合成生物学: 一种研究生物图案形成的新方法

汪晓雷^{①②}, 刘陈立^{①③}, 傅雄飞^④, 黄建东^{①②③*}

① 香港大学李嘉诚医学院, 香港;

② 香港大学深圳研究院, 深圳 518057;

③ 中国科学院深圳先进技术研究院, 深圳 518055;

④ The Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology, Yale University, New Haven, CT 06520, USA

* 联系人, E-mail: jdhuang@hku.hk

收稿日期: 2015-05-12; 接受日期: 2015-05-28

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2014CB745200)资助

doi: 10.1360/N052015-00151

摘要 生物图案是如何形成的? 这是一个生物学中最基本的问题. 在自然界里生物的生理表现极为复杂, 因此在大多数情况下, 生物图案形成背后的分子机理和原理很难被阐述清楚. 由于生物系统的多样性和复杂性, 想要理解某一特定图案形成的机理都是很困难的, 更不要说理解生物图案形成背后的普遍机理了. 尽管目前的遗传和生化方法极大地推进了人们对生物图案形成的认识, 这些进步主要还是来源于对功能获得型/功能缺失型突变体的研究, 而这些研究颇为费时. 当前普遍认为合成生物学是一门应用性的学科, 但除了实际应用, 合成生物学还可以作为探索生命科学根本问题的方法. 本文将以重复周期性生物图案的形成作为范例来讨论如何运用合成生物学了解生物图案的形成以及今后如何将其运用到组织工程中去.

关键词

图案形成

密度依赖性运动能力模型

周期性条纹

合成生物学

生物系统常会形成复杂的图案或结构, 如斑马的条纹、孔雀(Peafowl)的羽毛、金钱豹(*Panthera pardus*)的斑点、鱼的鳞片、花瓣等. 产生这些有序结构的生物过程被称为“图案的形成”^[1]. 它通常涉及多信号错综复杂的调控、基因表达的改变、细胞的形变、细胞的运动、增殖和死亡, 以及细胞-环境的相互作用. 分子生物学家、发育生物学家、合成生物学家、组织工程学家、系统生物学家和理论生物学家都对生物图案的形成非常感兴趣. 了解这些生物图案的形成原

理, 是对一代代科学家的极大挑战.

在过去的 10 年中, 合成生物学家们不断尝试将物理学和工程学理念融入生物学, 并取得了很大的进展. 改造细胞使之拥有新的功能是合成生物学的主要目的^[2-7]. 然而, 这一领域的另一个重要目的——“用创造生命的方式去理解生命”正越来越受到重视^[8,9]. 生物图型的传统研究方法是正向或反向遗传学方法, 因此运用合成生物学来研究生物图案的形成原理是一个标志性的转变. 在这篇综述中, 将重点

引用格式: 汪晓雷, 刘陈立, 傅雄飞, 等. 合成生物学: 一种研究生物图案形成的新方法. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 928-934

Wang X L, Liu C L, Fu X F, et al. Synthetic biology: a new means of biological pattern formation study. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 928-934, doi: 10.1360/N052015-00151

介绍重复周期性生物图案的研究.

1 重复周期性生物图型及其实验研究

从解剖学角度而言, 生物结构或图案往往呈现重复周期性. 例如, 人有 10 个手指, 24 根肋骨和 32 颗牙齿. 一个在空间上具有“重复周期性”的图案通常由被有序间隔隔开的重复单元组成. 这种特征可以轻易地从斑马条纹、孔雀羽毛、鱼鳞、果蝇(*Drosophila melanogaster*)体节和脊椎动物胚胎体节中观察到. 周期性也同样可以表现在时间维度上, 如人类心肌的有规律收缩运动^[10].

果蝇身体的分节是周期性结构研究的重要典型之一. 在过去的 30 年中, 大约有 40 个基因被确认参与了果蝇的分节过程. 这些基因通过层层相互作用, 逐步演变, 最终完成了前后轴(anterior and posterior axis, AP)的细分^[11,12](图 1).

体节发生作为脊椎动物胚胎的一个重要发育过程已被广泛地研究^[14,15]. 体节是胚胎的一段, 更确切地说是指腔结构周围的细胞块^[14]. 它是由前体节中胚层(presomitic mesoderm, PSM)——神经管两侧互相平行的两条间叶组织^[14]——有规律地逐渐发育而来. 在这个过程中, 体节以周期性的时间间隔沿前后轴形成, 这个间隔在斑马鱼(*Danio rerio*)中为 30 min, 在鸡(*Gallus domestica*)体内是 90 min, 在小鼠(*Mus musculus*)中是 120 min, 在人体中则是 4 h^[16]. 体节形成之后, 可以随之发育成骨骼肌、真皮和椎骨. 在过去几十年间, 科学家为寻找周期性基因表达的控制元件做了很多努力. 研究表明, 在鸡胚中, 成纤维细胞生长因子 FGF8 参与了时钟信号控制体节分段的过程^[17]. FGF8 的 mRNA 水平在前体节中胚层最末端中表达很高, 越靠近最前端越低, 在前体节中胚层中形成了一个梯度(图 2). 而成纤维细胞生长因子 8(fibroblast growth factor 8, FGF8)的过表达会阻止分段过程并使前体节中胚层细胞保持在未成熟的状态. 这表明 FGF8 的表达水平与前体节中胚层细胞的发育演变密切相关. 有研究提出在鸡胚中的 FGF8 存在一个阈值, 被称为“决定性前沿”(图 2). 随着体轴的伸长, “决定性前沿”会后退, 从而使细胞进入分节过程. 因此该体节的边界距离可能是由振荡周期决定的.

1.1 数量恒定

另一个关于重复周期性生物结构的有趣问题是它们的基本单元数量是恒定的——如人类的手指就

是 10 根, 肋骨为 24 根, 牙齿 32 颗, 椎骨 33 块, 这是如何实现的呢? 是什么样的机制决定了这些数量并保持不变? 有科学家提出, 存在一个“停止条件”使基

图 1 果蝇分节(网络版彩图)

A: 母体的信号. “预先混合”的细胞质已经在卵子发生过程中准备就绪. 在卵子的细胞质中, 母系的驼背基因 *HB*(hunchback)和尾部基因 *CAD*(caudal)转录产物均匀分布; 卵极基因 *BCD*(bicoid)的转录产物主要位于卵的前极, 而其蛋白质和 RNA 复合物则主要分布在后部. 受精后, 这些母系转录产物会被迅速翻译, 在受精卵中产生蛋白质梯度; B: 间隙基因域. 嵌入在卵子表面的信号激活位于受精卵两极的跨膜受体躯干(Torso). 同时, 在沿 AP 轴的特定位置, 一组合子的“间歇”的基因——如无尾基因 *TLL*(tailless)、巨大基因 *GT*(giant)和 *Kr*(Kruppel)——被母体蛋白质的信号激活; C: 成对基因图型. 虽然间隙基因的表达谱并不是周期性的, 它们转录因子的相互作用和母体蛋白质的信号提供了核子的特定轴向特征. 这个特征是由成对基因(如多毛基因 *H*(hairy)、侏儒基因 *run*(runt)、跳跃基因 *eve*(skipped))来决定的, 从而会产生周期性的基因表达. 成对基因及其下游基因转录相互作用(如体节缺少基因 *FTZ*(fushitarazu))细化了表达条纹. 条纹边界指示了副节体边界; D: 节段极性图型. 尽管成对基因的表达是瞬时的, 一旦细胞边界形成, 每个副节体中的成对基因的蛋白质就会激活节段极性基因, 并使其稳定表达. 一些基因的表达——如锯齿基因 *en*(engrailed)基因——即使在成人体内也是稳定的. 副节体的边界在表达 *en* 和无翼基因 *WG*(wingless)的细胞之间形成. 随后, 节体边界会基于副节体生成. 改编自 Peel 等人^[13]的研究

图2 鼠标脊椎的分节模型

FGF8/Wnt3a 的梯度显示为红色. *Mesp2/C-mesol* 的表达显示为蓝色. 判定前沿为一条黑线. 改编自 Pourquie^[18] 的研究

本单元的重复终止^[10]. 一旦“停止条件”失去作用, 那么单元将不断重复. 实际上, 这样的“无限重复”突变体已经越来越多地出现在科学家的视野中. 例如, 在线虫(*Caenorhabditis elegans*)中, *unc-86* 的突变引发细胞谱系多次重复^[19]; 果蝇的 *bag-of-marbles* 突变使卵巢囊泡的细胞数量从 16 增加到几百^[20]; 在金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)中, 花序(*floricaula*)突变使花成为重复的分生组织^[21].

通常来说, 如果给定单元的大小, 图案出现的数量是由体型大小决定的. 雄性短吻鳄(*Osteolaemus tetraspis* Cope)背部的条纹比雌性多, 因为它们的身体更长^[22]. 然而, 单元数量也可以与体型无关, 如非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的体节数^[23].

1.2 重复周期性图案的模型

“不构建出研究对象的力学模型, 我是不会满意

的. 如果我成功地建立了模型, 才能说明我理解这个问题. 否则就不能说我理解了它.”——开尔文勋爵对于重复周期性结构/图案的研究表明数学模型是必不可少的. 模型可以整合实验数据, 提取其关键部分, 预测其在遗传或物理扰动下的结果. 而总结不同层面的实验数据, 使之成为数学模型确实是一项很有难度的挑战. 到目前为止, 构建数学模型有两种主要方法: (i) 分析系统中每一个组件, 模拟系统中的每一次互相作用^[24]. (ii) 省略系统的细枝末节, 只提取其实质^[25]. 第一类模型用于描述相对简单的系统. 如果系统很复杂, 例如, 涉及到时空动态, 那将很难做出全面的分析并构建合理、具体的模型. 到目前为止, 人们提出了许多模型来解释重复周期性图案的现象^[10]. 但是 Murray 在他的书中说, 这些模型并非自然图案形成的实际机理. Wolpert^[26]的原则与 Murray 的观点类似: “因为有太多过程能产生同样的图案, 所以不要从图案中推断其过程.”虽然如此, 在这里仍然会简要地介绍两个重要模型.

1.3 反应扩散模型

反应-扩散或图灵(turing)模型是最著名的解释图案形成的数学模型之一^[27]. 阿兰·图灵——现代计算机的创始人之一^[28]——在一篇研讨会论文中提出了这个伟大的模型^[29]. 常理上讲, 人们会认为扩散总是有助于稳定系统的. 但是图灵发现, 在存在扩散的情

图3 图灵或密度依赖运动性图案的形成示意图

A: 图灵图案. 1: 初始状态. 活化剂的浓度被认为比抑制剂的浓度高; 2: 由于自我增强特性, 活化剂的浓度在中心区域增高; 3: 降低抑制剂的浓度. 由于扩散速度较快, 抑制剂横向移动, 导致活化剂的浓度在这些区域的降低; 4: 活化剂浓度的降低导致抑制剂的降低; 5: 外部区域的抑制剂的浓度降低导致活化剂的增加, 从而产生新的活化剂浓度峰. 改编自 Kondo 和 Miura^[27]的研究; B: 密度依赖性运动图案. 1: 初始波前沿像费舍尔(Fisher)波一样开始传播. 这时细胞密度和密度信号分子的浓度都很低; 2: 密度信号分子到达该阈值, 而在该区域的细胞运动性下降. 此时由于有效扩散被限制, “芽”出现; 3: “芽”长大形成“丘”, 从前端区域被“裂”分离, 而波前端继续传播; 4: 前端再次到达运动阈值, 产生一个新的“萌芽状态”; 5: 新的“芽”生长形成“丘”, 与此同时, 波前不断重复相同的过程

况下, 一个反应系统开始的局部稳定状态会变得不稳定. 在数学上, 扩散和反应的耦合可能会使在均匀稳定状态下微小的扰动放大. 整体的不稳定性与边界条件一起, 可以决定图案的周期. 换言之, 分子的扩散和反应导致分子浓度呈现峰与谷的分布(图 3A). 而这些分子则被称为形态发生素. 它们的空间分布为生物结构发育形成一个预图案. 这种通过形态发生素而产生预图案的图案形成模型与简单的预图案模型的不同之处在于它需要化学反应的参与^[27].

虽然反应-扩散模型已被认为是生物图案形成的标准数学模型^[27], 但是在实验生物学领域, 这种模型并没有被广泛接受. 因此, Fitzhugh^[30]和 Nagumo 等人^[31]提出了一种重要的图灵模型的衍生形式. 这个模型将数学语言转换成了生物学家使用的语言. 就如同神经元一样, 这个模型建立在一种可激发的活化剂-抑制剂体系之上. 在此二元体系中, 两种成分的产出被其中一种化学物质激活, 另一种成分则用来抑制该系统的发展. 在适当的参数和一定条件下, 该模型可以产生滑动波、旋转螺旋、环波、条纹波、静止的局部脉冲等. 在这个模型的基础上, 为了获得一个稳定的空间图案, Meinhardt 和 Gierer^[32]提出了一种基于侧抑制原理的图灵模型. 这些图案的形成仅需要一个短程的正反馈和一个长程负反馈, 分别代表抑制剂的快速扩散和活化剂的缓慢扩散. 这些改进使图灵模型的基本原则能被更容易地应用到复杂的系统中去. 许多系统被证明可满足该条件, 并且能够形成图灵图案, 如趋化性细胞迁移^[33]、神经元的相互作用^[34]、机械化学活性^[35]等. 然而, 在一个真实的生物系统中直接验证图灵模型是十分困难的. Meinhardt 和 Gierer^[32]在他们的模型中提出, 活化剂的扩散系数要比抑制剂小得多. 但是, 由于很难识别生物系统中的活化剂/抑制剂, 人们缺乏直接的证据来验证两种分子间的扩散系数的差异. 直到最近, 在对斑马鱼胚胎形成过程中由 Nodal 和 Lefty 构成的活化剂/抑制剂系统的研究中, 科学家成功地利用光漂白后荧光恢复的方法, 测得融合了绿色荧光蛋白的 Nodal 和 Lefty 的扩散性^[36]. 这些研究成果及将来的相关实验将对验证图灵模型起到很大的帮助.

1.4 密度依赖性运动能力模型

物理学家提出, 当一个颗粒或细胞的运动能力依赖于其密度时, 周期性的图案也可以形成. Cates 等

人^[37]对这种系统进行了研究. 在这个系统中, 细胞的运动力取决于局部的细胞密度. 通过稳定性分析, 他们发现该系统可以通过细胞密度平衡点上下的小范围波动形成稳定的图案. 然而, 为了使得高频失稳收敛, 他们引入了密度的四阶项^[31]. 在另一个与实验相关性更高的密度依赖性运动能力模型中, 人们引入了一个密度信号场^[38,39]. 传统的周期性图案往往是通过失稳性在平衡点附近放大而产生周期结构. 然而, 人们发现在这种密度依赖性运动能力模型中, 当密度场前沿在传播过程中达到运动能力阈值时, 就可以形成周期性的图案. 这种机制与典型的反应扩散模型不同, 并且已经在一个合成生物系统中得到了验证. 该模型也可被应用到具有两个可扩散化学物质的系统中, 在这个系统中, 其中一种化学物质的扩散性取决于另一种化学物质的局部浓度.

1.5 时钟和波前沿模型

科学家们提出时钟和波前沿模型是为了用来解释体节的形成. 这个模型由两部分组成: 一个在两种状态振荡的“时钟”和一个单向波^[40]. 一般情况下, 所有的细胞在两种状态之间同步振荡. 一旦到达波的前沿, 振荡即停止在某个阶段. 当波扫过发育区域时, 便形成了交替状态的周期性图案.

2 合成生物学

合成生物学是一个崭新且快速发展的领域, 但它似乎仍然没有一个被广泛接受的定义. 有些人定义合成生物学为“对新的生物零件、设备和系统进行设计和构建, 以及对现有的自然生物系统进行重新设计改造以达到有用的目的”(HTTP://synthetic-biology.org/). 一般而言, 这些新的功能是通过引入被称为“遗传线路”的新遗传网络来实现的. 在过去的 10 年中, 合成生物学一直被用来开发新的功能^[41,42], 如群体控制^[6]、细胞计数^[43]、“光子打印机”^[4]、边缘检测器^[3]等. 合成生物学的另一重要方面是通过工程建造的方法^[8,9]来了解生命. 科学家应用合成生物学手段, 对包括生物振荡器^[2,7]、细菌的双组分系统^[44]、条带检测^[5]、生物膜形成^[45]、生态系统重构^[46]和抗生素抗性^[47]等在内的各种生物现象进行了研究.

2.1 用合成生物学的方法研究图案形成

Basu 等人^[5]通过将 luxRI 系统中的不同组分分别

放入发送者细胞(表达 *luxI* 并合成 N-酰基高丝氨酸内酯(N-acyl-homoserine lactones, AHL))和接收者细胞(表达 *luxR*, 对 AHL 梯度响应), 以此制作出了一种“条带”过滤器. 他们设计了一个巧妙的遗传线路, 使接收者细胞对不同浓度的 AHL 做出不同的响应, 从而让细胞在固体琼脂板上产生公牛眼图案. 实验时, 他们首先把包含一系列的遗传元件(如 *luxR*, λ 抑制子 CI 和 *lacI*)的接收者细胞混合在琼脂里. 随着发送者细胞产生的 AHL 不断地生成和降解, 其在固体琼脂板上会形成浓度梯度. 而接收者细胞只在一个狭窄的 AHL 浓度区间内表达绿色荧光蛋白. 他们利用了 3 个对 AHL 敏感度各异的 *LuxR* 突变体作为接收者细胞, 使它们可以各自在琼脂板上形成不同的生物图案. 通过这些巧妙设计的人工遗传线路, Basu 的研究团队直接证明了形态发生素梯度的图案形成机理.

更新一个成果来自 Danino 的研究团队, 他们利用 *luxRI* 系统同步大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌群生长, 构建了一个基因振荡器^[2]. 与以往的合成振荡系统相比, 他们的设计虽然很简单, 但却产生了美妙的时间周期图案. 他们利用 *luxI* 启动子来分别控制 *luxI*, *yemGFP* 和 *aiiA*(AHL 降解酶)的表达. 在这个系统中, *LuxR*-AHL 复合物诱导 *aiiA* 的表达, 从而反过来实现了对 *luxI* 表达的负调控. 借助微流体器件和荧光显微镜, 振荡被记录了下来. 不仅如此, 振荡器的周期和幅度还可以通过在微流体条件下控制流速来调节. 除了 Danino 的研究外, Liu 等人^[39]也构建了工程细菌来探索一种新的周期图案形成的机理. 首先他们构建了由生长、运动能力和细胞间信号传导组成的图案形成的模型系统. 然后又设计了一个简单的调控机制, 这种机制可以通过引入外源菌群传感系统来对大肠杆菌细胞的趋化线路进行控制, 使细胞运动在高菌群密度条件下受到抑制. 这种相互作用模拟了密度依赖的运动效应. 出乎人们意料的是, 在将工程菌株接种到半固体琼脂平板上后, 菌群形成了以 200 min 为间隔的周期性条纹图案.

2.2 通过合成生物学进行图案形成原理的探索

在 Liu 等人的研究中, 他们利用人工遗传线路系

统衡量了每个关键的变量并对条纹形成的具体动力学过程进行了定量研究. 根据这些研究, 他们提出了一个新的密度依赖性运动能力模型. 不同于其他反应扩散系统的是, 该密度依赖性运动系统在密度波前沿达到阈值时可以形成周期性条纹(图 3B). 此外, 根据该模型预测, 该系统存在从条纹到非条纹的相变, 在两种状态之间可以形成有限数量的条纹. 在实验中, 他们通过改变单个基因的表达水平成功调控了条纹的数目, 以此验证了模型的预测. 这项研究使人们认识了对连续条纹形成的一种新原理. 这一原理不仅会对人工合成的细菌图案造成影响, 在后生物发育过程中相似的条纹形成过程也很有借鉴意义.

3 展望

如果想要用传统的自上而下的方法来研究生物图案形成无异于在复杂的细胞组分和多层调控网络的迷宫中找到一条出路. 在大多数情况下, 这都是非常困难的. 虽然在体外用自下而上的方法可以重新构建某些生物系统的一些关键成分, 但终究人造的痕迹太过明显并且同样需要有详细的分子机制. 一个更激进的想法是忽略自然机制, 利用合成生物学来“创造”新的生物图案形成系统. 在这些人工图案系统的建造过程中, 可以学到一些以前未知的图案形成的原理. 鉴于自然图案的多样性, 存在与人工系统相类似的自然系统也就不足为奇. 研究人员可以利用这些从人工系统中认识到的原理来重新审视自然系统的规律. 另一方面, 合成生物学的目标之一是要建立新的生物系统. 现在认识了许多生物系统的元件以及它们之间的一些相互作用机理, 但是如何将它们构建成有功能的生物系统或有序的生物结构——如血管、皮肤、甚至心脏?——是对组织工程是一大挑战. 一种方法是 3D 打印: 直接将“组织”构建成其最终形状和尺寸. 另一种方式是编程发育: 从细胞簇开始, 让细胞自主生长发育成所需的形态. 后一种方法可能是更加接近自然过程并且更加持久. 未来, 这两种方法可以被组合使用来构建生物结构, 并帮助研究人员理解这些结构形成的基本原理.

参考文献

- 1 Wolpert L. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. *J Theor Biol*, 1969, 25: 1-47

- 2 Danino T, Mondragón-Palomino O, Tsimring L, et al. A synchronized quorum of genetic clocks. *Nature*, 2010, 463: 326–330
- 3 Tabor J J, Salis H M, Simpson Z B, et al. A synthetic genetic edge detection program. *Cell*, 2009, 137: 1272–1281
- 4 Levskaya A, Chevalier A A, Tabor J J, et al. Synthetic biology: engineering *Escherichia coli* to see light. *Nature*, 2005, 438: 441–442
- 5 Basu S, Gerchman Y, Collins C H, et al. A synthetic multicellular system for programmed pattern formation. *Nature*, 2005, 434: 1130–1134
- 6 You L, Cox R S 3rd, Weiss R, et al. Programmed population control by cell-cell communication and regulated killing. *Nature*, 2004, 428: 868–871
- 7 Elowitz M B, Leibler S. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature*, 2000, 403: 335–338
- 8 Elowitz M, Lim W A. Build life to understand it. *Nature*, 2010, 468: 889–890
- 9 Mukherji S, van Oudenaarden A. Synthetic biology: understanding biological design from synthetic circuits. *Nat Rev Genet*, 2009, 10: 859–871
- 10 Held L I. *Models for Embryonic Periodicity*. Basel; New York: Karger, 1992. 119
- 11 Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature*, 1980, 287: 795–801
- 12 Lawrence P A. *The Making of a Fly: the Genetics of Animal Design*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1992. 228
- 13 Peel A D, Chipman A D, Akam M. Arthropod segmentation: beyond the *Drosophila* paradigm. *Nat Rev Genet*, 2005, 6: 905–916
- 14 Dequéant M L, Pourquié O. Segmental patterning of the vertebrate embryonic axis. *Nat Rev Genet*, 2008, 9: 370–382
- 15 Schnell S, Maini P K, McInerney D, et al. Models for pattern formation in somitogenesis: a marriage of cellular and molecular biology. *C R Biol*, 2002, 325: 179–189
- 16 Sadler T W, Langman J. *Langman's Medical Embryology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 504
- 17 Dubrulle J, McGrew M J, Pourquié O. FGF signaling controls somite boundary position and regulates segmentation clock control of spatiotemporal Hox gene activation. *Cell*, 2001, 106: 219–232
- 18 Pourquié O. The segmentation clock: converting embryonic time into spatial pattern. *Science*, 2003, 301: 328–330
- 19 Finney M, Ruvkun G. Theunc-86 gene product couples cell lineage and cell identity in *C. elegans*. *Cell*, 1990, 63: 895–890
- 20 McKearin D M, Spradling A C. Bag-of-marbles: a *Drosophila* gene required to initiate both male and female gametogenesis. *Genes Dev*, 1990, 4: 2242–2251
- 21 Sussex I M. Developmental programming of the shoot meristem. *Cell*, 1989, 56: 225–229
- 22 Murray J D. *Mathematical Biology*. New York: Springer, 2002
- 23 Cooke J. Control of somite number during morphogenesis of a vertebrate, *Xenopus laevis*. *Nature*, 1975, 254: 196–199
- 24 Alon U. *An Introduction to Systems Biology: Design Principles of Biological Circuits*. Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC, 2007. 301–304
- 25 May R M. Simple mathematical models with very complicated dynamics. *Nature*, 1976, 261: 459–467
- 26 Wolpert L. Positional information and pattern formation. *Curr Top Dev Biol*, 1971, 6: 183–224
- 27 Kondo S, Miura T. Reaction-diffusion model as a framework for understanding biological pattern formation. *Science*, 2010, 329: 1616–1620
- 28 Hodges A. *Alan Turing: The Enigma*. New York: Simon and Schuster, 1983. 587
- 29 Turing A M. The chemical basis of morphogenesis. 1953. *Bull Math Biol*, 1990, 52: 119–197
- 30 Fitzhugh R. Impulses and physiological states in theoretical models of nerve membrane. *Biophys J*, 1961, 1: 445–466
- 31 Nagumo J, Arimoto S, Yoshizawa S. An active pulse transmission line simulating nerve axon. *Proc IRE*, 1962, 50: 2061–2070
- 32 Meinhardt H, Gierer A. Applications of a theory of biological pattern formation based on lateral inhibition. *J Cell Sci*, 1974, 15: 321–346
- 33 Maini P K, Myerscough M R, Winters K H, et al. Bifurcating spatially heterogeneous solutions in a chemotaxis model for biological pattern generation. *Bull Math Biol*, 1991, 53: 701–719
- 34 Swindale N V. A model for the formation of ocular dominance stripes. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1980, 208: 243–264
- 35 Murray J D, Oster G F, Harris A K. A mechanical model for mesenchymal morphogenesis. *J Math Biol*, 1983, 17: 125–129
- 36 Müller P, Rogers K W, Jordan B M, et al. Differential diffusivity of Nodal and Lefty underlies a reaction-diffusion patterning system. *Science*, 2012, 336: 721–724
- 37 Cates M E, Marenduzzo D, Pagonabarraga I, et al. Arrested phase separation in reproducing bacteria creates a generic route to pattern formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 11715–11720
- 38 Fu X, Tang L H, Liu C, et al. Stripe formation in bacterial systems with density-suppressed motility. *Phys Rev Lett*, 2012, 108: 198102
- 39 Liu C, Fu X, Liu L, et al. Sequential establishment of stripe patterns in an expanding cell population. *Science*, 2011, 334: 238–241
- 40 Cooke J, Zeeman E C. A clock and wavefront model for control of the number of repeated structures during animal morphogenesis. *J Theor*

- Biol, 1976, 58: 455–476
- 41 Khalil A S, Collins J J. Synthetic biology: applications come of age. *Nat Rev Genet*, 2010, 11: 367–379
- 42 Benner S A, Sismour A M. Synthetic biology. *Nat Rev Genet*, 2005, 6: 533–543
- 43 Friedland A E, Lu T K, Wang X, et al. Synthetic gene networks that count. *Science*, 2009, 324: 1199–1202
- 44 Skerker J M, Perchuk B S, Siryaporn A, et al. Rewiring the specificity of two component signal transduction systems. *Cell*, 2008, 133: 1043–1054
- 45 Kobayashi H, Kaern M, Araki M, et al. Programmable cells: interfacing natural and engineered gene networks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 8414–8419
- 46 Balagaddé F K, Song H, Ozaki J, et al. A synthetic *Escherichia coli* predator-prey ecosystem. *Mol Syst Biol*, 2008, 4: 187
- 47 Lee H H, Molla M N, Cantor C R, et al. Bacterial charity work leads to population-wide resistance. *Nature*, 2010, 467: 82–85

Synthetic Biology: a New Means of Biological Pattern Formation Study

WANG XiaoLei^{1,2}, LIU ChenLi^{1,3}, FU XiongFei⁴ & HUANG JianDong^{1,2,3}

1 School of Biomedical Sciences, The University of Hong Kong, Hong Kong, China;

2 The University of Hong Kong Shenzhen Institute of Research and Innovation, Shenzhen 518057, China;

3 Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China;

4 The Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology, Yale University, New Haven CT 06520, USA

What are the underlying principles of biological pattern formation? This fundamental question needs to be answered. Owing to the complexity of physiology in the natural context, it is difficult to elucidate the molecular mechanisms and principles underlying pattern formation. Biological systems are so diverse and complex that even understanding the mechanism underlying a particular pattern formation becomes difficult. Although our understanding of pattern formation has been greatly advanced by the current genetic and biochemical approaches, progresses are mainly achieved from tedious studies on gain- or loss-of-function mutants. Synthetic biology is currently considered a discipline of application; however, it can also serve as a means to explore the fundamentals of life. Here, we will use periodic stripe pattern formation as a paradigm to discuss the means by which the formation of biological patterns can be understood through synthetic biology and the approaches by which synthetic biology can be applied to tissue engineering in the future.

pattern formation, density-dependent motility model, periodic stripe, synthetic biology

doi: 10.1360/N052015-00151