



中国科学院大学

University of Chinese Academy of Sciences

博士学位论文评阅书

论文题目 甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名 郭潇佳

学位类别 工学博士

学科（专业） 生物化工

研究所（院系） 中国科学院大连化学物理研究所

中国科学院大学制

学术道德评价

(一票否决)

评价要素	评价意见 (请在相应栏内划“√”)
是否存在剽窃他人成果、伪造数据、由他人代写等严重作假行为	<input type="checkbox"/> 是 (具体说明存在的问题)
	<input checked="" type="checkbox"/> 否

评阅意见

评 价 要 素			权重	具体得分 (百分制)
1	论文选题	选题的理论意义、实用价值	10%	90
2	文献综述	反映该学科及相关领域的前人成果和前沿动态	15%	90
3	创新成果	论文成果创新性, 对学科发展、技术进步、经济建设、国家安全等方面产生的影响和贡献	40%	90
4	基础理论和专门知识	基础理论的宽厚度、坚实度, 专门知识的系统性、深入性	10%	90
5	科研能力	论文体现科研潜质与独立科研能力	15%	90
6	论文写作	论文结构、撰写规范性; 文字表达准确、清晰和流畅性; 引文严谨、规范性	10%	90
总体评价			总分	90

注: “分数”栏每项均按百分制整数评分, 各项满分均为 100 分。评分分为四档: 大于等于 90 分为优秀; 大于等于 75 分小于 89 分为良好; 大于等于 60 分小于 74 分为一般; 小于 60 分为差。

对学位论文的学术评语：(请对论文的学术水平、创新性做出简要评述，包括选题意义，文献资料的掌握，论文创新之处，写作规范和逻辑性等。还须明确指出论文中存在的问题和不足之处。可另附页)

论文题目：甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名：郭潇佳

本论文通过构建NAD偏好性的FOH酶，进而构建甲酸驱动的NAD介导代谢体系，初步构建了NAD转运、NAD自给的合成体系构建。具有较高创新性，实验路线合理，技术先进，撰写规范，达到了答辩要求。有以下建议供参考：

1. 虽然两个合成体系已初步构建，但合成效果未达到预期，如NAD的转运效率、NAD/NAD⁺偏好性比例利用率等问题尚有待解决。也许要从理论前提出发，得合成目的产物与体系的筛选。
2. FOH酶改造后热稳定性有无变化可加以介绍。

是否同意组织学位论文答辩

(请在相应栏内划“√”)

同意答辩

修改后答辩

不同意答辩

学术道德评价

(一票否决)

评价要素	评价意见 (请在相应栏内划“√”)
是否存在剽窃他人成果、伪造数据、由他人代写等严重作假行为	<input type="checkbox"/> 是 (具体说明存在的问题)
	<input checked="" type="checkbox"/> 否

评阅意见

评 价 要 素			权重	具体得分 (百分制)
1	论文选题	选题的理论意义、实用价值	10%	10
2	文献综述	反映该学科及相关领域的前人成果和前沿动态	15%	14
3	创新成果	论文成果创新性, 对学科发展、技术进步、经济建设、国家安全等方面产生的影响和贡献	40%	35
4	基础理论和专门知识	基础理论的宽厚度、坚实度, 专门知识的系统性、深入性	10%	9
5	科研能力	论文体现科研潜质与独立科研能力	15%	13
6	论文写作	论文结构、撰写规范性; 文字表达准确、清晰和流畅性; 引文严谨、规范性	10%	9
总体评价			总分	90

注：“分数”栏每项均按百分制整数评分，各项满分均为 100 分。评分分为四档：大于等于 90 分为优秀；大于等于 75 分小于 89 分为良好；大于等于 60 分小于 74 分为一般；小于 60 分为差。

对学位论文的学术评语：（请对论文的学术水平、创新性做出简要评述，包括选题意义，文献资料的掌握，论文创新之处，写作规范和逻辑性等。还须明确指出论文中存在的问题和不足之处。可另附页）

论文题目：甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名：郭潇佳

论文从生物能量调控需求出发，构建非天然辅酶NCD介导的甲酸脱氢酶(FDH*)，通过基于结构的半理性设计和高通量筛选方法，最终获得辅酶偏好性提高了三个数量级的FDH* (突变体)，并进一步用胞外和胞内的代谢调控实验，证明达到预期的效果。

论文撰写十分规范，逻辑非常严谨，体现了较好的科学素养和创新潜能，并取得显著创新性的成果。同意进行论文答辩。建议今后可结合定向改造提高辅酶效率。

是否同意组织学位论文答辩

（请在相应栏内划“√”）

同意答辩

修改后答辩

不同意答辩

学术道德评价

(一票否决)

评价要素	评价意见 (请在相应栏内划“√”)
是否存在剽窃他人成果、伪造数据、由他人代写等严重作假行为	□是 (具体说明存在的问题)
	<input checked="" type="checkbox"/> 否

评阅意见

评 价 要 素			权重	具体得分 (百分制)
1	论文选题	选题的理论意义、实用价值	10%	9
2	文献综述	反映该学科及相关领域的前人成果和前沿动态	15%	13
3	创新成果	论文成果创新性, 对学科发展、技术进步、经济建设、国家安全等方面产生的影响和贡献	40%	35
4	基础理论和专门知识	基础理论的宽厚度、坚实度, 专门知识的系统性、深入性	10%	10
5	科研能力	论文体现科研潜质与独立科研能力	15%	15
6	论文写作	论文结构、撰写规范性; 文字表达准确、清晰和流畅性; 引文严谨、规范性	10%	9
总体评价			总分	91

注：“分数”栏每项均按百分制整数评分，各项满分均为 100 分。评分分为四档：大于等于 90 分为优秀；大于等于 75 分小于 89 分为良好；大于等于 60 分小于 74 分为一般；小于 60 分为差。

对学位论文的学术评语：（请对论文的学术水平、创新性做出简要评述，包括选题意义，文献资料的掌握，论文创新之处，写作规范和逻辑性等。还须明确指出论文中存在的问题和不足之处。可另附页）

论文题目：甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名：郭潇佳

是否同意组织学位论文答辩 (请在相应栏内划“√”)	<input checked="" type="checkbox"/> 同意答辩	<input type="checkbox"/> 修改后答辩	<input type="checkbox"/> 不同意答辩
------------------------------	--	--------------------------------	--------------------------------

NAD/NADH 是在微生物代谢过程中发挥重要作用的天然辅酶调节系统。构建独立于 NAD/NADH 的非天然辅酶调节系统能够实现对微生物代谢过程的人为调控。本文作者构建了依赖非天然辅酶 NCD 调控大肠杆菌有机酸合成的途径。作为实现这一方案的关键步骤，作者首先依赖基于晶体结构的饱和迭代突变的方法获得了偏好性结合 NCD 的甲酸脱氢酶(FDH) 突变体 FDH*。借助 FDH*对甲酸的脱氢氧化作用将 NCD 转化为还原型 NCDH，构建出 NCD/NCDH 非天然辅酶调节系统，为下游代谢提供还原力。以此为开端，作者在加速 NCD 由胞外向胞内转运或增强 NCD 胞内合成代谢的同时，通过提高下游合成酶苹果酸酶和乳酸脱氢酶的表达量分别进一步增加苹果酸和乳酸的积累。本文工作选题前沿，立意合理，目标明确，实施方案科学，实验手段全面，数据详实，写作较为规范，展现了较强的科学素养和解决问题的能力。鉴于此，同意组织答辩。

但论文存在一些问题：

- 1, 论文工作构建了可调控的有机酸合成代谢通路，这是通过将携带多个基因的多个质粒转化到宿主菌中实现的。质粒的增多会增加宿主菌额外的生长负担，并且质粒本身存在传代丢失的问题。针对这两个问题，作者未做生长曲线对比及质粒稳定性测试，请增加一些讨论来说明。
- 2, 论文工作是基于小体积生长体系完成的（50 mL），尚未达到中试的标准。现有工程菌距离工业化还需要做些什么改造？请增加一些讨论来说明。
- 3, 关于提高胞内 NCD 的浓度，在构建苹果酸代谢通路时，作者外源表达 NCD 转运蛋白，拟南芥 NDT2，借以促进 NCD 有效转入细胞。但在构建乳酸代谢途径时，却采用胞内表达 NCD 合成模块的方法，用以增加 NCD 的胞内合成。同样为增加胞内 NCD 的浓度，作者为什么使用两种不同的策略？建议作者对此做出说明，使论文设计更加合理和统一。
- 4, 许多实验在描述时缺少目的说明，如 2.3.8 FDH 进化树的构建及序列分析的目的是什么？
- 5, 符号标识不完全统一，如 FHD*等表示特定突变体的符号应当始终保持统一。
- 6, 中文摘要与英文摘要存在不符的情况。
- 7, 论文空白部分较多，建议调整图片大小及位置以减少空白。

学术道德评价

(一票否决)

评价要素	评价意见 (请在相应栏内划“√”)
是否存在剽窃他人成果、伪造数据、由他人代写等严重作假行为	<input type="checkbox"/> 是 (具体说明存在的问题)
	<input checked="" type="checkbox"/> 否

评阅意见

评 价 要 素			权重	具体得分 (百分制)
1	论文选题	选题的理论意义、实用价值	10%	9
2	文献综述	反映该学科及相关领域的前人成果和前沿动态	15%	13
3	创新成果	论文成果创新性, 对学科发展、技术进步、经济建设、国家安全等方面产生的影响和贡献	40%	35
4	基础理论和专门知识	基础理论的宽厚度、坚实度, 专门知识的系统性、深入性	10%	7
5	科研能力	论文体现科研潜质与独立科研能力	15%	12
6	论文写作	论文结构、撰写规范性; 文字表达准确、清晰和流畅性; 引文严谨、规范性	10%	8
总体评价			总分	84

注：“分数”栏每项均按百分制整数评分，各项满分均为 100 分。评分分为四档：大于等于 90 分为优秀；大于等于 75 分小于 89 分为良好；大于等于 60 分小于 74 分为一般；小于 60 分为差。

对学位论文的学术评语：(请对论文的学术水平、创新性做出简要评述，包括选题意义，文献资料的掌握，论文创新之处，写作规范和逻辑性等。还须明确指出论文中存在的问题和不足之处。可另附页)

论文题目：甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名：郭潇佳

作者为了实现对胞内~~乙~~交辅酶调控，以甲酸为^{辅酶}还原力驱动~~还原~~反应，构建了更偏向于天然辅酶NAD的甲酸驱动~~还原~~体系，实现了体外NAD介导的甲酸驱动生物合成。甲酸同时调控了NAD和还原力，最终可实现甲酸驱动生物合成。

选题新颖，将体外可实现的还原力新途径，文献综述全面，写作规范，逻辑性较强。从天然辅酶到体外人工介导的~~生物~~甲酸体系，实现了NAD介导的甲酸驱动体系。

不足之处

1. 在把甲酸还原时，利用了体内NAD生物合成途径，但是体内NAD生物合成效率较低，如何不用NAD驱动体系，证明NAD驱动体系的可行性。
2. 可以探究NAD/NAD⁺比例不同速率控制体系的潜力

是否同意组织学位论文答辩

(请在相应栏内划“√”)

同意答辩

修改后答辩

不同意答辩

学术道德评价

(一票否决)

评价要素	评价意见 (请在相应栏内划“√”)
是否存在剽窃他人成果、伪造数据、由他人代写等严重作假行为	<input type="checkbox"/> 是 (具体说明存在的问题)
	<input checked="" type="checkbox"/> 否

评阅意见

评 价 要 素			权重	具体得分 (百分制)
1	论文选题	选题的理论意义、实用价值	10%	9
2	文献综述	反映该学科及相关领域的前人成果和前沿动态	15%	14
3	创新成果	论文成果创新性, 对学科发展、技术进步、经济建设、国家安全等方面产生的影响和贡献	40%	35
4	基础理论和专门知识	基础理论的宽厚度、坚实度, 专门知识的系统性、深入性	10%	9
5	科研能力	论文体现科研潜质与独立科研能力	15%	14
6	论文写作	论文结构、撰写规范性; 文字表达准确、清晰和流畅性; 引文严谨、规范性	10%	9
总体评价			总分	90

注：“分数”栏每项均按百分制整数评分，各项满分均为 100 分。评分分为四档：大于等于 90 分为优秀；大于等于 75 分小于 89 分为良好；大于等于 60 分小于 74 分为一般；小于 60 分为差。

对学位论文的学术评语：（请对论文的学术水平、创新性做出简要评述，包括选题意义，文献资料的掌握，论文创新之处，写作规范和逻辑性等。还须明确指出论文中存在的问题和不足之处。可另附页）

论文题目：甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名：郭潇佳

该研究构建了甲酸驱动的非天然辅酶 NCD 介导的代谢体系。设计构建了 NCD 偏好型甲酸脱氢酶，并解析了分子机制；结合 NCD 偏好型苹果酸酶，乳酸脱氢酶和 NCD 合成酶，设计了甲酸和 NCD 介导的非天然物质能量反应体系，用于选择性调控胞内有机酸合成。

论文选题意义重大，文献资料掌握全面，在人工辅酶体系构建方面有很强烈的创新。写作规范，逻辑性强。

问题：

1. 目前 NCD 甲酸驱动苹果酸、乳酸合成产率提升幅度有限，最主要的原因是什么？胞内 NCD 的浓度不够高？酶活性不够强？

是否同意组织学位论文答辩

（请在相应栏内划“√”）

同意答辩

修改后答辩

不同意答辩

NCD胞内浓度最高在50 μM 左右，和NAD相比差距较大。如果这是主要原因，作者在展望时需重点讨论。

2. 摘要：在陈述结果后要提炼，论文的科学意义，价值。

3. P23, 图有错误, LDH酶, $\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}$

4. P52. 下载不同来源的细菌的PDH, "细菌的"删去

5. P74, P90. 不添加NCD, 没有NCD合成模块的菌, 却能检测到NCD, 尤其是GXJ1, NCD有100 μM , 高于B01. 为什么? 检测的原因?

6. 静息细胞, 可能是个厌氧环境。以葡萄糖为底物, 并不能持续生产丙酮酸, 因为还原力NADH不能被有效氧化(在你的体系中) 丙酮酸供给不够, 是否对合成苹果酸, 乳酸有影响? 葡萄糖 + 甲酸 \rightarrow 苹果酸/乳酸, 理论上还原力不平衡

学术道德评价

(一票否决)

评价要素	评价意见 (请在相应栏内划“√”)
是否存在剽窃他人成果、伪造数据、由他人代写等严重作假行为	<input type="checkbox"/> 是 (具体说明存在的问题)
	<input checked="" type="checkbox"/> 否

评阅意见

评价要素			权重	具体得分 (百分制)
1	论文选题	选题的理论意义、实用价值	10%	95
2	文献综述	反映该学科及相关领域的前人成果和前沿动态	15%	90
3	创新成果	论文成果创新性, 对学科发展、技术进步、经济建设、国家安全等方面产生的影响和贡献	40%	90
4	基础理论和专门知识	基础理论的宽厚度、坚实度, 专门知识的系统性、深入性	10%	90
5	科研能力	论文体现科研潜质与独立科研能力	15%	90
6	论文写作	论文结构、撰写规范性; 文字表达准确、清晰和流畅性; 引文严谨、规范性	10%	95
总体评价			总分	91

注:“分数”栏每项均按百分制整数评分,各项满分均为100分。评分分为四档:大于等于90分为优秀;大于等于75分小于89分为良好;大于等于60分小于74分为一般;小于60分为差。

对学位论文的学术评语：（请对论文的学术水平、创新性做出简要评述，包括选题意义，文献资料的掌握，论文创新之处，写作规范和逻辑性等。还须明确指出论文中存在的问题和不足之处。可另附页）

论文题目：甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名：郭潇佳

该论文主要致力于甲酸驱动、非天然辅酶介导的物质能量代谢体系构建，由于甲酸可同时供给还原力与一碳单位，几乎是完美的、可同时驱动物质与能量代谢的物质，而非天然辅酶可实现与天然能量系统的正交，因此可实现对胞内特定代谢步骤的选择性调控。从课题设计来看具有很高的创新性，同时也是兼具挑战性的项目。难能可贵的是，该生很好地完成了各项研究内容，包括构建了 NCD 偏好型的甲酸脱氢酶，利用该酶和前期构建的 NCD 偏好型苹果酸酶构建了甲醇驱动的丙酮酸还原羧化体系及其相应的细胞工厂。

总体而言，该论文具有较高的学术水平、很好的原创性、选题独特新颖、写作规范、逻辑性强，是一篇优秀的博士论文。论文中存在的一些问题和不足之处如下：

- 1、全文的化学结构式的格式应该统一。
- 2、目前的 NCD 偏好型的甲醇脱氢酶尚未实现与野生型系统的完全正交，最终有无可能实现完美正交值得探讨。
- 3、细胞内众多不同酶种均可识别 NAD，暗示 NAD 结合模块具有某种通用原则，目前作者已经使用到两种 NCD 偏好型的酶，即 FDH*和 ME*，是否有可能发现一些 NCD 结合模块的设计规律，从而指导未来其它 NCD 偏好型酶类的设计和筛选。这个重要问题建议进行适当的讨论和展望。

是否同意组织学位论文答辩

（请在相应栏内划“√”）

同意答辩

修改后答辩

不同意答辩

学术道德评价

(一票否决)

评价要素	评价意见 (请在相应栏内划“√”)
是否存在剽窃他人成果、伪造数据、由他人代写等严重作假行为	<input type="checkbox"/> 是 (具体说明存在的问题)
	<input checked="" type="checkbox"/> 否

评阅意见

评 价 要 素			权重	具体得分 (百分制)
1	论文选题	选题的理论意义、实用价值	10%	10.0
2	文献综述	反映该学科及相关领域的前人成果和前沿动态	15%	15.0
3	创新成果	论文成果创新性, 对学科发展、技术进步、经济建设、国家安全等方面产生的影响和贡献	40%	38.0
4	基础理论和专门知识	基础理论的宽厚度、坚实度, 专门知识的系统性、深入性	10%	10.0
5	科研能力	论文体现科研潜质与独立科研能力	15%	14.0
6	论文写作	论文结构、撰写规范性; 文字表达准确、清晰和流畅性; 引文严谨、规范性	10%	10
总体评价			总分	97

注：“分数”栏每项均按百分制整数评分，各项满分均为 100 分。评分分为四档：大于等于 90 分为优秀；大于等于 75 分小于 89 分为良好；大于等于 60 分小于 74 分为一般；小于 60 分为差。

对学位论文的学术评语：（请对论文的学术水平、创新性做出简要评述，包括选题意义，文献资料的掌握，论文创新之处，写作规范和逻辑性等。还须明确指出论文中存在的问题和不足之处。可另附页）

论文题目：甲酸驱动非天然辅酶介导的代谢体系构建

作者姓名：郭潇佳

该论文以实验室积累的材料出发，构建了甲酸驱动、非天然辅酶 NCD 介导的生物催化新体系，用于复杂分子中有机合成的正交合成，为构建正交代谢网络和合成提供了新思路，有较高的学术价值。论文逻辑清晰，有潜在的应用价值。

作者对文献掌握到位，论述全面，实验设计有条理，实验数据翔实，写作规范，有逻辑。唯一不足在于体内合成的 NCD 浓度较低，在讨论中讨论如何去优化增强，以便使这个技术能更应用于其他化合物的合成中。
~~建议~~ 同意修改答辩。

是否同意组织学位论文答辩

（请在相应栏内划“√”）

同意答辩

修改后答辩

不同意答辩