

计划类别： 省自然科学基金

项目类别： 青年基金项目

执行处室： 省自然科学基金委员会办公室

项目编号： 2019JJ50964



湖南创新型省份建设专项任务书

(2019年度)

项目名称： 基于eTRAP技术探索AKT-mTOR激活SVZ区放射胶质细胞修复新生小鼠缺氧缺血性脑损伤的机制研究

项目负责人： 黄天翔 联系电话： 电子邮件：

依托单位： 中南大学湘雅医院

单位地址： 中国湖南长沙市湘雅路87号

执行期限： 2019年01月01日 至 2021年12月31日

湖南省科学技术厅制

二〇一九年制

编写说明

- 一、本任务书经甲乙丙三方签字盖章后生效，作为计划项目执行和检查、评估、验收的依据。
- 二、项目编号规则：如2019JJ10001，第1-4位为立项年份；第5-6位为计划执行处室代码，ZK表示法规处，TP、JC表示科研条件与基础研究处，GK表示高新处，NK表示农村处，SK表示社发处，WK表示合作处，CK表示成果处，RS表示人事处，JJ表示基金办，DK表示动管办；第7位为计划层次，在自然科学基金合同中，1表示创新研究群体项目，2表示杰出青年基金项目，3表示优秀青年基金项目，4表示面上项目，5表示青年基金项目，6表示省市联合基金项目，7表示科教联合基金项目，8表示科卫联合基金项目；第8-11位为项目顺序号。
- 三、本任务书内容参照项目申请材料，表达要明确、严谨，字迹要清晰，外来词语同时用原文和中文表达。同时应注意以下事项：①本任务书中“研究进度及预期目标”应与申请书中的相应内容一致；②本任务书中的“考核指标”应同“预期目标”中的相关内容相吻合，不得无故减少预期指标；③本任务书中的“项目组主要成员”应同申请书中一致，如有成员变动，必须办理项目变更程序；④本任务书“经费预算”中的“省级财政专项经费”是从申请书中直接读取的不能更改，其中间接费用不能超过（直接费用-设备费）×30%。
- 四、本任务书表格内容较多的，请自行添加附页。
- 五、本任务书统一用A4纸张打印，复印件用A4复印纸，统一于左侧装订成册。

一、简表

申请者信息	姓名	黄天翔	性别	男	出生年月	月	民族	汉族
	学位	博士			职称	助理研究员		
	电话				手机			
	传真				电子邮箱			
	工作单位	中南大学湘雅医院						
	所在院所							
依托单位信息	名称	中南大学湘雅医院			统一社会信用代码 (组织机构代码)			
	联系人	华			电子邮箱			
	电话				手机			
合作单位信息	单位名称				统一社会信用代码 (组织机构代码)			
项目基本信息	项目名称	基于eTRAP技术探索AKT-mTOR激活SVZ区放射胶质细胞修复新生小鼠缺氧缺血性脑损伤的机制研究						
	资助类别	青年基金项目						
	附注说明							
	学科代码1	脑、脊髓、周围神经损伤及修复			学科代码2	神经发育、遗传、代谢相关疾病		
	执行年限	2019-01-01至2021-12-31			研发方向	神经发育的调控及机制、神经干细胞研究		
	省级财政经费（万元）	5.00						

二、项目摘要

1、中文摘要
放射状胶质细胞(Radial Glia Cell, RGs), 是一种沿侧脑室壁分布并具有多重分化潜能的神干细胞样祖细胞其在围生期可以分化生成少突胶质细胞和有限的特定类型神经元细胞。这些RGs可以对脑损伤产生反应, 并构建一个大型的少突胶质细胞及神经元细胞库以修复损伤的大脑。然而, 绝大多数RGs随着时间的推移逐渐进入休眠或静息状态, 导致出生后大脑的修复能力十分有限。本课题旨在研究调控RGs从静息休眠状态进入快速增值状态的分子通路, 并通过控制这些分子通路以加强对小鼠围生期缺氧缺血(H/I)脑损伤的修复。我们创造性的将电转染技术与翻译核糖体亲和纯化技术相结合(eTRAP), 用以构建活体内RGs翻译期基因表达谱, 筛选并明确治疗靶点, 为通过Akt-mTOR信号通路激活RGs, 用以补充少突胶质细胞及神经元细胞, 从而修复新生小鼠H/I脑损伤提供理论基础, 为新生儿脑病的治疗提供一种全新的思路。
2、关键词
放射状胶质细胞; 电转染; 蛋白激酶B; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 翻译核糖体亲和纯化; 缺血缺氧性脑损伤
3、Abstract
Radial glia located along the lateral ventricle act as neural stem cells (NSCs) that generate oligodendrocytes and restricted populations of neurons during the perinatal period. These NSCs, which are resistant to injuries, constitute a large reservoir of oligodendrocytes and neurons to repair the injured brain. However, the majority of NSCs become progressively dormant or quiescent, contributing to the limited repair capacity of the postnatal brain. Here, we aim at investigating some of the molecular pathways that regulate NSC quiescence and differentiation into quickly proliferating, intermediate progenitor cells and to manipulate them to enhance repair in an animal model of perinatal hypoxic-ischemic (H/I) injury. We will creative combined Electroporation in vivo with Translation Ribosome Affinity Purification(eTRAP), to build NSCs' translational gene expression profiling and screen the therapeutic targets. More specifically, this proposal will test the hypothesis that manipulating the AKT-mTOR signaling pathway leads to NSC activation and replenishment of oligodendrocytes and neurons in a model of perinatal hypoxic-ischemic (H/I) injury.
4、Keywords
Radial Glia Cell in Subventricular Zone; Neonatal Electroporation; AKT-mTOR signaling pathway; Translating Ribosome Affinity Purification; Hypoxic-Ischemic Brain Injury

三、研究进度及预期目标

第一年，2019 年 01 月-2019 年 12 月：

- ① 评估 Akt-TSC-mTOR 在正常发育小鼠 SVZ 中的表达活性；
- ② 检测 Akt 或 mTOR 过表达及失活时对 SVZ 中 RGs 激活和分化的影响；
- ③ 检查 Akt-mTOR 相互作用对 RGs 行为的影响；
- ④ 检查 4E-BP1/2 和 S6K1 是否通过 Akt-mTOR 影响了 RGs 的增值与分化。

第二年，2020 年 01 月-2020 年 12 月：

- ① 汇总部分实验数据，撰写 SCI 论文并开始投稿；
- ② 利用 eTRAP 技术提取 AKT-mTOR 通路过表达后 RGs 中的 Ribo-mRNA 库，然后通过微阵列芯片扫描及生物信息学分析获取其基因表达谱；
- ③ 选择性地探讨对 RGs 生物学行为可能有重要影响的分子及其功能；
- ④ 根据杂志评审意见补充相关实验，进行中期课题总结；
- ⑤ 参加一次相关学术会议，了解最新进展。

第三年，2021 年 01 月-2021 年 12 月：

- ① 检查通过操控 Akt-mTOR 信号通路是否可以诱导休眠的 RGs 被激活，并重启神经发育过程；
- ② 检测通过增强 RGs 中 Akt-mTOR 信号通路的活性是否可以促进新生小鼠 H/I 脑损伤模型中内源性少突胶质细胞及神经元的生成与补充，修复缺氧缺血性脑损伤；
- ③ 汇总全部实验数据，撰写结题报告。

根据我们的前期实验及进展，我们预计需要 3 年时间完成以上三个阶段，每个阶段之间会有时间重叠。

预期研究成果：

- ① 明确调控 RGs 从静息休眠状态进入快速增值状态的分子通路，并通过控制这些分子通路以加强对小鼠围生期缺氧缺血性 (H/I) 脑损伤的修复；
- ② 基于 eTRAP 构建活体内 RGs 翻译期基因表达谱，筛选并明确治疗靶点；
- ③ 通过 Akt-mTOR 信号通路激活 RGs，补充少突胶质细胞及神经元，从而修复新生小鼠 H/I 脑损伤，为新生儿脑病的治疗提供一种全新的思路；
- ④ 成果以论文形式发表 SCI 论文2篇；
- ⑤ 通过科研实践，协助培养研究生1名。

四、考核指标

产出成果	
指标内容	数量
发表论文（出版专著）（篇）	2
申请及授权专利（项）	0
获得国家级项目（项）	0
获得奖励	0
人才培养(人)	1
科技报告	
指标内容	数量
中期进展报告（只有杰青在第二年须提供）	0
验收（结题）报告（所有项目都须提供）	1
专题报告（视情况自愿提交）	0

五、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	证件类型	证件号码	项目分工	每年工作(月)
1	黄天翔		男	助理研究员	博士	中南大学湘雅医院				项目负责人	6
2	伍军		男	副主任医师	博士	中南大学湘雅医院				动物模型建立及质量控制	3
3	靳欣		女	主治医师	博士	中南大学湘雅三医院				缺氧缺血性脑病模型的建立及生物信息学分析	6
4	龚旋		男	助理研究员	博士	中南大学湘雅医院				TRAP实验获取Ribo-mRNA	3
5	何彦庆		男	未取得	博士	中南大学湘雅医院				荧光显微镜扫描图片及数据统计分析	6
6	王莹		男	未取得	硕士	中南大学湘雅医院				免疫荧光染色及计数统计	6
7	刘志强		男	未取得	硕士	中南大学湘雅医院				细胞培养、Western Blot及部分免疫荧光染色	6
总人数		高级		中级		初级	博士后		博士生		硕士生
7		1		3		0	0		1		2

六、经费预算（单位：万元）

预算科目名称			合计	省级财政专项经费	自筹经费
经费支出总额			5.00	5.00	0.00
直接费用	直接费用总额		3.85	3.85	0.00
	1、设备费	(1)购置设备费	0.00	0	0.00
		(2)试制设备费	0.00	0	0.00
		(3)设备改造与租赁费	0.00	0	0.00
	2、材料费		1.90	1.90	0.00
	3、测试化验加工费		0.90	0.90	0.00
	4、燃料动力费		0.25	0.25	0.00
	5、差旅费		0.10	0.10	0.00
	6、会议费		0.10	0.10	0.00
	7、国际合作与交流费		0.10	0.10	0.00
	8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费		0.10	0.10	0.00
	9、劳务费		0.20	0.20	0.00
	10、专家咨询费		0.10	0.10	0
	11、其他支出		0.10	0.10	0.00
	间接费用	间接费用总额		1.15	1.15
其中：绩效支出		0.69	0.69	0.00	
二、经费来源			5.00	5.00	0.00
1、专项经费			5.00	5.00	/
2、自筹经费			0.00	/	0.00
(1) 其他财政拨款			0.00	/	0.00
(2) 单位自有货币资金			0.00	/	0.00
(3) 其他资金			0.00	/	0.00

七、各方权利义务

1、本任务书甲方为湖南省科技厅，乙方为项目承担单位，丙方为项目推荐单位。根据[湘财教指（2019）12号]号文件，甲方及丙方委托乙方组织实施湖南创新型省份建设专项（项目编号：2019JJ50964），总投入5.00万元，其中甲方5.00万元，丙方0万元，乙方自筹0万元。

2、各方均应共同遵守国家、省有关科技计划与经费管理的规定，严格遵守并认真履行本任务书的各项条款。如政府财政投入涉及有偿使用和股权投资，应单独签订并执行相关协议，作为本任务书的附件。任务执行期间，甲方有权直接组织或委托丙方检查、监督乙方对本任务书的履行情况。项目执行期满，乙方应及时向甲方申请验收，由甲方负责组织验收工作。

乙方和项目负责人填报本任务书，以及提供相关材料，应确保内容真实可靠。应严格履行任务书中明确的义务，为项目实施提供承诺的技术与条件保障，以及财务管理、成果管理、科技档案管理服务 etc 任务书中约定的其他义务。

丙方负责对推荐项目的实施场地、申报资料等进行真实性审核，并监督项目实施、经费预算执行情况，受委托或协助甲方组织中期评估、绩效评价、结题验收、巡视检查工作，并及时向甲方报告情况。

3、乙方应自觉接受甲方组织的中期评估、绩效评价和巡视检查，按照湖南省科技报告的相关规定撰写并提交项目中期评估（或年度进展）报告和验收（结题）报告。若乙方未能通过中期评估或结题验收，甲方有权撤销项目，追回已拨款项，由此造成的相关损失由乙方承担。

乙方使用项目经费应按照任务书经费预算约定的支出范围执行，保证专款专用，实行单独核算，严禁弄虚作假、截留和挪用项目经费等违反法律法规及财经纪律的行为。

4、乙方无正当理由未履行任务书明确的义务时，甲方有权停拨、追缴省拨经费，由此造成的相关损失由乙方承担。乙方违反经费使用规定或经甲方检查确认计划进度不符合任务书约定的，甲方有权减拨或停拨后续经费；情节严重的，甲方有权终止任务，乙方应返还甲方已拨付的全部经费。

5、项目负责人因不可抗力不能牵头组织项目实施时，乙方应负责提出书面申请，经甲方和丙方同意后，确定适宜人选保障项目实施，若无法正常完成项目任务，甲方有权视情形减拨或停拨后续经费，以及终止项目任务。乙方因不可抗力不能履行任务时，可以免除违约责任，但应及时通知甲、丙方，并在合理的期限内出具因不可抗力导致任务不能履行的证明。

6、任务书内容各方不得擅自变更和修改。涉及项目承担单位及负责人、项目组中具有高级职称的团队成员、研究内容、绩效指标、经费使用等重大事项变更，需按照有关规定经丙方同意后，报甲方批准。

7、计划项目的研究成果，包括但不限于论文、专著、软件、数据库等均应标注“湖南省自然科学基金项目资助”字样及项目编号，不做标注的，评估或验收时不予认可。

8、乙方应守法诚信开展相关科研活动，如发生严重不良科研诚信行为，甲方将按照省科技计划项目管理办法有关规定处理。甲方有权就乙方的科研诚信信息，按照有关规定向其他行政管理部门或社会公布。

9、任务书在履行过程中发生争议的，各方应通过友好协商的方式解决。如协商不成时，各方有权向长沙仲裁委员会申请仲裁，但在仲裁结果生效之前，乙方有义务按照甲方要求继续履行或终止履行本任务书。

10、项目如涉及多家（包含两家）单位参加，乙方应在签订本任务书前与有关单位就合作任务和知识产权分配等问题签订有关合同或协议（仅委托其他单位进行常规试验、提供社会化科技服务和少量辅助科研工作的情况除外），作为本任务书的附件。甲方在签订本任务书前对有关协议进行审核，若权属约定不明确，甲方有权不与乙方签订本任务书。

11、有关任务书的未尽事宜，按照国家、省有关科技计划与经费管理的规定执行。

12、本任务书由湖南省科技计划管理信息系统生成，经甲乙丙三方签订，一式四份，甲方执两份，乙方、丙方各执一份，均具有同等法律效力。

13、本任务书的解释权归甲方享有。

八、任务书签订单位

甲方：湖南省科学技术厅（盖章）：		
法人代表或授权代表（签章）：		
基金办负责人（盖章）：		
经办人（盖章）：		年 月 日
乙方：项目依托单位（盖章）：		
法人代表或授权代表（签章）：	联系电话：	
项目负责人（签章）：	联系电话：	年 月 日
财务负责人（签章）：	联系电话：	
开户银行：[REDACTED]	账 号：[REDACTED]	

行