Synthetische Biologie

4. Bericht der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS)

Zeitraum: 2022 – 2025

ZKBS
Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit

Az. 08020207.0001.0005; September 2026

Bildnachweis: © VectorMine/stock.adobe.com

Inhalt

1 Einführung....4

2 Entwicklungen in den Forschungsfeldern der Synthetischen Biologie und Bewertung durch die ZKBS....4

2.1 Synthese von Genen und Genomen....5

2.2 Synthese molekularer Schalter und genetischer Schaltkreise....6

2.3 Synthese maßgeschneiderter Stoffwechselwege....8

2.4 Proto-, Minimal- und synthetische Zellen....9

2.5 Xenobiologie....10

2.6 Methoden mit Einfluss auf die Synthetische Biologie....10

2.7 Synthetische Biologie mit Anwendungsperspektiven....12

3 Literatur....13

1 Einführung

Die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) führt seit mehr als 15 Jahren ein Monitoring der Synthetischen Biologie durch, um aktuelle wissenschaftliche Entwicklungen sachverständig und kritisch zu begleiten und hinsichtlich der biologischen Sicherheit zu bewerten. In den Jahren 2012, 2018 und 2022 wurde jeweils ein Zwischenbericht zu diesem Monitoring veröffentlicht. Während sich der erste Bericht auf Forschungsaktivitäten in Deutschland konzentrierte, betrachten die nachfolgenden Zwischenberichte die wissenschaftlichen Entwicklungen weltweit.

Seit 2018 werden auf der ZKBS-Homepage zudem jährlich ausgewählte Publikationen vorgestellt, die nach Ansicht der ZKBS besonders typisch und relevant für die von der ZKBS definierten Forschungsfelder der Synthetischen Biologie sind.

Der vorliegende vierte Bericht stellt die Entwicklungen in den verschiedenen Forschungsfeldern der Synthetischen Biologie vor, basierend auf den von der ZKBS für die Homepage ausgewählten Publikationen der Jahre 2022 bis 2025. Weiterhin bewertet die ZKBS, ob die Entwicklungen hinsichtlich einer potenziellen Gefährdung der biologischen Sicherheit vom Geltungsbereich des Gentechnikgesetzes (GenTG) bzw. den entsprechenden Europäischen Richtlinien abgedeckt werden. Arbeiten zur Erschaffung von Spiegelleben stellen gegenwärtig keine Gefahr für die biologische Sicherheit dar, da die technische Erzeugung selbstreplizierender Spiegelorganismen noch nicht realisierbar ist. Das Gefährdungspotenzial, das von einer künftigen Realisierung ausgehen könnte, lässt sich derzeit noch nicht abschließend bewerten.

Für eine Einführung in den Bereich der Synthetischen Biologie wird auf die bereits veröffentlichten Berichte verwiesen.

2 Entwicklungen in den Forschungsfeldern der Synthetischen Biologie und Bewertung durch die ZKBS

Bislang existiert keine allgemeingültige Definition der Synthetischen Biologie, da sie keine eigenständige abgrenzbare Wissenschaft darstellt. Stattdessen handelt es sich um eine Verschmelzung vieler Fachgebiete mit unterschiedlichen Zielen. Die ZKBS konzentriert sich in ihrem Monitoring auf sieben Bereiche, die von der ZKBS als die Forschungsfelder der Synthetischen Biologie aufgeteilt wurden. Diese sind:

- Synthese von Genen und Genomen
- Synthese molekularer Schalter und genetischer Schaltkreise
- Synthese maßgeschneiderter Stoffwechselwege
- Erzeugung von Proto-, Minimal- und synthetischen Zellen
- Xenobiologie
- Methoden mit Einfluss auf die Synthetische Biologie
- Synthetische Biologie mit Anwendungsperspektiven

Der letzte, siebte Bereich ist seit dem letzten Monitoringbericht neu hinzugekommen. Vorgestellt und bewertet werden Arbeiten, die basierend auf Grundlagen der Synthetischen Biologie bedeutende potenzielle Anwendungsperspektiven aufzeigen.

Im Folgenden werden die Ergebnisse des kontinuierlichen Monitorings seit dem Jahr 2022 kurz zusammengefasst. Ausführliche Zusammenfassungen zu einem Großteil der Publikationen sind auf der Homepage der ZKBS zu finden.

2.1 Synthese von Genen und Genomen

Wie bereits in den ersten Berichten beschrieben, wurde auch in den letzten Jahren die Entwicklung synthetischer Genome weitergeführt. So wurde beispielsweise das *Synthetic Yeast Genome Project* (Sc2.0) vorangebracht, das inzwischen alle 16 Hefechromosomen sowie ein 17. *de novo*-Neochromosom synthetisch hervorgebracht hat [1]. Neue Ansätze zur Konstruktion synthetischer Chromosomen ermöglichen zudem die Assemblierung großer DNA-Fragmente, den schrittweisen Austausch von Genomabschnitten sowie die Übertragung künstlicher Chromosomen in neue Wirte [2–4]. Dabei konnte u. a. ein *de novo* entworfenes synthetisches akzessorisches Chromosom zur Erweiterung des Stoffwechselnetzwerkes in Hefestämme eingebracht werden [4]. Erstmals wurde ein synthetisch entworfener Chromosomenabschnitt in einem mehrzelligen Organismus, dem terrestrischen Moos *Physcomitrium patens*, erfolgreich in dessen natürliches Genom integriert [5]. Darüber hinaus wurden Methoden zur Genom-Recodierung in menschlichen Zellen etabliert, bei denen Stoppcodons durch *multiplex base editing* ersetzt wurden [6]. Es wurde ein DNA-Recorder (peCHYRON) vorgestellt, der in der Lage ist, in Säugetierzellen ein vorübergehendes biologisches Ereignis durch gezielte, dauerhafte Genom-Editierungen aufzuzeichnen, welches später mittels DNA-Sequenzierung ausgelesen werden kann [7]. Zudem ermöglicht das KI-gestützte Sprachmodell für die Genomik, Evo 1.5, die Generierung neuartiger (*new to nature*) funktioneller Gene und biologischer Systeme [8]. Generative DNA-Sprachmodelle ermöglichen dabei zunehmend ein funktionsgeleitetes Design von Genen, deren Sequenzen keine signifikante Ähnlichkeit zu natürlichen Genen gleicher Funktion mehr aufweisen müssen. Damit kann sich die biologische Funktion zunehmend von einer Zuordnung zu bekannten Spendersequenzen auf Protein- und DNA-Ebene entkoppeln [9].

Bewertung der ZKBS:

Wie bereits in den letzten drei Zwischenberichten beschrieben, entwickeln sich die Möglichkeiten zur Synthese kompletter Genome ständig weiter. Ein *de novo*-Design von kompletten Genomen wurde jedoch weiterhin nicht vorgenommen, die *in vitro* synthetisierten Genome orientieren sich immer noch stark an den natürlichen Vorbildern. Dadurch ist eine vergleichende Risikobewertung weiterhin möglich. Es wurden allerdings inzwischen neuartige Gene entworfen, die sich von keinem Spenderorganismus mehr ableiten lassen. Mit weiterer Leistungsverbesserung generativer KI-Modelle wird daher neben der Sequenzähnlichkeit künftig auch die vorhergesagte oder experimentell bestimmte Funktion synthetischer Nukleinsäureabschnitte für die Risikobewertung zunehmend an Bedeutung gewinnen.

Aus Sicht der ZKBS ist die Risikobewertung von GVO, die unter Einsatz von *new to nature*-Nukleinsäureabschnitten hergestellt wurden, nach dem geltenden Gentechnikrecht auch dann möglich, wenn diese Nukleinsäureabschnitte keinem Spenderorganismus zugeordnet werden können (vgl. § 4 S. 1 Nr. 1 lit. d GenTSV). Die Risikobewertung erfolgt dann basierend auf § 5 GenTSV in Verbindung mit Anlage 1, wobei insbesondere die bekannten und vorhersagbaren Informationen über den überführten Nukleinsäureabschnitt berücksichtigt werden (vgl. § 5 Abs. 1 Nr. 2 GenTSV in Verbindung mit Anlage 1 Nr. 2.1 lit. b). Demnach kann der GVO auch einer höheren Risikogruppe zugeordnet werden, wenn nicht auszuschließen ist, dass ein übertragener Nukleinsäureabschnitt das Gefährdungspotential des GVO erhöht.

Die reine *in vitro*-Synthese von Genen und Genomen fällt nicht unter das GenTG, solange die hergestellten Nukleinsäureabschnitte nicht in lebende Organismen eingebracht werden. Werden neu synthetisierte und modifizierte Gene oder Genome in lebende Organismen eingebracht, stellt dies eine gentechnische Arbeit gemäß GenTG dar. Entstehen dabei Organismen, die nicht unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzen oder natürliche Rekombination erzeugt werden können, dann sind dies GVO.

2.2 Synthese molekularer Schalter und genetischer Schaltkreise

Es wurden fortschrittliche Ansätze zur Steuerung von CAR-T-Zell-Therapien präsentiert, darunter logikgesteuerte LINK-CARs [10], Ausschalter-Adapter für universelle CARs [11] und CARs mit synthetischem Intramembran-Proteolyse-Rezeptor (SNIPR), der CAR-T-Zellen zu soliden Tumoren lotsen kann [12]. Weitere neue synthetische Rezeptorsysteme umfassen einen in Pflanzen etablierten Photorezeptor, der durch blaugrünes Licht aktiviert wird und auch in Pro- und anderen Eukaryoten anwendbar ist [13], sowie einem System, das auf zwei Rezeptordomänen (einer Protease und einem freisetzbaren Transkriptionsfaktor) basiert und sensitiv auf adaptierbare extrazelluläre Proteinsignale mit einem maßgeschneiderten Output, z. B. ein Fluoreszenzsignal, reagiert [14]. Im Bereich der Biosensorik wurden Proteine entwickelt, deren Fluoreszenz sich in Abhängigkeit von einem äußeren Magnetfeld verändert [15], sowie Bakterien, die auf bestimmte Umweltreize mit der Ausbildung charakteristischer Schwarmmuster reagieren [16]. Die künstliche Genregulation wurde erweitert durch eine neuartige Klasse von Riboregulatoren, die sogenannten *split-intron enabled trans-splicing riboregulators* (SENTRs) [17], sowie durch kleine RNAs, die die Genexpression von genetischen Schaltkreisen mit einem breiten Repressionsspektrum (hoch, mittel und niedrig) dynamisch modulieren [18]. Des Weiteren wurden Cas-Proteine in Translationsmodulatoren in Säugetierzellen umgebaut [19].

Ein neues Baukastensystem ermöglicht eine Kontakt-abhängige Kommunikation von Zellen (*mating-peptide anchored response system*, MARS) sowie eine spezifische Zell-Zell-Adhäsion (*Saccharomyces Adhesion Toolkit for mUlticellular patteRNing*, SATURN) in Hefezellverbänden [20].

Der sogenannte Synpoptose-Schaltkreis löst über modifizierte Apoptose- und Pyroptose-Proteine den gezielten Zelltod bei Säugetieren aus [21].

Ein Enzym funktioniert als UV-Licht sensitiver Schalter durch den Einbau einer nicht-kanonischen Aminosäure, wodurch es nicht mehr durch seinen natürlichen Inhibitor *feedback*-inhibiert werden kann. Durch UV-Licht wird eine sperrige *o*-Nitrobenzyl-Gruppe entfernt, sodass der Inhibitor wieder an das Enzym binden kann [22]. Für Pflanzen wurden genetische Schaltkreise entwickelt, die eine spezifische Genexpression in verschiedenen Geweben erlauben. Diese Schaltkreise wurden dazu eingesetzt, das laterale Wachstum der Seitenwurzeln von *Arabidopsis thaliana* zu modifizieren [23]. Für die Anwendung in Pflanzen wurden auch orthogonale synthetische Promotoren entwickelt, die unter Kontrolle des endogenen Signalmoleküls Ethylen stehen [24].

In der Krebstherapie wurden genetische Schaltkreise in Bakterien erforscht, die nach einer Temperaturerhöhung über Ultraschall zu einer gezielten Ausschüttung von Zytokinen führen [25]. Weiterhin werden miRNAs in künstlichen Logikschaltkreisen, die verschiedene Rechenoperationen in Zellen ausführen können, verwendet. In künstlichen DNA-Schaltkreisen fungieren miRNAs als Eingangssignale, die nachfolgende DNA-Reaktionen über Strangverdrängungsprozesse gezielt aktivieren oder hemmen [26].

Neuronale Netzwerke wurden *in silico* für Bakterien entwickelt, um deren Verhalten zur Lösung von Optimierungsproblemen oder zur Reaktion auf veränderte Umweltbedingungen zu programmieren [27]. In Säugerzellen wurden Logikgatter gebaut, die auf dem Einbau von zwei verschiedenen nicht-kanonischen Aminosäuren beruhen. Nur bei Vorhandensein einer oder beider nicht-kanonischer Aminosäuren sind diese Schaltkreise aktiv [28]. Sogenannte Baktoneuronen wurden in *Escherichia coli* mit jeweils drei *inputs* und drei *outputs* konstruiert und bilden zusammen fünf artifizielle Neurosynapsen. Sie werden für zelluläre Rechenoperationen genutzt [29]. Mithilfe eines aus Transkriptionsfaktoren bestehenden Schaltkreises wurde in Säugerzellen Multistabilität erreicht. Dabei kann eine Zelle durch äußere Reize in Kombination mit dem eingebauten Schaltkreis einen bestimmten Zustand einnehmen [30]. Zudem wurde ein drahtlos steuerbares elektronisches System für minimalinvasive biomedizinische Anwendungen entwickelt. Dabei reagieren Nanopartikel auf ein elektromagnetisches Feld mit der Erzeugung reaktiver Sauerstoffspezies, die wiederum als Signal für die Expression eines Transgens dienen. Das System wurde zur Kontrolle des Blutzuckerspiegels bei Mäusen mit Typ-1-Diabetes validiert [31].

Bewertung der ZKBS:

Beim Design genetischer Schaltkreise werden genau definierte, meist in der Funktion gut charakterisierte DNA-Abschnitte miteinander kombiniert. Die Schaltkreise werden häufig unter Verwendung einer biologischen Sicherheitsmaßnahme in seit langem in der Forschung bekannte Modellorganismen eingebracht. Wie bereits in den letzten Berichten festgestellt, werden dabei gentechnisch veränderte Organismen erzeugt, die vom Geltungsbereich des GenTG erfasst werden.

2.3 Synthese maßgeschneiderter Stoffwechselwege

Die Publikationen befassen sich mit der Optimierung des CO_2-Stoffwechels, der Herstellung synthetischer Wirkstoffe, Energieumwandlung und künstlicher Photosynthese.

Die Hefe *Komagataella phaffii* wurde so verändert, dass sie CO_2 als einzige Kohlenstoffquelle nutzen kann und gleichzeitig organische Säuren wie Itaconsäure oder Milchsäure produziert [32]. Darüber hinaus wurde mit dem THETA-Zyklus ein in der Natur in dieser Form nicht vorkommender CO_2-Fixierungsweg entwickelt, der gasförmiges CO_2 effizient in Acetyl-CoA umwandelt [33]. Es wurde zudem das Lactyl-CoA Mutase-Modul beschrieben, das Acetyl-CoA effizient in Pyruvat umwandelt, ohne CO_2 freizugeben [34]. Ein weiterer neu entwickelter Stoffwechselweg ist der künstliche Phosphoketolase-Stoffwechselweg, der im Gegensatz zur Glykolyse Einfachzucker (Monosaccharide) ohne Verluste zu Acetyl-CoA abbaut [35].

Die neuentwickelte Plattform BIOPOLYMER nutzt gentechnisch veränderte *Streptomyces coelicolor*-Stämme, um neuartige Anthrazyklinanaloga herzustellen [36]. Eine Hefezellfabrik ermöglicht die skalierbare Produktion von 24-Epi-Ergosterol, das in der Natur extrem selten vorkommt und eine Vorstufe für ein Pflanzenhormon darstellt, das in der Landwirtschaft für die Steigerung von Ernteerträgen und Qualität von Erntegütern eine wichtige Rolle spielt [37]. Die abiologische Carben-Transfer-Reaktion wurde erstmals in einen Biosyntheseweg eines Bakteriums eingefügt und erweitert das Spektrum organischer Substanzen, die durch zellulären Stoffwechsel hergestellt werden können [38]. Ein neu entwickelter Stoffwechselweg kann *in vitro* als auch *in vivo* in *E. coli* unter Verwendung von nur zwei Enzymen und anorganischem Phosphat (P_i) Formiat zu Formaldehyd reduzieren [39].

Das für die Natur neue, elektrobiologische Modul „Säure/Aldehyd-ATP-Zyklus“ ermöglicht einer Zelle, elektrische Energie direkt in ATP umzuwandeln und kann an andere *in vitro* Prozesse wie Transkriptions-/Translationssysteme gekoppelt werden [40]. Ein C2-symmetrisches Designer-Protein wurde konstruiert, das exzitonisch gekoppelte Chlorophyll-Paare (*special pairs*) funktional bindet und eine künstliche Lichtanregung sowie einen Energietransfer ermöglicht [41]. Durch Einfügen von genetischen Komponenten des α-Carboxysoms aus einem Proteobakterium wurden morphologisch korrekte Carboxysomen in Tabakchloroplasten erzeugt. Diese Arbeit ebnet den Weg zur Verbesserung der Photosynthese und Produktivität von Nutzpflanzen [42]. Eine neue Methode wurde entwickelt, um die für bestimmte Stoffwechselwege erforderlichen Gene artenübergreifend mittels iModulons (Gruppen von ko-exprimierten, aber potenziell unabhängig voneinander regulierten Genen) zu übertragen [43].

Bewertung der ZKBS:

Für die Entwicklung neuartiger maßgeschneiderter Stoffwechselwege werden bestehende Gene modifiziert oder Gene eines anderen Organismus in einen bereits bestehenden Organismus eingebracht. Die gezielte Bildung gefährlicher Stoffe wäre dadurch möglich. Jedoch sind Herstellung und Umgang mit diesen Organismen vollständig durch das GenTG abgedeckt.

2.4 Proto-, Minimal- und synthetische Zellen

In diesem Berichtszeitraum wurden keine Publikationen zum *top down*-Ansatz zur Herstellung von Minimalzelllen identifiziert, die gegenüber den in den vorherigen Berichten erfassten Arbeiten wesentliche neue Entwicklungen präsentierten.

Bei dem *bottom up*-Ansatz zur Herstellung von Protozellen bleibt die Nutzung von *giant unilamellar vesicles* (GUVs) dominierend, erweitert durch *giant unilamellar niosomes* [44], Proteinvesikeln [45] und kernhaltigen Zellen in Form von Vesikel-in-Vesikel-Strukturen mit genetisch gesteuerter Kommunikation zwischen Kompartimenten [46]. Die Polymerisations-induzierte Selbstassemblierung wurde als neue Synthesemethode für GUVs vorgestellt [47]. Nachgebildet wurden vollständige Pflanzenzellwände [48], und auf DNA-, RNA- oder bakteriellen Bruchstücken basierte Zellgerüste [49–51]. Es wurden künstliche Kompartimente aus DNA-, Dipeptid- oder Protein-Koazervaten, RNA-Nanostrukturen und Siliziumdioxid geschaffen [52–54], die u. a. zwei chemisch nicht vereinbare Prozesse in GUVs räumlich trennen [55], Mitochondrien nachahmen [56] oder in denen eine metabolisch gesteuerte Transkription stattfindet [57]. In Chloroplasten wurde ein synthetisches bakterielles Mikrokompartiment etabliert [58]. Mittels DNA-Origami wurde ein ATPase-vergleichbarer Drehmotor codiert, der sich selbst assemblieren kann [59], und es wurden DNA-Origami-Zangen zur gezielten Steuerung der Morphologie von GUVs hergestellt [60]. Des Weiteren wurde das intrazelluläre Transportsystem, bestehend aus einem kolloidalen Motor und selbstassemblierenden Lipidröhren, nachgebaut [61]. Es wurden künstliche Zellen erschaffen, die über Sensoren auf Reize reagieren und Säugetierzellen regulieren [62], die nach subkutaner Verabreichung in Mäusen durch die Produktion von proangiogenen Faktoren die Neovaskularisation auslösen [63] oder die durch ein temperatursensitives mRNA-Element die Proteinexpression steuern [64]. Eine Zellteilungsmaschinerien für künstliche Zellen wurde vorgestellt [65, 66] sowie die künstliche Rekonstruktion endosymbiontischer Prozesse in eukaryotischen Zellen beschrieben [67–69]. Zum ersten Mal wurde ein vollständiger viraler Infektionszyklus eines T7-Phagen innerhalb künstlicher Zellen nachgestellt [70]. Zudem wurde gezeigt, dass synthetische Zellen in einem synthetischen Paarungssystem miteinander interagieren können und auf diese Weise verschiedene genetische Schaltkreise aktivieren [71].

Bewertung der ZKBS:

Bei Minimalorganismen, die durch die gezielte Verkleinerung des Genoms erzeugt wurden, kann das Gefährdungspotenzial, wie im GenTG vorgesehen, durch den Vergleich der Organismen mit den Ausgangsorganismen gut abgeschätzt werden. „Am Reißbrett“ entworfene Organismen des *bottom up*-Ansatzes fallen nicht unter das GenTG, welches auf Organismen angewendet wird, deren „genetisches Material in einer Weise verändert wurde, wie sie unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzung oder natürliche Rekombination nicht vorkommt“ (§ 3 GenTG). Gemäß GenTG wird das bekannte Gefährdungspotenzial des Spender- und Empfängerorganismus der Risikobewertung zu Grunde gelegt. Protozellen, die keinen natürlichen Organismus zur Grundlage haben, fallen demnach nicht unter das GenTG.

Bis heute wurde keine Protozelle beschrieben, die autonom repliziert und als Organismus gesehen werden kann.

2.5 Xenobiologie

Im Bereich der Xenobiologie wurden einige Arbeiten zur Erweiterung des genetischen Codes und zum Einbau nicht-kanonischer Monomere in Proteine veröffentlicht. Zu diesen gehörte z. B. die Entwicklung einer Pyrrolysyl-tRNA-Synthetase mit einem erweiterten Substratspektrum, die α-Thiosäuren und α-Carbonsäuren akzeptieren kann, wodurch der Einbau von zusätzlichen nicht-kanonischen Monomeren in Proteine ermöglicht wurde [72]. Zudem wurde ein Verfahren zur Identifizierung orthogonaler tRNA-Synthetasen entwickelt, mit dem Varianten für den Einbau weiterer nicht-kanonischer Aminosäuren, wie z. B. β-Aminosäuren, α,α-disubstituierte Aminosäuren und β-Hydroxysäuren gefunden wurden [73]. In einer weiteren Arbeit wurde eine Strategie für die effiziente Verwendung eines vier-Basen-Codons beschrieben, die den Einbau von mehreren nicht-kanonischen Aminosäuren ohne Modifikation des Wirtsgenoms erlaubte [74]. Des Weiteren wurden fluoreszierende, nicht-kanonische Aminosäuren entwickelt und zur Produktion von künstlichen fluoreszierenden Proteinen und Biosensoren verwendet, die für molekulare Untersuchungen in Säugetierzellen dienen [75]. Schließlich wurde eine Methode beschrieben, die die *in situ*-Biosynthese nicht-kanonischer Aminosäuren mit einer Erweiterung des genetischen Codes kombiniert, wodurch die Produktion von künstlichen Enzymen mit neuartigen katalytischen Eigenschaften in Zellen möglich wurde [76].

Bewertung der ZKBS:

Mithilfe der im Bereich der Xenobiologie verfolgten Ansätze werden Organismen erzeugt, deren genetisches Material in einer Weise verändert worden ist, wie sie unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzen oder natürliche Rekombination nicht vorkommt. Dabei werden auch nicht-natürliche Basen als genetisches Material angesehen. Sie unterliegen demnach dem GenTG und fallen unter dessen Vollzug.
Viele Anwendungen aus dem Bereich der Xenobiologie zielen zudem auf Orthogonalität und benötigen sehr spezifische und oft in der Natur nichtvorkommende Verbindungen. Dies kann zu einer Erhöhung der Biosicherheit führen.

2.6 Methoden mit Einfluss auf die Synthetische Biologie

In den letzten Jahren wurden neue Methoden zum Design, zur Konstruktion und zur Optimierung genetischer Schaltkreise, Stoffwechselwege, molekularer Komponenten (wie z. B. Proteine, Ribosomen [77] und synthetischer Rezeptoren [78]) und zellulärer Systeme (wie z. B. programmierte Zell-Zell-Interaktionen [79] und synthetische Sensorsysteme [80]) entwickelt. Dazu zählen u. a. öffentlich zugängliche, computergestützte Designplattformen wie Galaxy-SynBioCAD zur Planung genetischer Konstrukte und Stoffwechselwege [81], Strategien zur heterologen und wirtsübergreifenden Expression von Biosynthese-Genclustern [82], Methoden zur kontrollierten Expression multipler Gene in Pilzen [83] sowie CRAPs, eine *in vivo*-Methode in Hefe, bei der mithilfe von CRISPR-basierter DNA-Reparatur zahlreiche unterschiedliche Stoffwechselweg-Kombinationen erzeugt und funktionell verglichen werden können [84].

Darüber hinaus wurden Werkzeuge zur gezielten Manipulation von DNA-Sequenzen bis hin zu Chromosomen entwickelt, darunter orthogonale Replikationssysteme zur

beschleunigten Evolution synthetischer DNA-Elemente [85], RNA-gesteuerte *bridge*-Rekombinasen für präzise genomische Umlagerungen wie Insertionen, Exzisionen und Inversionen [86] sowie Methoden zum Transfer und zur gezielten Modifikation menschlicher Chromosomen [87]. Diese neuen molekularen Werkzeuge erweitern das programmierbare *genome engineering* von lokalen Sequenzänderungen an einzelnen Genen hin zum gezielten Umbau von Chromosomen und Genomen. Dadurch können künftig großskalierte Veränderungen wie die Konstruktion und Reorganisation von kompletten genomischen Regionen wesentlich vereinfacht und beschleunigt werden.

Ein weiterer Schwerpunkt lag auf der Entwicklung und Anwendung KI-basierter Modelle zum Design und zur Optimierung von Proteinen, Nukleinsäuresequenzen und genetischen Schaltkreisen. So ermöglichte maschinelles Lernen beispielsweise die Optimierung genetischer Schaltkreise und komplexer Expressionssysteme [88], während generative KI-Modelle wie Chroma und ESM3 das Design neuer Proteine und Proteinstrukturen ermöglichten [89, 90]. Zudem erlaubt das bereits erwähnte KI-gestützte Sprachmodell für die Genomik, Evo, die Vorhersage und Generierung von DNA-, RNA- und Proteinsequenzen [91]. Hochdurchsatzverfahren zur Analyse großer genetischer Designräume wurden mit maschinellem Lernen kombiniert, um genetische Schaltkreise vorherzusagen und zu optimieren [92]. KI-gestützte Vorhersagemodelle ermöglichen in Verbindung mit automatisierten Laborplattformen zunehmend autonome *design-build-test-learn*-Zyklen zur iterativen Optimierung von Enzymen [93]. Damit verschiebt sich das biologische Engineering zunehmend von der manuellen Auswahl einzelner Designs durch Forschende hin zu KI-gestützten und automatisierten Designprozessen, die im Hochdurchsatz selbständig erzeugen, testen und optimieren können.

Bewertung der ZKBS:

Bei den hier aufgeführten Methoden werden u. a. genetische Elemente, Stoffwechselwege, molekulare Komponenten oder zelluläre Systeme gezielt verändert oder neu kombiniert. Sofern hierbei Organismen genetisch verändert werden und die erzeugten genetischen Veränderungen nicht unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzung oder natürliche Rekombination entstehen können, findet das GenTG Anwendung.

Bei den beschriebenen KI-basierten Methoden werden die generierten oder optimierten Entwürfe experimentell umgesetzt und in Organismen oder Zellkulturen validiert. Auch wenn in einigen Fällen neuartige DNA-Sequenzen in Organismen eingebracht werden, unterliegen die entstehenden GVO den Bestimmungen des GenTG (siehe dazu auch die Bewertung zu 2.1 Synthese von Genen und Genomen).

Generative KI und Labor-Automation verändern dabei zunehmend die Grundlagen der vergleichenden Risikobewertung, da biologische Funktionen unabhängig von natürlichen Sequenzvorbildern entworfen und optimiert werden können. Die weitere Entwicklung generativer KI und automatisierter *design-build-test-learn*-Ansätze bleiben Gegenstand des kontinuierlichen Monitorings.

2.7 Synthetische Biologie mit Anwendungsperspektiven

Seit dem dritten Zwischenbericht im Jahr 2022 hat die ZKBS in ihr kontinuierliches Monitoring auch Publikationen zu Anwendungsperspektiven der Synthetischen Biologie aufgenommen. Die vorgestellten Innovationen nutzen künstliche genetische Schaltkreise, biologisch-elektronische Schnittstellen, Nanotechnologie und generative KI für neue medizinische und biotechnologische Anwendungen.

Im Bereich KI-gestütztes Proteindesign wurde eine zellfreie Biosynthese-Plattform vorgestellt, die innerhalb eines Tages antimikrobielle Peptide *de novo* erzeugen und validieren kann [94]. MCNet ist ein Modell zur Vorhersage von Protein-Glykan-Interaktionen einschließlich vollständiger Stereochemie von Glykanstrukturen [95]. RoseTTAFold Diffusion (RFdiffusion, [96]) ermöglicht das Entwerfen neuartiger therapeutischer Bindungsproteine gegen medizinisch relevante Zielstrukturen und könnte die Entwicklungszeiten und Kosten gegenüber klassischen Verfahren wie Tierimmunisierung oder umfangreicher Screeningansätze reduzieren [97, 98].

Im Bereich neuer Therapien wurde das DNA-codierte Modell ARCT entwickelt, welches zytotoxische T-Lymphozyten imitiert, die über die Freisetzung eines porenbildenden Proteins Tumorzellen zerstören [99]. Die Erzeugung von Geweben oder Organen für klinische Anwendungen könnte in der Zukunft von programmierten Fibroblasten (Organisator-Zelllinie) unterstützt werden, die durch Anordnung an Maus-embryonale Stammzellen eine naturnahe Embryonalentwicklung ermöglichen [100]. Eine für den Menschen einnehmbare, bioelektronische Kapsel misst die Entzündungsmarker im Magen-Darm-Trakt in Echtzeit und sendet die Daten drahtlos an ein Smartphone [101]. Die Schnittstelle *direct current-actuated regulation technology* (DART) verbindet tragbare elektronische Geräte mit medizinischen Interventionen, ermöglicht so die Programmierung der Expression eines Fremdgens in menschlichen Zellen und verspricht vielseitige Einsatzmöglichkeiten für gen- und zellbasierte Therapien, Echtzeit-Dosierungen und für die Fernüberwachung von Patienten durch medizinisches Personal [102]. Für die Weiterentwicklung der Interspezies-Organogenese wurden Nanobodies entwickelt, die die Adhäsion zwischen Zellen des Menschen und der Maus künstlich verbessern [103]. Ein oszillierender Schaltkreis, der über zwei Induktoren in *E. coli* gesteuert wird, kann sowohl seine Periode als auch seine Amplitude verändern und für eine pulsierende Verabreichung von Medikamenten verwendet werden [104].

DUEC (*dueling competent*) ist eine hochselektive Plattform für die Proteinabgabe und basiert auf der *tit-for-tat* (“Wie du mir, so ich dir”)/Duell-Reaktion des H1-T6-Sekretionssystems von *Pseudomonas aeruginosa* [105]. Es wurde ein synthetisches Transkriptionssystem entwickelt, das die Expressionsstärke eines Zielgens über *guide* RNAs, ihre komplementären Bindestellen sowie ein deaktiviertes CRISPR-Protein steuert [106].

Eine künstliche Photosynthese steigert Licht-abhängig die Produktion von ATP und Malat mittels CdS-Halbleiter-Nanocluster im Periplasma von *E. coli* [107]. Eine nanoskalige DNA-Origami-Turbine arbeitet unter physikalischen Bedingungen autonom und wandelt Energie aus natürlicherweise reichlich vorhandenen elektrochemischen Potenzialen in mechanische Arbeit um [108].

Erstmals wurden vollständig funktionelle spiegelbildliche Nanoporen aus D-Aminosäuren (DpPorA) entwickelt, die auf einem natürlichen bakteriellen Porin (PorACj) basieren und selektiv zytotoxisch auf Brustkrebszellen wirken [109]. Eine neuartige Nanostruktur auf Basis spiegelbildlicher RNA (L-RNA) wurde für eine stabile und zielgerichtete Verabreichung von Therapeutika konzipiert [110].

Bewertung der ZKBS:

Die hier beschriebenen Anwendungsperspektiven der Synthetischen Biologie umfassen ein breites Spektrum unterschiedlicher Ansätze und Methoden.

Werden dabei Organismen gentechnisch verändert, etwa durch das Einbringen synthetischer Schaltkreise oder neuartiger Expressionssysteme, unterliegen die Arbeiten dem GenTG.

Dagegen beinhalten andere der aufgeführten Ansätze für sich genommen keine GVO. Dazu zählen *in silico* durchgeführtes KI-gestütztes Protein-Design, zellfreie Systeme oder molekulare Strukturen wie DNA-Origami und spiegelbildliche Protein- oder RNA-Strukturen. Soweit ihre Herstellung oder Anwendung nicht mit gentechnischen Arbeiten an Organismen verbunden ist, fallen diese Ansätze nicht in den Anwendungsbereich des GenTG.

Aus Sicht der ZKBS ergeben sich daraus derzeit keine grundsätzlich neuen Fragestellungen für die biologische Sicherheit.

3 Literatur

1. **Schindler D, Walker RSK, Cai Y** (2024). Methodological advances enabled by the construction of a synthetic yeast genome. *Cell Rep Methods* **4**(4):100761.
2. **Coradini ALV, Ville CN, Krieger ZA, Roemer J, Hull C, Yang S, Lusk DT, Ehrenreich IM** (2023). Building synthetic chromosomes from natural DNA. *Nat Commun* **14**(1):8337.
3. **Zürcher JF, Kleefeldt AA, Funke LFH, Birnbaum J, Fredens J, Grazioli S, Liu KC, Spinck M, Petris G, Murat P, Rehm FBH, Sale JE, Chin JW** (2023). Continuous synthesis of E. coli genome sections and Mb-scale human DNA assembly. *Nature* **619**(7970):555–62.
4. **Ma Y, Su S, Fu Z, Zhou C, Qiao B, Wu Y, Yuan Y-J** (2024). Convenient synthesis and delivery of a megabase-scale designer accessory chromosome empower biosynthetic capacity. *Cell Res* **34**(4):309–22.
5. **Chen L-G, Lan T, Zhang S, Zhao M, Luo G, Gao Y, Zhang Y, Du Q, Lu H, Li B, Jiao B, Hu Z, Ma Y, Zhao Q, Wang Y, Qian W, Dai J, Jiao Y** (2024). A designer synthetic chromosome fragment functions in moss. *Nat Plants* **10**(2):228–39.
6. **Chen Y, Hysolli E, Chen A, Casper S, Liu S, Yang K, Liu C, Church G** (2022). Multiplex base editing to convert TAG into TAA codons in the human genome. *Nat Commun* **13**(1):4482.
7. **Loveless TB, Carlson CK, Dentzel Helmy CA, Hu VJ, Ross SK, Demelo MC, Murtaza A, Liang G, Ficht M, Singhai A, Pajoh-Casco MJ, Liu CC** (2025). Open-ended molecular recording of sequential cellular events into DNA. *Nat Chem Biol* **21**(4):512–21.
8. **Merchant AT, King SH, Nguyen E, Hie BL** (2026). Semantic design of functional de novo genes from a genomic language model. *Nature* **649**(8097):749–58.
9. **Wittmann BJ, Alexanian T, Bartling C, Beal J, Clore A, Diggans J, Flyangolts K, Gemler BT, Mitchell T, Murphy ST, Wheeler NE, Horvitz E** (2025). Strengthening nucleic acid biosecurity screening against generative protein design tools. *Science* **390**(6768):82–7.
10. **Tousley AM, Rotiroti MC, Labanieh L, Rysavy LW, Kim W-J, Lareau C, Sotillo E, Weber EW, Rietberg SP, Dalton GN, Yin Y, Klysz D, Xu P, La Serna EL de, Dunn AR, Satpathy**

AT, Mackall CL, Majzner RG (2023). Co-opting signalling molecules enables logic-gated control of CAR T cells. *Nature* **615**(7952):507–16.

11. **Kvorjak M, Ruffo E, Tivon Y, So V, Parikh A, Deiters A, Lohmueller J** (2023). Conditional Control of Universal CAR T Cells by Cleavable OFF-Switch Adaptors. *ACS Synth Biol* **12**(10):2996–3007.
12. **Piraner DI, Abedi MH, Duran Gonzalez MJ, Chazin-Gray A, Lin A, Zhu I, Ravindran PT, Schlichthaerle T, Huang B, Bearchild TH, Lee D, Wyman S, Jun Y-W, Baker D, Roybal KT** (2025). Engineered receptors for soluble cellular communication and disease sensing. *Nature* **638**(8051):805–13.
13. **Piccinini L, Iacopino S, Cazzaniga S, Ballottari M, Giuntoli B, Licausi F** (2022). A synthetic switch based on orange carotenoid protein to control blue-green light responses in chloroplasts. *Plant Physiol* **189**(2):1153–68.
14. **Zhou J, Ge Q, Wang D, Guo Q, Tao Y** (2023). Engineering a modular double-transmembrane synthetic receptor system for customizing cellular programs. *Cell Rep* **42**(4):112385.
15. **Abrahams G, Štuhec A, Spreng V, Henry R, Kempf I, James J, Sechkar K, Stacey S, Trelles-Fernandez V, Antill LM, Timmel CR, Miller JJ, Ingaramo M, York AG, Tetienne J-P, Steel H** (2026). Quantum spin resonance in engineered proteins for multimodal sensing. *Nature* **649**(8099):1172–9.
16. **Doshi A, Shaw M, Tonea R, Moon S, Minyety R, Doshi A, Laine A, Guo J, Danino T** (2023). Engineered bacterial swarm patterns as spatial records of environmental inputs. *Nat Chem Biol* **19**(7):878–86.
17. **Gao Y, Mardian R, Ma J, Li Y, French CE, Wang B** (2025). Programmable trans-splicing riboregulators for complex cellular logic computation. *Nat Chem Biol* **21**(5):758–66.
18. **Velazquez Sanchez AK, Klopprogge B, Zimmermann K-H, Ignatova Z** (2023). Tailored Synthetic sRNAs Dynamically Tune Multilayer Genetic Circuits. *ACS Synth Biol* **12**(9):2524–35.
19. **Kawasaki S, Ono H, Hirosawa M, Kuwabara T, Sumi S, Lee S, Woltjen K, Saito H** (2023). Programmable mammalian translational modulators by CRISPR-associated proteins. *Nat Commun* **14**(1):2243.
20. **Meng F, Shaw WM, Kam YKK, Ellis T** (2025). Engineering yeast multicellular behaviors via synthetic adhesion and contact signaling. *Cell* **188**(18):4936-4949.e14.
21. **Xia S, Lu AC, Tobin V, Luo K, Moeller L, Shon DJ, Du R, Linton JM, Sui M, Horns F, Elowitz MB** (2024). Synthetic protein circuits for programmable control of mammalian cell death. *Cell* **187**(11):2785-2800.e16.
22. **Bhagat AK, Schlee S, Straub K, Nazet J, Luckner P, Bruckmann A, Sterner R** (2022). Photoswitching of Feedback Inhibition by Tryptophan in Anthranilate Synthase. *ACS Synth Biol* **11**(8):2846–56.
23. **Brophy JAN, Magallon KJ, Duan L, Zhong V, Ramachandran P, Kniazev K, Dinneny JR** (2022). Synthetic genetic circuits as a means of reprogramming plant roots. *Science* **377**(6607):747–51.
24. **Kar S, Bordiya Y, Rodriguez N, Kim J, Gardner EC, Gollihar JD, Sung S, Ellington AD** (2022). Orthogonal control of gene expression in plants using synthetic promoters and CRISPR-based transcription factors. *Plant Methods* **18**(1):42.
25. **Chen Y, Du M, Yuan Z, Chen Z, Yan F** (2022). Spatiotemporal control of engineered bacteria to express interferon-γ by focused ultrasound for tumor immunotherapy. *Nat Commun* **13**(1):4468.
26. **Chen RP, Chen W** (2022). Tunable and Modular miRNA Classifier through Indirect Associative Toehold Strand Displacement. *ACS Synth Biol* **11**(8):2719–25.
27. **Becerra AG, Gutiérrez M, Lahoz-Beltra R** (2022). Computing within bacteria: Programming of bacterial behavior by means of a plasmid encoding a perceptron neural network. *Biosystems* **213**:104608.
28. **Mills EM, Barlow VL, Jones AT, Tsai Y-H** (2021). Development of mammalian cell logic gates controlled by unnatural amino acids. *Cell Rep Methods* **1**(6):100073.

29. **Srivastava R, Bagh S** (2023). A Logically Reversible Double Feynman Gate with Molecular Engineered Bacteria Arranged in an Artificial Neural Network-Type Architecture. *ACS Synth Biol* **12**(1):51–60.
30. **Zhu R, Del Rio-Salgado JM, Garcia-Ojalvo J, Elowitz MB** (2022). Synthetic multistability in mammalian cells. *Science* **375**(6578):eabg9765.
31. **Lin Z, Guha Ray P, Huang J, Buchmann P, Fussenegger M** (2025). Electromagnetic wireless remote control of mammalian transgene expression. *Nat Nanotechnol* **20**(8):1071–8.
32. **Baumschabl M, Ata Ö, Mitic BM, Lutz L, Gassler T, Troyer C, Hann S, Mattanovich D** (2022). Conversion of CO2 into organic acids by engineered autotrophic yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**(47):e2211827119.
33. **Luo S, Diehl C, He H, Bae Y, Klose M, Claus P, Cortina NS, Fernandez CA, Schulz-Mirbach H, McLean R, Ramírez Rojas AA, Schindler D, Paczia N, Erb TJ** (2023). Construction and modular implementation of the THETA cycle for synthetic CO2 fixation. *Nat Catal* **6**(12):1228–40.
34. **Schulz-Mirbach H, Wichmann P, Satanowski A, Meusel H, Wu T, Nattermann M, Burgener S, Paczia N, Bar-Even A, Erb TJ** (2024). New-to-nature CO2-dependent acetyl-CoA assimilation enabled by an engineered B12-dependent acyl-CoA mutase. *Nat Commun* **15**(1):10235.
35. **Yang Y, Liu Y, Zhao H, Liu D, Zhang J, Cheng J, Yang Q, Chu H, Lu X, Luo M, Sheng X, Zhang Y-HPJ, Jiang H, Ma Y** (2023). Construction of an artificial phosphoketolase pathway that efficiently catabolizes multiple carbon sources to acetyl-CoA. *PLoS Biol* **21**(9):e3002285.
36. **Wang R, Nguyen J, Hecht J, Schwartz N, Brown KV, Ponomareva LV, Niemczura M, van Dissel D, van Wezel GP, Thorson JS, Metsä-Ketelä M, Shaaban KA, Nybo SE** (2022). A BioBricks Metabolic Engineering Platform for the Biosynthesis of Anthracyclinones in Streptomyces coelicolor. *ACS Synth Biol* **11**(12):4193–209.
37. **Jiang Y, Sun Z, Lu K, Wu Z, Xue H, Zhu L, Li G, Feng Y, Wu M, Lin J, Lian J, Yang L** (2023). Manipulation of sterol homeostasis for the production of 24-epi-ergosterol in industrial yeast. *Nat Commun* **14**(1):437.
38. **Huang J, Quest A, Cruz-Morales P, Deng K, Pereira JH, van Cura D, Kakumanu R, Baidoo EEK, Dan Q, Chen Y, Petzold CJ, Northen TR, Adams PD, Clark DS, Balskus EP, Hartwig JF, Mukhopadhyay A, Keasling JD** (2023). Complete integration of carbene-transfer chemistry into biosynthesis. *Nature* **617**(7960):403–8.
39. **Nattermann M, Wenk S, Pfister P, He H, Lee SH, Szymanski W, Guntermann N, Zhu F, Nickel L, Wallner C, Zarzycki J, Paczia N, Gaißert N, Franciò G, Leitner W, Gonzalez R, Erb TJ** (2023). Engineering a new-to-nature cascade for phosphate-dependent formate to formaldehyde conversion in vitro and in vivo. *Nat Commun* **14**(1):2682.
40. **Luo S, Adam D, Giaveri S, Barthel S, Cestellos-Blanco S, Hege D, Paczia N, Castañeda-Losada L, Klose M, Arndt F, Heider J, Erb TJ** (2023). ATP production from electricity with a new-to-nature electrobiological module. *Joule* **7**(8):1745–58.
41. **Ennist NM, Wang S, Kennedy MA, Curti M, Sutherland GA, Vasilev C, Redler RL, Maffeis V, Shareef S, Sica AV, Hua AS, Deshmukh AP, Moyer AP, Hicks DR, Swartz AZ, Cacho RA, Novy N, Bera AK, Kang A, Sankaran B, Johnson MP, Phadkule A, Reppert M, Ekiert D, Bhabha G, Stewart L, Caram JR, Stoddard BL, Romero E, Hunter CN, Baker D** (2024). De novo design of proteins housing excitonically coupled chlorophyll special pairs. *Nat Chem Biol* **20**(7):906–15.
42. **Chen T, Hojka M, Davey P, Sun Y, Dykes GF, Zhou F, Lawson T, Nixon PJ, Lin Y, Liu L-N** (2023). Engineering α-carboxysomes into plant chloroplasts to support autotrophic photosynthesis. *Nat Commun* **14**(1):2118.
43. **Choe D, Olson CA, Szubin R, Yang H, Sung J, Feist AM, Palsson BO** (2024). Advancing the scale of synthetic biology via cross-species transfer of cellular functions enabled by iModulon engraftment. *Nat Commun* **15**(1):2356.
44. **Luo Z-H, He X-Y, Deng N-N** (2025). Monodisperse Giant Unilamellar Niosomes as Minimal Synthetic Cells. *J Am Chem Soc* **147**(30):27081–8.
45. **Suzuki M, Kamiya K** (2023). Cell-sized asymmetric phospholipid-amphiphilic protein vesicles with growth, fission, and molecule transportation. *iScience* **26**(3):106086.

46. **Ioannou IA, Monck C, Ceroni F, Brooks NJ, Kuimova MK, Elani Y** (2024). Nucleated synthetic cells with genetically driven intercompartment communication. *Proc Natl Acad Sci U S A* **121**(36):e2404790121.
47. **Belluati A, Jimaja S, Chadwick RJ, Glynn C, Chami M, Happel D, Guo C, Kolmar H, Bruns N** (2024). Artificial cell synthesis using biocatalytic polymerization-induced self-assembly. *Nat Chem* **16**(4):564–74.
48. **Notova S, Cannac N, Rabagliati L, Touzard M, Mante J, Navon Y, Coche-Guérente L, Lerouxel O, Heux L, Imberty A** (2022). Building an Artificial Plant Cell Wall on a Lipid Bilayer by Assembling Polysaccharides and Engineered Proteins. *ACS Synth Biol* **11**(10):3516–28.
49. **Jahnke K, Huth V, Mersdorf U, Liu N, Göpfrich K** (2022). Bottom-Up Assembly of Synthetic Cells with a DNA Cytoskeleton. *ACS Nano* **16**(5):7233–41.
50. **Tran MP, Chakraborty T, Poppleton E, Monari L, Illig M, Giessler F, Göpfrich K** (2025). Genetic encoding and expression of RNA origami cytoskeletons in synthetic cells. *Nat Nanotechnol* **20**(5):664–71.
51. **Xu C, Martin N, Li M, Mann S** (2022). Living material assembly of bacteriogenic protocells. *Nature* **609**(7929):1029–37.
52. **Zhang L, Chen M, Wang Z, Zhong M, Chen H, Li T, Wang L, Zhao Z, Zhang X-B, Ke G, Liu Y, Tan W** (2024). Spatiotemporal Regulation of Cell Fate in Living Systems Using Photoactivatable Artificial DNA Membraneless Organelles. *ACS Cent Sci* **10**(6):1201–10.
53. **Cao S, Ivanov T, Heuer J, Ferguson CTJ, Landfester K, Da Caire Silva L** (2024). Dipeptide coacervates as artificial membraneless organelles for bioorthogonal catalysis. *Nat Commun* **15**(1):39.
54. **Fabrini G, Farag N, Nuccio SP, Li S, Stewart JM, Tang AA, McCoy R, Owens RM, Rothemund PWK, Franco E, Di Antonio M, Di Michele L** (2024). Co-transcriptional production of programmable RNA condensates and synthetic organelles. *Nat Nanotechnol* **19**(11):1665–73.
55. **Wang Z, Chali SP, Doan-Nguyen TP, Kim S, Mailänder V, Jiang S, Landfester K** (2025). Integrating incompatible tandem photobiocatalysis in artificial cells enables metabolic modulation of natural cells. *Sci Adv* **11**(27):eadu4828.
56. **Fu F, Hu X, Tao S, Gao Y, Crespy D, Landfester K, Mao X, Jiang S** (2025). Engineering Artificial Mitochondria with Self-Amplifying Proton Generation for Autonomous Energy Supply and Metabolic Coupling in Artificial Cells. *Angew Chem Int Ed Engl* **64**(48):e202514980.
57. **Jerez-Longres C, Weber W** (2025). Metabolite-Responsive Control of Transcription by Phase Separation-Based Synthetic Organelles. *ACS Synth Biol* **14**(3):711–8.
58. **Dwyer ME, Froehlich JE, Raba DA, Borrusch M, Danhof L, Sharma N, Young EJ, Brandizzi F, Benning C, Kerfeld CA** (2024). Towards chloroplastic nanofactories: formation of proteinaceous scaffolds for metabolic engineering. *Plant Biotechnol J* **22**(12):3424–6.
59. **Pumm A-K, Engelen W, Kopperger E, Isensee J, Vogt M, Kozina V, Kube M, Honemann MN, Bertosin E, Langecker M, Golestanian R, Simmel FC, Dietz H** (2022). A DNA origami rotary ratchet motor. *Nature* **607**(7919):492–8.
60. **Zhan P, Yang J, Ding L, Jing X, Hipp K, Nussberger S, Yan H, Liu N** (2024). 3D DNA origami pincers that multitask on giant unilamellar vesicles. *Sci Adv* **10**(33):eadn8903.
61. **Ghellab SE, Zhang X, Yang Y, Wang S, Basharat M, Zhou X, Lei L, Zhou Y, Wang Y, Fang H, Gao Y** (2023). Cell-Mimic Directional Cargo Transportation in a Visible-Light-Activated Colloidal Motor/Lipid Tube System. *Small* **19**(5):e2204260.
62. **Wang M, Nan H, Wang M, Yang S, Liu L, Wang H-H, Nie Z** (2025). Responsive DNA artificial cells for contact and behavior regulation of mammalian cells. *Nat Commun* **16**(1):2410.
63. **Chen G, Levin R, Landau S, Kaduri M, Adir O, Ianovici I, Krinsky N, Doppelt-Flikshtain O, Shklover J, Shainsky-Roitman J, Levenberg S, Schroeder A** (2022). Implanted synthetic cells trigger tissue angiogenesis through de novo production of recombinant growth factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**(38):e2207525119.
64. **Monck C, Elani Y, Ceroni F** (2024). Genetically programmed synthetic cells for thermo-responsive protein synthesis and cargo release. *Nat Chem Biol* **20**(10):1380–6.

65. **Wagner AM, Eto H, Joseph A, Kohyama S, Haraszti T, Zamora RA, Vorobii M, Giannotti MI, Schwille P, Rodriguez-Emmenegger C** (2022). Dendrimersome Synthetic Cells Harbor Cell Division Machinery of Bacteria. *Adv Mater* **34**(28):e2202364.

66. **Kohyama S, Merino-Salomón A, Schwille P** (2022). In vitro assembly, positioning and contraction of a division ring in minimal cells. *Nat Commun* **13**(1):6098.

67. **Gao Y, Cournoyer J, De BC, Wallace CL, Ulanov AV, La Frano MR, Mehta AP** (2024). Introducing carbon assimilation in yeasts using photosynthetic directed endosymbiosis. *Nat Commun* **15**(1):5947.

68. **Hu G, Huang J, Fussenegger M** (2024). Toward Photosynthetic Mammalian Cells through Artificial Endosymbiosis. *Small* **20**(31):e2310310.

69. **Aoki R, Inui Y, Okabe Y, Sato M, Takeda-Kamiya N, Toyooka K, Sawada K, Morita H, Genot B, Maruyama S, Tomo T, Sonoike K, Matsunaga S** (2024). Incorporation of photosynthetically active algal chloroplasts in cultured mammalian cells towards photosynthesis in animals. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* **100**(9):524–36.

70. **Levrier A, Soudier P, Garenne D, Izri Z, Bowden S, Lindner AB, Noireaux V** (2025). A synthetic cell phage cycle. *Nat Commun* **17**(1):557.

71. **Gaut NJ, Gomez-Garcia J, Heili JM, Cash B, Han Q, Engelhart AE, Adamala KP** (2022). Programmable Fusion and Differentiation of Synthetic Minimal Cells. *ACS Synth Biol* **11**(2):855–66.

72. **Fricke R, Swenson CV, Roe LT, Hamlish NX, Shah B, Zhang Z, Ficaretta E, Ad O, Smaga S, Gee CL, Chatterjee A, Schepartz A** (2023). Expanding the substrate scope of pyrrolysyl-transfer RNA synthetase enzymes to include non-α-amino acids in vitro and in vivo. *Nat Chem* **15**(7):960–71.

73. **Dunkelmann DL, Piedrafita C, Dickson A, Liu KC, Elliott TS, Fiedler M, Bellini D, Zhou A, Cervettini D, Chin JW** (2024). Adding α,α-disubstituted and β-linked monomers to the genetic code of an organism. *Nature* **625**(7995):603–10.

74. **Costello A, Peterson AA, Lanster DL, Li Z, Carver GD, Badran AH** (2025). Author Correction: Efficient genetic code expansion without host genome modifications. *Nat Biotechnol* **43**(7):1203.

75. **Hu L, Cao W, Jiang Y, Cai W, Lou X, Liu T** (2024). Designing artificial fluorescent proteins and biosensors by genetically encoding molecular rotor-based amino acids. *Nat Chem* **16**(12):1960–71.

76. **Huang W, Wang S, Wei Y, Bai Y, Zhu Z, Yin D, Liu T, Sheng X, Zhou Z** (2025). Design and evolution of artificial enzyme with in-situ biosynthesized non-canonical amino acid. *Nat Commun* **16**(1):8698.

77. **Kim DS, Watkins A, Bidstrup E, Lee J, Topkar V, Kofman C, Schwarz KJ, Liu Y, Pintilie G, Roney E, Das R, Jewett MC** (2022). Three-dimensional structure-guided evolution of a ribosome with tethered subunits. *Nat Chem Biol* **18**(9):990–8.

78. **Chen H, Zhou S, Ngocho K, Zheng J, He X, Huang J, Wang K, Shi H, Liu J** (2024). Oriented triplex DNA as a synthetic receptor for transmembrane signal transduction. *Nat Commun* **15**(1):9789.

79. **Kim H, Skinner DJ, Glass DS, Hamby AE, Stuart BAR, Dunkel J, Riedel-Kruse IH** (2022). 4-bit adhesion logic enables universal multicellular interface patterning. *Nature* **608**(7922):324–9.

80. **Gambill L, Staubus A, Mo KW, Ameruoso A, Chappell J** (2023). A split ribozyme that links detection of a native RNA to orthogonal protein outputs. *Nat Commun* **14**(1):543.

81. **Hérisson J, Duigou T, Du Lac M, Bazi-Kabbaj K, Sabeti Azad M, Buldum G, Telle O, El Moubayed Y, Carbonell P, Swainston N, Zulkower V, Kushwaha M, Baldwin GS, Faulon J-L** (2022). The automated Galaxy-SynBioCAD pipeline for synthetic biology design and engineering. *Nat Commun* **13**(1):5082.

82. **Patel JR, Oh J, Wang S, Crawford JM, Isaacs FJ** (2022). Cross-kingdom expression of synthetic genetic elements promotes discovery of metabolites in the human microbiome. *Cell* **185**(9):1487-1505.e14.

83. **Yue Q, Meng J, Qiu Y, Yin M, Zhang L, Zhou W, An Z, Liu Z, Yuan Q, Sun W, Li C, Zhao H, Molnár I, Xu Y, Shi S** (2023). A polycistronic system for multiplexed and precalibrated expression of multigene pathways in fungi. *Nat Commun* **14**(1):4267.

84. **Dykstra CB, Pyne ME, Martin VJJ** (2023). CRAPS: Chromosomal-Repair-Assisted Pathway Shuffling in Yeast. *ACS Synth Biol* **12**(9):2578–87.

85. **Tian R, Rehm FBH, Czernecki D, Gu Y, Zürcher JF, Liu KC, Chin JW** (2024). Establishing a synthetic orthogonal replication system enables accelerated evolution in E. coli. *Science* **383**(6681):421–6.

86. **Perry NT, Bartie LJ, Katrekar D, Gonzalez GA, Durrant MG, Pai JJ, Fanton A, Martins JQ, Hiraizumi M, Ricci-Tam C, Nishimasu H, Konermann S, Hsu PD** (2026). Megabase-scale human genome rearrangement with programmable bridge recombinases. *Science* **391**(6790):eadz0276.

87. **Petris G, Grazioli S, van Bijsterveldt L, Murat P, Liu KC, Birnbaum J, Sale JE, Chin JW** (2025). High-fidelity human chromosome transfer and elimination. *Science* **390**(6777):1038–43.

88. **Pandi A, Diehl C, Yazdizadeh Kharrazi A, Scholz SA, Bobkova E, Faure L, Nattermann M, Adam D, Chapin N, Foroughijabbari Y, Moritz C, Paczia N, Cortina NS, Faulon JL, Erb TJ** (2022). A versatile active learning workflow for optimization of genetic and metabolic networks. *Nat Commun* **13**(1):3876.

89. **Ingraham JB, Baranov M, Costello Z, Barber KW, Wang W, Ismail A, Frappier V, Lord DM, Ng-Thow-Hing C, van Vlack ER, Tie S, Xue V, Cowles SC, Leung A, Rodrigues JV, Morales-Perez CL, Ayoub AM, Green R, Puentes K, Oplinger F, Panwar NV, Obermeyer F, Root AR, Beam AL, Poelwijk FJ, Grigoryan G** (2023). Illuminating protein space with a programmable generative model. *Nature* **623**(7989):1070–8.

90. **Hayes T, Rao R, Akin H, Sofroniew NJ, Oktay D, Lin Z, Verkuil R, Tran VQ, Deaton J, Wiggert M, Badkundri R, Shafkat I, Gong J, Derry A, Molina RS, Thomas N, Khan YA, Mishra C, Kim C, Bartie LJ, Nemeth M, Hsu PD, Sercu T, Candido S, Rives A** (2025). Simulating 500 million years of evolution with a language model. *Science* **387**(6736):850–8.

91. **Nguyen E, Poli M, Durrant MG, Kang B, Katrekar D, Li DB, Bartie LJ, Thomas AW, King SH, Brixi G, Sullivan J, Ng MY, Lewis A, Lou A, Ermon S, Baccus SA, Hernandez-Boussard T, Ré C, Hsu PD, Hie BL** (2024). Sequence modeling and design from molecular to genome scale with Evo. *Science* **386**(6723):eado9336.

92. **Rai K, O'Connell RW, Piepergerdes TC, Wang Y, Brown LBC, Samra KD, Wilson JA, Lin S, Zhang TH, Ramos EM, Sun A, Kille B, Curry KD, Rocks JW, Treangen TJ, Mehta P, Bashor CJ** (2026). Ultra-high-throughput mapping of genetic design space. *Nature* **650**(8103):1035–44.

93. **Singh N, Lane S, Yu T, Lu J, Ramos A, Cui H, Zhao H** (2025). A generalized platform for artificial intelligence-powered autonomous enzyme engineering. *Nat Commun* **16**(1):5648.

94. **Pandi A, Adam D, Zare A, van Trinh T, Schaefer SL, Burt M, Klabunde B, Bobkova E, Kushwaha M, Foroughijabbari Y, Braun P, Spahn C, Preußer C, Pogge von Strandmann E, Bode HB, Buttlar H von, Bertrams W, Jung AL, Abendroth F, Schmeck B, Hummer G, Vázquez O, Erb TJ** (2023). Cell-free biosynthesis combined with deep learning accelerates de novo-development of antimicrobial peptides. *Nat Commun* **14**(1):7197.

95. **Carpenter EJ, Peng C, Haregu S, Twells N, Woudstra L, Sood A, Cartmell J, Woods RJ, Mahal LK, Wang S-K, Greiner R, Derda R** (2025). Atom-level machine learning of protein-glycan interactions and cross-chiral recognition in glycobiology. *Sci Adv* **11**(49):eadx6373.

96. **Watson JL, Juergens D, Bennett NR, Trippe BL, Yim J, Eisenach HE, Ahern W, Borst AJ, Ragotte RJ, Milles LF, Wicky BIM, Hanikel N, Pellock SJ, Courbet A, Sheffler W, Wang J, Venkatesh P, Sappington I, Torres SV, Lauko A, Bortoli V de, Mathieu E, Ovchinnikov S, Barzilay R, Jaakkola TS, DiMaio F, Baek M, Baker D** (2023). De novo design of protein structure and function with RFdiffusion. *Nature* **620**(7976):1089–100.

97. **Bennett NR, Watson JL, Ragotte RJ, Borst AJ, See DL, Weidle C, Biswas R, Yu Y, Shrock EL, Ault R, Leung PJY, Huang B, Goreshnik I, Tam J, Carr KD, Singer B, Criswell C, Wicky BIM, Vafeados D, Garcia Sanchez M, Kim HM, Vázquez Torres S, Chan S, Sun SM, Spear TT, Sun Y, O'Reilly K, Maris JM, Sgourakis NG, Melnyk RA, Liu CC, Baker D**

(2026). Atomically accurate de novo design of antibodies with RFdiffusion. *Nature* **649**(8095):183–93.

98. **Vázquez Torres S, Benard Valle M, Mackessy SP, Menzies SK, Casewell NR, Ahmadi S, Burlet NJ, Muratspahić E, Sappington I, Overath MD, Rivera-de-Torre E, Ledergerber J, Laustsen AH, Boddum K, Bera AK, Kang A, Brackenbrough E, Cardoso IA, Crittenden EP, Edge RJ, Decarreau J, Ragotte RJ, Pillai AS, Abedi M, Han HL, Gerben SR, Murray A, Skotheim R, Stuart L, Stewart L, Fryer TJA, Jenkins TP, Baker D** (2025). De novo designed proteins neutralize lethal snake venom toxins. *Nature* **639**(8053):225–31.
99. **Li C, Wang D, Gao H, Fu T, He L, Han D, Tan W** (2024). Leveraging DNA-Encoded Cell-Mimics for Environment-Adaptive Transmembrane Channel Release-Induced Cell Death. *Angew Chem Int Ed Engl* **63**(30):e202406186.
100. **Yamada T, Trentesaux C, Brunger JM, Xiao Y, Stevens AJ, Martyn I, Kasparek P, Shroff NP, Aguilar A, Bruneau BG, Boffelli D, Klein OD, Lim WA** (2025). Synthetic organizer cells guide development via spatial and biochemical instructions. *Cell* **188**(3):778-795.e18.
101. **Inda-Webb ME, Jimenez M, Liu Q, Phan NV, Ahn J, Steiger C, Wentworth A, Riaz A, Zirtiloglu T, Wong K, Ishida K, Fabian N, Jenkins J, Kuosmanen J, Madani W, McNally R, Lai Y, Hayward A, Mimee M, Nadeau P, Chandrakasan AP, Traverso G, Yazicigil RT, Lu TK** (2023). Sub-1.4 cm3 capsule for detecting labile inflammatory biomarkers in situ. *Nature* **620**(7973):386–92.
102. **Huang J, Xue S, Buchmann P, Teixeira AP, Fussenegger M** (2023). An electrogenetic interface to program mammalian gene expression by direct current. *Nat Metab* **5**(8):1395–407.
103. **Ballard E, Sakurai M, Yu L, Liu L, Oura S, Huang J, Wu J** (2024). Incompatibility in cell adhesion constitutes a barrier to interspecies chimerism. *Cell Stem Cell* **31**(10):1419-1426.e7.
104. **Zhang F, Sun Y, Zhang Y, Shen W, Wang S, Ouyang Q, Luo C** (2022). Independent control of amplitude and period in a synthetic oscillator circuit with modified repressilator. *Commun Biol* **5**(1):23.
105. **Wu L-L, Yan S, Pei T-T, Tang M-X, Li H, Liang X, Sun S, Dong T** (2023). A Dueling-Competent Signal-Sensing Module Guides Precise Delivery of Cargo Proteins into Target Cells by Engineered Pseudomonas aeruginosa. *ACS Synth Biol* **12**(2):360–8.
106. **Chen WCW, Gaidukov L, Lai Y, Wu M-R, Cao J, Gutbrod MJ, Choi GCG, Utomo RP, Chen Y-C, Wroblewska L, Kellis M, Zhang L, Weiss R, Lu TK** (2022). A synthetic transcription platform for programmable gene expression in mammalian cells. *Nat Commun* **13**(1):6167.
107. **Lin Y, Shi J, Feng W, Yue J, Luo Y, Chen S, Yang B, Jiang Y, Hu H, Zhou C, Shi F, Prominski A, Talapin DV, Xiong W, Gao X, Tian B** (2023). Periplasmic biomineralization for semi-artificial photosynthesis. *Sci Adv* **9**(29):eadg5858.
108. **Shi X, Pumm A-K, Maffeo C, Kohler F, Feigl E, Zhao W, Verschueren D, Golestanian R, Aksimentiev A, Dietz H, Dekker C** (2024). A DNA turbine powered by a transmembrane potential across a nanopore. *Nat Nanotechnol* **19**(3):338–44.
109. **Firzan Ca N, Jana K, Radhakrishnan S, Aara R, S M, Nair R, Bajaj H, Kleinekathöfer U, Mahendran KR** (2025). Fabrication of cytotoxic mirror image nanopores. *Nat Commun* **16**(1):8666.
110. **Zhang Y, Dantsu Y, Zhang W** (2025). Construction of a Mirror-Image RNA Nanostructure for Enhanced Biostability and Drug Delivery Efficiency. *ACS Biomater Sci Eng* **11**(4):2408–21.