



项目批准号	31870022
申请代码	C010201
归口管理部门	
依托单位代码	40071508A1021-1936



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：真菌甾烷类杀虫活性倍半萜生物合成的研究

直接费用：60万元 执行年限：2019.01-2022.12

负责人：邹懿

通讯地址：重庆市北碚区天生路2号西南大学药学院202室

邮政编码：400716 电 话：02368251048

电子邮件：zouyi31@swu.edu.cn

依托单位：西南大学

联系人：黄斌 电 话：02368254200

填表日期：2018年08月23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	邹懿	性 别	男	出生年月	1983年12月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	研究员		
	是否在站博士后	否			电子邮件	zouyi31@swu.edu.cn		
	电 话	02368251048			个人网页			
	工 作 单 位	西南大学						
	所 在 院 系 所	药学院 中医药学院						
依托单位信息	名 称	西南大学					代码	40071508A1021
	联 系 人	黄斌			电子邮件	190224719@qq.com		
	电 话	02368254200			网站地址	http://www.swu.edu.cn/		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	真菌窗烷类杀虫活性倍半萜生物合成的研究						
	资 助 类 别	面上项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	C010201:微生物生理与代谢						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2019.01-2022.12						
	直 接 费 用	60万元						



项目摘要

中文摘要:

窗烷结构是自然界中最特殊的化合物骨架类型之一。真菌倍半萜类天然产物penifulvins不但具有显著杀虫活性,而且结构中复杂的Dioxo-[5.5.5.6]窗烷结构和区域选择性/立体选择性的氧化修饰预示着独特的生物合成机制。通过对*Penicillium griseofulvum* NRRL35584的全基因组测序与生物信息学分析,结合基因敲除实验确定了penifulvin的生物合成基因簇。本项目拟利用基因敲除、化学回补、蛋白表达与体外生化表征、异源宿主生物合成等手段揭示penifulvin的生物合成途径,重点研究倍半萜合成前体silphinene、Dioxo-[5.5.5.6]窗烷结构和区域选择性/立体选择性氧化修饰的酶学合成机理。本研究有望系统地揭示自然界中具有窗烷骨架独特结构类型的天然产物生物酶学途径,为实现不同窗烷类型的倍半萜类天然产物的途径工程改造从而获得新型杀虫生物农药奠定基础。

Abstract:

Fenestrane scaffold is one of the most unique chemical structures in Nature. Penifulvins, a family of fungal sesquiterpene with strong insecticidal activity, contains the complex Dioxo-[5.5.5.6]-fenestrane and the regioselective/stereoselective oxidations. However, the genetic and biochemical basis of penifulvins biosynthesis remains unknown. Herein, we try to identify and characterize of the penifulvin (Peni) biosynthetic gene cluster from *Penicillium griseofulvum* NRRL35584. Combination with gene knockout, chemical complement, protein expression and biochemical characterization and heterogeneous biosynthesis, the biosynthetic pathway of penifulvins will be investigated. The study on the biosynthesis of penifulvins are expected to uncover the special enzyme functions for silphinene synthesis, fenestrane scaffold formation as well as the regioselective and stereoselective oxidation in nature products, and discover some novel and remarkable sesquiterpene insecticides through pathway engineering.

关键词(用分号分开): 合成基因簇; 次级代谢; 抗生素合成代谢; 代谢调控; 组合生物合成

Keywords(用分号分开): biosynthetic gene cluster; secondary metabolism; antibiotic anabolism; metabolic regulation; combinatorial biosynthesis



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	邹懿	1983.12	男	研究员	博士	西南大学	02368251048	522401198312310410	项目负责人	8
2	曾海春	1990.02	女	博士生	硕士	西南大学	13617695854	420881199002012525	基因敲除与蛋白表达	10
3	冯程	1994.08	女	硕士生	学士	西南大学	13206003332	430702199408041028	化合物分离	10
4	张金梅	1994.10	女	硕士生	学士	西南大学	18883323745	533023199410072923	异源途径构建	10
5	郑佳昞	1980.09	女	主管药师	硕士	西南大学	02368254182	510211198009210087	化合物活性测定	3
6	陈锡玮	1991.10	男	硕士生	学士	西南大学	18717009244	500231199110035111	蛋白表达与纯化	10
7	姜涛	1994.09	男	硕士生	学士	西南大学	15520114300	342622199409214314	化合物分离	10
总人数			高级		中级	初级		博士后	博士生	硕士生
7			1		1				1	4



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：31870022

项目负责人：邹懿

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	60.0000
2	1、设备费	0.0000
3	(1)设备购置费	0.0000
4	(2)设备试制费	0.0000
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.00
6	2、材料费	28.2600
7	3、测试化验加工费	10.0000
8	4、燃料动力费	0.00
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	5.5000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	3.60
11	7、劳务费	12.0000
12	8、专家咨询费	0.6400
13	9、其他支出	0.00



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》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 ≥ 10 万元的设备费等内容进行必要说明。）

本申请项目直接经费总预算：60 万元。包括：

设备费	0.00 万元
材料费	28.26 万元
测试化验加工费	10.00 万元
燃料动力费	0.00 万元
差旅费	5.50 万元
会议费	0.00 万元
国际合作与交流费	0.00 万元
出版/文献/信息传播/知识产权事务费	3.60 万元
劳务费	12.00 万元
专家咨询费	0.64 万元
其他支出	0.00 万元

一、设备费：0.00 万元。

二、材料费：28.26 万元，占项目直接经费的47.10%，用于购买化学试剂、生物试剂、药品、玻璃仪器和耗材等。

1. 化学试剂和玻璃耗材等6.634 万元：

1) 化学溶剂：4.694 万元

普通化学试剂：共1.504 万元，包括：（单位：单价/元，总价/万元）

甲醇（分析纯）：10元/L $\times 400$ L= 0.4 万元

乙酸乙酯（分析纯）：24元/L $\times 200$ L= 0.48 万元

丙酮（分析纯）：28元/L $\times 100$ L= 0.28 万元

石油醚（分析纯）：24元/L $\times 10$ L= 0.024 万元

二氯甲烷（分析纯）：28元/L $\times 50$ L= 0.14 万元

正己烷（分析纯）：36元/L $\times 50$ L= 0.18 万元

色谱级溶剂：共3.19 万元，包括：（单位：单价/元，总价/万元）

甲醇（色谱纯）：45元/L $\times 100$ L= 0.45 万元

乙腈（色谱纯）：80元/L $\times 100$ L= 0.80 万元

异丙醇（色谱纯）：100元/L $\times 20$ L= 0.20 万元

乙酸乙酯（色谱纯）：100元/L $\times 100$ L= 1.00 万元

正己烷（色谱纯）：150元/L $\times 40$ L= 0.60 万元

屈臣氏蒸馏水：3.5元/L $\times 400$ L= 0.14 万元

2) 化合物结构测试用氘代溶剂和核磁样品管：1.94 万元（单位：单价/元，总价/万元）

核磁样品管 20元/支 $\times 200$ 支= 0.40 万元

Shigimi 微量核磁管2000元/支 $\times 5$ (三种不同溶剂)= 1.00 万元

氘代氯仿 80元/mL $\times 20$ mL=0.16 万元

氘代甲醇 80元/mL $\times 20$ mL=0.16 万元

氘代二甲基亚砷 40元/mL $\times 40$ mL=0.16 万元

氘代丙酮 30元/mL $\times 20$ mL=0.06 万元



2. 生物学试剂和耗材：21.626 万元

本项目研究需要进行载体构建和蛋白表达纯化等，根据实验设计和不同试剂耗材的价格，经费预算如下：

1) 常规试剂 3.722万元（单位：单价/元，总价/万元）：

BD Difco 酵母氮源基础培养基：640元/瓶×18瓶= 1.152 万元

BD Difco 酵母YPD培养基：80元/瓶×20瓶= 0.16 万元

马铃薯葡萄糖培养基(PDB)：500元/瓶×10瓶= 0.50 万元

酪蛋白水解物：1600元/瓶×6瓶= 0.96万元

Yeast Synthetic Drop-out Medium Supplements：50元/g×50g= 0.25 万元

PEG4000：600元/瓶×1瓶= 0.06 万元

山梨醇：200元/瓶×6瓶= 0.12 万元

进口MgSO₄：200元/瓶×2瓶= 0.04 万元

琼脂粉：800元/瓶×3瓶= 0.24 万元

NaCl/NaHCO₃/NaH₂PO₄/Na₂HPO₄/KH₂PO₄/K₂HPO₄/NaOH等：50元/瓶×10瓶= 0.05 万元

TritonX-100：400元/瓶×1瓶= 0.04 万元

硫酸镍：200元/瓶×1瓶= 0.02 万元

酚/氯仿/异戊醇：350元/瓶×2瓶= 0.07 万元

无水乙醇：200元/瓶桶×2桶= 0.04 万元

甘油：100元/瓶×2瓶= 0.02 万元

2) 分子生物学试剂和试剂盒：共3.159 万元，包括：

Invitrogen RNA提取试剂盒：1200元/盒×1盒= 0.12 万元

罗氏cDNA反转录试剂盒：2000元/盒×2盒= 0.40 万元

PCR片段载体连接试剂盒：800元/盒×6盒= 0.48 万元

酵母质粒提取试剂盒：1000元/盒×2盒= 0.20 万元

酵母转化试剂盒：1500/盒×2盒 = 0.30 万元

DNA胶回收试剂盒：380元/盒×10盒= 0.38 万元

DNA Marker：350元/盒×10盒= 0.35 万元

Trizol：1260元/瓶×1瓶= 0.126 万元

琼脂糖：500元/瓶×5瓶= 0.25 万元

DEPC：280元/瓶×1瓶= 0.028 万元

Goldview核酸染料：280元/mL×5 mL= 0.14 万元

dNTP：175元/管×10管= 0.175 万元

IPTG：420元/g×5 g= 0.21 万元

3) 酶：共3.57万元，包括：

NEB Q5高保真聚合酶：600元/管×10管= 0.6 万元

普通taq酶：200元/包×25包= 0.50 万元

PacI：650元/管×2管= 0.13 万元

XbaI：600元/管×2管= 0.12 万元

NotI-HF：600元/管×2管= 0.12 万元

NdeI：600元/管×2管= 0.12 万元

EcoRV：550元/管×2管= 0.11 万元

EcoRI-HF：550元/管×2管= 0.11 万元

BamHI-HF：550元/管×2管= 0.11 万元

XhoI-HF：550元/管×2管= 0.11 万元

HindIII-HF：550元/管×2管= 0.11 万元



- SalI*-HF: 500元/管×2管= 0.10 万元
KpnI-HF: 500元/管×2管= 0.10 万元
SwaI: 600元/管×2管= 0.12 万元
SpeI: 650元/管×4管= 0.26 万元
NEB T4 DNA Ligase: 700元/管×5包= 0.35 万元
Lysing Enzymes from *Trichoderma harzianum*: 1050元/管×2管= 0.21 万元
Yatalase: 1450元/管×2管= 0.29 万元
- 4) 辅助因子: 共0.75万元, 包括:
FAD(FMN): 5000元/g×0.5 g= 0.25 万元
NAD(P)H: 35元/mg×100mg= 0.35 万元
FPP: 15/mg× 100 mg = 0.15 万元
- 5) 抗生素: 共1.92万元, 包括:
潮霉素B: 700元/瓶×8瓶= 0.56 万元
G418: 700元/瓶×2瓶= 0.14万元
博来霉素: 3200元/g×2g= 0.64 万元
草胺磷: 3600元/g×1g= 0.36 万元
羧苄青霉素: 120元/g ×10g= 0.12 万元
硫酸卡那霉素: 100元/g×10g= 0.10 万元
- 6) 蛋白纯化实验所需试剂耗材: 共0.985万元, 包括:
甲叉双丙烯酰胺: 400元/瓶×1瓶= 0.04 万元
丙烯酰胺: 100元/瓶×1瓶= 0.01 万元
Tris-base: 200元/瓶×2瓶= 0.04 万元
甘氨酸: 80元/瓶×2瓶= 0.016 万元
过硫酸胺: 420元/瓶×1瓶= 0.042 万元
SDS: 220元/瓶×1瓶= 0.022 万元
TEMED: 250元/瓶×2瓶= 0.05 万元
考马斯亮兰: 250元/瓶×1瓶= 0.025 万元
蛋白Marker: 800元/管×2瓶= 0.16 万元
Glass beads: 800元/瓶×1瓶= 0.08 万元
PD-10脱盐层析柱: 2800元/盒×1盒= 0.28 万元
10Kd、30Kd、50Kd和100Kd蛋白超滤管: 30元/个×10个×4种=0.12 万元
His tag填料: 20元/mL×50mL=0.1 万元
- 7) 分子生物学耗材: 共7.52万元, 包括:
移液器: 0.45万元/套×4套= 1.8 万元
PCR管: 200元/包×20包=0.4 万元
96孔板: 15元/个×200个=0.3 万元
一次性涂布器: 7元/包×100包= 0.07 万元
组织研磨棒: 60元/包×40包= 0.24 万元
0.22 μm滤头: 120元/包×40包= 0.48 万元
一次性注射器: 100元/盒×20盒= 0.2 万元
无DNA/RNA酶枪头: 220元/包×10包= 0.22 万元
无DNA/RNA酶离心管: 350元/包×10包= 0.35 万元
离心管 (小号80+大号100): 180元/包×20包= 0.36 万元



离心管架（小号）：6元/个×50个= 0.03 万元
离心管架（大号）：10元/个×30个= 0.03 万元
各种型号枪头：60元/包×150包= 0.9 万元
乳胶手套：85元/盒×20盒= 0.17 万元
一次性塑料手套：70元/包×20包= 0.14 万元
口罩：160元/盒×20盒= 0.32 万元
冻存管：850元/包×10包= 0.85 万元
封口膜：120元/卷×8卷= 0.096 万元
锡箔纸：80元/卷×8卷= 0.064 万元
一次性培养皿：250元/箱×20箱= 0.5 万元

三、测试化验加工费10万元，占项目直接经费的16.67%，用于有效成分的识别、结构表征测试、核酸测序等。

1) 化学测试费：5万元，包括：

UV; IR; 旋光：120元/个×40= 0.48 万元
CD：300元/个×10= 0.3 万元
HR-ESIMS：200元/个×20= 0.4 万元
¹H NMR：70元/个×40个= 0.28 万元
¹³C NMR：120元/个×40个= 0.48 万元
DEPT; ¹H-¹H COSY; HSQC(HMQC); HMBC; NOESY：1020元/套×30套= 3.06 万元

2) 生物学测试费：5万元，包括：

DNA测序：50元/个×300个= 1.50 万元
DNA引物合成：100元/个×350个= 3.50 万元

四、燃料动力费：0.00 万元。

五、差旅费5.50万元，用于赴外地参加国内学术会议8人次，占项目直接经费的9.17%：

注册费：2000元/人×8人次= 1.60 万元
住宿费：平均300元/天/人×4天×8人次= 0.96 万元
交通费往返：平均3000元/人×8人次= 2.40 万元
伙食、交通补助：0.54 万元

六、会议费：0.00 万元。

七、国际合作与交流费：0.00万元。

八、出版/文献/信息传播/知识产权事务费3.60万元，占项目直接经费的6.00%：

打印复印扫描费：0.80 万元
审稿费和版面费：预计发表SCI论文2-3篇，版面费合计2.80 万元

九、劳务费12.00万元，占项目直接经费的20.00%：

研究生劳务费：平均600元/人/月，参加工作的5名研究生：600×10月/年×4年×5人= 12.00 万元

十、专家咨询费0.64万元，占项目直接经费的1.07%：

项目研究过程中，需要临时聘请咨询专家，按照《关于调整国家自然科学基金科学项目评审费和专家咨询费标准的通知》，按照平均800元/人/天，每次约2天，预计咨询4人次，费用合计0.64万元。

十一、其他支出：0.00 万元。

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

	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：31870022），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。 项目负责人（签章）： 年 月 日	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。 依托单位（公章） 年 月 日					
本栏目由基金委填写	科学处审查意见：						
	建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年
	金额						
	科学部审查意见： 负责人（签章）： 年 月 日						
本栏目主要用于重大项目等	相关局室审核意见： 负责人（签章）： 年 月 日						
	委领导审批意见： 委领导（签章）： 年 月 日						