

研究报告

DOI:10.14188/j.ajsh.20260045

高糖饮食调控秀丽隐杆线虫生物钟的分子机制研究

李 丽^{1†}, 朱 怡^{1†}, 汪 琴², 张惠敏¹, 傅 容^{1*}

(1. 苏州大学 生物医学研究院, 江苏 苏州 215123;

2. 电子科技大学 医学院, 四川 成都 610054)

摘要: 几乎所有生物体内的生理活动和外在行为都表现出其自身的节律性。这些生物节律由多个生物钟基因参与的转录/翻译负反馈环路所控制。已知高碳水化合物饮食可以通过调控生物钟基因表达水平的方式来影响哺乳动物的生物节律, 但这一现象背后的内在分子机制仍不清楚。本研究建立了秀丽隐杆线虫核心时钟基因 *Period* 的同源基因 *lin-42* 的荧光报告系统。荧光报告系统和实时定量 PCR 结果显示, 在线虫饮食中添加葡萄糖显著改变 *lin-42/Period* 基因的表达节律。除了 *lin-42* 以外, 高糖饮食还导致多个秀丽隐杆线虫生物钟相关基因的异常上调。进一步的机制研究发现, 进化上保守的葡萄糖感应转录因子 MondoA (又名 MLXIP, MLX-interacting protein)/ChREBP (carbohydrate response element-binding protein) 在线虫中的同源物 MML-1 的功能缺失可有效抑制过量葡萄糖导致的 *lin-42* 表达节律的紊乱, 说明过量葡萄糖对秀丽隐杆线虫生物钟基因表达的节律性调控是依赖 MML-1/MondoA 的。以上发现不仅证实了作为膳食主要代谢物的葡萄糖对生物钟保守的调控作用, 而且揭示了介导代谢通路与生物钟系统相互耦联的关键调控分子。

关键词: 生物钟; 高糖饮食; *Period*; MondoA/ChREBP; 秀丽隐杆线虫

中图分类号: Q955

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2026)04-0400-09

Molecular mechanism of high-glucose diet regulating the biological clock of *Caenorhabditis elegans*LI Li^{1†}, ZHU Yi^{1†}, WANG Qin², ZHANG Huimin¹, FU Rong^{1*}

(1. Institutes of Biology and Medical Sciences, Soochow University, Suzhou 215123, Jiangsu, China;

2. School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054, Sichuan, China)

Abstract: Physiological processes and behaviors in almost all organisms exhibit intrinsic rhythmicity. These biological rhythms are generated by a transcriptional-translational negative feedback loop involving multiple biological clock genes. High-carbohydrate diets are known to affect biological rhythms in mammals by modulating the expression of biological clock genes, but the underlying molecular mechanisms remain poorly understood. This study established a fluorescent reporter system for *lin-42*, the *Caenorhabditis elegans* homolog of the core clock gene *Period*. The fluorescence reporter and real-time quantitative PCR results revealed that dietary glucose supplementation significantly altered the expression rhythm of *lin-42/Period*. In addition to *lin-42*, the high-glucose diet induced aberrant upregulation of several other biological clock-related genes in *C. elegans*. Further mechanism studies showed that loss of function of MML-1, the

收稿日期: 2026-07-21 修回日期: 2026-08-09 接受日期: 2026-08-24

作者简介: 李丽(2000-), 女, 硕士生, 主要从事秀丽隐杆线虫疾病模型相关研究, E-mail: LiLi20001005@outlook.com; 朱怡(1985-), 女, 实验师, 主要从事秀丽隐杆线虫疾病模型相关研究, E-mail: zhuYi216@suda.edu.cn; † 为共同第一作者, 对本文有相同的贡献

* 通信作者: 傅容(1990-), 女, 副教授, 主要从事细胞应激与稳态调控相关研究, E-mail: fr131@suda.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(32571028); 江苏省自然科学基金资助项目(BK20200866); 江苏省高校重点学科建设资助项目(PAPD)

引用格式: 李丽, 朱怡, 汪琴, 等. 高糖饮食调控秀丽隐杆线虫生物钟的分子机制研究[J]. 生物资源, 2026, 48(4): 400-408.

Li L, Zhu Y, Wang Q, et al. Molecular mechanism of high-glucose diet regulating the biological clock of *Caenorhabditis elegans* [J]. Biotic Resources, 2026, 48(4): 400-408.

C. elegans homolog for the evolution-conserved glucose-sensing transcription factors MondoA (also known as MLXIP, MLX-interacting protein) and ChREBP (carbohydrate response element-binding protein), effectively suppressed the disruption of *lin-42* expression rhythms induced by excess glucose. These findings indicate that rhythmic regulation of *C. elegans* biological clock gene expression by excessive glucose is dependent on MML-1/MondoA. Collectively, our findings not only demonstrate the conserved role for dietary glucose in the regulation of biological clocks, but also identify a key molecule mediating the coupling between metabolic pathways and the biological clock system.

Key words: biological clock; high-glucose diet; *Period*; MondoA/ChREBP; *Caenorhabditis elegans*

0 引言

地球上几乎所有生物均拥有内源的时钟系统,用以产生各类生物节律,包括基因表达、物质代谢与行为活动等^[1-3]。昼夜生物钟是目前研究最为透彻的生物时钟。哺乳动物的昼夜节律由名为分子钟的转录调控网络驱动,主要调控机制为:转录因子CLOCK(circadian locomotor output cycles kaput)与BMAL1(brain and muscle ARNT-like 1)启动 *Per* (*Period*)和 *Cry*(*Cryptochrome*)等一系列基因的转录;翻译产生的PER和CRY蛋白通过与CLOCK-BMAL1复合体相互作用抑制自身的转录。上述基因构成维持昼夜节律的核心负反馈环路^[4]。哺乳动物体内负责全身昼夜节律生成的中枢生物钟定位于下丘脑视交叉上核,可受光照同步校准^[5]。而外周生物钟广泛分布于多种组织细胞中^[5]。摄食与禁食信号是外周生物钟最主要的授时因子,因此进食时间、进食总量或膳食组分发生改变,均会干扰甚至破坏生物钟的正常生理功能^[6]。葡萄糖是膳食来源的影响外周生物钟的潜在调控因子^[6]。例如,对体外培养的大鼠成纤维细胞施加葡萄糖处理能够重置生物钟基因的节律表达^[7]。然而目前对于葡萄糖调控生物节律的体内机制研究仍十分匮乏。

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*,简称秀丽线虫)是一种广泛应用于基础生物学的低等多细胞模式生物,其身体结构简单清晰,成虫仅有959个体细胞,但却分化出明确的表皮物理屏障,以及神经、消化、生殖、运动等多个基本生命系统。近年来研究发现,秀丽线虫自身存在明显的发育节律^[8-9],以及在光照温度驱动下形成的24小时昼夜节律^[10-12]。秀丽线虫基因组编码多个进化上保守的生物钟相关蛋白,对自身的生物节律进行调控^[13-15]。同时,秀丽线虫模型已被广泛应用于糖代谢及相关疾病领域的研究,具有成熟的高糖饮食导致脂质异常积累及糖尿病的病理模型^[16]。此外,秀丽线虫还具备躯体结构简单、基因组与蛋白质组高度保守、实验资源充足、研究技术成熟等优势,使其成为研究代谢和生物钟相关科学问题的理想生物模型。

本研究借助秀丽线虫这一模式生物探讨高糖饮食对生物钟的影响。首先建立了高葡萄糖饮食导致秀丽线虫生物钟紊乱的病理模型,结果显示高糖饮食明显紊乱核心生物钟基因 *lin-42/Period* 的节律表达,并上调多个秀丽线虫核心生物钟基因和生物钟相关基因的表达水平。进一步机制研究发现具有葡萄糖感应功能的转录因子MML-1是介导高糖信号对生物钟基因节律表达的关键调控因子。本文揭示机体依据糖摄入水平重调代谢与生物钟的分子机制,为代谢紊乱相关的节律失衡病症的干预策略开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 虫株与菌株

秀丽线虫虫株N2, *mml-1(ok849)*功能缺失突变体虫株RB954,大肠杆菌(*Escherichia coli*)OP50和HT115均由美国明尼苏达大学秀丽隐杆线虫遗传学中心(Caenorhabditis Genetics Center)提供。

1.1.2 试剂

胆固醇(货号为A100433-0025)购自生工生物工程(上海)股份有限公司、葡萄糖(货号为G7021)购自默克生命科学技术有限公司、Trizol(货号为R411-01)和SYBR Green Master(货号为Q421-03)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司、吐温-20(货号为ST825)购自上海碧云天生物技术股份有限公司、盐酸左旋咪唑(货号为L8230)购自北京索莱宝科技有限公司、PrimeScript RT Master Mix试剂盒(货号为RR036B)购自宝日医生物技术(北京)有限公司、BODIPY 500/510 荧光染料(货号为D3823)购自美国赛默飞世尔科技公司。

1.1.3 主要仪器设备

体视显微镜(型号为SMZ-168,麦克奥迪实业集团有限公司),小型高速冷冻离心机(型号为5424R,德国艾本德股份公司),实时荧光定量RT-PCR仪(型号为LightCycler96,上海罗氏制药有限公司),激光共聚焦荧光显微镜(型号为LSM800,卡

尔蔡司股份公司),正置荧光显微镜(型号为DM2500,徕卡显微系统股份公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 培养基的配制

线虫标准培养基(nematode growth medium, NGM):向装有20 g琼脂、3 g NaCl、2.5 g蛋白胨的试剂瓶中加入975 mL双蒸水,摇晃颠倒瓶身混匀,再加入25 mL KH₂PO₄-K₂HPO₄(1 mol/L),摇匀,1×10⁵ Pa灭菌50 min后加入1 mL CaCl₂(1 mol/L)、1 mL MgSO₄(1 mol/L)以及1 mL胆固醇溶液(5 mg/mL,溶于无水乙醇),并在超净工作台分装至无菌培养皿中,冷却凝固后置于室温干燥。加入380 μL大肠杆菌OP50菌液,待菌液完全吸收,室温保存备用。

1.2.2 秀丽线虫的常规培养

参照已有的培养标准^[17]。秀丽线虫置于20℃环境下培养,以OP50大肠杆菌为食。

1.2.3 秀丽线虫的同步化处理

使用M9缓冲液(含0.1%吐温-20)将处于产卵期的秀丽线虫转移至1.5 mL离心管中,静置,待线虫自然沉降至离心管底部,去除上清保留线虫沉淀,重复洗涤操作至少3次。加入1 mL线虫裂解液(由5 mol/L NaOH,4% NaClO,去离子水经体积比1:2:3配制而成),室温静置2 min,3 900 r/min离心1 min,去上清,再加入1 mL M9缓冲液终止裂解,离心去上清,留少量液体。用剩余液体重悬线虫沉淀,并将其转移至没有食物的NGM平板上,倒置于20℃培养箱中。24 h后获得同步化的L1期秀丽线虫,即可对L1期线虫(0 h)收样或喂食,用于后续实验。

1.2.4 实时定量PCR

本研究对21个基因进行实时定量PCR实验以检测其mRNA水平,包括*aptf-1*、*atf-2*、*ccr-4*、*ces-2*、*gsk-3*、*kin-19*、*kin-20*、*lim-6*、*lin-22*、*lin-42*、*mml-1*、*nhr-23*、*nhr-85*、*nlp-22*、*npr-1*、*pdf-1*、*pdf-2*、*sma-9*、*tax-2*、*tax-4*、*tim-1*。使用Trizol法提取秀丽线虫总RNA,并利用PrimeScript RT Master Mix试剂盒进行RNA逆转录。通过Primer3工具(<http://primer3.net/>)设计引物,以合成的cDNA为模板,使用SYBR Green Master进行实时定量PCR反应。以肌动蛋白基因*act-1*作为内参对靶基因的表达水平进行标准化处理。检测所用引物序列见表1。

1.2.5 荧光成像与分析

首先制备3%琼脂糖凝胶薄片,然后在其中中央滴加含2.5 mmol/L盐酸左旋咪唑的M9缓冲液,挑取线虫置于溶液中进行麻醉固定,采用睫毛刷调整

表1 实时定量PCR引物序列
Table 1 The sequences of primers for real-time quantitative PCR

基因名称	引物序列(5'-3')
<i>aptf-1</i>	F:CGGTGGGAAAACATTGAGGG
	R:AACGTCCGGATCGATTGCTA
<i>atf-2</i>	F:GAAGGAACAATGAAGCCGCA
	R:AGGGTGAAGGGCAGTAACAA
<i>ccr-4</i>	F:TAATCAACTCCGTGTGCTGC
	R:CCGGTGGAGGATGAGTGTTA
<i>ces-2</i>	F:CAACGGTCACCATCACGAAA
	R:AGCTTGAGACCTTTCCACGT
<i>gsk-3</i>	F:CGGCGAGAAGAAGGATGAAC
	R:TGTAGGCCAATGAACGGAGA
<i>kin-19</i>	F:CGAGCGAGAGTACAATGTGC
	R:GCAGTGACGTCTTATTTCCCA
<i>kin-20</i>	F:TTGATTTTGGACTAGCGAAACG
	R:TCAGCTCATACTTTTGCCGC
<i>lim-6</i>	F:GTGCTGCCAACTGTCTTTGA
	R:TGTACGCGATGGACAATGTC
<i>lin-22</i>	F:AGAAGAAACGGAGAGCTCGA
	R:GAGCATGGTTGAGCACTACG
<i>lin-42</i>	F:CAGAGCTTTCATCTTGTCCGC
	R:GGAAGTTGGATGACACGTGG
<i>mml-1</i>	F:TTGGTCACGGATAAGGGAGG
	R:GTGTGTTTTTGGCGTCTGACT
<i>nhr-23</i>	F:CGGCGGAGATCTTCAAATGG
	R:GACTTGTCACCGCACACTTT
<i>nhr-85</i>	F:TTGATGAATCCACAACCGGC
	R:TGCATCCTTCACACGCAAAA
<i>nlp-22</i>	F:ATCCTTCACCGAGCAAACTAC
	R:ATGATTGGAAGGGTTTCGGAG
<i>npr-1</i>	F:GGCTGCCACATAACGTCATT
	R:GTCACTTTTACGCCGGTCTC
<i>pdf-1</i>	F:TGGCTGTCTTCTGTGCTGTA
	R:CGACAGCTGACAATTTTCCCA
<i>pdf-2</i>	F:GTTGATGCGACCCCAAGATC
	R:CGTCTCCAAGTCGATCCAGA
<i>sma-9</i>	F:GCACAAGTAGCTCAACAGGC
	R:AACTGACGATGTTGTGCCTC
<i>tax-2</i>	F:ACAAACTTGGCTCGCGAAAT
	R:ATGGAAGTGGTCGGGTACTG
<i>tax-4</i>	F:AATGGCTCGGCTCATCGT
	R:CAGTTGAAATGTCTCCGCCG
<i>tim-1</i>	F:GGGAATGGAAATTTTCGCGGA
	R:CGTGTGGCTTCTTTTCGGA

线虫姿势后盖上盖玻片。使用正置荧光显微镜(10倍物镜,用于多条线虫)、激光共聚焦显微镜(20倍物镜,用于多条线虫;63倍物镜,用于单条线虫)进

行成像。每次随机选取至少10条线虫成像。使用ImageJ软件对所有图像进行定量分析。

1.2.6 高糖饮食处理

在高温高压灭菌后的400 mL线虫标准培养基中加入100 mL无菌滤膜过滤的20%葡萄糖溶液,混匀后进行分装,制备含4%葡萄糖的NGM平板。待平板过夜干燥后,加入300 mL含有4%葡萄糖的OP50菌液,室温放置备用。对照组采用标准NGM培养基与正常的OP50菌液。收集同步化获得的L1期秀丽线虫并将其转移至两组NGM平板上,每盘喂食约200条线虫,于20℃培养至实验所需发育阶段。

1.2.7 RNA干扰(RNA interference, RNAi)

实验中所用的*mml-1* RNAi克隆来自秀丽线虫全基因组RNAi文库(*C. elegans* Chr RNAi library),并经测序验证正确性。参照Kamath RS^[18]的方法进行RNAi喂食实验。对照组秀丽线虫喂食携带空载体L4440的HT115大肠杆菌。为了沉默*mml-1*,将同步化的L1期幼虫喂食*mml-1* RNAi菌。线虫于20℃培养至早期成虫期时进行收样分析。

1.2.8 BODIPY染色

向OP50菌液中添加终浓度为1 mol/L的BODIPY 500/510荧光染料,混匀后加至NGM平板上,置于室温避光处进行干燥,4℃避光保存^[19]。收集同步化的L1期秀丽线虫并将其转移至已加有BODIPY 500/510荧光染料的NGM平板上,放于20℃培养至早期成虫阶段,收样并采用激光共聚焦显微镜成像。

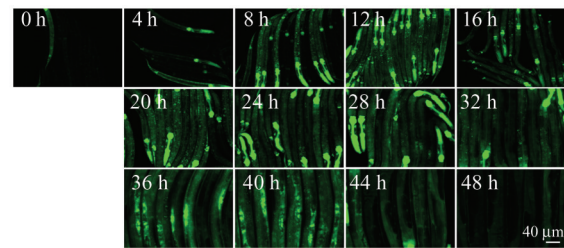
1.2.9 数据处理

计量资料以均数±标准误表示。使用GraphPad Prism 7.0软件(<https://www.graphpad.com>)对实验数据进行统计分析,组间差异显著性通过非配对双尾Student's *t*进行检验。

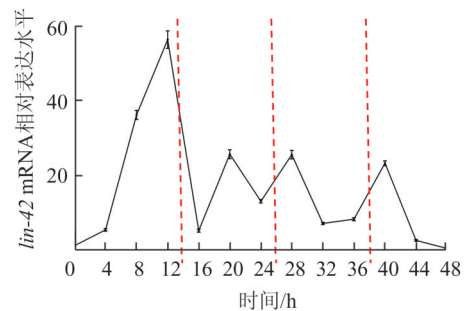
2 结果与分析

2.1 秀丽线虫生物节律荧光报告虫株的构建

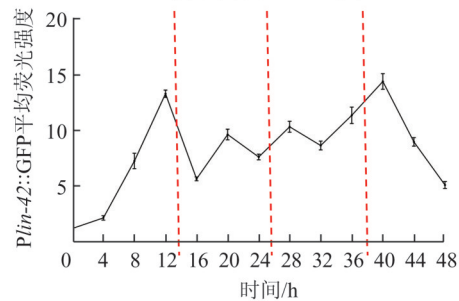
为了方便对秀丽线虫生物节律进行直观检测,本研究选择了负责控制生物节律的核心生物钟基因*Period*在线虫中的同源基因*lin-42*作为报告基因,构建了*lin-42*启动子驱动的古FP荧光报告系统转基因虫株。荧光共聚焦成像及定量分析结果显示(图1),常规培养条件下秀丽线虫*lin-42/Period*基因的表达水平随时间呈现明显的振荡节律,并且与实时定量PCR结果显示的振荡节律一致。以上数据表明以*lin-42*启动子驱动的古FP报告系统转基因虫株能够



(a) *Plin-42::GFP*表达随时间变化情况



(b) 实时定量PCR结果



(c) *Plin-42::GFP*荧光定量结果

图1 *Plin-42::GFP*荧光报告系统可视化显示秀丽线虫中*lin-42/Period*的节律性表达

Figure 1 *Plin-42::GFP* fluorescence reporting system visualizes the rhythmic expression of *lin-42/Period* in *C. elegans*

注:红色虚线表示线虫蜕皮的时间。

Note: Red dashed lines indicate the timing of molts.

直观地表现秀丽线虫的生物节律变化,可用于后续研究。

2.2 高糖饮食导致秀丽线虫生物节律紊乱

高糖饮食可致线虫体内代谢紊乱及脂肪异常堆积。本研究通过在秀丽线虫的食物OP50中添加过量葡萄糖的方法,成功构建了高葡萄糖饮食导致秀丽线虫生物钟紊乱的病理研究模型。BODIPY染色结果显示在葡萄糖添加环境下生长的秀丽线虫个体,其体内脂肪贮存明显高于对照组,如图2(a)所示。线虫饮食中葡萄糖的添加也导致了核心生物钟基因*lin-42*的表达节律变化,实时定量PCR结果显示高糖饮食导致了秀丽线虫*lin-42*的表达节律发生相位平移,如图2(b)所示。

为了方便地对秀丽线虫的生物节律进行检测,本研究使用了*lin-42*启动子驱动的古FP荧光报告系统转基因虫株。该报告系统荧光成像和定量分

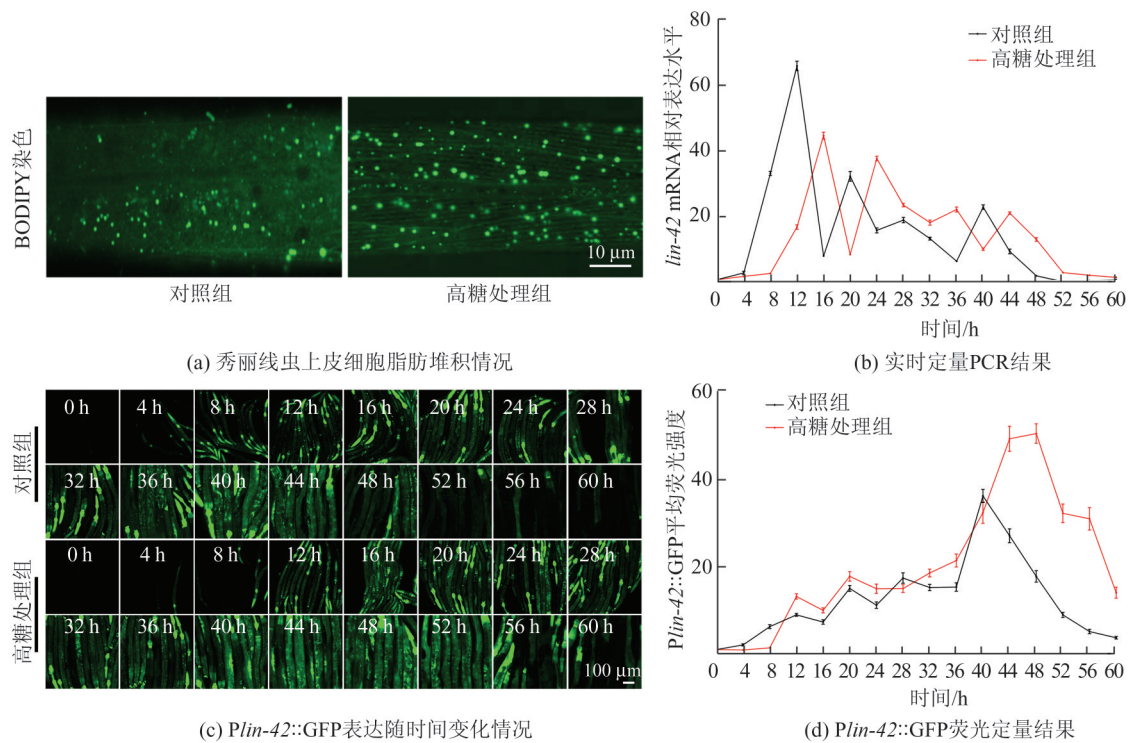


图2 秀丽线虫高糖饮食导致胞内脂代谢紊乱及生物钟基因 *lin-42* 表达异常

Figure 2 A high-glucose diet disrupts intracellular lipid metabolism and expression rhythm of the clock gene *lin-42* in *C. elegans*

析结果显示,常规培养条件下秀丽线虫 *lin-42/Period* 基因的表达水平在幼虫发育的早期随时间呈现规律的节律振荡,并在 40 h(L4 幼虫阶段)起表达量逐渐下降。而高糖饮食不但显著改变了 *lin-42/Period* 基因的表达节律,还引发了 *lin-42/Period* 表达水平的异常上调,延迟了 *lin-42/Period* 表达水平回落的时间,如图 2(c)和(d)所示。

2.3 高糖饮食影响多个秀丽线虫生物钟相关基因转录水平

接下来本研究对秀丽线虫主要生物钟相关基因在正常环境和高糖饮食条件下的表达变化情况进行了检测。这些基因包括:人类 *DBP*(D-box binding protein)在线虫中的同源基因 *ces-2*, *NFIL3*(nuclear factor, interleukin 3 regulated)在线虫中的同源基因 *atf-2*, 编码 Timeless 家族蛋白的基因 *tim-1*, *DOUBLETIME* 及 *CSNK*(casein kinase)在线虫中的同源基因 *kin-19/kin-20*, 色素分散因子 *pdf-1* 和 *pdf-2*, *ROR* (retinoic acid receptor-related orphan receptor) 同源基因 *nhr-23*, *NR1D1*(nuclear receptor subfamily 1 group D member 1) 同源基因 *nhr-85*, *CCRN4L* (CCR4-NOT transcription complex subunit 6-like) 同源基因 *ccr-4*, 以及 *DEC1* (differentiated embryo-chondrocyte expressed gene 1) 同源基因 *lin-22* 等^[20]。实时定量 PCR 结果显示高糖饮食可以导致包括

lin-42, *ces-2*, *atf-2* 等多个秀丽线虫核心生物钟基因和生物钟相关基因表达异常上调(图 3)。

2.4 葡萄糖可通过 MML-1/MondoA 转录因子影响核心生物钟基因表达

MML-1 是线虫体内哺乳动物碳水化合物反应元件结合蛋白 MondoA/ChREBP 的同源蛋白。已知 MondoA/ChREBP 转录因子具有响应高糖饮食并引发葡萄糖中间代谢物水平增加的功能^[21]。这些葡萄糖代谢物例如葡萄糖-6-磷酸(G6P)和果糖-2,6-二磷酸(Fru-2,6-P2)等会结合 MondoA/ChREBP 蛋白上的特定识别基序,导致 MondoA/ChREBP 构象变化,从而促使 MondoA/ChREBP 募集其转录伴侣 MLX (Max-like protein X)。随后 MondoA/ChREBP-MLX 复合物转移到细胞核中,与靶基因启动子上存在的保守碳水化合物反应元件(ChoRE, carbohydrate response element)基序结合,并通过与其他共调节因子的互作激活靶基因的转录^[21]。本研究使用 *lin-42* 启动子驱动 GFP 荧光蛋白转基因虫株作为报告系统,并结合 RNA 干扰技术,发现秀丽线虫基因组编码的葡萄糖感应转录因子 MML-1/MondoA 的功能缺失可以显著阻断高糖饮食导致的 *Plin-42::GFP* 表达上调,如图 4(a)所示。实时定量 PCR 检测结果也显示,虽然 MML-1/MondoA 本身的基因表达水平并没有被高糖饮食所影响,如图 4

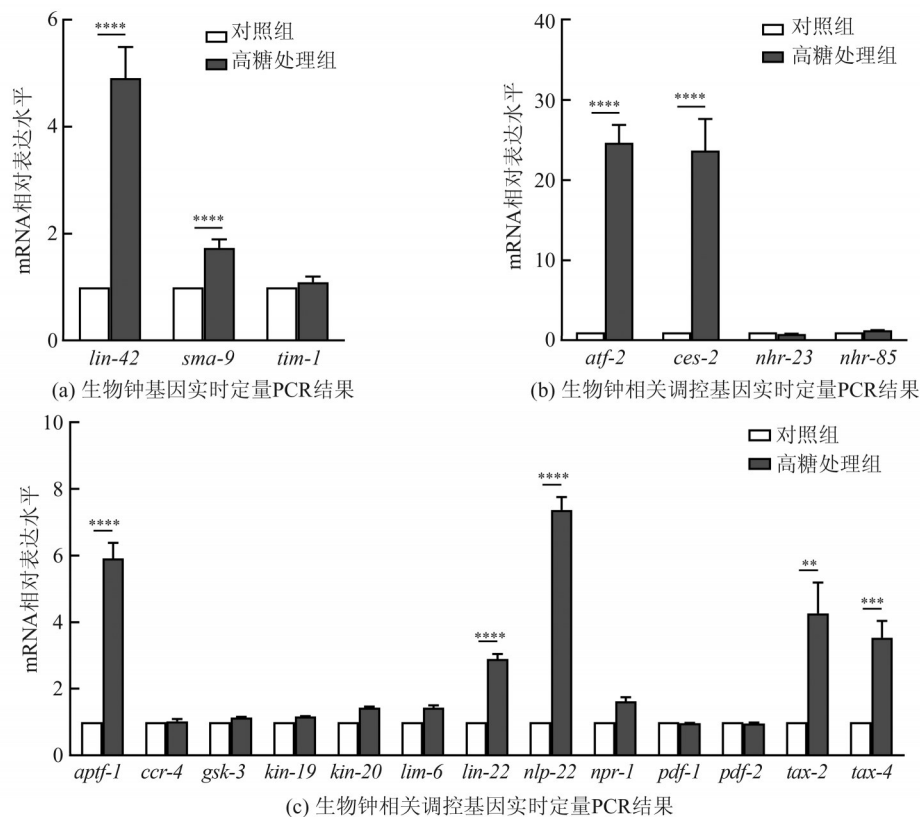


图3 高糖饮食影响多个秀丽线虫生物钟相关基因的转录水平

Figure 3 A high-glucose diet affects the transcript levels of multiple clock-related genes in *C. elegans*

注: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

Note: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

(b)所示,但 *mml-1* 基因的部分敲降可显著抑制高葡萄糖摄入导致的秀丽线虫核心生物钟基因 *lin-42* 的表达上调,如图4(c)所示。

为了进一步确认 MML-1/MondoA 是秀丽线虫体内介导葡萄糖调控核心生物钟基因表达的关键转录因子,本研究检测了 MML-1 功能缺失对葡萄糖调控线虫生物节律功能的影响。通过使用 *lin-42* 启动子驱动 GFP 荧光报告系统和 *mml-1(ok849)* 功能缺失突变体虫株 RB954,实验结果显示, MML-1 功能缺失突变体在高糖培养条件下并未出现如同在野生型虫株体内显著上调的 *P_{lin-42}::GFP* 基因表达,如图2(c)及(d)和图5(a)及(b)所示。除此之外, MML-1 功能缺失也部分抑制了高糖饮食导致的 *lin-42/Period* 振荡表达节律紊乱(图5)。

3 讨论

本研究构建了反映秀丽线虫生物节律的荧光报告系统,并建立了高糖饮食诱导生物节律异常的动物病理模型,为解析糖代谢与生物钟的相互作用提供了有力的研究工具。依托上述模型,发现秀丽线虫 *lin-42/Period* 等多个生物钟基因的转录受到高糖营养环境的显著影响。在此基础上,本研究进一步

揭示了转录因子 MML-1/MondoA 是介导葡萄糖信号调控生物钟基因转录的关键分子。值得注意的是,高糖饮食并未改变 MML-1 基因自身的转录水平,提示 MML-1 很可能与其哺乳动物同源蛋白 MondoA/ChREBP 的作用模式相似,即在葡萄糖及其代谢产物诱导下发生蛋白层面的活化,进而发挥下游靶基因转录调控作用。

已知生物钟与代谢之间存在复杂精密的双向调控关系^[6,22]。饮食信号与代谢产物均可影响生物节律活动^[6,23]。反过来,核心生物钟基因发生紊乱也可引发代谢异常^[24]。MondoA/ChREBP 家族蛋白是细胞内感知葡萄糖水平、介导葡萄糖转录应答的核心调控元件,主要通过重编程代谢过程维持机体稳态^[21]。已有研究证实, MondoA/ChREBP 在秀丽线虫中的同源蛋白 MML-1 同样负责调控机体的代谢过程,且其亚细胞定位和生物学功能亦受营养信号调节^[25-27]。除了直接调控核心代谢基因外, MondoA/ChREBP 家族蛋白也被发现与生物钟系统存在密切关联。前期研究发现, MondoA/ChREBP 家族蛋白可直接调控哺乳动物基因 *Klf10* (Krüppel-like factor 10) 及其果蝇同源基因 *cabut* 的表达,而

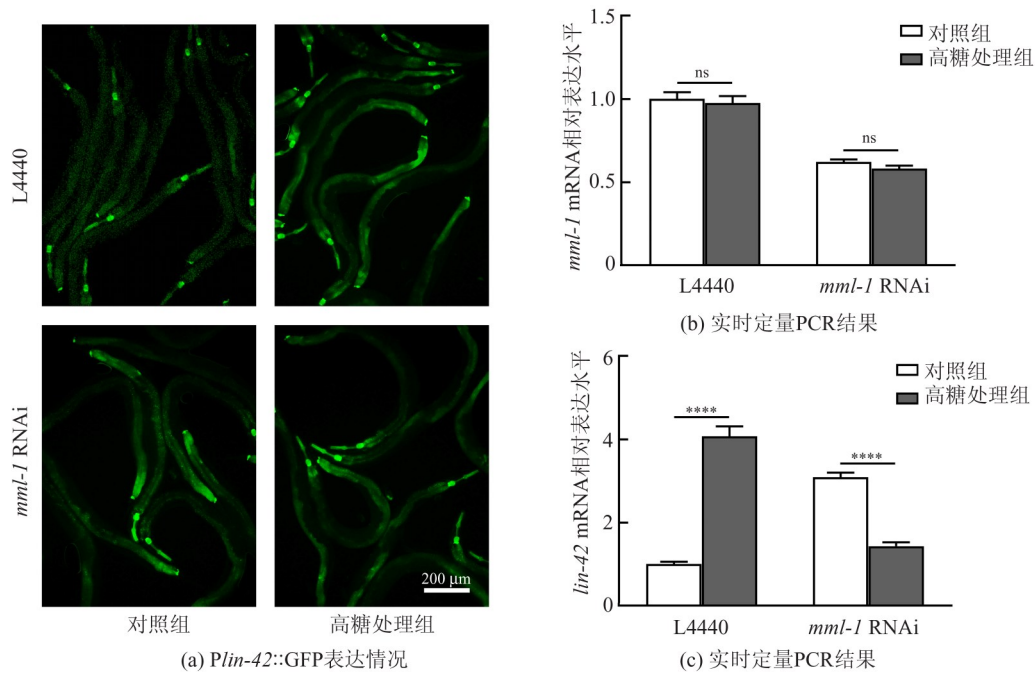


图4 过量葡萄糖通过MML-1/MondoA转录因子影响秀丽线虫核心生物钟基因表达

Figure 4 Excess glucose affects the core clock gene expression through the MML-1/MondoA transcription factor in *C. elegans*

注:ns表示无统计学意义,*** $P < 0.0001$ 。

Note: ns indicates no statistical significance, *** $P < 0.0001$.

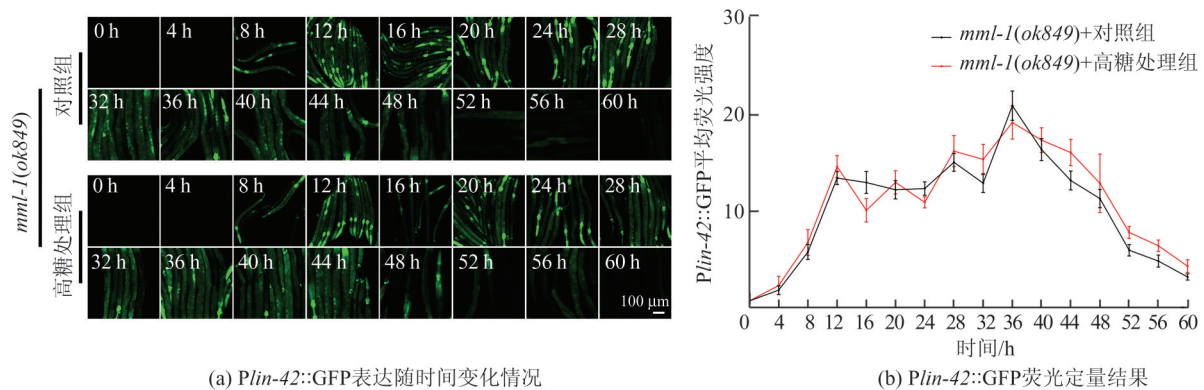


图5 秀丽线虫MML-1功能缺失抑制高糖刺激导致的*lin-42/Period*振荡表达节律紊乱

Figure 5 Loss of MML-1 function in *C. elegans* suppresses the disruption of *lin-42/Period* oscillatory expression rhythm induced by high glucose

KLF10/Cabut的表达异常会对生物钟下游靶基因的表达节律产生显著影响^[28-30]。大鼠肝细胞中的ChREBP能够直接调控转录抑制因子DEC1 (differentiated embryo-chondrocyte expressed gene 1) 的表达,并且DEC1在生物节律调控中的功能已得到充分验证^[31-32]。最近基于小鼠模型的研究显示,ChREBP可能是与生物钟核心转录因子BMAL1相互作用的潜在共调节因子^[33]。尽管以往的研究提供了MondoA/ChREBP与生物钟系统存在关联的零散线索,但尚未明确该家族蛋白是否介导营养状态对生物节律的调控。本研究不仅揭示了MondoA/

ChREBP家族转录因子在营养感知和生物节律调控中的进化保守性,同时确证了该家族蛋白是衔接外源营养信号与内在生物钟调控的关键感应节点。本研究仍存在一些科学问题有待未来继续阐明:第一,被葡萄糖信号激活的MML-1/MondoA是直接结合生物钟核心基因启动子发挥转录调控作用还是通过调控下游转录因子的表达间接影响生物节律;第二,生物钟在营养环境改变后产生的适应性重塑是否会反向调控机体代谢,该反向调控作用与MML-1/MondoA直接介导的代谢应答之间存在怎样的联系。

本研究对于高糖饮食诱导秀丽线虫生物节律异常实验模型的建立与初步研究发现可为后续进一步解析糖代谢与生物钟交互的分子机制研究奠定技术与理论基础。现有证据表明,高糖饮食可与遗传风险因素协同作用,诱导肥胖、代谢综合征等代谢疾病的发生,并且其病理过程与生物钟密切相关^[34-35]。因此,本研究成果也将为阐明高糖饮食和生物钟相关疾病的病理机制提供基础理论支持。

参考文献

- [1] Pittendrigh C S. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher[J]. Annual Review of Physiology, 1993, 55: 17-54.
- [2] Dunlap J C. Molecular bases for circadian clocks[J]. Cell, 1999, 96(2): 271-290.
- [3] Cermakian N, Sassone-Corsi P. Multilevel regulation of the circadian clock[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2000, 1(1): 59-67.
- [4] Patke A, Young M W, Axelrod S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2020, 21(2): 67-84.
- [5] Hastings M H, Reddy A B, Maywood E S. A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease[J]. Nature Reviews Neuroscience, 2003, 4(8): 649-661.
- [6] Oosterman J E, Kalsbeek A, la Fleur S E, et al. Impact of nutrients on circadian rhythmicity[J]. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2015, 308(5): R337-R350.
- [7] Hirota T, Okano T, Kokame K, et al. Glucose down-regulates *Per1* and *Per2* mRNA levels and induces circadian gene expression in cultured rat-1 fibroblasts[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(46): 44244-44251.
- [8] Monsalve G C, Van Buskirk C, Frand A R. LIN-42/PERIOD controls cyclical and developmental progression of *C. elegans* molts[J]. Current Biology, 2011, 21(24): 2033-2045.
- [9] Frand A R, Russel S, Ruvkun G. Functional genomic analysis of *C. elegans* molting[J]. PLoS Biology, 2005, 3(10): e312.
- [10] van der Linden A M, Beverly M, Kadener S, et al. Genome-wide analysis of light- and temperature-entrained circadian transcripts in *Caenorhabditis elegans* [J]. PLoS Biology, 2010, 8(10): e1000503.
- [11] Goya M E, Romanowski A, Caltart C S, et al. Circadian rhythms identified in *Caenorhabditis elegans* by *in vivo* long-term monitoring of a bioluminescent reporter[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(48): E7837-E7845.
- [12] Saigusa T, Ishizaki S, Watabiki S, et al. Circadian behavioural rhythm in *Caenorhabditis elegans*[J]. Current Biology, 2002, 12(2): R46-R47.
- [13] Jeon M, Gardner H F, Miller E A, et al. Similarity of the *C. elegans* developmental timing protein LIN-42 to circadian rhythm proteins [J]. Science, 1999, 286(5442): 1141-1146.
- [14] Banerjee D, Kwok A, Lin S Y, et al. Developmental timing in *C. elegans* is regulated by *kin-20* and *tim-1*, homologs of core circadian clock genes [J]. Developmental Cell, 2005, 8(2): 287-295.
- [15] Hiroki S, Yoshitane H. Ror homolog *nhr-23* is essential for both developmental clock and circadian clock in *C. elegans* [J]. Communications Biology, 2024, 7: 243.
- [16] Dyczkowska A A, Chabowska-Kita A. *Caenorhabditis elegans* as a model organism in obesity research[J]. Bio-Technologia, 2021, 102(3): 337-362.
- [17] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*[J]. Genetics, 1974, 77(1): 71-94.
- [18] Kamath R S, Fraser A G, Dong Y, et al. Systematic functional analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome using RNAi[J]. Nature, 2003, 421(6920): 231-237.
- [19] Soukas A A, Kane E A, Carr C E, et al. Rictor/TORC2 regulates fat metabolism, feeding, growth, and life span in *Caenorhabditis elegans* [J]. Genes & Development, 2009, 23(4): 496-511.
- [20] Migliori M L, Goya M E, Lamberti M L, et al. *Caenorhabditis elegans* as a promising model organism in chronobiology [J]. Journal of Biological Rhythms, 2023, 38(2): 131-147.
- [21] Havula E, Hietakangas V. Glucose sensing by ChREBP/MondoA-Mlx transcription factors[J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2012, 23(6): 640-647.
- [22] Eckel-Mahan K, Sassone-Corsi P. Metabolism and the circadian clock converge [J]. Physiological Reviews, 2013, 93(1): 107-135.
- [23] Mattson M P, Allison D B, Fontana L, et al. Meal frequency and timing in health and disease[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(47): 16647-16653.
- [24] Kalsbeek A, la Fleur S, Fliers E. Circadian control of glucose metabolism[J]. Molecular Metabolism, 2014,

- 3(4): 372-383.
- [25] Laboy R, Ndoci M, Syed S T, et al. Hexokinase regulates *Mondo*-mediated longevity via the PPP and organellar dynamics[J]. *eLife*, 2025, 12: RP89225.
- [26] Cornwell A B, Zhang Y, Thondamal M, et al. The *C. elegans* Myc-family of transcription factors coordinate a dynamic adaptive response to dietary restriction [J]. *GeroScience*, 2024, 46(5): 4827-4854.
- [27] Yamamoto-Imoto H, Minami S, Shioda T, et al. Age-associated decline of MondoA drives cellular senescence through impaired autophagy and mitochondrial homeostasis[J]. *Cell Reports*, 2022, 38(9): 110444.
- [28] Iizuka K, Takeda J, Horikawa Y. Krüppel-like factor-10 is directly regulated by carbohydrate response element-binding protein in rat primary hepatocytes[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 412(4): 638-643.
- [29] Guillaumond F, Gréchez-Cassiau A, Subramaniam M, et al. Kruppel-like factor KLF10 is a link between the circadian clock and metabolism in liver[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, 30(12): 3059-3070.
- [30] Bartok O, Teesalu M, Ashwall-Fluss R, et al. The transcription factor Cabut coordinates energy metabolism and the circadian clock in response to sugar sensing [J]. *The EMBO Journal*, 2015, 34(11): 1538-1553.
- [31] Iizuka K, Horikawa Y. Regulation of lipogenesis via BHLHB2/DEC1 and ChREBP feedback looping [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 374(1): 95-100.
- [32] Honma S, Kawamoto T, Takagi Y, et al. *Dec1* and *Dec2* are regulators of the mammalian molecular clock [J]. *Nature*, 2002, 419(6909): 841-844.
- [33] de Assis L V M, Jegodzinski L, Inderhees J, et al. Hepatocyte circadian clocks control cholesterol metabolism and protect from metabolic dysfunction-associated steatohepatitis[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2026, 20(8): 101806.
- [34] Qi Q B, Chu A Y, Kang J H, et al. Sugar-sweetened beverages and genetic risk of obesity[J]. *New England Journal of Medicine*, 2012, 367(15): 1387-1396.
- [35] Stanhope K L, Schwarz J M, Havel P J. Adverse metabolic effects of dietary fructose: results from the recent epidemiological, clinical, and mechanistic studies [J]. *Current Opinion in Lipidology*, 2013, 24(3): 198-206.