**2023年度广东省重点领域研发计划“绿色生物制造”重点专项申报指南（征求意见稿）**

为贯彻落实党的二十大关于高质量发展相关要求以及我省“制造业当家”的有关精神，根据国家《“十四五”生物经济发展规划》《“十四五”生物技术科技创新专项规划》和《广东省发展生物医药与健康战略性支柱产业集群行动计划（2021—2025年）》，我省持续实施广东省重点领域研发计划“绿色生物制造”重点专项。通过专项，突破制约我省绿色制造产业发展的关键技术瓶颈，解决一批关键短板产品绿色制造，实现关键医药原料、大宗精细化学品、功能高分子材料等生物制造生产，抢占工业生物技术与生物制造的制高点，建立现代生物制造产业的支撑技术体系，大幅提升绿色生物制造创新能力和发展水平，为我省制造业高质量发展提供强有力的技术支撑。

2023年度广东省重点领域研发计划“绿色生物制造”重点专项申报指南围绕“绿色生物制造底层技术和工具的研发”“绿色生物制造产品的研发”两个专题设置9个方向，立项项目实施周期3年，其中，方向3和方向4采用“定向委托”方式，其他方向采用“竞争择优”方式。申报单位需根据指南要求，完成全部研究内容和考核指标。已获得国家科技重大专项和重点研发计划资助的研究内容不得重复申报。

**专题一：绿色生物制造底层技术和工具的研发**

**方向1：工程菌种高通量筛选过程工艺共性技术和装备的研发**

**研究内容：**

1、设计和开发高性能工程菌种高通量筛选通用模型，研究可快速从单克隆到可放大应用的成熟稳定高性能菌种筛选评价方法，建立生产工艺成熟的高通量工程菌种选育技术。

2、研究普适性好的工程菌种高通量筛选方法、诱变育种和通用装备技术，搭建生物传感器平台、高通量筛选平台、诱变育种平台等，组成高性能菌株自动化筛选网络，能够从海量候选菌株库中高通量、快速筛选出适合产业化的工程菌种。

3、研究工程菌种的高质量驯化、培育工艺技术，加速工程菌种迭代升级速度，形成成熟、稳定、高性能工程菌种。

**考核指标：**

1、针对细菌、酵母菌、丝状真菌、放线菌等典型工程微生物，建立8～10个基于生物传感器的高通量精准筛选模型，实现胞内外小分子代谢物、胞内外蛋白合成等工业表型的高通量定量检测。

2、研制基于液滴微流控技术的皮纳升和微升级单细胞微液滴分选系统各1套，皮纳升级液滴生成速度达到1-10万个/秒，荧光激活分选速度达到1000-2000个/秒，微升级液滴生成速度达到100-1000个/秒，基于紫外可见、生物发光和荧光的分选速度达到10-50个/秒；研制基于单相微流控的小型阵列式微型平行反应器系统，培养体积为毫升级，实现对溶氧、pH、细胞生长密度等5个以上的过程检测参数监测。

3、实现上述微生物菌种高通量筛选技术的系统集成与装备化，建立装备生产线。将微生物菌种高通量筛选模型和装备平台应用于3～6种高附加值产品的工业级高产菌种筛选和过程工艺开发，建立数据驱动的生物制造过程设计和精准控制策略，实现工业化推广示范。

4、项目实施期间成套设备销售不少于3台套。

**申报要求：**

省内企事业单位均可牵头申报，鼓励联合省内外优势研发实体产学研合作；产业化落地需在广东企业或广东产业化基地。

**拟支持项目数：**1项。

**支持金额：**1000万元/项。

**方向2：新型基因编辑技术与产品的研发**

**研究内容：**

1、通过智能算法及机器学习，整合海量微生物大数据发现新型细菌防御系统，挖掘可高效靶向切割基因组序列的新型基因编辑系统。融合不同物种来源的胞苷或者腺苷脱氨酶，获得新型碱基编辑工具。深度挖掘新型DNA转座子元件，获得大片段外源基因导入基因组的转座子新工具。

2、研发具有自主产权的精准高效基因编辑器，如碱基编辑器、RNA编辑器、DNA转座子系统等工具，形成体内高效递送编辑新技术。

3、利用上述的新工具，在具有高商业价值的底盘细胞，包括非典型酵母（克鲁维酵母和毕赤酵母等），及优越的生物制药用哺乳动物细胞（CHO和Vero细胞等）或植物细胞，实现高效的基因敲除、单碱基编辑和大片段DNA导入等基因操作，并获得优良性状的新细胞株，为我国绿色制造的长远发展和商业化应用提供核心原创的技术支撑。

**考核指标：**

1、获得具有自主知识产权的基因编辑工具及其方法，包括基因敲除、激活与抑制、碱基编辑器、转座子元件；新型基因编辑系统获得软件著作权2件以上。

2、构建至少4种精准碱基编辑器、RNA敲低工具和甲基化编辑工具，可大片段DNA插入或替换；若针对植物细胞基因编辑技术，还需通过研发的编辑技术开发一套适合植物的双生病毒高效异源表达系统。

3、创建的基因编辑新方法，针对细胞的单基因位点、多基因位点编辑，脱靶效应少，达行业先进水平。

4、建立产业技术服务平台。至少创建2株具有自主知识产权、表达水平提高10%以上或生长增加10%以上的底盘细胞（动植物或微生物）；获得重要代谢酶缺陷等性能优秀细胞株1株，支持高密度生长，细胞密度提高10%或表达水平提高5%~10%；推广基因编辑新技术，为生物制造基因编辑服务10个以上案例。

5、核心技术形成知识产权，申请发明专利的数量不少于4件。

**申报要求：**

省内企事业单位均可牵头申报，鼓励联合省内外优势研发实体产学研合作。

**拟支持项目数：**1～2项。

**支持金额：**800万元/项。

**方向3：合成生物基因数据查询工具的研发**

**研究内容：**

1、汇总现有实验测量数据库、文献及专利等，整合动物、植物及微生物的基因组学、代谢组学、酶序列及反应数据，按天然产物类别配对形成物种-基因簇-酶-天然产物相关联的合成生物学数据库和知识图谱，形成标准数据集。

2、基于人工智能方法和深度学习框架，开展重要天然产物的生物合成基因簇挖掘，发展基因-酶功能预测模型或新算法；基于酶序列、结构、催化中心相似性挖掘或设计对应的催化元件；开展酶功能和参数高效预测与评价，形成酶功能和酶参数数据库；基于分子结构、生化反应的映射关系，开展生物逆合成设计与途径可行性评价。

3、对标国外先进的数据库（如NCBI Biosystems、antiSMASH、Matabolights等），构建用户友好、易于交互的信息化服务平台，支持不同需求用户查询检索生物合成基因簇、功能酶与生物逆合成设计等数据，结合数字细胞模型、AI算法及新技术，评估基因簇多功能混杂性、优势底物和异源途径适配性对底盘细胞资源优化逻辑，指导细胞工厂理性设计。

4、选定国内外主要核心刊物，自动化提取与集成新发表文献数据，丰富合成生物基因数据库；建立激励机制，引导国内外研究人员在论文发表同时汇交生物合成基因数据；高通量开展数据库中代表性通路的DNA组装、异源表达和产物表征，产生标准化大数据用于数据库的持续自动更新与算法模型迭代。

**考核指标：**

1、按照二级或以上安保等级，建设生物合成基因、天然产物代谢途径、生物合成酶、生物逆向合成设计等4个数据库查询平台，充分体现人性化设计、数据展示简明扼要，可满足有权限的学术、产业用户超5000人同时在线查询。

2、建立不低于50万条代谢表型与生物合成基因关联的大数据知识库，按天然产物类别建立子库；提供不低于1万个天然产物生物逆合成设计构建的查询服务，基于AI提供底盘细胞设计、异源途径适配性分析及最适酶选择方案等。

3、选择不低于10种国内外生物合成核心刊物或相关数据库，实现数据库的持续自动更新；建立的激励机制能够引导国内学者在发表论文同时汇交生物合成基因数据；基于数据库集成不少于1000条天然产物合成途径，协同服务生物合成实验。

4、核心技术形成知识产权，申请4件以上知识产权（含软件著作权）。

**申报要求：**

定向组织项目，由省内高校研究院所牵头，组织全省生物合成和绿色生物制造优势单位，鼓励联合省内实体开展产学研合作。

**拟支持项目数：**1项。

**支持金额：**1000万元/项。

**方向4：基于目标产物基因表达系统的底盘细胞构建与表达调控共性技术的研发与应用**

研发针对目标产物的基因表达与调控共性技术，可大幅缩短合成生物产物从概念创新到应用落地的效率，为绿色生物制造提供创新发展生态。

**研究内容：**

1、通过具体的研究案例，基于原位代谢物提取和直接质谱、微/纳米毛细管和nanoESI技术开发活体单细胞实时分析，获得天然产物在单细胞中的含量和空间分布信息，建立空间分辨代谢组学数据与基因组、转录组等其他组学数据整合分析新方法，并结合基因异源表达与高通量检测技术，实现对代谢途径及相关基因簇的快速解析，获得底物分解转化、目标产物合成关键基因元件技术方法。

2、通过具体的研究案例，构建目标产物合成基因簇、酶元件、启动子、基于全局代谢通路理性设计等实用技术方法；基于Alphafold2、RoseTTAFold等机器学习方法，开展酶结构的大规模预测，基于酶序列、结构、反应、活性中心等层次的相似性原理，以及生境来源、可溶表达、进化聚类等分析，开展序列、结构、反应、活性中心等层次的相似性预测，并进行自动化智能设计，建立基于无细胞蛋白合成系统、高效荧光标记及微流控等超高通量对酶元件技术进行筛选与快速适配性组装；针对合成途径中的合成基因簇、关键酶元件及其组合开展智能化高效挖掘、基于QM/MM等多尺度模拟的酶催化机制解析和计算辅助的酶功能优化设计，开发天然产物合成途径理性设计新技术；开发适配工业高产、稳产异源表达的菌株智能优化系统。

3、通过具体研究案例，针对肿瘤、神经退行性疾病等重大疾病筛选获得具有潜在临床治疗价值的肠道健康微生物原始菌株及工程改造；研究菌株生长特性、规模化制备工艺、精准递送系统和菌株制剂，形成临床治疗方法。

4、构建生物合成验证平台，针对目标产物的生物合成设计与工业菌株筛选的不同路径方法，技术平台批量化、高通量、高效率验证其有效性、可行性。获得ISO或其他相关认证，形成生物医药及化学品绿色制造产业服务。

**考核指标：**

1、针对天然产物合成和分解转化，获得100个以上分解转化元件，获得10个以上构象优化的高效合成突变体，建立分解转化途径及合成基因模块半理性设计技术1套以上。

2、研发共性的合成途径智能设计系统、酶元件智能开发系统，获得知识产权不少于2件，形成通用的技术方法。集成正/反双向生物合成与代谢网络优化的菌株设计工具，形成通用的生物合成研究智能化设计及筛选设施平台，通过ISO或其他相关认证，并向社会提供服务。

3、开展绿色生物制造技术研发与服务，针对多个（合计30种以上）产品设计完成生物合成途径，其中，多个（合计10种以上）产品发酵水平达到1～10g/L的领先水平。

4、获得具有自主知识产权、可用于肿瘤、神经退行性疾病等治疗的益生菌菌株4株以上，并形成菌株制剂和临床治疗方法。

5、搭建的生物合成验证技术平台，批量化、高效率、低成本开展生物合成设计可行性、有效性验证，面向社会服务不同产品生物合成验证不低于100次。

**申报要求：**

定向组织项目，由省内高校研究院所牵头，组织全省生物合成和绿色生物制造优势单位，鼓励联合省内实体开展产学研合作。

**拟支持项目数：**1项。

**支持金额：**1000万元/项。

**专题二、绿色生物制造产品的研发**

**方向5：小分子药物原料的绿色生物制造**

**研究内容：**

1、围绕具有明确药效且自然来源受限或难以获取的用于重大疾病治疗的高价值、高活性天然药物（如紫杉醇、膜海鞘素、胆酸衍生物、维生素E、母乳寡糖如岩藻糖基乳糖、甾体皂苷、褪黑素、大麻二醇或姜黄素等），针对高活性天然产物及其衍生物转化关键酶系及生物合成模块，系统研究转化过程中的酶催化机制及其微生物合成路径，构建高效适配的细胞或植物底盘（植物反应器）。

2、通过基因组、转录组、代谢组等技术挖掘目标物质代谢途径中关键调控元件以及分子模块；优化多基因叠加的工具系统和组装策略；设计和重塑上述合成功能模块和代谢途径，优化细胞或植物底盘（植物反应器），实现目标产物在底盘细胞中的适配和有效的合成。

3、完成产业化放大研究，并建立规模化生产线，完成取得原料药生产许可的相关研究。

**考核指标：**

1、建立自主知识产权新型高活性天然药物异源表达底盘，获得用于药用原料生产的具有自主知识产权的工程菌2株以上。

2、取得具有重要用途但国内尚为空白的高活性天然药物及其衍生物，获得原料药生产批件，相关产品在项目实施期间实现销售收入超1000万元。

3、建立和实现至少1种以上天然药物规模化合成生产线。

4、核心技术形成自主知识产权，申请发明专利4件以上。

**申报要求：**

省内企事业单位均可牵头申报，鼓励企业牵头申报，鼓励联合省内外优势研发实体产学研合作，产业化落地需在广东企业或广东产业化基地。

**拟支持项目数：**2～3项。

**支持金额：**800万元/项。

**方向6：活性蛋白和多肽药物的绿色生物制造**

**研究内容：**

1、围绕我省在活性蛋白和多肽原料药物合成技术上的空白及产业升级需求，针对活性蛋白（如重组人血白蛋白、乳铁蛋白、重组贻贝粘合蛋白或抗肿瘤单抗帕博利珠、阿维鲁等）和多肽（如普立肽、白介素、司美格鲁肽、恩夫韦肽、谷胱甘肽、鹅肌肽或抗菌肽等）生产制造存在的产率低、成本高、表达量低或者环境污染严重等问题，研究构建具有自主知识产权的高产、高效、适配不同药用蛋白或多肽的可溶表达体系。

2、研究底盘细胞的筛选和蛋白表达元器件的优化，实现微生物高效表达，并利用机器学习、生物信息学等技术发掘修饰酶，优化底盘细胞获得高质量的功能蛋白或多肽原料，研发创新蛋白、多肽药物；或建立药用蛋白植物反应器高效生产技术体系，构建高活性药用蛋白翻译后修饰技术，实现药用蛋白在经济作物中的高表达及高积累。

3、开发有自主知识产权、经济适用、可标准化的分离技术（如可切割自聚集标签技术等），实现蛋白与多肽药物的高效低成本纯化和量产工艺。

4、工艺技术产业化放大研究，形成规模化生产线。

**考核指标：**

1、建立完整的药用蛋白和多肽表达、分离纯化和修饰技术绿色生物制造体系，获得2个以上重大或者常见病的药用蛋白（含抗体药物）和多肽的工业生产菌株或者细胞株，发酵产量蛋白达到2g/L以上或活性多肽达到1g/L以上；或建立一个高效生产药用蛋白植物反应器技术体系，形成植物生产药用蛋白的产业化模式，获得2个以上药用蛋白的植物稳定生产株系，蛋白表达水平达到干重2%以上，表达水平与微生物发酵工艺接近。

2、建立1～2种高效的药用蛋白和多肽修饰体系，实现公斤级药用蛋白和多肽规模产业化应用2～3个，批次规模达到200L以上。

3、做好以上2个产品研发，并建立规模化生产线至少1条，相关产品取得生产批件，并在项目实施期间实现销售收入超1000万元。

4、核心技术形成自主知识产权，申请发明专利4件以上。

**申报要求：**

省内企事业单位均可牵头申报，鼓励企业牵头申报，鼓励联合省内外优势研发实体产学研合作，产业化落地需在广东企业或广东产业化基地。

**拟支持项目数：**拟支持蛋白类和多肽类各1～2项，总计不超过3项。

**支持金额：**800万元/项。

**方向7：精细化工产品的绿色生物制造**

**研究内容：**

1、针对精细化工原料、农用生物活性物质的生物合成（如功能氨基酸及衍生物、牛磺酸、丙二醇、丁二醇、乳酸、苯乳酸、对羟基苯乙酸、丁二酸、绿原酸、呋喃二甲酸/二甲醇、二十二碳六烯酸、高碳醇、鱼藤酮、活性萜类、异戊烯基酚类、羟基戊菌酮、环二肽等杀虫、杀菌、除草活性物质或微生物绿色有机肥等），对其系列工业菌种进行组学技术解析，研究其高产机理，挖掘高性能的催化、调控、转运等功能元件库；建立高效大规模基因组编辑改造技术体系，发展工程菌种的自主专利设计策略，形成具有自主知识产权的工程菌种。

2、建立工业菌种基因组规模代谢网络模型，预测关键的代谢流控制节点，发展目标产物产率、原料利用率和转化率等生产性能指标提升改造的新策略；完成无质粒、无抗性标记的新型高产工业菌种，形成具有自主知识产权的工程菌种。

3、研究外源途径酶的非理性定向进化和计算指导的理性设计、多酶级联的共定位与区室化、基因回路动态调控、辅因子工程、鲁棒性工程、无细胞合成和数据驱动细胞工厂创建等合成生物技术，创建具有自主知识产权、无质粒无抗性标记的高效人工微生物细胞工厂。

4、研发直接利用农产品及废弃物中木质纤维素为原料的大宗化学品（丙二醇、丁二醇、乳酸和丁二酸等）生物制造技术和工艺，利用木薯淀粉、糖蜜等本地化原料的精细化学品生物制造技术和工艺，形成绿色生物制造生产线。

**考核指标：**

1、针对上述基础精细化工原料、农用生物活性物质的生物合成，经过基因组编辑改造、细胞全局代谢网络调控等技术，优化设计微生物制造合成途径3条以上。

2、建立完整的菌株筛选、工程菌改造绿色生物制造体系，提升工业菌株发酵生产的产量、转化率、基因表达稳定性和生产强度；创建3株及以上具有自主知识产权、能直接利用岭南生物质的高产人工微生物菌株，目标产物发酵浓度达到国内外先进水平。

3、建立吨级发酵罐的高密度发酵技术和提取纯化工艺，产品达到原料级要求。

4、完成2个以上的产品研发。其中，针对上述大宗精细化学品，至少有1个产品建立吨级规模化示范生产线，取得原料生产许可证；或针对农用生物活性物质，至少建立1条生产线，并取得生产许可。相关产品在项目实施期间实现销售收入超1000万元。

5、核心技术形成自主知识产权，申请发明专利4件以上。

**申报要求：**本方向按照大宗精细化学品和农用生物活性物质两个领域分别进行申报和考核，省内企事业单位均可牵头申报，鼓励企业牵头申报，鼓励联合省内外优势研发实体产学研合作，产业化落地需在广东企业或广东产业化基地。

**拟支持项目数：**2～3项。

**支持金额：**800万元/项。

**方向8：生物基高分子材料绿色生物制造**

**研究内容：**

1、针对可降解的功能高分子材料（如粘多糖、聚氨基酸、聚丁二酸丁二醇酯、细菌纤维素或聚酮等）的绿色生产制造，筛选适配可利用本地化关键原料或优势资源（木薯淀粉、糖蜜、农林废弃物等）的工程菌种。通过全局代谢网络分析、通路理性设计及人工智能技术辅助的关键途径酶的挖掘，设计和创建高效合成底盘细胞；结合天然微生物宏基因组分析、高通量筛选、生物信息学以及深度学习等技术，设计开发高效合成元器件，靶向代谢路径需求理性改造关键途径酶，提升强化核心代谢流，形成具有自主知识产权的高鲁棒性、高生产强度的工程菌种。

2、构建高效合成细胞工厂。获取生物资源利用率高和生物合成速率高的生产菌种后，构建适合规模生物合成技术并建立规模化量产工艺路线。通过代谢工程、自适应进化、高通量筛选、发酵工艺优化放大以及绿色高效提取技术，形成产品质量稳定、性能多样、成本合理、产物分子量可控、适合多场景应用的高品质材料。

3、建立大规模生产线。构建低值原料高效利用的生产菌生产控制体系和分离纯化技术，形成适于广东省本地化原料的功能高分子材料新技术、新方法、新工艺的产业化生产线。

**考核指标：**

1、构建至少2种以上具有自主知识产权的可利用低值原料高效生产工程菌种，技术水平达到国际领先。

2、建立规模化生产线，至少实现1种功能高分子材料（如粘多糖、聚氨基酸、聚丁二酸丁二醇酯、细菌纤维素或聚酮等）绿色生产制造，取得生产许可，实现规模化生产，产品质量超过传统制造方法生产的类似产品，成本对比具备竞争优势。

3、相关产品在项目实施期间实现销售收入超1000万元。

4、核心技术形成自主知识产权，申请发明专利4件以上。

**申报要求：**

省内企事业单位均可牵头申报，鼓励企业牵头申报，鼓励联合省内外优势研发实体产学研合作，产业化落地需在广东企业或广东产业化基地。

**拟支持项目数：**1～2项。

**支持金额：**800万元/项。

**方向9：高效工程酶生物制备及其催化合成产品的研发**

**研究内容：**

1、针对具有工业应用价值的工程酶（如糖基转移酶、蔗糖合成酶、糖苷水解酶、胶原蛋白酶、脂肪酶、磷酸酯酶、酰化酶、羟化酶、脱氢酶、转氨酶、纤维素酶、塑料降解酶、脱毒酶或诊疗酶等），提出工程酶性质改造新策略和新思路，构建具有工业生产价值的酶高效表达底盘细胞，通过酶蛋白表达体系关键元件的挖掘及改造、酶合成与分泌途径或能量代谢途径的重构，研究高密度细胞发酵及酶绿色生物制造新技术，提升底盘细胞酶生产效能，形成自主知识产权的工程酶。

2、优化工程酶稳定性、催化效率、底物/产物耐受性，结合无细胞蛋白合成及微流控技术等技术实现酶活性、稳定性及适配性的超高通量的筛选；基于AI-BT技术开展功能蛋白设计，研究和探索酶分子高通量新筛选技术方法，建立高性能工程酶的改良技术平台；开展酶的工程改造、组装及固定化技术研究，创制特异性的高适配、高效复合酶系，开发高固酶解、高效定向制备功能性高值产物的新型酶解技术，形成自主知识产权的工程酶。

3、构建新型酶反应器（包括基于细胞的多级催化反应），针对高值、难于化学合成产品实现酶促合成制造，包括低致敏乳蛋白、活性六胜肽、麦角硫因、角鲨胺、磷脂酰丝氨酸、烟酰胺单核甘酸、维生素糖苷、天然甜味剂或胶原寡肽等功能产品酶促合成，或精细化工原料己内酯等多级酶联催化合成，或废旧塑料酶解资源化，或农业废弃物酶解利用，或饲料脱毒工业酶应用等。

**考核指标：**

1、建立具有自主知识产权的高表达的工程酶及表达系统2～3种，其中，真核微生物胞外蛋白表达量不低于30g/L，原核微生物表达量不低于10g/L，其他表达系统达到国内领先水平。

2、建立酶分子超高通量新型筛选实用技术以及高效设计改造技术；针对优势底盘（菌株）挖掘影响酶分子高效表达的基因簇、关键元件、启动子等，获得经济高效、可工业应用的工程酶3个以上。

3、开发工程菌株发酵性能智能监测和调控策略，建立高密度细胞酶发酵生产工艺，形成吨级酶绿色制造新技术，实现新工艺节能减排15%以上。

4、开发具有自主知识产权、适合工业化生产的酶固定化工艺，固定化酶回收率（80%以上）和循环催化使用次数（10次以上）达到国内领先水平。

5、完成3个以上产品研发，至少建立1条生产线，相关产品在项目实施期间实现销售收入超1000万元。

6、核心技术形成自主知识产权，申请发明专利的数量不少于4件。

**申报要求：**

省内企事业单位均可牵头申报，鼓励企业牵头申报，支持联合省内外优势研发实体产学研合作，产业化落地需在广东企业或广东产业化基地。

**拟支持项目数：**1～2项。

**支持金额：**800万元/项。