

下一代合成生物学的新兴监管挑战

编者按：无细胞合成生物学（Cell-free synthetic biology）具有巨大的应用潜力；然而，这一愿景也对全球生物安全和生物安保产生了影响。加拿大的科研人员2021年9月在 *Biochemistry and Cell Biology* 发表题为“下一代合成生物学的新兴监管挑战（Emerging regulatory challenges of next-generation synthetic biology）”综述，探讨了无细胞合成生物学的应用潜力及其相关的监管挑战。建议从经济、生物安全和生物安保的视角充分利用无细胞合成生物学、制定适当的政策和法规，防范下一次疾病大流行并及时采取必要的缓解措施。

合成生物学（synbio）已经成为具有巨大变革潜力的科学领域，为实现联合国2015年确定的可持续发展目标提供了关键工具。通过生命系统的理性设计，合成生物学技术将提供替代解决方案，应对全球粮食短缺、气候变化、能源枯竭以及医疗的局限性等。目前的方法仍然受限于对现有生命系统（“自上而下”）的重编程，需要克服这些限制才能充分发挥合成生物体的潜力。而“自下而上”设计的类生命系统（life-similar systems）能够在活细胞外（即无细胞合成生物学）发挥作用，从而避开这些限制，引起了学术界和工业界的关注。同时，类生命系统也带来了生物安全和生物安保方面的新风险。在目前的监管对话中，与无细胞和类生命技术相关的新兴风险和共享利益并没有列入相关讨论。在政策制定者和科学家之间，关于新型生物技术的定义仍然存在争议，导致对下一代合成生物学监管的混乱，以及无法确定哪些政策和法规适用于无细胞系统。由于破坏性技术的开发和应用速度及其影响范围，这种遗漏的可能性令人担忧。本文对无细胞和类生命系统的生物安全和生物安保影响进行了前瞻性评估，并探讨了全球循证监管对话的框架，旨在推动无细胞技术持续转化应用的同时，维护公众信任。

1. 无细胞系统在合成生物学中的新作用

目前的工程生物系统方法已经在商业转化方面取得了成功，包括从治疗疟疾的酵母青蒿酸生产到精确的基因组工程工具（例如 CRISPR）。然而，合成生物学并未发挥出全部的潜力，由于工业基础设施和医疗实践整合的挑战性，影响了其在生物燃料、生物材料以及新的治疗方法等方面的颠覆性作用。在一定程度上，

也受转基因生物（GMO）的争议、对环境可能的危害、相应遏制和监管等问题的影响。同时，缺乏关于知识产权保护的监管安全，以及生命系统可设计性方面的限制，也使其应用转化面临进一步挑战（图 1）。

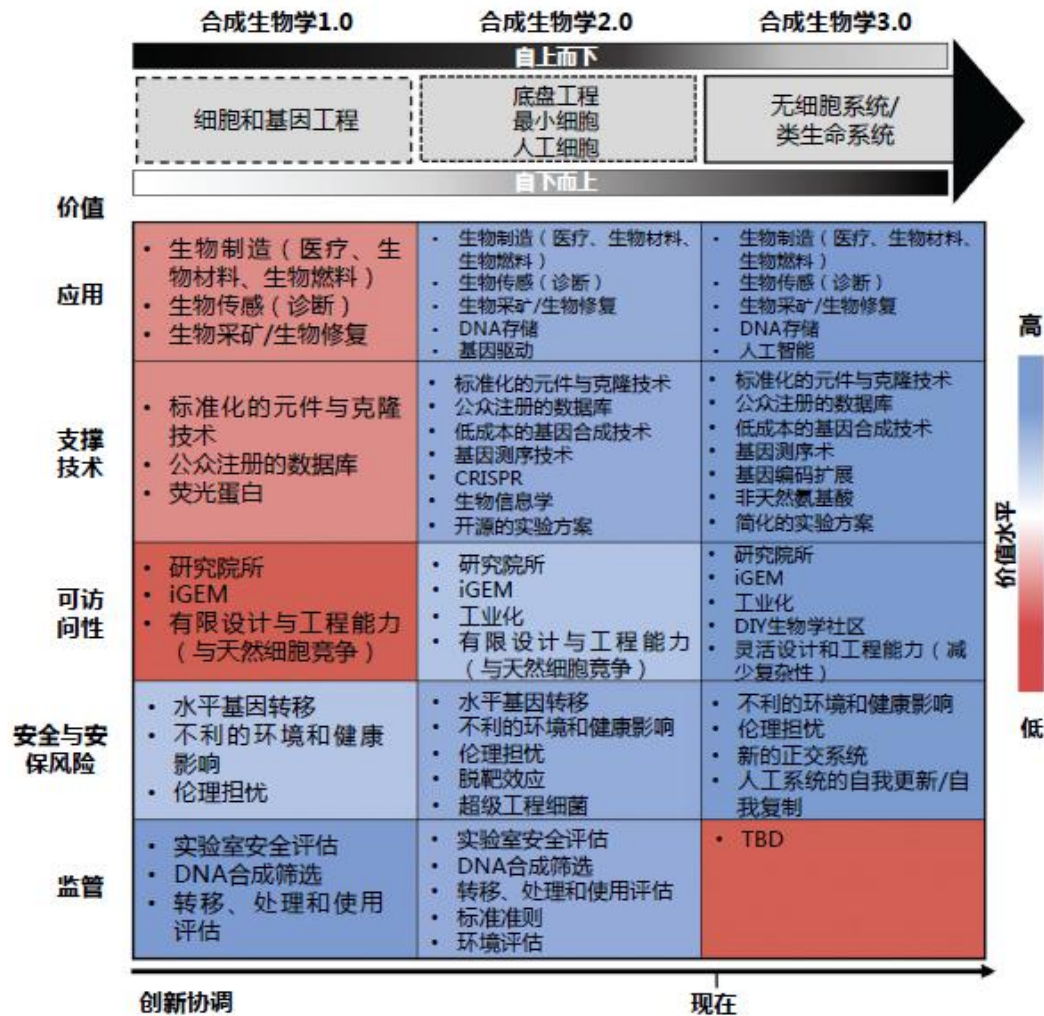


图 1 合成生物学的发展。在合成生物学每个阶段，以热图形式表示出相应的应用级别、支持技术、可访问性、安全与安保风险以及监管问题。合成生物学 1.0 是指生物工程早期阶段，主要采用自上而下的方法，包括细胞和基因工程。合成生物学 2.0 是指自上而下和自下而上的合成生物学方法的进步，例如底盘工程、最小细胞和人工细胞。重构生命是指合成生物学下一阶段，包括通过主要的自下而上方法开发无细胞和类生命系统。这一阶段的特点是正交性潜力的增加，以及脱离生命系统传统监测和法规的应用潜力。

作为一种替代方法，无细胞系统在活细胞限制外提供了与类似生命的功能，可以用作细胞提取物或纯化重组的系统，例如，无细胞成分目前无法复制、繁殖或进化，将其用于生产 RNA 和蛋白质可降低生物污染的风险。与基于细胞的方法相比，无细胞系统不受竞争细胞过程的限制，如新陈代谢，也不需要选择克隆方法。由于不受这些实验约束（如转换效率），所以能够实现快速的设计-构建-

测试周期。同时，无细胞系统易于使用、复杂性低、能够吸收非天然氨基酸、对有毒化合物具有耐受性，这些优势使其成为合成生物学和生物技术发展的有力工具。

无细胞系统已成功用于生产重要的生物分子，包括治疗剂（例如细胞毒性蛋白抗癌酶和医用大麻素）和代谢物（包括与工业相关的单萜等），展示了其作为生物工厂的商业价值。除了作为平台技术，这些系统还可以开发用于诊断的生物设备，例如基于纸张的寨卡病毒检测、生物修复和生物传感等。总之，无细胞系统为合成生物学解决重大挑战提供了一个有前景的方案。尤其考虑到公众对转基因生物的负面看法，因为无细胞生物修复方法绕过了将转基因生物释放到环境中的环节，提供了更安全的替代方法。

目前，无细胞系统的应用正在成为主流。与传统生命系统的生物工程相比，使用方便和固有的安全性使无细胞合成生物更容易被公众和“公民科学家”接受，特别是随着 DIY 生物学和社区实验室的建立和发展。例如，BioBits 是一款使用无细胞系统开发的教育工具包，它将合成生物学引入课堂，降低了学校使用这些技术的障碍，并向合成生物学更主流的用途迈进。

近年来，无细胞相关的初创企业相继出现，例如 Arbor Biosciences（2021）和 Sutro Biopharma（2021）等，使用无细胞方法进行蛋白质工程。SwiftScale Biologics（2021）通过快速生产抗体，将无细胞平台技术用于抗击 COVID-19 大流行。在美国国防高级研究计划局（DARPA）进行的压力测试中，Broad 研究所也演示了无细胞系统在危机时期的实用性。当基础设施和现有的生产方法受损，且由于毒性问题，基于细胞的方法不可行时，可以设计无细胞系统快速生产重要的生物分子，这也证明了可以通过按需制造生产必要的生物分子和药物。

近期，合成生物学“自下而上”的方法受到更多关注，为解决工程生命系统（和衍生的无细胞方法）面临的挑战提供了另一种途径，即通过逆向工程从头重构和重建生物过程（即重构生命）。特定的细胞功能与生物体的复杂性分开，允许理性设计类生命合成生物系统。“自下而上”的合成生物朝着创造合成生命的最终目标迈进，在活细胞限制和生命系统应用的设计策略导致的工程限制之外（例如，遗传密码和密码子的使用，生物物理特性），打开了新的生物技术之门。

2. 生物安全和生物安保：滥用的可能性

随着无细胞技术可获得性的增加，需要认识到这些系统两用的潜力及其潜在的伤害能力，包括有意的（即生物安保风险）或意外的（即生物安全威胁）。有必要实施适当的政策和实践，同时开发新的方法防止和减少滥用。

美国国家科学、工程和医学院（2018）为美国国防部提交的一份报告强调了合成生物学技术发展新出现的生物安保风险（例如，生物恐怖）。“自下而上”的无细胞系统的特性使其成为先进的生物工程平台技术，具有两用的潜力，也可能被恶意方（包括非国家行为者）利用。COVID-19 的经济影响表明，生物恐怖主义行为不必导致大量死亡事件，就能对社会产生重大影响。用于纯化无细胞系统的简化开源方案（例如，一锅法纯化）也简化了其可获得性，降低了技术门槛，这是颠覆性创新潜力的标志。此外，由于 DNA 合成成本降低，编程无细胞系统所需的遗传信息更易于获取。随着持续的商业化和越来越多的访问量，预测未来在家中使用无细胞系统是可以实现的。如何设计和部署这些系统（即增加稳定性），尤其是与环境相互作用可能对生物多样性产生影响，这些新出现的风险都需要全面评估。

结合非天然氨基酸和/或重新设计遗传密码的能力，创造了构建新性质和无法检测的生物分子装置的潜力。研究已经实现将遗传密码子从 4 个扩展到 8 个，并重新分配密码子编码了非标准氨基酸。在无细胞系统中执行这些新密码将能够规避目前识别潜在威胁的监管和筛选机制，进而对全球生物安全措施产生影响。

将具有自我更新/自我复制的人工系统整合到这些简化系统中，可以创造出完全合成的生物机器或组件，又增加了一层复杂性，解决了目前无细胞系统的不足。2019 年，有报道称构建了一种能够再生能量的光合人工细胞，用于生产膜蛋白，向创建完全独立的人工系统又迈进了一步。这一领域的进展将由商业利益驱动，这些系统可以利用专有遗传密码子（如 8 个）来保护设计的知识产权和/或未经授权操作的系统。同时也使人们对创造致命工程生物的担忧。如今，人们有能力创造一种正交合成系统，这种系统可以影响所有形式的生命，并规避传统的检测和缓解策略。

3. 创新与监管

无细胞合成生物学的监管存在不确定性，特别是正交合成仿生系统，不仅影响技术的应用，也可能影响社会的认可度。通过公众对转基因生物态度的反思，揭示了科学家认为的安全事物与公众认为的危险事物之间严重脱节。科学家的积极参与对于避免这种误解并协助决策过程是必要的。制定适当的法规（包括指南、实践和标准）非常重要，将影响技术在全球范围内的使用方式，并促进政府、企业进行必要的风险评估，以确保生物技术投资，这是无细胞合成生物学应用的关键部分。这就提出了一个问题：无细胞合成生物和类生命系统目前在监管环境中的位置如何？更重要的是，如何管理新兴技术，确保生物安全和安保的同时又不妨碍全球由此获益？

无细胞系统以及由于构建它们而开发的技术可能会列入美国国家科学院、工程院和医学研究院 2004 年确定的 7 个实验中需关注的使能技术。这些实验，包括那些可以规避监管的实验，因其对生物安保的影响，建议在实验进行中或发表前由科学和医学界的专家进行审查和讨论。17 年后，无细胞合成生物学的应用进一步增加了这些潜在威胁的合理性和可能性，但这一问题迄今尚未得到解决。

如今，是时候制定适当的指导方针以降低相关风险了。如果参考过去的工业革命，就会发现每次革命都比前一次更具创新性，并且发生得更快。在超创新时代，颠覆性和变革性技术被迅速开发和应用，公众调整的时间越来越少。因此，必须在技术开发的初始阶段做出明确的决定，包括通过监管、最佳实践和培训、管理创新的全球战略，也包括与相关行业部门、政府机构和学术机构的对话。在技术发展早期认识到潜在的利益和威胁，将促进可持续的创新发展并提供安全保障。

4. 核心的生物安保和安全行动

考虑到无细胞系统的安全性和两用潜力，重点要考虑识别和应对可能的威胁和安全的方法，这种方法可能适用于任何新兴和颠覆性技术。首先，应该包括一项针对相应生物技术以减少技术滥用的共同开发计划。例如，在创建新的遗传密码时，应该并行开发对加密序列实验性解码的方法和技术工具。这样的工具可以帮助识别当前筛选方法无法识别的潜在威胁，防止已知病毒或有毒基因的合成（澳大利亚集团制定的用于出口管制的人类和动物病原体和毒素清单，2020 年

版)。此外，应用安全设计方法，例如，设计正交合成生命系统的故障安全开关，集成到技术开发中，有利于防止其故意或意外释放。这种由资助者、出版商、机构和政府授权的共同开发的技术，将有助于鼓励科学家在整个设计-构建-测试过程中评估其研究，并向公众展示风险管理。

其次，要发展一种全球通用的技术评估文化，并向所有相关方提供所需工具。技术评估对无细胞和类生命技术的循证、开放和包容的全球对话至关重要。鉴于技术指数级的发展速度，更重要的是，能在技术初始阶段共同创造和促进可持续监管。这一点的实施取决于对无意使用无细胞和类生命系统可能性的评估以及基础伦理评估框架的能力。当前关于什么是新型生物技术的辩论导致对风险评估和政策制定的一些排斥，需要进一步强调进行这些关键对话的必要性。考虑到这点，需要建立包括技术评估培训和意识以及相关科学培训的框架，例如，在合成生物学教育初始阶段的高中（例如 iGEM）。潜在利益和风险将对整个社会产生影响，因此，有必要围绕无细胞合成生物学采用有效的规范和指南，这些指南应具有包容性，并且可以由监管或监测系统实施。

同时，本文还建议在全球范围内开展讨论，共同开发并立即实施主动的生物安全和安保措施，包括缓解战略和监测工具，防止无细胞系统的滥用。鉴于 COVID-19 目前的形势，应针对人造非致命病毒大流行潜力带来的经济影响，制定适当的政策和法规以及必要的缓解策略。这些措施对于充分发挥合成生物学的潜力，避免出现无细胞和类生命技术的进展因过度监管和缺乏社会许可而被推迟或停止。做好这一工作，不仅将促进指导原则的实施，还将有助于技术领域的跨越式发展，促进全球利益共享。

5. 全球监管对话

在国家和国际层面，有各种降低生物安保风险和最大限度减少生物安全威胁的政策。不同机构关注生物技术的不同方面，监管程度也因国家而异。这导致形成一个复杂和脱节的监管框架，其中可能存在空白或漏洞。对研究人员而言，难以识别和遵守相关法规。

目前，2020 年的《生物多样性公约》（CBD）侧重合成生物学产生的影响，包括国际范围内的基因编辑和基因驱动技术，而美国国防部更关注超级工程细菌形式的生物恐怖主义，以及其他机构讨论的转基因生物的一般影响。这些政策中，

尚不清楚无细胞系统或新兴的类生命技术在何处适用，也没有讨论它们的潜在利益和风险。虽然大多数协议都规定了活体修饰生物的使用，但该术语不包括无细胞和类合成生命系统（2019 年的 CBD）。

为了改善这种缺失，克服目前监管框架的脱节问题，建议由国际组织，如世界卫生组织、联合国或 CBD，评估正交无细胞合成生物和类生命系统的潜在生物安保风险。此外，可以建立一个独立机构用于评估下一代合成生物学的生物安全问题，这需要非营利组织的支持，参与相关活动（例如，联合国生物武器公约、卡塔赫纳生物安全议定书等）；也需要科学家参与，提供必要的技术建议，为政策制定提供信息。

生物核威胁倡议的生物安保部门（NTI:Bio）已经认识到，需要采取全球方案来评估新兴生物技术的影响，提议在 2019 年召开全球生物安全对话，形成了生物安保创新和风险降低倡议（BIRRI）。2020 年，他们又与世界经济论坛发布报告，建议改进 DNA 筛查程序，防止非法 DNA 的合成和滥用。近期，NTI:Bio 和 BIRRI 在继续讨论建立一个降低生物安保风险的全球实体机构。该计划的主要优先事项是创建标准，帮助资助者、受赠者和出版商识别生物风险并缓解风险。这样的机构可以对无细胞技术进行审查，协助应对未来的监管挑战。例如，如何对自我复制的人工细胞进行分类，区室化对调节有什么影响？无细胞系统是否应该根据其使用或应用进行不同的协调？如何评估两用方面取得进展的技术？这些系统的正交性如何影响检测，以及如何去除产生的有害生物制剂？使能技术或最终产品是否属于其原产国，以及这些对因技术获利的人有何影响？

随着无细胞合成生物学的发展和成熟，有必要制定适当的生物安全和安保措施，同时认识到这一生物工程领域可能带来的新发展。全球社会有责任就重要科学和技术进步进行讨论，并在早期寻求社会认可。由于无细胞生物技术的巨大潜力及其在未来解决全球问题方面的潜力，需要促进创新的同时，开展全球对话以确保负责任的应用。

刘晓 汪哲 编译自 *Biochemistry and Cell Biology*