



取其精华 去其失误: 析“2012年诺贝尔化学奖与生理学或医学奖”

饶毅

北京大学生命科学院, 北京 100871

E-mail: yrhao@pku.edu.cn

在诺贝尔奖公布后, 讨论相关的科学研究, 有助于公众了解科学、科学界重温研究历程、学生学习和理解科学工作。

1 2012年化学奖的问题

诺贝尔化学奖委员会近9年来6次发给生物方面工作, 虽然委员会有生物成员, 仍经常出问题, 今年的化学奖也不例外。

与今年化学奖相关的, 有两位科学家的工作很重要: 日本的 Kimura 和美国的 Hargrave。虽然他们被委员会忽略, 他们的工作重要性不亚于今年得奖的 Lefkowitz。虽然 Lefkowitz 研究 GPCR (G 蛋白偶联受体) 很有苦劳(做了很多好的工作), 但功劳(单项突出工作)却不够突出。化学奖委员会称, Lefkowitz 和同事“made a seminal contribution when they cloned and sequenced the first receptor for epinephrine, β AR (33)”(克隆和测序肾上腺素能受体), 这个说法有4个问题。

首先, 20世纪80年代很多人克隆多种受体的基因, 这些受体的重要性并不低于 GPCR, 工作最为突出是日本的 Shosaku Numa, 其次是当时在美国的德国科学家 Axel Ullrich, 他们克隆了多个重要蛋白质的基因, 包括受体、离子通道等。化学奖介绍了 Lefkowitz 在克隆基因前期的标记和纯化 GPCR 蛋白质的工作, 确是同期重要的工作, 但总体上 Lefkowitz 不如 Numa 突出。

其次, 眼睛的视杆蛋白(rhodopsin)也是 GPCR, 而其基因在 Lefkowitz 工作以前好几年就被成功克隆了。1977年美国的 Hargrave 获得视杆蛋白氨基端部分序列, 其后 Hargrave (1982, 1983)和俄国的 Ovchinnikov (1982, 1983)获得视杆蛋白基因确定其编码蛋白质的全长序列。美国的 Jeremy Nathans (1983)也克隆视杆蛋白的基因, 并于1984~1986年一系列的工作中确定了眼睛的4个 GPCRs, 通过漂亮的遗传学方法证明了3个色觉相应的 GPCRs。而 Lefkowitz 参与的克隆肾上腺素能受体基因的工作发表于1986年(Dixon et al., 1986), 比视杆蛋白的3个工作都要晚好几年。虽然视杆蛋白是由光子激活的 GPCR, 而肾上腺素能受体是被化学分子激活的 GPCR, 他们的序列高度相

似。1986年肾上腺素能受体基因克隆的论文, 其标题也强调与视杆蛋白的相似性。

再次, 化学奖委员会引用的论文33是1986年克隆肾上腺素能受体基因的工作。但这篇文章(Dixon et al., 1986)中, Lefkowitz 既不是第一作者, 也不是通讯作者, Lefkowitz 实验室非此工作的主力, 第一和最后作者在 Merck Sharp and Dohme 公司(今称默沙东)的研究部门工作。如果按化学奖委员会认为这项工作是化学分子激活 GPCR 的代表性工作, 那么最大功劳就不是 Lefkowitz。诺贝尔化学奖委员会在引用和讲述这篇文章的时候, 把主要的人变成了名字可以忽略的“同事”, 而不是文章最主要的作者, 这个问题的出现就不仅仅是矛盾, 而是有点蹊跷。

最后, 大家公认 Brian Kobilka 的结构生物学工作。Brian Kobilka 坚持多年后, 于2007年成功地解析了化学分子激活的 GPCR 结构(Rasmussen et al., 2007; Rosenbaum et al., 2007), 并有一系列漂亮的后继工作。如果按解析 GPCR 蛋白质结构的工作来评价, 此前还有视杆蛋白的结构已经被解析: 1997年, 日本科学家 Yoshiaki Kimura 等解析细菌的视杆蛋白、2000年美国的 Palczewski 解析动物的视杆蛋白。

所以, 无论如何组合, Lefkowitz 都难以进入前三。可惜化学奖委员会继续不如一个用功的研究生, 再次忽略了很容易看到的工作。

2 2012年生理学或医学奖

2012年的诺贝尔生理或医学奖, 肯定了发育生物学基本问题的研究。

这是发育生物学第四次获诺贝尔奖。第一次是1935年德国的 Hans Spemann (1869~1941)(因为他发现胚胎诱导现象), 第二次是1986年意大利女科学家 Rita Levi-Montalcini (1909~)(因为她发现神经生长因子), 第三次是1995年德国的女科学家 Christiane Nüsslein-Volhard 以及美国的 Eric Wieschaus 和 Edward Lewis (因为他们研究果蝇发育的基因)。百年来, 发育的奖一半给了德国, 是因为德国在19世纪创立了近代发育生物学, 并多年领先。

我们每个人都是始于一个细胞(受精卵)。这一个细胞分成 2 个细胞,再分成 4, 8, 16, 32, 64 个细胞,如此直至很多很多细胞,而这些细胞的形态和功能都不一样。也就是说,最初的一个细胞,有多种潜能,而最后分化的细胞,只参与一个功能,比如长出头发的细胞、组成眼睛的细胞,不同于脑中、肝脏和肾脏的主要细胞。从发育生物学专业考虑,一个多潜能的细胞,如何变成分化的细胞,这个过程发生了什么变化、是否可逆?再生医学希望人造器官,粗略可以分成两步:第一步把已分化的细胞(如皮肤的细胞)退回多潜能状态的细胞(多能干细胞);第二步把多能干细胞变成我们需要的细胞(比如肾脏的细胞)?如果可以这样,或许当我们失去眼睛、肾脏、胳膊的时候,我们用自己无关紧要的细胞(如皮肤上刮下一点),重新制造我们失去的细胞、组织、器官。这在应用上有着诱人的前景,可惜目前还做不到。

Gurdon 和山中伸弥的工作与第一步有关:Gurdon 研究分化的细胞是否能退回多能细胞,而山中伸弥研究用什么分子可以将分化的细胞退回多能干细胞。有很多人在做第二步(将多能干细胞变成我们希望的分化细胞),但尚需确定高效的、公认的、无副作用的方法。Gurdon 和山中伸弥的工作在目前来说做得相当好,所以得了诺贝尔奖。但这类工作有其他里程碑,也并未终结此领域的研究,现在也不是非常清楚山中伸弥的成果最后应用意义有多大。他们的工作本身有很长的历史背景,可以推算到 19 世纪德国的近代实验胚胎学创始人 Wilhelm Roux (1850~1924)。但简单的是推算到 1952 年美国费城的科学家 Robert Briggs 和 Thomas King。他们于 1952 年发表一篇论文,将原来只在单细胞生物阿米巴做过的核移植技术(nuclear transfer),成功地建立于多细胞生物。他们把蛙的细胞核转移到另外一个去除细胞核的细胞里面,让后者发育生长。他们想检验细胞核在发育过程中是否潜能有所改变。当时,他们只检查了胚胎发育比较早的几个时期细胞核,发现越早成功率越高。

1958 年,当时在牛津大学的 Gurdon 等人用与 Briggs 和 King 相同的方法,换了一种蛙,也能做核移植,而且观察到同样现象,越早的细胞核,越能支持胚胎从开始发育到成熟。晚的细胞核移植成功率降低。但是, Gurdon 强调晚的细胞核竟然还有全能性,他们当时最晚是早于蝌蚪的时期。1962 年, Gurdon 用蝌蚪肠子的细胞核也获得成功,进一步支持分化的细胞,其细胞核仍有全能性,只是需要和早期的细胞质放在一起。这个工作一方面说明晚期细胞核还有全能性,另外一方面说明早期细胞质有保持或诱导全能性的能力。

1996 年英国爱丁堡 Roslin 研究所 Wilmut 团队把羊胚胎的细胞移到体外培养后,取其细胞核移植到早期卵母细胞,可以长成羊(Campbell et al., 1996)。1997 年, Wilmut 等人从成年羊的乳腺中获得细胞,取细胞核移植到卵母细胞,可以获得羊(Wilmut et al., 1997)。1997 年克隆羊的实验,证

明哺乳类动物分化细胞的细胞核可以重新变成具有全能性的胚胎干细胞。

所以,核移植与细胞核全能性的工作,突出的是 Briggs 和 King, Gurdon, Wilmut。不过, Briggs 于 1983 年去世、King 于 2000 年去世。

Gurdon 本人为很多人尊敬,有很多人希望他得奖。他是一个非常聪明的人(最近我才听说他的中学老师认为他生物学很差,不过这不是后来科学家对他的评价。他在 20 世纪 90 年代的研究,与我当时的研究是同一领域,我们常感叹他的研究聪明,也曾推荐学生上课要读他 20 世纪 90 年代的文章)。在英国有一批科学家,他们做工作很有趣,做科学不是为了吃饭,是为了好玩, Gurdon 就是这样的绅士科学家。美国也许从来没有过绅士科学家,现在英国这样的科学家也不多了。

日本科学家今年得奖的工作有 2 个基础:一是核移植显示分化细胞的核未丧失全能性;另一是分子生物学研究细胞命运。研究细胞命运的基因,最重要的工作是德国的 Christiane Nüsslein-Volhard, 美国的 Eric Wieschaus 和 Edward Lewis, 他们发现了很多控制果蝇胚胎发育的基因,于 1995 年获诺贝尔奖。他们研究的主要方式是让单个基因突变以后,看胚胎的表型,从而推论某个基因对某个发育过程是必需的。1987 年美国西雅图 Fred Hutchinson 癌症研究中心 Harold Weintraub 实验室做了一个很漂亮的实验。他带领研究生 Robert Davis 和博士后 Andrew Lassar, 用分子生物学的方法研究一个基因对细胞命运是否起到充分的作用。有一种成纤维细胞(C3H10T1/2), 在一种药物处理下,不知为什么,会变成肌肉细胞。Weintraub 实验室比较成纤维细胞和肌肉细胞之间表达哪些不同的基因,找到 3 个差异表达的基因。他们将每一个基因单独转入成纤维细胞,结果其中一个可以将成纤维细胞变成肌肉细胞,他们称这一基因为 *MyoD* (肌肉决定)(Davis et al., 1987)。其后,他们和多个实验室发现, *MyoD* 可以将许多不同细胞变成肌肉细胞,这是通过单个基因改变细胞命运的里程碑。2012 年, Lasker 获得者 Tom Maniatis 称 Weintraub 是他认识的最聪明的生物学家,可惜 Weintraub 患脑瘤去世了。

1995 年瑞士巴塞尔生物中心的 Walter Gehring 带领实验室同事发表一篇论文,发现在果蝇中,用一个基因可以诱导眼睛产生,果蝇的这个基因称为 *eyeless*、它在脊椎类动物的类似基因称为 *Pax6*。还在摩尔根时代就知道:没有这个基因,眼睛减小很多。Gehring 实验室克隆到这个基因后,发现它平时表达在早期眼睛里,而通过转基因将它表达达到果蝇身体其他部分,可以在多个部位长出眼睛,如翅膀上、腿上 (Halder et al., 1995)。这表明,通过单个基因可以改变一些细胞的命运导致一个器官的形成,至少在果蝇如此。可惜的是,在脊椎动物、哺乳动物,还没有找到用单个或多个基因制造组织、器官的方法,人造生物器官的梦想还需要努力。

多能干细胞也是一种细胞命运。1990 年, 日本的 Okamoto 等人、德国的 Scholer 等人分别独立发现多能干细胞特异表达的 *Oct4* 基因。2003 年, 山中伸弥实验室和英国的 Chambers 等人独立发现另一个对维持多能干细胞重要的基因 *Nanog* (Mitsui et al., 2003; Chambers et al., 2003)。 *Oct4* 和 *Nanog* 可以使少数种类的细胞变成干细胞, 但一般来说, 它们单独不能将分化的细胞变成干细胞, 还需要其他因素。

在这些基础上, 有了山中伸弥的工作。

山中伸弥原来的科学背景较弱, 在美国进修时实验室也不是很好, 回到日本时的研究条件也不很好。但他坚持不懈, 一步一步, 沿着自己原来的研究方向, 最后做了很好的工作。2003 年, 他实验室作为发现 *Nanog* 的 2 个实验室之一 (Mitsui et al., 2003; Chambers et al., 2003), 首次为较多科学家注意。进一步, 他实验室的 Takahashi 和他选择了多能干细胞与一般细胞不同的基因, 他们估计了 24 个基因, 然后把 24 个基因同时导入分化的细胞, 结果能够将后者转化为多能干细胞, 他们逐步做减法, 减去某一个, 最后发现只需要 4 个基因(*Myc*, *Oct4*, *Sox2* 和 *Klf4*)就足以将分化的细胞变成多能干细胞(Takahashi and Yamanaka, 2006)。他们将由由此得到的干细胞称为诱导多能干细胞(iPS)。这一工作立即引起广泛的瞩目。

他们 2006 年的工作是用老鼠细胞做的。2007 年, 他实验室(Takahashi et al., 2007)以及美国迪斯康斯大学汤姆森实验室的俞钧瑛等人(Yu et al., 2007), 独立报道 4 个基因也可以使人的细胞转化为多能干细胞, 4 个实验室用的 4 个基因中有 2 个不同。

iPS 立即为很多实验室使用, 并认为有很多应用潜能。不过, iPS 的应用还有尚未完全解决的问题。最后用于再生医学的途径和方法, 迄今未知, 所以, 如果最后需要制造

干细胞, 而且制造干细胞的方法是通过用基因诱导干细胞, 那么今年奖山中伸弥是对的。不过, 也有可能: 最后应用的方法不用制造干细胞, 直接从一种分化的细胞变成另外一种分化的细胞, 省略干细胞一步, 那么方法就完全是 Weintraub 等人 1987 年发明的; 也可能最后制造应用的方法是大家想不到、完全不同于山中伸弥的方法和途径。所以, 虽然大家对 iPS 还在兴奋期间, 但工作尚未完成、意义未经长期检验。

很多人推崇已经 79 岁的 Gurdon, 把他和山中伸弥合在一起, 可能也是山中伸弥 2006 年工作出来时间不久就获奖的原因之一。

3 结语

对各种评价/评审共识度是否高, 取决于: (1) 领域是否有共同价值观, (2) 评审者的专业水平, (3) 评审者的公正性以及(4)评审者花一定的精力做足功课。文学奖与和平奖难以获得大家共识, 主要是第一种原因, 讨论起来很快就变成价值和立场的争论。而诺贝尔自然科学奖, 虽然一般在科学界有相当大的共识, 但也会出现不同意见, 出现错误, 常是第 4 种原因。在国内评审中, 可能第 3 种情况多一些。

如果将诺贝尔奖奉为神明, 自己不直接读原始文献, 按诺贝尔奖的描述讲课、写教科书, 就可能夸大一些工作、忽略一些真正重要的工作, 不了解科学事实和研究的历史进程, 有时误导学生和其他后来者。

如果误以为发了诺贝尔奖就是定论, 就可能因为诺贝尔奖的写法而误以为某项工作已经达到顶峰。实际上, 有时不是这样。我们在肯定获奖工作正确部分的同时, 无需崇拜、不应该被迷惑, 有时意识到有可能另辟蹊径, 走不同的道路、做不同的研究, 才更有意义。

推荐阅读文献

- 1 Briggs R, King T J. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1952, 38: 455-463
- 2 Campbell K H S, McWhir J, Ritchie W A, et al. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 1996, 380: 64-66
- 3 Chambers I, Colby D, Robertson M, et al. Functional expression cloning of *Nanog*, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*, 2003, 113: 643-655
- 4 Davis R L, Weintraub H, Lassar A B. Expression of a single transcribed cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*, 1987, 51: 987-1000
- 5 Dixon R A F, Kobilka B K, Strader D J, et al. Cloning of the gene and cDNA for mammalian β -adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature*, 1986, 321: 75-79
- 6 Gurdon J B, Elsdale T R, Fischberg M. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei. *Nature*, 1958, 182: 64-65
- 7 Gurdon J B. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol*, 1962, 10: 622-640
- 8 Halder G, Callaerts P, Gehring W J. Induction of ectopic eyes by targeted expression of the eyeless gene in *Drosophila*. *Science*, 1995, 267: 1788-1792

- 9 Hargrave P A. The amino-terminal tryptic peptide of bovine rhodopsin: A glycopeptide containing two sites of oligosaccharide attachment. *Biochim Biophys Acta*, 1977, 492: 83–94
- 10 Hargrave P A, McDowell J H, Sremiatkowski-Juszczak E C, et al. The carboxy terminal one-third of bovine rhodopsin: its structure and function. *Vis Res*, 1982, 22: 1429–1438
- 11 Hargrave P A, McDowell J H, Curtis D R, et al. The structure of bovine rhodopsin. *Biophys Struct Mech*, 1983, 9: 235–244
- 12 Kimura Y, Vassilyev D G, Miyazawa A, et al. Surface of bacteriorhodopsin revealed by high-resolution electron crystallography. *Nature*, 1997, 389: 206–211
- 13 Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*, 2003, 113: 631–642
- 14 Nathans J, Hogness D S. Isolation, sequence analysis, and intron-exon arrangement of the gene encoding bovine rhodopsin. *Cell*, 1983, 34: 807–814
- 15 Nathans J, Hogness D S. Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding human rhodopsin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 4851–4855
- 16 Nathans J, Thomas D, Hogness D S. Molecular genetics of human color vision: The genes encoding blue, green, and red pigments. *Science*, 1986, 232: 193–202
- 17 Nathans J, Piantanida T P, Eddy R L, et al. Molecular genetics of inherited variation in human color vision. *Science*, 1986, 232: 203–210
- 18 Okamoto K, Okazawa H, Okuda A, et al. A novel octamer binding transcription factor differentially expressed in mouse embryonic cells. *Cell*, 1990, 60: 461–472
- 19 Ovchinnikov Y A, Abdulaev N G, Fergina M Y, et al. The complete amino acid sequence of visual rhodopsin. *Bioorg Khim*, 1982, 8: 1011–1014
- 20 Ovchinnikov Iu A, Abdulaev N G, Feigina M, et al. Visual rhodopsin. III. Complete amino acid sequence and topography in a membrane. *Bioorg Khim*, 1983, 9: 1331–1340
- 21 Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, et al. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor. *Science*, 2000, 289: 739–745
- 22 Rasmussen S G F, Choi H J, Rosenbaum D M, et al. Crystal structure of the human beta 2 adrenergic G protein coupled receptor. *Nature*, 2007, 450: 383–387
- 23 Rosenbaum D M, Cherezov V, Hanson M A, et al. GPCR engineering yields high-resolution structural insights into β 2-adrenergic receptor function. *Science*, 2007, 318: 1266–1273
- 24 Scholer H R, Dressler G R, Balling R, et al. Oct-4: A germline-specific transcription factor mapping to the mouse t-complex. *EMBO J*, 1990, 9: 2185–2195
- 25 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663–676
- 26 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, 131: 861–872
- 27 Wilmut I, Schnieke A E, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 1997, 385: 810–813
- 28 Yu J, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, 318: 1917–1920

(本文整理自 2012 年 10 月 22 日下午在中国科协的几次发言, 顺序有改动, 文字有所修饰、补齐了速记省略的英文人名、修改了速记的错误, 另外稍加部分内容)