

纪念伟大的病毒学家——霍华德·蒂明

In Memory of the Great Virologist—Howard Timin

谢蜀生

(北京医科大学,教授 北京 100083)

1994年2月9日,因发现反向转录现象而获得诺贝尔奖的美国科学家霍华德·蒂明(Howard Timin),在刚刚过完他59岁的生日后不久死于癌症。来自世界各地的唁电象雪片一样飞向威斯康星大学,沉痛地悼念这位对现代分子生物学的发展作出过杰出贡献的伟大病毒学家。现在,蒂明去世已经一周年了,简要地回顾他短暂而辉煌的一生,能给我们提供多方面的有益的启示。

1934年12月10日,蒂明出生于美国一个犹太律师的家庭。这时正是现代生物学革命开始蕴酿的时代。1935年,在伟大的物理学家玻尔(Bohr)的影响下,德尔布吕克(Delbrück)写了一篇《关于基因突变和基因结构的性质》的文章,认为基因的性质及功能也许可以用一种当时尚未知的物理和化学规律来解释。1945年薛定谔(Schrodinger)发表了《生命是什么?》一书。在书中薛定谔宣称一个生物学研究的新纪元就要开始。他说:“目前物理、化学虽然还缺乏解释生物学现象的能力,但丝毫也不能认为它们不能用这两门科学来说明。”他认为,通过对遗传学问题的研究,有可能发现其他的物理学定律。薛定谔是一位声名显赫的物理学家,在他的倡导下,一批杰出的物理学家转而投身于生物科学的研究,这支新生力军的加入直接触发了一场生物科学的革命,其直接的结果是导致了1953年DNA双螺旋结构的阐明。这时一个虽然轮廓还模糊不清,但却有深远意义的分子生物学前景已经浮现出来了,它使生物学在整个50年代都沉浸在一种兴奋而又激动不安的科学革命的氛围之中。蒂明与他同时代的生物学家就是在这样一种科学背景下成长起来的一代人。

科学感觉敏锐的学生

中学时代,蒂明几乎每年都参加位于缅因州巴哈伯城(Bar Harbor)的杰克逊(Jackson)生物学夏令营。这个夏令营是专门为培养青少年对生物学研

究的兴趣而开办的。在那里孩子们不但可以听到著名科学家的演讲,而且还可以亲自动手做实验。杰克逊夏令营在蒂明的眼前展示了一个新奇的世界,激发了他对生物科学的强烈兴趣。在后来的日子里,蒂明经常回忆他在杰克逊夏令营度过的那些美好的时光,并说他一生的事业正是在那里确定的。

蒂明的大学时代是在斯渥塞摩学院(Swarthmore College)生物学系度过的。在那里蒂明已表现出了一个杰出科学家的素质。据后来也进入该校的巴尔的摩(Baltimore)回忆,当时在这所大学的生物系里流传着许多有关蒂明传奇般的故事。据说图书馆里每一本生物学的书他都读过。为了满足他对新知识的渴求,图书馆不得不经常购买新书。在蒂明的大学时代,沃森-克里克(Watson-Crick)的DNA双螺旋结构理论刚刚提出,一个新的分子生物学的理论框架已经建立,蒂明敏锐地感觉到一个生物学革命的时代已经到来。一种隐约的使命感使他变得焦虑不安,他如饥似渴地阅读各种书籍和文献,紧紧跟踪着生物科学的每一个进展,利用一切机会充实自己。他急切地想搞清这个新兴的分子生物学的明确意义,以便准确地选择自己的位置。那时斯渥塞摩大学有一个很好的传统,它要求学生选择一个题目,阅读有关文献,并作专题报告。报告会邀请校外的教授参加,并对每个报告人进行提问。蒂明参加报告会,不但作报告,回答提问,并且利用这个机会和教授们坐在一起了解和讨论教授们的工作,从中他受益匪浅。1955年,蒂明大学毕业。在斯渥塞摩大学的学习和生活为他以后的科学生涯奠定了坚实的基础。

大学毕业后,蒂明进入加州理工大学研究生院,在杜尔贝科(Dulbecco)实验室读研究生。杜尔贝科曾在印第安纳大学卢里亚(Luria)实验室进行过噬菌体的研究,转到加州理工学院后,兴趣转入对动物病毒的研究。蒂明进入杜尔贝科实验室后确定了他一生从事肿瘤病毒研究的方向。在加州理工大学研究生学习期间,对蒂明的科学生涯有着重要

影响的另一个人物是德尔布吕克(Delbrück), 德尔布吕克和卢利亚都是当时美国著名的“噬菌体小组”(phage group)的领袖人物。一个偶然的机, 蒂明结识了在德尔布吕克实验室作博士后研究的鲁宾(Roubin), 并在他的影响下对劳斯肉瘤病毒(RSV)产生了浓厚的兴趣。早在本世纪初, 劳斯(Rouse)发现一种可以引起鸡肉瘤的病毒, 后被称为RSV。RSV是一个明确证明可引起肿瘤的病毒, 但其作用机制不清。蒂明决定研究RSV与肿瘤发生的关系。杜尔贝科当时在研究DNA病毒与肿瘤的关系方面已经声名卓著, 而RSV是一种RNA病毒。蒂明的选择意味着他决心进行一场前景不明的艰难探索。1958年蒂明和鲁宾一起建立一种定量测定用RSV进行细胞转化的方法, 这使他们可以对这种病毒诱导的肿瘤进行定量研究。在研究RSV诱导鸡胆成纤维细胞癌变时蒂明发现, 用RSV转化的成纤维细胞的恶性表型是非常稳定的, 即可以一代一代传下去; 而不同的RSV突变株引起的细胞转化的恶性表型却都不同。这提示, RSV在诱导细胞转变的过程中, 已将自己的遗传信息传递给了转化的细胞。但是, 根据当时已确立的“中心法则”, 遗传信息的流向只能从DNA→RNA→蛋白质, 因而普遍认定“这种单向信息流是绝对不可逆的。”而RSV是一种RNA病毒, 它似乎不可能对细胞的基因组DNA产生任何影响。在新发现的事实与已有的理论框架尖锐对立时, 蒂明觉得不应当让事实屈从理论。他觉得对他发现的现象能够作出的唯一合理的解释, 只能是在转化的细胞中, 以RSV的RNA为模板先合成一个“DNA分子中间体”(DNA intermediate), 这个中间体然后整合到细胞DNA的基因组中去, 从而永久地影响转化细胞的遗传特性。这个设想在当时被认为是十分荒谬的。据杜尔贝科后来回忆, 在蒂明的博士论文答辩时, 参加答辩的德尔布吕克对论文的评价很高, 但唯独对他的“DNA中间体”的设想很不以为然。1960年, 蒂明获得博士学位后转入威斯康星大学, 继续从事RSV与肿瘤关系的研究。在此后的整整十年中, 为了证明这个“DNA中间体”的存在, 蒂明投入了他的全部精力。

奋斗十年, 发现重大的反转录现象

60年代初发现, 放线菌素D能抑制以DNA为模板的RNA合成。在正常的细胞培养中, 加入这种抗菌素, 细胞的RNA合成就停止了。RNA病毒以自身RNA为模板合成新的病毒, 所以它在细胞内的复制不受放线菌素D的影响。但蒂明发现, 在RSV转化的细胞培养中加入放线菌素D时, 不但细胞RNA合成停止, 而且RSV的RNA合成也停止了。这证明RSV与一般的RNA病毒在复制方式上完全不

同。这似乎可以证明, RSV在感染细胞内复制过程中确实经历了一个“DNA中间体”的阶段。1964年他发表了上述研究结果, 并将这个“中间体”称之为“前病毒”(provirus)。这样RSV在细胞中的复制过程就成了: 病毒RNA→DNA中间体(前病毒)→整合到细胞DNA基因组中→转录成病毒RNA→包装成新病毒。科学界对所谓“前病毒假说”(provirus hypothesis)反应十分冷淡。因为RSV只有在能正常分裂细胞中才能复制, 因此他们认为, 在蒂明的实验中RSV在细胞中不能复制的原因应当解释为放线菌素D抑制了细胞分裂。蒂明工作的进一步进展是用核酸杂交的方法证明, 在RSV感染的细胞基因组中有RSV相应的DNA顺序。这是“前病毒理论”的直接证据。但是人们很快就发现, 正常细胞中也存在这种“内源性的RSV相关DNA”(Endogenous RSV-related DNA)。这种DNA顺序虽然与RSV顺序不完全相同, 但顺序上的微小差别还不能成为前病毒存在的确凿证据。尽管在每次学术会议上, 蒂明都坚持自己的观点, 但却屡遭冷遇和指责。蒂明知道, 他的“前病毒理论”的关键是RNA反转录为DNA, 因此最有说服力的证据是在RSV中找到以RNA为模板的DNA聚合酶。1969年, 日本学者里子水谷来到他的实验室, 按照蒂明的设想, 他们开始寻找RSV中存在依赖RNA的DNA聚合酶的证据。实验的设计是简单而又巧妙的。他们将合成DNA的四种脱氧核苷酸(其中一种标记上同位素)与破坏了外壳的RSV一起在40℃温育, 结果在试管中获得了一种带同位素标记的大分子, 它不能被RNA酶破坏, 但却可以被DNA酶水解; 如果用RNA酶预处理RSV以破坏其RNA, 再重复上述实验, 则不能得到这种高分子化合物。这个实验有力地证明了在RSV颗粒中存在一种依赖RNA的DNA聚合酶。与此同时, 当时在麻省理工学院的巴尔的摩用不同的方法也证实了反转录酶的存在。他们的文章先后在《自然》杂志上发表, 并在1970年冷泉港会议上共同宣布了这个惊人的发现。不久许多实验室都证实了这个结果, 于是反转录现象迅速被普遍接受。科学界立即意识到这个发现的重要意义。1975年蒂明、巴尔的摩和杜尔贝科一起因“为研究癌症和病毒之间的关系提供了概念性的基础”而被授予诺贝尔奖。那年蒂明刚刚40岁, 他一下子成了分子生物学研究主流中的重要人物。

反转录现象的发现是分子生物学理论上的一个改变了观念的重大突破。现在已知RNA不但可以作为DNA合成的模板, 而且具有酶的功能, 这样就直接影响了对生命起源问题的认识。在医学上, 它揭示了一大类RNA病毒与肿瘤发生的关系; 艾滋病病毒的性质也是通过发现反转录酶而确定的。在生物技术上, 反转录酶的应用使基因克隆变得容

易多了;利用逆转录病毒载体表达外源基因已成为目前基因治疗的主要工具。反转录现象的发现,确实是DNA双螺旋理论确立以来,分子生物学发展中最具革命性的事件之一。蒂明在长达十年的时间里,不懈地为这一科学的真理而奋斗,这种不屈不挠的精神使他的生命具有了一种传奇的色彩。

一个执著追求科学的生命

这以后,他继续研究细胞转化及逆转录病毒的遗传学问题,在他生命的最后几年,他的主要兴趣是分子遗传学的基础性研究。他的实验室在癌基因的研究方面,在逆转录病毒的结构和重组机制及突变的研究方面都取得了令人瞩目的成果。他是最先使用逆转录病毒构建表达载体的科学家之一。他一直站在分子生物学研究的前沿,关心着分子病毒学研究中的每一个进展,他每年都参加冷泉港的肿瘤病毒学年会,在报告会上,他总爱坐在会场的前排,专注地听取每一个研究者的报告,并不断地提问。他喜欢与年青一代病毒学家进行交流。他用自己的经验和智慧指导他们,也从他们活跃的思想中吸取养料。在他的实验室里,受过训练的各类研究人员中,有许多人现在已是分子病毒学和肿瘤学研究领域中的杰出人物。他们都对蒂明怀着深深的感激和崇敬之情。

蒂明是一位具有独特个性的科学家。他虽然声名显赫,却很少抛头露面。在他众多的挂名的职务中,美国国家癌症顾问委员会委员的职位是他最重视的。他认为这是他能够影响美国科学政策的机会。在生命的最后十年中,他经常去华盛顿,对病毒学、肿瘤以及艾滋病的研究提出他的建议。在科学研究方面,他极力强调研究者个人所起的作用,他执著地认为,杰出科学家的个人创造性在科学发展中起着最重要的作用。因此,他一贯主张对研究者的自选课题应给予充分的重视和支持。蒂明是一个

真正的传统意义上的科学家,他终身带着强烈的兴趣探索隐藏在事物表象后面的自然规律,而不带任何功利的色彩。近十几年来,生物科学的研究结果被迅速地转化为巨大的物质财富,这导致了一种急功近利的倾向,影响着年青一代的科学家。蒂明对此深为忧虑,他认为这是一种对科学精神的腐蚀,最终将严重损害科学的进步。也许是要故意对这种倾向表示自己的反对态度,他一直生活在美国中部威斯康星州的麦迪逊城,似乎执意要远离尘嚣,以保持他对科学的那份纯洁的感情。在公众事务中,值得着重提及的是他对戒烟运动的那种罕见的热情。虽然他终身都在进行从根本上征服癌症的研究,但他清醒地意识到,在现今世界上,戒烟是一种最有效和最廉价的防止癌症的方法。他甚至不惜利用诺贝尔聚餐会上获奖者宝贵的两分钟发言机会宣传戒烟。不幸的是,这样一位坚决反对吸烟的科学家恰恰得了肺癌。1993年9月,在一次例行的体检中,他的肺上发现了癌症病灶,并已经转移。其后的治疗使他头发大片脱落,脸上、颈部带有片片灼痕。在患病后期连走路和说话都很困难的情况下,他仍然坚持每天到实验室指导实验,阅读文献,讲授课程。他终身都在与恶性肿瘤作斗争,包括在生命的晚期对自己癌症的顽强战斗。1994年2月9日,蒂明这位真正意义上的伟大科学家终于被癌症夺去了生命。从发现肺癌到去世只有短短的四个月。这真是现代医学的悲哀。

蒂明的一生给了我们许多有益的启示,巴尔的摩在纪念蒂明的文章中写道:“当生命科学陶醉在它累累硕果之中,并不断被商业化的时代,记住那些安于在实验室里默默工作的人们是非常重要的,因为只有他们才是真正推动科学革命的力量。在科学中探索比应用更具有开创性。一个为既定的目标而执著追求着的生命,是这个世界上最可宝贵的财富。”这是对霍华德·蒂明一生的最好评价。

(责任编辑 肖庆山)

封面说明

破裂的恐龙蛋化石中发现DNA

举世闻名的河南省西峡盆地出土的大量恐龙蛋化石中,有一枚蛋壳坚硬、完整、无裂隙,在1993年9月因意外落地跌破成两块,其中大的一块如封面照片所示(1994年2月摄)。可以看到,蛋腔内有略显潮湿的灰褐色絮状软物质。此枚蛋化石自破裂后至1995年1月12日,一直处于常温条件下,以后才置于冰箱中低温保存。

1995年1月14日,从中取出少量絮状内含物,连同过去取样的部分,供北京大学生命科学学院蛋白质工程与植物基因工程国家重点实验室进行古DNA的提取、

扩增、测序的研究,经过 ^{32}P 同位素标记和电泳分析,发现有DNA片段存在,大小约在1000碱基对至几十碱基对之间,大多数在400碱基对之下。这是世界上第一次从恐龙蛋化石中提取出DNA,也是继1994年伍德沃德(Woodward)等从恐龙肋骨化石中分离出DNA后,又一次从恐龙化石中提取出DNA的重大发现(本刊近期内将另有专文详细介绍)。这对研究物种起源和进化,特别是灭绝物种的分类和灭绝的原因,具有重大的理论意义。

(责任编辑 王宏章)