

同行专家业内评价意见书编号: 20250860046

附件1

**浙江工程师学院（浙江大学工程师学院）
同行专家业内评价意见书**

姓名: 宋玉超

学号: 22260517

申报工程师职称专业类别（领域）: 生物与医药

浙江工程师学院（浙江大学工程师学院）制

2025年05月12日

填表说明

一、本报告中相关的技术或数据如涉及知识产权保护、军工项目保密等内容，请作脱密处理。

二、请用宋体小四字号撰写本报告，可另行附页或增加页数，A4纸双面打印。

三、表中所涉及的签名都必须用蓝、黑色墨水笔，亲笔签名或签字章，不可以打印代替。

四、同行专家业内评价意见书编号由工程师学院填写，编号规则为：年份4位+申报工程师职称专业类别(领域)4位+流水号3位，共11位。

一、个人申报

（一）基本情况【围绕《浙江工程师学院（浙江大学工程师学院）工程类专业学位研究生工程师职称评审参考指标》，结合该专业类别（领域）工程师职称评审相关标准，举例说明】

1. 对本专业基础理论知识和专业技术知识掌握情况（不少于200字）

本人本科专业为生物科学，硕士专业为生物与医药，通过浙江大学工程师学院的专业培养及企业项目实践，系统构建了与生物与医药领域（微生物合成生物学方向）相关的理论与技术知识体系，并在专业实践中实现了知识的深度融合与创新应用。

1. 专业基础理论知识

掌握生物统计学、微生物学、分子生物学、生物化学、遗传学等专业理论基础，熟悉GMP、FDA等药品生产质量管理规范及医药行业政策法规，具备一定技术经济分析能力，能够从成本、风险、伦理等维度评估工程方案的可行性。

2. 专业技术知识

1) 实验技术掌握：熟练掌握质粒构建（Gibson assembly/Golden gate/Restriction-ligation）、毕赤酵母感受态制备和菌株构建、CRISPR-

Cas9、蛋白表达和纯化、DNA和RNA提取，PCR、RT-qPCR、Western Blot、RNA-

Seq、HPLC等。系统学习发酵工程（如分批补料控制、在线监测）、下游分离纯化（层析、膜过滤）及制剂工艺。

2) 软件掌握：熟练操作MS Office, GraphPad、Oligo、SnapGene、Tbtools、PS、EditPlus、Primer Primer5等软件。

2. 工程实践的经历（不少于200字）

本人实践单位为台州市椒江区启臻合成生物技术研究院，其坐落于台州市椒江区群英路555-1号，研发面积5000平方，由台州地方政府资助建立，构建了设备齐全的发酵中试平台、合成生物技术平台。

本人在研究院的实习实践内容主要是筛选和评价在含有不同碳源中组成型表达的毕赤酵母内源性启动子。具体为：先根据GS115在YPD、YPG和YPM以及在YPD中不同生长时间点的转录组数据筛选到一些在不同培养条件和不同培养时间均组成型表达的毕赤酵母内源性启动子。之后在YPD、BMGY和BMMY中进行发酵，选取4 h、16 h、48 h、72 h和96 h的GS115

RNA样品进行RT-

qPCR，对初筛的启动子定量检测。最终本人成功独立完成该项目，获得两个转录活性不依赖于培养基碳源成分的毕赤酵母内源性组成型启动子，分别为P0510和P0277。

3. 在实际工作中综合运用所学知识解决复杂工程问题的案例（不少于1000字）

工程实践案例：毕赤酵母内源性组成型启动子的筛选

一、项目背景与问题描述

毕赤酵母（*Pichia*

pastoris）是一种甲基营养型酵母，具有高效利用甲醇、高密度发酵、分泌蛋白背景低等优点，在异源蛋白表达、生物燃料合成以及小分子化合物的生物制造等方面具有广泛应用。在这些生物合成过程中，启动子作为基因转录调控的核心元件，决定了基因表达的起始与强度，进而影响目标产物的合成效率。

在已报道的毕赤酵母启动子中，诱导型启动子如醇氧化酶1（AOX1）启动子，在甲醇诱导条件下虽具有高转录水平，但其对甲醇高度依赖。所以，在发酵进程中，需精准控制甲醇添加量、添加时间并维持甲醇浓度稳定，操作较为复杂。若发生甲醇浓度变动、添加延迟或中断等问题，皆可能引发基因表达水平的显著改变，进而对产物合成的稳定性与产量产生不利影

响。

现有的组成型启动子虽无需诱导物，却常呈现碳源偏好性。例如，毕赤酵母中最常用的甘油醛-3-

磷酸脱氢酶启动子（PGAP），在葡萄糖作为碳源的培养基里呈现出较高的转录活性，但在甘油或甲醇为碳源的培养基中，其活性却下降了三分之一至三分之二。当基于这类组成型启动子构建的毕赤酵母细胞工厂在不同碳源之间切换，以优化细胞生长与产物合成时，难以保障其下游基因的转录水平在整个过程中保持一致。因此，发掘和鉴定不依赖于培养基碳源的毕赤酵母内源性组成型启动子，具有重要的应用价值。

本人在台州市椒江区启臻合成生物技术研究院实习期间，参与了“毕赤酵母内源性组成型启动子筛选”项目。研究院具备完善的发酵中试平台和合成生物学技术平台，为该项目提供了实验条件支持。本项目的主要挑战在于：

启动子的稳定性：需筛选在多种碳源（葡萄糖、甘油、甲醇）条件下均能稳定驱动基因表达的启动子，避免因培养基成分变化导致表达波动。

转录活性定量分析：需建立可靠的RT-

qPCR方法，准确测定不同时间点的启动子活性，确保数据可重复性。

二、技术路线、实验内容与实验结果

1. 技术路线

2. 实验内容

A. 基于转录组数据的候选组成型启动子筛选

基于GS115

WT菌株在不同培养条件或不同培养时间下产生的两组转录组数据筛选出9个候选组成型表达基因，其中4个基因的启动子尚未被报道。

B. 候选启动子转录活性的RT-qPCR验证

首先在YPD、BMGY、BMMY培养基中培养GS115

WT菌株，获得了菌株的生长曲线，并对候选组成型启动子的转录活性进行RT-qPCR验证。

然后在YPD和BMGY培养基中选取8 h、24 h和48 h，在BMMY培养基中选取4 h、16 h、48 h、72 h和96 h作为RNA取样点进行RT-qPCR。

3. 实验结果

首先基于转录组数据在毕赤酵母GS115野生型菌株中筛选了4个候选的组成型表达启动子，分别为P0510、P0277、P0072和P0407。随后，通过RT-

qPCR验证其在毕赤酵母常用培养基YPD、BMGY和BMMY中的转录活性，最终确定P0510和P0277为不依赖于培养基碳源成分的组成型启动子，且P0277的转录活性显著高于P0510。

三、工程应用价值与创新点

1. 工业适用性提升

降低生产成本：P0510和P0277启动子无需甲醇诱导，可减少原料成本和安全管理负担。

提高工艺稳定性：P0510和P0277为不依赖于培养基碳源成分的组成型启动子，其启动子活性不随培养碳源的切换或者培养时间的变化而剧烈波动，可适用于需要适量表达或者稳定表达的蛋白。

2. 技术推广潜力

本研究采用的组成型筛选方法可推广至其他微生物（如酿酒酵母、枯草芽孢杆菌）的启动子工程。

已基于该成果申请发明专利1项（《一种不依赖于培养基碳源的毕赤酵母内源组成型启动子及其应用》，申请号CN202510048266.1，目前已公开并进入实质审查阶段）。

四、实践情况

1. 知识掌握方面：

在此次实习中，我不仅掌握了筛选和评价毕赤酵母内源性启动子的相关知识和技能，还对合成生物学领域有了更深入的了解。通过对转录组数据的分析，我学会了运用生物信息学工具对基因表达进行系统性研究，了解了基因调控网络的复杂性。在RT-qPCR实验中，我深入学习了这一定量分析技术的原理和应用，掌握了从样品制备到数据分析的全流程操作。这些专业知识的积累，不仅为我后续的研究工作奠定了坚实的基础，也为我未来从事合成生物学相关工作打下了良好的基础。

同时，我在实习过程中还学会了如何规范化地进行科学实验。从实验设计、数据采集到结果分析，我都严格遵循标准操作流程，确保实验数据的准确性和可重复性。这不仅提高了我的实验技能，也培养了我的科学思维方式。例如，在筛选启动子时，我会仔细分析转录组数据，找到不受培养条件和培养时间影响的候选组成型启动子。这种基于数据分析的科学推理能力，将在我未来的研究工作中发挥重要作用。

2. 能力提升方面：

在此次实习中，我不仅提高了实验操作能力，还培养了独立研究的能力。作为一名研究生，我在实习过程中独立承担了实验设计、数据分析和结果撰写等工作，这要求我具备较强的自主学习和问题解决能力。例如，在筛选启动子时，我需要根据实验目标和已有文献，自主设计实验方案，包括选择合适的生物信息学分析工具、确定RT-qPCR实验条件等。在数据分析阶段，我还需要对实验结果进行深入解读。这种独立思考和解决问题的过程，不仅提高了我的专业技能，也培养了我的创新意识和批判性思维。

此外，在与导师和实验室成员的交流沟通中，我还提高了自己的科研交流能力。我能够清晰地阐述实验设计和结果，并与他人进行有效讨论，充分表达自己的观点。这种交流过程不仅锻炼了我的口头表达能力，也提高了我的倾听和理解能力，有助于我更好地吸收他人的意见和建议，从而不断完善自己的研究思路。

3. 素质养成方面：

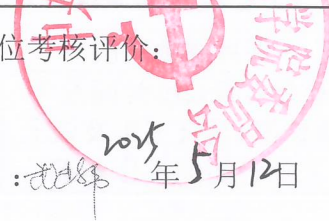
在此次实习中，我不仅学到了专业知识和技能，还培养了良好的职业素质。首先，我能够主动学习，积极参与实验操作和数据分析，体现了较强的学习能力和责任心。我需要主动查阅相关文献，了解实验背景和原理，并认真完成每一个实验步骤，确保实验数据的准确性。这种主动学习和认真负责的态度，不仅提高了我的工作效率，也赢得了导师和实验室成员的高度评价。

五、 总结

此次实习不仅丰富了我的专业知识，提升了我的实践能力，还培养了我良好的职业素质，获得了一定的实践成果（国家发明专利一项）。我在实习过程中展现出的主动学习、严谨求实、团队合作等优秀品质，必将成为我今后学习和工作的宝贵财富。

(三) 在校期间课程、专业实践训练及学位论文相关情况	
课程成绩情况	按课程学分核算的平均成绩： 88 分
专业实践训练时间及考核情况(具有三年及以上工作经历的不作要求)	累计时间： 1 年（要求1年及以上） 考核成绩： 82 分
本人承诺	
个人声明：本人上述所填资料均为真实有效，如有虚假，愿承担一切责任，特此声明！	
申报人签名：宋玉超	

二、日常表现考核评价及申报材料审核公示结果

日常表现考核评价	非定向生由德育导师考核评价、定向生由所在工作单位考核评价： ☒优秀 ☐良好 ☐合格 ☐不合格 德育导师/定向生所在工作单位分管领导签字（公章）： 2015 年 5 月 12 日
申报材料审核公示	根据评审条件，工程师学院已对申报人员进行材料审核（学位课程成绩、专业实践训练时间及考核、学位论文、代表作等情况），并将符合要求的申报材料在学院网站公示不少于5个工作日，具体公示结果如下： ☐通过 ☐不通过（具体原因： ） 工程师学院教学管理办公室审核签字（公章）： 年 月 日

浙江大学研究生院
攻读硕士学位研究生成绩表

学号：22260517		姓名：宋玉超		性别：男		学院：工程师学院			专业：生物与医药			学制：2.5年			
毕业时最低应获：24.0学分				已获得：27.0学分					入学年月：2022-09			毕业年月：			
学位证书号：						毕业证书号：						授予学位：			
学习时间		课程名称		备注	学分	成绩	课程性质	学习时间		课程名称		备注	学分	成绩	课程性质
2022-2023学年秋季学期		新时代中国特色社会主义思想理论与实践			2.0	92	公共学位课	2022-2023学年春季学期		基因工程制药技术			2.0	83	跨专业课
2022-2023学年秋季学期		工程技术创新前沿			1.5	89	专业学位课	2022-2023学年春季学期		自然辩证法概论			1.0	88	公共学位课
2022-2023学年秋季学期		微生物药物合成生物学			2.0	89	跨专业课	2022-2023学年春季学期		研究生英语基础技能			1.0	75	公共学位课
2022-2023学年秋冬学期		研究生论文写作指导			1.0	91	专业学位课	2022-2023学年春夏学期		工程伦理			2.0	89	公共学位课
2022-2023学年冬季学期		工程中的有限元方法			2.0	98	专业选修课	2022-2023学年夏季学期		药品创制工程实例			2.0	88	专业学位课
2022-2023学年冬季学期		产业技术发展前沿			1.5	89	专业学位课	2022-2023学年春夏学期		高阶工程认知实践			3.0	87	专业学位课
2022-2023学年秋冬学期		研究生英语			2.0	93	公共学位课			硕士生读书报告			2.0	通过	
2022-2023学年春季学期		科技创新案例探讨与实战			2.0	88	专业选修课								

说明：1. 研究生课程按三种方法计分：百分制，两级制（通过、不通过），五级制（优、良、中、及格、不及格）。

2. 备注中“*”表示重修课程。

学院成绩校核章：
成绩校核人：张梦依
打印日期：2025-06-03



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119876140 A

(43) 申请公布日 2025. 04. 25

(21) 申请号 202510048266.1

(22) 申请日 2025.01.13

(71) 申请人 浙江大学

地址 310058 浙江省杭州市西湖区余杭塘路866号

(72) 发明人 管文军 宋玉超 程真真

(74) 专利代理机构 杭州求是专利事务有限公司 33200

专利代理师 邱启旺

(51) Int. Cl.

C12N 15/113 (2010.01)

C12N 15/81 (2006.01)

C12N 1/19 (2006.01)

C12R 1/84 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

一种不依赖于培养基碳源的毕赤酵母内源组成型启动子及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种不依赖于培养基碳源的毕赤酵母内源组成型启动子及其应用。所述组成型启动子为6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因启动子，核苷酸序列如SEQ ID No.1所示。本发明提供的启动子在葡萄糖、甘油和甲醇为碳源的培养基中均呈现组成型表达，且在三种培养基中转录强度相近。该启动子克服了现有毕赤酵母组成型启动子的活性易受培养基碳源成分影响的问题，为目标基因在毕赤酵母中的稳定表达提供了可靠的调控元件。利用其构建的表达质粒可实现目标基因在毕赤酵母中稳定表达，在异源合成通路构建等生物技术领域具有良好的应用前景。

