

附件 3

天津市合成生物技术创新能力提升行动

2019 年度项目申报指南

天津市合成生物技术创新能力提升行动（简称“提升行动”）的总体目标是围绕国家及天津市工业、农业、健康、环境等领域重大需求，解决人工合成生物创建的基本科学问题，重点构建实用性的人工生物体系，创新生物合成关键核心技术，促进国家及天津市生物产业创新发展与经济绿色增长。提升行动2019年项目拟围绕医药化工产业绿色转型、未来食品生物制造、发酵工业提升以及合成生物关键使能技术等重点方向，组织实施重大科技攻关任务。

申报人根据每个项目中具体指南方向组织任务申报，申报任务需符合具体指南的研究内容并达到一定的考核指标，但无需覆盖每个指南的全部研究内容和考核指标，并根据拟承担研究内容提出经费申请，执行期为3年。

本提升行动所有可能涉及人或人类遗传资源的科学研究，应当遵守《涉及人的生物医学研究伦理审查办法》、《人类遗传资源管理条例》等国家相关规定，符合国家有关技术规范要求，符合伦理原则，并按照国家有关规定进行伦理审查。涉及实验动物和动物实验，要遵守国家实验动物管理的法律、法规、技术标准及有关规定，使用合格实验动物，在

合格设施内进行动物实验，保证实验过程合法，实验结果真实、有效，并通过实验动物福利和伦理审查。

项目 1、甾体药物的合成生物制造

天津市的甾体激素药物研究开发在国内外占有重要地位，本项目结合重要甾体激素人工细胞工厂构建、高转化率和高生产强度生物合成技术开发等研发，将进一步资助开展以下研究任务。

1.1 甾体药物合成关键基因元件挖掘与功能表征

主要内容：开展甾体药物及中间体生物合成的基因元件发掘与功能表征研究，进行酶蛋白与关键调控基因的进化改造，提高关键酶催化效率与产物合成能力。

考核指标：发掘并表征新侧链切割酶和母核修饰酶 5-6 个，修饰酶的区域和立体选择性均不低于 95%，实现在 17-羟化黄体酮、25-羟化维生素 D₃ 等 2-3 种甾体化合物生物合成中的实际应用，获得自主知识产权，成本与性能指标优于化学路线。

拟支持课题数：1~2 项

1.2 重要甾体激素药物及中间体的生物合成过程优化

主要内容：发展甾体激素类药物关键中间体的低有机介质转化等新型反应体系，优化生物合成过程控制，开发自动化膜组件分离等先进的提取后处理工艺，提高原料利用率和

目标产物得率及纯度。

考核指标：建立地塞米松、倍他米松、泼尼松龙、4-AD等重要甾体激素药物中间体及衍生物的新一代生物合成过程控制与分离提取的技术体系，实现现有生产工艺的升级换代，助溶剂使用量减少 80% 以上，规模化生产条件下有机溶剂使用量减少 40% 以上，目标产物在粗提液中的含量不低于 90%，最终产物纯度不低于 98%，产品质量符合药典标准。

拟支持课题数：2~3 项

项目 2、中药有效组分等植物源天然产物生物制造

本项目结合构建与优化以可再生原料合成重要中药组分的高效人工细胞工厂，开发天然产物大规模提取分离工艺，进行功能评价研究，实现应用放大示范等研发，将进一步资助开展以下研究任务。

2.1 植物源天然产物生物合成途径解析与关键酶的挖掘

主要内容：开展重要植物源天然产物生物合成途径研究，通过功能组学及化学生物学等手段，预测复杂化合物的合成途径，发掘与鉴定关键酶，进行功能测试验证。

考核指标：获得 3-5 种 P450 酶、环化酶、聚酮合酶等关键酶，打通长春花碱、黄芩素等重要天然产物的生物合成途径，获得自主知识产权，实现在微生物中重组合成。

拟支持课题数：2~3 项

2.2 中药毒性成分马兜铃酸生物降解

主要内容: 开展马兜铃酸降解的菌株筛选、酶基因挖掘、蛋白结构解析、定向进化及理性改造研究, 构建微生物或酶转化体系, 开发马兜铃酸的生物降解消除技术, 进行处理后中药材的毒理安全评价。

考核指标: 获得有效降解马兜铃酸的微生物菌株或酶系; 建立含马兜铃酸的中药材处理的生物转化技术, 实现吨级药材无毒化处理的应用示范。

拟支持课题数: 1~2 项

项目3、低成本健康稀少糖生物制造

本项目结合稀少糖的生物制造途径设计与构建, 绿色生产工艺开发及产业应用示范等研发, 将进一步资助开展以下研究任务。

3.1 稀少糖生物合成超稳酶开发

研究内容: 开展稀少糖生物转化合成过程中关键异构酶的超稳理性设计、定向改造技术研究, 构建酶突变体高通量筛选技术模型, 开发高稳定性、高活性的稀少糖转化合成关键酶。

考核指标: 建立稀少糖酶分子设计改造及高通量筛选技术模型, 筛选通量达到2万个/小时; 获得稀少糖高效转化合成关键酶在70°C半衰期超过12小时。

拟支持课题数：1~2项

3.2 稀少糖生物合成用酶固定化制备技术

研究内容：研究工业化载体介质特性，设计新型介孔/大孔载体材料，开发高活性、高载量、高稳定性的酶固定化方法，发展高效连续转化的新型酶反应器，提升酶催化的过程可操作性与转化效率。

考核指标：获得 3-5 种具有工业应用性能的酶固定化介质，固定化酶使用 50 次后的酶活力为初始酶活的 70% 以上；建立基于固定化酶的稀少糖连续转化反应装置，连续运行超过 2 个月，效率降低不超过 20%，用酶成本降低 50% 以上。

拟支持课题数：1~2 项

项目 4、植物蛋白肉的工业生物制造

本项目结合植物蛋白肉重要组分的生物合成技术开发，植物蛋白肉生产工艺及示范等研发，将进一步资助开展以下研究任务。

4.1 植物蛋白结构的重组与肉质化改良

主要内容：研究植物蛋白组分、品质与真实肉蛋白的差异，通过生物加工，物理化学改性等手段，改组植物蛋白质构，提升植物蛋白肉的感官性能和营养价值，降低蛋白过敏原成分。

考核指标：建立植物蛋白的酶法与理化加工技术体系，

实现原料蛋白物理结构改造、腥味物质和过敏原等有害物质的降解或去除，增加蛋白交联度和韧性，使原料蛋白在结构与口感方面，达到与真实肉制品 80% 以上相似程度。

拟支持课题数：1~2 项

4.2 植物蛋白肉风味组分改性优化

主要内容：研究肉味呈味化合物的变化规律，开发风味物质转化、蛋白酶解、脂肪调控氧化、热反应调香等肉味香精合成技术，优化植物蛋白肉的香味等重要风味组分。

考核指标：建立原料蛋白的酶解产物与氨基酸和还原糖反应生产植物蛋白肉主要香味物质的工艺，开发出植物蛋白肉风味成分及前体分析评价体系，创制 2-3 种肉味香精，在像真性、特征性香味及浓郁饱满度基本达到肉类食品化程度，实现应用示范。

拟支持课题数：1~2 项

4.3 植物蛋白肉像真性与营养安全评价技术

主要内容：分析比较植物蛋白肉与真实肉制品在质构、风味和感官特性，研究植物蛋白肉的色、香、味等像真性和无农残、无动物源成分等营养安全评价的重要表征参数，开发像真性与营养安全评价技术体系。

考核指标：建立色、香、味等像真性和无农残、无动物源成分等营养安全指标的评价方法，行业认可度达到90%。

拟支持课题数：1~2 项

项目 5、谷氨酸棒杆菌工业微生物构建

本项目结合新一代谷氨酸棒杆菌高产氨基酸菌株构建及应用等研发，将进一步资助开展以下研究任务。

5.1 谷氨酸棒杆菌高效中央代谢通路的构建

主要内容：系统开展谷氨酸棒杆菌中央代谢途径的酶动力学研究，发展胞内高效酶分子机器的构建方法，提升糖代谢速率及氨基酸高效合成能力。

考核指标：获得近生理环境下谷氨酸棒杆菌糖代谢、氨基酸合成代谢途径的酶动力学参数；建立 2-3 种适合谷氨酸棒杆菌的多酶分子机器设计策略，实现 3-8 种酶的组装，通路代谢速率提高 20% 以上。

拟支持课题数：1~2 项

5.2 谷氨酸棒杆菌代谢水平系统解析

主要内容：开发谷氨酸棒杆菌快速、高通量的代谢物定量技术及基于稳定同位素 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^2H 示踪的代谢流定量分析技术，为清晰描述谷氨酸棒杆菌底盘代谢提供系统的、规模化数据。

考核指标：建立谷氨酸棒杆菌的定量代谢组检测技术和基于稳定同位素 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^2H 示踪的代谢流定量分析方法，实现超过 100 种代谢物的定量，建立关键合成途径的动态代谢流量分析方法，揭示途径的限速步骤和限制因子。

拟支持课题数：1~2 项

5.3 谷氨酸棒杆菌抗逆解析与设计优化

主要内容：选育和构建谷氨酸棒杆菌抵抗高渗、高温等复杂环境压力的耐渗、耐温菌株，解析分子基础及抗逆机制，提升菌株在氨基酸发酵环境中对高渗及高温的抗逆能力。

考核指标：获得 2-3 种耐高温元件，使谷氨酸棒杆菌在高于 40°C 可正常生长和发酵；获得 2-3 种耐高渗元件，使谷氨酸棒杆菌可在 1.5M 氨基酸发酵液中维持正常细胞活力。

5.4 谷氨酸棒杆菌基因组编辑与调控新方法

主要内容：发展谷氨酸棒杆菌高通量、高效率的 DNA 转化方法，开发高效率基因组编辑新技术，挖掘调控新元件并创建动态调控新技术，实现谷氨酸棒杆菌的高通量、高效、精准编辑及调控能力。

考核指标：谷氨酸棒杆菌 DNA 转化效率达到 10^8 转化子/mg DNA；3 个以上位点可实现同时元件替换且成功率达 40% 以上；建立 3 种以上精准的动态表达调控回路。

拟支持课题数：1~2 项

项目 6、真核蛋白表达系统构建及应用

本项目面向工业蛋白质发酵生产需求，以酵母、丝状真菌为核心体系，研发构建真核蛋白表达系统，结合大宗工业酶新一代菌种研发，将进一步资助开展以下研究任务。

6.1 真核蛋白表达元件设计合成与优化改造

主要内容：结合生物信息分析，发展真核蛋白表达元件高通量筛选技术，系统筛选表征酵母和丝状真菌高效可控表达元件和表达位点，根据元件、位点特性进行理性设计改造，提升其性能。

考核指标：完成 1000 个以上不同类型的启动子、增强子、分泌信号肽、调控元件、表达位点等酵母和丝状真菌系统表达元件的系统功能表征，可使目标蛋白表达强度比现有系统通用高表达元件提高 5-10 倍，至少 10 个新元件在新一代工业菌种中实现应用。

拟支持课题数：1~2 项

6.2 酵母蛋白表达系统构建及应用

主要内容：以毕赤酵母和克鲁维酵母为对象，结合组学分析、底盘细胞蛋白表达分泌分子机制，通过基因组水平改造重构，构建具有自主知识产权的可用于工业酶、疫苗、抗体等生产的通用性酵母蛋白表达系统。

考核指标：获得具有自主知识产权通用性酵母蛋白表达系统 2 套，蛋白分泌能力超过 20 克/升，并在工业酶、疫苗、抗体等核心蛋白产品中进行应用测试，至少一个工业蛋白质表达新菌种实现产业化应用。

拟支持课题数：2~3 项

6.3 丝状真菌高通量培养与筛选技术

主要内容：以表达生产酶蛋白的黑曲霉为对象，进行通用丝状真菌菌丝体高通量培养、筛选研究，开发工业丝状真菌高通量制种、接种、培养和检测新技术。

考核指标：获得 1-2 套深孔板、微流控或更高通量培养筛选产酶丝状真菌的技术体系，菌丝高通量培养发育时间不低于 48 小时，实现批次筛选 1000 株丝状真菌能力。

拟支持课题数：1~2 项

项目 7、合成生物学关键使能技术

7.1 生物设计前沿技术方法

研究内容：开发基于人工智能大数据分析的蛋白设计前沿方法；开发 RNA 调控元件和基因调控回路等前沿设计方法体系。

考核指标：获得具有自主知识产权的蛋白人工智能设计方法及软件，活性、底物特异性、稳定性等至少 3 种性能指标设计准确度达到国际领先水平；建立 RNA 调控元件的定量设计和调控回路建模分析方法和软件，实现基因回路的精确设计。

拟支持课题数：2~3 项

7.2 DNA 合成高效纠错新技术

研究内容：开发新的 DNA 合成纠错策略，开展已知纠错酶的理性设计、定向进化及高通量筛选研究，开发新一代

低错误率纠错酶，能够兼容寡核苷酸化学合成试剂和酶试剂，满足 DNA 原位大片段合成的需求；开发高效低成本的 DNA 合成纠错技术，大幅降低 DNA 合成错误率。

考核指标：获得 2-3 种新型纠错酶或新型低成本纠错技术，使合成 10Kb 以上长度 DNA 时错误率低于万分之一。

拟支持课题数：1~2 项

7.3 DNA 大片段组装与移植新技术

研究内容：研究大片段 DNA 组装与移植复活技术，在重要底盘细胞中实现应用，赋予细胞新功能或大幅提升原有性能。

考核指标：建立 DNA 的快速、高效组装技术，获得 Mb 级 DNA 片段周期小于 2 个月，实现大片段 DNA 在 1-2 个重要底盘细胞中的移植复活和功能再现。

拟支持课题数：1~2 项

7.4 工业微生物通用型高通量筛选技术开发

研究内容：研究多种重要工业生物技术产品的快速半定量/定量检测方法；开发基于荧光、拉曼光谱等光学检测的工业微生物高通量筛选技术；开发质谱成像技术等基于质谱检测的多种重要合成生物的高通量筛选技术体系。

考核指标：实现复杂样品中赖氨酸、塔格糖、血红素、高温淀粉酶、黄体酮等快速半定量/定量检测，检测速度达到 1000 样品/小时以上；实现大肠杆菌、棒杆菌、酵母、芽孢杆

菌、链霉菌等重要工业菌种的单细胞/液滴高通量筛选，通量>2万/小时；实现上述菌种基于质谱的高通量筛选，通量>500样品/小时。

拟支持课题数：2~3项

7.5 微生物高通量操作技术的开发

研究内容：针对部分模式合成生物（丝状真菌，链霉菌等）无法高通量基因操作的问题，开展基础研究、共性关键技术研发，开发其高通量培养、转化、基因组编辑技术。

考核指标：实现丝状真菌、链霉菌等的高通量培养、转化与基因组编辑，总通量达到500个位点/天。

拟支持课题数：1~2项