

多细胞哺乳动物合成生物学技术标准的探讨

中国科学院上海营养与健康研究所

上海生命科学信息中心

上海市生物工程学会

2023年6月

多细胞哺乳动物合成生物学技术标准的探讨

编者按：合成生物学正在朝着生物工程多细胞哺乳动物系统的方向发展，这些系统有望推动组织工程、生物医学和食品工业的发展。尽管该领域已经取得了许多进展，但缺乏加速其进一步发展的标准框架。因此，英国爱丁堡大学生物工程研究所、英国哺乳动物合成生物学研究中心和美国南加州大学的研究人员于 2022 年 11 月发表在 *Trends in Biotechnology* 杂志的文章，讨论了当前合成生物学技术标准的局限性，对“合成多细胞哺乳动物系统”的定义与概念进行了阐述，并提出了关于多细胞哺乳动物合成生物学技术标准的抽象层次。

1. 合成生物学领域的标准

标准是在执行任务、交流信息和量化测量等方面多方商定的共识声明，或是有关产品与相关工艺过程的指南、要求和规范的正式文件。工程技术标准的重要性（建立于第一次工业革命期间）在于其支撑着全球供应链，通过预测产品的一致性、兼容性和互操作性，确保生产效率，并最大限度地降低缺陷率，以实现质量保证，从而推动商品的大规模制造。随着合成生物学进入商业化时代，该领域需要探讨标准在促进其负责任发展方面应该发挥的作用。

合成生物学应用工程学方法改造生物，重新调整或从头构建以人类需求为中心的生物模块、装置和线路，例如，合成生物燃料或监测疾病的生物传感器。遗传学和分子生物学的科学知识和技术进步的积累，实现了 DNA 的精确编辑或构建，并可以在细胞中引入定制基因以实现相应的功能和行为。目前的研究主要集中在 DNA 工程，使其在一种特定细胞类型中编程一种功能。因此，标准目前也主要涉及 DNA 操作（或极特定的细胞应用）技术的细微差别。标准化并没有涉及到工程化的多细胞哺乳动物系统（multicellular mammalian systems）。多细胞生物复杂行为的编程对科学、生物医学和食品生产都有深远的影响，例如多细胞联合体内部的相互作用、组织内细胞间通讯或组织的形态发生过程，但目前缺乏关于多细胞哺乳动物合成生物学的构成以及标准如何惠及这一领域的沟通和讨论。

该论文探讨了标准在哺乳动物合成生物学中的作用，重点关注多细胞实体（例如，结构化组织或群落），即针对一种或多种生物工程细胞类型进行的功能

改造,旨在探索技术方面更广泛的标准(landscape of standards)(图 1),并根据过去成功的案例和当前的局限性提出可能推动该领域的方向。



图 1 哺乳动物合成生物学标准概况及其与自然科学和社会科学的关系

图注：箭头代表合成生物学产品从设计和制造（主要由自然科学负责）走向市场或临床和商业化（主要由社会科学负责）的广义流程。图中列出的属于自然和社会科学的领域和主题，可能会从标准应用中受益；展示的概况是为了鼓励该领域在未来讨论中进行迭代修改。

2. 合成生物学标准的局限性

目前,合成生物学的标准化主要集中在建立特征明确的 DNA 元件(启动子、核糖体结合位点、基因、终止子等)的储存库,以及将元件组装成有功能的遗传装置的技术方案(实验方案)。质粒构建系统通过利用现代分子克隆技术、标准化“元件连接器”和基准组装性能,使标准化 DNA 元件组装到哺乳动物基因表达构建体中。这些元件和实验方案系统不能作为标准被广泛采用,其中的部分原因是标准化的 DNA 元件和组装方案通常无法适应高度特异性的实验目标,需要进行定制化的克隆。

重要的是,标准化的克隆系统也不能保证哺乳动物细胞的标准化输出。例如,

最大化转基因表达或诱导能力取决于启动子的性质,可以使用计算和分子方法来设计具有理想特性的启动子,但转基因表达也会受整体结构(拓扑/结构)中各部分相对位置的影响:当多个转基因(每个转基因都携带自己的启动子)在同一个构建体串联转录时,每个转基因沿序列的位置和相邻启动子的活性都将会影响转录的输出。即使对于瞬时表达系统,多个转基因之间的化学计量对产量和质量也很重要;在体细胞重编程为 iPSCs 的过程中控制转录因子的化学计量已被证明是优化重编程效率和获得干细胞发育潜能的关键。这些发现突显了影响合成装置的生化和生物因素,反映了在细胞水平上需要更全面地考虑标准,而不是标准化底层的克隆组件,因为这可能会限制制造的灵活性和创新性。

生物工程师如何控制影响预期产量的细胞参数?如果输出变化由所有输入参数的变化组成,那么标准化最初应该侧重在少数输入参数和限速因素,这些因素是造成输出变化的主要原因。这方面存在一定挑战:首先是环境依赖性,即哪些是限速参数,不同基因组在具有不同生理学的不同细胞类型中的表达可能都有所不同;其次是正交性,即改造过的遗传组分和反应环境(底盘细胞)之间的相互作用是不可预测的,只有通过迭代再修饰来控制。虽然一些正交性可以通过转基因和宿主之间的错配来实现,但许多以哺乳动物为中心的应用需要基因在其天然环境中表达,因为许多蛋白质是由哺乳动物细胞提供翻译后修饰的。因此,标准可能与宿主细胞相关,例如,表征最常用的哺乳动物细胞系并建立相应的转录组学或蛋白质组学数据库。这也有助于研究人员识别和绕过与宿主容量和正交性相关的问题。或者,由非标准化元件组装的遗传装置,通过主动设计调节反馈网络可以极大地减少其变异和提高稳健性。最后,哺乳动物细胞表现出动态不稳定性,其根源在于表观遗传调节机制和基因突变,这些机制和突变驱动转基因沉默和连续培养进化。针对这些挑战的细胞生物工程解决方案正在积极探索中,但细胞和组织工程的发展现状要求对标准进行更全面的考虑(信息框 1)。

信息框 1 细胞/组织工程标准的案例研究

CAR T 细胞（嵌合抗原受体 T 细胞）

CAR T 细胞是哺乳动物合成生物学中最具代表性的产品。2022 年 3 月，美国食品药品监督管理局（FDA）发布嵌合抗原受体（CAR）T 细胞产品开发注意事项，这是一份确保产品质量、安全性、一致性和符合监管要求的建议草案。例如，第 VB 章节就建议从亲和力、特异性、免疫原性和脱靶毒性潜力方面分析抗原识别区域，并且 T 细胞的表征就在于细胞因子分泌分析、不受控制增殖以及抗原依赖的细胞毒活性。由于神经毒性是 CAR T 细胞治疗的主要副作用，这些要点至关重要。强调标准在保护产品关键质量属性方面的重要性的案例是，在 CAR T 细胞制造过程中，带有 CTL019 白血病 B 细胞（CAR T 新药，商品名为 Kymriah）会因意外慢病毒感染而导致患者复发和死亡，这使得白血病克隆对治疗具有抗药性。因此，从药物疗法向细胞疗法过渡过程中，增加对标准的关注至关重要。类似的标准可能也在基于组织的产品上进行试点。主动制定标准可以让科学家加快产品表征，优化、一致性、安全性和监管审批。最终，标准可以帮助强化合成生物产品制造的关键质量属性和优化关键工艺流程。

类器官（organoids）

利用干细胞培育微型器官为组织生理学、疾病建模和个性化医疗提供了新的窗口。现在，人们正在努力表征和标准化已建立的类器官模型，这反映了固有的可变性会严重影响制造效率以及相关的分析和解释。例如，大脑类器官自我模式化的自主发育需要一定程度的随机性，这种随机性带来了非侧胚轴解剖学和细胞的总体差异。由于非标准化培养成分、方案差异、细胞系遗传学和（潜在的）表观遗传学，不同批次和细胞系之间的衍生效率差异很大，由此产生的不一致阻碍了对健康和患者来源类器官的比较。通过广泛采用单细胞转录组分析对类器官样组成比较，更加强调表征化的重要性。标准化正在通过生物工程水凝胶、基质和培养形式得到改善，这些形式可以对类器官的大小和几何形状进行可扩展的控制。由于缺乏非侵入性标准分析和定量指标，复杂的关键质量属性（如解剖顺序）的成本效益基准测试受到了限制。类器官研究的挑战和努力反映了对组织学和解剖学上真实的多细胞产品制造过程的可重复和一致性的需求，突出了标准的重要。

可以应用分层抽象原则来弥合当前标准局限性和生物系统复杂性之间的差距。该文提出了一个抽象层次，将合成多细胞实体的标准化细分为 4 个层次：基因、细胞、多细胞和方法学（图 2）。使用此框架作为指导工具，可以探索标准化如何使多细胞生物工程受益，以及如何取得进一步进展。

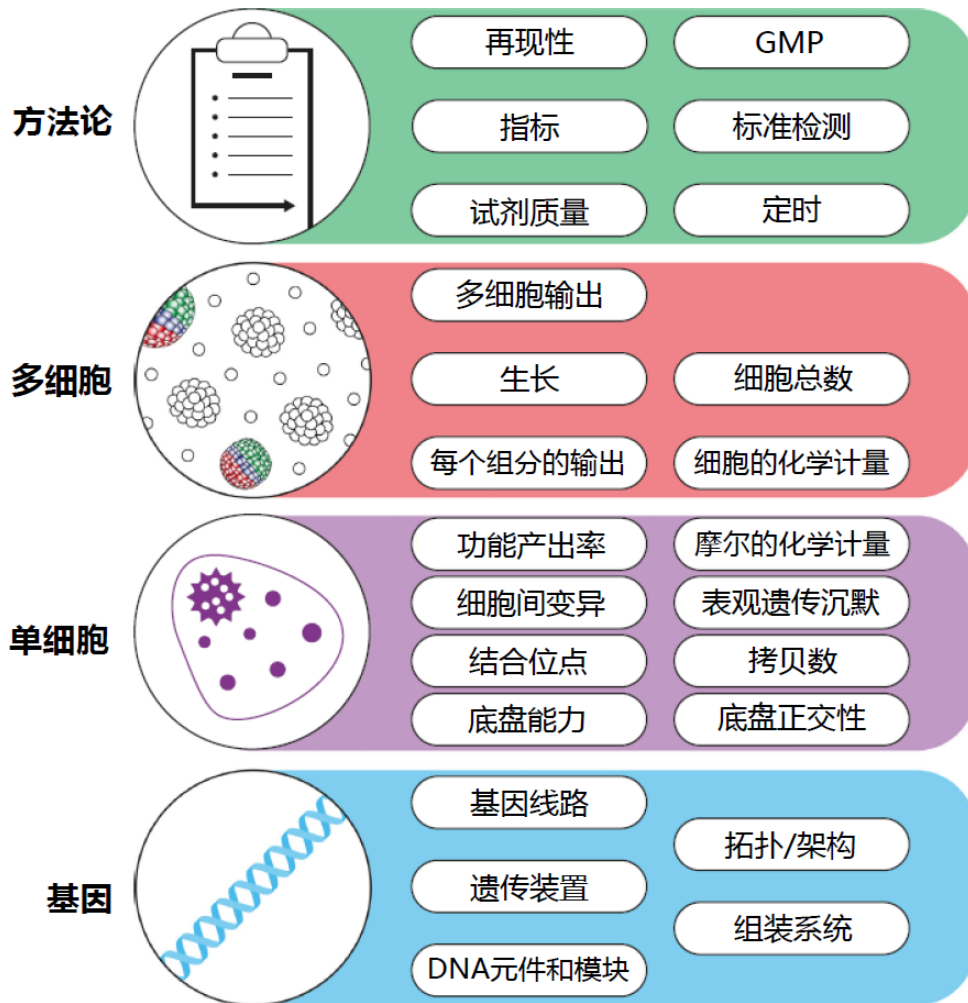


图 2 多细胞哺乳动物合成生物学技术标准的抽象层次结构

注：GMP：良好生产规范

层级结构包含了 4 个复杂性递增的层次（基因、细胞、多细胞、方法学），每个层次同样需要自下而上的复杂性递增的层次和操作方向性层次。各层次负责自身参数（层）的标准化，以服务相邻的层次，并且不关注其他级别参数的标准化。多细胞输出，如聚集形态或细胞组成与图案，依赖于制造系统的化学计量和细胞总数，以及每种细胞类型的相对生长率和生物工程输出。反过来，每种细胞类型（组分）的功能输出由细胞水平的参数决定，这些参数是利用基因水平产生的 DNA 构建体。它们的共同目的是优化最终目标，并且需要各层次之间有专用通信通道来促进迭代。

3. 合成多细胞哺乳动物系统

生物工程多细胞哺乳动物系统在合成生物学中是相对新兴的领域。该文将合成多细胞哺乳动物系统（synthetic multicellular mammalian systems）定义为不同的多细胞实体（例如，群落、组织、聚集体），它们表现出在单独组成细胞时没有的特殊表型，并且至少包含至少一种已经工程化的细胞类型，该类型有与系统表型相关的基因型。合成多细胞系统分为 3 大类：①从单细胞群落中产生的系

统, 由于生物工程而自主展现出多细胞功能。②从多种细胞类型或生物工程变体中产生的系统, 在共培养时表现出新表型。③由于操纵物理或化学特性的技术(例如, 生物打印、微图案、将细胞接种到支架上)而形成的技术结构。本文将研究与生物标准最相关的基因-细胞生物工程类别的①和②, 而不是源于物理和化学工程类别的③。随着该领域的发展和群体开始重叠, 生物标准会变得很重要, 例如, 生物启发的软机器人和生物混合组织构建时, 其中适合基因工程的胚胎细胞和心肌细胞与生物材料支架相结合, 可以创建拥有自主或光遗传控制的水生运动的多细胞系统。

3.1 单组分系统

多细胞实体可以通过引入合成基因线路来构建, 该线路将多细胞行为编码到一个细胞系中, 从而创建一个单一的遗传变体, 可以自主产生具有不同特性的多细胞群落。例如, 将同一群体分成不同状态的信号系统, 以及可以介导细胞多样化和分离的转录因子线路, 使其进入多种离散状态。这些工具可以通过编程并发的命运原则 (concurrent fate specifications) 或逐步执行形态发生模块来推进组织工程。

在这种情况下, 多细胞实体的一致行为可能与影响绝对表达、相对化学计量和构成线路的转基因功能的标准化直接相关, 这些因素也使线路与选择的宿主细胞相关。例如, 在合成的横向抑制系统中, 细胞可以采用在配体呈递 (δ -2A-mCherry) 或受体激活 (Notch 激活 tTS-2A-GFP 并抑制 δ) 中占主导状态, 从而将同一群体分为两种不同状态。中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞宿主需要额外的工程化才能使线路发挥作用。为了促进 δ -显性细胞向 Notch-显性细胞的转化, 人为增加 Notch 的内源性基线表达, 根据 tTS-2A-GFP 的诱导强度筛选克隆, 并添加糖基转移酶 *Lfn3* 以稳定 δ -Notch 的相互作用。类似地, 为了使合成的 Nodal-Lefty2 系统正常工作, 需要将合成的 Nodal 共受体和换能器引入天然缺乏它们的 HEK293 细胞中。因此, 可以通过建立常用细胞系的基因表达谱来促进生物标准化, 以便根据它们天然表达的分子系统组分来表征潜在的宿主。可以创建大型遗传装置 (如人工染色体), 使其能够引入所有组件并重建整个信号系统, 而不考虑宿主能力如何, 但实际上这是一项极具挑战性的任务。在表达产量和整合拷贝数方面, 对技术系统 (如基因组编辑技术或整合载体) 进行基准测试, 也可以使

研究人员更好地控制所需产出。总体而言,单组分多细胞系统主要受益于“细胞”和“基因”抽象层次的标准(图 2)。

3.2 多组分系统

复合系统可以从在共培养中相互作用的不同生物工程细胞类型中产生。受差异粘附假说的启发,该假说规定粘附性不同的细胞可以自发地相互分选,可以通过基因水平调节粘附来建立自组织的多细胞群落。经生物工程改造的 HEK 细胞经在共培养过程中合成表达 E-钙粘蛋白或 P-钙粘蛋白,在贴壁或悬浮条件下形成了相分离图案群落。同时,合成配体-受体系统(SynNotch)可以形成多细胞群落,其中绿色荧光蛋白(GFP)呈递的“发送者”细胞簇介导周围 SynNotch“接收器”细胞改变其状态,形成放射状图案的多细胞群落。集成多个系统的复合装置已经出现,例如,由 SynNotch 控制的钙粘蛋白介导的分选,或重新配置 SynNotch 以构建多细胞组中的合成远程信号系统。这些系统允许对多层形态发生程序进行编程或重新信号机制,使研究人员能测试胚胎发育的原理并推进组织工程发展。事实上,这种合成系统可以与干细胞结合使用以控制其分化。

除了基因和细胞水平的参数,多组分系统的表型还取决于多细胞水平的参数(图 2),例如不同细胞类型混合在一起的相对输出和比率。目前也许是计量学能给这些系统提供的最大帮助。在最初的工作中,Foty 和 Steinberg 通过平行板压缩方法测量聚集体表面张力,并将表面张力与细胞表面钙粘蛋白数量相关联,以估计多细胞粘附性。然而,在合成 E-钙粘蛋白/P-钙粘蛋白分离图案系统中,目前尚不清楚两个工程化群体在表面张力或钙粘蛋白数量上有何不同,需要多大的差异驱动它们分离,或者这些参数的变化如何影响图案形貌。Foty 和 Steinberg 的工作为计量标准提供了一个范例蓝图:将分子输出读数标准化到标准尺度,在可追溯组分测定功能输出,将分子与功能输出相关联,并根据多细胞最终目标测试模型。因此,计量标准为合成生物学的实验设计和执行带来了诸多益处(信息框 2)。一个重要的问题是,与分子特性相反,多细胞功能输出很少能表征到标准度量存在的程度:图案形成或形态发生是视觉感知直观的涌现特性,相关性标准很少。形态计量学(例如,胚胎或组织中的结构顺序)的发展在提高多细胞表型的计量学标准方面具有显著意义,将有助于促进人们理解、控制和合理设计多细胞系统以达到明确规范的能力。标准指标也有助于理论建模;明确定义的

分子特性已经被广泛模拟并用以理解反应-扩散系统和图灵模式，粘附介导图案中的类似模拟也可以指导合成形态学。

信息框 2 标准指标的优势

- 指导理性设计并关闭设计-构建-测试循环：了解预期结果所需的功能输出，以及与每个细胞中分子数量的关系，可用于设定分子靶标范围并优化设计以达到规格。
- 减少筛选时间：使用标准程序和指标分析生物工程细胞系，可加速所需克隆的鉴定，节省时间和金钱。
- 实现质量控制：标准测定和指标是确保合成模块和设备表达、适当定位并按预期运行的良好步骤。
- 提高再现性：标准指标促进了标准测定，阐明了合成行为或实验在重复或修改后是否可再现。
- 促进跨抽象层次级别的通讯：清晰的指标创建的参考语言，所有抽象层次都可以理解（图 2），进而促进通讯。
- 加速迭代：清晰的度量标准简化了所需输出优化的通讯，使研究人员清楚地了解迭代修改的效果。
- 为理论建模和模拟提供信息：使用来自实验的清晰、非随机的值为理论模型提供信息，可以更好地理解所研究的过程，也会使模拟更真实，从而加速符合规范的设计以及从计算机到体外的转换。

3.3 合成胚胎学：多组分系统案例研究

合成胚胎学旨在通过使用干细胞构建类似胚胎的模型结构（stembryos）并在体外重建胚胎发育的各个方面。虽然一些模型是通过技术操作（例如，定时提供配体或缩微成像）实现的，但一些新的系统，例如，转录因子的合成过表达可以用于促进通过共培养进行聚集的多种干细胞类型。这种是多组分合成的多细胞系统。不同模型的丰富性引发了是否需要普遍接受的命名方案的讨论，并通过理论发展全景图（notional developmental landscape）描述每个模型如何与真正的胚胎发生关联。从某种意义上说，这是对标准的呼吁：命名规则是元数据标准，胚胎是参考标准，理论发展全景图是标准地图。这些标准可以描述这些模型的相关性和重要性，并帮助科学家理解胚胎发生的基本原理。

该图谱及其规模可能基于不同发育点的转录组学的比较，例如，比较 stembryos 和天然胚胎之间的时间基因表达。这也是正在进行的类器官研究，其中类器官单细胞 RNAseq 数据被映射到参考数据库或体内对应物的原位杂交图谱，这有利于判断发育阶段、区域身份的注释、去卷积、分化轨迹的重建，以及探索类器官中未知的细胞群体。将类器官细胞图谱用于人类类器官细胞表征和数据研究，是利用和建立转录组学数据库作为参考标准的例证。事实上，将类器官

数据集与器官转录组数据库进行生物信息学比较，并利用合成生物学纠正差异，是可以提高类器官成熟度的。鉴于已有原肠胚形成的单细胞转录图谱，类似的框架也将适用于合成胚胎学。

构建理想的胚胎结构在目前技术层面上是低效的，因为干细胞聚集体是异质的，但可以通过考虑多细胞标准来改善。例如，iETX 胚胎再现了导致哺乳动物体形成的关键事件，为研究胚胎发生原理和体外创造胚胎提供了前所未有的机会。该研究面临一个重要挑战，即只有一小部分多胚胎层细胞聚集体发育成 iETX 胚胎。这就提出了一个问题：在总细胞数、细胞化学计量，以及合成表达转录因子水平的细胞数量等方面，是否所有聚集体都是相同的？这取决于诱导输出水平的分布，因此也就取决于生物工程标准（图 3）。这些注意事项反映了抽象层次中“多细胞”和“细胞”层次的标准（图 2）。标准化生物工程细胞和聚集体对于提高效率 and 了解胚胎的细微差别非常重要，类似于标准化培养成分、血清、生长因子和细胞外基质底物在可重复性方面的重要性。stembryos 和可移植类器官离普通消费者还很远；合成多细胞产品商业化的框架标准需要贴近市场的案例。

3.4 细胞农业标准

由于对动物福利、肉类生产的环境影响以及日益增长的食品安全的担忧，“培养肉”的概念（使用生物反应器中培养的工程细胞培养用于消费的动物物质）越来越受欢迎。从技术上讲，细胞农业试图从各种来源（如原代肌肉干细胞、胚胎干细胞或转分化的体细胞）中获得高产量的动物骨骼肌细胞。海洋动物细胞和真菌菌丝体也被推广为“培养肉”。除真菌菌丝体外，使用各种支架可以使培养物生长到几毫米厚。培养肉在短期内不可能提供与天然肉相同的口感和营养价值，将脂肪细胞纳入培养过程的尝试才刚刚开始。除产品成分，目前还不清楚使用哪些指标来衡量肌管衍生和质量保证，或者最终产品残留多少制造过程中存在的化学物质（例如，激素、抗生素）。动物伦理和可持续性是该行业的两个主要驱动因素，企业应报告合成每千克生物物质相对于自然生产生物物质的能源、水和碳排放的消耗情况，并实现大规模无血清生产。总体而言，需要制定标准来解决产品组成、质量、安全和制造等问题（图 4）。然而，谨慎的做法可能是不完全依赖标准化细胞，因为适应了主细胞系的抗药性寄生虫可以很容易在基因相同的培养物中传播。

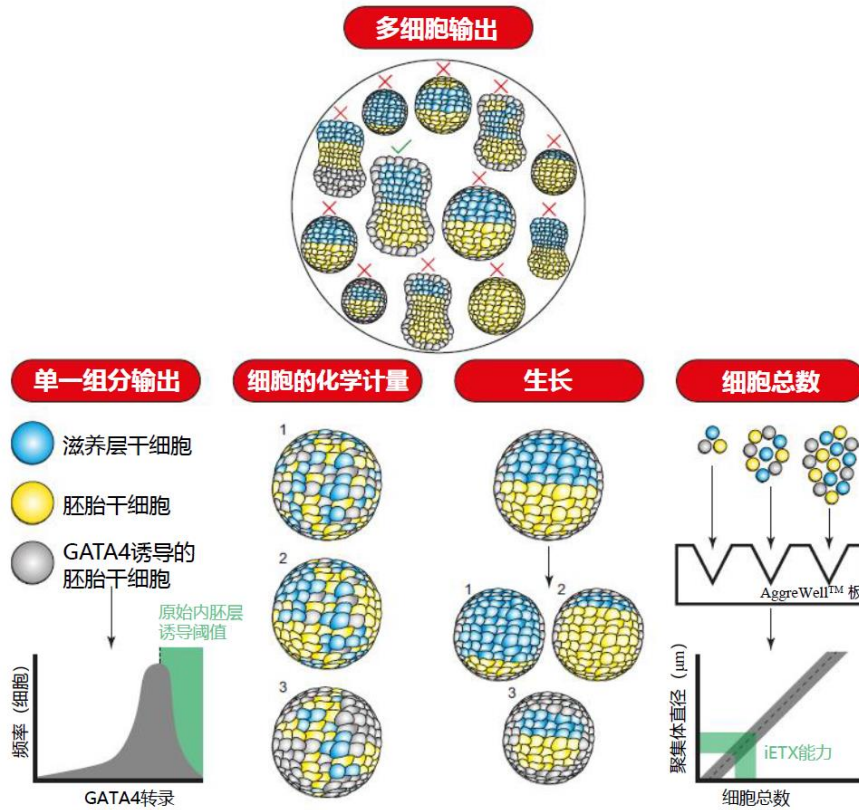


图 3 多组分系统的多细胞合成生物学标准 (以 iETX 胚胎为例)

注：多细胞输出：3 种组分（滋养层干细胞、胚胎干细胞、GATA4 诱导的胚胎干细胞）用于制造 3D 多细胞聚集体，其中一小部分产生合成 iETX 胚胎。每个单一组分输出：如果转基因系在 GATA4 诱导水平上显示细胞间变异性，并且假设转化为原始内胚层需要细胞表达的 GATA4 超过某一阈值，那么携带相同数量的 GATA4 诱导型细胞的不同聚集体可以通过采样误差而具有不同比例的原始内胚层。细胞的化学计量：不同的聚集体在滋养层干细胞、胚胎干细胞和 GATA4-胚胎干细胞的比例方面可以有可变的组成（①每种成分都有相似表达；② GATA4 诱导的胚胎干细胞表达不足；③滋养层干细胞表达不足）。生长：理论上，细胞各组分之间生长速率的差异可能导致不同的多细胞结果（①滋养层干细胞生长速率超过其他成分；②胚胎干细胞生长率超过其他成分；③GATA4-过表达细胞生长率超过其他成分）。细胞总数：产生所需 iETX 表型的聚集体能力可能需要在特定的大小范围内，这与最初形成聚集体的细胞总数直接相关。

起始材料

输入细胞范围	初始细胞类型	工作细胞
<input type="checkbox"/> 陆生生物 <input type="checkbox"/> 海洋生物 <input type="checkbox"/> 真菌 品种/品系: _____	<input type="checkbox"/> 成体干细胞 <input type="checkbox"/> 体细胞 <input type="checkbox"/> 胚胎干细胞 <input type="checkbox"/> 诱导多能干细胞 <input type="checkbox"/> 其他: _____	品系: _____ 传代数: _____ 倍体: _____ 供体: _____ 物种来源: _____

方法

遗传修饰	化学品使用	每100g产品所含mg量
<input type="checkbox"/> 基因修饰 <input type="checkbox"/> 删除 <input type="checkbox"/> 替换 <input type="checkbox"/> 加入 拷贝数: _____ 修饰位点: _____ 描述: _____ 矢量: _____ 目的: _____	抗生素: _____ _____ 激素: _____ _____ 添加剂: _____ _____	_____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____
<input type="checkbox"/> 永生	_____ _____	_____ _____

产品

产品的细胞类型	占最终产品的百分比	筛选测定/指标
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

每kg产品成本	营养成分	每100g产品
能源 (MJ) : _____	能量	_____ kJ / _____ kcal
水 (L) : _____	脂肪	_____ g
CO ₂ 排放量 (in kg) : _____	饱和脂肪	_____ g
	碳水化合物	_____ g
	糖类	_____ g
	纤维素	_____ g
	蛋白质	_____ g
	盐	_____ g

监管

符合良好生产规范
 无菌培养认证

监督人: _____
 检查日期: _____

图 4 合成生物学产品进入食品市场的推测性文件标准

本文档的目的是总结有关细胞农业产品及其制造过程的关键信息，并将这些信息传达给科学家、供应链上的非科学人员、监管机构和消费者。读者可能不会完全理解此表格的所有内容；文档的重要性在于自由和责任地向相关人员提供重要信息。应该注意的是，这种形式绝不是详尽的（例如它不考虑标签标准），而是供社区自由实施或迭代修改的基础。

细胞农业的立法和监管标准正在制定中。美国 FDA 和美国农业部食品安全检验局 (USDA-FSIS) 将共同监管几乎所有制造材料和工艺，包括包装和标签。具体细节尚不清楚，但细胞农业从业者可以研究用于生产单克隆抗体或病毒疫苗的细胞底物的鉴定指南。这些标准要求对主细胞库、工作细胞库和生产终末细胞进行细菌、真菌、病毒的无菌培养测试，并清除病毒载体和内毒素。可能还包括

物种特异性测试，例如，培养的鸡细胞对沙门氏菌或 Rous 肉瘤病毒的抑制性。此外，还有细胞系真实性（包括原产地物种、身份和无交叉污染）的要求，这可能对受保护的原产地产品的认证至关重要。

目前，尚不清楚有意改变基因组 DNA 和整合动物重组 DNA 的指南是否适用于细胞农业。根据 FDA 行业指南（#187 草案），“旨在影响动物身体结构或功能”的 DNA 制品有资格作为新的动物药物。为了认证安全性，每种药物都需要新的动物药物申请（NADA）批准。每个特定位点上的每一个特定 DNA 的改变都视为新药，需要单独的 NADA。如果转移到培养肉上，单独的转化事件或在不同位点携带 DNA 改变的群落将需要单独的 NADA 批准。此外，基因工程动物在非连续世代中的表型取样，必须证明其可食用组织成分与通常且安全的可食用对应物成分一样安全。如果这适用于培养肉，一致的细胞系行为和产品成分将是产品批准不可或缺的一部分。行业主导的标准可以解决位点特异性基因组改变、克隆扩增品系的遗传和表型特征、生物工程品系的稳健性以及产品组成的一致性。对于基因工程产品的标签，立法标准包括美国国会报告 R46813（涉及国家生物工程食品披露标准），以及欧盟新型食品条例。由于公众观点两极分化严重，标签标准对培养肉品来说至关重要，早期需要高度重视政府的批准，同时，标签标准必须免受营销的误导。AquAdvantage 公司的三文鱼，稳定整合的转基因驱动了源自大鳞鱼生长激素的表达，进而实现了快速生长，这可以作为转基因工程动物监管的范例。

4. 总结

合成生物学的进步将带来前所未有的科学突破和新的消费产品（例如，合成胚胎、改良类器官、“培养肉”等）。对科学家和生物工程师来说，可以使用抽象层次结构来指导技术标准（图 2）。建立细胞转录组数据库（参考标准）可以帮助科学家绕过环境依赖性和正交性障碍，计量标准可以促进理性设计，改善对分子和表型输出的控制，提高生物工程的成功率，并实现科学家之间以及行业与公众之间的沟通，但是，应该批判性地评估标准，而不是盲目采用。上述观点可能不仅与组织规模的系统相关，而且与真核细胞亚区（如细胞器）或整个多细胞生物（如转基因蚊）的生物工程相关。

最后, 需要强调的是, 这一新的生物工程浪潮的成功和负责任地发展将依赖标准建立的跨学科背景, 需要呼吁不同领域的专家聚集在一起 (图 1)。因为合成生物学创造出颠覆性工具的潜力, 将从根本上推动人们对主要生物和生物医学过程的控制。希望生物工程界的专家共同努力, 确定主要问题的战略解决方案, 并通过专项资金建立团队, 推动生物工程的标准工作 (信息框 3)。

信息框 3 待解决的问题

哺乳动物细胞宿主是否可以通过合作项目、专项资金和非营利细胞库来表征和标准化? 转录组学或蛋白质组学数据库可以作为评估宿主能力和正交性的标准参考, 从而成功评估生物工程的宿主能力。对于多细胞系统, 胚胎和器官的图谱同样可以作为标准来评估合成胚胎模型和类器官的真实性。

标准组件或计算逻辑网络能否使合成设备的行为标准化, 从而稳健地激活基因调控网络和信号线路? 优化此类设备的标准将是确保稳健性并将其推向临床或市场不可或缺的一部分。

可以制定哪些标准来定量描述复杂的多细胞表型 (例如解剖顺序)? 这需要来自学术界、工业界和各国家测量机构的生物学家、工程师和 (生物) 物理学家的国际合作。计量学的进步还可以使合成生物学以外的领域受益, 例如, 高内涵类器官筛选。

立法和监管标准应如何为潜在的合成生物学产品 and 应用走向公众铺平道路? 立法和监管机构可能会制定涵盖细胞采购、细胞系认证、无血清制造、可持续性、产品标签和非专有信息文档记录等方面的标准。

刘晓 马雪晴 编译自 *Trends in Biotechnology*