



OSAMU SHİMOMURA
YEŞİL FLORESAN
PROTEİNİN (GFP) KEŞFİ

Dr. Merve Çalışır ve Dr. Adil Denizli

Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

SAVAŞ ZAMANI ÇOCUKLUĞU

27 AĞUSTOS 1928'DE, JAPONYA'NIN KYOTO-FU BÖLGESİNDEKİ FUKUCHİYAMA KASABASINDA DOĞDUM. BABAM CHİKARA, FUKUCHİYAMA ALAYINDA BİR ORDU KAPTANIYDI. 1933 YILININ BAHARINDA, BABAM JAPON İŞGALİ ALTINDAKİ MANÇURYA'DA BİR GÖREVE ATANDI. MANÇURYA BÖLGESİNDE BAZI İSYANCILAR OLDUĞU İÇİN, ANNEM YUKİE, KÜÇÜK KARDEŞİM SADAMU VE BEN JAPONYA'DA KALMAYI TERCİH ETTİK VE NAGASAKİ EYALETİ'NİN SASEBO ŞEHRİNE TAŞINDIK; BURADA BÜYÜKANNEM TSUKİ SHİMOMURA İLE BİRLİKTE YAŞADIK.

İsyancılar ortadan kaldırıldıktan sonra, Mart 1935'te Mançurya'nın Renzankan bölgesine taşındık. Burada Toshiko adında bir kız kardeşim doğdu, fakat doğumundan bir yıl sonra zatürreden öldü. Toshiko'nun ölümünden sonra annemin derin üzüntüsünü hatırlıyorum.

1938 yılının başlarında babam Sovyet sınırına yakın bir ordu görevine nakledildi. Ailenin geri kalanı tekrar Sasebo'ya taşındı. Annem kısa süre sonra babamla birlikte yaşamak için yeniden Mançurya'ya gitti ve Sadamu ile ben yaklaşık bir yıl boyunca büyükanнем Tsuki'nin gözetiminde kaldık. Ben büyük oğul olduğum için, Tsuki beni Shimomura ailesinin varisi olarak dikkatle ve sıkı bir şekilde yetiştirdi. Fiziksel olarak çok güçlü olmadığım için bana kıyma içeren omlet ve soya sütü gibi çeşitli besleyici yiyecekler yedirmeye çalışırdı. Büyükanнем görgü ve nezaket konusunda çok katıydı. Onun yanında her zaman düzgün bir duruş sergilemek zorundaydım. Sık sık "Bir samuray açken bile zaaf göstermez" derdi. Banyo yaptıktan sonra kulaklarımın ve boynumun arkasını kir için kontrol ederdi. Eğer kir bulursa, "Başın kesileceği zaman kirli olmak utanç verici olur" derdi (bazen bir samurayın hara-kiri yaptıktan sonra başının kesilmesi onurlu sayılır). Hazırlıklı olmanın öneminden bahsettiğini biliyordum, ama bu biraz korkutucuydu. Bir yıl sonra, babam annemi tekrar eve getirdi ancak sadece kısa bir süre kaldı.

Nisan 1941'de, Sasebo ortaokulunda yedinci sınıfa başladım. O zaman Japon militarizmi en üst düzeydeydi. Okula bağlı subayların yönetiminde haftada bir veya iki kez askerî tatbikatlar yapmak zorundaydık. O yılın ilerleyen zamanlarında babam Osaka'ya nakledildi ve 8 Aralık'ta Pasifik Savaşı başladıktan sonra biz de babamıza katılmak için Osaka'ya taşındık. Osaka'daki okulumda öğretmenim, Isahaya'lı tanınmış bir şair olan Shizuo Ito idi. Vereme yakalandım ve sık sık yorgun oluyordum; çok çalışmama rağmen sınıf derecem kötüydü. O zamanlar model uçaklar yapmaya ilgi duyuyordum. Bir keresinde bir bilim dergisindeki bir makaleye dayalı bir uçak yaptım ve onu büyük bir mağazada sergiledim. Kız

kardeşim Setsuko doğdu ve ara sıra ona bakmak zorunda kaldım.

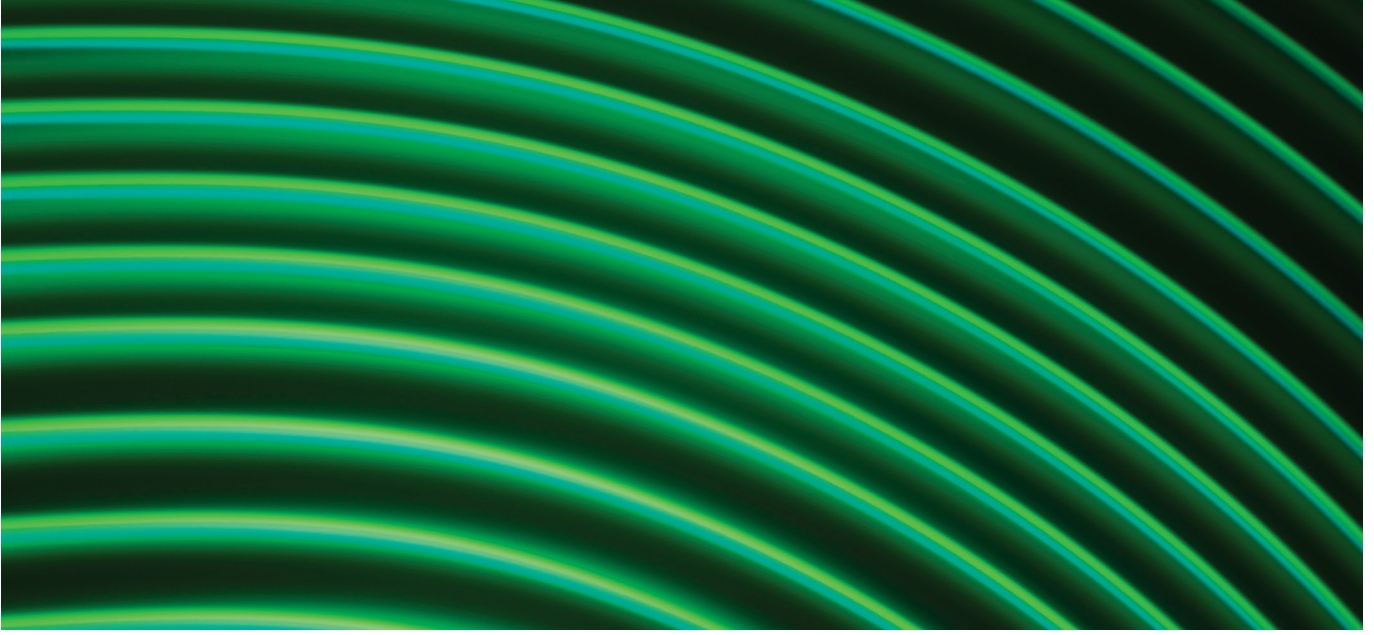
Dokuzuncu sınıftayken savaş, Japonya için açıkça elverişsiz hale geldi ve babam Tayland'a gönderildi. Okulda, derslerin kaçırılması yaygınlaştı ve askerî talimler arttı. Bir keresinde, Mt. Ikoma'ya gece yürüyüşü sırasında, yolda birçok küçük düzensiz ışık noktası gördüm. Şimdi düşündüğümde, büyük ihtimalle ayaklarla ezilmiş, ısıldayan toprak solucanlarıydı.

1944 yılının yazında babam bize, Amerikan bombardımanlarından kaçınmak için kırsal bölgeye taşınmamızı yazdı. Annem, bizi Nagasaki'ye yakın Isahaya'daki kendi ailesi Fujiyama'ların evine taşımayı seçti. O Eylül ayında, okulun (onuncu sınıf) ilk gününde öğretmen bize şöyle dedi: "Bu sınıf derhal Omura Deniz Hava Araçları Cepha-

neliği'ne seferber ediliyor. Diğer sınıflar, Nagasaki'deki Mitsubishi tersanesi ve silah fabrikasına seferber ediliyor." Ulusal Genel Seferberlik Yasası daha önce yürürlüğe girdiği için, er ya da geç seferber edileceğimi bekliyordum, ama bunun okulun ilk gününde olacağını düşünmemiştim. O günden itibaren, okulda ders dinlemedik ya da çalışmadık; çalıştık.

Omura Deniz Hava Araçları Cephaneliği'nde çalışmaya başladıktan iki ay sonra cephanelik bombalanarak yok edildi. O gün, hava saldırısı sireni çaldığında bazı öğrenciler yeraltı sığınağına girdi ve geri kalanımız pistin kenarına koşup bir hendeğe yat-tık. Çok geçmeden batıdan gelen 20'den fazla B-29 bombardıman uçağından oluşan bir filoyu gördüm ve bombardıman başladı. Yakınlara düşen bir bomba üzerimize kum ve çakıl serpererek etrafa saçtı. Bombardı-





man tesislerin çoğunu yok etti, fakat bir hangarın hâlâ ayakta olduğunu ve bazı insanların içinden bir savaş uçağını çıkarmaya çalıştıklarını gördüm. Onlara yardım etmek için oraya koştuk. Ancak düşman uçağı dumanlı gökyüzünde çoktan görünmüştü. Hangara ulaştığımız anda sayısız yangın bombası üzerimize yağdı. Birinin sığınak almamız için emir bağırdığını duydum. Beyaz alevlerle yanan bombaların arasında koştuk; omzundan vurulmuş, kolu sarkarak koşan birini gördüm.

Hava saldırısından sonra, yeraltı sığınacağında bazı öğrencilerin öldüğünü ve yatakhanelimizin yandığını öğrendik. Bir ay içinde, Isahaya yakınlarındaki tepelerin arasında ahşap birkaç fabrika binası inşa edildi ve orada çalışmamız emredildi. Fabrika tamamlanmadan önce bile her gün oraya gidiyordum; yapacak bir şey bulamazsam sık sık yakındaki bir tatlı patates tarlasına uzanıyor ve yükseklerde Mt. Taradake'nin üzerinde doğuya giden büyük B-29 bombardıman filolarını izliyordum. Parlak gümüş B-29'ların mavi gökyüzüne karşı görünmesi çok güzeldi. Sonra, yaklaşık 10 dakika sonra Ariake Denizi'nin karşı kıyısındaki Ohmuta sanayi bölgesinde siyah duman görüyordum ve oradaki yıkım sahnesini ancak hayal edebiliyordum.

Yeni fabrika, savaş uçağı motorlarının onarımı içindi. Benim işim, krank kutusunu silindire bağlayan yüzeyi pürüzsüzleştirmekti. Sınıfım Mart 1945'te fabrikada mezun oldu mezuniyet töreni veya diploma olmadan. 16 yaşındaydım. Mezuniyetten sonra da öğrenci seferberliği devam etti.

NAGASAKİ ATOM BOMBASI VE SAVAŞIN SONU

6 Ağustos 1945'te, haberler Hiroshima şehrinin yeni bir tür bombayla tamamen yok edildiğini bildirdi ne tür bir bomba olduğunu bilmiyorduk. Üç gün sonra, saat 11'e kısa bir süre kala, Isahaya'daki fabrikada bir siren çaldı ve bize hava saldırısı olduğunu bildirdi. Her zamanki gibi, bir sığınacağa girmek yerine birkaç arkadaşla birlikte yakındaki bir tepenin zirvesine çıktım ve gökyüzüne baktık. Kuzeyden güneye, yaklaşık 15 km uzaklıktaki Nagasaki yönüne doğru giden tek bir B-29 gördük. Uçağın rotasının alışılmadık olduğunu düşündüm. B-29 iki veya üç paraşüt bıraktı ve aralıklı silah sesleri duydum. Dikkatlice izledim, paraşütlere bağlı insan göremedim. Birkaç dakika içinde başka bir B-29 ilkini takip etti ve bir siren "temiz alan" sinyali verdi. Fabrika binamıza geri döndük.

Tam çalışma tabureme oturduğum anda, küçük pencerelerden içeri güçlü bir ışık parladı. Yaklaşık 30 saniye boyunca kör olduk. Ardından, ışık flaşından yaklaşık 40 saniye sonra, yüksek bir ses ve ani bir hava basıncı değişikliği oldu. Bir yerde çok büyük bir patlama olduğundan emindik ama nerede olduğunu bilmiyorduk. Gökyüzü hızla karanlık bulutlarla doluyordu ve ben fabrikadan çıkıp üç mil uzaklıktaki evimize yürümeye başladığımda çiseleyen bir yağmur başladı. Bu, kara yağmurdur. Eve vardığımda beyaz gömleğim griye dönmüştü. Büyükanнем hemen benim için banyo hazırladı. Bu banyonun, muhtemelen kara yağmurda bulunan güçlü radyasyonun olası kötü etkilerinden beni kurtarmış olabileceğini düşünüyorum.

Ertesi sabah, bir teknik subay bize önceki gün gördüğümüz paraşütlerde ölçüm cihazları ve bir verici bulunduğunu söyledi. Ayrıca Nagasaki'de ciddi hasar olduğunu, fakat ayrıntıların bilinmediğini belirtti. Fabrikanın şefi bir kurtarma ekibi düzenledi. Nagasaki'ye girmeye çalıştık fakat yollar ve demiryolu geçilemez durumda olduğu için başaramadık. O öğleden sonra demiryolu Nagasaki istasyonuna yakın Michino-o'ya kadar açıldı ve kurtarıcılar yaralı insanları Isahaya'ya ve diğer şehirlere taşımaya başladılar.

15 Ağustos'ta, bir radyo yayınında İmparator Hirohito koşulsuz teslimiyeti ilan etti. Bu, çoğu Japon vatandaşının ilk kez imparatorun sesini duyduğu andı. Bence yaygın bir rahatlama hissi olduğu kadar belirsiz bir geleceğin korkusu da vardı.

Hiroshima ve Nagasaki'ye atılan atom bombaları hakkında ayrıntılı bilgiye sahip olmamız için yıllar geçmesi gerekti. Nagasaki bombası farklı bir türdü ve Hiroshima bombasından çok daha güçlüydü. Hiroshima bombasının kullanılması savaşın sona

ermesini hızlandırmak için haklı görülebilse bile, üç gün sonra Nagasaki'ye atılan bomba açıkça yeni silahların bir testi niteliğindeydi. Bu asla haklı gösterilemez.

Öğrenci seferberliği sona erdi, fakat okul kaydımın beni bir üniversiteye girmeye uygun görüp görmeyeceğinden emin değildim. Biraz rehberlik almak için savaşın bitiminden bir hafta sonra Isahaya okulumuzu ziyaret ettim. Ana kapıya yapıştırılmış, üzerinde birçok ismin yazılı olduğu birkaç büyük kâğıt vardı. İsimlerin yaklaşık yarısı çi-

zilmişti. Anlaşılan okul, Nagasaki'nin yaralı insanlarını ağırlamak için kullanılıyordu ve bu kişiler kâğıtlarda listelenmişti. Spor alanında, ağustosböceklerinin gürültülü cırtlısı arasında, sıcak yaz güneşi altında yavaşça yürüyen bazı adamlar vardı. Hepsisi yarı çıplaktı. Daha yakından baktığımda, derilerinin siyah bir maddeyle kaplı olduğunu ve içinde beyaz lekeler bulunduğunu gördüm. Siyah şeyin bir tür ilaç olduğunu düşündüm (sonradan bunun kurumuş kan olduğunu öğrendim). Beyaz lekeler, insan etinin üzerinde yumurtadan çıkan kurtçuklardı.

Ancak bu en şok edici manzara değildi. Kapının önünde, üzerleri saman hasırlarıyla örtülmüş cesetler bir arabaya yığılmıştı, muhtemelen yakılmak üzere taşınacaktı. Sedyeye taşıyan iki kişi, üzerinde bir ceset olan sedyeyle okul binasından geliyordu. O anda çit yakınında duran iki yarı çıplak kişi fark ettim. Cesetlerin yüklenişini izliyorlardı; bu süreç belki birkaç gün sonra onların da başına gelecekti. Sanki hayalet görüyordum gibi hissettim. Beynim dondu, ağustosböceklerinin sesi kayboldu ve duyularım yok oldu. 16 yaşındayken bu manzarada yaşadığım ruhsal şokun üzerinde kalıcı bir etkisi olduğunu düşünüyorum. Uzun süre boyunca, o insanlarla konuşmadığıma pişman oldum; muhtemelen o zaman bunun için cesaretim yoktu.

NAGASAKİ ECZACILIK KOLEJİ

1946 ve 1947 yıllarında üç farklı üniversiteye girmeye çalıştım ancak hepsi beni reddetti. Mezun olduğum Isahaya okulunda bir gün bile ders görmediğim için okuldaki not geçmişim bana yardımcı olacak kadar güçlü değildi. Daha sonra Nagasaki Eczacılık Koleji'nin, Nagasaki Tıp Koleji'nin bir parçası olduğunu ve evimin yakınındaki boşaltılmış bir askerî kıışlada geçici bir kampüs hazırlamakta olduğunu duydum. (Her iki okul da atom bombası tarafından tamamen yok edilmişti.) 1948 Nisan'ında eczacılık kolejine kabul edildim. Eczacı olmayı planla-



miyordum, ancak o koşullar altında başka bir seçeneğim yoktu. Büyükanem, üniversiteye girişim üzerine bana bir takım ipek elbise hediye etti. O zamanlar satın alınacak kumaş yoktu, fakat onun bir dut bahçesi vardı; bu yüzden ipekböceği yetiştirdi, kozalardan ipek ipliğini çekti, ipliği boyadı, ipliği kendi elleriyle kumaşa dokudu ve ardından kıyafeti dikti.

Eczacılık öğrencilerinin çoğu yurttaki kalıyordu ve yiyeceklerin aşırı derecede yetersiz olması nedeniyle sürekli açtılar. Ben evde yaşıyordum ve ailemizin tarım arazisi vardı, bu yüzden yiyecek konusunda çok şanslıydım. Profesörlerin büyük çabasına rağmen eczacılık kolejindeki imkânlar ve ekipmanlar zayıftı. Deneyleri gerçekleştirmekte çok zorluk yaşıyorduk. Analitik kimya ve fiziksel kimya dersleri iyi görünüyordu, ancak organik kimyayı çok az öğrendim. Organik sentez deneylerinde, kötü teknik ve kötü cam malzemeler nedeniyle sık sık çözücülere ateş verdik, ancak çoğumuz savaş zamanında büyüdüğümüz için yangın söndürme konusunda deneyimliydik ve yangınları söndürmede hiçbir sorun yaşamadık.

Kimyasal deneylere ilgim gelişti ancak ekipman sınırlamaları nedeniyle yalnızca inorganik iyonik reaksiyonlar yapabiliyordum. Farmasötik Analiz Laboratuvarı'ndan Profesör Shungo Yasunaga'nın izniyle, 1 mm çapında birçok cam kapiler hazırladım ve bunları alümina tozu ile doldurdum. Karışık metal iyonları çözeltisinden küçük bir miktar kapiler ucuna uygulandığında ve ardından geliştirici bir reaktife batırıldığında, reaktif kapiler etki ile hızla yukarı doğru yükselirdi. Bu süreçte metal iyonları ayrılır ve ayrılan iyonlara karşılık gelen renkli bantlar ortaya çıkardı. Bir çeşit kromatografydi. Prof. Yasunaga'nın izniyle çeşitli kimyasallardan küçük miktarlar eve götürerek ayırım koşullarını ayrıntılı olarak inceledim. Sonuçlar birkaç yıl sonra Japonya Eczacılık Derneği Dergisi'nde ilk makalem olarak yayımlandı.

Mart 1951'de Nagasaki Eczacılık Okulu'ndan sınıf birincisi olarak mezun oldum. Okul, Nagasaki Üniversitesi Eczacılık Bölümü olarak yeniden düzenlendi. Profesör Ya-

sunaga bana, öğrencilere yönelik analitik kimya laboratuvarında asistanlık işi teklif etti ve ben de kabul ettim. Boş zamanlarımda öğrenci iken başladığım kromatografi deneylerine devam ettim. Bir yerde bir uzunçalar plak (LP) duyduktan sonra klasik müziğe ilgi duymaya başladım. Ancak bir LP neredeyse bir aylık maaşa mal oluyordu. Her nasıl olduysa, muhtemelen ailemin maddi desteğiyle bir pikap ve hoparlör satın almayı başardım ve amplifikatörü cam vakum tüpleri, kondansatörler ve dirençlerden kendim monte ettim.

Profesör Yasunaga nazik ve çok iyi bir insandı, insanlar tarafından güvenilirildi. Onun yanında dört yıl çalıştıktan sonra, bana bir yıl boyunca çalışabileceğim, ödeneği devam eden bir izin aldı. Dahası, beni tanımış bir moleküler biyolog olan Nagoya Üniversitesi'nden Profesör Fujio Egami ile tanıştırmayı teklif etti. Nagoya'ya trenle gittik, ancak ne yazık ki Profesör Egami o gün üniversitede değildi. Profesör Yasunaga başka birine, organik kimyacı Profesör Yoshimasa Hirata'ya uğradı. Birkaç dakika sohbet ettik. Ayrılrken, Profesör Hirata bana "Benim laboratuvarıma gel. İstedğin zaman başlayabilirsin." dedi. Bu şaşırtıcıydı, çünkü daha yeni tanışmıştık. Moleküler biyoloji ya da organik kimya hakkında çok bilgim yoktu, bu yüzden hangi uzmanlığı çalışacağım benim için önemli değildi. Profesör Hirata'nın sözlerinin belki de Tanrı'nın verdiği bir yönlendirme olduğunu düşündüm ve onun laboratuvarına gitmeye karar verdim. Görünüşe göre bu karar geleceğimi belirledi; beni biyoluminesans, aequorin ve yeşil floresan protein (GFP) çalışmalarına yönlendirdi.

HİRATA LABORATUVARI VE CYPRİDİNA LUSİFERİNİ

Nisan 1955'te Nagoya Üniversitesi, Fen Bölümü, Hirata Laboratuvarı'na araştırma öğrencisi olarak kaydoldum. Hirata laboratuvarı harika bir yerdi, mükemmel bir atmosfere sahipti. Kimse bana bir şey öğ-

retmedi ama başkalarını izleyerek ve bağımsız çalışarak çok şey öğrendim.

İlk günümde Profesör Hirata büyük bir vakumlu eksikator çıkardı ve şöyle dedi: "Bunun içinde kurutulmuş Cypridina var." Bana Cypridina'nın Japonya'nın sığ kıyı sularında yaygın olan küçük bir kabuklu olduğunu, ışığını lusiferin adı verilen bir organik bileşik ve lusiferaz adlı bir enzimle yaydığını açıkladı. Lusiferinin son derece kararsız olduğunu ve oksijen varlığında hızla bozunduğunu söyledi. Ayrıca Princeton Üniversitesi'nden Profesör Newton Harvey'nin son 20 yıldır lusiferini saflaştırmaya çalıştığını fakat başarılı olamadığını belirtti. Profesör Hirata, "Yapı tayini amacıyla Cypridina lusiferinini saflaştırıp kristalleştirebilir misin?" diye sordu. O dönemde kristalleştirme, bir maddenin saflığını kanıtlayan tek pratik yolu sayılıyordu. Profesör Hirata ayrıca, sonucun çok belirsiz olması nedeniyle bu projeyi derece yapan bir öğrenciye vermeyeceğini söyledi. İşin zorluğunu açıkça anlamıştım. Ben orada bir derece için değil, öğrenmek için bulunduğumdan şöyle cevap verdim: "Elimden geleni yapacağım."

Gerçekten de bu kristalleştirme çok zor çıktı. Lusiferini çıkarmak, saflaştırmak ve kristalleştirmek için on ay boyunca son derece sıkı çalıştım. Sonunda başarıya ulaştığımda, o kadar mutluydum ki üç gün boyunca uyuyamadım. Savaşın bitiminden bu yana hayatım karanlıktı, ama bu bana geleceğim için umut verdi. Muhtemelen kazandığım en büyük ödül özgüvendir; büyük çabayla her zor problemin çözülebileceğini öğrendim. Kristalleştirme tamamlandıktan sonra Nagoya'daki kalışım Cypridina lusiferinin yapısını çalışmak için bir yıl daha uzatıldı. Cypridina lusiferini üzerine ilk makalemiz 1957'de yayımlandı, ancak lusiferinin kromofor yapısı hâlâ aydınlatılmamıştı.

AMERİKA'YA

1959 baharında Princeton Üniversitesi'nden Dr. Frank Johnson'dan laboratuvarında çalışmam için bir davet mektubu aldım. Profesör Hirata Princeton'a gitme planımı duyduğunda, ben doktora öğrencisi olarak kayıtlı olmadığım hâlde Cypridina çalışmamdan dolayı bana doktora derecesi verdi. Prof. Hirata, doktora derecesine sahip olmamın Princeton'daki maaşımı ikiye katlayacağını biliyordu. Tamamen şaşırmıştım ve teklifini memnuniyetle kabul ettim. Fulbright seyahat bursuna başvurduğum ve aldım; bu bana başka türlü edinemeyeceğim birçok deneyim sağladı.

4 Ağustos 1960'ta Akemi Okubo ile bir görücü usulü evlilikle geleneksel şekilde evlendik. Akemi, çalıştığım Eczacılık Bölümü'nün mezunuydu. 27 Ağustos'ta bu benim 32. doğum günümüdü Seattle'a giden bir gemiyle, 200'den fazla başka Fulbright bursiyeri ve öğrenciyle birlikte Yokohama'dan ayrıldım, fakat Akemi vize sorunundan dolayı benimle gelememişti. Bu yolculuk Hikawa-maru gemisinin Pasifik üzerindeki son seferiydi; iskele insanlarla doluydu. Renkli binlerce şerit gemideki insanları iskeledeki iyi dilekçilerle bağlıyordu. Gemi hareket etmeye başladığında bu şeritlerin kopup yere düşmesi sahnesini asla unutmuyacağım. Amerika'yı trenle geçtikten sonra 17

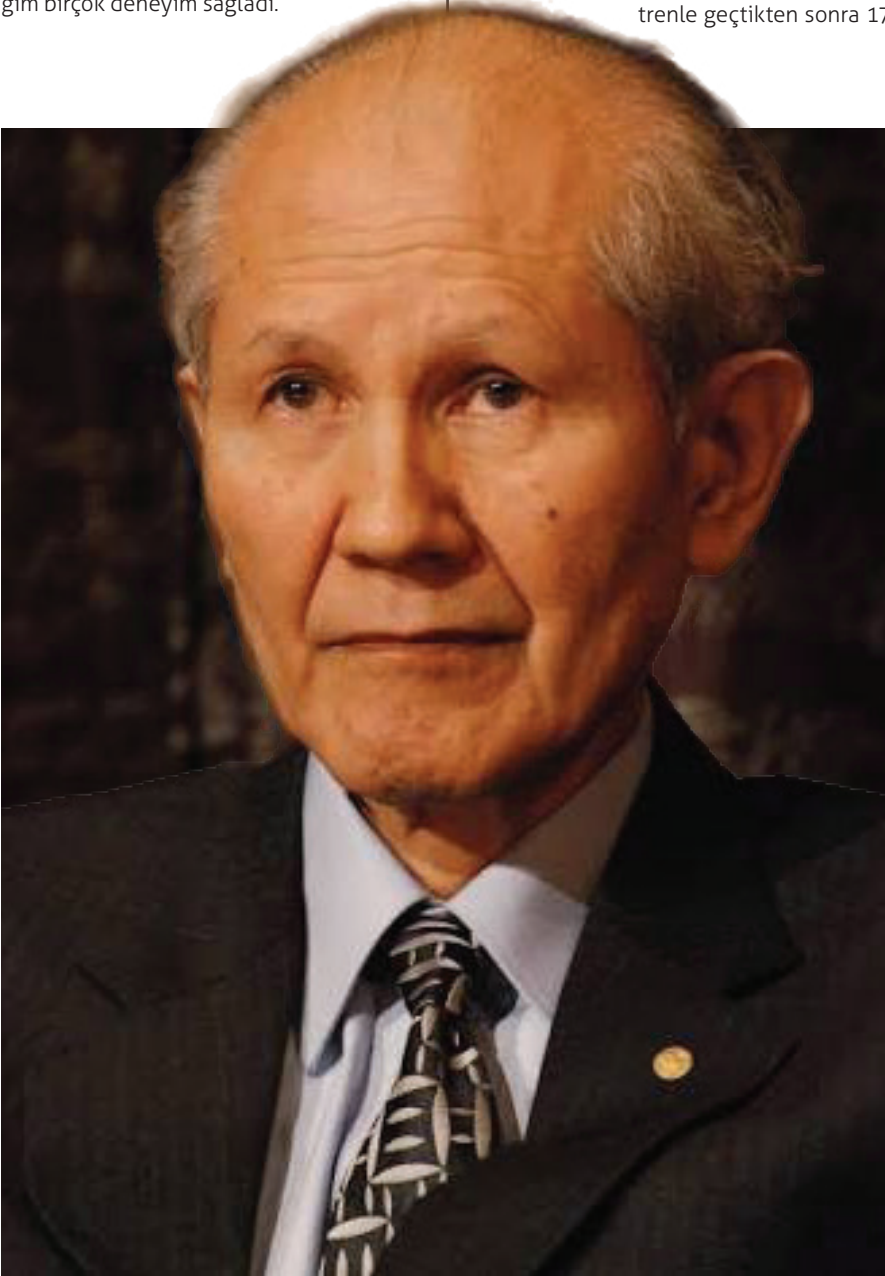
Eylül 1960'ta Princeton'a vardım ve o gece Dr. Johnson'ın evinde kaldım.

Ertesi sabah Dr. Johnson bana bir daire bulmama yardım etmeyi teklif etti. Bir gazete de kiralık oda ilanı gördük ve o eve gittik. Bir adam kapıyı açtı, fakat yüzümü görün görmez kapıyı hızla kapattı. Bu, nadiren karşılaştığım açık bir ırkçı ayrımcılık örneği idi.

Dr. Johnson'ın ofisine ilk ziyaretimde, küçük bir şişe beyaz toz çıkardı ve "Bu, ıslık yayan denizanası Aequorea'nın dondurularak kurutulmuş ışık organlarıdır ve suyla karıştırıldığında ışık yaymalıdır" dedi. Karanlık bir odaya gidip denedik, fakat hiçbir ışık göremedik. Ancak o, Aequorea'nın Washington Eyaleti'ndeki Friday Harbor'da çok bol bulunduğunu ve parlak şekilde ışıldadığını coşkuyla anlattı. Sonra bana bu denizanasının biyoluminesansını çalışmak isteyip istemediğimi sordu. Ben de "Memnuniyetle yaparım" diye cevap verdim. Böylece ertesi yaz Friday Harbor'a gitmeye karar verdik.

Princeton'daki ilk birkaç ayımda kurutulmuş Cypridina'dan lusiferaz çıkardım ve saflaştırdım. Princeton biyoloji bölümünde stoklanmış büyük miktardaki kurutulmuş Cypridina beni şaşırttı; bunlar arasında 1928 tarihli mühürlü şişeler ve biyoluminesans çalışmalarının öncüsü Sakyo Kanda'nın adını taşıyan mühürlü bir teneke kutu bulunuyordu. Ayrıca savaş sırasında askerî kullanım için toplanmış büyük miktar vardı; savaş sonunda ABD Donanması tarafından ele geçirilmiş ve daha sonra Profesör Harvey'nin laboratuvarına bağışlanmıştı. Kurutulmuş Cypridina, onlarca yıllık olsa bile ezilip suyla karıştırıldığında ışık saçar.

Aralık 1960'ta araştırma asistanımız olarak Miss Yo Saiga geldi ve dört ay süren vize sorunu nedeniyle gecikmiş olsa da, Başkan John F. Kennedy'nin göreve başlamasından hemen sonra, bir sonraki ay eşim Akemi geldi. 23 Haziran 1961'de Dr. Johnson, eşim, Miss Saiga ve ben Friday Harbor'a doğru yola çıktık. Dr. Johnson gezi için yeni bir Plymouth station wagon satın almıştı.



Üzerine büyük bir fotometre, diğer araştırma aletleri ve kimyasallar ile dört kişiye ait valizleri yükledik. Kıtayı geçmemiz yedi gün sürdü ve tüm yolu Dr. Johnson kullandı. Vardığımızda Washington Üniversitesi'ne bağlı Friday Harbor Laboratuvarları'nda ev sahibimiz Dr. Robert Fernald ile tanıştık.

Friday Harbor, Vancouver Adası'ndaki Victoria şehrinin doğusunda yer alan San Juan Adası üzerindedir. San Juan Adası'nın manzarası mükemmeldi. Deniz temiz ve güzeldi. Med seviyesinde, kayaların üzerinde çeşitli boyutlarda renkli deniz kestaneleri ve denizyıldızları ve bazı abalones bulunuyordu. Ayrıca bol miktarda balık vardı. Bir tekneden veya kayalık sahilden basit yemlerle yaklaşık 30 cm uzunluğunda kaya balıkları yakalayabiliyorduk. Sık sık onları sashimi olarak yerdik. Aslında o zamanlar Friday Harbor bizim için bir tür cennetti.

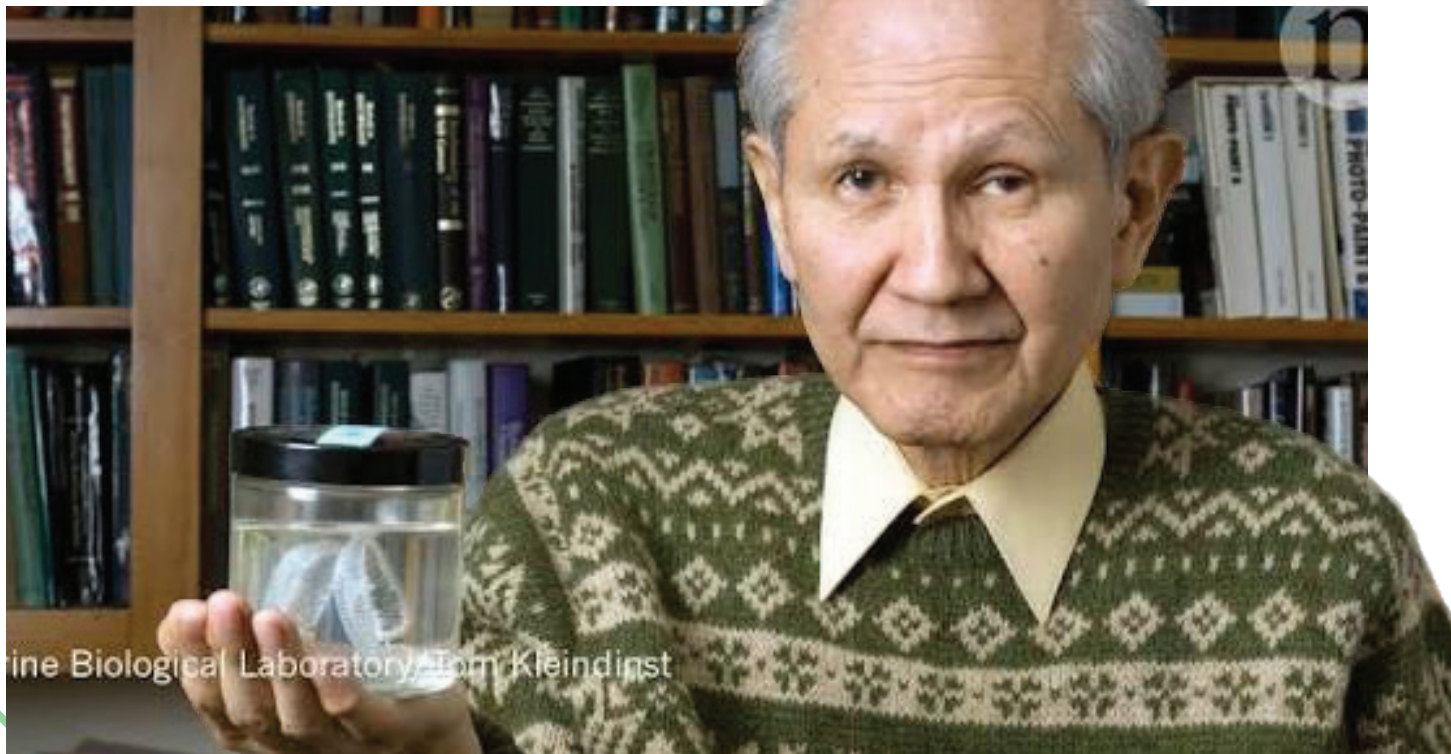
Araştırma alanı olarak, Dr. Fernald bize büyük bir laboratuvarın bir bölümünü tahsis etti. Odada üç başka bilim insanı daha vardı ve onlardan biri, o zamanlar Washington Üniversitesi'nde profesör olan ve daha sonra ABD Atom Enerjisi Komisyonu başkanlığı ile Washington Eyaleti valiliği yapan Dr.

Dixy Lee Ray'di. Köpekler eyalet yasasına göre Friday Harbor Laboratuvarı'nda yasak olmasına rağmen, her zaman yanında köpeği olurdu. Köpeğin onun asistanı olduğunu söylüyordu.

Araştırma materyalimiz Aequorea, gerçekten çok boldu. Gelgit akıntısıyla her sabah ve akşam laboratuvar iskelesinin yanından geçen sürekli bir yüzen denizanası akışı vardı. Aequorea'dan ışık yayan materyalin toplanması ve çıkarılması yöntemlerimizi Nobel konuşmamda anlatıyorum. Ham ekstraktı Eylül 1961'de Princeton'a geri götürdük ve saflaştırma sürecine başladık. Şubat 1962'de yaklaşık 5 mg'a yakın saf ışık yayan madde elde ettik. Bu bir protein idi ve ona "aequorin" adını verdik. Kalsiyum iyonlarının varlığında, oksijen olmaksızın ışık yayması nedeniyle aequorin benzersiz bir protein olarak geniş ilgi gördü. Aequorin, keşfedilen ilk fotoproteindi. Aequorin'in kolon kromatografisi sırasında, aequorinden daha erken elüe olan ve yeşil floresans gösteren az miktarda bir protein tespit ettik. O proteini de saflaştırdık ve bugün o protein "yeşil floresan protein (GFP)" olarak adlandırılmaktadır.

Ağustos 1962'de ünlü ateş kurdu Odonotosyllis enopla'yı incelemek için Bermuda Biyoloji İstasyonu'na gittim. Ateş kurtları çok küçüktür, fakat ay döngüsüyle ilişkili muhteşem bir biyoluminesans gösterimi sergilerler. Bu gösteri, dolunayı takip eden birkaç günlük bir süre içinde gerçekleşir. Güneş battıktan yaklaşık bir saat sonra başlar ve sadece 10 dakika sürer. Su yüzeyinde aniden parlak ışık saçan dişi kurtlardan (yaklaşık 2 cm uzunluğunda) oluşan bir sürü belirir; her biri hızlı bir şekilde dar bir daire içinde hareket eder. Birkaç saniye içinde, parlak ışıklı çok sayıda erkek (yaklaşık 1 cm uzunluğunda) her yönden, ışığa çekilerek dişilere doğru hızla hareket eder. Ateş kurdu topladım ve lusiferinin özelliklerini inceledim.

ABD vizemin 1963'te sona ermesi nedeniyle, izinli olduğum Nagasaki Üniversitesi Eczacılık Bölümü'ndeki görevime geri dönmem bekleniyordu. Ancak Profesör Hirata aracılığıyla, Nagoya Üniversitesi Su Bilimleri Enstitüsü'nde doçentlik pozisyonu teklifi aldım; araştırmalarımı biyoluminesans üzerine sürdürebileceğim şartıyla. Teklifi kabul ettim. Eylül 1963'te Su Bilimleri Enstitüsü'nde





Profesör Tadashi Koyama'nın yanında çalışmaya başladım. Birkaç ay sonra Profesör Hirata, Cypridina lusiferinin yapısını belirlemek için lisansüstü öğrencisi Yoshito Kishi'ye (sonradan Harvard Üniversitesi profesörü oldu) yardım etmemi istedi. 1964 yılında Kishi ile birlikte, yanımıza yaklaşık on öğrenci alarak, Cypridina'yı kitle halinde toplamak için İç Deniz'de Setoda'ya gittik. Dondurulmuş Cypridina'dan lusiferini çıkardık, sonra saflaştırıp kristalleştirdik. Bu materyalle, Kishi bir sonraki yıl lusiferinin yapısını başarıyla belirledi.

Şubat 1965'te Yeni Zelanda'ya giderek iki tür biyoluminesans organizmayı inceledim: mağara kurdu Arachnocampa ve tatlı su midyesi Latia. Çok geçmeden, iki ilişkisiz alanda yer bilimi ve biyoluminesans üst düzey çalışma yapacak yeterlilikte olmadığımı fark ettiğim için, Princeton Üniversitesi'ndeki Dr. Johnson'ın laboratuvarına geri dönmeye karar verdim. Bazı insanlar aequorin gibi bir fotoprotein varlığından şüphe duyduğu için, aequorin biyoluminesansının kimyasal mekanizmasını inceleyip açıklamak istiyordum. Aralık 1965'te eşim ve bir yaşındaki oğlum Tsutomu ile birlikte Princeton'a döndüm.

1950'li yılların başlarından beri, kalsiyum iyonlarının canlı organizmalarda önemli roller oynadığı düşünülüyordu, ancak bunu deneysel olarak göstermenin bir yolu yoktu. 1967'de Oregon Üniversitesi'nden Ellis Ridgway ve Christopher Ashley, aequorin'i bir gösterge olarak kullanarak kalsiyum iyonlarının kas kasılmasındaki rolünü deneysel olarak kanıtladılar. Aequorin'in biyoloji ve fizyoloji alanlarında bir kalsiyum probu olarak kullanımının artmasıyla, kullanımına yardımcı olmak için aequorin ışığının mekanizmasını açıklamak istedim.

Aequorin luminesansının, protein molekülü içinde gerçekleşen ve incelenmesi zor olan bir intramoleküler reaksiyondan kaynaklandığını zaten biliyordum. Ancak elimden gelenin en iyisini yapmaya karar verdim. Bu beklenmedik derecede büyük bir çalışma oldu. Nobel konuşmamda ayrıntılı olarak anlatıldığı gibi, aequorin'in yapısal modelini elde etmek yaklaşık 12 yıl sürdü. Bu ça-

ışmayı yürütebilmek için büyük miktarda aequorin'e ihtiyacımız vardı; bu nedenle 10 yıldan fazla bir süre boyunca her yaz Friday Harbor'a geri dönüp günde yaklaşık 3000 denizanası topladık ve işledik. Persone-
lim, eşim, çocuklarım ve işe aldığımız bazı yerel öğrenciler Aequorea'nın toplanması ve işlenmesinde büyük yardımcı oldular. Dr. Johnson, hayvanlardan halkayı kesme sürecini hızlandırmak için bir "denizanası kesme makinesi" icat etti. 1972'de Princeton'a döndüğümüzde, aequorin kromoforunun bir parçası olan AF350'nin yapısını belirlemeyi başardık. 1978'e gelindiğinde, aequorin ışımaya reaksiyonu hakkında genel bir anlayışa ulaşıştık.

1965 ile 1978 arasında, aequorin ile ilgili çalışmalarına ek olarak, çeşitli ışık saçan organizmaların biyoluminesansı üzerine

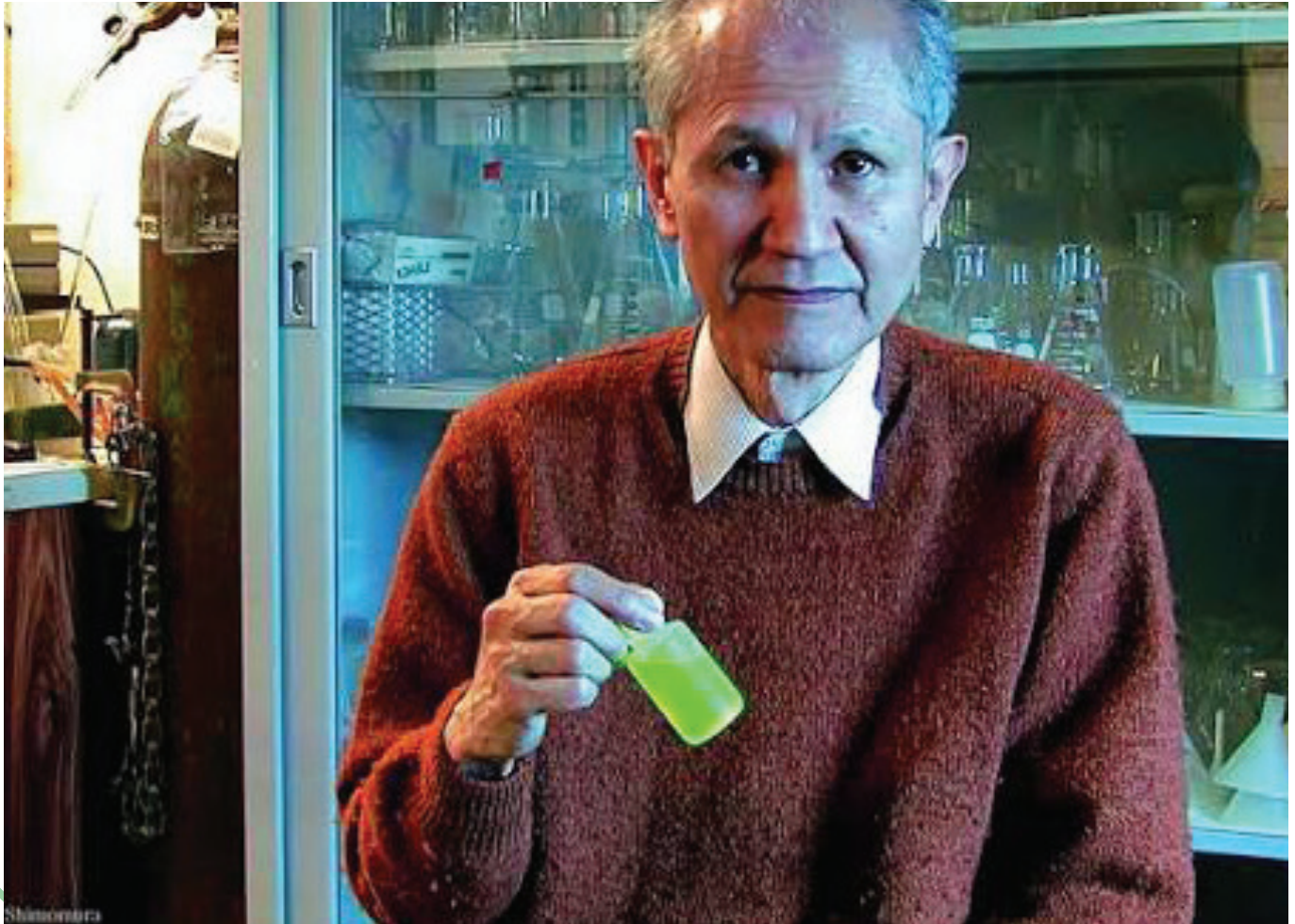
de araştırmalar yaptım; bunlara tatlı su midyesi Latia, kril Meganactiphanes, solucan Chaetopterus, ateşböceği kalamarı Watasenia, çeşitli knidiller ve ışık saçan bakteriler dahildi. Ayrıca GFP'nin özelliklerini inceledim ve ateşböceği lusiferinin luminesans reaksiyonunda bir dioksetan ara ürününün rolüne ilişkin tartışmayı çözdüm. Bu konular kitabımda ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

DENİZ BİYOLOJİK LABORATUVARI, WOODS HOLE'A

Dr. Johnson 1977'de Princeton'dan emekli oldu ve ben bir deniz laboratuvarına taşınmaya karar verdim. Princeton'dan ayrılmadan önce, GFP'nin kromoforunu aydınlat-

tım. Ayrıca dinoflagellat lusiferini ve ışık saçan pul solucanları üzerine araştırma yaptım. 1981 yılında, Harvard Üniversitesi'nden Dr. Woodland Hastings ve Boston Üniversitesi'nden Dr. Benjamin Kaminer tarafından yapılan nazik düzenleme sayesinde, Massachusetts'teki Woods Hole'daki Deniz Biyolojik Laboratuvarı'na (MBL) taşındım ve burada Kıdemli Bilim İnsanı olarak görev yaptım. Eşim Akemi, MBL'de araştırma asistanım olarak çalıştı. Ayrıca Boston Üniversitesi Tıp Okulu'nda yardımcı profesörlük de kabul ettim.

1888'de kurulan MBL, batı yarımküredeki en eski deniz laboratuvarıdır. Yıllar boyunca Shosaburo Watase, Umeko Tsuda, Hideyo Noguchi, Sakyo Kanda, Katsuma Dan, Sachio Hiramoto ve Shinya Inoué gibi birçok Japon bilim insanı MBL'de araştırma



yapmıştır. MBL'de çalışırken, kırkayak Luminesmus, yılan yıldızı Ophiopsila ve çeşitli ışıklı mantarlar da dahil olmak üzere birçok organizmanın ışık saçan maddesini çıkarmaya, saflaştırmaya ve incelemeye devam ettim.

1975'ten beri aequorin, hücre biyologları ve fizyologlar arasında mükemmel bir kalsiyum probu olarak yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştı ve uygulamaları 1985 civarında zirve yaptı. Bu dönemde pratikte aequorin'in tek kaynağı ben olduğum için, dünyanın her yerindeki araştırmacıların taleplerine yanıt olarak birkaç yüz aequorin örneği gönderdim. Aequorin'in cDNA'sı 1985'te klonlandı ve rekombinant aequorin üretilti, ancak rekombinant aequorin'in patent sahipleri olan Georgia Üniversitesi ve Japonya'daki Chisso Corporation, aequorin kullanımını genişletme konusunda emin değillerdi, bu yüzden rekombinant aequorin'in genel kullanımı gecikti. 1988'de, Harvard'dan Profesör Yoshito Kishi ile işbirliği içinde, farklı kalsiyum duyarlılıklarına ve özelliklere sahip çeşitli aequorinler üretmeyi başardık. Bu aequorinler, moleküllerinde koelenterazin yerine çeşitli koelenterazin türevleri içeriyordu ve yarı sentetik aequorinler olarak adlandırıldı. 1995 yılında aequorin'in X-ışını yapısı üzerinde çalışmaya başladım ve aequorin'in üç boyutlu yapısı 2000 yılında elde edildi.

1992'de, o sırada Woods Hole Oşinografi Enstitüsü'nde bulunan Dr. Douglas Prasher, GFP'nin cDNA'sını klonladı. Ancak o dönem yaygın inanç, cDNA'nın canlı organizmalarda ifade edilmesinin floresan GFP üretmeyeceğiydi; çünkü kromoforunun oluşumu kondensasyon ve dehidrojenasyon reaksiyonları gerektirir ve bunların kendiliğinden gerçekleşmesi beklenmezdi. Ancak 1994 yılında Columbia Üniversitesi'nden Dr. Martin Chalfie, cDNA'yı E. coli ve bir nematod solucanda ifade etmeyi denedi ve kendisi ve meslektaşları, ifade edilen GFP'nin floresansını beklenmedik şekilde gözlemledi. Sonuçlar, GFP'nin ve ona bağlı diğer proteinlerin canlı organizmalarda ifade edilerek davranışlarının gözlemlenebileceğini gösterdi. Dr. Chalfie'nin çalışması birçok kişinin ilgisini çekti ve GFP uygulama-

malarında hızlı ilerlemeyi tetikledi. Kaliforniya Üniversitesi San Diego'dan Dr. Roger Tsien, kromoforu çevreleyen amino asit kalıntıları değiştirerek GFP'yi yeniden tasarladı ve maviden kırmızıya kadar çeşitli renklerde ışık yayan birçok farklı floresan protein üretti. Günümüzde GFP, protein moleküllerinin ve hücrelerin floresan belirteci olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır ve biyoloji, fizyoloji ve tıp çalışmalarında vazgeçilmez bir araçtır. GFP ayrıca kadmiyum, çinko ve patlayıcı TNT ve buharlarının tespitinde olduğu gibi başka alanlarda da kullanılmaktadır. Floresan proteinlerin uygulama alanlarının sınırı hayal edilenden çok daha geniştir.

EMEKLİLİĞİMDEN SONRA

2001 yılında Deniz Biyolojik Laboratuvarı'ndan emekli oldum. Biraz daha deney yapmak istediğim ve ayrıca talep üzerine hâlâ insanlara aequorin örnekleri sağladığım için, tüm laboratuvar ekipmanımı ve kimyasallarımı evime taşıdım ve burada kendi fotoprotein laboratuvarımı kurdum. Emeklilik sempozyumum, "GFP ve Aequorin," mikroskopi konusunda dünya otoritesi olan Dr. Shinya Inoue'nun nazik düzenlemesiyle 27 Temmuz 2002'de MBL'nin Lillie Konferans Salonu'nda yapıldı. Katılımcılar arasında Martin Chalfie ve Roger Tsien de vardı. Biyoluminesans kimyasını araştırmak isteyen yeni nesil öğrenciler için bir kitap yazmaya başladım. "Bioluminescence: Chemical Principles and Methods" kitabı 2006 yılında World Scientific Press tarafından yayımlandı. Kitap, bilinen tüm biyoluminesans sistemlerinin kapsamlı bir genel bakışını ve kimyasal bilgilerini içermekte olup, 35 farklı biyoluminesans organizma türünü kapsamaktadır.

2004 yazı mükemmeldi. Temmuz ayında, GFP'nin keşfi nedeniyle Royal Microscopical Society'den Pearse Ödülü'nü aldım. Ağustos ayının başında, Uluslararası Biyoluminesans ve Kemilüminesans Sempozyumu'nda davetli bir konuşma yaptım. Ağustos ayının sonunda, laboratuvarın

100. yıl kutlamalarının bir parçası olarak Friday Harbor Laboratuvarları'nda benim onuruma düzenlenen "Kalsiyum Düzenlemeli Fotoproteinler ve Yeşil Floresan Protein" sempozyumuna katıldım. Bu sempozyumda, biyoluminesans ve ilgili alanlarda tanınmış araştırmacıların hemen hemen hepsi dünyanın dört bir yanından bir araya geldi ve birçok eski arkadaşımı görmekten mutluluk duydum ancak Friday Harbor'daki denizin giderek kirleniyor olduğunu görmek beni biraz üzdü. 2006 yılında, Japonya'nın en prestijli ödüllerinden biri olan Asahi Ödülü'nü aldım.

Friday Harbor'daki Aequorea denizanası hakkında bir not eklemek istiyorum. 1961 ile 1988 yılları arasında, Friday Harbor'a gidip Doğu Kıyısı'na geri 19 kez seyahat ettik (bunların 13'ü araba yolculuğuydu) ve araştırmam için aequorin elde etmek amacıyla toplam yaklaşık 850.000 Aequorea örneği topladık. Bu süre boyunca denizanasları her zaman bol bulunuyordu. Ancak, gizemli bir şekilde 1990'dan sonra sayıları aniden azaldı ve birkaç tane toplamak bile çok zor hâle geldi. Bu dramatik azalmanın nedeni, 1989'da Exxon Valdez tankerinden dökülen ham petrolün deniz yatağını kirlmesi olabilir ya da doğal bir neden olabilir. Eğer denizanaslarının ortadan kaybolması 20 yıl önce gerçekleşmiş olsaydı, ne aequorin biyoluminesans reaksiyonunun mekanizmasını ne de GFP'nin kromoforunu bilirdik.

