

# 揭秘生物钟 运行背后的 分子机制

撰文

奇云（淮南联合大学）



瑞典斯德哥尔摩当地时间2017年10月2日11时30分（北京时间17时30分），瑞典皇家科学院诺贝尔奖评审委员会宣布：2017年诺贝尔生理学或医学奖授予美国科学家杰弗里·霍尔（Jeffrey C Hall）、迈克尔·罗斯巴什（Michael Rosbash）和迈克尔·杨（Michael W Young），以表彰他们在发现生物“昼夜节律”运行的分子机制上做出的重大贡献。

## 生命世界普遍存在的生物钟现象

生物钟也叫生物节律，指的是生物体随时间作周期变化的现象，包括生理、行为及形态结构等。就像机械表、电子表是钟表大家族中的成员一样，昼夜节律（circadian rhythm）是生物

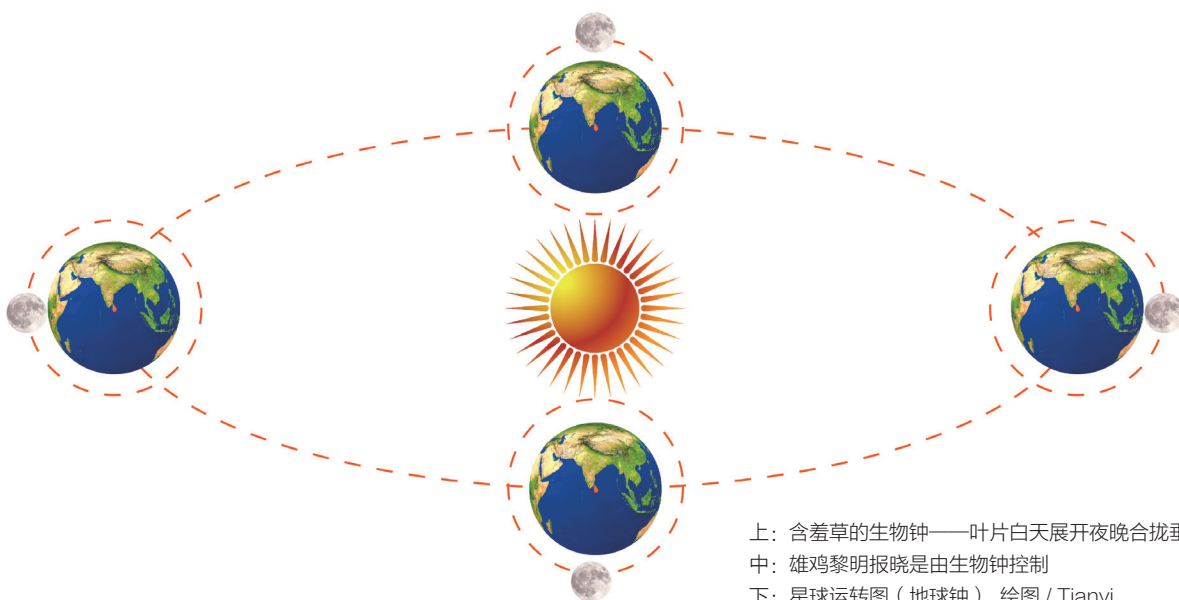
钟（biological clock）大家族中的一员。英文昼夜节律即circadian rhythm一词，源自拉丁文词汇circa（意为“大约”）和dies（意为“一天”），又叫“日节律”或“近日节律”。这是一种以接近昼夜24小时为周期的、在生命体内普遍存在的节律性生理生化和行为活动，是人们通常所说的“生物节律”或“生物钟”的一种表现。

生物钟是生命世界普遍存在的生物现象，从简单的单细胞微生物，到多细胞的植物、动物乃至人类，都有生物钟的存在。比如：雄鸡黎明报晓，猫头鹰昼伏夜出，牵牛花在凌晨四点左右开花，向日葵在日落之后低头，昙花一现往往发生在晚上八九点钟，含羞草的叶片白天展开夜晚合拢垂下，还有动物季节性休眠、迁徙、繁殖。作为万物之灵的人类，同样受着生物钟的支

配。比如：心跳和血压，肝脏功能（包括很重要的解酒能力），新细胞的形成，体温以及激素的分泌，这些都表现出一种昼夜变化。然而，仅仅当我们过着一种“现代”生活时才会注意到这一点——当我们乘飞机进行跨国旅行时，我们会遭受时差的折磨；当我们不得不倒班工作的时候也同样如此。对此我们越来越司空见惯，以致忽略了严重的后果。许多人类历史上的大灾难，比如说切尔诺贝利核电站泄漏事故、海难以及火车相撞，都发生在午夜时分，这难道都是巧合吗？想要了解生物钟在人身上的作用机理并不简单，但是我们可以从其他生物身上获取线索。通过对苍蝇、老鼠、鱼及其他许多生物的研究，人类已经逐渐知晓，上苍是如何给生灵设计了这样一种精巧无比的时钟，而且还与所处的环境严丝合缝。那么，这种生物节律是如何产生的呢？

### 生物体内为什么会有生物钟运行？

时间，在我们的基因里留下了深深的烙印。细胞是进化过程中的奇迹，因为它们是构成生命的基本物质。在其众多的神奇功能中，最令人称奇的就是它们可以感知时间的特点。从简单的细菌到蠕虫、鸟类，当然也包括我们人类，万物生灵都具有生物钟。虽然生物体内为什么会有



生物钟运行至今尚无定论，但是从生物的演化和自然选择原理来说，地球上所有的生命现象，都是大自然对生物适应环境的演化选择的结果。由于生命出现于地球形成约10亿年之后，从它诞生开始，生命最简单的生物分子之间的生物化学反应，就受到地球上各种环境因素的影响，其后的变化也是在地球环境的影响之下发生。

地球自转的周期为23时56分4秒，围绕太阳公转的周期为365.25天。地球还有一个围着它绕转的卫星，即月球。月球公转的周期为29.5天（朔望月）。这样月球绕着地球转，地球和月球一起绕着太阳转，它们的旋转律动无时无刻不在影响和控制着地球上的生物。而太阳是地球上所有生命的能源和动力，只有当生命的节奏与自然环境，特别是能量供应的节奏吻合的时候，才能在生物演化的过程中被自然选择而保存下来。举个简单的例子，植物正因为有了生物钟调控机制，才能在清晨提前启动光合作用相关基因的表达，保证在白天高效地完成光合作用。在晚上则关闭或降低了已经不需要的光合作用相关基因的表达，提前启动了低温抗性相关基因以抵抗夜间的寒冷环境。自然界存在着各种各样的生物节律，从昼夜节律(daily circadian rhythm)、月节律(circalunar rhythm)到年节律(annual rhythm)不一而足。初步发现，各司其职的“生物钟”，控制着各种生命随着昼夜

更替进行各式各样的生命活动，并逐步演化出更加复杂的生物钟网络，让不同的生命体甚至生命体的不同细胞，都在生物钟调控之下井然有序地运行着。

### 生物钟在生物体内的什么部位？

在20世纪60年代，美国约翰·霍普金斯大学的柯特·保罗·瑞科特(Curt Paul Richter)教授在大鼠的代谢、内分泌、神经等多个系统中，探索了影响生物钟行为的元件和机理。他用手术的方法，分别去掉了大鼠的肾上腺、性腺、脑垂体、甲状腺、松果体、胰腺等所有他能想到的腺体，也用了电击、振动、麻醉等各种处理，都没有能消除掉大鼠的生物节律。直到他在大鼠的大脑各个部位做了200多次手术实验后，最终发现了大鼠下丘脑的前端是大鼠生物钟的中心。当他用手术的方法损伤了下丘脑前端的时候，他发现大鼠的多种生物节律被破坏了。因此，瑞科特是第一个指出下丘脑的前端可能是哺乳动物生物钟的振荡器所在的科学家。

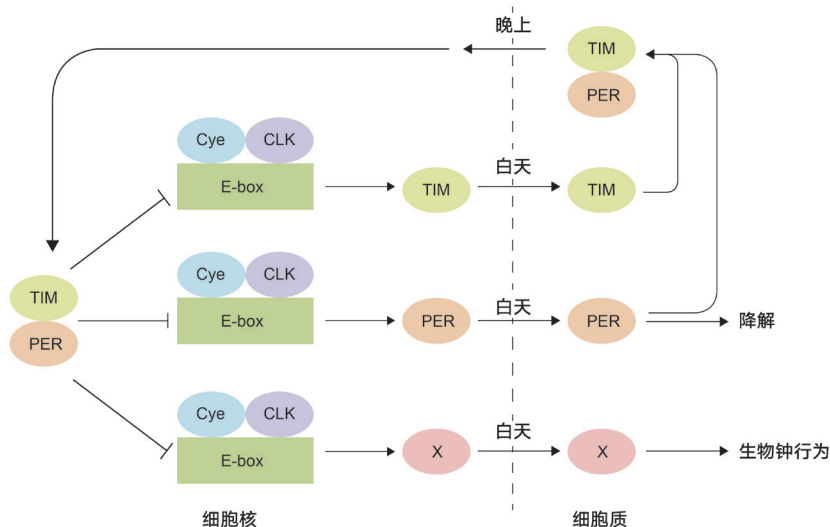
后来，美国加州大学伯克利分校的欧文·朱可(Irving Zucker)教授和他的学生弗里德里克·史泰芬(Friedrich Stephan)以及芝加哥大学的罗伯特·莫尔(Robert Moore)教授，对大鼠下丘脑做了进一步的精确损伤研究，发现位于

左：视交叉上核通过眼睛接收有关照明的信息，然后调节人体相关的生理和行为

右：美国加州大学伯克利分校的欧文·朱可



生物钟基因表达的负反馈调控机制 绘图 / Tianyi



下丘脑前端的视交叉上核 (suprachiasmatic nucleus, 简称SCN) 是启动大鼠生物钟的关键元件。因为, 当他们人为地损伤了视交叉上核时, 大鼠的内分泌节律和行为节律就丧失了。

最终对视交叉上核的生物钟身份的确定, 是通过两个关键的实验。日本东京大学的井上进一(Shin-Ichi Inouye)和川村宏(Hiroshi Kawamura), 直接测量了视交叉上核神经细胞在体内外的电生理活动, 发现视交叉上核神经细胞的电生理活动是以24小时为周期的昼夜节律活动, 由此确定了视交叉上核为哺乳动物生物钟的“振荡器”。

但后来的研究发现, 除了下丘脑视交叉上核以外, 生物体内其他许多细胞和组织, 也都有它们自己的以24小时为周期的生物钟“子钟”——“外周生物钟”(peripheral clocks)。外周生物钟的基因构成和下丘脑视交叉上核中的生物钟的基因构成基本相同, 但它们所处的环境不同, 调控方式也不完全一样。它们具体控制每个器官的活动, 比如肝脏中的糖代谢和解毒, 肾脏的排尿, 胰腺分泌胰岛素等。视交叉上核相当于生物钟的“主钟”, 起到了一个调控和协调周围组织的“子钟”保持同步运行的作用。如果把“外周生物钟”比作一个个乐队的成员, 下丘脑视交叉上核就是个乐队的“总指挥”, 通过各种途径来“指挥”各个“外周生物钟”的运行。

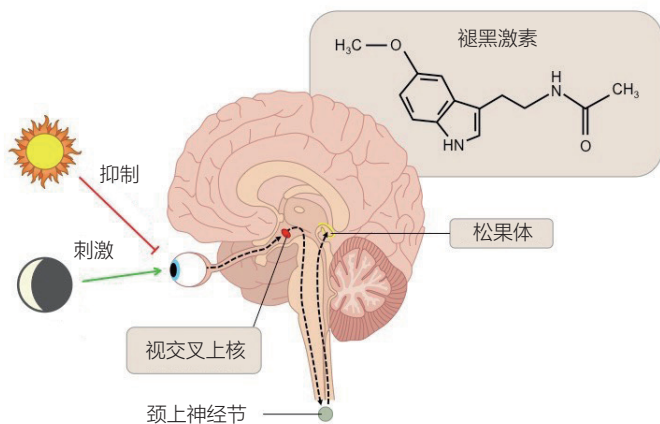
### 生物钟运行的分子机制很复杂

经过数十年的研究, 科学家现在对生物钟的构成和运行机理已经有了基本了解。如同生活中的机械钟是通过钟摆的来回摆动来引导时钟运行一样, 生物钟也需要通过一个核心元件的循环变化来引导时钟的运行。在运行的过程中, 驱动元件负责将钟摆, 也就是核心元件摆动起来; 维持摆动周期性“振荡”的元件, 则负责在钟摆到达最高点后让它摆回去。从基因层次来说, 生物钟的循环律动, 基本上是一个“基因表达的负反馈环路”, 是一个基因表达的振荡器和过程。

“基因表达的负反馈环路”看起来很深奥, 但弄清它的含义并不难。

细胞里面有数以万计的基因, 但不是每个基因都是处于“打开”的“活动”状态。要打开基因, 需要蛋白质结合到基因的“开关”上。这个“开关”的学术名称叫“启动子”(promoter), 它一旦打开, 储存在DNA中的“密码”(也就是为蛋白质分子里面的氨基酸顺序“编码”的DNA序列)就被转录到信使核糖核酸(mRNA)的分子中。这个结合于基因“启动子”上面的蛋白质分子能使“转录”过程开始, 所以叫作“转录因子”。

细胞里面还有专门的用氨基酸“装配”成蛋白质的“装配车间”, 它们按照RNA中的信息(相



松果体根据下丘脑视交叉上核的节律，周期性地分泌一种物质叫褪黑激素，这种激素进入血液，再循环到全身，就像一个“报时员”向各种细胞报时

当于“产品订单”)把20种氨基酸按一定的顺序连接起来，成为蛋白质。这个过程叫作“翻译”，即把密码中的信息变成蛋白质分子的实际序列。

在多数情况下，这些新生成的蛋白质分子都和自己基因的“开关”没有关系。打开为自己编码的基因的“任务”，由其他基因编码的蛋白质分子来执行。但是，如果一种蛋白质能够反过来作用于为自己编码的基因的“开关”，抑制自身的生成，就是一个“负反馈机制”。如果细胞里生成的这种蛋白质足够多，就可以把“自己的”基因的“开关”完全“关掉”。这相当于抽水马桶水箱里面的水面上升，最后自动关掉进水阀。如果这种蛋白质又能随后被细胞除掉(这相当于水箱的“放水”，专业术语是蛋白质的“降解”)，蛋白质对基因的抑制就可以解除，基因又开始“表达”，合成新的RNA和蛋白质。通过这种方式，这种蛋白质在细胞里面的浓度，就可以呈现周期性的变化。

蛋白质浓度的周期性变化，本身就带有时间的信息。比如：什么时候蛋白质浓度到达最高值，什么时候蛋白质浓度到达最低值。如果细胞能够“感知”这个浓度变化的“相位”，细胞就可以“知道”时间。“相位”就相当于钟表的指针。

在下丘脑视交叉上核的细胞中，起反馈抑制作

用的不是一个蛋白，而是由两个蛋白质分子彼此结合组成的“二聚体”。这两个蛋白质的名称分别为PER和CRY，为这两个蛋白质编码的基因分别叫作*per*和*cry*。把*per*和*cry*两个基因“打开”的“转录因子”也不是一个蛋白，而是由BMAL1和CLOCK两个蛋白质分子组成的“二聚体”。它们与这两个基因的“启动子”相作用，使它们开始“转录”和“翻译”的过程，产生蛋白质PER和CRY。

对于真核生物(其细胞具有“细胞核”的生物)来讲，“转录”和“翻译”这两个过程，是在细胞里面不同的地方分开进行的。“转录”发生在细胞核中，而“翻译”则在细胞质中进行。由“转录”生成的RNA必须先离开细胞核，进入细胞质中，才能够用它携带的信息指导蛋白质的合成。反过来，在细胞质中合成的蛋白质，如果要和位于细胞核中的基因相作用，首先必须进入细胞核。这一进一出，就会产生“时间差”。真核生物的细胞巧妙地利用了这个时间差，实现了由负反馈过程造成的蛋白质浓度“振荡”。

说到这里，生物钟运行的基本原理似乎很“简单”，但是在实际上，生物钟却是非常复杂的。生物钟要正常工作，必须要满足以下条件：一是能够在没有外界刺激信号的条件下“独立”工作，即生物钟有自己产生并保持基本节律的能力。二是周期必须稳定，过长或过短都不行。三是产生生物钟节律的细胞群中的各个细胞之间，振荡周期必须同步，否则细胞之间的不同节律会互相抵消。四是必须与身体的各种活动相连，这样振荡周期的信息才能传递给身体的各个部分，控制它们活动的节律。五是周期的“相位”(比如高峰出现的时间)必须可调。六是生物钟的周期必须对环境温度变化不敏感，不然的话这个生物钟就会像一块走时不准的钟表，造成混乱。所以，生物钟决不会只有前面说的负反馈回路那么简单，而是有各种复杂的“支路”和多层次的调节系统。即使是这样，生物钟是如何做到上面六点的，现在也还不是完全清楚。

生物钟有了，接下来的问题就是身体怎样“读取”生物钟的时间信息，即“看表”。第一个层次的“看”，是含有生物钟的细胞(比如下丘

脑视交叉上核里面的细胞)“读取”生物钟里面的节律,并且按照这个节律来周期性地改变细胞里面的各种活动。

细胞又没有“眼睛”,怎么来“看”生物钟的呢?在这里,下丘脑视交叉上核里面的细胞采取了一个非常聪明的办法,就是让许多基因的活动周期与*per*基因和*cry*基因同步。既然这两个基因的蛋白质产物PER和CRY的浓度以24小时为周期上下“振荡”,如果能让其他基因的蛋白质产物也与这两个蛋白质一起振荡,不就相当于“看表”了嘛!

下丘脑视交叉上核里面的细胞“看”生物钟时间的问题解决了,这些细胞又如何“告诉”身体里面的其他细胞现在是什么时间,让身体各处的细胞也按这个节律活动的呢?这里面有两条主要途径。第一条途径:下丘脑视交叉上核是大脑的一部分,里面的细胞本来就是神经细胞,它们可以通过与全身各处联系的“神经纤维”来传达信息。另一个途径是通过激素。下丘脑视交叉上核把生物钟的信息先经过神经联系传到大脑的另一个叫“松果体”(pineal gland)的结构。松果体根据下丘脑视交叉上核的节律,周期性地分泌一种叫“褪黑激素”(melatonin)的物质。这种激素进入血液,再循环到全身,就像一个“报时员”向各种细胞报时。

### 三位诺奖得主做出了哪些重大贡献?

作为当今世界上最负盛名的科学奖励系统,诺贝尔奖代表了人类科学领域的最高荣誉,获奖的成果也基本上代表了人类科学研究的最新成就和最高水平。生物钟几乎可以说是一个魔法般的存在。试想一下,仅仅依靠基因与蛋白质这样的生物材料,大自然竟然搭建出了一个如同钟表一样准确的计时系统,而且还是光控可调、自稳抗干扰的。发现这一系统背后奥秘的人,获得诺奖无疑是当之无愧的。

其实,开创生物钟基因研究先河的人,并不是去年的三位获奖者,而是美国加州理工学院的已故生物学家西摩·本泽(Seymour Benzer)和他的学生罗纳德·科诺普卡(Ronald Konopka)。

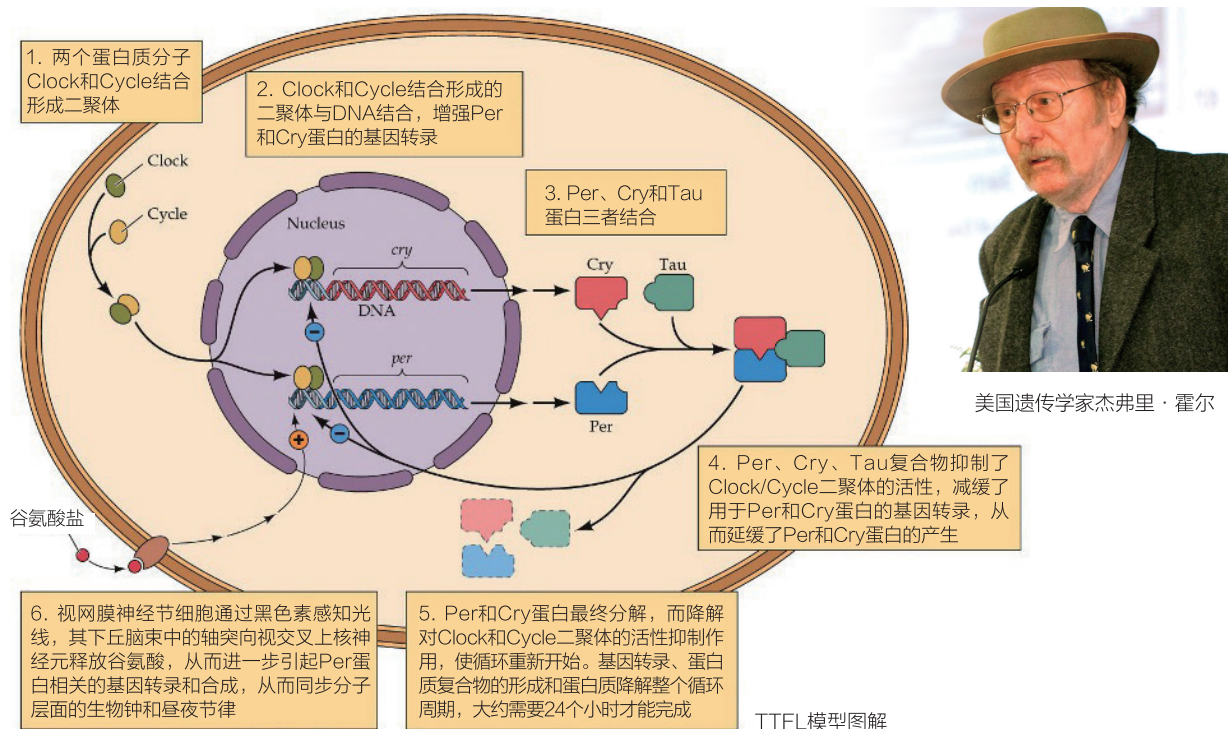
在20世纪70年代,本泽师生二人首先用化合物诱导了果蝇DNA的突变,然后从发生了基因突变的子代果蝇中筛选到了生物钟行为发生改变的果蝇突变种。这些遗传学实验,揭示了果蝇的生物钟基因的存在。本泽和科诺普卡将他们发现的生物钟基因命名为“周期基因”(period gene,简称*per*),并在果蝇的基因染色体上确定了*per*基因的位置。然而,尽管这个生物钟基因被发现,调节果蝇昼夜节律的具体机制仍是个谜。

霍尔和罗斯巴什在关注到本泽和科诺普卡发表的关于果蝇生物钟突变种的时候,注意到了这一发现的重大意义。于是,他们就决定合作来克隆果蝇的生物钟基因。经过了2年多的努力,霍尔和罗斯巴什小组终于在1984年从果蝇中克隆到*per*基因。

霍尔和罗斯巴什发现,被*per*基因编码的PER蛋白,在夜间会在果蝇体内积累,到了白天又会被分解。所以PER蛋白的浓度会循环振荡,振荡周期正是24小时,和昼夜节律相同。罗斯巴什认为,PER蛋白和*per*基因形成了一个抑制反馈的环路,PER蛋白可以抑制基因合成自己,从而在一个连续的循环式节律过程中自己调节自己的浓度。当节律基因*per*活跃时,对应的信



美国加州理工学院的生物学家西摩·本泽



美国遗传学家杰弗里·霍尔

使RNA被生产出来。信使RNA被转移到细胞质中, 并作为模板生产PER蛋白。PER蛋白在细胞核中累积, *per*基因活性受到抑制, 这导致了抑制反馈机制, 它是昼夜节律的基础。这就是前面提到的“基因表达的负反馈环路”——转录翻译负反馈调控 (transcription translation negative feedback, TTFL) 模型。

这样一个反馈调控机制解释了细胞蛋白水平的振荡是怎么产生的, 但是谜题的某些部分仍不是很清楚。为了抑制*per*基因的活性, 产生于细胞质中的PER蛋白质必须达到细胞核, 也就是遗传信息存在的地方。但是它是怎么去到这里的? 这种振荡的频率又是受什么控制的呢? 1994年, 迈克尔·杨发现了第二个与生物钟有关的基因, 被命名为“恒定基因” (timeless gene, 简称*tim*)。Tim基因可以编码TIM蛋白, 同样为正常节律所需。迈克尔·杨做了一个漂亮的实验, 发现TIM蛋白会结合到PER蛋白上, 然后两个蛋白可以一起进入细胞核, 并且在那里抑制*per*基因的活性, 让这个抑制反馈回路得以闭合成环。Tim基因与果蝇对光的感受性有关, 所以说, 果蝇的生物节律既是一个可

以在短时间内维持自身准时运转的稳定系统, 又是一个在长时间内可以受到光线影响, 重新定义自身周期的动态系统。

生物钟的整个周期是这样的: 随着白昼的到来, *per*与*tim*两种基因不断表达, 虽然表达增加, 但起初不足以稳定PER蛋白的浓度。而到了中午时, 随着PER蛋白和TIM蛋白的累积, 这两种蛋白形成二聚体。在下午时, 这些二聚体进入细胞核, 开始抑制*per*和*tim*基因的表达。到了傍晚, *per*和*tim*基因的表达开始被抑制, 细胞质内的PER蛋白和TIM蛋白的浓度开始渐渐降低。夜越来越深了, PER蛋白和TIM蛋白的浓度持续降低, 由于PER蛋白和TIM蛋白没有办法形成二聚体, 就没有办法继续抑制*per*与*tim*两种基因的表达。于是, 又回到了这个周期的最开始部分。

这种抑制反馈机制, 解释了细胞蛋白水平如何出现振荡。但这种振荡的频率周期为什么维持在24小时呢? 是什么在控制振荡的频率呢? 迈克尔·杨又确认了另一个基因, 可以双倍编码DBT蛋白, 延缓了PER蛋白的积累。这就解释了振荡的周期为什么会稳定在24小时左右。这个基因被命名为“双倍时间基因” (doubletime gene, 简称*dou*)。



2017年诺贝尔生理学或医学奖获得者，从左到右为：杰弗里·霍尔、迈克尔·罗斯巴什和迈克尔·杨

### 研究生物钟的重要意义在哪里？

生物钟的研究虽然是一个老课题，但由于其基本机理研究的复杂性，从分子和基因层次到生物层次的节律产生实际上是典型的复杂系统涌现行为，具有很强的挑战意义。生物钟研究是生命科学领域中备受瞩目的前沿研究方向，有着重要的理论和实践意义。这一研究将给患者提供更精准的检查和治疗方案，以获得更佳疗效，减少不良反应和副作用。例如：利用生物钟特征治疗癌症，可以降低化疗对正常细胞损伤、提高癌细胞杀伤率。因为正常的细胞分裂和增殖有昼夜节律，而癌细胞全天候处于较高的增殖分裂状态，所以，在正常的细胞分裂最少的时候进行化疗，就可最大限度地发挥疗效，产生最小的副作用。

在分子农业和遗传育种方面，生物钟调控机制和其调控的输出途径显得尤为重要。在增强植物的适应性、抗逆性，改造作物的地域性限制和提高作物产量和品质等农艺性状等方面，有着极具前景的应用价值。目前，研究成果已揭示出生物钟调控的诸多农艺性状相关的生理生化途径，如：杂种优势、非生物和生物胁迫抗性、光合高效利用、淀粉贮藏和糖类代谢、优质与高产作物育种，以及农产品的耐贮藏特性等。

对生物钟的进一步研究，一是要在理论上继续深入了解和阐明生物钟的运行和调控机理，包括发现更多的生物钟运行和调控组件基因并揭示组件之间的相互关系和相互作用，发现除转录和翻译之外的更多可能的生理生化振荡器，了解生物钟在不同物种中的共同点和不同点，揭示生物钟的演化过程等。二是在应用上发现更多的生物钟和人类疾病的关系，发现更多潜在的治疗和生物钟行为相关疾病的药物靶点，以及开发更多的调控生物钟和治疗相关疾病的药物。三是发现生物钟在农业和林业上的更多应用，如利用生物钟行为来避免病虫害和提高农作物产品中营养和药物成分的产出。相信随着对生物钟的进一步了解，该领域的研究成果也将层出不穷。

生物钟运行的分子机制研究获诺奖对于很多人来说有些意外，毕竟生物学热点众多。但仔细想一想我们会发现，获奖的不是生物钟，而是其分子机制研究。这一课题并不冷门，它所涉及的分子生物学研究本身就是人们关注的焦点。其次，该课题具有高度学科交叉性，是复杂系统体现其涌现特征极好的实例，值得不同学科背景的科学家共同探索。

（责编 桑新华）