

市创项目编号：

曦源项目编号： 22564

复旦大学本科生学术研究资助计划 (FDUROP)

曦源项目结题报告

(2023 版)

课题名称 对一种最短的肝脏特异性启动子的
序列设计及优化研究（对一种最短的肝脏特异性启动子的
序列优化）

项目参与人 王思远

院 系 生命科学学院

导 师 凌晨

填表日期 2023 年 2 月 12 日

复旦大学教务处制表

二、结题报告

说明：

1. 根据开题报告中的研究进展计划要求作结题报告。
2. 根据课题的具体情况选择合适的结题形式，除报告和论文外，如用其他方式展示研究成果，则需附一篇包含研究背景、过程以及内容等的介绍性文字。
3. 书面版结题报告页数、格式不限，但须符合本学科基本学术规范。
4. 电子版结题报告的格式必须符合附录 2 中的格式要求。
5. 结题报告后请附参加该项目的心得和感悟。

对一种最短的肝脏特异性启动子的序列优化

生命科学学院 王思远

指导教师：生命科学学院 凌晨

摘要：腺相关病毒 (Adeno-associated virus, AAV) 被认为是目前基因治疗研究中最具潜力的基因递送载体，目前已有多种设计方法以提高其感染效率及精准性。其中，组织特异性启动子优化一种高效方法被广泛研究。目前已有多种肝脏特异性启动子，然而它们均具有启动强度不足或序列长度太长等缺点。因此，开发新的肝脏特异性启动子对于优化 AAV 载体具有重要意义。在此，我们发现了一个在肝脏特异性表达的基因 H 的启动子在肝脏细胞上具有很高的启动强度与组织特异性。通过序列截短，我们获得了在体外和体内都具有高启动强度的鼠源 H 启动子最短截短体 mH-F4，可以成为目前最短的肝脏特异性启动子。连接了 ApoE 增强子的 ApoEen-mH-F4 在体外启动强度明显提升。删除转录因子 FOS 和 E2F4 结合位点显著抑制了 mH-F4 的启动强度，表明其可能为调控 mH-F4 的关键分子。我们的研究为肝脏基因治疗提供了新的高效工具。

关键词：H 启动子；肝脏特异性；序列优化

Abstract: Nowadays adeno-associated virus (AAV) is recognized as the most promising gene delivery vector in gene therapy, for which there have been plenty of engineering strategies to enhance transduction efficiency and accuracy. Among them, optimization of tissue-specific promoters is widely studied as a method with high efficiency. So far, many liver-specific promoters have been developed. Yet they have shortages of either weak promoting strength or excessively long sequences. Therefore, developing new liver-specific promoters is of great importance to AAV vector optimization. Here, we discovered a promoter of a liver-specific gene H, with high strength and tissue-specificity in liver cells. We obtained the shortest truncated promoter mH-F4 of mouse-derived H promoter with high strength both *in vitro* and *in vivo*, which could become the shortest liver-specific promoter to date. ApoEen-mH-F4, attached with ApoE enhancer, was found significant strength enhancement *in vitro*. And deletion of FOS and E2F4

binding sites on mH-F4 prominently inhibited its strength, indicating their potential role as key regulators of mH-F4. Our study provided new efficient tools for liver gene therapy.

Keywords: H promoter; liver-specific; sequence optimization

引言（前言）

腺相关病毒 (Adeno-associated virus, AAV), 是一种 DNA 缺陷型细小病毒经过数十年的研究与改造, 可以成功转变为活体递送外源基因的良好载体, 广泛应用于各种疾病的基因治疗, 并被认为是未来最有潜力的基因治疗工具之一。通过将目的基因、启动子等原件放入 AAV 基因组中以替换其原本的 rep、cap 基因, 并与 rep、cap 以及腺病毒辅助基因的质粒共转染细胞可以生产出能够完成基因递送的 AAV 载体¹。

为了使 AAV 载体具有更高的组织靶向能力、感染效率、目的基因携带能力与目的基因表达水平以及更低的免疫原性等, 需要根据治疗需求对 AAV 进行载体设计。常用的载体设计思路包括针对 AAV 衣壳的设计和针对 AAV 基因组的设计两个方面²。在针对 AAV 基因组的设计中, 启动子优化以其原材料丰富、优化技术成熟、较其他方法更为快捷有效等优点成为 AAV 载体设计的一种高效方法。组织特异性启动子的使用能够在 AAV 基因治疗过程中, 让目的基因只在特定组织表达而在其他组织中不会错误表达, 既有利于治疗基因在特定组织中的具体作用的研究, 也有利于提高治疗的准确性和安全性³。因此, 组织特异性启动子的优化对于 AAV 基因治疗具有重要意义。

目前常用的肝脏特异性启动子包括: TTR (transthyretin, 320 bp) 启动子、hAAT (human alpha-antitrypsin, 402 bp) 启动子、Alb (murine albumin, 810 bp) 启动子、TBG (thyroxine-binding globulin, 460bp)⁴⁵⁶等。上述启动子具有核心启动子较短且组织特异性较强的特点, 但普遍存在仅有核心启动子时启动强度不够的缺陷, 必须搭配增强子才能维持可观的基因表达水平, 大大压缩了目的基因的序列空间。我们在前期研究中发现了在小鼠肝脏中特异性表达的基因的启动子 (因涉及专利保护, 以下简称为 H 启动子), 全长约 2000 bp, 下游基因参与肝脏铁调控。我们初步发现 H 启动子在荧光素酶报告基因检测实验中具有强于目前最强的 CMV 启动子的启动活性, 且其在肝脏细胞系中的表达水平显著高于非肝脏细胞系。以上结果显示, H 启动子很可能经优化后成为一个序列长度短但具有高启动强度的肝脏特异性启动子, 甚至可能成为迄今可

¹ Melissa A Kotterman, David V Schaffer. Engineering adeno-associated viruses for clinical gene therapy. *Nat Rev Genet.* 2014 Jul;15(7):445-51.

² Chengwen Li, R Jude Samulski. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet.* 2020 Apr;21(4):255-272.

³ Chengwen Li, R Jude Samulski. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet.* 2020 Apr;21(4):255-272.

⁴ W Xiao, S C Berta, M M Lu, A D Moscioni, J Tazelaar, J M Wilson. Adeno-associated virus as a vector for liver-directed gene therapy. *J Virol.* 1998 Dec;72(12):10222-6.

⁵ Daniel G. Hafenrichter, Xiaoyun Wu, Steven D. Rettinger, Susan C. Kennedy, M. Wayne Flye, Katherine Parker Ponder. Quantitative Evaluation of Liver-Specific Promoters From Retroviral Vectors After In Vivo Transduction of Hepatocytes. *Blood.* 1994 Nov 15;84(10):3394-404.

⁶ Y Tani, Y Mori, Y Miura, H Okamoto, A Inagaki, H Saito, Y Oiso. Molecular cloning of the rat thyroxine-binding globulin gene and analysis of its promoter activity. *Endocrinology.* 1994 Dec;135(6):2731-6

使用的最短的肝脏特异性启动子。

本项目旨在分析 H 启动子序列结构，通过序列截短寻找其核心区域，并进一步对其进行序列优化，得到具有高启动强度和短序列长度的 H 启动子，为 AAV 治疗肝脏疾病及整个基因治疗领域的研究提供新的研究工具，并投入临床应用。

1 初步验证 H 启动子的启动强度及组织特异性

为验证 H 启动子的启动强度和组织特异性，在获得了全长的人源 H 启动子（hH, 1825bp）和鼠源 H 启动子（mH, 1926bp）后，我们先将 H 启动子与 CMV 启动子连接萤火虫荧光素酶报告基因（FLuc）在肝脏细胞系 Huh7 和非肝脏细胞系 HEK293 上进行启动强度的比较（图 1.A）。在 Huh7 上，H 启动子出较高的启动效应，其中 mH 表现出明显强于 CMV 启动子的启动效应。而在 HEK293 中 H 启动子启动效应显著弱于 CMV 启动子。以上结果表明 H 启动子在可能在肝脏细胞上有特异性的高启动强度。此外，mH 启动子的启动强度要高于 hH 启动子。进一步地，我们在小鼠中进行启动强度的体内验证（图 1. B）。活体成像结果显示，mH 启动子在体内的启动效应比 hH 启动子强，且高于 CMV 启动子。因此，我们选择启动强度更强的 mH 启动子进行序列优化。

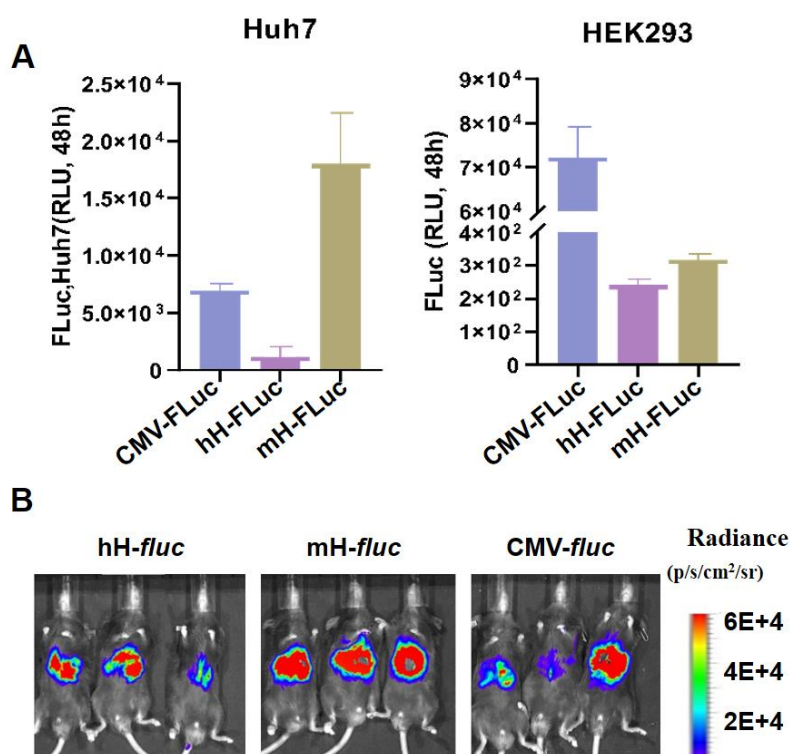


图 1. H 启动子启动强度及组织特异性初步验证。A: CMV、hH、mH 启动子连接 FLuc 在不同细胞系上的表达情况。B: CMV、hH、mH 启动子连接 FLuc 在小鼠体内的表达情况。

2 对 mH 启动子进行序列截短及强度验证

为了确定 mH 启动子的核心序列，我们设计并得到了基于全长 mH 启动子的不同长度的截短体 mH-F1~6，并构建质粒在细胞层面进行启动强度的检验（图 2. A~C）。在 Huh7 细胞上，mH-F1、F2、F3、F4 均具有较高的启动效应，且与 CMV 启动子相似。而 mH-F5、F6 的启动效应出现了极显著的下降，远低于其他的启动子。类似地，在 HepG2 细胞上 mH-F5、F6 启动效应也显著低于其他的截短体。这说明长度分别为 148bp 和 54bp 的 mH-F5 和 F6 不具有完整的核心启动子序列。而 319bp 的 mH-F4 既有较强的启动强度，也有较短的序列长度，可作为包含 mH 的核心启动子区域的最短序列，对 mH 的启动强度至关重要。值得注意的是，mH-F4 比长度为 320bp 的 TTR 启动子还要短，可以进一步开发成为目前最短的肝脏特异性启动子。另外，在同样是肝脏细胞系的 HepG2 上，mH 及其截短体的启动效应明显低于 CMV，并非与 Huh7 的结果相似。这显示 mH 启动子可能有部分肝脏细胞的特异性，而不是所有肝脏细胞。

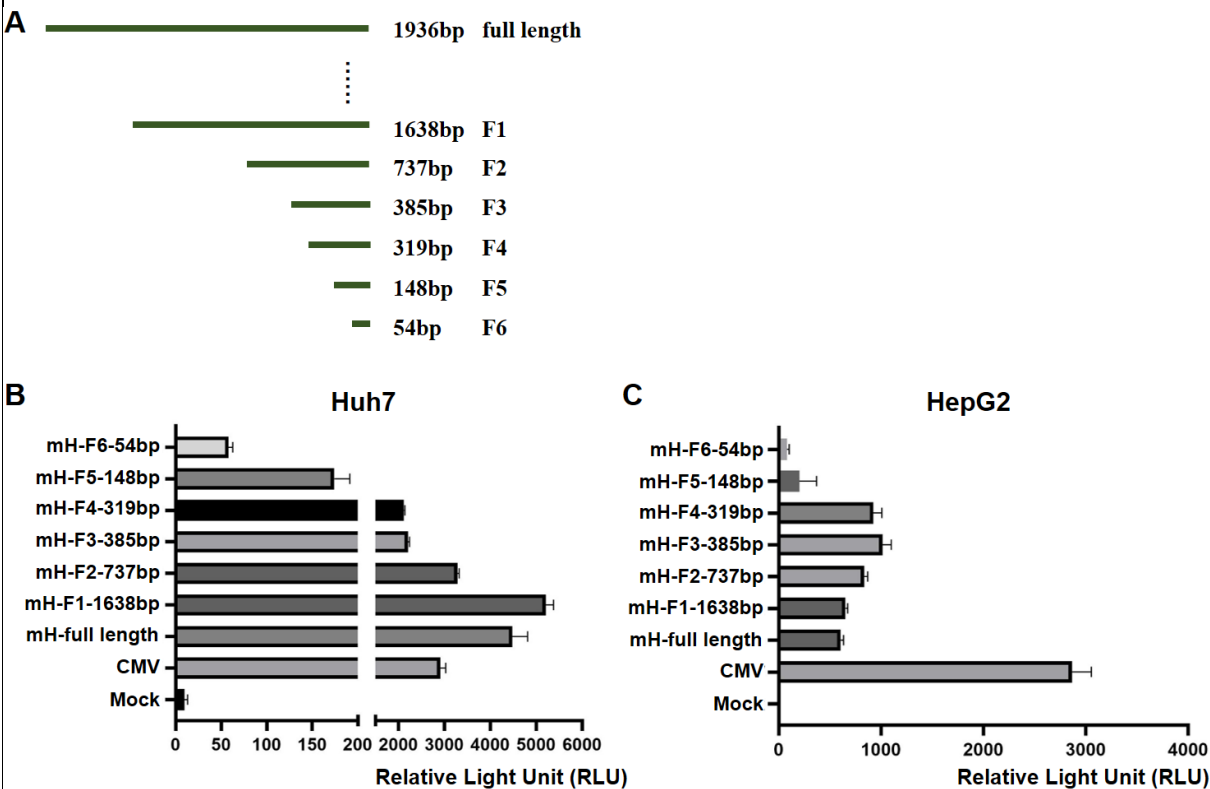


图 2. mH 启动子不同截短体的构建及体外强度验证。A: mH 启动子不同截短体示意图。B: mH 启动子不同截短体在 Huh7 上的 FLuc 表达情况。C: mH 启动子不同截短体在 HepG2 上的 FLuc 表达情况。

3 连接上游增强子进一步优化 mH-F4

为进一步增强 mH-F4 的启动强度，我们将 ApoE (154bp)、SV40 (94bp)、Raoyi (23bp) 几种不同的增强子序列插入到 mH-F4 上游，构建出相应的质粒，检验插入增强子后启动效应是否会增强（图 3. A&B）。结果显示，mH-F4 在连接了 ApoE 或 SV40 增强子后，其启动强度显著增强，甚至超过了全长 mH 启动子，并在 Huh7 细胞中显著高于 CMV 启动子。在 HEK293 细胞上连接增强子的 mH-F4 启动强度也有提高，但

依然显著低于 CMV 启动子，表明 mH-F4 及连接增强子的 mH-F4 均具有较明显的肝脏特异性。其中，ApoE 增强子对于 mH-F4 的启动强度的优化作用最强，ApoEen-mH-F4 具有成为一个很强的短序列肝脏特异性启动子的潜能。

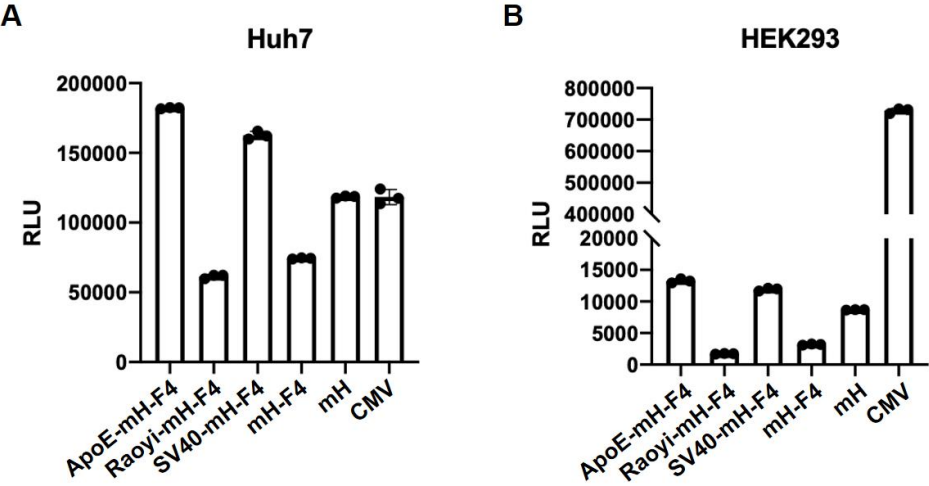


图 3. mH-F4 上游连接不同增强子的体外强度验证。mH-F4 前分别连接 ApoE、Raoyi、SV40 增强子，在 Huh7 (A) 和 HEK293 (B) 检测 FLuc 表达情况。

4 体内验证 mH 截短体及优化后启动子启动强度

为验证截短及优化后的 mH 启动子在体内是否还能维持较高的启动强度，我们将 mH 的截短体与连接不同增强子的 mH-F4 质粒尾静脉快充注射入小鼠体内，在 48 小时后活体成像观察启动效应的强弱（图 4）。mH-F4 及连接 ApoE 和 SV40 增强子的优化启动子在小鼠体内的启动效应均较强，与 CMV 启动子十分接近。但是连接这两种增强子对于 mH-F4 在小鼠体内的启动强度本没有显著的促进作用。同时，mH-F5、F6 在体内的启动效应对比 mH 及其他截短体显著下降，这与在细胞层面得到的结果相吻合。以上结果说明，mH-F4 以及 ApoEen-mH-F4 在体内也具有和体外相似的高启动强度，可以被用于外源基因的体内表达。

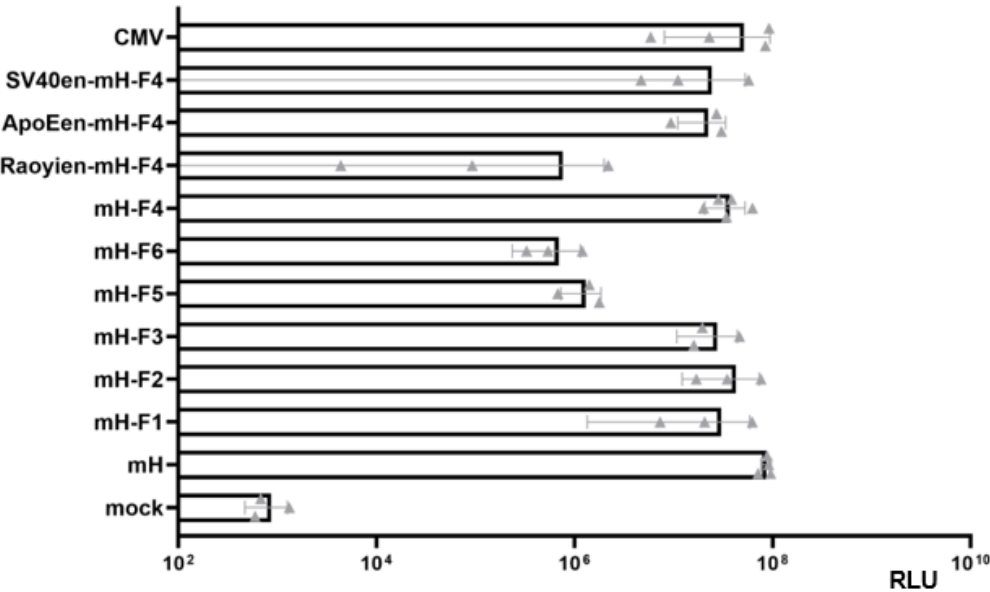


图 4. mH 启动子不同截短体与 mH-F4 连接不同增强子的体内强度验证。

5 探究 mH-F4 序列关键转录因子结合位点

为探究为何 mH-F4 是 mH 的核心区域及哪些转录因子对其启动能力起关键的调控作用，我们利用 JaspAr 平台预测了 mH-F4 的转录因子结合位点，最终筛选出 6 个分值最高，即最可能结合并调控 mH-F4 启动子的转录因子：CREM, KLF4, E2F4, STAT3, FOS, SP5，并在 mH-F4 中找到相应的位点序列（图 5. A）。随后，为确定哪些转录因子是 mH-F4 的关键转录因子，我们分别构建了以上六中转录因子结合位点删除的启动子，并构建质粒，通过转染 Huh7 细胞检测启动效应的变化情况（图 5. B）。结果显示，六个转录因子结合位点的删除对于 mH-F4 的启动能力均有不同程度的抑制作用。其中，FOS 和 E2F4 结合位点的删除对 mH-F4 启动能力的抑制作用最为明显，这说明 FOS 和 E2F4 可能是调控 mH-F4 启动子的关键分子。

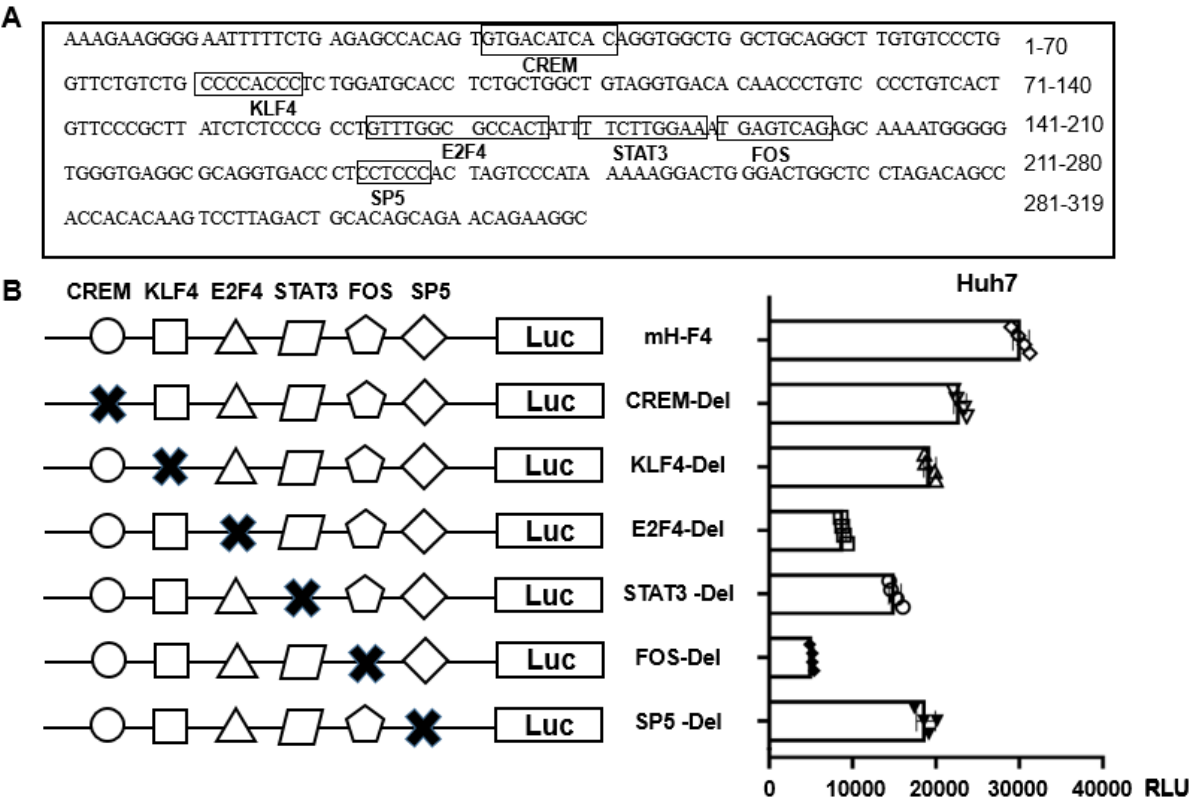


图 5. mH-F4 关键转录因子结合位点初探。A: mH-F4 序列上关键转录因子结合位点预测。B: mH-F4 删除 6 种转录因子结合位点后在 Huh7 上的 FLuc 表达情况。

总结

AAV 作为基因治疗领域最有力的基因递送载体之一，如何对其进行优化，使其应用范围更广、治疗效率更高、安全性更好，对于基因治疗的应用具有深远意义。启动子，尤其是组织特异性启动子的优化、开发，能够很大程度地完善 AAV 载体的使用，为更多组织器官的遗传疾病提供全新的治疗方案，带来治愈疑难杂症的希望。

我们此前发现的 H 启动子在肝脏细胞中特异性地表现出很高的启动强度，而在别的组织中启动强度较弱，是开发新的肝脏特异性启动子的理想对象。通过序列截短，

我们成功地找出了包含 mH 启动子核心序列的 mH-F4, 其仅为 319bp 的序列长度也比目前常用的几种肝脏特异性启动子要短, 同时仍然具有非常强的启动效应及肝脏特异性, 在肝脏细胞中与组成型强启动子 CMV 的强度基本持平, 可以开发成为目前可用的最短肝脏特异性启动子。为了进一步提高 mH-F4 的启动强度, 我们分别在其上游连接了几种增强子, 以探究其启动强度是否还会提升。体外实验的结果揭示了总长仅为 473bp 的 ApoEen-mH-F4 的启动强度较 mH-F4 上升最为明显, 且显著高于约 600bp 的 CMV 及进 2Kb 的全长 mH, 无论长度还是强度都更有优势。但进一步的体内验证中, ApoEen-mH-F4 的强度相比 mH-F4 和 CMV 并没有明显的增高。ApoEen-mH-F4 是否能在体内也表现出在体外实验中极高的启动强度还有待进一步的确认。但无可否认的是, mH-F4 无论在体内还是在体外均有着相当高的启动强度。

目前影响 mH-F4 的启动强度和组织特异性的分子机制尚不明晰。我们通过预测 mH-F4 上的转录因子结合位点并删除相关序列, 发现 CREM、KLF4、E2F4、STAT3、FOS、SP5 六个转录因子的结合位点删除对其强度均有影响, 其中 FOS 和 E2F4 结合位点的删除造成的影响最大, 表明 FOS 和 E2F4 很可能与 mH-F4 发生互作并调控其活性。后续的研究中, 我们会针对 mH-F4 进行凝胶转移 (EMSA)、染色质免疫沉淀 (ChIP) 等实验, 探究 FOS、E2F4 同 mH-F4 的互作, 并挖掘其调控 mH 启动子活性的分子机理。此外, 因为我们构建的截短启动子都是由远端向转录起始点进行截短, mH 启动子远端是否存在调控其转录活性或组织特异性的顺式元件我们并未进行探究。后续研究中我们也会针对 mH 启动子的远端序列进行相关研究, 以进一步地优化 mH 启动子。

参考文献

- [1] Melissa A Kotterman, David V Schaffer. Engineering adeno-associated viruses for clinical gene therapy. *Nat Rev Genet.* 2014 Jul;15(7):445-51.
- [2] Chengwen Li, R Jude Samulski. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet.* 2020 Apr;21(4):255-272.
- [3] W Xiao, S C Berta, M M Lu, A D Moscioni, J Tazelaar, J M Wilson. Adeno-associated virus as a vector for liver-directed gene therapy. *J Virol.* 1998 Dec;72(12):10222-6.
- [4] Daniel G. Hafenrichter, Xiaoyun Wu, Steven D. Rettinger, Susan C. Kennedy, M. Wayne Flye, Katherine Parker Ponder. Quantitative Evaluation of Liver-Specific Promoters From Retroviral Vectors After In Vivo Transduction of Hepatocytes. *Blood.* 1994 Nov 15;84(10):3394-404.
- [5] Y Tani, Y Mori, Y Miura, H Okamoto, A Inagaki, H Saito, Y Oiso. Molecular cloning of the rat thyroxine-binding globulin gene and analysis of its promoter activity. *Endocrinology.* 1994 Dec;135(6):2731-6.

后记（致谢）

在本人的曦源项目课题结题之际，首先我想感谢我在本课题的指导老师凌晨老师。凌老师学识渊博，思路严谨，从本课题最开始的立项，到每一步实验的具体实施，再到报告的书写，凌老师一直在细心地给我指导，带我了解真正的科研生活是如何的，以及如何成为一个合格的科研人。在 2022 年疫情肆虐的日子里，也是凌老师不间断地通过微信或电话等方式与我保持联系，传达问候。我深切地感受到凌老师具有的科学家的严谨治学的态度以及为人师表、关心学生的师德，在此向凌老师表达我衷心的感谢。

其次，我要感谢在实验室指导我学习、进行实验的杨恒斌师兄、郑青云师姐、何允师兄及周立平师兄。几位师兄师姐的细心指导让我学会了不少实验技术，为我带来了实验室的注意事项与实验的小技巧，也为我的课题提供了部分实验数据。同时，师兄师姐们也帮助我很好地融入了我们课题组的大家庭。在此，我感谢师兄师姐们对我的指导与帮助。

我还要感谢在 AIBS2 课程中给予我课题指导意见的王永明、余巍、郑丙莲和倪挺老师。四位老师对我的课题提出了很多很有建设性的意见和建议，给我的课题带来了更多的新思路以及规范，帮助我更好地完成课题与中期答辩。

最后，我要感谢所有给予我和我的课题以支持鼓励的亲人、老师、同学、朋友。本课题的进行，离不开每一位支持我的人的关心与帮助。在此，我深表感谢！

指导教师评语

王思远同学在本课题组进行曦源项目课题研究期间，勤奋认真，能够积极地设计相关实验条件及流程，学习研究中涉及到的各项实验技术，并对实验结果进行分析处理和及时反思。同时该同学在实验室中能够积极地向研究生师兄师姐请教与探讨课题相关知识，并积极参与每一次组会，在组会上认真思考，参与课题研究进展的讨论。

对于本课题，该同学能够在本组研究生的指导下出色地完成各项实验并处理实验数据，获得了符合预期的实验结果。同时，该学生也能灵活设计实验计划，根据现有实验结果对后续研究进行调整。在对课题的研究过程中，该同学在对于课程所学知识向实践转化，科学研究的严谨性、挑战性，实验室的流程及规范，科研伦理等多个方面均有较为明显的进步。

相信曦源项目对于王思远同学今后的课程及科研学习都有不小的帮助和锻炼。望该同学继续努力，不断进步。

课题心得与感悟

作为曦源项目课题“对一种最短的肝脏特异性启动子的序列优化”的项目负责人与完成人，我在 2022 年项目开展的过程当有很多收获。

在课题研究中，我学习并掌握了很多的生物学实验。我通过设计 PCR 扩增引物来获取不同长度的启动子序列，并进行分子克隆实验构建了相应的质粒，利用转化实验构建了携带质粒的大肠杆菌菌株并入库，用于后续试验的质粒的抽提制备。在此过程中，我学到了：如何使用 NCBI 等生物学数据库来获取我想要的 DNA 序列并设计合成 PCR 引物，如何进行分子克隆实验并通过酶切电泳等方式来验证实验结果，这一系列的实验帮助我掌握了构建并获得质粒的整个流程。在这些实验中，我也遇到过 PCR 反应异常，没得到目标条带，转化实验失败等等诸多问题，我通过实验的失败，总结出了一些进行相应实验的技巧和注意事项，以更好地指导我后续的科研学习。随后，我学习了如何进行细胞实验，从最基础的培养细胞、传代开始，学习了常用的单质粒转染、三质粒转染包装病毒以及后续的萤火虫荧光素酶报告基因检测实验等等实验技术。从中我了解了不同细胞系的独特的形态及生理特征，掌握了借助荧光显微镜观察实验结果以及国重平台酶标仪进行荧光素酶发光实验检测的操作流程。熟能生巧，我通过多次细胞被污染、实验操作失误、转染效率低、操作问题导致数据不可信等等失败，最终找到了进行上述细胞实验的感觉，总结出细胞实验的一些经验。在后期培养细胞过程中，我已经能够较熟练地进行实验，很好地降低了自己实验操作问题带给细胞及最终实验结果的负面影响。此外，我还学习使用 Jaspar 等网站平台进行转录因子预测的生物信息学知识，丰富了自己的生信知识与实践能力。

我觉得在课题的开展过程中，最重要的收获莫过于对于实验设计能力与我的意志力的锻炼。实验技术的学习固然非常重要，可以帮助我进行具体的实验操作，得到相应结果。但更为重要的就在于如何去设计实验来获得想要的实验结果。由表及里、逐渐深入是一个课题研究的必然过程，如何在获得阶段成果的基础上确定下一步做什么是我应该锻炼的能力。例如，在获得全长 H 启动子后，我们如何分析它的序列，那就该设计不同的截短去验证其是否还具有启动能力来确定核心区域，获得核心区域后，又要去分析能对核心区域做些怎样的进一步的优化。这个提出科学问题并解决，继而提出新的科学问题的思路是我在课题研究过程中学到的，我将在今后的科研学习生活将其运用并发扬。其次，我也明白了科研并不是一项简单的工作，而是费时又费力的的大工程。实验的周期往往很长很累，还经常伴随着不理想的结果，甚至是完全失败或者和预期完全相反，所以经常需要重复以确保能得到真实可靠且理想的结果。同时实验的过程中，对于各种条件的控制、对照组的选取与设置等也至关重要。所以，在做实验的时候一定要戒骄戒躁，耐心地走好每一步。这些心得是只有亲身经历了课题研究的过程才能感受到的，并不会在日常的课程学习中得到。

通过曦源项目，我对于实验室和真正的科学研究有了更加全面且深刻的认识，也锻炼了自己的实验设计能力和动手能力。在今后的学习生活中，我将用曦源项目的心

得体会指导我的实践，继续努力，丰富自己的知识储备，提升自己的科研能力。

项目负责人（签名）：王恩远

日期：2023 年 2 月 12 日

三、指导老师评语

请手写意见。电子版须誊录导师手写的意见。



復旦大學

王思远同学在本课题组进行曦源项目《对一种最短的肝脏特异性启动子的序列设计及优化研究》期间，勤奋认真，能够积极地设计相关实验条件及流程，学习研究中涉及到的各项实验技术，并对实验结果进行分析处理和及时反思。同时王同学在实验室时积极地向研究生师兄师姐请教与探讨课题相关知识，并积极参与每一次组会，在组会上认真思考，参与课题研究进展的讨论。

对于本课题，王同学能够在本组研究生的指导下出色地完成各项实验并处理实验数据，获得了符合预期的实验结果。同时，该学生也能够灵活设计实验计划，根据现有实验结果对后续研究进行调整。在对课题的研究过程中，该同学在对于果课程所学知识向实践转化，科学研究的严谨性，挑战性，实验室的流程及规范，科研伦理等多个方面均有较为明显的进步。

相信曦源项目对于王思远同学今后的果课程及科研学习都有不小的帮助和锻炼。望王同学继续努力，不断进步。

凌晨

2023.02.11于生科院

指导教师（签名）：

凌晨

日期： 2023 年 2 月 13 日

四、院系评审意见

基本 评定	课题完成情况: ☒ 按计划完成, 取得预期成果 ☐ 基本完成, 但与预期目标尚有差距 ☐ 未达到预期目标	成果的创新性: ☒ 很好 ☐ 较好 ☐ 一般 ☐ 没有创新之处
	成果学术水平: ☐ 成果优秀, 已发表论文 ☒ 成果优秀, 建议发表论文 ☐ 学术水平较高, 成果整理后可发表论文 ☐ 学术水平尚可, 但尚未达到发表学术论文水平 ☐ 整个过程符合学术规范, 但成果水平一般 ☐ 不符合学术规范, 成果水平较差	
	经费使用情况: ☒ 符合项目实际情况, 使用规范 ☐ 与项目实际情况略有出入, 使用略不规范 ☐ 经费胡乱使用, 不符合财务规范	过程记录情况: ☒ 记录规范、完整 ☐ 记录不完整、部分记录随意不规范 ☐ 未提交记录或有作假行为
综合评价 与建议	王思远同学在曦源项目课题《对一种最短的肝脏特异性启动子的序列优化》开展过程中, 按照课题研究进展计划, 合理规划实验安排, 得到了一系列可观的实验结果, 并得出了符合课题预期的实验结论。同时, 王思远同学还根据 AIBS2 任课教师的建议, 简化了课题名称, 优化了展示 PPT 的制作以及实验数据图片的处理, 使实验结果得到更好的展示, 并将对与课题内容相关的建议与实验室研究生及指导老师进行探讨, 在原有计划基础上优化了实验方案。综上, 同意王思远同学的曦源项目完成结题。 2022 年印象最深的老师: 吴燕华老师	
评审结果	☐ 同意结题 ☐ 修改后再评审 ☐ 不同意结题	

评审老师签名:

年 月 日

五、学校复核意见

专家评审：

评审老师签名：

日期： 年 月 日

教务处意见：

☐同意结题

☐不同意结题

公 章：

日期： 年 月 日

FDUROP 课题财务日志

[illegible]

注：不够可加行。

学生签字:

导师签字:

日期:

注：财务日志填写

1. 项目自正式立项之日起，即需根据实际开支情况（可少于或超过课题资助总额），按日期记录课题研究所产生的每笔费用。《财务日志》将作为申请浮动资助经费的审核凭证。
2. 费用事项可按以下 12 个类别填写：（1）**图书资料费**，注明所购书名、作者、出版社、单价、数量；（2）**印刷制作费**（打印费、图文制作费、论文版面费），若是论文版面费，须注明发表论文题目、期刊名称、作者排序、发表日期、卷次和页码、期刊类别；（3）**邮寄费**；（4）**交通费**（市内交通费），注明往返地点；（5）**实验仪器设备租赁费**，注明仪器设备名称、价值，使用次数及时间；实验测试、分析费用，注明测试分析项目及费用；（6）**国内会议注册费**；（7）**实验材料购置**，包括实验所需原材料、试剂药品、易耗实验器材，需注明名称、单价及数量；（8）**软件购置**，包括软件或数据库费用，注明所购软件或数据库名称、版本、价格；（9）**委托外单位加工测试费**；（10）**数据采集费**，指开展调查、访谈等发放的实物或被试费；（11）**学生集体活动费**（仅指与导师开展的与课题研究有关的交流研讨所产生的茶点费），须注明每次访谈或交流的时间及发生的茶点费用；（12）**国内旅费**（调研或参加会议），若是调研，请注明往返地点、所乘交通工具；若是参加会议，除地点、工具外，请注明会议名称、地点、参加形式（报告、海报以及是否正式发表论文）。
3. 关于上述第 2 点中第（9）点委托外单位加工测试费，仪器测试、分析费用有实际费用和虚拟费用之分，实际费用是指测试实际所花费用，虚拟费用是指如果是一个外校（或外单位）人员的测试费用（有些院系的大型仪器测试费用校内校外或本单位内外价格不同，虚拟价格是指校外或外单位的测试费用；有些实验室自己有一些测试仪器，实际使用过程中不需要支付费用，也请估计一个如果是校外或外单位样品来测试的费用）。
4. 课题经费不得购买设备（凡是需要做固定资产的，均不得购买）。
5. **第 4 列中填写课题实际执行金额，应包括导师课题组为本课题支出的所有费用。**
6. 财务日志须经学生签字，导师确认后签字。财务日志作为结题报告的附件提交。

附录 2

曦源项目结题报告格式要求

结题报告一般分两个部分，表格部分和论文部分，此外还可以根据自己的需要提供各种形式的附录。结题报告的论文部分必须包含题目、作者姓名和院系、指导教师姓名和单位、中英文摘要、关键词、引言（前言）、正文、注释、参考文献、后记（致谢）和导师评语。具体要求如下：

1. 页面设置：保留 word 默认设置（A4，页边距左 3.17，右 3.17，上 2.54，下 2.54，装订线 0，页眉 1.5，页脚 1.75）
2. 段落：在格式选项下的段落设置选项中，“缩进”选 0 字符，“间距”选 0 行，“行距”固定值 20 磅，“特殊格式”选（无）。
3. 字体和字号：中文字体一般用**宋体**（有特殊要求的除外），英文用 **Times New Roman 字体**

论文题目字号为小二号，**加粗**，居中；若有副标题，则用小三号，**加粗**，居中。

作者院系、姓名为小四号，**加粗**，居中；

指导教师姓名为小四号，**加粗**，居中；

摘要、关键词字号为五号，“摘要”和“关键词”**加粗**；（中文首行缩进两个中文字符；英文则顶格）

引言（前言）标题字号为四号，**加粗**，居中；其他文字字号为小四号。

正文各类标题（包括“参考文献”标题）**加粗**；一级标题用四号字体；二级标题、三级标题用小四号字体；正文其他为小四号；

参考文献、后记（致谢）、指导教师评语为小四号；标题**加粗**，字号为小四号；指导教师评语放在表格中。

4. 附图和附表：图表名为小四号，**加粗**；附表的表头应写在表的上面，居中；附图的标题应写在图的下面，**加粗**，居中。按表、图、公式在论文中出现的先后顺序分别编号。**每个图表尽量放于一页内。**
5. 引文：较长的引文可以不加引号，单独成段，用**楷体**，字号为小四号。
6. 注释：论文一律用脚注（在 word 中“插入”——“引用”——“脚注和尾注”设置）。脚注（如引用文献），用小五号字，严格按以下顺序：序号（用纯阿拉伯数字）、作者姓名、书名（或文章名）、出版社（或期刊名）、出版或发表时间。
7. 参考文献按照正文格式，标题用小四号，居中。（标题**加粗**）
内容及次序如下：著作为[序号]作者或编者、文献题名、出版地、出版社、出版年份、起止页码；论文为[序号]作者、文献题名、期刊名、出版时间、卷号或期号、起止页码；参考文献根据作者或编者姓名的第一个字按字母排序；若超过十篇，按著作和论文分类。
8. 其他注意事项：

- 结题报告一律使用中文书写（外语研究方向除外），可附英文版本。
- 全文尽量不分栏（即只有一栏）。
- 不设置页眉页脚，全文尽量不插入各种分隔符。

9. 样张（见下页）

国有企业“错位”与非国有化问题

标题小二号，加粗

——以**为案例

副标题小三号，加

经济学院 张某某
指导教师 李某某

摘要：本文通过对国有企业职能的重新定位，阐述了当今国企改革的最佳途径，……。

关键词：国有企业¹ 非国有企业²。

空一行

Abstract: This paper relocates enterprise of country's function……

Keywords:

引言（前言）

国有企业……

（正文标题如下）

1 一级标题

四号加粗

1.1 二级标题

小四号加粗，无缩进

1.1.1 三级标题

国有企业作为生产关系的一种组织形式，……。

表1 95年—98年统计表

	95年	96年	97年	98年
项 目				

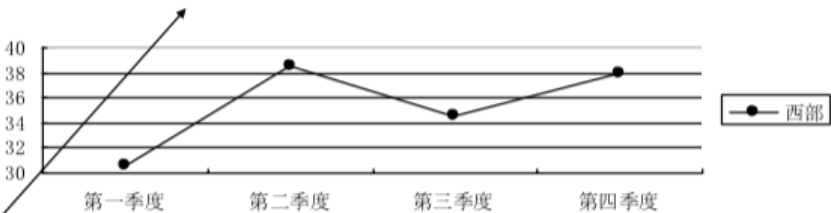


图1 增长趋势图

¹ 国有企业……

² 非国有企业……

国有经济的产业分布既受产业性质所约束，又受国有企业的目标及制度优势所指导，……

空一行

参考文献

空两行

[1] 李桂陵：《国有企业的规模及其演变轨迹》，中国经济出版社，1998 年，第 100 页。

[2] 王平：《中国国有企业改革》，中国经济出版社，1999 年，第 20 页。

后记（致谢）：感谢……

空两行

指导教师评语

该课题……