

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00873

## 乔治斯·科勒尔

郭晓强

解放军白求恩军医学院生化教研室, 石家庄 050081

今天在生命科学研究和医学应用中, 单克隆抗体成为最普遍的试剂之一, 但这在三十多年前几乎是无法想象的, 因为可产生特异性抗体的 B 淋巴细胞无法在体外长期培养, 因此根本不可能获取足量的抗体用于研究。1975 年, 两位科学家乔治斯·吉恩·弗朗茨·科勒尔(Georges Jean Franz Köhler)和西则·米尔斯坦(César Milstein)杂交瘤技术的发明很好的解决了这个难题。

科勒尔 1946 年 4 月 17 日出生于德国的慕尼黑, 高中时成绩中等, 但在 1965 年进入弗赖堡大学进行生物学学习后, 逐渐对生物学产生了极为浓厚的兴趣, 因此决定投身到该领域之中, 所以大学期间努力学习, 并且凭借在大肠杆菌 DNA 损伤修复突变株建立方面的成就而获得了学位。

1971 年, 科勒尔进入瑞士新建的巴塞尔免疫学研究所进行博士学习, 导师是梅尔彻斯(Fritz Melchers)教授, 期间主要进行了 $\beta$ -半乳糖苷酶的免疫学研究, 由于这项研究而于 1974 年获得博士学位。随后, 科勒尔离开瑞士来到英国著名的剑桥大学医学研究委员会(Medical Research Council, MRC)分子生物学实验室进行博士后研究, 指导老师就是米尔斯坦。

米尔斯坦 1927 年 10 月 8 日出生于阿根廷, 1945 年进入国立布宜诺斯艾利斯大学学习生物化学, 并于 1952 年获得化学学位。米尔斯坦在毕业后在布宜诺斯艾利斯大学继续进行研究生教育并于 1957 年完成了博士论文。在英国一个奖学金的支持下, 米尔斯坦 1958 年到 1961 年到剑桥大学在著名的分子生物学大师桑格(Frederick Sanger)的指导下进行蛋白质研究, 重点研究了酶当中蛋白质的功能并且在 1960 年获得了博士学位。1963 年米尔斯坦从阿根廷回到英国继续与桑格合作, 并在 MRC 建立了自己的实验室, 研究重点是抗体结构和多样性产生机制。米尔斯坦当时已经是一位著名的免疫学家, 1975 年就当选为英国皇家学会会员。米尔斯坦长科勒尔 19 岁, 在科学研究中是科勒尔的一位良师益友, 科勒



乔治斯·科勒尔(Georges Köhler, 1946–1994)

尔一生的主要科学成就就是在米尔斯坦的实验室取得, 这与米尔斯坦的坚定支持和鼓励密不可分。

科勒尔来到米尔斯坦实验室后, 选择单克隆抗体作为研究对象。其实科勒尔几年前就对这个题目产生了浓厚的兴趣, 主要原因是受到美国国立卫生研究院(NIH)的迈克尔·泡特(Michael Potter)骨髓瘤研究方面的影响。1962 年泡特首先在小鼠腹腔中诱导了大量的骨髓瘤, 骨髓瘤是一种浆细胞肿瘤, 可以产生大量针对单一抗原的抗体(单克隆抗体), 但当时这些骨髓瘤细胞在制备抗体方面还存在一些问题, 一是无法在试管中培养, 二是缺乏简单有效的方法来确定骨髓瘤细胞分泌针对何种抗原的抗体。许多科学家都对骨髓瘤产生了浓厚的兴趣, 进一步的实验获得了体外培养而使骨髓瘤无限增殖的方法, 从而有效的解决了第一个难题, 现在的问题是如何筛选抗体。科勒尔为了解决该问题, 在 1974 年考虑是否能够获得分泌指定抗体的骨髓瘤, 这将避免烦琐的筛选工作。当时已知正常 B 淋巴细胞可以被诱导产生针对特异性抗原的抗体, 但该类型细胞的缺陷是体外无法长期培养。科勒尔综合了这两种细胞的特性后认为如果可以将 B 淋巴细胞与骨髓瘤融合而获得杂交细胞, 则可以即能体外无限增殖又可分

泌大量针对目标抗原的特异性抗体。米尔斯坦对科勒尔的这个想法表现出极大的支持,鼓励他按照自己的思路进行实验。

科勒尔在刚到实验室后,已经熟练掌握了细胞融合技术,因此首先用绵羊红细胞(SRBC)免疫后的小鼠 B 淋巴细胞(可分泌抗羊红细胞抗体),然后利用仙台病毒诱导使该细胞与小鼠 P3 骨髓瘤细胞融合,这个过程相当顺利,几天后就从瓶子中观察到融合细胞的生长,说明细胞融合的成功。现在的关键问题是这种杂交细胞是否还保留了分泌抗红细胞抗体的能力,当时科勒尔对此也没有十足的把握。在杂交瘤制备成功的随后几周内,科勒尔由于担心实验的失败而一直不敢来测试结果,最后在 1974 年临近圣诞节之时,他下定决心对自己的杂交细胞分泌的抗体进行检测。为了能够承受住失败的打击,科勒尔甚至说服妻子和他一起来到自己工作的地下室来观察结果,事实证明科勒尔的担心完全不必,当他在培养基上观察到溶血斑时,这就意味着世界上第一个可以分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞诞生了。科勒尔和米尔斯坦的结果于 1975 年 8 月 7 日英国著名的《Nature》杂志上发表<sup>[1]</sup>,标志着免疫学研究进入到一个新的时期。

科勒尔杂交瘤技术的成功为医学和生命科学的发展发挥了巨大的推动作用。80 年代早期,科学家利用该技术制备的单克隆抗体鉴定了许多不同亚类的淋巴细胞,著名的如受 AIDS 攻击的 T4 细胞等,淋巴细胞分类研究为全面理解免疫系统的作用机理具有十分重要的意义。单克隆抗体的出现还改变了传统的疾病诊断技术,如乙肝和链球菌感染,这些进步还为最优抗生素的选择提供了重要的指导,现在单克隆抗体已经为甲状腺疾病、红斑狼疮、风湿性关节炎和遗传性脑病等的研究带来了革命性的变化。单克隆抗体的发现为许多研究机构带来了大量的科研基金,但科勒尔和米尔斯坦却从中只获得了很少的回报,因为他们没有为这项发明申请专利,当米尔斯坦与科勒尔讨论此事时,科勒尔认为“我们不是商人,而是科学家。”<sup>[2]</sup>

随着单克隆抗体的广泛应用并显示出的巨大价值,这项工作也逐渐得到科学界的青睐,但由于米尔斯坦本身已是一位著名免疫学家,而科勒尔做出这项重大发现时年仅 29 岁,在科学界是一个无名小卒,因此许多科学家担心科勒尔的贡献可能无法得到应有的尊重,因为在 1978 年到 1984 年之间,米尔斯坦所接受的奖励次数是科勒尔的三倍,科勒尔仅

仅获得了一个荣誉博士学位,因此有些人认为诺贝尔奖可能不会颁发给科勒尔<sup>[3]</sup>,但结果完全不是这样。1984 年科勒尔、米尔斯坦与泡特分享了该年度美国有“小诺贝尔奖”之称的拉斯克基础医学奖后不久,二人又“由于单克隆抗体产生原理的发现”而与著名免疫学家杰尼(Niels Kaj Jerne)分享了该年度的诺贝尔生理学或医学奖。

1977 年,科勒尔离开剑桥重新回到巴塞尔免疫学研究所进行工作,此时主要对杂交瘤制备单克隆抗体进行适当的改进,如细胞株的选择等,以使该项技术更加实用<sup>[4]</sup>。获得诺贝尔奖后不久,1985 年科勒尔离开瑞士来到弗赖堡的德国马普免疫学研究所并成为所长,在这里领导着一个免疫学研究小组进行着工作。但科勒尔在米尔斯坦实验室所表现出的超凡创造力在巴塞尔和弗赖堡都没有表现出来。随后的研究没有出现太大的科学进展,但仍有几篇重要论文在相关权威杂志上发表,如在逝世前还应用当时新出现的基因剔除小鼠为模型研究了免疫机制问题<sup>[5]</sup>。有迹象显示科勒尔可能在度过 50 岁生日后放弃自己的科学研究,但遗憾的是他并没有实现这个愿望,在一次实验室事故中科勒尔由于吸入大量烟雾而不幸于 1994 年 3 月 1 日去世,年仅 49 岁。

科勒尔的一生非常短暂,但却为生命科学的进步做出了巨大的贡献,他在杂交瘤技术和单克隆抗体制备技术发明过程中发挥了关键性的作用,而单克隆抗体已经在蛋白质准确定位,物质高度纯化,疾病诊断和治疗等领域得到了极为广泛的应用,因此杂交瘤技术被认为是 20 世纪生物医学领域最重大的方法发展之一,是 20 世纪 70 年代和基因工程一起被称为两大进展,因此科勒尔也称得上是罕见的天才之一。

#### 参考文献(References):

- [1] Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975, 256: 495-497.
- [2] Milstein C. Georges Jean Franz Köhler—a personal tribute. *Immunology Today*, 1996, 17(3): 103.
- [3] Hargittai I. Köhler's invention. *Struct Chem*, 2006, 17: 161-162.
- [4] Shulman M, Wilde CD, Köhler G. A better cell line for making hybridomas secreting specific antibodies. *Nature*, 1978, 276: 269-270.
- [5] Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, Zinkernagel R, Bluethmann H, Köhler G. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature*, 1994, 368: 339-342.