



项目批准号	81660596
申请代码	H3010
归口管理部门	
依托单位代码	65020008A1105-2082



# 国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：地区科学基金项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：基于“线粒体分布成分群检测-制备-活性评价”策略的滇黄精缓解非酒精性脂肪肝的体内药效物质及机制研究

直接费用：40万元 执行年限：2017.01-2020.12

负责人：杨兴鑫

通讯地址：云南省昆明市呈贡区雨花路1076号

邮政编码：650500 电话：0871-65918055

电子邮件：yxx78945@163.com

依托单位：云南中医学院

联系人：夏丽 电话：0871-65918217

填表日期：2016年09月02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”-“管理办法”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：按批准资助的直接费用填报资金预算表和预算说明书，其中的劳务费、专家咨询费金额不应高于申请书中相应金额。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. 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	杨兴鑫	性 别	男	出生年月	1987年03月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	讲师		
	电 话	0871-65918055		电子邮件	yxx78945@163.com			
	传 真			个人网页				
	工 作 单 位	云南中医学院						
	所 在 院 系 所	中药学院						
依托单位信息	名 称	云南中医学院					代码	65020008A1105
	联 系 人	夏丽		电子邮件	xlynkm@126.com			
	电 话	0871-65918217		网站地址	www.ynutcm.edu.cn			
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
	北京大学							10087108A0031
项目基本信息	项 目 名 称	基于“线粒体分布成分群检测-制备-活性评价”策略的滇黄精缓解非酒精性脂肪肝的体内药效物质及机制研究						
	资 助 类 别	地区科学基金项目			亚 类 说 明			
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H3010: 药物分析			H3012: 药物学其他科学问题			
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2017.01-2020.12						
	直 接 费 用	40万元						



## 项目摘要

### 中文摘要(500字以内):

线粒体是细胞“发动机”，其功能障碍可致非酒精性脂肪肝（NAFLD），本研究发现滇黄精可调节线粒体而缓解NAFLD，但具体机制及体内物质基础尚不清楚；且当前用于探寻中药调节线粒体的药效物质的策略和方法仍存局限。本项目提出一种基于“线粒体分布成分群检测-制备-活性评价”的分析策略以寻滇黄精缓解NAFLD的物质基础：复制NAFLD动物模型，评价滇黄精药效及对线粒体影响；构建半制备HPLC与HPLC-MS联用的集“富集-分离-鉴定”于一体的二维色谱系统，用此系统全面检测分布于病变靶器官线粒体药源成分；从原药材中制备这些成分（对于代谢物，从原药制备其原型）；评价各成分组成的成分群（按各成分在原药中的含量比例混合）药效，与原药比较。项目将揭示滇黄精调节线粒体缓解NAFLD的机制及主要物质基础，为其质量控制、资源挖掘及创新药研发提供依据；所用策略为寻中药调节线粒体而治疗某一病症的体内物质基础提供新思路。

**关键词：**分析策略；线粒体；体内药效物质；滇黄精；非酒精性脂肪肝

### Abstract(limited to 4000 words):

Mitochondria are the “engine” of cell, and their disfunction will lead to non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Our research found that *Polygonatum kingianum* (P. kingianum) might regulate mitochondria to further attenuate NAFLD, but the exact mechanisms and effective constituents in vivo remain unclear. Furthermore, the current strategies and methods used to explore the effective constituents regulating mitochondria in traditional Chinese medicines (TCMs) are still limited. In this project, therefore, an analytical strategy based on the “detection-preparation-activity evaluation of substance group distributing to mitochondria” was proposed to explore the effective constituents relieving NAFLD in P. kingianum: Copy the animal model of NAFLD, and further evaluate the efficacy and influences of P. kingianum on NAFLD model and mitochondria, respectively; Develop the two-dimensional chromatographic system with the characteristics of “enrichment-separation-identification”, by combining semi-preparative HPLC with HPLC-MS, and further detect thoroughly the drug-originated constituents distributing to the mitochondria of pathological organs; Prepare these constituents from the raw materials of P. kingianum (for the metabolites, their prototypes in materials will be prepared); Evaluate the efficacy of substance group comprised of these prepared compounds (which mixed according to their concentration proportion in P. kingianum materials), and compare with the efficacy of P. kingianum. The project will uncover the specific mechanisms and main effective constituents of P. kingianum regulating mitochondria to attenuate NAFLD, and will provide basis for the quality control and resource exploitation of P. kingianum and research & development of innovative drug. Furthermore, the strategy used will provide a new idea for exploring the effective constituents of TCMs regulating mitochondria to treat a human disorder.

**Keywords:** Analytical strategy; Mitochondria; Effective constituents in vivo; *Polygonatum kingianum*; Nonalcoholic fatty liver



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	杨兴鑫	1987. 03	男	讲师	博士	云南中医学院	0871-65918055	530381198703062932	项目负责人	8				
2	照日格图	1957. 05	男	教授	博士	云南中医学院	0871-65918133	310104195705082859	药理实验指导	4				
3	徐风	1976. 04	男	助理研究员	博士	北京大学	010-82802535	412723197604260018	LC/MS分析指导	4				
4	董发武	1985. 10	男	讲师	博士	云南中医学院	0871-5919635	532301198510111953	单体化合物制备及结构鉴定	6				
5	闫鸿丽	1977. 10	女	实验师	硕士	云南中医学院	0871-65918033	23040519771026064X	动物实验及指标检测	4				
6	梁丽	1990. 02	女	硕士生	学士	云南中医学院	15559691581	421081199002042983	线粒体相关指标检测	8				
7	毕倩	1992. 01	女	硕士生	学士	云南中医学院	18487220976	370883199201250727	化合物分离、制备及核磁分析	8				
8	张驿帆	1993. 09	男	硕士生	学士	北京大学	010-82802535	421281199309116511	LC/MS分析及结构解析	8				
9	王艳芳	1992. 09	女	硕士生	学士	云南中医学院	15508853373	533222199209231560	化合物分离、制备及液相分析	6				
10	张婷	1991. 08	女	硕士生	学士	云南中医学院	18083850481	142229199108150543	动物实验、生物指标及组织形态学检测	6				
总人数			高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	



10	1	4	0	0	0	5
----	---	---	---	---	---	---



## 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：81660596

项目负责人：杨兴鑫

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	一、项目直接费用	40.0000
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)设备改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	27.1400
7	3、测试化验加工费	2.40
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	3.5000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.20
11	7、劳务费	5.76
12	8、专家咨询费	0.0000
13	9、其他支出	0.0000
14	二、自筹资金	0.0000





## 预算说明书（定额补助）

本项目批准直接经费共 40.00 万元，详细预算说明如下：

**1、设备费：0 万元**

**2、材料费：27.14 万元**

**（1）药材及提取费用：1.80 万元**

购买滇黄精药材 200kg×60 元/kg=1.20 万元；粉碎及粗提 200kg×300 元/10kg=0.60 万元；共计 1.80 万元。

**（2）化学对照品：0.55 万元**

购买本项目研究中用到的化合物对照品，包括用于考察二维色谱系统可行性及药理实验阳性对照的白藜芦醇（2g×40 元/20mg=0.40 万元）、虎杖苷（20mg×100 元/20mg）、鱼藤酮（20mg×180 元/20mg）、噻苯咪唑（20mg×180 元/20mg）、胺碘酮（20mg×200 元/20mg）、曲美他嗪（20mg×260 元/20mg）、环孢菌素 A（20mg×160 元/20mg）、和厚朴酚（20mg×200 元/20mg）、大黄素（20mg×120 元/20mg）、非诺贝特片（100 片×10 元/10 片=100 元），合计约 0.55 万元。

**（3）实验动物及饲养：1.60 万元**

购置 SD 大鼠 200 只×35 元/只=0.7 万元；购置饲料、蛋黄粉等 0.6 万元；饲养费用 0.3 万元；共计 1.6 万元。

**（4）化学试剂：8.59 万元**

用于药材中目标化合物的分离制备及定量分析：

分析纯：乙醇（800 L×15 元/L=1.2 万元）、甲醇（600 L×20 元/L=1.2 万元）、乙腈（300 L×50 元/L=1.5 万元）、正丁醇（500 L×30 元/L=1.5 万元）、石油醚（100 L×15 元/L=0.15 万元）、丙酮（100 L×60 元/L=0.6 万元）、乙酸乙酯（300 L×25 元/L=0.75 万元）、氯仿（50 L×60 元/L=0.3 万元）、环己烷（50 L×90 元/L=0.45 万元）、正己烷（50 L×80 元/L=0.4 万元）、氘代甲醇（10 瓶×40 元/瓶=0.04 万元）等，共计 8.09 万元。

色谱纯：甲醇（50 L×40 元/L=0.2 万元）、乙腈（20 L×100 元/L=0.2 万元）、甲酸、磷酸、正己烷、异丙醇等，共计 0.5 万元。

**（5）色谱填料：7.85 万元**

用于药材中目标化合物的柱色谱分离：XAD-2 大孔吸附树脂，15kg×0.15 万元/kg=2.25 万元；Sephadex LH-20，1.0kg×2.0 万元/kg=2.0 万元；反相硅胶（C18），3kg×1.00 万元/kg=3.0 万元；柱层析用聚酰胺粉，10kg×200 元/kg=0.2 万元；硅胶，40kg×100 元/kg=0.4 万元。以上合计 7.85 万元。

**（6）试剂盒：1.71 万元**

用于药理实验各项指标的检测：TC（150元/盒/96次×2盒=300元）、TG（290元/盒/96次×2盒=580元）、FFA（300元/盒/48次×3盒=900元）、HDL（430元/盒/96次×2盒=860元）、LDL（400元/盒/96次×2盒=800元）、AST（80元/盒/50次×3盒=240元）、ALT（80元/盒/50次×3盒=240元）、ATP合成酶（600元/盒/48次×3盒=1800元）、呼吸链酶I（1200元/盒/100次×2盒=2400元）、呼吸链酶II（1200元/盒/100次×2盒=2400元）、MDA（270元/盒/96次×2盒=540元）、SOD（500元/盒/100次×2盒=1000元）、GSH-PX（380元/盒/48次×3盒=1140元）、TUNEL（1500元/盒/20T×2盒=3000元）、trizol试剂盒（300元/盒/50次×3盒=900元），共计1.71万元。

**（7）抗体及 Western blot 检测试剂：1.04 万元**

用于分离线粒体纯度评价及凋亡相关指标的检测：一抗（calnexin 750 元/20μL×20μL，GAPDH 500 元/20μL×20μL，β-action 470 元/50μL×50μL，c-jun 360 元/15μL×15μL，LAMP-2 800 元/15μL×15μL，COX-IV 660 元/20μL×20μL，Bcl-2 960 元/20μL×20μL，Bax 1000 元/20μL×20μL，caspase-3 800 元/20μL×20μL，caspase-9 1000 元/20μL×20μL，共 0.73 万元）、HRP 标记的山羊抗兔二抗 350 元/100μL×200μL、HRP 标记的山羊抗小鼠二抗 350 元/100μL×200μL、化学发光底物试剂盒（A、B 液各 25ml）400 元、PVDF 膜（30cm×300cm）1 卷 0.13 万元，约 1.04 万元。



(8) qRT-PCR 引物合成及试剂: 2.00 万元

用于合成 PPAR $\gamma$ 、UCP2、CPT-1 基因表达测定所需引物 1.2 万元, 相关耗材 0.8 万元。

(9) 低值耗材: 2.00 万元

烧杯、烧瓶、容量瓶、茄形瓶、载玻片、盖玻片等玻璃器皿 0.5 万元; 离心管、加样枪头、样品瓶、滤膜、内插管、无菌手套、口罩等 1.0 万元; 液氮、氮气、染色试剂及其它固体分析试剂等 0.5 万元; 共计 2.0 万元。

**3、测试化验加工费: 2.40 万元**

液质定性、定量测试: 用于分析药材中的成分及线粒体中的原形成分及代谢产物, 其中定性分析约 40 份样品 (1h/份), 定量分析约 40 份 (0.5h/份), 200 元/小时, 1.2 万元;

核磁定性测试: 用于分析目标化合物结构, 约 10 份样品, 8h/份, 100 元/小时, 0.8 万元;

透射电镜检测: 用于观察线粒体超微结构, 约 10 份样品, 400 元/份, 0.4 万元。

**4、燃料动力费: 0 万元**

**5、差旅费: 1.50 万元**

参加学术会议 (3 天交通费用 2000 元、食宿 1500 元、会议费 1500 元, 约 5000 元/人次), 3 人次。

**6、会议费: 0 万元**

**7、国际合作与交流费: 2.00 万元**

课题组成员计划到国外进行一次天然药物研发或药物分析的学术交流, 会务费约 0.35 万元, 往返差旅费约为 1.20 万元, 食宿费约 0.45 万元, 合计 2.0 万元。

**8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费: 1.20 万元**

支付与本课题相关的论文及专利的发表、申请等相关费用。拟发表 2 篇中文核心期刊, 每篇版面费约 0.15 万元, 共 0.30 万元; 申请发明专利费用 0.70 万 (申请代理费 0.65 万元+专利申请费 0.05 元/次 $\times$ 1 次); 资料、文献检索费、网络费、论文打印、装订及其它日常信息传播费 0.20 万; 以上合计 1.2 万元。

**9、劳务费: 5.76 万元**

用于直接参与该课题研究的研究生劳务费。参与项目的硕士生 5 人, 其中 3 名硕士生每人每年工作 8 个月, 2 名硕士生每人每年工作 6 个月, 每人每月按 400 元计, 4 年共需支出 5.76 万元。

**10、专家咨询费: 0 万元**

**11、其他支出: 0 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

	<p>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：81660596），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。</p> <p>项目负责人（签章）： 年 月 日</p>	<p>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。</p> <p>依托单位（公章） 年 月 日</p>					
本 栏 目 由 基 金 委 填 写	<p>科学处审查意见：</p>						
	<p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p>						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年
	金额						
	<p>科学部审查意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
本 栏 目 主 要 用 于 重 大 项 目 等	<p>相关局室审核意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
	<p>委领导审批意见：</p> <p>委领导（签章）： 年 月 日</p>						



项目批准号	81760733
申请代码	H2811
归口管理部门	
依托单位代码	65020008A1105-2082



81760733 1008214

# 国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：地区科学基金项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：基于肠道微生态及其分子信使短链脂肪酸调节的制何首乌改善胰岛素抵抗机制研究

直接费用：34万元 执行年限：2018.01-2021.12

负责人：俞捷

通讯地址：云南省昆明市呈贡新区雨花路1076号

邮政编码：650500 电 话：15887251422

电子邮件：cz.yujie@gmail.com

依托单位：云南中医学院

联系人：夏丽 电 话：0871-65918217

填表日期：2017年08月20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”-“管理办法”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：按批准资助的直接费用填报资金预算表和预算说明书，其中的劳务费、专家咨询费金额不应高于申请书中相应金额。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	俞捷	性 别	女	出生年月	1981年10月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	副教授		
	电 话	15887251422		电子邮件	cz.yujie@gmail.com			
	传 真			个人网页				
	工 作 单 位	云南中医学院						
	所 在 院 系 所	教务处						
依托单位信息	名 称	云南中医学院					代码	65020008A1105
	联 系 人	夏丽		电子邮件	xlynkm@126.com			
	电 话	0871-65918217		网站地址	www.ynutcm.edu.cn			
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
项目基本信息	项 目 名 称	基于肠道微生态及其分子信使短链脂肪酸调节的制何首乌改善胰岛素抵抗机制研究						
	资 助 类 别	地区科学基金项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H2811:中药内分泌及代谢药理				H2814:中药消化与呼吸药理		
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2018.01-2021.12						
	直 接 费 用	34万元						





## 项目摘要

### 中文摘要(500字以内):

申请人前期工作发现制何首乌能显著缓解胰岛素抵抗(IR),且该活性可能与其对肠道微生态及其分子信使短链脂肪酸(SCFA)的调节相关,然而具体机制尚不明确。本项目拟通过分析肠道微生物宏基因组及其分子信使引起的代谢功能调节开展制何首乌对胰岛素抵抗的治疗机理研究:通过宏基因组分析制何首乌给药与SCFA产生菌的相关性,揭示制何首乌对IR状态下肠道微生态物种丰度、功能基因丰度及代谢通路等的影响;利用高通量固相萃取-气相色谱法评价肠道微生态变化对肠道、肝门静脉及外周血中SCFA含量的影响;利用中药药理学、分子生物学方法评价制何首乌对SCFA激活其受体后对胰岛素分泌、外周组织葡萄糖利用率、脂肪组织脂解抑制等胰岛素敏感性的影响。项目拟阐明制何首乌在“标本兼治,扶正祛邪”治则下改善胰岛素抵抗的科学内涵,为中医药疗法在胰岛素抵抗相关疾病治疗中发挥更大的作用提供科学依据。

**关键词:** 制何首乌; 胰岛素抵抗; 肠道微生态; 短链脂肪酸

### Abstract(limited to 4000 words):

Our previous researches indicated that Polygoni Multiflori Radix Praeparata (PMRP) displayed great activity on alleviation of insulin resistance (IR). Regulation of intestinal microecology and its signal molecule, short chain fatty acids (SCFA), may play vital role in this activity. However, the detailed mechanism remains unclear. In this research, we will try to reveal its mechanism from the regulation of the intestinal microbial metagenomics and its biological information molecules. This project plans to reveal the alternations on species abundance, functional gene abundance and metabolic pathway of intestinal microecology via metagenomics technology. Abundance fluctuation of microbial community that produced SCFA before and after treatment will be compared. Concentrations of SCFA in intestinal, hepatic portal venous blood and peripheral blood, will be accurately determined by high throughput solid phase extraction-gas chromatography. Comprehensive evaluations of structure and function of the pancreas, insulin sensitivity of the peripheral tissue, lipolysis inhibition and glucose utilization rate will be carried out. This research will provide scientific evidences for PMRP on the treatment of IR, according to the basic theory and principle in traditional Chinese medicine system. Moreover, more scientific basis for the application of traditional Chinese medicine in treatment of IR will be contributed.

**Keywords:** Polygoni Multiflori Radix Praeparata; Insulin resistance; Intestinal microecology; Short chain fatty acid



## 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	俞捷	1981. 10	女	副教授	博士	云南中医学院		15887251422	530103198110260028		项目负责人		6
2	顾雯	1983. 12	女	讲师	博士	云南中医学院		13648803294	530103198312301844		微生物相关工作指导		8
3	杨兴鑫	1987. 03	男	讲师	博士	云南中医学院		13648803294	530381198703062932		药物分析指导		8
4	高慧	1979. 06	女	讲师	博士	云南中医学院		13698723835	413001197906242020		化学指导		8
5	闫鸿丽	1977. 10	女	实验师	硕士	云南中医学院		13608812142	23040519771026064X		实验指导		10
6	杨晓密	1979. 04	女	实验师	硕士	云南中医学院		15925126474	22018219790423572X		实验指导		10
7	毕倩	1992. 01	女	硕士生	学士	云南中医学院		18487220976	370883199201250727		实验操作		10
8	曾鳞栖	1994. 06	男	硕士生	学士	云南中医学院		15925145933	532722199406160016		实验操作		10
9	董金材	1992. 12	男	硕士生	学士	云南中医学院		18314431730	532932199212250332		实验操作		10
10	王曦	1992. 02	女	硕士生	学士	云南中医学院		15198779311	533103199202143846		实验操作		10
总人数			高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生
10			1		5								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：81760733

项目负责人：俞捷

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	一、项目直接费用	34.0000
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)设备改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	16.0000
7	3、测试化验加工费	6.0000
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	2.0000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.0000
11	7、劳务费	8.0000
12	8、专家咨询费	0.0000
13	9、其他支出	0.0000
14	二、自筹资金	0.0000



## 预算说明书（定额补助）

（请按《国家自然科学基金项目资金预算表编制说明》中的要求，对各项支出的主要用途和测算理由及合作研究外拨资金，单价 $\geq 10$ 万元的设备等内容进行详细说明，可根据需要另加附页。）

（一）直接费用：共计34.00 万元

1. 设备费：0 万元

2. 材料费：16.00 万元

2.1 药材费：0.50 万元

包括药材饮片的制备及炮制。具体预算如下：何首乌 $100\text{kg} \times 40\text{元/kg} = 0.40$  万元，炮制辅料黑豆 $50\text{kg} \times 20\text{元/kg} = 0.10$  万元，共计0.50 万元。

2.2 提取物质量控制工作试剂、色谱柱及对照品等：1.50万元

乙醇、乙酸乙酯等化学试剂：0.50万元；二苯乙烯苷、单糖等对照品：0.30万元；色谱柱、色谱溶剂等0.70万元，共计1.50万元。

2.3 实验动物及饲养费用：2.00万元

实验动物购置1.00万元，饲料、配料等购置0.50万元，饲养费用0.50万元，共计2.00万元。

2.4 生化测试试剂及试剂盒：3.60 万元

葡萄糖、胰岛素、胰高血糖素、胆固醇、甘油三酯、游离脂肪酸、高/低密度脂蛋白等常规生化测试，共预计进行约30批次，每批次约0.12万元，共计3.60万元。

2.5 气相色谱测定工作色谱柱、试剂：1.50 万元

气相色谱柱0.50万元，载气等消耗0.25万元，PAX固相萃取小柱0.75万元，共计1.50万元。

2.6 DNA、RNA提取试剂：2.00 万元

肠道微生物DNA提取所需试剂约10批次，每批次约0.10万元，共1.00万元；生物样本RNA提取试剂试剂约10批次，每批次约0.10万元，计1.00万元，共计2.00万元。

2.7 qRT-PCR引物合成及试剂：1.00 万元

用于合成GPR43等基因表达测定所需引物0.70万元，相关耗材0.30万元。

2.8 Western blot 相关试剂：2.70 万元

用于 GPR43、PKC、p-AMPK、GLUT4、p-HSL 等蛋白表达量的检测，每项3批次，每批次0.90 万元，计2.70 万元。

2.9 低值耗材：1.20 万元

容量瓶、烧杯、烧瓶等玻璃器皿0.20万元；离心管、加样枪头、液氮等1.00万元，共计1.20万元。

3. 测试化验加工费：6.00 万元

肠道微生物宏基因组测试，预计测试15个样品，0.40 万元/样品，共计6.00 万元。

4. 燃料动力费：0万元

5. 差旅费/会议费/国际合作与交流费：2.00 万元

项目执行期间，拟安排进行与本项目相关的试验工作、调研及学术交流5人次，每人每次平均外埠差旅费约0.40万元，合计2.00万元。

6. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费：2.00 万元

预计发表3篇SCI论文及2篇中文核心期刊，按每篇的版面费等约0.30万元，共1.50万元；专利申请代理事务费、资料、文献检索费、网络费及其它日常信息传播费0.50万；以上合计2.00万。

7. 劳务费：8.00万元

主要用于直接参与该课题研究的研究生劳务费。参与项目的硕士生4人；每人每月按500元计，每年按10个月计算，4年需支出  $4 \times 0.05 \times 10 \times 4 = 8.00$  万。

8. 专家咨询费：0万元

9. 其他支出：0万

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

	<p>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：81760733），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。</p> <p>项目负责人（签章）： 年 月 日</p>	<p>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。</p> <p>依托单位（公章） 年 月 日</p>					
本栏目由基金委填写	<p>科学处审查意见：</p>						
	<p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p>						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年
	金额						
	<p>科学部审查意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
本栏目主要用于重大项目等	<p>相关局室审核意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
	<p>委领导审批意见：</p> <p>委领导（签章）： 年 月 日</p>						



计划类别： 青年项目

项目编号： 2016FD050

## 云南省科技计划项目任务书

项目名称： 以肝细胞线粒体为靶点的中药保肝活性成分快速筛选新方法构建

承担单位： 云南中医学院

参加（合作）单位：

主管部门：

项目负责人： 杨兴鑫 电话： 18987686727

起止年限： 2016年10月至2019年09月

填表日期： 2016年07月06日

云南省科学技术厅

## 填写说明

一、本任务书于省科技计划项目立项后，由委托方、受托方和保证方共同签订。委托方系指省科技厅或省科技厅委托的管理机构；受托方系指项目承担单位；保证方系指保证单位，即科技主管部门或推荐申报单位等。

二、任务书各项内容以省科技厅批复（核准）中认定的内容为主要依据，各项内容应实事求是地逐项认真填写。规格为A4纸，用宋体字打印，于左侧装订成册。

三、计划类别、项目名称、项目编号等以下达的计划为准。

四、各表中带“（）”的内容，为选择性条款，请填入选定条目的代码。可复选。

五、本任务书内容由项目负责人在线填写，由系统直接生成并打印。



项目概况表

项 目	项目名称	以肝细胞线粒体为靶点的中药保肝活性成分快速筛选新方法构建												
	技术领域	( 3 ) 1. 农业 2. 信息 3. 生物医药 4. 矿冶材料 5. 先进制造 6. 资源 7. 生态环境 8. 交通能源 9. 社会发展 10. 其他												
	技术来源	( 1 ) 1. 原始创新 2. 集成创新 3. 引进、消化吸收二次创新												
第一 承担 单位	名 称	云南中医学院				联系电话	0871-65918217							
	地 址	云南昆明呈贡新城雨花路1076号				邮政编码	650500							
	性 质	( 2 ) 1. 企业 2. 高等院校 3. 科研院所 4. 其他												
	所有制类型	( 1 ) 1. 国有 2. 非公 3. 外资 4. 其他												
	主管部门													
主要 合作 (参加) 单位	序号	单 位 名 称				地 址		在项目中的分工						
	1													
	2													
项 目 负 责 人	姓名	杨兴鑫	性别	男	出生日期	1987年03月	联系电话	18987686727						
	学历	( 1 ) 1. 博士 2. 硕士 3. 大学 4. 大专 5. 其他												
	职称	( 2 ) 1. 高级 2. 中级 3. 初级 4. 其他												
项目组	总人数	6	其中：高职	1	中职	1	初职	0	其他	4				
实施目标和 主要内容 (200字内)	<p><b>实施目标</b> (1) 构建一种以肝线粒体为靶点的集“识别-分离-鉴定”于一体的中药活性成分快速筛选新方法；(2) 找到至少2种中药中直接作用于肝细胞线粒体的活性成分；(3) 发现至少2种有保肝作用的活性物质。</p> <p><b>主要内容</b> (1) 制备肝细胞线粒体，联合亲和超滤和LC/MS（或GC/MS），构建筛选方法，评价可行性，考察筛选条件对筛选结果的影响；(2) 用所建方法筛选中药活性成分，验证筛选结果；(3) 用细胞实验筛选化合物的肝脏保护活性。</p>													
预期成果形式	( 1,5,7,8 ) 1. 新技术 2. 新工艺 3. 新产品（含农业新品种、计算机软件等）4. 新装备 5. 专利 6. 技术标准 7. 论文论著 8. 研究（咨询）报告 9. 其他													
预期获得专利	( 1 ) 1. 发明专利 2. 实用新型专利 3. 外观设计专利													
经费投入	总经费	6	万元	其中：省科技经费投入	3	万元								

# 任务书正文

## （一）项目要实现的目标和主要内容

### 1、项目要实现的目标

1.1 构建一种以肝细胞线粒体为靶点的集“识别-分离-鉴定”于一体的筛选新方法，实现中药复杂体系中保肝活性成分的快速、有效筛选；

1.2 找到中药（至少 2 种）中直接作用于肝细胞线粒体的活性成分；

1.3 发现具有保肝作用的活性物质（至少 2 种）。

### 2、主要内容

#### 2.1.1 以肝细胞线粒体为靶点的中药活性成分快速、有效筛选新方法的构建

##### （1）制备纯度较高的完整肝细胞线粒体

①采用不同方法破碎大鼠肝脏组织，从细胞破碎度、活细胞比例、线粒体蛋白含量及线粒体形态方面评价破碎效果，找出产率高、且完整性好的破碎方法；

②采用不同方法（差速离心/密度梯度离心法、普利莱试剂盒提取法和 Pierce 线粒体提取试剂盒法）分离线粒体，从线粒体提取率、膜电位、纯度和超微结构等方面评价提取效果，寻找较好的线粒体提取方法；

③对线粒体提取方法中的重要参数（离心力、离心时间和离心次数等）进行优化，从线粒体膜电位、纯度和超微结构等方面评价提取效果，找到较好的分离条件，保证所提线粒体纯度较高（至少 90% 以上），且结构和功能完整性较好。

（2）利用肝细胞线粒体，联合亲和超滤和 LC/MS（或 GC/MS），构建集“识别-分离-鉴定”于一体的筛选新方法，评价方法可行性，并考察重要筛选条件对筛选结果的影响

①采用阳性药和阴性药考察方法对活性成分的识别分离及鉴定能力；

②采用阳性药和阴性药组成的混合溶液考察方法从复杂样品中识别、分离及鉴定活性成分的能力；

③采用系列阳性药研究重要筛选条件（线粒体浓度、样品浓度、孵育时间、超滤膜孔径大小等）对筛选结果的影响，优化技术参数；

④根据研究结果初步制定一个判断是否为活性成分的标准，同时为重要筛选条件的参数设定一个合理的范围。

#### 2.1.2 利用方法筛选中药复杂体系中的活性成分，并验证筛选结果

（1）利用所建方法筛选、鉴定抗肝损伤中药中的活性成分；

（2）考察可购买获取对照品的化合物对线粒体膜通透性转换孔开放度、膜

电位及 ATP 酶活性的影响，验证活性物质是否真正可与线粒体作用。

(3) 总结活性物质的分子量、极性、结构类型及活性必备基团，初步提炼作用于肝线粒体的化合物的共同特征。

### 2.1.3 筛选化合物（未曾报道具有保肝活性）的肝脏保护活性

采用四氯化碳或（和）过氧化氢诱导损伤的肝 L-02 细胞，通过检测培养上清液中天门冬氨酸转换酶和丙氨酸氨基转换酶水平，测定肝细胞中丙二醛和过氧化物歧化酶含量，并测定细胞存活率，筛选化合物的肝保护活性。

## （二）项目的考核指标

1、主要技术指标（形成的专利、新技术、新产品、新装置、论文专著、软件等的数量、指标及其水平）

(1) 提供一种以肝细胞线粒体为靶点的集“识别-分离-鉴定”于一体的筛选新方法；

(2) 揭示被筛选中药（至少 2 种）中直接作用于肝细胞线粒体的主要物质基础；

(3) 发现具有保肝活性的化合物（至少 2 种）；

(4) 发表学术论文 2~3 篇，其中 SCI 论文至少 1 篇；

(5) 申报发明专利 1 项；

2、主要经济指标（技术及产品应用所形成的市场规模、效益，如新增销售收入、新增税金、新增利润等指标；项目实施中形成的示范基地、中试线、生产线及其规模等）

3、项目实现的生产能力（各规格型号新产品的生产能力）

4、其他考核指标

协助培养硕士研究生 1~2 名。

## （三）项目阶段实施内容及目标

1、阶段 1

2016 年 10 月-2017 年 09 月

比较不同的肝组织破碎方法和分离线粒体方法；

优化肝细胞线粒体分离方法中的主要参数；

用分离线粒体构建筛选方法，验证方法可行性。

## 2、阶段 2

2017 年 10 月-2018 年 09 月

考察筛选方法中重要影响因素对筛选结果的影响，优化技术参数；

利用所建方法筛选保肝中药；

分析活性成分的质谱数据，归属主要碎片离子，推断化学结构；

考察化合物对膜通透性转换孔开放度及膜电位的影响。

## 3、阶段 3

2018 年 10 月-2019 年 09 月

考察化合物对 ATP 酶活性的影响；

筛选化合物的保肝活性；

补充实验，分析讨论，整理资料及研究报告、结题等。

AFRP2015

# 科技计划项目经费预算表

## (一) 经费筹措及支出

单位：万元

预算科目	总预算数	经费渠道		备注
		自筹经费	财政科技经费	
一、来源预算合计	6.0000	3.0000	3.0000	
（一）财政科技经费	3.0000		3.0000	
（二）自筹经费来源	3.0000	3.0000		
1. 承担单位自有货币资金	3.0000	3.0000		
2. 从银行获得的贷款				
3. 其他财政拨款				
4. 其他资金				
二、支出预算合计	6.0000	3.0000	3.0000	
（一）直接费用	5.4300	2.4300	3.0000	
1. 人员费				
（1）项目负责人				
（2）主要研究人员				
2. 设备费				
（1）购置费				
（2）试制费				
3. 租赁费				
（1）租用仪器、设备费用				
（2）租用场地、试验基地费用				
4. 材料费	3.1400	0.1400	3.0000	附表2所示
（1）原材料	0.7200	0.1400	0.5800	大鼠、药物对照品、药材
（2）辅助材料				
（3）低值易耗品	2.4200		2.4200	抗体、试剂、试剂盒、玻璃器皿等
（4）其他材料费				
5. 试验及外协费				
（1）测试及化验费				
（2）外协费				

6. 燃料动力费				
7. 差旅费	0.4000	0.4000		参加学术会议
8. 会议费				
9. 技术引进费				
10. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.6300	0.6300		论文打印、版面费、专利申请等
11. 劳务费	0.9600	0.9600		研究生补助, 200元/人/月×12月×4人
12. 专家咨询费	0.3000	0.3000		600元/人次×5人次
13. 撰写费				
14. 其他费用				
(二) 间接费用	0.5700	0.5700		
15. 管理费	0.3600	0.3600		
(1) 本单位现有仪器设备、房屋使用				
(2) 日常水、电、气、消耗	0.0600	0.0600		20元/月×30月
(3) 其他有关管理费用	0.3000	0.3000		申请科技计划项目经费的5%
16. 绩效支出	0.2100	0.2100		直接费用扣除设备费差额的4%

## (二) 经费分年度预算

	第一年度	第二年度	第三年度	合计
用款总额	2.0000	2.0000	2.0000	6.0000
省科技经费拨款计划 (委托方填写)	3.0000			
省科技经费用款计划	1.0000	1.0000	1.0000	3.0000

## 项目组主要成员

序号	姓 名	出生年月	性别	职称	学位	工作单位	电话	电子邮箱	项目分工	每年工作(月)
1	杨兴鑫	1987-03	男	讲师	博士	云南中医学院	0871-65918055	yxx78945@163.com	项目负责人	10
2	俞捷	1981-10	女	副教授	博士	云南中医学院	0871-65918055	cz.yujie@gmail.com	项目指导、组织	4
3	陆建美	1991-01	女	硕士研究生	学士	云南中医学院	0871-65918055	1244155607@qq.com	线粒体制备，纯度和完整性评价	4
4	韩明暖	1988-03	女	硕士研究生	学士	云南中医学院	0871-65918055	410816390@qq.com	方法可行性评价，影响因素考察	4
5	梁丽	1990-02	女	硕士研究生	学士	云南中医学院	0871-65918055	741801135@qq.com	活性成分筛选分析及结果验证	10
6	毕倩	1992-01	女	硕士研究生	学士	云南中医学院	0871-65918055	biqian920125@163.com	肝保护活性测试	6

总人数	高级	中级	初级	博士后	博士生	硕士生
6	1	1	0	0	0	4

## 共同条款

1. 签定任务书各方共同遵守云南省科技厅科技计划项目和经费的有关管理规定。
2. 受托方必须定期按照下列要求向委托方、保证方提交有关报告：（1）按时提交半年和全年项目执行情况报告；（2）按委托方要求编报有关项目执行情况、统计调查材料；（3）出现调整事项时，及时提交调整报告；（4）项目取得重大进展、突破，或发生影响项目实施的重大事件时，提交重要事件报告。如果逾期不报或不按要求报告，委托方有权暂停项目拨款。
3. 实施项目所获得的科技成果（知识产权）的保护和管理按照有关规定执行。有关权益的分享由项目完成各方自行商定，并形成书面协议。
4. 在本任务书生效后，委托方有权因非商业目的（如：政府性会议、报告、文件、统计等）使用受托方提供的有关项目信息，同时对受托方提供的有关项目信息中注明的技术秘密负有保密责任。
5. 签定任务书各方所协议的其他条款如下：（可另行加页）



# 签订任务书

委托方			
分管计划处负责人（签章）：			
经办人： （分管计划处公章）		经办人： （科技项目专用章）	
年 月 日		年 月 日	
受托方	云南中医学院		
项目负责人（签章）：			
单位负责人（签章）：			
开户银行：中国银行昆明市聚贤街支行		经办人：	
帐户名： 云南中医学院		（承担单位公章）	
帐 号： 137230188077		年 月 日	
保证方	云南中医学院		
科技主管部门负责人（签章）：			
联系电话：0871-65918217		经办人：	
开户银行：中国银行昆明市聚贤街支行		（单位公章）	
帐户名： 云南中医学院		年 月 日	
帐 号： 137230188077			



计划类别： 中医联合面上项目

项目编号： 2017FF117 ( -013 )

## 云南省科技计划项目任务书

项目名称： 基于线粒体功能调节的滇黄精缓解非酒精性脂肪肝的药效评价及机制初探

承担单位： 云南中医学院

参加（合作）单位： 无

主管部门： 云南中医学院

项目负责人： 杨兴鑫 电话： 18987686727

起止年限： 2017年08月至2020年09月

填表日期： 2017年09月25日

云南省科学技术厅

## 填写说明

一、本任务书于省科技计划项目立项后，由委托方、受托方和保证方共同签订。委托方系指省科技厅或省科技厅委托的管理机构；受托方系指项目承担单位；保证方系指保证单位，即科技主管部门或推荐申报单位等。

二、任务书各项内容以省科技厅批复（核准）中认定的内容为主要依据，各项内容应实事求是地逐项认真填写。规格为A4纸，用宋体字打印，于左侧装订成册。

三、计划类别、项目名称、项目编号等以下达的计划为准。

四、各表中带“（）”的内容，为选择性条款，请填入选定条目的代码。可复选。

五、本任务书内容由项目负责人在线填写，由系统直接生成并打印。

项目概况表

项 目	项目名称	基于线粒体功能调节的滇黄精缓解非酒精性脂肪肝的药效评价及机制初探												
	技术领域	( 3 ) 1. 农业 2. 信息 3. 生物医药 4. 矿冶材料 5. 先进制造 6. 资源 7. 生态环境 8. 交通能源 9. 社会发展 10. 其他												
	技术来源	( 1 ) 1. 原始创新 2. 集成创新 3. 引进、消化吸收二次创新												
第一 承担 单位	名 称	云南中医学院				联系电话	0871-65918217							
	地 址	云南昆明呈贡新城雨花路1076号				邮政编码	650500							
	性 质	( 2 ) 1. 企业 2. 高等院校 3. 科研院所 4. 其他												
	所有制类型	( 1 ) 1. 国有 2. 非公 3. 外资 4. 其他												
	主管部门													
主要 合作 (参加) 单位	序号	单 位 名 称				地 址		在项目中的分工						
	1	无												
	2													
项 目 负 责 人	姓名	杨兴鑫	性别	男	出生日期	1987年03月	联系电话	18987686727						
	学历	( 1 ) 1. 博士 2. 硕士 3. 大学 4. 大专 5. 其他												
	职称	( 2 ) 1. 高级 2. 中级 3. 初级 4. 其他												
项目组		总人数	7	其中：高职	1	中职	2	初职	0	其他	4			
实施目标和 主要内容 (200字内)		1.评价滇黄精对NAFLD大鼠的干预作用 复制高脂饲料诱导的NAFLD大鼠模型；检测血清和肝脏脂质含量变化；观察肝组织形态学变化。 2.评价滇黄精调节线粒体而缓解NAFLD具体机制 观察线粒体形态变化；检测线粒体膜通透性，三羧酸循环关键酶及呼吸链酶活性，线粒体氧化应激，脂肪酸代谢相关蛋白mRNA表达，肝细胞凋亡及肝组织中凋亡相关蛋白表达量的变化。												
预期成果形式		( 5,7,8 ) 1. 新技术 2. 新工艺 3. 新产品（含农业新品种、计算机软件等）4. 新装备 5. 专利 6. 技术标准 7. 论文论著 8. 研究（咨询）报告 9. 其他												
预期获得专利		( ) 1. 发明专利 2. 实用新型专利 3. 外观设计专利												
经费投入		总经费	10	万元	其中：省科技经费投入				2	万元				

# 任务书正文

## (一) 项目要实现的目标和主要内容

### 1、项目要实现的目标

- 1.1 评价滇黄精缓解 NAFLD 的药效作用；
- 1.2 探讨滇黄精调节线粒体而缓解 NAFLD 的具体机制。

### 2、主要内容

#### 2.1 评价滇黄精对 NAFLD 大鼠的干预作用

- (1) 复制高脂饲料诱导的 NAFLD 大鼠模型；
- (2) 检测血清和肝脏中的脂质含量（总胆固醇 TC、甘油三酯 TG、游离脂肪酸 FFA、高密度脂蛋白 HDL、低密度脂蛋白 LDL、天门冬氨酸氨基转移酶 AST 和丙氨酸氨基转移酶 ALT）变化；
- (3) 观察肝组织形态学变化。

#### 2.2 评价滇黄精对 NAFLD 大鼠肝细胞线粒体结构、功能的影响

- (1) 形态学及膜通透性：观察线粒体形态；检测线粒体膜电位、线粒体膜通透性转换孔（mPTP）开放度；
- (2) 能量代谢：检测三羧酸循环关键酶（柠檬酸合酶、异柠檬酸脱氢酶、 $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶）及呼吸链酶（ATP 合成酶、呼吸链酶 I/II/III/IV）活性变化；
- (3) 氧化应激：检测线粒体 MDA、SOD、GSH-PX；
- (4) 脂肪酸代谢：检测线粒体解偶联蛋白 2（UCP-2）、肉毒碱棕榈酰转移酶 I（CPT-1）、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ （PPAR $\gamma$ ）mRNA 表达变化；
- (5) 肝细胞凋亡（线粒体途径）：检测肝细胞凋亡，及肝组织中 Bcl-2、Bax、cytochrome c、caspase-3、caspase-9 蛋白表达量变化。

## (二) 项目的考核指标

- 1、主要技术指标（形成的专利、新技术、新产品、新装置、论文专著、软件等的数量、指标及其水平）
  - (1) 揭示滇黄精对 NAFLD 的确切疗效；
  - (2) 阐释滇黄精调节线粒体而缓解 NAFLD 的具体机制；
  - (3) 申请国家发明专利 1 项；

(4) 发表学术论文 2~4 篇，其中 SCI 论文 1~2 篇。

2、主要经济指标（技术及产品应用所形成的市场规模、效益，如新增销售收入、新增税金、新增利润等指标；项目实施中形成的示范基地、中试线、生产线及其规模等）

3、项目实现的生产能力（各规格型号新产品的生产能力）

4、其他考核指标

培养硕士生 2~4 名。

### (三) 项目阶段实施内容及目标

#### 1、阶段 1

2017 年 08 月-2018 年 07 月

复制高脂饲料诱导的 NAFLD 大鼠模型；

检测血清和肝脏中的脂质含量（TC、TG、FFA、HDL、LDL、AST 和 ALT）变化；

观察肝组织形态学变化；

观察肝线粒体形态学变化。

#### 2、阶段 2

2018 年 08 月-2019 年 07 月

再次复制高脂饲料诱导的 NAFLD 大鼠模型；

检测线粒体膜电位、线粒体膜通透性转换孔（mPTP）开放度；

检测柠檬酸合酶、异柠檬酸脱氢酶、 $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶、ATP 合成酶、呼吸链酶 I/II/III/IV 变化；

检测线粒体 MDA、SOD、GSH-PX。

#### 3、阶段 3

2019 年 08 月-2020 年 07 月

检测线粒体 UCP-2、CPT-1、PPAR $\gamma$  mRNA 表达量变化；

检测肝细胞凋亡情况；

检测肝组织中 Bcl-2、Bax、cytochrome c、caspase-3、caspase-9 蛋白表达量变化；

补充实验、整理资料及研究报告、结题等。

AFRP2016

# 科技计划项目经费预算表

## (一) 经费筹措及支出

单位：万元

预算科目	总预算数	经费渠道		备注
		自筹经费	财政科技经费	
一、来源预算合计	10.0000	8.0000	2.0000	
（一）财政科技经费	2.0000		2.0000	
（二）自筹经费来源	8.0000	8.0000		
1. 承担单位自有货币资金				
2. 从银行获得的贷款				
3. 其他财政拨款	8.0000	8.0000		
4. 其他资金				
二、支出预算合计	10.0000	8.0000	2.0000	
（一）直接费用	9.2600	7.2600	2.0000	
1. 人员费				
（1）项目负责人				
（2）主要研究人员				
2. 设备费				
（1）购置费				
（2）试制费				
3. 租赁费				
（1）租用仪器、设备费用				
（2）租用场地、试验基地费用				
4. 材料费	6.4200	4.4200	2.0000	
（1）原材料	1.7700		1.7700	大鼠、药物对照品、药材
（2）辅助材料				
（3）低值易耗品	4.6500	4.4200	0.2300	抗体、试剂、试剂盒等耗材
（4）其他材料费				
5. 试验及外协费				
（1）测试及化验费				
（2）外协费				



6. 燃料动力费				
7. 差旅费	0.4000	0.4000		参加学术会议1人次
8. 会议费				
9. 技术引进费				
10. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.7000	0.7000		论文打印装订、版面费、专利申请等
11. 劳务费	1.4400	1.4400		参与项目硕士生2名每人每年6个月，另2名每人每年10个月，每人每月150元，共3年
12. 专家咨询费	0.3000	0.3000		600元/人次×5人次
13. 撰写费				
14. 其他费用				
（二）间接费用	0.7400	0.7400		
15. 管理费	0.4600	0.4600		
（1）本单位现有仪器设备、房屋使用				
（2）日常水、电、气、消耗	0.0600	0.0600		20元/月×30月
（3）其他有关管理费用	0.4000	0.4000		申请项目经费的4%
16. 绩效支出	0.2800	0.2800		直接费用扣除设备费差额的3%

## （二）经费分年度预算

	第一年度	第二年度	第三年度	合计
用款总额	4.0000	3.0000	3.0000	10.0000
省科技经费拨款计划 （委托方填写）	2.0000			2.0000
省科技经费用款计划	2.0000			2.0000

项目组主要成员

序号	姓 名	出生年月	性别	职称	学位	工作单位	电话	电子邮箱	项目分工	每年工作(月)
1	杨兴鑫	1987-03	男	讲师	博士	云南中医学院	18987686727	yxx78945@163.com	项目负责人	8
2	俞捷	1981-10	女	副教授	博士	云南中医学院	15887251422	cz.yujie@gmail.com	实验指导	4
3	顾雯	1983-12	女	讲师	博士	云南中医学院	13648803294	525658757@qq.com	细胞凋亡、mRNA检测及western blot分析	6
4	曾鳞栖	1994-06	男	硕士研究生	学士	云南中医学院	15925145933	1125478751@qq.com	动物实验及生化指标检测	10
5	董金材	1992-12	男	硕士研究生	学士	云南中医学院	18314431730	1909242258@qq.com	线粒体分离及相关指标检测	10
6	梁丽	1990-02	女	硕士研究生	学士	云南中医学院	15559691581	741801135@qq.com	线粒体相关指标检测	8
7	魏佳迪	1991-08	女	硕士研究生	学士	云南中医学院	18213099608	454366062@qq.com	动物实验及生化指标检测	8

总人数	高级	中级	初级	博士后	博士生	硕士生
7	1	2	0	0	0	4

# 共同条款

1. 签定任务书各方共同遵守云南省科技厅科技计划项目和经费的有关管理规定。
2. 受托方必须定期按照下列要求向委托方、保证方提交有关报告：（1）按时提交半年和全年项目执行情况报告；（2）按委托方要求编报有关项目执行情况、统计调查材料；（3）出现调整事项时，及时提交调整报告；（4）项目取得重大进展、突破，或发生影响项目实施的重大事件时，提交重要事件报告。如果逾期不报或不按要求报告，委托方有权暂停项目拨款。
3. 实施项目所获得的科技成果（知识产权）的保护和管理按照有关规定执行。有关权益的分享由项目完成各方自行商定，并形成书面协议。
4. 在本任务书生效后，委托方有权因非商业目的（如：政府性会议、报告、文件、统计等）使用受托方提供的有关项目信息，同时对受托方提供的有关项目信息中注明的技术秘密负有保密责任。
5. 签定任务书各方所协议的其他条款如下：（可另行加页）

## 签订任务书

委托方	云南中医学院
分管计划处负责人（签章）：   经办人： （分管计划处公章）  年 月 日	
经办人： （科技项目专用章）  年 月 日	
受托方	云南中医学院
项目负责人（签章）：  单位负责人（签章）：  开户银行：中国银行昆明市聚贤街支行  经办人：  帐户名： 云南中医学院  （承担单位公章）  年 月 日  帐 号： 137230188077	
保证方	云南中医学院科技处
科技主管部门负责人（签章）：  联系电话：0871-65918217  经办人：  开户银行：中国银行昆明市聚贤街支行  （单位公章）  帐户名： 云南中医学院  年 月 日  帐 号： 137230188077	

受 理 编 号									
201801CH00227									



云南省基础研究计划项目

申 请 书

(2018版)

项目类别： 中医联合面上项目

附注说明：

项目名称： 以线粒体自噬蛋白Parkin为靶标的中药抗非酒精性脂肪肝活性物质筛选新方法构建

申 请 人： 杨兴鑫      电      话： 18987686727

申请单位： 云南中医学院

通信地址： 云南省昆明市呈贡区雨花路1076号

邮政编码： 650500      单位电话： 0871-65918217

电子邮箱： yxx78945@163.com

申报日期： 2018年07月

云南省科学技术厅