



项目批准号	31970430
申请代码	C0404
归口管理部门	
依托单位代码	25504908A0752-1403



# 国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：面上项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：Wnt/Ca<sup>2+</sup>信号通路调控涡虫脑神经GABA能神经元再生的机制研究

直接费用：61万元      执行年限：2020.01-2023.12

负责人：赵博生

通讯地址：淄博市张店区新村西路266号

邮政编码：255049      电      话：0533-2782592

电子邮件：zhaobosheng@sdut.edu.cn

依托单位：山东理工大学

联系人：田忠强      电      话：0533-2782131

填表日期：2019年08月20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	赵博生	性 别	男	出生年月	1962年11月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	教授		
	是否在站博士后	否			电子邮件	zhaobosheng@sdut.edu.cn		
	电 话	0533-2782592			个人网页			
	工 作 单 位	山东理工大学						
	所 在 院 系 所	生命科学学院						
依托单位信息	名 称	山东理工大学					代码	25504908A0752
	联 系 人	田忠强			电子邮件	kjcjh@sdut.edu.cn		
	电 话	0533-2782131			网站地址	http://www.sdut.edu.cn/		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	Wnt/Ca <sup>2+</sup> 信号通路调控涡虫脑神经GABA能神经元再生的机制研究						
	资 助 类 别	面上项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	C0404:动物繁殖与发育				C041103:实验动物模型		
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2020.01-2023.12						
	直 接 费 用	61万元						



## 项目摘要

### 中文摘要:

非经典Wnt/Ca<sup>2+</sup>信号通路与神经系统发育和神经退行性疾病发生, GABA受体组装和再循环有关。但Wnt/Ca<sup>2+</sup>信号通路在脑神经和GABA能神经元再生中的功能及机制一直未得以阐释。本项目以涡虫为模式材料, 基于我们已有的Wnt5a和PLC基因在涡虫脑神经再生的表达和下调后的脑神经缺失表型结果, 针对Wnt5a及其Wnt/Ca<sup>2+</sup>信号通路相关基因在涡虫脑神经再生中的功能和机制开展研究, 包括Wnt5a及相关基因在脑神经再生中的时空表达特征、蛋白分布、功能和调控关系, Wnt/Ca<sup>2+</sup>信号通路对GABA能神经元再生的影响及调控机制等, 旨在揭示涡虫脑神经再生中Wnt/Ca<sup>2+</sup>信号通路调控GABA能神经元再生的机制, 为进一步阐明Wnt/Ca<sup>2+</sup>信号通路在脑神经再生中的作用及机理提供重要的依据, 为神经损伤后神经元再生药物研发提供理论指导。

### Abstract:

Non-canonical Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway plays a key role in the development of central nervous system and neurodegenerative diseases, the assemble and recycle of GABA receptor. However the functions and mechanisms of the regeneration of GABAergic neurons in the brain by Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway remain to be clarified. In this project, based on our previous studies of Wnt5a, Plc genes expressed in the brain, and the phenotypes of the brain default after knock-down the Wnt5a and Plc in the model organism Planarian, we attempt to analyze the functions and mechanism of Wnt5a and Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway during planarian brain regeneration, including the expression patterns, protein distributions, functions and regulatory mechanism, of Wnt5a and the relative genes, and the regulation of GABAergic neurons regeneration by Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway. The purpose is to reveal the regeneration regulation mechanism of GABAergic neurons by Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway during planarian brain regeneration. It will provide important data for elucidating the functions and mechanism of Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathway in the brain nerve regeneration, and guide the research and development of neuron regeneration drug after the nerve injury.

**关键词(用分号分开):** 无脊椎动物; 发育通路; 发育模式; 同源器官; 再生机制

**Keywords(用分号分开):** Invertebrate; Developmental pathways; Developmental patterns; homologous organs; regeneration mechanism



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	赵博生	1962.11	男	教授	博士	山东理工大学	0533-2782592	308	项目负责人	8
2	袁佐清	1977.09	女	副教授	博士	山东理工大学	13589539030	530	融合蛋白表达	6
3	曹忠红	1978.03	女	讲师	博士	山东理工大学	0533-2782592	129	基因功能	6
4	甄辉	1990.02	男	博士生	硕士	山东理工大学	0533-2782592	317	原位杂交	10
5	宋倩	1992.06	女	博士生	学士	山东理工大学	0533-2782592	355	蛋白表达及抗体制备	10
6	王梦伟	1993.09	男	硕士生	学士	山东理工大学	0533-2782592	314	蛋白质相互作用	10
7	刘洪金	1995.03	女	硕士生	学士	山东理工大学	0533-2782592	373	RNA干扰	10
总人数		高级		中级		初级		博士后	博士生	硕士生
7		2		1					2	2



## 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：31970430

项目负责人：赵博生

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	61.0000
2	1、设备费	0.0000
3	(1)设备购置费	0.00
4	(2)设备试制费	0.00
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.00
6	2、材料费	34.0000
7	3、测试化验加工费	5.0000
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	5.0000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	5.0000
11	7、劳务费	12.0000
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 $\geq 10$ 万元的设备费等内容进行必要说明。）

### 直接费用（61 万元）

#### 1. 设备费：无

#### 2. 实验材料费（总计：34 万元）：

##### （1）分子生物学试剂（计：18.2 万元）

主要用于基因克隆、Real-time PCR、原位杂交、RNA 干扰等，包括核酸提取 TRIzol 0.12 万元 $\times 5=0.6$  万元、RACE 试剂盒 1.2 万元 $\times 4=4.8$  万元、反转录试剂盒 0.4 万元 $\times 4=1.6$  万元、反转录酶 0.155 万元 $\times 4=0.62$  万元；荧光定量 PCR 试剂盒 0.2 万元 $\times 5=1.0$  万元、地高辛标记 Mix 0.18 万元 $\times 5=0.9$  万元、荧光标记 Mix 0.14 万元 $\times 5=0.7$  万元、Anti-Digoxigenin-AP Fab fragments 0.26 万元 $\times 4=1.04$  万元、Anti-FITC-AP Fab fragments 0.22 万元 $\times 4=0.88$  万元、Anti-Digoxigenin-POD 0.23 万元 $\times 4=0.92$  万元、Anti-Fluorescein-POD 0.165 万元 $\times 4=0.66$  万元、Blocking Reagent 0.13 万元 $\times 4=0.52$  万元、NBT/BCIP Stock Solution 0.13 万元 $\times 4=0.52$  万元、Sp6、T7 RNA 聚合酶、T4 连接酶、内切酶等 1 万元、DNA 和 RNA Marker 及回收试剂盒等共 0.5 万元；RNA 干扰试剂盒 0.4 万元 $\times 5=2$  万元。

##### （2）蛋白研究试剂（总计：9.8 万元）

主要用于蛋白重组表达、Western-Blot、免疫共沉淀、pull-down、免疫荧光聚焦成像等特异性检测时需购买封闭血清、荧光标记二抗、特异神经标记抗体等试剂，包括蛋白定量试剂盒 0.15 万元 $\times 2=0.3$  万元、融合蛋白亲和层析柱 0.2 万元 $\times 4=0.8$  万元、FITC - Goat Anti-Rabbit IgG 和 FITC - Goat Anti-Mouse IgG 0.065 万元 $\times 6=0.39$  万元、Cy3 -Goat Anti-Rabbit IgG 和 Cy3 - Goat Anti-Mouse IgG 0.18 万元 $\times 5=0.9$  万元、Anti-SYNORF1, anti-Synaptotagmi 抗体 0.1 万元 $\times 6=0.6$  万元、目标蛋白多克隆抗体制备 3.6 万元、Pull-down 和免疫共沉淀试剂盒 0.37 万元 $\times 6=2.22$  万元、胎牛血清、PBS 等共 1 万元。

##### （3）实验耗材和化学试剂（总计 6 万元）：

所需耗材包括 PDVF 免疫印迹膜 0.3 万元、一次性滤器、感光胶片 0.5 万元、PCR 96-well plate 0.7 万元、显微注射管 0.5 万元。

各种型号 RNase free tip、培养皿、离心管、EP 管、手套、口罩、养殖涡虫用水等共计 2 万元。

实验室常用化学试剂，Western Blot、免疫组化、分子生物学、免疫荧光和生物化学常用试剂，如乙醇、甲醇、甲醛、乙酸、氯仿、异丙醇、Tris 碱、NaCl、KCl、HCl、葡萄糖等共计 2 万元。

#### 3. 测试化验加工费（5 万元）

主要用于本项目中的荧光激光共聚焦费、引物设计、基因测序和氨基酸测序等费用。具体明细如下：

激光共聚焦检测：200 元/小时，共需 50 小时，200 元/小时 $\times 50$  小时=1 万元。

引物合成：包括克隆的基因序列和相互作用蛋白基因全长的引物和实时定量 PCR 引物，共计需要合成 400 条引物，每条引物约 25 个碱基，1 元/碱基 $\times 25$  碱基/条 $\times 400$  条=1 万元。

基因测序和蛋白质质谱分析，每条基因测序约 0.1 万元，测 10 个样，共 1 万元；质谱分析每个样约 0.2 万元，测 10 个样，共 2 万元。





**4. 燃料动力费：无**

**5. 差旅费/会议/国际合作交流费（5 万元）**

研究组成员进行实验室间异地交流合作、野外涡虫样本采集等外埠差旅费和市内交通费用等，预计支出 1 万元。

研究组成员参加国内相关学术会议：按每人每次所需交通和住宿等差旅费平均 0.2 万元、会务费 0.2 万元计算，每年派出 2-3 人，4 年 10 人次，共 4 万元。

**6. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费（5 万元）**

文献与各类研究资料的检索及购买费、网络费、打印与复印费、快递费等共约 2 万元；预计发表 SCI 收费论文 2 篇（论文版面费平均按 1 万元/篇计算），共计 2 万元；国内核心期刊发表论文 2 篇（论文版面费按 0.5 万元/篇计算），共计 1 万元。

**7. 劳务费（12 万元）**

参与本项目的 2 名博士生，2 名硕士生，博士生 1000 元/月，每年工作 10 个月，4 年共 8 万元；硕士生 500 元/月，每年工作 10 个月，4 年共 4 万元。

**8. 专家咨询费：无**

**9. 其他支出：无**

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：31970430），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>						