



项目批准号	81502025
申请代码	H1617
归口管理部门	
依托单位代码	26607108A0721-1345



81502025 1008826

# 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：具核梭杆菌诱导肠上皮细胞DNA损伤在大肠肿瘤发生中的作用及机制研究

直接费用：18万元 间接费用：3.6万元

项目资金：21.6万元 执行年限：2016.01-2018.12

负责人：于亚男

通讯地址：山东省青岛市市南区江苏路16号

邮政编码：266003 电 话：0532-82911302

电子邮件：yananyu1985@163.com

依托单位：青岛大学

联系人：孙峒 电 话：0532-85953353

填表日期：2015年09月07日



简表

申请者信息	姓 名	于亚男	性 别	女	出生年月	1985年09月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	医师		
	电 话	0532-82911302		电子邮件	yananyu1985@163.com			
	传 真			个人网页				
	工 作 单 位	青岛大学						
	所 在 院 系 所	附属医院						
依托单位信息	名 称	青岛大学					代码	26607108A0721
	联 系 人	孙 峒		电子邮件	kycsun@163.com			
	电 话	0532-85953353		网站地址	www.qdu.edu.cn			
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
项目基本信息	项 目 名 称	具核梭杆菌诱导肠上皮细胞DNA损伤在大肠肿瘤发生中的作用及机制研究						
	资 助 类 别	青年科学基金项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H1617:消化系统肿瘤						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2016.01-2018.12						
	直 接 费 用	18万元				间 接 费 用	3.6万元	
	项 目 资 金	21.6万元						



## 项目摘要

### 中文摘要(500字以内):

大肠肿瘤(CRC)是一种严重危害人类健康的疾病,肠道菌群与CRC发生发展关系的研究已成为当前的热点之一。迄今具核梭杆菌在CRC发生中的作用机制仍知之甚少。我们前期通过高通量测序结合动物研究发现,具核梭杆菌在CRC的“腺瘤-腺癌”发生途径中逐渐富集,且可促进小鼠结肠肿瘤的发生并诱导肠上皮细胞DNA损伤。但其作用机制还有待进一步探讨。为此,我们提出假说,具核梭杆菌可能通过介导TGF- $\beta$ 1/Smad3途径活化诱导肠上皮细胞DNA损伤,进而促进CRC的发生。本研究欲通过APC(Min/+)小鼠体内实验、细胞实验结合临床标本,从分子、细胞、组织以及动物整体水平等多方面阐明①具核梭杆菌可诱导肠上皮细胞DNA损伤并促进CRC的发生;②具核梭杆菌可能通过TGF- $\beta$ 1/Smad3途径参与诱导肠上皮细胞DNA损伤。有助于更好地认识肠道细菌在CRC发生中的作用机制,为CRC的治疗提供新的思路和理论依据。

**关键词:** 结、直肠肿瘤; 肠道菌群; 具核梭杆菌; DNA损伤

### Abstract(limited to 4000 words):

Many researchers believed that human gut microbiota played an important role in the occurrence and progression of CRC, so it has been one of hot topics to study the role and mechanism of intestinal bacteria in the occurrence and progression of CRC. But the mechanism of the intestinal bacteria *Fusobacterium nucleatum* to promote the occurrence of CRC remains little understood. In our previous study, we found that the proportion of *Fusobacterium nucleatum* has been gradually increased in the “normal-adenoma-carcinoma” sequence through our high-throughput sequencing data. Furthermore, we clarified that *Fusobacterium nucleatum* could promote the occurrence of CRC both in APC(Min/+) mice and wild type C57 mice which induced with DMH, and could induce the DNA damage of intestinal epithelial cells, based on animals experiment combined with cells experiment. But the more elucidated mechanism remained to be further revealed. Based on our preliminary data we will 1. demonstrate *Fusobacterium nucleatum* can induce the DNA damage to the colon epithelium cell and promote the occurrence of CRC in vivo and in vitro; 2. evaluate the mechanism by which *Fusobacterium nucleatum* induces DNA damage effect is TGF- $\beta$ 1/Smad3 pathway. In a word, our research may provide new ideas and theoretical basis for the effect and mechanism of gut microbiota in the occurrence and progression of CRC.

**Keywords:** colorectal cancer; gut microbiota; *Fusobacterium nucleatum*; DNA damage



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	于亚男	1985.09	女	医师	博士	青岛大学	0532-82911302	██████████ ██████	项目负责人	8
2	田字彬	1963.09	男	教授	博士	青岛大学	0532-82911302	██████████ ██████	课题指导、实验分析	4
3	杨林	1979.10	男	主治医师	博士	青岛大学	0532-82911304	██████████ ██████	肠道菌群研究	4
4	刘华	1980.05	女	博士生	硕士	青岛大学	0532-82911304	██████████ ██████	DNA损伤相关实验	8
5	丁雪丽	1980.12	女	博士生	硕士	青岛大学	0532-82911304	██████████ ██████	动物实验	8
6	王小玮	1985.02	女	主治医师	博士	青岛大学	0532-82911304	██████████ ██████	细胞信号通路	4
7	曹统	1988.07	男	博士生	硕士	青岛大学	0532-82911304	██████████ ██████	动物实验、细胞实验	10
总人数		高级		中级		初级		博士后	博士生	硕士生
7		1		2		1		0	3	0



## 国家自然科学基金项目资金预算表（定额补助）

项目名称：具核梭杆菌诱导肠上皮细胞DNA损伤在大肠肿瘤发生中的作用及机制研究

项目负责人：于亚男

金额单位：万元

序号	科目名称	金额	备注
	(1)	(2)	(3)
1	一、项目资金支出	21.6000	/
2	（一）直接费用	18.0000	
3	1、设备费	0.2000	WB、PCR及单细胞免疫荧光实验设备使用
4	（1）设备购置费	0.0000	
5	（2）设备试制费	0.0000	
6	（3）设备改造与租赁费	0.2000	WB、PCR及单细胞免疫荧光实验设备使用
7	2、材料费	9.0000	实验动物，各种试剂、抗体、耗材、试剂盒等
8	3、测试化验加工费	3.0000	生物信息学及图像分析，单细胞试验检测等
9	4、燃料动力费	0.0000	
10	5、差旅费	0.2000	外出调研、论文交流
11	6、会议费	0.4000	开展学术讨论会
12	7、国际合作与交流费	1.1000	项目组成员到国际会议上学习、科研成果交流
13	8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.5000	文献检索、查新，论文发表
14	9、劳务费	2.2000	直接参加项目研究的人员的劳务费用
15	10、专家咨询费	0.4000	邀请本领域国内外知名专家讲学和指导实验
16	11、其他支出	0.0000	
17	（二）间接费用	3.6000	项目组织实施管理及绩效支出
18	其中：绩效支出	0.9000	绩效支出
19	二、自筹资金	0.0000	

## 预算说明书

(请对各项支出的主要用途和测算理由及合作研究外拨资金等内容进行详细说明, 可根据需要另加附页。)

本项目经费严格按自然科学基金财务管理方法编制预算, 总额为21.60万元, 具体开支项目及数额详见《资金预算表》。主要有以下几点说明:

1、为确保项目的顺利实施, 特别列出18.00万元的直接费用, 包括0.20万元的设备费、9.00万元的材料费、3.00万元的测试化验加工费、2.10万元的国际合作与交流及会议费用、1.50万元的出版/文献/信息传播/知识产权事务费和2.20万元的劳务费; 间接费用为3.60万元。

2、设备费0.20万元, Western Blot、Real-time PCR、免疫组化及单细胞免疫荧光等实验设备使用的租赁费用。

3、材料费9.00万元, 包括实验动物, 各种试剂、抗体、耗材、试剂盒等。APC(min/+) 小鼠购买1.80万元, 600元/只, 共30只; 动物饲养3个月费用及动物房实验室使用费用1.50万元; 动物实验用灌胃针、注射器, 共0.02万元; 制作具核梭杆菌原位杂交探针、购买相关抗体2.18万, 尤其是抗体p-H2AX、TGF- $\beta$ 1、Smad3、ATM、p21等, 用于Western Blot、大量免疫组化染色及荧光原位杂交, 以及p-H2AX荧光标记抗体用于细胞免疫荧光实验; 细胞培养组分如细胞培养液、胎牛血清、细胞培养瓶、培养板和培养皿、细菌培养基等, 以及Tip头、EP管、吸管、移液管及其他耗材等, 共3.50万元。

4、测试化验加工费3.00万元, 包括生物信息学分析及图像分析0.50万元, 分子生物学、细胞生物学相关试剂消耗品如Western Blot 显影试剂盒、显影定影液、免疫组化试剂、各种工具酶(限制性内切酶、Taq酶等)、RNA抽提及逆转录试剂盒、RNA干扰试剂盒、Real time PCR试剂盒、引物合成等1.30万元, 单细胞凝胶电泳实验、单细胞免疫荧光实验、流式细胞术、荧光原位杂交等相关试验耗材及测试费用1.20万元。

5、外出调研、论文交流和参加国内会议0.60万元, 包括差旅费0.20万元和开展学术讨论会费用0.40万元。

6、国际合作与交流费用及专家咨询费共1.50万元, 包括邀请日本神户大学教授专家咨询费用0.40万元(预计2位教授, 会期分别为3天, 每位教授费用为 $0.08 \times 2 + 0.04 = 0.20$ 万元, 共计0.40万元), 去日本交流学习0.50万元, 研究成果参加国际重要会议交流费用0.60万元。

7、文献检索、查新和论文发表费用1.50万元。

8、劳务费2.20万元: 考虑到目前物价水平及研究生的实际生活状况, 特列支2.20万元用于支付直接参加本项目研究人员, 尤其是研究生的津贴和劳务费用。课题组3名博士研究生按照全职工作时间分别为每年10个月、8个月、8个月, 每人每月津贴为0.028万元, 共计2.20万元。

9、间接费用3.60万元, 用于项目组织实施管理及绩效支出。

10、经费申请符合《国家自然科学基金经费管理办法》, 没有需要特别说明的5万元以上设备购置项目。

于西昂

项目负责人签字:

科研部门公章:

财务部门公章:

财务处



## 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：81502025），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科研成果按规定进行标注。</p> <p>项目负责人（签章）： 2015年9月15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><b>请按计划书内容执行</b></p> <p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p> <table border="1"><thead><tr><th>年度</th><th>总额</th><th>第一年</th><th>第二年</th><th>第三年</th><th>第四年</th><th>第五年</th></tr></thead><tbody><tr><td>金额</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></tbody></table> <p>负责人（签章）： 2015年10月9日</p>	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年	金额						
	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><b>同意科学处意见</b></p> <p>负责人（签章）： 2015年11月03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>														