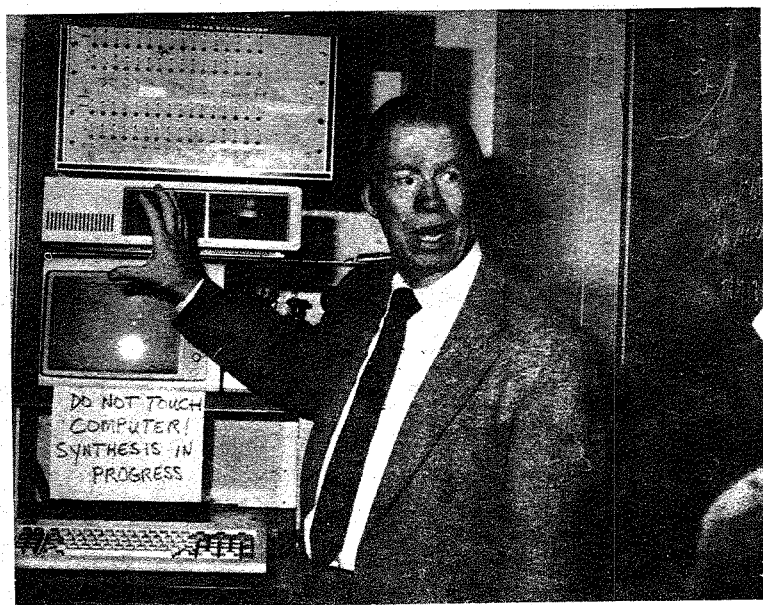


1984年諾貝爾化學獎

蘇賢錫

國立臺灣師範大學物理系



1984年10月17日星期三上午，布魯斯·梅利菲（R. Bruce Merrifield，見圖）從洛克斐勒大學符烈克斯納會館（Flexner Hall）第四樓的電梯步出時，一位實驗室助手告訴梅利菲博士，瑞典皇家

學會已公布將1984年諾貝爾化學獎頒給他。在這種不平凡的消息衝擊下，可是他仍能保持一向謙虛的態度，坦然處之。

繼這項宣布之後，洛克斐勒大學頻頻傳出歡欣的輿論——指出不但因為梅利菲

博士的超等科學成就受到肯定而普受鼓舞，而且極其欣賞他的高尚品格。

1921年7月15日，梅利非生於美國德克薩斯州佛特瓦斯（Fort Worth），他前後在1943年與1949年取得加州大學洛杉磯分校的學士與博士學位——他的博士論文由麥克斯·鄧恩（Max Dunn）指導。1949年，他加入洛克斐勒醫學研究所（即洛克斐勒大學的前身），逐級調升，1966年任教授，並於1983年被聘為資深榮譽教授。

瑞典皇家學會褒揚梅利非博士對固態間架（solid matrix）的化學合成法之開發。他的方法應用在他自己的研究領域肽（縮氨酸 peptide）與蛋白質化學後，已為生物化學、藥物學，以及醫學開創完全一新的局面。他的合成法也予核酸化學相當大的衝擊，別人應用他的構想所引起的進展，對指位突變形成（site-directed mutagenesis）與基因合成的技術已有重大貢獻，而這種技術對分子生物學極其重要。他的概念性方法已被用來配製與固態間架有關的有機及無機試劑，甚至已被應用在高度活性中間物的偵測方面。

梅利非早年在洛克斐勒大學已故伍理（D.W. Woolley）教授的實驗室研究生物活性肽之離析與鑑定，而遭遇類似結構的肽之合成需要。當時肽的合成是根據本世紀初費施爾（Emil Fischer）所開發方法加以延伸，非常麻煩。梅利非注意到

尋找其他方法來替代，俾能迅速簡便合成肽類，極為重要。1959年5月，他的研究筆記本上出現一項記載，其標題是「肽的連續逐步合成新法」，而其內容是：「長鏈肽合成的迅速，高產量，與自動化方法，有其必要。」已顯見布魯斯·梅利非所希望的目標是透過固態間架的合成，以便開發簡單而精巧的方法來獲得肽與肌。

肽合成的決定性步驟是肽鍵的形成。為達成這目的，必須使一個氨基酸的羧基（carboxyl group）活性化，以便它能與其他的自由氨基發生反應。因為氨基酸往往除了其氨基與羧基以外，另外含有會反應的活性官能團（reactive functional groups），如果希望獲得已知結構的特定純肽，則直接牽涉到造鍵以外的一切活性官能團必須受到化學上的保護，以免形成意外的化合作用。縱然是在最簡單的情形——兩個氨基酸單元偶合形成二肽（縮二氨酸）——其中一個單元的氨基與另外一個單元的羧基也必須予以保護（但在某些情形，一個單元的羧基可以作選擇性活化，無需保護另外一個單位的羧基）。在第二個肽鍵形成之前，兩個保護基團（blocked groups）中，必須先除去一個。

梅利非的固相法（solid-phase method）以前，肽合成的主要問題是，每一個偶合步驟所產生的肽，在化學家開始形成下一個肽鍵之前，必須被離析與純化。在生物學上重要而複雜的肽，一直利用古典的合

成法來合成。其中一例是，1955 年諾貝爾化學獎得主杜維格諾 (Vincent du Vigneaud) 所完成的激素——垂體後葉催產激素 (hormone oxytocin) 的首次合成。然而，利用古典方法的重要長鏈肽（例如胰島素或催胰液素）之合成，需要多年的艱困工作。

在梅利菲的固相法中，肽鏈的第一個氨基酸透過其羧基附在聚合物支架上 (polymeric support)。在隨後的階段，想要的肽鏈之其餘氨基酸逐步依照適當次序添加。在梅利菲自己的研究中，他經常使用與二乙烯基苯 (divinylbenzene) 交聯的聚苯乙烯支架。在肽的固相合成法中，後來它一直成為別人最常用的支架。因為固態支架在所用的各種溶劑中不溶解，所以在合成過程中，當中間物產生在不溶支架上的肽種，容易從溶劑中離析出來。該溶劑含有形成肽鍵的步驟所需之試劑。因此，可以使用過多的試劑，使每一步驟逐漸接近完成。在偶合步驟末期，過剩的試劑與副產物可以洗掉。所需的肽鏈一旦組合妥當，最後可以將它從固態支架上移開，再利用純化法來把想要的均態產物離析出來。因為不必在各階段離析中間肽產物，所以在肽的合成上可以節省很多時間。同時，使用過量的試劑可以使產量值高達 99.5% 以上。這是有機合成的一項顯著成就，並且如果須大量組合很長的肽鏈，這也是必要的成就。

1962 年，梅利菲在美國實驗生物學會聯合會上報告利用固態聚合支架的首次肽合成的結果。1963 年，他在美國化學會刊上發表，利用該法合成重要的肽運動徐緩素 (bradykinin，一種荷爾蒙)。繼這項成就之後，1965 年，他與他的第一位研究生馬歇爾 (Garland Marshall) 共同迅速合成血管緊縮素 (angiotensin)。梅利菲證明可在固態支架上合成肽之後，他準備進入第二個步驟，朝向 1959 年在實驗室筆記本設定的目標邁進。肽中間物的離析與純化過程，由於已可達成，他很清楚固相合成的步驟可以使用適當構造的機器來自動進行。在住宅地下室，他與斯圖亞特 (John Stewart) 共同研究，終於完成肽自動合成裝置的第一部操作模型。這機器具有三個基本要素：氨基酸、試劑、以及溶劑的一系列貯藏器；一間反應室，擁有適當的鉛管系統，可使氨基酸與化學藥品適時依序進料，並能迅速除去過多的化學藥品；以及控制一切操作的程式設計器。1965 年，在「自然」與「科學」期刊上，他撰文說明肽的自動合成。

核糖核酸酶 (ribonuclease) 是催化蛋白質，曾在洛克斐勒大學的校史上扮演相當重要的角色。它是 1938 年在洛克斐勒大學由杜博斯 (Dubos) 所離析，並在 1940 年於該校由古尼茲 (Kunitz) 所結晶的。核糖核酸酶的肽序 (peptide sequence) 已由希爾斯 (Hirs)，斯坦因 (

Stein)，以及摩爾 (Moore) 來闡明 (其中斯坦因與摩爾是1972年諾貝爾獎得主)。1969年，梅利菲利用固態間架法，以該酶的總合成之完成縮短了洛克斐勒大學的過去對核糖核酸酶之漫長研究史。他與古特 (Bernd Gutte) 共同進行的這項研究工作，使用肽自動合成裝置，需要369次化學反應與11,391個步驟。當時，麥爾克·沙普暨杜瑪研究所 (Merck Sharp & Dohme Research Laboratory) 的希須曼 (R. Hirschmann) 與丹克瓦特 (R. G. Denkwalter) 所領導的研究小組報導，他們也採用不同的方法順利合成核糖核酸酶。其實，他們的方法竟然也是大多數研究人員用來合成肽所用的梅利菲法。

梅利菲利用固相法合成核糖核酸酶之後，這種方法的潛力受到全世界廣泛的承認。然而，固相法對肽合成的應用，並沒有立即且普遍受到接受。在肽合成過程中，雖然中間物離析的需要之消除對高產量與迅速合成有極大貢獻，但是有人覺得固相法的這些特點也暴露重要問題。特別是，雖然各階段的產量可能很高，可是，即使微渺的不完全偶合或各階段的副反應，可能使長期合成的最後產物添加了可察覺到的雜質。

梅利菲當然承認這一點，而他的書面談話饒有趣味。

「悲觀主義者說純粹產物離析不出來

，又說即使離析出來，其純度也無法證明。因為這種態度不會促進發展，所以我們寧願採用實用主義的方法，明知純度有問題而在產物的合成、離析、以及鑑定的過程中，使用最新最好的方法。離析法的改進，必然定期出現。今天不能達成的，明天看來或許很簡單。」

他的聲明實在具有預言性。自從固相法首次出現以來，肽的純化法已有長足的進步。其中，首次的改進可能就是高性能液相層分離法 (high-performance liquid chromatography, 略作HPLC)。這種分離法對我們純化肽的能力發生革命性影響。除此而外，包括HPLC在內的高靈敏度分析技術之使用，以及自動序列技術的改進，對利用梅利菲法配製所得的肽之純度，在建立嚴格的判斷基準方面，均有貢獻。

自從核糖核酸酶合成以來的這幾年，許多重要的肽，包括激素，激素對抗物 (hormonal antagonists)，神經肽 (neuropeptides)，蛋白質生長因素 (Protein growth factors)，以及毒素 (toxins)，皆已採用梅利菲法來合成。肽激素ACTH (促腎上腺皮質激素 adrenocorticotrophic hormone) 與降血鈣素 (calcitonin) 已用固相合成法來作商業性規模的生產。目前許多實驗室正在從事研究，探討合成抗體原肽 (antigenic peptides) 對特定抗體的生產之影響。這項

研究對各種疾病的預防，具有重要意義。現在的文獻時常報導，利用梅利菲法合成的肽，其長度高達 50 氨基酸。這種合成，採用固相法只需數星期，若用古典方法，則需數年。

肽的固相合成法，其化學與科技的精益求精，依然是梅利菲實驗室的主要課題。最近幾年來，梅利菲教授與其同事們，在新保護基的開發上與肽鏈合成時的氨基酸偶合條件之改進上，頗有進步。經過對產生副反應歷程的分析，他們已經設法消除許多副反應，因而能夠避免意外的副產物之形成。同時，梅利菲也爲了目標的肽鏈之最後純化過程，就其離析法加以改進，來提高固相法的效率。即使採用固相法，長度超過 100 氨基酸的肽，其合成依然是一項困難的挑戰。雖然如此，梅利菲正在將過去幾年間所開發的改良法應用在這

種更大分子的組合。梅利菲夫人伊莉莎白 (Elizabeth) 過去幾年一直與丈夫共同從事研究工作，他們夫婦在干擾素 (interferon ，長度 166 個氨基酸) 的合成方面有長足的進步。

布魯斯·梅利菲在洛克斐勒大學的研究，其目的在於理解肽與肌的化學結構之間的關係，以及其物理與生物性質。經過他的開發與固態母體組織合成法的應用，他已證明，許多問題能用這些化合物與適當的固體結構支架的化學合成來解答得最清楚。他的「簡單精巧」方法，不但加強基本研究的力量，而且使肽化學對醫學的應用，更加充滿希望。

參考資料：SCIENCE, 7 December 1984, Volume 226, Number 4679.