



# 生物钟: 基因表达的振荡器

俞强

中国科学院上海药物研究所, 上海 210203

E-mail: [qyu@sibs.ac.cn](mailto:qyu@sibs.ac.cn)

收稿日期: 2017-11-26; 接受日期: 2017-12-06; 网络版发表日期: 2018-01-11

2017年的诺贝尔生理学或医学奖奖给了发现生物日节律(circadian rhythm)基因和分子机制的研究工作. 美国的3位科学家Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash和Michael W. Young分享了这一科学界的最高荣誉. 这项工作揭示了生物钟的基本运行机制, 对了解生命、生命活动, 以及生命和环境的相互作用具有重大的理论意义, 对指导人类生活和生产活动和治疗相关疾病有重要的应用价值.

生物节律, 也叫生物钟, 是自然界普遍存在的一种生命现象, 是生物为适应环境周期性变化而长期演化出来的周期性变化的生理、生化和行为活动. 不同的生物钟有不同的周期, 生物日节律(circadian rhythm)特指周期大约为一天24小时的节律性生命活动, 也称为昼夜节律, 如人类的日作夜息行为和植物的代谢活动等. 生物钟现象的发现和研究已经历经了近3个世纪, 而生物钟机制的研究始于20世纪70年代. 生物钟机制研究的奠基者是美国加州理工学院的Seymour Benzer教授(1921~2007)和他的学生Ronald Konopka(1947~2015). Benzer和Konopka是第一个用果蝇(*Drosophila melanogaster*)为模型开展生物钟基因研究的科学家, 也是第一个从果蝇中发现生物钟突变体和生物钟基因的人. 他们的早期工作确定了生物钟行为是基因控制的, 为3位获奖的科学家的基因克隆和机制研究工作奠定了重要基础.

## 1 3位获奖科学家和他们的贡献

Jeffrey C. Hall和Michael Rosbash都是美国Brandeis大学的教授. 果蝇生物钟基因的克隆和研究工作是两个人共同合作的成果. Jeff Hall是一个遗传学家, 终生研究果蝇的行为遗传学. 除了生物节律, Hall更多的是研究果蝇的交配行为, 是果蝇行为生物学研究领域的开拓者之一和重要科学家. Hall在生物钟工作上的主要贡献是和Rosbash合作共同克隆了第一个生物钟基因*period* (*per*), 发现了不同细胞的生物钟之间的协调同步, 揭示了CRY (Cryptochrome), CLOCK和CYC (Cycle)蛋白的功能和机制, 完善了日节律分子机制的转录转译负反馈调控(transcription translation negative feedback, TTFL)模型<sup>[1-7]</sup>.

Michael Rosbash是一位分子生物学家. 他除了在生物节律研究领域做出了重要成绩, 同时也在酵母的RNA剪切机制研究领域有杰出贡献. Rosbash在生物钟工作上的主要贡献除了和Hall合作克隆了第一个生物钟基因*per*, 还克隆了果蝇的另外两个生物钟基因: *clk* (*clock*)和*cyc* (*cycle*)并阐明了它们的功能和机制. 他还揭示了CRY蛋白作为生物钟的光受体功能并发现了果蝇LN<sub>v</sub>神经元是果蝇生物钟的起搏器. 更重要的是, 他发现了*per*基因表达水平的周期性变化, 从而提出了著名的日节律分子机制的转录转译负反馈调控TTFL模型<sup>[1-8]</sup>.

引用格式: 俞强. 生物钟: 基因表达的振荡器. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 343-346, doi: 10.1360/N052017-00291

英文版见: Yu Q. Biological clock: the oscillator of gene expression. Sci China Life Sci, 2018, 61: 128-130, doi: 10.1360/N052017-00291

Michael Young是美国Rockefeller大学的教授。他早年从事果蝇转座子机制的研究。在果蝇的日节律基因被发现后, 转而开展了日节律基因的克隆和机制研究工作至今。Young的主要贡献是和Hall和Rosbash同时独立克隆了*per*基因。其后又克隆了另一个生物钟基因*tim* (*timeless*), 发现了TIM和PER蛋白相互作用及功能, 并发现了光对TIM的调控以及对生物钟相位的调控。Young研究组<sup>[9-11]</sup>的另一个贡献是发现了PER蛋白的磷酸化调控以及磷酸化PER的激酶Doubletime (Casein kinase 1)。

## 2 生物钟的研究历程

生物钟的研究在18世纪就开始了。研究过程大致可分为3个阶段和过程: (i) 生物钟现象的描述和特征总结。 (ii) 生物钟在动物体内的定位。 (iii) 生物钟基因的发现和机制研究。早期的对生物钟现象的研究总结出关于生物钟的4个基本特征: (i) 生物钟是内源的、自主的、不依赖于环境变化的生物节律。 (ii) 昼夜节律的生物钟周期不是精确的24 h, 而是接近于24 h。 (iii) 生物钟具有温度补偿的性能, 能在不同的温度条件下保持稳定。 (iv) 光照不是产生节律的原因, 但能够调节和重置昼夜节律生物钟的相并使其同步。

生物钟第二阶段的研究工作主要是用手术的方法给生物钟在生物体内定位。这一阶段的工作发现了大鼠(*Rattus norvegicus*)下丘脑的前端的视交叉上核是启动大鼠生物钟的关键元件, 确定了视交叉上核为哺乳动物生物钟的振荡器。虽然后来的研究发现体内其他许多细胞和组织也都有它们自己的以24 h为周期的生物钟, 但视交叉上核起到了一个调控和协调周围组织的生物钟保持同步运行的作用, 从而被称为“主钟”。不同细胞中的生物钟各自分管着不同的节律性功能, 而复杂动物大脑中的生物钟, 起到了协同整合和介导光的调控的作用。在人等哺乳动物中, 下丘脑的视交叉上核就是这样一个协调周围组织“子钟”的“主钟”。

## 3 生物钟基因的发现、克隆和机制研究

对生物钟的分子机制研究是在果蝇中展开的。Seymour Benzer和他的学生Ronald Konopka在1971年运用遗传学的方法, 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了改变的果蝇突变种。这些变种果蝇有的是完全失去了日节律的变种, 叫“无周期突变”; 有的虽然仍然保持规律性的运动, 但它们的日节律周期变得长短不一, 有的比24 h长, 叫“长周期突变”; 有的比24 h短, 叫“短周期突变”。而且, 这些突变的性状是能够遗传的。这些遗传学实验揭示了生物钟基因的存在, 首次向科学界证明果蝇的生物钟行为是基因调控的。Benzer和Konopka将他们发现的生物钟基因命名为“周期基因”(period/*per*), 并在果蝇的基因染色体上确定了*per*基因的位置。在此工作的基础上, Brandeis大学的Michael Rosbash和Jeff Hall团队, 以及Rockefeller大学的Michael Young实验室开始了*per*基因的克隆工作。经过了两年多的努力, 3个实验室终于在1984年从果蝇中同时克隆到了第一个生物钟基因: *period/per*基因, 证明和明确了果蝇的生物钟行为是基因决定的。

基因确定之后, 基因产物表达的时间和位置对解析基因的功能和机制就至关重要。又经过5年的研究, Rosbash的团队确定了PER蛋白是核蛋白, 存在于细胞核中, 同时又发现*per* mRNA的表达呈昼夜周期性变化, 从而提出了TTFL模型。

继*per*基因之后, 另外几个生物钟元件基因*clk*, *cyc*, *tim*, *cry*, *dou*, *vri*, *pdp1*, *cwo*等也相继被克隆。10年后, 当时在美国西北大学(Northwestern University)的高桥(Joseph Takahashi)教授又在1994年发现了小鼠的生物钟基因*clk* (*clock*), 并在1997年克隆了*clk*基因, 他成为发现哺乳动物生物钟基因的第一人。从此, 生物钟的研究发生了根本的改变, 从对现象的描述和对机制的猜测, 进入在细胞和分子的水平上解析生物钟的元件和阐明机制的研究。

经过30年的研究, 科学家现在对动物中以24 h为周期的生物钟的构成和机制已经有了基本了解。动物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。在这个过程中有两个调控基因转录的异二聚体蛋白起了关键作用: 一个是直接作用于DNA促进转录的转录因子CLK和CYC的二聚体CLK-CYC, 另一个是抑制CLK-CYC转录功能的PER和TIM的二聚体PER-TIM。CLK-CYC的功能是促进一系列包括PER-TIM在内的和生物钟行为相关的基因的表达。这些基因的启动子部位都有一段称为E盒元件的DNA序列, CLK-CYC作用于E盒序列

启动这些基因的表达. 表达后的PER和TIM蛋白先在细胞质中逐渐累积, 到了晚上当两种蛋白累积达到一定的量后又被转运到细胞核中而抑制CLK-CYC的转录活性, 从而抑制它们自己以及所有CLK-CYC下游基因的表达, 减少被表达的量. 而在细胞质中的PER蛋白被逐渐水解, 从而构成了一个以24 h为周期的负反馈调节基因转录和翻译的振荡器<sup>[3-5]</sup>, 从而证明了生物钟的钟芯是一个基因表达的振荡器.

#### 4 生物钟的功能和意义

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. 生命从诞生开始就受到地球上早已存在的各种物质和环境因素的影响, 其中之一就是受地球周期性律动的影响, 因此所有的生物节律都是环境对生物演化的选择的结果.

地球最明显的律动就是围绕太阳的公转和围绕自己轴心的自转. 这个地球相对于太阳的旋转律动影响和控制着地球上生物的一切运动. 而太阳是地球上所有生命的能源和动力, 生命的运动不能不顺从于太阳能源的周期性律动而随之律动. 最常见的生物日节律就是植物的光合作用和动物的昼夜活动. 生物的食物链实际上就是一个能量的传递链, 这条链的源头所吸收的是太阳光的能量. 太阳光在地球上的律动导致了地球上食物链各个环节的律动, 因此最普遍和常见的

生物钟就是以昼夜24 h为周期的生物钟. 由于太阳光一方面给生物提供能量, 另一方面也对生物的大分子如DNA有损伤作用, 因此生物也演化出了为保护DNA而躲避强光的生物钟行为, 如动物为避免中午太阳的高温而在早晨和傍晚觅食的生物钟行为. 类似的, 食物链上的上下游物种之间也演化出了按时摄食和躲避被食的生物钟行为.

人的生物钟就是人体内随时间作周期变化的生理生化过程以及行为等现象. 人体的各种生理指标, 如脉搏、体温、血压、体力、情绪、智力等, 都会随着昼夜变化做周期性变化. 科学家经过多年的研究, 已经对人体的许多生理生化活动的昼夜节律现象有了比较清楚的了解. 生物钟的正常工作对人的健康起着重要作用. 生物钟失调会导致失眠、体乏、抑郁、免疫功能低下甚至产生包括肿瘤在内的各种疾病. 生物钟基因的突变也导致生物钟行为的失常. 根据人的生理生化活动的周期性变化, 人可以合理安排一天的活动, 从而使工作和休息效率达到最高, 也使得人的身心健康状态达到最佳.

因此, 生物钟是大自然中各种自然钟的一种, 是生命物质适应物质世界基本运动规律的一种生命运动形式, 是大自然对生物演化的选择, 它赋予了生命以预见和应对自然环境变化的能力. 了解和顺应大自然赋予我们的生物钟, 会使人们的生活更加健康、和谐和愉悦.

#### 参考文献

- 1 Zehring W A, Wheeler D A, Reddy P, et al. P-element transformation with period locus DNA restores rhythmicity to mutant, arrhythmic *Drosophila melanogaster*. *Cell*, 1984, 39: 369–376
- 2 Yu Q, Jacquier A G, Citri Y, et al. Molecular mapping of point mutations in the period gene that stop or speed up biological clocks in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 784–788
- 3 Siwicki K K, Eastman C, Petersen G, et al. Antibodies to the period gene product of *Drosophila* reveal diverse tissue distribution and rhythmic changes in the visual system. *Neuron*, 1988, 1: 141–150
- 4 Hardin P E, Hall J C, Rosbash M. Feedback of the *Drosophila period* gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature*, 1990, 343: 536–540
- 5 Liu X, Zwiebel L J, Hinton D, et al. The period gene encodes a predominantly nuclear protein in adult *Drosophila*. *J Neurosci*, 1992, 12: 2735–2744
- 6 Allada R, White N E, So W V, et al. A mutant *Drosophila* homolog of mammalian clock disrupts circadian rhythms and transcription of period and timeless. *Cell*, 1998, 93: 791–804
- 7 Stanewsky R, Kaneko M, Emery P, et al. The *cryb* mutation identifies cryptochrome as a circadian photoreceptor in *Drosophila*. *Cell*, 1998, 95: 681–682

- 8 Rutila J E, Suri V, Le M, et al. CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and transcription of *Drosophila* period and timeless. *Cell*, 1998, 93: 805–814
- 9 Bargiello T A, Jackson F R, Young M W. Restoration of circadian behavioural rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature*, 1984, 312: 752–754
- 10 Vosshall L B, Price J L, Sehgal A, et al. Block in nuclear localization of period protein by a second clock mutation, timeless. *Science*, 1994, 263: 1606–1609
- 11 Price J L, Blau J, Rothenfluh A, et al. double-time is a novel *Drosophila* clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. *Cell*, 1998, 94: 83–95