

# 曙光行动项目 2023 年度总结报告

河北慈善联合基金会  
2024 年 2 月

## 一、项目概述

“曙光行动”项目于2020年发起，项目共募集善款2651307.55元（含腾讯公益基金会配捐99148.48元），其中项目拨款2520000元，公募机构管理费用79307.55元，剩余52000元已转捐至基金会品牌助医项目《生命续航计划》，计划用于支持5名大病患儿的治疗费用。

项目支出金额主要用于科研机构研发、临床试验，研究人员补贴等费用。项目拨款明细为：2020年4月9日向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款1000000元；2020年9月8日向NF专项基金运维人员拨付10000元；2020年9月28日向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款800000元；2021年1月4日向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款200000元，向NF专项基金运维人员拨付10000元；2021年4月29日向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款500000元；2023年5月5日转捐至《生命续航计划》共计52000元。

## 二、项目执行票据

1、2020年4月9日，河北慈善联合基金会向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款1000000元。

### 银行转账回单

客户回单 网上支付跨行清算业务	
交易日期:2020-04-09	交易流水号:2884243
名称:河北慈善联合基金会	借贷标志:贷记
金额:500,000.00	
摘要:NF科研经费	业务类型:
交易对方账号:458548357666	交易对方名称:中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心
交易对方银行行号:104100000004	交易对方银行名称:中国银行总行
来源或用途:网上支付跨行清算	业务参考号:
凭证号码:	回单编号:774950274R1!
打印时间:2020-05-21 10:38:43	自助设备打印,注意避免重复

客户回单 网上支付跨行清算业务	
交易日期:2020-04-09	交易流水号:2875890
名称:河北慈善联合基金会	借贷标志:贷记
金额:500,000.00	
摘要:NF科研经费	业务类型:
交易对方账号:458548357666	交易对方名称:中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心
交易对方银行行号:104100000004	交易对方银行名称:中国银行总行
来源或用途:网上支付跨行清算	业务参考号:
凭证号码:	回单编号:245758743SS!
打印时间:2020-05-21 10:38:43	自助设备打印,注意避免重复

### 发票

031001900104

上海增值税普通发票

No 50252154



机器编号:

587001759364

开票日期: 2020年04月22

0310019

50252

税总通 [2019] 144 号 西安西正印制有限公司

名称: 河北慈善联合基金会	纳税人识别号: 53130000052692053D	地址、电话:	开户行及账号:	密码区: 00+-8<-2-77><53/817+9++*17- 00+<317030<85+++1/-13653->*8C 600805203><40+931/<<4+351>4 +091>73>67++*/01+8/+06493+C			
货物或应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
研发和技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	56
合计					¥94339.62		¥566
价税合计(大写)				壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00			
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	纳税人识别号: 12100000MB1A179896	地址、电话:	开户行及账号:	校验码: 12527 94531			
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员	注: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章				

第二联: 发票联 购买方记账凭证

031001900104

上海增值税普通发票

No 50252155



机器编号:

587001759364

开票日期:

0310019

50252

2020年04月22

税总通 [2019] 144 号 西安西正印制有限公司

名称: 河北慈善联合基金会	纳税人识别号: 53130000052692053D	地址、电话:	开户行及账号:	密码区: 00+*4<+* 00+*47-4<5+/*<533>/615+4922 /-<+896 -+*8+-7>011--4<<4>03/+*+*4 /<-304< 1374717>5/*/7581><4856<165 062/>/->59<75>01+8/+060			
货物或应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
*研发和技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	56
合计					¥94339.62		¥566
价税合计(大写)				壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00			
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	纳税人识别号: 12100000MB1A179896	地址、电话:	开户行及账号:	校验码: 0270127434 88917046971			
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员	注: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章				

第二联: 发票联 购买方记账凭证

031001900104

上海增值税普通发票

No 50252156

031001900104  
50252156



机器编号: 587001759364

开票日期: 2020年04月22日

税总函[2019]144号西安西正印刷有限公司

名称: 河北慈善联合基金会 纳税人识别号: 53130000052692053D 地址、电话: 开户行及账号:	密码区 00*4<+*+8/>9-6-6/7*6+73-31>2 /+<*896-*+2*-03/-51/0-+/07/3 </-306<*714184>34*18>5-0650* +062+317/389/901+8/+066/+113
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号 单位 数量 单价 94339.6226415 金额 94339.62 税率 6% 税额 5660.38
合计	¥94339.62 ¥5660.38
价税合计(大写)	壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 纳税人识别号: 12100000MB1A179896 地址、电话: 开户行及账号: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347 中国银行上海市建国西路支行458548357666	校验码 11233 注

收款人: 管理员 复核: 管理员 开票人: 管理员

第二联: 发票联 购买方记账凭证



031001900104

上海增值税普通发票

No 50252157

031001900104  
50252157

机器编号: 587001759364

开票日期: 2020年04月22日

税总函[2019]144号西安西正印刷有限公司

名称: 河北慈善联合基金会 纳税人识别号: 53130000052692053D 地址、电话: 开户行及账号:	密码区 00/968835-787>54+177656>9434 <7-5>725*39034691*7<<6+*0/5- +275715+622-08+177<78/002+84 /72/52210+39-+01+8/+06612><+
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号 单位 数量 单价 94339.6226415 金额 94339.62 税率 6% 税额 5660.38
合计	¥94339.62 ¥5660.38
价税合计(大写)	壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 纳税人识别号: 12100000MB1A179896 地址、电话: 开户行及账号: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347 中国银行上海市建国西路支行458548357666	校验码 13285 265 注

收款人: 管理员 复核: 管理员 开票人: 管理员

第二联: 发票联 购买方记账凭证



031001900104 上海增值税普通发票

No 50252158

031001900104  
50252158

机器编号:  
587001759364

开票日期: 2020年04月22日

税总函[2019]144号西安西正印制有限公司

购买方	名称: 河北慈善联合基金会	密码区	00/-4+26+<77<+560*+-247*948+ *87774709-4<3+<1422<-0165295 9-664*+93+66-></6/851930369 /8310--86/8*3201+8/+0648084>				
	纳税人识别号: 53130000052692053D		单价	金额	税率	税额	
货物或应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
				*研发和技术服务*科研协作费			
合计				¥94339.62		¥5660.38	
价税合计(大写)		⊗ 壹拾万圆整		(小写)¥100000.00			
销售方	名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	备注	校验码 02992 21508 804				
	纳税人识别号: 12100000MB1A179896		12100000MB1A179896				
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347		发票专用章					
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666		收票人: 管理员					
收款人: 管理员		复核: 管理员		开票人: 管理员			

第二联: 发票联 购买方记账凭证



031001900104 上海增值税普通发票

No 50252159

031001900104  
50252159

机器编号:  
587001759364

开票日期: 2020年04月22日

税总函[2019]144号西安西正印制有限公司

购买方	名称: 河北慈善联合基金会	密码区	004197+-//6<891<2823/>541903 86<3>/101/*-18054+39/>0>7>00 037640*5+626>4<>9117789/6-8/ 7/0345>78/4-1301+8/+06-8>3-/				
	纳税人识别号: 53130000052692053D		单价	金额	税率	税额	
货物或应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
				*研发和技术服务*科研协作费			
合计				¥94339.62		¥5660.38	
价税合计(大写)		⊗ 壹拾万圆整		(小写)¥100000.00			
销售方	名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	备注	校验码 15389 79078 48121-68816				
	纳税人识别号: 12100000MB1A179896		12100000MB1A179896				
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347		发票专用章					
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666		收票人: 管理员					
收款人: 管理员		复核: 管理员		开票人: 管理员			

第二联: 发票联 购买方记账凭证



031001900104 上海增值税普通发票

No 50252160

031001900104  
50252160机器编号:  
587001759364

开票日期: 2020年04月22日

税总函 [2019] 144号西安西正印制有限公司

购买方	名称:	河北慈善联合基金会			密码区	004->*4>-52<5/1-4*4*000-1+-0 >18>>>60>21830/-760633/+0>+ 7*0<718757>+/3-7/<83029>+4+- -<+986*0/<151-01+8/+0637*78+			
	纳税人识别号:	53130000052692053D				名称:	中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心		
销售方	地址、电话:				备注	校验码 09830 20200302 85666			
	开户行及账号:					纳税人识别号:	12100000MB1A179896		
货物或应税劳务、服务名称		规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额	
*研发和技术服务*科研协作费				1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38	
合计						¥94339.62		¥5660.38	
价税合计(大写)		壹拾万圆整			(小写) ¥100000.00				
名称:		中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心			中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章 销售方:(章)				
纳税人识别号:		12100000MB1A179896							
地址、电话:		上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347							
开户行及账号:		中国银行上海市建国西路支行458548357666			收票人: 管理员      复核: 管理员      开票人: 管理员				

第二联: 发票联 购买方记账凭证



031001900104 上海增值税普通发票

No 50252161

031001900104  
50252161机器编号:  
587001759364

开票日期: 2020年04月22日

税总函 [2019] 144号西安西正印制有限公司

购买方	名称:	河北慈善联合基金会			密码区	00189295959/7470+/88<72>3>44 1+7616*08<62138/->25<3<11206 09*051-7*3<<42761//2--6+5396 /-+6*9846//9-+01+8/+06**326*			
	纳税人识别号:	53130000052692053D				名称:	中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心		
销售方	地址、电话:				备注	校验码 12354 53370			
	开户行及账号:					纳税人识别号:	12100000MB1A179896		
货物或应税劳务、服务名称		规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额	
*研发和技术服务*科研协作费				1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38	
合计						¥94339.62		¥5660.38	
价税合计(大写)		壹拾万圆整			(小写) ¥100000.00				
名称:		中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心			中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章 销售方:(章)				
纳税人识别号:		12100000MB1A179896							
地址、电话:		上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347							
开户行及账号:		中国银行上海市建国西路支行458548357666			收票人: 管理员      复核: 管理员      开票人: 管理员				

第二联: 发票联 购买方记账凭证

上海增值税普通发票

No 50252162

031001900104 机器编号: 587001759364 开票日期: 2020年04月22日

031001900104 50252162

税总通 [2019] 144 号西安西正印制有限公司

名称: 河北慈善联合基金会	纳税人识别号: 53130000052692053D	地址、电话:	开户行及账号:	密码区: 00834>727*009+1<01>-95*39>34 526-+0-55>-<0271-6/546*29<00 5930/>113>7924*2<60*-/6/7702 +52>6552-0886001+8/+06-1>916			
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
				94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00					
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	纳税人识别号: 12100000MB1A179896	地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347	开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	校验码: 07100 06577 95330	中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章		
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员	销售方(章):				

第二联: 发票联 购买方记账凭证

上海增值税普通发票

No 50252163

031001900104 机器编号: 587001759364 开票日期: 2020年04月22日

031001900104 50252163

税总通 [2019] 144 号西安西正印制有限公司

名称: 河北慈善联合基金会	纳税人识别号: 53130000052692053D	地址、电话:	开户行及账号:	密码区: 00-4-60/+41+5+85>48/845*+--+< 1>18902*+0/0<5+--<890/</5<908 /0-21/<2/546076*4+9+704050>3 527919-5+-361801+8/+06**577+			
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
				94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00					
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	纳税人识别号: 12100000MB1A179896	地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54920347	开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	校验码: 02413 5758	中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章		
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员	销售方(章):				


第二联: 发票联 购买方记账凭证


2、2020年9月8日,河北慈善联合基金会向NF专项基金运维人员拨付10000元。  
银行转账回单

**客户回单    网上支付跨行清算业务**

---

构:1654 1654000000321713 标示:往 NY 方账号:6214833... 方名称:韩 方银行行号:308584000013 方银行名称:招商银行股份有限公司 成用途:网上支付跨行清算 编码:0908F88UPZX! 时间:2020-09-17 13:11:54	交易日期:2020-09-08 交易流水号:1155982 名称:河北慈善联合基金会 借贷标志:贷记 金额:10,000.00 摘要:曙光行动
--	--





自助设备打印, 注意避免重复

收据

河北慈善联合基金会

专用文件

## 收据

今收到河北慈善联合基金会【曙光行动】项目款项 10000 元, 大写:  
壹万元整。用于 NF 专项基金运维费用, 感谢社会各界爱心人士的支持  
 和帮助。

签收人: 韩

联系方式: 186

2020 年 9 月 8 日

3、2020 年 9 月 28 日, 河北慈善联合基金会向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款 800000 元。

银行转账回单



客户回单 网上支付跨行清算业务

交易日期:2020-09-28  
交易流水号:7126316  
名称:河北慈善联合基金会  
借贷标志:贷记  
金额:500,000.00  
对方账号:458548357666  
对方名称:中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
对方银行行号:104100000004  
对方银行名称:中国银行总行  
用途:网上支付跨行清算  
摘要:曙光行动

编码:09287WUVQJA!

时间:2020-10-15 08:25:30



自助设备打印, 注意避免重复

客户回单 网上支付跨行清算业务

交易日期:2020-09-28  
交易流水号:7116294  
名称:河北慈善联合基金会  
借贷标志:贷记  
金额:300,000.00  
对方账号:458548357666  
对方名称:中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
对方银行行号:104100000004  
对方银行名称:中国银行总行  
用途:网上支付跨行清算  
摘要:曙光行动

编码:0928NT2JLEY!

时间:2020-10-15 08:25:30



自助设备打印, 注意避免重复

发票

上海增值税普通发票

031001900204 No 86777663

机器编号: 587001759364 031001900204  
86777663

开票日期: 2020年10月12日

购买方名称: 河北慈善联合基金会	纳税人识别号: 53130000052692053D	密码区: 00<-130975/589012<6+5+5*65-1 05265*615*4545694-2-/8/<*701 +89++5-0706->762324>0<219+9+ >536+234818-030128/+06>004>>					
货物或服务名称: *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
			1	94339.6228415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整		(小写 ¥100000.00)			
销售方名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	纳税人识别号: 12100000MB1A179896	备注: 校验码 14823 10906 18690 02154					
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905	开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	发票专用章: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896					
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员					

上海增值税普通发票

031001900204 No 86777664

机器编号: 587001759364 031001900204  
86777664

开票日期: 2020年10月12日

购买方名称: 河北慈善联合基金会	纳税人识别号: 53130000052692053D	密码区: 00769*7*644/>0<99522>1/1*/06 --2052/0750<***<91**</<67<5/ *4*2<>*24<8210+0318/2078>69 +<473488//97+10128/+0610+5<6					
货物或服务名称: *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
			1	94339.6228415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整		(小写 ¥100000.00)			
销售方名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	纳税人识别号: 12100000MB1A179896	备注: 校验码 14118 6672 12819 02830					
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905	开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	发票专用章: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896					
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员					

上海增值税普通发票

No 86777665 031001900204  
86777665  
开票日期: 2020年10月12日

031001900204  
机器编号: 587001759364

国家税务总局上海市税务局 发票联

购买方名称: 河北慈善联合基金会 纳税人识别号: 53130000052692053D 地址、电话: 开户行及账号:	密码区 00+-5+22+2321*>5*>589278/309 >52>90>+/396-7*2590126<25279 -1005<->+4*>31724--/9++*10/2 9/070940/--+/40128/+0618->43						
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整		(小写 ¥100000.00)			
销售方名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 纳税人识别号: 12100000MB1A179896 地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905 开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	校验码 10432 235 12100000MB1A179896 发票专用章						
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员					

国家税务总局上海市税务局 发票联

第二联: 发票联 购买方记账凭证

扫描全能王 创建

上海增值税普通发票

No 86777666 031001900204  
86777666  
开票日期: 2020年10月12日

031001900204  
机器编号: 587001759364

国家税务总局上海市税务局 发票联

购买方名称: 河北慈善联合基金会 纳税人识别号: 53130000052692053D 地址、电话: 开户行及账号:	密码区 000<+7<7>14+<5>+87++555>5926 /57-/5*32>2/734086<90>*97567 8>3<4+08944/6/936//**89<0*<3 -->-13+/>1->70128/+06<38313						
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整		(小写 ¥100000.00)			
销售方名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 纳税人识别号: 12100000MB1A179896 地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905 开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	校验码 03534 11096 12100000MB1A179896 发票专用章						
收款人: 管理员	复核: 管理员	开票人: 管理员					

国家税务总局上海市税务局 发票联

第二联: 发票联 购买方记账凭证

扫描全能王 创建

031001900204 上海增值税普通发票 No 86777667 031001900204  
86777667  
机器编号: 587001759364 开票日期: 2020年10月12日

国家税务总局上海市税务局 发票专用章

购 买 方 名称: 河北慈善联合基金会  
纳税人识别号: 53130000052692053D  
地址、电话:  
开户行及账号:

密 码 区 005-17<<0>/17-9825<56<941>41  
/33\*\*<474-1\*-+60+21-25857181  
++06440615/+58\*341/57+3>9\*+5  
7108<57\*39468+0128/+06744-\*3

货物或应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
*研发和技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合 计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)					壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00		

销 售 方 名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校检码 01472-22953-11700-20032

收 款 人: 管理员 复 核: 管理员 开 票 人: 管理员

中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 发票专用章

税务总局 [2019] 299 号西安西正印制有限公司

第二联: 发票联 购买方记账凭证

031001900204 上海增值税普通发票 No 86777668 031001900204  
86777668  
机器编号: 587001759364 开票日期: 2020年10月12日

国家税务总局上海市税务局 发票专用章

购 买 方 名称: 河北慈善联合基金会  
纳税人识别号: 53130000052692053D  
地址、电话:  
开户行及账号:

密 码 区 00-+34830/0388<41+>359<2/7\*4  
315810052+\*\*895-248+\*/5-80  
>882179\*+8<9/36<6+207-04+67-  
14>+21914378\*-0128/+060/1->8

货物或应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
*研发和技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合 计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)					壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00		

销 售 方 名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校检码 08357 81540 202010 31250

收 款 人: 管理员 复 核: 管理员 开 票 人: 管理员

中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 发票专用章

税务总局 [2019] 299 号西安西正印制有限公司

第二联: 发票联 购买方记账凭证

上海增值税普通发票

031001900204      No 86777669      031001900204  
86777669

机器编号: 587001759364      开票日期: 2020年10月12日

名称: 河北慈善联合基金会 纳税人识别号: 53130000052692053D 地址、电话: 开户行及账号:	密码区 00-19341/53-1/9/<0/+>*2*82* >70/62*288//2>6/425166149370 1*>30+595-*26/7115>*<89643-< 54-3938>9*04440128/+0664107+						
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整		(小写) ¥100000.00			
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 纳税人识别号: 12100000MB1A179896 地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905 开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	备注 校验码 16310 22469 2020 09056						
收款人: 管理员      复核: 管理员      开票人: 管理员	发票专用章						

税总函[2019]299号 西安高正印制有限公司

第二联: 发票联 购买方记账凭证

扫描全能王 创建

上海增值税普通发票

031001900204      No 86777670      031001900204  
86777670

机器编号: 587001759364      开票日期: 2020年10月12日

名称: 河北慈善联合基金会 纳税人识别号: 53130000052692053D 地址、电话: 开户行及账号:	密码区 006+326/26*/>/<*8-47>809>559 -+8171<>866/+2***6<93</-*14 49+46<72<*910--<701426/44665 8<25>667-5*4260128/+069-7050						
货物或应税劳务、服务名称 *研发和技术服务*科研协作费	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)		壹拾万圆整		(小写) ¥100000.00			
名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 纳税人识别号: 12100000MB1A179896 地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905 开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666	备注 校验码 15638 71066 2020 09056						
收款人: 管理员      复核: 管理员      开票人: 管理员	发票专用章						

税总函[2019]299号 西安高正印制有限公司

第二联: 发票联 购买方记账凭证

扫描全能王 创建

4、2021年1月4日,河北慈善联合基金会向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款200000元,向NF专项基金运维人员拨付10000元。

银行转账回单

**华夏银行** HUAXIA BANK **客户回单 网上支付跨行清算业务**

交易日期 2021-01-04

机构: 1654	来往账标示: 往
账号: 11654000000321713	名称: 河北慈善联合基金会
对方账号: 458548357666	
对方名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心	交易对方银行名称: 中国银行总行
对方银行行号: 104100000004	币种: CNY
标志: 贷记	交易流水号: 5706064
金额: 200,000.00	摘要: 曙光行动科研经费
来源或用途: 网上支付跨行清算	

回单编码: 01044IAMQQH!

提示: 电子回单编码相同表示同一笔业务回单, 已在银行柜台领用业务回单的, 请注意核对, 请勿重复记账使用。

打印时间: 2021-02-26 14:45:49

电子回单专用章  
H210104Z4YLH

**华夏银行** HUAXIA BANK **客户回单 网上支付跨行清算业务**

交易日期 2021-01-04

交易机构: 1654	来往账标示: 往
账号: 11654000000321713	名称: 河北慈善联合基金会
交易对方账号: 62148331	交易对方名称: 韩
交易对方银行行号: 308584000013	交易对方银行名称: 招商银行股份有限公司
借贷标志: 贷记	币种: CNY
发生额: 10,000.00	交易流水号: 5699630
来源或用途: 网上支付跨行清算	摘要: 曙光行动

回单编码: 0104BUU5S8O!

提示: 电子回单编码相同表示同一笔业务回单, 已在银行柜台领用业务回单的, 请注意核对, 请勿重复记账使用。

打印时间: 2021-02-26 14:45:49

电子回单专用章  
H2101048AW34

发票

031002000204 上海增值税普通发票 No 22575313 031002000204 22575313

机器编号: 587001759364 开票日期: 2021年01月06日

名称: 河北慈善联合会  
纳税人识别号: 53130000052692053D  
地址、电话:  
开户行及账号:

货物或应税劳务、服务名称: \*研发和技术服务+科研协作费  
规格型号  
单位  
数量  
单价  
金额  
税率  
税额

1	94339.622615	94339.62	6%	5660.33
合计		¥94339.62		¥5660.33

价税合计(大写) 壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00

名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校验码 13978 40916 31814 70354

收款人: 张琳 复核: 曹梁成 开票人: 管理员 销售方: 曹梁成

中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章

031002000204 上海增值税普通发票 No 22575314 031002000204 22575314

机器编号: 587001759364 开票日期: 2021年01月06日

名称: 河北慈善联合会  
纳税人识别号: 53130000052692053D  
地址、电话:  
开户行及账号:

货物或应税劳务、服务名称: \*研发和技术服务+科研协作费  
规格型号  
单位  
数量  
单价  
金额  
税率  
税额

1	94339.622615	94339.62	6%	5660.33
合计		¥94339.62		¥5660.33

价税合计(大写) 壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00

名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校验码 05013 87131 30626 11124

收款人: 张琳 复核: 曹梁成 开票人: 管理员 销售方: 曹梁成

中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 12100000MB1A179896 发票专用章

收据

河北慈善联合会

专用文件

收据

今收到河北慈善联合会【曙光行动】项目款项 10000 元, 大写: 壹万元整。用于 NF 专项基金运维费用, 感谢社会各界爱心人士的支持和帮助。

签收人: 曹梁成

联系方式: 18111111111

2021年1月4日

5、2021年4月29日，河北慈善联合基金会向中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心拨款500000元。

银行转账回单



**华夏银行**  
HUAXIA BANK

**客户回单 通用回单**

---

交易日期 2021-04-29

付款人账号: 11654000000321713  
 付款人名称: 河北慈善联合基金会  
 收款行名称: 中国银行总行  
 金额: 500,000.00  
 收付标志: 付  
 业务类型: 跨行付款  
 冲正标志: 正常  
 操作员: BCS7\_0000000000099010

付款行名称: 建设南大街支行  
 收款人账号: 458548357666  
 收款人名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
 币种: 人民币  
 摘要: 曙光行动  
 流水号: 742062  
 机构号: 1654



回单编号: 0429B852RQR!  
 提示: 电子回单编码相同表示同一笔业务回单, 已在银行柜台领用业务回单的, 请注意核对, 请勿重复记账使用。  
 打印时间: 2021-05-12 09:45:43

发票

031002000204

上海增值税普通发票

发票联

No 04732002

开票日期: 2021年05月08日

---

纳税人识别号: 53130000052692053D  
 名称: 河北慈善联合基金会

规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
技术服务+科研协作费		1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计				¥94339.62		¥5660.38
价税合计(大写)				壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00		

名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
 纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
 地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
 开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校验码 17253 23022 48906  
 开票人: 管理员  
 复核: 管理员  
 收款人: 管理员





031002000204 上海增值税普通发票 No 04732004

开票日期: 2021年05月08日

机器编号: 587001759364

称: 河北慈善联合基金会

纳税人识别号: 53130000052692053D

地址、电话:

开户行及账号:

密 00319235456345<4\*+<02<16283  
 码 + -901285+7<625\*62>>+70\*>\*4/+  
 73/\*\*7591/2141234+6-2/>9>0-  
 区 95<+5-7<1/5\*\*+01/8/+06<3+<>2

应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合 计					¥94339.62		¥5660.38

价税合计(大写)  壹拾万圆整 (小写¥100000.00)

名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
 纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
 地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
 开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校验码 01802 02049 81589 285

款人: 管理员 复核: 管理员 开票人: 管理员 销售方 发票专用章

031002000204 上海增值税普通发票 No 04732003

开票日期: 2021年05月08日

机器编号: 587001759364

称: 河北慈善联合基金会

纳税人识别号: 53130000052692053D

地址、电话:

开户行及账号:

密 00505>0174257\*>>3-512725-/74  
 码 >3276</444939/995356-0<<+7-5  
 -</\*12>2/9036+24+//3671/5->1  
 区 943907<8<<56/901/8/+06\*>55//

应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合 计					¥94339.62		¥5660.38

价税合计(大写)  壹拾万圆整 (小写¥100000.00)

名称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
 纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
 地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
 开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校验码 15813 68566 54938

收款人: 管理员 复核: 管理员 开票人: 管理员 销售方 发票专用章

031002000204 上海增值税普通发票 No 04732006

031002000204  
04732006

开票日期: 2021年05月08日

称: 河北慈善联合基金会  
纳税人识别号: 53130000052692053D  
地址、电话:  
开户行及账号:

密 00+45\*/0200/57>5+>0+21\*6/\*17  
码 7<-65\*56589+/<200+/041770+-3  
01/9>35574+2\*4+0+-28-+8>8269  
区 -50-8<01+>+1--01/8/+060>+798

应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38

价税合计(大写) ⊗ 壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00

称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校验码 04997 20458 03321 2045

人: 管理员 复核: 管理员 开票人: 管理员 销售方: 发票专用章

031002000204 上海增值税普通发票 No 04732005

031002000204  
04732005

开票日期: 2021年05月08日

称: 河北慈善联合基金会  
纳税人识别号: 53130000052692053D  
地址、电话:  
开户行及账号:

密 009505<+27<\*98+9<7+32>4+43-5  
码 8+0>12\*\*34+19>3+034<>7-\*17D  
<5/<2-53+<1\*<\*64>1843/<+14>\*  
区 5>>4><5<>66/\*>01/8/+069\*0717

应税劳务、服务名称	规格型号	单位	数量	单价	金额	税率	税额
技术服务*科研协作费			1	94339.6226415	94339.62	6%	5660.38
合计					¥94339.62		¥5660.38

价税合计(大写) ⊗ 壹拾万圆整 (小写) ¥100000.00

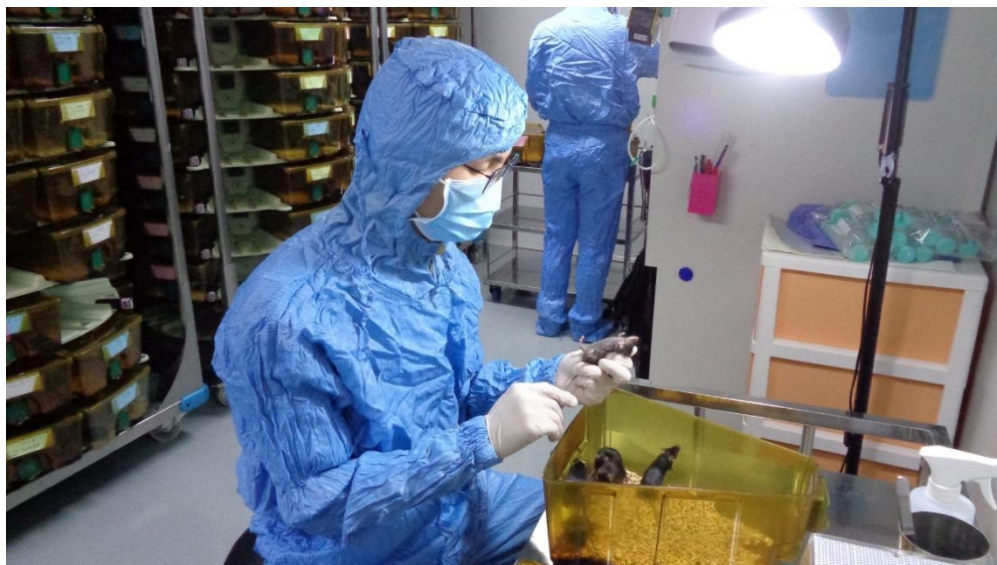
称: 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心  
纳税人识别号: 12100000MB1A179896  
地址、电话: 上海市徐汇区岳阳路320号021-54921905  
开户行及账号: 中国银行上海市建国西路支行458548357666

校验码 12005 73590 53894 487

人: 管理员 复核: 管理员 开票人: 管理员 销售方: 发票专用章

第二联: 发票联 购买方记账凭证

### 三、项目执行照片



(小鼠实验阶段照片)

### 四、项目总结

为推动神经纤维瘤病科研进展，让更多 NF 患者看到曙光，河北慈善联合基金会发起“曙光行动”罕见病救助项目，通过社会募集资金形式为神经纤维瘤病科研助力。2020年1月19日，河北慈善联合基金会与中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心签订《NF 基因疗法科研项目协议神经纤维瘤

病基因疗法科研项目合作协议》（协议编号：SJXWL20191226），协议下约定的基础科研执行负责人科研主导人为杨辉研究员。

该科研项目定于 2020 年 3 月 15 日正式启动科研计划，科研项目计划从前期完成小鼠模型、细胞模型建立，利用基因编辑技术寻找本病治疗方案。科研项目组已经提交《小鼠神经纤维瘤疾病模型优化及基因治疗的研究》的申报材料，根据该材料，确定项目的研究目标为：

在原有小鼠疾病模型基础上进行优化，在原有小鼠疾病模型基础上进行优化，期待获得 Nf1<sup>-/-</sup>GRD<sup>flox/-</sup>和 Nf2<sup>flox2/-</sup>小鼠模型来模拟人类中 NF1 和 NF2 两种类型疾病，并使用 AAV 递送体系包被 NF1 截短蛋白 GRD 序列和 Merlin，让成瘤组织过表达 GRD 和 Merlin 来补偿 Nf1 和 Nf2 突变造成的蛋白量不足，并检测蛋白补充后瘤体的消减情况，进而探讨该方法对人类 NF 患者的治疗价值。

目前因该基金无后续捐赠继续支持研究，项目研发属于停滞状态。除以上结项报告外，中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心及杨辉博士，已在对知识产权进行保护的基础上，整理了《神经纤维瘤病基因疗法科研项目进展》情况说明（详见下方**附件**），向公众进一步阐述研究情况。

# 附件

## 神经纤维瘤病基因疗法科研项目进展

协议编号： SJXWL20191226

---

发起方：  
河北慈善联合基金会

( 甲方 )

---

实施方： 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心

( 乙方 )

---

项目名称： 小鼠神经纤维瘤疾病模型优化及基因治疗的研究

---

项目负责人： 杨 辉

---

## 一、立项依据

神经纤维瘤病 (neurofibromatosis, NF) 是一种以神经系统和皮肤上的肿瘤为特征的神经皮肤性疾病, 根据临床和遗传学分为 3 种不同类型, 1 型神经纤维瘤病 (NF1) 是最常见的类型。NF1 是由编码神经纤维瘤蛋白的 *NF1* 基因的功能性缺失突变引起的一种常染色体显性遗传疾病, 临床表现多样, 累及多个器官和系统, 典型特征是神经纤维瘤, 一种与脊髓神经、周围神经或颅神经紧密相关的神经鞘肿瘤, 其他表现包括色素异常、低级别胶质瘤和骨骼发育异常。NF1 表型的异质性和复杂性, 使疾病的管理难度增大。针对 NF1 的临床管理主要为监测和手术切除, 但术后复发率高, 亟需开发特异性治疗药物。目前仅有一款口服的小分子药物司美替尼 (Selumetinib) 获美国 FDA 批准上市 (NDA: 213756), 其通过抑制 MEK1/2 酶活性, 诱导肿瘤退缩, 但仅适用于 2 岁或以上的儿科患者治疗无法手术的症状性和/或进展性 NF1 相关的丛状神经纤维瘤 (2020 年上市; 中国 2023 年上市, 适用于 3 岁及以上伴有症状、无法手术的 NF1 丛状神经纤维瘤儿童患者)。另有几款针对 NF1 的分子靶向药还处于临床试验阶段。小分子药物通常需要持续给药来维持治疗效果, 然而长期使用会造成耐药性风险增加, 并且无法根治基因疾病。

基因治疗技术通过对突变基因进行表达补偿或直接进行编辑修复, 有望从根本上逆转疾病, 具有更加持久的治疗效果, 目前已经在单基因遗传病的治疗中显示出了很大潜力。本项目将构建可以模拟人类 NF1 疾病病理特征的小鼠模型, 基于其开发 NF1 基因治疗策略, 并评估其有效性和安全性, 完成基因治疗策略的临床前概念性验证, 为 NF1 疾病的后续药物开发提供新的思路 and 选择。

## 二、项目研究进展

*NF1* 基因是人类基因突变率最高的基因位点之一, 其基因结构复杂, 突变位点多变, 贯穿于整个 *NF1* 基因, 大多数散发病例各自携带特异的突变位点, 遍布基因全长, 异质性较高; 甚至在同一个家系不同成员之间, 也存在不同突变位点及突变类型。大部分 *NF1* 基因突变导致截短蛋白产生, 影响神经纤维瘤蛋白的正常功能而致病。因此, 针对 NF1 疾病的基因治疗手段采取基因过表达方式更为合适和具有普适性。

有研究报道, 在 NF1 相关的恶性周围神经鞘瘤细胞 (MPNST) 细胞系中利用腺相关病毒载体 (AAV) 过表达保留基本功能的 *NF1* 截短蛋白片段—GRD, 可以抑制肿瘤细胞生长, 进一步将 GRD 与 H-Ras C 端的 10 个氨基酸融合形成可靶向细胞质膜的 CRD-C10 并将其过表达后, 显示出比 GRD 更显著的抑制 MPNST 细胞生长的效果,

有望开发成为潜在的 NF1 基因治疗方法。然而, 该研究仍缺乏体内实验数据。在本项目中, 我们将首先制备 NF1 疾病小鼠模型, 观察其成瘤表型, 同时构建 GRD-C10 蛋白表达质粒, 将其包装进基因治疗最常用的 AAV 病毒载体后, 注射至疾病小鼠体内, 探究其对 NF1 小鼠的基因治疗效果。具体进展如下:

### 1. 制备获得 *Nf1<sup>flx/flx</sup>* 基因型小鼠, 为最终获得 NF1 疾病小鼠模型做必要准备

人类体细胞中含有两份 *NF1* 基因, 一份来自母亲, 一份来自父亲。当 *NF1* 基因的一份拷贝被改变时, 它就不再能够正常工作, 从而导致 NF1, 因此, *NF1* 在人类中是显性遗传病。然而, *NF1* 疾病在小鼠与人类中有所不同, 在小鼠中, *Nf1* 基因单拷贝突变 (基因型为 *Nf1<sup>+/-</sup>*) 不会导致其出现 NF1 表型, 必须完全敲除 *Nf1* 基因的两份拷贝 (基因型为 *Nf1<sup>-/-</sup>*) 才可致小鼠成瘤, 然而 *Nf1<sup>-/-</sup>* 基因型的小鼠在胚胎期便会死亡。因此, 需要制备只在神经细胞中特异性敲除 *Nf1* 基因双拷贝, 而其他体细胞不受影响的 *Nf1* 条件性敲除小鼠, 以此来模拟 NF1 疾病的神经系统成瘤表型。而要获得 *Nf1* 条件性敲除小鼠, 首先必须制备 *Nf1<sup>flx/flx</sup>* 基因型小鼠, 通过将其与神经细胞特异性表达 Cre 重组酶的转基因小鼠进行交配, 最终才可在子代中获得 *Nf1* 条件性敲除小鼠。

我们于 2020 年 6 月从合作课题组获得了 *Nf1<sup>flx/flx</sup>* 基因型的小鼠 (小鼠构建方案如图 1), 运送至我单位后依次对小鼠进行了活体净化与种系扩繁工作, 然而, 从出生的上百只后代小鼠中, 我们未能鉴定出纯合的 *Nf1<sup>flx/flx</sup>* 小鼠, 出生小鼠的基因型显示为 *Nf1<sup>flx/mutant</sup>*, 其中, mutant 表示在 *Nf1* 基因的一份拷贝中, 在 21-23 号外显子两侧的两个 loxP 序列丢失了其中 1 侧的 loxP 序列 (出生小鼠基因型鉴定如图 2)。为了尽快拿到 *Nf1<sup>flx/flx</sup>* 小鼠, 缩短扩繁时间, 我们舍弃了继续利用现有基因型小鼠进行交配以等待子代 *Nf1<sup>flx/flx</sup>* 基因型小鼠出生的策略, 于 2022 年 2 月将 floxed *Nf1* 杂合小鼠运送至南模生物进行净化, 以希望利用带有正常 *Nf1<sup>flx</sup>* 基因拷贝的重新净化后的小鼠来进行后续的扩繁, 于 2022 年 11 月将净化后获得的 *Nf1<sup>flx/+</sup>* 小鼠, 取精子冻存保种。



图 1. *Nf1<sup>flox/flox</sup>* 小鼠模型构建方案示意图

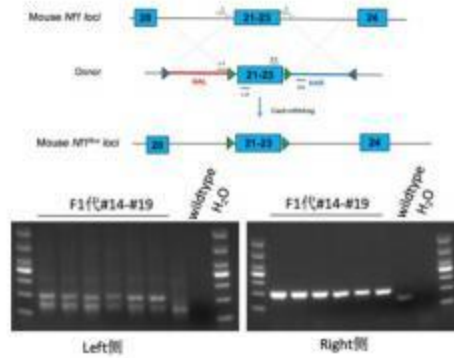


图 2. floxed *Nf1* 子代小鼠基因型鉴定

## 2. 制备获得 Dhh-Cre 小鼠，为最终获得 NF1 疾病小鼠模型做必要准备

在神经发育过程中，*Dhh* 基因在施旺细胞前体中显著表达。有研究表明，起始于小鼠胚胎 12.5 天的施旺细胞中 *Nf1* 基因的缺失会引发丛状和皮肤神经纤维瘤。*Nf1<sup>flox/flox</sup>;Dhh-Cre* 小鼠开始在 5.5 个月大时死亡，在 13 个月大时因健康恶化需要被处死，对这些小鼠的大体解剖中都检测到了可见的丛状肿瘤。因此，利用 *Dhh* 基因的启动子驱动 Cre 重组酶在 *Nf1<sup>flox/flox</sup>* 基因型小鼠的施旺细胞中表达，可以制备获得在施旺细胞中条件性敲除 *Nf1* 基因的 NF1 小鼠模型。

如图 3 所示，我们利用本实验室先前建立的 Tild-CRISPR 基因敲入技术，将 Cre 序列精准整合到了 *Dhh* 基因 1 号外显子上游，以实现 Cre 在施旺细胞中的特异表达。从 *Dhh-Cre* 小鼠与 *Nf1<sup>flox/flox</sup>* 纯合小鼠交配繁育所得的后代中，可获得施旺细胞中 *Nf1* 基因被条件性敲除的 *Nf1<sup>flox/flox</sup>;Dhh-Cre* 小鼠，即 NF1 小鼠。*Dhh-Cre* 小鼠品系于 2021 年 2 月在我单位构建获得，经多代扩繁后（出生小鼠基因型鉴定如图 4），因暂未拿到 *Nf1<sup>flox/flox</sup>* 小鼠，无法与其互配以获得 NF1 小鼠模型，后由于新冠疫情封控以及项目剩余经费不足以支持后续进一步的实验开展，我们于 2022 年 11 月同 *Nf1<sup>flox/+</sup>* 小鼠一起，将 *Dhh-Cre* 雄鼠取精子冻存后进行了保种。

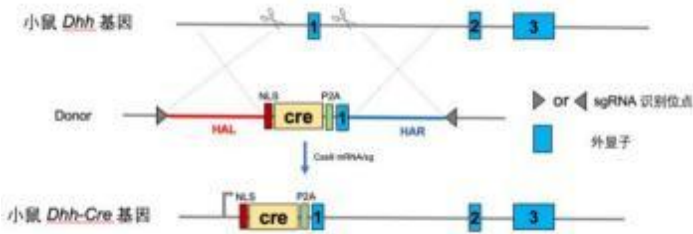


图 3. *Dhh-Cre* 小鼠模型构建方案示意图

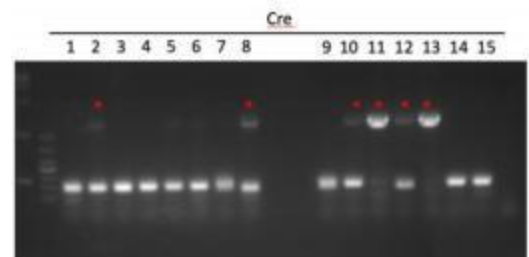


图 4. *Dhh-Cre* 小鼠基因型鉴定

## 3. 筛选可高效感染脊髓的腺相关病毒（AAV）

有研究报道，*Dhh-Cre*, *Nf1<sup>flox/flox</sup>* 小鼠的大多数大的丛状纤维瘤靠近背根神经节，主要位于脊椎的下颈椎或上胸椎水平，会导致小鼠瘫痪。因此，利用 AAV-GRD-C10 病毒对 NF1 小鼠进行体内治疗研究时，可选择鞘内给药的方式。由于 AAV 病毒具有多种血清型，不同血清型对组织的侵染效率各异。为了筛选出能高效感染脊髓的 AAV 血清型，我们首先对常用于感染神经系统的 AAV9 血清型进行了衣壳的工程化改造，并将获得的相应突变体分别命名为 AAV-M5、AAV-M8。将 AAV9、AAV-M5、AAV-M8 分别包装 tdTomato 红色荧光蛋白后，鞘内注射野生型小鼠，4 周后分析脊髓中 tdTomato 蛋白的表达水平，我们证明了 AAV-M5 和 AAV-M8 病毒对脊髓具有更高的感染效率（AAV 血清型筛选结果如图 5）。后续将 GRD-C10 表达质粒分别包装 AAV-M5 和 AAV-M8 病毒（GRD-C10 表达载体构建方案如图 6），构建获得 AAV-M5-GRD-C10 和 AAV-M8-GRD-C10 病毒，鞘内注射 NF1 小鼠后，通过观察小鼠是否成瘤以及肿瘤大小，可评估基因治疗效果，通过检测小鼠血生化指标和病毒药物在小鼠体内的分布、代谢等情况，进一步评估基因治疗的安全性。

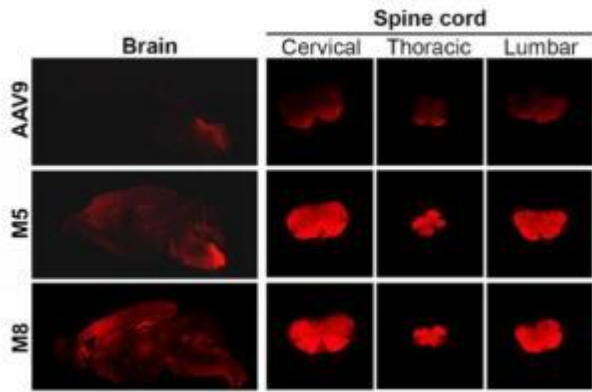


图 5. 高效感染脊髓的 AAV 血清型筛选

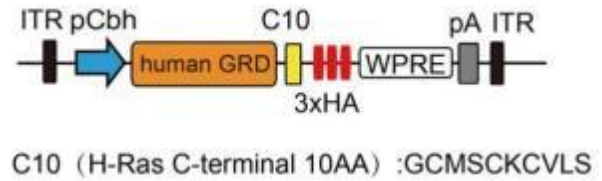


图 6. AAV-GRD-C10 表达质粒结构示意图

4. 制备敲除 *Nf1* 基因，同时敲入 GRD-C10 表达序列 (*Nf1*<sup>-/-</sup>;*GRD-C10*<sup>fllox/-</sup>) 的小鼠模型，验证在体内过表达 GRD-C10 是否能够补偿 *Nf1* 基因表达缺失引起的小鼠胚胎致死或成瘤表型

除了 *Nf1*<sup>fllox/fllox</sup>;*Dhh-Cre* *Nf1* 小鼠制备，我们还设计了 *Nf1*<sup>-/-</sup>;*GRD-C10*<sup>fllox/-</sup> 基因型小鼠的构建策略（构建方案如图 7）。由于 *Nf1*<sup>-/-</sup> 小鼠在胚胎 13.5 天死亡，若能获得 *Nf1*<sup>-/-</sup>;*GRD-C10*<sup>fllox/-</sup> 或 *Nf1*<sup>-/-</sup>;*GRD-C10*<sup>fllox/fllox</sup> 基因型的出生存活小鼠，一方面可以证明截短型神经纤维素蛋白 GRD 在体内能够代替正常 NF1 蛋白行使基本功能，为通过 GRD-C10 基因过表达策略治疗 NF1 小鼠提供进一步的可行性证据；另一方面其可作为具有局部成瘤基础的小鼠模型，利用 Cre 病毒对其进行局部定点注射后，可构建获得局部成瘤的 NF1 小鼠模型，并进一步研究基因治疗效果。利用本实验室开发的 Tild-CRISPR 技术将 Cas9 mRNA、sgRNA-*Nf1*、GRD-C10 donor 片段同时注射野生型小鼠受精卵，鉴定 F0 代小鼠获得目的基因型小鼠后，观察其生长发育情况及有无成瘤表型。

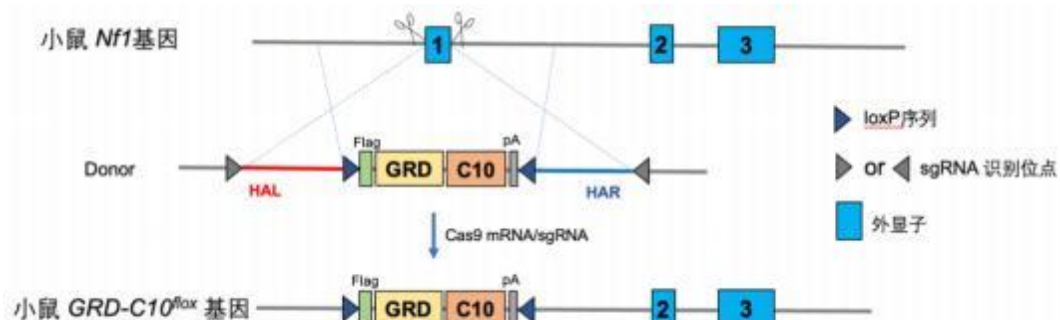


图 7. *Nf1*<sup>-/-</sup>;*GRD-C10*<sup>fllox/-</sup> 小鼠模型构建策略

### 三、后续研究计划



本项目冻存的 *Nf1<sup>lox/+</sup>* 小鼠和 *Dhh-Cre* 小鼠的精子，在复苏后通过体外受精方式，可以重新获得 floxed *Nf1* 小鼠和 *Dhh-Cre* 小鼠，再通过交配繁育最终拿到 *Nf1<sup>lox/lox</sup>;Dhh-Cre* 小鼠后，可继续开展后续研究，进一步验证 AAV-GRD-C10 基因治疗方法对 NF1 小鼠模型的治疗效果和安全性（研究方案如图 8）。

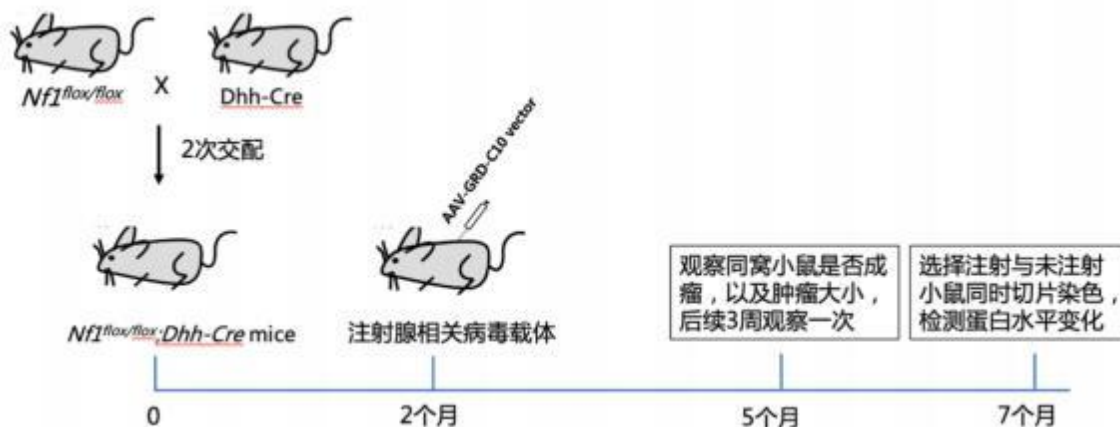


图 8. NF1 小鼠模型基因治疗研究计划示意图

我们实验室自 2014 年成立以来，一直致力于基因编辑技术的开发及其在动物模型构建和基因治疗中的应用研究，我们希望能抓住基因编辑技术发展的时代机遇，为我国基因编辑和基因治疗领域的发展做出一份贡献，更希望我们的研究成果能在未来对罕见疾病患者的治疗有切实的帮助。实验室近年来在基因编辑研究中取得了一些不错的成绩，但其背后也投入了巨大的研究经费支持和团队学生与工作人员极其辛勤的付出。实验室目前在研课题的经费主要来源于国家、中科院和我单位的项目支持，我们希望能将有价值的研究课题推动的更深入长远一些。在本项目开展过程中，相比于其他实验室，我们在基因工程小鼠模型的构建和繁育方面虽然已有较多积累，但本项目前期对 floxed *Nf1* 小鼠进行了多次扩繁，基因型鉴定都无法得到 *Nf1<sup>lox/lox</sup>* 小鼠，通过更改实验方案，拿到了数量有限的 *Nf1<sup>lox/+</sup>* 净化小鼠，为保留模型小鼠资源，随即我们对小鼠进行了冻精保种，以确保后续扩繁工作的开展，可持续推进项目研究。此外，本项目的另一个难点和技术瓶颈是如何实现基因治疗药物的高效和精准递送，为了加快项目进度，我们在模型动物构建的同时开展了 AAV 病毒改造和验证工作，对病毒改造方法进行了多轮迭代，以及对稳定的病毒生产体系进行多项参数的调试优化，目前已获得了对靶组织感染效率较高的高质量和产量的 AAV 病毒血清型。神经系统疾病和眼科类疾病一直是我们的课题组研究的重点，对于本项目，我们一直在尽全力争取新的经费支持，希望可以探索可能的基因治疗方法，克服实验中的困难，推动项目进入下一阶段研究。

#### 四、经费执行情况

累计项目转拨经费	250.00 (万元) (2020 年 180 万元, 2021 年 70 万元)	增值税后经费	235.85 (万元)
累计执行经费	228.81 (万元)	累计结余经费	7.04 (万元)

序号	科目名称	项目执行明细 (万元)
1	设备费	0.00
2	材料费	130.68
3	测试化验加工及计算分析	74.53
4	燃料动力费	0.00
5	差旅费	0.00
6	会议费	0.00
7	国际合作与交流费	0.00
8	出版/文献/信息传播/知识	2.45
9	劳务费	18.46
10	专家咨询费	0.00
11	专项外协费	0.00
12	其他费用	0.99
13	附加税	1.70
	<b>合计 (万元)</b>	<b>228.81</b>