

同行专家业内评价意见书编号: 20250856124

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: 桑熙

学号: 22260503

申报工程师职称专业类别（领域）: 材料与化工

浙江工程师学院（浙江大学工程师学院）制

2025年05月26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)

在生物催化与酶工程领域，我系统掌握了蛋白质工程与酶学的基础理论，包括酶的结构-功能关系、催化机制及动力学调控原理，能够基于基因重组技术（如定点突变和半理性设计）对酶分子进行定向改造。通过分子对接与分子动力学模拟技术，深入理解底物结合口袋的构效关系及关键残基的动态作用，结合QM/MM组合方法解析酶催化过渡态的能量变化与构象演化。同时，我熟悉酶的固定化理论，掌握载体选择、微环境调控及交联工艺优化等核心技术，以提升酶的稳定性与工业适配性。在手性催化领域，我具备立体选择性调控的理论基础，包括活性中心柔性学说与过渡态稳定化机制，能够通过理性设计优化酶的立体识别能力。此外，我深入理解绿色合成工艺的核心原则，如反应条件温和化与催化效率协同提升策略，并将其应用于酶催化工艺的工业化设计。这些理论与技术的综合运用，使我能够从分子设计到工艺开发形成完整的酶工程解决方案。

2. 工程实践的经历(不少于200字)

在酶工程与绿色制药的工程实践中，我主导了针对R-2-苯氧基丙酸甲酯高效生物合成的技术开发项目。基于酶催化机制与蛋白质工程理论，我设计了“脂肪酶筛选—半理性设计改造—固定化工艺优化”的系统化技术路线。在酶分子设计与改造阶段，通过分子对接与分子动力学模拟技术解析底物结合口袋的关键残基，构建饱和突变文库并开发pH指示剂联用HPLC的高通量筛选体系，筛选出催化效率显著提升的突变体；同时结合固定化理论，系统评估吸附、包埋及共价结合法的适配性，提出载体表面性质调控与酶取向优化的复合策略，成功提升固定化酶的稳定性与重复利用性。在催化工艺开发中，我主导构建了基于固定化酶的放大反应体系，通过底物浓度梯度优化与反应条件精准调控，解决了传质效率不足与副产物累积的工程化瓶颈。此外，我整合色谱检测技术建立了转化率与立体选择性的双指标评价体系，并协同生物信息学解析酶构效动态网络。该实践实现了从酶分子改造到扩大化催化工艺的开发，突破传统酶催化活性、选择性及稳定性难以协同优化的难题，为手性药物中间体的绿色合成提供了系统性的酶工程解决方案。

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)

案例：基于酶工程策略的R-2-苯氧基丙酸甲酯绿色催化合成技术开发

一、背景与问题分析

R-2-

苯氧基丙酸甲酯作为芳氧苯氧丙酸类除草剂的关键手性中间体，其高效绿色合成技术是制药工业亟待突破的难题。传统化学合成法依赖金属催化拆分，存在反应条件苛刻（高温高压）、环境污染严重（重金属残留）等问题；而生物催化法虽符合绿色化学理念，但面临脂肪酶活性低、立体选择性差、催化效率难以匹配工业化需求等技术瓶颈。在此背景下，我主导了一项基于酶工程的生物催化技术开发项目，旨在通过“脂肪酶筛选—半理性设计改造—固定化工艺优化”三位一体的技术路线，系统性解决以下工程问题：

1. 脂肪酶筛选难题：天然脂肪酶对目标底物的选择性差异大，需快速筛选出对S-2-苯氧基丙酸甲酯具有高立体水解选择性的脂肪酶。

2. 野生酶的催化活性不足与工业化效率需求不匹配：初筛得到的PAL脂肪酶虽具有高立体选择性（产物ee. p=90%），但其催化活性（如2.18 U/mL）远低于工业级标准（通常需>10

U/mL)，导致反应时间过长、能耗高，难以满足规模化生产需求；

3. 固定化工艺适配性不足：突变体酶稳定性缺陷需通过固定化技术弥补，但传统固定化方法存在酶活回收率低、工艺重现性差等问题。

二、解决方案与技术路线设计

针对上述问题，我综合运用酶学、蛋白质工程、计算生物学及化学工程等多学科知识，设计了一套系统性解决方案：

1. 多源脂肪酶筛选与功能验证：整合文献挖掘、同源比对及实验室菌种资源，建立“虚拟预测-实验验证”筛选体系，结合手性色谱分析精准评估酶的立体选择性；

2. 酶催化机制解析与改造：基于酶的结构-

功能关系理论，通过分子对接技术定位底物结合口袋的关键残基，为半理性设计提供靶点，并结合分子动力学模拟（MD）分析催化微环境的动态变化；

3. 固定化工艺优化与放大工艺验证：基于酶-

载体相互作用机制，筛选适配性固定化基质，优化参数，建立兼顾酶活保留与稳定性的固定化工艺，并通过放大实验改变底物浓度验证工业化可行性。

三、实施过程与关键技术突破

（一）脂肪酶筛选

1. 多源筛选与功能表征：

理论依据：基于酶底物特异性与立体选择性的构效关系，采用文献挖掘、同源比对及菌种保藏多源策略，筛选出14种潜在脂肪酶；

评价体系构建：建立双色谱检测系统（C-18柱测转化率、手性柱测e. e. 值），结合酶活测定与热稳定性分析（残余活性法），量化酶的工业化潜力；

关键发现：PAL脂肪酶因宽pH适应性（5.0-9.0活性保留>80%）与高立体选择性（e. e. p=90.8%）脱颖而出，但其催化活性（2.18 U/mL）显著低于工业级酶标准。

（二）半理性设计驱动酶分子定向进化

1. 靶点设计与突变文库构建：

迭代饱和突变：首轮构建单点突变库（L146S、L226I等），筛选获得活性提升9.18倍的L146S突变体；第二轮针对底物通道和活性中心重叠位点进行优化，引入双点突变L146S/G230N（2M），催化效率（ k_{cat}/K_m ）提升至13倍。

2. 活性-稳定性权衡机制解析：

分子动力学模拟：发现2M突变体通过重构底物通道疏水网络与增强氢键作用，缩短底物进入活性中心的路径；

热稳定性缺陷溯源：突变导致 α -螺旋结构域柔性增加，半衰期从4.04 h降至0.81 h，揭示活性提升伴随构象稳定性的削弱。

（三）固定化工艺与放大体系优化

1. 载体筛选与工艺开发：

理论指导：基于酶固定化的吸附效应（载体表面性质调控）与空间限域效应，对比海藻酸钠包埋法、介孔二氧化硅吸附法及环氧树脂共价结合法等一系列方法的适配性；

工艺创新：提出“海藻酸钠浓度梯度优化”（3%载体浓度）与 Ca^{2+} 交联时间调控（2

h) 的复合策略, 酶活回收率提升至48.6%, 操作稳定性(重复使用10次后活性保留>70%)显著优于游离酶。

2. 放大反应体系设计:

工程化挑战应对: 针对底物浓度(50 mM)导致的传质阻力与副产物抑制, 设计浓度梯度, 将反应时间缩短至60 min(较传统批次反应快20倍); 并结合反应条件优化, 产物e. e. s值从57%提升至90.1%, 达到工业级手性纯度标准。

四、创新性与应用价值

1. 技术创新点:

多源筛选-

双指标评价”协同策略的创新: 建立基于催化活性与立体选择性的双重筛选指标, 通过多源脂肪酶资源整合与功能表征, 实现高活性、高选择性脂肪酶的高效筛选, 为手性化合物合成提供精准酶源。

“半理性设计-

迭代突变”组合改造技术的突破: 提出分子对接指导的靶向残基筛选与迭代饱和突变联用策略, 开发“动态检测-

精准复筛”双模态高通量筛选平台, 显著提升突变体催化效率(如双点突变体催化效率提升超10倍), 同时解析活性-稳定性的动态平衡机制, 为工业级酶分子设计提供新范式。

“微环境调控-构象稳定化”固定化工艺的创新: 基于载体-

酶动态相互作用机制, 使用海藻酸钠包埋法的微环境协同优化工艺, 突破酶活回收率与操作稳定性的协同提升瓶颈, 推动固定化酶从实验室向工业化场景的跨越式应用。

2. 工业应用价值:

-目标产物R-2-

苯氧基丙酸甲酯的合成效率(转化率>50%, e. e. s>90%)与工艺经济性达到领先水平, 应用潜力大。

五、总结与反思

本案例通过深度融合酶学理论、计算生物学工具与化学工程方法, 系统攻克了手性药物中间体绿色合成的复杂工程难题。实践中, 我深刻体会到多学科交叉的重要性: 例如, 分子动力学模拟为酶改造提供机理解释, 而固定化工艺优化则依赖于对载体-酶相互作用的介观尺度理解。未来, 我将进一步探索人工智能辅助的酶设计算法与连续流工艺的深度融合, 推动生物催化技术向更高智能化与绿色化方向发展。

(二) 取得的业绩(代表作)【限填3项, 须提交证明原件(包括发表的论文、出版的著作、专利证书、获奖证书、科技项目立项文件或合同、企业证明等)供核实, 并提供复印件一份】

1. 公开成果代表作【论文发表、专利成果、软件著作权、标准规范与行业工法制定、著作编写、科技成果获奖、学位论文等】

成果名称	成果类别 [含论文、授权专利(含发明专利申请)、软件著作权、标准、工法、著作、获奖、学位论文等]	发表时间/ 授权或申 请时间等	刊物名称 /专利授权 或申请号等	本人 排名/ 总人 数	备注
一种脂肪酶PAL突变体及其应用	发明专利申请	2025年05 月24日	申请号: 20 2510676024 7	1/2	

2. 其他代表作【主持或参与的课题研究项目、科技成果应用转化推广、企业技术难题解决方案、自主研发设计的产品或样机、技术报告、设计图纸、软课题研究报告、可行性研究报告、规划设计方案、施工或调试报告、工程实验、技术培训教材、推动行业发展中发挥的作用及取得的经济社会效益等】

(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： 81 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： 桑熙	

作单位考核评价：
各
章)： 2025年5月27

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）： 2025年5月27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：22260503		姓名：桑熙		性别：女		学院：工程师学院				专业：材料与化工				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		工程技术创新前沿			1.5	88	专业学位课	2022-2023学年秋冬学期		研究生英语			2.0	74	公共学位课
2022-2023学年秋季学期		数值计算方法			2.0	87	专业选修课	2022-2023学年春季学期		催化与催化剂			2.0	89	跨专业课
2022-2023学年秋季学期		生物催化与转化			2.0	75	跨专业课	2022-2023学年春季学期		自然辩证法概论			1.0	73	公共学位课
2022-2023学年秋冬学期		研究生论文写作指导			1.0	69	专业学位课	2022-2023学年春季学期		研究生英语基础技能			1.0	73	公共学位课
2022-2023学年秋冬学期		科技创新案例探讨与实战			2.0	82	专业选修课	2022-2023学年春夏学期		工程伦理			2.0	85	公共学位课
2022-2023学年秋冬学期		高阶工程认知实践			3.0	88	专业学位课	2022-2023学年夏季学期		药品创制工程实例			2.0	83	专业学位课
2022-2023学年冬季学期		新时代中国特色社会主义思想理论与实践			2.0	90	公共学位课			硕士生读书报告			2.0	通过	
2022-2023学年冬季学期		产业技术发展前沿			1.5	80	专业学位课								

说明：1. 研究生课程按三种方法计分：五分制、两分制、通过制。五分制：85分及以上为A，75-84分为B，65-74分为C，60-64分为D，59分及以下为E。两分制：70分及以上为A，60-69分为B，50-59分为C，40-49分为D，39分及以下为E。通过制：60分及以上为通过，59分及以下为不通过。

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

（60）
成绩校核章



国家知识产权局

310000

浙江省杭州市上城区九堡九环路9号4号楼618室 杭州初尘专利代
理事务所(特殊普通合伙)
万静(0571-87708728)

发文日:

2025年05月24日



申请号: 202510676024.7

发文序号: 2025052400080060

专利申请受理通知书

根据专利法第28条及其实施细则第43条、第44条的规定,申请人提出的专利申请已由国家知识产权局受理。现将确定的申请号、申请日等信息通知如下:

申请号: 2025106760247

申请日: 2025年05月24日

申请人: 浙江大学

发明人: 桑熙,徐刚

发明创造名称: 一种脂肪酶 PAL 突变体及其应用

经核实,国家知识产权局确认收到文件如下:

权利要求书 1份1页,权利要求项数: 10项

说明书 1份10页

说明书附图 1份2页

说明书摘要 1份1页

专利代理委托书 1份2页

S26 标准序核苷酸或氨基酸序列表 1份18页

发明专利请求书 1份4页

实质审查请求书 文件份数: 1份

申请方案卷号: 251CN0164

提示:

1.申请人收到专利申请受理通知书之后,认为其记载的内容与申请人所提交的相应内容不一致时,可以向国家知识产权局请求更正。

2.申请人收到专利申请受理通知书之后,再向国家知识产权局办理各种手续时,均应准确地、清晰地写明申请号。

审查员: 自动受理

联系电话: 010-62356655

审查部门: 初审及流程管理部



200101
2023.03

纸件申请,回函请寄: 100088 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 国家知识产权局专利局受理处收
电子申请,应当通过专利业务办理系统以电子文件形式提交相关文件。除另有规定外,以纸件等其他形式提交的文件视为未提交。