

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2025-013

合成生物学在干细胞早期胚胎发育模型中的应用

杨莹¹, 李霞¹, 刘立中^{1, 2, 3}

(¹ 西湖实验室(生命科学和生物医学浙江省实验室), 浙江 杭州 310024; ² 西湖大学生命科学学院, 浙江 杭州 310030; ³ 浙江西湖高等研究院生物学研究所, 浙江 杭州 310024)

摘要: 早期胚胎发育过程中如何从单细胞合子逐步形成复杂组织与器官, 是发育生物学期长期关注的核心问题。然而, 哺乳动物尤其是人类胚胎着床后的发育因技术和伦理限制而难以直接观测, 导致对关键时空调控机制的认识仍然不足。近年来, 多能性干细胞衍生的类胚胎和类器官模型迅速发展, 为体外模拟早期胚胎发育和器官发生提供了新途径。与此同时, 合成生物学借助工程化思维与可编程基因线路, 为精确调控细胞分化、信号传递及细胞命运模式化提供了前所未有的技术支持。本文探讨基于干细胞的类胚胎和类器官模型如何融合合成生物学与定量生物学方法, 从自下而上的“建物致知”角度探讨关键发育事件的机制。并针对目前模型与真实胚胎及器官在形态与功能层面的差距, 探讨建立标准化评价体系及发展精准细胞行为调控策略的必要性, 最后展望了合成发育生物学在干细胞类胚胎与类器官模型中潜在的应用前景。

关键词: 胚胎发育; 类胚胎与类器官; 细胞命运决定; 形态发生; 合成生物元件

中图分类号: Q81 文献标志码: A

Applications of synthetic biology to stem-cell-derived modeling of early embryonic development

YANG Ying¹, LI Xia¹, LIU Lizhong^{1, 2, 3}

(¹ Westlake Laboratory of Life Sciences and Biomedicine, Hangzhou 310024, Zhejiang, China; ² School of Life Sciences, Westlake University, Hangzhou 310030, Zhejiang, China; ³ Institute of Biology, Westlake Institute for Advanced Study, Hangzhou 310024, Zhejiang, China)

Abstract: Understanding how a fertilized egg develops from a single cell into complex tissues and organs remains a central question in developmental biology. However, in mammals, especially in humans, technical and ethical constraints limit *in utero* investigation of the post-implantation development and *ex utero* culture beyond organogenesis as well. As a result, the molecular and cellular mechanisms underpinning spatiotemporal regulation during these stages remain poorly understand. This knowledge gap underscores the urgent need for high-fidelity *in vitro* models that not only recapitulate *in vivo* developmental processes but also allow for precise experimental perturbations. Recent

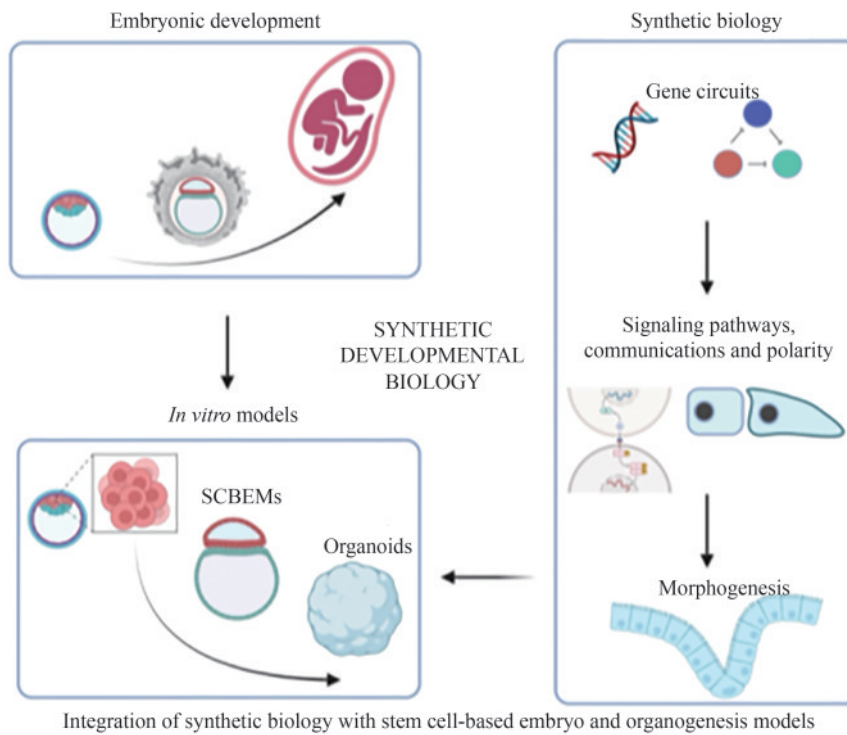
收稿日期: 2025-03-03 修回日期: 2025-05-12

基金项目: 浙江省“尖兵”“领雁”研发攻关计划(2024SSYS0036)

引用本文: 杨莹, 李霞, 刘立中. 合成生物学在干细胞早期胚胎发育模型中的应用[J]. 合成生物学, 2025, 6(3): 669-684

Citation: YANG Ying, LI Xia, LIU Lizhong. Applications of synthetic biology to stem-cell-derived modeling of early embryonic development[J]. Synthetic Biology Journal, 2025, 6(3): 669-684

advances in stem cell-based embryo models and organoids leverage the developmental potential and intrinsic self-organizing capabilities of pluripotent stem cells to mimic aspects of early embryonic and organ development, offering new platforms for studying those complex processes. Concurrently, synthetic biology provides powerful tools, such as programmable gene circuits, optogenetics, and engineered signaling pathways, to control gene expression, cell differentiation, intercellular communications, and tissue patterning with unprecedented precision. This review highlights recent progress in integrating synthetic biology with *in vitro* models to dissect and reconstitute fundamental mechanisms of embryonic development. By harnessing synthetic biology tools, researchers can now modulate specific pathways with temporal and spatial precision, enabling a deeper understanding of processes such as signal transduction dynamics, cellular adhesion networks, symmetry breaking, and the establishment of polarity. This bottom-up “build-to-learn” approach shifts the paradigm from observational to predictive developmental biology. Such innovations have collectively given rise to the emerging field of synthetic developmental biology. This field not only provides mechanistic insights into developmental events that were previously inaccessible but also opens new avenues for building artificial tissues and structures with tailored functions. We also discuss current limitations in mimicking the morphology and function of natural embryonic structures, emphasizing the need for robust evaluation systems and refined strategies to precisely control cell behavior. Finally, we explore how synthetic developmental biology can elucidate key principles of embryogenesis and accelerate future applications in regenerative medicine.



Keywords: embryonic development; embryo model and organoid; cell fate decision; morphogenesis; synthetic biology parts

发育生物学旨在解析多细胞生物如何从单细胞合子逐步发育为复杂有机体，并揭示其背后的

分子调控机制。传统发育生物学以遗传学为核心，结合分子生物学、细胞生物学、表观遗传学与生

物信息学等多学科交叉方法,研究细胞命运可塑性(plasticity)、极性(polarity)的建立、生物图式(biological patterning)的形成及组织形态发生(morphogenesis)等核心发育过程的调控机制。通过对斑马鱼、线虫、果蝇、小鼠等模式生物的研究,该领域在形态发生素(morphogen)梯度形成、细胞极性建立的分子调控、细胞间信号传递以及基因调控网络对细胞命运决定的时空调控等方面取得了重要进展。然而,随着研究问题的复杂性增加,当前发育生物学研究面临重要挑战。首先,哺乳动物胚胎发育具有高度精细的时空特异性,导致关键调控事件的观测时间窗口极为狭窄;其次,遗传冗余(genetic redundancy)与表型代偿(phenotypic compensation)机制使得用简单的线性因果关系难以全面解析发育过程;再者,人类胚胎研究受到伦理与技术的制约,难以进行直接观察和实验验证。

多能性干细胞(pluripotent stem cell, PSC),包括胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和通过体细胞重编程获得的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC),不仅在器官修复和再生医学领域具有广阔应用前景,还可作为研究人类胚胎发育的理想体外模型。然而,传统干细胞分化方法通常依赖多步骤诱导,涉及多个生长因子,导致分化效率低、细胞群体异质性高(heterogeneity),并难以准确模拟胚胎发育的时空信号层次结构及表观遗传状态。近年来,基于干细胞的类胚胎(stem cell-based embryo model, SCBEM)与类器官(organoid)模型发展迅速。通过三维培养策略,干细胞可自组织形成与自然胚胎或器官在细胞类型和组织结构上相似的模型,为研究胚胎和器官的正常及病理发育机制提供了重要工具。

然而,胚胎发育的复杂性难以完全用简单的自组织过程解释。是否可以尝试对这一过程进行模块化拆解与分析?在多学科融合的背景下,合成生物学与定量生物学或可为研究胚胎发育过程提供新的思路。合成生物学(synthetic biology)采用工程化思维,将生物系统视为可编程模块,通过精确设计基因线路,实现对细胞生长、分化及模式形成等过程的控制,从而达到“建物致知”(build-to-learn)的目标,即以自下而上(bottom-up)的方式解析生

物系统的运行机理。最初,合成生物学的研究主要集中于微生物系统,例如,在大肠杆菌和酵母中构建人工基因回路。早期的代表性研究包括:抑制子振荡器(repressilator),通过工程化转录因子构建细胞周期性振荡机制^[1];双稳态开关(toggle switch),实现细胞在两种稳定状态间的可控切换^[2]。这些研究奠定了合成基因线路设计的基础,并为后续在哺乳动物细胞乃至多细胞体系中的应用提供了理论支持。近年来,合成发育生物学(synthetic developmental biology)作为合成生物学与发育生物学的交叉领域快速发展。科学家们利用合成Notch受体(synNotch)、光遗传学工具(optogenetics)等合成生物学元件,在哺乳动物细胞中精确调控基因表达和细胞行为,以深入解析和重构发育过程,例如光控基因电路用于调控细胞分化的时空动态及人工基因回路驱动干细胞形成特定组织结构^[3-4]。这些新兴技术的应用正在显著拓展我们对多细胞生物发育过程的理解,并提供了构建可控发育模型的新策略。与此同时,定量生物学方法正系统性重塑研究维度,例如单细胞多组学与时空组学工具实现分子图谱的全景解析^[5-7]。此外,活体显微成像耦合CRISPR介导的细胞谱系追踪(lineage tracing)技术揭示发育的动态时空规律,基于多能性干细胞的体外模型构建,如利用多能性干细胞的发育潜能和自组装特性,通过可控的培养条件(如图案化及三维培养)构建在形态学和细胞类型上与自然胚胎或器官类似的体外模型,以及数学建模与机器学习算法预测基因调控网络(GRN)与形态发生(morphogenesis)的动力学过程。这些创新技术将深化对胚胎发育基本原理和分子机制的认知。

本文综述近期在基于干细胞的体外胚胎与器官发育模型研究中融合合成生物学与定量生物学方法的进展,并探讨其在未来结合应用的前景。

1 干细胞衍生的胚胎与器官发育模型

胚胎发育始于受精卵与卵裂,随后分化为滋养外胚层(trophectoderm, TE)和内细胞团(inner cell mass, ICM)。其中,内细胞团进一步分化为上胚层(epiblast)和原始内胚层(primitive endoderm,

又称下胚层 hypoblast)。上胚层将发育成所有成体细胞类型，而滋养外胚层和下胚层分别贡献于胎盘和卵黄囊的形成。在胚胎植入后，上胚层后部形成原条 (primitive streak)，上胚层细胞通过原条迁移，形成中胚层 (mesoderm) 和定型内胚层 (definitive endoderm)，而留在上胚层的细胞最终发育为外胚层 (ectoderm) [图 1(a)]。这一过程被称为原肠运动 (gastrulation)，是细胞命运决定和形态发生的关键步骤。然而，由于技术和伦理限制，对这一发育关键时期的研究长期受阻，导致相关认知仍较为有限。为突破这一瓶颈，研究人员尝试在体外构建可控、可观察的简化模型，以模拟早期胚胎发育过程。经过近几十年的发展，科学家建立了具有不同发育潜能的PSC，包括原始态 (naïve)、中间态/形成态 (intermediate/formative) 和始发态 (primed)，这些干细胞在可控培养环境下能够模拟胚胎发育，为研究早期细胞命运决定机制提供了重要工具^[8-10]。早期研究发现，由数百个ESC形成的聚集体 (即胚状体, embryoid bodies)，虽然能分化出多种胚胎组织，但整体结构与自然胚胎仍有较大差异^[11-12]。Warmflash等^[13]在直径约700 μm的碟形微图案区域上培养人类胚胎干细胞 (hESC)，并通过BMP4信号诱导生成类似人类原肠胚胚盘 (embryonic disc) 的细胞命运图式 (cell fate patterning)，揭示了多能性干细胞在二维 (2D) 培养环境下的自组装能力，这一模型被称为二维类原肠胚 (2D-gastruloid)。与此同时，Martinez Arias课题组的一系列研究表明，在三维 (3D) 培养条件下，多能性干细胞团经Wnt信号激活后可打破对称性 (symmetry breaking)，形成轴向极性 (axial polarity)^[14-18]。基于这些研究，科学家们进一步构建了模拟体节 (somite) 发育的部分胚胎模型 (partial embryo model)^[19-21]。这些模型分别用于轴向延长 (axial elongation)、体节发生 (somitogenesis) 和分节时钟 (segmentation clock) 的研究。此外，基于芯片和微流控技术的神经管 (neural tube) 模型也成功再现了早期神经发育的关键过程，使研究人员能够在受控环境中探索神经模式化 (neural patterning)、神经管形态发生及谱系特化 (lineage specification)^[22-23]。上述类原肠胚及部分胚胎模型中因不包含滋养外胚层和下胚层等胚胎外细胞类型，因而无法模拟上胚层与胚外组织的相

互作用。来自Fu实验室的系列工作表明，在微流控系统，人胚胎干细胞在BMP4信号作用下可产生类似人的羊膜腔结构，该结构可用于研究羊膜细胞在上胚层分化过程中的作用^[24-26]。此外，Rivron等^[27]通过将小鼠的滋养层细胞干细胞 (trophoblast stem cell) 与胚胎干细胞进行共培养得到类似小鼠囊胚的结构，称之为类囊胚 (blastoid)。随后的工作证实，通过人类原始态干细胞自组装可以得到人的类囊胚结构^[28-31]。近两年来，人的类胚胎模型成功重现了围植入期 (peri-implantation) 的形态发生过程，整合了胚胎和胚胎外细胞类型 (extra-embryonic cell type)，包括上胚层和下胚层^[32-35]。在某些情况下，这些模型还包含滋养层和胚外中胚层 (extra-embryonic mesoderm, ExM)^[36-38]。通过引入滋养层、下胚层和胚外中胚层，类胚胎进一步揭示了细胞分化、细胞间相互作用，组织形成和形态发生的关键分子机制。尤其在胚盘形成、对称性破缺、发育轴建立和原始造血 (primitive hematopoiesis) 方面。这些创新模型为未来解析人类胚胎发育的基本机制提供了全新的工具，相关内容可参考已有的中文综述文章^[39-40]。此外，由干细胞或祖细胞在三维培养系统中自组织形成的类器官 (organoid)，现已模拟出多种类似自然器官的结构 [图 1(b)]。因篇幅有限，本文重点介绍类胚胎模型，关于类器官的详细综述请参看文献 [44, 47-53]。

值得强调的是，干细胞类胚胎模型为研究人类早期胚胎发育提供了重要工具，使原本难以观察的发育阶段得以在体外重现，在一定程度上有助于解析发育机制及相关疾病。然而，这些模型与自然胚胎仍存在明显差异，目前尚无任何干细胞类胚胎模型可发育为可存活胎儿。此外，许多模型在形态维持和基因表达的准确性上效率不高，即使是相对高效的模型，不同细胞系之间也常表现出显著差异。随着该领域的不断推进，对高效率、稳定性强的模型需求将持续增长。实现研究结果的可重复性与可靠性，亟需对关键发育特征进行准确、规范的描述，以实现标准化评估并提升模型的生理仿真度。此外，在模型构建策略方面，转基因多能干细胞 (PSC) 系可精准调控基因表达，适用于基因功能研究及谱系追踪，但其人为修饰可能引入偏离体内生理状态的影响；而未

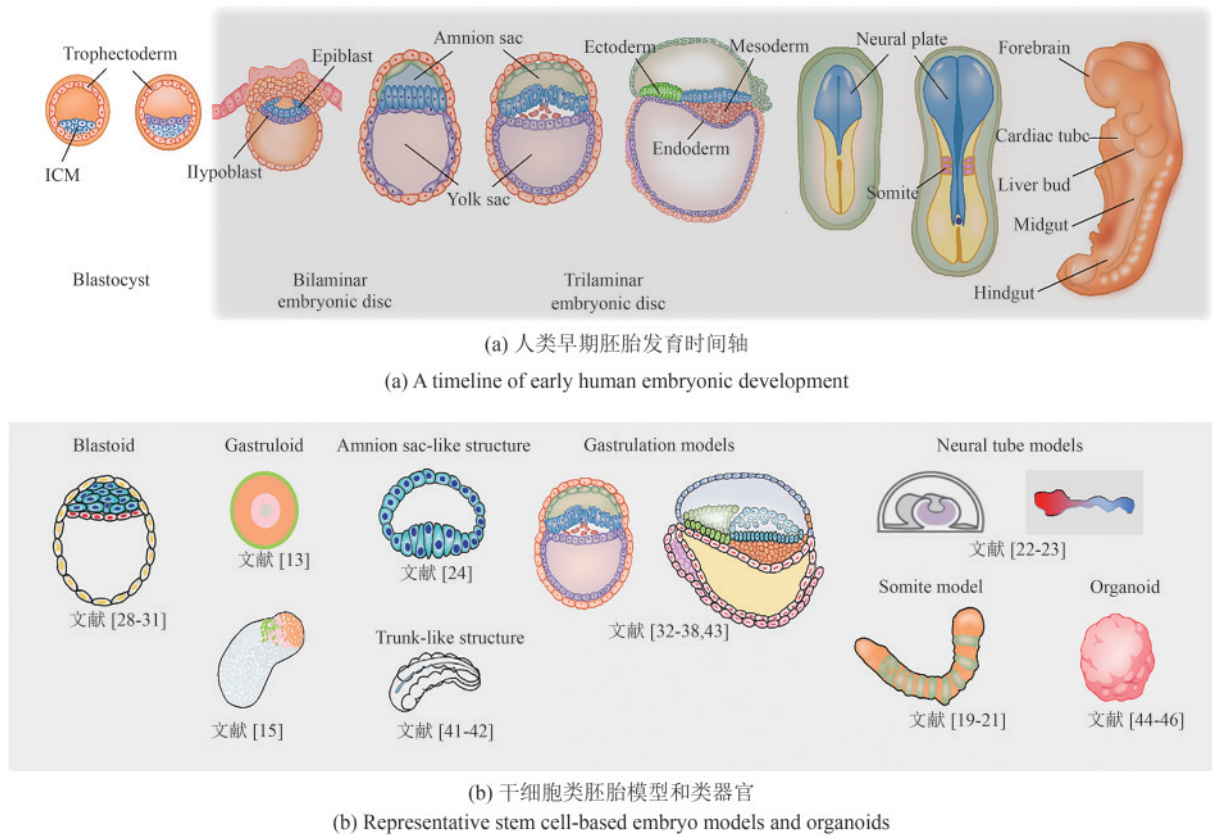


图1 早期胚胎发育及类胚胎与类器官模型

(人类胚胎发育始于囊胚着床于子宫壁，随后形成由上胚层和下胚层构成的双胚层胚盘。原肠胚形成过程将其转变为三层结构：外胚层、中胚层和内胚层，为早期器官发生奠定基础。作者在此列举了几种具有代表性的干细胞类胚胎模型，能够较好地模拟从着床前、着床期到原肠胚形成及早期器官发生等关键发育阶段，同时也展示了部分具有代表性的类器官模型。由于篇幅所限，未能收录全部相关研究，敬请谅解)

Fig.1 Early embryonic development models and organoids

(Human embryonic development begins with the blastocyst implanting into the uterine wall, followed by the formation of the bilaminar disc composed of the epiblast and hypoblast. Gastrulation then transforms the disc into a trilaminar structure: ectoderm, mesoderm, and endoderm, laying the foundation for early organogenesis. Here are representative stem cell-based embryo models selected by the authors, which recapitulate key developmental stages ranging from pre-implantation and peri-implantation to gastrulation and early organogenesis. Due to space constraints, we regret that not all relevant studies could be included.)

经修饰的PSC系则更贴近自然发育过程，却在机制研究中缺乏足够的操作灵活性。因此，研究者应根据具体科学问题权衡选择合适的模型类型。

2 合成生物学在发育生物学中的应用

通过深入理解和合理推演自然界中生物元件及其相互作用机制，采用重新设计、改造和构建等合成生物学策略，开发出具有新功能的生物元件与系统。凭借其高度的可控性与正交性，合成生物学为探索胚胎与器官发育中的复杂动态过程

提供了前所未有的强大工具。近年来，该领域不断拓展，催生出多种创新方向，例如用于调控细胞行为的合成信号分子、指导细胞在三维空间中自组装的合成原核调控机制、实现精确时空调控的合成基因回路，为揭示发育生物学的基本规律提供了全新视角与实验手段。

2.1 合成信号分子

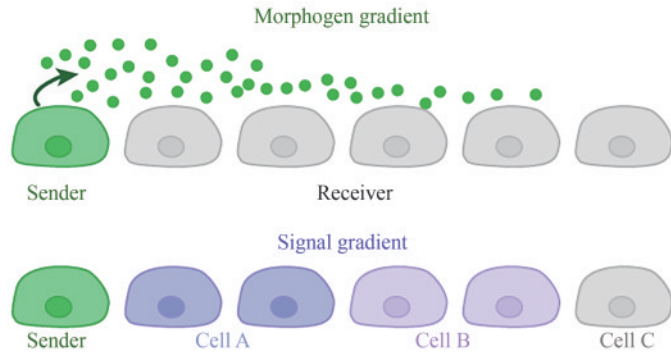
在胚胎发育过程中，单个细胞如何感知其所处环境的变化并随之而进行命运决定仍然是有待解答的问题。经典发育生物学理论认为胚胎发育

过程中通过形态发生因子 (morphogen) 浓度梯度来建立空间位置信息, 控制体轴极性产生和细胞命运分化 [图2(a)]。然而, 不同的信号通路其形态发生因子的浓度梯度建立, 处于其中的细胞如何响应形态发生因子浓度变化而产生不同分化结果, 是否有辅助因子参与, 是否存在反馈回路等机制性问题需要深入研究^[54-58]。借助合成生物学方法探索形态发生因子的有效浓度及梯度形成机制已成为合成发育生物学的一个重要研究方向。Stapornwongkul等^[59]通过巧妙的工程化设计, 利用绿色荧光蛋白 (GFP) 在果蝇翅膀原基中模拟了天然的 Dpp (Decapentaplegic) 浓度梯度。他们将 GFP 当作合成的形态发生因子, 并将果蝇 Dpp 受体的胞外段与抗 GFP 纳米抗体相融合, 构建了能响应 GFP 的受体。研究者通过调控细胞膜上锚定的 GFP 纳米抗体数量, 使 GFP 在组织中形成可检测的扩散梯度, 进而诱导内源性 Dpp 信号通路的激活。这样不仅可以在 Dpp 缺失的情况下补偿翅膀发育缺陷, 也为探究 Dpp 信号梯度的形成与响应提供了可控模型 [图2(b)]。另一种合成信号的实现方式是针对内源性通路的不同组分, 进行按需替换或重组, 构建一个“正交”(orthogonal) 的输入-输出系统, 最大限度避免对内源性信号干扰, 从而聚焦研究特定通路 [图2(c)]。例如, 在发育过程中, Notch 信号通路对于细胞命运决策至关重要: 邻近细胞表面表达的配体与 Notch 受体结合后, 引发胞内转录调控因子的剪切与释放, 最终指导细胞行为^[60]。基于这一原理, Morsut等^[61]构建了合成 Notch 受体 (synthetic Notch, synNotch)。受体胞外段用特异性识别 GFP 分子或短肽段的纳米抗体替代了原本 Delta 或 Jagged 等配体的识别结构, 而受体胞内段则保留 Notch 关键调控域, 同时引入目标转录调控因子。以 GFP 作为信号分子时, 若相邻细胞表面锚定有 GFP, 含抗 GFP 抗体的 synNotch 受体就能特异识别该 GFP 并发生受体激活, 随后释放胞内转录调控因子进入细胞核, 以调控下游靶基因。利用 synNotch 系统, Toda等^[62]通过将 GFP 与 mCherry 等蛋白改造为合成形态发生因子, 配合 GFP 或 mCherry 锚定蛋白与 synNotch 受体, 实现了可在多细胞环境中形成浓度梯度并激活基因表达的全新信号系统 [图2(d)]。研究者

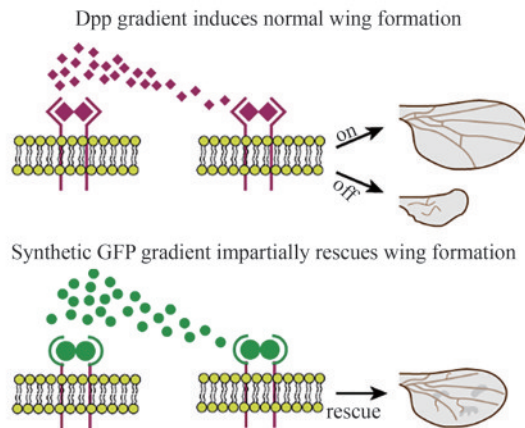
通过调节锚定蛋白密度、加入抑制子及设计正负反馈回路, 成功构建出多种空间图案, 包括分段式的多域结构和快速达到稳态的分化模式。研究结果显示, 这些完全外源的形态发生素无需干扰内源信号, 即可精准调控细胞命运分区与图案化。上述研究提示, 借助合成生物学手段可以在类胚胎或类器官模型中对发育通路元件进行改造, 进而剖析这些通路在发育过程中的具体功能。这种策略为精准研究信号分子在形态发生过程中的作用提供了更灵活可控的实验工具。

2.2 合成元件介导细胞三维自组织

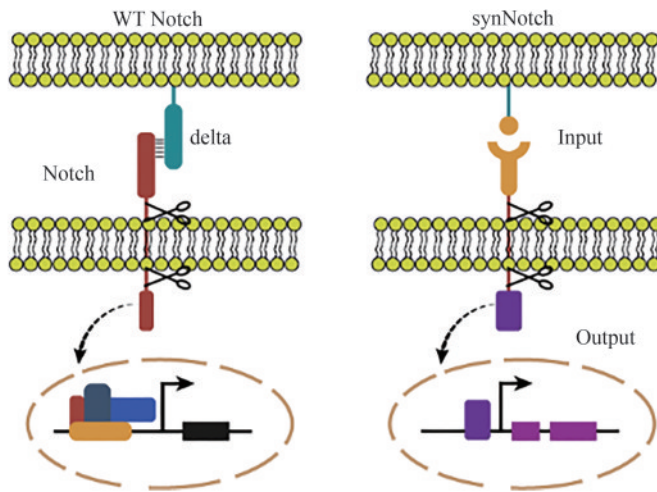
synNotch 也被应用于探索三维细胞自组装。Toda 等将 synNotch 信号体系拓展到了三维培养环境, 利用该受体回路控制经过改造的细胞表达不同强度的钙黏蛋白。根据“差异黏附假说”^[63], 细胞黏附能力的差异会使细胞在空间上彼此分层, 从而自发形成不同类型的多细胞结构。实验结果显示, 具有更高黏附力的细胞最终分布在球体结构的内层, 其他细胞则分布于中层和外层, 形成 2~3 层球体 [图2(e)]。研究者进一步结合不同种类的钙黏蛋白, 构建出了带有不对称特征的多细胞结构, 实现了空间模式的形成与对称性破缺^[64]。该研究中产生的细胞三维组织完成了空间图式形成以及对称性破缺的自组织行为, 展示了定制化组织图式的潜力。在此基础上, Yamada等^[65]利用合成细胞黏附分子 (synthetic cell adhesion molecule, synCAM) 构建了可自我组装的“合成组织者细胞” (synthetic organizer cell), 为干细胞提供具有空间和时间分辨度的形态发生因子梯度, 进而精准引导早期胚胎发育过程 [图2(f)]。作者利用工程化手段改造 L929 成纤维细胞, 使其能围绕小鼠胚胎干细胞形成指定的外形结构 (如“壳”或“节点”), 并在合适时机表达 WNT3A、DKK1 等关键信号分子, 从而在人造三维体系中重现胚胎发育中“前-后”轴的建立、心肌等重要组织的形成。该研究不仅通过细胞黏附分子及诱导自杀开关等回路实现对组织者细胞的组装和信号释放的双重精准控制, 还将活细胞作为“动态信号源”以克服传统因子添加方法的局限性。



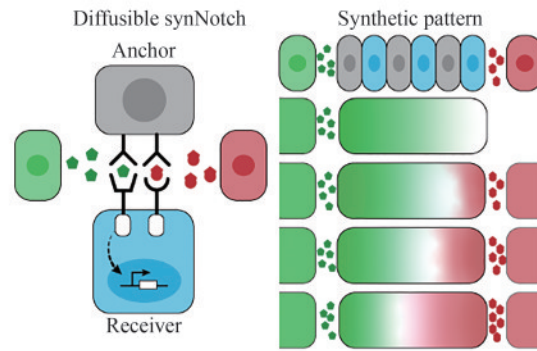
(a) 形态发生因子浓度梯度引起梯度依赖的细胞应答
 (a) Morphogen concentration gradients induce gradient-dependent cellular responses



(b) 合成 GFP 浓度梯度代替 Dpp 浓度梯度，挽救果蝇翅膀发育缺陷
 (b) Synthesized GFP concentration gradient replaces the Dpp gradient, rescuing wing development defects in fruit flies

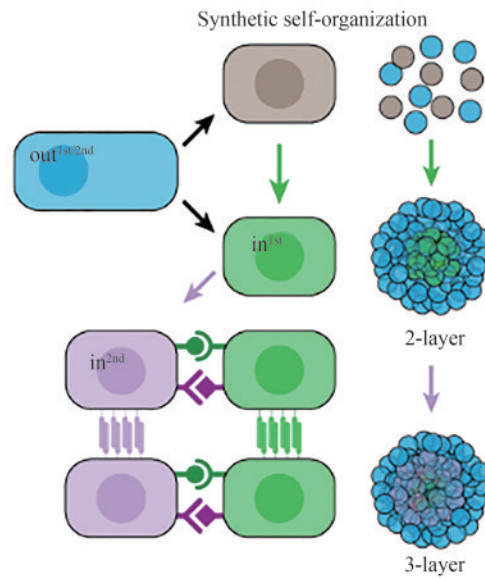


(c) 合成 Notch 受体系统
 (c) Construction of a synthetic Notch receptor system



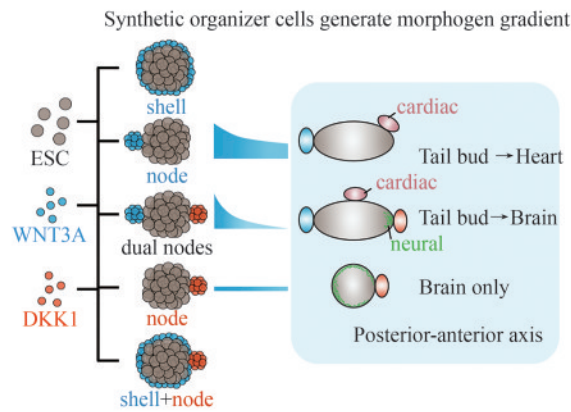
(d) 改造 synNotch 系统，设计正负反馈回路模拟细胞命运分区

(d) Engineering the synNotch system to design positive and negative feedback loops for mimicking cell fate partitioning



(e) 基于合成系统介导细胞进行三维的自组织

(e) Mediating 3D self-organization of cells using synthetic systems



(f) 设计构建“合成组织者细胞”，模拟空间和时间维度的形态发生因子梯度，引导轴向性发育

(f) Design and construction of “synthetic organizer cells” to emulate spatial and temporal gradients of morphogens, guiding axial development

图2 合成信号分子浓度梯度控制生物细胞图式及三维结构

Fig.2 Synthetic morphogen gradient control of cellular patterning and 3D structure

2.3 基因编辑及合成基因回路调控细胞分化

早期胚胎发育需要在多能性的维持与细胞命运分化之间达成一定平衡。细胞命运分化受早期谱系特异性基因的调控，而这些基因的表达在不同物种之间存在显著差异^[66]。为研究人类和小鼠早期胚胎细胞多能性调控网络的异同，研究者利用CRISPR-Cas9靶向敲除人类胚胎中的*POU5F1* (*OCT4*)，发现*NANOG*、*GATA2*和*GATA4*的表达均受严重影响，而小鼠胚胎在同样的处理下仍可发育至囊胚期，表明*OCT4*与*NANOG*的调控时序在人类和小鼠胚胎中存在显著差异^[67]。上述研究展现了CRISPR基因编辑技术在研究胚胎发育中的潜力，然而CRISPR作为基因编辑工具用于人类早期胚胎研究，需要充分评估潜在的社会影响和安全隐患，因为对人胚胎的编辑可导致不可逆转的基因变化，进而引发深远的伦理与社会争议。目前有多篇报道指出，CRISPR-Cas9基因编辑造成了DNA修复错误，增加了除目的基因外的基因缺失或重排^[68-70]。此外，脱靶效应也是另一个重要的挑战^[71]。

CRISPR介导的转录激活或转录因子过表达可诱导多能性干细胞直接分化成目标细胞类型^[72-74]。在类胚胎模型的研究中，着床前的胚外干细胞类型如滋养层干细胞 (trophoblast stem cell, TS)，原始内胚层干细胞因为难以通过培养条件诱导的方法获得，通过转录激活的方式可以在一定程度上解决这个问题。Zernicka-Goetz团队发现结合小鼠胚胎干细胞，滋养层干细胞，以及胚外内胚层干细胞 [extra-embryonic endoderm (XEN) stem cells] 能够形成类胚胎结构，称之为ETX (ESC + TS + XEN) 胚胎^[75-76]。ETX胚胎与小鼠原肠胚具有转录相似性，但其无法重现所有表征小鼠原肠胚形成的复杂形态发生过程，该团队的后续研究发现ETX胚胎的发育可能是受限于XEN细胞。具体而言，将原ETX胚胎中的XEN细胞替换为在mESC中瞬时过表达转录因子*GATA4*获得的iXEN (induced XEN) 细胞，由此产生的iETX (induced ETX) 胚胎相较于初代ETX胚胎具有更好的发育潜能，能实现更接近自然胚胎发育的形态发生过程，使体外探究非对称性，头-尾轴建立及原肠胚运动有了更好的工具^[77-78]。在人的类胚胎模型研究中，研究者发现通

过在人多能性干细胞中过表达另一个与原始内胚层细胞分化相关的关键转录因子*GATA6*，也能获得原始内胚层样干细胞，与上胚层细胞自组装产生类似人类围着床期胚胎的结构^[32, 36-37]。

此外，合成基因回路在类胚胎模型研究中正开始发挥重要作用。在体外经过特定条件诱导，干细胞团自组织形成复杂的胚胎样结构，这些结构能自主打破对称性并形成类似胚胎的体轴。然而，在缺乏外部空间信息指导的情况下，其非对称性形成及细胞命运调控机制仍不清楚。为解答这一问题，McNamara等^[79]开发了一种合成“信号记录”基因回路，用于实时追踪类原肠胚发育过程中Wnt信号通路如何参与体轴极性建立及细胞分化。研究人员在小鼠胚胎干细胞中构建了Wnt信号依赖的蛋白标记系统，用于追踪类原肠胚中Wnt信号激活的细胞亚群，探索类原肠胚如何自组织形成头-尾轴，以及信号通路如何参与这一过程。结果揭示，Wnt活性最初呈现斑块状分布，随后极化形成单一的尾端极。这一过程主要由细胞分选 (cell sorting) 驱动，而非经典的反应-扩散 (reaction-diffusion) 机制。这一发现表明，类原肠胚的体轴极性形成机制可能与自然胚胎存在差异。

光遗传学 (optogenetics) 是一种结合光学与遗传学的前沿技术，近年来广泛用于发育生物学研究。其核心原理是利用光敏蛋白精准调控细胞内信号，可结合成像技术实时研究细胞行为和基因调控，能够以高时空分辨率进行控制，使其成为探索发育信号通路的强大工具^[80-81]。BMP是发育过程中的关键信号分子。然而，传统外源添加BMP蛋白或小分子的方法无法精准模拟其动态激活模式。鉴于BMP信号依赖I型和II型受体的四聚化驱动下游SMAD蛋白磷酸化^[82-83]，研究人员设计了OptoBMP受体系统 [图3(a)]。该系统锚定BMP受体胞内激酶结构域于细胞膜，并在其C端融合藻类光敏蛋白LOV。蓝光刺激诱导LOV二聚化，使I型和II型受体接近，从而精准启动BMP信号通路^[84]。

为探究胚胎形态发生机制，研究人员开发了体外重建形态发生行为的方法。在后生动物发育中，顶端收缩 (apical constriction) 是形成弯曲结构的核心机制^[85-86]。顶端收缩的发生由肌动蛋白收缩驱动，通常由顶侧的Rho-ROCK信号通路引起，

发生于胚胎发育的特定阶段和区域。体外重构弯曲形态的组织要求对细胞的收缩有很强的时空控制性。光遗传技术恰是一种能在分子乃至多细胞水平上实现精确时空控制的强大方法^[87-90]。诱导具有复杂组织结构的形态发生过程具有较大技术挑战，为克服技术难点，研究人员开发了新的光遗传学工具 OptoShroom3。其设计基于光敏蛋白 iLID 与其结合蛋白 SspB，Shroom3 包含两个结构域：F-Actin 结合域 SD1 (Shroom domain 1) 和 ROCK 结合域 SD2 (Shroom domain 2)。N 端结构域 SD1 与 iLID 融合，C 端结构域 SD2 与 SspB 融合，这种类似剪切体的形式构成 OptoShroom3。在蓝光刺激下 iLID 发生构象改变从而与 SspB 结合，激活 OptoShroom3 引起顶端收缩^[91]。该研究表明，诱导顶面收缩的时空控制可以根据初始组织背景触发多种类型的 3D 组织形变，为研究细胞形态和组织发育提供了新的工具 [图 3(b)]。

3 定量生物学在发育生物学中的应用

过去几十年，分子遗传学方法揭示了基因调

控与信号通路网络在胚胎发育过程中的作用，然而经典发育生物学领域的许多进展在本质上是定性描述。发育中的胚胎同时进行细胞分化、细胞迁移、图式形成等活动，依赖其组成细胞间的信息交换。结合定量生物学方法将加深对这些复杂的自组织行为的理解^[92-94]。在分子、细胞和组织水平上对发育中的胚胎进行定量解析，整合跨时间和空间尺度的定量生物学信息，将分子调控与形态发生联系起来，是当前发育生物学研究的重要趋势。本节将从一些重要的定量生物学方法在发育生物学研究中的应用进行概述。

经典的形态发生因子梯度理论认为细胞在不同浓度阈值的形态发生因子作用下产生差异化应答，进而产生细胞命运图式^[95-96]。数学建模的应用使该领域向更系统的定量描述迈进，例如揭示形态发生因子的扩散与降解速率、目标基因激活的精确性，以及形态发生因子梯度稳定性对最终图式形成的影响等。如上文所述，以果蝇形态发生因子 Dpp (Decapentaplegic) 为模型，设计合成受体系统，使 GFP 能够替代 Dpp，成功恢复 Dpp 缺失导致的翅膀发育缺陷。通过抗 GFP 纳米抗体建立

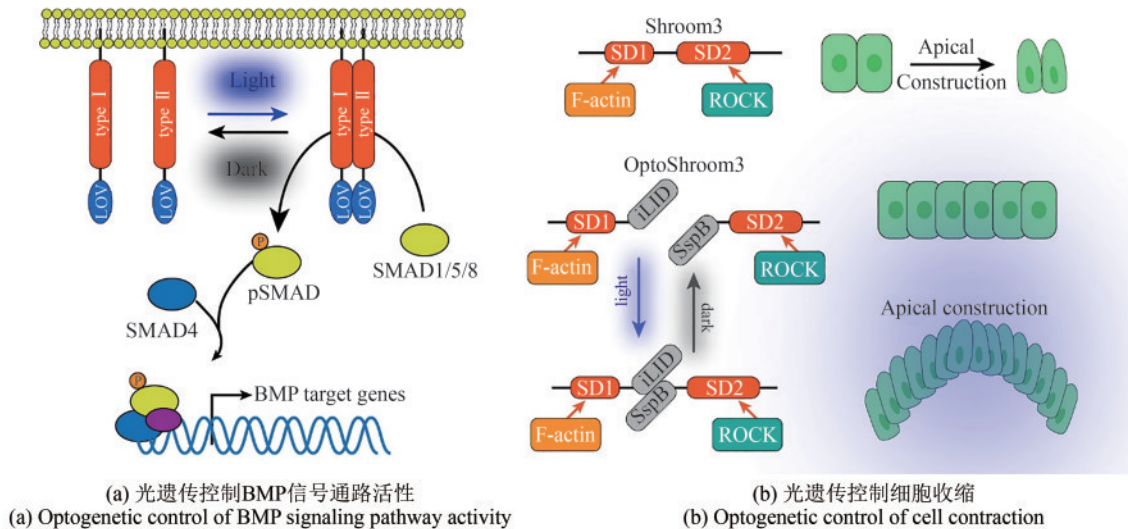


图3 光遗传工具在发育生物学中的应用

(通过光-氧-电压感应结构域介导的二聚化调控细胞内酪氨酸激酶活性，进而引发 SMAD1/5 的磷酸化，并促使其进入细胞核以启动 BMP 下游基因的表达。光遗传激活的 Shroom3 通过在顶端连接处招募 ROCK，驱动细胞顶端收缩)

Fig. 3 Applications of optogenetic tools in developmental biology

(Dimerization mediated by the light-oxygen-voltage (LOV) sensing domain regulates intracellular tyrosine kinase activity, leading to SMAD1/5 phosphorylation and their translocation into the nucleus to initiate downstream BMP target gene expression. Optogenetically activated Shroom3 drives apical constriction through ROCK recruitment at apical junctions.)

可检测的扩散梯度，并对 GFP 梯度的形成和扩散进行定量分析，从而揭示形态发生因子梯度形成的关键机制^[54-56]。此外，研究者结合理论模型与数学建模，阐明了糖基磷脂酰肌醇（GPI）锚定的非信号受体如何通过扩大信号梯度的空间和时间尺度减少扩散损失，来优化模式形成^[59]。

反应-扩散（reaction-diffusion）系统的理论表明，只要系统中至少存在两种扩散系数不同的化学物质，生物图式即可通过扩散驱动的不稳定性自发产生^[97-99]。形态发生因子的扩散与局部信号分子的产生共同决定了发育过程中图式的建立。定量生物学通过数学建模与计算机模拟，构建基于反应-扩散主方程的随机反应-扩散模型，精确描述形态发生因子梯度的形成及其动态变化^[100-105]。因此，通过数学建模与模拟和实验数据分析，将为形态发生的研究提供更加理性的策略。

单细胞技术的迅速发展，为发育生物学研究提供了更精细的解析工具。单细胞谱系追踪技术通过标记和追踪细胞及其后代，揭示细胞从起源到分化的完整历程。最近，研究者开发了 DuTracer 这一整合 CRISPR-Cas9 与 Cas12a 的单细胞谱系追踪工具，在小鼠类胚胎及神经中胚层类器官模型中验证其性能，实现高精度细胞谱系追踪。DuTracer 通过调控 Cas 蛋白的激活时间，避免多靶点编辑导致的遗传信息丢失，从而提高细胞分化路径的还原度^[106]。进一步的研究利用创新遗传追踪技术，在小鼠模型中解析了 14 个不同内胚层区域的细胞起源，结合单细胞 RNA 测序和高分辨率成像技术，系统解析了哺乳动物内胚层器官发生过程。这项研究表明，早期胚胎发育阶段的内胚层具有多起源器官原基的形成潜能，并揭示了沿头-尾轴和背-腹轴的器官发生空间模式^[107]。

单细胞转录组技术能够在单细胞水平解析基因表达的动态变化，揭示细胞异质性。例如，研究者在小鼠原肠胚阶段收集 411 个胚胎样本，进行单细胞 RNA 测序分析，构建从多能性向主要胚胎谱系分化的分子图谱，探索时间与转录信息结合的基因功能解析方法^[108]。对人类早期发育的理解受限于高质量数据集的缺乏，尤其是原肠胚形成阶段的空间信息。与空间转录组学的结合使得单细胞分析能够解析基因表达在组织中的空间分布，

为胚胎发育研究提供重要的空间维度信息。近期，研究者利用空间转录组技术结合机器学习算法，对人类卡耐基分期 8（CS8）期胚胎的连续切片进行三维重建，系统描绘不同细胞类型的空间分布及转录特征，并解析 Wnt、NODAL、SHH 等信号通路在体轴形成中的动态调控^[109]。后续研究进一步利用空间转录组学对 CS7 期胚胎进行了空间高分辨率解析，并结合免疫荧光验证，构建完整的三维胚胎发育模型，为人类早期发育研究提供了关键参考数据^[110]。

总而言之，发育生物学的发展将高度依赖于跨学科方法的融合与技术进步。首先，将分子机制、细胞行为与组织形态变化整合进统一的数学模型，是实现发育全过程系统性理解的重要一环。这类跨尺度建模方法不仅需具备高精度与良好可计算性，还必须与实验数据高度一致，以确保模型的生理相关性。其次，研究将愈加依赖单细胞测序、空间组学、谱系追踪与高分辨率成像等多模态数据的融合分析，这要求构建创新的数据整合算法与平台，以实现不同数据类型的高效统一处理。同时，结合定量生物学工具可实现对发育过程的精准干预与追踪，为理解人类发育机制与疾病起源提供重要支撑。

4 挑战与未来展望

基于干细胞的类胚胎与类器官模型为解析人类着床后发育及器官发生提供了重要研究工具，但其与自然胚胎及器官在形态结构、体轴极性、细胞类型组成、生理功能等方面仍存在显著差异。突破现有瓶颈需从两大方向协同推进：其一是建立多维度的定量评价体系；其二是发展精准的细胞行为调控策略。

在评价体系方面，目前仍缺乏统一且系统化的评估框架。理想的评价体系应同时覆盖三个关键维度：分子层面的基因表达时空动态变化、形态发生过程以及生理功能。其中，在基因表达的时空调控层面，单细胞转录组学通过解析基因表达与谱系分化路径，有助于阐明多能性细胞向主要胚胎谱系分化的分子机制^[108]。特别是对于人类和非人灵长类早期胚胎发育过程的单细胞水平解

析,能够深入揭示胚胎着床后从原肠运动到器官发生这一“黑箱”阶段中细胞谱系分化与形态建构的关键分子调控机制,为类胚胎模型与自然胚胎的基因表达与细胞类型相似度提供了定量基准^[109-116]。

另外,现有模型与真实胚胎及器官在形态和功能层面的核心差距,凸显了多细胞系统如何通过自组织实现时空有序形态发生这一科学问题。细胞间的通信、力学信号传导以及极性的建立都需要精细且动态的调控,而传统遗传学或生物化学手段往往难以对这些参数进行精准干预。合成生物学在此展现出独特优势:通过在细胞与亚细胞层面引入可编程的合成元件,研究者有望微调多细胞组织的关键参数,从而加深对发育原理的理解。具体而言,整合机器学习、分子动力学模拟与蛋白质结构预测(如Rosetta、AlphaFold等平台)的方法,或可实现对新型蛋白配体、受体或信号分子的定制化设计^[117-118]。这些人工设计的分子元件可以被用来精确调控细胞命运决定、细胞间通信以及极性建立^[119-120]。例如,通过对蛋白-蛋白或蛋白-DNA结合界面的定向改造,可获得对内源通路无干扰但能在特定时空条件下激活(或抑制)下游信号的合成分子;也可设计完全人工的“信号分子”,用以控制关键基因的转录,从而影响多细胞群体中的细胞分化模式、组织分区及形态建构。进一步,研究者还可通过改造细胞骨架相关蛋白以干预细胞形态和极性,或针对黏着/连接蛋白进行精细修饰,从而操纵多细胞群体中的模式生成过程^[62, 65]。这些基于计算和理性设计的蛋白质工程手段,与人工基因线路以及光学/化学操控技术相结合,不仅为合成生物学领域带来了更丰富的元件库,也为进一步剖析并重构多细胞发育机制提供了全新思路。

展望未来,随着蛋白质结构预测算法的不断完善、设计准确度的提升以及实验验证体系的持续完善,合成发育生物学有望更加精准地调控复杂多细胞体系中的命运决定、细胞间通信及极性形成,并由此推动功能性类胚胎与类器官模型的构建。通过在评价体系与调控策略两个方向上的协同突破,我们将能够在更深层次上解析早期人类胚胎发育和器官发生的关键环节,为相关基础

研究以及再生医学和疾病模型的构建打下坚实的理论与技术基础。

参 考 文 献

- [1] ELOWITZ M B, LEIBLER S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators[J]. *Nature*, 2000, 403(6767): 335-338.
- [2] GARDNER T S, CANTOR C R, COLLINS J J. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*[J]. *Nature*, 2000, 403(6767): 339-342.
- [3] MARTÍNEZ-ARA G, STAPORNWONGKUL K S, EBISUYA M. Scaling up complexity in synthetic developmental biology [J]. *Science*, 2022, 378(6622): 864-868.
- [4] TRENTESAUX C, YAMADA T, KLEIN O D, et al. Harnessing synthetic biology to engineer organoids and tissues[J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(1): 10-19.
- [5] SRIVATSAN S R, REGIER M C, BARKAN E, et al. Embryo-scale, single-cell spatial transcriptomics[J]. *Science*, 2021, 373(6550): 111-117.
- [6] PENG G D, CUI G Z, KE J C, et al. Using single-cell and spatial transcriptomes to understand stem cell lineage specification during early embryo development[J]. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2020, 21: 163-181.
- [7] GULATI G S, D'SILVA J P, LIU Y H, et al. Profiling cell identity and tissue architecture with single-cell and spatial transcriptomics [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2025, 26(1): 11-31.
- [8] DU P, WU J. Hallmarks of totipotent and pluripotent stem cell states[J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31(3): 312-333.
- [9] SMITH A. Propagating pluripotency-the conundrum of self-renewal[J]. *BioEssays*, 2024, 46(12): 2400108.
- [10] ROSSANT J, TAM P P L. Opportunities and challenges with stem cell-based embryo models[J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(5): 1031-1038.
- [11] MARTIN G R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1981, 78(12): 7634-7638.
- [12] MARTIN G R, EVANS M J. Differentiation of clonal lines of teratocarcinoma cells: formation of embryoid bodies *in vitro* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1975, 72(4): 1441-1445.
- [13] WARMFLASH A, SORRE B, ETOC F, et al. A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells[J]. *Nature Methods*, 2014, 11(8): 847-854.
- [14] VAN DEN BRINK S C, ALEMANY A, VAN BATENBURG V, et al. Single-cell and spatial transcriptomics reveal somitogenesis in gastruloids[J]. *Nature*, 2020, 582(7812): 405-409.
- [15] MORIS N, ANLAS K, VAN DEN BRINK S C, et al. An *in*

- in vitro* model of early anteroposterior organization during human development[J]. Nature, 2020, 582(7812): 410-415.
- [16] BECCARI L, MORIS N, GIRGIN M, et al. Multi-axial self-organization properties of mouse embryonic stem cells into gastruloids[J]. Nature, 2018, 562(7726): 272-276.
- [17] TURNER D A, GIRGIN M, ALONSO-CRISOSTOMO L, et al. Anteroposterior polarity and elongation in the absence of extra-embryonic tissues and of spatially localised signalling in gastruloids: mammalian embryonic organoids[J]. Development, 2017, 144(21): 3894-3906.
- [18] VAN DEN BRINK S C, BAILLIE-JOHNSON P, BALAYO T, et al. Symmetry breaking, germ layer specification and axial organisation in aggregates of mouse embryonic stem cells[J]. Development, 2014, 141(22): 4231-4242.
- [19] YAMANAKA Y, HAMIDI S, YOSHIOKA-KOBAYASHI K, et al. Reconstituting human somitogenesis *in vitro*[J]. Nature, 2023, 614(7948): 509-520.
- [20] SANAKI-MATSUMIYA M, MATSUDA M, GRITTI N, et al. Periodic formation of epithelial somites from human pluripotent stem cells[J]. Nature Communications, 2022, 13: 2325.
- [21] MIAO Y C, DJEFFAL Y, DE SIMONE A, et al. Reconstruction and deconstruction of human somitogenesis *in vitro*[J]. Nature, 2023, 614(7948): 500-508.
- [22] XUE X F, KIM Y S, PONCE-ARIAS A I, et al. A patterned human neural tube model using microfluidic gradients[J]. Nature, 2024, 628(8007): 391-399.
- [23] KARZBRUN E, KHANKHEL A H, MEGALE H C, et al. Human neural tube morphogenesis *in vitro* by geometric constraints[J]. Nature, 2021, 599(7884): 268-272.
- [24] ZHENG Y, XUE X F, SHAO Y, et al. Controlled modelling of human epiblast and amnion development using stem cells[J]. Nature, 2019, 573(7774): 421-425.
- [25] SHAO Y, TANIGUCHI K, TOWNSHEND R F, et al. A pluripotent stem cell-based model for post-implantation human amniotic sac development[J]. Nature Communications, 2017, 8: 208.
- [26] SHAO Y, TANIGUCHI K, GURDZIEL K, et al. Self-organized amniogenesis by human pluripotent stem cells in a biomimetic implantation-like niche[J]. Nature Materials, 2017, 16(4): 419-425.
- [27] RIVRON N C, FRIAS-ALDEGUER J, VRIJ E J, et al. Blastocyst-like structures generated solely from stem cells[J]. Nature, 2018, 557(7703): 106-111.
- [28] YU L Q, WEI Y L, DUAN J L, et al. Blastocyst-like structures generated from human pluripotent stem cells[J]. Nature, 2021, 591(7851): 620-626.
- [29] LIU X D, TAN J P, SCHRÖDER J, et al. Modelling human blastocysts by reprogramming fibroblasts into iBlastoids[J]. Nature, 2021, 591(7851): 627-632.
- [30] YANAGIDA A, SPINDLOW D, NICHOLS J, et al. Naive stem cell blastocyst model captures human embryo lineage segregation [J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(6): 1016-1022.e4.
- [31] KAGAWA H, JAVALI A, KHOEI H H, et al. Human blastoids model blastocyst development and implantation[J]. Nature, 2022, 601(7894): 600-605.
- [32] OKUBO T, RIVRON N, KABATA M, et al. Hypoblast from human pluripotent stem cells regulates epiblast development [J]. Nature, 2024, 626(7998): 357-366.
- [33] PEDROZA M, GASSALOGLU S I, DIAS N, et al. Self-patterning of human stem cells into post-implantation lineages[J]. Nature, 2023, 622(7983): 574-583.
- [34] LIU L Z, OURA S, MARKHAM Z, et al. Modeling post-implantation stages of human development into early organogenesis with stem-cell-derived peri-gastruloids[J]. Cell, 2023, 186(18): 3776-3792.e16.
- [35] AI Z Y, NIU B H, YIN Y, et al. Dissecting peri-implantation development using cultured human embryos and embryo-like assembloids[J]. Cell Research, 2023, 33(9): 661-678.
- [36] HISLOP J, SONG Q, KESHAVARZ F K, et al. Modelling post-implantation human development to yolk sac blood emergence [J]. Nature, 2024, 626(7998): 367-376.
- [37] WEATHERBEE B A T, GANTNER C W, IWAMOTO-STOHL L K, et al. Pluripotent stem cell-derived model of the post-implantation human embryo[J]. Nature, 2023, 622(7983): 584-593.
- [38] OLDAK B, WILDSCHUTZ E, BONDARENKO V, et al. Complete human day 14 post-implantation embryo models from naive ES cells[J]. Nature, 2023, 622(7983): 562-573.
- [39] 胡博文, 陈家斌, 刘晓东. 人类早期胚胎发育体外模型研究进展[J]. 合成生物学, 2024, 5(4): 719-733.
- HU B W, TAN J P, LIU X D. Advances in the development of human embryo models[J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(4): 719-733.
- [40] 韩宜钊, 郭佳, 邵玥. 干细胞模拟发育: 细胞元件、胚胎模型与工程方法[J]. 合成生物学, 2024, 5(4): 734-753.
- HAN Y Z, GUO J, SHAO Y. Stem cell-based synthetic development: cellular components, embryonic models, and engineering approaches[J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(4): 734-753.
- [41] GRIBAUDO S, ROBERT R, VAN SAMBEEK B, et al. Self-organizing models of human trunk organogenesis recapitulate spinal cord and spine co-morphogenesis[J]. Nature Biotechnology, 2024, 42(8): 1243-1253.
- [42] HAMAZAKI N, YANG W, KUBO C A, et al. Retinoic acid induces human gastruloids with posterior embryo-like structures[J]. Nature Cell Biology, 2024, 26(10): 1790-1803.
- [43] YUAN G G, WANG J C, LIU Z D. Establishment of a novel non-integrated human pluripotent stem cell-based gastruloid model[EB/OL]. bioRxiv, 2023: 2023.06.28.546720. (2023-06-28)[2025-02-01]. <https://doi.org/10.1101/2023.06.28.546720>.
- [44] LANCASTER M A, RENNER M, MARTIN C A, et al. Cerebral

- organoids model human brain development and microcephaly[J]. Nature, 2013, 501(7467): 373-379.
- [45] TAKASATO M, ER P X, CHIU H S, et al. Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis[J]. Nature, 2015, 526(7574): 564-568.
- [46] DRAKHLIS L, BISWANATH S, FARR C M, et al. Human heart-forming organoids recapitulate early heart and foregut development[J]. Nature Biotechnology, 2021, 39(6): 737-746.
- [47] CLEVERS H. Modeling development and disease with organoids [J]. Cell, 2016, 165(7): 1586-1597.
- [48] GEURTS M H, CLEVERS H. CRISPR engineering in organoids for gene repair and disease modelling[J]. Nature Reviews Bioengineering, 2023, 1(1): 32-45.
- [49] HOFER M, LUTOLF M P. Engineering organoids[J]. Nature Reviews Materials, 2021, 6(5): 402-420.
- [50] SCHUTGENS F, CLEVERS H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases[J]. Annual Review of Pathology, 2020, 15: 211-234.
- [51] 陈子苓, 向阳飞. 类器官技术与合成生物学协同研究进展[J]. 合成生物学, 2024, 5(4): 795-812.
- CHEN Z L, XIANG Y F. Integrated development of organoid technology and synthetic biology[J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(4): 795-812.
- [52] 洪源, 刘妍. 脑类器官在再生医学中的研究进展[J]. 合成生物学, 2024, 5(4): 754-769.
- HONG Y, LIU Y. Research progress of brain organoids in regenerative medicine[J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(4): 754-769.
- [53] 胡可儿, 王汉奇, 黄儒麒, 等. 整合设计策略下的工程化类器官与类器官芯片技术[J]. 合成生物学, 2024, 5(4): 883-897.
- HU K E, WANG H Q, HUANG R Q, et al. Integrated design strategies for engineered organoids and organ-on-a-chip technologies[J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(4): 883-897.
- [54] LANDER A D. Morpheus unbound: reimagining the morphogen gradient[J]. Cell, 2007, 128(2): 245-256.
- [55] LANDER A D. Pattern, growth, and control[J]. Cell, 2011, 144(6): 955-969.
- [56] LANDER A D, NIE Q, WAN F Y M. Do morphogen gradients arise by diffusion?[J]. Developmental Cell, 2002, 2(6): 785-796.
- [57] MÜLLER P, ROGERS K W, YU S R, et al. Morphogen transport[J]. Development, 2013, 140(8): 1621-1638.
- [58] ROGERS K W, SCHIER A F. Morphogen gradients: from generation to interpretation[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2011, 27: 377-407.
- [59] STAPORNWONGKUL K S, DE GENNES M, COCCONI L, et al. Patterning and growth control *in vivo* by an engineered GFP gradient[J]. Science, 2020, 370(6514): 321-327.
- [60] ZHOU B H, LIN W L, LONG Y L, et al. Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2022, 7: 95.
- [61] MORSUT L, ROYBAL K T, XIONG X, et al. Engineering customized cell sensing and response behaviors using synthetic Notch receptors[J]. Cell, 2016, 164(4): 780-791.
- [62] TODA S, MCKEITHAN W L, HAKKINEN T J, et al. Engineering synthetic morphogen systems that can program multicellular patterning[J]. Science, 2020, 370(6514): 327-331.
- [63] STEINBERG M S. Differential adhesion in morphogenesis: a modern view[J]. Current Opinion in Genetics & Development, 2007, 17(4): 281-286.
- [64] TODA S, BLAUCH L R, TANG S K Y, et al. Programming self-organizing multicellular structures with synthetic cell-cell signaling[J]. Science, 2018, 361(6398): 156-162.
- [65] YAMADA T, TRENTESAUX C, BRUNGER J M, et al. Synthetic organizer cells guide development *via* spatial and biochemical instructions[J]. Cell, 2025, 188(3): 778-795.e18.
- [66] NIAKAN K K, EGGAN K. Analysis of human embryos from zygote to blastocyst reveals distinct gene expression patterns relative to the mouse[J]. Developmental Biology, 2013, 375(1): 54-64.
- [67] FOGARTY N M E, MCCARTHY A, SNIJDERS K E, et al. Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis [J]. Nature, 2017, 550(7674): 67-73.
- [68] ADIKUSUMA F, PILTZ S, CORBETT M A, et al. Large deletions induced by Cas9 cleavage[J]. Nature, 2018, 560(7717): E8-E9.
- [69] KOSICKI M, TOMBERG K, BRADLEY A. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements[J]. Nature Biotechnology, 2018, 36(8): 765-771.
- [70] KORABLEV A, LUKYANCHIKOVA V, SEROVA I, et al. On-target CRISPR/Cas9 activity can cause undesigned large deletion in mouse zygotes[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(10): 3604.
- [71] CHEN S M, YAO Y F, ZHANG Y C, et al. CRISPR system: discovery, development and off-target detection[J]. Cellular Signalling, 2020, 70: 109577.
- [72] JOUNG J, MA S, TAY T, et al. A transcription factor atlas of directed differentiation[J]. Cell, 2023, 186(1): 209-229.e26.
- [73] APPLETON E, TAO J H, FONSECA G, et al. Machine-guided cell-fate engineering[EB/OL]. bioRxiv, 2023: 2022.10.14.512279. (2023-01-12)[2025-02-01]. <https://doi.org/10.1101/2022.10.14.512279>.
- [74] CHAVEZ A, SCHEIMAN J, VORA S, et al. Highly efficient Cas9-mediated transcriptional programming[J]. Nature Methods, 2015, 12(4): 326-328.
- [75] SOZEN B, AMADEI G, COX A, et al. Self-assembly of embryonic and two extra-embryonic stem cell types into gastrulating embryo-like structures[J]. Nature Cell Biology, 2018, 20(8): 979-989.
- [76] HARRISON S E, SOZEN B, CHRISTODOULOU N, et al.

- Assembly of embryonic and extraembryonic stem cells to mimic embryogenesis *in vitro*[J]. *Science*, 2017, 356(6334): eaal1810.
- [77] AMADEI G, LAU K Y C, DE JONGHE J, et al. Inducible stem-cell-derived embryos capture mouse morphogenetic events *in vitro* [J]. *Developmental Cell*, 2021, 56(3): 366-382.e9.
- [78] LAU K Y C, RUBINSTEIN H, GANTNER C W, et al. Mouse embryo model derived exclusively from embryonic stem cells undergoes neurulation and heart development[J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(10): 1445-1458.e8.
- [79] MCNAMARA H M, SOLLEY S C, ADAMSON B, et al. Recording morphogen signals reveals mechanisms underlying gastruloid symmetry breaking[J]. *Nature Cell Biology*, 2024, 26(11): 1832-1844.
- [80] BOYDEN E S, ZHANG F, BAMBERG E, et al. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity [J]. *Nature Neuroscience*, 2005, 8(9): 1263-1268.
- [81] FENNO L, YIZHAR O, DEISSEROTH K. The development and application of optogenetics[J]. *Annual Review of Neuroscience*, 2011, 34: 389-412.
- [82] LUO K, LODISH H F. Signaling by chimeric erythropoietin-TGF-beta receptors: homodimerization of the cytoplasmic domain of the type I TGF-beta receptor and heterodimerization with the type II receptor are both required for intracellular signal transduction[J]. *The EMBO Journal*, 1996, 15(17): 4485-4496.
- [83] SAKO K, PRADHAN S J, BARONE V, et al. Optogenetic control of nodal signaling reveals a temporal pattern of nodal signaling regulating cell fate specification during gastrulation[J]. *Cell Reports*, 2016, 16(3): 866-877.
- [84] HUMPHREYS P A, WOODS S, SMITH C A, et al. Optogenetic control of the BMP signaling pathway[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2020, 9(11): 3067-3078.
- [85] SAWYER J M, HARRELL J R, SHEMER G, et al. Apical constriction: a cell shape change that can drive morphogenesis [J]. *Developmental Biology*, 2010, 341(1): 5-19.
- [86] MARTIN A C, GOLDSTEIN B. Apical constriction: themes and variations on a cellular mechanism driving morphogenesis[J]. *Development (Cambridge, England)*, 2014, 141(10): 1987-1998.
- [87] BAUMSCHLAGER A, KHAMMASH M. Synthetic biological approaches for optogenetics and tools for transcriptional light-control in bacteria[J]. *Advanced Biology*, 2021, 5(5): e2000256.
- [88] ZHANG Z J, DENANS N, LIU Y F, et al. Optogenetic manipulation of cellular communication using engineered myosin motors[J]. *Nature Cell Biology*, 2021, 23(2): 198-208.
- [89] HARTMANN J, KRUEGER D, DE RENZIS S. Using optogenetics to tackle systems-level questions of multicellular morphogenesis[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2020, 66: 19-27.
- [90] MUMFORD T R, ROTH L, BUGAJ L J. Reverse and forward engineering multicellular structures with optogenetics[J]. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 2020, 16: 61-71.
- [91] MARTÍNEZ-ARA G, TABERNER N, TAKAYAMA M, et al. Optogenetic control of apical constriction induces synthetic morphogenesis in mammalian tissues[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 5400.
- [92] OATES A C, GORFINKIEL N, GONZÁLEZ-GAITÁN M, et al. Quantitative approaches in developmental biology[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10(8): 517-530.
- [93] 崔金明, 王力为, 常志广, 等. 合成生物学的医学应用研究进展[J]. *中国科学院院刊*, 2018, 33(11): 1218-1227.
- CUI J M, WANG L W, CHANG Z G, et al. Progress of synthetic biology research in medical applications[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2018, 33(11): 1218-1227.
- [94] ZHU J W, CHU P, FU X F. Unbalanced response to growth variations reshapes the cell fate decision landscape[J]. *Nature Chemical Biology*, 2023, 19(9): 1097-1104.
- [95] WOLPERT L. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1969, 25(1): 1-47.
- [96] WOLPERT L. Positional information and pattern formation[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 1981, 295(1078): 441-450.
- [97] TURING A M. The chemical basis of morphogenesis[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 1952, 237(641): 37-72.
- [98] NÁTR L. Murray, J.D.: mathematical biology. II : spatial models and biomedical applications. 3rd ed[J]. *Photosynthetica*, 2003, 41(1): 42.
- [99] BALL P. Forging patterns and making waves from biology to geology: a commentary on Turing (1952) 'The chemical basis of morphogenesis' [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2015, 370 (1666): 20140218.
- [100] ERBAN R, CHAPMAN S J. Stochastic modelling of reaction-diffusion processes[M/OL]//Cambridge texts in applied mathematics. Cambridge: Cambridge University Press, 2020 [2025-02-01]. <https://doi.org/10.1017/9781108628389>.
- [101] ERBAN R, WINKELMANN S. Multi-grid reaction-diffusion master equation: applications to morphogen gradient modelling[J]. *Bulletin of Mathematical Biology*, 2024, 87(1): 6.
- [102] GORDON P V, SAMPLE C, BEREZHKOVSII A M, et al. Local kinetics of morphogen gradients[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(15): 6157-6162.
- [103] GLIMM T, ZHANG J Y, SHEN Y Q, et al. Reaction-diffusion systems and external morphogen gradients: the two-dimensional case, with an application to skeletal pattern formation[J]. *Bulletin of Mathematical Biology*, 2012, 74(3): 666-687.
- [104] YUSTE S B, ABAD E, LINDENBERG K. Reaction-subdiffusion

- model of morphogen gradient formation[J]. *Physical Review E, Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 2010, 82(6 Pt 1): 061123.
- [105] DEWAR M A, KADIRKAMANATHAN V, OPPER M, et al. Parameter estimation and inference for stochastic reaction-diffusion systems: application to morphogenesis in *D. Melanogaster*[J]. *BMC Systems Biology*, 2010, 4: 21.
- [106] CHEN C, LIAO Y X, ZHU M, et al. Dual-nuclease single-cell lineage tracing by Cas9 and Cas12a[J]. *Cell Reports*, 2025, 44(1): 115105.
- [107] LI K R, YU P L, ZHENG Q Q, et al. Spatiotemporal and genetic cell lineage tracing of endodermal organogenesis at single-cell resolution[J]. *Cell*, 2025, 188(3): 796-813.e24.
- [108] PIJUAN-SALA B, GRIFFITHS J A, GUIBENTIF C, et al. A single-cell molecular map of mouse gastrulation and early organogenesis[J]. *Nature*, 2019, 566(7745): 490-495.
- [109] XIAO Z Y, CUI L N, YUAN Y, et al. 3D reconstruction of a gastrulating human embryo[J]. *Cell*, 2024, 187(11): 2855-2874.e19.
- [110] CUI L N, LIN S R, YANG X L, et al. Spatial transcriptomic characterization of a Carnegie stage 7 human embryo[J]. *Nature Cell Biology*, 2025, 27(2): 360-369.
- [111] TYSER R C V, MAHAMMADOV E, NAKANOH S, et al. Single-cell transcriptomic characterization of a gastrulating human embryo[J]. *Nature*, 2021, 600(7888): 285-289.
- [112] BERGMANN S, PENFOLD C A, SLATERY E, et al. Spatial profiling of early primate gastrulation *in utero*[J]. *Nature*, 2022, 609(7925): 136-143.
- [113] ZHAI J L, GUO J, WAN H F, et al. Primate gastrulation and early organogenesis at single-cell resolution[J]. *Nature*, 2022, 612(7941): 732-738.
- [114] PAN J X, LI Y J, LIN Z L, et al., Spatiotemporal transcriptome atlas of human embryos after gastrulation[EB/OL]. *bioRxiv*, 2023: 2023.04.22.537909. (2023-04-22) [2025-02-01]. <https://doi.org/10.1101/2023.04.22.537909>.
- [115] XU Y C, ZHANG T J, ZHOU Q, et al. A single-cell transcriptome atlas profiles early organogenesis in human embryos[J]. *Nature Cell Biology*, 2023, 25(4): 604-615.
- [116] ZENG B, LIU Z Y, LU Y F, et al. The single-cell and spatial transcriptional landscape of human gastrulation and early brain development[J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(6): 851-866.e7.
- [117] JUMPER J, EVANS R, PRITZEL A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold[J]. *Nature*, 2021, 596(7873): 583-589.
- [118] SIMONS K T, BONNEAU R, RUCZINSKI I, et al. Ab initio protein structure prediction of CASP III targets using ROSETTA [J]. *Proteins*, 1999, Suppl 3: 171-176.
- [119] EDMAN N I, PHAL A, REDLER R L, et al. Modulation of FGF pathway signaling and vascular differentiation using designed oligomeric assemblies[J]. *Cell*, 2024, 187(14): 3726-3740.e43.
- [120] PIRANER D I, ABEDI M H, DURAN GONZALEZ M J, et al. Engineered receptors for soluble cellular communication and disease sensing[J]. *Nature*, 2025, 638(8051): 805-813.



通讯作者: 刘立中(1985—),男,研究员,博士生导师。研究方向为早期胚胎发育及干细胞生物学,类胚胎模型的构建与应用,合成生物学等。

E-mail: liulizhong@westlake.edu.cn



第一作者: 杨莹(1996—),女,博士后。研究方向为神经系统发育及干细胞命运调控。

E-mail: yangying@westlake.edu.cn