

42天,解锁病毒入侵“密钥”

本报记者 任敏



雕塑《砥砺者——只为那胜利的呐喊》

除夕晚上7时许,兰君离开了实验室,回到宿舍,看了会儿春节晚会。从1月11日算起的42天里,这是他给自己放的唯一一会儿假。

刚过而立之年的兰君,是清华大学博士生,庚子春节,是他过的第一个“没有回家,没有年夜饭”的春节。留守校园,是为了一项至关重要的攻关。

兰君的导师是清华大学生命科学学院教授王新泉,他率领着兰君和课题组与清华大学医学院教授张林琦课题组联手攻关。师生们争分夺秒、夜以继日地忙碌,为的是寻找到一把“密钥”,能够解锁新型冠状病毒入侵人体的一瞬。

“如果能够解锁,就可以为抗体筛选和药物研究提供支撑。”兰君说。

42天,他们解锁成功。



▲王新泉(右二)课题组,后排左三为兰君



▲张林琦(左一)和实验室学生

留守的战斗

1月下旬,还没放寒假,兰君就接到了导师发来的任务——对新型冠状病毒的结构、入侵机制等进行解析。按照以往经验,解析某种蛋白的三维结构,受多重因素影响,时间上短则三四个星期,多则一年,周期无法事先预料。

兰君给家里打电话,说不准备回去过年了。他爸妈有些不理解,儿子都一年没回家了,过年还不回?“当时大家对疫情还没有像现在这样重视。”兰君说。

接下来的日子,兰君基本上每天早上7时许到实验室,晚上快11时才离开。要做的工作实在是太多了,从基因序列到构建克隆,培养细胞,再到表达、纯化蛋白,验证结果,忙得经常忘记时间。“每天都像在以百米冲刺的速度跑马拉松。”联合课题组中另外一位博士生单思思说。

忙,其实没什么,最让兰君揪心的是,“实验几乎每天都充满不确定性”。疫情袭来,交通管控,封闭校园……实验室里起初只有兰君一个人。时间紧、任务重、人手不足,他咬牙坚持着,他知道要想在最短时间完成任务,每一个实验步骤都必须设计得严丝合缝、环环相扣,不能耽误中断。兰君开始遵循一套方法——在进行上一个实验时,已开始提前设计下一个实验,再根据实验结果准备多个备选方案和实验材料,如果一种方法失败了,需要立即尝试其他方法。

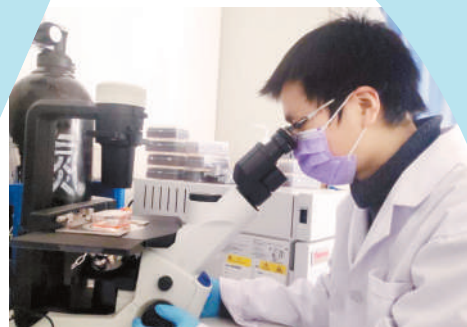
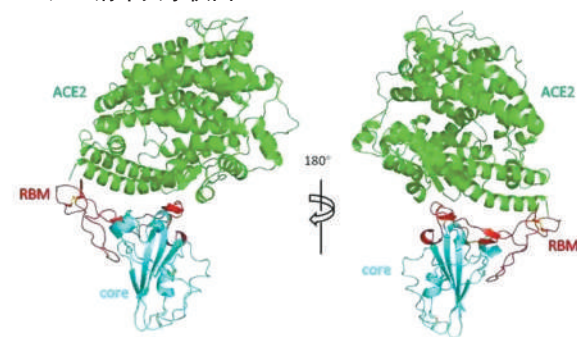
春节期间,部分企业停工停产,物流也不给力,很多平日常见的材料无法供应。“实验所用的细胞培养基、蒸馏水和酒精等,都是从学校其他实验室‘化缘’而来。”兰君笑着说。

疫情蔓延至全国,爸妈也越来越理解兰君的工作,还时常叮嘱他,一定要注意安全,别太辛苦。家人的支持让兰君感到温暖。

除夕,兰君走出实验室,准备给自己放个小假。骑车回宿舍的路上,人很少,车也很少,“但我一点也不孤独,我满脑子想着的都是课题研究。我很自豪,能做这些工作。”兰君说。

电视里,看到白衣天使勇敢逆行,救治病患,兰君很感动,这份感动,还驱使他提笔改编了歌曲《成都》的歌词……他坚信,有天使在努力,有科研人员在攻关,阴霾驱散的那天,不会太远。

▼新型冠状病毒RBD-ACE2复合物晶体结构 清华大学供图



童贻刚团队



童贻刚团队

珍贵的晶体

分析实验结果、策划下一个实验、开会讨论、跟科研单位沟通反馈信息、与国外的合作伙伴对接……每一天,课题组中的每一个人都都在争分夺秒。

连轴转的张林琦,几乎忘了白天黑夜,每天脑海中盘旋的“除了新冠,还是新冠”;王新泉的睡眠时间也极度压缩,有时深夜一两点还在给学生回邮件,几乎每天,他都要通过电话、微信,与兰君他们沟通实验进展……

一周时间,合成所需基因片段;再一周,完成病毒包装、病毒扩增、表达纯化蛋白……

“最开始纯化出的RBD蛋白性质不均一,当中有单体和二体两种状态,且两种状态都与受体蛋白结合。”王新泉回忆,“后来,我们把这种复合的RBD蛋白与ACE2混合后,通过反复的纯化步骤,最终才得到了相对均一的单体RBD蛋白和受体ACE2的复合物。”

复合物出炉之后,是晶体生长。需要在不同种类的液体条件中筛选晶体,“能否成功,谁也不知道。”兰君说,他们只能不断地准备复合物,一批一批地筛选。在尝试了上百个条件之后,才终于找到一个条件,能够生长出衍射条件比较好的晶体。

第一批晶体出炉,可质量不理想。又花了四天左右的时间优化晶体。此时,已是2月15日。

晶体得到了,难题又来了——怎么送到上海同步辐射光源(我国大陆第一台中能第三代同步辐射光源)。这一步很关键。用X射线对晶体进行衍射,得到的晶体三维结构分辨率更高,能把“解锁”过程观察得更加清楚。

“晶体需用小液氮罐保存,以往一般由学生送去上海,可寒假期间人手紧张,一去一回,还得隔离观察14天,人手更有限了。”王新泉说。几经周折,通过合作伙伴,他们联系到一位司机,连夜开车,赶在第二天下午将晶体送达上海同步辐射光源。那天是2月17日,刚好赶上装置检修前的最后一天机时。

课题组通过远程操作,利用上海光源BL17U1线站收集分辨率为2.45埃的衍射数据,并解析其三维空间结构。

2月18日凌晨,收到结构解析数据,课题组快速开展结构分析,成功解析了新型冠状病毒表面刺突糖蛋白RBD与人受体ACE2蛋白复合物的晶体结构,准确定位出新冠病毒RBD和受体ACE2的相互作用位点,阐明新冠病毒刺突糖蛋白介导细胞侵染的结构基础及分子机制,为治疗性抗体药物开发以及疫苗的设计奠定了坚实的基础。

2月21日,此项成果的论文在论文预印本网站BioRxiv在线发表。

42天,初战告捷!

并肩奔跑的人们

取得研究成果,张林琦、王新泉很开心,让这对好友更开心的是,还有很多人在和他们并肩奔跑。

西湖大学的周强团队成功解析新型冠状病毒细胞受体ACE2全长结构,美国得克萨斯大学奥斯汀分校Jason S. McLellan团队解析出新型冠状病毒刺突蛋白的近原子分辨率结构。“刺突蛋白与ACE2是两个相对独立的研究,我们的研究则正好填补了这两个蛋白之间如何相互作用的空白,真正把病毒与受体对接点的结构解析了出来。”王新泉说。

而在王新泉和张林琦全力冲刺的同时,西湖大学周强团队也成功解析出全长ACE2与新型冠状病毒RBD复合物结构,中国科学院微生物所齐建勋团队也解析出新型冠状病毒RBD与ACE2蛋白复合物的晶体结构。值得一提的是,三个团队对外公布成果时,都附上了其他两个团队的工作进展介绍,他们也将复合物的晶体结构公开,供更多同行下载参考。“这些工作相互印证、相互支持,为进一步理解病毒的感染机制奠定了基础。”王新泉说。

并肩奔跑的,还有北京化工大学生命科学与技术学院生物安全技术研究中心主任童贻刚。这也是一位多次直面病毒的老将。

2015年,童贻刚曾赴西非塞拉利昂参与埃博拉疫情防控。“当地温度很高,30℃左右,我们工作时也穿着猴服,戴着N95口罩,捂得严严实实,一天下来,脸上满是口罩印记,衣服也湿透了!”童贻刚说。不知是气候不适还是环境闷热,他在当地得了荨麻疹,回国半年多才治愈。

2020年1月22日,科技部紧急启动“新型冠状病毒感染的肺炎疫情科技应对”第一批8个应急攻关项目,在中国疾控中心病毒病预防控制所牵头的病毒溯源攻关项目中,童贻刚团队参与其中。

童贻刚原本想从武汉华南海鲜批发市场开始病毒溯源,但市场关闭,已无法入内采集样本。

童贻刚只好转换思路,重点调查武汉周边的动物。他和团队成员发动已放假回老家的同学和一些合作单位,在武汉周边农村的猪圈、羊圈、牛圈,用棉签蘸取动物粪便标本,“这样便于操作,取得样本,感染风险也不大。”童贻刚说,目前,他们已收到几百份样本,后续将基于这些标本开展基因组的测序和全基因组序列比对。他们期待,从这些动物样本的分析中,能够寻得新型冠状病毒的“蛛丝马迹”。

“我们学院也发出倡议,号召不同专业团队发挥优势,协同作战,有力出力,有资源出资源。”童贻刚说,倡议发出后,学校里多个团队都积极响应,目前,该实验室已联合相关课题组推进诊断试剂、抗病毒药物和疫苗研发等多个方向的工作。

……

并肩奔跑还在继续。

张林琦团队正在同深圳市第三人民医院、中国医学科学院输血研究所团队合作,对新型冠状病毒感染和恢复期病人体内保护性抗体反应进行系统和全面的分析研究,同时,团队也正以多种形式推进抗新型冠状病毒疫苗研发。

“作为科研人员,我们的初心其实都是一致的,就是希望能为人类在抗击病毒、知识积累创新等方面做更多贡献。”张林琦说。

兰君也没有休息,他每天仍在实验室坚守“8-11”作息,推进后续的攻关。“朔雪飘飞落满襟,疫病弥漫乱人心。功名耻计结晶数,直斩流毒报国恩。”这是兰君在研究初获进展的时候,写下的诗句,是抒怀,更是誓言。

兰君坐在实验桌前,手持移液枪做研究的样子,还被国家一级美术师冯国豪制成了雕塑作品,取名《砥砺者》。雕塑所凝固的形象,不仅是兰君,还是无数争分夺秒,与病毒赛跑的科研工作者,他们的日夜兼程,为的是“战疫”胜利的那一天早日到来。

好友的联手

兰君导师王新泉的忙碌,从1月上旬就开始了。

疫情在武汉暴发之初,王新泉和张林琦就已开始关注新型冠状病毒,也正是从那时开始,两个课题组决定联手攻关,阻击新型冠状病毒。

这已不是这对好友的第一次合作。张林琦长期从事艾滋病等人类重大病毒性传染病的致病机理研究,并重点研究疾病进展过程中病毒与免疫系统相互作用关系,研发过抗病毒药物、抗体和疫苗。

王新泉的主要研究方向为结构生物学,他以X-射线晶体学为主要研究手段,结合其他生物化学及生物物理技术,研究细胞因子介导的宿主免疫反应和病毒侵染及免疫逃逸的结构机理。

两位科学家几乎同时回国任教,曾并肩阻击过埃博拉病毒、寨卡病毒、中东呼吸综合征冠状病毒、禽流感病毒等新发突发高致病性病毒。

控制病毒的关键之一在于准确认识其感染机制,进而针对重要靶点开展药物筛选和疫苗研究。“与细菌不同,病毒的一大突出特点是,脱离开细胞

后生存能力非常有限,只有进入细胞才能复制出‘子孙万代’,进而侵蚀人体内脏。”张林琦说,因此,研究病毒如何进入细胞这一步非常关键。病毒表面蛋白是病毒进入细胞的关键“钥匙”,它可以打开细胞受体蛋白的“锁”,进入细胞并启动其复制过程。机体的保护性抗体反应,正是通过识别和阻断“钥匙”与“锁”的结合,从而阻断病毒进入细胞。“现在疫苗研发的关键靶点就是针对新型冠状病毒的这把‘钥匙’展开的。”张林琦说。

两个课题组决定利用X射线衍射技术,解析新冠病毒表面刺突糖蛋白受体结合区RBD与人受体ACE2蛋白复合物的晶体结构,进而探索病毒入侵之奥秘。

可新型冠状病毒,是那么陌生,又是那么狡猾,每一天的疫情数据,都让张林琦和王新泉感到焦灼。两个课题组的研究不断提速、提速,以期尽快看到病毒的模样,找到解锁病毒的“密钥”。

1月11日,复旦大学公布首个新型冠状病毒基因序列。此后,两个课题组进入马拉松式的接力模式。