



傅旭东博士, 2021年起任浙江大学良渚实验室研究员, 博士生导师, 以及课题组组长。实验室主要聚焦于探究早期胚胎发育过程中全能性阶段细胞的多维度调控机制, 以及母体高龄等风险因素对全能性胚胎的影响机制。通过建立体外细胞研究模型与新型单细胞多组学研究技术, 傅旭东课题组已揭示了包括溶酶体活性在内的多项全能性新型调控机制。

<https://person.zju.edu.cn/0021042>

全能性胚胎发育的调控机制

郭家威[#] 谢禹卓[#] 傅旭东*

(浙江大学良渚实验室, 杭州 310000)

摘要 全能性指细胞具备产生机体所有细胞类型并发育为完整有机体的潜能。在小鼠中, 合子和二细胞期胚胎是严格意义上的全能性细胞, 而在人类胚胎中则是八细胞阶段前的胚胎具有全能性。全能性胚胎发育调控机制涉及多维度调控网络, 且受内外环境因素显著影响。深入了解和研究全能性胚胎发育的机制, 改进相关体外模型与研究技术, 探索风险因素对全能性胚胎发育潜能评估策略, 能够推动辅助生殖的优化以及全能性细胞的转化应用。该综述将对包括该实验室工作成果在内的全能性胚胎发育的多维度调控机制、风险因素及研究技术的部分进展, 进行简要的概括与总结。

关键词 全能性; 调控机制; 研究模型与技术

Molecular Regulatory Mechanisms Governing Totipotent Embryo Development

GUO Jiawei[#], XIE Yuzhuo[#], FU Xudong*

(Liangzhu Laboratory, Zhejiang University, Hangzhou 310000, China)

Abstract Totipotency refers to the ability of a cell to generate all cell types of the organism and develop into a complete individual. In mice, the zygote and 2-cell embryos are considered strictly totipotent, whereas in humans, totipotency is present in embryos before the 8-cell stage. The totipotent embryo development is governed by a multidimensional regulatory network and is significantly influenced by intrinsic and extrinsic environmental factors. A deeper understanding of the mechanisms underlying totipotent embryo development, optimization of *in*

收稿日期: 2025-09-24

接受日期: 2025-11-13

国家重点研发计划(批准号: 2022YFC2702300)和国家自然科学基金面上项目(批准号: 32470840、32270852)资助的课题

[#]共同第一作者

*通信作者。Tel: 0571-88790966, E-mail: xudongfu@zju.edu.cn

Received: September 24, 2025 Accepted: November 13, 2025

This work was supported by the National Key R&D Program of China (Grant No.2022YFC2702300), and the General Program of the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32470840, 32270852)

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-571-88790966, E-mail: xudongfu@zju.edu.cn

vitro models and research technologies, and evaluation of risk factors affecting totipotent potential could further advance assisted reproductive technologies and the translational application of totipotent cells. This review provides a concise summary of recent progress in the core regulatory mechanisms, risk factors, and research technologies of totipotent embryo development, including contributions from this laboratory.

Keywords totipotency; regulatory mechanisms; research models and technologies

1 全能性胚胎发育简介

全能性(totipotency)指细胞具备产生机体所有细胞类型的能力,涵盖胚胎谱系与胚外谱系细胞,严格意义上特指单个细胞发育为完整有机体的潜能^[1]。例如小鼠二细胞胚胎的卵裂球可独立发育成完整个体,而四细胞及后续阶段卵裂球已丧失此能力,故合子与二细胞卵裂球被视为严格的全能性细胞。相较于多能性(细胞仅可以分化为胚胎内谱系细胞),全能性的建立机制长期研究不足。核心原因在于植入前胚胎中全能性细胞数量极少,难以获取足量样本开展分析;且其转录调控网络、表观遗传特征及关键调控因子的作用机制尚未系统解析,体外诱导与维持全能性的调控网络也尚未被完全揭示。

小鼠着床前胚胎发育始于卵子受精形成合子,止于形成囊胚^[2]。具体而言,卵子受精后形成合子,并建立全能性,随后合子启动卵裂,依次经历二细胞、四细胞、八细胞、桑椹胚阶段;二细胞期后胚胎逐渐退出全能性,并开始细胞谱系分化;最后胚胎形成囊胚腔,分化为外层滋养外胚层(trophectoderm, TE)和内部内细胞团(inner cell mass, ICM), ICM进一步分化为上胚层(epiblast, EPI)与原始内胚层(primitive endoderm, PE)。

合子基因组激活(zygotic genome activation, ZGA)是全能性建立的关键节点。成熟卵母细胞处于转录沉默状态,并在受精后启动大规模的基因组转录激活,这个事件被称为ZGA。小鼠ZGA分阶段进行:合子启动小波激活[约500个基因,称为次要基因激活期(minor ZGA)],二细胞期发生第二波大规模激活,称为主要基因激活期(major ZGA)。ZGA与全能性在发育时间上高度重合,且阻断ZGA会导致胚胎停滞于二细胞期,这些数据表明ZGA对全能性建立的必要性^[3]。

胚胎在建立全能性后,需要及时退出全能性,并开始诱导第一次谱系分化^[1]。全能性的退出伴随着大量二细胞特异性转录本(如*Dux*)的快速沉默,

这一分子事件对胚胎正常退出全能性起到关键作用^[4-5]。如果这些转录本无法快速被沉默,胚胎将阻滞在二细胞阶段,无法正常继续发育。

2 全能性胚胎发育调控

2.1 转录调控机制

在哺乳动物早期胚胎发育中,从一个具有全能性的受精卵发育成一个完成谱系分化的囊胚,离不开庞大的转录网络。这一过程的核心在于合子基因组激活(ZGA),它不仅为胚胎进入全能性状态做准备,也为随后的第一次细胞谱系分化奠定了基础^[3,6]。近年来的研究表明,全能性状态的进入与退出遵循着不同但又紧密关联着的转录调控机制。

首先,母源遗传物质对ZGA的时空启动至关重要。最新研究指出,若干母源因子(如KLF17、DPPA2/DPPA4等)通过招募或引导RNA聚合酶II到特定位点,促进早期胚胎中ZGA基因的及时表达,从而诱导全能性相关转录网络^[7-8]。除此之外,母源因子NR5A2、NFYA也被报道参与ZGA过程,表明母源因子在ZGA中的重要作用^[2,9]。

其次,先导(pioneer)转录因子位于转录层级调控的上游。以OBOX家族、DUX为代表的因子能在闭合染色质中结合并大规模激活MERVL(murine endogenous retrovirus-L)逆转座子及一系列二细胞期特异性基因,从而重塑转录组进入全能性状态^[3,10-12]。值得注意的是,多个OBOX因子具有功能冗余作用,暗示多重先导因子协同确保ZGA的稳健性。在人源胚胎中,TPRX因子起到类似先导转录作用^[13]。

再次,内源性逆转录病毒相关元件如(MERVL)不仅是被激活的转录目标,更可作为增强子/启动子重塑基因调控网络的“可塑模块”。研究表明, MERVL位点在全能性状态下获得开放的组蛋白标记(例如H3K4me3、H3K27ac),并介导大量启动子-增强子互作,用于驱动2C特异基因表达^[14]。由此可见转座元件在全能性转录网络中由“被动目标”转变为

“调控节点”。除此以外，包括LINE-1在内的其余转座子也被报道在全能性退出过程中起到关键作用^[15-16]。

2.2 表观调控机制

哺乳动物早期胚胎发育始于受精卵，其继承了父母双方基因组差异性的表观遗传修饰。这些修饰包括DNA甲基化及多种组蛋白共价修饰，如H3K27me3、H3K9me3和H3K4me3等。受精后，表观基因组经历广泛重编程，以建立与胚胎全能性相适应的染色质状态。该过程异常可导致基因表达失调、胚胎发育停滞甚至早期发育失败，凸显其在ZGA中的重要作用^[17-19]。

DNA甲基化是调控基因沉默和基因组稳定性的重要表观遗传标记。受精后，父本与母本基因组均发生全局性DNA去甲基化^[20-21]，该过程依赖TET3介导的5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)氧化及后续的复制性稀释^[20]。去甲基化在父本基因组中尤为显著，并促进ZGA期间逆转录元件(如MERVL)的转录激活^[22]。值得注意的是，印记控制区域(imprinting control regions, ICRs)仍保持高甲基化状态，以维持亲本特异性基因沉默^[21]。若DNA去甲基化受阻或区域特异性甲基化异常，将严重影响ZGA的进行与胚胎发育轨迹。

组蛋白修饰在染色质状态调控中具有多种功能。H3K4me3作为一种激活型标记，在卵母细胞中形成独特的宽域结构(宽度超过10 Kb)，这些区域多位点于启动子远端，与低DNA甲基化水平相关^[23-24]。其建立依赖甲基转移酶KMT2B，并可通过抑制DNMT3L活性阻碍DNA甲基化沉积。在ZGA启动前，这些宽域覆盖了大量ZGA关键基因。及时去除H3K4me3宽域依赖于去甲基化酶KDM5A/B，若去除不及时，将导致ZGA基因无法被正常激活，胚胎发育停滞于2-细胞阶段^[23]。

另外，抑制性标记H3K27me3在母源基因组的传递中起关键作用。母源H3K27me3分布于若干印记基因和Xist位点，调控X染色体失活和等位基因特异性沉默^[25-26]。实验表明，母源H3K27me3的缺失可引起Xist提前表达及母本X染色体异常失活^[26]。此外，H3K27me3在植入后胚胎中逐渐聚焦于高CpG启动子，参与调控谱系特异性基因的表达，展示其动态性和功能多样性^[19]。

H3K9me3则主要富集于长末端重复序列(long

terminal repeat, LTR)等重复元件区域，在受精后迅速重建，并在胚胎DNA去甲基化背景下接替成为沉默转座元件的重要机制^[18,22]。该修饰的建立涉及CHAF1A等因子，其异常会导致逆转录元件的异常激活、基因组稳定性下降及早期胚胎发育失败^[18]。

这些表观遗传修饰并非独立作用，而是构成一个协同互作的网络系统。例如，H3K4me3与DNA甲基化之间存在明显的拮抗关系^[23]；H3K27me3则常与H3K4me3在发育调控基因的启动子区域形成“二价结构域”，在维持基因沉默潜能的同时允许快速激活^[18,24]；H3K9me3与H3K27me3在部分基因组区域中存在重叠，共同参与兼性异染色质的组建和维持^[18]。此外，TET3介导的DNA去甲基化与H3K4me3的建立也存在协同促进ZGA相关基因的开放染色质状态维持的可能性^[20,24]。

综上所述，父母源表观遗传信息通过DNA甲基化与组蛋白修饰的重编程，在受精卵中形成一种高度动态且可塑的染色质环境，为ZGA发生奠定基础。

2.3 代谢调控机制

早期胚胎的代谢重编程不仅为细胞分裂提供能量，其代谢产物更直接参与表观修饰调控。研究表明，代谢分子丰度、代谢通路、代谢器官活性在全能性胚胎发育过程中均呈现出明显的重编程现象，提示代谢在全能性胚胎发育中起到重要作用(图1)。

合子和二细胞期胚胎主要依赖丙酮酸作为三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)的核心碳源，而葡萄糖利用能力相对有限^[27-28]。TCA循环中间产物α-酮戊二酸(α-ketoglutaric acid, α-KG)在此过程中具有关键的表观遗传功能：其作为JMJD家族组蛋白去甲基化酶和TET家族DNA去甲基化酶的必需辅酶，能够促进H3K27me3、H3K9me3等抑制性组蛋白修饰的去除，并调控5mC向5-hmC(5-hydroxymethylcytosine)的转化，从而为ZGA和全能性基因的表达提供表观遗传支持^[28]。

另外，α-KG的结构类似物2-羟戊二酸(2-hydroxyglutaric acid, 2-HG)可通过竞争性抑制α-KG依赖的去甲基化酶而发挥拮抗作用。研究报道，2-HG的积累会削弱组蛋白与DNA去甲基化，从而干扰胚胎早期表观遗传重编程并影响囊胚的形成^[27]。因此，2-HG/α-KG的比例被视为早期胚胎代谢与表观遗传状态之间的关键平衡点，其失衡会导致发育停滞或

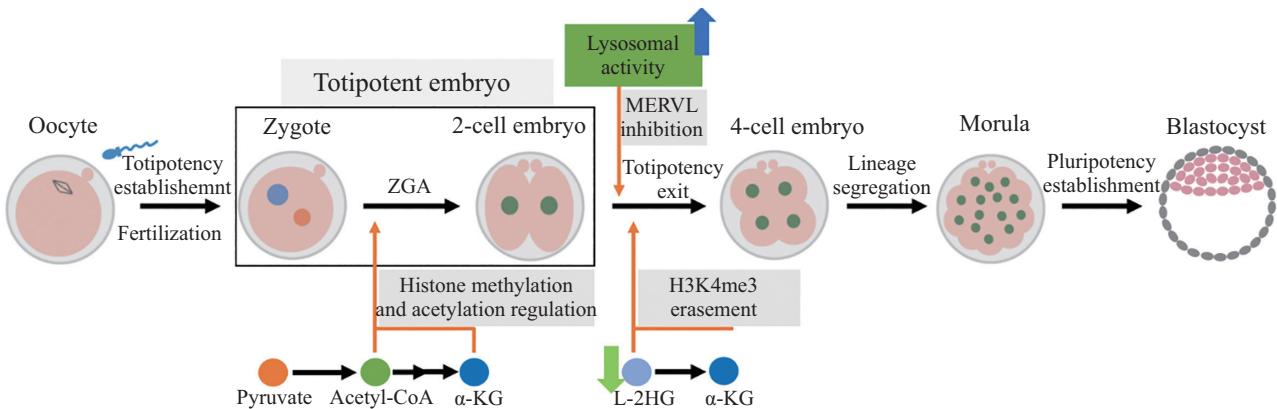


图1 小鼠全能性胚胎发育过程中的代谢调控机制
Fig.1 Metabolic regulation of mouse totipotent embryo development

异常分化。

值得注意的是，葡萄糖在胚胎发育中的作用并不仅限于糖酵解。研究发现，葡萄糖可经己糖胺生物合成途径(hexosamine biosynthesis pathway, HBP)和戊糖磷酸途径等非糖酵解分支进入代谢网络，并对胚胎谱系命运产生影响^[29]。具体而言，TE细胞比ICM更依赖HBP及相关代谢通路维持特定信号通路的活性，而ICM则更依赖丙酮酸和TCA代谢来支持其命运决定^[29]。

此外，丙酮酸不仅是TCA循环的关键碳源，还通过乳酸脱氢酶B(lactate dehydrogenase B, LDHB)介导的乳酸丙酮酸循环维持NAD⁺/NADH平衡，从而支持二细胞期胚胎的正常发育^[28]。研究还发现，多种TCA酶在早期胚胎中会进入细胞核，在局部生成代谢中间体，直接参与表观修饰调控，为ZGA的顺利启动提供条件^[28]。

同时，脂代谢在早期胚胎发育中也经历动态变化。研究表明甘油三酯(triacylglycerol, TAG)、多不饱和的脂质的含量在全能性胚胎至囊胚期有明显的增加，提示胚胎发育不同时期对脂质具有不同的代谢需求^[30]。此外，脂质分子PIP2(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate)还会参与卵裂球极性建立的现象以及囊胚形成率^[30]。

最后，代谢细胞器活性在全能性发育中也起到重要作用。本实验室研究发现，溶酶体通过分解大分子物质来提升胚胎内的氨基酸水平。充足的氨基酸会通过Ragulator-Rag信号复合物，抑制转录因子TFE3的核定位。由于TFE3可以激活MERVL等二细胞期特异性逆转录转座子，其活性的降低直接导致

这些全能性标志物被转录沉默，从而推动细胞退出全能性状态，确保胚胎后续正常发育^[5]。

2.4 蛋白质及RNA相关调控机制

在早期胚胎发育过程中，蛋白质稳态——包括翻译与降解等环节——对维持胚胎全能性具有重要调控作用。研究表明，蛋白质的翻译与降解可通过逐步协调组蛋白修饰、转录起始与延伸等过程，共同调节小鼠早期胚胎的转录活性^[31]。为深入探究早期胚胎发育中蛋白质翻译的具体调控机制，研究人员开发了低输入核糖体测序技术，并对小鼠胚胎进行了系统分析，从而揭示了着床前胚胎中翻译调控的动态图谱。以此为基础，通过分析蛋白质翻译水平的变化，研究团队发现包括SMARCD2在内的多种蛋白质在合子基因组激活过程中发挥关键作用^[13,32-33]。在蛋白质降解方面，近期研究发现USP17蛋白可通过介导ZSCAN4蛋白的去泛素化修饰，增强其表达稳定性，进而参与调控端粒延长过程，影响胚胎发育^[34]。

除蛋白质调控外，非编码RNA在启动ZGA基因激活过程中亦扮演重要角色。例如，研究发现，定位于细胞核的长链非编码RNA lncFKBPL能够与MED8结合，增强其介导的增强子活性，进而调控FKBPL的表达。FKBPL随后与分子伴侣HSP90AA1相互作用，稳定CDK9并提升其蛋白水平，最终增强RNA聚合酶II的磷酸化能力，促进ZGA的启动^[35]；此外，研究还显示MERVL可调控邻近长链非编码RNA的转录，这些非编码RNA在minor ZGA基因附近显著富集，可能通过激活minor ZGA基因为后续major ZGA的启动创造条件^[36]。

除非编码RNA外，RNA剪接也可能是调控全能

性胚胎发育的重要机制。最近研究表明, RNA剪接抑制可直接诱导胚胎干细胞中全能性基因的激活, 从而推动细胞向全能性状态重编程^[37-38]。其机制在于, RNA剪切抑制触发了多能性基因的广泛内含子保留, 导致其表达在12 h内被有效抑制; 与此同时, ZGA相关的基因网络却被特异性激活。值得注意的是, 这些被激活的ZGA基因本身因其内含子数量更少、长度更短的结构特点, 得以维持有效的剪接。这一发现表明, 剪接抑制通过差异性调控基因表达, 即下调多能性网络并激活具有剪接韧性的ZGA网络, 从而在体外诱导了全能性的建立。这些结果提示, RNA剪接可能是全能性胚胎发育中细胞命运转变的一个重要调控机制。

3 全能性胚胎发育的风险因素

全能性胚胎的发育潜能受到包括卵母细胞质量在内的多种因素调控。因此, 母体生理状态与外界环境的异常可通过多种分子机制扰动卵母细胞质量, 引发全能性胚胎发育缺陷。

母体高龄是导致女性生育力下降及全能性建立受阻的关键因素之一^[39]。其核心病理基础在于卵巢衰老引起的卵母细胞质量下降及微环境稳态破坏, 而卵母细胞质量退化被认为是限制全能性胚胎发育的主要瓶颈。多组学研究表明, 随着年龄增长, 卵母细胞蛋白质组构成及翻译效率发生系统性改变, 伴随蛋白稳态维持能力下降^[40]。另有研究显示, 能量代谢障碍是高龄卵母细胞的显著特征, 其周围的卵丘细胞存在包括ATP合成酶受损在内的线粒体功能异常, 这影响了卵母细胞成熟所需的能量供给^[41]。此外, 高龄相关的促性腺激素水平升高具有卵母细胞毒性, 会直接抑制卵母细胞成熟, 而卵母细胞成熟受阻则无法为后续受精及胚胎全能性建立提供合格的起始环境, 从而引起全能性建立失败或者卵裂期阻滞等全能性胚胎发育缺陷^[42]。

母体代谢稳态亦是维持卵母细胞功能及早期胚胎正常发育的核心前提。以糖尿病为代表的代谢紊乱可通过多层次机制损害胚胎早期发育。例如, 在胰岛素依赖型糖尿病动物模型中, 早期胚胎常表现为退化与碎片化比例升高, 囊胚形成率下降, 且即使形成囊胚, 其内细胞团仍存在数量短缺与质量缺陷, 而滋养外胚层受影响相对较小, 提示糖尿病可能对早期胚胎发育过程具有特异性损害作用^[43]。此外,

有研究表明, 糖尿病条件会显著干扰卵母细胞成熟、受精及早期胚胎发育过程中内质网的分布模式, 而内质网作为蛋白质合成与加工的关键细胞器, 其结构功能异常必然影响胚胎发育所需的蛋白稳态, 进而可能破坏胚胎发育^[44]。

除了以上因素外, 母体环境与生活方式对早期胚胎发育亦有深远影响。基于干细胞来源的胚胎模型的研究表明, 常见环境暴露因子如咖啡因、尼古丁、酒精以及营养失衡均可直接干扰胚胎发育进程。例如, 咖啡因会减少胚胎细胞数量并扰乱谱系分化, 尼古丁则阻碍腔体形成这一关键步骤, 而营养状态失衡同样会引发发育异常表型, 提示外源物质及营养因素可直接影响早期胚胎发育^[45]。进一步研究还揭示, 母体饮食可通过宫腔液中的小RNA如tsRNAs[tRNA (transfer RNA)-derived small RNAs]谱式变化间接影响囊胚基因表达与代谢调控, 从而导致发育迟缓、宫内生长受限及子代代谢异常, 说明宫腔液小RNA是传递母体代谢与环境暴露信息的重要介质^[46]。

综上, 母体年龄、代谢健康以及外界环境与生活方式均可通过卵母细胞质量、能量代谢稳态、线粒体与内质网功能及宫内分子信号等多重机制, 直接或间接影响早期胚胎的发育。然而, 目前相关研究尚未系统解析这些因素在多大程度上特异性作用于全能性建立与维持, 其所导致的早期胚胎发育缺陷究竟有多少源于全能性障碍, 仍有待深入阐明。

4 全能性胚胎发育的研究模型与技术

4.1 鉴定全能性的方法

在干细胞与发育生物学研究领域, 对细胞全能性的准确定义与验证一直是核心议题。目前, 学界已建立起一套多层次、系统化的功能性检测体系, 用于评估细胞是否具备发育成完整个体及其所有胚外组织的潜能。

该功能性评估体系以体内发育能力评估为最高准则, 其中胚胎嵌合体实验是承上启下的核心环节, 为判定细胞的全能性提供了至关重要的直接证据。该实验将待测的候选细胞显微注射至正常二倍体囊胚腔内, 并将其移植入假孕母鼠子宫继续发育。通过对最终产生的子代个体进行系统分析, 研究者可以精确评估候选细胞的发育潜能: 其一, 是评估其在胎儿本体三个胚层(内胚层、中胚层、外胚层)中

的嵌合程度与分布广度，真正的全能性候选细胞应当能够高效贡献到所有组织器官中；其二，也是更为关键的，是检验其能否贡献至胚胎发育所必需的胚外组织，包括胎盘(滋养层)和卵黄囊。这一者共同构成了全能性的核心定义，即发育成一个完整生命体的全部组织类型的能力。在体外研究层面，类胚胎模型形成实验作为重要的初筛平台，通过观察细胞能否自组织形成同时包含上胚层样结构与滋养层样结构的类胚胎，也可以判断细胞是否具有全能性分化潜力^[47]。

此外，分子标志物分析(如小鼠中的MERVL、ZSCAN4，人源细胞中的TPRX1、ZSCAN4等)为全能性状态提供了快速鉴定的分子特征谱，即使这些特征需要与功能性实验相互印证。值得指出的是，随着单细胞多组学技术的进步，研究者开始构建更为精细的全能性分子图谱，并可将其与功能性输出结果进行关联验证^[48]。

综上所述，全能性评估已发展成为一套整合分子特征初筛、体外类胚胎验证和严格体内发育实验的三位一体科学体系，其最终结论依赖于不同层级实验证据的相互支撑与系统论证。

4.2 体外细胞模型的建立

天然全能性胚胎材料不仅来源稀少，且基因操作难度较大^[1]。例如，每只小鼠经超排卵处理后获得的二细胞胚胎通常数量有限，难以满足组学分析与大规模实验的需求；同时，早期胚胎对体外环境高度敏感，基因操作难度较大。为突破这一限制，多项

研究尝试建立新型体外全能性研究模型，推动全能性研究进入新阶段。这些模型包括小鼠的二细胞样细胞(2-cell-like cells, 2CLCs)^[49]、全能卵裂球样细胞(totipotent blastomere-like cell, TBLC)^[38]、类全能干细胞(totipotent-like stem cell, TLSC)^[50]、扩展潜能干细胞(expanded potential stem cell, EPSC)^[51]、延伸多能干细胞(extented pluripotent stem cell, EPS)^[52]，以及人源八细胞样细胞(8-cell-like cell, 8CLC)^[53-54]等。这些细胞模型主要以胚胎干细胞为基础，通过调控转录因子、RNA剪接或细胞信号通路建立；在分化能力上与全能性胚胎相似，且在转录组、表观修饰等方面与全能性胚胎存在共通特征，因此被广泛应用于细胞全能性机制研究。以下以2CLCs为例，详细阐述此类模型在全能性研究中的应用。

2CLCs是小鼠胚胎干细胞(mouse embryonic stem cells, mESCs)在血清/LIF培养条件下自发形成的稀有细胞群，其在分子与细胞特征上与二细胞胚胎高度相似：可表达Zscan4、MERVL等二细胞胚胎特异性标志物，并具备分化为胚胎外组织的能力^[49]。双同源域转录因子DUX是驱动mESCs向2CLCs转变的关键核心因子，可直接激活大量二细胞胚胎特异性基因^[55-57]。本实验室前期研究表明，诱导DUX表达可显著促进mESCs向2CLCs转变，且形成的2CLCs具备逆转回多能态的能力；基于这一特性，通过DUX诱导2CLCs这一方法可实现模拟全能性的进入与退出过程(图2)^[58]。

本课题组研究通过DUX诱导模型揭示，mESCs

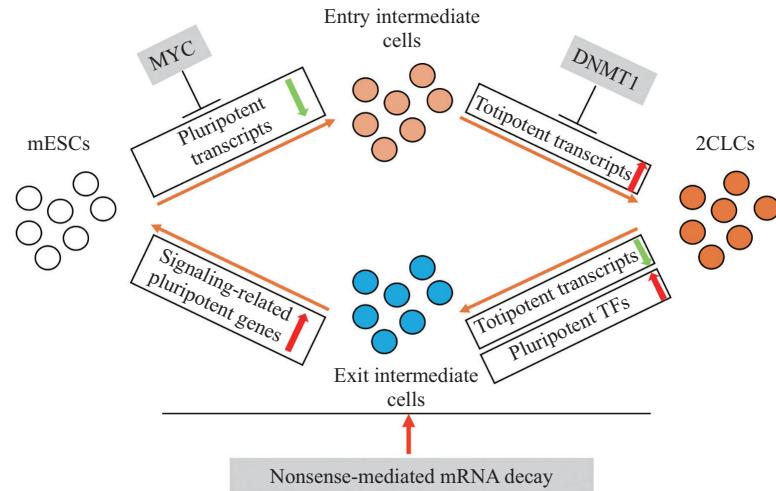


图2 mESCs与2CLCs转换过程中的分子路径与调控因子

Fig.2 The molecular roadmap and regulatory factors for the transition between mESCs and 2CLCs

向2CLCs的转变是一个动态的两步转录重编程过程:第一步以多能性相关基因的下调为核心,第二步则以上调二细胞胚胎特异性基因为关键特征。该转变过程受到多重抑制作用,形成了阻止细胞轻易进入全能性状态的“屏障”。通过CRISPR-Cas9介导的基因组筛选发现,转录因子MYC和DNA甲基转移酶DNMT1是构成该“屏障”的两个重要抑制因子,且二者在两步转变过程中扮演不同角色^[58]:

MYC主要阻碍第一步转变(即mESCs向中间态的转变):作为维持mESCs多能性状态的核心因子,MYC通过“转录扩增效应”维持大量多能性基因的高表达;当mESCs向2CLC转变时,需下调多能性基因的表达,而MYC的存在会拮抗这一基因下调过程。实验证实,敲降Myc可显著促进多能性基因的抑制,进而加速细胞进入转变中间态,并提高2CLCs的比例。

DNMT1主要阻碍第二步转变(即中间态向2CLCs的转变):DNMT1主要负责维持细胞分裂过程中的DNA甲基化状态;在mESCs中,大量二细胞胚胎特异性基因的启动子区域处于高度甲基化的沉默状态,而细胞向2CLCs转变时,这些区域需经历去甲基化修饰才能被激活,DNMT1的存在则会阻止这一过程。因此,敲降Dnmt1可显著降低这些基因启动子的甲基化水平,促进其在DUX诱导下的激活,进而推动细胞从中间态完全转变为2CLCs^[58]。

此外,2CLCs具备回复至多能性状态的能力。本实验室研究表明,该逆转过程的分子路径与全能性进入过程存在差异,且同样受到多种因子的调控。例如,无义介导的mRNA降解(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)通路因子SMG7,可通过促进Dux mRNA的降解,推动2CLCs向mESCs转变^[59]。

鉴于2CLCs与二细胞胚胎的高度相似性,其已成为研究全能性胚胎发育机制的理想模型。已有多项研究借助2CLCs系统揭示了全能性胚胎发育的新机制,如本课题组利用2CLC模型发现溶酶体活性调控全能性的退出^[5,15];这些研究进一步证实,2CLCs可有效用于全能性胚胎发育相关机制的研究。

4.3 单细胞高分辨率组学研究技术

早期胚胎发育是一个高度动态且细胞数量极为有限的过程,研究其分子机制长期受限于样本稀缺与细胞异质性。近年来,单细胞高分辨率组学研究技术的发展为解析这一关键发育阶段提供了前所

未有的机会。

单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)已广泛用于刻画从合子到囊胚阶段的转录动态,揭示了母源转录本清除、ZGA以及谱系分化早期的分子特征^[60-61]。特别是高灵敏度的低输入文库制备策略使得研究者能够在有限的细胞数甚至单个胚胎的背景下获得高覆盖度的转录信息,从而解析人类与小鼠胚胎发育的异同。

除转录组外,适用于低起始细胞量的单细胞表观遗传学测序技术也常被用于早期胚胎发芽势研究。结合CUT&Tag(Cleavage Under Targets and Tagmentation)、ATAC-seq(Assay for Transposase Accessible Chromatin with high-throughput sequencing)测序的研究表明,早期胚胎中染色质开放性和组蛋白修饰经历了快速重塑,这些变化与ZGA的启动及全能性维持密切相关^[62]。例如,近期研究通过单细胞组蛋白修饰谱揭示了小鼠受精卵至囊胚阶段的H3K4me3的动态变化,构建了胚胎发育早期的表观遗传重编程图谱^[23]。与此同时,高分辨率的单细胞甲基化测序也帮助揭示了哺乳动物胚胎中父源与母源基因组甲基化擦除的异步性^[21]。

值得注意的是,随着技术发展,单细胞蛋白组技术(例如本实验室合作建立的适用于早期胚胎的单细胞蛋白组技术)、表观组技术已经出现^[63-64],组学测序技术也已不仅限于单一维度,而是实现了转录组、表观遗传组甚至空间分布的联合分析^[65]。这些分析将进一步揭示全能性胚胎的发育机制。

4.4 数据库与大数据分析

全能胚胎发育是生命起始阶段最关键的过程之一,涉及表观组编程、合子基因组激活、全能性建立与退出化等一系列复杂的分子事件。由于样本获取困难、细胞数极少以及跨物种差异显著,全能性胚胎研究长期依赖单细胞/低样本组学技术。然而,单个实验数据通常难以覆盖发育的完整时序与多维度调控机制,因此,综合整合的数据库在推动该领域发展中发挥了关键作用。

DBEmbryo数据库建立的初衷是整合多种单细胞和组学数据,以系统解析哺乳动物胚胎发育过程中的转录与表观遗传动态^[66]。该数据库收录了小鼠、人类等物种在受精卵到囊胚阶段的大规模单细胞RNA-seq、ATAC-seq以及甲基化数据,并提供了可视化工具用于追踪基因表达与染色质状态的动态变

化。研究者可利用DBEmbryo比较不同物种的胚胎发育特征,挖掘潜在的关键转录因子及调控网络,从而加深对全能性建立与早期谱系分化的理解。

与此相对,本实验室合作构建的Toti数据库则更专注于全能性相关的多组学信息整合^[67]。Toti收录了来自小鼠和人类早期胚胎以及体外全能样细胞模型(如2CLCs)的单细胞转录组、染色质修饰等数据,并通过交互式界面支持用户探索了不同阶段或细胞类型的转录因子网络、转座元件调控模块以及表观遗传图谱。Toti的建立为研究者提供了一个跨物种、跨技术平台的全能性数据资源,尤其适合用于鉴定全能性关键因子和预测其调控靶点。

5 总结和展望

综上所述,最近研究已经逐渐构建起全能性胚胎涵盖转录、表观与代谢的多维度调控网络。多种因子相互协作,共同塑造全能性建立与维持的动态过程。在研究技术层面,2CLCs等新型体外模型的建立突破了全能性胚胎材料受限的瓶颈,单细胞多组学解析揭示了全能性转变的关键路径,Toti等数据库与分析工具则推动了数据向规律的转化。同时,研究也表明,母体高龄、代谢疾病及外源环境因素可通过影响卵母细胞质量、表观修饰和代谢平衡而损害全能性胚胎发育。然而,天然胚胎资源稀缺、调控网络协同机制未明以及物种差异等,仍是全能性胚胎发育亟待解决的瓶颈问题。

未来,全能性研究有望进一步聚焦于调控机制之间的互作与协同,系统构建更为完整的调控网络,并深入探索母体高龄等风险因素如何影响全能性胚胎发育,以期为辅助生殖的优化提供理论依据。在方法学层面,该领域的发展将依赖于更精细的体外模型、单细胞空间多组学技术与动态基因编辑策略的应用,并结合Toti数据库等资源,建立跨物种调控网络的预测体系,从而为机制解析与功能验证提供有力支撑。

参考文献 (References)

- [1] LU F, ZHANG Y. Cell totipotency: molecular features, induction, and maintenance [J]. *Natl Sci Rev*, 2015, 2(2): 217-25.
- [2] WU J, HUANG B, CHEN H, et al. The landscape of accessible chromatin in mammalian preimplantation embryos [J]. *Nature*, 2016, 534(7609): 652-7.
- [3] JI S, CHEN F, STEIN P, et al. OBOX regulates mouse zygotic genome activation and early development [J]. *Nature*, 2023, 620(7976): 1047-53.
- [4] GUO M, ZHANG Y, ZHOU J, et al. Precise temporal regulation of Dux is important for embryo development [J]. *Cell Res*, 2019, 29(11): 956-9.
- [5] WU H, CAO L, WEN X, et al. Lysosomal catabolic activity promotes the exit of murine totipotent 2-cell state by silencing early-embryonic retrotransposons [J]. *Dev Cell*, 2025, 60(4): 512-23.e7.
- [6] LAI F, LI L, HU X, et al. NR5A2 connects zygotic genome activation to the first lineage segregation in totipotent embryos [J]. *Cell Research*, 2023, 33(12): 952.
- [7] HU Y, WANG Y, HE Y, et al. Maternal KLF17 controls zygotic genome activation by acting as a messenger for RNA Pol II recruitment in mouse embryos [J]. *Dev Cell*, 2024, 59(5): 613-26.e6.
- [8] YAN Y L, ZHANG C, HAO J, et al. DPPA2/4 and SUMO E3 ligase PIAS4 opposingly regulate zygotic transcriptional program [J]. *PLoS Biol*, 2019, 17(6): e3000324.
- [9] GASSLER J, KOBAYASHI W, GÁSPÁR I, et al. Zygotic genome activation by the totipotency pioneer factor Nr5a2 [J]. *Science*, 2022, 378(6626): 1305-15.
- [10] GUO Y, KITANO T, INOUE K, et al. Obox4 promotes zygotic genome activation upon loss of Dux [J]. *eLife*, 2024, 13: e95856.
- [11] CHEN Z, ZHANG Y. Loss of DUX causes minor defects in zygotic genome activation and is compatible with mouse development [J]. *Nat Genet*, 2019, 51(6): 947-51.
- [12] DE IACO A, VERP S, OFFNER S, et al. DUX is a non-essential synchronizer of zygotic genome activation [J]. *Development*, 2019: dev.177725.
- [13] ZOU Z, ZHANG C, WANG Q, et al. Translatome and transcriptome co-profiling reveals a role of TPRXs in human zygotic genome activation [J]. *Science*, 2022, 378(6615): abo7923.
- [14] SAKASHITA A, KITANO T, ISHIZU H, et al. Transcription of MERVL retrotransposons is required for preimplantation embryo development [J]. *Nat Genet*, 2023, 55(3): 484-95.
- [15] PERCHARDE M, LIN C J, YIN Y, et al. A LINE1-nucleolin partnership regulates early development and ESC identity [J]. *Cell*, 2018, 174(2): 391-405.e19.
- [16] YANG J, COOK L, CHEN Z. Systematic evaluation of retroviral LTRs as *cis*-regulatory elements in mouse embryos [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(3): 113775.
- [17] XU Q, XIANG Y, WANG Q, et al. SETD2 regulates the maternal epigenome, genomic imprinting and embryonic development [J]. *Nat Genet*, 2019, 51(5): 844.
- [18] XU R, LI S, WU Q, et al. Stage-specific H3K9me3 occupancy ensures retrotransposon silencing in human pre-implantation embryos [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(7): 1051.
- [19] YANG X, HU B, HOU Y, et al. Silencing of developmental genes by H3K27me3 and DNA methylation reflects the discrepant plasticity of embryonic and extraembryonic lineages [J]. *Cell Res*, 2018, 28(5): 593.
- [20] SHEN L, INOUE A, HE J, et al. Tet3 and DNA replication mediate demethylation of both the maternal and paternal genomes in mouse zygotes [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 15(4): 459.
- [21] WANG L, ZHANG J, DUAN J, et al. Programming and inheritance of parental DNA methylomes in mammals [J]. *Cell*, 2014,

- 157(4): 979.
- [22] WANG C, LIU X, GAO Y, et al. Reprogramming of H3K9me3-dependent heterochromatin during mammalian embryo development [J]. *Nat Cell Biol* 2018, 20(5): 620.
- [23] DAHL J A, JUNG I, AANES H, et al. Broad histone H3K4me3 domains in mouse oocytes modulate maternal-to-zygotic transition [J]. *Nature*, 2016, 537(7621): 548.
- [24] LIU X, WANG C, LIU W, et al. Distinct features of H3K4me3 and H3K27me3 chromatin domains in pre-implantation embryos [J]. *Nature*, 2016, 537(7621): 558.
- [25] INOUE A, JIANG L, LU F, et al. Maternal H3K27me3 controls DNA methylation-independent imprinting [J]. *Nature*, 2017, 547(7664): 419.
- [26] INOUE A, JIANG L, LU F, et al. Genomic imprinting of Xist by maternal H3K27me3 [J]. *Genes Dev*, 2017, 31(19): 1927.
- [27] ZHAO J, YAO K, YU H, et al. Metabolic remodelling during early mouse embryo development [J]. *Nat Metab*, 2021, 3(10): 1372-84.
- [28] NAGARAJ R, SHARPLEY M S, CHI F, et al. Nuclear localization of mitochondrial TCA cycle enzymes as a critical step in mammalian zygotic genome activation [J]. *Cell*, 2017, 168(1/2): 210-23,e11.
- [29] CHI F, SHARPLEY M S, NAGARAJ R, et al. Glycolysis-independent glucose metabolism distinguishes TE from ICM fate during mammalian embryogenesis [J]. *Dev Cell*, 2020, 53(1): 9.
- [30] ZHANG L, ZHAO J, LAM S M, et al. Low-input lipidomics reveals lipid metabolism remodelling during early mammalian embryo development [J]. *Nat Cell Biol*, 2024, 26(2): 278.
- [31] ZHANG Y R, GUO S M, SHI X Y, et al. Deciphering transcription activity of mammalian early embryos unveils on/off of zygotic genome activation by protein translation/degradation [J]. *Cell Rep*, 2025, 44(1): 115215.
- [32] ZHANG C, WANG M, LI Y, et al. Profiling and functional characterization of maternal mRNA translation during mouse maternal-to-zygotic transition [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(5): eabj3967.
- [33] XIONG Z, XU K, LIN Z, et al. Ultrasensitive Ribo-seq reveals translational landscapes during mammalian oocyte-to-embryo transition and pre-implantation development [J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(6): 968-80.
- [34] SHI P, LU X, JIN K, et al. USP17L promotes the 2-cell-like program through deubiquitination of H2AK119ub1 and ZSCAN4 [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 7071.
- [35] WEI R, YUE Y, WU Y, et al. A long noncoding RNA with enhancer-like function in pig zygotic genome activation [J]. *J Mol Cell Biol*, 2025, 17(1): mjae061.
- [36] CHEN K, LIU W, ZHU J, et al. Pivotal role for long noncoding RNAs in zygotic genome activation in mice [J]. *Sci China Life Sci*, 2024, 67(5): 958-69.
- [37] LI S, YANG M, SHEN H, et al. Capturing totipotency in human cells through spliceosomal repression [J]. *Cell*, 2024, 187(13): 3284-302,e23.
- [38] SHEN H, YANG M, LI S, et al. Mouse totipotent stem cells captured and maintained through spliceosomal repression [J]. *Cell*, 2021, 184(11): 2843-59,e20.
- [39] IGARASHI H, TAKAHASHI T, NAGASE S. Oocyte aging underlies female reproductive aging: biological mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Rep Med Biol*, 2015, 14(4): 159-69.
- [40] HUANG J, CHEN P, JIA L, et al. Multi-omics analysis reveals translational landscapes and regulations in mouse and human oocyte aging [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(26): 1023.
- [41] ALMEIDA-REIS S, CARVALHO A, DIAS C, et al. Mitochondrial dysfunction in advanced maternal aged cumulus cells: a possible link to ATP synthase impairment [J]? *Biomolecules*, 2024, 14(3): e12234.
- [42] BERNSTEIN L R, MACKENZIE A C L, CHAFFIN C L, et al. Gonadotropin elevation is ootoxic to ovulatory oocytes and inhibits oocyte maturation, and activin decoy receptor ActRIIB:Fc therapeutically restores maturation [J]. *Rep Biol Endocrinol*, 2024, 22(1): 52.
- [43] LEA R G, MCCRACKEN J E, MCLNTYRE S S, et al. Disturbed development of the preimplantation embryo in the insulin-dependent diabetic BB/ERat [J]. *Diabetes*, 1996, 45(11): 1463-70.
- [44] ZHANG C H, QIAN W P, QI S T, et al. Maternal diabetes causes abnormal dynamic changes of endoplasmic reticulum during mouse oocyte maturation and early embryo development [J]. *Rep Biol Endocrinol*, 2013, 11(1): 31.
- [45] PAN S, ZHANG L, YANG X, et al. Maternal dietinduced alterations in uterine fluid sncRNAs compromise preimplantation embryo development and offspring metabolic health [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 31.
- [46] JORGENSEN V, BAO M, JUNYENT S, et al. Efficient stem cell-derived mouse embryo models for environmental studies [J]. *Dev Cell*, 2025, doi: 10.1016/j.devcel.2025.08.004.
- [47] RIVEIRO A R, BRICKMAN J M. From pluripotency to totipotency: an experimentalist's guide to cellular potency [J]. *Development*, 2020, 147(16): dev189845.
- [48] DU P, WU J. Hallmarks of totipotent and pluripotent stem cell states [J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31(3): 312-33.
- [49] MACFARLAN T S, GIFFORD W D, DRISCOLL S, et al. Embryonic stem cell potency fluctuates with endogenous retrovirus activity [J]. *Nature*, 2012, 487(7405): 57-63.
- [50] YANG M, YU H, YU X, et al. Chemical-induced chromatin re-modeling reprograms mouse ESCs to totipotent-like stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(3): 400-18,e13.
- [51] YANG J, RYAN D J, WANG W, et al. Establishment of mouse expanded potential stem cells [J]. *Nature*, 2017, 550(7676): 393-7.
- [52] YANG Y, LIU B, XU J, et al. Derivation of pluripotent stem cells with *in vivo* embryonic and extraembryonic potency [J]. *Cell*, 2017, 169(2): 243-57,e25.
- [53] TAUBENSCHMID-STOWERS J, ROSTOVSKAYA M, SANTOS F, et al. 8C-like cells capture the human zygotic genome activation program *in vitro* [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(3): 449-59,e6.
- [54] MAZID M A, WARD C, LUO Z, et al. Rolling back human pluripotent stem cells to an eight-cell embryo-like stage [J]. *Nature*, 2022, 605(7909): 315-24.
- [55] WHIDDON J L, LANGFORD A T, WONG C J, et al. Conservation and innovation in the DUX4-family gene network [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(6): 935-40.
- [56] DE IACO A, PLANET E, COLUCCIO A, et al. DUX-family transcription factors regulate zygotic genome activation in placental mammals [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(6): 941-5.
- [57] HENDRICKSON P G, DORAIS J A, GROW E J, et al. Con-

- served roles of mouse DUX and human DUX4 in activating cleavage-stage genes and MERVL/HERVL retrotransposons [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(6): 925-34.
- [58] FU X, WU X, DJEKIDEL M N, et al. Myc and Dnmt1 impede the pluripotent to totipotent state transition in embryonic stem cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(7): 835.
- [59] FU X, DJEKIDEL M N, ZHANG Y. A transcriptional roadmap for 2C-like-to-pluripotent state transition [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(22): eaay5181.
- [60] DENG Q, RAMSKÖLD D, REINIUS B, et al. Single-cell RNA-seq reveals dynamic, random monoallelic gene expression in mammalian cells [J]. *Science*, 2014, 343(6167): 193-6.
- [61] PETROPOULOS S, EDSGÄRD D, REINIUS B, et al. Single-cell RNA-Seq reveals lineage and X chromosome dynamics in human preimplantation embryos [J]. *Cell*, 2016, 165(4): 1012-26.
- [62] FU X, ZHANG C, ZHANG Y. Epigenetic regulation of mouse preimplantation embryo development [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2020, 64: 13-20.
- [63] LIU M, YUE Y, CHEN X, et al. Genome-coverage single-cell histone modifications for embryo lineage tracing [J]. *Nature*, 2025, 640(8059): 828-39.
- [64] JIANG Y R, ZHU L, CAO L R, et al. Simultaneous deep transcriptome and proteome profiling in a single mouse oocyte [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(11): 113455.
- [65] XIONG H, WANG Q, LI C C, et al. Single-cell joint profiling of multiple epigenetic proteins and gene transcription [J]. *Sci Adv*, 2024, 10(1): eadi3664.
- [66] HUANG X, TANG X, BAI X, et al. dbEmbryo multi-omics database for analyses of synergistic regulation in early mammalian embryo development [J]. *Genome Res*, 2022, 32(8): 1612-25.
- [67] CHAI Y, ZHANG R, JIA S, et al. Toti: an integrated multi-omics database to decipher the epigenetic regulation of gene expression in totipotent stem cells [J]. *Stem Cell Rep*, 2025, 20(9): 102605.