

中南林业科技大学  
大学生研究性学习和创新性实验计划  
项目结题报告

项目名称 磷胁迫对杉木木质素形成的影响

项目主持人 蔡迪

所在学校及院系 中南林业科技大学生命科学与技术学院

项目级别 国家级 省级 校级

项目实施时间 2015.03-2017.03

指导教师 周波

联系电话 15574813749

填表日期 2017.04

中南林业科技大学  
教务处制

## 一、基本情况

项目名称	磷胁迫对杉木木质素形成的影响					
立项时间	2015.03			完成时间	2017.03	
项目主要研究 人员	序号	姓名	学号	专业班级	所在院(系)	项目中的 分工
	1	蔡迪	20130443	生物技术	生科	胁迫处理, 基因 表达分析
	2	陈静	20130480	生物技术	生科	RNA 提取
	3	陈玉芳	20130481	生物技术	生科	杉木栽培
	4	陈曦	20140466	生物技术	生科	基因克隆
	5	戴婕	20140468	生物技术	生科	木质素含量 测定

## 二、研究成果简介

项目成果类型	<input type="checkbox"/> 产品 <input type="checkbox"/> 系统软件 <input checked="" type="checkbox"/> 论文 <input type="checkbox"/> 专利 <input type="checkbox"/> 其它 (注: 请在相应成果复选框内打“√”, 其它请具体说明)
项目成果名称	Phosphorus affects Lignin biosynthesis in <i>Cunninghamia lanceolata</i> (Lamb.) Hook (Submitted to plant cell Reports)
<p>项目研究的目的、意义; 研究成果的主要内容、重要观点或对策建议; 成果的创新特色、实践意义和社会影响; 研究成果和研究方法的特色。限定在 2000 字以内。</p> <p><b>一、研究的目的</b></p> <p>研究磷是怎样影响杉木木质素的形成。杉木因其材质优良等优点, 是我国南方地域十分重要的用材树种之一。木质素合成路径非常复杂, 近年来, 研究者们已逐步推断并证明 <i>CAD</i>、<i>PAL</i>、<i>CCR</i>、<i>CAD</i>、<i>COMT</i>、<i>CCoAOMT</i> 等基因参与木质素生物合成; 磷是亚热带土壤中较缺乏元素之一, 但磷对杉木木质素形成影响未见报道, 分子机理尚不清楚</p> <p><b>二、研究成果主要内容</b></p> <p>我们在一年中的 3 月到 11 月, 每月用不同浓度梯度的磷肥 (主要成分为五氧化二磷) 处理 2 年生的杉木植株, 并设置对照植株 (不用磷肥处理)。每月施肥前同时取处理材料和对照材料的杉木枝条, 每隔 15 天取多年生幼苗嫩茎并分成三</p>	

份，第一：用来提取 RNA，并将 RNA 逆转录成为 cDNA，用荧光定量 PCR 检测各时期不同磷胁迫处理时木质素合成相关酶基因表达模式；第二：同时测定木质素含量；第三：用间苯三酚染色及冰冻切片法观察木质素分布和积累情况。

### 三、主要观点及对策建议

#### 1、不同磷浓度条件下杉木幼苗木质素含量分析

土壤中磷的浓度和成分影响植物的生长发育过程，也会不同程度地对植物次生长造成影响。木质素大量存在于杉木中，其含量也会因不同浓度的磷浓度梯度处理而产生相应的变化。为了证实这一观点，本研究首先在相同的生环境条件下的培养杉木幼苗，从而获得生长势、生理特征相似的多年生幼苗共 12 株，并将杉木幼苗平均分成四组以便日后用不同的磷浓度处理，我们首先使用溴乙酰-紫外分光光度法测定三组试验组杉木幼苗在每次用不同浓度梯度的磷处理后的杉木茎木质素含量和对照组杉木幼苗茎的木质素含量。

如图，我们通过比较发现，在 7 月 28 日到 8 月 12 日期间，C、L、N、H 四种磷胁迫处理结果显示杉木幼苗茎木质素含量增加。

其中，*Cl4Cl* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 14.8 倍、升高 6.8 倍、降低 10 倍、升高 24.5 倍；*Cl4Cl* 基因在低磷胁迫（ $\text{KH}_2\text{PO}_4$  为  $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，下同）时，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 4.7 倍、升高 2.0 倍、降低 19.8 倍、降低 3.2 倍；*Cl4Cl* 基因在正常供磷（ $\text{KH}_2\text{PO}_4$  为  $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，下同）中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 7.0 倍、降低 7.6 倍、降低 9.0 倍、降低 5.5 倍；*Cl4Cl* 基因在高磷胁迫（ $\text{KH}_2\text{PO}_4$  为  $24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，下同）中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 12.8、降低 8.2 倍、降低 6.4 倍、降低 6.0 倍。

其中，*C1C3H* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 8.3 倍、升高 8.4 倍、降低 1.6 倍、升高 2.4 倍；*C1C3H* 基因在低磷胁迫中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 8.0 倍、升高 3.4 倍、升高 15.4 倍、升高 21.6 倍；*C1C3H* 基因在正常供磷中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 13.3 倍、降低 7.0 倍、降低 2.4 倍、降低 2.0 倍；

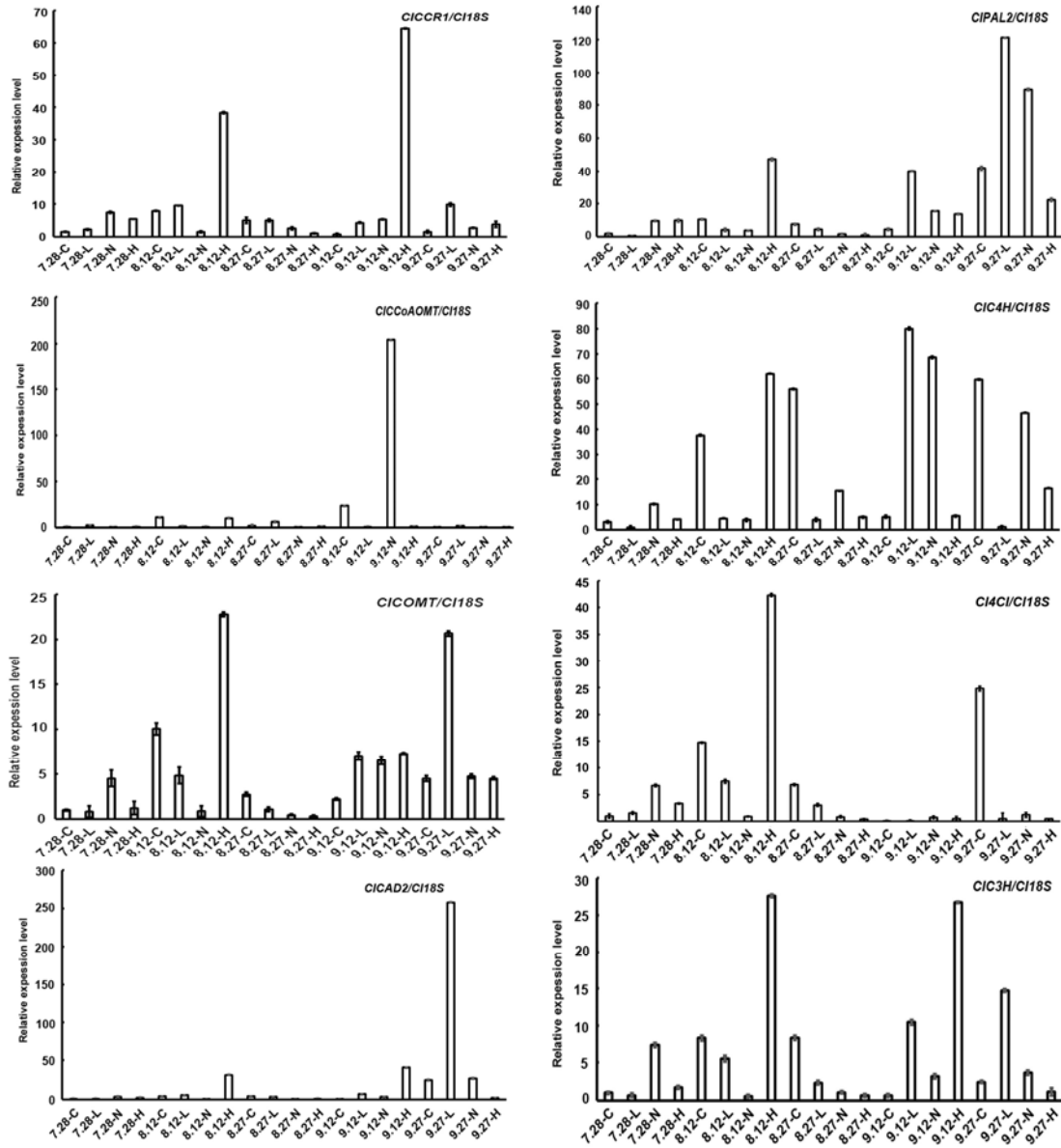


图 1.不同浓度梯度磷胁迫情况下木质素合成酶关键基因不同时期的表达量

*CIC3H* 基因在高磷胁迫中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 16.2、降低 2.7 倍、升高 15.7 倍、降低 1.5 倍。

其中，*CIPAL2* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 5.9 倍、升高 4.2 倍、升高 2.4 倍、升高 23.2 倍；*CIPAL2* 基因在低磷胁迫中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 6.3 倍、升高 6.9 倍、升高 61.5 倍、升高 186 倍；*CIPAL2* 因在正常供磷中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 2.6 倍、降低 5.7 倍、升高 1.6 倍、升高 9.3 倍；*CIPAL2* 基因在高磷胁迫中，8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 4.8、

降低 9.8 倍、升高 1.4 倍、升高 2.2 倍。

其中, *CICCRI* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 5.3 倍、升高 3.3 倍、降低 2.3 倍、不变; *CICCRI* 基因在低磷胁迫中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 4.4 倍、升高 2.3 倍、升高 2.0 倍、升高 4.5 倍; *CICCRI* 因在正常供磷中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 5.0 倍、降低 2.9 倍、降低 1.4 倍、降低 2.8 倍; *CICCRI* 基因在高磷胁迫中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 7.1、降低 5.4 倍、升高 12 倍、降低 1.4 倍。

其中, *CIC4H* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 12 倍、升高 3.3 倍、升高 1.6 倍、升高 19; *CIC4H* 基因在低磷胁迫中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 4.5 倍、升高 4.0 倍、升高 80 倍、升高 1.1 倍; *CIC4H* 因在正常供磷时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 2.6 倍、升高 1.5 倍、升高 6.8 倍、升高 46 倍; *CIC4H* 基因在高磷胁迫时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 15、升高 1.2 倍、升高 1.3 倍、升高 4 倍。

其中, *CICAD2* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 4 倍、升高 3.9 倍、降低 2.3 倍、升高 24.8 倍; *CICAD2* 基因在低磷胁迫中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 5.3 倍、升高 3.2 倍、升高 6.8 倍、升高 258 倍; *CICAD2* 因在正常供磷时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 6.1 倍、降低 1.3 倍、升高 3.4 倍、升高 7.3 倍; *CICAD2* 基因在高磷胁迫时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 14 倍、升高 1.2 倍、降低 3.7 倍、降低 1.3 倍。

其中, *CICOMT* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 10 倍、升高 2.8 倍、升高 2.3 倍、升高 4.5 倍; *CICOMT* 基因在低磷胁迫中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 5.9 倍、升高 1.3 倍、升高 8.6 倍、升高 25 倍; *CICOMT* 因在正常供磷时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 5.1 倍、降低 9.6 倍、升高 1.4 倍、升高 1.1 倍; *CICOMT* 基因在高磷胁迫时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 18 倍、升高 4 倍、升高 6 倍、升高 3.7 倍。

其中, *CiCCoAOMT* 基因在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 14.7 倍、升高 2.7 倍、升高 30 倍、降低 1.2 倍; *CiCCoAOMT* 基因在低磷胁迫中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次降低 1.8 倍、升高 2.4 倍、降低 5 倍、降低 1.6 倍; *CiCCoAOMT* 因在正常供磷时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 2.5 倍、不变、升高 500 倍、升高 1.1 倍; *CiCCoAOMT* 基因在高磷胁迫时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 11 倍、升高 4 倍、不变、降低 1.5 倍。

在 7 月 28 日到 9 月 27 日期间, 我们每隔 15 天取样并测定杉木幼苗茎木质素含量的结果显示, 杉木幼苗茎的木质素含量随磷处理的浓度和磷的积累的增加而先降低而后逐步增加, 增加量远远超过对照组杉木幼苗木质素含量。这说明不同浓度磷浓度处理在木质素积累过程中发挥了重要作用。高浓度磷酸盐的吸收和转运活性的增加可能促进了木质素的积累; 低浓度磷酸盐的吸收的增加可能抑制了木质素的合成, 至少是处在正常土壤无机磷浓度范围内时, 在幼苗时期是能够观察到的。

## 2、杉木幼苗茎木质素含量及组织化学分析

作为植物主要的组成部分, 木质素的合成受到土壤无机磷浓度影响。为了证明这一观点, 我们在酸性条件下, 将木质化的细胞壁经过间苯三酚染色呈现红色或者紫红色, 染色区域大小和深浅可以反应木质化程度。在我们测定杉木木质素含量时, 对不同浓度梯度磷处理的杉木幼苗茎进行冰冻切片处理, 再利用组织化学染色方法, 直接观察分析不同时期和不同浓度梯度磷胁迫条件下的木质素分布情况。

从图中可以看出, 木质素在未加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的对照组中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 1.10 倍、升高 1.07 倍、升高 1.03 倍、升高 1.08 倍; 木质素在低磷胁迫中, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 1.63 倍、升高 1.79 倍、升高 2.01 倍、升高 1.33 倍; 木质素在正常供磷时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 2.01 倍、升高 2.51、升高 2.31 倍、升高 1.84 倍; 木质素在高磷胁迫时, 8.12、8.27、9.12、9.27 四个时期的表达量依次升高 1.51 倍、升高 1.56 倍、升高 3.12、降低 1.34 倍。

对照组杉木幼苗茎切片和不同浓度梯度磷处理的杉木幼苗茎木质素含量变化趋势基本一致。在图中更加能说明高磷胁迫对杉木茎木质素合成起正调控作用。

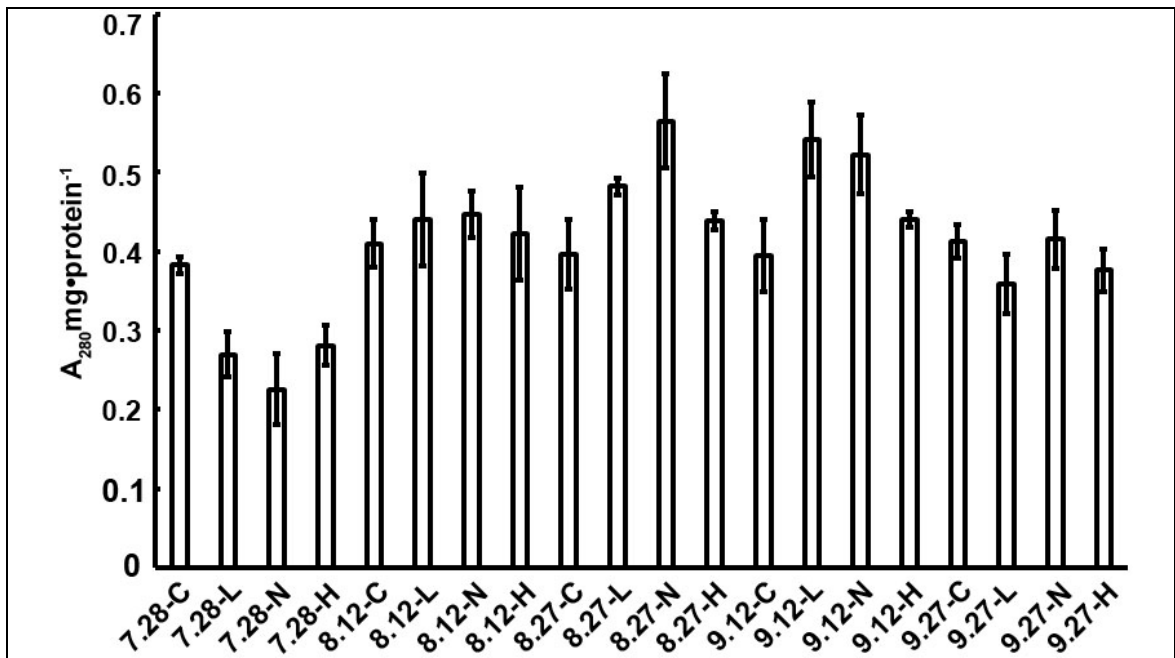


图 2.不同浓度梯度磷胁迫条件下木质素含量在生长的不同时期的变化  
研究结果表明，不同磷浓度条件下杉木幼苗木质素含量存在差异

①杉木幼苗茎的木质素含量随磷处理的浓度和磷的积累的增加而先降低而后逐步增加，增加量远远超过对照组杉木幼苗木质素含量。这说明不同浓度磷浓度处理在木质素积累过程中发挥了重要作用。高浓度磷酸盐的吸收和转运活性的增加可能促进了木质素的积累；低浓度磷酸盐的吸收的增加可能抑制了木质素的合成，至少是处在正常土壤无机磷浓度范围内时，在幼苗时期是能够观察到的。

②在酸性条件下，木质化的细胞壁经过间苯三酚染色呈现红色或者紫红色，染色区域大小和深浅可以反应木质化程度。在我们测定杉木木质素含量时，对不同浓度梯度磷处理的杉木幼苗茎进行冰冻切片处理，再利用组织化学染色方法，直接观察分析不同时期和不同浓度梯度磷胁迫条件下的木质素分布情况后，研究得到对照组杉木幼苗茎切片和不同浓度梯度磷处理的杉木幼苗茎木质素含量变化趋势基本一致，更加能说明高磷胁迫对杉木茎木质素合成起正调控作用。

从图中可以看出，茎的表皮及韧皮部和最内的髓部区域中间的是木质部，木质部被间苯三酚染成紫红色。高磷胁迫处理时木质部染色紫红色区域比对照组处理更少，红色颜色更浅。

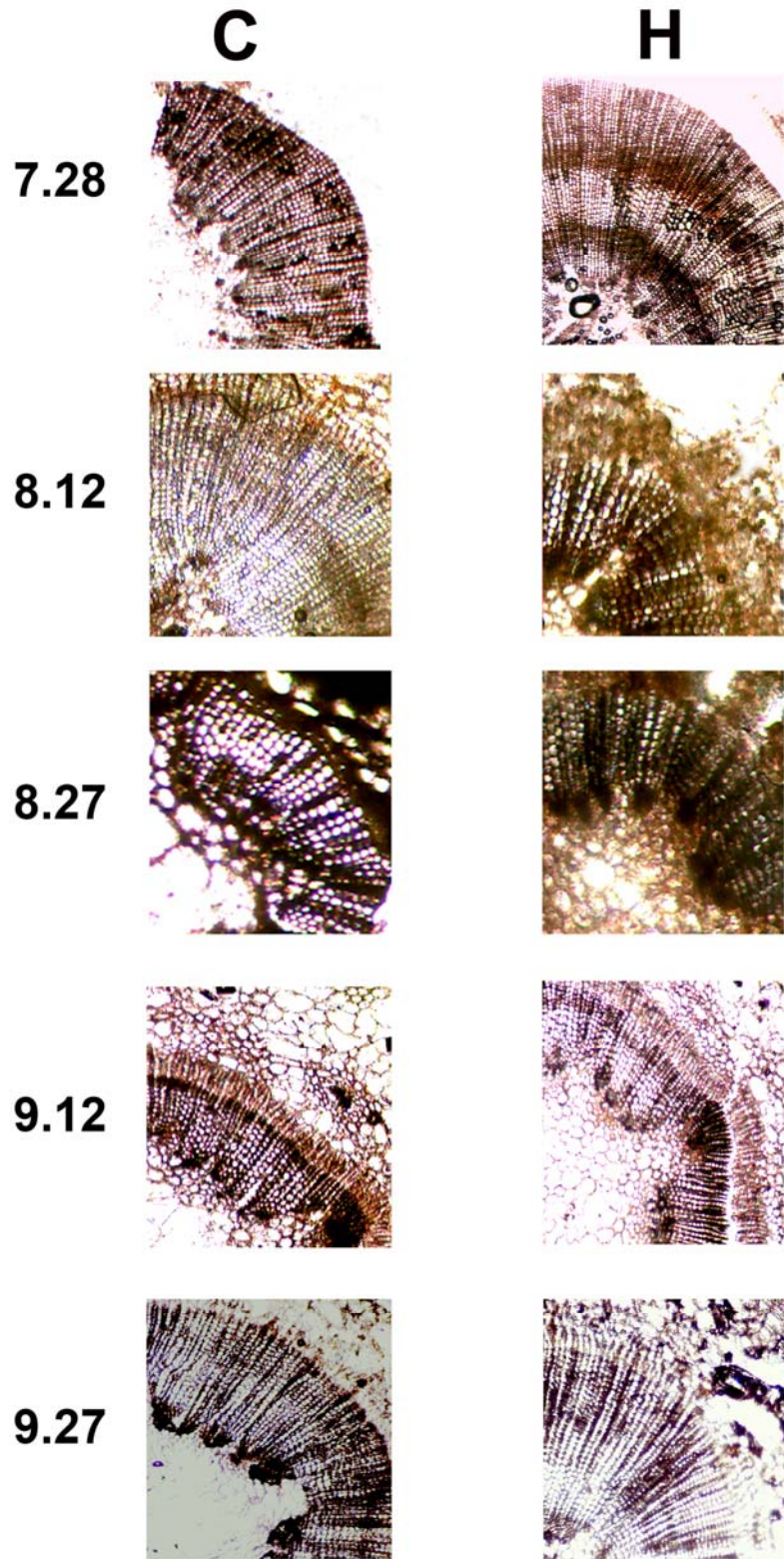


图 6. 间苯三酚-HCL 染色的杉木茎横切面图；放大倍数为 $\times 100$ ；从上到下依次为对照浓度（不加  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ）和高磷浓度（ $\text{KH}_2\text{PO}_4$  为  $24\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）处理下不同时期的茎。

从图中可以看出，茎的表皮及韧皮部和最内的髓部区域中间的是木质部，木质



部被间苯三酚染成紫红色。高磷胁迫处理下，杉木茎切片木质部染色紫红色区域更大一些，颜色更深一些，并且紫红色区颜色在 8.12 时期变深，在 8.27、9.12、9.27 三个时期逐渐变浅，紫红色区域在 8.12 时期变大，在 8.27、9.12、9.27 三个时期逐渐变小。对照组的杉木茎切片紫红色区域小一些，紫红色颜色更浅一些，并且紫红色颜色在 8.12 8.27、9.12、9.27 四个时期逐渐变深，紫红色区域在 8.12 8.27、9.12、9.27 四个时期逐渐变小。

对照组杉木幼苗茎切片和不同浓度梯度磷处理的杉木幼苗茎木质素含量变化趋势基本一致，这与木质素合成关键酶基因的表达结果相符。杉木幼苗茎的木质素含量随磷处理的浓度和磷的积累的增加而先升高而后逐步降低，降低量远远超过对照组杉木幼苗木质素含量。

#### **四、成果的创新特色和意义**

杉木材质优良，是亚热带地区重要的用材树种；有效磷是亚热带土壤中比较缺乏的元素之一，但磷对杉木木质素形成的影响还未见报道，分子机理尚不清楚。本项目通过采用不同浓度的磷处理的方法来探讨磷对杉木木质素形成的影响，明晰了与木质素合成相关基因的调控机理，从而使木质素生物合成调控可通过基因工程对木质素合成酶的活性或含量来进行调节，在分子水平阐明磷对杉木木质素形成的具体机制。这是本项目的创新点。该成果将为以后从分子水平改良杉木品种机理解析奠定理论基础。

#### **五、研究成果及研究方法的特色**

##### **1、杉木磷胁迫植物幼苗优良**

实验处理 2 年生的杉木植株遗传背景一致，生长情况均表现优良，将每份材料均分成三部分，提高了重复实验的准确性。

##### **2、使用多种研究方法检验杉木木质素的含量与磷胁迫的关系**

本研究将每隔 15 天取多年生幼苗嫩茎并分成三份，第一：用来提取 RNA，并将 RNA 逆转录成为 cDNA，用荧光定量 PCR 检测各时期不同磷胁迫处理时木质素合成相关酶基因表达模式，在转录水平上阐明了磷胁迫处理下木质素合成基因的表达与木质素合成的关系；第二：同时测定木质素含量；第三：用间苯三酚染色及冰冻切片法观察木质素分布和积累情况，从细胞学水平解析了磷胁迫与木质素形成的关系。

### 三、项目研究总结报告

预定计划执行情况，项目研究和实践情况，研究工作中取得的主要成绩和收获，研究工作有哪些不足，有哪些问题尚需深入研究，研究工作中的困难、问题和建议。（字数不限，可加页面）

历时两年的研究性学习和创新性实验项目中，两年的耕耘，收获颇多。

在本项目实验过程中，在寻求老师以及师兄师姐的实验经验，查找了相关的文献资料，观摩并学习别人的实验操作技能。我们学会了很多科学研究方法，学会了很多实验的技能。

**经过研究，我们取得了以下成果**

#### **一、完成了杉木磷胁迫处理研究**

##### **1.完成了杉木磷胁迫处理相关研究**

在2015年3月到2016年11月期间，每月使用配制好的不同浓度梯度的磷肥（主要成分为磷酸二氢钾）母液处理生长势一样的2年生杉木植株。每月施肥前同时取处理后材料和对照材料的杉木枝条，并将采取的每份材料均分成三部分液氮保存，在-80度超低温冰箱长期保存、备用。

植物材料如图3所示：



图1.杉木幼苗盆栽实验

在2015年5月到2016年1月的实验研究中，以杉木新鲜幼嫩茎段为实验材

料，系统探讨了外植体的选择、外植体的消毒、基本培养基的选择以及以茎段为外植体时不同生长调节物质在单芽诱导、丛芽增殖、诱导生根以及愈伤组织诱导、增殖等过程中的作用机制研究(如图 2、3 所示)，完成了构建杉木的遗传转化体系相关研究。

此外，本研究还进行了农杆菌介导法转化杉木木质素合成关键酶基因 *CICCR1*、*CICCR3*、*CIPAL1*、*CIPAL2* 的相关工作，以期建立系统的稳定、高效的杉木离体再生技术体系，并为后续杉木木质素基因工程改良和育种提供技术基础。



图 2.杉木愈伤组织



图 3.杉木再生植株

## 二、克隆了木质素合成酶相关基因

### 1.杉木木质素合成相关基因已克隆成功。

利用分子生物学和生物信息学的手段对参与木质素合成的一些关键酶基因进行了研究，对木质素合成过程的关键酶进行了克隆。参与木质素合成的酶有许多，*CICAD1*、*CICAD2*、*CICCR1*、*CICCR3*、*CIPAL1*、*CIPAL2* 作为木质素生物合成的部分关键酶，对于木质素生物合成具有十分重要作用，并进一步通过转基因的实验对这些关键酶如何改变木质素的含量或木质素的组成及化学结构的影响进行了研究。

### 2.研究了木质素合成关键基因的原核和真核表达情况

研究并构建了木质素合成关键基因 *CIPAL2*、*CICCR1* 的原核表达载体，进行了原核表达分析；还研究并构建了 *CICCR1* 植物表达载体，对野生型油菜进行了遗传转化。(如图 4、5 所示)

经含抗性培养基筛选,得到若干阳性植株,对其中 5 株进行 DNA 微量提取,并采用 PCR 技术做了验证,初步证明已获得 2 株含 *CIPAL2* 的转基因油菜, 研究并分析了木质素合成关键基因在模式植物油菜中的表达情况。



图 4. a.不含 basta 野生型油菜 b.含 basta 野生型油菜 c.含 basta 转基因油菜



图 5.炼苗中的转基因油菜



图 6.移栽存活的转基因油菜幼苗

本课题从杉木茎的木质部中克隆了木质素合成酶相关基因, 为后续的基因结构功能鉴定和研究打下了基础。我们期望通过克隆、鉴定杉木木质素合成基因, 能够通过基因工程技术手段改变杉木木质素含量以及改良杉木材性方面起到一定的作用。

### 三、阐明杉木木质素的形成与磷胁迫的关系

不同磷浓度条件下杉木幼苗木质素含量存在差异

①杉木幼苗茎的木质素含量随磷处理的浓度和磷的积累的增加而先增加而后逐步降低，降低量远远超过对照组杉木幼苗木质素含量。这说明不同浓度磷浓度处理在木质素积累过程中发挥了重要作用。高浓度磷酸盐的吸收和转运活性的增加可能促进了木质素的积累；低浓度磷酸盐的吸收的增加可能抑制了木质素的合成，至少是处在正常土壤无机磷浓度范围内时，在幼苗时期是能够观察到的。

②在酸性条件下，木质化的细胞壁经过间苯三酚染色呈现红色或者紫红色，染色区域大小和深浅可以反应木质化程度。在我们测定杉木木质素含量时，对不同浓度梯度磷处理的杉木幼苗茎进行冰冻切片处理，再利用组织化学染色方法，直接观察分析不同时期和不同浓度梯度磷胁迫条件下的木质素分布情况后，研究得到对照组杉木幼苗茎切片和不同浓度梯度磷处理的杉木幼苗茎木质素含量变化趋势基本一致，更加能说明高磷胁迫对杉木茎木质素合成起正调控作用。

因此实验结果显示：杉木幼苗茎的木质素含量随磷处理的浓度和磷的积累的增加而先升高而后逐步降低，降低量远远超过对照组杉木幼苗木质素含量。

本研究揭示了与木质素合成相关基因的调控机制，从而使木质素生物合成调控可通过基因工程对木质素合成酶的活性或含量进行调节，该成果将为以后从分子水平改良杉木品种机理解析奠定理论基础。

### 四、阐明木质素合成相关基因在模式植物拟南芥和烟草中的表达情况

研究通过农杆菌介导的拟南芥转化和注射渗透转化烟草的方法，将构建好的融合表达载体 35S::*CIPAL2*-YFP 进行原生质体的转化,在荧光倒置显微镜下用白光和蓝光分别作激发光,观察基因的亚细胞定位情况。将构建了过表达载体通过注射渗透方法转化到烟草中,通过 Basta 抗性筛选,基因组 DNA 检测研究 *CIPAL2* 基因在烟草植株中的表达量。

#### 四、经费使用情况

经费合计 10000 元，其中，学校配套资助 0 元，学院配套资助 0 元，其他经费 0 元。

经费支出情况：

相关经费使用如下表：

实验试剂	规格	价格	备注
基因组 DNA 提取试剂盒	50 次	420 元	
琼脂糖凝胶回收试剂盒	100 次	490 元	
dNTP Mixture(2.5mM each)	5×1ml	220 元	
Taq DNA Polymerase	500u 5U/μL×10	1750 元	
LA Taq DNA Polymerase	25u 5U/μL	195 元	
植物总 RNA 提取试剂盒	50 次×2	1360 元	
Marker III	50 次	90 元	
DH5a 感受态细胞	20×100 μL	290 元	
BL21 感受态细胞	20×100 μL	200 元	
琼脂糖	100g×4	960 元	
pMD18-T 载体	2	700 元	
预染蛋白 Marker III	20 次	180 元	
Parafilm 胶	2	300 元	
逆转录试剂盒	2	1600	
<b>一次性易耗品</b>	<b>规格</b>	<b>价格</b>	
吸头	1000 个/包×20	500 元	
离心管	1000 个/包×50	200 元	
PCR 管	500 个/包×10	300 元	
液氮	10L×4	380	
其他	规格	价格	
引物合成	2×50D×5	300 元	
测序	50 次	1000 元	
<b>合计</b>		<b>10000 元</b>	



## 五、指导教师及学院（系）审核意见

项目指导教师对结题的意见，包括对项目研究工作和研究成果的评价等。

负责人签章：

年 月 日

项目主持人所在学院（系）对结题的意见，包括对项目研究工作和研究成果的评价等

负责人签章：

年 月 日

## 六、学校结题审核意见

学校对项目研究的任务、目标、方法和研究成果水平等进行评价，是否结题。

年 月 日