



项目批准号	81503437
申请代码	H2902
归口管理部门	
依托单位代码	33003108A0678-1227



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： Δ 133p53异构体调控苦参碱诱导的肝癌自噬的作用和分子机制

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：谢步善

通讯地址：江西省南昌市南昌大学第一附属医院消化科

邮政编码： 电 话：079188694228

电子邮件：2267582610@qq.com

依托单位：南昌大学

联系人：温平威 电 话：0791-83969145

填表日期：2015年09月04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”-“管理办法”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：按批准资助的直接费用填报资金预算表和预算说明书，其中的劳务费、专家咨询费金额不应高于申请书中相应金额；间接费用及项目总经费由系统自动生成。国家重大科研仪器研制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. 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	谢步善	性 别	男	出生年月	1980年10月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	主治医师		
	电 话	079188694228		电子邮件	2267582610@qq.com			
	传 真			个人网页				
	工 作 单 位	南昌大学						
	所 在 院 系 所	医学部（含附属医院）						
依托单位信息	名 称	南昌大学					代码	33003108A0678
	联 系 人	温平威		电子邮件	ndkjc@163.com			
	电 话	0791-83969145		网站地址	ndkjc@163.com			
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
项目基本信息	项 目 名 称	△133p53异构体调控苦参碱诱导的肝癌自噬的作用和分子机制						
	资 助 类 别	青年科学基金项目			亚 类 说 明			
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H2902:中西医结合临床基础			H2810:中药抗肿瘤药理			
	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):

苦参碱是中药苦参中提取的有效活性物质, 主要用于联合治疗肝癌。研究显示苦参碱具有促进细胞自噬的作用, 其诱导的自噬与抗肿瘤作用密切相关。自噬体形成的各个阶段与自噬相关基因(Atg)密切相关, 常通过调节Atg基因的表达影响细胞自噬。我们前期实验观察到p53异构体 $\Delta 133p53$ 涉及苦参碱诱导的肝癌自噬的调节。然而, $\Delta 133p53$ 在苦参碱诱导的肝癌自噬中的作用和机制有待进一步明确。结合前期实验, 我们推测 $\Delta 133p53$ 通过调控特定的Atg基因(命名为靶基因)参与调节苦参碱诱导的肝癌自噬。本研究拟通过体内、外实验, 明确 $\Delta 133p53$ 对苦参碱诱导的肝癌细胞自噬作用及相关生物学行为(凋亡、增殖和肿瘤侵袭能力)的影响; 利用基因芯片筛选 $\Delta 133p53$ 调控的靶基因, 进一步证实靶基因的调控发生在转录水平还是转录后水平, 并深入探讨靶基因调控的分子机制, 为揭示苦参碱治疗肝癌提供新的思路和靶点, 亦有助于传统中药推广。

关键词: 苦参碱; $\Delta 133p53$ 异构体; 细胞自噬; 原发性肝癌

Abstract(limited to 4000 words):

Matrine, one of the main components extracted from *Sophora flavescens*, has been used as adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma (HCC). Matrine has been recently shown to promote autophagy, which is closely related to its anti-tumor effect. The autophagy-related gene (Atg) is essential for each stage of autophagy, and commonly been regarded as the target regulated by other genes to control autophagy. Our previous report has indicated that autophagy was stimulated remarkably by matrine in hepatocellular carcinoma cells, and found that $\Delta 133p53$, one of p53 variants, was involved in matrine-induced autophagy. However, the function and mechanism of matrine-promoted autophagy regulated by $\Delta 133p53$ is still unclear. We conclude that matrine-promoted autophagy is regulated by $\Delta 133p53$ via some Atg gene, named as the target gene. In this study, we firstly confirm the role of $\Delta 133p53$ in autophagy stimulated by matrine, and observe its influence on apoptosis, proliferation and invasion in vitro and vivo. Subsequently, microarray is used to screen and verify the target gene, and then investigate if the target gene activated by $\Delta 133p53$ to control autophagy is via transcriptional or post transcriptional level. Finally, we make an exhaustive study on the mechanism of transcriptional regulation of the target gene. It is a new perspective to clarify the role and mechanism of $\Delta 133p53$ isoform in matrine-induced autophagy in HCC, providing new ideas and targets for matrine treatment of HCC and also contributing to the spread of Chinese traditional medicine to the world.

Keywords: matrine; $\Delta 133p53$ isoform; autophagy; hepatocellular carcinoma



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	谢步善	1980. 10	男	主治医师	博士	南昌大学	079188694228	362321198010253510	项目负责人	8				
2	赵凤达	1955. 06	男	主任医师	其他	南昌大学	15979115821	360102195506185819	中医理论，技术指导	6				
3	潘晓林	1985. 01	男	医师	博士	南昌大学	15079059506	36232219850118005X	PCR和免疫组化、分子生物学	3				
4	游震宇	1982. 02	男	主治医师	硕士	南昌大学	13576142663	360124198202060031	免疫印迹、电镜	4				
5	何星星	1985. 07	女	助理实验师	学士	南昌大学	13807061391	360425198507071746	免疫组化、PCR、荧光素酶活性检测	8				
6	邱东东	1989. 08	男	硕士生	学士	南昌大学	18079118815	360121198908051437	细胞实验、质粒构建	10				
7	胡友文	1990. 06	男	硕士生	学士	南昌大学	13870622597	360121199006053913	细胞实验、流式细胞术	10				
总人数			高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
7			1		2		2		0		0		2	



国家自然科学基金项目资金预算表（定额补助）

项目名称：△133p53异构体调控苦参碱诱导的肝癌自噬的作用和分子机制

项目负责人：谢步善

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	0.6000	
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	0.6000	小型设备改造
7	2、材料费	11.5000	抗体、试剂盒及细胞培养器材等
8	3、测试化验加工费	1.5000	基因克隆，电镜分析等
9	4、燃料动力费	0.0000	
10	5、差旅费	0.4500	会议交通、饮食、住宿
11	6、会议费	0.4500	开展学术研讨、咨询以及协调项目研究
12	7、国际合作与交流费	0.0000	
13	8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.5000	发表文章版面费、文献检索
14	9、劳务费	1.5200	研究生2人劳务所得
15	10、专家咨询费	0.4800	分子生物学专家咨询费2次
16	11、其他支出	0.0000	
17	（二）间接费用	3.6000	管理费用，水、电、气、暖消耗
18	其中：绩效支出	0.9000	
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。)

(一) 直接费用 18 万元

1. 设备费 0.6 万元

用于实验需要的移液器更新: Eppendorf 移液器 2000 元/支 \times 3=6000 元

2. 材料费 11.5 万元

详见附页

3. 测试化验加工费 1.5 万元

(1) 基因克隆测序 (0.5 万): (50 元/测试 \times 100 个测试, 含 siRNA 合成, 启动子克隆)

(2) 免疫组化染色结果分析 (0.2 万): (10 元/片 \times 200 片, 90 例临床标本)

(3) 荧光素酶活性分析 (0.4 万): (100 元/次 \times 40 次)

(4) 电镜分析 (0.4 万): (200 元/片 \times 20 片)

4. 燃料动力费 0

无

5. 差旅费 0.45 万元

外出调研、参加学术交流等包括机票、车船费、住宿费、伙食补助费、公杂费等。共计 3 人次。每人每次驻留 3 天左右, 火车票 600 元 (含往返), 住宿费 200 元/天 \times 3 天, 伙食补助 100 元/每人, 合计 $600 \times 3 + 200 \times 3 \times 3 + 100 \times 3 \times 3 = 0.45$ 万。

6. 会议费 0.45 万元

组织开展学术研讨、咨询以及协调项目研究工作等活动, 平均活动费用 1500 元/次, 共 3 次, 合计 $1500 \times 3 = 4500$ 元。

7. 国际合作与交流费 0 万元

无

8. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费 1.5 万元

拟发表 SCI 论文 2 篇, 中文论文 3 篇, 版面费约 1 万元。资料、印刷、文献检索与信息传播费, 约 0.5 万元。

9. 劳务费 1.52 万元

直接参加项目研究的研究生 2 名, 每人每年服务的月数为 10 个月。合计 $200 \text{ 元/月} \times 10 \text{ 月} \times 2 \text{ 人/年} \times 3 \text{ 年} = 1.2$ 万元。奖励突出表现者: 0.32 万元。

10. 专家咨询费 0.48 万元

北京大学医学部毛泽斌教授进行咨询, 会期共 2 次 (2016 年第 1 次共 4 天, 2018 年第 2 次共 4 天); 2 天以内咨询费, 每天 800 元, 超过 2 天, 从第 3 天开始每天 400 元, 合计: $800 \times 4 + 400 \times 4 = 4800$ 元。

11. 其他支出

无

(二) 间接费用 3.6 万元

主要包括三部分: 管理费, 绩效支出, 项目研究提供的现有仪器设备及房屋, 水、电、气、暖消耗, 其中绩效支出 0.9 万元, 管理费根据依托单位要求。

项目负责人签字:

科研部门公章:

财务部门公章:



预算说明书

附页（材料费 11.5万）

材料1: RNA 提取试剂Trizol, 平均每年2 瓶, 共需6 瓶, 每瓶600 元, 费用为0.36 万元。

材料2: RNA 逆转录酶, SuperScriptII 酶200U/ul 一支, 每支1200 元, 需要5 支, 费用为 $1200 \times 5 = 0.6$ 万元;

材料3: RPMI、DMEM 等细胞培养基, 500mL/瓶, 需要10 瓶, 每瓶需要100 元, 共计 $100 \times 10 = 0.1$ 元。

材料4: 各种抗体购买, 预计需要10 种左右抗体, 平均每种抗体3000 元, 合计3万元

材料5: 各种化学试剂, 如PBS、无水乙醇、DEPC 水等, 平均每年需要1000元, 预计需要费用 $1000 \times 3 = 0.3$ 万元。

材料6: 实时RT-PCR 试剂盒 (50 人份) 1500 元/个, 共需要4个, 合计0.6万元

材料7: 动物购买和饲养费, 预计小鼠12只, 每只100 元, 养殖费5 元/只/天。共计约0.5 万元。

材料8: 细胞处理药物如苦参碱, Rapamycin, 3-MA等, 每支2000元, 预计需要费用0.5万元。

材料9: 脂质体, 每种需4支, 每支2000元, 合计0.8万元

材料10: QIAGEN 质粒小提试剂盒0.4 万 (4 盒 \times 1000 元/盒); Roche 细胞增殖试剂盒0.5 万; 细胞凋亡Annexin V - PI 试剂盒0.8 万 (5 盒 \times 1600 元/盒); 荧光素酶活性试剂盒0.7 万 (7 盒 \times 1000 元/盒)。合计2.4 万元

材料11: 细胞培养瓶50 包, 细胞培养板20 包, 无菌15ml 离心管30 包、无菌50ml 离心管20 包, 平均每包100 元, 共计 $100 \times (50+20+30+20) = 1.20$ 万元;

材料12: 各种枪头, 手套, 口罩, 帽子, 离心管等, 合计费用1.14 万元。

枪头 (500 支/包), 试剂配制及分装, $410 \text{ 包} \times 10 \text{ 元} = 4100 \text{ 元}$ 。

一次性手套 (100 只/袋), 防污染, $250 \text{ 包} \times 6 \text{ 元} = 1500 \text{ 元}$ 。

乳胶手套 (中号, 100 只/盒), 防污染, $70 \text{ 盒} \times 20 \text{ 元} = 1400 \text{ 元}$ 。

一次性口罩 (20 只/包), 防污染, $60 \text{ 包} \times 5 \text{ 元} = 300 \text{ 元}$ 。

一次性帽子 (20 只/包), 防污染, $50 \text{ 包} \times 2 \text{ 元} = 100 \text{ 元}$ 。

1.5ml 离心管 (500 支/包), 试剂配制及分装, $100 \text{ 包} \times 15 \text{ 元} = 1500 \text{ 元}$ 。

0.5ml 离心管 (1000 支/包), 试剂配制及分装, $100 \text{ 包} \times 25 \text{ 元} = 2500 \text{ 元}$

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：81503437），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						
	<p>科学部审查意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 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>						