



Application of Fusion Protein Expression and Purification Technology in Innovative Experimental Teaching of Biochemistry

Qian Shuyi, Kang Yujia

School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai, China

Email address:

kangyj@shanghaitech.edu.cn (Kang Yujia)

To cite this article:

Qian Shuyi, Kang Yujia. Application of Fusion Protein Expression and Purification Technology in Innovative Experimental Teaching of Biochemistry. *Asia-Pacific Journal of Biology*. Vol. 2, No. 2, 2019, pp. 15-21.

Received: November 21, 2019; **Accepted:** December 26, 2019; **Published:** March 2, 2020

Abstract: Biochemical experimental teaching is an indispensable key link in the process of professional training in the college of life sciences. To develop comprehensive and designing experiments courses can improve the quality of biochemical experiment teaching. Fusion protein expression and purification technology is an important research means to research protein structure and function. In the field of protein science, getting high purity and bioactive proteins often is the basis of protein structure and function studies. Affinity chromatography is one of effective methods of protein separation and purification. Which fusion protein purification technology acts as the core, our teaching platform has opened an innovative, comprehensive experimental teaching course called "Purification of His-tagged proteins using Ni²⁺ Sepharose affinity chromatography". This paper expounds the implementation of the teaching goal, the key and difficult, experimental principle, experimental procedures and results, etc. Practice shows that the experimental teaching course can subtly make an organic integration of multi-disciplinary knowledge points, just like biochemistry, molecular biology, gene engineering technology and so on. Using this strategy, we can not only consolidate and strengthen the basic knowledge of biochemistry theory students have studied, but also can improve their comprehensive abilities to experimental designs and cultivate their innovative spirits meanwhile. The innovative experiment course, with moderate difficulty, can be widely applied in the other colleges those have biochemistry major.

Keywords: Biochemistry, Experiment Teaching, Fusion Proteins, Educational Reform

融合蛋白的表达纯化在生物化学实验教学中的应用

钱舒怡, 康宇佳

上海科技大学生命科学与技术学院本科实验教学平台, 上海市, 中国

邮箱

kangyj@shanghaitech.edu.cn (康宇佳)

摘要: 生物化学实验教学是高校生命科学专业人才培养过程中不可或缺的关键环节, 开发综合性和设计性实验课程可提高生物化学实验教学的质量。融合蛋白表达与纯化技术是蛋白结构与功能的重要研究手段。在蛋白科学研究领域, 得到高纯度并具有生物活性的目的蛋白往往是很多蛋白质结构与功能研究的基础。亲和层析法 (affinity chromatography) 是分离纯化蛋白质的一种极为有效的方法。以融合蛋白纯化技术为核心, 本教学实验平台开设了一门名为“亲和层析法纯化His-tag融合蛋白”的创新性、综合性实验教学课程。本文详细阐述了实施该课程的教学目标、重难点、实验原理、实验步骤及结果等。实践表明, 此实验教学课程可巧妙地将生物化学、分子生物学、基因工程技术等多学科知识点有

机整合。采用此策略, 不仅可巩固学生的生物化学理论课基础知识, 同时有利于提高其综合实验设计能力与培养创新精神。该创新性实验课程内容难度适中, 可在开设生物化学专业的高校推广与试行。

关键词: 生物化学, 实验教学, 融合蛋白, 教学改革

1. 概述

生物化学是生命科学领域中最重要的一门学科, 生物化学实验不仅是生物化学理论知识的重要补充和延续, 同时更是发现新知识的最佳途径。该课程既让学生验证生物化学的基本理论, 同时又掌握生物化学的基本操作技术。21世纪是生命科学的世纪, 对于生物化学这样一门以实验为基础的学科发展而言, 急切的需要培养大量具有创新意识、创新能力的本科生。但如今, 传统高校开展的生物化学实验课程的发展速度却远远落后于理论知识和前沿实验技术的更新速度, 在一定程度上阻碍了学科的发展和人才的培养。过多的验证性实验内容使学生的自主思维受到了一定的限制, 阻碍了他们对实验过程和结果思考能力的发展。纵观世界上各发达国家的高等教育, 尤其是实验科学的教育, 创新思维的培养都是必不可少的环节, 教育创新思维成为我国目前一致的发展趋势 [1]。因此, 落实到实验课的教学, 就需要高校进行实验课程的改革, 增加综合性、设计性、创新性的实验内容, 更好的与科学研究的前沿接轨 [2]。

上海科技大学是一所新建高校, 学校致力于服务国家经济社会发展战略, 培养科技创新创业人才, 提供科技解决方案及发挥思想库作用, 积极投身高等教育改革、参与上海科创中心建设。针对学校培养学生的宗旨, 为了提高本科生的科技创新能力, 建校以来始终支持实验课教师针对本科生开设具备综合性、设计性和创新性特点的实验教学项目。这对于培养学生综合能力与创新精神, 提高实验教学水平与人才培养质量有着十分重要的意义。

以蛋白质的结构与功能为基础, 从分子水平上认识生命现象, 已经成为现代生物学发展的主要方向。同时随着基因工程等技术的发展, 生物制药也进入了迅速发展的时期, 其中基于靶点结构的药物设计更是新药研发的重要手段, 而这些靶点大多是蛋白质, 因此研究蛋白质的三维结构及其功能可以更好的推动新药研发 [3]。要研究蛋白质, 首先就要得到高纯度且具有生物活性的目的蛋白。固定金属离子亲和层析技术 (immobilized metal ion affinity chromatography, IMAC) 是近年来的新型可运用于蛋白纯化的亲和层析技术, 是分离纯化蛋白质的一种极为有效的方法 [4]。多聚组氨酸标签 (His-Tag) 是较为常用的融合蛋白标签, 具有此标签的融合蛋白可以与 Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} 或 Zn^{2+} 等金属离子发生螯合作用, 从而利用亲和层析法将目的蛋白从大量其他蛋白中纯化出来, 纯化效率极高 [5]。

为了将科研中的常用实验技术引入本科实验教学中, 基于综合性、设计性和创新性实验要求, 以融合蛋白原核表达载体的构建和表达纯化技术为核心内容, 我们开设了“运用固定金属离子亲和层析技术纯化His-tag融合蛋白”生物化学综合性实验教学课程。该课程涵盖以下6个方面

的内容: (1)重组质粒的转化与菌种的扩大培养; (2)目的蛋白的体外诱导表达; (3)融合蛋白的提取; (4)融合蛋白的镍-琼脂糖亲和层析纯化; (5)纯化蛋白的表达检测。

该创新性实验项目涉及多个学科交叉, 涵盖有生物化学、分子与细胞生物学、生物信息学、基因工程等多学科的基本概念与核心实验技术。实践表明, 开设此类创新性实验教学课程, 能激发学生学习生物化学的兴趣, 有利于提高和完善大学生的知识结构体系, 提高其学术创新能力。

2. 实验原理

2.1. 固定化金属螯合亲和层析技术及多聚组氨酸标签原理

固定化金属离子亲和层析技术(IMAC)是由Porath 等提出的一种亲和层析技术, 它适用于分离纯化生物大分子, 其原理是基于固定在基质上的过渡态金属离子 (如 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Zn^{2+}) 与特定的氨基酸残基 (如组氨酸、色氨酸、半胱氨酸、精氨酸等) 之间亲和力不同而对蛋白质进行分离 [6]。过渡金属离子能与电子供体氮、硫、氧等原子以配位键结合, 而没有配对的电子则是电子供体的配位点, 在溶液中水分子或阴离子会占据该配位点 [7]。当蛋白质表面氨基酸残基与金属离子的结合力比水分子或阴离子更强时, 蛋白质便取代它们与金属离子形成复合物。由于蛋白质表面这些氨基酸的种类、数量、位置 and 空间构象不同, 它们与金属配基的亲和力大小也会不同, 从而可达到选择性、特定地对蛋白质进行分离纯化 [8]。

IMAC技术也凭借其结合目的蛋白能力强、容量大、洗脱条件温和、易再生等优点被广泛应用在一些蛋白质、酶、氨基酸和多肽的分离纯化。具有配体简单、吸附量大、分离条件温和、通用性强等特点, 所以可选择范围广, 高盐, 存在变性剂以及去垢剂的上样条件下进行纯化。

随着基因工程重组蛋白技术日趋成熟, 通过将亲和标签或多肽融合蛋白连接在目的蛋白上可有效帮助目的蛋白的纯化。目前比较常用的融合标签蛋白有His-tag, Arg-tag, FLAG-tag, HAT-tag和 thioredoxin等 [9]。其中以组氨酸残基组合的融合标签(His-Tag)在原核蛋白表达中的应用最为显著 [10], 也是当前最热门的一种蛋白标签。

多聚组氨酸标签, 也就是His-tag, 是由5-15个组氨酸残基组成的小肽, 它可结合在目的蛋白的C端或N端, 形成特殊的结构。其中组氨酸的咪唑环可与基质材料固定的金属离子形成较强的配位键, 是与固定化金属离子作用最强的氨基酸 [11]。此带多聚组氨酸标签的蛋白可在IMAC中高效结合, 而吸附在亲和介质上的多聚组氨酸标签蛋白可通过调节洗脱缓冲液的pH或游离咪唑溶液浓度洗脱下来, 从而实现目的蛋白与杂蛋白的分离 [12]。

目前,纯化带多聚组氨酸标签蛋白的亲介质主要有 Ni^{2+} -IDA、 Ni^{2+} -TED、 Ni^{2+} -NTA和 Co^{2+} -CMA 等 [8],其中以 Ni^{2+} -NTA 的应用最为广泛。

2.2. IPTG诱导原理

E.coli的乳糖操纵子(元)含Z、Y及A三个结构基因(图1),分别编码半乳糖苷酶、透酶和乙酰基转移酶,此外还有一个操纵序列O、一个启动序列P和一个调节基因I。I基因编码一种阻遏蛋白,后者与O序列结合,使操纵子(元)受阻遏而处于关闭状态 [13]。在启动序列P上游还有一个分解(代谢)物基因激活蛋白(CAP)结合位点。由P序列、O序列和CAP结合位点共同构成lac操纵子的调控区,三个酶的编码基因即由同一调控区调节,实现基因产物的协调表达。在没有乳糖存在时,lac操纵子(元)

处于阻遏状态。此时,I序列在PI启动序列操纵下表达的Lac阻遏蛋白与O序列结合,阻碍RNA聚合酶与P序列结合,抑制转录启动。当有乳糖存在时,lac操纵子(元)即可被诱导。在这个操纵子(元)体系中,真正的诱导剂并非乳糖本身。乳糖进入细胞,经 β -半乳糖苷酶催化,转变为半乳糖。后者作为一种诱导剂分子结合阻遏蛋白,使蛋白构象变化,导致阻遏蛋白与O序列解离、发生转录(图2)。由于乳糖操纵子的可诱导性,因此常被用于分子克隆的重要工具。

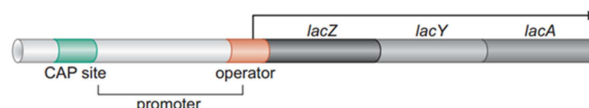


图1 乳糖操纵子。

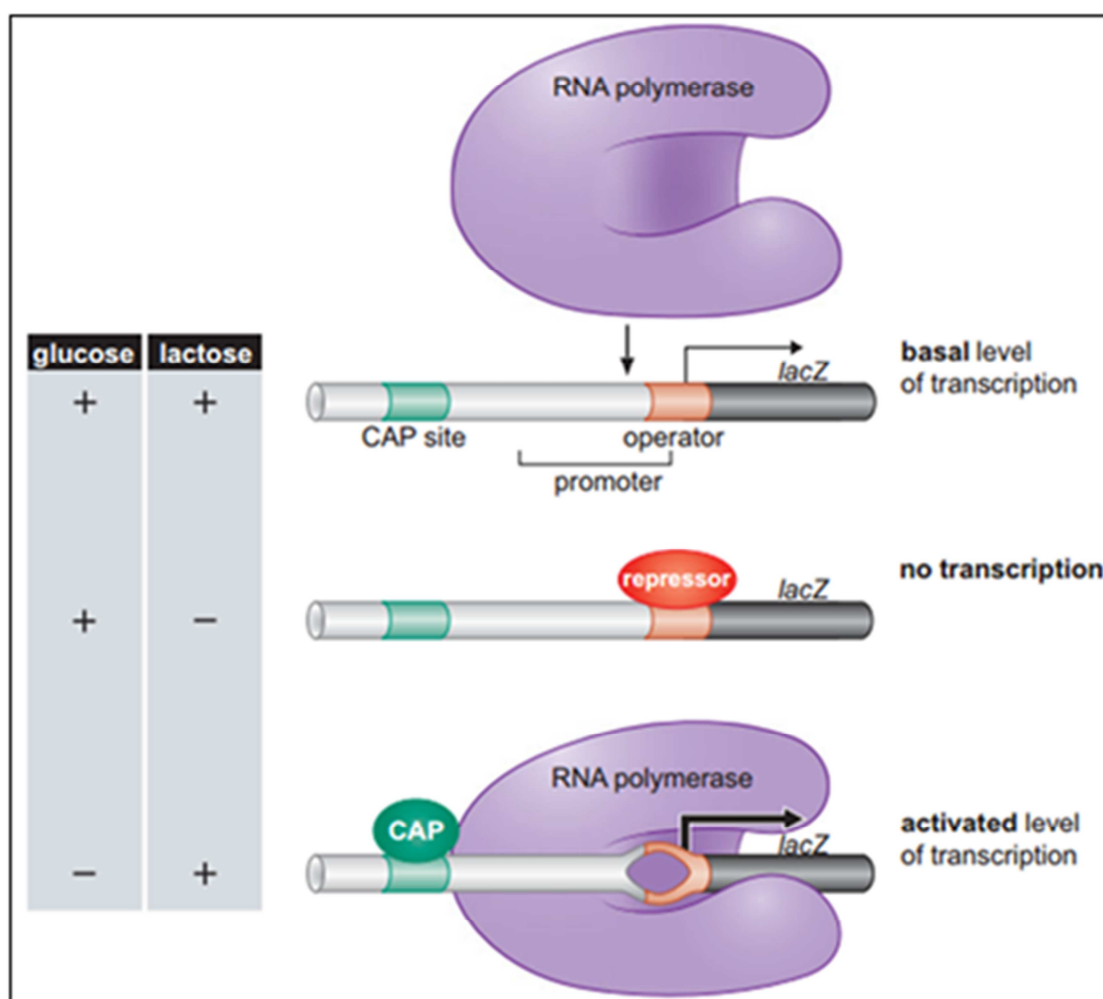


图2 乳糖基因的表达调控。

异丙基硫代半乳糖苷(IPTG)是一种异乳糖结构类似物,可作为一种极强的蛋白原核表达诱导剂,因其不被细菌代谢而十分稳定,所以被实验室广泛应用 [14]。

本实验所用v53-dctps1-c6his载体(图3)拥有Lac operator,因此可应用IPTG条件性的诱导启动子启动带有His标签的外源蛋白的表达,形成dctps1-his融合蛋白 [15]。

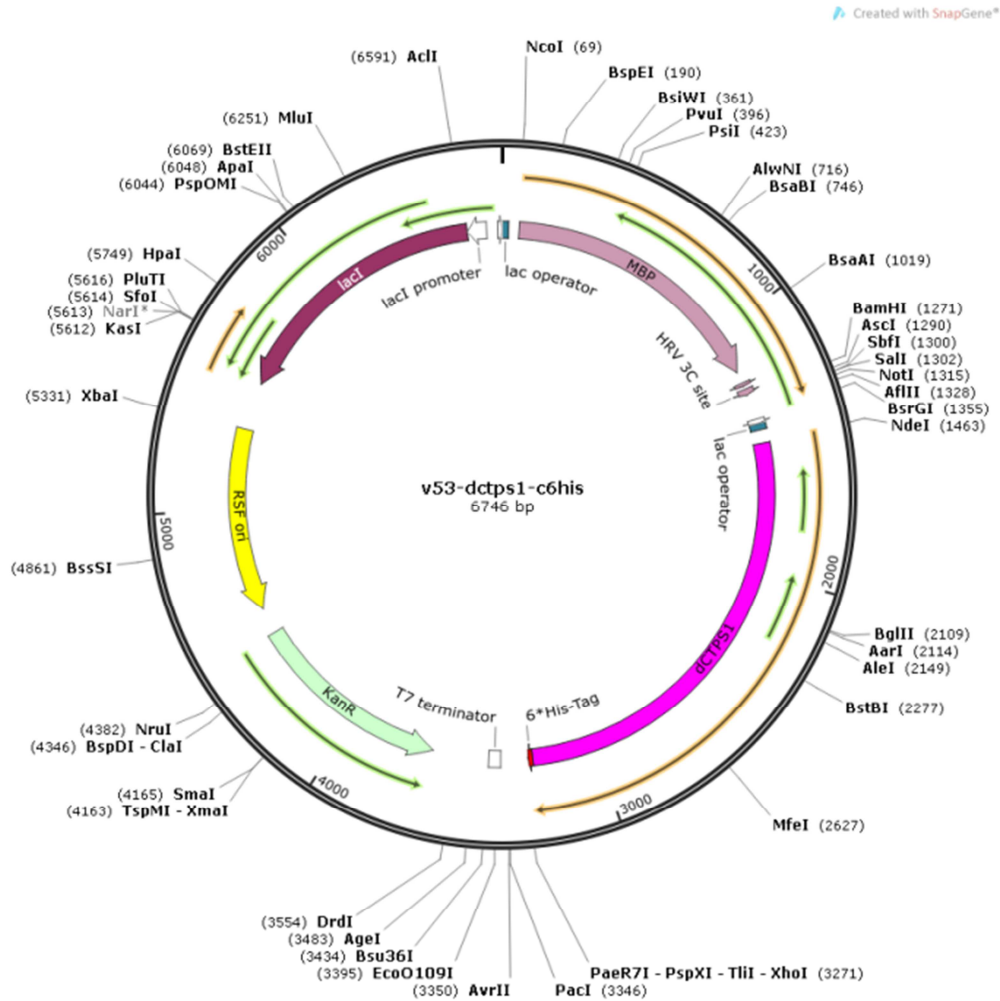


图3 v53-dctps1-c6his载体图谱。

3. 教学设计与安排

3.1. 教学目的

通过本课程的学习，使学生巩固从生物化学理论课程上所学的基本概念及实验原理，并掌握His标签融合蛋白纯化实验技术。教学目的有：（1）掌握 IPTG 体外诱导重组蛋白表达的基本原理及实验方法；（2）掌握亲和层析法纯化His标签蛋白的基本原理和操作方法。通过该实验课程的学习，试图让本科生了解科研的基本思路，熟悉生物化学、分子生物学等基本实验技能。

3.2. 实验材料、试剂与仪器

3.2.1. 实验材料

v53-his空载质粒、v53-dctps1-c6his重组质粒

3.2.2. 实验试剂

LB培养基、卡那霉素溶液（100mg/ml）、IPTG 储存液（50mg/ml）、磷酸缓冲钠盐溶液、100ug/ml Lysozyme、5ug/ml DNaseI和10mg / mL 溶菌酶购自生工生物工程（上海）股份有限公司；His标签蛋白纯化

试剂盒CW0894S（可溶性蛋白）、5×SDS-PAGE loading buffer、考马斯亮蓝染色液和脱色液购自康为试剂；10% SDS-PAGE和MOPS running buffer购自金斯瑞生物科技有限公司。

3.2.3. 实验仪器

离心机、GE LAS500多功能成像仪、移液器、垂直板电泳仪、旋转混合仪、水平摇床、漩涡混合仪、恒温培养箱、一次性无菌注射器、一次性0.45um过滤器、50ml、15ml 一次性无菌离心管等。

3.3. 教学安排与考核要求

该创新性实验教学内容与学时安排见表1，共计20个学时，分5次进行，课堂授课与实验课相结合。不同高校也可按照各自的教学要求适当调整。可根据实验室条件将学生分组，建议2人一组，小组内成员协调分工与合作，合理分配实验任务。要求学生认真参与所有实验环节，教师对学生在实验过程中的表现打分，成绩占总考核成绩50%，实验结束要求学生给出实验报告并对实验结果进行详尽的分析和讨论，成绩占总考核成绩的50%。

表1 授课内容与学时安排。

授课内容	学时
融合蛋白纯化技术实验原理介绍与实验设计	2
IPTG诱导重组靶蛋白在大肠杆菌中的表达	6
大肠杆菌细胞的收集与总蛋白的制备	4
融合蛋白的琼脂糖亲和层析纯化	4
纯化蛋白的表达检测	4

3.4. 实验步骤

3.4.1. IPTG诱导重组靶蛋白在大肠杆菌中的表达

- 1) 菌液活化:每组学生从重组菌(His载体连接有目的基因)的划线平板中挑取1个菌落,接入含有抗生素的5ml LB培养基, 37°C, 225rpm, 过夜培养。
- 2) 扩大培养:将过夜培养的菌液接种到50ml Kana⁺ LB培养基中, 37°C摇床培养12-16h后, 接种到1L Kana⁺ LB液体培养基培养至对数中期(A₆₀₀OD值为0.6-0.8, 以培养基为空白对照测定吸光值)。扩大培养后, 吸取1ml未经诱导的培养物于EP管中, 12000 rpm 离心30s, 加入1*loading buffer, 100°C煮样10min, 作为留样S1, 备用后续SDS-PAGE实验。
- 3) IPTG诱导:扩培菌液中加入IPTG, 使IPTG最终浓度1ug/ml (1mM), 16°C过夜培养20h。
- 4) 菌液收集:将上述诱导后的菌液, 20°C, 5000g离心20min, 弃去上清液, 得到细胞收集物(收集的细胞沉淀可在-80°C保存)。

3.4.2. 制备细胞抽提物

该步骤均需在冰上操作。

- 1) 重悬沉淀:用40ml裂解液(20mM Tris-HCl(PH7.9), 500mM NaCl, 100ug/ml Lysozyme, 5ug/ml DNaseI, 蛋白酶抑制剂)将收集的1L菌液的细胞沉淀重悬至匀浆状态, 用于超声破碎。
- 2) 超声破碎:按220W, 开3s, 关3s的条件破碎细胞, 约25min。
- 3) 裂解物收集:将破碎后的细胞, 4°C, 12000rpm, 离心40min。用0.45um 滤膜及注射器过滤得到的上清并转移到50ml新管中。将提取好的蛋白溶液取20ul, 加入1*loading buffer煮样, 作为留样S2, 其余蛋白溶液保存于-80°C备用。

3.4.3. Ni-Agarose Resin填料预处理

- 1) 清洗:以每ml填料纯化20-30mg His标签蛋白计算, 取需要的填料于离心管, 加入去离子水, 4°C, 1000 g, 离心5min, 弃上清。重复该步骤3-5次, 约用10倍柱体积的去离子水清洗。
- 2) 平衡:洗涤完成的填料加入等体积预冷的平衡缓冲液(20mM Tris-HCl(PH7.9), 500mM NaCl)50%的匀浆, 颠倒数次, 混合均匀, 悬液冰上放置, 备用。

3.4.4. 融合蛋白纯化

该步骤需在冰上操作。

- 1) 将之前提取好的两管蛋白溶液中加入预处理的50% Ni-Agarose Resin匀浆以及20mM Imidazole, 混匀, 在旋转混合仪上于4°C孵育约2h。然后 4°C, 1000 g, 离心 5 min, 小心去掉上清至剩余约5ml溶液。
- 2) 重悬沉淀将匀浆加入纯化柱, 同时收集流穿液。取出20ul, 加入1*loading buffer煮样, 作为留样S3。
- 3) 缓冲液配制:

	Wash Buffer			Elution buffer	
	Wash 1	Wash 2	Wash 3	Elution 1	Elution 2
Tris-HCl (PH7.9)	20mM	20mM	20mM	20mM	20mM
NaCl	500mM	100mM	100mM	100mM	500mM
Imidazole	30mM	50mM	100mM	200mM	300mM

- 4) 洗脱杂蛋白:用Wash 1, Wash 2, Wash 3共15倍柱体积冲洗柱子以洗去杂蛋白。
- 5) 洗脱目的蛋白:分次用3倍柱体积的Elution 1, 2倍柱体积的Elution 2洗脱蛋白, 分别收集洗脱液, 各取出20ul, 加入1*loading buffer煮样, 作为留样S4、S5。每次加入洗脱液后需要孵育约10-30min, 以确保充分洗脱目的蛋白。Imidazole的浓度同样需根据目的蛋白进行摸索。

3.4.5. 聚丙烯酰胺凝胶电泳法检测纯化蛋白的表达

10% SDS-PAGE, 考马斯亮蓝法染色分析纯化蛋白的表达情况。

3.5. 实验注意事项

该创新性实验课程不仅教授用生物化学的方法纯化目的蛋白, 还涉及到分子生物学等其他相关实验的操作方法, 如细菌培养、平板制备、平板划线、单克隆挑取等, 因此要求学生在实验开始前对相关其他课程有所了解, 并熟悉相关实验原理及操作方法。

另外, 授课教师要在课程开始前购买实验所需试剂、耗材及仪器。鉴于不同的重组表达载体在大肠杆菌中诱导表达的条件不同, 且和具体实验环境、不同品牌试剂等因素有关。因此, 为了学生实验的顺利进行, 教师还需提前摸索IPTG的诱导表达条件, 并对实验条件进行优化。

在指导学生实验时, 应提醒学生注意(1)挑取菌落扩大培养时要做到严格的无菌操作, 避免交叉污染; (2) 蛋白提取过程中要严格控制实验温度, 冰上操作, 避免蛋白降解影响后续实验; (3) 纯化融合蛋白过程中, 注意树脂洗涤方法, 尽量减少离心、去上清过程中树脂的损失; (4) 蛋白电泳中, 提醒学生正确加样; (5) 考马斯亮蓝法染色时注意控制染色及脱色的时间, 做到染色充分, 脱色完全。

3.6. 实验结果与分析

重组子诱导表达的融合蛋白dctps1-his大小应为70KD左右。从实验结果(图4)分析, S1为未经诱导的总蛋白裂解液, 经IPTG诱导后, S2在约70KD处出现明显条带。在经过高浓度咪唑洗脱液处理后S4、S5均看到明显的目的

条带。实验结果表明, 该实验可以经IPTG诱导及镍柱纯化 得到纯度较高的dctps1-his融合蛋白。

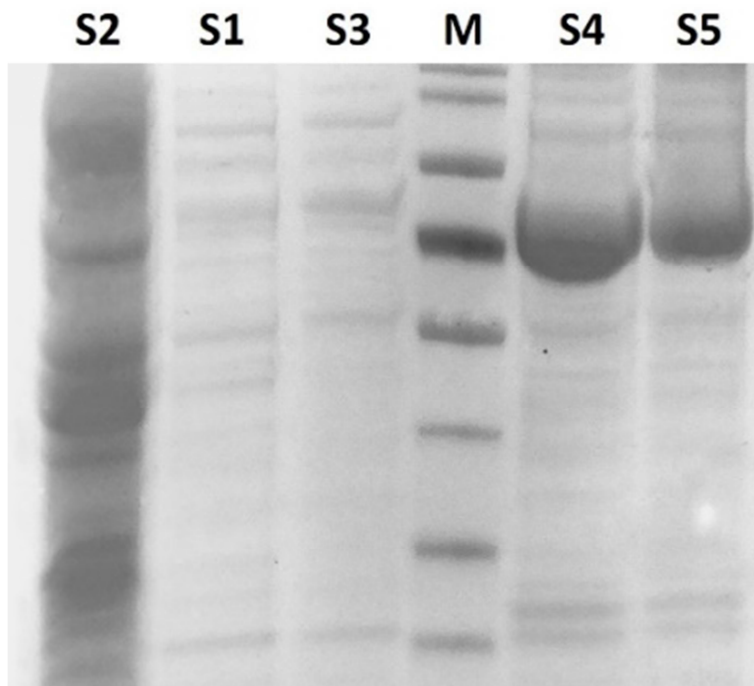


图4 SDS-PAGE检测诱导及纯化蛋白的表达。

4. 讨论

4.1. 开设该创新性实验教学项目的意义

蛋白质的分离纯化在生物化学研究应用中使用广泛, 是一项十分重要的操作技术。该技术在生命科学研究领域被广泛应用, 但在以往的本科实验教学中, 蛋白纯化技术由于实验综合性较强、实验难度大及实验耗时长等原因, 不便开展。为了将生命科学前沿研究手段引入本科生物化学实验教学课堂, 激发学生的学习热情, 提高学生参与科学研究的积极性, 我们将此实验课程经过改良在本科生实验教学中开展。整个课程中涉及到生命科学的多种学科及多种实验技术, 各项实验相对独立, 实验原理各不相同, 但却环环相扣, 密不可分。将SDS-PAGE及考马斯亮蓝染色法结合起来, 实验结果也更加直观。

通过本次课程的学习, 不仅使学生了解和熟悉蛋白纯化的实验技术, 同时也使学生对该技术有了感性认识。另外, 在此实验过程中, 还培养了学生严谨的科研工作作风、良好的团队合作精神和较强的社会责任感。通过该创新实验课程的学习, 激发学生的科研热情, 积累科学研究经验。为进入实验室开展科学研究打下扎实的基础。

4.2. 实验安排的可行性

实验教师在开课通过预实验制定了详细的实验步骤, 并经过反复验证, 实验结果可重复性较高; 实验中涉及到的试剂、耗材及仪器方便购买; 涉及到的实

验技术原核表达载体的构建及体外诱导表达、His融合蛋白的纯化、聚丙烯酰胺凝胶电泳及考马斯亮蓝染色等

生物化学及分子生物学实验, 一般高校均开设有相关的实验课程, 可操作性强。

5. 结论

实践证明, 融合蛋白的纯化实验非常适合作为高校生物化学的实验课程, 可以充分锻炼学生的实验技能并夯实理论基础, 建议设有生物学相关专业的高校适时开设。

致谢

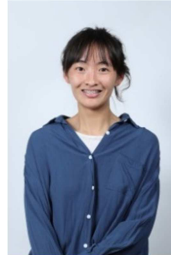
感谢上海科技大学刘冀珑课题组孙哲老师及本科实验教学平台的石金磊老师对本创新性实验教学课程相关材料准备方面提供的帮助。

参考文献

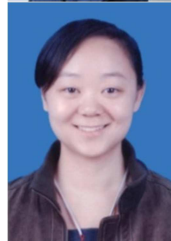
- [1] 周传礼. 如何在生物化学中有效培养学生的创新思维 [J], 生物技术世界, 2014 (05): 1.
- [2] 徐全乐. 基础生物化学实验教学中渗透实验设计思想的探索 [J], 安徽农业科学, 2013 (9): 2.
- [3] 林政炯. 蛋白质晶体学与药物设计 [J], 生物化学与生物物理进展, 1989 (06): 6.
- [4] 景志刚 杨., 杨春莉, 刘海玲. 固定化金属螯合亲和层析介质及其应用研究进展 [J], 农产品加工, 2015 (11): 4.

- [5] Hengen P. Purification of His-Tag fusion proteins from *Escherichia coli* [J], Trends Biochem Sci, 1995 (20): 285-286.
- [6] Porath J., Carlsson, J., Olsson, I., et al. Metal chelate affinity chromatography, a new approach to protein fractionation [J], Nature, 1975 (258): 598-599.
- [7] Hutchens T. W. and Yip, T. T. Metal ligand-induced alterations in the surface structures of lactoferrin and transferrin probed by interaction with immobilized copper (II) ions [J], J Chromatogr, 1991 (536): 1-15.
- [8] 李淑娟. 金属螯合亲和层析技术及其应用 [J], 科技经济市场, 2009 (11): 2.
- [9] Futatsumori-Sugai M., Abe, R., Watanabe, M., et al. Utilization of Arg-elution method for FLAG-tag based chromatography [J], Protein Expr Purif, 2009 (67): 148-155.
- [10] Terpe K. Overview of tag protein fusions: from molecular and biochemical fundamentals to commercial systems [J], Appl Microbiol Biotechnol, 2003 (60): 523-533.
- [11] Schmitt J., Hess, H. and Stunnenberg, H. G. Affinity purification of histidine-tagged proteins [J], Mol Biol Rep, 1993 (18): 223-230.
- [12] 阮建兵 梅. 多聚组氨酸融合标签在蛋白药物开发中的应用 [J], 生物技术通报, 2012 (6): 5.
- [13] Hansen L. H., Knudsen, S. and Sorensen, S. J. The effect of the lacY gene on the induction of IPTG inducible promoters, studied in *Escherichia coli* and *Pseudomonas fluorescens* [J], Curr Microbiol, 1998 (36): 341-347.
- [14] Carlsson U., Ferskgard, P. O. and Svensson, S. C. A simple and efficient synthesis of the inducer IPTG made for inexpensive heterologous protein production using the lac-promoter [J], Protein Eng, 1991 (4): 1019-1020.
- [15] Bocanegra J. A., Bejarano, L. A. and Valdivia, M. M. Expression of the highly toxic centromere binding protein CENP-B in *E. coli* using the pET system in the absence of the inducer IPTG [J], Biotechniques, 1997 (22): 798-800, 802.

作者简介



钱舒怡 (1997-), 女, 浙江省桐乡市, 本科, 硕士在读, 主要从事结构生物学方面的研究工作。



康宇佳 (1985-), 女, 辽宁省抚顺市, 博士, 高级工程师, 主要教授生物化学及相关实验课程。