

Voorzitter: prof.dr.ir. B.C.J. Zoeteman

Aan de Staatssecretaris van
Volkshuisvesting, Ruimtelijke
Ordening en Milieubeheer
De heer drs. P.L.B.A. van Geel
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

Uw kenmerk

Uw brief van

Kenmerk

Datum

CGM/060228-03

28 februari 2006

Onderwerp

Signalering synthetische biologie

Geachte heer Van Geel,

Hierbij bied ik u de signalering getiteld 'Synthetische biologie; een onderzoeksveld met grensoverschrijdende gevolgen' aan. Met deze signalering wil de COGEM de Nederlandse overheid informeren over de snelle ontwikkelingen in een nieuw wetenschapsgebied, de synthetische biologie.

Samenvatting:

De synthetische biologie is een nieuw veld binnen de genetische modificatie waarvan de verwachtingen hoog zijn. De technologie richt zich enerzijds op het veranderen van bestaande organismen en anderzijds op het bouwen van nieuwe levende organismen. Deze ontwikkelingen zouden kunnen leiden tot een publiek debat over het creëren van nieuwe levensvormen. Momenteel beperkt de discussie zich nog voornamelijk tot de wetenschappelijke wereld. Onderzoek wordt thans met name uitgevoerd in de Verenigde Staten; in Nederland lijkt weinig onderzoek op dit terrein plaats te vinden.

Synthetische organismen vallen onder de wet- en regelgeving voor genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) aangezien de organismen vervaardigd zijn op een manier die niet door voortplanting of natuurlijke recombinatie mogelijk is. De COGEM is van mening dat de thans gehanteerde risico-analyse voor werkzaamheden met ggo's niet in alle gevallen toepasbaar zal zijn voor synthetische organismen. Op een bepaald punt zal de technologie namelijk grenzen overschrijden waardoor eventuele risico's niet meer met behoud van de thans gebruikte methodiek in te schatten zijn. Indien een risico-analyse niet mogelijk is dan worden activiteiten, ongeacht of mogelijke risico's laag zijn, op het hoogste inperkingsniveau ingeschaald. Dit kan een belemmering vormen om dergelijk onderzoek in Nederland uit te voeren. Met het tijdig opstellen van een adequate risico-analyse methodologie, worden verrassingen in een later stadium voorkomen, blijft de veiligheid gewaarborgd en worden wetenschappelijke ontwikkelingen niet onnodig gefrustreerd. Daarom wijst de COGEM met deze signalering in een vroegtijdig stadium op de complexe problematiek van dit onderwerp. De commissie heeft in deze signalering enkele vragen geformuleerd die een rol kunnen spelen bij de aanpak van deze problematiek.

Deze signalering wordt u toegezonden in het kader van de wettelijke taak van de COGEM u te adviseren over risico's voor het milieu bij vervaardiging van en handelingen met genetisch gemodificeerde organismen, en om ethische en maatschappelijke aspecten omtrent genetische modificatie te signaleren.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and a long horizontal stroke extending to the right.

Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
voorzitter COGEM

c.c. Dr. ir. B.P. Loos
Dr. R.C. Zwart

Synthetische biologie

Een onderzoeksveld met voortschrijdende gevolgen

COGEM signalering CGM/060228-03

Commissie Genetische Modificatie (COGEM)

De COGEM heeft tot taak de regering te adviseren over de risicoaspecten van genetisch gemodificeerde organismen en te signaleren over ethische en maatschappelijke aspecten van genetische modificatie (Wet milieubeheer §2.3).

INHOUDSOPGAVE

1. Inleiding	3
1.1 Achtergrondinformatie	3
2. Synthetische organismen	5
2.1 Toepassingen	5
2.2 Toekomstmuziek?	9
3. Veiligheid	11
3.1 Risico-analyse	12
3.2 Angsten	14
4. Conclusie	17
Referenties	19

1. Inleiding

Is het binnen afzienbare tijd mogelijk dat er een wereld ontstaat waarin kunstmatige organismen met allerlei denkbare functies gebouwd worden? Synthetische organismen die in de bloedbaan monitoren op aanwezigheid van pathogenen en deze vervolgens te lijf gaan? Kunstmatige bacteriën die landmijnen ontmantelen? Synthetische organismen die vervuiling opsporen, afbreken, tot 256 tellen en dan apoptose (zelfmoord) plegen? Kunstmatige organismen die schone energie produceren uit zonlicht en water? In de wetenschappelijke wereld en grijze literatuur worden steeds vaker dergelijke vergezichten geschilderd onder de noemer synthetische biologie.

De synthetische biologie ontwikkelt zich zeer snel en heeft alle kenmerken in zich om in de toekomst een hype te worden. De verwachtingen zijn hoog en bovendien houden steeds meer onderzoekers zich bezig met deze technologie. Verder verschijnt er een toenemend aantal publicaties en is er een groeiende aandacht in de media. De ontwikkeling van synthetische organismen wordt zelfs al omschreven als '*Pimp my genome*' (1).

Het onderzoeksveld komt voort uit de genetische modificatie. Het volgt grotendeels de lijn van de huidige ontwikkelingen en mogelijke risico's zijn in te schatten. Maar op een moment zal de technologie grenzen overschrijden en kunnen eventuele risico's niet meer via de gebruikelijke weg ingeschat worden. Er zullen dan nieuwe afwegingen gemaakt moeten worden. Het streven van de technologie is namelijk het 'op maat' ontwikkelen en bouwen van synthetische organismen. Amerika's meest bekende onderzoeker op het terrein van genomics Craig Venter, directeur van het 'J. Craig Venter Institute' in de Verenigde Staten, omschreef de ontwikkelingen in de synthetische biologie als volgt: *We're moving from reading the genetic code to writing it* (2).

De verwachte verregaande, toekomstige ontwikkelingen zullen nieuwe vragen oproepen. Daarom wil de COGEM de overheid met deze signalering informeren over huidige en potentiële ontwikkelingen op het gebied van de synthetische biologie.

1.1 Achtergrondinformatie

Al in 1980 werd de term 'synthetische biologie' gebruikt om bacteriën te beschrijven die genetisch veranderd zijn door recombinante DNA technologie. Inmiddels is het onderzoeksterrein sterk uitgebreid en heeft het zich gevormd tot

een gespecialiseerd veld binnen de genetische modificatie. Het ontwerpen, modelleren en bouwen van kunstmatige systemen vereist een combinatie van biologische en technische wetenschappen. De ontwikkeling van synthetische organismen vergt een nauwe samenwerking van moleculair-biologen, fysici, chemici en technici.

De inhoud van de term 'synthetische biologie' is de laatste jaren enigszins veranderd (3). De technologie richt zich enerzijds op het ontwerpen en synthetiseren van kunstmatige genen en complete biologische systemen. Anderzijds richt de technologie zich op het veranderen van bestaande organismen met als doel het verkrijgen van nuttige functies (4). Hiertoe worden vele genen, die afkomstig kunnen zijn uit verschillende organismen, tegelijkertijd ingebouwd (5;6). De technologie kan leiden tot totaal nieuwe ontwikkelingen.

2. Synthetische organismen

De synthetische biologie ontwikkelt zich snel en staat volop in de belangstelling. Dit blijkt onder meer uit de verschillende websites en weblogs die inmiddels verschenen zijn (4;7;8;9). Verder vindt in Berkeley, Verenigde Staten, dit jaar de tweede internationale conferentie op dit terrein plaats, getiteld 'Synthetic Biology 2.0' (10). Daarnaast hebben verschillende universiteiten afdelingen en werkgroepen opgericht die zich specifiek richten op de ontwikkeling van synthetische organismen (11;12;13;14). De technologie lijkt in de toekomst een hype te gaan worden. Synthetische biologie zou onder meer een belangrijke oplossing voor ziekten kunnen bieden (5;15;16). Maar in welk stadium bevinden de ontwikkelingen zich op dit moment? In dit hoofdstuk worden enkele voorbeelden weergegeven van synthetische organismen die reeds ontwikkeld zijn of waaraan gewerkt wordt. Daarnaast wordt ingegaan op de termijn waarop verregerende ontwikkelingen te verwachten zijn.

2.1 Toepassingen

Momenteel vinden veel ontwikkelingen plaats op het gebied van de synthetische biologie. In de literatuur zijn inmiddels een aantal interessante voorbeelden beschreven. Hieronder wordt hierop nader ingegaan.

Genetische netwerken

Het creëren van nieuwe complexe eigenschappen in organismen is te bereiken door het bouwen van 'genetische netwerken'. Genetische netwerken zijn samengesteld uit basiselementen waarbij (de expressie van) de som van de elementen invloed op elkaar uitoefent. De netwerken vormen een soort 'chemische assemblagelij' (17). Na inbouwen van een dergelijk netwerk kan de synthetische cel bijvoorbeeld voorspelbare beslissingen nemen gebaseerd op factoren uit de omgeving (18).

In de natuur zijn genen-netwerken gedurende de evolutie volledig op elkaar afgestemd. Daarentegen zijn synthetische netwerken opgebouwd uit elementen die ogenschijnlijk geen verband met elkaar hebben. De elementen moeten na assemblage nog geoptimaliseerd worden. Dit vindt onder andere plaats met behulp van computersoftware (19). Inmiddels is een simulatieprogramma, BioSPICE, ontwikkeld om het gedrag van kunstmatige genetische netwerken te voorspellen en te optimaliseren voordat synthetische systemen gebouwd worden (20).

De toepassing van een genetisch netwerk heeft al geleid tot de productie van een precursor van artemisinine, een medicijn tegen malaria, door bacteriën (*Escherichia coli*). Artemisinine wordt vanouds geïsoleerd uit de plant Alsem (*Artemisia annua*). Het is echter een tijdrovende en kostbare methode. Om dit te voorkomen is gekozen voor het plaatsen van een nieuwe biochemische route in bacteriën. Het netwerk is opgebouwd uit een combinatie van elementen afkomstig van *Saccharomyces cerevisiae*, *Haematococcus pluvialis* en *E. coli*. Bovendien is een synthetisch gen toegevoegd dat gebaseerd is op de sequentie coderend voor een enzym van de Alsem plant. De genen tezamen zijn vervolgens zodanig op elkaar afgestemd dat ze samenwerken en de productie van de synthetische variant van een precursor van artemisinine mogelijk maken (21).

Onlangs is de 'fotograferende' bacterie ontwikkeld door het toevoegen van genetische netwerken (8). Een kweek van gemodificeerde *E. coli* bacteriën vormt een dunne laag, een soort biologische film die onder invloed van licht verkleurt. Door het projecteren van een specifiek lichtpatroon op vermenigvuldigende bacteriën ontstaat een levende zwart-wit foto. Genen betrokken bij de 'waarneming' van licht zijn afkomstig van een cyanobacterium (*Synechocystis*). Als gevolg van het optimaliseren van deze genen met de eigen genen van *E. coli* ontstaat een nieuwe route in de bacterie. De aanwezigheid van het zogenaamde *lacZ* reporter gen in de bacteriën, in combinatie met het kweken op een speciale voedingsbodem, leidt ertoe dat de organismen in staat zijn om een zwarte kleurstof te vormen indien geen licht 'waargenomen' wordt. Daarentegen zal de bacterie de kleurstof niet vormen bij het 'waarnemen' van licht (22).

Het bouwen van genetische netwerken is niet eenvoudig en kan veel tijd vergen. Om het bouwen te vereenvoudigen, worden er bouwblokken van DNA ontwikkeld, zogenaamde BioBricks. Dit zijn DNA fragmenten die coderen voor specifieke functies. Door verschillende BioBricks achter elkaar te schakelen, wordt een totaal genoom gevormd (23). Alle BioBricks zijn gestandaardiseerd, wat wil zeggen dat de fragmenten dusdanig ontworpen zijn dat er een onderlinge en voorspelbare interactie bestaat (23). BioBricks zijn bovendien afzonderlijk uitwisselbaar, zodat de functie van een netwerk compleet kan veranderen door het vervangen van slechts één BioBrick (23). Onderzoekers willen uiteindelijk routinematig synthetische organismen met exact het gewenste gedrag bouwen (23).

BioBricks kunnen gebaseerd zijn op bestaande functies in de natuur, zoals ribosoombindingsplaatsen en terminators (8). Voor de regulatie van genexpressie kunnen BioBricks ook functies omvatten die vergelijkbaar zijn met computerfuncties, zoals NOT en AND functies (24).

Een onderzoeksgroep van de Massachusetts Institute of Technology (MIT, Verenigde Staten) heeft op internet een catalogus ('Registry of Standard Biological Parts') met BioBricks opgezet (8). Hierin zijn zowel ontwikkelde BioBricks opgenomen, als BioBricks die nog in ontwikkeling zijn.

Onderzoekers kunnen zich aanmelden op de site en deelnemen aan de ontwikkeling van de bouwstenen.

De catalogus zal tot gevolg hebben dat BioBricks uiteindelijk algemeen verkrijgbaar zijn waardoor het voor iedereen eenvoudiger wordt om synthetische organismen te bouwen. Het aan elkaar koppelen van de BioBricks vereist namelijk minder kennis van moleculaire biologie.

Dat BioBricks 'hot' zijn in de wetenschappelijke wereld blijkt uit studentencompetities die de afgelopen jaren in de Verenigde Staten hebben plaatsgevonden. Onder de titel '*the first international intercollegiate Genetically Engineered Machine competition*' is in 2005 voor het eerst een internationale studentencompetitie gehouden. Studenten hebben zich bezig gehouden met het ontwerpen en bouwen van 'biologische machines' onder andere met behulp van BioBricks. De 'fotograferende' bacterie is tijdens de competitie tot stand gekomen (zie kader) (24).

Alternatief alfabet

Sinds 1990 is al vele malen getracht om een alternatief genetisch alfabet te ontwikkelen. Onderzoekers zijn van mening dat een alternatief alfabet het mogelijk maakt om additionele informatie toe te voegen aan erfelijk materiaal. Op deze manier zouden eiwitten geproduceerd kunnen worden die niet van nature voorkomen. Dit kan leiden tot nieuwe toepassingen in de biotechnologie en geneeskunde. Wetenschappers noemen de ontwikkeling van nieuwe medicijnen als potentiële toepassing (15).

Natuurlijk erfelijk materiaal is normaal opgebouwd uit vier verschillende basen. Een alternatief genetisch alfabet kan onder andere bereikt worden door een uitbreiding van dit aantal. Enkele 'onnatuurlijke' basen zijn ontwikkeld door de volgorde en combinatie van de bindingsplaatsen van waterstofbruggen op de basen te wijzigen (25). Sommige onderzoekers zijn van mening dat er nadelen kleven aan deze wijze, er kan bijvoorbeeld slechts een beperkt aantal onnatuurlijke basen gevormd worden. Daarom zijn er tevens basen geproduceerd die stabiele basenparen vormen via hydrofobe interacties in plaats van waterstofbruggen (26).

Het bereiken van een succesvol genetische alfabet vergt meer dan slechts een wijziging in het aantal basen. Het genetische alfabet moet bijvoorbeeld ook vertaald en vermenigvuldigd kunnen worden. Hieronder wordt ingegaan op enkele studies op dit gebied.

In 1992 is een studie verricht waaruit blijkt dat mRNA met een onnatuurlijke base *in vitro* vertaald kan worden in een aminozuurketen. Hierbij is gebruik gemaakt van natuurlijke ribosomen. Daarentegen blijkt natuurlijk transfer RNA

(tRNA) niet in staat om mRNA met onnatuurlijke basen af te lezen. Het tRNA is daarom gemodificeerd en is tevens drager van een onnatuurlijk aminozuur. Bij binding van het tRNA aan het erfelijke materiaal wordt het onnatuurlijke aminozuur gekoppeld aan de reeds gesynthetiseerde aminozuurketen (27).

Tot voor kort was de vermenigvuldiging van een alternatief alfabet nog een probleem. In 2004 is men er echter in geslaagd om DNA fragmenten, met twee onnatuurlijke basen, te vermenigvuldigen met behulp van de zogenaamde polymerase chain reaction (PCR). Normaal zorgen specifieke enzymen, polymerases, tijdens de vermeerdering van het DNA voor het inbouwen van basen. Dergelijke enzymen zijn echter alleen toegespitst op het inbouwen van natuurlijk voorkomende basen en bouwen onnatuurlijke basen inefficiënt in. Om dit te verhelpen is gebruik gemaakt van een polymerasemutant. Door een mutatie is het enzym in staat om onnatuurlijke basen met een precisie van 98% in te bouwen (25;28;29). Het synthetische DNA fragment bestaat uiteindelijk uit zes verschillende basen in plaats van vier.

Het is inmiddels ook mogelijk om onnatuurlijke aminozuren in te bouwen zonder het aantal basen in het erfelijke materiaal te wijzigen. Normaliter wordt mRNA per drie nucleotiden (codon) vertaald in aminozuren. Een recent onderzoek beschrijft het inbouwen van onnatuurlijke aminozuren met behulp van tRNA dat in staat is om codons van vier nucleotiden te lezen. Om dit te bewerkstelligen zijn drie factoren vereist. Ten eerste, het bouwen van een onnatuurlijk aminozuur. Ten tweede, het ontwikkelen van een gemodificeerd tRNA dat de viervoudige codon en het bijbehorende onnatuurlijke aminozuur herkent. Als laatste, dient het enzym dat het onnatuurlijke aminozuur aan tRNA koppelt, gewijzigd te worden (30). Met het tot stand komen van deze factoren in de studie, is de mogelijkheid voor een uitbreiding van het genetische alfabet een stapje dichterbij gekomen.

Minimaal genoom bacterie

Wetenschappers trachten een bacterie te bouwen met een zo klein mogelijk genoom, 'minimaal genoom bacterie' genoemd (31). Door een complex organisme te versimpelen is het namelijk beter te begrijpen (5). Om een 'minimaal genoom' te verkrijgen, wordt bestudeerd hoeveel genen een bacterie, bijvoorbeeld *Mycoplasma genitalium*, minimaal nodig heeft om zich te kunnen vermenigvuldigen in een specifiek kweekmedium (32). Door het uitschakelen van de overige genen, zou uiteindelijk een onschadelijk, minimalistisch organisme overblijven (33).

Onderzoekers zijn van mening dat de 'minimaal genoom bacterie' als een onschadelijk basisorganisme kan fungeren voor het inbouwen van elke gewenste eigenschap (23). Zij willen deze bacterie onder andere gebruiken om

organismen te bouwen die in staat zijn tot afbraak van toxische materialen in het milieu, bioremediatie, of de productie van schone energie (32;33).

2.2 Toekomstmuziek?

Uit het bovenstaande blijkt dat de synthetische biologie sterk in ontwikkeling is. Tegelijk roept de technologie vele vragen op. Is het op korte termijn mogelijk om complexe systemen te bouwen die niet gebaseerd zijn op bestaande organismen? Welke voordelen biedt de technologie? Welke gevaren brengt dit met zich mee?

De voordelen en gevaren zijn tot nu toe voornamelijk theoretisch van aard. Het is nog te vroeg om te kunnen zeggen of de synthetische biologie haar beloften waar zal maken aangezien er nog een aantal beperkende factoren zijn. Deze factoren hebben onder andere betrekking op de hoge kosten van de technologie, op een beperkte kennis van biologische systemen en op een variabel gedrag van systemen (6;33;34).

Momenteel vormt onder meer de te synthetiseren lengte van het erfelijke materiaal een beperking om complexe organismen te synthetiseren. De ontwikkelingen op dit gebied staan echter niet stil. DNA fragmenten van 10.000 basenparen zijn haalbaar en er komen technieken beschikbaar waarmee het mogelijk is om langere DNA moleculen te synthetiseren (34;35). Hiermee lijkt deze tekortkoming snel overwonnen te kunnen worden.

De synthese van langer DNA of RNA heeft echter nog een bijkomstig probleem. De kans op het introduceren van fouten in de basenvolgorde is namelijk groter naarmate het synthetische erfelijke materiaal langer is (33). Systemen kunnen hierdoor anders reageren dan verwacht of zelfs helemaal niet meer werkzaam zijn.

Een volgend probleem is het 'tot leven' brengen van erfelijk materiaal. Het is nu nog onduidelijk hoe een nieuw genoom tot expressie gebracht moet worden (33). Een mogelijke oplossing vormt het plaatsen van het genoom in een bacterie die ontdaan is van zijn DNA (36). Een andere oplossing biedt de recentelijk ontwikkelde 'artificiële' cel.

De artificiële cel vormt een primitieve versie van een 'biologische' cel. De artificiële cel is niet in staat tot deling maar voert slechts chemische reacties uit (37). De kunstmatige cel is opgebouwd uit een fosfolipidenmembraan met daarin een extract afkomstig van *E. coli*. Het extract bevat onder andere ribosomen, tRNA, polymerase, de twintig aminozuren en de vier nucleotides. Het membraan is gepermeabiliseerd met behulp van een toxine zodat

uitwisseling van stoffen kan plaatsvinden tussen de cel en het voedingsmedium. Na toevoeging van genen vindt transcriptie en translatie plaats. Gedurende vier dagen produceert de artificiële cel eiwitten (37).

Hoewel er op dit moment een aantal beperkende factoren zijn, lijken deze in de toekomst overwonnen te kunnen worden. Dit is mede toe te schrijven aan een uitbreiding van beschikbare BioBricks en een verdere ontwikkeling van technische vaardigheden. Toepassingen met synthetische organismen komen hierdoor dichterbij. Echter, voor het tot stand komen van een volledig nieuw synthetisch organisme moeten nog veel onzekerheden opgelost worden zodat dergelijke ontwikkelingen hoogstwaarschijnlijk niet in de zeer nabije toekomst zullen plaatsvinden.

3. Veiligheid

De synthetische biologie bevindt zich nog in een vroeg stadium zodat het inschatten van eventuele risico's niet eenvoudig is. Volgens sommige onderzoekers in dit veld zou de nieuwe technologie zelfs minder risico's met zich meebrengen dan de 'klassieke' genetische modificatie (36). Zij zijn van mening dat de controle over een cel groot is omdat een gewenst systeem exact gebouwd wordt aan de hand van een computermodel (7;15;36). Verder zijn zij van mening dat hoe groter het verschil is tussen synthetische en biologische organismen, des te kleiner de kans is dat kunstmatige systemen zullen overleven in het milieu (2). Het is nog de vraag of dit in de praktijk ook het geval zal zijn. Is het namelijk wel mogelijk om eventuele negatieve gevolgen van nieuwe organismen in te schatten?

Niet uit te sluiten is dat synthetische organismen, evenals ggo's, bij vrijkomen uit het laboratorium tot risico's voor mens en milieu kunnen leiden. Enkele wetenschappers zijn van mening dat risico's beperkt blijven bij gebruik van 'minimaal genoom bacteriën'. De genen verantwoordelijk voor infectie van een gastheer zijn verwijderd (36). Bovendien zijn dergelijke organismen slechts in staat tot overleven in een specifiek voedingsmedium. Als het organisme hier buiten komt, zal overleving naar verwachting kort zijn (32). Andere wetenschappers wijzen erop dat een dergelijk organisme misschien geen infecties zal veroorzaken, maar dat milieurisico's niet geheel uit te sluiten zijn. Gedrag en mogelijke ecologische niches van dergelijke uitgeklete organismen zijn naar hun mening moeilijk te voorspellen.

In sommige situaties is het juist de intentie om synthetische organismen in de natuur te brengen. Een voorbeeld hiervan zijn zogenaamde biosensoren, bacteriën die een chemische stof kunnen opsporen en vervolgens afbreken. Ondanks eventuele uitzetting van deze organismen in het milieu, is het niet de bedoeling dat ze zich zullen vermeerderen en verspreiden.

Onafhankelijk van een bedoelde of onbedoelde introductie in het milieu, dienen de risico's altijd verwaarloosbaar klein te zijn. Volgens onderzoekers zijn risico's te voorkomen door het inbrengen van extra voorzorgsmaatregelen, zogenaamde 'layers of defence', in synthetische organismen. Hierbij wordt gespeculeerd over een verandering van de genetische code waardoor deze niet gelijk is aan de biologische code. Naar de mening van onderzoekers zou een alternatief alfabet recombinatie van synthetische genen met natuurlijke organismen voorkomen (16;38). Anderzijds kan gesteld worden dat nieuwe organismen zich aan natuurlijke regulatiemechanismen zouden kunnen onttrekken. Normaliter wordt de groei van een populatie namelijk geremd door

bijvoorbeeld de aanwezigheid van pathogenen. Het is van organismen met een nieuw genetisch stelsel, en eiwitten met onnatuurlijke aminozuren, echter niet duidelijk of ze herkend zullen worden door het dierlijke of menselijke afweersysteem en of bestrijding door pathogenen als virussen mogelijk is. Daarnaast is niet uit te sluiten dat organismen met een alternatief alfabet niet coderen voor toxische stoffen.

Verder wordt gedacht aan het inbouwen van een genetisch netwerk dat het aantal celdelingen van een organisme bijhoudt. Na een bepaald aantal delingen volgt apoptose (zelfdoding) (5). Het moment van apoptose wordt voorafgaand aan de ontwikkeling van het synthetische organisme bepaald en vastgelegd in het genetische netwerk. Synthetische cellen zouden ook aangezet kunnen worden tot apoptose bij het bereiken van een te hoge populatiedichtheid (5;33). Een organisme dat beschikt over een dergelijk mechanisme is reeds ontwikkeld (33).

Door het aanbrengen van combinaties van verschillende 'layers of defence', worden eventuele risico's verder verkleind (5). Desondanks is dit geen garantie voor de afwezigheid van risico's en het uitblijven van onbedoelde effecten. Het is mogelijk dat tijdens celdeling mutaties ontstaan in het erfelijke materiaal. Er is reeds aangetoond dat in een dergelijke situatie genetische netwerken binnen enkele dagen niet meer werkzaam zijn (5;39). Dit kan tot gevolg hebben dat een ingebrachte 'layer of defence' niet meer effectief is, waardoor organismen zich alsnog zouden kunnen verspreiden in het milieu.

3.1 Risico-analyse

In Nederland is wet- en regelgeving opgesteld om mens en milieu te beschermen tegen ongewenste effecten die zouden kunnen optreden bij activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen. Synthetische organismen vallen onder deze wet- en regelgeving aangezien het organismen betreft die genetisch zijn aangepast op een wijze die niet door voortplanting of natuurlijke recombinitie mogelijk is.

Om de veiligheid van mens en milieu te waarborgen, wordt bij werkzaamheden met ggo's een inschatting gemaakt van de risico's. Bij deze risico-analyse ligt de focus op:

1. de eigenschappen van het ggo;
2. de blootstelling van mens en milieu;
3. de aard van eventuele negatieve effecten veroorzaakt door het ggo;
4. de kans dat deze effecten optreden.

Om hierover een uitspraak te kunnen doen wordt onder andere aandacht besteed aan de pathogeniteit van het donor- en gastheerorganisme, de gehanteerde vector en de aanwezigheid van een gekarakteriseerd of ongekarakteriseerd insert. Daarnaast wordt overwogen welke activiteiten met het ggo worden uitgevoerd.

Het is nu nog onduidelijk of de thans gehanteerde risico-analyse voor werkzaamheden met ggo's ook bruikbaar is voor vervaardiging van en handelingen met synthetische organismen. Om na te gaan of de risico-analyse toepasbaar is, dienen de hierboven genoemde vier aandachtspunten nader beschouwd te worden.

Het eerste punt heeft betrekking op de beoordeling van de eigenschappen van synthetische organismen. Om enig inzicht hierin te verkrijgen maakt de COGEM onderscheid tussen synthetische organismen die tot stand gekomen zijn vanuit bestaande organismen en die welke zijn ontstaan vanuit volledig nieuwe organismen.

Synthetische organismen gebaseerd op bestaande organismen

De ontwikkeling van synthetische organismen vanuit bestaande organismen kunnen beschouwd worden als een verregaande vorm van genetische modificatie. Ook de ontwikkeling van minimaal genoom bacteriën behoort hiertoe. Momenteel worden synthetische organismen nog met name gevormd door het toevoegen van diverse bestaande genen aan bestaande organismen. Van dergelijke synthetische organismen zijn daarom een groot aantal eigenschappen bekend, te weten de gastheer, de donoren, de gehanteerde vectoren en de inserts. Het is derhalve aannemelijk dat de huidige risico-analyse in deze situatie toepasbaar is. Desondanks kan de risico-analyse enigszins bemoeilijkt worden als de insertie vele genen tegelijk betreft. Bovendien kunnen de toegevoegde genen afkomstig zijn van verschillende organismen.

Is de risico-analyse ook volledig toepasbaar wanneer synthetische genen worden toegevoegd aan bestaande organismen? In het geval dat synthetische genen een natuurlijke homologe hebben, zal de risico-analyse hoogstwaarschijnlijk toepasbaar zijn aangezien de natuurlijke homologe als referentiekader gebruikt kan worden. Maar hoe kunnen risico's ingeschat worden als de synthetische genen volledig nieuw zijn en geen natuurlijke homologe hebben?

Volledig nieuwe synthetische organismen

Met de synthese van volledig kunstmatige organismen ontstaat een geheel nieuwe situatie. Een uiteindelijk doel van het onderzoeksveld is om nieuw genomen te bouwen door bijvoorbeeld het koppelen van BioBricks of door het

hanteren van een alternatief alfabet. Deze genomen zouden vervolgens in een lege of artificiële cel tot expressie gebracht moeten worden. In deze situaties ontbreekt het referentiekader geheel omdat er geen gastheer- of donororganisme is. Hoe dienen risico's van dergelijke organismen ingeschat te worden?

De risico-analyse besteed behalve aan de eigenschappen van organismen ook aandacht aan de blootstellingsroute van mens en milieu, mogelijke negatieve effecten en de kans dat deze effecten optreden. Indien alle eigenschappen van een organisme bekend zijn, kunnen deze vragen beantwoord worden. Maar in hoeverre is het mogelijk om een antwoord te geven wanneer slechts enkele of zelfs helemaal geen kenmerken van het synthetische organisme bekend zijn?

Na het inschatten van risico's bij werkzaamheden met ggo's, vindt de vertaling plaats naar een specifiek inperkingsniveau waaronder de activiteiten veilig kunnen plaatsvinden. Een adequate risico-analyse leidt dus tot een juiste inschaling van werkzaamheden. Maar de thans gehanteerde risico-analyse voor ggo's lijkt niet in alle situaties toepasbaar voor synthetische organismen. Als een risico-analyse niet mogelijk is vanwege wetenschappelijke onzekerheid dan worden activiteiten, ongeacht of mogelijke (onbekende) risico's laag zijn, binnen inrichtingen zoals laboratoria ('ingeperkt gebruik') op het hoogste inperkingsniveau ingeschaald. Dit betekent in feite dat de betreffende werkzaamheden in Nederland vaak niet uitgevoerd kunnen worden. Om de veiligheid te waarborgen en tegelijkertijd de wetenschappelijke ontwikkelingen niet onnodig te frustreren, wijst de COGEM er op dat in een vroegtijdig stadium onderzocht moet worden of de risico-analyse de ontwikkelingen van synthetische organismen dekt en of eventuele aanpassingen noodzakelijk zijn.

Overigens, is in juni 2005, in de Verenigde Staten een groot, gesubsidieerd onderzoek gestart waarin de voordelen, risico's en voorzorgsmaatregelen van de technologie onderzocht worden. Naar verwachting zal het onderzoek in de zomer van 2006 afgerond zijn (40;41). De resultaten kunnen behulpzaam zijn bij het bovengestelde traject.

3.2 Angsten

Op dit moment is er onder het publiek nog slechts in zeer beperkte mate een discussie gaande over ethische en maatschappelijke bezwaren bij synthetische biologie. Het is aannemelijk dat bezwaren vergelijkbaar zullen zijn met de huidige bezwaren tegen genetische modificatie. Als de technologie zich verbetert en de ontwikkeling van nieuwe levensvormen steeds dichterbij komt, zal dit hoogstwaarschijnlijk verdere ethische en maatschappelijke vragen

oproepen. Vermoedelijk zal de discussie zich dan nog sterker richten op de grenzen van het toelaatbare dan tot nu toe al het geval is bij genetische modificatie. De synthese van compleet nieuwe organismen zou namelijk gezien kunnen worden als het creëren van nieuwe levensvormen, ofwel vergelijkbaar zijn met ‘spelen voor God’ (15). Om in te kunnen schatten of een synthetisch organisme daadwerkelijk een nieuwe levensvorm is, zal het debat zich hoogstwaarschijnlijk ook richten op de inhoud van de term ‘leven’. Daarnaast wordt verwacht dat de discussie zich zal toespitsen op mogelijke risico’s van synthetische organismen.

In de wetenschappelijke wereld speelt momenteel een discussie over misbruik van de technologie (32;42;43;44). Vooral het gebruik van nieuwe pathogenen als biologische wapens wordt als een gevaar gezien. Om misbruik te voorkomen denkt de wetenschappelijke wereld na over het opstellen van voorzorgsmaatregelen (5;42;43). Enkele bedrijven in Europa en de Verenigde Staten welke op aanvraag specifieke sequenties synthetiseren, monitoren bijvoorbeeld reeds op eigen initiatief en routinematig het gevraagde fragment op aanwezigheid van schadelijke genen (5;43).

Daarentegen zijn er ook wetenschappers die het gevaar van het gebruik van synthetische organismen als biologisch wapen niet direct erkennen. Zij zijn van mening dat het bouwen van nieuwe organismen omslachtig is (5;36). Het kweken en vrijlaten van bestaande organismen is volgens hen eenvoudiger en goedkoper (5).

De synthetische biologie beperkt zich nu nog tot laboratoria. Desondanks komt de technologie, onder andere door de ontwikkeling van BioBricks, binnen het bereik van minder gespecialiseerde personen. Het is aannemelijk dat er minder moleculaire kennis is om BioBricks te schakelen. Dit zou eventueel tot risico’s kunnen leiden, bijvoorbeeld het vrijkomen van synthetische organismen in het milieu. Daarentegen zijn er ook voordelen te verwachten bij een groter bereik. De synthetische organismen kunnen namelijk voor bredere toepassingen ontwikkeld worden.

De discussie omtrent synthetische biologie doet sterk denken aan het gevoerde debat ten tijde van de opkomst van genetische modificatie (3;42;45). Destijds hebben wetenschappers aangestuurd op een bijeenkomst om de stand van zaken te beoordelen en om eventuele risico’s te bespreken. In 1975 is daarom de Asilomarconferentie gehouden waarin onder meer de effecten bij vrijkomen van ggo’s in het milieu besproken werden. Tevens bleek er angst te zijn voor het gebruik van ggo’s als biowapens. Vanwege de grote wetenschappelijke onzekerheid heeft de wetenschap zich indertijd beperkingen opgelegd, nieuwe

informatie verzameld en een stelsel van inperkingsmaatregelen ontwikkeld, waarmee tot op heden de risico's adequaat beheerst zijn.

Met de snelle opkomst van synthetische biologie achten enkele wetenschappers het raadzaam om opnieuw een Asilomar-achtige conferentie te organiseren om veiligheidsmaatregelen en ethische en maatschappelijke aspecten te bespreken (5;6;23).

4. Conclusie

De synthetische biologie is een relatief nieuwe technologie waarvan de verwachtingen onder wetenschappers hoog zijn. Het is misschien nog te vroeg om te kunnen zeggen of de technologie de hoge verwachtingen waar zal maken, maar de ontwikkelingen volgen elkaar in snel tempo op en vragen een tijdige beleidsrespons.

De synthese van nieuwe organismen zou kunnen leiden tot een publiek debat over het creëren van nieuwe levensvormen. Momenteel speelt de discussie zich echter nog voornamelijk af binnen de wetenschappelijke wereld. Deze discussie richt zich met name op misbruik van de technologie.

Synthetische organismen vallen onder de wet- en regelgeving voor ggo's aangezien de organismen genetisch zijn aangepast op een manier die niet door voortplanting of natuurlijke recombinatie mogelijk is. De COGEM is van mening dat de thans gehanteerde risico-analyse voor werkzaamheden met ggo's niet in alle situaties toepasbaar is voor synthetische organismen. De commissie acht het aannemelijk dat de risico-analyse toepasbaar is op activiteiten die een verregaande ontwikkeling vormen van genetische modificatie. Daarentegen zijn er toepassingen denkbaar die een grens overschrijden en waarbij de risico-analyse niet (volledig) bruikbaar zal zijn. Een voorbeeld hiervan is de ontwikkeling van nieuwe synthetische genen en organismen. Het thans in de risico-analyse gebruikte referentiekader valt hierbij namelijk weg. Het is niet te voorspellen wanneer de ontwikkelingen dusdanig ver zijn dat deze grens overschreden wordt. Een aantal ontwikkelingen zal misschien altijd toekomstmuziek blijven, terwijl anderen op korte termijn werkelijkheid kunnen worden, hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan BioBricks.

Het meeste onderzoek op het gebied van synthetische biologie wordt thans uitgevoerd in de Verenigde Staten. In Nederland lijkt op dit moment weinig onderzoek op dit terrein plaats te vinden. Gezien de snelle ontwikkelingen en de wereldwijde aandacht zal ook het onderzoek in Nederland naar verwachting op korte termijn zijn achterstand proberen in te halen. Als experimenten in dit veld in Nederland gaan plaatsvinden, zullen nieuwe vergunningaanvragen (ggo-vergunningen) ingediend worden. Zoals hierboven beschreven is, ontbreken voor een aantal ontwikkelingen de juiste instrumenten om tot een juiste beoordeling van de risico's te komen. Indien het niet mogelijk is een adequate risico-analyse uit te voeren, dan worden werkzaamheden op het hoogste inperkingsniveau ingeschaald. Dit zou een belemmering kunnen zijn om dergelijk onderzoek in Nederland uit te voeren.

Met het opstellen van een risico-analyse die in alle gevallen toepasbaar is, blijft de veiligheid gewaarborgd en worden wetenschappelijke ontwikkelingen niet onnodig gefrustreerd. Daarom moet in een vroegtijdig stadium nagedacht worden over de toepasbaarheid van de thans gehanteerde risico-analyse voor synthetische organismen. Tevens dient nagedacht te worden of én welke aanpassingen noodzakelijk zijn.

De COGEM wijst met de onderhavige signalering de regering op deze zeer complexe problematiek. De problemen zijn niet eenvoudig op te lossen en zullen een langer traject vergen. De commissie heeft een aantal vragen geformuleerd die, naar haar mening, een rol kunnen spelen bij het aanpakken van de problematiek, te weten:

- In hoeverre voldoet de thans gehanteerde risico-analyse voor het inschatten van risico's bij synthetische organismen?
- In het geval dat de risico-analyse niet voldoet, is het dan mogelijk om deze aan te passen?
- Zo ja, op welke manier moet de risico-analyse aangepast worden?
- Welke kenmerken van organismen moeten bekend zijn om een inschatting te kunnen maken?
- Dient er voor de risico-analyse onderscheid gemaakt te worden tussen volledige kunstmatige organismen en synthetische organismen die gebaseerd zijn op bestaande organismen?
- Hoe kunnen risico's van synthetische genen en organismen ingeschat worden als er geen referentiekader is?

Naast bovenstaande vragen betreffende de risico-analyse, dient er ook een vroegtijdig aandacht besteed te worden aan het mogelijke toekomstige debat over het creëren van nieuwe levensvormen en het spelen voor God.

Het dient voorkomen te worden dat onderzoek naar en de ontwikkeling van synthetische organismen in Nederland mogelijk, omdat niet voldoende nagedacht is over de te hanteren risico-analyse, niet of sterk vertraagd kunnen plaatsvinden. Door in een vroegtijdig stadium op een proactieve wijze na te denken over de methodiek van de risico-analyse, kunnen verrassingen in een later stadium voorkomen worden. De COGEM zal zelf ook bij haar geplande activiteiten dit jaar en het komende jaar aandacht besteden aan deze problematiek.

Referenties

1. Davies, K. (2005). Pimp my genome. Internet: www.Bio-ITworld.com (10 januari 2006).
2. Regalado, A. (2005). Biologist Venter aims to create life from scratch. *The Wall Street Journal*.
3. Benner, S.A. en Sismour, A.M. (2005). Synthetic biology. *Nature* **6**: 533-543.
4. Synthetic biology research community. Internet: <http://syntheticbiology.org> (16 december 2005).
5. Ball, P. (2004). Starting from scratch. *Nature* **431**: 624-626.
6. Ferber, D. (2004). Microbes made to order. *Science* **303**: 158-161.
7. Salis, H. Synthetic biology in practice. University of Minnesota, blogs. Internet: <http://blog.lib.umn.edu/sali0090/synbio/> (16 december 2005).
8. M.I.T. Cambridge, V.S. Internet: http://BioBricks.ai.mit.edu-/BB_DataBook.htm (14 december 2005).
9. Weblog Biohacking, Paras Chopra. Internet: <http://www.paraschopra.com-/blog/biohacking.php> (17 februari 2006).
10. Synthetic biology 2.0. Internet: <http://pbd.lbl.gov/sbconf/> (17 februari 2006).
11. University of California, Berkeley center for Synthetic Biology, V.S. Internet: <http://www.lbl.gov/pbd/synthbio/> (17 februari 2006).
12. Boston University, V.S., Internet: <http://www.bu.edu/abl/> (17 februari 2006).
13. The University of Texas, Center for Systems and Synthetic Biology, V.S. Internet: <http://speak.icmb.utexas.edu/home.html> (17 februari 2006).
14. Synthetic society working group. Internet: http://openwetware.org/wiki-/Synthetic_Society (17 februari 2006).
15. European Commission, Anticipation of Scientific and Technological Needs (2005). Synthetic biology – applying engineering to biology.
16. Breithaupt, H. (2006). The engineer's approach to biology. *EMBO reports* **7**(1): 21-24.
17. Sattler, B. (2004). Synthetic biology: de volgende stap in de Biotechnologische revolutie. TWA netwerk, Ministerie van Economische Zaken. Internet: <http://www.twanetwerk.nl/default.ashx?DocumentID=2775> (5 december 2005).
18. Weiss, R., Basu, S., Hooshangi, S., Kalmbach, A., Karig, D., Mehreja, R. en Netravali, I. (2003). Genetic circuit building blocks for cellular computation, communications, and signal processing. *Natural computing, an international journal* **2**: 47-84.

19. McDaniel, R. en Weiss, R. (2005). Advances in synthetic biology: on the path from prototypes to applications. *Current opinion in biotechnology* **16**:476-483.
20. BioSPICE. Internet: <http://biospice.lbl.gov/> (5 januari 2006).
21. Martin, V.J.J., Pitera, D.J., Withers, S.T., Newman, J.D. en Keasling, J.D. (2003). Engineering a mevalonate pathway in *Escherichia coli* for production of terpenoids. *Nature biotechnology* **21**(7): 796-802.
22. Levskaya, A., Chevalier, A.A., Tabor, J.J., *et al.* (2005). Engineering *Escherichia coli* to see light. *Nature* **438**: 441-442.
23. Gibbs, W.W. (2004). Synthetic life. *Scientific American*. **290**(5): 74-81.
24. Check, E. (2005). Designs on life. *Nature* **438**:417-418.
25. Szatmary, E. (2003). Why are there four letters in the genetic alphabet? *Nature reviews* **4**: 995-1001.
26. Wu, Y., Ogawa, A.K., Berger, M., McMinn, D.L., Schultz, P.G. en Romesberg F.E. (2000). Efforts toward expansion of the genetic alphabet: optimization of interbase hydrophobic interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **122** (32):7621-7632.
27. Bain, J.D., Switzer, C., Chamberlin, A.R. en Benner, S.A. (1992). Ribosome-mediated incorporation of a non-standard amino acid into a peptide through expansion of the genetic code. *Nature* **356**: 537-539.
28. Sismour, A.M., Lutz, S., Park, J.H., Lutz, M.J., Boyer, P.L., Hughes, S.H. en Benner, S.A. (2004). PCR amplification of DNA containing non-standard base pairs by variants of reverse transcriptase from human immunodeficiency virus-1. *Nucleic Acids Research* **32**(2): 728-735.
29. Sismour, A.M. en Benner, S.A. (2005). The use of thymidine analogs to improve the replication of an extra DNA base pair: a synthetic biological system. *Nucleic Acids Research* **33**(17): 5640-5646.
30. Anderson, J.C., Wu, N., Santoro, S.W., Lakshman, V., King, D.S. en Schultz, P.G. (2004). An expanded genetic code with a functional quadruplet codon. *PNAS* **101**(20):7566-7571.
31. Hutchison III, C.A., Peterson, S.N., Gill, S.R., Cline, R.T., White, O., Fraser, C.M., Smith, H.O. en Venter, J.C. (1999). Global transposon mutagenesis and a minimal mycoplasma genome. *Science* **286**:2165-2169.
32. Marshall, E. (2002). Venter gets down to life's basics. *Science* **298**: 1701.
33. Zimmer, C. (2003). Tinker, tailor: can Venter stitch together a genome from scratch? *Science* **299**: 1006-1007.
34. Endy, D. (2005). Foundations for engineering biology. *Nature* **438**: 449-453.
35. Shevchuk, N.A., Bryksin, A.V., Nusinovich, Y.A., Cabello, F.C., Sutherland, M. en Ladisch, S. (2004). Construction of long DNA molecules

- using long PCR-based fusion of several fragments simultaneously. *Nucleic Acids Research* **32**(2) e19.
36. Mitchell, S. (2002). Scientists to synthesize new life form. United Press International.
 37. Noireaux, V en Libchaber, A. (2004). A vesicle bioreactor as a step toward an artificial cell assembly. *PNAS* **101**(51): 17669-17674.
 38. Head, H. (2005). Synthetic biology remakes small genomes. *Science* **310**: 769-770.
 39. You, L., Cox III, R.S., Weiss, R. en Arnold, F.H. (2004). Programmed population control by cell-cell communication and regulated killing. *Nature* **428**: 868-871.
 40. J. Craig Venter Institute. Major policy study will explore risks, benefits of synthetic genomics. Press Release 28 juni 2005.
 41. M.I.T. Cambridge, V.S. Study to explore risks, benefits of synthetic genomics. Internet: <http://web.mit.edu/newsoffice/2005/print/syntheticbio-print.html> (17 februari 2006).
 42. Check, E. (2005). Synthetic biologists face up to security issues. *Nature* **436**:894-895.
 43. Aldhous, P. (2005). The bioweapon is in the post. *NewScientist* **2525**.
 44. Couzin, J. (2002). Active poliovirus baked from scratch. *Science* **297**: 174-175.
 45. Tepfer, M. (2005). How synthetic biology can avoid GMO-style conflicts. *Nature* **437**: 476.