



项目批准号	30800533
归口管理部门	
申请代码	C140406
收件日期	

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：PPAR 基因 Val227Ala 变异在脂肪细胞脂代谢中作用的研究

资助经费：19.00 万元 执行年限：2009.01-2011.12

负责人：吴芳

通讯地址：浙江省杭州市庆春东路 3 号

邮政编码：310016 电话：0571 - 86006089

电子邮件：wf8056@163.com

依托单位：浙江大学

联系人：陈良 电话：0571-88981080

填表日期：2008年9月14日

国家自然科学基金委员会



国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

- 一、收到《国家自然科学基金委员会资助项目批准通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明和自然科学基金相关项目及财务管理办法（查阅 [Http://www.nsf.gov.cn/](http://www.nsf.gov.cn/)），按《批准通知》的要求认真填写《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》经主管科学部审核批准后，将作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 三、《计划书》为个性化表格，简表部分自动生成，不同类别的项目按不同要求撰写。请按以下提纲撰写《计划书》：
 - 1、各类获资助项目都必须撰写中、英文摘要及主题词，填报经费预算表。
 - 2、对于基金面上项目，项目组成员和研究内容按申请书执行，一般不得修改。如果《批准通知》中明确要求调整研究内容，须在《计划书》报告正文中对修改的内容作详细说明。没有要求修改的内容时，只需在报告正文中填写“研究内容和研究目标按照申请书执行”即可。
 - 3、重点、重大项目的项目组成员和研究内容根据批准项目的实际情况填报，不能自行降低、更改研究目标，或缩减关键的研究内容。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碰到的问题，拟采用的研究方案和技术路线；
 - （2）项目组主要成员分工，并请说明课题及合作单位之间的关系与分工；
 - 4、国家杰出青年科学基金和海外青年学者合作研究基金的计划书正文按下列提纲撰写：
 - 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) 分年度进度安排
 - 5) 研究队伍的组成情况



简表

申请者信息	姓 名	吴芳	性 别	女	出生年月	1978 年 5 月	民 族	汉族
	学 位	硕士			职 称	主治医师		
	电 话	0571 - 86006089		电子邮件		wf8056@163.com		
	传 真	0571 - 86006975		个 人 网 页				
	工 作 单 位	浙江大学						
	所 在 院 系 所	医学院附属邵逸夫医院						
依托单位信息	名 称	浙江大学					代 码	31002701
	联 系 人	陈良		电子邮件		kjccl@zju.edu.cn		
	电 话	0571-88981080		网站地址				
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
项目基本信息	项 目 名 称	PPAR 基因 Val227Ala 变异在脂肪细胞脂代谢中作用的研究						
	资 助 类 别	青年科学基金项目			亚 类 说 明			
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	C140406:内分泌学与代谢病						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2009.01-2011.12			研究属性	基础研究		
	资助经费	19.00 万元						



项目摘要

中文摘要(500 字以内)：

肥胖人数的日益增加，是胰岛素抵抗、2 型糖尿病、心血管病等多种疾病发病率增高的主要原因之一。国内外研究表明脂肪细胞脂代谢紊乱及增生肥大均参与了肥胖的发病过程。PPAR 是过氧化物酶体增殖物激活受体的一个亚型，控制着许多调节脂质代谢的基因，在脂肪细胞脂代谢的调节中起着至关重要的作用。人类 PPAR 存在基因多态性，前期研究发现 PPAR 基因 Ala227 携带者较非携带者血脂水平明显降低，但该多态性位点在脂肪细胞脂代谢中的作用尚未得到证实。本研究拟采用 PPAR 基因 Val227Ala 变异表达质粒脂质体介导转染脂肪细胞，检测转染后细胞增殖凋亡情况、细胞分化的标志物及形态学改变、成熟脂肪细胞内脂肪酸代谢通路关键酶、脂肪因子与甘油三酯含量，并应用 western 印迹、免疫共沉淀、凝胶迁移率实验及激光共聚焦的方法在启动子水平上分析 PPAR 后续信号通路的改变，揭示 PPAR 基因 Val227Ala 变异在脂肪细胞脂代谢中的作用。

关键词(不超过 5 个，用分号分开)：过氧化物酶体增殖物激活受体；脂肪细胞；脂代谢紊乱；基因多态性

Abstract(limited to 500 words)：

The population of obesity is growing rapidly, being one of the main causes of increasing incidence of insulin resistance, type 2 diabetes and cardiovascular diseases. Domestic and overseas researches have included lipid metabolism disorder and hypertrophy of adipocytes in the pathogenesis of obesity. PPAR α , a subtype of peroxisome proliferator-activated receptor family, controls many genes that regulate lipid metabolism and plays an important role in lipid metabolism in adipocytes. Human PPAR α polymorphism is proved and our previous researches have confirmed that people with PPAR α Ala227 have a significantly lower lipid level than those without it, but the role of PPAR α Ala227 polymorphism in lipid metabolism in adipocytes has not been studied. To investigate the effect of PPAR α Val227Ala polymorphism on the metabolism of lipid in adipocyte, we intend to transfect plasmids with mutated PPAR α Val227Ala into adipocytes. The proliferation or apoptosis of cells, changes of cell differentiation markers and morphology, as well as levels of key enzymes, adipokines and triglyceride in adipocyte after transfection are planned to be detected. Western blot, co-immunoprecipitation, gel shift and laser scanning confocal microscope are planned to be used to analyze the changes of subsequent signal pathway.

Keywords(limited to 5 keywords,seperated by;):peroxisome proliferator-activated receptor ; adipocyte ; dyslipidemia ; gene polymorphism



经费预算表

(金额单位: 万元)

预算编制说明:

1. 在填报本表之前, 请根据项目资助类别认真阅读相关的资助经费管理办法; 经费预算的编制以申请书中的《经费申请表》为基础, 以《国家自然科学基金项目资助批准通知书》中的资助金额为依据;
2. 编制经费预算时, 不考虑不可预见因素和前期投入;
购置与试制仪器设备在 5 万元以上 (包括 5 万元) 时, 须在报告正文中逐项说明用途和必要性。

科 目	预算经费	备 注 (计算依据与说明)
一. 研究经费	13.7000	
1. 科研业务费	2.0000	
(1) 测试/计算/分析费	0.5000	专业软件数据分析, 激光共聚焦观测分析
(2) 能源/动力费		
(3) 会议费/差旅费	1.0000	相关领域会议交流
(4) 出版物/文献/信息传播事务费	0.5000	文献检索、查新、论文发表等费用
(5) 其它		
2. 实验材料费	11.7000	
(1) 原材料/试剂/药品购置费	10.7000	相关抗体、PCR 试剂盒、细胞培养相关试剂、载体等的购置
(2) 其它	1.0000	一次性耗材的购置
3. 仪器设备费	0.0000	
4. 实验室改装费		
5. 协作费		
二. 国际合作与交流费	1.5000	
1. 项目组成员出国合作交流	0.8000	出国合作交流参加会议费用、交通费用等
2. 境外专家来华合作交流	0.7000	境外专家的餐旅费、学术交流费用等
三. 劳务费	2.8500	用于研究生和博士后的劳务费
四. 管理费	0.9500	按 5% 规定比例提取, 用于学校科研管理
合 计	19.0000	
与本项目相关的其他经费来源	国家其他计划资助经费	
	其他经费资助 (含部门匹配)	
	其他经费来源合计	0.0000



报告正文

研究内容

修改说明：研究内容第(4)点中增加评审专家建议，余按照申请书执行。

修改前

(4)PPAR α Val227Ala 变异对成熟脂肪细胞 PPAR α 信号通路影响的观察：1 在稳定表达 PPAR α 基因 Val227、Ala227 的 3T3-L1 前脂肪细胞克隆中转染(PPRE)₃TKluc 报告基因质粒，并将细胞诱导分化成为成熟的脂肪细胞；2 加入软脂酸及 Wy-14643，在启动子水平上检测脂肪细胞报告基因表达水平，并应用免疫共沉淀方法及激光共聚焦方法分析 PPAR α /RXR α 与 PPAR α /LXR α 等异二聚体形成水平、核内定位情况，揭示 PPAR α Val227Ala 变异对脂肪细胞脂代谢影响的可能机制。

修改后

(4)PPAR α Val227Ala 变异对成熟脂肪细胞 PPAR α 信号通路影响的观察：1 在稳定表达 PPAR α 基因 Val227、Ala227 的 3T3-L1 前脂肪细胞克隆中转染(PPRE)₃TKluc 报告基因质粒，并将细胞诱导分化成为成熟的脂肪细胞；2 加入软脂酸及 Wy-14643，在启动子水平上检测脂肪细胞报告基因表达水平，并应用免疫共沉淀、激光共聚焦及**凝胶迁移率实验（评审专家建议增加）**分析 PPAR α /RXR α 与 PPAR α /LXR α 等异二聚体形成水平、核内定位及 **PPAR α 与 DNA 的结合情况**。情况揭示 PPAR α Val227Ala 变异对脂肪细胞脂代谢影响的可能机制。

研究目标及其余内容均按照申请书执行。



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：30800533），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）： 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、财务等各项规定，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						
本栏目主要用于重大项目等	<p>科学部审查意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
	<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>							