

SINH HỌC TỔNG HỢP TRÊN HỆ KHÔNG TẾ BÀO: NỀN TẢNG CHO KỸ THUẬT SINH HỌC THỂ HỆ MỚI

Bùi Thị Hải Hòa^{1*}, Trịnh Thị Thu Hằng¹, Đinh Thị Thu Lê¹

*Tác giả liên hệ chính, Email: haihoacnsh@hou.edu.vn. ORCID ID: 0009-0004-2532-7680

Ngày tòa soạn nhận được bài báo: 03/03/2026

Ngày phản biện đánh giá: 25/05/2026

Ngày bài báo được duyệt đăng: 25/06/2026

DOI: 10.59266/houjs.2026.1319

Tóm tắt: Sinh học tổng hợp không tế bào là công nghệ thực hiện các phản ứng sinh học trong môi trường *in vitro* mà không cần tế bào sống. Nhờ sử dụng các thành phần sinh học trong hệ phản ứng mở, CFSB cho phép kiểm soát trực tiếp điều kiện phản ứng, rút ngắn chu trình thiết kế-xây dựng-kiểm tra và nâng cao hiệu quả tổng hợp protein, kể cả các protein khó biểu hiện hoặc độc đối với tế bào. Công nghệ này được ứng dụng trong tổng hợp protein không tế bào (Cell-Free Protein Synthesis - CFPS), DNA origami, enzyme cascade và tổng hợp vật liệu sinh học, với các ứng dụng như sản xuất bacteriocin, thiết bị nano sinh học và vật liệu phân hủy sinh học. Tuy nhiên, CFSB vẫn còn những thách thức phải giải quyết như chi phí cao, độ ổn định enzyme thấp, biến động giữa các mẻ phản ứng và khó mở rộng quy mô công nghiệp. Bên cạnh đó, hiệu suất dịch mã và khả năng tích hợp amino acid phi tự nhiên vẫn cần được cải thiện.

Từ khóa: CFSB, CFPS, DNA origami, enzyme cascade, vật liệu sinh học

I. Đặt vấn đề

Sinh học tổng hợp (Synthetic Biology) là lĩnh vực thiết kế và tối ưu hóa các hệ thống sinh học phục vụ nghiên cứu và ứng dụng. Tuy nhiên, sự phức tạp của tế bào sống làm hạn chế khả năng kiểm soát và hiệu quả của chu trình thiết kế - xây dựng - kiểm tra - học hỏi (DBTL) (Borkowski và cộng sự, 2020).

Để khắc phục các hạn chế của tế bào sống, sinh học tổng hợp không tế bào (Cell-Free Synthetic Biology - CFSB) sử dụng các thành phần sinh học tách chiết từ tế bào để thực hiện phản ứng trong môi

trường *in vitro*. Nhờ hệ phản ứng mở, CFSB giúp kiểm soát điều kiện phản ứng tốt hơn, rút ngắn thời gian thử nghiệm và tăng tốc tối ưu hóa hệ thống. Công nghệ này được ứng dụng rộng rãi trong tổng hợp protein, thiết kế mạch gen, phát triển cảm biến sinh học và xây dựng các con đường chuyển hóa nhân tạo (Silverman và cộng sự, 2020; Tinafar và cộng sự, 2019).

Bài báo tổng quan này tổng hợp và phân tích những tiến bộ nổi bật của sáu nền tảng công nghệ cốt lõi trong CFSB, bao gồm: (i) công nghệ axit nucleic và mạch sinh học tổng hợp không tế bào;

¹ Trường Đại học Mở Hà Nội, Hà Nội, Việt Nam

(ii) DNA origami và các hệ thống tự lắp ráp phân tử; (iii) tổng hợp nucleotide bằng enzyme; (iv) tổng hợp protein không tế bào; (v) tổng hợp bacteriocin và peptide hoạt tính sinh học; (vi) sản xuất vật liệu sinh học bằng hệ thống không tế bào. Bài báo đánh giá nguyên lý, thành tựu, ưu điểm, hạn chế và tiềm năng ứng dụng của từng nền tảng nhằm cung cấp cái nhìn tổng quan về CFSB và định hướng nghiên cứu trong tương lai.

II. Nguyên lý của hệ thống CFSB

Sinh học không tế bào (cell-free synthetic biology - CFSB) là phương pháp thực hiện các phản ứng sinh học bên ngoài tế bào sống, sử dụng các thành phần đã được tách chiết hoặc tinh sạch như enzyme, ribosome và axit nucleic (Hodgman & Jewett, 2012). Việc loại bỏ tế bào giúp tạo ra một hệ phản ứng mở,

cho phép kiểm soát trực tiếp các điều kiện sinh học và điều chỉnh linh hoạt quá trình phản ứng (Jewett và cộng sự, 2018).

So với hệ thống *in vivo*, CFSB tập trung toàn bộ nguồn lực vào việc tạo sản phẩm mục tiêu thay vì duy trì sự sống tế bào, nhờ đó nâng cao hiệu quả tổng hợp và hiệu suất sử dụng. Do sử dụng trực tiếp DNA khuôn và hệ phản ứng mở, CFSB rút ngắn thời gian thử nghiệm, thuận lợi cho thu hồi sản phẩm, đồng thời hỗ trợ biểu hiện protein độc và tích hợp axit amin phi tự nhiên để mở rộng khả năng thiết kế protein (Ranji và cộng sự, 2013; Silverman và cộng sự, 2020). Hệ thống này cũng cho phép dễ dàng bổ sung cơ chất, loại bỏ sản phẩm và theo dõi phản ứng trong thời gian thực (Silverman và cộng sự, 2020). Nhờ tính linh hoạt cao, CFSB hỗ trợ thiết kế và tối ưu hóa nhanh các hệ sinh học phục vụ nghiên cứu và sản xuất (Lu, 2017).

Bảng 1. So sánh đặc tính kỹ thuật và ứng dụng của hệ thống biểu hiện *in vivo* và CFBS

Tiêu chí	Hệ thống biểu hiện <i>in vivo</i>	Cell-free biosynthesis (CFBS)	Tài liệu tham khảo
Nguyên lý hoạt động	Phiên mã, dịch mã và chuyển hóa diễn ra bên trong tế bào sống	Tổng hợp sinh học diễn ra ngoài tế bào bằng cách sử dụng dịch chiết tế bào hoặc hệ enzyme tinh sạch.	Dondapati và cộng sự, 2020; Lin và cộng sự, 2022
Mức độ kiểm soát phản ứng	Ảnh hưởng bởi mạng lưới điều hòa nội bào, trao đổi chất và cơ chế sinh lý của tế bào.	Kiểm soát trực tiếp nồng độ DNA, RNA, enzyme, năng lượng và cơ chất trong môi trường phản ứng mở.	Lin và cộng sự, 2022; Yue và cộng sự, 2023
Khả năng biểu hiện protein độc đối với tế bào	Hạn chế vì protein độc có thể làm giảm sinh trưởng hoặc gây chết tế bào.	Thuận lợi vì không có tế bào sống cần duy trì.	Dondapati và cộng sự, 2020; Kim và cộng sự, 2023
Ảnh hưởng của trao đổi chất nội bào	Mạnh; sản phẩm có thể bị phân hủy hoặc chuyển hóa tiếp.	Gần như loại bỏ các tương tác chuyển hóa không mong muốn.	Yue và cộng sự, 2023; Lin và cộng sự, 2022
Hiệu suất sử dụng năng lượng	Tế bào tiêu tốn năng lượng cho sinh trưởng và duy trì sự sống.	Năng lượng ưu tiên cho quá trình tổng hợp mục tiêu.	Yue và cộng sự, 2023
Chi phí sản xuất	Thấp hơn đối với sản xuất quy mô lớn.	Cao hơn do cần hệ enzyme, nucleotide và nguồn năng lượng tái tạo.	Dondapati và cộng sự, 2020; Cui và cộng sự, 2022
Khả năng tự tái tạo	Có; tế bào sinh trưởng và phân chia.	Không; các thành phần phản ứng dần bị tiêu hao.	Lin và cộng sự, 2022
An toàn sinh học	Có nguy cơ phát tán GMO hoặc nhiễm vi sinh vật.	Không chứa tế bào sống nên giảm nguy cơ phát tán sinh học.	Kim và cộng sự, 2023; Lin và cộng sự, 2022
Ứng dụng	Sản xuất protein tái tổ hợp, enzyme công nghiệp, vaccine, hóa chất sinh học quy mô lớn.	Tạo nguyên mẫu mạch gene, sinh học tổng hợp không tế bào, sản xuất protein độc, vaccine tại chỗ, tổng hợp vật liệu sinh học.	Yue và cộng sự, 2023; Kim và cộng sự, 2023

III. Các nền tảng công nghệ cốt lõi của CFSB

3.1. Axit nucleic và mạch sinh học tổng hợp

Nhờ sự phát triển của các công nghệ như PCR, DNA tái tổ hợp, tổng hợp hóa học và phiên mã *in vitro*, việc tạo DNA và RNA trở nên thuận lợi hơn (Hodgman & Jewett, 2012). Từ đó, CFSB phát triển các mạch axit nucleic có khả năng lập trình theo nguyên tắc bắt cặp Watson-Crick, các hệ DNA/RNA này có thể hoạt động như các cổng logic sinh học (AND, OR, NOT), cho phép xử lý thông tin tương tự hệ thống máy tính (Silverman và cộng sự, 2020). Các nghiên cứu gần đây cho thấy các mạch này có thể thực hiện cảm biến, điều hòa phản ứng và tạo dao động sinh học nhân tạo. Trong tương lai, chúng được kỳ vọng ứng dụng trong chẩn đoán bệnh, biosensor, thiết bị nano và tế bào nhân tạo (Jewett và cộng sự, 2018).

3.2. Máy nano DNA và công nghệ DNA origami

DNA nhờ tính đặc hiệu và khả năng lập trình cao đã trở thành vật liệu lý tưởng để xây dựng các máy nano sinh học. Các máy nano axit nucleic có thể thay đổi cấu trúc để đáp ứng tín hiệu môi trường hoặc phân tử điều khiển, dựa trên nguyên tắc bắt cặp Watson-Crick và cơ chế trao đổi sợi DNA (strand displacement). Một ví dụ tiêu biểu là “DNA tweezers” do Yurke và cộng sự phát triển. Thiết bị này gồm ba sợi DNA tạo thành hai “cánh tay” có thể chuyển đổi giữa trạng thái mở và đóng. Khi có sợi DNA tín hiệu bổ sung, cấu trúc sẽ khép lại do lai hóa; sau đó có thể mở lại nhờ sợi loại bỏ thông qua cơ chế strand displacement. Chu trình này có thể lặp

lại nhiều lần, cho thấy DNA có thể hoạt động như một hệ cơ học phân tử ổn định (Silverman và cộng sự, 2020).

Ngoài ra, công nghệ DNA origami cho phép gấp DNA sợi đơn dài thành các cấu trúc nano 2D và 3D với độ chính xác cao nhờ các “sợi ghim” (staple strands). Nghiên cứu của Rothemund đã chứng minh khả năng tạo ra các cấu trúc nano phức tạp kích thước khoảng 100 nm, mở ra hướng phát triển cho robot nano, hệ vận chuyển thuốc và thiết bị chẩn đoán sinh học (Jewett và cộng sự, 2018).

Hiện nay, các cấu trúc DNA origami và hệ nano DNA-RNA đang được ứng dụng trong chẩn đoán phân tử, nghiên cứu enzyme đơn phân tử và điều trị ung thư. Đặc biệt, các robot nano có khả năng nhắm đích tế bào và vận chuyển thuốc được xem là hướng phát triển tiềm năng của công nghệ nano sinh học (Cui và cộng sự, 2020).

3.3. Tổng hợp nucleotide bằng enzyme cascade

Các nucleotide và nucleotide biến đổi là thành phần thiết yếu trong nhiều kỹ thuật sinh học phân tử như PCR, FISH và giải trình tự thế hệ mới. Trước đây, chúng chủ yếu được sản xuất bằng tổng hợp hóa học nhiều bước, tuy nhiên quy trình này thường phức tạp, tạo nhiều sản phẩm phụ và khó kiểm soát hiệu quả quá trình phosphoryl hóa để thu được dạng nucleotide triphosphate mong muốn (Sun, 2023).

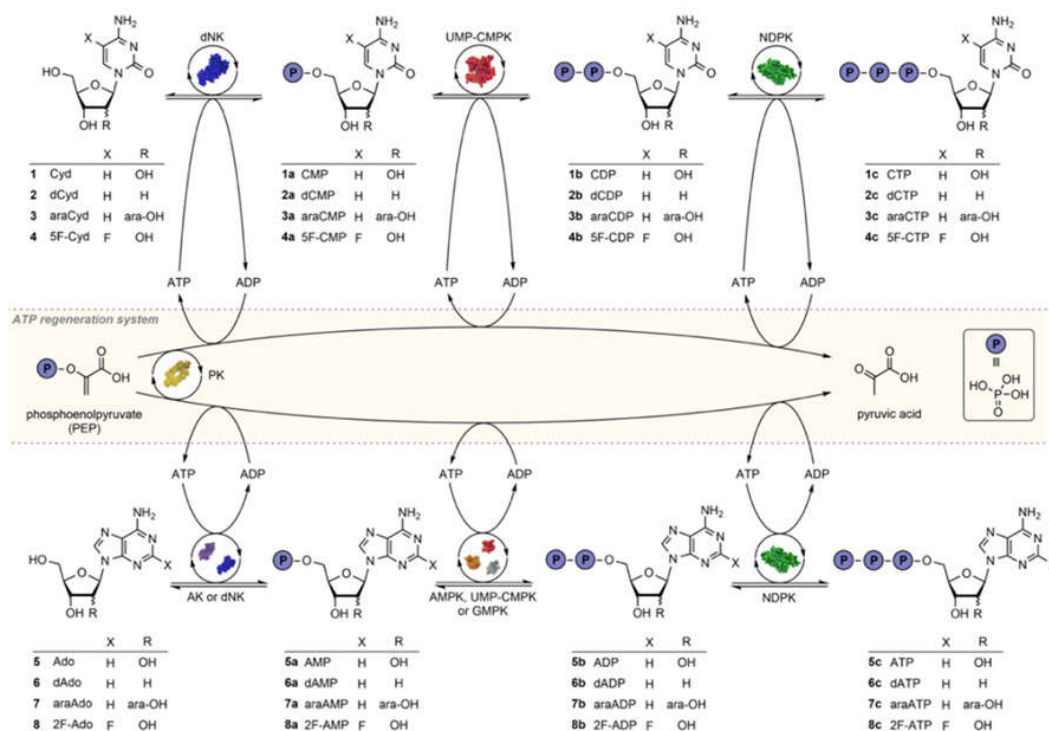
Để khắc phục hạn chế này, các hệ enzyme không tế bào theo dạng “one-pot” đã được phát triển. Hệ thống này tích hợp nhiều enzyme cùng với cơ chế tái sinh ATP dựa trên phosphoenolpyruvate

(PEP), cho phép chuyển hóa trực tiếp nucleoside thành nucleotide triphosphate trong một phản ứng duy nhất. Nhờ đó, quy trình tổng hợp trở nên đơn giản hơn, hiệu quả hơn và thân thiện hơn so với phương pháp hóa học truyền thống (Fehlau và cộng sự, 2020).

Đặc biệt, hệ enzyme cascade này không chỉ tổng hợp nucleotide tự nhiên mà còn tạo được nhiều nucleotide biến đổi từ các nucleoside ban đầu, bao gồm các dẫn xuất của cytidine-5'-triphosphate và adenosine-5'-triphosphate như 2'-deoxy, arabinofuranosyl và fluoro derivatives. Điều này mở rộng đáng kể khả năng ứng dụng trong thiết kế môi, đầu dò và các hệ

thống sinh học tổng hợp (Fehlau và cộng sự, 2020).

Phân tích HPLC cho thấy các nucleoside được chuyển hóa hiệu quả thành các dạng monophosphate (NMP), diphosphate (NDP) và triphosphate (NTP). Hiệu suất tạo NTP đạt khoảng 18-22% tùy loại cơ chất, chứng minh hiệu quả và tính khả thi của hệ enzyme cascade trong sản xuất nucleotide mục tiêu. Những kết quả này cho thấy hệ enzyme không tế bào là hướng tiếp cận tiềm năng cho sản xuất nucleotide và nucleotide biến đổi, góp phần quan trọng trong phát triển công nghệ sinh học và sinh học phân tử hiện đại (Fehlau và cộng sự, 2020; Sun, 2023).



Hình 1. Sơ đồ phản ứng enzyme cascade “one pot” dùng để phosphoryl hóa nucleoside thành nucleotide triphosphate với sự tham gia của nhiều enzyme và hệ tái sinh ATP dựa trên phosphoenolpyruvate (PEP) (Sun, 2023)

3.4. Hệ tổng hợp protein không tế bào (CFPS)

Các nghiên cứu về protein trong CFPS chủ yếu hướng đến tổng hợp và

tiến hóa protein. Nhờ sự phát triển của CFPS, hiệu suất sản xuất được cải thiện, chi phí giảm và khả năng ứng dụng được mở rộng (Silverman và cộng sự, 2020).

Hiện nay, CFPS được phát triển theo hai hướng chính: hệ từ dưới lên (bottom-up) và hệ từ trên xuống (top-down).

Hệ bottom-up

Hệ bottom-up sử dụng các thành phần tinh sạch để tái tạo bộ máy dịch mã trong ống nghiệm. Một ví dụ tiêu biểu là hệ PURE (Protein synthesis Using Recombinant Elements), trong đó các enzyme, ribosome và yếu tố dịch mã được biểu hiện và tinh sạch riêng biệt trước khi phối trộn lại. Ưu điểm lớn của hệ PURE là khả năng kiểm soát chính xác các thành phần phản ứng, rất phù hợp cho nghiên cứu cuộn gập protein và tích hợp axit amin phi tự nhiên. Tuy nhiên, hạn chế chính là chi phí cao do cần tinh sạch từng thành phần riêng lẻ (Shimizu và cộng sự, 2001).

Hệ top-down

Hệ top-down sử dụng dịch chiết tế bào để tổng hợp protein. Các hệ phổ biến hiện nay được tạo từ *Escherichia coli*, mầm lúa mì, hồng cầu lưới thỏ và tế bào côn trùng.

Trong số đó, hệ CFPS từ *E. coli* được sử dụng rộng rãi nhất nhờ chi phí thấp, tốc độ tổng hợp cao và khả năng mở rộng quy mô công nghiệp. Hệ này có thể mở rộng từ thể tích vài microlit đến hàng trăm lít phản ứng (Jewett & Swartz, 2004). Tuy nhiên, khả năng biến đổi sau dịch mã còn hạn chế so với các hệ nhân thực. Ngược lại, các hệ từ mầm lúa mì hoặc tế bào côn trùng hỗ trợ tốt hơn cho các biến đổi sau dịch mã như glycosyl hóa, nhưng chi phí chuẩn bị cao hơn.

Nhìn chung, mỗi hệ CFPS đều có ưu và nhược điểm riêng, nhưng đều cho phép kiểm soát trực tiếp môi trường phản ứng

và tối ưu hóa quá trình tổng hợp protein hiệu quả hơn so với hệ in vivo.

3.5. Tổng hợp bacteriocin bằng hệ tổng hợp protein không tế bào (CFPS)

Trong số các nền tảng sản xuất hiện nay, hệ tổng hợp protein không tế bào (CFPS) được xem là một công cụ hiệu quả để biểu hiện bacteriocin và các peptide kháng khuẩn có độc tính cao hoặc khó sản xuất bằng hệ tế bào sống. Một nghiên cứu tiêu biểu đã sử dụng hệ CFPS để tổng hợp các colicin - nhóm bacteriocin do *Escherichia coli* tạo ra. Các colicin này có nhiều cơ chế kháng khuẩn khác nhau, bao gồm: (i) colicin M: ức chế tổng hợp peptidoglycan, (ii) colicin Ia và E1: tạo lỗ trên màng tế bào, (iii) colicin E2: phân hủy acid nucleic. Trong nghiên cứu, các gen mã hóa colicin được khuếch đại bằng PCR và đưa trực tiếp vào hệ CFPS chứa dịch chiết tế bào cùng các thành phần phiên mã-dịch mã cần thiết. Kết quả cho thấy colicin E1, E2 và Ia đạt độ hòa tan gần như hoàn toàn (~100%) với hiệu suất khoảng 300 µg/mL, cao hơn khoảng 10 lần so với biểu hiện trong tế bào sống (Silverman và cộng sự, 2020).

Hoạt tính kháng khuẩn của colicin tổng hợp trên *E. coli* K361 cho thấy hiệu quả rất cao: colicin E1 ở nồng độ ≥ 250 ng/mol gần như tiêu diệt hoàn toàn tế bào, và ở 750 ng/mol có thể diệt hơn 99,9% tế bào chỉ trong 1 phút. Kết quả tương tự với colicin E2 và Ia chứng minh protein tạo ra bằng CFPS vẫn giữ nguyên hoạt tính sinh học mạnh (Silverman và cộng sự, 2020). Điều này cho thấy CFPS là nền tảng tiềm năng để sản xuất protein kháng khuẩn và protein độc khó biểu hiện trong tế bào sống.

xin tiểu đơn vị, vắc xin liên hợp, hạt giống virus (virus-like particles, VLPs) và các protein kháng nguyên phức tạp. Môi trường phản ứng mở của CFSB cho phép tối ưu hóa quá trình gấp cuộn protein và các biến đổi sau dịch mã nhằm nâng cao tính sinh miễn dịch của kháng nguyên. Bên cạnh đó, việc kết hợp hệ tổng hợp protein không tế bào (CFPS) với công nghệ hạt nano lipid mở ra khả năng sản xuất sinh học theo yêu cầu (on-demand biomanufacturing), đặc biệt hữu ích trong các tình huống dịch bệnh khẩn cấp hoặc tại những khu vực có cơ sở hạ tầng hạn chế, góp phần rút ngắn thời gian phát triển vắc xin, giảm phụ thuộc vào hệ thống nuôi cấy truyền thống và tạo điều kiện thuận lợi cho sản xuất phân tán cũng như vắc xin cá thể hóa (Kim và cộng sự, 2025).

4.2. Ứng dụng của CFSB trong chẩn đoán nhanh

Một trong những ứng dụng thành công nhất của CFSB là phát triển các cảm biến sinh học không tế bào (cell-free biosensors), có khả năng phát hiện DNA, RNA, protein hoặc các phân tử đích và tạo ra tín hiệu đầu ra dễ quan sát như màu sắc, huỳnh quang hoặc tín hiệu điện hóa (Sarac và cộng sự, 2025). Ngoài ra, sự kết hợp giữa CFSB với hệ thống CRISPR-Cas12/Cas13 và công nghệ vi lưu (microfluidics) đã nâng cao đáng kể độ nhạy, độ đặc hiệu và khả năng thu nhỏ thiết bị chẩn đoán (Zhou và cộng sự, 2025). Các ứng dụng tiêu biểu bao gồm chẩn đoán bệnh truyền nhiễm, phát hiện mầm bệnh trong thực phẩm, giám sát môi trường và theo dõi các dấu ấn sinh học liên quan đến ung thư.

4.3. Ứng dụng của CFSB trong trí tuệ sinh học nhân tạo

Sự kết hợp giữa CFSB, trí tuệ nhân tạo (AI) và sinh học đang hình thành một hướng nghiên cứu mới được gọi là trí tuệ sinh học nhân tạo (Artificial Biological Intelligence) (Acharya & Mani, 2026). Trong mô hình này, AI được sử dụng để thiết kế trình tự DNA, tối ưu hóa mạng lưới điều hòa gene và dự đoán cấu trúc protein, trong khi CFSB đóng vai trò là nền tảng thử nghiệm nhanh và dễ tự động hóa. Sự kết hợp này giúp tăng tốc chu trình thiết kế-xây dựng-kiểm tra-học hỏi (Design-Build-Test-Learn, DBTL), qua đó rút ngắn thời gian phát triển các hệ thống sinh học mới (Hunt và cộng sự, 2025).

V. Những thách thức, hạn chế của CFSB, định hướng khắc phục và triển vọng phát triển CFSB tại Việt Nam

5.1. Thách thức, hạn chế của CFSB và định hướng khắc phục

Mặc dù CFSB có nhiều ưu điểm như tính linh hoạt cao, môi trường phản ứng mở và khả năng kiểm soát trực tiếp các quá trình sinh học, công nghệ này vẫn đang đối mặt với nhiều thách thức quan trọng. Một trong những hạn chế lớn nhất là chi phí sản xuất cao do cần sử dụng lượng lớn cơ chất năng lượng, nucleotide, enzyme tinh sạch và cofactor, gây khó khăn cho việc thương mại hóa ở quy mô công nghiệp (Silverman và cộng sự, 2020). Bên cạnh đó, hiệu suất tổng hợp và khả năng tái tạo năng lượng của các hệ CFSB vẫn còn hạn chế, trong khi enzyme trong hệ phản ứng dễ mất hoạt tính hoặc bị phân hủy theo thời gian, làm giảm độ ổn định và năng suất sản phẩm (Hodgman & Jewett, 2012).

Ngoài ra, các hệ sử dụng dịch chiết tế bào thường gặp hiện tượng biến động giữa các lô phản ứng do khác biệt về chủng vi sinh vật, điều kiện nuôi cấy và quy trình chuẩn bị dịch chiết, từ đó ảnh hưởng đến tính tái lập của kết quả (Caschera & Noireaux, 2015). Việc mở rộng quy mô sản xuất cũng là thách thức lớn do khó duy trì hiệu quả phản ứng và cân bằng chuyển hóa ở quy mô lớn. Đối với các ứng dụng tiên tiến như tổng hợp protein chứa amino acid không tự nhiên, hiệu suất gắn amino acid, tính trực giao của hệ dịch mã và khả năng tái thiết kế ribosome vẫn còn nhiều hạn chế kỹ thuật (Cui và cộng sự, 2020). Do đó, các hướng nghiên cứu hiện nay tập trung vào tối ưu hóa hệ tái tạo năng lượng, nâng cao độ ổn định enzyme, chuẩn hóa quy trình sản xuất và tích hợp CFSB với các công nghệ mới nhằm mở rộng tiềm năng ứng dụng trong y sinh, công nghệ sinh học và vật liệu sinh học.

5.2. Triển vọng phát triển CFSB tại Việt Nam

CFSB có nhiều tiềm năng phát triển tại Việt Nam nhờ định hướng ưu tiên về công nghệ sinh học và đổi mới sáng tạo. Công nghệ này có thể ứng dụng trong sản xuất vaccine, sinh phẩm chẩn đoán, protein tái tổ hợp, cảm biến sinh học và các hợp chất sinh học giá trị cao. Việc tích hợp trí tuệ nhân tạo và tự động hóa cũng mở ra cơ hội nâng cao hiệu quả nghiên cứu và thương mại hóa. Tuy nhiên, để phát triển bền vững, cần tăng cường đầu tư cơ sở hạ tầng, đào tạo nhân lực và thúc đẩy hợp tác giữa các cơ sở nghiên cứu, trường đại học và doanh nghiệp (Bộ Chính trị, 2023).

VI. Kết luận

CFSB là một nền tảng công nghệ cho phép kiểm soát hiệu quả các quá trình sinh học mà không bị giới hạn bởi tế bào sống. Công nghệ này đang thúc đẩy những tiến bộ trong tổng hợp protein, thiết kế mạch sinh học, phát triển vật liệu sinh học và nhiều ứng dụng khác. Với sự phát triển nhanh chóng của sinh học tổng hợp, CFSB được kỳ vọng sẽ giữ vai trò quan trọng trong y học, công nghệ sinh học và công nghệ nano trong tương lai.

Tài liệu tham khảo

- Acharya, M., & Mani, I. (2026). Computational biology for cell-free systems. In *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (Vol. 218, pp. 65-85). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2025.08.007>
- Borkowski, O., Koch, M., Zettor, A., Pandi, A., Batista, A. C., Soudier, P., & Faulon, J.-L. (2020). Large scale active-learning-guided exploration for *in vitro* protein production optimization. *Nature Communications*, 11(1), Article 1872. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15798-5>
- Bowie, J. U., Sherkhanov, S., Korman, T. P., Valliere, M. A., Opgenorth, P. H., & Liu, H. (2020). Synthetic biochemistry: The bio-inspired cell-free approach to commodity chemical production. *Trends in Biotechnology*, 38(7), 766-778. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.12.024>
- Bộ Chính trị. (2023, ngày 30 tháng 01). *Nghị quyết số 36-NQ/TW về phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học phục vụ phát triển bền vững đất nước trong tình hình mới*. Đảng Cộng sản Việt Nam.

Caschera, F., & Noireaux, V. (2015).

- Preparation of amino acid mixtures for cell-free expression systems. *BioTechniques*, 58(1), 40-43. <https://doi.org/10.2144/000114249>
- Cui, Y., Chen, X., Wang, Z., & Lu, Y. (2022). Cell-free PURE system: Evolution and achievements. *BioDesign Research*, 2022, 9847014. <https://doi.org/10.34133/2022/9847014>
- Cui, Z., Johnston, W. A., & Alexandrov, K. (2020). Cell-free approach for non-canonical amino acids incorporation into polypeptides. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 1031. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.01031>
- Dondapati, S. K., Stech, M., Zemella, A., & Kubick, S. (2020). Cell-free protein synthesis: A promising option for future drug development. *BioDrugs*, 34(3), 327-348. <https://doi.org/10.1007/s40259-020-00417-y>
- Fehlau, M., Kaspar, F., Hellendahl, K. F., Schollmeyer, J., Neubauer, P., & Wagner, A. (2020). Modular enzymatic cascade synthesis of nucleotides using a (d)ATP regeneration system. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 854. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00854>
- Hodgman, C. E., & Jewett, M. C. (2012). Cell-free synthetic biology: Thinking outside the cell. *Metabolic Engineering*, 14(3), 261-269. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2011.09.002>
- Hu, V. T., & Kamat, N. P. (2023). Cell-free protein synthesis systems for vaccine design and production. *Current Opinion in Biotechnology*, 79, 102888. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102888>
- Hunt, A. C., Rasor, B. J., Seki, K., Ekas, H. M., Warfel, K. F., Karim, A. S., & Jewett, M. C. (2025). Cell-free gene expression: Methods and applications. *Chemical Reviews*, 125(1), 91-149. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.4c00116>
- Jewett, M. C., & Karim, A. S. (2018). Cell-free synthetic biology: Engineering beyond the cell. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(9), a023853. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a023853>
- Kim, K. J., Lee, S.-J., & Kim, D.-M. (2023). The use of cell-free protein synthesis to push the boundaries of synthetic biology. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 28(6), 922-928. <https://doi.org/10.1007/s12257-022-0279-2>
- Kim, W., Han, J., Chauhan, S., & Lee, J. W. (2025). Cell-free protein synthesis and vesicle systems for programmable therapeutic manufacturing and delivery. *Journal of Biological Engineering*, 19(1), 55. <https://doi.org/10.1186/s13036-025-00523-x>
- Lin, X., Wang, T., & Lu, Y. (2022). Cell-free synthetic biology: Orchestrating the machinery for biomolecular engineering. *Biotechnology Notes*, 3, 97-101. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2022.12.002>
- Lu, Y. (2017). Cell-free synthetic biology: Engineering in an open world. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2(1), 23-27. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2017.02.003>
- Ranji, A., Wu, J. C., Bundy, B. C., & Jewett, M. C. (2013). Transforming synthetic biology with cell-free systems. *Synthetic Biology Project, Woodrow Wilson International Center for Scholars*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394430-6.00015-7>
- Sarac, B., Yücer, S., & Çiftci, F. (2025).

- Synthetic biology-driven biosensors for healthcare applications: A roadmap toward programmable and intelligent diagnostics. *Biosensors and Bioelectronics*, 291, 118036. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2025.118036>
- Silverman, A. D., Karim, A. S., & Jewett, M. C. (2020). Cell-free gene expression: An expanded repertoire of applications. *Nature Reviews Genetics*, 21(3), 151-170. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0186-3>
- Sun, Y. (2023). Applications for cell-free synthetic biology. *BIO Web of Conferences*, 59, Article 01002. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235901002>
- Tinafar, A., Jaenes, K., & Pardee, K. (2019). Synthetic biology goes cell-free. *BMC Biology*, 17(1), 64. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0685-x>
- Yue, K., Chen, J., Li, Y., & Kai, L. (2023). Advancing synthetic biology through cell-free protein synthesis. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 21, 2899-2908. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.05.003>
- Yue, K., Li, Y., Cao, M., Shen, L., Gu, J., & Kai, L. (2023). Bottom-up synthetic biology using cell-free protein synthesis. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 185, 1-20. https://doi.org/10.1007/10_2023_232
- Zhou, C., Jiang, F., Chen, W., Nugen, S. R., & Huang, C. (2025). Synthetic biology meets diagnostics: Engineering biosensing platforms for rapid and accurate pathogen and viral detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 290, 117946. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2025.117946>

CELL-FREE SYNTHETIC BIOLOGY: A PLATFORM FOR NEXT-GENERATION BIOENGINEERING

Bui Thi Hai Hoa¹, Trinh Thi Thu Hang¹, Dinh Thi Thu Le¹

Abstract: *Cell-Free Synthetic Biology (CFSB) is a technology that enables biological reactions to be performed in vitro without the use of living cells. By employing biological components in an open reaction system, CFSB allows direct control over reaction conditions, shortens the design-build-test cycle, and enhances protein production efficiency, including the synthesis of proteins that are difficult to express or toxic to living cells. This technology has been applied in Cell-Free Protein Synthesis (CFPS), DNA origami, enzyme cascades, and biomaterial production, supporting applications such as bacteriocin manufacturing, bio-nanodevice development, and the fabrication of biodegradable materials.*

Despite its significant potential, CFSB still faces several challenges, including high operational costs, limited enzyme stability, batch-to-batch variability, and difficulties in scaling up for industrial applications. In addition, further improvements are needed in translational efficiency and the incorporation of noncanonical amino acids into synthesized proteins.

Keywords: *CFSB, CFPS, DNA origami, enzyme cascade, biomaterials*

¹ Hanoi Open University, Hanoi, Vietnam