

撰文·供图 郭卫

20世纪以来,在研究糖类的代谢过程以及相关的调控机制领域,涌现了很多里程碑式的研究成果,一幅日渐清晰的画卷逐步展开,同时也丰富和深化了人们对于诸多生命现象的认知。

序曲:糖原的发现

19世纪前半叶,西方科学充满了创造性的研究发现。在化学和物理学大发展的基础

上,新陈代谢的研究逐渐成为化学家和生理学家共同关注的内容。法国人克洛德·贝尔纳就是在这种时代背景下,放弃从医而进入生理学研究领域,最终成为现代实验生理学的真正奠基人。

当时的科学界已经对营养物质进行了诸多的研究,并且分离和描述了一些复杂的有机化合物,而机体利用氧化作用来供能的观念也流行起来。但是,对

于提供能量的物质是什么以及体内的氧化过程是在什么部位发生的却仅有猜测。当时主流的观点认为,食肉类动物血液中的糖分完全是由所摄取的食物来供给的,并且认为由植物所合成的糖分是动物血糖的根本来源;机体利用植物来源的食物来支持自身的氧化过程,而这种过程发生在血液或者肺中。

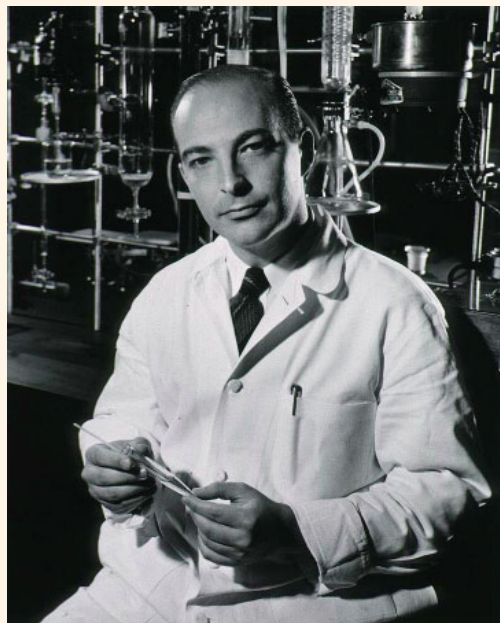
为了检验从食物中吸取的糖分经过肝脏、肺或其他一些组

织时被破坏的理论，贝尔纳连续几天用糖类食物来喂养狗，然后在食物消化期间将它们处死，他在肝静脉中发现了大量的糖。而在对照实验中（以肉类喂狗），他发现尽管肠道中没有糖，但在肝静脉中却有很多。后经定量分析发现，离开肝脏的糖的量远多于从血中进入肝脏的量。在实验中，贝尔纳将新鲜分离得到的实验狗的肝脏中的糖类冲洗，过夜后，又发现肝脏中富集了糖。据此，贝尔纳提出了糖的异生理论。那么，肝脏中何种物质变成了糖呢？后续的研究发现，糖是由肝组织中不溶性的物质形成的，经过努力，贝尔纳在1857年分离得到了该物质，并命名为糖原。

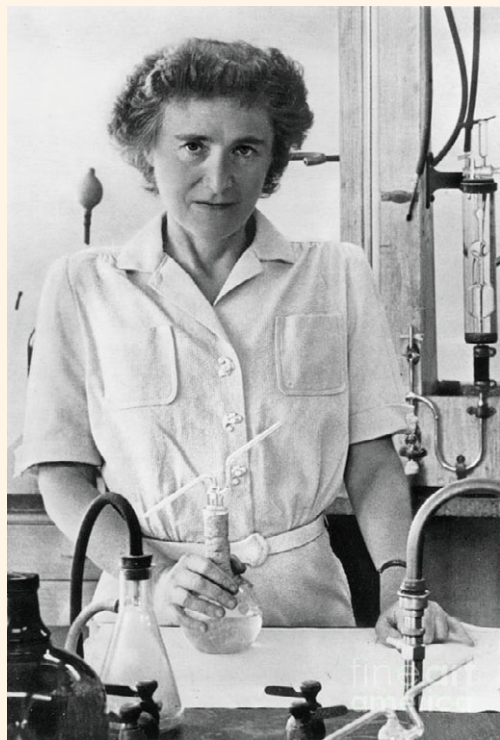
据此，他提出了理论：血中的糖不是直接来自食物而是来自肝脏，肝脏能把葡萄糖合成糖原储存起来，肝糖原又可分解成葡萄糖送回血液，供机体所需。而且，他还发现中枢神经系统具有明显的调节血糖的作用——贝尔纳在针刺青蛙脑部延髓区域后，发现糖类出现在血液和尿液中，也就是说出现了糖尿病症状。

贝尔纳的实验发现，不仅打破了前人在该领域内的固有观念，为糖尿病的研究奠定了重要的基础，而且在科研过程中，他的科研思想也逐步成熟起来。在其《实验生理学在医学中

的应用教程》等著作和很多重要场合，他都不遗余力地提倡决定论——“在生命体特有的现象中以及在其他一切事物中，彼此之间都有一种全面的、必然的联系。”



卡尔·斐迪南·科里



格蒂·特蕾莎·科里

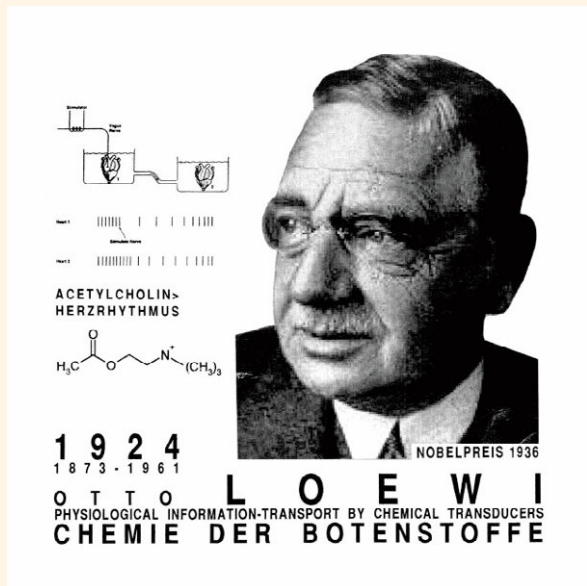
第一乐章：糖原磷酸化酶的发现

从19世纪后半叶到20世纪初，动植物代谢过程的研究是当时科学界的一个研究焦点，而激素研究也方兴未艾。到20世

纪20年代,人们已经知道异常的糖代谢会导致糖尿病,而胰岛素可以控制该疾病,同时也观察到胰岛素对于血糖浓度的效应,但是科学家还不知道胰岛素起作用的机制以及糖类的代谢是如何被调控的。在此研究历程中,卡尔·斐迪南·科里和格蒂·特蕾莎·科里夫妇的贡献无疑是别人难以超越的。

科里夫妇是科学界令人羡慕的一对神仙眷侣,他俩同年出生,成长在相同的地方(现在捷克共和国的布拉格),就读于同一所大学;结为夫妻后,比翼双飞、相濡以沫,最终分享了1947年的诺贝尔生理学或医学奖。

第一次世界大战后,民生凋敝,很多国家的科学研究处于惨淡的境地,而反犹主义的盛行以及科学界对于妇女从事科学研究的歧视,都导致这对新毕业的博士就业非常困难,他们曾多次申请工作,但是屡遭拒绝。在得到美国的职位之前,科里先生曾短暂地跟随著名药理学家奥托·洛伊维(1921年因发现乙酰胆碱作为神经递质而获得1936年诺贝尔生理学或医学奖)做科研助手,这激发了他对神经系统调控新陈代谢的研究兴趣,而科里夫人的父亲也曾深受糖尿病的折磨,因此当他们有机会自由选择课题的时候,他们逐渐将研究的兴趣转向了糖代谢。



奥托·洛伊维



科里循环

在极其简陋的实验条件下,科里夫妇发展了定量的方法来研究糖在机体内的循环。他们发现,胰岛素可以导致葡萄糖氧化并在肌肉和肝脏中转化成糖原,而肾上腺素的作用相反——可以降低肌肉和肝脏中的糖原。其他研究者也已发现,肌肉中的糖原对血糖的贡献不大,他们推测,肌肉中的糖原一定是转化成一种中间物以后再经过血液循环进入肝脏。后来,他们发现该中间物是乳酸,从而提出了“科里循环”。该理论深化了机体对于能量使用和储存的认识,对于理解激素在调控生物能量代谢的认识上有不可磨灭的贡献。

在提出科里循环后,他们不满足于描述葡萄糖在整体动物中的转化现象,他们试图研究葡萄糖在体外的命运。科里等人利用磨碎的青蛙肌肉作为研究对象,通过无氧培养来寻找代谢中间产物,这使得糖原体外合成成为可能,为逆向研究分解代谢的过程提供了有力的帮助。利用该实验体系,他们发现葡萄糖被转化成了葡萄糖-1-磷酸。该物质是如何产生的以及它的命运如何呢?这些问题也使科里实验室的研究重点转向了酶的研究。

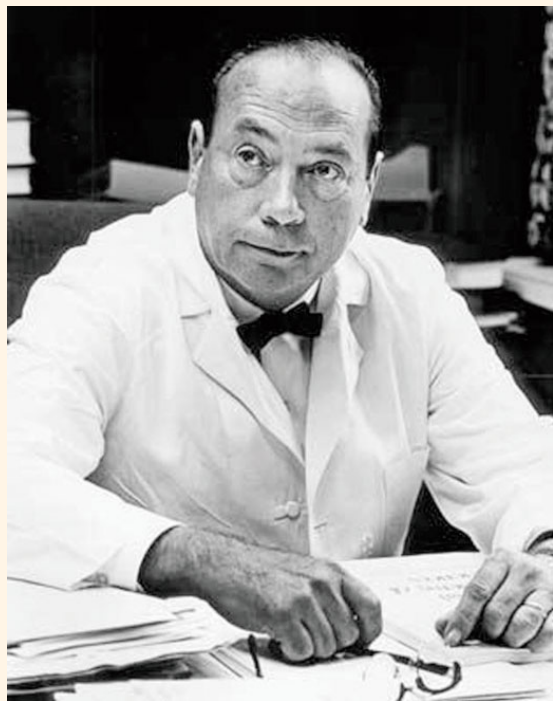
在1938—1939年期间,科里实验室发现了糖原磷酸化酶,并证实该酶具有双向调控机

制——糖原磷酸化酶有两种类型：磷酸化酶a和磷酸化酶b（无活性）。这也是在活细胞体外得到的第一个大生物分子，在其结构分析的基础上，发现酶的功能可以被磷酸化、去磷酸化和变构物所调节。这在整个生物化学界引起了极大的震动，当时很多有志于从事代谢研究的年轻人，都以能发现一种新的酶为荣。后续一系列糖代谢相关的酶被分离纯化出来，这些研究逐渐完善了人们对于糖类代谢的认知。

卡尔内向、腼腆、不善言辞，但格蒂热情外向，充满激情，且博览群书——对历史、传记、当代小说和科学进展都有很广泛的理解。在这种氛围下，他们的实验室逐渐成为酶学研究的重镇，很多优秀年轻人的科学殿堂之路就是从这里起步的，其中厄尔·威尔伯·萨瑟兰无疑是最重要的一位。

第二乐章：cAMP的发现

在第二次世界大战中大难不死的厄尔·威尔伯·萨瑟兰，在战后却面临选择工作去向的困惑——去做一名临床医生解决病人的痛苦还是做一名研究人员深入认识疾病的机制。在科里先生的劝说下，萨瑟兰最终选择加入科里实验室开展激素作用的机制研究。当时激素作用的原理研究，举步维艰。这主要是因为当时比较流行的观念认



厄尔·威尔伯·萨瑟兰



化学家
里昂·赫佩尔

为如果脱离了细胞的结构，该类研究是根本无法进行的，而当时对细胞结构的研究还处于初始阶段。萨瑟兰不得不另辟蹊径，他将研究对象从整体动物过度到单个器官，更进一步到器官切

片，再到细胞提取物。

在萨瑟兰之前，科里实验室已经发现肾上腺素和胰高血糖素可促进糖原分解，但具体的机制不清楚。萨瑟兰从肾上腺素的作用机制入手，发现血糖浓度的



埃德蒙·费希尔

埃德温·克雷布斯

增加与一种称为磷酸化酶的活性有关。该酶存在活化型和钝化型两种,而从钝化型转变成活化型需要一种激酶,在此过程中还需要三磷酸腺苷(ATP)来提供磷酸。那么激酶是以什么方式存在的呢?其活化又是如何被调控的呢?

他们知道磷酸化酶存在于细胞质里,于是设计了相应的实验。一组是把肾上腺素直接加到细胞质里,发现磷酸化酶的活性并不增加;另一组是把肾上腺素加到有细胞膜的细胞质里,产生了血糖升高的现象。也就是说,这个关键点存在于细胞膜上。然后,他们让肾上腺素和细胞膜一起在适宜的温度下发生反应,用高温将肾上腺素和膜上所有的酶都破坏掉,再将经此精心处理后的成分与磷酸化酶发生作用。结果发现,磷酸化酶的活性大大增加。这是世界上第一次证明,肾上腺素可

直接调节磷酸化酶的活性,第一次将激素直接与酶的活性联系在了一起。从这个实验同时也可以推测,肾上腺素和细胞膜共同作用时,产生了一种使磷酸化酶活化的因子,而且这种因子在高温下还有很高的稳定性。后来发现,该物质由一个磷酸、一个戊糖和一个腺苷组成,但却不是AMP,究竟这个物质是什么呢?它和肾上腺素的作用以及磷酸化酶的活化之间存在何种联系?为搞清该问题,萨瑟兰写信请教化学家利昂·赫佩尔——一位对结构研究有专长的学者。赫佩尔同时也收到了华盛顿大学博士大卫·利普金写给他的求助信,后者发现ATP可以水解产生一个物质,该物质有一个磷酸、一个碱基……看完信后他认为很可能萨瑟兰与利普金发现的是同一个物质。于是他就分别将信交换给了对方。他俩接到信后也觉得非常

有趣。于是三人共同研究认为这是一个新物质,即cAMP(环磷酸腺苷,Cyclic Adenosine monophosphate)。

随后萨瑟兰又深入研究了cAMP的产生机制,他发现在细胞膜上存在一种腺苷酸环化酶。该酶在细胞接受肾上腺素刺激后被激活,可以把细胞里的ATP转换成cAMP,cAMP就可以在细胞内活化糖原磷酸化酶,加速分解肝糖。在其他多种组织中,他们发现该机制也具有普遍性。据此萨瑟兰提出了著名的“第二信使假说”——肾上腺素是细胞外的第一信使,它必须经由一道信号转换的程序,在细胞内产生真正调控生理功能的第二信使cAMP。

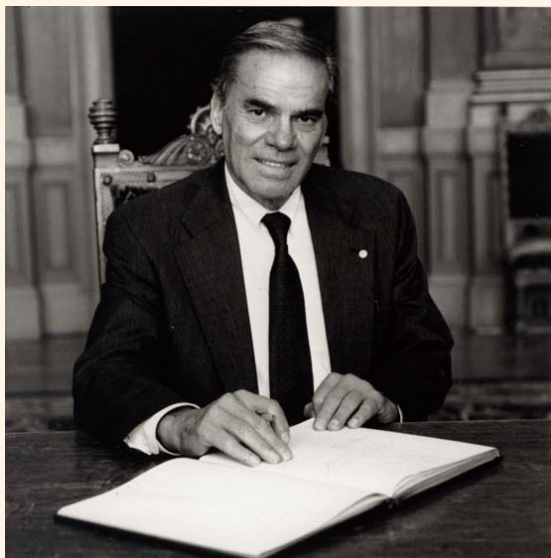
第二信使假说影响了很多,他们纷纷加入到信号转导途径的研究工作中来。但很多关键的问题依然是悬而未决,如cAMP是如何激活糖原磷酸

化酶的,肾上腺素和cAMP之间的信号转导是如何实现的,这些问题也在等待和召唤新的勇士“上”“下”求索。

第三乐章:蛋白的可逆磷酸化修饰和蛋白激酶A的发现

1953年,埃德温·克雷布斯和埃德蒙·费希尔在华盛顿大学组成了研究小组。克雷布斯在科里实验室接受博士后训练,了解科里夫妇的工作,知道肌肉中的磷酸化酶需要AMP作为辅助因子;而费希尔研究了马铃薯中的磷酸化酶,却发现该酶活性并不依赖AMP。这种差异让他们打算鉴定出促进磷酸化酶激活的因子,但工作一直没有突破。

而几乎与此同时,萨瑟兰正在肝脏中开展类似的工作,并发现cAMP可以激活磷酸化酶。于是,克雷布斯和费希尔打算在此基础上开展深入的研究。他们按照萨瑟兰的方法将cAMP加入到粗制糖原磷酸化酶中,结果发现在ATP以及镁离子存在的前提下,该酶的活性显著增强;然而当将cAMP加入到纯糖原磷酸化酶后并没有出现酶活性增强的现象,这个结果说明cAMP并不能直接影响该酶的活性,还需要粗制酶中的一些其他组分参与。随后他们利用层析的方法分离得到一种可以激活糖原磷酸化酶的酶,该酶激活糖原磷酸化酶的方式是直接向糖原磷酸化



马丁·罗德贝尔

酶添加一个磷酸基团,因此称为蛋白激酶,随后又发现了蛋白磷酸酯酶。这些研究说明蛋白的磷酸化修饰是一个可逆过程,据此提出了糖原磷酸化酶调节的可逆磷酸化学说。

克雷布斯继续研究cAMP通过磷酸化激酶来促进磷酸酶活性的分子机制。1968年,他们在兔子骨骼肌中发现并分离到cAMP依赖的蛋白激酶(后命名为PKA),并发现该酶完全依靠cAMP。该发现在第二信使与蛋白可逆磷酸化修饰之间建立了紧密的联系。也就是说,cAMP必须经过一连串蛋白激酶的作用,像推骨牌一般,利用蛋白磷酸化的作用,把这个信号一级又一级地放大。后来发现,蛋白磷酸化作为细胞内一个重要的调控机制,在很多生命过程中都发挥着重要作用。

第四乐章:GTP效应的发现

“第二信使”理论提出后,萨瑟兰经常被邀请去介绍这个工作。1965年,马丁·罗德贝尔在国立卫生研究院(NIH)聆听了萨瑟兰的讲座并被深深吸引。经过长期思考,他认为该理论还比较粗糙,于是在1969年提出了生命体中“信号转导”的概念,认为生命体和电脑的信息处理系统有类似之处,都要存在三个组件——接收器(细胞受体,从外界接受信息),转换器(处理信息在细胞膜上的传递),放大器(放大信号促发细胞内的反应或者向其他细胞传递信息)。

罗德贝尔最初主要研究脂肪代谢,20世纪60年代早期,他的兴趣转移到脂肪细胞是如何合成和释放脂蛋白脂酶的研究上。后来他们建立了脂肪细胞的分离培养方法,这使得他们

首次可以在细胞上直接观察胰岛素的效应——胰岛素直接与细胞上的受体结合而刺激葡萄糖的代谢。在提出“信号转导”理论后，他们开始研究一种名为胰高血糖素的激素从细胞膜上解离的问题。在实验中，他们发现GTP可以快速地 将胰高血糖素从细胞受体上解离出来，而胰高血糖素结合到细胞膜上也可以促进GTP的形成。后来发现GTP可以激活鸟嘌呤核苷酸蛋白（后来命名为G蛋白），而该蛋白可以引发细胞内的代谢效应。他们认为G蛋白就是信号转导新模型中的转化器。至此，他们还是不能准确地解释GTP是如何激活了G蛋白，或者GTP是如何使得信息传递成为可能的；另外，这种“GTP效应”是仅仅发生在大鼠肝脏细胞膜上的特殊现象，还是细胞中的一种普遍机制？后来他们利用化学合成的GTP类似物（在正常的代谢过程中不会被降解）在很多其他细胞系统上进行检测，发现单独使用合成的GTP均可以激活G蛋白。

第五乐章：G蛋白的纯化

家学渊源的艾尔佛列·古曼·吉尔曼在获得博士学位后，到萨瑟兰实验室做博士后，主要在萨瑟兰的合作者西奥多·瑞尔教授（他在发现cAMP和腺苷酸环化酶的实验中发挥了重要的作用）的指导下研究甲状腺中的

cAMP。1969年，吉尔曼建立了自己的实验室后，他发展了检测cAMP的简单而灵敏度较高的方法。他本来打算从生化入手纯化腺苷酸环化酶，但过程非常不顺利。

在当时研究cAMP的浪潮中，加州大学旧金山分校的戈登·汤金斯教授培养了一种名为S49的老鼠血癌细胞，该细胞上存在肾上腺素受体。若加入肾上腺素，细胞上的腺苷酸环化酶就被活化，导致细胞中cAMP大量增加；有趣的是，这可导致细胞死亡。汤金斯立刻认识到这一系统的重要价值——可以利用该细胞来筛选参与cAMP作用的种种蛋白突变。简单地说，把肾上腺素加到细胞中，大部分细胞会死亡，能够存活下来的都一定发生了某些突变：有的是激素受体坏了，有的是环化酶坏了，还有的是cAMP激酶坏了。

吉尔曼选中了一个名为Cyc-的突变种，这个细胞表面有正常的受体，在加了激素之后，腺苷酸环化酶未见活化，cAMP也不增加，细胞正常存活。初看之下，似乎是细胞的环化酶坏了！吉尔曼将一个含有活性正常环化酶细胞膜的蛋白质溶出来，加入Cyc-的细胞膜中，结果真的可以看到激素刺激环化酶活化的现象。此结果至少证明了激素受体与腺苷酸环化酶分别是两个不同的蛋白质。



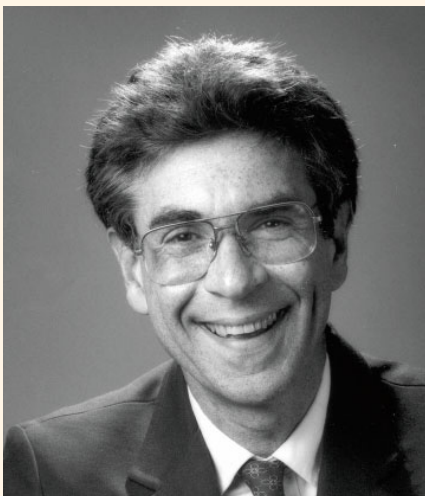
艾尔佛列·古曼·吉尔曼

接下来，吉尔曼把活性正常的环化酶破坏掉，再加进Cyc-的细胞膜中，仍然可以看到激素所刺激的环化酶活性。这个环化酶从何而来？一个合理的解释就是，原先Cyc-细胞中的环化酶并没有被损坏掉，而是受体在把信号传给环化酶时，需要一个中继站。一旦Cyc-细胞中的中继站坏了，即使环化酶的活性正常，它也无法再被受体活化。幸运的是，吉尔曼在破坏好的环化酶时，还好没有把好的中继站也同时弄坏了。如果这个推论是正确的话，那么吉尔曼就应该可以用这个系统来纯化那个想象中的中继站。

1986年吉尔曼实验室分离纯化得到了G蛋白，它包含三个蛋白组分，分别命名为 G_{α} 、 G_{β} 、 G_{γ} ，至此从受体到环化酶间信号传递的真象才大白于世：在无激素刺激时， G_{α} 蛋白和GDP结合



布莱恩·克比尔卡



罗伯特·莱夫科维茨

而与、形成没有作用的复合体；当受体与激素结合后，会促使蛋白释放出GDP，再与GTP结合，同时会促使、离开。单独与GTP结合的蛋白，可以直接活化AMP环化酶。但蛋白本身也是一个GTP水解酶，它立刻将携带的GTP水解出GDP，尔后蛋白重新再与、结合成失活的复合体，而终止一轮信号传递过程。

自此，科学界对于糖类的代谢调控过程才有了清晰而完整的认识。

第六章：肾上腺素受体的结构解析

当罗德贝尔实验室忙于研究信号转导机制的时候，在NIH另一实验室中，罗伯特·莱夫科维茨正在研究如何利用放射性同位素标记受体。

迟至20世纪70年代，受体

本身是什么物质依然存在很大争议，许多人认为并不存在此类具体结构。而在萨瑟兰提出“第二信使”学说后，很多人认为腺苷酸环化酶就是受体，以至于1971年萨瑟兰在诺贝尔奖的颁奖典礼上，还持有上述观念。

1968年到1971年间，莱夫科维茨采用放射性标记的方法标记了糖皮质激素和肾上腺素，证明了受体是独立于腺苷酸环化酶而存在的。通过逐步完善分离受体的方法，莱夫科维茨小组纯化了型肾上腺素能受体，并发现将其放回细胞中后可以有受体活性，从而使所有人最终都相信了受体的存在。

在20世纪80年代中期，布莱恩·克比尔卡在莱夫科维茨的实验室进行博士后训练，他在针对GPCR（G蛋白偶联受体）的基因研究中起到重要作用。在创建自己的实验室后，依靠诸多技

术创新，2011年解析了型肾上腺素能受体与G蛋白三聚体复合物的晶体结构，第一次在原子水平上阐明了GPCR参与信号转导的机制。

由于在GPCR研究上的重要贡献，罗伯特·莱夫科维茨和布莱恩·克比尔卡分享了2012年诺贝尔化学奖。

时至今日，发端于糖代谢的调节机制研究，早已经跨越新陈代谢的研究领域，成为生命科学研究的热门领域。更多信号分子的亚型被发现，不同通路之间的交叉对话被发现，它们一起构成了庞大的信息网络，常常“牵一发而动全身”。但是前述那些里程碑式的研究，依然是最耀眼的节点，显示了原创性突破的重要价值。

（责编 桑新华）