

投送学科

一级学科：生物学

二级学科：生物化学与分子生物学

如是学科交叉研究，所涉及的

一级学科：

二级学科：

中国博士后科学基金 面上资助申请书 (第 61 批)

申请者：王磊

博士后全国统一编号：183272

申请单位：中国科学院生物物理研究所

项目名称：筛选神经胶质瘤干细胞耐药相关的 lncRNAs 及其机制研究

研究方向：非编码 RNA 与细胞命运决定

通讯地址：中国北京市朝阳区大屯路 15 号

邮政编码：100101

E-mail: wangleibio@126.com

固定电话：010-64888574

移动电话：13683763876

申请日期：2017 年 2 月 7 日

中国博士后科学基金会制表

须知

1. 申请者应认真阅读《中国博士后科学基金资助规定》和《中国博士后科学基金面上资助实施办法》，按有关要求逐项填写申请材料。
2. 面上资助不受理涉密项目。
3. “投送学科”系指申请者所报项目的所属学科。若申报项目是学科交叉研究项目，应填写所涉及的交叉学科名称。
4. “项目名称”不得超过 25 个字。
5. “研究方向”系指申请者所报项目的研究方向，不得超过 15 个字。
6. 填表必须实事求是，认真翔实，不得弄虚作假。

一、个人信息

姓 名	王磊	性 别	男	出 生 日 期	1983 年 11 月 26 日	
身份证号	41088219831126251X	国 籍	中国	民 族	汉族	
进站时间	2016 年 12 月 1 日		预计出站时间	2018 年 12 月 1 日		
进站单位	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> 流动站 <input checked="" type="checkbox"/> 设站单位：中国科学院生物物理研究所 工作站 <input type="checkbox"/> </div> <div>合作导师：薛愿超</div> </div>					
学 习 经 历	学位	授予时间	授予单位		一级学科	导师
	学士	2006 年 7 月	信阳师范学院		生物学	谢素霞
	硕士	2009 年 7 月	信阳师范学院		化学	袁红雨
	博士	2014 年 7 月	复旦大学		生物学	马 红
主 要 研 究 工 作 经 历	起止时间	院校/科研机构	研究内容		身份	
	2016 年 12 月～ 2018 年 12 月	中国科学院生物物理所	非编码 RNA 与细胞命运决定		博士后	
	2014 年 7 月～至今	信阳师范学院	生物信息学		副教授、硕士生导师	

曾获得的 研究成果	参加或主持的科研项目					
	批准时间	项目名称	下达部门	项目性质	项目经费	承担责任
	2016 年 1 月 1 日	1) 利用转录组学解析大豆亲本和子代减数分裂细胞的差异	河南省科技厅	基础研究	8 万元	主持
	发表的有代表性论文（包括已录用、待发表的论文）					
	发表时间	论文题目	学术刊物 或会议名称	学术刊物 或会议类型	收录情况	排名
	2016 年 12 月 5 日	Genome-wide analysis of soybean JmjC domain-containing proteins suggest evolutionary conservation following whole-genome duplication	Frontiers in Plant Science	国际刊物	SCI（通讯作者）	9
	2016 年 8 月 27 日	ROP6 is involved in root hair deformation induced by Nod factors in Lotus japonicus	Plant Physiology and Biochemistry	国际刊物	SCI（通讯作者）	6
	2016 年 7 月 5 日	A repetitive sequence assembler based on next-generation sequencing	Genetics and Molecular Research	国际刊物	SCI（通讯作者）	5
	2016 年 5 月 20 日	Genome-wide characterization of soybean PIB-ATPases gene family provides functional implications in cadmium responses	BMC Genomics	国际刊物	SCI（并列一作）	2
	2016 年 4 月 20 日	Genome-wide identification, classification and expression analysis of amino acid transporter gene family in Glycine max	Frontiers in Plant Science	国际刊物	SCI（通讯作者）	9
	2014 年 6 月 17 日	RNA-seq analyses of multiple meristems of soybean: novel and alternative transcripts, evolutionary and functional implications	BMC Plant Biology	国际刊物	SCI（第一作者）	1
	出版的代表性专著					

	出版时间	论著名称	独著或合著	出版社	合著排名
	获专利情况				
	受理时间	名称	类型	排名	
	其他荣誉或成果				
	获奖时间	奖励名称	授予单位	排名	
	2014 年 7 月 14 日	复旦大学优秀毕业生	复旦大学		
	2013 年 9 月 10 日	复旦大学二等奖学金	复旦大学		

二、申报项目基本信息

名称	中文	筛选神经胶质瘤干细胞耐药相关的 lncRNAs 及其机制研究
	英文	Screening and functional study of TMZ-resistant lncRNAs in glioma stem cells
项目简介	<p>(限 500 字)</p> <p>胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤之一，约占原发性脑肿瘤的 40%~50%，发病率高，治疗效果差，易复发。患者临床表现为颅内压增高和局部神经损伤症状。目前多采用手术切除和放射及化疗处理。替莫唑胺 (TMZ) 是国际公认的烷化类抗肿瘤首选药物，临床常以术后 TMZ 化疗作为抑制复发的重要手段。胶质瘤中少量胶质瘤干细胞 (glioma stem cells, GSCs) 的快速增殖和耐药性正成为治疗的瓶颈，但是目前 GSCs 的耐药性形成机理依然不明。</p> <p>申请人自博士研究生起一直从事生物信息学研究，独立工作后在相关领域发表 4 篇通讯作者和 2 篇第一作者的论文，积累了丰富的高通量测序建库及数据分析经验。申请人目前所在实验室长期从事非编码 RNA 研究，近期在神经细胞重编程方面取得重要科研进展，相关成果分别发表在 <i>Cell</i> 和 <i>Nature neuroscience</i>。本申请在前期工作的基础上，重点关注长非编码 RNA (lncRNA) 与癌症发生的密切关系，本项目拟以从病人神经胶质瘤中分离的 GSCs 为研究对象，计划建立 GSCs 体内进化筛选系统 (<i>in vivo</i> Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment, <i>in vivo</i> SELEX)，通过多轮 TMZ 耐药性进化筛选以鉴定出与耐药性相关的 lncRNAs，并解析其调控 GSCs 自我更新和耐药性的机理。在此基础上结合临床病理数据，阐明 lncRNAs 在胶质瘤恶性病变中的作用，为神经胶质瘤的诊断和治疗提供理论基础。</p>	
	关键词	<p>(限 5 个名词，用逗号分开)</p> <p>神经胶质瘤, GSCs, 长非编码 RNA, 体内进化筛选, 耐药</p>

三、项目研究方案

内容包括：研究目标、研究内容、拟采取的研究方法或技术路线、研究计划及预期进展。

研究目标

目标一：建立长非编码 RNA *in vivo* SELEX 进化筛选平台，特异富集 TMZ 耐药的 GSCs。

目标二：利用转录组测序数据，鉴定出与 GSCs 自我更新和耐药性相关的 lncRNAs。

目标三：从非编码 RNA 的角度解析 lncRNA 导致胶质瘤复发及恶性病变的机理。

研究内容

胶质瘤是影响人类健康的恶性疾病，发病率高，极易复发，无有效的治疗措施。临床多采用开颅切除外加放化疗处理以抑制复发，然而术后复发率几乎达到 100%，目前已知 GSCs 的存在是导致复发和耐药性的主要原因。虽然前人的研究从蛋白编码基因的角度发现了一些调控 GSCs 增殖的基因，但 GSCs 的自我更新和耐药性调控机理依然不明。本申请重点关注非编码 RNA，计划以临床胶质瘤样本分离得到的 GSCs 为出发点，建立 GSCs 体内进化筛选体系。在体外用 TMZ 诱导产生耐药 GSCs 细胞系，然后将其移植进小鼠脑部形成新的肿瘤，将肿瘤切除后分离得到 GSCs，继续用 TMZ 处理后再移植回小鼠脑部产生新的肿瘤。如此往复，经过三轮进化筛选，结合转录组分析便可富集到与耐药性密切相关的蛋白质编码基因和非编码 lncRNAs。本项目将侧重研究调控 GSCs 耐药性相关的功能性 lncRNAs，阐明神经胶质瘤耐药性的分子机理。

具体研究内容分述如下：

（1）耐药性 GSCs 细胞系建立与体内进化筛选

申请人前期已经从胶质瘤病人的肿瘤样本中分离得到 CD133 和 SOX2 阳性的 GSCs。使用化疗药物 TMZ 处理 4 周后可逐步诱导 GSCs 产生耐药性，下一步计划在小鼠体内进行三轮进化筛选，分别提取各轮处理后的 GSCs 总 RNA，建立链特异性的转录组文库，高通量测序获得转录组数据。

（2）鉴定调控 GSCs 耐药性相关的功能性 lncRNAs

申请人计划利用生物信息学方法分析 TMZ 三轮进化筛选的转录组数据，获得显著富集的 lncRNAs，结合从 Chinese Glioma Genome Atlas project (CGGA) 数据库中下载的胶质瘤 IV 期和复发性胶质瘤病人样本的 RNA-seq 数据，筛选与胶质瘤复发和恶性病变密切相关的 lncRNAs。根据统计模型比较分析，获得调控 GSCs 增殖和耐药性相关的候

选 lncRNAs。

(3) lncRNAs 的致病机理和临床相关性

对候选的功能性 lncRNAs，我们将利用 CRISPR-Cas9 敲除、RNA-seq、ChIRP-seq 等多种功能基因组学研究手段，结合小鼠模型和临床病理样本，阐明 lncRNA 调控 GSCs 耐药性的分子机制。并在小鼠胶质瘤模型中验证 lncRNA 敲除对胶质瘤治疗的可能性。

拟采取的研究方法或技术路线

(1) 实验技术流程

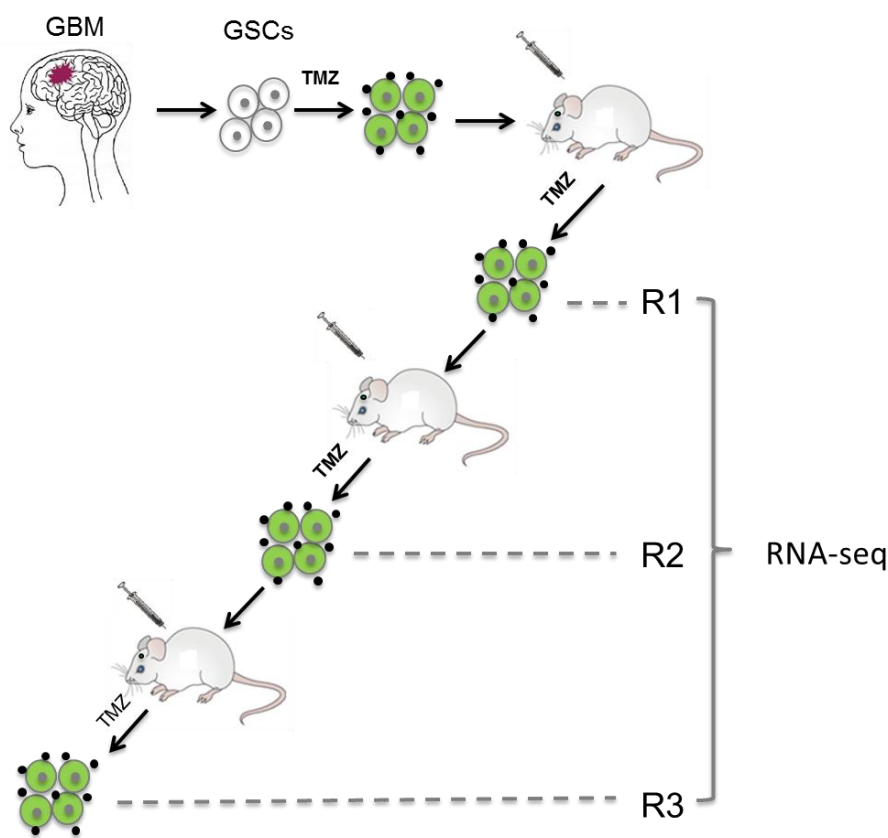


图 1. GSCs 体内进化筛选系统图示。

如图 1 所示，将从人神经胶质瘤组织分离获得的 GSCs，经 TMZ 耐药筛选后，原位注射入小鼠脑部，待胶质瘤长到一定程度从成瘤的组织中重新分离具有干细胞特性的 GSCs，TMZ 处理四周后，再次注射 GSCs 至小鼠脑部使其成瘤，如此这般，经过三轮体内成瘤筛选，最终富集出耐药性及恶性程度不同的 GSCs，提取总 RNA，分别构建

文库并进行转录组测序。结合生物信息学分析，筛选与 TMZ 耐药密切相关的功能性 lncRNAs，结合生化、功能基因组学和临床病理数据，揭示 GSCs 耐药的分子机制。

(2) 生物信息学分析流程

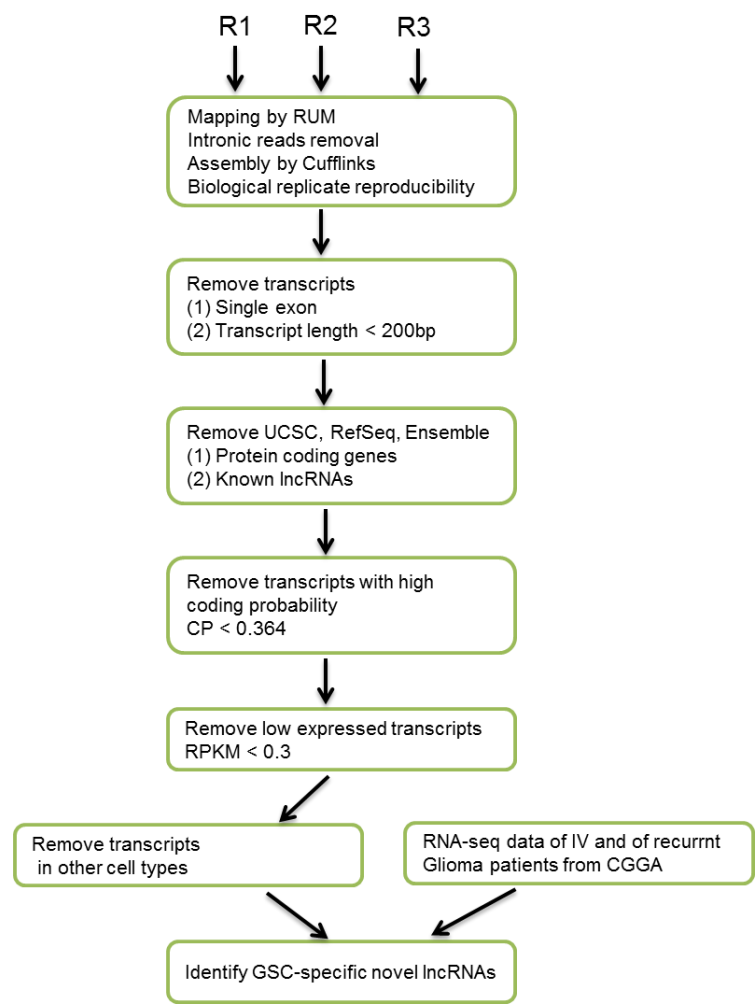


图 2. 生物信息学分析流程。

如图 2 所示，利用获得不同级别的 GSCs 转录组测序数据，通过生物信息分析获得差异表达 lncRNAs，然后根据 CGGA 数据库中的胶质瘤 IV 级和复发性胶质瘤病人样本的转录组数据，通过比较分析，获得调控 GSCs 增殖和耐药性相关的候选 lncRNAs。

(3) 候选 lncRNAs 功能验证

对鉴定出的候选 lncRNAs，利用 CRISPR-Cas9 敲除、RNA-seq、ChIRP-seq 等功能基因组学手段研究其表型和体内作用靶标，结合小鼠模型和临床病理样本，解析 lncRNA 调控 GSCs 耐药性和胶质瘤恶性病变的分子机制。

可行性分析

(1) 理论可行：本研究围绕神经胶质瘤恶性病变的科学难题，以神经胶质瘤干细胞为研究对象，用替莫唑胺（TMZ）诱导产生耐药性 GSCs，经过原位注射小鼠诱导成瘤，借助体内进化筛选体系，富集不同筛选阶段的 GSCs 细胞，结合转录组测序和生物信息学分析，挖掘出调控 GSCs 耐药性的功能性 lncRNAs，在理论上可行。

(2) 技术保障：本课题组长期从事 RNA 结合蛋白功能研究，有超过 5 年的方法和技术积累，课题组在此方向已发表 Cell 2 篇，Nat Neurosci 1 篇。流式细胞分选、CRISPR-Cas9 敲除、RNA-seq、ChIRP-seq 等功能基因组学研究方法不存在技术瓶颈，为本项目的顺利实施提供了重要的技术保障。另外，申请者所在实验室具有完善的生物化学和分子生物学实验平台、高通量测序平台、生物信息学分析平台，设备完善，为本项目的实施提供了硬件保障。

(3) 专业的数据分析背景：项目负责人自博士研究生起一直从事生物信息学分析，以第一作者和通讯作者发表 SCI 文章 6 篇。具有丰富的高通量测序数据分析经验和独立进行科研工作的能力。

研究计划及预期进展

第一年度(2017 年 1 月-2017 年 12 月)：完成三轮体内进化筛选，收集 TMZ 耐药的 GSCs，提取总 RNA，进行转录组测序。利用生物信息学手段分析其富集规律，根据统计学模型鉴定耐药性相关的候选 lncRNAs，构建 lncRNA 敲除的 GSC 细胞系。

第二年度(2018 年 1 月-2018 年 12 月)：结合临床病理材料和数据，阐明候选 lncRNAs 的体内作用靶标和病理机制，探索 CRISPRi 和 Morpholino 介导的 lncRNA 沉默治疗胶质瘤的可能性。整理数据，发表论文，撰写结题报告。发表 IF>10 的 SCI 论文 1-2 篇。

四、项目研究基础

内容包括：研究意义、国内外研究现状综述、主要参考文献及出处（注：请勿涉及已发表的论文等个人信息，否则按故意泄露个人信息处理）。

胶质瘤约占原发性脑肿瘤的40%~50%，发病率高，具浸润性，治疗效果差，复发率高(Carapella et al., 2011)。目前临床治疗胶质瘤的主要手段为手术切除，并辅助化疗以抑制复发。替莫唑胺（TMZ）是国际上公认的胶质瘤化疗首选药物，研究显示TMZ虽能小幅延长患者生存时间，但由于耐药性问题的存在，TMZ的总体疗效欠佳，且治疗后易复发。有研究表明化疗耐药可能与O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O6-methylguanine methyltransferase, MGMT)有关 (Carapella et al., 2011)，但机制尚且不明。

近年来，“肿瘤干细胞学说”的蓬勃发展为肿瘤的复发和治疗提供了新的靶点。神经胶质瘤中也已分离出来具备自我更新和快速增殖的神经胶质瘤干细胞(glioma stem-like cells, GSCs)，这为胶质瘤的难治疗、易复发提供了新的解释(Galli et al., 2004)。GSCs细胞具备以下特征：①体外培养可以形成神经球样细胞；②表达干细胞标记基因SOX2和CD133等；③具有自我更新和增殖能力；④在原位移植后，可以形成与原肿瘤性质相似的肿瘤。GSCs的发现为胶质瘤相关病理和耐药机制等研究提供了全新的研究思路(Molina et al., 2014)。虽然肿瘤干细胞只占肿瘤组织的一小部分，但是它对肿瘤发生和发展却起着决定性作用。由此也产生一个新的假说即胶质瘤化疗耐药的“肿瘤干细胞”假说，胶质瘤的耐药性可能由GSCs的逐步耐药所导致。因此，系统筛选和鉴定调控GSCs干性及耐药性发生的蛋白编码基因及非编码RNA，对胶质瘤的诊断和治疗意义重大。

长非编码RNA（lncRNA）是一类长度大于200个核苷酸、不编码蛋白质的RNA。长非编码RNA与癌症的发生、发展及转移有着密切的关系(Schmitt and Chang, 2016)。H19是第一个被发现的非编码RNA基因，在肝脏中，H19能与血管生成素和成纤维细胞生长因子相互作用，通过改变其表达而诱发肿瘤(Baniol et al., 2011)。再如一些长非编码RNA，如PCA3、PCGEM1、PCAT1等，特异表达于前列腺癌中，可作为有效的癌症标记物(Walsh et al., 2014)。MALAT1是一个长度大于8kb的长非编码RNA，研究表明MALAT1在肺癌和胰腺癌中高表达，通过调节CASP3、BAX、BCL2、BCL-XL等基因

的表达而促进细胞的生长和侵袭。PCGEM1是一个胰腺癌相关的致癌性lncRNA，PCGEM1的表达与胰腺癌发展和复发密切相关(Romanuik et al., 2010)。除了以上列举的与癌症相关的lncRNAs，还有一些诸如aHIF、ANRIL、Oct4-pg、PTENP1和BC200 等在神经母细胞瘤、乳腺癌、胶质瘤、结直肠癌、神经退行性疾病发生中起重要作用的lncRNA (Bertozzi et al., 2011; Han Li and Chen, 2015; Nie et al., 2015; Niland et al., 2012; Zhang et al., 2013)。随着精准医学研究的深入，长非编码RNA的科学价值和临床意义已引起了人们越来越多的重视，也为复杂疾病的诊断和治疗提供了新的思路和靶点。

鉴于 lncRNA 的异常与多种癌症的发生、发展紧密相关。本项目将以神经胶质瘤干细胞为研究对象，用替莫唑胺（TMZ）诱导产生耐药性 GSCs，经过原位注射诱导小鼠成瘤，借助体内进化筛选体系，收集不同筛选阶段的 GSCs，结合转录组测序和生物信息学分析，挖掘出调控 GSCs 耐药性的功能性 lncRNAs，并研究其致病机制。本申请有望全面揭示与神经胶质瘤耐药相关的基因调控网络，为胶质瘤诊断和治疗提供靶点，为神经胶质瘤的根治提供理论基础。

主要参考文献：

1. Baniol, M., Hagege, H., Petit, J.S., Lelay-Taha, M.-N., Carbonell, F., Weber, M., Cathala, G., and Forne, T. (2011). Long-range chromatin interactions at the mouse Igf2/H19 locus reveal a novel paternally expressed long non-coding RNA. *Nucleic acids research* 39, 5893-5906.
2. Bertozzi, D., Iurlaro, R., Sordet, O., Marinello, J., Zaffaroni, N., and Capranico, G. (2011). Characterization of novel antisense HIF-1 α transcripts in human cancers. *Cell Cycle* 10, 3189-3197.
3. Carapella, C.M., Telera, S., and Oppido, P.A. (2011). Surgery of malignant gliomas: advances and perspectives. *Current opinion in oncology* 23, 624-629.
4. Galli, R., Binda, E., Orfanelli, U., Cipelletti, B., Gritti, A., De Vitis, S., Fiocco, R., Foroni, C., Dimeco, F., and Vescovi, A. (2004). Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer research* 64,

7011-7021.

5. Han Li, C., and Chen, Y. (2015). Small and Long Non-Coding RNAs: Novel Targets in Perspective Cancer Therapy. *Current genomics* 16, 319-326.
6. Molina, E.S., Pillat, M.M., Moura-Neto, V., Lah, T.T., and Ulrich, H. (2014). Glioblastoma stem-like cells: approaches for isolation and characterization. *Journal of Cancer Stem Cell Research* 2, e1007.
7. Nie, F.-q., Sun, M., Yang, J.-s., Xie, M., Xu, T.-p., Xia, R., Liu, Y.-w., Liu, X.-h., Zhang, E.-b., and Lu, K.-h. (2015). Long noncoding RNA ANRIL promotes non-small cell lung cancer cell proliferation and inhibits apoptosis by silencing KLF2 and P21 expression. *Molecular cancer therapeutics* 14, 268-277.
8. Niland, C.N., Merry, C.R., and Khalil, A.M. (2012). Emerging roles for long non-coding RNAs in cancer and neurological disorders. *Frontiers in genetics* 3, 25.
9. Romanuik, T.L., Wang, G., Morozova, O., Delaney, A., Marra, M.A., and Sadar, M.D. (2010). LNCaP Atlas: gene expression associated with in vivo progression to castration-recurrent prostate cancer. *BMC medical genomics* 3, 43.
10. Schmitt, A.M., and Chang, H.Y. (2016). Long noncoding RNAs in cancer pathways. *Cancer Cell* 29, 452-463.
11. Walsh, A.L., Tuzova, A.V., Bolton, E.M., Lynch, T.H., and Perry, A.S. (2014). Long noncoding RNAs and prostate carcinogenesis: the missing 'linc'? *Trends in molecular medicine* 20, 428-436.
12. Xu, C., Yang, M., Tian, J., Wang, X., and Li, Z. (2011). MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3'end functional motif in colorectal cancer metastasis. *International journal of oncology* 39, 169.
13. Zhang, H., Chen, Z., Wang, X., Huang, Z., He, Z., and Chen, Y. (2013). Long non-coding RNA: a new player in cancer. *Journal of hematology & oncology* 6, 37.

申请人前期已经取得了与本申请相关的初步研究进展，现分述如下：

（1）胶质瘤干细胞的分离与鉴定

前期，申请人所在实验室已成功分离并培养一株人胶质瘤干细胞系，通过细胞免疫荧光和实时定量PCR等相关方法鉴定了其干细胞特性（图3），该细胞系呈贴壁和神经球两种生长形态，高表达SOX2和CD133等GSCs相关表面标志。

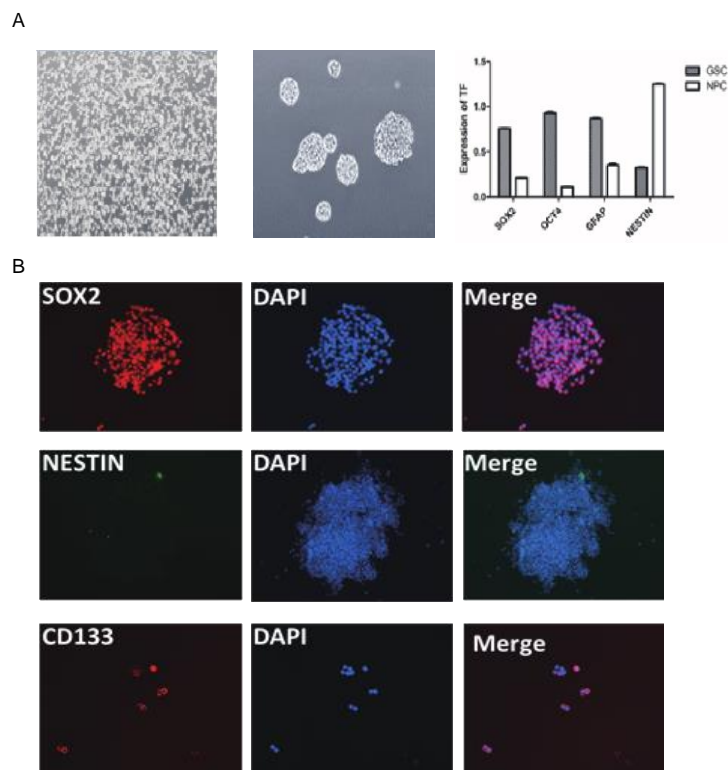


图3. 人胶质瘤干细胞系的培养和鉴定。A. 贴壁和悬浮生长的GSCs形态及其表达的转录因子；B. 细胞免疫荧光分析人GSCs的SOX2、NESTIN、CD133基因表达。

（2）高剂量TMZ处理GSCs后的相关细胞行为学改变

我们参照文献报道用10, 20, 100 μM 不同浓度TMZ分别处理GSCs, 进行集落形成实验及细胞迁移功能的检测。结果发现: 高浓度 (100 μM) TMZ处理GSCs后细胞的相关集落形成和细胞迁移能力均受到明显抑制, 推测高剂量TMZ对细胞产生了一定的影响, 且同时观察到细胞发生凋亡等现象 (图4)。

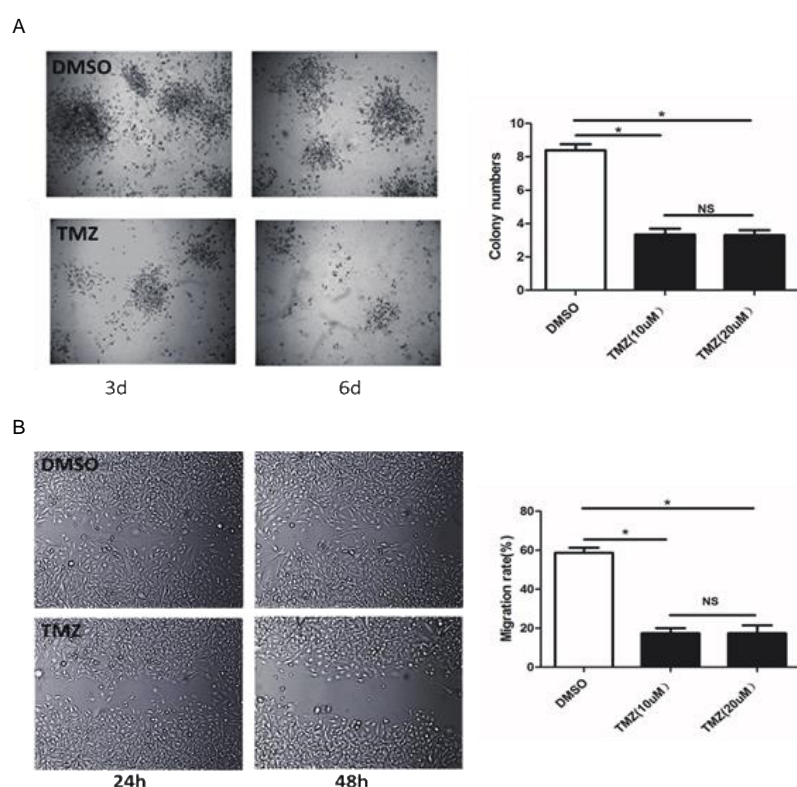


图4. TMZ对GSCs相关功能的影响。A. 集落形成实验;

B. 细胞划痕实验 (*表示p值 < 0.05)

（3）低剂量替莫唑胺（TMZ）诱导处理GSCs产生耐药性

在前期TMZ浓度筛选的基础上, 我们推测用相对较低的临床治疗浓度长期处理GSCs有可能得到耐药细胞株。据此, 我们用10 μM TMZ的GSC培养基长期诱导GSCs。结果发现, 细胞经过1个月的培养, GSCs对TMZ产生抗药性, 获得稳定的胶质瘤耐药细胞株GSC/TMZ。显微镜下观察发现耐药细胞株大部分贴壁, 大小均匀, 边界清楚 (图5A), 与未用药物处理细胞形态相似, 细胞增殖实验检测发现, GSC/TMZ细胞生长相对

缓慢，第4天进入对数生长期，倍增时间增加(图5B)。免疫荧光检测结果显示，GSC/TMZ中CD133和SOX2阳性细胞比例增加，说明肿瘤干细胞比例增加，细胞具有耐药性。

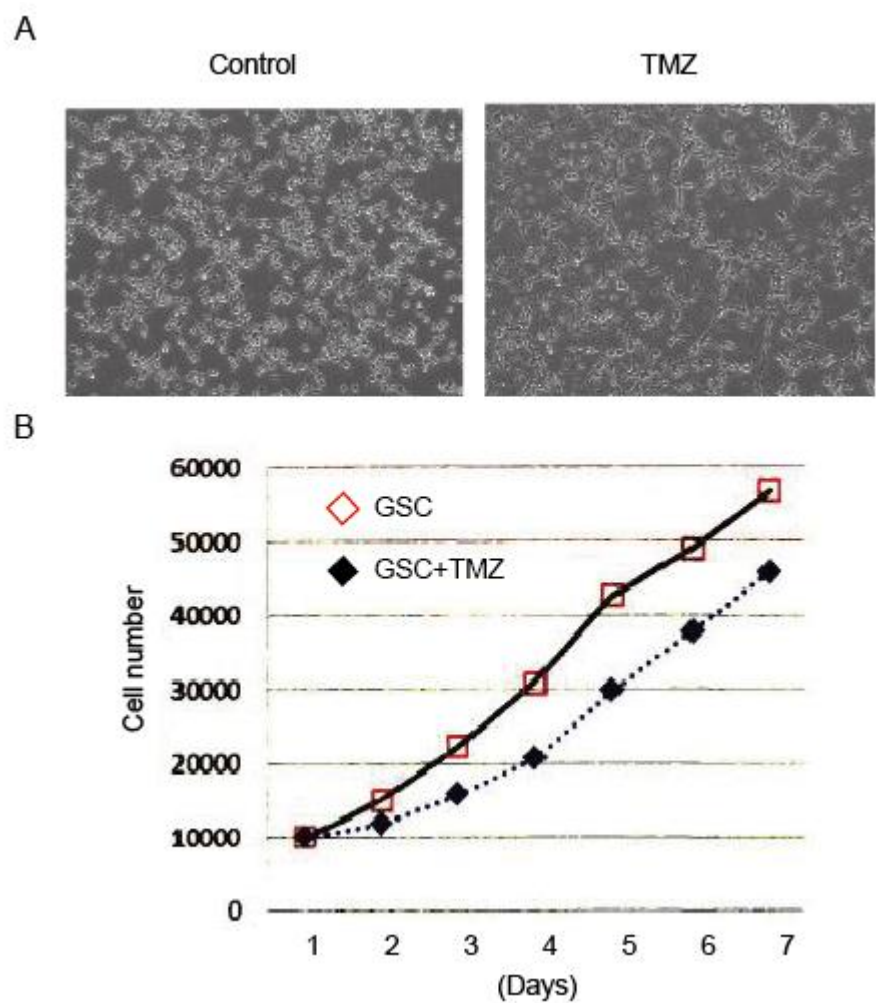


图5. 低剂量替莫唑胺（TMZ）诱导处理GSCs耐药性的产生。A. 胶质瘤耐药细胞株形态学观察；B. TMZ处理GSC后的生长曲线。

（4）GSC体内示踪细胞系的构建

我们进而建立了慢病毒介导的荧光素酶示踪系统，该系统通过将GFP和荧光素酶基因整合进GSCs，可在小鼠体内精确追踪GSCs的成瘤能力。目前已成功构建同时表达荧光素酶和绿色荧光蛋白的慢病毒质粒，并包装慢病毒感染细胞构建了示踪GSC细胞系（图6）。

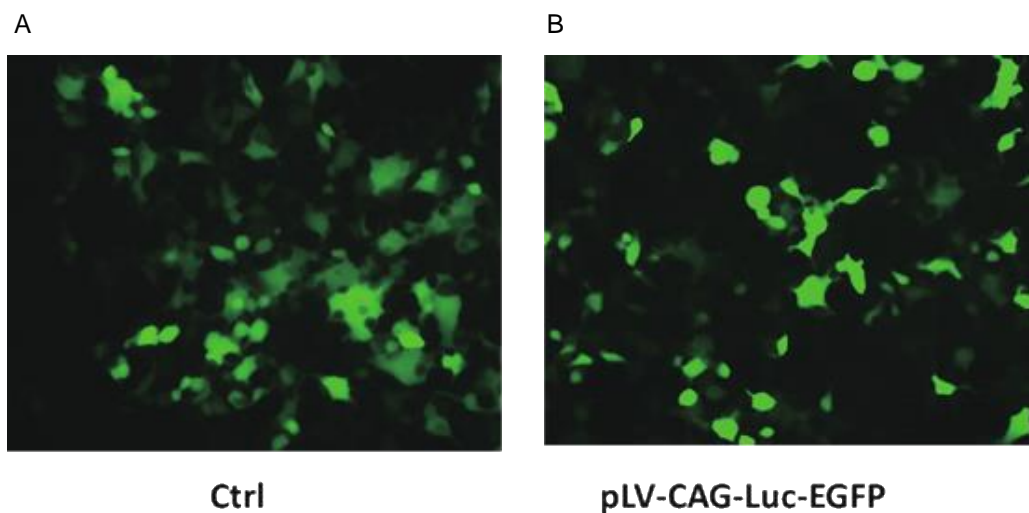


图6. 慢病毒包装48h。

(5) 胶质瘤IV期和复发性胶质瘤病人样本的RNA-seq数据分析

目前，申请人已经下载Chinese Glioma Genome Atlas project (CGGA) 数据库中胶质瘤IV期和复发性胶质瘤病人样本的RNA-seq数据200多套，正在利用RUM软件比对到hg19版本的人类参考基因组，并进行lncRNA初步筛选。

上述初步结果为拟开展的研究奠定了良好的基础。

五、项目创新性

项目创新性：

耐药已成为胶质瘤治疗的瓶颈，如何系统的筛选出与耐药相关的蛋白质编码基因和非编码 RNA 是亟待解决的科学问题。为了解决这个难题，我们提出了干细胞体内进化筛选 (*in vivo* SELEX) 的新策略，有望解决困扰癌症治疗研究的瓶颈难题。依据“肿瘤干细胞”的理论，从病人样本出发通过体内进化筛选出与替莫唑胺 (TMZ) 耐药密切相关的非编码 RNA，为我们研究肿瘤耐药性研究提供了新的思路和方法。研究结果也有望阐明神经胶质瘤耐药性的分子机理并为临床治疗提供新靶点。

六、项目经费预算

(一) 直接费用 8 万元

1、设备费 0 万元

(1) 设备购置费：无

(2) 设备试制费：无

(3) 设备改造与租赁费：无

2、材料费 2.7 万元

实验动物类：包括 C57/BL6 的购买 0.25 万元（50 元/只×50 只），小鼠的饲养费用 6 月×10 笼×120 元/笼/月=0.72 万元等，共计 0.97 万元。**细胞培养耗材类：**培养板 1000×5 元/个=0.5 万元，培养皿 1000×5 元/个=0.5 万元，培养瓶 200×5 元/个=0.1 万元，冻存管 200×5 元/个=0.1 万元，二氧化碳 60×60 元/瓶=0.36 万元，液氮 4 元/升×50 升/月×8.5=0.17 万元，共计 2.7 万元；

3、测试化验加工费 2.8 万元

高通量测序分析费 2.8 万（0.7 万/次×4 次）

4、差旅费/会议费/国际合作与交流费 1 万元

用于总计 2 人次的国内会议及学术交流的住宿、路费和会议注册费等，2×5000 元/人次=1 万元。

5、出版/文献/信息传播/知识产权事务费 1.5 万元

论文发表：1.5 万元。目前国际刊物版面费、彩图费及抽印本费平均为每篇论文约 1.5 万元。

七、申请人承诺

我保证填报内容真实、准确。如果获得资助，我将严格遵照《中国博士后科学基金资助规定》，按计划认真开展研究工作。

申请人（签字）：

年 月 日

八、申报单位审核意见

负责人（签字）：

单位（盖章）：

年 月 日