



Braun Tibor

■ ELTE Kémiai Intézet

A kémiai Nobel-díjra érdemes taxisofőr

Douglas Prasher és a tudományos kutatás anyagi támogatottságának diszkrét bája

Bevezetés

A tudományos „jutalomrendszer” [1] egyik legismertebb megjelenési formáját a tudományos díjak jelentik. A történelem folyamán a tudományos teljesítmény jutalmazására számos díjat hoztak létre és – az esetek többségében „meritokratikusan” – adományoztak olyan kutatóknak, akiket a díjak létrehozói arra alkalmasnak találtak. A körülmények rendkívül szövevényes alakulása következtében azonban egy díj egészen különleges tekintélyre tett szert, a tudományos díjak díjává, minden kutató elérhetetlennek hitt álmává, a tudomány Walhallájába való bejutás küszöbévé, a tudományos teljesítmény örökös elismerésének szimbólumává vált.

Ez a díj az Alfred Nobel svéd feltaláló által 1900-ban alapított és 1901-ben először kiosztott Nobel-díj, amely külön-külön a fizikában, a kémiában, valamint az élettudományok (fiziológia és orvostudomány) területén elért kimagasló kutatási teljesítményeket honorálja. A Nobel-díjnak, keletkezésének, működésének, eddigi történelmének is jelentős szakirodalma van, érdeklődő inyceneknek figyelmébe ajánlhatók Hargittai István [2] és Harriet Zuckerman [3] kiváló monográfiái, de talán a díjátadások ünnepélyességét ismerető mű is [4].

Hadd említsük itt meg, hogy a Nobel-díj odaítélésére vonatkozó meglehetősen szigorú alapszabályok egyike háromra korlátozza azon kutatók számát, akik egyazon felfedezésért Nobel-díjat kaphatnak. A díjazottak kiválasztásának aránylag szövevényes eljárása, valamint a svéd Nobel Bizottság döntéseinek titkos, sőt néha titokzatos volta ellenére a szakirodalom el-

ismeri, hogy a díjakkal – fennállásuk 110 éve alatt – csaknem kivétel nélkül az azokra érdemeseket tüntették ki. Ennek ellenére nem titkolható el, hogy a tudományos kutatási tevékenység ipari méretűvé fejlődése során a mindenkor díjakra érdemek nagy száma miatt nemritkán a díjazottak számának Alfred Nobel által három személyre való korlátozása azt eredményezte, hogy a díjból olyan kutatók maradtak ki, akik ugyanúgy rászolgáltak volna a díjra, mint a díjazottak.

Nem felesleges talán annak a ténynek a megemlézése, hogy a tudomány és a tudományos kutatás már fentebb említett nagymértékű fejlődése az utóbbi több száz év során azzal is együtt járt, hogy a fejlődés a tudományos szakterületeket az interdiszciplinaritás [5] felé terelte. Ez már régebben is érzékelhető volt, de az utóbbi időben például a fizika, a kémia és az élettudományok között egyre inkább elmosódtak a szigorú szakterületi határvonalak. Ez többek között az említett három szakterü-

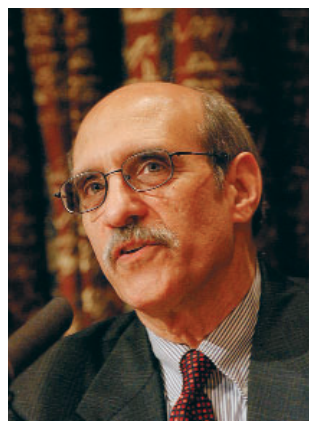
let Nobel-díjai esetében is jól megfigyelhető. Erre számos példa sorolható, de talán itt egy is elegendő. Ronald Belcher, a kitűnő angol kémikus írta már 1978-ban: „legalább négy vegyészt tüntettek ki Nobel-díjjal analitikai kémiai felfedezésekért, de jelentősnek tekinthető, hogy mind a négy esetben a megfelelő felfedezés a biokémia fejlődését gyarapította” [6].

Nem érdektelen igazolása a fentieknek a 2008-ban Martin Chalfie-nak (USA), Osamu Shimomura-nak és Roger Tsien-nek (USA) odaítélt kémiai Nobel-díj a kémia és biológia (biokémia) határterületén végzett kutatásokért a zöld fluoreszcens fehérje (GFP: Green Fluorescent Protein, magyarul ZFF) felfedezéséért és gyakorlati alkalmazásáért.

A 2008-beli kémiai díj és a díjazottak ismertetése a szakirodalomban és a médiában könnyen hozzáférhető [7–9].

Jelen dolgozat címe utalva talán az eltelt nagyob olvasói vagy általános érdeklődést, ha a történet arról szólna, ho-

Martin Chalfie
(kémiai Nobel-díj, 2008)



Osamu Shimomura
(kémiai Nobel-díj, 2008)



Roger Tsien
(kémiai Nobel-díj, 2008)





gyan válhat egy egyszerű taxisofőr tudományos Nobel-díjra érdemessé, sőt az izgalmat fokozva tudományos Nobel-díjassá.

Annak ellenére, hogy a mai világban sokan azt mondják, hogy minden lehetséges, sőt, mindennek az ellenkezője is, történetünk valóban a fentiek fordítottjáról szól, azaz arról, hogyan vezethet egy tudományos kutató útja a valóban Nobel-díj értékű kutatási eredményeket elérő szinttől a taxisofőrségig.

Történetünk hőse, Douglas Prasher 1951 augusztusában született. 1979-ben doktort (PhD) szerzett biokémiából az Ohioi Állami Egyetemen. 1979 és 1983 között biokémiai és genetikai kutatásokat végzett a Georgiai Egyetemen és ezek az *Aequorea victoria* nevű medúzából kivont aequorin klónozásához vezettek. Ezután biolumineszcenciával foglalkozott a Woods Hole-i Óceánográfiai Intézet biológiai osztályán. 1988-ban négy évre szóló, 220 000 dolláros kutatási támogatást kapott az Amerikai Rákkutató Társaságtól a GFP (ZFF) génjének klónozásával kapcsolatos kutatásokra. Prasher sikeresen oldotta meg ezt a feladatot, és közben eredményeit ismertette a vele már kommunikációs kapcsolatban álló Martin Chalfie-val és Roger Tsien-nel, sőt klónozott cDNS-mintákat is átengedett nekik. Prasher kutatásai lassabban haladtak a ZFF fluoreszkálásának tanulmányozásában, miközben Chalfie és Tsien sikeresebbek voltak e téren. A ZFF-et később biokémiai nyomjelzőként alkalmazták például fehérjék in vivo vizsgálatánál [19]. Prashernek azonban nem sikerült állandó állást szereznie a Woods Hole-i Intézetben, miután a kutatásra az ösztöndíjjal anyagilag támogatott mind a négy évét egy a ZFF-hez illő genetikai szekvencia keresésével töltötte, aminek befejezése előtt a kutatási pénz elfogyott. Prasher ezután újabb kutatási pályázatot nyújtott be a Nemzeti Egészségügyi Intézeteknek (National Institutes of Health) a ZFF témában, de pályázatát elutasították. A következőkben Prasher populációgenetikusként dolgozott az Egyesült Államok Mezőgazdasági Minisztériumához tartozó Cape Code-i Otis Növényvédelmi Központban, majd később átment a beltoville-i (Maryland) Növény Csíraplazma Karantén és Biotechnológiai Laboratóriumba. Miután itt is kimerült kutatási támogatása, a huntsville-i NASA-hoz tartozó AZ Technológiánál dolgozott, ahol egy újabb támogatási elvonás után elvesztette állását. Ezután Prasher képtelen volt állást találni a tudományos kutatásban, és miután megtakarított pénze elfogyott, el kellett vállal-

nia egy 10 dolláros óradíjjal fizetett taxisofőri állást a huntsville-i Bill Penney Toyota cégnél, mert öttagú családját el kellett tartania.

A 2008. évi kémiai Nobel-díj kihirdetésekor Martin Chalfie, az egyik egyesült államokbeli díjazott a következőket nyilatkozta: „Prasher munkássága lényeges és fontos volt a laboratóriumban végzett kutatásainkhoz. Azok (a Nobel Bizottság) minden további nélkül engem kihagyva Douglasnak és a másik kettőnek adhatták volna a díjat” [8].

A ZFF felfedezésének kronológiája a kezdetektől a Nobel-díjig [9]

1955 Medúzából kivont zöld fluoreszkáló anyag első leírása [10]

1962 10 000 medúzából kivont anyag fehérjeként való azonosítása [11]

1969 A „zöld fehérje” zöld fluoreszkáló fehérjének elnevezése [12]

1974 Sephadex oszlopon való együttes adszorpció során intermolekuláris energiaátadás aequorin és ZFF között a medúzában [13, 14]

1979 Shimomura meghatározza a ZFF kromofort [15]

1985 Prasher klónozza és leírja az aequorint [16]

1992 ZFF klónozása, nem fluoreszcens apoZFF előállítása [17]

1993 ZFF kromofor szerkezetének az igazolása. Aminosav-maradékok korrigálása Shimomura 1979-beli szerkezetében [18]

1994 ZFF beépítése *E. coli*-ba [19, 20] és *C. elegans*-ba [21]. Kromofor képződésének mechanizmusa. Új szín (kék) és oxigénfüggés leírása [22]

1995 Az S65T ZFF poszttranszlációs oxidálása gyorsabb, mint a wt-ZFF-é [23]. A fokozott ZFF (FZFF) eredetének leírása

1996 ZFF kristályszerkezetének leírása [24, 25]. Tsien jellemzi a T203Y-t az S65T ZFF alapján. Ez utóbbi sárgán fluoreszkál [24]

1997 Két, kalmodulin-kötő doménnel kapcsolatos fluoreszcens fehérje között fellépő FRET-jelenség (a Kaméleon nevű kalciumszenzor)

1999 Vörösen fluoreszkáló fehérjék (VFF) felfedezése korallokban [26]

2000 Időben változó színű fehérje felfedezése [27]

2002 VFF monomer [28–30], fotokonvertibilis és fotoaktiválható FA-ZFF [31] felfedezése

2003 Fehérjék irreverzibilis fotokonverziója nem fluoreszcensről stabilis vörös fluoreszkálásra fotoaktivációval [32]

2004 Új FF in vitro előállítása [33] és in vivo fejlődése [34]

2007 Távoli vörös FF. FF-alapú molekuláris hőmérő [35]

2008 Vörös kromoforhoz vezető *Aequorea victoria* ZFF előállítása [36]

Kérdőjelek és elemzés

Egy tudományos kutató karrierjének történetét természetesen számos szögből lehet elemezni, ezek közül csak egyike a lehetőségeknek a kutató témájának és az ahhoz kötött mérföldkövek kronológiájának az áttekintése. Nem szükséges különösebb analitikai véna annak észrevételéhez, hogy a témában az 1955 és 2008 közötti több mint 40 év során keletkezett legjelentősebb publikációk közül ötnek Prasher első szerzője vagy társszerzője volt, külön hangsúlyozva, hogy csak 1977-ben kezdte meg tudományos kutatói munkásságát.



Douglas Prasher, a kutató



Douglas Prasher, a taxisofőr

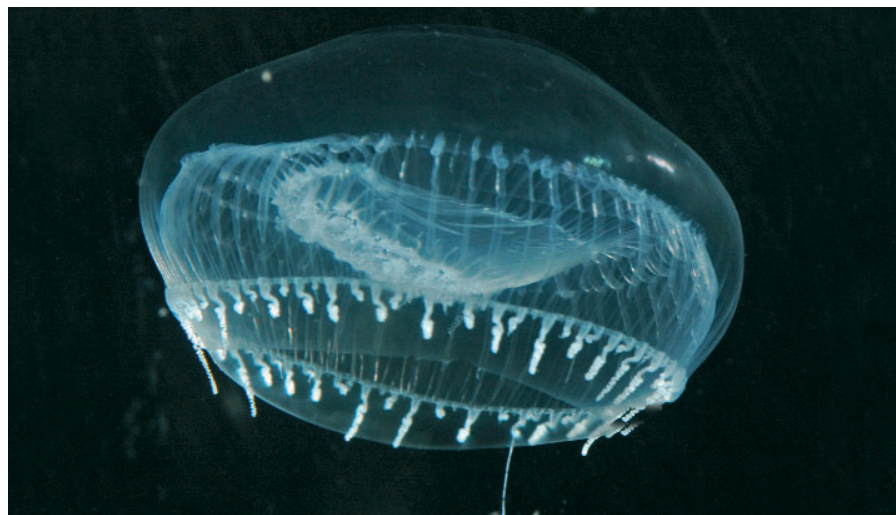
Közismert, hogy az Egyesült Államok tudományos kutatásának döntő része az úgynevezett grant (granting) rendszeren alapul, azaz a kutatáshoz szükséges anyagi támogatáshoz pályázni kell az e célra létrehozott állami vagy magán intézményeknél. A kutatási támogatás összege legtöbb esetben (de nem mindig) magában foglalja a kutató létfenntartásához szükséges fizetést, valamint a kutatáshoz szükséges eszközök stb. költségeit is.



A kutatási támogatásokat nyújtó intézményekre kivétel nélkül igaz a primitíven hangzó, de feltétlenül valós a „több az esz-kimó, mint a pingvin” közhely, magyarán a sok pályázó közül a támogatásra méltóknak tartottakat valamilyen eljárás szerint ki kell választani. Ezt a feladatot általában az e célra kiszemelt és felállított úgynevezett szakértői bizottságok szokták el-
látni.

Ezeknek a bizottságoknak a döntési mechanizmusa, a döntéshozatal folyamatai és részletei nemcsak az Egyesült Államokban, hanem mindenütt a világon általában bizalmasak, sok esetben titkosak és csaknem mindig áttekinthetetlenek.

A fentiek ismeretében Prasher esetében a „Vajon ez hogyan történhetett meg?” kérdéssel – a helyes válasz reménytelensége miatt – egyáltalán nem szabadna foglalkozni. A mindenütt jelen levő kíváncsiság alapján azonban talán ez esetben is felvethető néhány kérdés, amin érdemes elgondolkodni. Például az, hogy az Amerikai Rákkutató Társaság megfelelő pályázati bizottsága vajon milyen kritérium- és döntésmechanizmus szerint ítélte meg 1988-ban Prashernek három évre egy 220 000 dolláros kutatási támogatást, amikor még csak egyetlen jelentős publikációja [16] volt a témában. Ehhez persze rögtön hozzá kell tenni, hogy az amerikai orvos-biológiában fontosnak tartott témákban ez a támogatás nem számít igazán nagynak. Ahhoz azonban elégnek bizonyult, hogy a négy év során végzett kutatásairól társ-szerzőként később újabb négy jelentős közleményt publikáljon. Ezek után teljesen érthetetlen, hogy Prasher 1992-ben benyújtott pályázata miért és mitől talált elutasításra. Annál is inkább, mert akkor már ismertek voltak Prasher alapvető és a teljes ZFF-témát megalapozó eredményei. Valószínű, hogy a fent említett bizottsági döntések a homályban maradt döntési mechanizmus következtében máshol és mással is előfordultak, de csaknem biztosnak tekinthető, hogy ez az ítélet volt az első lépés Prasher tudományos kutatói karrierjének a romba döntéséhez. Jelen szerző nem ismer a Nobel-díjak és környékének történetében más ilyen vagy hasonló lefutású esetet.



SIERRA BLAKELY FELVÉTELE

Kristálymedúza (*Aequorea victoria*)

- linary History (1901–2001), World Scientific, New Jersey, Singapore, 2005.
- [5] P. Weingart, N. Stehr (Eds.), Practising Interdisciplinarity, University of Toronto Press, Toronto, 1999.
 - [6] R. Belcher, The Analyst (1978) 103, 29.
 - [7] <http://www.councoll.edu/ccacad/zimmer/GFP-ww/time-line.html>
 - [8] <http://www.blog.prathambooks.org/2008/10/image-via-wikipedoa-in-osamu.html>
 - [9] <http://www.conncoll.edu/ccacad/Zimmer/GFP-WW/time-line.html>
 - [10] D. Davenport, J. A. C. Nicol: Luminescence of Hydromedusae. Proc. R. Soc. London, Ser. B (1955) 144, 399–411.
 - [11] O. Shimomura, F. H. Johnson, Y. Saiga: Extraction, Purification and Properties of Aequorin, a Bioluminescent Protein from the Luminous Hydromedusa, Aequorea. J. Cell. Comp. Physiol. (1962) 59, 223–29.
 - [12] J. W. Hastings, J. G. Morin: Comparative Biochemistry of Calcium-activated Photoproteins from the Ctenophore, Mnemiopsis, and the Coelenterates Aequorea, Obelia, Pelagia and Renilla. Biol. Bull. (1969) 137, 402.
 - [13] J. G. Morin, J. W. Hastings: Energy Transfer in a Bioluminescent System. J. Cell Physiol. (1971) 77, 313–18.
 - [14] H. Morise, O. Shimomura, F. H. Johnson, J. Winant: Intermolecular Energy Transfer in Bioluminescent Systems of Aequorea. Biochemistry (1974) 13, 2656–62.
 - [15] O. Shimomura: Structure of the Chromophore of Aequorea Green Fluorescent Protein. FEBS Letters (1979) 104, 220–22.
 - [16] D. Prasher, R. O. McCann, M. J. Cormier: Cloning and Expression of the cDNA Coding for Aequorin, a Bioluminescent Calcium-Binding Protein. Biochemical and Biophysical Research Communications (1985) 126, 1259–68.
 - [17] D. C. Prasher, V. K. Eckenrode, W. W. Ward, F. G. Pendergast, M. J. Cormier: Primary Structure of the Aequorea Victoria Green Fluorescent Protein. Gene (1992) 111, 229–33.
 - [18] C. W. Cody, D. C. Prasher, W. M. Westler, F. G. Pendergast, W. W. Ward: Chemical Structure of the Hexapeptide Chromophore of the Aequorea Green Fluorescent Protein. Biochemistry (1993) 32, 1212–18.
 - [19] M. Chalfie, Y. Tu, G. Euskirchen, W. W. Ward, D. C. Prasher: Green Fluorescent Protein as a Marker for Gene Expression. Science (1994) 263, 802–05.
 - [20] S. Inouye, F. Tsuji: Evidence for Redox Forms of the Aequorea Green Fluorescent Protein. FEBS Letters (1994) 351, 211–14.
 - [21] R. Heim, D. C. Prasher, R. Y. Tsien: Wavelength Mutations and Posttranslational Autooxidation of Green Fluorescent Protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1994) 91, 12501–04.
 - [22] R. Heim, A. Cubitt, R. Y. Tsien: Improved Green Fluorescence. Nature (1995) 373, 663–64.
 - [23] M. Ormo, A. B. Cubitt, K. Kallio, L. A. Gross, R. Y. Tsien, S. J. Remington: Crystal Structure of the Aequorea Victoria Green Fluorescent Protein. Science (1996) 273, 1392–95.
 - [24] F. Yang, L. G. Moss, G. N. Phillips: The Molecular Structure of Green Fluorescent Protein. Nature Biotechnology (1996) 14, 1246–51.
 - [25] A. Miyawaki, J. Llopis, R. Heim, J. M. McCaffrey, J. A. Adams, M. Ikura, R. Y. Tsien: Fluorescent Indicators for Ca²⁺ Based on Green Fluorescent Proteins and Calmodulin. Nature (1997) 388, 882–87.
 - [26] A. Miyawaki, O. Griesbeck, R. Heim, R. Y. Tsien: Dynamic and Quantitative Ca²⁺ Measurements Using Improved Cameleons. Proc. Nat. Acad. Science (1999) 96, 2135–40.
 - [27] A. Terskikh, A. Fradkov, G. Ermakova, A. Zaisky, P. Tan, A. V. Kajava, X. N. Zhao, S. Lukyanov, M. Matz, S. Kim, I. Weissman, P. Siebert: „Fluorescent timer”: Protein that Changes Color with Time. Science (2000) 290, 1585–88.
 - [28] L. A. Gross, G. S. Baird, R. C. Hoffman, K. K. Baldridge, R. Y. Tsien: The Structure of the Chromophore within DsRed, a Red Fluorescent Protein from Coral. PNAS (2000) 97, 11990–95.
 - [29] R. E. Campbell, O. Tour, A. E. Palmer, P. A. Steinbach, G. S. Baird, D. A. Zacharias, R. Y. Tsien: A Monomeric Red Fluorescent Protein. PNAS (2002) 99, 7877–82.
 - [30] H. Mizuno, T. K. Mal, K. I. Tong, R. Ando, T. Furuta, M. Ikura, A. Miyawaki: Photo-induced peptide cleavage in the green-to-red conversion of a fluorescent protein. Molecular Cell (2003) 12, 1051–58.
 - [31] G. H. Patterson, J. Lippincott-Schwartz: A Photoactivatable GFP for Selective Photolabeling of Proteins and Cells. Science (2002) 297, 1873–77.
 - [32] D. M. Chudakov, V. V. Belousov, A. G. Zaisky, V. V. Novoselov, D. B. Staroverov, D. B. Zorov, S. Lukyanov, K. A. Lukyanov: Kindling Fluorescent Proteins for Precise in vivo Photolabeling. Nature Biotechnology (2003) 21, 191–94.
 - [33] N. C. Shaner, R. E. Campbell, P. A. Steinbach, B. N. G. Giepmans, A. E. Palmer, R. Y. Tsien: Improved Monomeric Red, Orange and Yellow Fluorescent Proteins Derived from Discosoma sp Red Fluorescent Protein. Nature Biotechnology (2004) 22, 1567–72.
 - [34] D. Shcherbo, E. M. Merzlyak, T. V. Chepurnykh, A. E. Fradkov, G. V. Ermakova, E. A. Solovieva, K. A. Lukyanov, E. A. Bogdanova, A. G. Zaisky, S. Lukyanov, D. M. Chudakov: Bright Far-Red Fluorescent Protein for Whole-body Imaging. Nature Methods (2007) 4, 741–46.
 - [35] F. H. C. Wong, D. S. Banks, A. Abu-Arish, C. Fradkin: A Molecular Thermometer Based on Fluorescent Protein Blinking. Journal of the American Chemical Society (2007) 129, 10302–3.
 - [36] A. S. Mishin, E. V. Subach, I. V. Yampolsky, W. King, K. A. Lukyanov, V. V. Verkhusha: The First Mutant of the Aequorea Victoria Green Fluorescent Protein that Forms a Red Chromophore. Biochemistry (2008) 47, 4666–73.

IRODALOM

- [1] J. Gaston, The Reward System in British and American Science, John Wiley and Sons, New York, 1975.
- [2] I. Hargittai, The Road to Stockholm. Nobel Prizes, Science and Scientists, Oxford University Press, Oxford, 2002.
- [3] H. Zuckerman, Scientific Elite. Nobel Laureates in the United States, The Free Press, New York, 1979.
- [4] U. Söderlind, The Nobel Banquets. A Century of Cu-