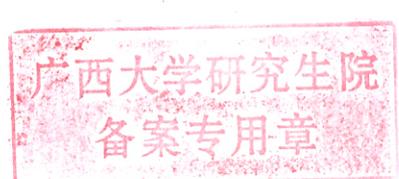
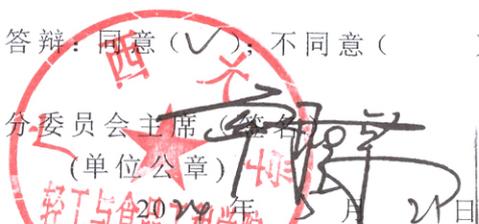


廣西大學

博士学位论文答辩资格审核表

学院	轻工与食品工程学院		学科专业 (研究方向)		轻工技术与工程(发酵工程)		
研究生姓名	裴晓东	入学日期	2020年9月		指导教师	王成华 教授 刘小玲 教授	
论文质量审核							
学位论文 评阅书 回收情况	论文送审情况			论文评审结果			
	聘 请	教授(研究员)、博导	其中院士	专家1	专家2	专家3	
		3 人	0 人				
回 收	3 份	0 份	87 分	90 分	84 分		
答辩资格审查专家组意见:(如论文还需修改再申请答辩的,请写明修改要求)							
是否同意答辩: 同意答辩 (<input checked="" type="checkbox"/>) / 不同意答辩 (<input type="checkbox"/>) 审核专家(签名):  2024年5月20日							
答辩专家组成审核							
答 辩 委 员 会	姓名	职称	是否博导	是否我校 兼职博导	工作单位	备注	
	主席	夏文水	教授	是	否	江南大学	
	委员	张翀	教授	是	否	清华大学	
		王友升	教授	是	否	广西大学	
		李全阳	教授	是	否	广西大学	
韦保耀		教授	是	否	广西大学		
答辩秘书 (姓名、职称)		李宁 助理教授	联系电话		19114620991	答辩 时间、地点	2024年5月26 日 14:00-17:30 轻工学院 204
学院学位评定分委员会审核意见:				校学位评定委员会办公室备案			
是否同意答辩: 同意 (<input checked="" type="checkbox"/>); 不同意 (<input type="checkbox"/>)							
学位评定分委员会主席(签名):  (单位公章):  2024年5月20日							

廣西大學

博士学位论文简况表（公示内容）

学院	轻工与食品工程学院		学科、专业 (研究方向)	轻工技术与工程(发酵工程)	
研究生姓名	裴晓东	入学日期	2020年9月	指导教师	王成华 教授 刘小玲 教授
论文题目	铜绿假单胞菌 4-3 角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究				
论文主要研究内容及重要结论（≤300字）： 本研究通过筛选获得了新型高活性的角蛋白酶；建立了异源表达和发酵优化体系，实现角蛋白酶的高效制备；通过蛋白质工程改造，获得催化效率、底物特异性和热稳定性显著增强的突变体；结合底物结合域筛选和改造方法，获得靶向吸附、特异性降解羽毛的角蛋白酶。具体结论如下： (1) 获得兼具优异热稳定性和有机溶剂耐受性的角蛋白酶。 (2) 建立了异源表达和发酵体系，在摇瓶发酵条件下，重组角蛋白酶产量达到了 1.36 g/L。 (3) 结合序列比对、保守性分析、单点饱和突变和组合突变，获得了催化活力、底物亲和力和热稳定性显著增强的三重突变体。 (4) 筛选出可靶向吸附羽毛的 E423-PPC1 底物结合域，并将其与角蛋白酶融合表达，使角蛋白酶的催化效率提高了 0.97 倍。					
论文的创新点内容： (1) 筛选鉴定了一株高效降解羽毛的产角蛋白酶菌株，铜绿假单胞菌 4-3，挖掘到具有降解天然羽毛角蛋白能力的新型金属角蛋白酶（4-3Ker）。通过异源表达和产酶优化，实现了 4-3Ker 在摇瓶发酵下 1.36 g/L 的高效制备。相较于现有角蛋白酶，4-3Ker 兼具热稳定性、有机溶剂耐受性，且对胶原蛋白无水解活性，极具商业化应用潜力。 (2) 基于活性中心改造策略，成功获得了热稳定性、催化活性和底物特异性改善的三重突变体（4-3Ker-MAV）。相较于野生型酶，4-3Ker-MAV 对角蛋白底物的催化活性提高了 1.21 倍，对催化底物角蛋白与酪蛋白的比值由 0.48 上升至 1.01，且半失活温度提高了 3.13℃至 69.08℃。为角蛋白酶的性能改进提供了新的思路和方法。 (3) 通过底物结合域改造策略，构建了具有靶向性吸附、特异性降解羽毛的新型角蛋白酶（4-3Ker-MAV-PPC）。筛选到可靶向吸附羽毛角蛋白的 E423-PPC1 底物结合域，以氢键和疏水作用为主要驱动力，实现特异性吸附。其与 4-3Ker-MAV 融合表达，制备出催化效率提高 0.97 倍的新型角蛋白酶。为角蛋白酶底物特异性的精准调控提供新的技术路线。					

10593 | 广西大学
博士学术学位论文评阅书

学号: 2016401010

论文名称: 铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究

作者姓名: 裴晓东

作者学科专业: 轻工技术与工程

作者研究方向: 蛋白酶工程改造

论文题目	铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究	
学科(专业)	轻工技术与工程	
评议项目	评价要素	分档
选题	选题的前沿性和开放性 研究的理论意义、现实意义 对国内外该选题以及相关领域发展现状的归纳、总结情况。	良好
创新性及论文价值	对有价值现象的探索、新规律的发现、新命题新方法的提出等新的科学发现 对解决自然科学或工程技术中重要作用的作用 论文级成果对科技发展和社会进步的影响和贡献	良好
基础知识和科研能力	论文体现的科学理论基础坚实宽广程度和专门知识系统深入程度 论文研究方法的科学性, 引进资料的翔实性 论文所体现的作业独立从事科学研究的能力。	良好
论文规范性	引文的规范性, 学风的严谨性, 论文结构的逻辑性 文字表述的准确性和流畅性	良好
总分	87	
总体评价	良好 90 > 总分 ≥ 80	
是否同意答辩	达到博士学位授予要求, 适当修改后答辩 (90 > 总分 ≥ 80)	
您是否推荐该篇论文参加全国或省级优秀博士学位论文评选	不推荐	

学位中心
论文编号:500272854

论文题目:铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究

简述推荐理由	
1	无
对论文熟悉程度	很熟悉

对学位论文的学术评语

论文通过筛选获得了具有商业化应用潜力的新型角蛋白酶；通过建立异源表达和发酵体系实现了角蛋白酶的高效制备；运用蛋白质工程技术改造了角蛋白酶的催化效率、底物特异性和热稳定性等关键性能指标；通过底物结合域筛选、改造及融合表达，获得了具有靶向吸附、特异性降解羽毛的新型角蛋白酶。论文选题有一定的理论意义，工作量合适，讨论深入，撰写规范，符合学位论文的要求。

论文的不足之处和建议

修改意见:

- 1、“(4)复筛培养基: 0.15 g/L MgSO₄·H₂O, 0.5 g/L NaCl、0.7 g/L KH₂PO₄、1.4 g/L K₂HPO₄、20 g/L 羽毛, 调整 pH 至 7.0-7.5, 121℃灭菌 20 min。” , 羽毛在培养基中是什么样的形态, 大小? , 对发酵效果有没有影响?
- 2、“图 2-1 不同菌株在羽毛培养基中发酵 48 h 的羽毛降解情况”, 清晰度不够, 看不到对比的效果。
- 3、“图 2-4 (a) 羽毛发酵液中的可溶性蛋白含量 (b) 羽毛降解前后的干重” 中对照48小时发生指标变化的原因是什么?
- 4、“3.4.9 大肠杆菌/枯草芽孢杆菌重组菌株产角蛋白酶的酶学性质测定”, 酶学性质的指标分析不够深入。

创新点	内容	分档
创新点1	<p>筛选鉴定了一株高效降解羽毛的产角蛋白酶菌株，铜绿假单胞菌4-3，挖掘到具有降解天然羽毛角蛋白能力的新型金属角蛋白酶（4-3Ker）。通过异源表达和产酶优化，实现了4-3Ker在摇瓶发酵下1.36 g/L的高效制备。相较于现有角蛋白酶，4-3Ker兼具热稳定性、有机溶剂耐受性，且对胶原蛋白无水解活性，极具商业化应用潜力。</p>	B(良好)
创新点2	<p>基于活性中心改造策略，成功获得了热稳定性、催化活性和底物特异性改善的三重突变体（4-3Ker-MAV）。相较于野生型酶，4-3Ker-MAV对角蛋白底物的催化活性提高了1.21倍，对催化底物角蛋白与酪蛋白的比值由0.48上升至1.01，且半失活温度提高了3.13℃至69.08℃。为角蛋白酶的性能改进提供了新的思路和方法。</p>	B(良好)
创新点3	<p>通过底物结合域改造策略，构建了具有靶向性吸附、特异性降解羽毛的新型角蛋白酶（4-3Ker-MAV-PPC）。筛选到可靶向吸附羽毛角蛋白的E423-PPC1底物结合域，以氢键和疏水作用为主要驱动力，实现特异性吸附。其与4-3Ker-MAV融合表达，制备出催化效率提高0.97倍的新型角蛋白酶。为角蛋白酶底物特异性的精准调控提供新的技术路线。</p>	B(良好)

创新点4	无	
创新点5	无	

10593 | 广西大学
博士学术学位论文评阅书

学号: 2016401010

论文名称: 铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究

作者姓名: 裴晓东

作者学科专业: 轻工技术与工程

作者研究方向: 蛋白酶工程改造

论文题目	铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究	
学科(专业)	轻工技术与工程	
评议项目	评价要素	分档
选题	选题的前沿性和开放性 研究的理论意义、现实意义 对国内外该选题以及相关领域发展现状的归纳、总结情况。	优秀
创新性及论文价值	对有价值现象的探索、新规律的发现、新命题新方法的提出等新的科学发现 对解决自然科学或工程技术中重要作用的作用 论文级成果对科技发展和社会进步的影响和贡献	优秀
基础知识和科研能力	论文体现的科学理论基础坚实宽广程度和专门知识系统深入程度 论文研究方法的科学性，引进资料的翔实性 论文所体现的作业独立从事科学研究的能力。	优秀
论文规范性	引文的规范性，学风的严谨性，论文结构的逻辑性 文字表述的准确性和流畅性	良好
总分	90	
总体评价	优秀 总分 ≥ 90	
是否同意答辩	达到博士学位授予要求，同意答辩（总分 ≥ 90 ）	
您是否推荐该篇论文参加全国或省级优秀博士学位论文评选	推荐省级优秀	

学位中心
论文编号:500272854

论文题目:铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究

简述推荐理由	
1	论文选题具有较好的应用价值, 思路清晰, 取得了较好的成果
对论文熟悉程度	熟悉

对学位论文的学术评语

该论文通过筛选获得了新型高活性的角蛋白酶资源，建立异源表达和发酵优化体系实现了角蛋白酶的高效制备；运用蛋白质工程技术改造获得了催化效率、底物特异性和热稳定性均显著增强的突变体；并结合底物结合域筛选和改造方法，获得了靶向吸附、特异性降解羽毛的角蛋白酶。论文选题具有较好的应用价值，思路清晰，取得了较好的成果，表明作者掌握了相关的基础知识及实践技能，达到了博士学位论文的水平。

论文的不足之处和建议

但还存在以下问题:

1、表述与格式规范问题, 如

“*P. aeruginosa.* 、 *Ectobacillus sp.*、 *Thermophilus sp.*” 第一个多了点, 后面两个少点;

2、图2-6a, 纵坐标轴“keratinase production”根据单位应该是“keratinase activity”; 图2-6b, 纵坐标轴采用浓度单位更合适, 比如g/L; 或者用羽毛降解率; 其他图中也有上述类似情况;

3、摘要和结论中基因工程菌重组酶的羽毛降解率数据仅写了提高量, 应该也写一下降解率的绝对值。

4、“在摇瓶发酵条件下, 重组 4-3Ker 产量达到 1.36 g/L。”该产量是胞外上清中的总蛋白浓度还是根据胶图软件计算获得的浓度? 从胶图上看可能是总蛋白浓度, 应该仅计算重组酶的蛋白浓度。

创新点	内容	分档
创新点1	<p>筛选鉴定了一株高效降解羽毛的产角蛋白酶菌株，铜绿假单胞菌4-3，挖掘到具有降解天然羽毛角蛋白能力的新型金属角蛋白酶（4-3Ker）。通过异源表达和产酶优化，实现了4-3Ker在摇瓶发酵下1.36 g/L的高效制备。相较于现有角蛋白酶，4-3Ker兼具热稳定性、有机溶剂耐受性，且对胶原蛋白无水解活性，极具商业化应用潜力。</p>	A(优秀)
创新点2	<p>基于活性中心改造策略，成功获得了热稳定性、催化活性和底物特异性改善的三重突变体（4-3Ker-MAV）。相较于野生型酶，4-3Ker-MAV对角蛋白底物的催化活性提高了1.21倍，对催化底物角蛋白与酪蛋白的比值由0.48上升至1.01，且半失活温度提高了3.13℃至69.08℃。为角蛋白酶的性能改进提供了新的思路和方法。</p>	B(良好)
创新点3	<p>通过底物结合域改造策略，构建了具有靶向性吸附、特异性降解羽毛的新型角蛋白酶（4-3Ker-MAV-PPC）。筛选到可靶向吸附羽毛角蛋白的E423-PPC1底物结合域，以氢键和疏水作用为主要驱动力，实现特异性吸附。其与4-3Ker-MAV融合表达，制备出催化效率提高0.97倍的新型角蛋白酶。为角蛋白酶底物特异性的精准调控提供新的技术路线。</p>	B(良好)

创新点4	无	
创新点5	无	

10593 | 广西大学
博士学术学位论文评阅书

学号: 2016401010

论文名称: 铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究

作者姓名: 裴晓东

作者学科专业: 轻工技术与工程

作者研究方向: 蛋白酶工程改造

论文题目	铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究	
学科(专业)	轻工技术与工程	
评议项目	评价要素	分档
选题	选题的前沿性和开放性 研究的理论意义、现实意义 对国内外该选题以及相关领域发展现状的归纳、总结情况。	良好
创新性及论文价值	对有价值现象的探索、新规律的发现、新命题新方法的提出等新的科学发现 对解决自然科学或工程技术中重要作用的作用 论文级成果对科技发展和社会进步的影响和贡献	良好
基础知识和科研能力	论文体现的科学理论基础坚实宽广程度和专门知识系统深入程度 论文研究方法的科学性, 引进资料的翔实性 论文所体现的作业独立从事科学研究的能力。	良好
论文规范性	引文的规范性, 学风的严谨性, 论文结构的逻辑性 文字表述的准确性和流畅性	中等
总分	84	
总体评价	良好 90 > 总分 ≥ 80	
是否同意答辩	达到博士学位授予要求, 适当修改后答辩 (90 > 总分 ≥ 80)	
您是否推荐该篇论文参加全国或省级优秀博士学位论文评选	不推荐	

学位中心
论文编号:500272854

论文题目:铜绿假单胞菌4-3角蛋白酶的高效制备及底物特异性改造研究

简述推荐理由	
1	水平良好, 但与优秀有一定距离。
对论文熟悉程度	熟悉

对学位论文的学术评语

降解角蛋白获得高值产品,对环境、生物和食品都十分重要。论文选题角蛋白酶的铜绿假单胞菌 4-3 (*Pseudomonas aeruginosa* 4-3) 的筛选、异源表达和底物改造,具有良好的创新性和较大的应用潜力。

整篇论文思路清晰,实验设计合理,层次感和逻辑性较强,语言表达流畅,格式较规范,工作量饱满。主要创新体现在:(1)筛选鉴定了一株高效降解羽毛的产角蛋白酶菌株;(2)获得了热稳定性、催化活性和底物特异性改善的三重突变体(4-3Ker-MAV)。这一切表明,该生通过博士论文课题实践,具备了综合运用专业所学独立开展科研和科技写作的能力。

同意修改后,申请博士学位论文答辩。

论文的不足之处和建议

1. 摘要中的最后一段，因没有获得实证（包括中试），所以，“能够满足工业化大规模应用的苛刻要求”这样的表述，显然不够科学、严谨。
2. 没看到专利申请，是成果一栏的缺憾。
3. 格式有待进一步规范，图注不能脱离图跨页，应该调整在同一页（如：图2-2，图2-16等）；图2-4的图注应修改为“羽毛发酵液中的可溶性蛋白含量（a）和羽毛降解前后的干重（b）”，其他依此修改，包括图2-5等。
4. 绪论中照搬他人的原图，是否获得版权许可？
5. 成果清单中，应标注对应本博士学位论文第几章。

创新点	内容	分档
创新点1	<p>筛选鉴定了一株高效降解羽毛的产角蛋白酶菌株，铜绿假单胞菌4-3，挖掘到具有降解天然羽毛角蛋白能力的新型金属角蛋白酶（4-3Ker）。通过异源表达和产酶优化，实现了4-3Ker在摇瓶发酵下1.36 g/L的高效制备。相较于现有角蛋白酶，4-3Ker兼具热稳定性、有机溶剂耐受性，且对胶原蛋白无水解活性，极具商业化应用潜力。</p>	B(良好)
创新点2	<p>基于活性中心改造策略，成功获得了热稳定性、催化活性和底物特异性改善的三重突变体（4-3Ker-MAV）。相较于野生型酶，4-3Ker-MAV对角蛋白底物的催化活性提高了1.21倍，对催化底物角蛋白与酪蛋白的比值由0.48上升至1.01，且半失活温度提高了3.13℃至69.08℃。为角蛋白酶的性能改进提供了新的思路和方法。</p>	B(良好)
创新点3	<p>通过底物结合域改造策略，构建了具有靶向性吸附、特异性降解羽毛的新型角蛋白酶（4-3Ker-MAV-PPC）。筛选到可靶向吸附羽毛角蛋白的E423-PPC1底物结合域，以氢键和疏水作用为主要驱动力，实现特异性吸附。其与4-3Ker-MAV融合表达，制备出催化效率提高0.97倍的新型角蛋白酶。为角蛋白酶底物特异性的精准调控提供新的技术路线。</p>	C(一般)

创新点4	无	
创新点5	无	