



项目批准号	81901534
申请代码	H0424
归口管理部门	
依托单位代码	13001208A0528-0970



819015341005271

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：GGNBP2介导组蛋白泛素化修饰调控Hox基因转录在精子发生中的功能研究

直接费用：20万元 执行年限：2020.01-2022.12

负责人：郭凯敏

通讯地址：吉林省长春市新民大街71号吉林大学第一医院

邮政编码：130021 电 话：0431-88783324

电子邮件：gkm119254097@126.com

依托单位：吉林大学

联系人：朱明 电 话：0431-85167419

填表日期：2019年08月26日

国家自然科学基金委员会制



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

申请者信息	姓 名	郭凯敏	性 别	男	出生年月	1984年10月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	主治医师		
	是否在站博士后	否			电子邮件	gkm119254097@126.com		
	电 话	0431-88783324			个人网页			
	工 作 单 位	吉林大学						
	所 在 院 系 所	吉林大学第一医院						
依托单位信息	名 称	吉林大学					代码	13001208A0528
	联 系 人	朱明			电子邮件	zhuming@jlu.edu.cn		
	电 话	0431-85167419			网站地址	www.jlu.edu.cn		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	GGNBP2介导组蛋白泛素化修饰调控Hox基因转录在精子发生中的功能研究						
	资 助 类 别	青年科学基金项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H0424:精子发生异常与男性不育						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2020.01-2022.12						
	直 接 费 用	20万元						



项目摘要

中文摘要:

精子发生包括精原细胞增殖分化、精母细胞减数分裂和精子细胞成熟变形, 该过程受多种基因调控, 其中Hox基因作为细胞增殖和分化的主控基因发挥重要作用。申请人已研究证实配子生成素结合蛋白Ggnbp2^{-/-}小鼠无精子症表型, 睾丸组织各级生精小管中各期精子细胞数量下降, 精子细胞顶体畸形, 精母细胞DNA双链断裂修复机制障碍。此外前期结果发现GGNBP2分别能与多梳蛋白ASXL1和泛素结合酶E2B相互作用, 影响睾丸生精细胞组蛋白泛素化修饰, 但修饰机制尚不清楚。本项目从体内外实验研究GGNBP2蛋白参与组蛋白泛素化修饰机制, 从而揭示其生物学功能, 同时采用荧光素酶报告系统和染色质免疫共沉淀技术(ChIP)探讨其调控Hox基因转录模式, 并在细胞模型上验证Hox靶基因影响小鼠精母细胞分化功能, 该研究将丰富精子发生表观遗传学修饰机制, 为今后临床工作中男性非梗阻性无精子症的筛查提供实验依据和理论基础。

Abstract:

Spermatogenesis includes spermatogonial proliferation and differentiation, spermatocyte meiosis and spermiogenesis. This process is regulated by many genes, and Hox gene as the main control gene of cell proliferation and differentiation plays an important role in spermatogenesis. Our previous research revealed that gametogenetin binding protein Ggnbp2^{-/-} mice showed azoospermic phenotype, lower amount of spermatids in each stage of the seminiferous tubules, and dramatic morphological defects of developing spermatids including irregularly shaped acrosomes and nucleolus and deformity as well as compromised DNA double strand damage repair mechanism. In addition, we also showed that GGNBP2 could interact with ASXL1 and ubiquitin binding enzyme E2B to affect histone ubiquitination. However, the mechanism is still unclear. In this research, we studied the biological function of GGNBP2 protein and the mechanism of histone ubiquitination in vitro and in vivo, and revealed the mechanism of the protein regulating Hox gene transcription using luciferase assay and chromatin immunoprecipitation (ChIP). Besides, The effect of target Hox genes on the differentiation of mouse spermatocyte was verified in cell model. This study will enrich the mechanism of epigenetic modification of spermatogenesis and provide experimental and theoretical basis for the screening of male non-obstructive azoospermia in clinical work.

关键词(用分号分开): 睾丸特异性基因; 生精功能; 配子生成素结合蛋白2; 组蛋白泛素化修饰; Hox 基因转录

Keywords(用分号分开): Testicle-specific genes; Spermatogenesis; Gametogenetin binding protein 2; Histone ubiquitination; Hox gene transcription



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	郭凯敏	1984. 10	男	主治医师	博士	吉林大学	0431-88783324	142301198410070039	项目负责人	8	
总人数			高级		中级		初级		博士后	博士生	硕士生



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：81901534

项目负责人：郭凯敏

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	20.0000
2	1、设备费	0.0000
3	(1)设备购置费	0.0000
4	(2)设备试制费	0.0000
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	12.3200
7	3、测试化验加工费	0.8000
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	2.0000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.0000
11	7、劳务费	2.8800
12	8、专家咨询费	0.0000
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》等的有关要求，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 ≥ 10 万元的设备费等内容进行必要说明。）

本课题资助经费20万元人民币，具体预算支出如下：

- 1、设备费：0
- 2、材料费：12.32万（占总经费的61.6%）
 - 包括基本材料：0.82万
 - GC-2spd细胞、293T细胞、转染试剂、GGNBP2 重组蛋白(0.4万/10 μ g)
 - 实验动物饲养：0.5万
 - 各种抗体：2.5万
 - （GGNBP2抗体、Myc抗体、HA抗体、His抗体、GST抗体，PRM2抗体、ACRV1抗体以及荧光标记二抗，每个抗体按照平均0.3万元计算）
 - 各种过表达质粒：3.5万
 - （HA-Ub质粒，c-Myc-H2A质粒，GSTtagged-Asxl1质粒、c-Myc-tagged-Bap1质粒，GST-Rnfl3质粒，GSTtagged-Ube2b，特定Hox等过表达，Ggnbp2 各种突变质粒，Asxl1各种突变质粒，每个质粒按照平均0.3万元）
 - 各种si-RNA：1.0万
 - （Asxl1-siRNA、Bap1-siRNA，control-siRNA，特定Hox-siRNA，每个si-RNA按照平均0.3万元）
 - 各种实验试剂盒：1.58万
 - DNA提取试剂盒：400元/盒 $\times 2$ 盒=0.08万
 - 逆转录试剂盒：1000元/盒 $\times 3$ 盒=0.3万
 - 体外泛素化实验试剂盒：6000元/盒 $\times 2$ 盒=1.2万
 - 血清与细胞培养液：0.4万
 - 血清FBS 400元/瓶 $\times 5$ 瓶=0.2万，培养液400元/盒 $\times 5$ 盒=0.2万
 - 实验试剂：1.2万
 - 荧光定量PCR反应相关耗材：500元/盒 $\times 3$ 盒=0.15万
 - 引物、酶、western blot 所需各种溶液：0.1万
 - MG132：500元/支 $\times 1$ 支=0.05万
 - 人泛素活化酶（Ube1）3000元/支 $\times 1$ 支=0.3万
 - 化学发光显色剂、EB替代核酸燃料、RNA提取Trizol试剂、以及实验室常规一些化学试剂，三年共计0.6万
 - 实验耗材：0.82万
 - 各种规格的细胞培养皿、细胞培养瓶：1500元/箱 $\times 2$ 箱=0.3万
 - 各种规格的试管及离心管：400元/盒 $\times 2$ 盒=0.08万
 - 各种规格的移液器枪头：200元/包 $\times 2$ 包=0.04万
 - 蛋白质印迹转膜所需PVDF膜：2000元/卷 $\times 2$ 卷=0.4万
- 3、测试化验加工费：0.8万（占总经费的4.0%）
 - 包括荧光显微镜检测费：0.5万（每次开机200元，每小时200元）
 - 流式细胞仪使用费：0.3万（每个标本30元，100个标本）
- 4、燃料动力费：无（用于水、电、煤气超额支出的部分）
- 5、差旅/会议/国际合作和交流费：2.0万（占总经费的10%）
 - 课题组成员参加国内学术会议（中华医学会男科学分会，中华医学会生殖医学分会等）注册费，费用主要用于项目组成员参加国内和国际学术交流产生的费用。邀请国外项目参加人雷振民教授来华指导。
- 6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费：2.0万（占总经费的10%）
 - 文献检索：0.3万元；文章发表版面费（国内核心期刊 0.3万元；国外SCI期刊 1.2万元），硕士博士订书、论文打印装订费0.2万。
- 7、劳务费：2.88万（占总经费的14.4%）
 - 博士生，2人次（500/月/人）：500元/月/人 $\times 8$ 月/年 $\times 3$ 年 $\times 2$ 人=2.4万
 - 硕士生，1人次（300/月/人）：400元/月/人 $\times 8$ 月/年 $\times 2$ 年 $\times 1$ 人=0.48万



8、专家咨询费：0

9、其他支出：0

项目负责人签字：

科研部门公章：

财务部门公章：



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：81901534），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>						