



记2012年诺贝尔化学奖得主 Brian Kobilka: 当之无愧的科学英雄

杜洋

Department of Molecular and Cell Physiology, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA 94305-5101, USA

E-mail: yangdu@stanford.edu

2012年10月10日,瑞典皇家科学院在斯德哥尔摩宣布,将本年度诺贝尔化学奖颁发给在“G蛋白偶联受体”方面作出突出贡献的两名美国科学家。他们分别是 Robert J. Lefkowitz 和 Brian K. Kobilka。其中, Brian Kobilka 于1955年出生于美国明尼苏达州 Little Fall, 现任斯坦福大学医学院分子与细胞生理学系教授。虽然之前已经有人预测 Brian Kobilka 会获得诺贝尔奖,但是如此之快还是让很多人感到惊讶。记得清华施一公教授曾在苏州冷泉港会议说过, Brian 是一个真正的“hero”(英雄)。随着自己与 Brian 科研交流的日益深入,我越来越体会到这个词的分量。这里想说几点我的感想,主要是希望我们能从他身上学到科学研究所应该具备的一些可贵品质。

1 HHMI (Howard Hughes Medical Institute, 霍华德休斯医学研究所)也有看走眼的时候

GPCR (G-protein coupled receptors G蛋白偶联受体)作为人类基因组编码的最大类别膜蛋白超家族,有800多个家族成员,广泛参与感知、生殖、发育、生长、神经和精神等多种生命活动,并与人体几乎各个方面生理代谢都密切相关^[1]。因此,超过50%的临床用药物以及正在研发中的药物都把 GPCRs 作为作用靶点。特别是,全球20种最畅销的药物有12种都是以 GPCR 为靶标,每年的销售总额高达2000亿美元。GPCR 的构象高度灵活,调控非常复杂,天然丰度很低,起初非常难以研究。美国杜克大学的 Robert J. Lefkowitz (与 Brian 分享诺奖并是他的博士后导师)在这个领域做了很多开创性的工作和贡献。Brian 就是在 Robert 的实验室里首先克隆了人 Beta2 肾上腺素受体的 cDNA 序列,开始了与 GPCR 研究的不解之缘^[2]。自从 Brian 在斯坦福大学医学院开始独立研究以来,十几年的时间里在 GPCR 结构生物学领域一直没有重大的突破,导致 HHMI 这种擅长支持长期高风险研究的机构都没有耐心了。HHMI 于是在2003年左右的时候停掉了 Brian 的科研资助。那几年确实非常艰苦,并且由于课题风险太高, Brian 不敢也没有条件招收博士后,不得已他只能自己做实验。不过 Brian 还是靠着 NIH (National Institutes of

Health, 美国国立卫生研究院)的少许 R01 资助坚持了下来,并于2007年解析了第一个人非视紫红质 GPCR 的晶体结构,取得了初步的成功^[3]。当我们看到他现在的光环时,很少有人能体会到他过去的艰辛。现在回首看来,我认为一方面是默默地坚持,拥有一颗宽阔的心胸承受失败,对于科研的成功非常重要;另一方面,我们也看到, HHMI 也有看走眼的时候。虽然 Brian 现在每年都还在担心科研经费的问题,但是我相信按照现在实验室的研究势头在今后的几年应该不会是个问题吧。

2 Brian Kobilka 获得诺贝尔化学奖的主体工作

听不少人说, GPCR 结构生物学领域最终肯定会获得诺奖。这里不得不佩服北京大学饶毅教授看待当前生命科学前沿动态的眼光^[4]。在 GPCR 这个竞争日趋激烈的研究领域, Brian 确实是一个几近完美的成功者。举个例子,当人遇到危险或紧张时,肾上腺会分泌一种激素,叫肾上腺素。它作为配体,犹如一把钥匙,特异性地打开(激活)肾上腺素受体这把锁。然后细胞就能感受到这一外部的危险,并快速做出相应的生理反应。比如心跳变快、瞳孔放大、呼吸加速、肌肉收缩等来应对,即所谓的 fight-or-flight(迎战或逃跑)。Beta2 肾上腺素受体就一直是研究 GPCR 最标准的模式受体。Brian 就是围绕这个受体开展了长达20多年的工作。厚积薄发,在最近的几年里才有最为出色的突破和进展。这些成果为 GPCR 领域很多基础性的生物学问题提供了重大的启示,并同时为基于 GPCR 结构的药物开发起着重要的推动作用,因此成为很多国际大型制药公司争相追逐的热点。虽然 Brian 在其他 GPCR 领域也做出了很多出色成果,但是围绕 Beta2 肾上腺素受体相对是最完备的工作,我认为这应该是今年 Brian 接受诺贝尔奖的主体工作。简要列举如下:

() Brian 在2007年与 Raymond 研究组合作解析了非活化 Beta2 肾上腺素受体的晶体结构^[3]。Brian 在这个成果上的主要贡献是基于首次发明了 T4 溶菌酶融合的技术,对该膜蛋白做了长期大量的纯化制备和生化研究, Raymond 研究组则主要负责数据收集和结构解析工作。另外,

Brian 还在那年独立地利用抗体稳定技术解析了这个膜蛋白。这让人们看到了神秘多年的第一个非视紫红质 GPCR 结构的全貌。这个成果被评为当年科学十大进展之一,由此带动下,更多地研究者开始进入这个领域,相关的成果如雨后春笋般不断涌现。

() Brian 在 2011 年初解析了第一个真正处在活化状态的、与激动剂(agonist)结合的 GPCR 晶体结构(活化状态的 GPCR 非常活跃,更难以结晶)^[5]。这里用“真正”一词是因为这个结构是借助于 Nanobody 抗体技术筛选出来的、构象选择性的、功能得到充分鉴定的 G 蛋白类似物帮助结晶,让人们第一次可以通过和非活化状态结构的比较来了解 GPCR 激活的结构生物学机制,阐释了胞外配体如何引起显著的构象变化激活 GPCR 来传递到下游信号通路。

() Brian 在 2011 年中解析了第一个激活状态下 GPCR 和下游 G 蛋白复合物相互作用瞬间的晶体结构^[6]。这个成果是在 2011 年苏州冷泉港关于膜蛋白主题会议上报道的。世界上大部分杰出的膜蛋白领域科学家都出席了这次会议。这个成果在当时震惊全场。它让人们第一次观察到细胞外的小分子配体如何通过灵活多变的 GPCR 进而激活胞内体积相对巨大的 G 蛋白,从而传导各种各样的生理学信号。这个结构重要的科学价值我相信通过今后的引用率会稳步地得到证明,应该也是这次诺贝尔奖的皇冠之作。

() 以方法学而论, Brian 为了解析 GPCR 及其与 G 蛋白的复合物结构,他和合作者一起开发和应用了若干创新的技术手段,如抗体稳定(nanobody)、T4 溶菌酶融合(T4 lysozyme fusion)、超强激动剂(super agonist)、共价偶联配体(covalent ligand)、新型去垢剂(new detergent type)、单分子三维电镜分析(single particle EM analysis)、改进的适用于 GPCR 的脂立方相晶体筛选及微束衍射(micro-diffraction)等下游很多晶体学技巧。我相信这些技术很可能在以后让相关的膜蛋白结构生物学研究受益。

3 承载科学家使命的 Dr. Kobilka

这里 Dr. (Doctor)想指的更多是医生的意思。很多人知道, Brian Kobilka 毕业于耶鲁大学医学院,授予的是医学博士学位(MD)。在美国拿到 MD 学位的人大部分都去做了医生,因为医生在美国是一个有地位、受人尊敬并且收入高的职业。Brian 也在华盛顿大学做了几年内科住院医生。但是基于对科学的热爱,他毅然决然地踏上了充满风险和未知的科研之路。事实上, Brian 没有在学生时期系统地受过结构生物学知识和技术的训练。但是他为什么能够在结构生物学的领域如此成功呢?我觉得这主要归结于他对待科学的态度、跨领域的研究背景和严谨的思维方式。很多人应该不知道, Brian 在自己实验室早期从事了大量的细胞生物学、生理学和生物化学的研究工作。他在基于转基因小鼠的心脏生理研究上其实也做出了很出色的工作。加上

好奇心驱动,他对相关的广泛领域都有所涉猎,具有广泛的知识面和对多个领域技术研究特点的出色理解。这让他后来投身的结构生物学领域具备了扎实的基础。

有句古话,知己知彼,百战不殆。正是他这么多年积累的对于 GPCR 的各种性质特点充分的理解,他对哪些因素有可能阻碍 GPCR 晶体的生长和结构的解析有一种敏锐的洞察力,而不是只依赖于晶体学本身技术和原理的认识。比如,大家知道,膜蛋白大部分是疏水的部分,这些地方是非常不利于每个蛋白质分子排列的。就像无法相互契合的砖头很难盖得好一栋完整的房子。那么自然地就是能够想办法增加膜蛋白表面的极性面积,让分子彼此之间倾向于相互靠拢,那么这栋房子就更容易盖好了。再比如, GPCR 分子是高度活跃的,就像一个个很调皮活泼的孩子,让他们一个个乖乖地服从命令站好队不是那么容易,那么就要想办法能让他们安静下来。比如给每个孩子一个好吃的糖果,让他们乖乖地听话,这样就更容易让他们服从安排。那么特定的配体或抗体就像这个糖果,能让每个 GPCR 分子安静下来不那么活跃。总之,正是基于对于 GPCR 分子特性的很好理解, Brian 能够想出很多为 GPCR 晶体的生长和改善的主意。这让我们同时也想到好几年前在网络上一篇有名的科学博文“从纯化到星辰”里,作者在冷泉港实验室进修的体会:“真正的科学家应该不会因为过去受到的科研训练所束缚,应该随时准备好根据研究的需要学习新的东西。”我觉得 Brian 在这点上同样是我们学习的榜样。

4 谦逊、害羞并可爱的 Brian

人常说,性格决定命运。虽然人无完人,但在在我看来, Brian 确实是接近于一个完美的人。他做事低调,性格温和,为人谦虚,坚韧执着。同时,我们也看到他是一个非常合格的导师、丈夫和父亲。要真说缺点,他不太擅长和别人谈论科研以外的话题,对媒体的访问也不适应,甚至于紧张。在实验室这么久,从来没有看到他因为任何事情对学生语气生硬过,更别说生气。他总是非常顾忌其他人的感受,如果实验室有人粗心犯了什么错误,他不会先选择直接去找这个学生,而是会在组会上作为一个一般性的问题提出来。他的性格内敛到以至于学生有时候都会觉得不好意思。比如有时候他很想知道我一段时间的进展,他会静静地站在我的面前,看着我不好意思地微笑,欲言又止,我明白他是想让我告诉他一些最近的实验结果,确保我在正确的研究轨道上。在我看来, Brian 是一个非常纯粹的科学家。

5 兴趣和工作的区别

我也常听到科研界的同事说,作科学的境界主要分为两种,一种是真心地喜欢,作为自己热爱的事业去做,是兴趣驱动地;另外一种科研只是生活的手段或选择的一种

工作。很明显从事科研的人的理想是前一种。但由于各种主观和客观的因素，很多人都是处于后者的阶段。有时候追逐理想但远离现实时会付出很多代价，放在科研上也是如此。比如有时忙于应付各种资金申请和评审可能会把对于某个领域的热爱抛在脑后。我能一直感受到 Brian 对科学那种内在的热爱。他一直被好奇心驱使着想要回答一些重要的生物学问题。他和我讨论课题时，经常使用的一个句式是：“I am very interested in ...”来表达他希望我关注并且回答的问题。实验室的每个同事都被 Brian 对科研的这种热爱所感染，都在享受着艰辛科研工作所带来的乐趣。

6 Brian 和他的合作者们

细心的听众可能会注意到，每当 Brian 在媒体面前发表所谓获奖感言时，他一直都特别强调众多合作者的贡献^[7]。他说对于他工作的认可，也相当于对于合作者工作的认可。比如如果能了解一下 Beta2 肾上腺素受体和 G 蛋白的复合物结构，大家应该能认识到，没有很多合作实验室强大的协助，单靠一个实验室，要解析这个结构是非常困难，甚至在短期内是不可能的。坦诚地说，Brian 的 GPCR 研究涉及到非常多前沿的技术，而往往一个实验室很难在多个领域都非常专业。所以需要多方面出色的合作者一起共同来解决一些挑战性的课题。但是同时会出现另

外一个问题，为什么这么多出色的科学家愿意与 Brian 合作？根据我的了解，Brian 遇到非自己专长的知识范畴时，他会如同一个学生，非常谦虚地主动联系相关的研究者。即使之前完全不认识，也不管对方的资历是深或是浅。他一直非常肯定合作者的贡献，并且给予合作者公平的承认，让每个合作者都心悦诚服，有时候那种不耻下问的精神非常值得学习。

7 展望未来：光明而又曲折

有不少人评价 Brian 的工作完整地诠释了单个 GPCR 非活化、活化及其 G 蛋白复合物的结构生物学基础，系统地阐述了配体调控的 G 蛋白激活机制。虽然这些都是里程碑式的工作，对于 GPCR 领域会有巨大的推动作用。并且可以预见，GPCR 作为近年来的明星分子，肯定会继续保持热度并让许多研究者投身于这个领域。但是还是有非常多基础性的重大问题还没有得到解决，比如 G 蛋白选择性激活的机制、非 G 蛋白调控通路机制(beta-arrestin)和 GPCR dynamics 特性的系统分析等等。Brian 对于以后的研究方向有着清晰的规划，将主要专注于几类代表性的 GPCR 家族，进一步深入回答一些基础性的生物学问题。我们坚信接下来的工作将会对这复杂而美妙的 GPCR 调控全景进一步进行完善，并基于这些研究成果能够开发出效果更好和选择性更强的新药，从而为人类的健康和未来造福。

推荐阅读文献

- 1 Fredriksson R, Lagerström M C, Lundin L G, et al. The G-Protein-Coupled Receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic Analysis, Paralogon Groups, and Fingerprints. *Mol Pharmacol*, 2003, 63: 1256–1272
- 2 Kobilka B K, Dixon R A, Frielle T, et al. cDNA for the human β 2-adrenergic receptor: A protein with multiple membrane-spanning domains and encoded by a gene whose chromosomal location is shared with that of the receptor for platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 46–50
- 3 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
- 4 饶毅. 旧文重读《一个可能的诺贝尔化学奖》，博文，<http://blog.sciencenet.cn/home.php?mod=space&uid=2237&do=blog&id=621167>
- 5 Rasmussen S G, DeVree B T, Zou Y, et al. Crystal structure of the β 2 adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature*, 2011, 477: 549–555
- 6 Rasmussen S G, Choi H J, Fung J J, et al. Structure of a nanobody-stabilized active state of the β (2) adrenoceptor. *Nature*, 2011, 469: 175–180
- 7 Buchen L. Cell signalling: It's all about the structure. *Nature*, 2011, 476: 387–390