

# 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(方向)  |             | 工学、轻工技术与工程(发酵工程)                                   |              |
| 研究生姓名  |        | 彭静静            |      | 入学日期   |             | 2019年9月  |              |
|  |        |                |      | 指导教师   |             | 王成华副教授、刘小玲教授                                       |              |
| 论文质量审核   |        |                |      |  |             |  |              |
| 学位论文<br>评阅书<br>回收情况  | 论文送审情况 |                |      | 论文评审结果   |             |  |              |
|  | 聘请     | 教授(研究员)、博<br>导 | 其中院士 | 专家1  | 专家2         | 专家3  |              |
|  |        | 3人             | 0人   |  |             |  |              |
| 回收   | 3份     | 0份             | 85分  | 78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)  |        |                |      |  |             |  |              |
| <p>答辩资格审核通过!</p> <p style="text-align: right;">李村波 林蕊</p> <p>是否同意答辩: 同意答辩(✓) / 不同意答辩( )</p> <p>审核专家(签名):</p> <p>2023年7月24日</p> |        |                |      |  |             |  |              |
| 答辩专家组成审核   |        |                |      |  |             |  |              |
| 答辩<br>委员<br>会  | 姓名     | 邢新会            | 教授   | 是否博导   | 是           | 工作单位   | 清华大学深圳国际研究生院 |
|  | 委员     | 蒋承建            | 教授   | 是  | 广西科学院       |  |              |
|  |        | 高程海            | 教授   | 是  | 广西中医药大学     |  |              |
|  |        | 李全阳            | 教授   | 是  | 广西大学        |  |              |
|  |        | 曾林涛            | 教授   | 是  | 广西大学        |  |              |
| 答辩秘书<br>(姓名、<br>职称)  | 成细瑶    | 联系电话           |      | 13476219102  | 答辩<br>时间、地点 | 2023年7月31日,<br>上午10:00-11:00<br>广西大学研究生<br>院309会议室 |              |
| 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(✓); 不同意( )  |        |                |      | <div style="border: 2px solid red; padding: 10px; display: inline-block;"> <p style="margin: 0;">广西大学研究生院<br/>备案专用章</p> </div> |             |  |              |
| 学位评定分委员会主席(签名)<br>(单位公章)<br>2023年7月24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<br>(研究方向) | 工学、轻工技术与工程<br>(发酵工程) |                  |
| 研究生姓名   | 彭静静                    | 入学日期 | 2019年9月         | 指导教师                 | 王成华副教授、<br>刘小玲教授 |
| 论文题目  | 乳酸菌定点插入 Sec 的途径构建及机制解析 |      |                 |                      |                  |
| 论文主要研究内容及重要结论（≤300字）：<br><br>本文开展了乳酸菌定点插入 Sec 的途径（SBIP）构建及机制解析研究，主要内容包括：<br>（1）天然乳酸乳球菌合成硒蛋白性能的特征；（2）乳酸菌硒蛋白中硒氨基酸的 HPLC-ICP-MS 测定方法的建立；（3）SBIP 代谢途径乳酸菌的构建及启动子优化工程；（4）SBIP 重组菌合成硒蛋白的条件优化及 Sec 插入机制的解析。<br>论文的重要结论如下：<br>（1）天然乳酸乳球菌 NZ9000 通过非特异性随机掺入方式合成硒蛋白，缺乏 SBIP 途径；（2）建立了一种特异性水解硒蛋白、10min 内快速分离检测 Se-AAs 组分的 HPLC-ICP-MS 法；（3）成功构建了定点插入 Sec 的 SBIP 基因重组乳酸菌；（4）优化获取了 SBIP 重组乳酸菌表达硒蛋白的培养条件，初步确认通过 SBIP 定向合成硒蛋白的机制。 |                        |      |                 |                      |                  |
| 论文的创新点内容：<br><br>（1）建立了一种快速分离检测 Sec、SeCys2、SeMeCys 和 SeMet 等 Se-AAs 的 HPLC-ICP-MS 法。<br>（2）首次在乳酸菌内成功构建了 SBIP 途径，实现了 Sec 定向插入合成硒蛋白。<br>（3）首次解析了乳酸菌硒蛋白的合成机制，发现天然乳酸乳球菌以随机非特异性方式掺入合成硒蛋白，而 SBIP 基因重组乳酸菌将硒流和代谢流特异性引入硒蛋白。  |                        |      |                 |                      |                  |

10593 | 广西大学  
博士学术学位论文评阅书

学号: 1916401004

论文名称: 乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析

作者姓名: 彭静静

作者学科专业: 轻工技术与工程

作者研究方向: 合成生物学

|                            |  |    |
|----------------------------|--|----|
| 论文题目                       | 乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析   |    |
| 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 | 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                         | 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:341349573

论文题目:乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析

| 简述推荐理由  |                          |
|---------|--------------------------|
| 1       | 该论文研究有一定的创新性，但论文规范性尚需加强。 |
| 对论文熟悉程度 | 熟悉                       |

### 对学位论文的学术评语

以Sec 残基作为活性中心的硒蛋白具有重要的生理活性，，本研究以公认安全（Generally Recognized as Safe, GRAS）的乳酸乳球菌（*Lactococcus lactis*, L. lactis）NZ9000 为模式菌株，从头构建利用亚硒酸钠合成Sec 和定点掺入硒蛋白的SBI P 途径并初步解析硒蛋白的合成机制。论文的研究对于生产具有医药功效的硒蛋白具有重要的应用价值。

论文文献资料收集全面，技术路线合理，数据充分，分析论证较严谨。论文图表较规范，文字表达流畅，显示作者具有相应的专业基础知识和实验技能。论文达到了博士论文水平，同意答辩。

### 论文的不足之处和建议

Fig. 2-6: 图中需要注明DNA marker

Fig. 2-8, Fig. 2-10, 测序图建议移入附录

图2-11: 图中a, b, c和图标中左, 中, 右如何对应?

表2-13和图2-12数据是重叠的, 建议以图的形式即可, 删除表格, 图中字母表示什么? 建议说明, 图注中用几个星号表示, 实际图中未出现星号

图3-1: 能解释lane 4和lane 6相应诱导物诱导后所有蛋白量显著增加? 上样量的问题?

图3-2: 第一列建议上对齐, 建议增加一列评价分离效果;

检测方法的验证: FDA或我国相应机构是否有相应的检测方法, 现有方法与本方法对比如何?

图4-5: lane 1, 2, 3分别是什么? 图注需要有说明; 图4-6: DNA marker需要标明大小, 第四章很多图都有同类问题;

该章的很多酶蛋白表达几乎为痕量, 建议WB进行验证, 否则说服力不强;

第五章: 转录组数据分析前应该选择多个基因进行转录组数据可靠性验证;

图5-8: 两种菌和本地基因组之间的GO分析: 两种菌都和本底基因组比较的话, 应该有四个图? 还是两者之间的GO分析?

| 创新点  | 内容   | 分档    |
|------|--|-------|
| 创新点1 | 首次建立了将Sec、SeCys2、SeMeCys和SeMet等四种Se-AAAs在10min内实现分离检测的HPLC-ICP-MS法。                                    | B(良好) |
| 创新点2 | 通过SBIP途径内特异性硒蛋白的定向合成,显著提高了Sec的掺入率  | C(一般) |
| 创新点3 | 首次解析了乳酸菌硒蛋白的合成机制:调控基因不存在时,天然乳酸乳球菌中的硒是随机替代硫并非特异性掺入到硒蛋白中的;而调控基因存在时,含Sec硒蛋白的合成路径转为定向的,硒流和代谢流被引向了特异性重组硒蛋白。 | B(良好) |
| 创新点4 | 通过SBIP途径内特异性硒蛋白的定向合成,显著提高了Sec的掺入率  | C(一般) |
| 创新点5 | 无  |       |



# 10593 | 广西大学

## 博士学术学位论文评阅书

学号: 1916401004

论文名称: 乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析

作者姓名: 彭静静

作者学科专业: 轻工技术与工程

作者研究方向: 合成生物学

|                            |  |    |
|----------------------------|--|----|
| 论文题目                       | 乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析   |    |
| 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                         | 85   |    |
| 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:341349573

论文题目:乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析

| 简述推荐理由  |                        |
|---------|------------------------|
| 1       | 论文研究成果尚达不到申请省级优秀博士学位论文 |
| 对论文熟悉程度 | 熟悉                     |

### 对学位论文的学术评语

作者以乳酸乳球菌NZ9000为底盘细胞，构建了硒代半胱氨酸合成与和定点插入菌株，并对比探讨了 *Se1* 基因和 *SECIS* 在或不在的情况下，野生型乳酸乳球菌中硒的掺入形式以及含 *Sec* 硒蛋白的合成机制。首先，为便于检测分析，作者建立了一种基于蛋白酶 XIV 水解硒蛋白为 Se-AA 的提取方案，并将四种 Se-AA 在 10min 内完成分离检测的HPLC-ICP-MS方法；结合传统的T4酶连接技术和新型的Infusion 无缝克隆组装技术，通过构建表达框，成功引入SBIP途径各元件并证明了其表达，通过SBIP途径内特异性硒蛋白的定向合成，提高了 *Sec*的掺入率；最后，作者初步分析了解析了乳酸菌硒蛋白的合成机制。整体上论文框架设计合理，研究内容翔实。

### 论文的不足之处和建议

整体上, 论文研究不够深入, 乳酸菌SBIP基因组整合构建应更有助于拓宽相关应用, 硒代半胱氨酸合成途径在论文中需要进一步说明。整体上建议如下:

1. 论文书写口语化, 作者应根据要求规范, 对论文的表述进一步优化;
2. 论文创新点作者需要进一步凝练, 避免宽泛;
3. 摘要中尽量避免缩写字母的使用;
4. 论文展望中作者应对未来硒代半胱氨酸的强化以及重组硒蛋白中硒的掺入率的提高加以分析。

| 创新点  | 内容   | 分档    |
|------|--|-------|
| 创新点1 | 首次建立了将Sec、SeCys2、SeMeCys和SeMet等四种Se-AAAs在10min内实现分离检测的HPLC-ICP-MS法。                                    | B(良好) |
| 创新点2 | 通过SBIP途径内特异性硒蛋白的定向合成,显著提高了Sec的掺入率  | A(优秀) |
| 创新点3 | 首次解析了乳酸菌硒蛋白的合成机制:调控基因不存在时,天然乳酸乳球菌中的硒是随机替代硫并非特异性掺入到硒蛋白中的;而调控基因存在时,含Sec硒蛋白的合成路径转为定向的,硒流和代谢流被引向了特异性重组硒蛋白。 | B(良好) |
| 创新点4 | 通过SBIP途径内特异性硒蛋白的定向合成,显著提高了Sec的掺入率  | C(一般) |
| 创新点5 | 无  |       |

10593 | 广西大学  
博士学术学位论文评阅书

学号: 1916401004

论文名称: 乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析

作者姓名: 彭静静

作者学科专业: 轻工技术与工程

作者研究方向: 合成生物学

|                            |  |    |
|----------------------------|--|----|
| 论文题目                       | 乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析   |    |
| 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                         | 78   |    |
| 总体评价                       | 中等 $80 > \text{总分} \geq 70$  |    |
| 是否同意答辩                     | 基本达到博士学位授予要求, 需修改审核后答辩 ( $70 \leq \text{总分} < 80$ )                          |    |
| 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:341349573

论文题目:乳酸菌定点插入Sec的途径构建及机制解析

| 简述推荐理由  |     |
|---------|-----|
| 1       | 不推荐 |
| 对论文熟悉程度 | 熟悉  |

### 对学位论文的学术评语

本论文通过在不含硒蛋白编码基因的乳酸菌NZ9000中引入以亚硒酸钠为原料合成Sec和定点掺入硒蛋白的SBIP途径，并尝试解析了硒蛋白的合成机制，开展了较为系统的工作，内容构架也较合理，有一定的工作量，有一定深度的结果分析与讨论，对将来生产硒蛋白、改善硒酶活性和提高富硒效率具有重要意义，基本达到博士培养的要求，根据建议仔细修改论文，之后提交博士论文答辩。

### 论文的不足之处和建议

1. 评议书中的四个创新点与论文不一致,显然评阅书中创新点2和5是一样的,说明作者在规范化和高标准的博士论文不相符合;
2. 评审人认为创新点,摘要以及结论部分慎用“首次”字样,从文章的内容来看,很多并不是原创的,如果是原创的,发表的论文应该可以到高水平;
3. 尽管乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*, *L. lactis*) NZ9000是被认为GRAS,异源改造后是否符合食品安全的要求,建议要增加讨论;
4. 论文里很多单位的标记有误,比如10min,中间应该要有空格。论文中有些图的分辨率不高。参考文献格式有大量不统一,而且还有很多格式的错误,比如参考文献11;
5. 论文中很多语句的书写出现很多口语化,而且逻辑性不是特别好,建议认真仔细通篇修改。比如6.1结论中第一句就值得琢磨,认真修改。

| 创新点  | 内容   | 分档    |
|------|--|-------|
| 创新点1 | 首次建立了将Sec、SeCys2、SeMeCys和SeMet等四种Se-AAAs在10min内实现分离检测的HPLC-ICP-MS法。                                    | B(良好) |
| 创新点2 | 通过SBIP途径内特异性硒蛋白的定向合成，显著提高了Sec的掺入率  | B(良好) |
| 创新点3 | 首次解析了乳酸菌硒蛋白的合成机制：调控基因不存在时，天然乳酸乳球菌中的硒是随机替代硫并非特异性掺入到硒蛋白中的；而调控基因存在时，含Sec硒蛋白的合成路径转为定向的，硒流和代谢流被引向了特异性重组硒蛋白。 | B(良好) |
| 创新点4 | 通过SBIP途径内特异性硒蛋白的定向合成，显著提高了Sec的掺入率  | B(良好) |
| 创新点5 | 无  |       |