

今年诺贝尔化学奖遗漏了谁

10月8日清晨5点左右,美国哥伦比亚大学教授马丁·沙尔菲家里的电话铃声响了,正在睡觉的他没有接。因为几天前,他刚刚将电话铃声调小,因此以为这是邻居家的电话响了。

沙尔菲当然知道当天会颁发诺贝尔化学奖,6点10分起床后,他打开笔记本,想看看“这次是哪个猪头获奖”。当登录到诺贝尔奖网站时,他却赫然发现:“我就是那个猪头!”后来,他在接受诺贝尔奖网站主编采访时说,“这是非常有趣的发现,当然,另外两位是真正厉害的科学家……”

因发现和发现了绿色荧光蛋白质(GFP),沙尔菲与另外两位美国科学家下村修和钱永健共同分享了今年的诺贝尔化学奖。这个工作的重要性可以与17世纪安东·冯·列文虎克发明的显微镜相媲美。

这是一个持续了半个世纪的故事。

科学新丁的运气为啥总是这么好

发现GFP的故事可以追溯到第二次世界大战后的日本。

下村修1928年出生于日本京都。第二次世界大战和美国投下的原子弹中断了他的教育。尽管如此,他还是热爱科学。1955年,27岁的下村修成为名古屋大学教授平田义正的研究助理。平田给了他一个似乎不可能完成的题目:寻找一种磨碎的软体动物(海葵)的残骸遇水发光的原因。

将一个如此困难的工作交给一个没有经验的助手,平田教授难道脑子糊涂了吗?

这事似乎不可思议,但也情有可原。当时,美国一个领先的研究小组也在努力试图分离这种发光物质,平田不能将一个看似不可能成功的项目交给博士生们,因为他们需要成果才能毕业,所以这任务就落在了下村修的头上。

幸运的是,一年后,下村修得到了这种发光物,这是一种蛋白质,它的亮度比磨碎的海葵残骸高出3.7万倍。研究结果发表后,美国普林斯顿大学的弗兰克·约翰逊教授聘请他到实验室工作。作为告别礼物,平田见证了下村修被授予名古屋大学的博士学位,这是一个非同寻常的做法,因为他实际上不是一个正式注册的博士生。

在约翰逊的实验室,下村修开始寻找另一种自然发光水母的发光原因。在1961年的整个夏天,他们来到位于北美西海岸的星期五港湾,收集一种名为Aequorea victoria的水母。他们切下水母的发光边缘,将之放到滤纸上挤压,以得到所谓的“压榨物”。

一天晚上,当下村修将部分“压榨物”倒进水池时,看见它们闪闪发光,他突然意识到这是因为水池中有海水,海水中的钙离子与之发生了化学反应。但奇怪的是,这些残留物发出的

是蓝光,而不是水母中的绿光。

那一年,下村修和约翰逊将从1万多只水母中提取到的初始材料带回普林斯顿,几个月后,他们从中纯化出几毫克的蓝光材料,将之命名为发光蛋白质。

1962年,下村修和约翰逊等发表论文,详细描述了提取发光蛋白质的过程,同时也提到他们分离出一种蛋白质,这种蛋白质在日光下呈淡绿色、灯光下呈黄色、在紫外光下呈绿色。他们将这种蛋白质称为绿色蛋白,也就是今天的GFP。

这是人类第一次对GFP的描述。但他们不知道,这种蛋白质为什么会发光,在不同的光线下又是如何变换颜色的?

85万只水母有没有给出答案

20世纪70年代,下村修更加专注地研究GFP的荧光性质。他发现,GFP含有一个发色团,这是一种能吸收光和发光的化学基团。在紫外光或蓝光的照射下,GFP的发色团吸收光线中的能量,被激活,然后再释放出绿色波长的光。在水母体内,GFP的发色团将发光蛋白质的蓝光转换为绿光,所以水母发出的是绿光。

而关于GFP发光的最重要的一点是,它不需要额外的蛋白质就能发光;相反,水母蛋白质或其他生物发光蛋白质都需要持续提供他能量分子才能发光。

下村修终于明白GFP为什么会发光了,但这种蛋白质有什么用呢?对这个问题,下村修一无所知,但他也不在乎这玩意儿会有什么用途,还是一如既往地做自己的研究,他和同事每年夏天都到星期五港湾收集水母,19年间收集了大约85万只水母,这一工作一直持续到1980年。

这一年,约翰逊教授退休后,下村修来到了马萨诸塞州的海洞海洋生物研究所,同时在波士顿大学做兼职教授,直至2001年退休。

退休后,他又在家里的地下室继续作研究。

当诺贝尔奖网站主编问他为什么要这样做时,他说:“我做研究不是为了应用或其他任何利益。我做自己的研究只是为了明白水母为什么会发光。”

下村修庆幸自己在原子弹的爆炸中活了下来,而且活到了今天,因为当时他就在距离原子弹爆炸地点12公里远的地方。实际上,他不仅活下来了,而且长寿,终于在80岁时为自己40多年前的工作获得了诺贝尔奖。

也许,今天的三位诺贝尔化学奖获得者都应该感谢一个人:道格拉斯·普瑞金。他究竟是什么人,为什么这三位科学家要感谢他呢?

那个“倒霉的天才”干了什么

在佐治亚大学做研究生时,普瑞金就对水母发光蛋白质产生了浓厚的兴趣,并克隆了水母的其他发光蛋白质。1980年,当下村修到林洞海洋研究所工作时,他遇到正在这里做研究的普瑞金。普瑞金被GFP迷住了,准备克隆它的基因,但发现申请基金和完成克隆都相当困难。

1987年,普瑞金天才般地想到,可以把GFP用来作为其他蛋白质的信号指示。普瑞金终于从美国癌症研究协会申请到了一笔为期三年的研究经费。1992年,他克隆出了GFP的基因,也用完了这笔钱,他没有办法继续研究,将这些基因放到细胞中,从而证明自己克隆的DNA序列是否真的正确。

这时,善良的普瑞金遵守之前的一个约定,将自己克隆的GFP基因送给了另一位科学家。这到底是怎么回事,那个科学家是谁,当初他们定下了什么样的约定?

这段故事还要从1988年底在哥伦比亚大学召开的一次生物发光学术会议上说起。

自从1982年成为哥伦比亚大学生物科学系的教授后,沙尔菲就开始用秀丽

隐杆线虫做研究,这是一种透明的、只有几毫米长的线虫,是生物学家们常用的模式动物。但在1988年底的那个会议之前,他根本就没有听说过GFP。

那次会议上,一位发言人在演讲中提到了GFP,这种可以自体发光的蛋白质让沙尔菲激动不已,其他的演讲他一个字也没有听进去。沙尔菲立即天才般地展望如何将GFP用到他的线虫中,照亮他的实验。但这样做需要GFP的基因。从哪儿可以搞到这东西?

经过几天的查询,沙尔菲得知普瑞金正在克隆GFP的基因,并找到了他。“我们在电话中非常激动地聊了一个多小时,结论是我们应该马上合作,看看这种基因是否能在线虫里工作。”沙尔菲说。但随后一个偶然导致两人失去联系,研究工作被耽误了几年。

一个诚实的约定孕出今天的诺奖成果

是什么样的偶然事件导致研究工作被耽误下来?沙尔菲说出来也很好笑,原来沙尔菲跑到外地结婚去了。

在与普瑞金交谈后不久,沙尔菲与犹他大学的一位教授结婚,并到犹他大学工作了9个月。也就是在这段时间,普瑞金完成了他的克隆,四处打电话却找不到沙尔菲,于是认为他已经离开学术界了。而沙尔菲见普瑞金迟迟不与自己联系,也以为他停止这项研究了。

1992年9月,一位研究生加入哥伦比亚大学沙尔菲的实验室,这个学生曾经作过荧光方向的研究。沙尔菲希望她能做一个实验,将GFP加入到细胞中。于是,两人开始查荧光蛋白质的资料,结果他们找到了普瑞金的论文。

沙尔菲奇怪了:“他还在研究这个,为什么不联系我呢?”他立即打电话找到了普瑞金。这时,普瑞金刚好把研究资金用完了,研究工作真的停止了,但他还是遵守约定,将克隆的GFP基

因送给了沙尔菲。一个月后,沙尔菲的那个学生告诉他,她成功了!在显微镜下,他们看到线虫在紫外线的照射下发出绿光!

这一发现奠定了今天GFP革命性应用的基础:GFP可以作为示踪剂,实时观察蛋白质在细胞内的运动和变化,细胞内的黑暗世界被照亮。他们的论文发表在1994年2月的美国《科学》杂志上。

普瑞金却没有那么幸运了,他离开林洞海洋研究所,到美国农业部的一个实验室工作,后来得到了国家航空和宇宙航行局(NASA)的一个工作合同,大约在两年多前,NASA取消了这个合同,普瑞金也失去了工作。如今,他是一家汽车公司的公共汽车驾驶员。

然而,普瑞金不仅将GFP的基因给了沙尔菲,还把它给了钱永健。

为什么会把普瑞金遗漏了

“显然,普瑞金被诺贝尔奖名单忽略了!”钱永健在加州大学圣地亚哥分校在其获奖当天召开的记者会上这样说。但这个奖项一次最多只能给三个人,“我相信委员会作了一个艰难的决定”。

诺贝尔奖委员会在公报中说,在GFP的革命中,钱永健伟大的贡献是他延伸并丰富了研究人员手中的调色板,他创造了一个五彩缤纷的调色板,里面的发光蛋白质拥有彩虹的各种颜色。

当普瑞金的GFP基因论文发表后,钱永健和沙尔菲同样激动。但这时,GFP只能发出绿色的荧光。与沙尔菲一样,他找到了普瑞金。

“我找到了他的电话号码并最终找到了他,令我非常惊异的是,他乐意将基因给我。”钱永健本身是一位化学家,得到GFP的基因后,他开始研究这种蛋白质的发色团的结构。他发现了这个发色团是如何在GFP的238个氨基酸中发生化学反应的。以前的研究认

为,第65、66和67号的氨基酸彼此反应形成发色团,钱永健的研究进一步显示,这种化学反应只需要氧气,因此解释了这种反应为何不需要其他蛋白质的参与。

借助DNA技术,钱永健进一步在GFP上不同的部位对氨基酸进行改变,让这种蛋白质的其他部分也能吸收和发射不同波长的光。通过氨基酸重组的实验,钱永健创造出崭新的GFP变体,它们能发出更强、更多的光,如青绿色、蓝色和黄色等,让不同的研究人员能够同时给不同的蛋白质标记上颜色,实时、动态地检测它们的变化和相互作用。

但是,钱永健无法创造出发出红光的GFP。红光更容易穿透生物组织。这时,两位俄罗斯科学家Mikhail Matz和Sergei Lukyanov参加了这场GFP的革命,他们从发出荧光的珊瑚中找到了6个与GFP类似的蛋白质,其中一个就是红色。

问题是这个红色的蛋白质太大太重,无法像GFP一样嵌入基因中。钱永健的团队重新设计了这种红色蛋白质,让它变得更小更轻,从而能够加入到其他蛋白质中。

如今,这种五彩缤纷的调色板可以调制出每一种可见光的荧光蛋白质,科学家们已经用它来进行各种各样的研究,比如,给老鼠的大脑神经细胞上色,老鼠脑部闪烁着如同彩虹般的颜色;也可用于井水含砷量的探测,让带有荧光蛋白质的细菌在遇到砷时发出颜色;甚至还被用于玩具中,让玩具在黑暗中发光。

普瑞金认为自己运气不好,但他一点不后悔将GFP基因给了两位科学家。他说,钱永健和沙尔菲做了自己难以做到的非常伟大的工作,“那时,我知道我将离开这个领域,我的经费已经用完了”。“如果他们有机会来我这里,他们应该请我共进晚餐”。

王丹红 据《科学时报》