006年颁布的有关实验动物的使用及伦理学规定。

5.1.2 动物穴位选择

参照《实验针灸学》、《中国兽医针灸图谱》、《实验大鼠常用经穴检测与定位》定位, “百会”位于顶骨正中, 平刺2-3mm。“足三里”位于后肢前外侧, 犊鼻(屈膝, 髌骨下外侧凹陷中, 即腓骨小头前上方凹陷处)下约6mm, 胫骨前缘旁开约2mm, 直刺7mm。

5.1.3 动物模型的标准

应用Keane等的NYU冲击仪法制作标准动物模型。术后, 给予5ml生理盐水肌注补充术中血液丢失, 逐层缝合肌肉, 皮钉缝合伤口。术后给予庆大霉素(5mg/kg, 肌注, 每日一次, 持续1周)用于防止感染; 丁丙诺啡(0.01mg/kg, 皮下注射, 每日2次, 持续3天)控制疼痛。术后, 每日2次人工排空膀胱直到大鼠自主排尿功能恢复。

5.1.4 刺激方法

低频组选用频率2Hz, 电流1mA的连续波, 作用强度以针刺局部微微抽动为标准, 留针15 min, 1次/d,

连续14 d。中频、高频组除电针频率选用50Hz、100Hz外,其他操作均同低频组。模型组和正常组采用同样的束缚方式固定15 min,1次/d,连续14 d。

5.1.5蛋白免疫印迹法

大鼠经氯胺酮(87mg/kg)、甲苯噻嗪(13mg/kg)深度麻醉后处死,快速取得T7-T9脊髓组织存放于液氮中备用。T7-T9脊髓组织在T8损伤中心处切开平均分为2份。第一部分用裂解液提取总蛋白,第二部分使用细胞质细胞核蛋白分提试剂盒(Thermos Scientific, Rockford, IL)分别提取细胞质蛋白和细胞核蛋白。蛋白经定量后,每份样品取25μg上样至10-20% Tris-HCl Criterion预制胶(Bio-Rad, Richmond, CA)进行电泳(电压120v,时间1.5小时)。随后用电转印法(电压100v,时间1.5小时)将蛋白转移至PVDF膜(Millipore, Billerica MA)上。以ECL化学发光底物系统发射自显影,使用UN-Scan-It 6.1软件测定灰度值,以p-actin为内参。各样品灰度值与p-actin灰度比较,以值相对灰度值表示。

5.1.6免疫荧光双重染色激光共聚焦

大鼠深度麻醉后,用4%多聚甲醛500mL灌注。取得T7-T9脊髓标本置于4%多聚甲醛过夜,使用Leica SM 2000R平推式切片机制得55μm脊髓组织横断切片,随即置于封闭液(含5%羊血清)中封闭过夜。切片使用Zeiss LSM510激光共聚焦显微镜扫描分析。

5.1.7组织病理学评分

SCI治疗14天,取得T7-T9长约10mm的多聚甲醛固定后的脊髓组织,组织经常规脱水、透明、浸蜡包埋成蜡块,行连续横断面切片(厚度为15mm),使用HE和luxol fast blue双重染色以显示脊髓白质与灰质。使用Stereo Investigator软件及计算机辅助显微镜对脊髓组织的损伤体积(lesion volume, LV)进行分析。最后使用Neurolucida软件计算每个切片的损伤面积,最终得出每个组织的损伤体积。

5.2统计分析

使用SPSS 20.0软件进行统计学分析。各组数据使用单因素方差分析及检验。“#” $p < 0.001$,” $p < 0.05$ 为差异有显著性统计学意义。

6本项目的特色与创新之处

6.1通过实验动物实验,多角度探索针刺影响Nrf2/ARE通路的有效机制,从而寻找针刺治疗SCI靶点。

6.2研究针刺对脊髓损伤的分子干预机制,充分发针刺的优势。

三、预期成果及验收考核指标

(①主要技术指标:如形成的知识产权、技术标准、新技术、新产品、新装置、新方法、新模式、论文专著等数量、指标及其水平等;②主要经济指标:如技术及产品应用所形成的市场规模、效益等;③项目实施中形成的示范基地、中试线、生产线及其规模等;④人才队伍建设;⑤科普成效;⑥其他应考核的指标。省级自然科学基金项目、软科学专项项目资助论文须在本专业核心期刊发表。项目实施期间形成的发表论文须标注“甘肃省科技计划资助”字样及项目编号)

1主要技术指标:

1.1电针不同频率对大鼠继发脊髓损伤keap1-Nrf2-ARE信号通路的实验研究。

1.2电针不同频率对大鼠继发脊髓损伤氧化应激反应的机制。

1.3发表核心期刊论文2-3篇。

1.4培养1名硕士研究生。

2主要经济指标:

将实验微观经验与方法与临床治疗相结合,理论联系实际,在临床中探索实验效益、社会效益与临床效益的结合,发挥中医药“简便验廉”优势。

3.项目基地建设:

项目依托甘肃中医药大学科研实验中心、甘肃中医药大学附属医院国家级针灸临床中心开展,项目组科研力量雄厚,可以满足项目开展。

4人才队伍建设:

项目负责人王薇,硕士研究生,针灸推拿学院,副教授,2015/08-2016/02,美国德州大学西南医学中心(UT Southwestern Medical Center at Dallas),2015/01-2015/07,美国亚利桑那大学(The University of Arizona,UA),国际访问学者。主要完成和参与课题:(1)国家留学基金委项目,201308625044,神经康复分子生物学基础及康复技术体系的研究,2015/01-2016/02,结题,主持。(2)甘肃中医药大学中青年课题,温通针法治疗寒湿型LIDH血清免疫球蛋白表达水平与VAS评分值间量效关系的研究,结题,主持。(3)甘肃省高等学校科学研究项目,1106B-06,2012/01-2014/06,椎动脉型颈椎病临床证型与中药治疗匹配规律的研究,1万元,已结题,主持。(4)甘肃省自然基金项目,1610RJZA069,活血定眩胶囊含药血清对大鼠EPCs归巢效应及VEGF表达的影响机制研究,2017/01-2019/12,3万元,结题,参与。(5)国自然基金,持续静压力下MC3T3-E1细胞应力转导信号与细胞骨架的响应机制及固本增骨颗粒的干预效应。在研,编号:81960877。具有丰富的科研经验,能够胜任并带领团队开展该项目,并形成人才队伍的传承发展。

5科普成效:

在临床治疗脊髓损伤中总结应用电针治疗相关技术要求,将微观实验技术与临床治疗相衔接。对传统中医学与电针治疗脊髓损伤的优势进行科普宣传。

四、项目的承担单位、参加单位及主要研究人员

项目负责人	姓名	王薇	性别	女	出生年月					
	证件类型	身份证	证件号码		民族	汉族				
	政治面貌		中共党员							
	职称	副教授	从事专业	针灸推拿学	项目分工	项目负责人				
	学位	硕士	职务	针灸临床教研室教师	传真					
	手机		联系电话		E-mail					
项目联系人	姓名	王薇	性别	女	出生年月					
	证件类型	身份证	证件号码		民族	汉族				
	职称	副教授	从事专业	针灸推拿	项目分工	主持设计与实施				
	学位	硕士	职务	无	传真					
	手机		联系电话		E-mail					
项目组主要研究人员										
姓名	证件号码	性别	出生年月	职称	学位	从事专业	项目任务分工	累计为项目工作时(月)	所在单位	职务
王薇	620104197803300823	女		副教授	硕士	针灸推拿学	项目负责人	8	甘肃中医药大学	针灸临床教研室教师
雒成林	62010219681231535X	男		副教授	硕士	针灸推拿	文献与理论支持实施、组织病理学鉴定	3	甘肃中医药大学	针灸推拿学院副院长
王银平	622726197906030021	女		副教授	硕士	针灸推拿	免疫荧光双重染色激光共聚焦实验及数据分析	3	甘肃中医药大学附属医院	无
王慧	620422198610090544	女		主治医师	硕士	针灸推拿	蛋白免疫印迹检测数据统计分析	3	甘肃中医药大学附属医院	无

王凯	6204221 9950405 6216	男		未取得	博士	中医骨 伤	动物饲 养、协 助实验 与数据 统计处 理	5	甘肃中医 药大学	无
范凯	6201051 9890416 4032	男		未取得	硕士	中医骨 伤	动物饲 养、造 模与实 验数据 整理	4	甘肃中医 药大学	无
项目组总人数 (人)		6	高级	3	中级	1	初级	0	其他	2

注:项目成员列表仅限于填写本项任务书时使用,用以保证完成项目内容,不作他用,外籍人士可填写护照信息作为证件号码。

五、年度计划进度

时间区间	计划进度及完成的主要研究工作
2021年05月01日 到 2021年12月31日	完成文献检索,完成实验试剂、实验动物及相关物品的初步采购,完成预实验。完成相关内容的综述文章。
2022年01月01日 到 2022年12月31日	完成电针对大鼠继发性脊髓损伤keap1-Nrf2-ARE信号通路的影响及机制研究实验。完成蛋白免疫印迹法观察Keap1-Nrf2-ARE、HO-1、NQO1、TNF- α 、IL-1 β 、GCLC、IKB α 等相关表达;完成免疫荧光双重染色激光共聚焦:加入细胞特异性标志物,观察脊髓细胞表达;完成组织病理学评分:根据炎症细胞浸润、神经元固缩、出血等标准分别确定白质和灰质的损伤面积。统计、整理实验数据,撰写论文。
2023年01月01日 到 2023年04月30日	完成本实验的资料总结工作。发表论文,进行相关学术交流,参加学术交流会议。验收结题。

六、项目经费（投资计划）

单位：万元

序号	年度	拟下达省级科技计划经费	自筹资金			其他	合计	备注
			银行贷款	风险投资	自有资金			
1	2021	0.00	0.00	0.00	3.00	0.00	3.00	材料费2.1；测试化验加工费0.2；差旅费0.2；出版/文献/信息传播/知识产权事务费0.4；劳务费0.1。
合计		0.00	0.00	0.00	3.00	0.00	3.00	/

七、共同条款

第一条 甘肃省科学技术厅（以下简称甲方）与甘肃中医药大学（以下简称乙方）、甘肃中医药大学（以下简称丙方），根据《中华人民共和国合同法》和国家有关规定，为顺利完成甲方下达的甘肃省自然科学基金中的《电针对大鼠继发性脊髓损伤Nrf2信号通路的影响及机制研究》项目，特订立本任务书，作为甲乙丙三方在任务书执行中共同遵守的依据。

第二条 双方均应严格遵守任务书各项条款。甲方应严格按任务书进行经费核拨与工作协调，监督、检查任务书的执行情况；乙方应按本任务书签订内容完成项目任务。

第三条 甲方在本任务书签字生效后应及时将任务书规定之经费拨给乙方，并逐年按任务书规定核拨经费。乙方应按任务书规定的开支范围，实行专款专用，不得挪用，并接受甘肃省科技厅审计。如果乙方违反上述规定或经甲方检查确认计划进度不符合任务书规定和省级财政科技计划项目经费开支规定，甲方有权负责提出调整意见，有权要求乙方支付违约金，直至赔偿经济损失。情节严重者甲方可终止任务书执行，并追究乙方责任。

第四条 在项目执行期内，乙方必须按甲方要求编报年度计划执行情况、下一年度经费预算和有关统计报表，及时上报甲方，逾期不报，甲方有权视同乙方未完成年度工作计划并暂缓或暂停拨款；乙方每年年初将项目开展工作情况通过甘肃省科技计划管理信息平台填报相关数据，并以书面形式报告甲方（一份）。执行期在当年度不足三个月的项目乙方可在下一年度一并上报项目开展工作情况。

第五条 任何一方提出变更任务书内容或解除任务书的要求，需与对方协商，签订变更条款或协议。任务执行过程中，甲方无故中止任务时，所拨经费、物资不得追回，并承担善后处理所发生的费用。乙方在任务书执行过程因某种原因（如：技术措施或某些条件不落实、关键技术方案变更、项目负责人变更、挪用经费、不可抗力因素）致使任务书签订内容发生变化或无法执行，应及时通报甲方，甲方审核批准后方可执行；如乙方没有提出中止任务的要求或说明，甲方可根据调查情况有权提出中止任务的处理建议，并有权要求乙方退还部分或全部所拨财政经费。

第六条 项目执行过程中或完成后直接取得科技成果要按照《科技成果登记办法》等有关规定进行登记和管理。涉及国家秘密的，执行《科学技术保密规定》。项目、课题形成的知识产权，其归属和管理按照有关知识产权的法律法规和政策规范性文件的规定执行。乙方应加强知识产权的产生、管理和保护工作。

第七条 乙方若要公开发表与本项目有关的各类保密资料，必须由保密审查部门根据我国保密有关规定审查后，确定准否发表。擅自发表者承担失密责任，直接依法对当事人追究刑事责任。

第八条 乙方在实际执行项目期间形成的论文、专著、产品和技术的宣传推广必须标注“甘肃省科技计划资助”字样及项目编号，不做标注的成果，评估或验收时不予认可。

第九条 乙方在项目实施中，要按照中共中央办公厅国务院办公厅印发《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》要求，诚实守信、追求真理、崇尚创新、鼓励探索、勇攀高峰，保障项目取得预期成效。

第十条 丙方的职责是：

1. 督促、检查项目任务书执行情况，定期提交项目进展和财务决算情况；
2. 协助甲方处理项目任务书执行中的问题；
3. 协助或受甲方委托组织项目论证、验收及其他有关工作。

第十一条 凡根据项目具体情况，经协商订立的附加条款作为本任务书的正式内容的一部分。

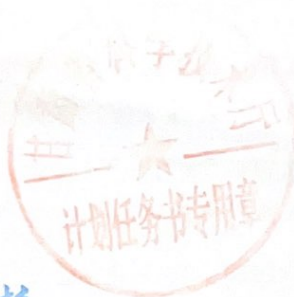
第十二条 本任务书一式四份，甲方存两份，乙方存一份，丙方存一份。

八、其他附加条款

--

九、本任务书签约各方

甲方：甘肃省科学技术厅（盖章）：



单位负责人（签章）：王彬

主管处室负责人（签章）



乙方：项目承担单位（盖章）：



2024年5月31日

单位负责人（签章）：



2024年5月28日

项目负责人（签章）：王薇

丙方：推荐单位（盖章）：



2024年5月28日

单位负责人（签章）：



主管部门负责人（签章）：



2024年5月28日

甘肃省科技计划项目研究人员科研诚信承诺书

1. 本人在甘肃省科技计划项目实施（包括项目申请、评估评审、检查、项目执行、验收等过程）中，对提交的有关材料真实性负责。
 2. 本人严格遵守中共中央办公厅、国务院办公厅印发的《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》中科研诚信和科研道德的有关要求。
 3. 本人严格执行《甘肃省科技计划项目管理办法》中的管理规定和《甘肃省科技计划项目任务书》中的相关约定，负责开展和完成本项目的研究任务。
 4. 本人遵守《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规，所填报信息不涉及涉密内容。
- 如有不符，愿意承担相关后果并接受相应的处理。

项目负责人（签字）：王薇

项目参与者（签字）：王薇 王凯 王凯 王凯 王凯 王凯

2024年5月28日

项目编号: 21JR7RA561

项目类别: 自然科学基金



甘肃省科技计划项目任务书 (创新基地和人才计划)

(2021年度)

项目名称: 高海拔环境对骨质疏松大鼠成骨作用影响机制及固本增骨颗粒的干预效应

项目负责人: 宋志靖

主管处室: 基础研究处(科技人才处)

组织部门: (甲方) 甘肃省科学技术厅

承担单位: (乙方) 甘肃中医药大学 (盖章)

推荐单位: (丙方) 甘肃中医药大学 (盖章)

起止年限: 2021年10月30日至2023年11月01日

(乙方丙方为同一单位的, 只在承担单位一栏盖章)

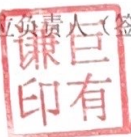
甘肃省科学技术厅 制

十、本任务书签约各方

甲方：甘肃省科学技术厅（盖章）：



单位负责人（签章）：



主管处室负责人（签章）：



年 月 日

乙方：项目承担单位（盖章）：



单位负责人（签章）：

郭建芳

2021年11月29日

项目负责人（签章）： 郭建芳

2021年11月29日

丙方：推荐单位（盖章）：



单位负责人（签章）：

郭建芳

主管部门负责人（签章）：

郭建芳

2021年11月29日

国家自然科学基金资助项目批准通知

宋志靖 先生/女士：

根据《国家自然科学基金条例》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：81960877，项目名称：持续静压力下MC3T3-E1细胞应力转导信号与细胞骨架的响应机制及固本增骨颗粒的干预效应，直接费用：35.00万元，项目起止年月：2020年01月至2023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，须在电子版计划书报送截止日期前向相关科学处提出。

电子版计划书通过科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsfc.gov.cn>）上传，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，打印纸质版计划书（一式两份，双面打印），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。电子版和纸质版计划书内容应当保证一致。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、提交电子版计划书截止时间为**2019年9月11日16点**（视为计划书正式提交时间）；
- 2、提交电子修改版计划书截止时间为**2019年9月18日16点**；
- 3、报送纸质版计划书截止时间为**2019年9月26日16点**。

请按照以上规定及时提交电子版计划书，并报送纸质版计划书，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表

国家自然科学基金委员会
2019年8月16日

附件 6

2022 年甘肃省教育科技创新项目 任务书

项目类别：☐ 青年博士基金项目

☒ 创新基金项目

项目编号及名称：2022A-067 针刺“神经轴”调节疼痛大
鼠模型“铜死亡”介导中枢敏化的镇痛机制研究

项目承担单位（盖章）：甘肃中医药大学

项目负责人：王薇

项目起止年限：2022 年 7 月至2024 年 7 月

甘肃省教育厅

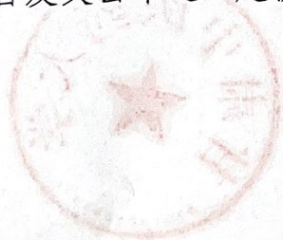
二〇二二年制

填写说明

1.项目申报书是本任务书填报的重要依据，任务书不得降低申报书中的任务和考核指标，不得对主要研究内容作大幅调整。

2.本任务书一式四份，采用双面套印，中缝骑马订装订，钉锯钉在折缝线上，钉脚平直、牢固（不受理左边距平订），成册后 A4 幅面。

3.项目自发文公布之日起执行。



一、项目完成考核指标简述(500字以内)

包括但不限于以下技术指标、经济指标、社会效益指标，鼓励以该项目为基础，申报或参与国家自然科学、社会科学基金等国家级项目：

1.主要技术指标：如形成的知识产权、技术标准、新技术、新装置、论文专著等数量、指标及其水平等；

本研究最终的成果规划是申请获得针刺治疗疼痛疗法专利，制成疗效显著、副作用小、经济实惠、天然无公害，用于防治铜死亡引起的疼痛；完成结题报告一份，发表CSCD论文2篇或SCI论文1篇。

2.主要经济指标：如技术及产品应用所形成的市场规模、经济社会效益等；

本研究最终的成果规划是，第一步申请获得针刺治疗疼痛疗法专利，制成疗效显著、副作用小、经济实惠、天然无公害，用于防治铜死亡引起的疼痛，第二步在全省范围内推广使用针刺防治疼痛；在减轻患者医药费用负担方面具有切实的经济价值。

3.项目实施中所形成的示范基地、中试线、生产线及其规模等；

4.其他考核指标

培养硕士研究生1名。

二、主要任务(1500字以内)

1. 研究目标、内容，以及任务分解和人员分工；

1.1 研究目标、内容

本研究通过观察铜死亡”介导中枢敏化的镇痛作用机制及针刺的干预作用，检测疼痛标志蛋白的表达、细胞外基质，并采用免疫荧光双标、激光共聚焦扫描显微镜、透射电镜、基因测序/沉默/过表达技术和辣根过氧化物酶轴突逆行追踪法，探讨针刺神经轴在调节“铜死亡”介导中枢敏化的镇痛机制及效应传导机制，阐明针刺“神经轴”调节“铜死亡”介导中枢敏化的镇痛作用机制。

1.2 任务分解和人员分工

王薇进行项目主持与总体设计，王亚军负责实验设计与实施，袁博进行建模与数据统筹分析，刘芳进行实验操作与指标检测，赵瑞进行动物饲养数据整理分析。

2. 拟解决的主要技术难点、问题及其技术路线(方案)。

2.1 解决的科学问题

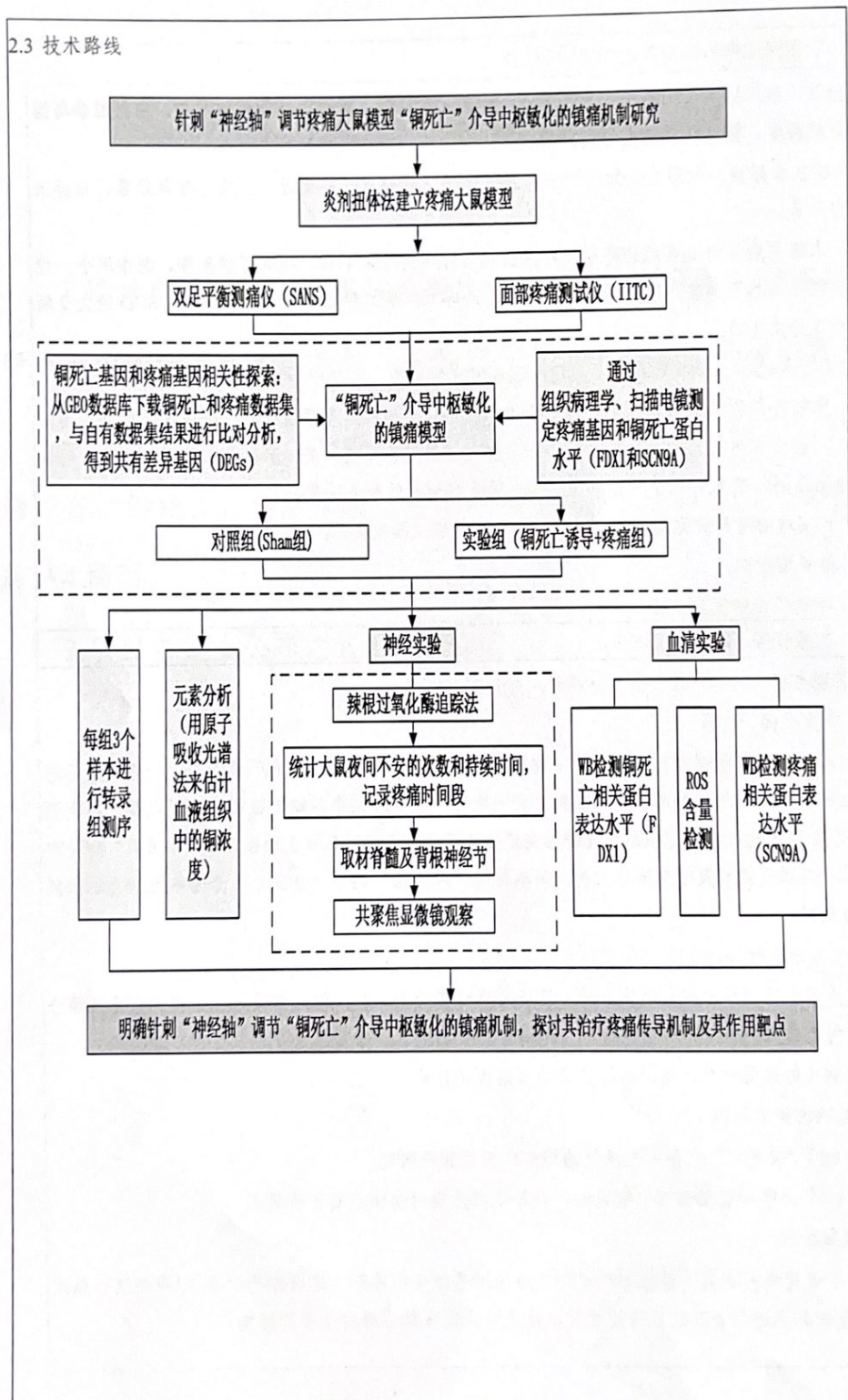
(1)“铜死亡”介导中枢敏化的镇痛作用机制的研究；

(2)针刺神经轴调节“铜死亡”介导中枢敏化的镇痛机制干预效应；

2.2 关键技术

本研究中用到的关键检测技术和方法包括透射电镜观察、基因测序/沉默/过表达技和辣根过氧化物酶轴突逆行追踪法三项技术方法也是本研究将解决的共性与关键技术。

2.3 技术路线



三、项目全体成员							
姓名	性别	出生年月	民族	职称	职务	身份证号	所在单位
王 薇	女		汉	副教授	无		甘肃中医药大学
王亚军	男		汉	教 授	无		甘肃中医药大学
袁 博	男		汉	住院医师	无		甘肃中医药大学
刘 芳	女		汉	助 教	无		甘肃中医药大学
赵 瑞	女		汉	研究生	无		甘肃中医药大学

四、项目经费预算（单位：万元）	
预算科目名称	支出金额
总经费支出	5
（一）直接费用	5
1.设备费	0
2.业务费	4.7
3.劳务费	0.3
（二）间接费用	0
其中：绩效支出	0

五、其他事项

- 1.项目负责人应按本任务书签订内容完成项目任务。
- 2.项目负责人应按任务书规定的开支范围，实行专款专用，不得挪用，并接受项目审计。
- 3.项目负责人在任务书调整、科技成果登记、知识产权保护、保密等方面的要求，按照国家和省上相关规定执行。
- 4.项目负责人在实际执行项目期间形成的论文、专著、产品和技术等成果，在刊载、转移转化、宣传推广时应标注“甘肃省教育厅：项目类别及编号”，如“甘肃省教育厅：青年博士基金项目 2022QB-001”。
- 5.项目承担单位要加强对项目的组织管理和监督实施，保证项目进度、质量、绩效和经费合理合规合法使用。
- 6.省教育厅采取适当方式对学校整体项目进行绩效抽查评价，抽查评价结果作为经费调整重要依据。

项目承担单位负责人（签字）



项目负责人（签字）：王薇

项目承担单位（公章）：



年 月 日

年 月 日

甘肃省科学技术厅文件

甘科计〔2023〕15号

关于下达 2023 年度第四批省级科技计划 (重点研发计划-农业领域、国际合作领域) 项目的通知

各有关单位：

2023 年度第四批省级科技计划（重点研发计划-农业领域、国际合作领域）项目已与省财政厅会商，本批计划安排项目 81 项、下达资金 1215 万元，其中农业领域 68 项、下达资金 1020 万元；国际合作领域 13 项、下达资金 195 万元。现将计划下达，并就有关事项通知如下。

一、经费办理

省级单位项目经费按照国库集中支付的有关规定拨付。归口市

（州）科技局组织的项目，项目经费由市（州）、财政直管县财政部门拨付承担单位。各项目承担单位请严格按照科技专项资金管理的有关规定和要求，专款专用，提高资金使用效率。

二、项目管理

项目推荐单位、承担单位要按照省级科技计划管理有关规定，强化项目管理，保障项目实施取得预期成效。项目实施期间，发生影响项目实施的重大事项，要及时报告省科技厅，项目任务书规定执行期到期后，要按规定完成项目验收结题工作。

三、任务书管理

项目承担单位按照《甘肃省科技计划项目管理办法实施细则》（甘科计规〔2022〕6号）要求，及时登录甘肃省科技管理信息系统，填写项目任务书，经推荐单位审核，省科技厅审核确认后，按规定格式打印任务书一式4份并送省科技厅完成签订工作。

四、工作要求

（一）强化组织管理。项目承担单位要认真落实《甘肃省科技计划项目管理办法》（甘科计规〔2022〕5号）等有关政策规定，按照权责一致的要求，强化主体责任，建立健全项目资金管理和科研财务助理制度，完善内部控制和监督制约机制。

（二）严格资金管理。资金支出严格按照《甘肃省省级科技计划专项资金管理办法》（甘财科〔2022〕4号）和有关财务管理制度执行，落实项目预算调剂、间接费用统筹使用、劳务费分配管理、

结余资金使用等管理要求。承担单位承诺的自筹经费应在项目任务书中作出书面承诺，与省级财政科技投入经费同步使用，确保经费使用规范有效。

（三）加强绩效评估。项目承担单位研究建立定量和定性相结合的指标体系，认真填写《省级部门预算项目支出绩效目标表（2023年度）》（表中三级指标可根据本单位实际增加填写），确保绩效目标及指标符合实际、指向明确、细化量化、可比可测。对项目的最终成果和经济社会效益要进行全方位的评价和判断。项目绩效评估将作为各单位后续申报科技计划项目的前置条件和重要依据。要对项目的目标实现情况和预算执行进度跟踪服务，一旦发现问题和漏洞，要及时采取措施予以纠正。

附件：1.2023年度第四批省级科技计划（重点研发计划-农业领域、国际合作领域）项目表
2.省级部门预算项目支出绩效目标表（2023年度）



项目编号	计划类别	项目名称	主持人	承担单位	推荐单位	2023年支持资金 (万元)	备注
23YFNA0021	重点研发计划-农业领域	优质韭菜种质资源鉴定及创新利用	肖雪梅	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
23YFNA0025	重点研发计划-农业领域	ABA调控苹果蜡质合成机理及其纳米抗抽条剂研发	王延秀	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
23YFNA0012	重点研发计划-农业领域	牦牛流产发病分子机理研究及其早期预警防控技术与产品研发	张全伟	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
23YFNA0002	重点研发计划-农业领域	凹凸棒石+中草药组合型无抗饲料研发和优质牛羊肉生产	陈国顺	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
23YFNA0017	重点研发计划-农业领域	β -酪蛋白绿色提取及婴幼儿配方乳粉基料研发	杨敏	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
23YFNA0026	重点研发计划-农业领域	荒漠肉苁蓉精深产品加工关键技术研发集成与应用	张珍	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
23YFNA0014	重点研发计划-农业领域	丘陵山地电动智能割草机的研制	马国军	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
23YFNA0036	重点研发计划-农业领域	国土空间体系背景下河西地区农田治理及碳中和路径研究	江晶	甘肃农业大学	甘肃农业大学	15	
甘肃中医药大学小计						15	
23YFWA0005	重点研发计划-国际合作领域	叶酸受体介导的CRISPR-Cas9-LNP-ATP 再生mRNA 纳米颗粒用于靶向饿死癌细胞基因编辑疗法及抗三阴性乳腺癌活性和动力学时间图谱的揭示	张忠文	甘肃中医药大学	甘肃中医药大学	15	
兰州文理学院小计						15	

甘肃省教育厅

甘教技函〔2023〕2号

甘肃省教育厅关于公布 2023 年高校教师 创新基金项目和研究生“创新之星”项目 立项名单的通知

有关高等学校:

为全面加强创新体系建设,着力提升高校自主创新能力,更高质量服务国家创新驱动发展战略和“四强”行动。根据《甘肃省教育厅关于组织开展 2023 年度高等学校科研项目申报的通知》(甘教技函〔2022〕34 号)要求,高校教师创新基金项目和研究生“创新之星”项目完成了下达项目计划、学校组织评选、结果校内公示、向省教育厅报备等程序,现将立项名单予以公布,并就有关事项通知如下:

一、高校教师创新基金项目按照单个项目自然科学 5 万元、人文社科 4 万元拨付。研究生“创新之星”项目按照单个项目博士 0.8 万元、硕士 0.5 万元拨付。

二、请有关高校做好项目的管理工作,将项目实施同落实“强科技”行动结合起来统筹推进,不断优化实施方案,通过项目开展,切实提升教师教学和科研水平,培养学生学习和科

创兴趣。

三、请有关高校指导项目负责人根据高校教师创新基金项目《申报书》，科学研制目标任务，并组织专家对《任务书》进行论证，不得降低申报书中的任务和考核指标，不得对主要研究内容作大幅调整。合理安排项目进度，确保项目的过程质量。

四、请有关高校严格执行《甘肃省财政厅 甘肃省教育厅关于印发〈甘肃省教育科技创新专项资金管理办法〉的通知》（甘财教〔2022〕18号）规定，加强经费管理，专款专用。

五、请有关高校定期监控项目进度和质量，省教育厅也将采取适当方式对项目进行绩效抽查评价，抽查评价结果作为经费调整重要依据。如发现项目进度缓慢、绩效较差、学术不端、经费使用违规等问题，将采取约谈、通报批评、减少或暂停乃至收回项目经费等处理措施。

- 附件：1. 2023 年高校教师创新基金项目立项名单
2. 2023 年研究生“创新之星”项目立项名单
3. 2023 年甘肃省教育科技创新项目任务书



（主动公开）

项目编号	项目名称	负责人	项目主要成员	单位名称	项目类别 (资助/自筹)	项目周期
2023A-079	基于NF-κB /MAPK信号通路探讨三黄凝胶对痤疮瘢痕大鼠炎性损伤的防护效应及防护机制研究	金彩云	杨鹏斐、王思农、李廷保、李彦梅、杜艳丽	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-080	基于OPG/RANK/RANKL信号通路探讨塞隆骨治疗绝经后骨质疏松症的作用机制	郭超	宋冰、刘馨鸿、白敏、康万荣、张延英	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-081	辨色论质理论的本草学证据及应用研究	王燕	强正泽、贾妙婷、魏小成、王晨	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-082	基于Keap1/Nrf2/ARE/HO-1信号通路研究甘草对马钱子所致海马氧化应激损伤的神经保护作用	杨玲玲	杨秀娟、杨志军、邓毅、连小龙、高广淼	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-083	基于TLR4-BAMBI-Smad2/3信号通路探讨武威汉简療方对自发性高血压大鼠肾损伤的影响及干预机制	马睿玲	伊琳、王新斌、寇雨顺、候明双	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-084	黄芪甲苷对PDGF诱导的肝星状细胞中PI3K/AKT信号通路的影响	陈光顺	胡蓉、赵鲲鹏、刘臻华、田萌媛	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-085	镰形棘豆联合黑豆馏油对慢性湿疹的干预和免疫机制研究	武燕	邓秀娥、赵迁雅、刘萌	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-086	大健康视域下甘肃地道药材在防治低氧诱导睡眠障碍中的作用及应用	修明慧	和建政、岳嘉、周诗鸿、何丽、秦玉洁	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-087	基于Keap1/Nrf2/ARE/HO-1通路探讨行气利水法防治高原低氧脑损伤的机制研究	黄勇	苏韞、龚红霞、曹旺杰、张鑫珏、郭家旺	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-088	基于线粒体动力学三阴性乳腺癌裂变机制与细胞群图绘制及黄芪靶向治疗药代动力学研究	张忠文	吴建军、杜丽东、王新斌、张浩令、潘正红、王晶	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-089	甘肃省卫生财政支出效率实证研究	刘晖	张阿雲、王兵	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-090	甘肃省中医药医疗服务能力的提升机理与对策研究	王小鹏	杨洁、刘文华、郁娟、王秀兰、马丽娜	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-091	“一带一路”背景下甘肃红色文化的文本英译和国际传播研究	陈胜	张宝元、陈伟、何乃婷、杨棣、陈金生	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-092	基于数据挖掘和网络药理学的中药复方治疗失眠症组方规律研究	郭文龙	姜慧娟、杨金龙、陈玉婵、颜鲁林、郭化磊	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-093	基于FXR/PPARα探讨山楂-泽泻治疗非酒精性脂肪肝的机制研究	陈振东	李彦荣、杨红娟、海杰、田旭东	甘肃中医药大学	资助	2年
2023A-094	甘肃省区块链创业生态系统构建模式与运行机制研究	李浩	王平、王凯、张龙奎、郑子卓	甘肃政法大学	资助	2年

项目编号: 22JR5RA582

项目类别: 自然科学基金



甘肃省科技计划项目任务书

(自然科学基金)

(2022年度)

项目名称: P53介导线粒体细胞扩散的动力学研究及时间图谱的揭示

项目负责人: 张忠文

主管处室: 基础研究处

组织部门: (甲方) 甘肃省科学技术厅

承担单位: (乙方) 甘肃中医药大学

(盖章)

推荐单位: (丙方) 甘肃中医药大学

(盖章)

起止年限: 2022年10月01日 至 2024年09月30日

(乙方丙方为同一单位的, 只在承担单位一栏盖章)

甘肃省科学技术厅 制

一、项目基本信息表

项目承担单位	甘肃中医药大学									
组织机构代码/统一社会信用代码	12620000438003054M									
单位通讯地址	甘肃省兰州市城关区定西东路35号					邮编		730000		
单位性质	全额事业单位（如高等院校等）									
推荐部门	甘肃中医药大学									
其他主要参加单位	序号	单位名称				组织机构代码/统一社会信用代码				
	1	甘肃中医药大学				12620000438003054M				
参加单位总数（个）	1									
项目负责人	姓名	张忠文				性别		男		
	学位	硕士				专业		动力学与生物数学		
	职称	副教授				职务		甘肃省首批科技特派员		
	联系电话					手机				
	证件类型	身份证				证件号码				
	年龄	48				政治面貌		中共党员		
	传真					E-mail				
	所在单位	甘肃中医药大学								
参加项目总人数（人）	5	其中	高级	4	中级	0	初级	0	其他	1
			博士	3	硕士	2	学士	0	其他	0
所属技术领域	生物、医药									
创新类型	☒ 原始创新 ☐ 集成创新 ☐ 引进消化吸收再创新									
项目概要	研究表明在p53缺失时，线粒体过度分裂刺激细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)信号的激活，导致细胞形态上的类似上皮细胞向间充质细胞转化(EMT)的改变，伴随着基质金属蛋白酶9(MMP9)的加速表达和侵袭性细胞迁移。阻断 mTORC1/MTFP1/Drp1/ERK1/2轴的激活可以完全消除 p53缺陷驱动的细胞形态开关。在这里，我们利用 CRISPR/cas9基因敲除验证P53在个体发育中的作用。我们的研究主要揭示了迄今为止尚未被认识的线粒体依赖性分子机制的转移表型的 p53受损的癌症和P53基因动力学时间图谱的揭示。									
项目完成考核指标简述	（1）证实p53表达下调与侵袭性表型和预后不良相关以及其沉默抑制细胞的迁移和侵袭影响； （2）P53介导mtorc1控制的 mtfp1蛋白水平，drp1驱动的线粒体分裂和侵袭性细胞迁移机制的探究以及mTORC1/MTFP1/Drp1/ERK1/2信号轴的激活是EMT的开关、 mmp9升高和 WT p53丢失时癌症播散的必要条件； （3）预计发表SCI论文2-3篇或者SCI10分以上论文1篇； （4）培养研究生1-2名。									
课题设置（无课题设置的项目无需填写）	无									

预期成果	☐ 专利 ☐ 技术标准 ☐ 新产品（或农业新品种） ☐ 新工艺 ☐ 新装置 ☐ 新材料 ☐ 计算机软件 ☒ 论文 ☐ 论著 研究报告 ☐ 科普 ☐ 其他					
成果转移转化的方式目标	☐ 自我转化 ☐ 向他人转让 ☐ 许可他人使用 ☐ 合作转让 ☐ 作价投资 ☒ 其他					
科技报告	本项目共提交科技报告1份。					
预期知识产权	国外发明专利（项）	0	国内发明专利（项）	0	其他（项）	0
预期技术标准制定	☒ 国际标准 ☐ 国家标准 ☐ 行业标准 ☐ 地方标准 ☐ 企业标准 ☐ 无标准制定					
高校院所、企业等创新主体计划开发科研助理岗位（个）	0		计划吸纳的应届毕业生（人）		0	

二、目标与任务

(①立项意义; ②研究目标; ③课题研究内容及任务分解; ④要解决的主要技术难点和问题; ⑤技术方案; ⑥创新点等。)

1.0 P53 在细胞信号表达传递反应中起着中心作用。p53 如何调节线粒体动力学抑制细胞的转移特性尚未报道。P53 抑制哺乳动物雷帕霉素复合物 1(mTORC1)信号通路以减弱促进裂变动力相关蛋白 1(Drp1)磷酸化的线粒体分裂过程1(MTFP1)蛋白水平。这种调节机制允许 p53 通过 drp1 介导的线粒体分裂抑制细胞迁移和侵袭。下调 p53 的表达 或提高线粒体分裂的分子特征与患者的侵袭性表型和不良预后相关。 在

2.0 研究内容 在这项研究中,本研究主要描绘一个 p53 调节的通路,通过对 A549, H1299, and MCF-7 细胞进行培养, siRNA 与质粒转染, 免疫印迹和定量 rt-pcr, 实时单细胞跟踪, 体外伤口愈合实验, 细胞迁移和侵袭试验, 活细胞荧光显微镜和线粒体形态定量和单细胞转录组测序对P53介导线粒体抑制细胞扩散的动力学的研究及P53动力学时间图谱的揭示。

3.0 研究目标 (1) p53 表达和侵袭性表型和预后不良相关探究; (2) P53 基因沉默对细胞的迁移和侵袭影响; (3) P53 基因沉默是否可以放大线粒体分裂, 对诊断和意义; (4) P53 升高对线粒体伸长和侵袭性细胞迁移的影响; (5) P53 对 drp1 介导的线粒体分裂和细胞迁移和侵袭的影响; (6) P53 对 mtorc1 控制的 mtfp1 蛋白水平, 以及 drp1 驱动的线粒体分裂和侵袭性细胞迁移机制的探究; (7) mTORC1/MTFP1/Drp1/ERK1/2 信号轴的激活是否是 EMT 的开关、 mmp9 升高和 WT p53 丢失时因子播散的必要条件; (8) P53 动力学时间图谱的绘制

4.0 拟解决的关键科学问题 (1) p53 表达下调是否与侵袭性表型和预后不良相关以及其沉默对细胞的迁移和侵袭影响; (2) P53 对 mtorc1 控制的 mtfp1 蛋白水平, drp1 驱动的线粒体分裂和侵袭性细胞迁移机制的探究以及 mTORC1/MTFP1/Drp1/ERK1/2 信号轴的激活是否是 EMT 的开关、 mmp9 升高和 WT p53 丢失时细胞因子播散的必要条件; (3) P53 动力学时间图谱的绘制;

5.0技术方案

5.1①细胞培养: A549、 h1299 和 mcf-7 细胞在加有 5% co2 的湿化培养箱中 37 ° c 培养。②siRNA 与质粒转染: 分别用脂质体 RNAimax 和脂质体 2000 试剂(Invitrogen)转染 siRNAs 和 pcDNA3 p53 WT 质粒。1. 提前 1 天 细胞种植贴壁细胞: 提前一天将细胞种植在 24 孔板中, 以转染时细胞汇合度 (Confluence) 在 30%左右为宜, 转染前全培养基总量为 0.45ml。③免疫印迹和定量 rt-pcr: 1. 配置反应体系, 将各成分依次加入到 0.5ml 的离心管中扩增使用热启动酶, 可在常温下操作, 非热启动型的酶要在低温配置反应体系。2. 按照试剂盒说明书设置反应时间和温度, 扩增结束后电泳鉴定, 3. 琼脂糖核酸电泳, 将电泳所用器具蒸馏水洗净, 架好梳子, 根据要分离的 DNA 片段大小制备合适浓度的琼脂糖凝胶, 准确称取一定的琼脂糖加入到锥形瓶中, 加入 30ml 左右的电泳缓冲液 (TAE 或 TBE), 在微波炉中加热融化后冷却至 40℃ 左右, 充分混匀后倒入电泳槽中, 室温下凝固 40 分钟左右, 小心拔出梳子, 将凝胶放置电泳槽中准备点样, 在电泳槽中加入电泳缓冲液, 漫过凝胶表面即可, 点样孔内不要有气泡, 样品点样前准备好, (在八连管中) 加入 5ul 样品, 1ul 的 6xLoding buffer 和 1ul 的染料混合, 用枪将混合后的样品缓缓注入到点样孔中, 注意不要串孔, 按照正负极 (红正黑负), 接通电源, 电压 40-60V, 时间 30-40min, 可根据溴酚蓝的位置判断是否终止电泳, 电泳结束, 关闭电源, 凝胶成像观察, 并对比 marker 确定片段大小。④实时单细胞跟踪: 追踪活细胞中某种蛋白质合成与分泌的过程 一般采用同位素示踪技术. 其基本步骤是: 1将放射性同位素标记的氨基酸(3H-高氨酸)加到细胞培养基中, 在很短时间使这些与未标记的相应氨基酸化学性质相同的标记分子进入细胞(称为脉冲标记): 2 除去培养液并洗涤细胞, 再换以未标记氨基酸的培养基培养细胞, 已进入细胞的标记氨基酸将被蛋白质合成系统作为原料加以利用, 掺入到某种新合成的蛋白质中; ③每隔一定时间取出一定数量的细胞, 利用电泳放射自显影技术探查被标记的特定蛋白质在不同时间所外的位置 通过比较不同时间细胞取样的电泳照片就可以了解细胞中蛋白质合成及分泌的动态过程. ⑤活细胞荧光显微镜和线粒体形态定量: 细胞经 MitoTrackerGreen FM (Invitrogen) 染色后, 在尼康 Ti 倒置显微镜上获得了活细胞荧光图像。⑥软件和统计分析: 除了 tp53 基因突变与远处转移概率之间的联系, 本文所有数据分析都是基于癌症基因组图谱 (TCGA) 研究网络 (<https://www.Cancer.gov/TCGA>) 生成的数据。数据以至少三个独立实验的平均值 ± 标准偏差或扫描电子显微镜 (SEM) 表示。所有的图表和统计分析都是用 GraphPad Prism 7 软件完成的。对于所有的体外实验, 样本被随机分配到不同的实验组根据相关的处理。所有显微图像都是从细胞培养皿或培养室的不同区域随机拍摄的。每个实验的样本大小 (n)、统计检验和 p 值的详细信息都在图形图例中显示。P < 0.05 值被认为具有统计学意义。所有的合成数字都是在 20 世纪 90 年代 Adobe Illustrator 组装的。

6.0创新点

(1) p53 表达下调是否与侵袭性表型和预后不良相关以及其沉默对细胞的迁移和侵袭影响; (2) P53 对 mtorc1 控制的 mtfp1 蛋白水平, drp1 驱动的线粒体分裂和侵袭性细胞迁移机制的探究以及 mTORC1/MTFP1/Drp1/ERK1/2 信号轴的激活是否是 EMT 的开关、 mmp9 升高和 WT p53 丢失时细胞因子播散的必要条件; (3) P53 动力学时间图谱的绘制;

三、预期成果及验收考核指标

(①主要技术指标:如形成的知识产权、技术标准、新技术、新产品、新装置、新方法、新模式、论文专著等数量、指标及其水平等;②主要经济指标:如技术及产品应用所形成的市场规模、效益等;③项目实施中形成的示范基地、中试线、生产线及其规模等;④人才队伍建设;⑤科普成效;⑥其他应考核的指标。省级自然科学基金项目、软科学专项项目资助论文须在本专业核心期刊发表。项目实施期间形成的发表论文专注须标注“甘肃省科技计划资助”字样及项目编号)

- (1) 证实p53表达下调与侵袭性表型和预后不良相关以及其沉默抑制细胞的迁移和侵袭影响;
(2) P53介导mtorc1控制的 mtfp1蛋白水平, drp1驱动的线粒体分裂和侵袭性细胞迁移机制的探究以及mTORC1/MTFP1/Drp1/ERK1/2信号轴的激活是EMT的开关、 mmp9升高和 WT p53丢失时癌症播散的必要条件;
(3) 预计发表SCI论文2-3篇或者SCI10分以上论文1篇;
(4) 培养研究生1-2名。

四、项目的承担单位、参加单位及主要研究人员

项目负责人	姓名	张忠文	性别	男	出生年月	1974-12-16				
	证件类型	身份证	证件号码		民族	汉族				
	政治面貌		中共党员							
	职称	副教授	从事专业	动力学与生物数学	项目分工	项目负责人				
	学位	硕士	职务	甘肃省首批科技特派员	传真					
	手机		联系电话		E-mail					
项目联系人	姓名	吴建军	性别	男	出生年月					
	证件类型	身份证	证件号码	622225197206280915	民族	汉族				
	职称	教授	从事专业	统计学	项目分工	数据分析				
	学位	博士	职务	院长	传真					
	手机		联系电话		E-mail	du.				
项目组主要研究人员										
姓名	证件号码	性别	出生年月	职称	学位	从事专业	项目任务分工	累计为项目工作时（月）	所在单位	职务
张忠文		男		副教授	硕士	动力学与生物数学	项目负责人	10	甘肃中医药大学	甘肃省首批科技特派员
吴建军		男		教授	博士	统计学	数据处理	10	甘肃中医药大学	院长
张颢		男		副教授	博士	健康管理学、公共卫生、人口社会学	实验处理	10	甘肃中医药大学	副处长

杜丽东		女		副教授	博士	中藏药 药理与 毒理	实验处 理	10	甘肃中医 药大学	无
张浩令		男		未取得	硕士	基因动 力学	数据处 理	10	马来西亚 理科大学	无
项目组总人数 (人)		5	高级	4	中级	0	初级	0	其他	1

注：项目成员列表仅限于填写本项任务书时使用,用以保证完成项目内容，不作他用，外籍人士可填写护照信息作为证件号码。

五、年度计划进度

时间区间	计划进度及完成的主要研究工作
2022年10月01日 到 2023年05月01日	论证、完善研究方案，完成模型构建、p53表达和侵袭性肿瘤表型和预后不良相关探究和P53基因沉默对癌细胞的迁移和侵袭影响；
2023年05月01日 到 2023年09月01日	完成ELISA法检测，RT-PCR法检测，WB法检测结肠紧密连接蛋白的表达；
2023年09月01日 到 2024年03月01日	完成P53对 drp1介导的线粒体分裂和细胞迁移和侵袭的影响；
2024年03月01日 到 2024年09月30日	完成mTORC1/MTFP1/Drp1/ERK1/2信号轴的激活是否是EMT的开关、mmp9升高和 WT p53丢失时细胞因子播散的必要条件和P53动力学时间图谱的绘制。

六、项目经费（投资计划）

单位：万元

序号	年度	拟下达省级科技计划经费	自筹资金			其他	合计	备注
			银行贷款	风险投资	自有资金			
1	2022	6.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.00	试剂费用, 动物等耗材费用, 版面费
合计		6.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.00	/

七、项目绩效目标

一级指标	二级指标	三级指标	单位	目标值
	知识产权	1. 专利申请数	件	0
		(1) 国外专利	件	0
		(2) 发明专利	件	0
		(3) 实用新型	件	0
		(4) 外观设计	件	0
		2. 专利授权数	件	0
		(1) 国外专利	件	0
		(2) 发明专利	件	0
		(3) 实用新型	件	0
		(4) 外观设计	件	0
		3. 制定技术标准	项	0
		(1) 国际标准	项	0
		(2) 国家标准	项	0
		(3) 行业标准	项	0
		(4) 地方标准	项	0
		(5) 企业标准	项	0
		4. 软件著作权	项	0
	论文专著	5. 发表论文数	篇	3
		(1) 国内发表	篇	0
		(2) 国际发表	篇	0
		(3) SCI、EI、ISTP收录论文数	篇	3
		6. 出版著作	部	0
		(1) 外文专著	部	0
		(2) 中文专著	部	0
		(3) 译著	部	0
		7. 工业新产品	个	0

产出指标	成果产出	8. 植物新品种	个	0
		9. 新技术	项	0
		10. 新材料	种	0
		11. 新装置（装备）	套	0
		12. 生产线	条	0
		13. 中试线	条	0
		14. 实验基地/孵化基地	个	0
		15. 新建农业新品种/农技推广示范基地面积	亩	0.00
		16. 科技信息服务平台	个	0
		17. 提供技术咨询/技术服务次数	次数	0
		18. 研究/评估/调研报告	篇	0
		19. 研究成果被省部级政府部门采纳	次	0
		20. 研究成果被地厅级行业部门采纳	次	0
		21. 专利融资	亿元	0.00
		22. 新药证书	项	0
		23. 药物临床试验批件	个	0
		24. 科技成果奖励	项	0
		（1）国家级奖励	项	0
		（2）省部级奖励	项	0
		（3）地厅级奖励	项	0
		（4）其它	项	0
	合作交流	25. 主办国际会议	次	0
		26. 主办国际会议参加人数	人	0
		27. 主办国内会议	次	0
		28. 主办国内会议参加人数	人	0
		29. 参加国际会议	人次	0
		30. 参加国内会议	人次	0
	成果应用	31. 已登记的成果数	项	0
		32. 转化应用成果数	项	0
		33. 产业化的成果数	项	0
		34. 成果转让合同数	项	0
		35. 成果转让合同总金额	万元	0.00
		36. 成果转让合同技术交易金额	万元	0.00
		37. 认定登记的技术合同数	项	0
		38. 认定登记的技术合同总金额	万元	0.00
		39. 认定登记的技术合同技术交易金额	万元	0.00

效益指标	经济效益	40. 扶持企业税收贡献增长率	万元	0.00
		41. 新产品产值	万元	0.00
		42. 新增工业增加值	万元	0.00
		43. 新增产值	万元	0.00
		44. 新增销售收入	万元	0.00
		45. 新增利润	万元	0.00
		46. 新增税收	万元	0.00
		47. 新增出口创汇	万美元	0.00
		48. 培养高新技术企业	家	0
	科研仪器设备	49. 新增5万元以上仪器设备数量	台/套	0
		50. 新增20万元以上仪器设备数量	台/套	0
		51. 新增5万元以上仪器设备原值	万元	0.00
		52. 新增20万元以上仪器设备原值	万元	0.00
		53. 开放共享仪器设备数	台/套	0
		54. 科研仪器设备对外服务率	%	0.00
	社会效益	55. 服务企业数	家	0
		56. 带动脱贫人数	人	0
		57. 新增就业	人	0
		58. 新增入选省级及以上人才计划专家	名	0
		59. 培养团队	个	0
		60. 培养博士后	名	0
		61. 培养博士	名	0
		62. 培养硕士	名	0
满意度	满意度指标	63. 被服务企业满意度	%	100.00
		64. 被服务民众满意度	%	100.00
		65. 从事相关工作科研人员满意度	%	100.00

八、共同条款

第一条 甘肃省科学技术厅（以下简称甲方）与甘肃中医药大学（以下简称乙方）、甘肃中医药大学（以下简称丙方），根据《中华人民共和国合同法》和国家有关规定，为顺利完成甲方下达的甘肃省自然科学基金中的《P53介导线粒体细胞扩散的动力学研究及时间图谱的揭示》项目，特订立本任务书，作为甲乙丙三方在任务书执行中共同遵守的依据。

第二条 双方均应严格遵守任务书各项条款。甲方应严格按任务书进行经费核拨与工作协调，监督、检查任务书的执行情况；乙方应按本任务书签订内容完成项目任务。

第三条 甲方在本任务书签字生效后应及时将任务书规定之经费拨给乙方，并逐年按任务书规定核拨经费。乙方应按任务书规定的开支范围，实行专款专用，不得挪用，并接受甘肃省科技厅审计。如果乙方违反上述规定或经甲方检查确认计划进度不符合任务书规定和省级财政科技计划项目经费开支规定，甲方有权负责提出调整意见，有权要求乙方支付违约金，直至赔偿经济损失。情节严重者甲方可终止任务书执行，并追究乙方责任。

第四条 在项目执行期内，乙方必须按甲方要求编报年度计划执行情况、下一年度经费预算和有关统计报表，及时上报甲方，逾期不报，甲方有权视同乙方未完成年度工作计划并暂缓或暂停拨款；乙方每年年初将项目开展工作情况通过甘肃省科技计划管理信息平台填报相关数据，并以书面形式报告甲方（一份）。执行期在当年度不足三个月的项目乙方可在下一年度一并上报项目开展工作情况。

第五条 任何一方提出变更任务书内容或解除任务书的要求，需与对方协商，签订变更条款或协议。任务执行过程中，甲方无故中止任务时，所拨经费、物资不得追回，并承担善后处理所发生的费用。乙方在任务书执行过程因某种原因（如：技术措施或某些条件不落实、关键技术方案变更、项目负责人变更、挪用经费、不可抗力因素）致使任务书签订内容发生变化或无法执行，应及时通报甲方，甲方审核批准后方可执行；如乙方没有提出中止任务的要求或说明，甲方可根据调查情况有权提出中止任务的处理建议，并有权要求乙方退还部分或全部所拨财政经费。

第六条 项目执行过程中或完成后直接取得科技成果要按照《科技成果登记办法》等有关规定进行登记和管理。涉及国家秘密的，执行《科学技术保密规定》。项目、课题形成的知识产权，其归属和管理按照有关知识产权的法律法规和政策规范性文件的规定执行。乙方应加强知识产权的产生、管理和保护工作。

第七条 乙方若要公开发表与本项目有关的各类保密资料，必须由保密审查部门根据我国保密有关规定审查后，确定准否发表。擅自发表者承担失密责任，直接依法对当事人追究刑事责任。

第八条 乙方在实际执行项目期间形成的论文、专著、产品和技术的宣传推广必须标注“甘肃省科技计划资助”字样及项目编号，不做标注的成果，评估或验收时不予认可。

第九条 乙方在项目实施中，要按照中共中央办公厅国务院办公厅印发《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》要求，诚实守信、追求真理、崇尚创新、鼓励探索、勇攀高峰，保障项目取得预期成效。

第十条 丙方的职责是：

1. 督促、检查项目任务书执行情况，定期提交项目进展和财务决算情况；
2. 协助甲方处理项目任务书执行中的问题；

3. 协助或受甲方委托组织项目论证、验收及其他有关工作。

第十一条 凡根据项目具体情况，经协商订立的附加条款作为本任务书的正式内容的一部分。

第十二条 本任务书一式四份，甲方存两份，乙方存一份，丙方存一份。

九、其他附加条款

--

210127303018

十、本任务书签约各方

甲方：甘肃省科学技术厅（盖章）：

单位负责人（签章）：

主管处室负责人（签章）：

年 月 日

乙方：项目承担单位（盖章）：

单位负责人（签章）：

年 月 日

项目负责人（签章）：

年 月 日

丙方：推荐单位（盖章）：

单位负责人（签章）：

主管部门负责人（签章）：

年 月 日

甘肃省科技计划项目研究人员科研诚信承诺书

1. 本人在甘肃省科技计划项目实施（包括项目申请、评估评审、检查、项目执行、验收等过程）中，对提交的有关材料真实性负责。

2. 本人严格遵守中共中央办公厅、国务院办公厅印发的《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》中科研诚信和科研道德的有关要求。

3. 本人严格执行《甘肃省科技计划项目管理办法》中的管理规定和《甘肃省科技计划项目任务书》中的相关约定，负责开展和完成本项目的研究任务。

4. 本人遵守《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规，所填报信息不涉及涉密内容。

如有不符，愿意承担相关后果并接受相应的处理。

项目负责人（签字）：

项目参与人（签字）：

年 月 日

项目编号: 2021A-076

甘肃省高等学校创新基金项目 任务书

(2021 年度)

项目名称: 低机械应力通过 TRIM21/F-actin 信号影响 MC3T3-E1 细胞活性的机制研究及固本增骨丸含药血清的干预效应

项目负责人: 宋志靖

联系电话: 15294177855

起止年限: 2021 年 7 月 1 日 至 2023 年 6 月 30 日

甘肃省教育厅 制

2021 年 7 月

四、项目经费预算

单位：万元

预算科目名称	支出金额
总经费支出	5.00
(一) 直接费用	
1.设备费	
(1) 购置设备费	
(2) 试制设备费	
(3) 设备改造与租赁费	
2.材料费	1.95
3.测试化验加工费	1.55
4.燃料动力费	
5.差旅费	
6.会议费	
7.国际合作与交流费	
8.出版/文献/ 信息传播/ 知识产权事务费	1.10
9.劳务费	0.40
10.专家咨询费	
11.其他支出 (含培训费)	
(二) 间接费用	
其中：绩效支出	

甲方：单位负责人：(签字)

乙方：宇志靖

单位：(公章)

2021年7月13日

2021年7月12日

