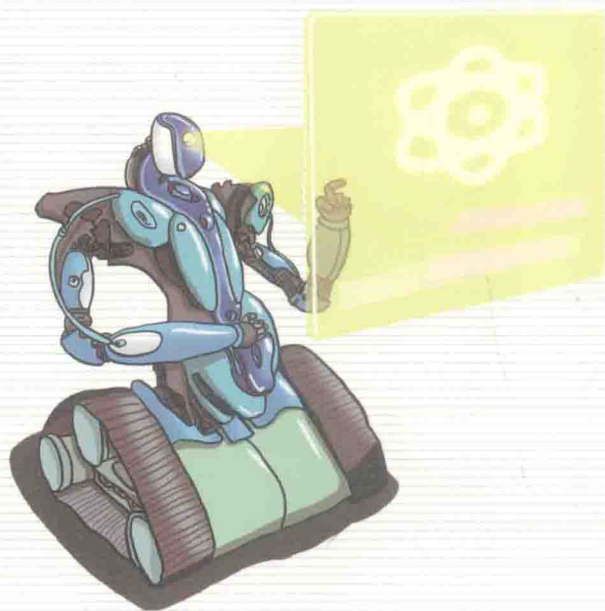


职场写作实训

阅读使人充实，会谈使人敏捷，写作使人精确。在信息社会，写作，包围着你。



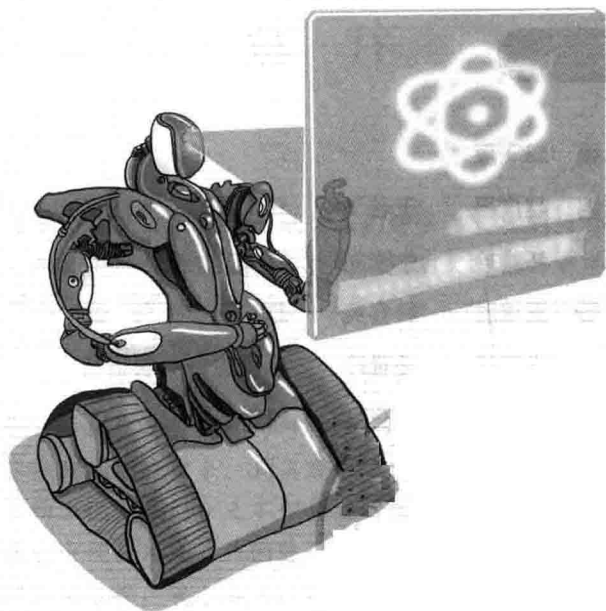
主编◎邱飞廉



科技 应用文写作

 中国人民大学出版社

职场写作实训



主编◎邱飞廉



科技 应用文写作

中国人民大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

科技应用文写作/邱飞廉主编. —北京: 中国人民大学出版社, 2015. 4
(职场写作实训)
ISBN 978-7-300-20876-3

I. ①科… II. ①邱… III. ①科学技术-应用文-写作 IV. ①H152.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 036479 号

中国写作学会推荐使用

职场写作实训

科技应用文写作

主编 邱飞廉

Keji Yingyongwen Xiezuo

出版发行 中国人民大学出版社

社 址 北京中关村大街 31 号

电 话 010-62511242 (总编室)

010-82501766 (邮购部)

010-62515195 (发行公司)

网 址 <http://www.crup.com.cn>

<http://www.ttrnet.com> (人大教研网)

经 销 新华书店

印 刷 北京昌联印刷有限公司

规 格 185 mm×235 mm 16 开本

印 张 11.75 插页 1

字 数 237 000

邮政编码 100080

010-62511770 (质管部)

010-62514148 (门市部)

010-62515275 (盗版举报)

版 次 2015 年 4 月第 1 版

印 次 2015 年 4 月第 1 次印刷

定 价 25.00 元

版权所有 侵权必究

印装差错 负责调换

编委会

► 主 编 邱飞廉

► 副主编 赵广平 王若飞 马 晶 张江艳

任雅玲 朱德友 韩春英

► 编 委 王埃胜 韩春英 赵广平 马 晶

张江艳 任雅玲 杨景生 唐正杰

王若飞 朱德友 邱飞廉

总 序

在全球化的大背景下，交际与沟通已成为人们的一种重要的生存方式，尤其是随着市场经济的深入发展，社会契约化程度的不断提高，应用文写作的重要性也逐渐为社会所认识，随之而来的，对应用文写作规范化和精准度的要求也在不断加强。正是出于这种原因，我们合力打造了这套职场应用写作丛书。

应用文写作是一种社会性的活动，这一社会性活动需要进行理论的概括并形成一定的写作规范，以此来进一步优化其有效性与可行性。本套丛书的编写正是出于这一目的，故而它的理论阐述力求做到从实践中来、到实践中去，以实用性取胜，以可操作性见长。

从社会应用的层面上说，我们今天不但要从写作学的角度，而且应当从社会学、政治学乃至心理学的角度去审视应用文写作的过程，这样才能发现其写作的真谛。应用文所具有的社会性、政治性和实践性，使之成为人们沟通思想、凝聚社会的有效手段，进而起到组织社会、统一步调和发展事业的巨大作用。

执本驭末、先本后末是人们的一种思维习惯，本套丛书在体例上就是遵循这一基本的思维方式而设计的。这种设计有利于写作者掌握写作要领，并节省学习时间，因为它不但具有必要的理论阐述，还列有病文修改和范文的专门分析，并有对应用文写作注意事项的特别说明及实际的操作训练，让写作者“在错误中学习”，从而避免实际操作中易于出现的毛病。客观地说，本套丛书是目前国内所能见到的在体例上最为完备的应用文写作理论丛书，它不但适合教学者使用，更适于作为职场工作人员的自修教材。

我们都是从学生时代走过来的，深知那种用不得要领的空话废话搪塞、在体例内容上没有遵循学习规律的教材，其实际效果是欠佳的，所以我们尽量避免这些问题，虽然做得还不够完善，但我们做了尝试，并尽力而为。

假如这套丛书能让读者觉得适用、有用、能用，那将是我们莫大的荣幸！

诚挚欢迎读者提出宝贵的批评建议，以帮助我们日后完善本套丛书。

邱飞廉

2010年秋于珞珈山

目 录

第一章 科研论述文	
第一节 选题报告	1
第二节 科技论文	20
第三节 科技文摘	50
第二章 成果报告书	
第一节 科技实验报告	61
第二节 科技成果鉴定书	82
第三节 发明申报书	95
第三章 专利申请书	
第一节 专利申请书	118
第二节 分案请求书	138
第四章 商标申请书	
第一节 商标注册申请书	160
第二节 商标异议申请书	167
第三节 商标异议复审申请书	174

第一章

科研论述文

第一节

选题报告

选题报告是科技应用文写作的重要文种之一。在实际运用中，选题报告一般分为三种类型。一类是出版部门（含纸质和电子出版部门等）的选题报告，是指有关编辑经过广泛的信息采集、周密的市场调查、充分的酝酿思考后，精细构思策划的关于出版选题构思与设计的书面表达文本。这类选题报告是出版工作计划的体现，除了要重点突显出版的方针、选题之外，还要有相应的市场分析和营销策划，所以这类选题报告也称作“选题策划书”。另一类是科技人员的选题报告，是指科技人员撰写科学论文时所提交的关于研究方向、研究选题的书面表达，这类报告通常旨在获得有关方面的认可、支持以及获得一定的研究资助。还有一类主要是高等学校应届毕业生的选题报告，是在校大学生、研究生在撰写毕业论文时，为了保证论文效率和论文质量，向其论文指导老师或论文指导小组提交的关于论文选题的方向、来源、依据及构思与设计的书面表达。

本章讲述的主要是第三类的选题报告，即毕业论文的选题报告。

一、名称阐释

（一）选题报告的含义

选题报告是应届大学生、研究生在撰写毕业论文时，为了选准论文方向，正确开题和保证论文质量和论文效率，根据预选课题，在认真收集资料和撰写文献综述的基础上，向其论文指导老师或论文指导小组提交的关于论文选题的方向、来源、依据及构思与设计的书面表达。

（二）选题报告的作用

1. 选题报告是对课程学习的检阅，对科研能力的考核

对于应届大学生而言，经过了课程学习阶段、基本技能培养阶段后，他们开始进入毕业论文写作阶段。一旦进入这个阶段，大学生们也就正式踏入了科学研究领域。毕业论文

是考核大学生专业知识、综合知识以及学科研究能力的一个重要指标,也是其获得学位的最重要的标准。在毕业论文学习阶段,撰写选题报告是学写毕业论文的首要环节,亦是初涉科学研究者学习的必经之路。一般来说,缺乏科学研究经验的大学生,往往要通过选题报告,阐述专业研读的心得,检索文献的综述,提炼选题的依据,表达选题的构思与设计,获得专业老师的点评和指导。继而在此基础上,拟定开题报告,明确研究课题,展开研究验证,最终完成毕业论文。

对于研究生而言,选题报告则可视作研究生培养过程中的一个阶段性成果。研究生的培养一般分为专业课程学习和撰写学位论文两个阶段。如果说课程学习阶段的目的是进一步拓展专业知识的深度和广度,那么撰写论文则是培养从事科研和独立担负专业技术工作的能力。从这个意义上讲,选题报告就是承接这两个阶段的重要环节,它既是对课程学习阶段的综合检验,也是学位论文阶段的前期准备。把握好这个环节,就把握了由课程学习向学位论文的顺利转化,也就奠定了高效率、高质量地完成学位论文的基础。因此,一些高校已将选题报告列为检查研究生中期学习的重要指标。

2. 选题报告是提高学位论文质量的主要措施

课题选择的正确与否会直接影响整个论文的方向和目标的正确与否。选题报告通过课题阐述以获得导师或选题报告会的审核,可以避免重复研究和无效劳动,准确、有效地确立论文题目,同时也可监督和保证学位论文按照拟定的方向、路线和安排开展研究工作。

3. 选题报告还能提高撰写论文的效率

选题报告形成的过程是一个对课题研究的方向、路径、方法、预期目标等指标的最佳方案进行选择的过程,也是对课题的重点、难点进行预估预判,对需要获得的帮助与支持进行梳理的过程。这无疑给日后的课题研究加装了一部“导航仪”,之后我们就可以沿正确方向行进,收到事半功倍的效果。

二、选题报告的主要特征

(一) 科学性

科学性贯穿选题报告撰写整个过程的一个重要特征。所谓科学性就是要求撰写者首先要具有严肃、认真的科学态度,同时要用科学的原理和方法研究、探索、分析社会现象与自然现象,并将这种科学的态度和方法自觉运用于选题报告的全过程。

科学性还要求撰写者能正确地反映客观事物的本质规律,揭示客观真理。选题报告的选题意义、文献综述以及研究的主要内容和拟完成的成果形式,都应该以符合客观实际的专业理论和科学研究为依据。各种论据资料、经典言论、科学实验的构思、描述和预期结果,都应准确无误、确凿可靠。

恪守科学性,还必须坚守实事求是、公正、客观的精神。主观认识要符合客观实际,

要绝对忠实于事实 and 材料，防止主观臆断，不允许弄虚作假。

（二） 前沿性

前沿性是衡量选题报告价值的基本标准，是评定所研究的对象在学科领域内是否具有一定新颖性和独创性的重要标准。所谓新颖性主要是指在理论研究领域里，在传统研究的基础上，对学科领域内重大理论问题（或基本问题、核心问题）提出新角度、新观点、新解释；所谓独创性主要是指在实验分析领域里，对某个项目、某个课题提出自己的新发现、新发明、新创造。

前沿性的研究必须以传统研究为基础。前沿性往往是建立在前人的研究和成果基础上的突破性 or 创新性的进展，是站在“巨人”肩膀上所取得的新高度，因而在学科领域内具有领先或独创的意义。

（三） 应用性

应用性是指选题要有一定的现实意义或实用价值。在科学研究中，并非所有问题“都是可研究的科学问题”。这句话的含义有三层：并非所有问题“都是科研领域的问题”；并非所有科研领域的问题“都是真实问题”；并非所有“真实问题”都可以进行研究。^① 预选的课题或项目，经过科研领域与非科研领域、真实问题与虚假问题、能解或待解问题与知识性问题或无法解决的问题等多层次的排查，一般来说都具有应用性。

应用性的现实意义，一般是对理论研究型课题而言的。它要求所选的课题必须理论联系实际，能够准确、完整地解释实际中遇到的认识性问题，能够帮助人们提高或重新认识某一问题，能够引导或指导人们去完成某项工作和任务。

应用性的实用价值，主要是对实验分析型课题而言的。这类选题报告实际上是一种有创造性的实验总结，其成果能直接应用于社会生活或生产与服务，并进而优化或改变生活与生产的原有方式，提升生活与生产的效率和品质。因此，与一般实验报告不同，科技论文的研究目的并不在于实验过程和实验结果本身，而是要对实验现象和实验结果进行一些较为深入的分析、讨论，以获得某些理性的、具有指导意义的认识。

因此，选题应以本学科的理论发展与实际应用相结合，选题应力求在学术上或实践中具有一定的理论意义和实用价值。

（四） 可行性

可行性是指人们的主观预想与实现过程的吻合程度。吻合程度越高，说明可行性越强；相反，则可行性越差。毕业论文的选题，在追求一定的先进性和难度的同时，必须考量其实现的可行性。首先，选题要量力而行。对于刚刚结束课程学习，初次涉足科学研究的大学生来说，所学的专业基础知识和理论知识通常尚未得到充分的消化与吸收，而撰写毕业论文的时间又比较有限。所以，预选课题时，对于课题的大小难易，要根据自己的学

^① 参见蔡翔：《硕士论文选题应注意的几个问题》，载《高等工程教育研究》，2004（3）。

识、能力酌情选择。其次，选题要契合导师的研究。预选课题要符合指导老师的研究领域和科研课题，以便得到导师全面、深入的帮助和指导。所选课题如果不在导师研究领域范围内，须征得导师同意，并在导师及指导小组指导下开展研究工作。最后，选题要权衡客观条件。科学研究既要有理论分析，又要有实验验证。客观条件是实现科学研究的物质基础，需要充分考虑课题研究所需的资料积累、仪器设备、实验条件、研究经费以及时限要求等。

三、要素结构

选题报告是一种约定俗成的格式文本，只须按各个项目题名和内容要求，分条列项予以填写即可。各个高校选题报告的项目题名大同小异，主要的项目题名有：论文选题的来源、依据和目的；文献综述（国内外关于该论题的研究现状和发展趋势）；论文的主攻方向、研究内容和基本思路；预期达到的水平和所需的科研条件；工作量、工作进度安排等。

（一）论文选题的来源、依据和目的

所谓论文选题，是指研究者拟研究的方向、范围、对象。论文的选题一般有三种来源。一种源自导师根据自己的研究领域所提供的分门别类的课题研究目录、子目录；一种源于研究者在课程学习中，对疑难问题、待解问题的思考与探索，或通过观察社会、进行理论思考而获得的心得积累；一种源自文献综述——通过对文献资料的筛选、比对、排查与分析发现的新问题、新“盲区”或新领域。

对于初选的课题，除了说明其来源外，还要对所拟课题的研究方向、研究范围、研究对象分别予以具体叙述。最后，还要对课题的预期目标作出概要的阐述，让人对所预选课题有一个明确、清晰和总体的印象。

（二）文献综述

毕业论文是对某一学科领域的科研成果的前沿性描述和创造性呈现。这种描述和呈现的必要前提是掌握尽可能多的相关文献资料。因为文献查找越全面、文本阅读越深入，文献综述水平就越高，选题就越准确，科研创新和创造的可能性就越大，论文质量就越高。做好文献综述，还可避免重复前人的工作，避免无效劳动。因此，文献综述是选题报告的重要基础和重点内容。

文献综述又称作国内外关于该论题的研究现状和发展趋势、国内外研究概况等，主要包括文献检索（研究现状）和综述（发展趋势）两大部分。

文献检索部分是以选题为导向，通过检索、查新等尽可能广泛地收集相关文献资料，包括与选题相同或相近的各种学术论文、学术专著或学术报告，尤其是相关的经典著作与权威学术观点和论述等。它是现代科技人员获取文献信息的主要手段，也是写作选题报告

时获取资料的主要方法。文献检索一般有两种途径：

一种是利用电子期刊数据库。随着网络的成熟和普及，电子期刊数据库以其数据库容量大、资料种类齐全、检索方便快捷等特点，已经成为当今人们查找、收集资料的首选途径。常用的有中国知识基础设施工程网（CNKI 数据库）、万方数据资源系统、中国科技期刊数据库等。

另一种是收集各级图书馆及资料室资料。由于我国的电子期刊数据库始建于 20 世纪 90 年代前期，一些史籍史料及前人成果尚未收录，必须通过传统的检索方式予以收集，才能基本做到文献资料的全面性、完整性。

收集的文献资料要按照文献综述的基本架构进行整理、分类，做到条分缕析。其作用是让资料陈述有序、层次清晰，从而为下一步的综述进行基础梳理和资料铺垫。

文献的综述部分的“综”，含有“归纳”和“分析”两层含义。

这里的“归纳”，是要在文献资料整理分类的基础上，围绕自己的选题，将目前国内外与之相关的研究概况、研究水平和发展趋势，逐一予以陈述。陈述时要做到点面结合，删繁就简，厘清疑点，突出重点。

“分析”部分，则要针对选题，用审视和批判的眼光对国内外同类研究成果，按照时序进行纵向的逻辑分析，找出链条的勾连特点或缺损环节；通过对国内外平行研究的结果进行横向的类型比对，从文献的学术观点、理论方法和实验路径的缜密分析中，吸收其成功经验，发现其误差与短缺；进而根据分析结果以及自己的能力和条件，确立选题的起点、选题的大小、选题的范围和突破方向及预期的目标。还可以阐述该选题在本领域里所具有的补充性、前沿性或创新性，并申明论文选题的理论意义、学术价值和应用价值。

文献综述部分是文献检索和综述的有机统一和完美结合，也是承载选题的坚实基础。值得注意的是，有些初学者由于缺乏足够的学科领域的文献积累，容易忽视全面系统的检索、查新，仅凭几篇文献资料来写文献综述，这样难免显得单薄苍白，或挂一漏万，以偏概全；有的则将文献综述写成了“文献索引”、“文献简介”；还有的只重视文献的检索陈述，忽略对文献的归纳、分析。如此种种，只能说明他们多是没有认识到文献综述在选题报告中所具有的重要的基础支撑作用，结果让自己的选题成了石上植木，沙上建塔。

（三）论文的主攻方向、研究内容和基本思路

论文的主攻方向就是选题报告的研究主题。我们知道，一切研究都始于问题，选题报告也必须始于问题。只有需要研究、需要解决的问题才能成为研究的主题。因此，在表述论文的主攻方向即选题报告的研究主题时，要准确清晰地说明其拟研究的具体含义、具体方向、具体范围和具体对象。论文的主攻方向必须是前人经验的一种拓展、前人成果的一种延伸或者个人独特经验的总结、个人创新发现的展示。一切没有新意的主题，也就毫无研究的意义。

研究内容是对主攻方向的具体、深层描述。所谓具体描述，即对拟研究问题的具体方

向、具体范围和具体对象分别展开叙述。要写清楚拟研究问题的重点和要点、论点和分论点，写清楚它们之间的逻辑关系及其对逻辑关系的思考与辨析，并提出支撑论点与分论点的^①关键理论论据和关键技术。所谓深层描述，主要是对研究的预期结论和实验结果而言的。一般来说，“一个清晰而明确的研究问题，往往已经隐含着论文的基本结论”，“研究内容就是要把这些暗含的结论与论证结论的逻辑推理过程清楚地展现出来”。也就是说，研究内容部分，不仅要^②将研究问题的主要观点、推进程序叙述清楚，还应将研究问题所隐含的基本结论表述出来。

基本思路又称作技术路线，它是对研究问题、解决问题过程的逻辑思考，是通过理论分析和科学实验来证明论点的研究方案和实施路线。基本思路可以借鉴他山之石，可以来源于自己的经验，也可以是建立于科学原理之上的一种研究假设。

基本思路可以是一条，也可以是若干条（一般不宜超过三条）。若是多条思路，则应对每条思路的思考以及各自的研究方法和技术路线一一表述清楚，并在此基础上，将多条思路进行横向比较，然后从理论上分别列出各条思路的优缺点，最后选择一条最佳思路。在没有把握的情况下，也可以不做选择，仅提供思路供指导老师指导、决定。

在表述基本思路时，首先要写明支撑该思路的关键理论和关键技术，其次要依次清楚表述完成课题的具体方案及主要措施。对于方案的主要节点和关键措施，要尽可能写得详细、清晰。

（四）预期达到的水平和所需的科研条件

预期达到的水平是研究的主观设计，也是毕业论文的最终目标。这个目标不能定得太高，否则力不能逮，白耗气力；也不能设得太低，否则不能充分展示自己的学识水平，不能发挥自己的科研能力。这就要求研究者要对所选的课题有比较深入、全面的理解和准确的把握，对自己的学科基础和科研能力以及科研条件等有比较清醒的认知和正确的评判，只有这样，才能作出恰如其分的目标选择。

科研条件是实现研究课题的客观保障。叙述所需的科研条件时，先要针对课题的研究方法和技术路线所需的文献资料、实验设备、实验材料及其科研经费等，列出一个简要的清单和匡算，然后对其存在的问题或可能遇到的困难进行研判和说明，并对解决的途径、方法和措施提出自己的建议。这样做的目的，一是让自己对研究所需的客观条件有一个清晰的盘点，未雨绸缪；二是可以让导师悉数了解自己的情况，有利于导师全盘统筹，重点支持。

（五）工作量、工作进度安排

论文的主攻方向、研究内容和基本思路选好后，就可以制订工作计划了。制订工作计划，首先要按照论文的研究内容和基本思路，依次拟写研究进程的步骤和程序。要根据研究内容和工作内容的性质，将全部的步骤和程序划分为若干阶段，如文献检索阶段、开题

^① 李仁方：《关于本科毕业论文开题工作的几点思考》，载《西南科技大学高教研究》，2011（3）。

报告阶段、实验测试阶段、实验结果分析阶段等。其次,要将每个阶段的步骤和程序进行归类整理,化繁为简;在列述每个阶段的任务时,要注意把握“关节”,突出重点,按轻重缓急,详略叙述;切忌过于笼统,空洞无物,也不要事无巨细,记流水账。最后,根据每个阶段的难易程度、时限要求测算工作量,然后按照工作量的大小合理分配时间。对于重点和难点的步骤、环节,在工作量与时间上都要留有一定的余地。

四、应注意的问题

(一) 学习要点

(1) 正确理解选题报告的含义,深入了解选题报告的作用。选题报告的意义和作用,决定了它是毕业论文的第一个也是重要的一个步骤,不可或缺。它是对毕业论文的主题方向、方法路径以及框架结构所进行的全面思考和梳理。写好选题报告,对于完成毕业论文,往往能起到事半功倍的效果。

(2) 掌握文献检索的主要方法和做文献综述的内容及方法。掌握文献检索的方法是进行科学研究的前提,也是撰写文献综述的重要基础。在选题报告中,文献综述是一个重要而关键的部分。文献综述的过程,除了能对论文的主攻方向或主题起到阐述、论证、肯定的作用外,有时还可以产生完善主题、修正主题甚至变更主题的作用。论文的主攻方向和主题也会由此趋于合理、完善,显得更加明晰、准确。

(二) 常见问题

毕业论文的撰写过程是一个环环相扣的系统过程。有些环节的名称、概念往往只有一字之差,初学者容易相互混淆、张冠李戴,结果造成南辕北辙的情况,值得引起注意。

第一,选题报告不等于开题报告。选题报告与开题报告是两个类似的文种,操作中容易混淆,甚至出现相互替代的现象。其实选题报告与开题报告的含义不尽相同,其作用和功能也各不相同,主要区别为:

(1) 主旨含义不同。选题报告的主旨在于“预选课题”,要重点阐述预选的课题“是什么”和“为什么”;而开题报告的重点在于“确立”和“展示”课题。

(2) 程序环节不同。选题报告是进入科学研究工作的首要环节,是整个研究工作的基础,而开题报告则是在选题报告基础之上,经过调整和修正后的精确选题,可视为毕业论文的第二个环节。对于研究生来说,选题报告在学习中期就可以进行,而开题报告一般在学位课程学习结束后再进行。

(3) 内容侧重不同。选题报告的主要内容是研究者向导师和指导小组报告其选题的来源、根据与目的,尤其是通过文献综述,阐述预选课题的可能性、可行性;开题报告的主要内容则是深入阐述选题的科学性、必要性。

(4) 功能作用不同。选题报告的作用在于,通过说明和阐述,向指导老师或选题报告

会的领导小组进行选题汇报，目的是获得评判和指导。而开题报告则是向指导老师展示科研课题，目的是获得认可和监督。

由此可知，选题报告和开题报告这两个环节，虽然都是保证学位论文质量的重要措施，但是，选题报告是学位论文的第一个也是重要的一个环节，是开题报告的前提和基础，不可缺省，也不可以开题报告取而代之。

第二，论文选题不同于论文标题。论文选题是通过申述、论证，说明选题的来源、依据，阐述拟研究的方向、范围、对象等的一篇文章或一个文本。也就是说，论文选题是一个过程，一个“选题”的过程，这个过程包括文献检索、综述的整理，主攻方向的选择，研究思路的设计，步骤与时间的安排等。当然，论文选题必须有一个题名，这个题名只是对论文选题的一个概括。论文标题则是对科研论文主旨的高度概括。具体地说，论文标题是用简练、准确的词语和文字，对研究课题或研究成果的主体性、科学性、新颖性、应用性进行高度概括和提炼后的一种专业表达。所以，论文选题的题名不等于论文标题，前者只是后者的基础或雏形。

从程序来看，论文选题是毕业论文的起始，是论文标题的滥觞；论文标题则是毕业论文的总结，是论文选题的终结。一般来说，论文选题一旦确定，不宜做大的改变，具有相对的稳定性；论文标题则不然，它往往随着研究工作范围的伸缩、程度的深浅、角度的调整等，不断地被修正、修改，甚至推倒重来，直至论文定稿的最后一刻，论文标题仍须斟酌推敲，仔细打磨。

第三，写文献综述时，不应“综”而不“述”。综而不述是初学者常常容易犯的错误。文献的综与述是一个有机结合的整体，缺一不可。文献综述的“综”是要通过文献检索，将资料进行归纳、分类；文献综述的“述”是要在文献分类、归纳的基础上，进行分析、研究，并将从中获得的选题方向和领域表述出来。如果只“综”不“述”，如同“文献索引”或“文献简介”，文献综述就少了依据性、理论性；反之亦然，如果“述”而无“综”，文献综述则形同无源之水，空中楼阁。



[范文]

范文标题（略）

（原文 10 000 余字）

目 录

1. 课题来源、目的、意义，国内外基本研究概况

1.1 课题来源及目的意义

- 1.2 国内外基本研究概况
2. 预计达到的目标、关键理论和技术、技术指标、完成课题的方案及主要措施
 - 2.1 预计达到的目标
 - 2.2 关键理论和技术
 - 2.2.1 关键理论
 - 2.2.2 关键技术
 - 2.3 技术指标
 - 2.4 完成课题的方案及主要措施
 - 2.4.1 酵母回补验证
 - 2.4.1.1 酵母菌株的一般操作及菌种 AH109 表型鉴定
 - 2.4.1.2 酵母 AH109 感受态细胞的制备 (LiAc 制备法)
 - 2.4.1.3 一对一共转化酵母回补验证
 - 2.4.2 载体构建及验证
 - 2.4.2.1 TRIzol 法从 HeLa 细胞中提取 RNA
 - 2.4.2.2 RT-PCR 和 cDNA 合成
 - 2.4.2.3 PCR 扩增
 - 2.4.2.4 胶回收 PCR 产物
 - 2.4.2.5 双酶切 PCR 产物和载体 p3×FLAG-CMV-10-FRMD7, pEGFP-C1-PREX1, pGEX-6P-1-GST-FRMD7
 - 2.4.2.6 连接
 - 2.4.2.7 大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞的制备 (CaCl₂ 制备法)
 - 2.4.2.8 真核表达载体转化感受态 DH5 α
 - 2.4.2.9 重组表达载体的鉴定
 - 2.4.3 GST Pull-down 实验
 - 2.4.4 免疫共沉淀分析 (Co-IP)
3. 课题研究进展计划
4. 主要参考文献

1. 课题来源、目的、意义，国内外基本研究概况

1.1 课题来源及目的意义

课题来源:

国家自然科学基金项目、华中科技大学国家级大学生创新训练项目

目的意义:

运用酵母双杂交技术,以眼球震颤致病基因 FRMD7 基因为诱饵从胎儿脑 cDNA 文库

筛选出阳性克隆,进行 cDNA 插入片段测序,发现 P-REX1 基因与其互作,本研究进一步利用酵母回补实验、GST Pull-down 和 Co-IP 确定 FRMD7 与 P-REX1 的相互作用的真实性,为 FRMD7 突变导致眼球震颤的分子机制奠定基础。

1.2 国内外基础研究概况

先天性眼球震颤 (congenital nystagmus, CN) 是一种眼球节律性的、不自主的、摆动的并以眼部表现为主的疾病。先天性眼球震颤的发病率较高,其临床表现复杂,危害较重并难以治疗,而且其确切的发病机制及分子机理至今仍然不详。因而对眼球震颤致病基因及其调控蛋白进行研究,不仅有助于我们更清楚地了解眼球震颤的分子机制,而且对该病的诊断、预防、治疗尤其是药物的研发都具有非常重要的意义。

先天性眼球震颤有多种遗传方式,其中 X-连锁遗传最为常见。目前的研究已发现两种可导致该病的基因,分别为 FRMD7 和 GPR143。其中,有 50% 的 CN 患者家庭都与 FRMD7 基因突变有关,可知 FRMD7 突变在导致 CN 发生中的重要性。迄今为止,世界上已报道有 40 多种不同 FRMD7 突变位点,且突变位点主要集中在 FERM 区域和 FA 区域。但从目前来看,关于 FRMD7 基因的功能研究还非常少。Self 等人用实时定量 PCR 检测了 FRMD7 的 mRNA 在小鼠大脑组织中的各个时期的表达情况,他们发现 FRMD7 的 mRNA 水平在大脑的早期发育时期较低,但在胚胎发育第 18 天 (ED18 时期) 开始显著上升,并一直维持较高表达水平至成年期阶段,研究表明 FRMD7 的表达可能与神经元的发育 (轴突、树突的延伸及突触的形成) 有关。此外, Tarpey 等人发现 FRMD7 mRNA 在人类大脑发育的第 36 天主要集中在中脑和后脑表达,而这些区域恰好与眼球运动的控制有关。接着他们又检测了人类胚胎及胎儿大脑发育过程中大脑皮层在不同发育时期 FRMD7 mRNA 的表达水平,研究发现,在 CS16 和 CS19 时期, FRMD7 主要集中在间脑和端脑的脑室区表达,而到了 9-14wpc 时期,则在大脑皮层的底板和皮质板中表达。研究表明, FRMD7 可能对大脑皮层中神经元的放射性迁移起着重要的调节作用。在胎儿早期发育阶段, FRMD7 不但在大脑皮质和脑干中表达,而且在海马、小脑、嗅球及眼部都有高度表达,表明 FRMD7 对大脑中控制眼球运动的区域以及眼睛的发育都起着至关重要的作用。有研究表明, FRMD7 在神经元发育的过程中可以促进神经突的延伸, Betts-Henderson 等人发现在分化的 Neuro2A 细胞中, FRMD7 主要富集在含有大量肌动蛋白的初级神经突及生长锥末端,当通过 RNA 干扰降低 FRMD7 在细胞中的表达后,细胞的神经突数目增多,但其长度却明显降低。这些研究也暗示了 FRMD7 在神经元分化的过程中促进了轴突和树突的延伸。由于轴突和树突的延伸是生长锥末端的肌动蛋白骨架动态变化的结果,而细胞骨架的变化与 Rho 小 G 蛋白家族 (Rho GTPase, 包括 Rac1、Cdc42 和 RhoA) 分子的激活和募集是分不开的,而且 FRMD7 也恰好在富含肌动蛋白的生长锥末端存在,因而 FRMD7 很可能通过调节 Rho GTPase 及下游信号通路来实现细胞骨架的动

态变化。但到目前为止, FRMD7 是否正如人们所预料的那样参与以及如何参与 Rho GTPase 的调节, 仍然是研究者们的一大疑惑。

Rho GTPase 的调节者主要包括 Rho GEF (Rho 鸟苷酸交换因子)、Rho GDI (GDP 解离抑制因子) 和 Rho GAP (GTP 酶激活蛋白)。Rho GEF 促进 GDP 和 GTP 的交换, 使 Rho GTPase 由失活形式 (GDP 结合状态) 转变为激活状态 (GTP 结合状态)。相反, Rho GAP 加速 GTP 水解, 从而导致 Rho GTPase 失活。而 Rho GDI 阻止 GDP 从 GTP 酶上分离进而抑制 Rho GTPase 被激活。FRMD7 的同源家族蛋白 FARP1 和 FARP2 都可以促进神经元的分化, 调节神经突的延伸。于是有人提出, FRMD7 或许可以像 FARP1 和 FARP2 本身作为 GEF 调节细胞骨架, 但目前为止仍未发现 FRMD7 有 GEF 活性。

我们最近通过酵母双杂交的方法钓取了与 FRMD7 相互作用的蛋白——P-REX1, 它是 Rho GEF 家族成员之一。P-REX1 依赖于 PIP3 和 G $\beta\gamma$ (G 蛋白偶联受体的 $\beta\gamma$ 亚基) 并激活 Rho GTPase 从而调节细胞肌动蛋白骨架。P-REX1 主要在白细胞和大脑中表达, 依据不同的细胞类型可以分别激活 Rac1、Rac2 和 Rac3。通过激活 Rho GTPase 活性, P-REX1 可以调节 ROS 的产生、吞噬细胞的黏附及趋化性、内皮细胞的迁移、神经元的形态和趋化性等。2005 年, Yoshizawa 等人揭示, P-REX1 在神经元的迁移过程中起着重要的调节作用, 他们发现在小鼠体内 P-REX1 与大脑皮质发育过程中神经元的放射性迁移有关, 而前面所述 FRMD7 也有类似的功能, 同样参与神经元的放射性迁移。同时他们还证明了增加 PC12 细胞内 P-REX1 的表达可以在 NGF 刺激细胞后出现明显的膜皱裂, 并与 Rac1 的激活及下游的膜骨架调节有关, 而 P-REX1 突变体 (DH-P-REX1) 能够抑制皮质神经元的迁移。由此可知, P-REX1 在调节神经元的形态和迁移等方面发挥着重要作用。2008 年, Waters 等人研究了 P-REX1 对神经元分化的调节作用, 他们同样用 NGF 刺激 PC12 细胞使其出去分化状态并产生神经突, 随着 PC12 细胞中 P-REX1 表达的降低, Rac1 和 Rac3 的活性也随之降低, Rac3 活性变化尤其明显。当在细胞中引入大量外源 P-REX1 表达后, Rac3 的活性明显增强, 进而抑制神经突的延伸。此外, 他们还研究了 P-REX1 在细胞中的定位情况, 它更多集中在神经突的轴部和生长锥末端富含肌动蛋白的区域, 这与 FRMD7 的亚细胞定位类似。总之, P-REX1 可以通过激活 Rac1 和 Rac3 来影响神经元的发育, 通过调节细胞骨架而改变神经突的长度。

Amra Hajdo 等人发现, Rac1 和 Rac3 在影响神经元的分化方面似乎起着相反的作用, Rac1 的激活可以促进细胞与基体之间的黏附和增强神经突起的长度, 而 Rac3 却起着抑制作用。这有可能说明在不同的发育时期和不同的神经元内, 它们对神经元的分化起着不同的调节作用。Bolis 等人研究了 Rac1 和 Rac3 在发育的小鼠大脑中的时空表达差异, 他们发现在各个时间点 Rac1 在大脑内都是广泛表达的, 而 Rac3 局限在皮质、小脑和脑桥并