



ОТ ЛАУРЕАТА
НОБЕЛЕВСКОЙ
ПРЕМИИ

ДНК ИСТОРИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ

ДЖЕЙМС Д. УОТСОН
ЭНДРЮ БЕРРИ
КЕВИН ДЭВИС



ВЕЛИКАЯ КНИГА
ОТ ЧЕЛОВЕКА, ОТКРЫВШЕГО
СТРУКТУРУ МОЛЕКУЛЫ ДНК

Annotation

Познакомьтесь с историей генетической революции, рассказанной Джеймсом Д. Уотсоном, лауреатом Нобелевской премии. Гениальный ученый отправляет нас в величайшее научное путешествие, охватывающее все вехи генетической революции – от открытия двойной спирали до открытий последнего десятилетия. Открытие человечеством двойной спирали ДНК по значимости можно сравнить только со свершениями эпохи Просвещения. Естественный отбор все еще действует, но генная терапия уже стала реальностью. Что ждет нас дальше? Практически не осталось областей науки и деятельности, которые в той или иной степени не были бы связаны с генетикой: редактирование генов, эпигенетика, агрохимия, геномика и исследования рака – только вершина айсберга. «Когда я попытался проанализировать причины своего успеха, то понял, что это – знания. Для прорывов нужны идеи, но их базис, фундамент – именно знания. А для того, чтобы получить знания, нужно читать как можно больше». *Дж. Д. Уотсон, лауреат Нобелевской премии*

- [Джеймс Уотсон](#)

-
-
- [От автора](#)
- [Введение](#)
- [Глава 1](#)
- [Глава 2](#)
- [Глава 3](#)
- [Глава 4](#)
- [Глава 5](#)
- [Глава 6](#)
- [Глава 7](#)
- [Глава 8](#)
- [Глава 9](#)
- [Глава 10](#)
- [Глава 11](#)
- [Глава 12](#)
- [Глава 13](#)
- [Глава 14](#)

- [Эпилог](#)
 - [Благодарности](#)
 - [Об авторах](#)
 - [notes](#)
 - [1](#)
 - [2](#)
 - [3](#)
 - [4](#)
 - [5](#)
 - [6](#)
 - [7](#)
 - [8](#)
 - [9](#)
 - [10](#)
 - [11](#)
 - [12](#)
 - [13](#)
 - [14](#)
 - [15](#)
 - [16](#)
 - [17](#)
 - [18](#)
 - [19](#)
 - [20](#)
 - [21](#)
 - [22](#)
 - [23](#)
 - [24](#)
-

Джеймс Уотсон

ДНК. История генетической революции

Научный редактор:

О. А. Гизингер, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики Южно-Уральского государственного медицинского университета

Random House, LLC. Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

При подготовке обложки книги была использована фотография Джеймса Д. Уотсона из архива Лаборатории Колд-Спринг-Харбор

© Patrick Jones Photographic Studio

26 Rainford St

Surry Hills New South Wales 2010

Australia

© 2017 by James D. Watson

© Перевод на русский язык ООО Издательство «Питер», 2019

© Издание на русском языке, оформление ООО Издательство «Питер», 2019

© Серия «New Science», 2019

* * *

*Посвящается
Френсису Крику*

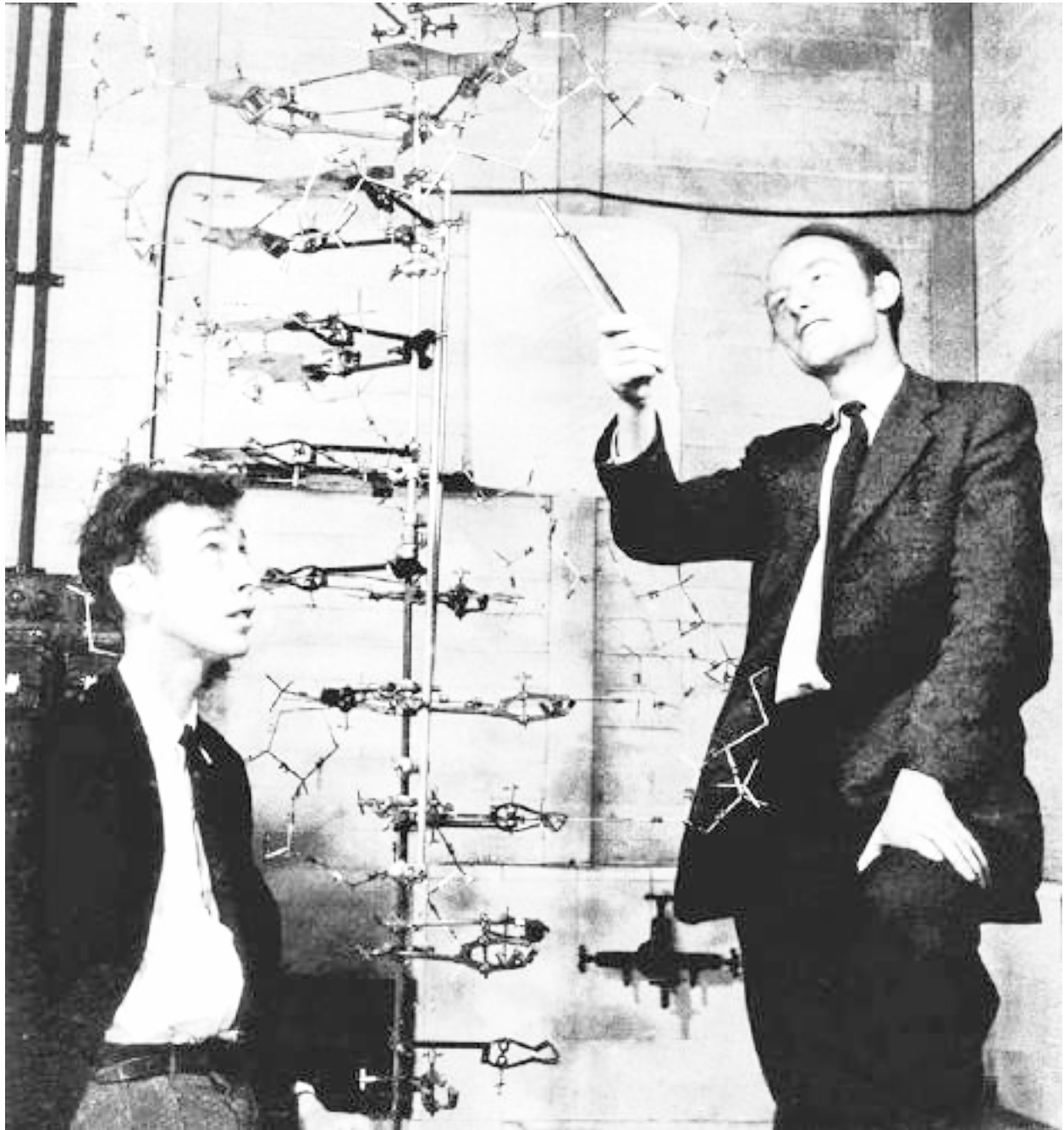
От автора

Замысел первого издания книги «ДНК. Секрет жизни» возник у меня за обедом в 1999 году во время обсуждения вариантов празднования полувекового юбилея открытия двойной спирали. Издатель Нил Паттерсон совместно с Джеймсом Д. Уотсоном предложили воплотить многогранный проект: издать эту книгу, отснять телесериал, а также реализовать еще несколько начинаний с более выраженной просветительской составляющей. Нил Паттерсон оказался в этой компании не случайно: в 1965 году именно он опубликовал первую книгу Дж. Д. Уотсона «Молекулярная биология гена» и с тех пор как добрый гений неизменно участвовал во всех его писательских работах. Дорон Вебер из Фонда им. Альфреда Слоана обеспечил финансирование на старте проекта, содействовал тому, чтобы идея успела оформиться в нечто более конкретное. В 2000 году к проекту был подключен Эндрю Берри, которому было поручено детально проработать структуру телесериала; в дальнейшем он стал регулярно курсировать между собственной научной «базой» в Кембридже, штат Массачусетс, и лабораторией Дж. Д. Уотсона в Колд-Спринг-Харборе, на северном берегу острова Лонг-Айленд близ Нью-Йорка.

С самого начала мы не собирались ограничиваться просто воспоминаниями о событиях 50-летней давности. За это время ДНК превратилась из малопонятной молекулы, интересной лишь горстке специалистов, в ядро целой научной технологии – молекулярной биологии, изменившей многие аспекты повседневной жизни, касающиеся каждого. Наряду с новаторскими изменениями появилось немало сложных вопросов о влиянии этой технологии на жизнь общества: практическом, социальном, этическом. Мы воспользовались полувековым юбилеем, увидев в этом возможность приостановить движение и подытожить проведенные за эти годы разработки. Мы предоставили откровенно субъективный взгляд как на эту научную историю, так и на связанные с ней проблемы. Более того, в издании изложена личная точка зрения Дж. Д. Уотсона, поэтому книга написана от первого лица (в единственном числе).

Для подготовки этого полностью обновленного издания мы пригласили Кевина Дэвиса, который помог нам рассказать о многих замечательных достижениях в области генетических исследований – все эти достижения приходятся на десять лет, минувших с момента выхода

первого издания. В книге появились две новые главы. В главе 8 «*Время первых*» рассматриваются успехи в технологии секвенирования ДНК, благодаря которым развились такие отрасли, как потребительская генетика и клиническое значение секвенирования геномов. В заключительной главе «*Рак: война без конца?*» мы рассмотрим, какой прогресс достигнут в исследовании и лечении рака, и задумаемся, какой ценой мы могли бы одержать победу в этой, казалось бы, безнадежной войне.



Мы с Френсисом Криком (справа) и наша модель двойной спирали

Мы постарались написать книгу для широкой аудитории, и даже те читатели, которые совершенно не разбираются в биологии, наверняка поймут в книге каждое слово. Все технические термины объясняются при первом употреблении. Кроме того, в разделе «Дополнительные материалы»^[1] перечислены источники, важные в контексте каждой главы. По возможности мы старались не ссылаться на академическую литературу, тем не менее в перечисленных работах обсуждаемые темы рассматриваются более глубоко, чем в нашей книге.

В конце книги, в разделе «Благодарности», перечислены люди, внесшие тот или иной вклад в реализацию этого проекта. Однако четверых из них хотелось бы отметить особо. Это Георг Андреу (George Andreou), необычайно терпеливый редактор из издательства Kaporf, – при его участии написан большой объем данной книги. Кайрин Хаслингер (Kiryn Haslinger), ассистент Дж. Д. Уотсона из лаборатории Колд-Спринг-Харбор, которая внесла неоценимый вклад в редактирование и написание книги, – мы считаем, что без нее книга бы попросту не состоялась. Ян Витковски (Jan Witkowski) из лаборатории Колд-Спринг-Харбор проделал огромную работу за рекордное время над главами 10, 11 и 12 и руководил ею на протяжении всего проекта. Ассистент Дж. Д. Уотсона Морин Берейка (Maureen Berejka) превосходно проявила себя в том искусстве, которое дано не каждому человеку, – разобрала почерк Дж. Д. Уотсона.

– Дж. Д. Уотсон

Колд-Спринг-Харбор, штат Нью-Йорк

– Эндрю Берри

Кембридж, штат Массачусетс

– Кевин Дэвис

Вашингтон, округ Колумбия

От издательства

Ваши замечания, предложения, вопросы отправляйте по адресу comp@piter.com (издательство «Питер», редакция компьютерной и научно-популярной литературы).

Мы будем рады узнать ваше мнение!

На веб-сайте издательства www.piter.com вы найдете подробную информацию о наших книгах.

Введение

Тайна жизни

Субботним утром 28 февраля 1953 года я, как обычно, явился на работу в Кавендишскую лабораторию Кембриджского университета раньше Френсиса Крика. Я неспроста встал с утра пораньше – знал, что мы уже близки к цели, хотя и не представлял насколько. Мы пытались расшифровать структуру молекулы, которая в тот момент была еще малоизвестна: ДНК, или дезоксирибонуклеиновой кислоты. Как мы с Криком и предполагали, это была не какая-то второстепенная молекула: в ней хранится ключ к природе всего живого и содержится наследственная информация, передаваемая от поколения к поколению, организуется работа невероятно сложных внутриклеточных механизмов. Мы надеялись, что если сможем построить объемную структуру этой молекулы, то сможем прикоснуться к «тайне жизни» – Френсис любил эту метафору и произносил ее почти всерьез.

В тот момент мы уже знали, что молекула ДНК состоит из многочисленных экземпляров одних и тех же базовых элементов – нуклеотидов, в этой молекуле их всего четыре вида: аденин (А), тимин (Т), гуанин (Г) и цитозин (Ц). Накануне я провел вечер, вырезая из картона шаблоны этих разнообразных компонентов, а теперь, субботним утром, когда мне никто не мешал, мог повозиться с деталями нашего «трехмерного пазла». Как они стыкуются? Вскоре я понял, что схема удивительно проста: А отлично сочетается с Т, а Г – с Ц. Оставался вопрос, правильна ли конструкция молекулы? Но молекула ДНК действительно состояла из двух цепочек, связанных парами: А – Т и Г – Ц, и в результате у меня получалось так просто и красиво, что модель почти наверняка должна была оказаться верной. Поскольку ранее я уже ошибался, то, прежде чем воодушевляться, решил дождаться Крика, для того чтобы убедиться, что моя парная модель выстоит перед его строгой критикой. Я ждал его, образно выражаясь «сидя как на иголках».

Впоследствии оказалось, что волновался я зря: Крик сразу понял, что моя парная структура подсказывает и форму молекулы, которая должна была выглядеть как двойная спираль, где две молекулярные цепочки тянутся в противоположных направлениях. Все, что нам было известно ранее о ДНК и ее свойствах, факты, над которыми мы корпели, пытаясь

решить задачу, теперь обретали смысл в контексте изящных, комплементарных друг другу завитков. Важнее всего оказалось то, что предложенная структура молекулы сразу же давала ключ к разгадкам двух биологических тайн: как хранится и как реплицируется генетическая информация? Однако, когда мы с Криком, как обычно, зашли на обед в паб «Игл» и Крик стал заверять, что нами открыта «тайна жизни», мне это показалось несколько нескромным, особенно в Англии, где нарочитая скромность считается нормой. В дальнейшем оказалось, что Крик был прав. Наше открытие завершило спор, древний, как само человечество: обладает ли жизнь какой-то магической, мистической сущностью либо она напоминает самую обычную химическую реакцию, которую можно воспроизвести в лаборатории и которая выглядит как результат физических или химических процессов? Есть ли в недрах клетки нечто божественное, наполняющее ее жизнью? Открытие двойной спирали ДНК позволило ответить на этот вопрос – однозначно нет.

Дарвиновская теория эволюции, показавшая, насколько взаимосвязаны все живые организмы, была огромным достижением на пути к пониманию окружающего мира в материалистическом, то есть физико-химическом, контексте. Прорывные открытия биологов Теодора Шванна и Луи Пастера, сделанные во второй половине XIX века, также стали важными шагами вперед. В гниющем мясе не происходит самозарождения личинок мух; эти личинки появляются в результате деятельности вполне известных и изученных биологических агентов и развития ранее известных процессов. В данном случае мухи просто откладывают яйца в мясо. Идея самозарождения жизни была развенчана.

Несмотря на достижения в области молекулярной биологии, сохранялись различные формы витализма – убеждений, что одних физико-химических явлений недостаточно, чтобы объяснить жизнь и биологические процессы. Ряд биологов не спешили признавать естественный отбор единственным двигателем эволюционного развития и пытались объяснить адаптацию некой всевидящей духовной силой, которую и сами при этом определяли весьма туманно. Физики, привыкшие иметь дело с миром четких физических законов и явлений, терялись перед запутанной сложностью биологии. На тот момент они, возможно, полагали, что процессы, происходящие в глубинах клетки и управляющие основами жизни, выходят за рамки привычных законов физики и химии.

Вот почему открытие двойной спирали ДНК было так важно. Это означало революцию в материалистических представлениях о клетке, которую по значимости можно было сравнить с преобразованиями эпохи

Просвещения. Интеллектуальное путешествие в науку, начавшееся с Коперника, свергнувшего человека с его центрального места во Вселенной, и продолжившееся дарвиновским утверждением, что люди – просто видоизменившиеся мартышки, привело нас к самой сути жизни: двойная спираль – это обычное химическое соединение, несмотря на сложность ее строения и тонкость организации.

Мы с Криком быстро осознали интеллектуальную значимость нашего открытия, но даже не могли предположить, какое влияние двойная спираль окажет на науку и общество. В изящных кривых этой молекулы таился ключ к молекулярной биологии – новой науке, которая достигла ошеломительного прогресса за следующие 64 года. Она не просто разродилась многочисленными поразительными откровениями о фундаментальных биологических процессах, но и радикально изменила медицину, сельское хозяйство и право. Ныне ДНК интересует не только ученых-теоретиков, скрывающихся в полутемных университетских лабораториях, – она влияет на каждого из членов социума.

К середине 1960-х годов исследователями уже были проработаны базовые принципы функционирования клетки, и нам уже было известно, каким образом четырехбуквенный алфавит последовательностей ДНК на уровне «генетического кода» транслируется в двадцатибуквенный алфавит белков. Дальнейший прорыв молекулярной биологии произошел в 1970-е годы прошлого века, когда появились новые методы изучения ДНК и считывания пар последовательностей ее оснований. Уже минули времена, когда приходилось лишь наблюдать за природой со стороны и довольствоваться только созерцанием, появилась возможность непосредственно анализировать ДНК живых организмов и изучать базовый сценарий жизни. Для науки это было открытием новых экстраординарных перспектив: исследователям наконец-то удалось подступить к лечению генетически детерминированных болезней – от муковисцидоза до рака; совершить революцию в уголовном праве, применяя генетическую дактилоскопию. Ученые смогли коренным образом пересмотреть наши взгляды на происхождение человека – кто мы, откуда мы пришли, – заглянув в далекое прошлое благодаря исследованию ДНК останков человека и животных. Кроме того, удалось модифицировать важнейшие хозяйственно ценные виды с такой эффективностью, о которой прежде можно было только мечтать.

Апогея первый полувековой период генетической революции, произошедшей благодаря изучению ДНК, достиг в понедельник, 26 июня 2000 года, когда президент США Билл Клинтон объявил о завершении

чернового секвенирования человеческого генома: «Сегодня мы изучаем язык, посредством которого Бог создал жизнь... Вооружившись этими глубокими новыми знаниями, человечество готовится обрести безграничные и совершенно новые возможности врачевания». Когда был реализован проект «Геном человека», молекулярная биология вступила в период зрелости – превратилась в «науку с большой буквы» с серьезным финансированием и серьезными практическими результатами. Изучение и внедрение достижений молекулярной биологии стало не только выдающимся технологическим достижением, поскольку объем информации, извлекаемый из полного хромосомного набора человека (двадцать три пары), просто ошеломляет, но и знаковым событием на нашем пути к полноценному осознанию того, что же такое «быть человеком». Именно наша ДНК отличает нас от других видов, превращает нас в творческих, сознающих, властных или деструктивных существ, каковыми мы и являемся. Проект «Геном человека» позволил полностью прочесть молекулу ДНК – «свод законов» по генетическому устройству человека.

Так вот, с того субботнего утра в Кембридже исследования ДНК ушли очень далеко. Несомненным осталось понимание того, что наука под названием «молекулярная биология», описывающая строение и роль ДНК, находится еще начале пути. Пока не побежден рак; предстоит разработать и внедрить эффективные методы лечения генетических болезней, да и возможности геной инженерии по улучшению питания всего населения Земли реализованы далеко не в полной мере. Безусловно, все озвученные нами задачи будут со временем достигнуты. Первые 60 лет генетической революции, связанные с ДНК, уже изобилуют примечательными научными достижениями; эти достижения уже начинают применяться на практике для решения стоящих перед человечеством проблем. В будущем предстоит увидеть еще массу реализованных научных достижений, но магистральный путь развития заключается в усилении роли ДНК и открытий в области молекулярной биологии в жизни каждого из нас.



Ключ к триумфу Менделя. Генетическая изменчивость у гороха

Глава 1

Зарождение генетики: от Менделя до Гитлера

Моя мама Бонни Джин верила в гены. Она гордилась шотландским происхождением своего отца Лафлина Митчелла и усматривала в нем истинно шотландские добродетели: честность, трудолюбие и бережливость (хотя анализ ее родословной по ДНК, проведенный более чем 100 лет спустя, показал, что на самом деле она наполовину ирландка). Мама также обладала вышеупомянутыми мной качествами и не сомневалась в том, что получила их исключительно от отца. Его смерть была безвременной, и единственным сохранившимся у нее негенетическим наследием отца был набор маленьких девичьих килтов, которые он заказал для нее в Глазго. По моему мнению, неудивительно, что моя мать гораздо больше ценила биологическое наследие отца, нежели материальное.

Взрослея, я постоянно спорил с мамой о том, в каком соотношении вносят вклад в формирование человека как врожденные качества, так и воспитание. Отдавая приоритет воспитанию над природой, на тот момент я фактически подписывался под убеждением, что мог бы сам сформировать себя таким, каким душе угодно. В тот момент я не мог знать о роли генов, предпочитая думать, что бабушка по линии Уотсонов такая тучная лишь потому, что переедает. Ведь если тучность фигуры возникла у нее по генетическим причинам, то и я вполне мог обрюзгнуть в будущем. При этом, уже будучи подростком, я не отрицал очевидной роли наследственности, считая, что подобное порождает подобное. В наших с мамой спорах мы обсуждали сложные личностные качества, передающиеся по наследству, а не простые признаки, которые, с моей точки зрения (поскольку я был упрямым подростком), могли бы передаваться из поколения в поколение, формируя «семейное» сходство: я унаследовал нос от своей мамы, впоследствии такой же нос унаследовал мой сын Дункан.

Некоторые признаки формируются и исчезают всего за несколько поколений, а некоторые сохраняются из поколения в поколение. Одним из таких наиболее известных примеров является так называемая Габсбургская губа. Характерная продолговатая челюсть и выпяченная нижняя губа превратили европейских правителей из династии Габсбургов в настоящий кошмар для многих поколений придворных художников, которым

приходилось их изображать. Габсбургская губа отлично сохранялась на протяжении как минимум двадцати трех поколений членов Габсбургской фамилии.



Мне одиннадцать. На этом снимке моя сестра Элизабет и мой отец Джеймс

Династия Габсбургов усугубила свои генетические проблемы, перероднившись друг с другом, то есть вступая в близкородственные браки. Не вызывает сомнения, что браки между представителями различных ветвей клана Габсбургов, зачастую между близкими родственниками, были оправданны с политической точки зрения как средство для заключения альянсов и сохранения династии, но с генетической точки зрения это было совершенно неблагоприятно. Подобное «близкородственное кровосмешение» вызывает генетические болезни, которые Габсбургам пришлось испытать из поколения в поколение: так Карл II, последний король Испании и представитель династии Габсбургов, не просто имел фамильную губу, но даже не мог толком пережевывать пищу, был инвалидом и не оставил потомства, хотя два раза был женат.

Мы знаем, что генетические болезни издавна преследуют человечество. В некоторых случаях, как в приведенном здесь примере с Карлом II, они оказали непосредственное влияние на историю Европы. Другим историческим примером является Георг III – английский король,

прославившийся в первую очередь тем, что именно в годы его правления Англия потеряла американские колонии в результате войны за независимость. Георг III страдал порфирией, наследственным заболеванием, из-за которого у него временами случались приступы безумия. По мнению многих историков, преимущественно британских, именно всеобщее раздражение болезнью Георга III обеспечило американцам победу при безнадежном для них тактическом и численном раскладе. Конечно, большинство наследственных болезней не имели таких серьезных геополитических последствий, но не менее жестоко и зачастую трагически уродовали жизнь целых пострадавших фамилий, иногда на много поколений вперед. Понимание генетических механизмов развития человека – это не осознание того, отчего мы похожи или не похожи на своих родителей. Понимание генетики помогает «узнать в лицо» некоторых древнейших врагов человечества, например ущербные гены, из-за которых возникают генетические заболевания.

Вполне вероятно, что наши предки должны были задумываться и, скорее всего, задумывались о наследственных механизмах передачи генетической информации с тех самых пор, как наш мозг развился в достаточной степени, чтобы правильно сформулировать подобный вопрос. Вполне очевидная закономерность, почему близкие родственники похожи друг на друга, может натолкнуть на далеко идущие выводы, если генетические открытия (как в случае наших предков) имеют сугубо прикладное значение, например помогают вывести более качественные породы скота (скажем, повысить надои) и сельскохозяйственные культуры (допустим, с более крупными плодами). Для достижения поставленной цели целые поколения растений и животных подвергались тщательной селекции. Сначала перспективный вид разводили только ради одомашнивания, а потом размножали приплод лишь от самых плодовых коров и саженцы от деревьев с самыми крупными плодами. Так были получены животные и растения, имеющие полезные для человека свойства и отвечающие его нуждам. В основе этих колоссальных проектов человека, письменных свидетельств о которых почти не осталось, лежало эмпирическое правило: самые плодовые коровы будут рожать исключительно плодовых телят, а из семян деревьев с крупными плодами будут вырастать столь же изобильные деревья. Несмотря на успехи генетики последнего столетия, необходимо констатировать, что генетические достижения у человечества встречались гораздо раньше и авторами генетических проектов являются безымянные древние земледельцы. Практически вся наша сегодняшняя пища – крупы, фрукты,

мясо, молочные продукты – это наследие тех древнейших и наиболее долговечных генетических манипуляций, при помощи которых человек решал встававшие перед ним проблемы. В 1905 году британский биолог Уильям Бэтсон окрестил науку о наследственности генетикой.

Понять сам принцип действия генетических механизмов оказалось не так-то просто. Грегор Мендель (1822–1884) опубликовал свою знаменитую работу на эту тему в 1866 году, но его статья оставалась без внимания научного сообщества на протяжении последующих 34 лет. Почему же так долго внимание научного мира не было обращено в сторону генетических механизмов наследственности? В конце концов, наследственность – важнейший аспект существования естественного мира, признаки, изменяющиеся в поколениях, легко наблюдать, и любой заводчик собак знает, что будет, если скрестить бурую и черную собаку; родители осознанно или неосознанно отыскивают свои черты у родных детей. Ответ на вопрос тривиален – генетические механизмы оказались очень сложными, а решение Менделем поставленной в статье задачи оказалось неочевидным, поскольку черты родителей не отражаются в детях произвольным образом. По всей видимости, крупнейший просчет, допущенный биологами в древности, заключался в неумении различать два принципиально разных процесса: наследственность и эволюционное развитие. На сегодняшний день становится понятным, что в оплодотворенной яйцеклетке содержится генетическая информация, полученная от обоих родителей, и именно данная информация определяет предрасположенность к наследственным заболеваниям, например порфирии. Мы говорим о факторах наследственности, и весь дальнейший процесс от развития новой особи из единственной клетки – это реализация данной информации. С академической точки зрения предметом изучения генетики является информация, а предметом изучения биологии развития – использование этой информации для построения алгоритмов развития. Объединяя наследственность и развитие в единый научный феномен, древние ученые так и не сформулировали те ключевые вопросы, которые бы могли натолкнуть их на разгадку тайны наследственности. При этом мы должны констатировать, что такие работы велись с самого зарождения западной цивилизации.

Над проблемами наследственности размышляли древние греки, в частности Гиппократ. Ими была разработана теория пангенезиса, согласно которой при половом акте передаются миниатюрные копии частей тела: «волосы, ногти, вены, артерии, суставы и кости, передаваемые части настолько мелкие, что просто невидимы глазом человека». Эта теория

ненадолго возродилась, когда Чарльз Дарвин, безуспешно пытавшийся подкрепить свою теорию эволюции и естественного отбора жизнеспособной гипотезой о наследственности, сформулировал во второй половине XIX века доработанную версию пангенезиса. По Дарвину, каждый орган – глаза, почки, кости – порождает особые циркулирующие «геммулы», которые накапливались в половых органах и передавались при половом размножении. Дарвин предположил, что если геммулы образуются на протяжении всей жизни организма, то любые изменения в ходе развития особи, например удлинение шеи у жирафа, пытающегося дотянуться до самой верхушки кроны, могут передаваться из поколения в поколение. Весьма интересно сейчас выглядит тот факт, что Дарвин, занятый обоснованием теории естественного отбора, даже пытался защищать некоторые аспекты теории Жана-Батиста Ламарка, в основе которой лежало наследование приобретенных признаков. В будущем эта теория Ламарка была развенчана под влиянием эволюционных идей Дарвина. Последний считал, что движущей силой эволюции является естественный отбор, но одновременно предполагал, что механизм естественного отбора действует на уровне изменчивости, обусловленной пангенезисом. Если бы в то время Дарвин знал о работах Менделя, то он, вполне возможно, не ударился бы на закате своей жизни в некоторые ламаркистские идеи.

Итак, согласно теории пангенезиса, эмбрион «конструируется» из набора миниатюрных частей. Наряду с теорией пангенезиса существовала и иная гипотеза – «преформизм», в которой этап сборки эмбриона из частей вообще исключался. Согласно теории преформизма либо в яйцеклетке, либо в сперматозоиде (вопрос о том, где именно, оставался спорным) содержится полностью сформированный человек, именуемый «гомункулом». Соответственно, развитие сводилось к простому увеличению гомункула, из которого в дальнейшем вырастало полноценное существо. Во времена господства идей преформизма возникновение генетически предрасположенных заболеваний интерпретировались по-разному: как проявление Божьего гнева, вмешательство демонов или чертей или как свидетельство избытка или недостатка отцовского «семени». Порой генетические болезни увязывали с «греховными помыслами», которые позволяла себе будущая мать до и во время беременности. Например, считалось, что у плода могут быть пороки развития, если мать в период беременности подавляет свои чувства и испытывает фрустрацию. Наполеон во Франции даже пролоббировал закон, согласно которому беременным женщинам разрешались мелкие кражи в магазинах. Стоит ли говорить, что ни одно из этих убеждений не помогло

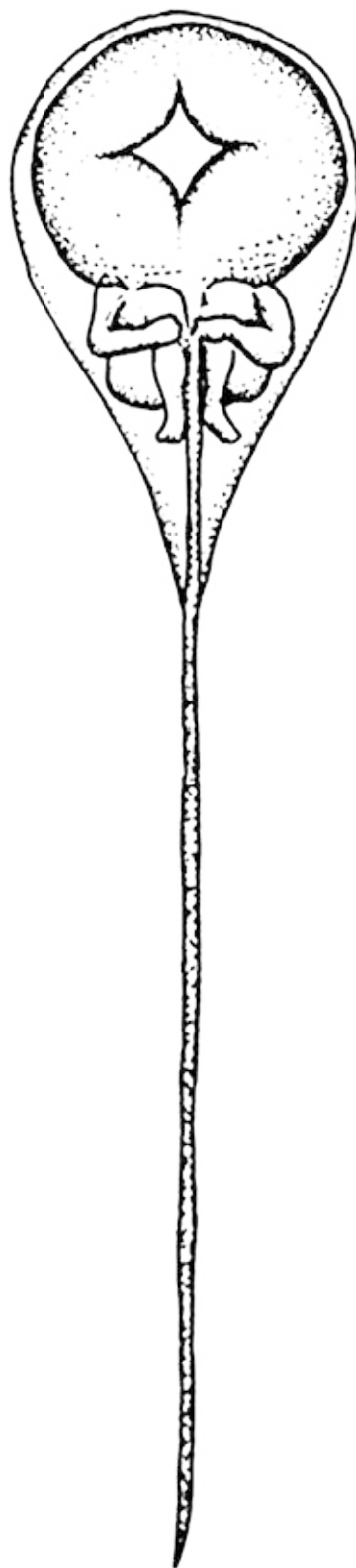
человечеству приблизиться к разгадке природы генетических болезней.

К началу XIX века с появлением качественных оптических микроскопов преформизм был развенчан. Как ни вглядывайся в окуляр микроскопа, ты не обнаружишь крошечного гомункула, свернувшегося в сперматозоиде или яйцеклетке. Однако пангенезис – более древнее заблуждение – продержался намного дольше, просто потому что визуализировать геммулы было гораздо сложнее. Тем не менее эта теория также была развенчана Августом Вейсманом, считавшим, что наследование зависит от непрерывной передачи зародышевой плазмы от поколения к поколению и, следовательно, изменения организма, приобретаемые в течение жизни особи, не могут передаваться последующим поколениям. Свою теорию он доказал простейшим опытом по удалению хвостов у нескольких поколений мышей. Согласно теории дарвиновского пангенезиса бесхвостые мыши должны распространять геммулы с особой характеристикой – бесхвостостью, и все потомки бесхвостых мышей тоже должны быть бесхвостыми или иметь куцые хвосты, однако у мышей с удаленными хвостами из поколения в поколение рождались хвостатые мышата. Так опыт Вейсмана окончательно развенчал теорию пангенезиса.

Разобраться во всем этом многообразии теорий и опытов впервые удалось Грегору Менделю, который в связи с происхождением имел небольшие шансы стать великим ученым. Мендель родился на территории нынешней Чехии в крестьянской семье, блестяще учился в сельской школе и в возрасте двадцати одного года ушел в монастырь августинцев в городе Брно. Потерпев полный крах на посту приходского священника, поскольку обязанности священнослужителя довели его до нервного срыва, он попробовал себя в учительстве. По всем историческим отзывам, Мендель оказался хорошим учителем, но, чтобы закрепить право преподавателя, Менделю необходимо было сдать квалификационный экзамен. Он завалил экзамен. Тогда настоятель того монастыря, где служил Мендель, аббат Напп, выдал ему рекомендацию для учебы в Венском университете. Став слушателем университета, Мендель без устали изучал науки, готовясь к переэкзаменовке. Несмотря на то что в Вене Мендель делал явные успехи в физике, с экзаменом он снова не справился и не смог подняться по карьерной лестнице выше внештатного преподавателя.

Около 1856 года по совету аббата Наппа Мендель взялся за научные эксперименты, связанные с наследственностью. Он решил изучить некоторые характеристики побегов гороха, который выращивал на собственной делянке в монастырском саду. В 1865 году он представил результаты своих исследований в виде двух лекций на собраниях местного

естественнонаучного общества, а год спустя опубликовал свои результаты в журнале этого общества. Работа Менделя оказалась настоящим научным шедевром: эксперименты были блестяще поставлены и кропотливо исполнены, а результаты получились весьма интересными для науки. По-видимому, миниатюрный Мендель смог совершить такой научный прорыв в том числе потому, что изучал физику; в отличие от других биологов того времени он взялся решать поставленную задачу в количественном аспекте. Он не просто отметил, что при скрещивании побегов с красными цветами и побегов с белыми цветами некоторые побеги следующего поколения имеют красные цветы, а другие – белые. Мендель предположил, что не менее важным может оказаться соотношение дочерних побегов с красными и с белыми цветами, и оказался прав. Несмотря на все очевидные достоинства работы Менделя, научное сообщество результаты его исследований полностью проигнорировало. Попытавшись привлечь внимание к своей работе путем публичных выступлений, Мендель получил обратный результат. Одним из известных ученых, с которым Мендель поддерживал знакомство, был ботаник Карл Негели из Мюнхена. К нему Мендель и обратился с просьбой повторить эксперименты, для чего также отправил Негели 160 аккуратно подписанных пакетиков с семенами. Попытка наладить научный диалог оказалась напрасной: Негели считал Менделя всего лишь монахом, недостойным проводить научные исследования, а потому отправил ему семена своего любимого растения, ястребинки, предложив ученому-монаху самому воспроизвести эксперимент на материале этого вида. Увы, по ряду причин ястребинка плохо подходила для экспериментов по скрещиванию, которые Мендель ставил с горохом. Весь опыт оказался пустой тратой времени, и диалог ученых не состоялся.



Генетика до Менделя: гомункул – сформированный миниатюрный человек, якобы живущий в головке сперматозоида

Неприметное существование Менделя в качестве ученого-монаха резко изменилось в 1868 году, когда после смерти аббата Наппа его избрали настоятелем монастыря. Мендель не оставил исследований, хотя теперь он стал больше внимания уделять пчеловодству и метеорологии, управлению хозяйством монастыря, который оказался втянут в налоговую тягбу. Мендель располнел, ему стало тяжело проводить полевые исследования и, как писал он сам, «стало слишком тяжело взбираться на холм и преодолевать силу всемирного тяготения». В качестве средства от тучности врачи прописывали ему курить табак, он исправно их слушал, выкуривая по двадцать сигар в день, даже больше, чем Уинстон Черчилль. Однако погубило его не пристрастие к табаку: в 1884 году Мендель скончался в возрасте 61 года от проблем с сердцем и почками.

К сожалению, результаты работ Менделя безнадежно затерялись в заштатном естественнонаучном журнале, кроме того, важность его открытий большинство ученых того периода даже не способны были осмыслить и оценить по достоинству. Мендель на много лет опередил свое время, проделав тщательные эксперименты и проведя изощренный количественный анализ. Не стоит удивляться, что научное сообщество дозрело до работ Менделя лишь к 1900 году. Тогда исследования Менделя были заново повторены, что и произвело революцию в биологии, и научный мир оценил ценность «монашеского гороха».

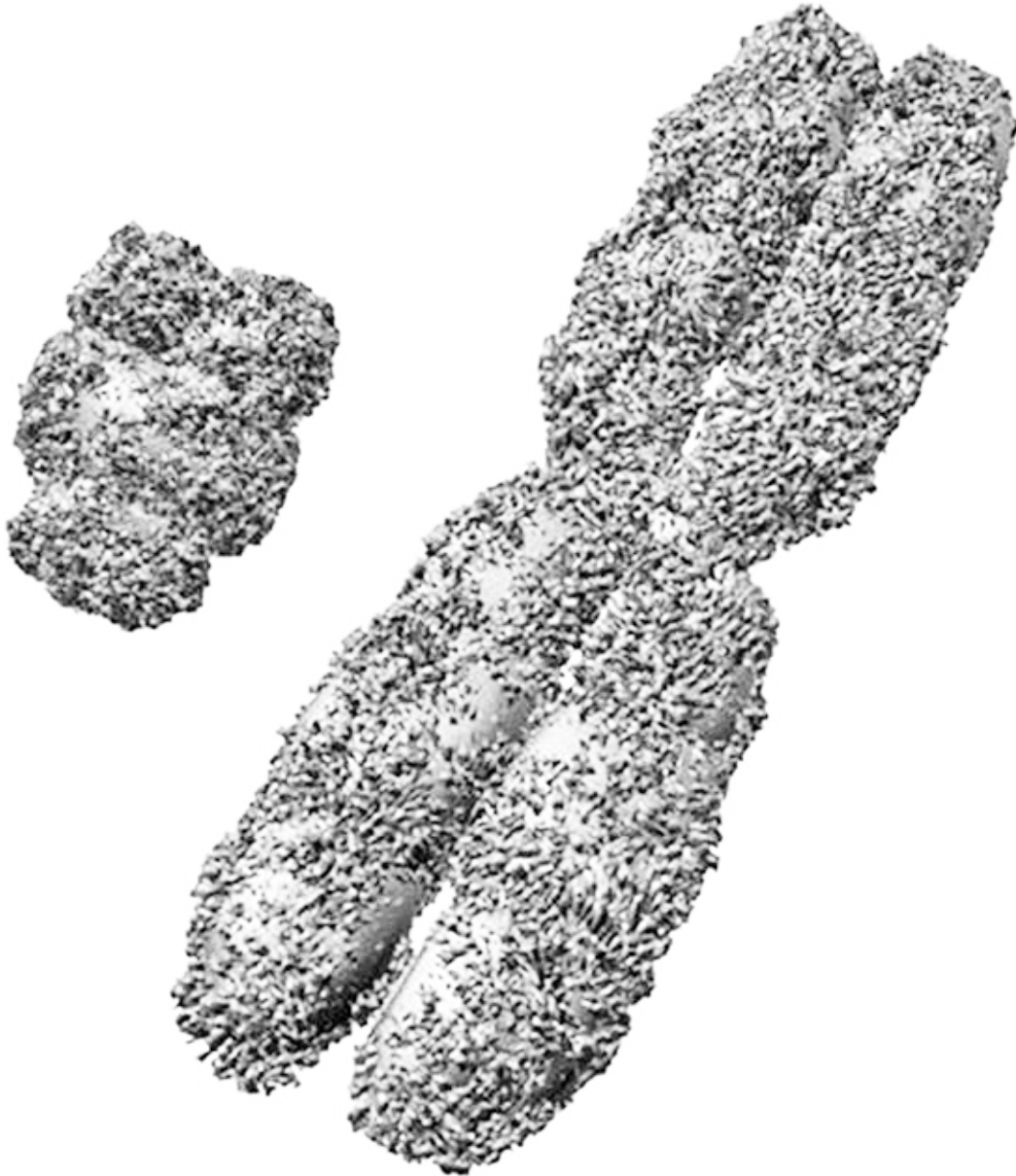
Мендель безусловно осознал, что существуют особые факторы, позже названные генами, которые передаются от родителей к потомству. Он выяснил, что эти факторы передаются попарно и потомок получает по одному от каждого из родителей.

Заметив, что горох бывает двух цветов – желтый («Ж») и зеленый («З»), – Мендель предположил, что существуют две разновидности генов, кодирующих цвет гороха. Если горох получит по две копии гена «З» (зеленый цвет), то он станет зеленым, и можно будет обозначить ген, отвечающий за его цвет, как «ЗЗ». Следовательно, горох должен получить от обоих родительских растений по экземпляру цветового гена «З». Однако желтые горошины бывают у растений с комбинациями генов «ЖЖ» либо «ЖЗ». Растению достаточно иметь всего одну копию гена «Ж», и у него уже могут быть желтые горошины: таким образом, признак «Ж» доминирует над «З». Поскольку в случае «ЖЗ» цвет плодов «Ж» оказывается преобладающим над «З», то ген «Ж» стали называть доминантным, а вариант гена, кодирующего цвет гороха «З», стал называться рецессивным.

У каждого родительского растения – в нашем случае гороха – имеется

по две копии гена, кодирующего цвет, при этом родитель отдает потомку только одну копию гена; вторую копию предоставляет второй родитель. В пыльце растений содержатся клетки-спермии, мужские гаметы, передаваемые следующему поколению, а в каждой спермии находится всего одна копия гена, кодирующего цвет плодов гороха. Родительский экземпляр гороха с генетической комбинацией «ЖЗ» даст спермии, в которых будет содержаться либо ген «Ж», либо ген «З». Мендель открыл, что вышеописанный процесс происходит методом случайной выборки: в половине спермиев такого растения будет находиться ген «Ж», а в другой половине – ген «З».

Анализ результатов исследования Менделя прояснил некоторые ранее не разгаданные тайны наследственности. Выяснилось, что такие наследственные признаки, как Габсбургская губа, которые с вероятностью 50 % передаются из поколения в поколение, являются доминантными. Другие признаки, встречающиеся на родословном древе спорадически, зачастую через целые поколения, – скорее всего рецессивные. Если ген рецессивный, то у особи должно быть целых две копии этого гена – только в таком случае признак будет у потомка. Потомки, имеющие одну копию рецессивного гена, являются только его носителями; сами они рецессивным признаком не обладают, зато могут передать его потомкам. Например, альбинизм – это гомеостатическое нарушение, при котором в организме не образуется кожных пигментов, из-за чего кожа и волосы становятся неестественно белесыми. Наличие гена альбинизма – пример рецессивного признака, передающегося вышеописанным образом. Следовательно, вы станете альбиносом, если получите две копии соответствующего гена: по одной копии от каждого из родителей. Именно так и произошло у преподобного доктора Уильяма Арчибалда Спунера, который к тому же, возможно по совпадению, страдал от необычного речевого расстройства, из-за которого мог случайно переставить буквы во фразе. Так, желая сказать «well-oiled bycycle» (хорошо смазанный велосипед), он мог оговориться и произнести «well-boiled icicle» (хорошо вскипяченная сосулька). В его честь такие оговорки называли спунеризмами. Возможно, ваши родители тоже могли обладать одним таким геном, хотя это и не проявилось фенотипически.



Узелки счастья: объемные изображения половых хромосом человека: X (справа) и Y (слева). Изображения сделаны на основе микрофотографий, полученных при помощи сканирующего электронного микроскопа

Выводы Менделя подразумевали, что от поколения к поколению организму передаются некие материальные признаки. Но что же они представляли?

В 1884 году, после смерти Менделя, ученые стали пристально изучать миниатюрные внутриклеточные структуры, такая возможность появилась благодаря постоянному совершенствованию оптики микроскопов. Именно тогда возник термин «хромосома», которым ученые стали именовать

продолговатые нитевидные тельца в ядре клетки. Таким образом, только в 1902 году удалось найти связь между хромосомами и теорией Менделя.

Уолтер Саттон, получивший образование на медицинском факультете Колумбийского университета, осознал, что хромосомы во многом напоминают таинственные «менделевские факторы». Изучая хромосомы кузнечиков, Саттон заметил, что эти тельца, как правило, встречаются попарно – точно так же, как парные факторы Менделя. При этом Саттон отметил существование других клеток, в которых хромосомы были непарными, это были половые клетки. В сперматозоидах кузнечика был выявлен одиночный, а не двойной набор хромосом. Именно это описывал в своих опытах с горохом Мендель: в спермиях гороха также содержалось всего по одной копии каждого из наследственных факторов. Стало очевидно, что факторы Менделя, ныне именуемые генами, должны находиться в хромосомах.

Немецкий ученый Теодор Бовери независимо от Саттона пришел к аналогичным выводам, а биологическая революция, предвосхищенная работами Уолтера Саттона и Теодора Бовери, стала называться «Хромосомная теория наследственности Саттона – Бовери». Дальнейшие исследования показали, что гены реальны. Они находятся в хромосомах, а хромосомы можно рассмотреть в световой микроскоп.



Не все исследователи приняли теорию Саттона – Бовери. В числе скептиков был Томас Хант Морган, ученый из Колумбийского университета. Рассматривая в микроскоп нитевидные хромосомы, он не понимал, как с их помощью можно объяснить изменения, передаваемые из поколения в поколение. Если все гены расположены в хромосомах, а хромосомы передаются из поколения в поколение целыми и невредимыми, то, по мнению Моргана, большинство признаков должны наследоваться вместе. На практике эти данные не подтверждались; по-видимому, только одной хромосомной теории было недостаточно, чтобы объяснить

изменчивость, наблюдаемую в природе. Однако Морган, по натуре искусный экспериментатор, догадывался, как можно было бы разрешить научные противоречия. Он решил в качестве объекта исследования использовать плодовых мушек буро-серого цвета *Drosophila melanogaster*, которых генетики особенно полюбили со времен Моргана. Дрозофил легко найти в природе (это известно каждому, кто оставлял летом без присмотра гроздь перезревших бананов или других фруктов). Дрозофил легко выращивать (они кормятся бананами), сотни мушек вполне размещаются в маленькой молочной бутылке (для проведения своих экспериментов студенты Моргана без труда добывали молочные бутылки, прихватывая их поутру у входов в дома в манхэттенских кварталах). Кроме того, дрозофила быстро размножается: одно поколение дрозофил сменяется другим за десять дней, а каждая самка *Drosophila melanogaster* откладывает несколько сотен яиц. Морган приступил к научной работе в 1907 году, обосновавшись в грязной, кишевшей тараканами и пропахшей бананами лаборатории, которая впоследствии получила известность под названием «мушинная комната». Здесь Морган со своими учениками (прозванными «моргановскими мальчиками») взялся исследовать дрозофил.



В отличие от Менделя, в распоряжении которого были обладавшие характерной изменчивостью сорта гороха, выведенные в течение долгих веков крестьянами и садоводами, растения с желтыми либо зелеными горошинами или растения с гладкими либо морщинистыми семенами, Морган не мог отталкиваться от какой-либо заранее известной фенотипической «карты» генетических различий, присущих дрозофилам. А поскольку генетикой невозможно заниматься, пока не выделишь определенные четкие характеристики, которые затем можно было бы проследивать из поколения в поколение, то первым делом Моргану требовалось найти среди дрозофил «мутантов», то есть таких мушек, которые выделялись бы в популяции аналогично желтым или

морщинистым горошинам. Он выискивал генетические «новинки» – случайные изменения, возникавшие в популяции спорадически.



Не любящий фотографироваться Морган был запечатлен во время работы в мушиной комнате в Колумбии

Один из первых мутантов, обнаруженных Морганом, оказался самым познавательным. У обычных мушек были красные глаза, а у мутантных мух – белые. Также Морган обнаружил, что белоглазые дрозофилы преимущественно являются самцами. На тот момент развития науки уже было известно, что пол плодовой мушки или, применительно к человеку, пол человека определяется на уровне хромосом: самка имеет две X-хромосомы, а самец – одну X-хромосому и одну меньшую по размерам Y-хромосому. Исходя из полученных данных, белоглазость дрозофил

оказалась легко объяснима: ген, отвечающий за цвет глаз, находится в X-хромосоме, а мутация, дающая белый цвет глаз (W), является рецессивной. Поскольку у самцов всего одна X-хромосома, у них автоматически экспрессируются только рецессивные гены, при этом доминантные гены, способные подавить рецессивные, у самцов отсутствуют. Белоглазые самки встречаются сравнительно редко, а поскольку у самок всего одна копия гена W, то, как правило, глаза самок приобретают доминантный красный цвет. Соотнеся ген, отвечающий за красный цвет глаз, с хромосомой X, Морган фактически доказал теорию Саттона – Бовери. В случае с наследованием белого цвета глаз Морган обнаружил пример наследования, сцепленного с полом. Данный феномен вызывает непропорционально частое проявление некоторого признака у представителей одного из двух полов.

Известным примером наследования, сцепленного с полом, является королева Англии Виктория и члены ее семьи. В одной из ее X-хромосом оказался мутантный ген гемофилии. Поскольку вторая копия X-хромосомы у нее была нормальной, а ген гемофилии является рецессивным, сама Виктория гемофилией не болела, хотя была ее носительницей. Дочери королевы Виктории также не болели гемофилией: очевидно, у каждой дочери была по меньшей мере одна копия нормального гена. Но сыновьям Виктории повезло значительно меньше. Как и у всех мужчин, у них была всего одна X-хромосома, по определению полученная от королевы Виктории (Y-хромосома могла прийти только от принца Альберта, супруга королевы). Поскольку у Виктории была одна мутантная и одна нормальная копия гена, каждый из ее сыновей с вероятностью 50/50 рисковал получить гемофилию. Так, у принца Леопольда развилась гемофилия, и он умер в тридцатилетнем возрасте от кровотечения, случившегося от легкого падения. Как минимум две дочери Виктории, принцессы Алиса и Беатриса, были носительницами гемофилии. Они унаследовали от матери – королевы Виктории мутантный ген. У обеих принцесс родились дочери-носительницы и сыновья, больные гемофилией. Внук Алисы Алексей, русский цесаревич, страдал гемофилией и, несомненно, умер бы в молодости, если бы не был расстрелян большевиками.

Плодовые мушки Моргана помогли разгадать и иные секреты генетики. Изучая гены, расположенные в одной и той же хромосоме, Морган и его ученики обнаружили, что хромосомы, как оказалось, делятся на части и заново формируются при образовании сперматозоидов и яйцеклеток. Таким образом, исходные претензии Моргана к теории Саттона – Бовери оказались неоправданными: такой процесс распада и

переформирования, именуемый в современной генетической терминологии словом «кроссинговер», обеспечивает перемешивание копий генов между парными хромосомами. Например, та копия 12-й хромосомы, которую я получил от матери (другую копию я, естественно, получил от отца), фактически содержит смесь генов из всей 12-й хромосомы матери, часть которых она получила от моего деда, а часть – от моей бабушки. Две копии 12-й хромосомы моей бабушки обменялись генетическим материалом при формировании яйцеклетки, из которой вырос я – автор этой книги. Следовательно, 12-я хромосома, полученная мною от матери, представляет комбинацию из 12-х хромосом бабушки и дедушки. Естественно, 12-я хромосома моей матери содержала комбинацию генов от ее бабушки и дедушки и так далее из поколения в поколение.

Благодаря кроссинговеру Моргану с учениками удалось картировать положения конкретных генов в каждой рассматриваемой хромосоме. Кроссинговер – процесс взаимного обмена гомологичными участками хромосом в результате разрыва и соединения в новом порядке их нитей хроматид, приводящий к новым комбинациям аллелей разных генов. Используя образное сравнение, гены нанизаны на хромосоме, как бусинки на ниточке, и разрыв хромосомы статистически гораздо чаще происходит между такими генами, которые сильно удалены друг от друга, поскольку именно между удаленными генами больше потенциальных точек разрыва, чем между близко расположенными генами. Следовательно, если наблюдаются разнообразные варианты взаимного расположения двух генов в одной и той же хромосоме, можно сделать вывод, что эти гены находятся далеко друг от друга; если перестановки двух генов случаются реже, это значит, что гены расположены близко друг к другу. На этом простом, но важном принципе основано современное генетическое картирование, при котором происходит определение взаимного расположения различных полиморфных участков генома, например молекулярно-генетических маркеров по частоте рекомбинаций между ними в процессе передачи генетического материала из поколения в поколение. Трудно даже предположить, что генетическое картирование, используемое при реализации проекта «Геном человека», метод исследователей, стоящих в авангарде изучения природы наследственных заболеваний, был разработан в грязной и тесной «мушиной комнате» в Колумбийском университете. Сегодня, когда в научных разделах газет то и дело встречаются заголовки из разряда «Найден ген...», мы понимаем, что все это является результатом первопроходческой работы, проделанной Морганом и его учениками.

Триумфальное возвращение в науку работ Менделя и последовавшие

за ним научные открытия вызвали взрыв интереса к социальной значимости генетики. Пока на протяжении XVIII и XIX веков ученые пытались разобраться в особенностях реализации наследственных механизмов, в некоторых государствах и отдельных малочисленных слоях общества сформировалась некая социальная озабоченность по поводу наследственного здоровья человека и путей его улучшения, о методах влияния на наследственные качества будущих поколений с целью их совершенствования. На сегодняшний день продолжаются споры о необходимости социальных и политических мероприятий, направленных на улучшение наследственных характеристик человеческих популяций.

После публикации книги Дарвина «*О происхождении видов*» в 1859 году такие проблемы стали особенно актуальны. Хотя Дарвин воздерживался от упоминания и анализа путей человеческой эволюции, опасаясь «подливать масла в огонь» уже бушевавших в обществе противоречий, не нужно быть провидцем, чтобы не понимать возможности применения к людям идеи естественного отбора рядом научных работников. С одной стороны, естественный отбор – сила, определяющая судьбу всех генетических изменений в природе. С другой стороны – это и мутации, которые обнаружил Морган в гене дрозофил, отвечающем за цвет глаз, и, вполне возможно, неравные способности к социализации.

В природе популяции организмов обладают мощным репродуктивным потенциалом. Возьмем, к примеру, плодовых мушек, поколение которых сменяется всего за десять дней, а каждая самка откладывает примерно три сотни яиц (причем из половины яиц вылупятся самки). Если взять всего пару плодовых мушек, то через месяц (спустя три поколения) будет $150 \times 150 \times 150$ плодовых мушек – более трех миллионов особей, и все они будут происходить от всего одной пары, которая начала размножаться всего месяц назад. Дарвин пояснил этот момент, выбрав вид с противоположного конца репродуктивного спектра:

Слон плодится медленнее всех известных животных, и я попытался вычислить минимальные размеры его размножения. Он начинает плодиться, всего вероятнее, не ранее тридцатилетнего возраста и до девяноста лет приносит шесть детенышей; допустив эти цифры, получим, что спустя пять столетий от первой пары слонов произошло бы пятнадцать миллионов живых потомков.

Проведенные расчеты показывают, что большинство новорожденных

плодовых мушек и слонят благополучно достигают зрелости. Таким образом, теоретически требуется только бесконечный источник пищи и воды, поддерживающий репродуктивную пирамиду. Однако на практике такое не происходит: пищевые ресурсы ограничены, выживают далеко не все плодовые мушки и слонята. Между различными особями в пределах вида также идет конкуренция за ресурсы. Возникает вопрос: от каких обстоятельств зависит, кто выйдет победителем из этой конкурентной борьбы? Дарвин отмечал, что в силу генетической изменчивости некоторые особи получают преимущество в борьбе за существование. Известный пример – эндемичная группа птиц, населяющая Галапагосские острова и остров Кокос (дарвиновские вьюрки). Особи, обладающие определенными признаками, скажем достаточно крупным клювом, который позволяет питаться наиболее изобильными семенами, имеют более высокие шансы на выживание. Поэтому такой выгодный вариант гена, обеспечивающий нужный размер клюва, передается следующему поколению. Таким образом, естественный отбор обогащает следующее поколение полезными мутациями, таким образом через определенное число поколений все особи приобретают некоторый полезный признак в виде размера и формы клюва.

Викторианцы экстраполировали ту же логику на людей. Они осмотрелись – и увиденное их встревожило. Достойные, нравственные, работающие представители привилегированных классов безнадежно проигрывали в воспроизводстве грязным, аморальным, ленивым выходцам из низов. Викторианцы предполагали, что такие достоинства, как порядочность, нравственность и трудолюбие, передаются в совокупности точно так же, как и пороки: непристойность, распутство, леность. Следовательно, такие признаки должны были наследоваться и, с точки зрения викторианцев, также были просто двумя вариантами дарвиновской генетической изменчивости. Если всякая чернь плодится эффективнее респектабельных господ, то в человеческой популяции должны накапливаться «плохие» гены. Наш вид обречен! Люди должны постепенно все сильнее развращаться, по мере того как будет все сильнее возрастать частотность «аморальных» генов.

Френсис Гальтон – английский исследователь, географ, антрополог и психолог, основатель дифференциальной психологии и психометрики, будучи младшим кузеном и другом Дарвина, обращал особое внимание на его научные труды. Книга Дарвина «О происхождении видов» вдохновила Френсиса Гальтона на своего рода «крестовый поход» в области социологии и генетики, что в итоге привело к катастрофическим последствиям. В «Происхождении видов» Гальтона заинтересовала глава

«Изменчивость у одомашненных животных». Вдохновленный прочитанным, он принялся за тщательное статистическое исследование изменчивости и наследственности у людей. Результаты своей работы Гальтон изложил в книге *«Наследственный гений» (Hereditary genius)*, в которой сделал вывод, что у человека выдающегося гораздо больше шансов иметь выдающегося сына, чем у человека рядового. В 1883 году, год спустя после смерти кузена, Гальтон окрестил новое течение «евгеникой».

Евгеника была лишь одним из многих увлечений разностороннего исследователя Гальтона: поклонники считали его энциклопедистом, недоброжелатели – дилетантом в науке. В действительности же круг вопросов, которым Гальтон посвящал свое время, был чрезвычайно широк. Он был очень эрудированным человеком, что позволило ему сделать серьезный вклад во многих областях науки, включая метеорологию (антициклон и первые общедоступные погодные карты), статистику (регрессия и корреляция), психологию (синестезия), биологию (природа и механизмы наследственности) и криминалистику (дактилоскопия). Он родился в 1822 году в состоятельной семье, и его образование – частично медицинское, частично математическое – превратилось в хронику обманутых ожиданий. Когда Гальтону было 22 года, умер его отец, и это событие освободило Френсиса от родительского диктата и одновременно обеспечило завидным наследством – молодой человек как следует воспользовался и первым, и вторым. Однако, прокутив целых шесть лет в режиме, как бы мы сказали сегодня, «мажора», Гальтон остепенился и стал одним из видных представителей викторианского истеблишмента. В течение почти двух лет, с 1850 по 1852 год, он путешествовал по Сирии, Египту и Судану, занимался научными исследованиями. Вернувшись, он написал и издал книгу «Рассказ исследователя тропической Южной Африки», которая вызвала значительный интерес в научных и общественных кругах.

В одной из своих экспедиций он обнаружил поразительный случай стеатопигии – так называется характерная анатомическая черта (огромные выпуклые ягодицы), которая часто встречается у живущих в этом регионе туземок из племени нама. Гальтон осознал, что природа одарила эту женщину «модной» в то время в Европе фигурой, и европейские кутюрье были вынуждены проявлять исключительную изобретательность, стоившую клиенткам весьма недешево, чтобы обеспечить своим клиенткам желаемый внешний вид.

Я полагаю себя ученым, и мне просто не терпелось

тщательно измерить ее формы; однако сделать это было непросто. Я не знал ни слова на языке готтентотов (так голландцы называют людей племени нама), поэтому никак не мог объяснить этой даме, к какой части ее тела собираюсь прикладывать рулетку; при этом мне так и не хватило духу попросить любезного хозяина-миссионера, чтобы он перевел даме мою просьбу. Потому я ощущал некую неловкость, таращась на округлости ее ягодиц, дар щедрой природы расе людей, который любой модельер со всеми его кринолинами и набивками мог бы в лучшем случае кое-как сымитировать. Предмет моего восхищения стояла под деревом и крутилась во все стороны, почти как стрелка компаса, – так обычно поступают все леди, желающие, чтобы ими полюбовались. Вдруг я взглянул на секстант, и меня осенило. Я зарисовал ее фигуру под разными углами – сверху, снизу, поперек, по диагонали, зафиксировав все особенности фигуры в виде контурных изображений, опасаясь допустить любую ошибку. Закончив с рисованием, я смело вытащил мерную ленту и измерил расстояние от того места, где стоял сам, до того места, где стояла она. Узнав таким образом и расстояние, и углы, я вычислил результаты при помощи тригонометрии и логарифмов.

Тяга к квантификации помогла Гальтону разработать многие фундаментальные принципы современной статистики. Кроме того, благодаря вычислениям он смог провести некоторые хитроумные наблюдения. Так, он проверил эффективность действия молитвы. Он счел, что если молитвы действуют, то те люди, за которых молятся больше всего, должны обладать определенным преимуществом. Для проверки гипотезы он изучил долголетие британских монархов. Он отметил, что каждое воскресенье во всех английских церквях все прихожане возносят совместную молитву за здоровье королевской семьи. По мнению Гальтона, уж монархи наверняка должны иметь необычайно крепкое здоровье по сравнению с простыми смертными, за которых перед богом просят только наши родные и близкие. Рассмотрев факты, Гальтон не обнаружил этому никаких статистических подтверждений. Фактически же молитва оказалась неэффективной: Гальтон выяснил, что в среднем монархи умирали в чуть более раннем возрасте, чем другие представители британской аристократии.



Гротескное изображение женщины из племени нама, XIX век

Родство с Дарвинами (общий прадед Чарльза и Френсиса, Эразм Дарвин, был одним из выдающихся интеллектуалов своего времени) и собственный высокий интеллектуальный уровень привели Гальтона к

мысли о непропорциональности рождения в некоторых семьях и родословных линиях знаменитых и успешных людей. В 1869 году он опубликовал работу, заложившую основу всех его идей: «Наследственность таланта, ее законы и последствия». В этой книге он пытался показать, что талант, как и простые генетические черты, подобные габсбургской губе, действительно прослеживается в родословных.

Замысел книги Гальтон характеризует следующим образом: «Теория наследственности таланта, хотя к ней обыкновенно относятся с недоверием, находила себе защитников и между прежними писателями, и между новейшими. Но я объявляю притязание на то, что я первый пытался разработать этот предмет статистически, пришел к таким результатам, которые могут быть выражены цифрами, и применил к изучению наследственности закон отклонения от средних величин». Он приводил в качестве примера целые династии судей. По его мнению, сын знаменитого судьи с высокой долей вероятности может стать судьей, хотя очевидно, что даже при полном отсутствии таланта сыну судьи могут помочь связи отца в большей степени, чем сыну крестьянина. Однако Гальтон не игнорировал эффект окружающей среды абсолютно, он впервые указал на дихотомию «природа и воспитание», ссылаясь на одного из главных персонажей романтической трагикомедии Уильяма Шекспира «Буря», Калибана, отъявленного злодея: «Нет, Калибана мне не приручить!.. Он прирожденный дьявол, и напрасны... Мои труды и мягкость обращения»^[2].

Результаты проведенного анализа, по мнению Гальтона, требовали дополнительных исследований и, как мы сейчас понимаем, не всегда были верны.

«Я совершенно не допускаю гипотезы, иногда высказываемой прямо, а еще чаще подразумеваемой преимущественно в рассказах, писанных для назидания детей, которая утверждает, будто бы все рождаются на свет почти одинаковыми и что единственными факторами, создающими различие между тем и другим мальчиком или тем и другим взрослым человеком, являются прилежание и нравственные усилия над собою. Я самым безусловным образом отвергаю предположение о природном равенстве между людьми».

Из приведенной мысли Гальтона вытекало следствие о возможности «оптимизировать» человеческую популяцию, расширяя репродуктивный потенциал одаренных личностей и ограничивая возможности для

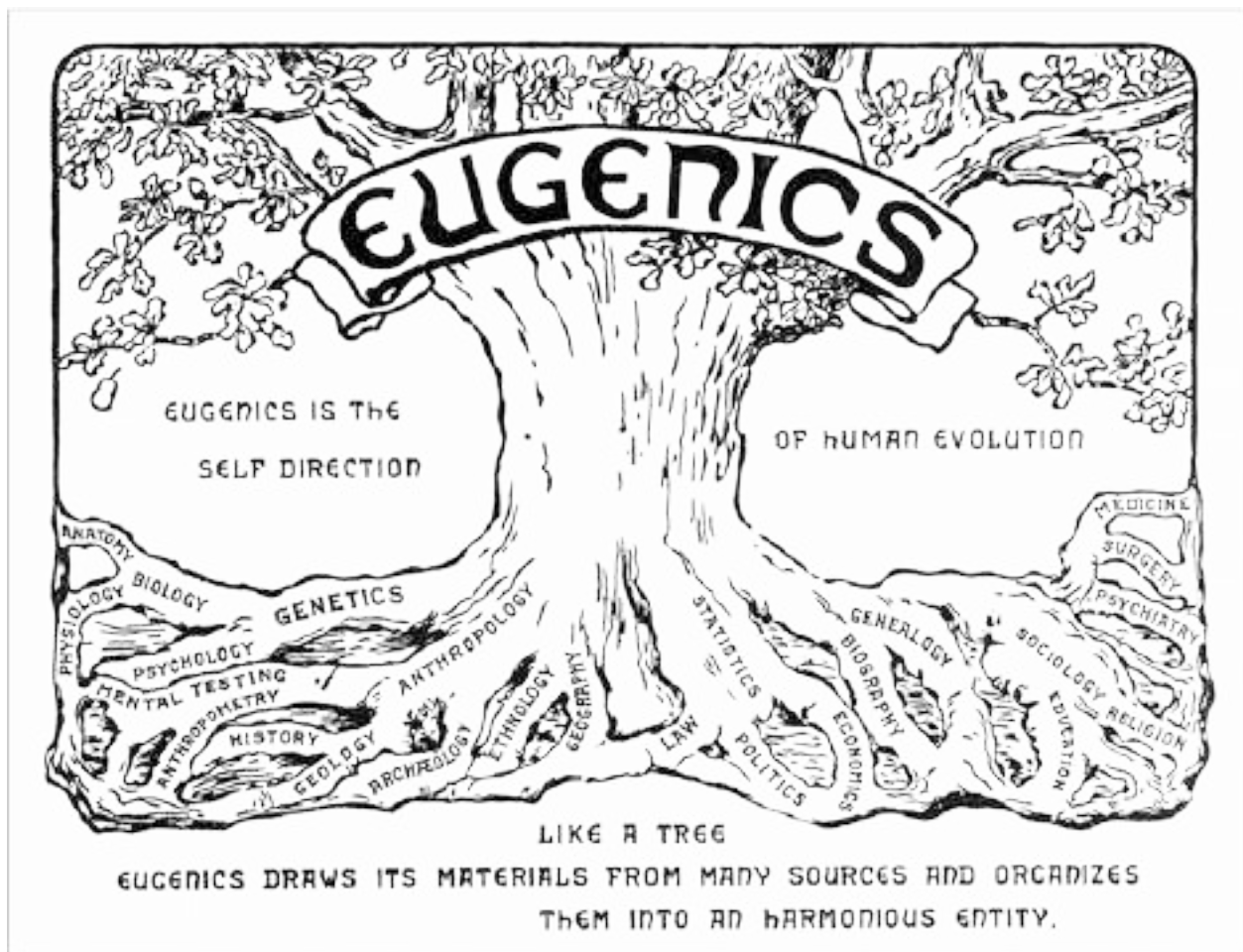
размножения менее одаренных представителей общества. Свои исследования по диагностике различий в психических качествах людей Гальтон использовал для обоснования идеи о необходимости отбора наиболее приспособленных членов социума. Он утверждал, что человеческий род можно улучшить таким же путем, каким выводится новая порода животных, за счет соответствующих браков в течение нескольких поколений.

Точно так же, как методами тщательной и умелой селекции в рамках естественных ограничений удастся получить стабильную породу собак или лошадей, обладающих особыми способностями к бегу или к чему-нибудь еще, представляется вполне возможным произвести высокоталантливую расу людей путем рассчитанных браков в течение нескольких последовательных поколений.

Гальтон ввел новый термин «евгеника» (что буквально означает «наука о рождении блага») для описания применения основного принципа сельскохозяйственного размножения для человека. Со временем последователи Гальтона стали называть евгенику «самонаправленной эволюцией человека»: последователи идей Гальтона считали, что, сознательно выбирая, кому можно иметь детей, они смогут остановить «евгенический кризис», родившийся в викторианском воображении под впечатлением от чрезмерной плодовитости непривилегированных слоев населения и от того, что семьи представителей благородных «средних» классов обычно невелики. Эта идея была антигуманной, хотя сам Гальтон поставил ее совсем не как социальную, но как важную медицинскую и психологическую проблему учета наследственных факторов в развитии индивида.

Сегодня слово «евгеника» запятнано идеями нацизма и расизма, и период расцвета евгеники, приходящийся на расцвет фашизма, является одним из самых неприятных и болезненных в истории генетики, хотя на рубеже XIX–XX веков у евгеники еще не было дурной репутации. В первой половине XX века идеи евгеники породили влиятельное научное и политическое движение, евгенические общества были созданы во многих странах. Многие общественные деятели усматривали в ней реальную возможность улучшить не только общество в целом, но и многих его представителей в отдельности. С особым энтузиазмом евгенику восприняли те, кого сегодня отнесли бы к либералам с левоцентристскими взглядами. Основные положения евгеники поддерживала группа

социалистов-фабианцев, к которым принадлежали некоторые наиболее прогрессивные мыслители той эпохи. Среди них был и Джордж Бернард Шоу, писавший: «Разум уже не разрешает нам отрицать, что ничего, кроме евгенической религии, не может уберечь нашу цивилизацию от судьбы, постигшей все прежние цивилизации». В тот период казалось, что евгеника позволяет решить одну из самых застарелых проблем в обществе: искоренить ту часть человечества, которую при других условиях можно лишь изолировать в специальных учреждениях.



Евгеника, как она была воспринята в первой половине XX века: возможность для людей контролировать собственную эволюционную судьбу

Гальтон и его последователи различали негативную и позитивную евгенику. Негативная евгеника предполагала лишение неполноценных граждан возможности продолжения рода и передачи по наследству «субнормальных» генов. Позитивная евгеника ставила своей задачей

обеспечить преимущества для воспроизводства наиболее физически или интеллектуально одаренных. Исторически в качестве основного объекта негативной евгеники рассматривались психические больные, наркоманы, больные сифилисом, уголовные преступники и т. д. В то время как сам Гальтон пропагандировал так называемую «позитивную евгенику», в рамках которой генетически благополучным людям рекомендовалось иметь детей, американское евгеническое движение в большей степени фокусировалось на «негативной евгенике», которая стремилась помешать размножению людей, генетически неполноценных с точки зрения последователей негативной евгеники.

Американское стремление избавиться от «недоброкачественных генов», повысить повторяемость «качественных генов» имело истоки в нескольких влиятельных исследованиях по проблемам семьи. «Вырождение» и «слабоумие» – два вычурных термина того времени – в полной мере характеризуют американскую одержимость проблемой генетического угасания вида. В 1875 году Ричард Дагдейл опубликовал личные впечатления о семейном клане Джюк из северной части штата Нью-Йорк. В той части штата, что прилегала к месту проживания семейства, само их имя «Джюк» стало ругательным. По мнению Ричарда Дагдейла, в этом семействе прослеживалось сразу несколько поколений убийц, алкоголиков и насильников.

Психолог Генри Годдард был одним из первых исследователей причин умственной отсталости. Он приводил доводы в пользу наследственного интеллекта и был защитником евгеники. В 1912 году Годдард опубликовал исследование, в котором описал «семейство Калликак». Это история о двух семейных родословных, восходящих по мужской линии к общему предку, у которого был незаконнорожденный ребенок (от связи со «слабоумной» барменшей, которую он повстречал в таверне, когда служил в американской армии в годы Войны за независимость), а также дети, рожденные в законном браке. Потомки от случайной связи мистера Калликака имели умственную отсталость, а потомки от законного брака были благопристойными и уважаемыми гражданами. С точки зрения Годдарда, этот «естественный эксперимент по изучению наследственности» мог явиться поучительной историей о том, что такое хорошо и что такое плохо с точки зрения семьи и социума. Точка зрения Годдарда была отражена даже в выдуманной фамилии, которую он дал этому семейству. Имя собственное «Калликак» составлено из двух греческих слов: *kalos* (хороший, благопристойный) и *kakos* (плохой).

Генри Годдард внедрил в жизнь американского общества тесты на

интеллект, позаимствовав их у француза Альфреда Бине. Новые методы проверки умственных способностей на первый взгляд подтверждали, что генетическая линия человеческого рода постепенно деградирует, однако при детальном рассмотрении результатов тестирования в методах определения индекса интеллекта обнаружились недостатки. На заре определения IQ, считалось, что высокий интеллект и пытливый ум неизбежно сочетаются со способностью усваивать большие объемы информации. Следовательно, набор знаний индивида расценивался как своеобразная совокупность интеллектуальных данных. В соответствии с такой логикой в первых тестах на интеллект было много вопросов на общую эрудицию. Вот несколько вопросов из стандартного теста, который проходили американские новобранцы в годы Первой мировой войны.

Выберите один из четырех вариантов

Виандот – это вид:

1) лошадей; 2) домашней птицы; 3) коров; 4) гранита.

В амперах измеряется:

1) сила ветра; 2) сила тока; 3) напор воды; 4) количество осадков.

Сколько ног у зулуса:

1) две; 2) четыре; 3) шесть; 4) восемь.

[Правильные ответы: 2, 2, 1.]

Примерно половина рекрутов «проваливали» такой тест и признавались «слабоумными». Такие результаты раскручивали евгеническое движение в США; равнодушным американцам казалось, что пул генов все сильнее наводняется генами «умственно неполноценных людей».

Большинство ученых того времени осознавали, что евгенические мероприятия в достаточной степени требуют понимания генетической подоплеки таких понятий, как слабоумие и умственная неполноценность. В свете заново проанализированных работ Менделя казалось, что такая подоплека действительно может иметь место. Первым начинанием такого рода стала работа, выполненная в Лонг-Айленде одним из моих предшественников, Чарльзом Девенпортом, проводившим исследования на станции экспериментальной эволюции в Колд-Спринг-Харборе.

В 1910 году Девенпорт получил финансирование от наследницы железнодорожного магната и основал собственную станцию экспериментальной эволюции в Колд-Спринг-Харборе. Задача организованной Девенпортом станции экспериментальной эволюции заключалась в сборе и анализе информации, генеалогических данных о генетике различных признаков: от эпилепсии до склонности к преступлениям. На протяжении десятилетий лаборатория в Колд-Спринг-Харборе была мозговым центром американского евгенического движения.

Миссия лаборатории в Колд-Спринг-Харборе (*Cold Spring Harbor Laboratory*), за годы ее существования изменилась, отойдя от принципов евгеники. В современном научном мире лаборатория стала позиционироваться как локомотив научных генетических исследований. В основу работы лаборатории положена прочная исследовательская база. Сегодняшние направления ее деятельности: исследования в области онкологии, нейробиологии, генетики растений, геномики и биоинформатики.

В своих действиях Чарльз Девенпорт всегда руководствовался основными положениями евгеники. Например, для проведения исследовательских работ он набирал только женщин, поскольку считал, что женщины наблюдательнее и коммуникабельнее мужчин. Придерживаясь ключевой цели евгеники – уменьшить количество «некачественных» генов и увеличить количество «качественных», – женщин он брал на работу не более чем на три года. По мнению Девенпорта, умные и образованные женщины, нанятые им на работу, обладали «качественными» генами, и такие представительницы общества были просто обязаны через три года создать семью и передать свои «качественные» гены, или, как говорил Девенпорт, свое «генетическое богатство», по наследству.

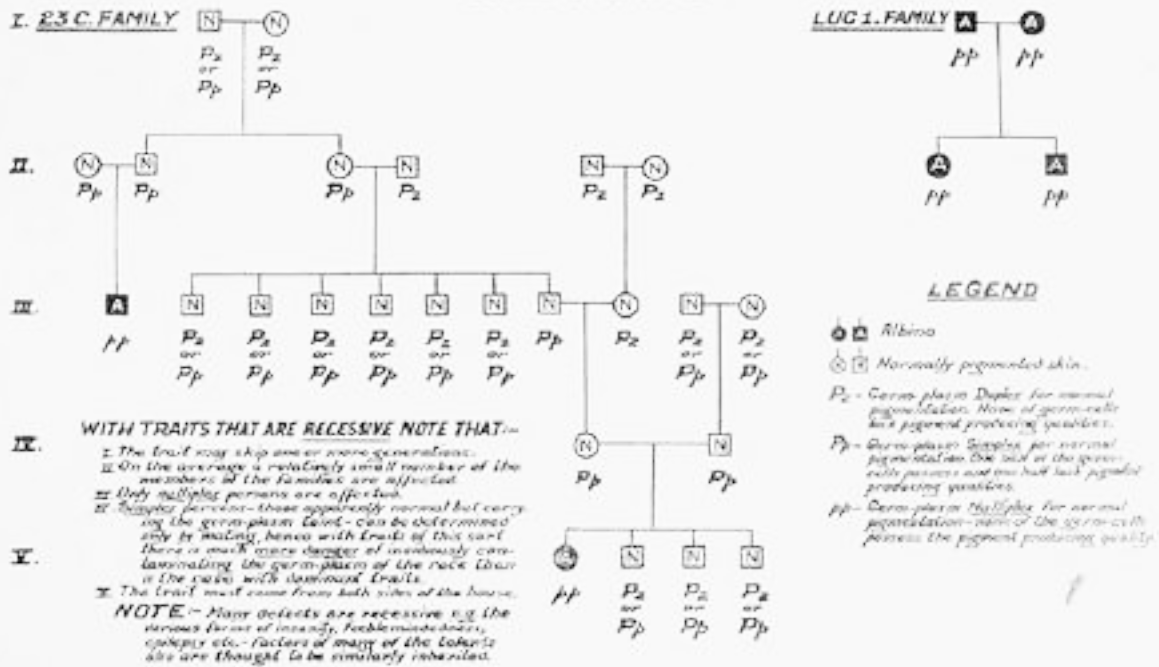


Штатные сотрудники станции экспериментальной эволюции в Колд-Спринг-Харборе. Чарльз Девенпорт в центре. Подбирая кадры, Чарльз Девенпорт руководствовался собственной мыслью о том, что женщины генетически предрасположены к сбору генеалогической информации

ACTUAL PEDIGREES OF ALBINISM

(THE 23 C. AND THE LUC 1. FAMILIES - DAVENPORT.)

ILLUSTRATING THE MANNER OF THE TRANSMISSION OF RECESSIVE TRAITS.

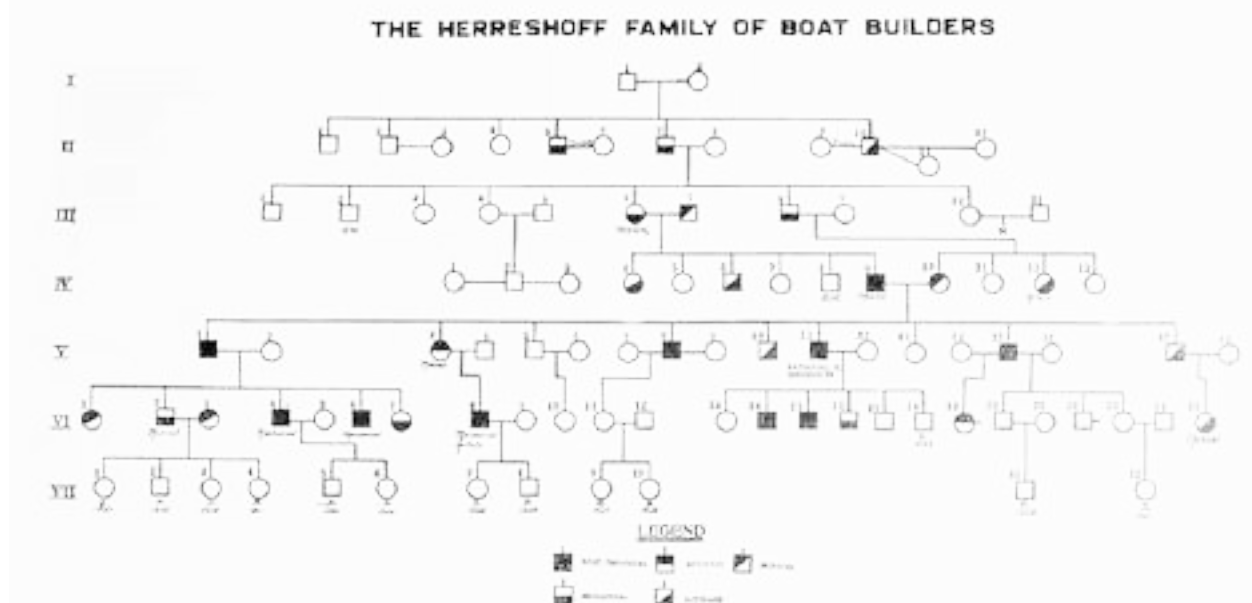


Адекватная генетика: генеалогическая схема Девенпорта, демонстрирующая, как наследуется альбинизм

Чарльз Девенпорт анализировал с менделевской точки зрения родословные тех членов общества, которые он сам выстраивал на основе человеческих признаков. Исходно Девенпорт интересовался лишь ограниченным набором черт, таких как альбинизм (рецессивный) и болезнь Хантингтона (доминантный), принципы наследования которых он знал наверняка. После первых успехов составления таких родословных он стал изучать генетические основы человеческого поведения. На первый взгляд, это было простой задачей. Девенпорту требовалось всего-то узнать генеалогию и некоторую информацию из семейной родословной (то есть выяснить, у кого из членов семьи в генетической линии проявлялась интересовавшая его характеристика), после чего он делал выводы о генетической детерминированности выявленного признака. Результатом его работы стала книга «Наследственность и ее связь с евгеникой», которая вышла в 1911 году. В качестве научной основы книги Девенпорт приводил биографии династий великих композиторов или ученых, демонстрировал

пример семьи, отличавшейся «инженерными и изобретательскими способностями, особенно в конструировании и постройке лодок». Девенпорт считал, что таким образом отслеживает передачу гена кораблестроения. Ученый, как мы теперь понимаем, ошибочно утверждал, что может провести типизацию любых семей в зависимости от их фамилий. Так, по Девенпорту, людям по фамилии Твайнингс свойственен фенотип: широкие плечи, темные волосы, густые брови, выступающий нос, лабильность психики, хорошее чувство юмора, смешливость, любовь к музыке и лошадям.

Все эти потуги Девенпорта ничего не стоили с точки зрения доказательной науки. На сегодняшний день достоверно известно, что все упомянутые свойства легко меняются под воздействием факторов окружающей среды. Девенпорт, как и Гальтон, предполагал, что генетические факторы неизменно торжествуют над воспитанием и факторами среды. Ошибкой Девенпорта стало то, что те данные, которые он получил на первых этапах своей работы по изучению альбинизма и болезни Хантингтона, действительно имеют под собой строгую генетическую основу и наследуются по законам генетики, поскольку они обусловлены конкретной мутацией в определенном гене. Что же касается большинства поведенческих характеристик, то если они и обладают генетической основой, то природа таких нарушений очень сложна, и понадобятся десятилетия для уточнения патогенетических и генетических механизмов таких нарушений, поскольку поведенческие особенности могут зависеть от множества различных генов, каждый из которых может в той или иной степени влиять на конечный результат. Поэтому интерпретировать и анализировать родословные так, как это делал Девенпорт, на сегодняшний день не только невозможно, но и некорректно. Более того, генетические причины весьма туманно определяемого качества вроде задержки умственного развития у разных индивидов могут сильно различаться, поэтому поиск основополагающих генетических закономерностей в данном случае оказывается почти бесплодным.



Неадекватная генетика: построенная Девенпортом родословная, демонстрирующая, как наследуются навыки конструирования корабельных конструкций. Девенпорт не учитывал влияния окружающей среды: сын лодочника легко продолжает дело отца, поскольку был воспитан в благоприятствующих этому условиях

В 30-е годы прошлого века у евгеники появились последователи, в том числе политические деятели, которые безотносительно успехов или неудач Девенпорта стали активно использовать идеи евгеники для решения собственных проблем, как в Америке, так и в Европе. Местные американские ячейки евгенических обществ порой устраивали целые соревнования на ярмарках штатов, выдавая призы тем семьям, которые не несли и следа «некачественных» генов. На ярмарках, где ранее премировались лишь коровы, дающие высокие надои, и овцы, теперь появились номинации «самый лучший младенец» и «самая здоровая семья штата». Фактически это была пропаганда «положительной генетики», стимулирование «подходящих» с точки зрения евгеники людей к тому, чтобы именно они заводили детей.

Евгеника была в порядке вещей в зарождающемся феминизме. Первые поборницы контроля рождаемости, Мэри Стоупс в Великобритании и Маргарет Сэнгер в США, основавшая общество планирования семьи Planned Parenthood, считали контроль рождаемости одним из вариантов евгеники. Сэнгер однозначно высказалась по этому поводу в 1919 году:

«Как можно больше детей от здоровых и как можно меньше от нездоровых – вот суть контроля над рождаемостью».

Гораздо мрачнее выглядело развитие отрицательной евгеники, закрывавшей путь к деторождению «не тем» с точки зрения евгеники людям. Переломный момент в подобных разработках наступил в 1899 году, когда молодой человек по фамилии Клоусон обратился к тюремному врачу из штата Индиана (США) по фамилии Гарри Шарп. Проблема Клоусона, которую медики того времени диагностировали как болезненное расстройство, заключалась в компульсивной мастурбации. Слово «компульсивная» означает навязчивая, но в данном случае мастурбация не просто носит навязчивый характер, но еще и представляет собой форму зависимого поведения.

Клоусон сообщил, что злоупотреблял мастурбацией с двенадцати лет. Мастурбация в тот период расценивалась как элемент общего синдрома дегенерации, и Шарп разделял общее убеждение врачей, что умственная отсталость, низкий образовательный уровень Клоусона связаны с этим компульсивным расстройством. Шарп задался вопросом: что делать? Решением стала только изобретенная в эти годы вазэктомия – хирургическая операция, при которой производится перевязка или удаление фрагмента семявыносящих протоков. Впоследствии Шарп заявил, что «вылечил» Клоусона. Интересно продолжение этой истории: у самого Шарпа развилось собственное компульсивное расстройство – он увлекся вазэктомией.



Победители конкурса здоровых семей в номинации «Большая семья», ярмарка штата Техас, США (1925)

Свой успех в излечении Клоусона (увы, в подтверждение этому сохранился только собственный отчет доктора Шарпа) врач стал продвигать в качестве доказательства эффективности подобного обращения со всеми пациентами, имеющими компульсивные расстройства. По мнению Шарпа, стерилизация якобы решала сразу две задачи. Во-первых, как он считал, стерилизация позволяет искоренить «асоциальное поведение» Клоусона и позволит сэкономить деньги государства, поскольку те, кого раньше требовалось держать в заключении в тюрьмах или психбольницах, после такой операции становятся «сексуально безопасными», и их можно выпустить на свободу. Во-вторых, стерилизация не позволяет таким людям, как Клоусон, передавать свои гены последующим поколениям. Таким образом, Шарп считал стерилизацию превосходным решением евгенического кризиса.

Шарп оказался умелым лоббистом своих идей, и в 1907 году в штате Индиана (США) был принят первый закон об обязательной стерилизации слабоумных («зонтичный термин», использовавшийся в то время для

обозначения девиантов), легализовавший стерилизацию лиц, признанных «преступниками, идиотами, насильниками и имбецилами». Закон оказался несовершенно с юридической точки зрения и его отменили в 1974 году. Вслед за штатом Индиана закон приняли в 30 американских штатах. К 1941 году в США в установленном порядке стерилизовали несколько десятков тысяч лиц, в одной только Калифорнии было проведено 20 тысяч операций. Фактически такие законы позволяли правительству штата решать, кто вправе и кто не вправе иметь детей. Были попытки обжаловать такие приговоры. В 1927 году Верховный суд США встал на сторону судей штата Виргиния в громком деле о стерилизации пациентки интерната для эпилептиков и слабоумных по имени Керри Бак. Судья Оливер Уэнделл Холмс вынес следующий вердикт:

Для всего мира будет лучше, если, вместо того чтобы ждать рождения нового дегенеративного потомства, способного только на преступления или на пожизненное нахлебничество из-за своего слабоумия, общество сможет предотвратить продолжение рода таких лиц... Трех поколений имбецилов достаточно.

Стерилизация вошла в практику и за пределами США, причем не только в нацистской Германии, как принято думать. Подобные законы были приняты и в Швейцарии, и в скандинавских странах.

Евгеника как научное направление, безусловно, не подразумевает расизма – ведь «качественные» гены, распространение которых стимулирует евгеника, могут быть у человека любой расы. Однако начиная с Гальтона, чей отчет об африканской экспедиции подкрепил предрассудки о «низших расах», знаменитые практикующие евгеники того времени стремились подвести «научное» обоснование под взгляды расистов. Генри Годдард, прославившийся своим «семейством Калликак», в 1913 году подверг тестированию IQ иммигрантов, прибывающих на остров Эллис, и обнаружил, что целых 80 % потенциальных новых американцев, по его определению, слабоумны. Тестирование IQ, которое проводили в армии США для новобранцев в годы Первой мировой войны, позволяло сделать схожие выводы: 45 % новобранцев, родившихся за рубежом, не дотягивали по умственному развитию до восьмилетнего возраста (а среди урожденных американцев эта цифра была еще ниже – всего 21 %). Предлагаемые тесты оказались необъективны – взять хотя бы то, что тексты были на английском языке, которым тестируемые не владели в совершенстве, – но в тот момент это не интересовало составителей; в данной ситуации расисты оказались на

высоте положения, поставив евгенику себе на службу.

Термин «превосходство белых» еще не появился, но настроения Америки начала XX века, направленные против представителей других рас, особенностей поведения, этнических групп, достигли максимальной напряженности. WASP (белые, англосаксы, протестанты), составляющие всего 7 % населения США, оказались недовольны равноправием всех групп населения США. Англосаксонская социально-политическая элита того времени и Теодор Рузвельт всерьез были озабочены тем, что иммигранты с низким интеллектуальным уровнем развития негативно влияют на развитие Америки. В 1916 году Мэдисон Грант, богатый житель Нью-Йорка, друг Девенпорта и Рузвельта, опубликовал книгу *«Конец великой расы»*, где утверждал, что нордические народы совершеннее всех остальных народов, в том числе и среди прочих европейцев. Чтобы сохранить «драгоценное нордическое наследие» Соединенных Штатов, Мэдисон Грант развернул кампанию за ограничение иммиграции в США любых представителей ненордических народов. Он являлся активистом расистской евгеники в описываемый нами период:

В сложившихся условиях наиболее практичным и многообещающим методом расовой оптимизации представляется устранение наименее желательных представителей нации путем лишения их возможности оставлять потомство. Селекционерам хорошо известно, что масть коровьего стада можно изменить, последовательно выбраковывая особей с нежелательной расцветкой, что, безусловно, подтверждается и на других примерах. Так, черных овец практически не осталось, потому что животные такой масти тщательно уничтожались из поколения в поколение.

Несмотря на формулировки, книга Мэдисона Гранта отнюдь не являлась бульварной публикацией сумасбродного маргинала – это был влиятельный бестселлер того времени. Впоследствии его перевели на немецкий и – что совершенно неудивительно – он приглянулся нацистам. Грант с восхищением вспоминал, как получил письмо от Гитлера, где тот называл книгу Гранта своей библией.

Вероятно, наиболее влиятельным представителем «научного» расизма той эпохи (пусть и не таким знаменитым, как Грант) был Гарри Лафлин, правая рука Девенпорта. Лафлин был сыном проповедника из штата Айова, свой «профессиональный» опыт в евгенике он приобрел, изучая

родословные породистых лошадей и кур. Он контролировал научную работу станции экспериментальной эволюции в Колд-Спринг-Харборе, но наиболее проявил себя как эффективный лоббист идей евгеники. Во имя идей и принципов евгеники он фанатично пропагандировал стерилизацию и ограничения на въезд генетически неблагонадежных иностранцев (благонадежными, с его точки зрения, считались только выходцы из Северной Европы). Свою негативную историческую роль он сыграл, работая в Конгрессе экспертом-свидетелем на слушаниях об иммиграции. Там Лафлин дал волю своим ненаучным предрассудкам, естественно, выдавая их за «научные». Когда данные исследований не сходились или противоречили его идеям, Лафлин их подтасовывал. Стоило Лафлину обнаружить, что дети еврейских иммигрантов учатся в школах лучше, чем дети местных жителей, как он стал примешивать результаты евреев к представителям нации той страны, откуда они прибыли, и превосходная успеваемость евреев отлично затушевывалась. Когда в 1924 году в США был принят Закон об иммиграции Джонсона – Рида, серьезно ужесточивший правила иммиграции из Южной Европы и других регионов в США, Мэдисон Грант и ему подобные с энтузиазмом приветствовали это событие – это был звездный час Лафлина. Несколькоми годами ранее Калвин Кулидж, будучи вице-президентом США, предпочел проигнорировать как коренных американцев, так и всю историю иммиграции в США, заявив однажды: «Америка – для американцев». Впоследствии уже на посту президента США он подписал собственное пожелание, что соблюдение расовых законов для нации столь же необходимо, как закон об иммиграции (*Ethnic law is as great a necessity to a nation as immigration law*).

Лафлин, как и Грант, пользовался популярностью в узких кругах нацистов, увидевших в теориях Лафлина и Гранта научную базу, на которую можно списать жестокость уже своих законодательных актов. В 1936 году Лафлин с энтузиазмом принял степень почетного доктора Гейдельбергского университета, где его характеристика звучала так: «дальновидный представитель Америки, воплощающий расовую политику». Однако вскоре у Лафлина была диагностирована эпилепсия, и его последние годы оказались очень тяжелыми, поскольку на протяжении всей карьеры он ратовал за стерилизацию эпилептиков, так как считал их генетическими дегенератами.

*Relative Social Inadequacy of the Several Nativity Groups
and Immigrant Races in the United States.*

ALL TYPES OF SOCIAL INADEQUACY

Including Feeble-mindedness, insanity, crime, epilepsy, tuberculosis, blindness, deafness, deformity and dependency. Based upon an analysis of the population of 443 state and federal custodial institutions.



Научный расизм: данные о социальной неполноценности жителей США, полученные по результатам анализа в этнических группах (1922). Гарри Лафлин использовал термин «социальная неполноценность» как совокупное название для множества расстройств – от слабоумия до туберкулеза. Лафлин вычислил для каждой группы «квоту» на принудительное лечение, в зависимости от того, какой процент всего населения США приходится на эту группу. Процентный показатель, приведенный здесь, получен путем деления общего количества

представителей конкретной группы, помещенных в лечебные учреждения, на квоту этой группы. Представители групп с показателем выше 100 % особенно многочисленны среди таких пациентов

Книга Гитлера «Моя борьба» (*Mein Kampf*), сочетающая элементы автобиографии с изложением идей национал-социализма, изобилует псевдонаучными расистскими бредовыми идеями, основанными на претензиях Германии на расовое превосходство, и сублиматом из самых отвратительных аспектов американского евгенического движения. Гитлер писал, что государство «должно объявить непригодными для размножения всех, кто имеет какие-либо видимые заболевания или унаследовал заболевание и, таким образом, может передать его по наследству, причем необходимо воплотить этот принцип на практике». Еще одна цитата из книги Гитлера: «те, кто нездоровы физически и умственно и не представляют ценности, не должны передавать детям свои телесные страдания». Вскоре после прихода к власти в 1933 году нацисты приняли закон о принудительной стерилизации – «закон о предотвращении размножения лиц с наследственными дефектами», – бесспорно, основанный на американской модели Лафлина. Последствием принятия этого закона стала стерилизация 225 тысяч человек.

«Положительная» евгеника, стимулировавшая деторождение в среде «правильных» людей, особо процветала в нацистской Германии, причем «правильными» считались только «истинные арийцы». Генрих Гиммлер, лидер СС (элитных нацистских войск), видел свою миссию именно в евгеническом ключе: офицеры СС должны были гарантировать немцам достойное генетическое будущее, заводя как можно больше детей от женщин арийской крови. В 1936 году он организовал специальные родильные дома для жен эсэсовцев, чтобы гарантировать этим женщинам максимально качественный уход в период беременности. На съезде идеологов фашизма, состоявшемся в Нюрнберге в 1935 году, был провозглашен «закон о защите германской крови и германской чести», запрещавший браки между немцами и евреями и даже «внебрачные сексуальные связи между евреями и гражданами Германии, а также представителями родственных кровей». Нацисты с особой щепетильностью подходили к устранению любых браков между немцами и представителями других национальностей.

Особо прискорбно, что такой же жестокостью взглядов на вопросы семьи отличался и закон Джонсона – Рида, над разработкой которого усердно трудился Гарри Лафлин. Для многих евреев, спасавшихся от

нацистских репрессий, США были первым и наиболее логичным направлением эмиграции, но ограничительно-расистская иммиграционная политика США вынудила многих отказаться от иммиграции в США. Мало того что закон о стерилизации послужил Гитлеру образчиком для его бесчеловечной программы; вмешательство Лафлина в иммиграционное законодательство означало, что США фактически отдают немецких евреев на растерзание нацистам.

В 1939 году, когда уже шла Вторая мировая война, нацисты стали практиковать эвтаназию. Стерилизация оказалась слишком обременительной. По мнению нацистов, кормить стерилизованных людей оказалось крайне обременительно, пациентов психиатрических больниц также стали считать «дармоедами». В психиатрических отделениях начали распространять опросники, для заполнения которых собирались целые консилиумы врачей, от которых требовалось помечать крестиком тех пациентов, которых они считали «недостойными жить». Такие отметки достались 75 тысячам человек, поэтому была оперативно разработана технология массового уничтожения в газовых камерах. Впоследствии нацисты расширили категорию «недостойных жить», включив в нее целые этнические группы, например цыган, евреев. Холокост стал кульминацией нацистской евгеники.

В конечном итоге евгеника обернулась для человечества настоящей трагедией. Она катастрофически повлияла на нарождающуюся генетику – эта наука тоже оказалась запятнана. На самом деле, несмотря на авторитетность многих представителей евгеники, в частности Девенпорта, известные ученые критиковали это движение и отмежевывались от него. Альфред Рассел Уоллес, соавтор дарвиновской теории естественного отбора, в 1912 году клеймил евгенику как «обычное беспардонное вмешательство самодовольных фарисеев от науки». Томас Хант Морган, прославившийся исследованием плодовых мушек, «по научным соображениям» отказался от места в совете директоров бюро экспериментальной эволюции и евгеники в Колд-Спринг-Харборе. Раймонд Пирл из Университета Джона Хопкинса писал в 1928 году, что «сторонники ортодоксальной евгеники прямо противоречат фактам, максимально достоверным с точки зрения генетики».

Необходимо понимать, что евгеника утратила авторитет в научном сообществе задолго до того, как нацисты адаптировали ее для своих жутких целей. Ее «научная основа» была фальшивой, а социальные программы, имевшие евгеническое обоснование, – крайне предосудительными с общественной точки зрения. «Связь» евгеники и

генетики не прошла незамеченной, к середине XX века научная генетика, в частности генетика человека, столкнулась с серьезным общественным неприятием. Когда в 1948 году я впервые прибыл в Колд-Спринг-Харбор, где ранее располагалось уже упраздненное к тому моменту бюро экспериментальной эволюции и евгеники, никто даже упоминать не решался «слово на букву Е» и не желал обсуждать прошлое собственной науки, хотя старые выпуски немецкого «Журнала о расовой гигиене» по-прежнему пылились на библиотечных полках этой лаборатории.

Понимая научную недостижимость и необоснованность евгеники, генетики надолго забросили масштабный поиск таких наследственных закономерностей, которые позволили бы описать поведенческие характеристики человека, будь то «слабоумие» по Девенпорту или «гениальность» по Гальтону, и сосредоточились на локализации генов и выяснении, как тот или иной ген функционирует в клетке. Когда в 1930-е и 1940-е годы появились новые, более эффективные методы изучения биохимических молекул в мельчайших деталях, наконец настало время подступить к величайшей из биологических загадок: какова химическая природа гена?

SCHRÖDINGER: What is Life?

By ERWIN SCHRÖDINGER

☆
WHAT
IS
LIFE
?
☆

The Physicist's approach to the
Subject—With an Epilogue on
Determinism and Free Will

CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS

Глава 2

Двойная спираль: это жизнь

Я увлекся генетикой, когда учился на третьем курсе в Университете Чикаго. До этого собирался быть натуралистом и планировал, что моя научная карьера пройдет вдали от каменных джунглей Южного Чикаго, где я вырос. Пересмотреть собственные увлечения меня заставила не личность авторитетного педагога, а маленькая книжка, вышедшая в 1944 году. Она называлась «Что такое жизнь?», и написал ее австриец Эрвин Шрёдингер, основатель волновой механики. В основе книги лежали несколько лекций, которые Шрёдингер годом ранее прочитал в Дублинском институте перспективных исследований. Меня заинтриговало, что великий физик нашел время написать книгу по биологии. В те годы я, как и большинство современников, считал химию и физику «настоящими» науками, а физики-теоретики казались мне научными патрициями.

Эрвин Шрёдингер писал, что жизнь можно трактовать как систему хранения и передачи биологической информации. Соответственно, хромосомы считались просто носителями такой информации. Поскольку в каждой клетке приходится укладывать множество информации, она должна архивироваться в виде так называемого шифрованного наследственного кода, внедренного в молекулярную структуру хромосом. Таким образом, чтобы понять жизнь, нужно выделить эти молекулы и взломать их код. Шрёдингер даже полагал, что путь к постижению жизни лежит через поиски гена, это особый путь, который может вывести нас за пределы законов физики в том виде, в каком мы их понимаем. Книга Шрёдингера оказала на нас большое влияние. Многие из тех, кто затем сыграл роли в первом акте великой драмы под названием «молекулярная биология» (в том числе Френсис Крик, сам когда-то изучавший физику), прочли книгу «Что такое жизнь?» и были ею впечатлены.

Книга Эрвина Шрёдингера вызвала у меня самый живой интерес, поскольку я также был заинтригован сущностью жизни. В то время все еще оставались ученые, хотя и в меньшинстве, полагающие, что основа жизни – это жизненная сила, эманация Всемогущего Бога. Но, как и большинство моих учителей, я презирал идею витализма как таковую. Если именно эта «жизненная» сила была движущим механизмом в игре природы, то вряд ли стоило надеяться познать и саму жизнь научным методом. В то же время

мне крайне импонировала идея, что жизнь может передаваться как некий секретный код, записанный в виде свода инструкций. Как молекулярный код может быть столь филигранным, чтобы передавать все чудесное многообразие живого мира? И какая молекулярная уловка позволила бы при каждом удвоении хромосом обеспечить точное копирование этого кода?

В тот момент, когда Шрёдингер выступал в Дублине со своими лекциями, большинство биологов полагало, что основными переносчиками генетической информации в конце концов окажутся белки. Белки – это молекулярные цепочки, слагаемые из 20 различных строительных блоков, именуемых аминокислотами. Поскольку варианты перестановки аминокислот в такой цепочке практически бесконечны, белки, в принципе, вполне могли кодировать информацию, обеспечивающую индивидуальность и биоразнообразие. На тот момент ДНК не рассматривалась всерьез как носитель «генетического кода», пусть даже этот код локализовался исключительно в хромосомах (о чем было известно уже около 75 лет). В 1869 году Фридрих Мишер, швейцарский биохимик, работавший в Германии, смог выделить из пропитанных гноем бинтов, добытых в ближайшей хирургической больнице, особое вещество, которое он назвал «нуклеин». Поскольку гной состоит преимущественно из лейкоцитов, в которых (в отличие от эритроцитов) есть ядра и, соответственно, хромосомы, содержащие ДНК, Фридрих Мишер наткнулся на хороший источник ДНК. Открыв впоследствии, что «нуклеин» встречается исключительно в хромосомах, Мишер понял, что совершил по-настоящему крупное открытие. В 1893 году он писал: «Наследственность обеспечивает непрерывную передачу форм от поколения к поколению, и этот механизм работает даже глубже, чем на уровне химических молекул. Он заключен в структурировании атомных групп. В данном случае я также являюсь приверженцем химической теории наследования».



Физик Эрвин Шрёдингер, чья книга «Что такое жизнь?» подвигла меня заняться исследованием генов

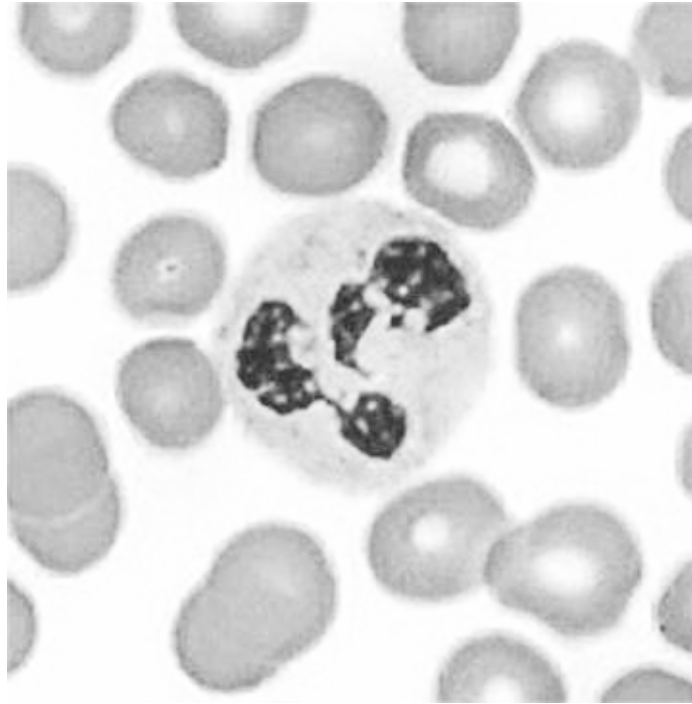
Но даже спустя целые десятилетия возможностей химии еще не хватало для анализа колоссальной и невероятно сложной молекулы ДНК. Только в 1930-е годы выяснилось, что ДНК – это длинная по размерам молекула, в которой содержится четыре разновидности химических оснований: аденин (А), гуанин (Г), тимин (Т) и цитозин (Ц). Однако на момент дублинских выступлений Шрёдингера по-прежнему было неясно, как устроены химические связи между этими белковыми субъединицами молекулы (так называемыми дезоксирибонуклеотидами). Также оставалось загадкой, могут ли различаться последовательности четырех оснований в разных молекулах ДНК. Если в ДНК действительно скрывался шрёдингеровский «генетический код», то эта молекула должна была бы существовать в бесчисленно разнообразных формах. Но на тот момент еще продолжала обсуждаться версия о том, что последовательность нуклеотидов вроде А-Г-Т-Ц может повторяться по всей длине ДНК.

ДНК оказалась в центре внимания генетиков лишь в 1944 году, когда из лаборатории Освальда Эвери в Рокфеллеровском институте (Нью-Йорк)

пришла новость, что можно менять состав оболочки бактерии пневмококка. Такой результат оказался сюрпризом для Освальда Эвери и его молодых коллег: Колина Маклеода и Маклина Маккарти.

На протяжении более чем десяти лет группа Эвери отслеживала еще одно необычайное явление, впервые наблюдать которое удалось в 1928 году Фреду Гриффиту, ученому из британского Министерства здравоохранения. Гриффит интересовался пневмонией и изучал ее возбудителя – пневмококк. К тому моменту было известно, что существуют разные штаммы пневмококка, именуемые «гладкими» (S) и «шероховатыми» (R) – названия дали по внешнему виду колоний стрептококков на питательных средах, видимых под микроскопом. Штаммы микроорганизмов различались не только визуально, но и по признаку вирулентности. Оказалось, что если ввести мыши бактерию S-типа, то через несколько дней мышь гибнет, но после инъекции бактерии R-типа остается здоровой. Выяснилось, что клетки S-бактерий имеют оболочку, не позволяющую факторам иммунной защиты мыши распознать микробное «вторжение». У R-клеток такой оболочки нет, поэтому иммунные клетки мыши с ними легко справляются и уничтожают.

Поскольку Гриффит работал в сфере здравоохранения, он знал, что у конкретного пациента иногда можно найти разные штаммы, поэтому заинтересовался, как эти штаммы могут взаимодействовать друг с другом в организме несчастной лабораторной мыши. Одна из комбинаций микроорганизмов натолкнула его на интересное открытие: если в организм мыши вводили S-бактерии, убитые нагреванием (непатогенные), и обычные R-бактерии (также непатогенные), мышь погибала. Как две непатогенные бактерии могли так «сговориться», чтобы погубить мышь? Ситуация прояснилась, когда ученый выделил бактерии пневмококка из организма погибших мышей и обнаружил живые S-бактерии. Казалось, что живые (непатогенные) R-бактерии что-то позаимствовали у мертвых S-собратьев; что бы это ни было, именно этот ресурс позволял R-бактериям в присутствии убитых нагреванием S-бактерий трансформироваться в живой смертоносный S-штамм. Гриффит доказал, что такие изменения действительно происходят, выведя культуру S-бактерий из нескольких поколений мертвых мышей; бактерия размножалась именно по S-типу точно так же, как размножался бы обычный S-штамм стрептококка, то есть у R-бактерий, введенных мышам, происходили генетические изменения.



Так выглядят под микроскопом кровяные тельца, обработанные специальным веществом для окрашивания ДНК. Задача эритроцитов – переносить кислород; потому, чтобы этот процесс был максимально эффективен, красные кровяные тельца не имеют ядра, а значит, и ДНК. Однако в лейкоцитах,двигающихся в крови в поисках «незваных гостей», есть ядро и хромосомы

Хотя такая трансформация противоречила всем устоявшимся на тот момент взглядам, наблюдения Гриффита поначалу почти не заинтересовали научный мир. Отчасти дело было в том, что Гриффит вел крайне уединенный образ жизни и так сторонился больших собраний, что редко бывал на научных конференциях. Однажды его практически заставили прочитать лекцию. Гриффита усадили в такси и, словно под конвоем, доставили в аудиторию к коллегам. Там он монотонно отбарабанил текст, посвященный какому-то унылому аспекту своих микробиологических исследований, но ни словом не обмолвился о превращениях бактерий. К счастью, прорывное открытие Гриффита не прошло незамеченным.

Освальда Эвери также заинтересовали полисахаридные капсулы пневмококков. Он попытался повторить эксперимент Гриффита, чтобы выделить и охарактеризовать фактор, из-за которого R-клетки «трансформировались» в S-клетки. В 1944 году Эвери, Маклеод и Маккарти опубликовали результаты своей работы. В ходе тщательно спланированного дизайна исследования удалось однозначно

продемонстрировать, что в основе бактериальных превращений лежит трансформация ДНК. При выращивании бактерий *in vitro*, а не в организме живых мышей оказалось гораздо проще идентифицировать химический состав фактора, преобразующего S-клетки, убитые нагреванием. Методично уничтожая один за другим различные химические компоненты S-клеток, убитых нагреванием, Освальд Эвери с коллегами пытались выяснить, блокируется ли трансформация при отсутствии того или иного компонента. Сначала они избавились от полисахаридной капсулы стрептококка S-бактерии. Трансформация не прекращалась, и, следовательно, дело было не в капсуле. Далее они применили смесь двух протеолитических ферментов – трипсина и химотрипсина, разложив с их помощью практически все белки, присутствовавшие в S-клетках. К их удивлению, и это не повлияло на трансформацию. Тогда они взялись за фермент РНКазу, разлагающую РНК (рибонуклеиновую кислоту). Это второй класс нуклеиновых кислот, похожих на ДНК, которые участвуют в синтезе белков. Трансформация опять происходила. Наконец они добрались до ДНК, обработав вытяжки S-бактерий ферментом, разрушающим ДНК. Здесь они «попали в яблочко». Оказалось, что ДНК и есть тот самый преобразующий фактор.

Итоговая статья Эвери, Маклеода и Маккарти, опубликованная в феврале 1944 года, имела все шансы произвести в науке эффект разорвавшейся бомбы и, как любое революционное открытие, вызвала смешанные отклики коллег. Большинство генетиков согласилось с выводами Эвери, Маклеода и Маккарти. В конце концов, ДНК находится в каждой хромосоме – почему бы ей не быть носителем генетической информации? Большинство биохимиков, напротив, сомневались, что молекула ДНК обладает достаточной сложностью, чтобы в ней могли храниться такие колоссальные объемы биологической информации. Они по-прежнему полагали, что наследственность должна реализовываться через белки, также входящие в состав хромосом. В принципе, как верно отмечали биохимики, обширный корпус сложной информации было бы гораздо проще зашифровать, воспользовавшись «алфавитом» из двадцати аминокислот (входящих в состав белков), нежели четырехбуквенным «алфавитом» нуклеотидов, из которых состоит ДНК. Особенно едко высказывался против генетической природы ДНК коллега Эвери, работавший в том же самом Рокфеллеровском институте, – биохимик, специалист по белкам Альфред Мирски. Правда, к тому времени Эвери уже не занимался наукой. Рокфеллеровский институт вынудил его выйти на пенсию в возрасте 65 лет.

Увы, Освальд Эвери упустил не только возможность защищать свои разработки от нападков коллег; более того, он так и не удостоился Нобелевской премии, которую определенно заслужил за открытие возможностей ДНК. Поскольку Нобелевский комитет публикует свои протоколы спустя 50 лет после награждения, сегодня известно, что кандидатуру Эвери заблокировал шведский специалист по физической химии Эйнар Хаммарстен. Хотя Хаммарстен приобрел солидную репутацию в основном за то, что умел готовить беспрецедентно чистые препараты ДНК, он все равно был убежден, что гены – это белки, относящиеся к какому-то еще не известному ученым классу. Даже после открытия двойной спирали Хаммарстен упорствовал в отношении того, что Эвери не заслуживает Нобелевской премии, и продолжал настаивать на своем до тех пор, пока механизм трансформации ДНК не был детально описан. Освальд Эвери умер в 1955 году – проживи он еще несколько лет, и он определенно стал бы лауреатом Нобелевской премии.

Когда в 1947 году я прибыл в Университет Индианы, планируя писать диссертацию по генетике, в научных беседах то и дело упоминалась статья Эвери. К тому времени никто уже не сомневался в воспроизводимости его результатов, а более свежие работы, выполненные в Рокфеллеровском институте, оставляли все меньше оснований полагать, что превращения бактерий могут быть связаны с действием белков. Наконец-то ДНК превратилась в важную цель для химиков, стремившихся к новым прорывным открытиям. В Англии в Кембридже работал толковый шотландский химик Александер Тодд, попытавшийся идентифицировать химические связи, существующие между нуклеотидами в ДНК. К началу 1951 года результатами исследований, проведенных в лаборатории Тодда, удалось доказать, что эти связи всегда одинаковы и остов молекулы ДНК имеет очень правильную форму. В тот же период беженец из Австрии Эрвин Чаргафф, работавший в Колледже терапии и хирургии при Колумбийском университете, применил новый метод, бумажную хроматографию, чтобы измерить количественное соотношение четырех оснований ДНК в препаратах, взятых у различных позвоночных и бактерий.

В Индиане я присоединился к небольшой компании дальновидных ученых, в основном физиков и химиков, изучавших репродуктивные механизмы вирусов, атакующих бактерии (такие вирусы называются бактериофаги или коротко – фаги). «Группа Фейдж» сформировалась, когда мой научный руководитель врач Сальвадор Лурия, обучавшийся в Италии, и его близкий друг физик-теоретик Макс Дельбрюк, родившийся в

Германии, объединились с американцем Альфредом Херши, специалистом по физической химии. В годы Второй мировой войны и Лурия, и Дельбрюк считались «гражданами враждебных государств», поэтому не допускались к участию в военных научных проектах, несмотря на то что Лурия, этнический еврей, был вынужден бежать из Франции в Нью-Йорк, а Дельбрюк покинул Германию, поскольку выступал против нацизма. Оказавшись изгоями, они тем не менее продолжали работать в своих университетских лабораториях – Лурия в Индиане, а Дельбрюк в Университете Вандербильта – и в течение нескольких лет регулярно выбирались летом в Колд-Спринг-Харбор, чтобы совместно поэкспериментировать над фагами. В 1943 году они заключили альянс с блистательным, но немногословным Херши, который в ту пору сам исследовал фаги у себя в Университете им. Вашингтона в Сент-Луисе.

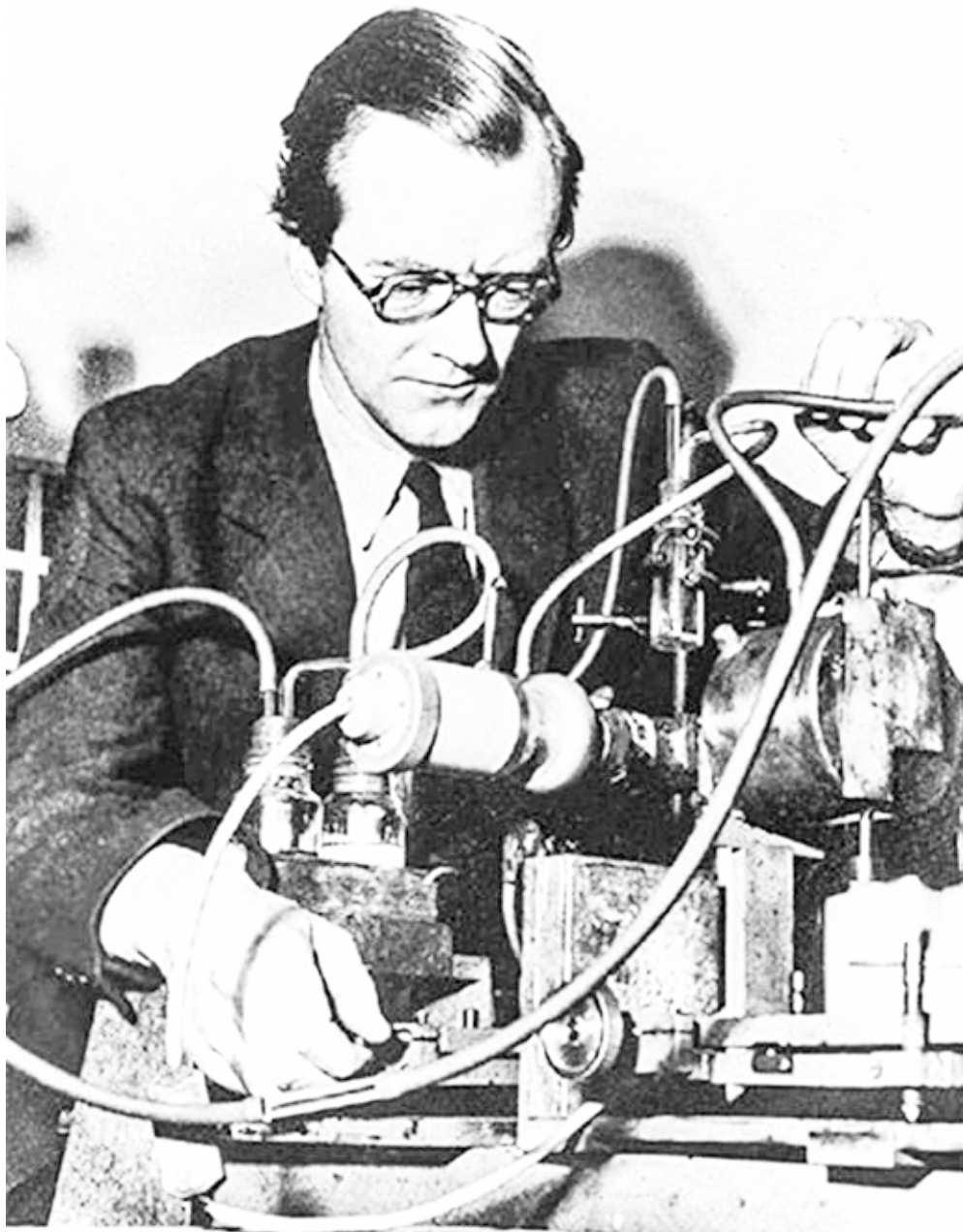
Исследовательская программа группы «Фейдж» основывалась на предположении, что фаги, как и все вирусы, – это фактически «оголенные гены». Такую концепцию впервые предложил в 1922 году одаренный американский генетик Герман Дж. Меллер, который тремя годами ранее показал, что рентгеновские лучи вызывают мутации. Заслуженную Нобелевскую премию он получил в 1946 году, вскоре после того как поступил на работу в Университет Индианы. Именно ради встречи с ним я и приехал в Индиану. Герман Дж. Меллер, который начал научную карьеру под руководством Моргана, лучше кого бы то ни было представлял себе развитие генетики в первой половине XX века, поэтому я был просто очарован его лекциями в первом семестре. Однако его работа с плодовыми мушками (*Drosophila*) принадлежала скорее к прошлому, чем к будущему. Я недолго раздумывал над тем, стоит ли браться за такие исследования под его руководством, и в результате остановился на фагах Лурии, поскольку фаги размножаются гораздо быстрее дрозофил и поэтому они еще интереснее в качестве объекта для исследования. Результаты скрещивания фагов, проведенного сегодня, можно анализировать уже завтра.

Предлагая мне тему для диссертации, Лурия посоветовал следовать «по его стопам» и изучить, как фаговые частицы гибнут под действием рентгеновских лучей. Изначально я предполагал, что причиной смерти вирусов окажется повреждение ДНК. В итоге пришлось нехотя признать, что мой экспериментальный подход, увы, не дал однозначных результатов на химическом уровне. Я мог делать лишь биологические выводы. Хотя фаги, в сущности, состояли только из нуклеиновой кислоты и капсида, я понял, что более глубокие ответы на возникающие вопросы, которых доискивалась группа «Фейдж», можно получить лишь на уровне изучения

сложных химических процессов. Каким-то образом ДНК должна была превзойти свой тогдашний «аббревиатурный» статус и открыться нам как молекулярная структура во всех химических подробностях.

Закончив работу над диссертацией, я не видел иной альтернативы, кроме как отправиться в лабораторию, где мог бы изучать химизм молекулы ДНК. К сожалению, в «чистой» химии я почти не разбирался. Я просто не справился бы с работой в любой лаборатории, где ставились сложные эксперименты по органической или физической химии. Так что осенью 1950 года на докторантскую стипендию я отправился в Копенгаген в лабораторию к биохимику Герману Калькару, который изучал синтез мелких белковых молекул, из которых состоит ДНК, но я быстро понял, что его биохимические методы никогда не помогут нам понять сущность гена. Каждый день, проведенный в его лаборатории, был, по сути, простым на пути к ответу, как ДНК переносит генетическую информацию.

Тем не менее год, проведенный в Копенгагене, оказался плодотворным. Чтобы не зябнуть там холодной датской весной, в апреле и мае я отправился на зоологическую станцию в Неаполь. Когда шла последняя неделя моей жизни в Неаполе, я побывал на небольшой конференции, посвященной дифракции рентгеновских лучей – методу, позволяющему определять объемную структуру молекул на основе рассеяния рентгеновских лучей кристаллами (или молекулами жидкостей и газов), при котором из начального пучка лучей возникают вторичные отклоненные пучки той же длины волны, появившиеся в результате взаимодействия первичных рентгеновских лучей с электронами изучаемого вещества. Дифракция рентгеновских лучей позволяет изучить атомную структуру любой молекулы, которую можно кристаллизовать. Кристалл бомбардируется рентгеновскими лучами, они отражаются от атомов и рассеиваются. По величине угла рассеивания можно судить о структуре молекулы, но без базовых знаний о самой изучаемой молекуле одного этого метода было недостаточно, чтобы составить целостное представление об изучаемой структуре. Требуется дополнительная информация, так сказать, «детализация фазы», позволяющая судить о волновых свойствах молекулы. Решить проблему детализации было нелегко – в те годы лишь самые отчаянные ученые были готовы подступить к ее решению, поскольку основные успехи дифракционного метода были достигнуты только на материале относительно простых молекул.



Морис Уилкинс в Кингс-Колледже, Лондон

Я почти ничего не ожидал от этой конференции. Думал, что представление о трехмерной структуре белка или, если уж на то пошло, молекулы ДНК удастся получить не ранее, чем через десятилетие. Первые фотографии ДНК при рентгеновском излучении были удручающими. Стало ясно, что ДНК – особенно крепкий орешек, секреты которого вряд ли удастся открыть таким методом. Результаты казались предсказуемыми, поскольку было ожидаемо, что конкретные последовательности нуклеотидов в ДНК отличаются от молекулы к молекуле. Из-за этого

поверхностная конфигурация разных молекул ДНК должна была различаться, что по понятным причинам не позволяло бы длинным и тонким цепочкам ДНК укладываться бок о бок ровным слоем и образовывать правильные узоры, необходимые для успешного анализа методом рентгеновской дифракции.

С учетом вышеперечисленных обстоятельств заключительное выступление о ДНК, сделанное тридцатичетырехлетним англичанином по имени Морис Уилкинс с биологического факультета Кингс-Колледжа в Лондоне, стало для меня удивительно приятным сюрпризом. Уилкинс был физиком, во время войны работал в Манхэттенском проекте. Для него, как и для многих других ученых – участников этой программы, факт атомной бомбардировки Хиросимы и Нагасаки, по сути, кульминация их работы, привел к полному краху иллюзий. Морис Уилкинс подумывал вообще бросить науку и стать живописцем в Париже, но заинтересовался биологией. Он также читал книгу Шрёдингера и попробовал прозондировать ДНК при помощи методов рентгеновской дифракции.

Пока я продолжал брать то один, то другой ложный след, дома, в Америке, величайший в мире химик Лайнус Полинг, работавший в Калифорнийском технологическом институте, объявил о большом триумфе: он обнаружил, в какой именно последовательности располагаются цепочки аминокислот (так называемые полипептиды) в белках. Эту структуру он назвал α -спираль (альфа-спираль). Никого не удивляло, что такой прорыв совершил именно Полинг: ведь среди ученых он был звездой первой величины. Его книга «*Природа химических связей*» фактически заложила основы современной химии, а для химиков тех времен была настоящей библией. Полинг рос вундеркиндом: когда ему было девять, его отец-аптекарь писал в газету *Oregonian* («Орегонец»), какие публикации были бы интересны его начитанному сыну, отмечая, что тот уже прочел Библию и книгу «*О происхождении видов*» Дарвина. Однако отец Полинга рано умер, оставив семью в бедственном положении, поэтому весьма примечательно, что перспективный юноша смог вообще получить образование.

Вернувшись в Копенгаген, я прочел об α -спирали, открытой Полингом. К моему удивлению, его модель оказалась не дедуктивной экстраполяцией на основе экспериментов с рентгеновской дифракцией. Напротив, Полинг наработал большой опыт в сфере анализа химических структур и, опираясь на этот опыт, попытался описать, какую форму должна иметь спиралевидная укладка полипептидной цепи с учетом базовых химических характеристик молекулы. Полинг по-разному складывал масштабные

модели различных частей белковой молекулы, прорабатывая вероятные трехмерные варианты расположения. Как только он сократил проблему до трехмерного пазла – получилось просто и одновременно блестяще.

Теперь оставалось выяснить, насколько α -спираль реалистична – при том что в красоте ей было не отказать. Ответ я нашел уже через неделю. Англичанин Лоуренс Брэгг, изобретатель рентгеновской кристаллографии и лауреат Нобелевской премии по физике 1915 года, приехал в Копенгаген и с воодушевлением сообщил, что его младший коллега, химик австрийского происхождения Макс Перуц, хитроумно используя синтетические полипептиды, смог подтвердить, что предложенная Полингом форма в виде α -спирали действительно реальна. Для сотрудников Брэгга из Кавендишской лаборатории это был триумф с нотками горечи, поскольку годом ранее они, образно выражаясь, «не попали в цель», опубликовав статью, в которой описывали возможные варианты спиралевидной свертки полипептидных цепей.



Лоуренс Брэгг (слева) рядом с Лайнусом Полингом, который держит модель α -спирали

К тому моменту Сальвадор Лурия уже предварительно договорился, чтобы мне выделили вакансию исследователя в Кавендишской лаборатории. Она находится в Кембридже и является самой знаменитой

лабораторией во всей истории науки. Именно здесь Эрнест Резерфорд впервые описал строение атома. Теперь здесь хозяйничал Брэгг, а мне предстояло поступить в обучение к английскому химику Джону Кендрю, который пытался построить трехмерную структуру белка миоглобина. Сальвадор Лурия посоветовал мне как можно скорее появиться в Кавендишской лаборатории. Кендрю был в США, поэтому принять меня в лаборатории должен был Перуц. Ранее Кендрю и Перуц совместно организовали в Кембридже «Лабораторию молекулярной биологии» по изучению структуры биологических систем.

Когда через месяц мы встретились с Перуцем в Кембридже, он заверил меня, что я быстро и без труда смогу освоить теоретический минимум по методам рентгеновской дифракции и легко впишусь в коллектив, уже работающий в этом направлении. К моему облегчению, он не стал отмечать мое биологическое образование, равно как и Лоуренс Брэгг, который наведлся к нам из своего кабинета, чтобы на меня посмотреть.

Когда я в начале октября вернулся в Кембриджскую лабораторию молекулярной биологии, мне было двадцать три года. Оказалось, что кабинет биохимии мы будем занимать вместе с бывшим физиком Френсисом Криком, которому было тридцать пять. В войну он занимался разработкой магнитных мин для Военно-морского флота. По окончании войны Крик планировал продолжить исследования в области оборонных исследований, но, прочитав книгу Шрёдингера «*Что такое жизнь?*», сосредоточился на биологии. Теперь он работал в Кавендишской обсерватории и готовил диссертацию, посвященную трехмерной структуре белковых молекул.

Крик при решении проблемы всегда пытался изучить все до тонкостей. В детстве он доводил родителей до изнурения бесконечными вопросами, и они купили ему детскую энциклопедию, надеясь таким образом удовлетворить его любопытство. Но ему от этого стало лишь тревожнее: как-то раз он поделился со своей мамой опасениями, что, пока он вырастет, все уже будет открыто и ему не останется никакой работы в науке. Мама заверила его (и, как оказалось, не ошиблась), что пара интересных открытий на его долю обязательно выпадет.



Френсис Крик с кавендишской рентгеновской трубкой

Крик был словоохотлив и неизменно становился душой любой компании. Его раскатистый смех то и дело сотрясал коридоры Кавендишской лаборатории. Будучи штатным теоретиком в Лаборатории молекулярной биологии, он обычно выдавал блестящую идею не реже раза в месяц и любил подробно объяснять свою свежую идею всем, кто был готов его слушать. В то утро, когда мы познакомились, он просто просиял, узнав, что я приехал в Кембридж с намерением как следует изучить кристаллографию и взяться за изучение структуры ДНК. Вскоре я поинтересовался у Крика, как он смотрит на то, чтобы попытаться воспроизвести эту структуру в духе полинговского моделирования. Придется ли еще много лет заниматься дифракцией, пока эти

эксперименты перейдут из теоретической плоскости в практическую? Чтобы мы поскорее набрали темп изучения структуры ДНК, Крик подключил к делу Мориса Уилкинса, с которым дружил еще с военных лет. Он пригласил Уилкинса заглянуть к нам из Лондона на воскресный ланч. Тогда мы и смогли узнать, каких успехов Уилкинс добился уже после лекции в Неаполе.

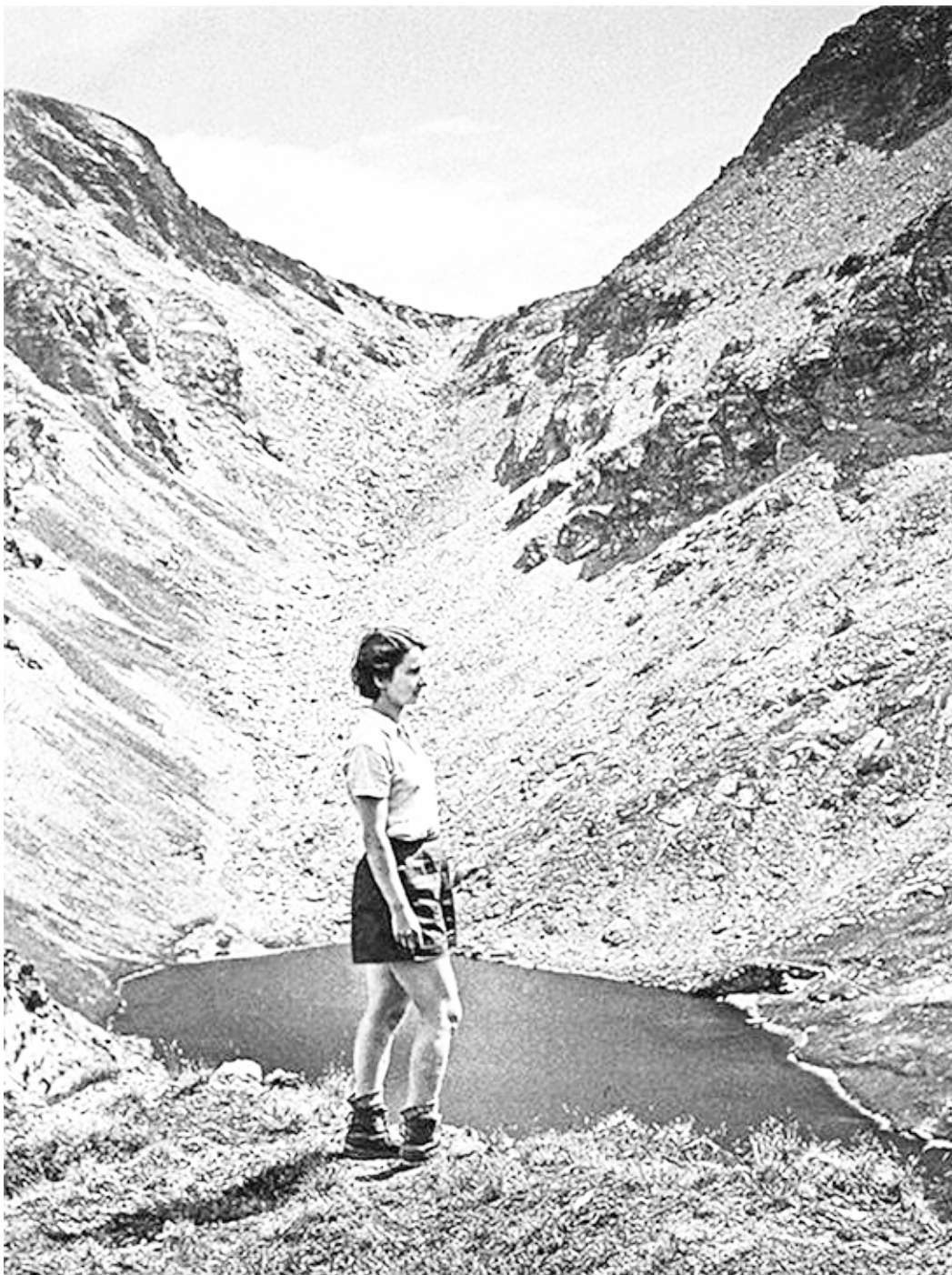
Уилкинс сказал, что ДНК, на его взгляд, напоминает по форме спираль, состоящую из нескольких цепочек связанных между собой нуклеотидов, закрученных одна вокруг другой. Оставалось выяснить, сколько же этих цепочек. На тот момент Уилкинс полагал, что их три, опираясь на собственноручно полученные данные о плотности молекулы ДНК. Он набрался смелости и сам приступил к моделированию, но вскоре столкнулся с серьезной преградой в лице новой сотрудницы биофизического отделения Кингс-Колледжа Розалинд Франклин.

Розалинд Франклин исполнился тридцать один год; она получила в Кембридже диплом по физической химии. Франклин была патологически профессиональной исследовательницей. Когда ей исполнилось двадцать девять, она попросила на день рождения лишь подписку на отраслевой журнал, посвященный сфере ее научных интересов: *Acta Crystallographica*. Взвешенная и щепетильная, она терпеть не могла тех, кто такими качествами не обладал. Кроме того, она бросалась резкими характеристиками – так, однажды назвала своего научного руководителя Рональда Норриша, будущего нобелевского лауреата, «тупым, уколобым, вероломным, невоспитанным тираном». Вне лаборатории она была завзятой и энергичной альпинисткой, сама происходила из высших кругов лондонского общества и принадлежала к более элитарному социуму, нежели большинство ученых. По окончании тяжелого рабочего дня она могла непринужденно сменить лабораторный халат на элегантный вечерний туалет и исчезнуть в ночи.

Не успела Франклин вернуться с четырехлетней стажировки из Парижа, где занималась исследованием графита методами рентгеновской кристаллографии, как сразу была назначена в проект по изучению ДНК, в то время Уилкинс некоторое время отсутствовал в Кингс-Колледже. Время показало, к великому сожалению, несовместимость этой пары. Франклин была прямолинейна и придирчиво относилась к фактам, а Уилкинс – сдержан и склонен к теоретизированию. Команды из них не вышло. Незадолго до того, как Уилкинс принял наше приглашение на ланч, они с Розалинд сильно повздорили. Она настаивала, что ни о каком моделировании ДНК и речи быть не может, пока он не соберет более

подробной информации методом дифракционного анализа. На тот момент они фактически не общались, и Уилкинс мог узнать о ее достижениях только на лабораторном семинаре, который она назначила на начало ноября. Стало очевидно, что если мы с Криком хотели бы ее послушать, то должны были прибыть туда как гости Уилкинса.

Крик не смог выбраться на этот семинар, поэтому я поехал туда один, а затем вкратце изложил Крику, на мой взгляд, ключевые выводы о кристаллической структуре ДНК. В частности, я по памяти описал результаты Франклин, касавшиеся кристаллографической повторяемости и содержания молекул воды. Поэтому Крик попробовал вычертить на бумаге спиралевидные сети, объясняя, что новая «спиральная» рентгеновская теория, которую он разработал совместно с Биллом Кокрейном и Владимиром Вандом, позволит даже мне, когда-то увлекавшемуся наблюдением за птицами, правильно прогнозировать «дифракционные узоры», соответствующие тем молекулярным моделям, которые мы вскоре станем собирать в Кавендишской лаборатории.



Розалинд Франклин на одной из каникулярных вылазок в горы, которыми она очень увлекалась

Когда мы вернулись в Кембридж, я сделал заказ в кавендишской механической мастерской на изготовление моделей атомов фосфора, нужных нам для сборки азотистых оснований и фосфатных групп остова ДНК. Получив эти модели, мы стали пробовать разные варианты того, как

такие цепи могут обвиваться одна вокруг другой в центре молекулы ДНК. Правильная повторяющаяся атомная структура должна была гарантировать, что атомы образуют согласованный регулярный рельеф молекулы. По подсказке Уилкинса мы сосредоточились на моделях, состоящих из трех цепей. Когда одна из них показалась довольно правдоподобной, Крик позвонил Уилкинсу и объявил, что мы, кажется, построили модель, которая может соответствовать структуре ДНК.

На следующий день Уилкинс и Франклин явились посмотреть на результаты наших трудов. Опасаясь конкуренции с нашей стороны, они ненадолго объединились ради общей цели. Франклин не стала разминаться на придирки к нашей базовой концепции. Помню только, она отметила, что вода в кристаллической структуре ДНК практически отсутствует, хотя на самом деле все оказалось в точности наоборот. Я был не слишком подкован в кристаллографии, поэтому перепутал термины «элементарная ячейка» и «независимая область». В действительности кристаллическая ДНК богата водой. Следовательно, сказала Франклин, остов должен располагаться с внешней стороны молекулы, а не в центре нее, хотя бы с учетом того, сколько молекул воды она наблюдала в своих кристаллах.

Этот злосчастный ноябрьский день повлек за собой целый шлейф последствий. Франклин лишь уверилась в своем нежелании заниматься моделированием. Она собиралась продолжать эксперименты, а не играть в конструктор. Хуже того, сэр Лоуренс Брэгг передал нам с Криком, чтобы мы воздержались от всяких попыток собрать модель ДНК. Впоследствии было предписано передать все исследования ДНК в лабораторию Кингс-Колледжа, а в Кембриджской лаборатории сосредоточиться сугубо на работе с белками. Не было смысла в такой конкуренции между двумя подразделениями, финансируемыми Лабораторией молекулярной биологии. Поскольку у нас с Криком не осталось блестящих идей, мы нехотя отступили, по крайней мере на время.

Был не лучший момент, чтобы перебираться в научные дисциплины, смежные с исследованием ДНК. Полинг написал Уилкинсу и попросил у того копию узора кристаллографической дифракции ДНК. Пусть Уилкинс и отказал, сославшись на то, что ему требуется дополнительное время, чтобы самому проанализировать полученные данные, Полинг отнюдь не был обязан, сложа руки, ждать информации из Кингс-Колледжа. При желании он мог и сам приступить к серьезным исследованиям рентгеновской дифракции в Калифорнийском технологическом институте.

Следующей весной я послушно отложил занятия ДНК и принялся за

доработку довоенных исследований, посвященных вирусу палочковидной табачной мозаики, вооружившись новым мощным кавендишским генератором рентгеновских лучей. Это была несложная экспериментальная работа, оставлявшая мне массу времени для библиографических поисков в разнообразных кембриджских библиотеках. Так, в зоологическом корпусе я прочел статью Эрвина Чаргаффа, в которой тот описывал свое открытие. Оказалось, что основания аденин и тимин содержатся в ДНК в приблизительно равных объемах и гуанин и цитозин – тоже в приблизительно равных. Крик, узнав об этих соотношениях «1:1», заинтересовался, а могут ли адениновые остатки при репликации ДНК быть комплементарны тимину, и, наоборот, может ли аналогичное сродство существовать между гуанином и цитозином. В таком случае последовательности оснований из «исходных» цепочек (например, А-Т-Г-Ц) должны быть комплементарны последовательностям «конечных» последовательностей (в данном случае Т-А-Ц-Г).

Эти мысли так бы и оставались только теоретическими умозаключениями, если бы Эрвин Чаргафф не заглянул в Кембридж летом 1952 года, направляясь на Международный биохимический конгресс в Париж. Чаргафф расстроился, что ни я, ни Крик даже не пытались определить химический состав этих четырех оснований. Он еще более разочаровался, когда мы сказали, что ведь можно просто проверить их состав по справочнику, если возникнет подобная необходимость. Нам оставалось только надеяться, что данные Чаргаффа окажутся нерелевантны. Однако Крик всерьез собрался поставить несколько экспериментов и поискать молекулярные «сэндвич-структуры», которые могли бы образовываться при смешивании в растворе аденина и тимина (либо, напротив, гуанина и цитозина). Но эти эксперименты не дали результатов.

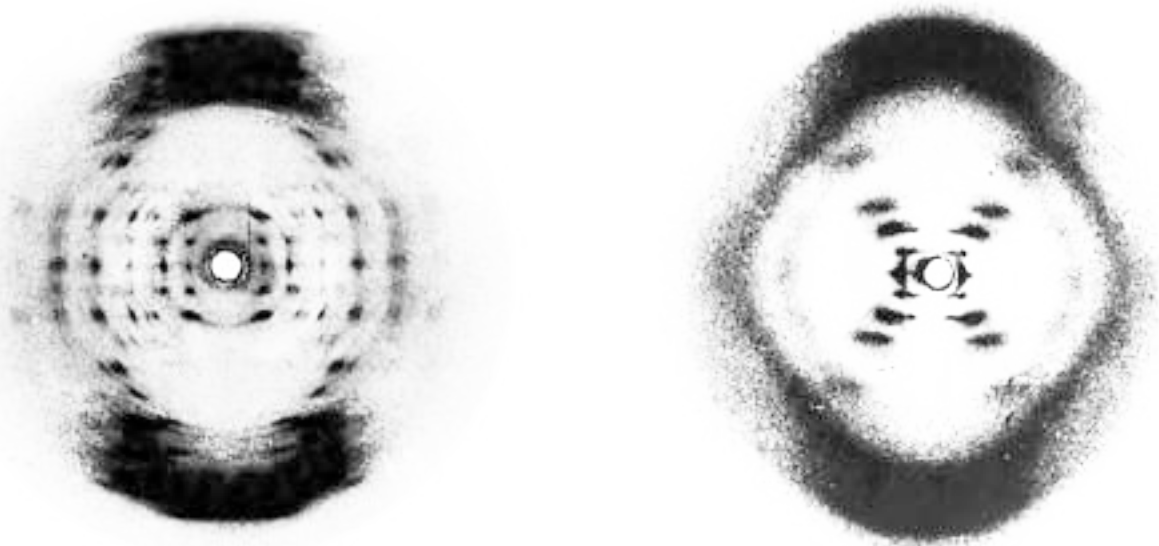
Полинг, как и Чаргафф, также присутствовал на Международном биохимическом конгрессе, где главной новостью стали последние результаты, полученные группой «Фейдж». Альфред Херши и Марта Чейз из Колд-Спринг-Харбора как раз подтвердили описанный Эвери принцип трансформации: да, наследственная информация передается именно через ДНК! Херши и Чейз доказали, что, как только ДНК бактериофага попадает в бактериальные клетки, белковая оболочка остается снаружи. Стало совершенно очевидно: чтобы докопаться до сущности генов, необходимо понять ДНК на молекулярном уровне. Теперь, когда результаты Херши и Чейз превратились в тему для всеобщего обсуждения, я не сомневался, что Полинг употребит свой интеллект титана науки и мудрость химика на

решение проблемы ДНК.

В начале 1953 года Полинг действительно опубликовал статью с описанием структуры ДНК. Прочитав ее в захлеб, я обнаружил, что он предлагает модель из трех молекулярных цепочек с сахарофосфатными остовами, образующими плотное ядро. На первый взгляд, эта модель походила на ту модель, которую мы буквально сотворили «на коленке» и предложили пятнадцатью месяцами ранее. Однако в модели Полинга для стабилизации отрицательно заряженных участков не использовались положительно заряженные атомы, например ионы Mg^{2+} , а было предложено нетривиальное решение: он предположил, что фосфаты удерживаются вместе благодаря водородным связям. Однако мне, биологу, казалось, что такие водородные связи могли существовать лишь в условиях исключительной кислотности, которая никогда не наблюдалась в живых клетках. Я опрометью ринулся в химическую лабораторию Александра Тодда и убедился: да, произошло невозможное. Известнейший, а может, и величайший химик в мире напутал с химией. Фактически Полинг вышиб из ДНК букву «К». Мы исследовали дезоксирибонуклеиновую кислоту, но предложенная Полингом формула даже не была кислотной.

Я прихватил рукопись и поспешил в Лондон, чтобы сообщить Уилкинсу и Франклин, что мы по-прежнему в игре. Франклин была уверена, что ДНК никакая не спираль, и не захотела даже читать статью и забивать себе голову идеями Полинга, несмотря на то что я изложил ей весомые аргументы Крика в пользу спиральности ДНК. А вот Уилкинс живо заинтересовался новостями, которые я привез; теперь он был как никогда уверен в том, что ДНК именно спираль. В качестве подтверждения он показал мне фотоснимок, сделанный более полугода назад аспирантом Франклин по имени Раймонд Гослинг, который облучал рентгеном так называемую В-форму ДНК. Франклин просто отложила в сторону этот снимок, который впоследствии стал известен под названием «Фото 51», и предпочла вплотную исследовать А-форму, которая, на ее взгляд, могла дать больше полезной информации. В-форма в рентгеновских лучах имела отчетливую крестовидную форму. Поскольку Крик и другие исследователи уже определили, что такой рисунок будет давать именно спиралевидная структура, это стало весомым доказательством в пользу того, что ДНК просто обязана быть спиралью! На самом деле, несмотря на сомнения Франклин, никакого сюрприза здесь не крылось. По законам геометрии спираль представлялась наиболее логичным вариантом укладки длинной нити из повторяющихся элементов, таких как нуклеотиды ДНК. Однако мы все еще не знали, как выглядит эта спираль и сколько в ней цепочек.

Настало время вернуться к сборке спиралевидных молекул ДНК. Полинг рано или поздно все равно бы убедился, что ошибся с формой молекулы. Я убеждал Уилкинса не терять времени. Однако он хотел дожидаться, пока Франклин вернется из отъезда. Той весной у нее была плановая командировка в другую лабораторию. Она решила продолжать работу там, поскольку в Кингс-Колледже она чувствовала себя некомфортно. Перед отъездом она получила распоряжение приостановить исследования ДНК и уже успела передать Уилкинсу многие из своих дифракционных снимков.



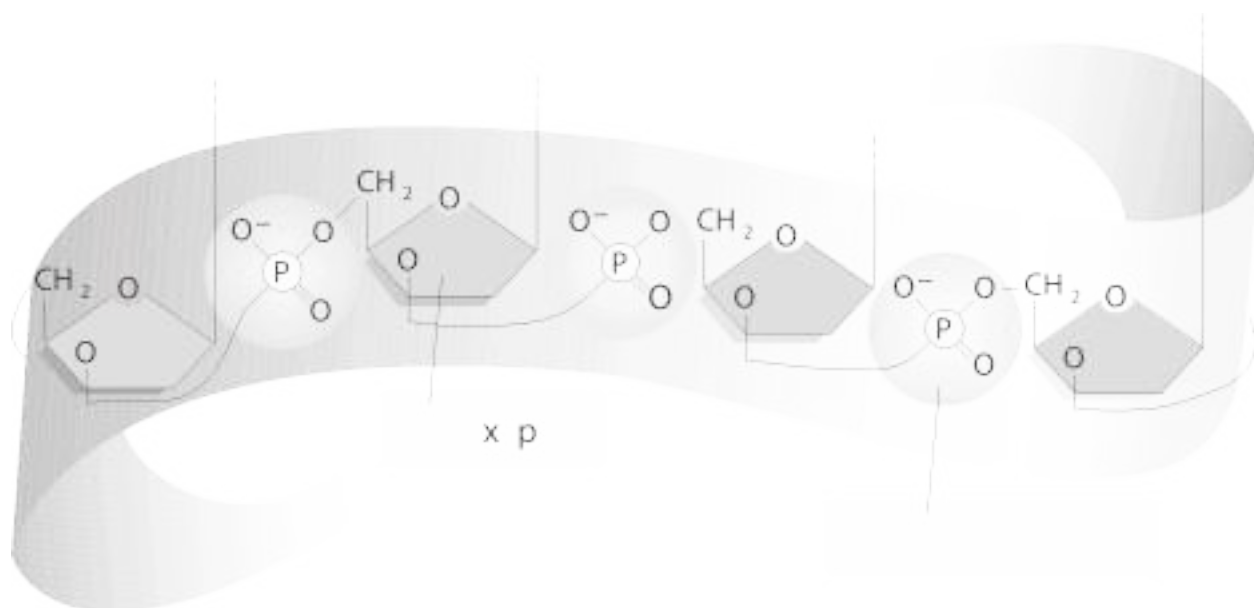
Снимки А- и В-форм ДНК, сделанные в рентгеновском диапазоне соответственно Уилкинсом (слева) и Франклин (справа). Различия в молекулярной структуре обусловлены разным содержанием воды в первой и во второй формах молекулы ДНК

Когда я вернулся в Кембридж и сообщил сенсационные новости о В-форме ДНК, Брэгг уже не видел никаких причин запрещать нам с Криком исследовать эту молекулу. Поэтому мы вернулись к сборке моделей и поиску того, как могут складываться в спираль базовые компоненты ДНК – остов молекулы и четыре разных основания: аденин, тимин, гуанин и цитозин. Я заказал в кавендишской мастерской набор оловянных моделей этих оснований, но мастера не успели изготовить их достаточно быстро; пришлось довольствоваться грубыми вырезками из плотного картона.

К тому моменту я осознал, что результаты измерения плотности ДНК свидетельствуют в пользу двух, а не трех цепочек. Поэтому решил рассмотреть правдоподобные варианты двойных спиралей. Мне как

биологу было логичнее представить, что генетическая молекула должна состоять из двух, а не из трех частей. В конце концов, число хромосом (как и клеток) при делении удваивается, а не утраивается.

Я знал об ошибочности нашей предыдущей модели, где остов располагался внутри, а основания торчали от него в стороны. Данные от химиков из Ноттингемского университета, которые я так долго игнорировал, показывали, что основания должны быть сцеплены водородными связями. Они могли складываться на основе таких связей в стройную структуру, соответствующую данным рентгеновской дифракции, лишь если бы находились в центре молекулы. Однако как в таком случае они могли быть парными? На протяжении двух недель я находился в тупике из-за ошибки в учебнике по химии. К счастью, 27 февраля в Кавендишскую лабораторию заехал Джерри Донохью, химик-теоретик из Калифорнийского технологического института. Он и указал мне на ошибку в учебнике. Так что я поменял положения атомов водорода на картонных моделях молекул.



Химический остов ДНК

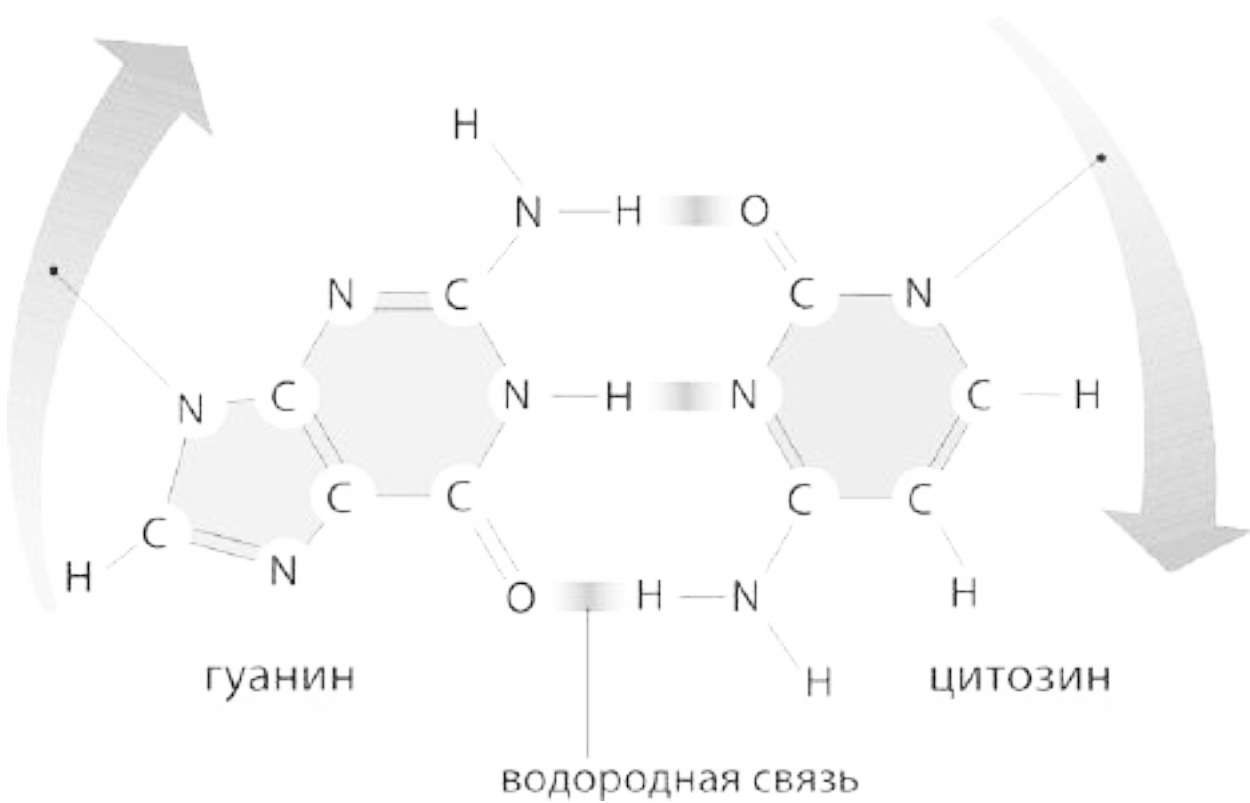
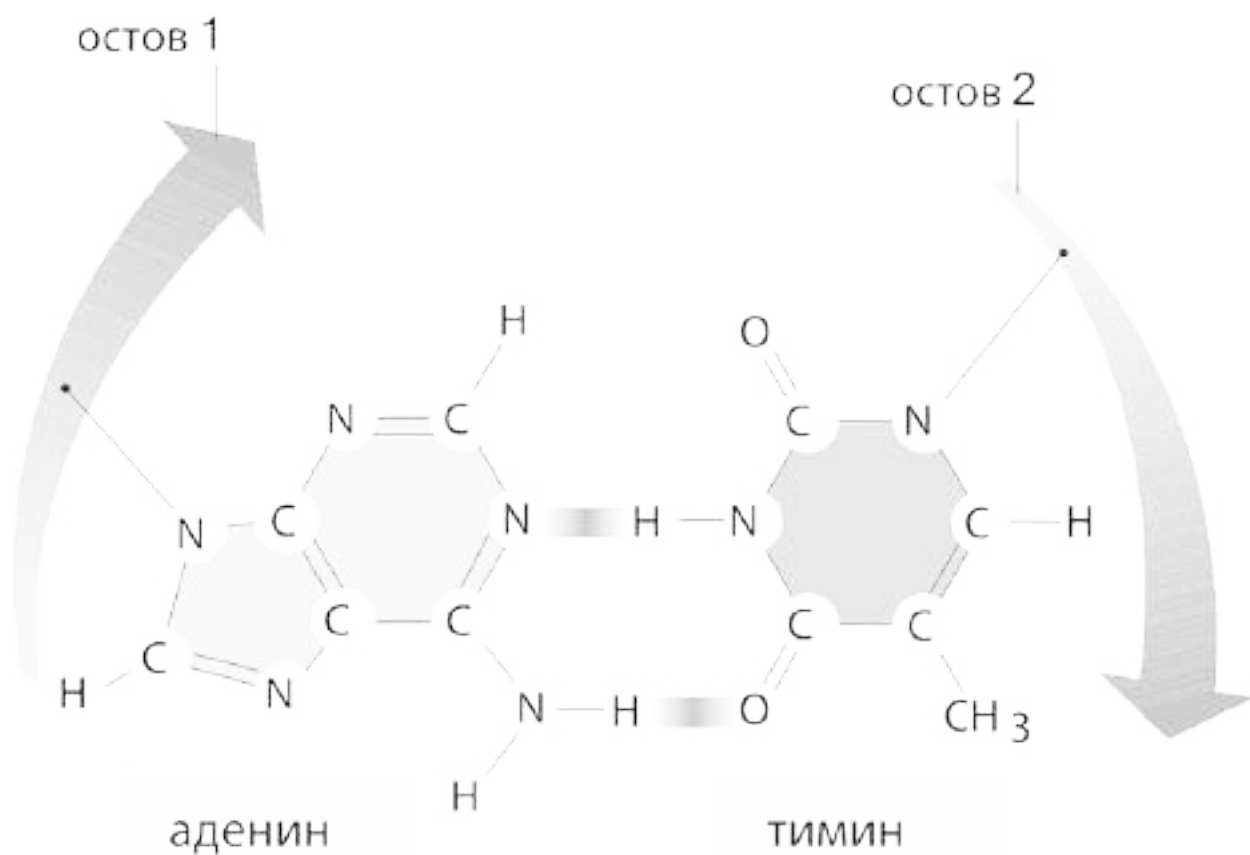
На следующее утро, 28 февраля, все ключевые компоненты модели ДНК наконец встали на свои места. Две цепочки удерживались вместе благодаря крепким водородным связям между парами оснований аденин – тимин и гуанин – цитозин. Подтвердились выводы, которые сделал Крик еще год назад на основании результатов исследований Чаргаффа. Аденин действительно связывается с тимином, а гуанин – с цитозином, но не

плоскими гранями, как булочки в молекулярном «сэндвиче». Прибыл Крик, все это быстро осмыслил и одобрил мою схему парных оснований. Он сразу понял, что в таком случае возникает двойная спираль, нити которой идут в противоположных направлениях.

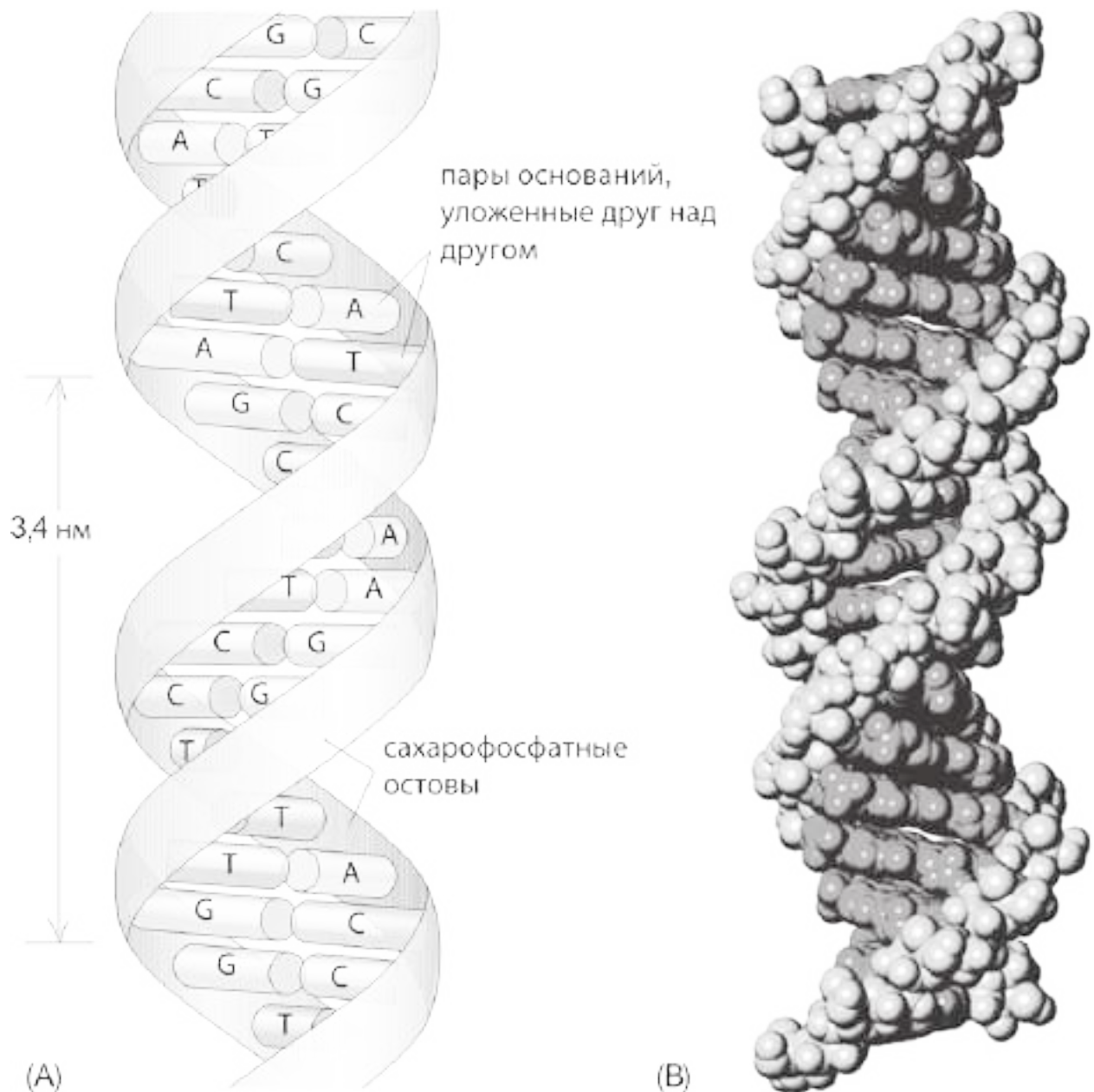
Это был знаковый момент. Мы чувствовали, что это оно, то самое открытие. Нечто столь простое и красивое должно было оказаться верным. Нас особенно потрясло, как основания из двух цепочек дополняют друг друга. Если знать последовательность, то есть порядок оснований, в одной цепи, то сразу открывается и последовательность оснований в другой цепи. Сразу становилось ясно, что именно эта структура обеспечивает такую точность при репликации хромосом перед делением клеток. Молекула «расстегивается» на две самостоятельные спирали. Каждая одиночная спираль служит своеобразным шаблоном для сборки второй спирали, из одной двойной спирали получаются две.

В книге *«Что такое жизнь?»* Шрёдингер предположил, что язык, на котором написана жизнь, может напоминать азбуку Морзе, состоящую из точек и тире. Он был почти прав. Код ДНК состоит из линейных последовательностей А, Т, Г и Ц. Точно так же, как при копировании книжной страницы вручную может возникнуть странная опечатка, так и при копировании всех этих А, Т, Г и Ц по всей длине хромосомы изредка вкрадываются ошибки. Это и есть мутации, о которых генетики рассуждали уже почти полвека. Заменим «о» на «ы» – и «дом» превратится в «дым». Заменим «Т» на «Ц» – и основание АТГ в ДНК превратится в АЦГ.

Двойная спираль была логична как с химической, так и с биологической точки зрения. Теперь можно было забыть о шрёдингеровской гипотезе по поводу иных законов физики, которые могли бы понадобиться, чтобы понять, как копируется наследственный генетический код. Гены укладывались в обычную химию. Позднее в тот же день мы обедали в пабе «Игл», буквально примыкающем к Кавендишской лаборатории, и Крик, у которого рот не закрывался, все-таки не удержался и объявил во всеуслышание, что мы открыли «тайну жизни». Меня эта мысль волновала не меньше, но я бы предпочел подождать, пока мы сделаем красивую трехмерную модель и сможем с нею покрасоваться.



Наше озарение, благодаря которому все сложилось: пары оснований комплементарны



Основания и остов на месте: получается двойная спираль. А. Схематичное изображение пар оснований, связывающих нити двойной спирали. В. Масштабная пространственная модель, демонстрирующая атомный состав молекулы

Одним из первых, кто услышал о нашей модели, был Майкл, сын Френсиса Уотсона. Майклу тогда было двенадцать, и он учился в школе-

пансионе. Френсис написал Майклу семистраничное письмо о «важнейшем открытии», приложив к нему весьма качественный набросок двойной спирали. Он описал структуру ДНК как «длинную цепочку, из которой торчат пластинки», и предложил Майклу взглянуть на эту модель, когда тот в следующий раз придет домой. Подписал восточку «сильно-сильно люблю тебя. Папа». (Майкл поступил достойно: он много лет хранил это письмо, а в 2013 году продал с аукциона за рекордную сумму 5,3 миллиона долларов, и половину этой суммы Майкл пожертвовал Институту Солка, где Френсис, скончавшийся в 2004 году, спокойно провел последние годы.)

Среди первых, кому мы показали нашу демонстрационную модель двойной спирали, был химик Александер Тодд. Он одновременно удивился и обрадовался, что ген устроен так просто. Правда, впоследствии он, должно быть, задумывался, почему в его лаборатории, где был определен общий химический состав ДНК, никто даже не попытался построить трехмерную модель укладки цепочек ДНК. Нет, суть молекулы довелось открыть двум парням, биологу и физику, и оба они не владели химией даже на университетском уровне. Однако, как ни парадоксально, отчасти именно этим и объясняется наш успех: мы с Криком первыми докопались до структуры двойной спирали, поскольку большинство химиков считали молекулу ДНК слишком крупной, чтобы подступиться к ней на уровне химического анализа.

My Dear Mother
 Cambridge
 14 April 1953

My Dear Mother,

Jim Watson and I have probably made a
 most important discovery. We have built a model for
 the structure of deoxy-ribose-nucleic-acid (now is
 usually called DNA for short. You may remember
 how the genes of the chromosome - which carry the
 hereditary factors - are made up of proteins and
 DNA.

Our structure is very beautiful. DNA
 can be thought of roughly as a very long chain
 with four little rings on it. In the first
 two are called the bases. The fourth is called



Model looks much nicer than this.

Now the exciting thing is that while these
 different bases, we find we can only

pair certain pairs of them together. We
 have names. They are Adenine, Guanine,
 Cytosine. I will call them A, G, T

Now we find that the pairs

③

In other words, if we think we have found the
 basic copying mechanism by which life comes from life.

The beauty of our model is that the shape of it
 is such that only these pairs can go together,
 though they could pair up in other ways if they
 were floating about freely. You can understand

that we are very excited. We have to have
 a letter off to Nature in a day or so.

Please read this carefully so that you
 understand it. When you come home we will
 show you the model.

lots of love,
 Daddy.

За пять недель до того, как модель двойной спирали была опубликована в журнале *Nature*, Крик признался в нашем открытии своему сыну Майклу в рукописном письме (вы видите отрывки из него). В 2013 году письмо было продано с аукциона за рекордные 5,3 миллиона долларов

В то же время те двое химиков, которые пытались вообразить трехмерную структуру ДНК, допустили крупные тактические ошибки. Розалинд Франклин упрямо не хотела собирать объемные модели, а Лайнус Полинг просто не потрудился почитать имевшуюся литературу по ДНК, в частности данные о составе оснований, опубликованные Чаргаффом. По иронии судьбы, Полинг и Чаргафф отправились через Атлантику на Парижский биохимический конгресс 1952 года на одном и том же корабле, но так и не наладили контакт друг с другом. Полинг привык к тому, что он всегда прав. Считал, что нет такой химической задачи, которую он не смог бы самостоятельно решить, исходя из чисто теоретических принципов. В обычной ситуации такая уверенность была уместна. Во время холодной войны он проявил себя как авторитетный критик американской ядерной программы, и после одной из лекций его даже допросили сотрудники ФБР. Их интересовало, откуда он знает, сколько плутония в атомной бомбе. Полинг ответил: «Никто мне не рассказывал. Сам определил».

В течение нескольких следующих месяцев Крик и я, хотя и в меньшей степени, с упоением хвастались нашей моделью перед любопытными учеными, которые шли к нам сплошным потоком. Однако биохимики из Кембриджа даже не предложили нам выступить с официальной лекцией в биохимическом корпусе. Нас даже прозвали «WC» – подкалывали, ведь такой аббревиатурой в английском языке обозначается туалет. Их раздражало, что мы открыли двойную спираль без всяких экспериментов.

Мы послали рукопись в журнал *Nature* в начале апреля, но статью опубликовали лишь три недели спустя, 25 апреля 1953 года. Одновременно с нашей работой были опубликованы две более объемные статьи – от Франклин и Уилкинса; обе они в общих чертах подкрепляли нашу модель. Лишь показав им нашу рукопись, мы осознали, что примерно двумя неделями ранее Розалинд принялась пристально исследовать В-форму ДНК и практически сразу пришла к выводу, что эта молекула имеет форму двойной спирали. Но она не догадалась, что такая спираль скреплена парами оснований А – Т и Г – Ц.

В июне я впервые презентовал нашу модель в Колд-Спринг-Харборе на семинаре по вирусологии. Макс Дельбрюк похлопотал, чтобы меня пригласили выступить там. Но позвали в последний момент. Я принес на

это крайне интеллектуальное мероприятие объемную модель, собранную в Кавендишской лаборатории. Пары аденин – тимин были красными, а гуанин – цитозин – зелеными.

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Frazer (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.



This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining β -D-deoxy-ribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furburg's² model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furburg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z -direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases

are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z -co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally^{3,4} that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data^{3,4} on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on inter-atomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at King's College, London. One of us (J. D. W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the
Study of the Molecular Structure of
Biological Systems,
Cavendish Laboratory, Cambridge.
April 2.

¹ Pauling, L., and Corey, R. B., *Nature*, **171**, 368 (1953); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **29**, 84 (1953).

² Furburg, S., *Acta Chem. Scand.*, **4**, 654 (1952).

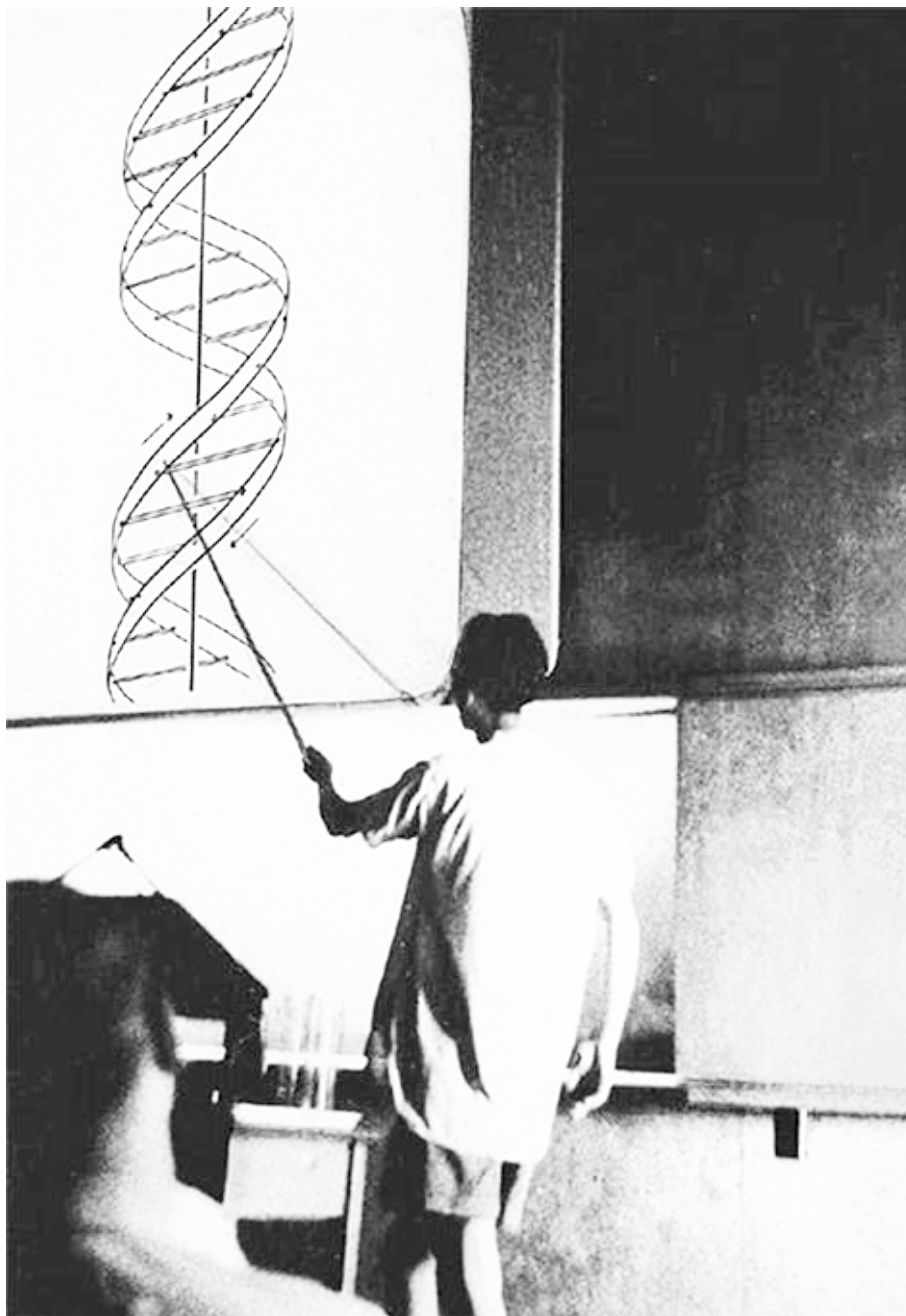
³ Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Brarwerman, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **2**, 402 (1952).

⁴ Wyatt, G. R., *J. Gen. Physiol.*, **24**, 203 (1952).

⁵ Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **1**, Nucleic Acid, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).

⁶ Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, **10**, 192 (1953).

Коротко и ясно: статья из журнала Nature с анонсом нашего открытия. Той же проблеме были посвящены две более объемные статьи – Розалинд Франклин и Мориса Уилкинса

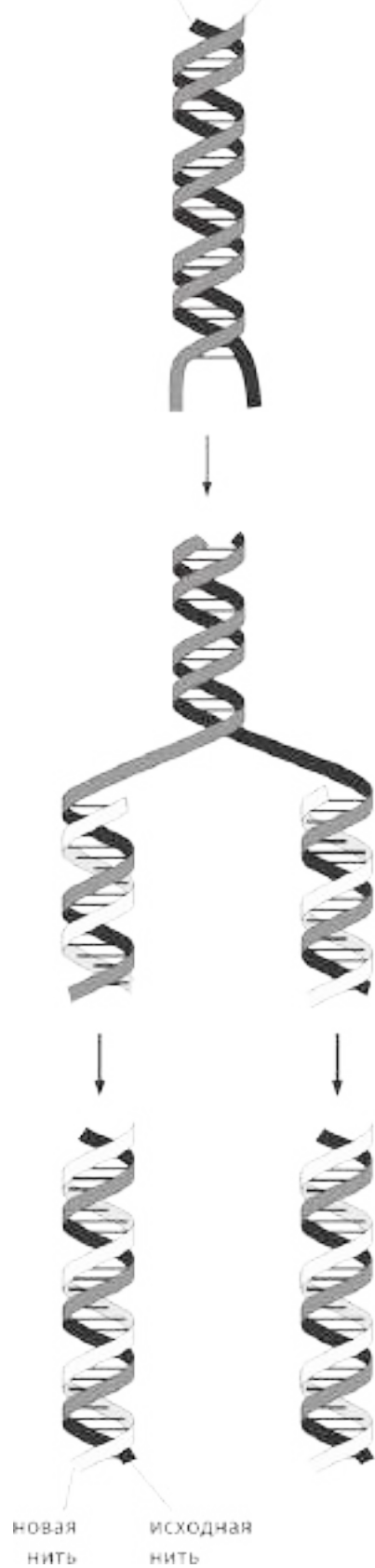


Расплетаю двойную спираль: моя лекция в лаборатории Колд-Спринг-Харбор, июнь 1953

В аудитории присутствовал Сеймур Бензер, бывший физик, который развивал идеи из книги Шрёдингера. Он сразу же понял всю важность

нашего исследования для изучения мутаций у вирусов. Он осознал, что теперь с коротким фрагментом ДНК бактериофага можно сделать то же самое, что ученики Моргана пятьюдесятью годами ранее проделывали с хромосомами дрозофил. Он собирался картировать мутации, то есть определять их последовательность, в рамках гена, так же как первые исследователи плодовых мушек картировали порядок генов в пределах хромосомы. Сеймур Бензер, как и Морган, считал, что каждый новый генетический набор должен образовываться путем рекомбинации. Однако если Морган в своей работе мог опираться на готовый механизм рекомбинации, отвечающий за образование половых клеток у дрозофилы, то Бензеру приходилось запускать рекомбинацию путем введения в бактерию, выступающую в роли клетки хозяина, двух разных бактериофагов, которые бы различались одной или более мутациями в исследуемом фрагменте ДНК. Внутри бактериальной клетки иногда могла происходить рекомбинация – обмен фрагментами молекул – между двумя разными вирусными ДНК. В результате возникали новые наборы мутаций, так называемые рекомбинанты. Всего за один год ошеломительно плодотворной работы в своей лаборатории в Университете Пердью Сеймур Бензер составил карту одного бактериального гена, *rII*, продемонстрировав, что в вирусной ДНК одна за другой упорядочиваются последовательные мутации, каждая из которых – очередная ошибка в генетическом сценарии. Этот язык оказался простым и линейным, все равно что строка текста на странице.

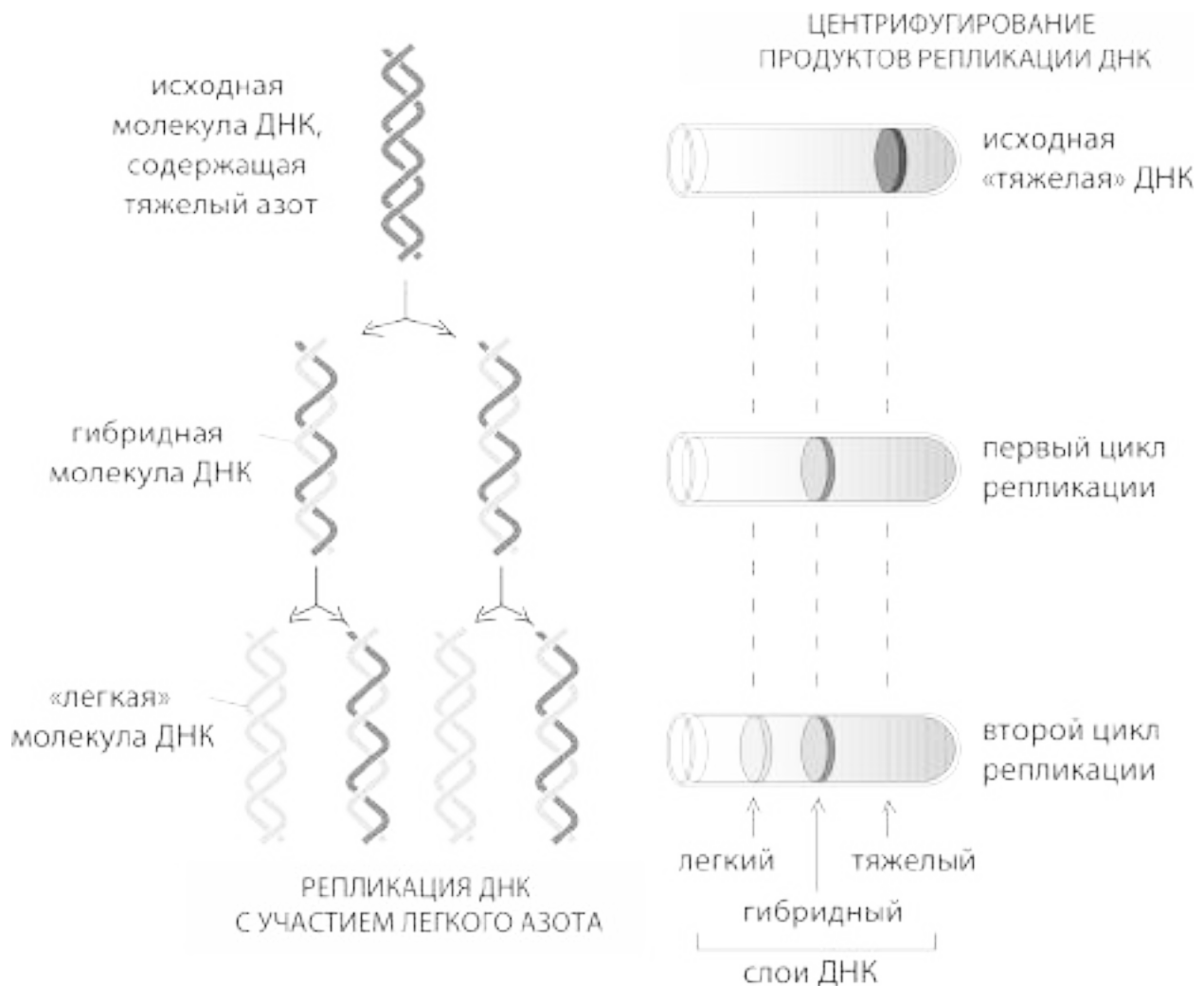
2 исходные нити



Репликация ДНК: двойная спираль расстегивается, как молния, и обе нити копируются

Венгерский физик Лео Сцилард отреагировал на мою лекцию о ДНК, прочитанную в Колд-Спринг-Харборе, не столь академично. Он поинтересовался: «Вы можете это запатентовать?» Некоторое время основным источником доходов Сциларда был полученный совместно с Эйнштейном патент, который Сцилард впоследствии безуспешно пытался повторно заявить вместе с Энрико Ферми, – речь шла о ядерном реакторе, который они совместно сконструировали в 1942 году в Университете Чикаго. Однако как тогда, как и сейчас патенты выдавались лишь на те изобретения, которые имели практическую пользу, а в те времена никто не мог даже помыслить, каким образом можно было бы практически применять ДНК.

Однако в головоломке двойной спирали оставался еще один незавершенный фрагмент: нашу версию о том, что ДНК при репликации расстегивается, как молния, предстояло проверить экспериментально. Например, Макс Дельбрюк версия казалась неубедительной. Сама модель двойной спирали ему нравилась, но он опасался, что при расстегивании по принципу молнии она может спутываться в ужасные узлы. Пять лет спустя эти опасения были развеяны после публикации работы Мэтта Мезельсона, бывшего ученика Лайнуса Полинга, и Франка Шталя, молодого перспективного сотрудника группы «Фейдж». Они опубликовали результаты одного очень красивого эксперимента.



Эксперимент Мезельсона – Штала

Мэтт Мезельсон и Франк Шталь познакомились летом 1954 года в Лаборатории морской биологии в Вудс Холле, штат Массачусетс, где я в ту пору читал лекции, и – после изрядного количества джина с мартини – условились, что им следует вместе заняться наукой. Результат их сотрудничества был охарактеризован как «самый красивый биологический эксперимент».

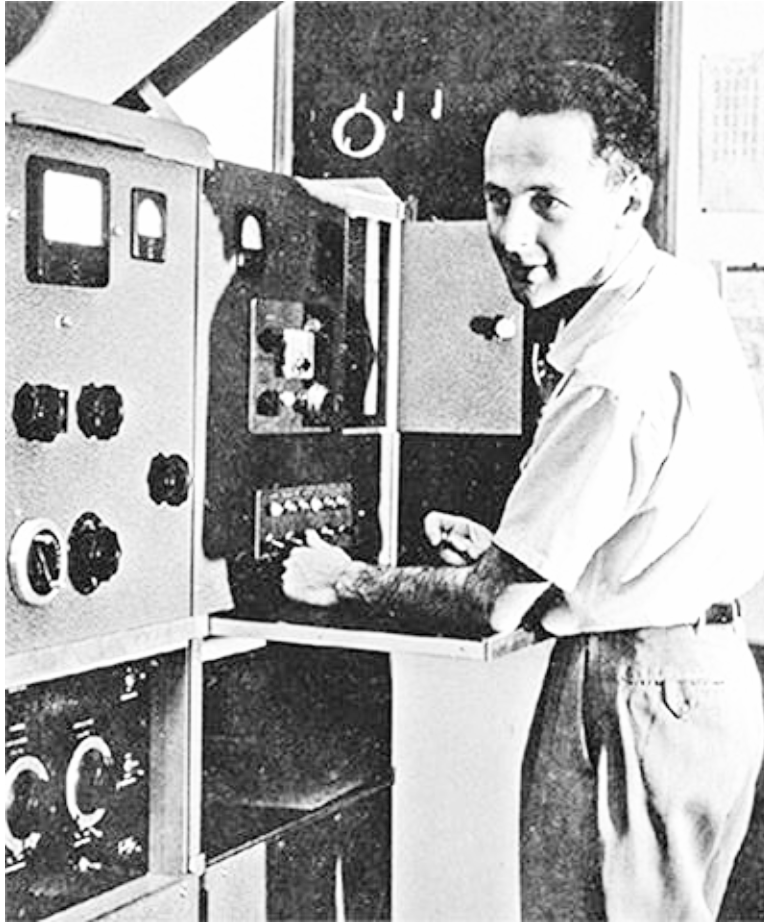
Они воспользовались методом центрифугирования и смогли отсортировать молекулы по весу, хотя разница и была минимальной. Благодаря вращению центрифуги сравнительно тяжелые молекулы скапливались на дне пробирки, а более легкие – над ними. Поскольку в состав ДНК входят атомы азота (N) и поскольку есть два изотопа азота – один тяжелее, другой легче, – Мезельсон и Шталь смогли пометить сегменты ДНК и таким образом отследить процесс их репликации у

бактерий. Исходно все бактерии выращивались в среде, содержащей тяжелый азот, и, таким образом, его атомы встраивались в обе нити ДНК. Ученые взяли образец этой культуры, перенесли его в среду, содержащую только легкие атомы азота, и при репликации в ДНК стал попадать только легкий азот. Если мы с Криком были правы относительно того, что ДНК при репликации расстегивается, как молния, и обе нити копируются, то две образующиеся в результате «дочерние» молекулы ДНК должны бы были получиться гибридными. В каждой была бы одна нить с тяжелыми атомами азота, послужившая шаблоном и взятая из исходной молекулы, и одна нить с легким азотом (собранная уже в новой среде). Центрифугирование, проведенное Мезельсоном и Шталем, дало именно такой результат. В центрифужных пробирках они обнаружили три четких слоя ДНК. Молекулы с сочетанием тяжелых и легких атомов азота расположились посередине; над ними были молекулы только с легким азотом, а под ними – только с тяжелым. Репликация ДНК происходила именно так, как описано в нашей модели.

Примерно в то же время биохимический механизм репликации ДНК анализировали в лаборатории Артура Корнберга в Университете им. Дж. Вашингтона в Сент-Луисе. Разработав новую, «внеклеточную» систему синтеза ДНК, Корнберг открыл особый фермент – ДНК-полимеразу, – скрепляющий элементы ДНК и обеспечивающий образование химических связей в остове ДНК. Выполненный Корнбергом синтез ДНК с использованием фермента ДНК-полимеразы оказался столь неожиданным и важным событием, что уже в 1959 году, менее чем через два года после ключевых экспериментов, Корнберг был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине. После объявления о том, что Корнберг стал лауреатом этой премии, он сфотографировался с копией той модели двойной спирали, которую я возил в Колд-Спринг-Харбор в 1953 году.



Артур Корнберг на момент присуждения ему Нобелевской премии



Мэтт Мезельсон с ультрацентрифугой – аппаратом, в котором был проведен «самый красивый биологический эксперимент»



Вошла в роль: Николь Кидман снискала восторженные отзывы за роль Розалинд Франклин в театральной постановке «Фотография 51» компании Уэст-Энд (2015) по одноименной пьесе Анны Циглер (Anna Ziegler). Здесь Кидман рассматривает красивое рентгенографическое изображение, в честь которого и названа пьеса

Лишь в 1962 году Френсис Крик, Морис Уилкинс и я сам получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине. Розалинд Франклин четырьмя годами ранее безвременно скончалась от рака яичников – ей было

всего тридцать семь лет. Незадолго до того они с Криком хорошо сработались и стали настоящими друзьями. После двух онкологических операций, которые так и не остановили рост раковой опухоли, Франклин любила прогуливаться в Кембридже с Криком и его женой Одиль.

В Нобелевском комитете существовало и продолжает соблюдаться строгое правило: никогда не делить одну премию более чем на двое. Если бы Франклин выжила, то возникла бы дилемма, кому присудить часть премии: ей или Морису Уилкинсу. Шведы могли бы решить эту проблему, удостоив в тот год их обоих Нобелевской премии по химии. Однако в данном случае эту премию по химии получили Макс Перуц и Джон Кендрю, выяснившие соответственно объемные структуры гемоглобина и миоглобина.

Меня много критиковали за то, как я охарактеризовал Розалинд Франклин в моей опубликованной в 1968 году книге *«Двойная спираль»*, повествующей о событиях того времени. Хотя Розалинд долгое время отказывалась признавать, что ДНК – это двойная спираль, благодаря ее работе мы получили абсолютно незаменимые научные данные. К счастью, в настоящее время ее заслуги оценены по достоинству, в том числе и с моей стороны, в послесловии к книге *«Двойная спираль»*. Бренда Мэддокс написала о ней душевную биографическую книгу *«Розалинд Франклин: темная леди ДНК»*. Не менее талантливо образ Розалинд воссоздала Николь Кидман, завораживающе сыгравшая ее в пьесе *«Фотография 51»* (компания Уэст-Энд, 2015). Так называлась одна из фотографий В-формы ДНК, полученных методом рентгеновской дифракции, которые сделал Раймонд Гослинг, аспирант Розалинд (о нем я рассказывал на с. 62). Этот снимок позволял предположить, что молекула имеет спиралевидную форму. Розалинд отложила этот снимок в сторону в мае 1952 года, а Морис Уилкинс показал мне его только в январе 1953 года. Честно говоря, ей он в этом так не признался. Вообще-то вся эта история с ДНК развивалась в духе «рыцарей плаща и кинжала».

Открытие двойной спирали стало последним гвоздем, забитым в гроб витализма. Серьезные ученые, даже разделявшие религиозные взгляды, осознали, что для полного понимания жизни не потребуется открывать никаких новых законов природы. Жизнь оказалась просто делом физики и химии, хотя и совершенно филигранно организованных. Теперь перед нами стояла следующая задача: понять, как реализуется на практике заложенный в ДНК «генетический код». Как молекулярные клеточные механизмы считывают информацию из молекул ДНК? В следующей главе будет рассказано, сколь неожиданно сложным оказался такой механизм

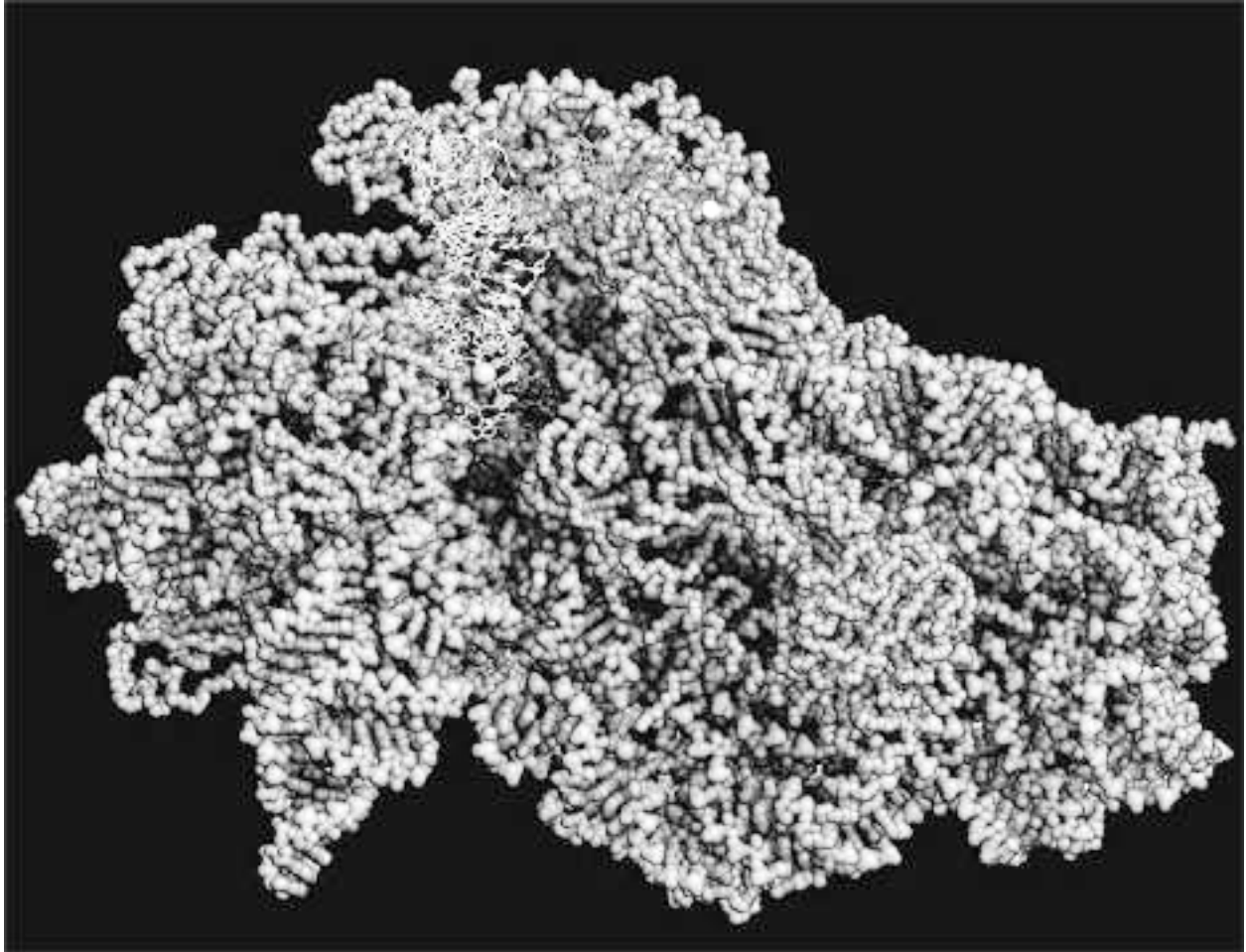
считывания и какие удивительные подсказки о возникновении самой жизни он нам преподнес.

Глава 3

Читаем код: воплощение ДНК

Задолго до того как Освальд Эвери привлек всеобщее внимание к экспериментам над ДНК в контексте «принципа трансформации генетической информации», генетики попросту пытались понять, как наследственный материал – что бы то ни было – может влиять на свойства конкретного организма. Каким образом «факторы» Менделя влияют на форму гороха, причем так, что горошины получаются либо гладкими, либо морщинистыми?

Первая подсказка появилась уже на рубеже XIX и XX веков, сразу же после того как были заново открыты работы Менделя. Английский врач Арчибальд Гаррод сделал карьеру исследователя, а не терапевта, поскольку с трудом осваивал дисциплины медицинского вуза, а также совершенно не умел тактично общаться с пациентами. Поэтому он не столько врачевал в госпитале Святого Варфоломея, сколько занимался изучением некоторых редких болезней, характерным общим симптомом которых был странный оттенок мочи. Одно из таких заболеваний, алкаптонурия, также называется «синдром черных пеленок», поскольку у страдающих этим заболеванием детей моча на воздухе темнеет. Несмотря на этот тревожный симптом, болезнь, как правило, не смертельна, хотя в зрелом возрасте и может вызывать нарушения опорно-двигательного аппарата, наподобие артрита, поскольку темные пигменты, окрашивающие мочу, накапливаются в суставах и позвоночнике. По версии медиков того времени, наличие темного пигмента было связано с бактериальной обсемененностью кишечными бактериями, но Арчибальд Гаррод настаивал на том, что черная моча появляется уже у новорожденных, пока не имеющих сформировавшуюся микрофлору, и, соответственно, эти вещества есть продукт нарушения метаболизма в организме. Гаррод предположил, что все дело в биохимическом сбое, «ошибке метаболизма», как он сам выражался. Он полагал, что здесь могут существовать критические изъяны в реализации биохимических путей.



Трехмерное изображение рибосомы, «клеточной фабрики белков». Вот она, рибосома во всей красе. В каждой клетке – миллионы рибосом. Именно в рибосомах идет сборка белков на основе информации, считываемой из ДНК, а белки – основные персонажи «биохимической драмы». Рибосома состоит из двух субъединиц, основу каждой из которых составляет молекула РНК, окруженная примерно шестьюдесятью белками. Здесь изображена рибосомальная 30S-субъединица бактериального происхождения. Атомы конкретных элементов в рибосомальной РНК окрашены в разные цвета: фосфор оранжевый, углерод серый, кислород красный, азот голубой. Транспортная РНК (тРНК), переносящая аминокислоты на рибосому, изображена в виде трубочек и окрашена в радужные оттенки (последовательно от красного и далее до оранжевого, желтого, зеленого, голубого, синего и фиолетового, от начала к концу молекулы). Матричная РНК (мРНК) также изображена в виде трубочек и окрашена в темно-синий цвет

В дальнейшем Гаррод заметил, что алкаптонурия, которая редко

встречается в масштабах большой популяции, чаще поражает детей, рожденных в близкородственных браках. В 1902 году он смог объяснить этот феномен в контексте заново открытых законов Менделя. Здесь прослеживалась закономерность, характерная для наследования рецессивного гена. Допустим, двоюродные брат и сестра получают одинаковый ген алкаптонурии от общего дедушки, и возникает вероятность 1 к 4, что от их брака родится ребенок, у которого этот ген будет гомозиготным (то есть ребенок получит две копии рецессивного гена). В таком случае этот ребенок заболеет алкаптонурией. Совместив результаты биохимических и генетических анализов, Гаррод заключил, что алкаптонурия – это «врожденная ошибка метаболизма». Хотя на тот момент никто по-настоящему не понял этого вывода, Гаррод первым вывел причинно-следственную связь между генами и их физиологическими проявлениями. По его мнению, гены каким-то образом управляют обменом веществ, и генетическая ошибка, мутация, может привести к повреждению метаболического пути.

Следующий серьезный шаг на этом пути был сделан лишь в 1941 году, когда Джордж Бидл и Эд Тейтем опубликовали свое исследование об индуцированных мутациях у нейроспоры густой (хлебной плесени). Джордж Бидл вырос близ города Уаху в штате Небраска и унаследовал бы родительскую ферму, если бы общение со школьным учителем естествознания не заставило его задуматься об иной карьере. В течение 1930-х годов Бидл работал сначала в Калифорнийском технологическом институте с Морганом, прославившимся исследованием дрозофил, а затем в Институте физико-химической биологии в Париже. Бидл без остатка посвятил себя генетическим исследованиям, пытаясь, к примеру, выяснить, как работает «магический механизм» генов при изменении цвета глазок у дрозофил. Прибыв в 1937 году в Стэнфордский университет, он заручился помощью Тейтема, который присоединился к Бидлу вопреки мнению своих научных консультантов. Эд Тейтем одновременно оканчивал Университет Висконсина и там же учился в аспирантуре, исследуя бактерии, живущие в молоке; поскольку Висконсин также называют «Сырный штат», то молоко и молочные продукты были там в избытке. Несмотря на то что сотрудничество с Бидлом обещало быть занимательным и интеллектуальным, висконсинские преподаватели Тейтема убеждали его сделать карьеру в молочной промышленности, чтобы впоследствии не испытывать финансовых затруднений. К счастью для всей науки, Тейтем предпочел Бидла сливочному маслу.

Вскоре Бидл и Тейтем осознали, что дрозофила – слишком сложный

организм и не подходит для интересующих их исследований. Искать конкретную мутацию у такого животного, как дрозофила, – все равно что искать иголку в стоге сена. Вместо этого они решили работать с абсолютно примитивным видом – нейроспорой густой (*Neurospora crassa*), красно-оранжевой хлебной плесенью, встречающейся в тропиках. Их план был предельно прост: облучать плесень рентгеновским излучением, вызывая в ней мутации, – так Меллер поступал с дрозофилами – и пытаться выяснить, как возникающие мутации влияют на *Neurospora crassa*. Отслеживать эффект мутаций они пытались следующим образом. Было известно, что обычная (не мутировавшая) нейроспора выживает в так называемой минимальной питательной среде. Оставаясь на таком «голодном пайке», микроорганизмы, очевидно, могли самостоятельно синтезировать все сравнительно крупные молекулы, необходимые им для жизни, собирая их из более простых молекул питательной среды. Бидл и Тейтем рассудили, что если возникнет мутация, которая исключит все эти синтетические пути, то получившаяся облученная культура плесени не сможет расти в минимальной питательной среде; тем не менее та же культура должна формировать колонии в «полноценной» питательной среде, где есть все необходимые для жизни молекулы, в частности аминокислоты и витамины. Иными словами, мутация, блокирующая синтез основного питательного вещества, окажется безвредной, если это питательное вещество можно будет брать непосредственно из питательной среды.

Бидл и Тейтем облучили около пяти тысяч плесневых культур и стали проверять их одну за другой на предмет, выживут ли они в минимальной питательной среде. Первая... вторая... третья... и только тогда, когда они добрались до 299-й культуры, выяснилось, что она действительно гибнет в минимальной питательной среде, а в полноценной выживает. Культура номер 299 оказалась первой из множества мутантных культур, которые им предстояло проанализировать. Далее требовалось выяснить, какое именно свойство утратили мутанты. Может быть, культура 299 не могла синтезировать незаменимые аминокислоты? Бидл и Тейтем попытались добавлять в минимальную питательную среду аминокислоты, но 299-я все равно не росла. Как насчет витаминов? Они добавили в минимальную питательную среду чуть-чуть витаминов, и на этот раз 299-я ожила. Теперь предстояло и далее сужать поле поиска, добавляя витамины по отдельности и проверяя, на каком этапе 299-я начнет расти. Ниацин не помог, рибофлавин тоже, но стоило им добавить витамин В₆, и культура стала выживать в минимальной питательной среде. Мутация, возникшая при

облучении и присущая культуре 299, каким-то образом вызывала разрушение синтетического пути, который обеспечивает производство В₆. Но каким был механизм? Зная, что биохимический синтез такого рода управляется белковыми ферментами, обеспечивающими цепочку химических реакций биохимического пути, Бидл и Тейтем предположили, что каждая из открытых ими мутаций блокирует конкретный фермент. При этом, поскольку мутации происходят в генах, по-видимому, именно гены отвечают за синтез ферментов. Когда в 1941 году это исследование было опубликовано, появился слоган, отражающий наше представление о работе генов: «Один ген – один фермент».

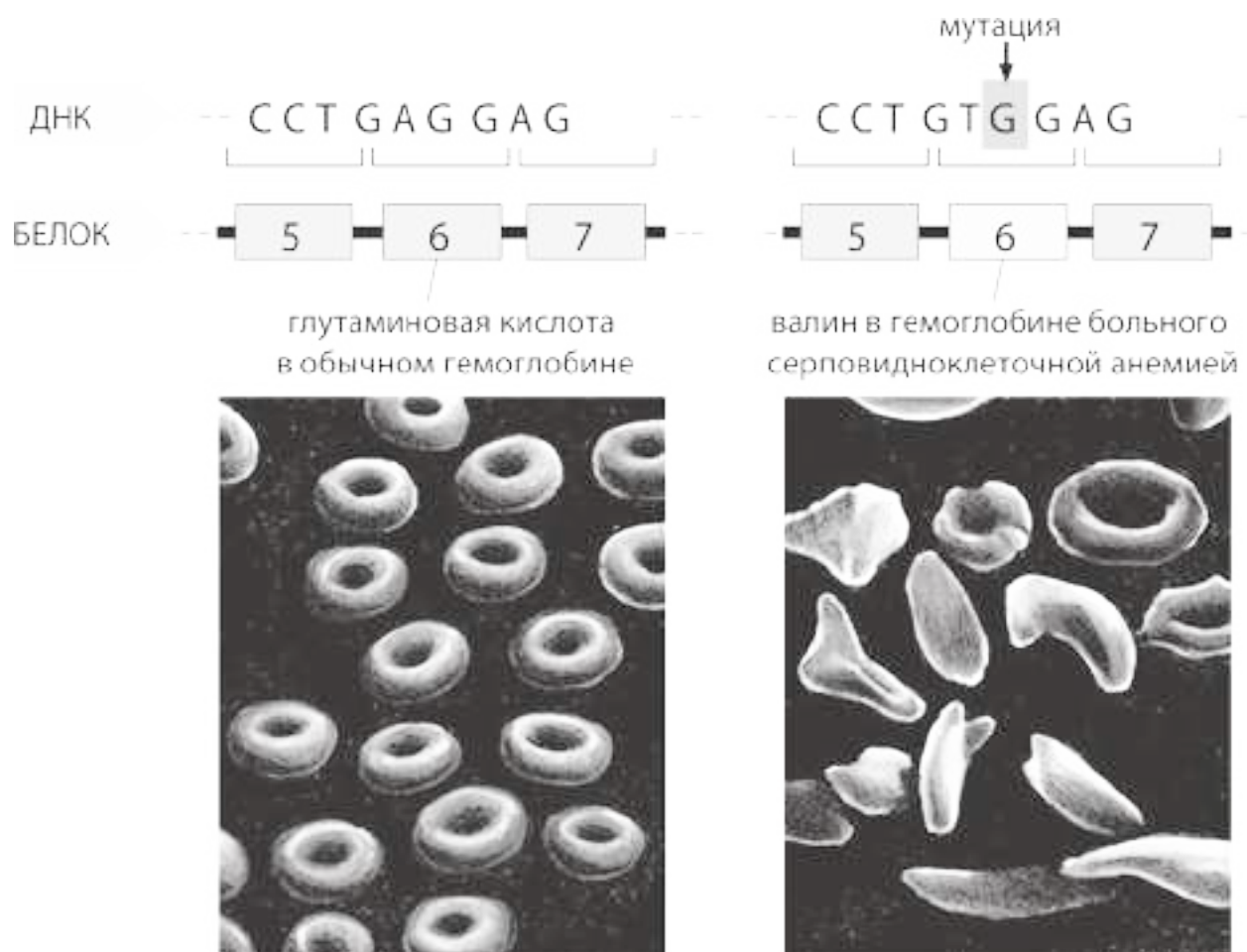
Поскольку в тот период времени считалось, что все ферменты – это белки, вскоре встал вопрос: а кодируются ли в генах и те многочисленные клеточные белки, которые не являются ферментами? Что гены могут предоставлять информацию по всем белкам, впервые предположили в лаборатории Лайнуса Полинга в Калифорнийском технологическом институте. Полинг и его студент Харви Итано изучали гемоглобин, белок эритроцитов, основная функция которого состояла в доставке кислорода из легких к метаболически активным тканям, в частности к мышцам. Особенно их заинтересовал гемоглобин людей, страдающих серповидноклеточной болезнью, также именуемой серповидноклеточной анемией. Это генетическое расстройство, характерное для негроидов, а соответственно, и для афроамериканцев. Эритроциты у человека, страдающего серповидноклеточной анемией, деформируются и поэтому под микроскопом имеют выраженно серповидную форму. Эритроциты такой формы могут закупоривать капилляры, что вызывает ужасную боль и может даже привести к смерти. Дальнейшие исследования позволили объяснить преобладание такой болезни именно среди африканцев с эволюционной точки зрения: поскольку часть жизненного цикла у малярийного плазмодия протекает в эритроцитах, люди с серповидными эритроцитами легче переносят малярию. По-видимому, эволюция пошла на своеобразную сделку с дьяволом, подкинув такой «бонус» некоторым жителям тропиков: действительно, серповидноклеточная анемия обеспечивает какую-никакую защиту от вспышек малярии.

Итано и Полинг сравнили гемоглобин пациентов, страдающих серповидноклеточной анемией, с гемоглобином обычных людей и обнаружили, что у двух вариантов молекул гемоглобина различается электрический заряд. Примерно в тот же период, в конце 1940-х годов, генетики выяснили, что серповидноклеточная анемия передается как

классический менделевский рецессивный фактор. Таким образом, заключили Итано и Полинг, серповидноклеточная анемия должна быть обусловлена мутацией в гене гемоглобина, которая влияет на химический состав получающегося гемоглобинового белка. Именно так Л. Полингу удалось уточнить версию Гаррода о врожденных ошибках метаболизма, охарактеризовав некоторые из них как «молекулярные болезни». Как раз такой молекулярной болезнью была серповидноклеточная анемия.

В 1956 году история о серповидноклеточной анемии, обусловленной мутацией гена гемоглобина, получила дальнейшее развитие благодаря Вернону Ингрэму, работавшему в той самой Кавендишской лаборатории, где мы с Френсисом Криком открыли двойную спираль. Вооружившись разработанными незадолго до того методами идентификации конкретных аминокислот в молекулярной цепочке, образующей белок, Ингрэм смог выявить именно те молекулярные различия, которые, по наблюдениям Итано и Полинга, влияли на общий заряд молекулы. Оказалось, что проблема состояла всего в одной аминокислоте.

Ингрэм определил, что глутаминовая кислота, идущая шестой в нормальной белковой цепочке, в гемоглобине больных серповидноклеточной анемией заменяется на валин. Так появилось убедительное доказательство, что генетические мутации – различия в последовательностях А, Ц, Г и Т в ДНК-коде конкретного гена – можно напрямую соотнести с различиями в аминокислотных последовательностях белков. Белки, являясь активными биомолекулами, синтезируют ферменты, катализирующие биохимические реакции, из белков образуются основные структурные составляющие организма, например кератин – ткань, из которой состоят кожа, волосы и ногти. Вот как ДНК, словно по волшебству, управляет клетками, их развитием, жизнью как таковой.



Влияние мутации. При изменении единственного основания в последовательности ДНК (речь идет о гене бета-глобина человека) в белок встраивается не глутаминовая кислота, а аминокислота валин. Из-за этого единственного различия возникает серповидноклеточная анемия, при которой форма эритроцитов искажается, они приобретают характерную серповидную форму

Однако как информация, зашифрованная в ДНК – молекуле, состоящей из последовательности нуклеотидов (А, Т, Г и Ц), – позволяет собрать белок, то есть нить аминокислот?

Вскоре после того как мы с Френсисом Криком опубликовали нашу работу о двойной спирали ДНК, с нами вышел на связь знаменитый физик-теоретик Георгий Гамов, родившийся в России. Его неизменно рукописные послания, испещренные карикатурами и разными загогулинами – некоторые из них были достаточно важны, а другие не очень, – всегда были подписаны «Гео» (как нам предстояло узнать, это произносилось просто «Джо»). Он заинтересовался ДНК еще до того, как Ингрэм убедительно

продемонстрировал взаимосвязь между последовательностью оснований этой молекулы и тем, какие белки синтезируются на основе ДНК. Чувствуя, что биология наконец-то превращается в точную науку, Гамов предвидел эпоху, когда организм можно будет генетически описать очень длинным числом, в котором будут присутствовать лишь цифры 1, 2, 3 и 4, каждая из которых соответствует основанию: А, Ц, Г или Т. Сначала мы приняли его за шутника и на его первое письмо не отреагировали. Через несколько месяцев Крик повстречал его в Нью-Йорке и сразу осознал, насколько это талантливый человек. Тогда мы незамедлительно пригласили Гамова в команду серьезных дээнкашников – он стал одним из нас.

Гамов переехал в США в 1934 году, спасаясь от сталинских репрессий. В 1948 году он написал статью, в которой объяснил распространенность различных химических элементов во Вселенной результатом термоядерных реакций, протекавших на ранних этапах Большого взрыва. Исследования, выполненные Гамовым и его аспирантом Ральфом Альфером, вышли бы под авторством «Альфер и Гамов», если бы Гамов не решил также указать и своего друга Ганса Бете – несомненно, в высшей степени талантливого физика, который, однако, не принимал ни малейшего участия в этих исследованиях. Просто неисправимому шутнику и любителю розыгрышей Гамову показалось забавным, что статья выйдет под фамилиями «Альфер, Бете, Гамов», да к тому же еще и 1 апреля. С тех пор космологи называют ее « $\alpha\beta\gamma$ » (по инициалам Альфера, Бете и Гамова).

Когда мне впервые довелось встретиться с Гамовым (в 1954 году), он уже разработал формальный метод для обозначения конкретных аминокислот перекрывающимися триплетами оснований ДНК. Он предположил схему реализации генетического кода: сборка белка происходит непосредственно на молекуле ДНК, причем каждая аминокислота помещается в ромбической выемке между четырьмя нуклеотидами, по два от каждой из комплементарных цепей. Эта схема, получившая название «бубнового кода», предполагает корреляцию между последовательными аминокислотными остатками, так как два нуклеотида всегда входят в два соседних ромба (перекрывающийся код). Я сказал Гамову, что мне эта идея не совсем нравится: ДНК не могла быть обычным шаблоном, по которому аминокислоты укладывались бы в триплеты. Я полагал, что, будучи физиком, Гамов не читал статей, опровергающих версию о синтезе белков в клеточном ядре – а ДНК расположена именно там. Действительно, если удалить из клетки ядро, это не сказывается на темпах синтеза белков. Сегодня известно, что на самом деле сборка белков из аминокислот происходит в рибосомах, мелких клеточных органеллах,

где содержится иная нуклеиновая кислота – РНК.

На тот момент было неизвестно, какую именно роль играет РНК в биохимических процессах. Казалось, что у некоторых вирусов, например у вируса табачной мозаики, она ведет себя подобно ДНК, кодируя конкретные белки, специфичные для данного организма. В клетках РНК участвует в синтезе белков, поскольку в клетках, продуцирующих белки, всегда много РНК. Еще до того как мы обнаружили двойную спираль, я полагал, что генетическая информация в хромосомной ДНК, вероятно, может использоваться при сборке цепочек РНК, состоящих из комплементарных последовательностей. В таком случае РНК являлась бы промежуточным звеном между ДНК и белками. Впоследствии Френсис Крик назвал такое преобразование ДНК → РНК → белок «центральной догмой». Такая схема получила подтверждение в связи с открытием в 1959 году фермента РНК-полимеразы. Практически во всех клетках этот фермент катализирует сборку одонитчатых цепочек РНК по двунитчатому шаблону ДНК.

Оказалось, что необходимый ключ к пониманию процесса синтеза белков появится в ходе дальнейшего изучения РНК, а не ДНК. Чтобы продвинуть работу по «взлому кода» – дешифровке взаимосвязи между последовательностью оснований ДНК и аминокислотными последовательностями белков, мы с Гамовым организовали «Клуб галстуков РНК». В него допускалось всего двадцать членов – по числу аминокислот. Гамов придумал клубный галстук и даже заказал эксклюзивные галстучные булавки, каждая из которых соответствовала своей аминокислоте. У нас были служебные бейджики, каждый со стандартизированной трехбуквенной аббревиатурой аминокислоты, которую было поручено изучать обладателю этого бейджика. У меня была аббревиатура PRO (пролин), а у Гамова – ALA (аланин). В те времена было модно писать на галстучной булавке собственные инициалы, и Гамову нравилось таким образом путать окружающих. Однажды эта шутка ему аукнулась: остроглазый гостиничный клерк отказался принять у него чек, заметив, что фамилия на чеке не соответствует инициалам на булавке.

На тот момент большинство ученых, интересовавшихся расшифровкой ДНК, вполне уместались в закрытом клубе на двадцать человек – представьте, как узок был тогда мир ДНК-РНК. Гамов легко нашел в нем место для товарища-небиолога Эдварда Теллера (LEU – лейцин), а я пригласил в нашу компанию Ричарда Фейнмана (GLY – глицин), невероятно талантливого физика из Калифорнийского технологического института. Когда Фейнману наскучивало исследовать внутриатомные силы,

он частенько навещался ко мне в биологический корпус.

Один из элементов схемы Гамова, предложенной в 1954 году, обладал важным достоинством: его можно было проверить. Поскольку речь шла о перекрывающихся триплетах в составе ДНК, такая схема означала, что многие аминокислоты никогда не будут располагаться в белках бок о бок друг с другом. Поэтому Гамов с нетерпением ожидал результатов секвенирования все новых и новых белков. По мере того как обнаруживались все новые и новые пары смежных аминокислот, теория Гамова разваливалась на глазах. Окончательный крах гамовских «шифров» наступил в 1956 году, когда Сидней Бреннер (VAL – валин) проанализировал все известные на тот момент последовательности аминокислот.

Сидней Бреннер вырос в деревне близ южноафриканского города Йоханнесбурга. Семья жила в двухкомнатной пристройке к отцовской сапожной мастерской. Хотя Бреннер-старший, эмигрант из Литвы, был неграмотен, его сын-вундеркинд пристрастился к чтению уже в четырехлетнем возрасте и благодаря этому увлечению познакомился с биологией, прочитав книгу *The Science of Life*. Будучи взрослым, он признался, что однажды просто украл эту книгу в публичной библиотеке. Ни воровство, ни бедность не могли помешать развитию Сиднея Бреннера: в возрасте четырнадцати лет он поступил на медицинский факультет Университета Витватерсранда, а затем отправился в Оксфорд писать докторскую диссертацию. Именно в оксфордский период он наведлся в Кембридж, через месяц после того как мы открыли двойную спираль ДНК. Вот как он вспоминал о своих первых впечатлениях от нашей модели: «Когда я ее увидел, мне сразу стало ясно – да, это она. И я мигом понял, насколько она фундаментальна».

Гамов был не единственным, чьи теории оказались нежизнеспособными: мне тоже довелось погоревать. Сразу же после открытия двойной спирали я отправился в Калифорнийский технологический институт: там я собирался изучить структуру РНК. Каково же было мое разочарование, когда мы с Александром Ричем (ARG – аргинин) выяснили, что при рентгеновской дифракции РНК-снимки получаются неразборчивыми: очевидно, структура молекулы была далеко не такой красивой и правильной, как у ДНК. Френсис Крик (TYR – тирозин), разочарованный не меньше нас, в начале 1955 года уведомил всех членов Клуба галстуков РНК, что структура РНК (как я и полагал) не откроет тайны превращения ДНК в белки. Напротив, Крик полагал, что аминокислоты могут доставляться к месту фактического синтеза белков так

называемыми «адапторными молекулами», причем для каждой аминокислоты должна существовать «своя» молекула такого рода. Он думал, эти «адапторы» могут быть очень мелкими молекулами РНК. Два года я с ним не соглашался. А затем было сделано крайне неожиданное биохимическое открытие, показавшее, что Крик попал в самую точку.

and mail to G. Gamow, M. L. B., Woods Hole, Mass. For a negative vote: do not do anything.

If the amount of collected dollars is sufficient to buy an RNA tie pin for the proposed candidates (for, of course, not pay) they will be considered elected, for receiving the votes is September 1st, 1955.

Sincerely yours, *Ala,*

The Synthesizer

or Calif. next week, and until address will be:

R. San Diego, Calif.
will be probably dropping quite often, will you give me the address of Erdashev. I may have a move dies.

Yours Geo.

Rosette Club
"Do or die, or don't try"

July 4, 1955

Dear Pro,

This is the first official club circular. First, the assignments of the pins (which, as you know, were randomized):

- | | | |
|----------------------|-------------------------|-----------------------|
| 1) ALA - G. Gamow | 8) GUY - R. Feynman | 15) MOO - J. Watson |
| 2) AND - A. Rich | 9) HEB - R. Garwin | 16) NEE - R. Gordon |
| 3) ASP - P. Day | 10) ISG - R. Sinsch | 17) TIR - L. Orgel |
| 4) ASK - R. Lesley | 11) LNU - R. Valley | 18) THY - M. Delbrück |
| 5) CTS - R. Yarn | 12) LPS - R. Chargaff | 19) TIR - R. Crick |
| 6) GUY - R. Williams | 13) NEE - R. Metropolis | 20) VAL - R. Swenson |
| 7) GLE - A. Brown | 14) NEE - G. Shaw | |

From this list, 13 members have obtained their tie pins while the remaining 7 are still stubbornly holding out.

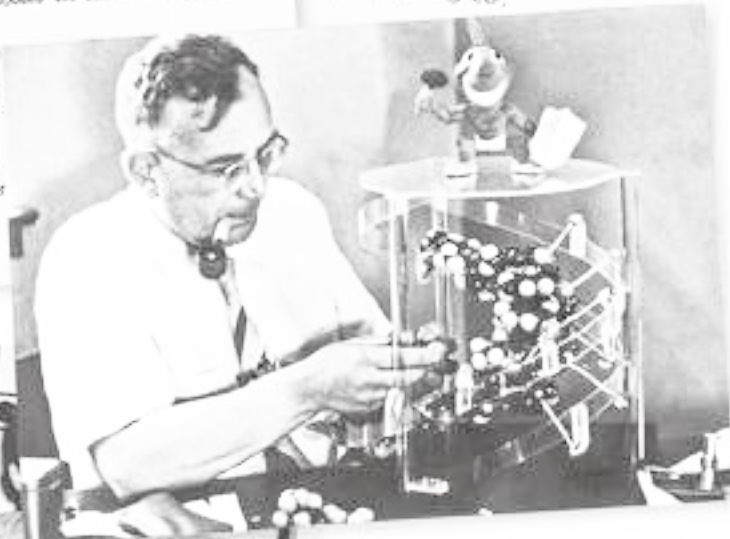
For RNA ties, please write to J. Watson at ^{Cambridge} Harvard University.

The first matter of business is the election of honorary lease members. The organization committee proposes two candidates out of the maximum possible number of four:

- 1) Dr. Fritz Liemann from
- 2) Dr. Albert Szent-Gyorgyi

Each of the 20 members of the club both of these two candidates.

For a positive vote: include \$1.00 is included, please specify for which of



Клуб галстуков РНК; характерный росчерк Гамова; Гамов собственной персоной; встреча членов Клуба в 1955 году (Френсис Крик, Алекс Рич, Лесли Оргел и я) — на фотографии хорошо видны галстуки

Клуб галстуков РНК; характерный росчерк Гамова; Гамов собственной персоной; встреча членов Клуба в 1955 году (Френсис Крик, Алекс Рич, Лесли Оргел и я) – на фотографии хорошо видны галстуки

Новость пришла из Массачусетской больницы общего профиля (Бостон), где Пол Замечник уже несколько лет разрабатывал бесклеточные системы для изучения белкового синтеза. Клетка состоит из множества мелких компартментов, и Замечник верно предположил, что необходимо изучить происходящие в них процессы без таких помех, которые возникают из-за многочисленных мембран. В процессе работы с веществами, выделенными из печеночной паренхимы, ему вместе с коллегами удалось воссоздать в пробирке упрощенный вариант внутриклеточной среды, где далее они смогли пометить аминокислоты радиоактивными изотопами и отслеживать, как из них komponуются белки. Именно таким образом Пол Замечник выяснил, что синтез белков происходит в рибосомах, тогда как Георгий Гамов поначалу этого не признавал.

Вскоре Замечник и его коллега Малон Хогланд сделали еще более неожиданное открытие: оказалось, что аминокислоты перед встраиванием в полипептидные цепочки связываются с мелкими молекулами РНК. Результат их озадачивал, пока я не рассказал им об адапторной теории Крика. Впоследствии они подтвердили версию Крика о существовании специальных малых адапторных РНК и специальных ферментов, ковалентно присоединяющих аминокислотные остатки к этим РНК. Согласно гипотезе Крика, каждой аминокислоте соответствует свой вид адапторной РНК и свой фермент, присоединяющий только данную аминокислоту к данному адаптеру. С другой стороны, адапторная РНК имеет нуклеотидный триплет (впоследствии названный антикодоном), комплементарный соответствующему кодону матричной РНК. Таким образом, узнавание кодона аминокислотой не является непосредственным, а осуществляется через систему «адапторная РНК – фермент». Специфический фермент узнает одновременно аминокислоту и определенную адапторную молекулу, так что они оказываются соединенными, в свою очередь, адаптер (с навешенной аминокислотой) узнает определенный кодон матричной РНК, так что присоединенная аминокислота становится приписанной именно данному кодону.

До открытия транспортной РНК считалось, что вся клеточная РНК служит матрицей для ДНК, но, несмотря на значительные различия нуклеотидного состава ДНК, размер и нуклеотидный состав РНК в рибосомах различных бактерий оказались весьма близкими. Кроме того, к

этому времени стало ясно, что перенос информации осуществляется при помощи относительно нестабильной, короткоживущей формы РНК, тогда как рибосомная РНК оказалась очень стабильной. Эксперименты, проводившиеся в Институте Пастера в Париже, позволяли предположить, что большинство матриц для сборки бактериальных белков на самом деле недолговечны. Тем более странным оказалось то, что последовательности оснований в двух цепочках рибосомальной РНК никак не соответствовали последовательностям оснований на соответствующих участках хромосомной ДНК.

Разобраться с этими парадоксами удалось в 1960-е годы, когда была открыта третья форма РНК – матричная. Оказалось, что она и есть настоящий шаблон для сборки белков. Эксперименты, проведенные в моей гарвардской лаборатории, а также выполненные в Кембридже и Калифорнийском технологическом институте Мэттом Мезельсоном, Франсуа Жакобом и Сиднеем Бреннером, показали, что рибосомы – это, в сущности, молекулярные фабрики. Матричная РНК напоминает перфокарту из компьютера первого поколения и является программой для синтеза белка. Эта РНК переносится из ядра в цитоплазму клетки, где она связывается с *рибосомами*, настоящими молекулярными «машинами» для синтеза белка. Белок синтезируется из активированных аминокислот, присоединенных к особым транспортным РНК, причем каждая из аминокислот присоединена к своей специфической транспортной РНК, благодаря которой аминокислота фиксируется в каталитическом центре рибосомы, где она «пришивается» к синтезируемой белковой цепи таким образом, что аминокислоты сначала выстраиваются в правильном порядке, а уже затем химически связываются в полипептидные цепочки.

К тому моменту генетический код еще не был расшифрован, оставались вопросы механизмов, по которым последовательность нуклеиновых кислот транслируется в упорядоченную полипептидную цепочку. В 1956 году Сидней Бреннер изложил соответствующие теоретические проблемы в рукописи «Клуб галстуков РНК». В сущности, они сводились к следующему: как можно закодировать, какая именно из двадцати аминокислот должна быть установлена на конкретном участке белковой цепочки, если алфавит ДНК состоит всего из четырех «букв» – А, Т, Г и Ц? Разумеется, отдельно взятого нуклеотида, который мог бы иметь одну из четырех ипостасей, и даже двух нуклеотидов было бы недостаточно. В таком случае просто не мог бы работать механизм, допускающий 16 вариантов преобразований (4×4). Чтобы закодировать отдельно взятую аминокислоту, требуется минимум три нуклеотида

(триплет). Но триплет обеспечивает поразительную избыточность – допускает 64 варианта преобразований. Поскольку код требует всего 20 аминокислотных остатков, означает ли это, что большинство аминокислот можно закодировать несколькими вариантами триплетов? Если так, то совершенно реалистичным мог бы оказаться и «квадруплетный» код ($4 \times 4 \times 4 \times 4$), допускающий 256 преобразований и подразумевающий еще более значительную избыточность.

В 1961 году Крик и Бреннер поставили в Кембридже решающий эксперимент, показавший, что в основе генетического кода лежат именно триплеты. Искусно применив вещества с мутагенным действием, они научились встраивать в ДНК или удалять из нее пары оснований. Они обнаружили, что, когда они встраивали или удаляли единственную пару оснований, происходил патологический «сдвиг рамки» и искажался весь код, следующий за точкой мутации. Представьте себе код из трехбуквенных слов, например: JIM ATE THE FAT CAT (Джим съел жирного кота). Допустим, мы удалим первую букву «Т». Если мы хотим сохранить в предложении аналогичную структуру из трехбуквенных слов, то получим: JIM AET HEF ATC AT – после удаления первой «Т» начинается произносимая игра букв. То же самое происходит, если вставляются или удаляются две пары оснований. Удалив первую «Т» и первую «Е», получим: JIM ATH EFA TCA T – еще более неразборчивое сочетание букв. Что же произойдет, если мы удалим (или вставим) три буквы? Удалив первые «А», «Т» и «Е», мы тем не менее сохраняем в осмысленном виде остальные слова во фразе. Даже если операция удаления накрывает несколько слов – скажем, мы удаляем первую «Т», первую «Е» и вторую «Т» – мы все равно теряем всего два слова и вполне можем восстановить скрывающееся за ними предложение: JIM ANE FAT CAT. Аналогичная ситуация прослеживается и в ДНК: однократное удаление или встраивание вносит хаос во всю структуру белка, что связано с эффектом сдвига рамки считывания и появления мутации в последовательности ДНК, для которой характерна вставка или делеция нуклеотидов, в количестве, не кратном трем. В связи с триплетным характером генетического кода вставка или делеция числа нуклеотидов, не кратных трем, приводит к сильному искажению информации в транскрибируемой мРНК. Также в результате может появиться стоп-кодон, что приводит к преждевременной терминации синтеза белка. При вставке или удалении триплета в молекуле ДНК мы далеко не обязательно получим катастрофический эффект: если при этом добавится или удалится всего одна аминокислота, то белок вполне может остаться функциональным с биологической точки зрения. (Исключение –

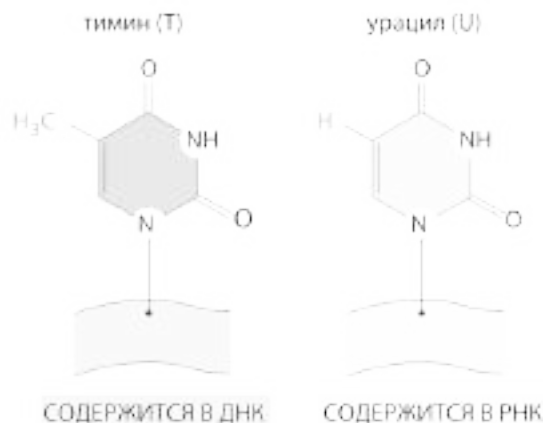
муковисцидоз. Ниже мы убедимся, что удаление единственной аминокислоты в белке муковисцидоза – это наиболее распространенная мутация, связанная с данной болезнью.)

Как-то раз Крик и его коллега Лесли Барнетт поздно вечером пришли в лабораторию, чтобы проверить результат опыта с удалением триплета.

Крик сразу осознал всю важность этого эксперимента и сказал Барнетту: «Лишь мы с тобой знаем код триплетов!» В компании со мной Крик впервые познал секрет жизни, свернутый в двойную спираль; теперь он одним из первых узнал, что этот секрет записан словами из трех букв.

Итак, выяснилось, что код записывается триплетами-тройками, а РНК опосредует связь между ДНК и белком. Тем не менее код по-прежнему оставался не взломан. Какая пара аминокислот зашифрована в отрезке ДНК, который кодируется, скажем, последовательностью АТА ТАТ или ГГТ ЦАТ? Первый намек на решение этой загадки прозвучал в лекции Маршалла Ниренберга на Международном биохимическом конгрессе, состоявшемся в Москве в 1961 году.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД	
АМИНОКИСЛОТА	КОДОН РНК
аланин	GCA GCC GCG GCU
аргинин	AGA AGG CGA CGC CGG CGU
аспарагин	AAC AAU
аспарагин, кислота	GAC GAU
цистеин	UGC UGU
глутамин, кислота	GAA GAG
глутамин	CAA CAG
глицин	GGA GGC GGG GGU
гистидин	CAC CAU
изолейцин	AUA AUC AUU
лейцин	UUA UUG CUA CUC CUG CUU
лизин	AAA AAG
метионин	AUG
фенилаланин	UUC UUU
пролин	CCA CCC CCG CCU
серин	AGC AGU UCA UCC UCG UCU
треонин	ACA ACC ACG ACU
триптофан	UGG
тирозин	UAC UAU
валин	GUA GUC GUG GUU
СТОП-КОДОНЫ	UAA UAG UGA



Генетический код, демонстрирующий последовательности триплетов в матричной РНК. Важное различие между ДНК и РНК заключается в том, что в ДНК содержится тимин, а в РНК – урацил. Оба этих основания комплементарны аденину. Функция стоп-кодонов понятна из их названия – они отмечают конец кодирующей части гена

Узнав об открытии матричной РНК, Ниренберг, работавший тогда в Национальном институте здравоохранения США, заинтересовался, будет ли РНК, синтезированная *in vitro*, функционировать точно так же, как и естественная матричная форма при синтезе белков во внеклеточных системах. Чтобы узнать ответ на этот вопрос, он воспользовался РНК, специально модифицированной в соответствии с процедурами, которые

шестью годами ранее были разработаны в Нью-Йоркском университете французским биохимиком Марианной Грюнберг-Манаго. Она открыла фермент РНК-полимеразу, позволявшую собирать последовательности вида АААААА или ГГГГГГ. А поскольку основное химическое отличие РНК от ДНК заключается в том, что в РНК на месте тимина (Т) стоит урацил (У), этот фермент также позволяет собирать урациловые цепочки – УУУУ, на жаргоне биохимиков «поли-У». Маршалл Ниренберг и его немецкий коллега Генрих Маттеи 22 мая добавили во внеклеточную систему именно поли-У. Результат был поразителен: рибосомы стали синтезировать простые белки, молекула которых представляла собой цепочку, состоящую из единственной аминокислоты – фенилаланина. Так они открыли, что поли-У кодирует фенилаланин. Следовательно, фенилаланин в генетическом коде должен обозначаться триплетом УУУ.

На Московском международном конгрессе, состоявшемся летом 1961 года, собрались все ключевые специалисты по молекулярной биологии. Маршалл Ниренберг в ту пору был молодым и никому не известным ученым. Ему отвели на выступление всего десять минут, и едва ли кто-то из специалистов по молекулярной биологии слышал его выступление. Но когда стали распространяться новости о его прорывном открытии, Крик подсуетился и выкроил ему время на выступление в один из следующих дней той же конференции, чтобы Ниренберг мог рассказать о своем открытии в аудитории, способной вместить всех заинтересованных. Это был исключительно важный момент. Спокойный, скромный и никому не известный молодой человек, выступая перед элитой молекулярной биологии, рассказал, что нужно сделать, чтобы полностью расшифровать генетический код.

Фактически Ниренберг и Маттеи решили всего лишь 1/64 часть задачи: определили, что УУУ кодирует фенилаланин. Оставалось расшифровать еще шестьдесят три трехбуквенных триплета (кодона), и последующие годы были отмечены многочисленными исследованиями, в ходе которых мы тщательно выясняли, какие аминокислоты кодируются другими кодонами. Оказалось, что самое сложное – синтезировать различные варианты РНК. Получить поли-У было относительно просто, а что насчет АГГ? Эти задачи решались при помощи различных хитроумных химических уловок, и многие из этих экспериментов были выполнены Гобиндом Хораной в Университете Висконсина. К 1966 году удалось выяснить значения всех шестидесяти четырех кодонов (иными словами, выстроить весь генетический код). В 1968 году Хорана и Ниренберг (совместно с Робертом Холли) получили Нобелевскую премию по

физиологии и медицине.



Френсис Крик (в центре) с Гобиндом Хораной и Марианной Грюнберг-Маного. После первого прорывного открытия, совершенного Маршаллом Ниренбергом, Гобинд Хорана открыл значительную часть генетического кода, опираясь на первопроходческие исследования Грюнберг-Маного

Теперь давайте восстановим весь сюжет и рассмотрим, как синтезируется конкретный белок – гемоглобин.

Эритроциты специализируются на доставке кислорода из легких к тем тканям, где он требуется. Эритроциты образуются в костном мозге благодаря работе стволовых клеток – около 2,5 миллиона эритроцитов в секунду.

Когда возникает потребность в гемоглобине, расплетается

соответствующий сегмент ДНК костного мозга – ген гемоглобина. Процесс в точности напоминает раздвоение ДНК при репликации. Но на этот раз копируются не две нити, а всего одна (по-научному «транскрибируется»), и в результате получается не новая нить ДНК, а новая нить матричной РНК, причем за синтез этой нити отвечает фермент РНК-полимераза. Этот сегмент матричной РНК соответствует гену гемоглобина. ДНК, с которой была скопирована эта РНК, вновь смыкается.

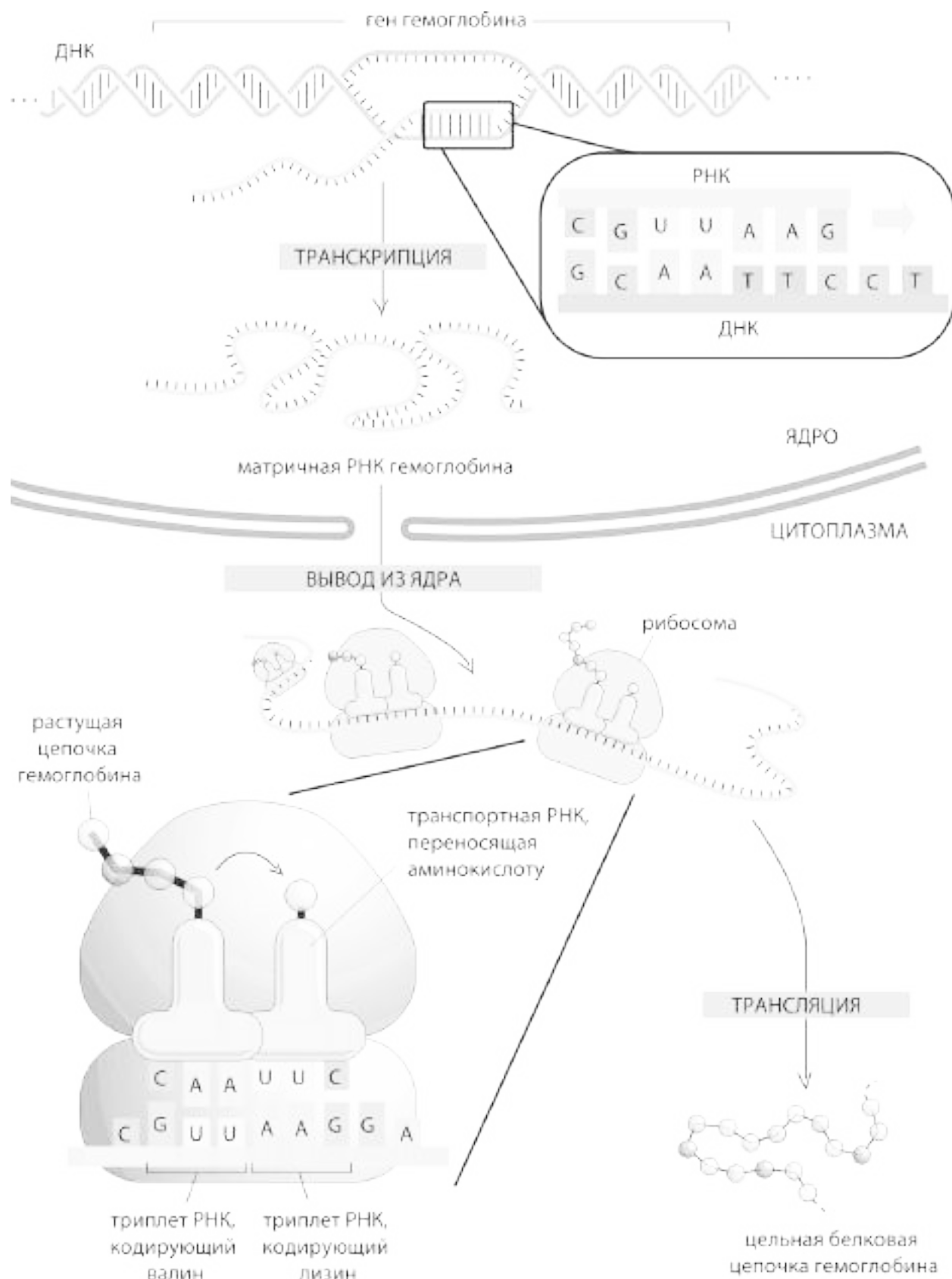
Матричная РНК выводится из ядра и доставляется в рибосому, которая сама состоит из РНК и белков. В рибосоме информация о последовательности нуклеотидов в матричной РНК используется для сборки новой белковой молекулы. Этот процесс называется «трансляция». Аминокислоты прибывают на место событий, прикрепленные к транспортной РНК. На одном кончике транспортной РНК расположен конкретный триплет (на приведенной здесь схеме это ЦАА), распознающий комплементарный ему противоположный триплет в матричной РНК, ГУУ. За другой кончик транспортной РНК прицеплена соответствующая аминокислота (в данном случае валин), буксируемая этой молекулой. На следующем триплете вдоль матричной РНК у нас становится транспортная РНК лизина, поскольку соответствующая последовательность в ДНК – это ТТЦ (кодирующая лизин). Теперь остается попросту биохимически склеить две аминокислоты. Сотня таких операций – и вот у нас есть белковая цепь длиной сто аминокислот. Порядок следования аминокислот зависит от порядка нуклеотидов А, Т, Г и Ц на том отрезке ДНК, по которому собирается матричная РНК. В молекуле гемоглобина две цепочки: в одной 141 аминокислота, в другой – 146.

Правда, белки – это не просто линейные цепочки аминокислот. После того как будет собрана такая цепочка, белки свертываются, образуя причудливые конфигурации. Иногда белок делает это сам, в других случаях – при помощи молекул, именуемых шаперонами. Белок становится биологически активным лишь после того, как приобретет нужную конфигурацию. Так, гемоглобин свертывается в четыре цепочки, причем цепочки в первой паре немного отличаются от цепочек во второй. Только после этого молекула приступает к делу. В центре каждой из этих цепочек расположен ключевой элемент, обеспечивающий транспортировку кислорода, – атом железа.

Сегодня удалось воспользоваться современными приемами молекулярной биологии, чтобы вернуться к некоторым классическим примерам из ранней истории генетики и переосмыслить их. Тот механизм, из-за которого одни горошины получались гладкими, а другие –

морщинистыми, для Менделя оставался тайной; он считал, что есть лишь определенные признаки, подчиняющиеся законам наследования, которые он же и вывел. Однако теперь мы понимаем эту разницу в деталях на молекулярном уровне.

В 1990 году английские ученые обнаружили, что у гороха с морщинистыми зернами отсутствует один фермент, участвующий в переработке крахмала – углевода, запасаемого в семенах. Оказывается, что у гороха с морщинистыми семенами ген этого фермента не работает из-за мутации (в данном случае из-за интрузии ненужного фрагмента ДНК в середине гена). Поскольку в результате этой мутации морщинистые горошины содержат меньше крахмала и больше сахара, они быстрее теряют воду при созревании. Однако внешняя оболочка семени не сжимается при такой потере воды (и сокращении объема самого семени). Поэтому семя покрывается характерными морщинами – оно становится слишком маленьким для своей оболочки.



От ДНК до белка: в ядре ДНК транскрибируется в матричную РНК,

которая затем выводится в цитоплазму для трансляции в белок. Трансляция происходит в рибосомах: транспортные РНК, комплементарные каждому триплету-кодону пар оснований в матричной РНК, доставляют аминокислоты, которые связываются друг с другом, образуя белковую цепочку

Алкаптонурию, которую изучал Арчибальд Гаррод, также исследовали в эру молекулярной биологии. В 1955 году испанские ученые, работавшие с грибом, обнаружили мутантный ген, приводящий к накоплению того же темного вещества, которое Гаррод обнаружил в моче пациентов с алкаптонурией. Оказалось, что этот ген по умолчанию кодирует один из базовых ферментов, присутствующих у многих живых организмов, и в том числе у человека. При сравнении последовательности нуклеотидов в гене грибка с последовательностями человеческих нуклеотидов удалось найти у человека ген, кодирующий фермент фенилаланинового пути – гомогентизат-1,2-диоксигеназу, вследствие чего не подвергается дальнейшему расщеплению один из промежуточных продуктов катаболизма – гомогентизат, который накапливается в жидкостях тела и выводится из организма с мочой. Далее требовалось сравнить этот ген у здоровых людей и у страдающих алкаптонурией. Что бы вы думали – оказалось, что при алкаптонурии этот ген не работает, причем всему виной мутация в единственной паре оснований. Обнаруженная Гарродом врожденная ошибка метаболизма оказалась обусловлена единственным изъёмом в последовательности ДНК.

В 1966 году в Колд-Спринг-Харборе состоялся симпозиум, посвященный генетическому коду. Возникло ощущение, что мы практически у цели: код взломан, мы в общих чертах понимаем, как ДНК управляет биологическими процессами через кодируемые ею белки. Некоторые представители старой гвардии думали, что пора уже не ограничиваться изучением гена как такового. Френсис Крик решил перейти к работе в сфере нейробиологии; он никогда не пасовал перед масштабными проблемами и очень хотел выяснить, как именно работает человеческий мозг. Сидней Бреннер заинтересовался биологией развития и сконцентрировался на изучении примитивного червя-нематоды, считая, что именно столь простой организм лучше всего подходит для опытов, которые позволят ученым прояснить взаимосвязи между генами и механизмами развития. Сегодня «червь» – именно под таким названием он известен в профессиональной среде – действительно помог понять многие вещи, связанные со «сборкой» организмов. Вклад «червя» в науку был оценен

Нобелевским комитетом в 2002 году, когда Сидней Бреннер и двое давнишних исследователей «червя» – Джон Салстон из Кембриджа и Боб Хорвиц из Массачусетского технологического института – были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине.

Однако большинство ученых, стоявших в свое время у истоков исследований ДНК, по-прежнему пытались выявить базовые механизмы работы генов. Почему количество одних белков во много раз больше, чем других? Многие гены включаются лишь в конкретных клетках или в определенный период жизни клетки; как обеспечивается такое срабатывание? Например, мышечная клетка кардинально отличается от печеночной как функционально, так и внешне (под микроскопом). Такое клеточное многообразие и дифференцировка связаны с изменениями в экспрессии генов; в сущности, в мышечных и печеночных клетках синтезируются разные наборы белков. Простейший способ синтезировать разные белки – регулировать, какие именно белки будут транскрибироваться в каждой клетке. Следовательно, некоторые белки, именуемые «белками общеклеточных функций» (они необходимы для работы клетки как таковой – например, обеспечивают репликацию ДНК), продуцируются во всех клетках. Кроме того, некоторые гены включаются в конкретные моменты в строго определенных клетках, продуцируя при этом нужные белки. Здесь можно поговорить о развитии – процессе, при котором из единственной оплодотворенной яйцеклетки вырастает сложно устроенный взрослый человек. Все это результат переключения генов. При формировании тканей в процессе развития гены должны включаться и выключаться целыми пачками.



Франсуа Жакоб, Жак Моно и Андре Львофф

Первые важные результаты на пути к пониманию процесса включения и выключения генов были получены в 1960-е годы в процессе экспериментов, выполненных Франсуа Жакобом и Жаком Моно в Институте Пастера в Париже. Научная карьера Моно начиналась медленно, поскольку он был настолько разносторонне одарен, что не мог сосредоточиться на чем-то конкретном. В 1930-е годы он работал на биологическом факультете Калифорнийского технологического института под руководством Моргана, родоначальника генетики дрозофил, но даже круглосуточное пребывание в кругу уже не столь юных учеников Моргана не превратило Моно в адепта науки о плодовых мушках. Он предпочитал дирижировать в университете концертами Баха (ему даже предложили подработку – преподавать студентам музыкальную грамоту) либо пропадал в роскошных домах местных миллионеров. К 1940 году он так и не закончил работу над диссертацией в Сорбонне, поскольку принимал активное участие в деятельности французского Сопротивления. Жак Моно – редчайший человек, сумевший совместить шпионаж с биологией. Он ухитрялся прятать важнейшие секретные документы в полых костях

скелета жирафа, выставленного у всех на виду у него в лаборатории. Война разгоралась, поэтому ценность деятельности Моно для Сопротивления все более возрастала (как и риск попасть к нацистам). К моменту высадки союзников в Нормандии Моно уже играл в Сопротивлении ключевую роль, содействуя наступлению союзных частей, которые теснили немцев.

Франсуа Жакоб также успел повоевать, поскольку перебрался в Великобританию и вступил в Свободную армию генерала де Голля. Он служил в Северной Африке и участвовал в высадке союзников в Нормандии. Вскоре после этого он едва не погиб при бомбежке – из него вытащили двадцать осколков шрапнели, а еще восемьдесят он так и носил в себе до самой смерти в 2013 году. Из-за ранения в руку Жакобу пришлось расстаться с планами на карьеру хирурга, и он, подобно многим представителям нашего поколения, вдохновился книгой Шрёдингера «Что такое жизнь?» и занялся биологией. Он неоднократно пытался присоединиться к исследовательской группе Моно, но получал отказ. Однако на шестой или седьмой раз (по подсчетам самого Жакоба) руководитель Моно микробиолог Андре Львофф наконец уступил – это произошло в июне 1950 года.

Даже не предоставив мне возможности заново объяснить, чего я хочу, насколько я невежественен и как хочу работать, [Львофф] объявил: «Знаете, мы открыли индукцию профага!» [то есть узнали, как активировать ДНК бактериофага, внедренную в ДНК бактерии-хозяина].

«О!» – сказал я, вложив в этот возглас такую дозу восхищения, какую только мог, а про себя подумал: «И что за зверь этот профаг?»

Затем он спросил: «Вас интересует работа с фагами?» Я выдавил, что именно на нее я и рассчитывал. Он ответил: «Вот и хорошо, приходите первого сентября».

Очевидно, Жакоб отправился с собеседования прямиком в книжный магазин – покупать словарь, чтобы выяснять, чем же это он только что согласился заниматься.

Несмотря на столь бесславный старт, альянс Жакоба и Моно породил первоклассные научные достижения. Коллеги подступились к проблеме переключения генов у бактерии *Escherichia coli* – всем известной кишечной палочки. Они стали изучать, как эта бактерия синтезирует лактозу, молочный сахар. Для расщепления лактозы эта бактерия синтезирует

фермент под названием β -галактозидаза, разделяющий лактозу на два более простых сахара: галактозу и глюкозу. Когда лактоза отсутствует в питательной среде, бактериальная клетка не синтезирует β -галактозидазу; но, когда лактоза появляется в растворе, клетка начинает продуцировать этот фермент. Жакоб и Моно рассудили, что именно наличие лактозы запускает синтез β -галактозидазы, и решили выяснить, как именно срабатывает механизм, который получил название механизма индукции-репрессии.

Поставив ряд красивых экспериментов, Жакоб и Моно установили, что синтез соответствующих белков – ферментов – индуцируется веществом, служащим субстратом и необходимым для нормальной жизнедеятельности клетки. Так, например, для нормальной жизнедеятельности *E. coli* необходим молочный сахар (лактоза), и в ее геноме содержатся гены, контролирующие синтез ферментов, гидролизующих лактозу до простых соединений. Если среда, в которой находятся бактерии, лактозы не содержит, эти гены пребывают в репрессированном состоянии и не функционируют. Внесенная в среду лактоза будет тем индуктором, который включает в работу длинные гены, и в клетке начинается синтез ферментов, гидролизующих лактозу до более простых соединений. После удаления лактозы из среды синтез этих ферментов прекращается. Механизм индукции-репрессии обеспечивает включение в работу тех генов, которые синтезируют необходимые на данном этапе жизнедеятельности клетки ферменты. Работа генов прекращается, когда деградируемый данными ферментами субстрат израсходован или когда синтезируемое данными ферментами вещество находится в избытке.

Оказалось, что в любых организмах действуют одни и те же принципы.

У высших организмов процесс регуляции работы генов осуществляется более сложно: у животных важную роль в этом процессе играют гормоны, клеточные мембраны; у растений – условия внешней среды, в том числе и окружающие клетки.

Жаков и Моно получили такие результаты, изучая мутантные штаммы *Escherichia coli*. Они не обнаружили прямых доказательств существования молекулы-репрессора, а просто логически предположили, что она существует, поскольку именно такое заключение позволяло разгадать эту генетическую загадку. Их идеи были подтверждены на молекулярном уровне лишь в конце 60-х годов, когда Уолтер (Уолли) Гилберт и Бенно Мюллер-Хилл из Гарварда решились выделить и проанализировать молекулу-репрессор как таковую. Жакоб и Моно лишь предсказали ее

существование, а Гилберт и Мюллер-Хилл ее нашли. Поскольку обычно репрессор существует лишь в минимальных количествах – всего по несколько молекул на клетку, технически оказалось невероятно сложно собрать значимый образец, который удалось бы исследовать. Но в итоге у них все получилось.

В то же самое время на том же этаже, но в другой лаборатории трудился Марк Ташне, которому удалось выделить и описать другую молекулу-репрессор – на этот раз в системе переключения генов бактериофага. Оказалось, что молекулы-репрессоры – это белки, способные связываться с ДНК. Именно это и происходит с репрессором β -галактозидазы при отсутствии лактозы: он связывается с ДНК *Escherichia coli* на участке, расположенном поблизости от той точки, с которой начинается транскрипция гена β -галактозидазы. Таким образом, репрессор блокирует фермент, контролирующий синтез матричной РНК из гена.

После того как удалось охарактеризовать молекулу-репрессор, мы наконец смогли в целом понять молекулярные процессы, лежащие в основе жизни. Известно, что ДНК продуцирует белки посредством РНК; теперь также выяснилось, что белок может взаимодействовать непосредственно с ДНК. В таком взаимодействии участвуют белки, связывающиеся с ДНК, которые способны контролировать транскрипцию многих генов, кодирующих, возможно, другие белки-регуляторы. В связи с этим белки-регуляторы обладают координирующим влиянием на активность многих генов, и их действие характеризуется плеiotропным эффектом.

После открытия центральной роли РНК в работе клетки возник интересный вопрос (ответ на который долго не удавалось найти): почему передача информации из ДНК должна опосредоваться молекулой РНК, а лишь потом возможна ее трансляция в последовательность полипептидов? Вскоре после расшифровки генетического кода Френсис Крик предложил решение этого парадокса и выдвинул идею, что РНК – предтеча ДНК. Он предположил, что РНК была первой генетической молекулой и в какой-то период вся жизнь была основана на РНК. До привычного нам нынешнего «мира ДНК» (которому пара миллиардов лет) существовал «мир РНК». Крик полагал, что своеобразная химия РНК (в ее основе присутствует сахар рибоза, а не дезоксирибоза, как в ДНК) обеспечивает ей ферментные свойства, благодаря которым РНК может катализировать собственную саморепликацию.

Крик считал ДНК «более поздней эволюционной разработкой», которая могла возникнуть из-за относительной нестабильности молекул РНК: они деградируют и мутируют гораздо легче, чем молекулы ДНК.

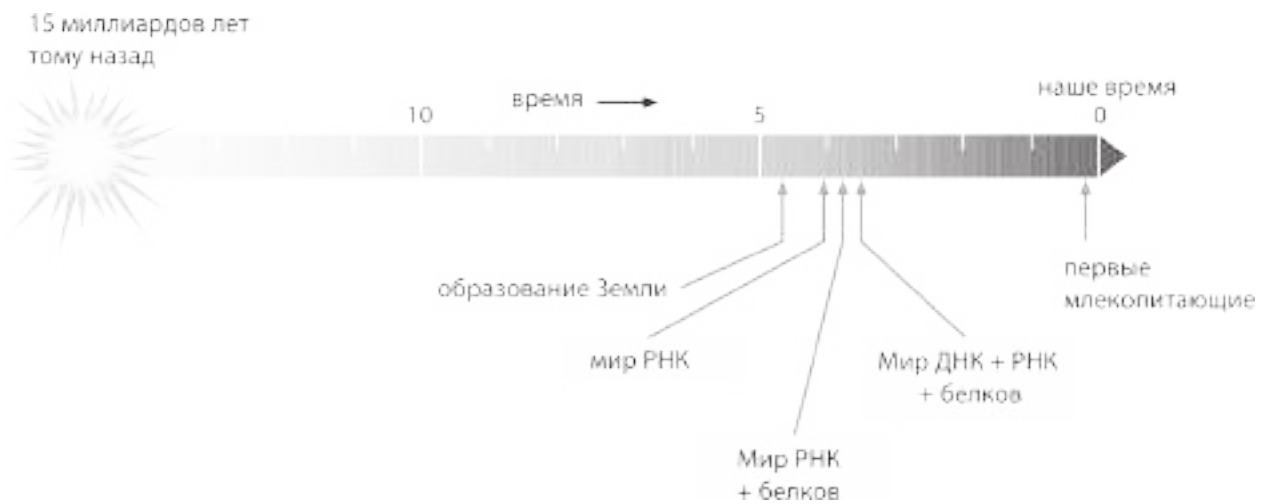
Если требуется хорошая, стабильная молекула, подходящая в качестве долговременного хранилища генетической информации, то гораздо удобнее воспользоваться ДНК, чем РНК.



Гарри Ноллер возится с рибосомами

Идеи Крика о мире РНК, предшествовавшем миру ДНК, оставались в основном незамеченными до 1983 года. В 1983 году Том Чек из Университета штата Колорадо и Сидни Олтмен из Йеля независимо продемонстрировали, что молекулы РНК действительно обладают каталитическими свойствами, и за это открытие были удостоены Нобелевской премии по химии в 1989 году. Еще более убедительные доказательства в пользу существования мира РНК до появления ДНК появились десятилетием позже, когда Гарри Ноллер из Калифорнийского университета в городе Санта-Крус продемонстрировал, что формирование пептидных связей, обеспечивающих сочленение белков из аминокислот, не

катализируется ни одним из шестидесяти разных белков, ассоциированных с рибосомой – органеллой, где синтезируются белки. Напротив, образование пептидных связей катализируется РНК. Ноллер пришел к такому выводу, удалив из рибосомы все белки и обнаружив, что она при этом не утрачивает способности образовывать пептидные связи. Исключительно подробный анализ объемной структуры рибосомы, выполненный Ноллером и другими учеными, позволяет понять, почему это происходит: белки рассыпаны по поверхности, далеко от «эпицентра действий», расположенного в центре рибосомы.



Эволюция жизни после Большого взрыва. Вероятно, мы так и не сможем узнать, когда именно возникла жизнь, но первые организмы, по-видимому, были основаны исключительно на РНК

Эти открытия позволили окончательно решить проблему «курицы и яйца», коренившуюся у истоков жизни. Доминировавшая точка зрения, согласно которой первые организмы были основаны на молекуле ДНК, столкнулась с очевидным противоречием: молекула ДНК не может собираться сама собой: для этого нужны белки! Что возникло раньше? Белки, не обладающие механизмом копирования информации, или ДНК, которая может копировать информацию, но лишь в присутствии белков? Проблема была неразрешима: считалось, что никакая ДНК без белков не получится, но белки не получатся без ДНК.

Однако РНК эквивалентна ДНК (эта молекула также может хранить и воспроизводить генетическую информацию), а также эквивалентна белкам (может катализировать критически важные химические реакции) – вот и ответ. На самом деле, в «мире РНК» проблема курицы и яйца снимается сама собой: РНК – это курица и яйцо одновременно.

РНК – это эволюционная реликвия. Справившись с той или иной проблемой, естественный отбор обычно придерживается найденного решения, фактически реализуя принцип: «пока не сломалось – не ремонтируем». Иными словами, при отсутствии селективного давления, провоцирующего изменения, клеточные системы не обогащаются никакими инновациями, поэтому несут в себе многочисленные отпечатки эволюционного прошлого. Процесс может протекать именно так, а не иначе именно потому, что данное решение было найдено раньше, а не потому, что оно является наилучшим и эффективным.

Первые двадцать лет после открытия двойной спирали были в молекулярной биологии очень плодотворными. Мы поняли базовые механизмы, лежащие в основе жизни, и даже осознали, как регулируется работа генов. Тем не менее на том этапе мы всего лишь наблюдали; мы были молекулярщиками-натуралистами, а клетка напоминала нам тропический лес. Мы описывали то, что видели вокруг. Но пришло время действовать. Довольно наблюдений: нас манила перспектива того, что вскоре мы сами сможем вмешаться и начнем манипулировать живыми существами. Все это стало реально с появлением технологий для работы с рекомбинантной ДНК, а затем и возможностей подгонки молекул ДНК под нужды человечества.



Лаборатория Р4 – ультразащищенный комплекс, в котором ведутся биохимические исследования смертельно опасных организмов, например вируса лихорадки Эбола, а также разрабатывается биологическое оружие. В конце 1970-х годов в лаборатории Р4 также работали ученые,

исследовавшие человеческую ДНК методами генной инженерии

Глава 4

Подобные Богу: работа над молекулой ДНК

Молекула ДНК невероятно длинная. В любой хромосоме присутствует всего одна непрерывная двойная спираль ДНК. Когда требуется «популярно» объяснить масштабность этой молекулы, нуклеотидную наполненность ДНК сравнивают с количеством записей в телефонном справочнике Нью-Йорка или с длиной Дуная. Мне такие сравнения ни о чем не говорят – я не знаю, сколько номеров в телефонной книге Нью-Йорка, а Дунай ассоциируется у меня скорее с вальсами Штрауса, а не с какой-то линейной дистанцией.

Все человеческие хромосомы (кроме половых: X и Y) нумеруются в зависимости от размера. Хромосома 1 – самая крупная, а хромосомы 21 и 22 – мельчайшие. На хромосому 1 в каждой клетке приходится 8 % ДНК, примерно четверть миллиарда пар оснований. В хромосомах 21 и 22 содержится соответственно 48 и 51 миллион пар оснований. Даже в самых маленьких молекулах ДНК (у вирусов маленьких размеров) как минимум несколько тысяч пар оснований.

На заре молекулярной биологии огромные размеры молекулы ДНК представляли серьезную проблему. Чтобы разобраться с тем или иным геном, то есть конкретным отрезком ДНК, нужно было каким-то образом отделить его от всей остальной ДНК, которая простирается по обе стороны от этого гена. Но этим дело не ограничивалось: ген нужно было не только выделить, но и, так сказать, увеличить: получить настолько крупный фрагмент гена, чтобы с ним можно было работать. В сущности, нам требовался инструмент для молекулярного редактирования – пара молекулярных ножниц, которые позволяли бы кроить текст ДНК, получая удобоваримые фрагменты. Нужен был молекулярный клей, чтобы соединять полученные фрагменты, и, наконец, молекулярная «копировальная машина» для увеличения нарезанных и выделенных нами молекулярных фрагментов. Мы хотели делать примерно то, что сегодня позволяет делать современный текстовый редактор: вырезать, копировать и вставлять кусочки ДНК.

Разработка базовых инструментов для таких процедур казалась отчаянно сложной задачей даже после расшифровки генетического кода.

Однако после ряда открытий, сделанных в конце 60-х – начале 70-х годов, для нас словно «звезды сошлись»: в 1973 году появилась так называемая технология рекомбинантных ДНК, что дало возможность редактировать ДНК. Это был не просто прорыв в методах молекулярной биологии. Ученые разом обрели инструмент для адаптации молекул ДНК к потребностям исследователя путем создания таких ДНК, которых никогда не существовало в природе. Мы смогли опробовать себя в роли Бога, экспериментируя с молекулярной основой самой жизни. Такая идея многим казалась некорректной. Так, всегда настороженный и остро реагирующий на любые новаторские идеи Джереми Рифкин, которому каждая новая генетическая технология казалась скользкой дорожкой к созданию монстра, наподобие Франкенштейна, очень верно отметил, что «технология рекомбинантной ДНК может поспорить по значимости с приручением огня».

Артур Корнберг первым «создал жизнь» в пробирке. Как мы уже знаем, в 1950-е годы он открыл ДНК-полимеразу, фермент, обеспечивающий репликацию ДНК и выстраивающий комплементарную копию из расплетенной исходной нити. Позже, работая с вирусной ДНК, он наконец смог осуществить репликацию всех 5300 пар оснований ДНК этого вируса. Однако полученный продукт не был «живым»: несмотря на то что последовательность оснований ДНК не отличалась от исходной, молекула была биологически инертна. Чего-то не хватало. Это недостающее звено удалось найти лишь в 1967 году, причем это одновременно сделали Мартин Геллерт из Национальных институтов здравоохранения и Боб Леман из Стэнфорда. Фермент назвали лигазой. Лигаза позволяет склеивать концевые участки молекул ДНК.

Артуру Корнбергу удалось реплицировать вирусную ДНК при помощи ДНК-полимеразы, а добавив фермент лигазу, он сформировал из ДНК непрерывный контур, как это и было устроено в «подопытном вирусе». Теперь «искусственная» вирусная ДНК вела себя точно так же, как и исходная вирусная: обычный вирус размножается в *E. coli*, и ДНК, выведенная Корнбергом *in vitro*, вела себя точно так же. Воспользовавшись лишь парой ферментов, простейшими химическими ингредиентами и вирусной ДНК, с которой была снята копия, Корнберг синтезировал биологически активную молекулу. Средства массовой информации тут же сообщили, что Корнберг создал «жизнь в пробирке», а президент Линдон Джонсон назвал этот прорыв «ошеломительным достижением».

Вклад Вернера Арбера в разработку технологии рекомбинантной ДНК, сделанный в 1960-е годы, был не столь предсказуемым. Швейцарский

биохимик Вернер Арбер интересовался не грандиозными вопросами о молекулярной природе жизни, а загадочными аспектами эволюции вирусов. Он изучал процесс, в ходе которого некоторые вирусные ДНК деградировали после внедрения в бактериальные клетки. Некоторые клетки-хозяева (но не все – иначе вирусы не могли бы воспроизводиться) распознавали вирусные ДНК как чужеродные тела и избирательно атаковали их. Но как – и почему? Все ДНК в природе – это разновидности одной и той же молекулы, кому бы они ни принадлежали: бактериям, вирусам, растениям или животным. Почему бактерия не атакует собственную ДНК так же, как вирусную?

Первые ответы на поставленные вопросы появились после того, как Арбер открыл новую группу ферментов, расщепляющих ДНК, – так называемые рестриктазы. Они присутствуют в бактериальных клетках и подавляют размножение вирусов, разрезая на фрагменты чужеродную ДНК. Такое разрезание ДНК – это специфическая реакция на конкретные последовательности: фермент разрезает нить ДНК, лишь если обнаружит в ней искомую последовательность. *EcoRI* была одной из первых открытых рестриктаз – она находит и обрезает нить оснований ГААТТЦ^[3].

Однако почему бактерия при этом не обрезает собственную ДНК везде, где в ней встречается последовательность ГААТТЦ? Здесь Арбер совершил второе великое открытие. Бактерия синтезирует не только рестриктазу, нацеленную на конкретные последовательности, но и второй фермент, химически модифицирующий те самые последовательности в собственной ДНК, как только они ему попадают^[4]. Измененные таким образом последовательности ГААТТЦ, присутствующие в бактериальной ДНК, не привлекают рестриктазу *EcoRI*, даже когда фермент словно катком проносится по клетке, повсюду разрезая замеченные вирусные ДНК. Защита бактериального генома от собственной рестриктазы осуществляется с помощью метилирования нуклеотидных остатков аденина и цитозина и называется маскированием.

В основе следующего этапа революции в молекулярной биологии, связанной с рекомбинантной ДНК, было изучение развития у бактерий антибиотикорезистентности. В 1960-х годах выяснилось, что у многих бактерий такая резистентность возникает не по стандартной схеме через мутацию бактериального генома, а путем импорта так называемой плазмиды: это небольшие молекулы ДНК, находящиеся внутри бактерии, физически отдельные от геномных хромосом и способные реплицироваться автономно и передаваться потомству вместе с остальным бактериальным

геномом при делении клеток. В некоторых случаях бактерии сами могут обмениваться плазмидами, и в таком случае бактерия-получатель приобретает «информационный набор», которого у нее не было «при рождении». Таким образом, плазмиды служат средством горизонтального переноса генов. В передаваемом информационном комплексе часто имеются гены, как раз и обеспечивающие резистентность к антибиотикам. Естественный отбор у бактерий, работающий в направлении антибиотикорезистентности, благоприятствует тем клеткам, у которых имеется плазмидный фактор антибиотикоустойчивости.



Плазмида под электронным микроскопом

Первопроходцем в исследовании плазмид был Стенли Коэн из Стэнфордского университета. Коэн выбрал медицинскую карьеру, поскольку его вдохновил на этот путь школьный учитель биологии. Закончив медицинский университет, он подумывал заняться внутренними болезнями, но забросил эти планы, когда перед ним встал выбор – пойти

служить армейским врачом или занять должность в Национальных институтах здравоохранения. Вскоре он осознал, что исследовательская деятельность ему более интересна, чем практическая медицина. Первый серьезный успех ждал его в 1971 году, когда Коэн научился управлять захватом бактериями *E. coli* плазмид вне пределов клетки. Фактически Стенли Коэн «трансформировал» *E. coli* подобно тому, как Фред Гриффит сорока годами ранее превратил жизнеспособные пневмококки в нежизнеспособные, «заставив» их поглотить участок ДНК. В опытах Коэна бактерия поглощала плазмиду с генами устойчивости к антибиотикам, и штамм, ранее погибавший от антибиотика, терял восприимчивость к нему. Штамм сохранял устойчивость к антибиотику и в последующих поколениях – копии плазмидной ДНК в целости и сохранности передавались потомкам при делении клеток.

К началу 1970-х годов имелись все составляющие для получения рекомбинантной ДНК. Сначала было нужно разрезать молекулу ДНК при помощи рестриктаз и выделить интересующие нас последовательности (гены), а затем скопировать интересующий нас фрагмент ДНК и вставить плазмиду в бактериальную клетку, как USB-флешку в подготовленный для нее разъем. За этим процессом последует обычное бинарное деление бактерий, и плазида с выбранным нами фрагментом ДНК будет реплицироваться точно так же, как и собственный генетический материал, унаследованный бактериальной клеткой. Таким образом, после пересадки единственной плазмиды в бактериальную клетку в процессе последующего деления бактерии в огромных количествах будет воспроизводиться выбранная нами последовательность ДНК. Поскольку мы сами способствуем воспроизводству выбранной клетки, то через короткий промежуток времени мы создадим колонию из миллиардов бактериальных особей, а значит, и миллиарды копий интересующего нас фрагмента ДНК. Соответственно, полученная нам колония – это завод по производству ДНК.

Все три операции – вырезание, вставка и копирование – были выполнены в 1972 году в Гонолулу. Это произошло на конференции, посвященной исследованию плазмид. На этой конференции присутствовали Герб Бойер, молодой ученый, недавно получивший пост штатного профессора в Калифорнийском университете в Сан-Франциско, и, что ожидаемо, Стенли Коэн, один из первых исследователей плазмид. Оба они были выходцами с востока США. Бойер происходил из Западной Пенсильвании и в старших классах играл в футбол – был нападающим. Пожалуй, ему очень повезло, что тренер по футболу одновременно был

учителем естествознания. Как и Коэн, Бойер являлся представителем нового поколения ученых, воспитанных на идее двойной спирали. Он так увлекался изучением ДНК, что даже назвал своих сиамских котов Уотсон и Крик. Поэтому никто, включая тренера, не удивился, когда по окончании колледжа Бойер решил заняться генетикой бактерий.

Хотя и Коэн, и Бойер в те времена работали на берегах бухты Сан-Франциско, до гавайской конференции они не встречались. Бойер был экспертом по рестриктазам уже тогда, когда о них практически никто еще не слышал; именно он и его коллеги определили последовательность оснований на участке, вырезаемом рестриктазой *EcoRI*. Вскоре Бойер и Коэн осознали, что в альянсе друг с другом смогут вывести молекулярную биологию на совершенно новый уровень – в мир копирования, вырезания и вставок. Как-то поздним вечером они зашли в ресторанчик в районе Вайкики и принялись фантазировать о зарождении технологии рекомбинантной ДНК, кратко конспектируя свои идеи прямо на салфетках. Таковую форму предвидения будущего окрестили «от солонины к клонированию».

Через несколько месяцев наладилось сотрудничество между лабораториями Бойера (в Сан-Франциско) и Коэна (в 64 километрах к югу от Пало-Альто). Герб Бойер продолжал работать над исследованием рестриктаз, а Стенли Коэн ставил опыты с плазмидами. На их удачу, у Коэна была лаборантка Энни Чанг, которая жила в Сан-Франциско и успешно осуществляла обмен драгоценной информацией о результатах исследований, проходящих в этих лабораториях. На первом этапе ученые решили создать гибрид – рекомбинант, состоящий из двух разных плазмид, каждая из которых была устойчива к конкретному антибиотику. В одной плазмиде имелся ген (участок ДНК), обеспечивавший устойчивость к тетрациклину, а в другой – ген устойчивости к канамицину. (Как вы уже догадываетесь, исходно бактерии с первой плазмидой погибали от канамицина, а бактерии с второй плазмидой – от тетрациклина.) Предполагалось сконструировать единую «суперплазмиду», которая бы обеспечивала устойчивость к обоим антибиотикам.

Сначала при помощи рестриктаз разрезали две неизмененные плазмиды. Затем эти плазмиды смешивались в одной пробирке, куда добавлялся фермент лигаза, которая должна была запустить склеивание обрезанных концевых остатков. Некоторые молекулы в пробирке под действием лигазы просто восстанавливали целостность – то есть склеивались два концевых остатка одной и той же плазмиды. Но иногда лигаза срабатывала так, что в разрезанную плазмиду попадали фрагменты

ДНК другой плазмиды – так и получался желаемый гибрид. Когда эта задача была решена, требовалось внедрить все плазмиды в бактерии, и это успешно было сделано с использованием технологий Коэна. Полученные от рекомбинантов колонии выращивались на агаровых пластинах, покрытых одновременно тетрациклином и канамицином. Те плазмиды, которые просто восстановились свою структуру, по-прежнему обеспечивали устойчивость лишь к одному из двух антибиотиков, и, соответственно, бактерии с такими плазмидами не выживали в среде, содержащей два антибиотика. В такой среде могли выжить только бактерии с рекомбинантными плазмидами, сконструированными из двух имевшихся разновидностей ДНК, одна из которых кодировала устойчивость к тетрациклину, а другая – к канамицину.

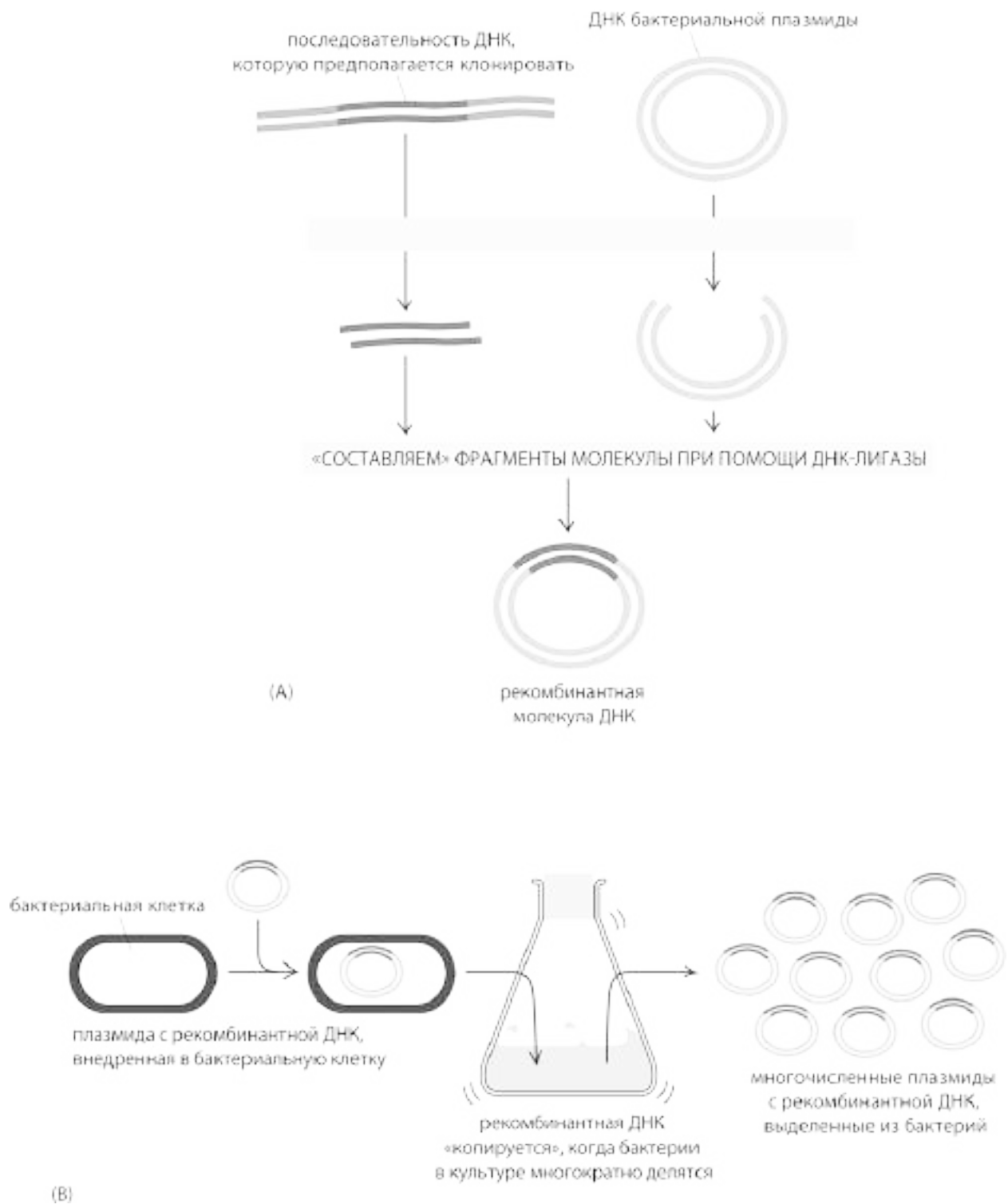


Герб Бойер и Стенли Коэн – первые в мире генные инженеры

Следующий вызов сложившемуся в обществе укладу заключался в создании гибридной плазмиды с использованием ДНК не бактерий, а иного организма, например человека. В одном из первых успешных экспериментов ген африканских шпорцевых лягушек удалось добавить в плазмиду *E. coli* и трансплантировать ее в бактерию. Всякий раз при делении клеток в такой бактериальной колонии реплицировался лягушачий фрагмент ДНК. Если не применять сложную молекулярно-биологическую терминологию, а просто описать происходящее, то это выглядит как «клонирование ДНК лягушки»^[5]. Как стало известно, ДНК млекопитающих также успешно клонируется. Ретроспективный анализ

показал, что в этом нет ничего особенно удивительного: любой фрагмент ДНК – это, в конечном счете, просто ДНК, его химические свойства не изменяются в зависимости от источника. Вскоре стало понятно, что протоколы Козна и Бойера, описывающие клонирование фрагментов ДНК, применимы к ДНК любого организма.

Таким образом, разворачивался уже второй этап молекулярно-биологической революции. На первом этапе мы стремились описать статус и функционал ДНК в клетке, затем, после получения рекомбинантной ДНК^[6], появились реальные инструменты для вмешательства в работу ДНК и манипулирования ею. Был создан плацдарм для стремительного прогресса, а мы примерили на себя роли Творца. Полученные результаты пьянили: открывался огромный потенциал, позволявший глубоко погрузиться в тайны жизни и добиться успеха в борьбе с такими болезнями, как рак. Несмотря на то что работы Козна и Бойера предоставили нам фантастические научные перспективы, – не открылся ли при этом ящик Пандоры? Не скрывалось ли в молекулярном клонировании какое-то неизвестное зло? Можно ли и далее беззаботно вшивать кусочки человеческой ДНК в *E. coli*, учитывая, какие огромные колонии этих бактерии обитают в «микробных джунглях» нашего кишечника? Что будет, если в кишечник проникнет видоизмененная бактерия? Короче говоря, можно ли, будучи в здравом уме, заткнуть уши и не слушать скептиков, заявляющих, что на глазах у всего научного мира мы творим бактерий-франкенштейнов?



Рекомбинантная ДНК: суть клонирования гена. А. Бактериальные плазмиды оказались идеальным носителем для клонирования ДНК; разрезая одной и той же рестриктазой интересующую нас ДНК и плазмиду, можно вставлять интересующую нас ДНК в плазмиду, как деталь в пазл. В. Внедрив эту рекомбинантную плазмиду в бактерию, можно реплицировать

в бактериальной культуре интересующий нас ген – на основе таких приемов развились геновая инженерия, секвенирование ДНК и биотехнологическая индустрия



Кишечная палочка *E. coli*. Представляете, около 10 миллионов этих существ обитает в каждом грамме человеческого кала

В 1961 году удалось выделить обезьяний вирус SV40 (SV означает «обезьяний вирус») из почек макака вида резус, использовавшихся при разработке вакцины против полиомиелита. Хотя и считалось, что этот вирус никак не влияет на мартышек, в организме которых встречается, вскоре дальнейшие эксперименты показали, что вирус может вызывать рак у грызунов, а в определенных лабораторных условиях – даже в человеческих клетках. Поскольку кампания по вакцинации от полиомиелита проводилась с 1955 года и миллионы американских детей уже были заражены этим вирусом, новость действительно была тревожной. Что если, искореняя полиомиелит, мы случайно обрекли целое поколение на риск развития онкологических заболеваний? По-видимому, этого все-таки не случилось: эпидемия рака не разразилась, а SV40 в организме

человека, судя по всему, не более патологичен, чем у мартышек. Тем не менее даже тогда, когда SV40 прочно обосновался в молекулярно-биологических лабораториях, оставались сомнения в его безопасности. Меня это особенно волновало, поскольку я к тому времени руководил лабораторией Колд-Спринг-Харбор, где появлялись все новые молодые ученые, работавшие с SV40 и зондировавшие с его помощью генетические основы рака.



Пол Берг и его вирусная «хонда»

Тем временем Пол Берг из Медицинской школы Стэнфордского университета усматривал в вирусе SV40 скорее возможности, чем опасности: он предвидел, что этот вирус удастся использовать для внедрения фрагментов ДНК в клетки млекопитающих. Вирус мог бы работать у млекопитающих как молекулярная система доставки лекарств, именно так, как действовали плазмиды у бактерий в опытах Стенли – Коэна. Однако если Коэн, в сущности, использовал бактерии как копировальные аппараты, позволяющие «увеличить» нужный фрагмент

ДНК, то Берг рассматривал SV40 как средство для внедрения корректировочных генов людям, страдающим от генетических заболеваний. Берг опередил свое время. Он стал вдохновителем практики, которая сегодня именуется «генотерапия» и заключается во введении нового генетического материала в организм живого человека с целью сгладить унаследованные генетические расстройства.

Пол Берг был приглашен в Стэнфорд в 1959 году на должность младшего профессора; переход произошел в рамках программы научного обмена, которая также привела в Стэнфорд еще более знаменитого Артура Корнберга из Вашингтонского университета в Сент-Луисе. Действительно, связь между Бергом и Корнбергом прослеживается вплоть до того, что родились они оба в нью-йоркском районе Бруклин и там ходили в один и тот же естественнонаучный клуб для старшеклассников, которым руководила мисс Софи Вольфе. Берг вспоминал: «она умела сделать науку интересной, она помогала нам делиться идеями». На самом деле, это была скорее ее недооценка: из научного клуба мисс Вольфе при старшей школе им. Авраама Линкольна вышло трое нобелевских лауреатов: Артур Корнберг (1959), Пол Берг (1980) и кристаллограф Джером Карле (1985) – и все они отмечали, насколько существенное влияние на них оказала мисс Вольфе.

В то время как Коэн и Бойер, а вслед за ними и другие ученые уточняли детали, связанные с копированием и вставкой молекул ДНК, Берг планировал смелый эксперимент. Он решил проверить, можно ли использовать вирус SV40 с внедренным в него фрагментом чужеродной ДНК для доставки чужого гена в клетку животного. В качестве источника ДНК, не принадлежащей SV40, он воспользовался уже имевшимся под рукой бактериальным вирусом – бактериофагом. Требовалось выяснить, сможет ли молекулярная структура, состоящая из ДНК SV40 и бактериофага, успешно внедриться в животную клетку. Если же она внедрится, на что и надеялся Берг, появится возможность того, что такую систему со временем можно будет использовать для встраивания полезных генов в человеческие клетки.

Летом 1971 года в лаборатории Колд-Спринг-Харбор аспирант Берга выступил с презентацией планируемого эксперимента. Один из ученых, присутствовавших в аудитории, настолько встревожился, что сразу же позвонил Бергу. Он спросил: «А что, если этот механизм сработает прямо наоборот?» Иными словами, что, если вирус SV40 не станет принимать вирусную ДНК и затем встраивать ее в животную клетку, а сам попадет «под власть» ДНК бактериофага, в результате чего ДНК SV40 может

внедриться, скажем, в ДНК бактериальной клетки *E. coli*? Такой сценарий не казался нереалистичным; в конце концов, именно на него и «запрограммированы» многие бактериофаги: они внедряют собственную ДНК в бактериальные клетки. Поскольку *E. coli* повсеместно распространена, а ее жизненный цикл тесно связан с жизнедеятельностью человека (ведь это один из основных микроорганизмов кишечной микробиоты человека), то благие намерения эксперимента Берга могли породить целые колонии опасных бактерий *E. coli*, несущих потенциально канцерогенный обезьяний вирус SV40. Берг прислушался к скептическим замечаниям коллеги, но не согласился с ними; он решил отложить эксперименты до тех пор, пока не будет подробно изучена потенциальная канцерогенность SV40 для человека.

Обеспокоенность по поводу смертельной угрозы, связанной с рекомбинантными технологиями, распространялась вслед за новостями об успешных опытах Бойера и Коэна. На научной конференции, посвященной нуклеиновым кислотам, состоявшейся в Нью-Гемпшире в 1973 году, большинством голосов была принята петиция к Национальной академии наук, в которой требовалось незамедлительно проанализировать угрозы, связанные с этой технологией. Через год комитет, назначенный Национальной академией и возглавляемый Полом Бергом, изложил свои выводы в письме, направленном в журнал *Science*. Я лично подписал это письмо, подписали его и многие другие, в том числе Коэн и Бойер, наиболее активно занимавшиеся соответствующими исследованиями. В этом документе, который позже стал известен под названием «Письмо о моратории», мы призывали «ученых всего мира» добровольно приостановить все исследования рекомбинантной ДНК «до более полной оценки потенциальных угроз, которые могут быть связаны с такими рекомбинантными молекулами ДНК, или до тех пор, пока не будут разработаны адекватные методы для предотвращения их распространения». В письме была важная оговорка о том, что «наши опасения базируются на суждениях о потенциальном, а не доказанном риске, поскольку экспериментальных данных об опасности рекомбинантных молекул ДНК пока недостаточно».

Уже очень скоро я глубоко разочаровался в том, что моя подпись оказалась под «Письмом о моратории». Ведь было очевидно, что молекулярное клонирование сулит миру фантастические блага, а теперь, проделав такую массу работы и оказавшись на заре биологической революции, мы капитулировали. Момент был неоднозначный. Как написал Майкл Роджерс в своем репортаже на эту тему для журнала *Rolling Stone*,

«очевидно, что молекулярные биологи достигли таких экспериментальных рубежей, которые сравнимы лишь с рубежами физики в последние годы перед созданием атомной бомбы». Мы проявили благоразумие или малодушие? Сейчас не могу сказать с уверенностью, но поначалу я склонялся ко второму ответу.

«Конгресс по поводу ящика Пандоры» – так Майкл Роджерс назвал состоявшееся в феврале 1975 года заседание 140 ученых со всего мира, собравшихся в Асиломарском конференц-центре в городе Пасифик Гроув, штат Калифорния. Повестка дня заключалась в том, чтобы раз и навсегда определить, чем для нас является рекомбинантная ДНК: уникальной возможностью или угрозой. Стоит ли объявить наш мораторий бессрочным или двигаться вперед, невзирая на потенциальные риски? Есть еще вариант – дожидаться, пока будут разработаны те или иные защитные меры. Пол Берг, возглавлявший оргкомитет, также был номинальным руководителем конференции и должен был справиться с практически неразрешимой задачей: подготовить по итогам встречи общее заключение.

Присутствовавшие журналисты недоуменно чесали в затылке, пока ученые общались на своем «птичьем языке». Там присутствовали и юристы, напоминавшие, что на конференции нужно решить и правовые вопросы: например, если я руковожу лабораторией, где ведутся исследования рекомбинантной ДНК, то несу ли я ответственность за то, что мой работник при этом заболеет раком? Что касается ученых, они по природе и профессиональному складу равнодушно относились к тревожным прогнозам, не подкрепленным доказательствами; поэтому были обоснованные подозрения, что никакого единодушного решения на конференции найти не удастся. Возможно, Берг сомневался не меньше других; так или иначе, он сделал ставку на свободный обмен мнениями, а не на жесткое давление с трибуны. Состоявшиеся дебаты напоминали всеобщую перепалку, и регламент зачастую срывал какой-нибудь оратор, намеренный лишь подолгу и не по делу разглагольствовать о том, какая важная работа ведется в его лаборатории. Мнения чрезвычайно варьировались – от робких («продлить мораторий») до агрессивных («будь проклят этот мораторий, руки прочь от науки»). Я, определенно, тяготел ко второму лагерю. В тот момент мне казалось, что будет просто безответственно тормозить исследования, перестраховываясь от каких-то неизвестных и неоцененных опасностей. В мире были безнадежно больные люди, страдавшие раком и муковисцидозом, – по какому праву можно отобрать у них, возможно, единственную надежду?

Сидней Бреннер, в ту пору обосновавшийся в Кембридже

(Великобритания), предъявил кое-какие реальные данные, которых на этой конференции было очень мало. Он собрал колонии штамма *E. coli*, известные под названием К-12. Это излюбленная «рабочая лошадка» бактериологов, активно используемая в исследованиях, связанных с молекулярным клонированием. Некоторые редкие штаммы *E. coli* могут вызывать вспышки пищевого отравления. Однако на самом деле абсолютное большинство штаммов *E. coli* не патогичны, и Бреннер полагал, что и К-12 не исключение. Интересовало его прежде всего не собственное самочувствие, а здоровье К-12: выживут ли эти штаммы вне лаборатории? Он добавлял взвесь бактерий в стакан с молоком (получалось довольно невкусно), после чего залпом его осушал. Далее он наблюдал, что получается на выходе из пищеварительного тракта: удалось ли каким-то клеткам К-12 колонизировать его кишечник? Результат был отрицательным, и это означало, что К-12, процветавшие в чашке Петри, оказывались нежизнеспособны в «естественном мире». Однако ряд ученых скептически относились к этому выводу: даже если бактерии К-12 сами по себе не выживали, это еще не означало, что они не успевали обмениваться плазмидами – или другой генетической информацией – с бактериями-симбионтами кишечника. Следовательно, «генно-инженерный» материал все равно мог проникать в популяцию кишечной микрофлоры. Бреннер отстаивал идею о том, что следует вывести такой штамм К-12, который однозначно будет неспособен выжить вне лаборатории. Этого можно было бы достичь при помощи таких генетических мутаций, которые позволяли бы штамму делиться, лишь если он будет обеспечен конкретными питательными веществами. Естественно, мы подобрали бы такие питательные вещества, которые просто негде взять в естественной среде: полный набор таких веществ должен быть составлен лишь в лаборатории. Модифицированный таким образом штамм К-12 стал бы «безопасной» бактерией, выживающей в контролируемых экспериментах, но обреченной в естественном мире.



Дебаты о ДНК: Максин Сингер, Нортон Зиндер, Сидней Бреннер и Пол Берг за обсуждением проблем на Асиломарской конференции

Под напором Бреннера было принято компромиссное предложение. Естественно, оба радикальных крыла молекулярных биологов были им весьма недовольны, но конференция завершилась согласованным рекомендательным решением о том, что допускается продолжать исследования с использованием аттенуированных, непатогенных бактерий. Также вменялось в обязанность оборудовать дорогие карантинные комплексы для работы с ДНК млекопитающих, обеспечивающие биологическую безопасность. Эти рекомендации заложили основу для руководства, выпущенного год спустя Национальными институтами здравоохранения.

Я покидал конференцию опустошенным, чувствуя отчуждение своих коллег. Стэнли Козна и Герба Бойера мероприятие также разочаровало; они разделяли мою точку зрения и были разочарованы тем, что многие наши коллеги поступились трезвым научным расчетом, просто чтобы собравшиеся сочли их «хорошими ребятами» (а не фанатами доктора Франкенштейна). В действительности же абсолютное большинство обвинителей никогда не работало с болезнетворными организмами и плохо

понимало подоплеку принимаемых ограничений на наши исследования, а исследованиями занимались как раз те, кто отдавал себе отчет в том, что и как он делает. Меня корбило, с какой произвольностью принимались многие соглашения: так, сочли приемлемым работать с ДНК холоднокровных животных, но большинство ученых высказалось за решительный отказ от использования ДНК млекопитающих. По-видимому, они считали, что работать с лягушачьей ДНК безопасно, а с мышьиной – опасно. Ошарашенный таким нонсенсом, я «вставил свои пять копеек» юмора: вы что, не знаете, что от прикосновения к лягушке вскакивают бородавки? Но никто не оценил моей шутки.

Благодаря принятому постановлению многие участники Асиломарской конференции решили, что можно будет без проблем вести исследования, связанные с клонированием «безопасных» бактерий. Однако все, взявшиеся за продолжение работы, вскоре попали на зыбкую почву. По логике, пропагандируемой в популярной прессе, если ученые обеспокоены некоторой научной проблемой, то общество тем более должно воспринимать эту проблему с тревогой. В конце концов, тогда все еще продолжалась эпоха американской контркультуры, которая, правда, постепенно шла на спад. Только-только улеглись страсти по поводу вьетнамской войны и политической карьеры Ричарда Никсона. Недоверчивая публика, практически неспособная понять чрезвычайно сложные вопросы естествознания, которые едва начинала постигать сама наука, легко велась на теории о заговоре, учиненном верхушкой власти. Мы, ученые, изрядно удивлялись, что нас причисляют к этой политической элите, в рядах которой мы себя и не мыслили. Даже Герб Бойер, образец «хиппующего ученого», обнаружил упоминание о себе в специальном хэллоуинском выпуске *Berkeley Barb*, андеграундной газеты, выходившей в районе Сан-Франциско, как об одном из десяти «жутчайших персонажей» региона: обычно «такая честь» отводилась лишь коррумпированным политикам и капиталистам, притесняющим профсоюзы.

Больше всего я боялся, что такая махровая публичная паранойя по поводу вредоносных экспериментов в молекулярной биологии приведет к появлению драконовских законов. Если бы вдруг «что дозволено» и «что не дозволено» в рекомбинантных технологиях оказалось бы прописано в каком-нибудь нормативно-правовом акте, это только навредило бы науке. Планы новых экспериментов потребовалось бы подавать на рассмотрение и утверждение в политизированные экспертные советы, где царила беспросветная бюрократия, неистребимая, как моль в старом бабушкином шкафу. Тем временем, как бы мы ни старались оценить реальный

потенциальный риск, присущий нашей работе, нам так и не удавалось справиться с недостатком информации и логическими сложностями «доказательств от противного». Никаких биологических катастроф с рекомбинантной ДНК никогда ранее не возникало, но журналисты пытались перещеголять друг друга, предлагая сценарии таких бедствий один другого мрачнее. Биохимик Леон Геппель, описывая свои впечатления от собрания в Вашингтоне (округ Колумбия) в 1977 году, так резюмировал всю абсурдность тех противоречий, с которыми приходилось иметь дело ученым.

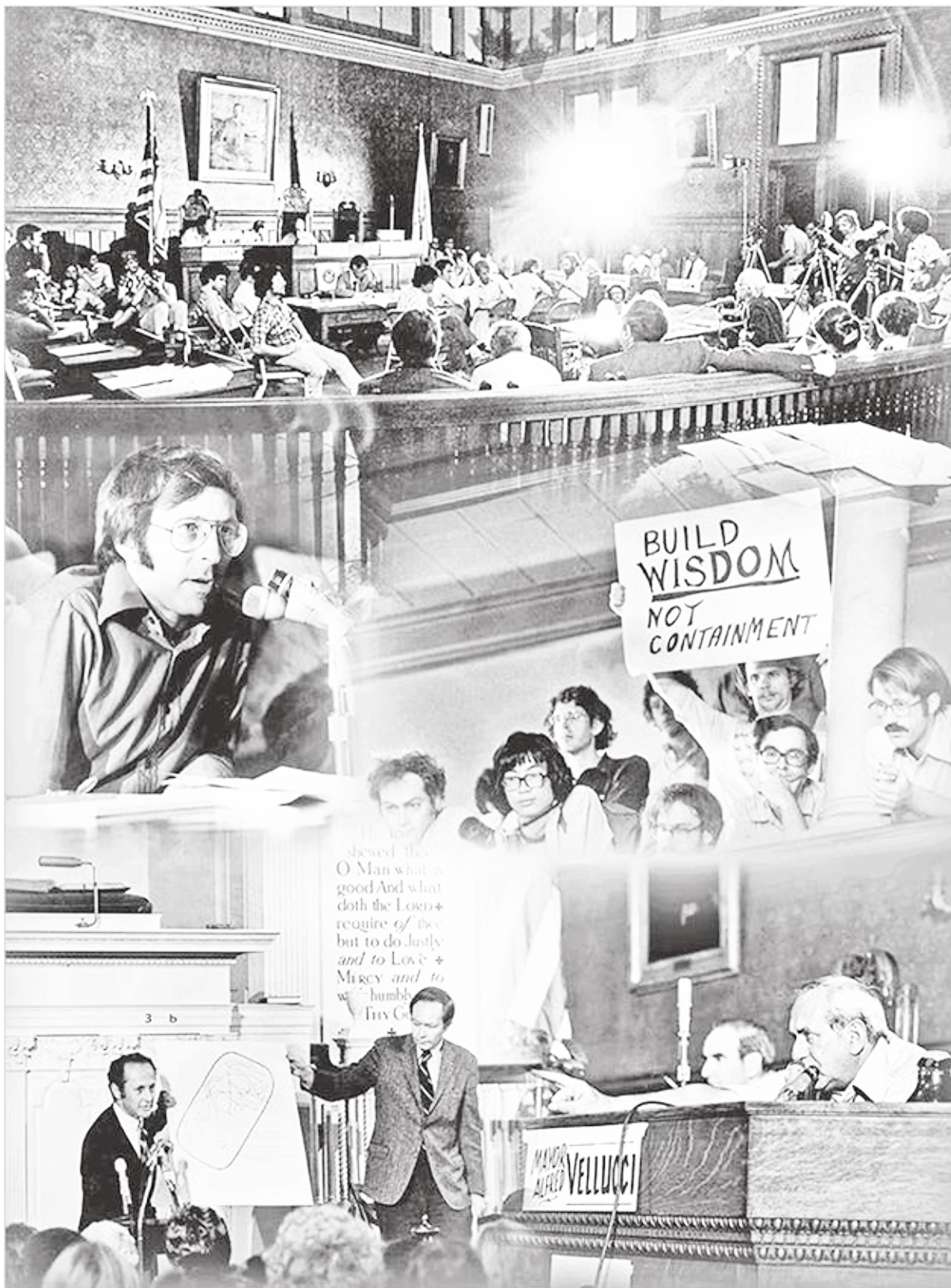
Я чувствовал себя так, словно меня избрали в импровизированный комитет, собранный испанским двором для оценки потенциальных рисков, с которыми могла столкнуться экспедиция Христофора Колумба. Комитет должен был выработать регламент по поводу того, как следует действовать, если Земля окажется плоской, как экипажу безопасно заглянуть за край Земли и т. д.

Однако даже ирония ученых практически ничего не позволяла поделаться с мракобесами, ополчившимися против мнимой «прометеевой гордыни» в науке. Одним из таких «крестоносцев» был Альфред Велуччи, мэр Кембриджа, штат Массачусетс. Велуччи заработал политические очки, отстаивая права «простого человека» в борьбе против элитных вузов, расположенных в городе, – речь о Массачусетском технологическом институте и Гарварде. Шумиха по поводу рекомбинантной ДНК стала для него настоящим политическим Эльдorado. Вот характеристика современника, прекрасно описывающая сложившуюся тогда ситуацию:

Выходит он в своих клюквенно-красной двубортной куртке и черных штанах, под курткой – голубая рубашка в желтую полоску, из-под которой выпирает пивной живот. Карманы его набиты всякой всячиной, а зубы кривые. Таков Эл Велуччи, воплощение американского обывательского недовольства всеми этими учеными и технократами, этими хитрыми гарвардскими «ботанами», возомнившими, что весь мир у них на крючке и что они могут швырнуть его в грязную лужу. И кто же в результате оказывается в луже? Нет, не «яйцеголовые», а неизменно Велуччи и простые работяги, которым только и остается потом самим отмываться от грязи.

Отчего же разгорелся весь сыр-бор? Гарвардские ученые проголосовали за то, чтобы возвести прямо в кампусе карантинный объект, где можно было бы работать с рекомбинантной ДНК в строгом соответствии с регламентом Национальных институтов здравоохранения. Однако Велуччи, предвидя такое развитие событий, заручился поддержкой левой партийной группировки, члены которой, ополчившиеся на исследования ДНК, работали в Гарварде и Массачусетском технологическом институте, и всего за несколько месяцев сумел запретить в Кембридже любые исследования, связанные с рекомбинантной ДНК. В результате наступил короткий, но негативно отразившийся на науке период локальной утечки мозгов: ученые из Гарварда и Кембриджа потянулись в менее политизированную среду. Тем временем Велуччи привыкал к новообретенной славе бдительного защитника социума от науки. В 1977 году он написал президенту Национальной академии наук:

В сегодняшнем номере **Boston Herald American** (издательская корпорация «Хёрст») есть два репортажа, вызывающих у меня серьезное беспокойство. В Дувре, штат Массачусетс, заметили «странное существо с оранжевыми глазами», а в Холлисе, штат Нью-Гемпшир, мужчина и двое его сыновей повстречали «волосатую девятифутовую тварь».



Слушания в Кембридже, штат Массачусетс. В результате этого процесса в городе были полностью запрещены исследования

рекомбинантной ДНК

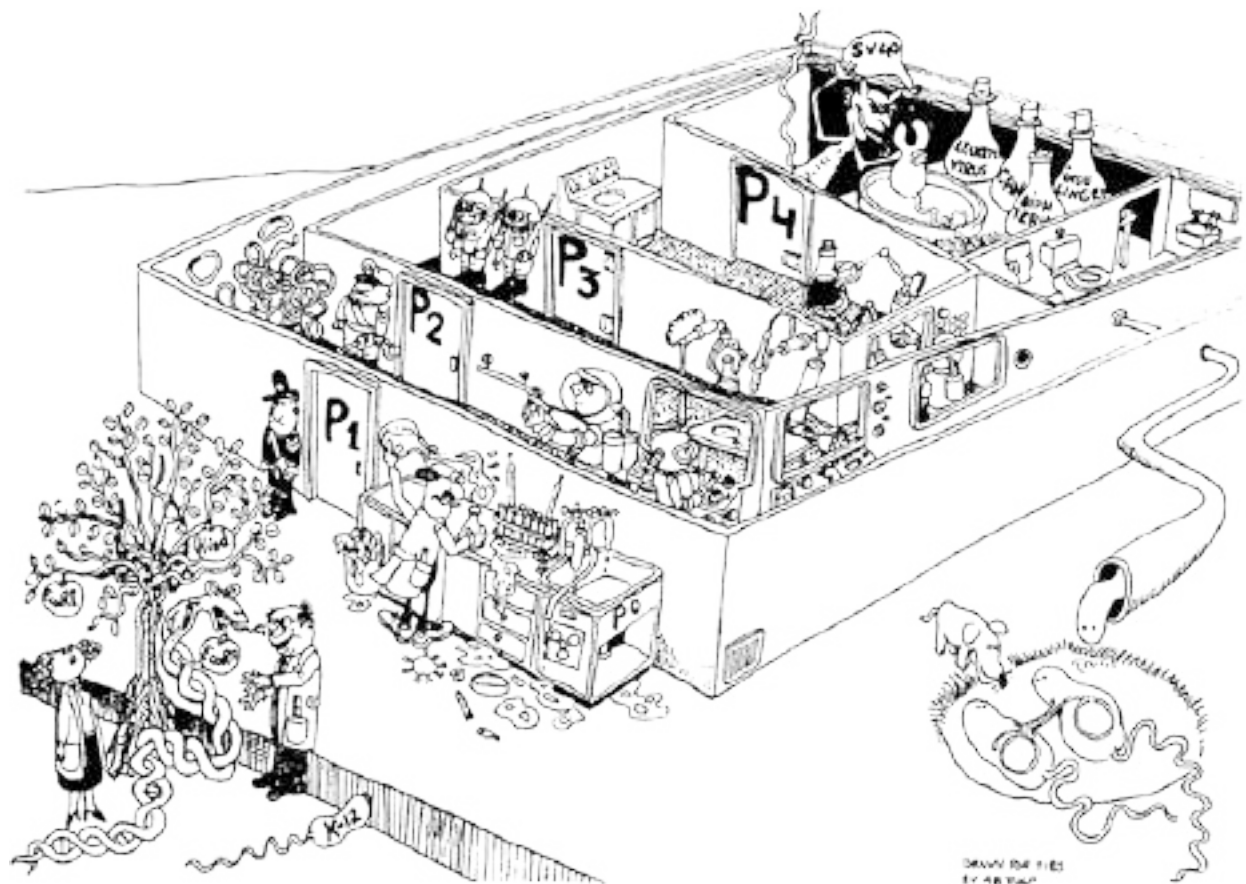
Я с уважением обращаюсь в вашу авторитетную организацию с просьбой расследовать эти факты. Надеюсь, вы сможете проверить, могут ли эти «странные существа» (если, конечно, они существуют) быть каким-то образом связаны с экспериментами в сфере рекомбинантной ДНК, предпринимаемыми в Новой Англии.

К счастью, несмотря на активное обсуждение в обществе, государственные законы по ограничению исследования рекомбинантной ДНК так и не были приняты. Сенатор от штата Массачусетс Тед Кеннеди вступил в эту дискуссию на самом раннем этапе и организовал слушание по этому вопросу в Сенате всего через месяц после Асиломарской конференции. В 1976 году он обратился к президенту Форду, заявив, что федеральное правительство должно взять под контроль как промышленные, так и академические исследования ДНК. В марте 1977 года я давал объяснения в Законодательном собрании штата Калифорния. На заседании присутствовал губернатор Джерри Браун, и мне удалось пояснить ему лично, что было бы ошибочно принимать к рассмотрению законопроекты против таких исследований за исключением того случая, если ученых в Стэнфорде поразит какая-нибудь неизвестная болезнь. Если люди, непосредственно работающие с рекомбинантной ДНК, останутся совершенно здоровы, то специалистам по законотворчеству лучше сосредоточиться на более реальных общественных опасностях, таких, например, как езда по городу на велосипеде.

По мере того как проводились все новые и новые эксперименты (либо по регламенту Национальных институтов здравоохранения, либо в соответствии с правилами, принятыми в других государствах), становилось все очевиднее, что при экспериментах с рекомбинантной ДНК не возникает никаких франкенштейнов (а уж тем более – *полно вам, мистер Велуччи!* – «странных существ с оранжевыми глазами»). Уже в 1978 году я смог написать следующее: «Если сравнить ДНК со всеми прочими феноменами, названия которых начинаются на букву *d*, то она в самом деле совершенно безопасна. Гораздо уместнее поостеречься кинжалов, динамита, собак, дильдрин, диоксина или пьяных водителей (*daggers, dynamite, dogs, dieldrin, dioxin, drunken drivers*), нежели изображать схемы, достойные Руба Голдберга^[7], измышляя, как наша лабораторная ДНК может привести к

вымиранию человечества».

Позже в том же году в Вашингтоне, округ Колумбия, Надзорный комитет Национальных институтов здравоохранения по работе с рекомбинантной ДНК принял гораздо менее жесткий регламент, разрешавший развивать основной массив исследований, связанных с рекомбинантной ДНК, в частности изучать ДНК вирусных онкогенов. В 1979 году Джозеф Калифано, министр здравоохранения и социальных служб США, одобрил эти изменения, на чем и закончился период бессмысленной стагнации исследований рака у млекопитающих.



На практике Асиломарская конференция обернулась удручающе бессмысленным пятилетием, в течение которого тормозились важные исследования, а карьера многих молодых ученых оказалась загублена.

К концу 1970-х годов те проблемы, что были подняты в исходных экспериментах Коэна и Бойера, постепенно решились сами собой. Нам пришлось совершить досадный крюк, но биологи-молекулярщики как минимум продемонстрировали, что готовы нести социальную ответственность за результаты своих экспериментов.

Нельзя сказать, что во второй половине 1970-х годов молекулярная биология оказалась полностью сокрушена противостоянием с политикой; в эти годы были достигнуты некоторые важные успехи, и большинство полученных результатов базировалось на по-прежнему неоднозначной технологии молекулярного клонирования, изобретенной Коэном и Бойером. Важнейший прорыв в данном направлении был связан с открытием методов секвенирования ДНК. Для секвенирования нужно иметь множество образцов интересующего нас отрезка ДНК. Это было неосуществимо (если не считать образцов небольшой вирусной ДНК) до тех пор, пока не были разработаны технологии молекулярного клонирования. Как мы уже убедились, клонирование, в сущности, заключается в следующем: вставляем интересующий нас фрагмент ДНК в плазмиду, а потом саму плазмиду внедряем в бактерию. Далее мы позволяем бактерии делиться и размножаться и в результате получаем множество копий искомого фрагмента ДНК. Затем этот фрагмент выделяется из бактерий – все, материал для секвенирования готов.

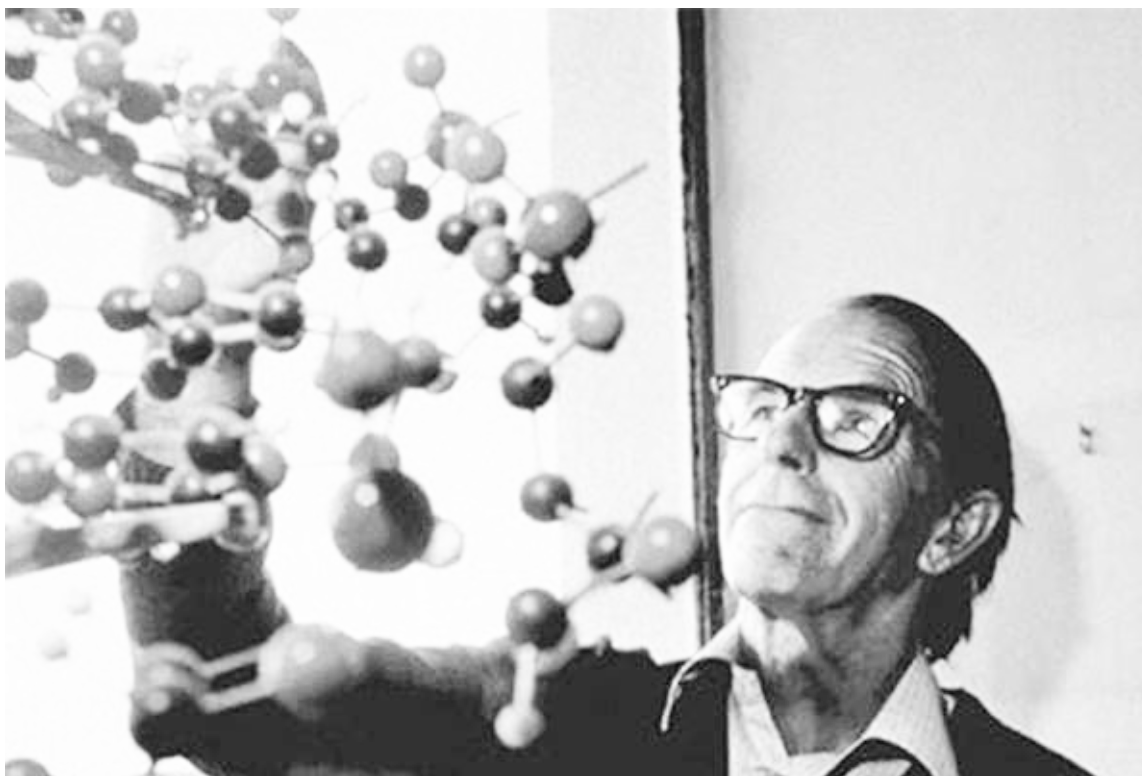
Две технологии секвенирования были разработаны одновременно. Автором одной из них был Уолли Гилберт из Кембриджа, штат Массачусетс (Гарвардский университет), автором другой – Фред Сенгер из британского Кембриджа. Уолли Гилберт заинтересовался секвенированием ДНК после того, как смог выделить репрессорный белок из регуляторной системы гена β -галактозидазы у бактерии *E. coli*. Как мы уже знаем, он продемонстрировал, что при встраивании нужного гена в хромосомную ДНК хозяина нужно позаботиться о том, чтобы сайт интеграции не находился внутри гена, кодирующего важную клеточную функцию. Кроме того, для обеспечения эффективной экспрессии его помещают под контроль регулируемого промотора.

Для интеграции в нужный сайт вводимый ген должен содержать нуклеотидную последовательность длиной не менее 50 нуклеотидов, сходную с таковой в хромосомной ДНК, в пределах которых и должен произойти физический обмен (рекомбинация) между двумя молекулами ДНК. Далее он решил выяснить, какова последовательность оснований на этом отрезке ДНК. Найти такой способ ему посчастливилось благодаря встрече с блестящим советским химиком Андреем Дарьевичем Мирзабековым. При помощи мощных химических реактивов Уолли Гилберту удалось разделить цепочки ДНК именно на нужных участках, специфичных к конкретным основаниям.

Уолли Гилберт оканчивал школу в Вашингтоне, округ Колумбия, и даже сбегал с уроков, чтобы почитать книги по физике в библиотеке

Конгресса. На тот момент он боролся за приз в конкурсе по поиску молодых талантов под эгидой компании Вестингауз^[8] – это был настоящий Святой Грааль для всех одаренных старшеклассников. Как и следовало ожидать, он получил эту премию в 1949 году. (Много лет спустя, в 1980 году, получив приглашение в Стокгольм, в Шведскую академию наук, Гилберт лишний раз улучшил статистику, согласно которой премия Вестингауза – одна из наиболее серьезных заявок на получение Нобелевской премии в будущем.)





Уолли Гилберт (вверху) и Фред Сенгер (внизу) – короли секвенирования

В университете и аспирантуре Гилберт занимался физикой, а в 1956 году, через год после моего прибытия в Гарвард, стал работать на физическом факультете. Когда же я увлек его опытами с РНК, которыми занимался у себя в лаборатории, Гилберт забросил свою дисциплину ради моей. Вдумчивый и непреклонный Гилберт успел немало поработать на переднем крае молекулярной биологии.

Однако из двух методов секвенирования проверку временем выдержал вариант, предложенный Сенгером. Именно этот метод секвенирования был использован в проекте «Геном человека», а затем оказался востребованным и далее, пока не уступил место красивой химической технологии, изобретенной в британском Кембридже (об этом мы поговорим в главе 8). Некоторые химические соединения, расщепляющие ДНК и необходимые при секвенировании по методу Гилберта, сложны в обращении – чего доброго, начнут расщеплять ДНК самого исследователя. В свою очередь, при работе методом Сенгера используется тот же самый фермент, который обеспечивает естественное копирование ДНК в клетках, – ДНК-полимераза. Весь фокус в том, что при копировании пары оснований немного изменяются.

Сенгер использовал не только обычные дезокси-основания (А, Т, Г и Ц), которые встречаются в естественной ДНК, но и так называемые дидезокси-основания. Основания второй категории обладают замечательным свойством: ДНК-полимераза с готовностью внедряет их в цепочку ДНК (то есть копия собирается по образцу матричной цепи). Однако, после того как в цепочку попадет дидезокси-основание, другие основания в нее добавляться больше не могут. Иными словами, скопированная нить не может достраиваться после дидезокси-основания.

Допустим, у нас имеется матричная цепь с последовательностью ГГЦЦТАГТА. В эксперименте используется множество копий такой спирали. Теперь представьте себе, что эта цепь копируется при помощи ДНК-полимеразы, но в растворе, кроме А, Т, Г и Ц, присутствует еще и дидезокси-А. Фермент работает, сначала добавляя к цепи Ц (комплементарный исходному Г), затем еще Ц, затем еще Г и еще Г. Однако, когда фермент добирается до первого Т, открываются два варианта: либо он добавит к растущей цепочке обычный А, либо дидезокси-А. Если фермент подберет дидезокси-А, то цепь далее расти не сможет и получится короткой, с дидезокси А в конце: ЦЦГГддА. Но существует также возможность того, что цепь подхватит обычное А, и в этом случае ДНК-полимераза продолжит добавлять основания: Т, Ц и так далее. Дидезокси-основание в следующий раз сможет «закоротить» цепочку не раньше, чем фермент дойдет до следующего Т. Здесь, опять же, цепочка может подхватить либо нормальное А, либо дидезокси А (ддА). При присоединении ддА цепочка тоже получится обрубленной, но чуть более длинной, чем в первый раз: у этой цепочки будет последовательность ЦЦГГТАЦддА. Подобное происходит всякий раз, когда цепь дорастает до Т и далее к ней может присоединиться А. Если случится так, что цепочка подхватит обычное А, то она продолжит расти, а если подхватит ддА – то на этом завершится.

Что же в итоге? После эксперимента у нас имеется целый набор цепочек разной длины, скопированных с матричной ДНК. Что у них общего? Все они оканчиваются основанием ддА.

Теперь вообразите, что все происходит аналогично и с тремя оставшимися основаниями; в случае Т у нас в растворе будут обычные А, Т, Г, Ц плюс ддТ. В результате будут получаться молекулы ЦЦГГАддТ либо ЦЦГГТАЦддТ.

Проведя реакцию всеми четырьмя способами – сначала с ддА, затем с ддТ, после этого с ддГ и с ддЦ, – получим четыре набора цепочек ДНК. В первой группе все цепочки заканчиваются на ддА, во второй – на ддТ и так

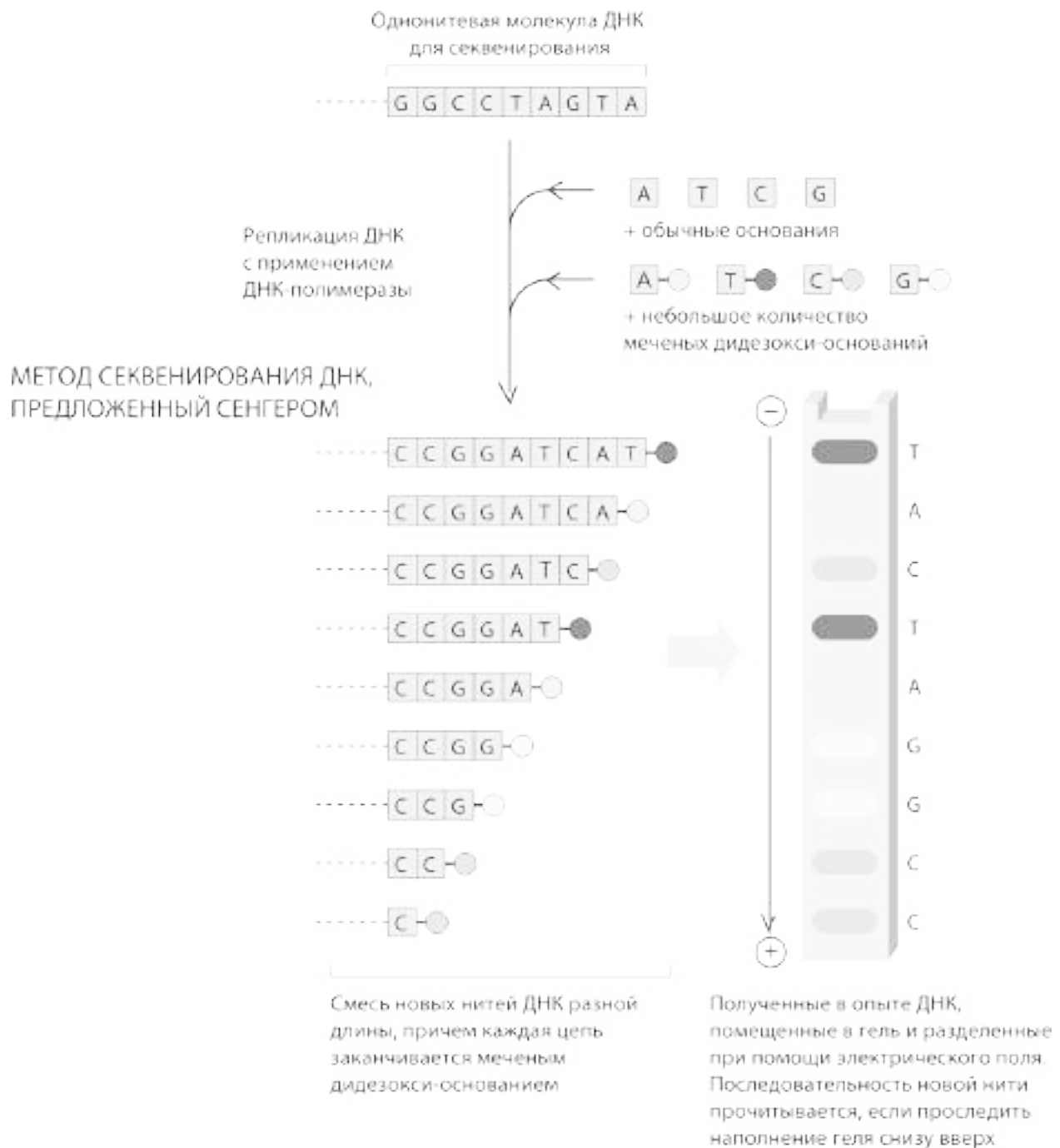
далее. Как можно рассортировать эти слегка различающиеся цепочки в зависимости от слегка различающейся длины так, чтобы можно было логически вывести длину цепочки? Во-первых, можно организовать сортировку, уложив ДНК на пластинку, обработанную специальным гелем, а саму пластинку поместить в электрическое поле. Под действием электрического поля молекулы ДНК рассредоточатся по гелю. Скорость движения каждой цепочки есть функция ее длины – короткие цепочки движутся быстрее длинных. В течение фиксированного промежутка времени самый короткий фрагмент – в нашем случае ддЦ – уйдет дальше всех; чуть более длинный ЦддЦ уйдет не так далеко, а еще чуть более длинный ЦЦддГ пройдет еще меньший отрезок пути. Теперь вы догадываетесь, какой трюк применил Сенгер. Фиксируя относительные позиции всех этих мини-цепочек, движущихся сквозь гель, можно логически вывести, какова последовательность оснований в данном фрагменте ДНК: сначала идет Ц, затем еще Ц, затем Г и так далее.

В 1980 году Фред Сенгер получил Нобелевскую премию по химии совместно с Уолли Гилбертом и Полом Бергом, награжденным за вклад в разработку технологий, связанных с рекомбинантной ДНК (необъяснимо, почему такой чести не были удостоены ни Стэнли Коэн, ни Герб Бойер).

Для Сенгера это была вторая по счету Нобелевская премия^[9]. В 1958 году он получил премию по химии за изобретение метода секвенирования белков – он научился определять последовательность аминокислот в белковой молекуле и таким способом выяснил состав человеческого инсулина. Однако сенгеровские методы секвенирования белков и ДНК совершенно не связаны ни в техническом, ни в идейном отношении. Каждый из методов он разработал с нуля, и, пожалуй, Сенгер заслуживает звания величайшего технического гения в ранней истории молекулярной биологии.

Фред Сенгер, умерший в 2013 году, не походил на «типичного» дважды нобелевского лауреата. Он родился в квакерской семье, стал социалистом, а в годы Второй мировой войны отказался от военной службы по религиозным убеждениям. Еще невероятнее, что он нигде не распространялся о своих достижениях, а нобелевские регалии также не хранил на виду. «Получаете красивую золотую медаль и относите ее на хранение в банк. Есть еще сертификат, я храню его на чердаке». Он даже отказался от рыцарского титула: «Рыцарство выделяет вас среди окружающих. А я не хочу выделяться». После ухода на покой Сенгер с удовольствием садовничал у себя дома близ Кембриджа, хотя иногда и посещал Сенгеровский центр (ныне называется «Институт Сенгера») –

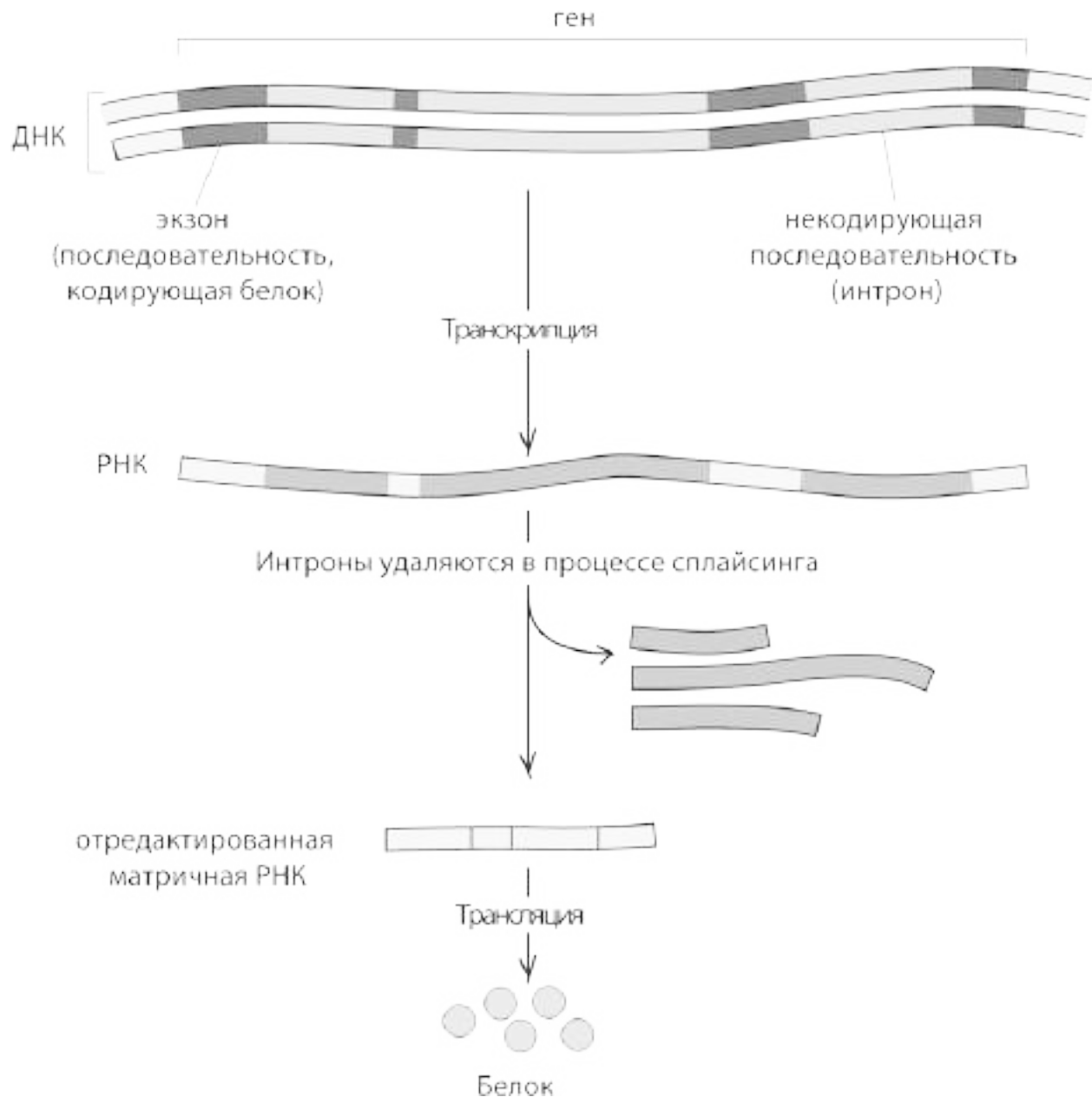
геномную лабораторию в Кембридже, открытую в 1993 году.



Метод секвенирования ДНК, предложенный Сенгером

Секвенирование подтвердило одно из наиболее замечательных открытий 1970-х годов. Уже было известно, что гены – это линейные цепочки, состоящие из оснований А, Т, Г и Ц, и что эти основания транслируются тройками, в соответствии с генетическим кодом. Из них собираются линейные цепочки аминокислот – такие молекулы называются «белками». Однако замечательные исследования, проведенные Ричардом

Робертсом, Филом Шарпом и другими, показали, что у многих организмов гены образуют прерывистые участки и жизненно важные отрезки ДНК перемежаются с нерелевантными. Только после транскрипции матричной РНК эта путаница рассортировывается в процессе «редактирования», при котором ненужные участки удаляются. Это равноценно тому, как если бы в этой книге случайным образом встречались лишние абзацы, с виду перемешанные как попало, и в них рассказывалось бы то о бейсболе, то об истории Римской империи. Уолли Гилберт назвал такие вставные последовательности «интронами», а те участки, которые отвечают, собственно, за кодирование белков (то есть образующие функциональную часть гена), – «экзонами». Оказывается, что интроны встречаются в ДНК сравнительно сложноорганизованных существ; у бактерий их нет.



Интроны и экзоны. Некодирующие интроны вырезаются из матричной РНК перед синтезом белков

Некоторые гены особенно богаты интронами. Например, у человека есть ген фактора свертываемости крови VIII (он может мутировать у людей, страдающих гемофилией), который содержит двадцать пять интронов. Фактор VIII – большой белок, его длина составляет около двух тысяч аминокислот, но на кодирующие экзоны в нем приходится всего около 4 % общей длины гена. Оставшиеся 96 % – это интроны.

Каков функционал интронов? Ведь очевидно, что их наличие

радикально усложняет все клеточные процессы, поскольку при формировании матричной РНК их всегда требуется вырезать, а это сложное дело, особенно с учетом того, что единственной ошибки при вырезании интрона при подготовке матричной РНК достаточно, чтобы, допустим, фактор свертываемости крови VIII приобрел мутацию сдвига рамки, которая «испортит» весь белок. Существует теория, что такие молекулярные вкрапления – попросту эволюционный рудимент, наследие, сохранившееся со времен зарождения жизни на Земле. Однако до сих пор активно обсуждается, как могли возникнуть интроны и есть ли от них какая-либо польза в великом коде жизни.

Когда в общих чертах стала понятна природа генов у эукариот (организмов, в клетках которых есть специальное хранилище для генетического материала – ядро; у прокариот, например у бактерий, ядра нет), в науке началась настоящая «золотая лихорадка». Группы мотивированных на открытия ученых, вооруженные новейшими технологиями, устроили настоящую гонку: кому первому удастся изолировать (клонировать) и охарактеризовать ключевые гены. Среди первых найденных «сокровищ» были гены, мутации которых вызывают рак у млекопитающих. Как только ученые завершили секвенирование ДНК нескольких хорошо изученных вирусных онкогенов, в частности SV40, удалось выявить конкретные гены, вызывающие рак. Эти гены способны превращать обычные клетки в клетки с онкологическими свойствами – например, в такие, которые бесконтрольно растут и делятся и поэтому образуют опухоли. Уже вскоре молекулярные биологи начали выделять гены из раковых клеток человека, и затем было найдено подтверждение тому, что рак у человека возникает из-за изменений на уровне ДНК, а не из-за обычных негенетических проблем роста, как предполагалось ранее. Были найдены гены, ускоряющие или стимулирующие рост опухолей, а также гены, замедляющие или ингибирующие его. По-видимому, для нормальной работы клетке, как и автомобилю, нужна педаль газа и педаль тормоза.

Генетическое кладоискательство захлестнуло всю молекулярную биологию. В 1981 году в лаборатории Колд-Спринг-Харбор стали читать продвинутый летний курс о приемах генетического клонирования. В ходе этого курса было разработано лабораторное пособие «*Молекулярное клонирование*», и за следующие три года эта книга разошлась тиражом более 80 тысяч экземпляров. Первый этап революции ДНК (1953–1972) – воодушевление, которое увенчалось открытием двойной спирали и привело нас к чтению генетического кода, – осуществился силами примерно трехсот

ученых. На втором этапе, когда была получена рекомбинантная ДНК и разработаны технологии секвенирования ДНК, число революционеров менее чем за десятилетие возросло в сотни раз.

Такой взрывной рост отчасти связан с возникновением совершенно новой индустрии – биотехнологии. Теперь ДНК интересовала не только биологов, стремившихся понять молекулярные основы жизни. Молекула ДНК вышла из академических кулуаров, населенных людьми в белых халатах, в большой мир, где обитают в основном носители шелковых галстуков и строгих костюмов. Френсис Крик назвал свой дом в Кембридже «Золотая спираль», и вскоре это выражение приобрело совершенно новый смысл.

MARCH 1981

1.50

TIME

Shaping Life in the Lab

**The Boom
In Genetic
Engineering**

**Genentech's
Herbert Boyer**

A. MAGEE



**Prince Charles
Picks a
Bride**



На фото: журнал Time сообщает о рождении биотехнологического бизнеса (а также анонсирует королевскую свадьбу)

Глава 5

Биотехнология: ДНК, доллары и биопрепараты

Герб Бойер умеет попасть на нужную встречу. Мы уже знаем, как в 1972 году они со Стэнли Коэном зашли перекусить в ресторанчик в районе Вайкики, и в результате были поставлены эксперименты, позволившие создать рекомбинантную ДНК. В 1976 году в его жизни опять произошла нужная встреча: случилось это в Сан-Франциско, где Герб Бойер познакомился со специалистом по венчурным фондам и капиталам Бобом Суонсоном. Результатом встречи стала новая индустрия, названная биотехнологией.

Встреча эта состоялась по инициативе Боба Суонсона. Тому тогда было всего 29 лет, но он уже завоевал серьезную репутацию на финансовом рынке. Суонсон искал новые возможности для развития бизнеса и, доверяя своему естественнонаучному образованию, разглядел потенциал в новоиспеченной технологии рекомбинантной ДНК. Даже Стэнли Коэн тогда полагал, что до коммерческого применения этих разработок еще как минимум несколько лет. Сам Бойер не любил, чтобы его отвлекали, тем более люди в костюмах, которые всегда кажутся белыми воронами в академической среде, где принято носить футболки и джинсы. Однако каким-то невероятным образом Суонсон уговорил его выделить немного времени на эту пятничную вечернюю встречу.

Десятиминутная встреча, растянувшаяся на несколько часов, по ходу дела переместилась в близлежащий бар «Черчилль» и была сдобрена несколькими бокалами пива. Там Суонсон осознал, что преуспел в попытке разбудить дремавшего в Гербе Бойере скрытого предпринимателя. Еще в ежегоднике старшей школы в Дерри Боро за 1954 год было отмечено, что староста класса Бойер признался в своем желании «стать успешным бизнесменом».

Исходный посыл был невероятно прост: давайте рассмотрим, как при помощи технологии Коэна – Бойера можно производить белки, востребованные на рынке. Ген «полезного» белка – скажем, имеющего терапевтическую ценность, такого как человеческий инсулин, – можно внедрить в бактерию, которая, в свою очередь, станет синтезировать этот белок. Далее останется просто нарастить производственные мощности

от чашек Петри до промышленных чанов, а самим собирать готовый белок. Все просто в теории, но не на практике. Тем не менее Бойер и Суонсон были настроены оптимистично: оба выложили по пятьсот долларов, чтобы заключить соглашение о партнерстве и подтвердить намерения заняться этой новой технологией. В апреле 1976 года они создали первую в мире биотехнологическую компанию. Суонсон предлагал назвать фирму «Гер-Боб», чтобы упомянуть обоих основателей, но Бойер благоразумно отверг этот вариант, и компанию назвали *Genentech*, сокращенно от «генно-инженерные технологии».

Естественно, первый коммерческий проект *Genentech* был нацелен на производство инсулина. Диабетикам требуются регулярные инъекции этого белка, поскольку организм больного либо синтезирует слишком мало инсулина (как при диабете второго типа), либо вообще его не производит (как при диабете первого типа). Лишь после того, как в 1921 году было открыто, что инсулин регулирует уровень сахара в крови, диагноз «диабет первого типа» перестал звучать для больных как приговор. С тех пор производство инсулина для диабетиков превратилось в серьезную индустрию. Поскольку уровень сахара в крови практически одинаково регулируется у всех млекопитающих, человеку подошел инсулин от домашних животных – в основном от коров и свиней. Свиной и коровий инсулин несколько отличаются от человеческого: белковая цепочка человеческого инсулина состоит из 51 аминокислоты, свиной отличается от человеческого на одну аминокислоту, а коровий инсулин – на три. Иногда эти кажущиеся незначительными отличия могут давать вредные побочные эффекты: у пациентов может развиваться аллергия на чужеродный белок. Биотехнологии открывали путь к устранению таких аллергических расстройств: позволяли обеспечить диабетиков настоящим, первоклассным человеческим инсулином.

В США насчитывалось около восьми миллионов диабетиков, поэтому производство инсулина представлялось золотой жилой биотехнологии. Однако не только Бойер и Суонсон разглядели этот потенциал. Группа коллег Бойера из Калифорнийского университета в Сан-Франциско и Уолли Гилберт из Гарварда также осознали, что клонирование человеческого инсулина представляет как научный, так и коммерческий интерес. В мае 1978 года ставки возросли: Гилберт и еще несколько ученых из США и Европы основали собственную компанию *Biogen*. Столь разные корни у *Genentech* и *Biogen* показывают, как быстро развивалась вся отрасль: *Genentech* выдумал двадцатидевятилетний энтузиаст, готовый общаться с нужными людьми по телефону, а *Biogen* была создана уже целым

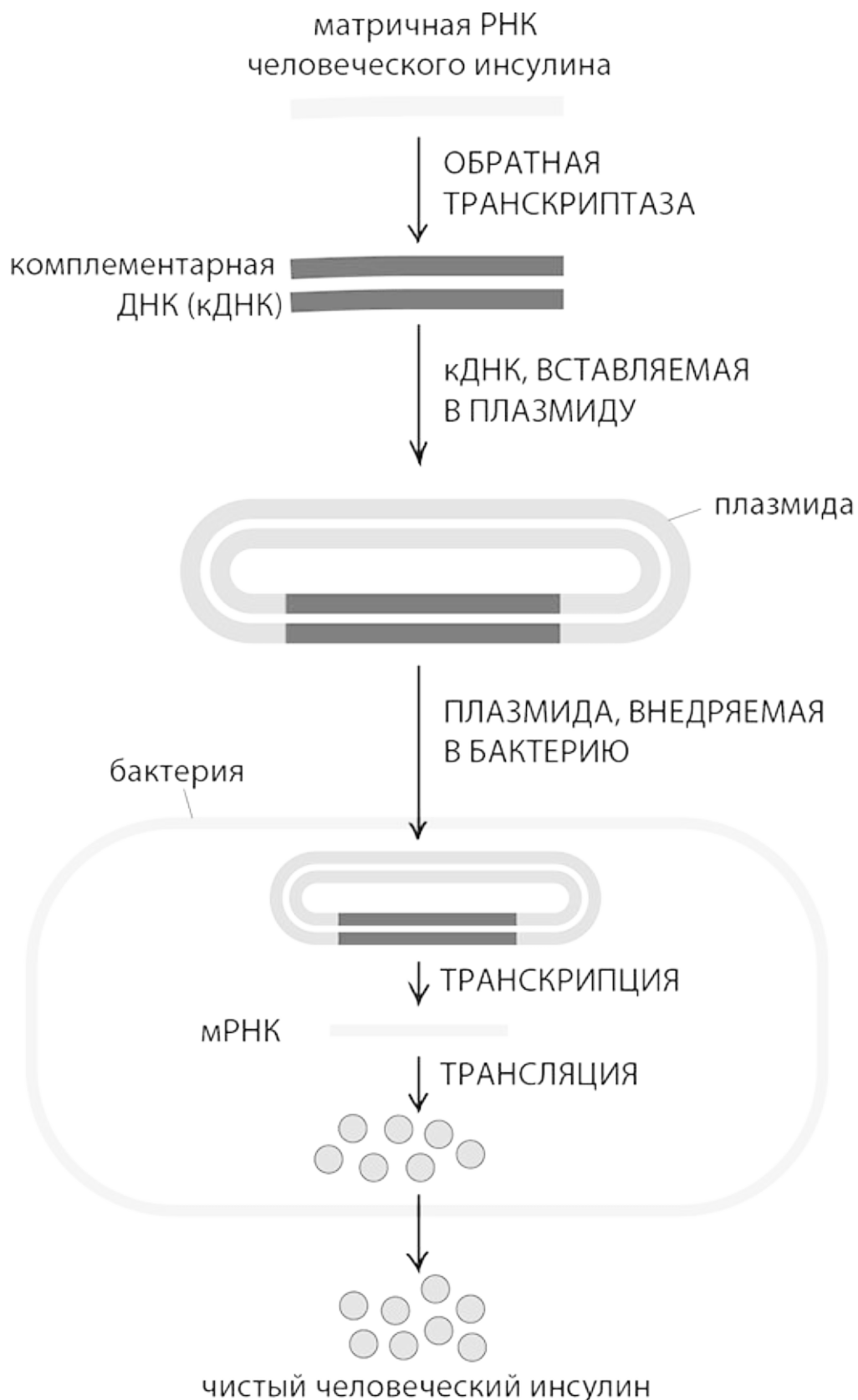
консорциумом опытных венчурных капиталистов, нанявших на работу первоклассных ученых. *Genentech* родилась в одном из баров Сан-Франциско, *Biogen* – в фешенебельном европейском отеле. Началась гонка «биотехнологических вооружений».

Не так-то просто было заставить бактерию продуцировать человеческий белок. Лимитирующим фактором стало наличие интронов, некодирующих фрагментов ДНК, присутствующих в человеческих генах. Поскольку у бактерий интронов нет, то процесс сплайсинга не мог быть реализован. Суть этого явления состоит в то, что в человеческой клетке матричная РНК тщательно редактируется путем вырезания интронов из РНК так, чтобы они не мешали синтезу белков. У бактерий таких возможностей не было, что, безусловно, влияло на их способность синтезировать белок на основе человеческого гена. Таким образом, если уж мы действительно собирались научить *E. coli* производству человеческих белков из человеческих генов, то первым делом нужно было решить проблему с интронами.

Конкурирующие стартапы подступались к решению этой проблемы по-разному. В *Genentech* попробовали химически синтезировать нужные участки гена, но уже без интронов, а потом внедрять такой ген в плазмиду. Фактически в данном случае клонировалась искусственная копия исходного гена. В настоящее время такой метод используется редко, поскольку он неудобный, но во времена *Genentech* выбор такой стратегии казался весьма разумным. Еще свежи были воспоминания об Асиломарской конференции, посвященной биологическим угрозам и биобезопасности, поэтому генетическое клонирование, особенно с использованием человеческих генов, рассматривалось, но с серьезной оглядкой и жестко регламентировалось. Однако, используя искусственную копию гена, а не «натуральный» ген, взятый у человека, *Genentech* фактически нашла лазейку. Компания продолжала охоту за инсулином, и новые правила помехой не были.

Конкуренты *Genentech* действовали иначе, именно этот подход применяется сейчас. Однако использование ДНК из человеческих клеток привело к бюрократическим трудностям, иными словами, они вскоре увязли в бюрократическом болоте. В их методе было задействовано одно из самых удивительных открытий, которыми к тому моменту могла похвастаться молекулярная биология. Оказалось, что иногда может нарушаться ключевой догмат, регулирующий передачу генетической информации и синтеза новых белков. В 1950-е годы ученые открыли группу вирусов – это так называемые ретровирусы, у которых есть РНК, но

отсутствует ДНК. Вирус иммунодефицита человека, вызывающий СПИД, как раз относится к этой группе. Дальнейшие исследования ретровирусов показали, что они способны преобразовывать свою РНК в ДНК после внедрения в клетку-хозяина. После инфицирования клетки-хозяина ретровирусом в цитоплазме начинается синтез вирусного ДНК-генома с использованием вирионной РНК в качестве матрицы. Такой «трюк» обеспечивает особый фермент – обратная транскриптаза, превращающая РНК в ДНК. Ретровирусы используют для репликации своего генома механизм обратной транскрипции: вирусный фермент обратная транскриптаза (или ревертаза) синтезирует одну нить ДНК на матрице вирусной РНК, а затем уже на матрице синтезированной нити ДНК достраивает вторую, комплементарную ей нить. За открытие этого фермента Говард Темин и Дэвид Балтимор в 1975 году были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине.



Клонирование кДНК для инсулина (ген без интронов) ознаменовало

рождение био-чистый человеческий инсулин технологий

Обратная транскриптаза подсказала компании *Biogen* и другим компаниям красивый способ синтеза собственного человеческого инсулина для внедрения в бактерии – инсулина без интронов. Сначала выделяется матричная РНК, синтезируемая геном инсулина. Поскольку матричная РНК уже прошла «редактирование», в ней нет интронов, присутствовавших в ДНК, с которой она скопирована. Сама РНК не слишком полезна, поскольку в отличие от ДНК эта молекула хрупкая и способна стремительно распадаться; кроме того, система Коэна – Бойера нацелена на внедрение в бактериальные клетки именно ДНК, а не РНК. Таким образом, нужно было сделать ДНК из отредактированной матричной РНК, применив для этого фермент обратную транскриптазу. В результате получался фрагмент ДНК без интронов, но содержащий всю ту информацию, которая нужна бактерии для производства человеческого инсулина, – очищенный ген инсулина.

В итоге компания *Genentech* выиграла гонку, хотя с минимальным отрывом. Команда Гилберта, использовавшая метод с обратной транскриптазой, успешно клонировала крысиный ген инсулина, а затем «заставила» бактерию продуцировать крысиный белок. Оставалось только повторить такой же процесс с человеческим геном. Однако на этом этапе компания *Biogen* попала в бюрократическую мясорубку. Для клонирования человеческой ДНК команде Гилберта требовалось найти собственный карантинный корпус Р4, помещение с максимальным уровнем защиты, таким же, какой требуется для работы со смертоносным вирусом Эболы. Ученым удалось уговорить британских военных допустить их в Портон-Даун – лабораторию, расположенную к северо-востоку от села Портон, рядом с городом Солсбери в графстве Уилтшир, которая являлась и является резиденцией Лаборатории оборонной науки и техники Министерства обороны Великобритании и Агентства общественного здравоохранения Англии.

Стивен Холл написал книгу о гонке за клонирование инсулина, в которой, в частности, описывает почти сюрреалистические унижения, которые приходилось сносить Гилберту и его коллегам.

Уже при входе в лабораторию Р4 начинались настоящие мытарства. Ученые полностью раздевались, после чего натягивали казенные белые длинные трусы, черные резиновые ботинки, голубую униформу вроде пижамы, бежевый

больничный халат, застегивающийся сзади, две пары перчаток и голубую пластиковую шапочку, напоминающую шапочку для душа. Затем всё быстро промывалось в формальдегиде. Всё. Все приборы, все бутылочки, вся лабораторная посуда, всё оборудование. Все научные рецепты, написанные на бумаге, также проходили такую мойку; так что ученые складывали бумагу по листику в пластиковые пакеты Ziploc и надеялись, что формальдегид туда не просочится и не превратит бумагу в бурую рассыпчатую массу вроде пергамента. Все документы, полежавшие в лаборатории на воздухе, после работы требовалось уничтожать, поэтому гарвардские специалисты даже не могли пронести в лабораторию блокноты для записок. Миновав бассейн с формальдегидом, ученые спускались по короткой лестнице в самую лабораторию Р4. Такая же гигиеническая канитель (в том числе душ) повторялась и перед выходом из лаборатории.

И все это только для того, чтобы клонировать фрагмент человеческой ДНК. Сегодня, когда паранойя отступила, а информированность повысилась, такая процедура имеет место только в технически устаревших лабораториях, где проводятся занятия с начинающими изучать курс молекулярной биологии студентами. Увы, вся эта история закончилась для Гилберта и коллег провалом, поскольку им так и не удалось клонировать ген инсулина. Неудивительно, что они кляли кошмар, пережитый ими в Р4.

Команда *Genentech* не сталкивалась с такими регламентными препятствиями, но с технической точки зрения ученым было не менее сложно заставить *E. coli* производить инсулин на основе химически синтезированного гена. Для бизнесмена Суонсона проблемы лежали не только в научной плоскости. С 1923 года на инсулиновом рынке США работал практически единственный производитель-монополист – компания *Eli Lilly*. К концу 1970-х годов это было предприятие с капиталом в три миллиарда долларов, которому принадлежало 85 % рынка инсулина. Суонсон понимал, что *Genentech* нечего противопоставить такому тяжеловесу, как *Eli Lilly*, даже если производить генно-инженерный человеческий инсулин – продукт, принципиально превосходивший по качеству «животноводческий» инсулин *Lilly*. Он решил заключить сделку и предложил на партнерских условиях приобрести исключительные права на инсулин *Genentech*. Так, пока ученые-партнеры вкладывали все силы в работу лаборатории, Суонсон улаживал дела в переговорной комнате. Он не сомневался, что представители *Lilly* согласятся; даже такой гигант едва ли

мог позволить себе упустить заманчивые перспективы, связанные с технологией рекомбинантной ДНК, то есть отказаться от будущего, в направлении которого двигалась вся фармацевтическая индустрия.

Однако Суонсон не один выступал с таким предложением, и компания *Lilly* уже финансировала одну из конкурирующих программ. Официальный представитель *Lilly* даже был откомандирован во французский Страсбург, чтобы курировать многообещающий проект по клонированию инсулина, основанный на методе Гилберта. Однако когда из Калифорнии пришли известия, что *Genentech* достигла цели первой, в *Lilly* приняли решение немедленно переключиться на эту компанию. 25 августа 1978 года *Genentech* и *Lilly* подписали соглашение уже на следующие сутки после окончательного экспериментального подтверждения получения рекомбинантного инсулина. Биотехнический бизнес больше не сводился к постройке воздушных замков. Компания *Genentech* вышла на рынок в октябре 1980 года. Всего за несколько минут стоимость акций компании выросла с 35 до 88 долларов за штуку. На тот момент это было самое стремительное удорожание в истории Уолл-стрит. Бойер и Суонсон внезапно обнаружили, что им досталось по 66 миллионов долларов на каждого – прямо Марк Цукерберг и Питер Тиль своего времени.

Традиционно в академической биологии был важен лишь приоритет открытия: кто совершил его первым. Вознаграждение измерялось в личных одобрениях, а не в наличных деньгах. Были, конечно, и исключения. Так, Нобелевская премия – это серьезная денежная награда. Однако мы, в принципе, занимались биологией из любви к биологии. Наше скудное академическое жалованье вряд ли могло послужить серьезным стимулом к работе.

С появлением биотехнологий все изменилось. В 1980-е годы произошли такие перемены в отношениях между наукой и бизнесом, которые были невообразимы еще десятью годами ранее. Биология превратилась в новый большой рынок, а вместе с деньгами туда пришли и новый менталитет, и новые осложнения во взаимоотношениях.

Во-первых, основатели биотехнологических компаний, как правило, были университетскими профессорами – неудивительно, что исследования, лежавшие в основе коммерческой составляющей, они обычно начинали в своих вузовских лабораториях. Так, именно в одной из лабораторий Цюрихского университета Чарльз Вайсман, один из основателей компании *Biogen*, клонировал человеческий интерферон – лекарство от рассеянного склероза. С тех пор это стало основной статьей доходов компании – в 2013 году этого препарата было продано на три миллиарда долларов. В

Гарвардском университете Уолли Гилберт предпринял попытку (в конечном итоге неудачную) пополнить ассортимент *Biogen* рекомбинантным инсулином. Поэтому вскоре назрел ряд логичных вопросов. Допустимо ли, чтобы профессора обогащались за счет работ, выполняемых на базе университетов? Не спровоцирует ли коммерциализация науки неразрешимые конфликты интересов? А перспектива наступления новой эры промышленной молекулярной биологии раздувала тлеющие угли недавних дискуссий о безопасности: когда на кону большие деньги, насколько строго будут готовы соблюдать требования безопасности первопроходцы этой новой индустрии?

Изначально Гарвард попытался основать собственную биотехнологическую компанию. Поскольку двое «звездных» биологов-молекулярщиков университета, Марк Ташне и Том Маниатис, обладали солидным интеллектуальным ресурсом и не испытывали недостатка в венчурных капиталах, бизнес-план, казалось, был практически готов: компания станет основным игроком на рынке биотехнологий. Однако осенью 1980 года эти планы потерпели крах. Когда вопрос вынесли на голосование, преподавательский состав отказался от участия «Честного Гарварда» в мутных коммерческих делах – как известно, наука делается в белых перчатках. Было о чем беспокоиться: предприятие могло породить конфликты интересов на биологическом факультете. Ведь если бы в университете таким образом возник источник прибылей, разве удалось бы и далее подбирать преподавателей исходя строго из их академических достоинств – либо теперь пришлось бы учитывать, какую пользу кандидат мог бы принести фирме? В конце концов, Гарварду пришлось уступить и удовлетвориться 20 % акций в новой компании. Истинная цена этого мероприятия прояснилась шестнадцать лет спустя, когда компания была продана фармацевтическому гиганту *Wyeth* за 1,25 миллиарда долларов.

Как только Ташне и Маниатис решили продавливать свою идею любой ценой, возник новый букет проблем. Хотя мораторий на исследования рекомбинантной ДНК в Кембридже, организованный мэром Велуччи, уже был в прошлом, неприятие работ с ДНК сохранялось. Ташне и Маниатис аккуратно дистанцировались от броских высокотехнологичных наименований вроде *Genentech* или *Biogen* и назвали свою компанию *Genetics Institute*, рассчитывая вызвать ассоциацию с менее грозными временами изучения дрозофил, а не с миром ДНК. По тем же причинам новоиспеченную компанию они решили основать не в Кембридже, а в соседнем городке Соммервилле. В мэрии Соммервилля разгорелись жаркие дебаты, продемонстрировавшие, что влияние Велуччи вовсе не

ограничивалось одним лишь Кембриджем. *Genetics Institute* отказали в праве на ведение бизнеса в Соммервиле. К счастью, совсем рядом с Кембриджем, на другом берегу реки Чарльз, раскинулся Бостон, оказавшийся более гостеприимным. Новая фирма открылась в пустом здании на территории бостонского округа Мишн-Хилл (ранее там располагалась больница). Со временем становилось все очевиднее, что рекомбинантные технологии не представляют никакой опасности ни для здоровья, ни для окружающей среды и антибиотехнологический фанатизм Велуччи не выдерживает никакой критики. Через несколько лет компания *Genetics Institute* переехала в Норт-Кембридж, городок, расположенный вниз по шоссе от университетского Кембриджа, ранее отказавшегося от компании при ее рождении.

За последние 30 лет отношения между академической и коммерческой молекулярной генетикой, начинавшиеся с подозрительности и ханжества, изменились практически до неузнаваемости и доросли до состояния продуктивного симбиоза. Университеты, со своей стороны, сейчас активно стимулируют сотрудников культивировать коммерческие проекты. Памятуя о гарвардской ошибке с *Genetics Institute*, университеты научились вкладываться в прибыльное внедрение технологий, разработанных прямо в кампусе. Новые профессиональные кодексы также купируют конфликты интересов, возникающие у профессоров, чья работа лежит на стыке коммерческих и академических исследований. На заре развития биотехнологий кабинетным ученым слишком часто вменяли в вину, что они якобы «продались» бизнесу, вступая в сотрудничество с такими компаниями. Сегодня участие в разработке коммерческих биотехнологий – типичная составляющая крутой карьеры в исследовании ДНК. Деньги всегда кстати, они нужны не меньше интеллектуальных дивидендов. Ведь по веским коммерческим причинам биотехнологи всегда будут оставаться на переднем крае науки.

Стенли Коэн оказался не только одним из первопроходцев в технологической сфере, но и первым среди тех, кто смог отойти от чисто академического мировоззрения и приспособиться к коммерческой биологии, где крутятся огромные деньги. Он с самого начала знал, что рекомбинантная ДНК обладает большим коммерческим потенциалом, но никогда не задумывался о том, чтобы запатентовать метод клонирования Коэна – Бойера. В отделе технического лицензирования Стэнфордского университета работал Нильс Реймерс, который, прочтя в *New York Times* о крупном достижении родного вуза, предположил, что здесь должен быть уместен патент. Сначала Коэн колебался; он настаивал, что прорыв, о

котором идет речь, – это плод многочисленных более ранних исследований, являющихся общественным достоянием, поэтому ему казалось неверным патентовать лишь самую свежую разработку. Однако любые изобретения базируются на более ранних (так, например, паровоз мог появиться лишь после изобретения парового двигателя), а патенты по праву достаются тем инноваторам, которые решительно дорабатывают инженерные находки прошлого, расширяя сферу их влияния. В 1980 году (через шесть лет после того, как Стэнфорд впервые подал заявку) метод Козна – Бойера был запатентован.



В принципе, патентование таких методов может тормозить инновации, ограничивая применение важных технологий. Однако Стэнфорд мудро подошел к вопросу и не допустил таких негативных последствий после

получения патента. Коэн и Бойер (а также институты, в которых они работали) были вознаграждены за свои коммерческие успехи, но не в ущерб академической составляющей. Во-первых, патент гарантировал, что платить отчисления за использование технологии будут лишь юридические лица; использование наработок в академических целях оставалось бесплатным. Во-вторых, Стэнфорд осознанно не поддавался соблазну чрезмерно завысить планку лицензии: если бы она оказалась слишком дорогой, то лишь богатейшие компании и институты могли бы пользоваться рекомбинантной ДНК. За относительно скромную плату (10 тысяч долларов в год) и роялти лицензионного вознаграждения за использование патентов не более 3 % с продаж продукции, разработанной на основе данной технологии, метод Коэна – Бойера предоставлялся всем желающим. Эта стратегия, благотворная для науки, оказалась удобной и для бизнеса: патент принес в среднем четверть миллиарда долларов в актив Калифорнийского университета в Сан-Франциско и Стэнфорда. Бойер и Коэн великодушно поделились своими доходами с родными университетами.

Оставалось лишь дождаться, пока патентовать начнут живые организмы, чья генетика была подправлена биотехнологическими методами. Пробный случай имел место в 1972 году; тогда попытались запатентовать бактерию, видоизмененную без применения рекомбинантной ДНК, а традиционными генетическими методами. Тем не менее подоплека генно-инженерного бизнеса была очевидна: если можно запатентовать бактерию, видоизмененную традиционными методами, то это же касается бактерий, доработанных при помощи рекомбинантной ДНК.

В 1972 году Ананда Чакрабартти, инженер-исследователь из компании *General Electric*, подал патентную заявку на собственноручно выведенный штамм бактерии *Pseudomonas*, способный разлагать нефть. До этого наиболее эффективный способ уничтожения нефти заключался в использовании целой совокупности разных бактерий, разлагающих отдельную фракцию нефти. Комбинируя различные плазмиды, каждая из которых кодировала свой путь биodeградации, Чакрабартти смог создать универсальную бактерию для борьбы с нефтяными загрязнениями. Первая заявка Чакрабартти на патент была отклонена. Потратив восемь лет на борьбу с юридической системой, Чакрабартти в 1980 году наконец получил патент. Верховный суд встал на его сторону, проголосовав «пятеро за, четверо против» по вопросу: «может ли быть запатентован живой искусственно созданный микроорганизм, появившийся в результате человеческой интеллектуальной деятельности и проведенных

исследований».

Несмотря на то что после процесса Чакрабарты многие вопросы прояснились, первые контакты между биотехнологиями и правовой системой неизбежно оказывались сложными и запутанными. Ставки были высоки – как и в случае с ДНК-дактилоскопией, о которой пойдет речь в главе 11, адвокатам, присяжным и ученым зачастую бывает сложно найти общий язык. К 1983 году *Genentech* и *Genetics Institute* успешно клонировали ген тканевого активатора плазминогена (ТРА) – это серьезное средство против тромбов, вызывающих инсульт и инфаркт. Однако *Genetics Institute* не подал заявку на патент, считая, что научная составляющая, на которой базируется клонирование тканевого активатора плазминогена, «очевидна», то есть это открытие не охраноспособно. А вот *Genentech*, в свою очередь, подала заявку и получила патент, что, по определению, ущемляло интересы *Genetics Institute* и требовало рассмотрения в суде.

Сначала дело поступило в британский суд. Главный судья, его честь Уитфорд, на протяжении большей части разбирательства сидел за объемистой стопкой книг и словно дремал. Ключевой вопрос формулировался так: может ли первая сторона, клонировавшая ген, получить в дальнейшем исключительные права на производство и использование белка. Рассмотрев претензии *Genetics Institute* и ее инвестора, фармацевтической компании *Wellford*, судья Уитфорд заключил, что *Genentech* заслуживает удовлетворения ограниченных притязаний на тот технологический процесс, при помощи которого компания клонировала ТРА, но отказал в праве на широкую формулу изобретения, то есть на весь белковый продукт. *Genentech* подала апелляцию. В Англии при оспаривании столь непростых технологических дел апелляцию рассматривают трое судей-специалистов, которых вводит в курс дела независимый эксперт – в данном случае таковым выступил Сидней Бреннер. Судьи отклонили апелляцию *Genentech*, согласившись с *Genetics Institute*, что открытие в данном случае действительно очевидно и патент *Genentech* недействителен.

В США такие дела рассматривает суд присяжных. Адвокаты *Genentech* обеспечили такой состав присяжных, чтобы ни у одного из них не было даже среднего специального образования. Следовательно, вопросы, очевидные для ученых или для экспертов-юристов, специализирующихся в научных делах, не были очевидны ни для кого из этих присяжных. Вердикт совета присяжных оказался не в пользу *Genetics Institute* – они решили, что патентные притязания *Genentech* на широкую формулу изобретения должны быть удовлетворены. Возможно, это не был звездный час

американского правосудия, но тем не менее так был создан прецедент: с тех пор патенты подаются на любую продукцию независимо от того, насколько «очевидна» в ней научная составляющая.

Полагаю, хорошие патенты уравнивают ситуацию; с их помощью признаются и поощряются инновационные работы и не допускается, чтобы любая работа заимствовалась. Однако к тому же они еще и способствуют развитию технологии доступными способами во имя всеобщего блага. К сожалению, мудрый пример Стэнфорда не всегда берут на вооружение при разработке каждого нового методологического приема при работе с ДНК. Например, полимеразная цепная реакция (ПЦР) – бесценный метод для амплификации и наращивания ДНК. ПЦР, изобретенная в 1983 году в корпорации *Cetus* (подробнее о ПЦР мы поговорим в главе 7, где речь пойдет о проекте «Геном человека»), быстро превратилась в одну из «рабочих лошадок» молекулярной биологии. Поначалу в коммерческой сфере она применялась куда более ограниченно, чем в науке. *Cetus* сначала предоставила коммерческую лицензию компании *Kodak*, а потом продала права на ПЦР за 300 миллионов долларов швейцарскому гиганту *Hoffmann – LaRoche*, занимающейся производством химической, фармацевтической и диагностической продукции. В компании *Hoffmann – LaRoche*, в свою очередь, решили, что выгоднее будет не продавать лицензии, а максимально увеличить окупаемость патента, став монополистом на ПЦР-диагностику. В рамках такой стратегии компания скупила бизнес, связанный с диагностикой СПИДа. Только с приближением даты истечения патентного срока фирма стала выдавать лицензии на эту технологию – как правило, лицензия доставалась другим крупным диагностическим компаниям, которые могли позволить себе соизмеримо масштабные отчисления для *Hoffmann – LaRoche*. Чтобы сгенерировать дополнительный источник доходов с этого патента, *Hoffmann – LaRoche* установила серьезные отчисления для производителей оборудования, при помощи которого выполняется ПЦР. В результате за продажу простого устройства, с которым справятся даже школьники, учебный центр им. Долана по работе с ДНК в Колд-Спринг-Харборе должен отчислять компании 15 % лицензионного вознаграждения за использование патента.

Еще более пагубно на разумной доступности новых технологий паразитируют юристы, агрессивно патентующие не только новые изобретения, но и фундаментальные идеи, лежащие в их основе. Типичный пример – патент на генетически измененную мышь, созданную Филом Ледером. Группа Ледера из Гарварда занималась исследованиями рака и получила генетическую линию мышей, отличавшихся особой

резистентностью к раку груди. Ледер с коллегами не пользовались известными методами по внедрению искусственно измененных генов рака в оплодотворенную яйцеклетку мыши. Поскольку онкогенные факторы у мышей могут напоминать подобные факторы у человека, считалось, что такая «онкомышь» поможет лучше понять патогенетические механизмы рака у человека. Однако гарвардские юристы подали патент не на конкретную разновидность мышей, полученных группой Ледера, а на всех трансгенных раковых животных, то есть даже не ставили попытки ограничиться мышами. Такой зонтичный патент был выдан в 1988 году, и на свет появился раковоперерожденный грызун, прозванный «онкомышь», или «гарвардская мышь». Хотя на самом деле работы, проводившиеся в лаборатории Ледера, гарантировались компанией «Дюпон» и коммерческими правами на мышь владел этот химический гигант, а отнюдь не Гарвардский университет. Поэтому, возможно, «гарвардскую мышь» было бы уместнее назвать «мышь Дюпон». Однако независимо от названия этот патент повлиял на исследования рака глубоким, но контрпродуктивным образом.

Компании, заинтересованные в разработке новых видов онкомышей, были быстро оттеснены в сторону, поскольку «Дюпон» требовала огромных патентных взносов, и исследователи, отваживавшиеся использовать уже «готовых» онкомышей для испытания экспериментальных противораковых препаратов, аналогично свернули свои работы. Компания «Дюпон» стала требовать, чтобы академические институты прямо указывали, какие экспериментальные исследования рака проводились на патентованных онко-мышях «Дюпон». Это было беспрецедентное и неприемлемое вторжение большого бизнеса в академические лаборатории. Калифорнийский университет в Сан-Франциско, Институт Уайтхеда в составе Массачусетского технологического института, лаборатория в Колд-Спринг-Харборе, а также ряд других учреждений отказались пойти навстречу компании «Дюпон».

Когда патенты затрагивают технологии, имеющие фундаментальное значение для выполнения необходимых операций в молекулярной биологии, владельцы патента могут в буквальном смысле заблокировать целую исследовательскую область, требуя оплаты за работу в этой области. Несмотря на то что любая патентная заявка должна оцениваться по конкретным достоинствам именно этой заявки, все равно существуют некоторые общие правила, которые необходимо соблюдать. Патентование методов, ключевое значение которых для научного прогресса очевидно, должно рассматриваться по образцу прецедента, связанного с делом

Коэна – Бойера: технология должна быть общедоступной (не контролироваться единственным лицензиатом) и подчиняться разумному ценообразованию. Эти ограничения ни в коем случае не идут вразрез с этикой свободного предпринимательства. Если новый метод представляет собой подлинный «шаг вперед» в науке, то и использоваться он будет очень широко, и даже умеренные проценты лицензионного вознаграждения принесут существенную прибыль. Однако патентование продуктов – например, лекарств или трансгенных организмов – должно распространяться лишь на конкретное наименование, а не на весь спектр других продуктов, которые могут быть созданы по образцу созданного и запатентованного.



Фил Ледер со своей «гарвардской» онкомышью

Триумфальный инсулиновый проект компании *Genentech* стал бенефисом биотехнологии того времени. Сегодня генная инженерия с использованием рекомбинантной ДНК – рутинная процедура, существенный элемент в деле разработки новых лекарств. Такие процедуры обеспечивают массовое производство человеческих белков, которые сложно получить другим способом. Зачастую генно-инженерные

белки безопаснее использовать в лечебных или диагностических целях, нежели любые другие белковые продукты. Так, крайне малый рост (карликовость) часто развивается из-за недостатка человеческого гормона роста (СТГ). В 1959 году карликовость впервые стали лечить при помощи СТГ, который на тот момент можно было получить лишь из мозга трупов. Лечение шло удачно, но, как выяснилось впоследствии, пациенты рисковали заразиться крайне неприятной болезнью. Иногда в процессе лечения у пациентов развивалась болезнь Крейцфельда – Якоба, тяжелое дистрофическое заболевание коры головного мозга, базальных ганглиев и спинного мозга с крайне высокой летальностью, приводящее к психическим расстройствам и сенсорным нарушениям и напоминающее так называемое коровье бешенство. В 1985 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) запретило использовать СТГ, взятый из тканей трупов. По счастливому совпадению в том же году был получен рекомбинантный СТГ, разработанный компанией *Genentech* и не угрожающий пациентам заражением.

На первом этапе развития биотехнологической индустрии большинство компаний сосредоточились на получении белков, функция которых уже была известна. Клонированный человеческий инсулин был просто обречен на успех: в конце концов, к моменту появления продукта *Genentech* люди уже более полувека принимали инсулин. Другой пример – эритропоэтин (ЭПО), белок, стимулирующий в организме синтез эритроцитов. В ЭПО жизненно нуждались пациенты, постоянно проходившие диализ почек, которые страдают из-за анемии, связанной с потерей красных кровяных телец. Чтобы удовлетворить потребность в этом продукте, компания *Amgen*, расположенная в Южной Калифорнии, и *Genetics Institute* независимо друг от друга разработали варианты рекомбинантного эритропоэтина. Такой ЭПО по определению являлся полезным и коммерчески выгодным продуктом; оставалось лишь выяснить, какая из компаний захватит рынок сбыта. Хотя Джордж Ратман, генеральный директор компании *Amgen*, и не изучал таинственных нюансов физической химии, он вполне приспособился к суровым законам большого бизнеса. В конкурентной борьбе он проявлял самые «некуртуазные черты» своего характера: его переговоры с конкурентами напоминали схватку с джумим медведем, в горящем взоре Ратмана читалась уверенность в том, что он может вас поколотить лишь потому, что так принято в бизнесе. *Amgen* и ее гарант *Johnson & Johnson* ожидаемо выиграли судебную тяжбу против *Genetics Institute*, и продажи эритропоэтина в 2006 году принесли пять миллиардов долларов одной

лишь компании *Amgen*; впоследствии они стали снижаться. На сегодняшний день *Amgen* – один из крупнейших игроков на биотехнологическом рынке; стоимость компании оценивается в 125 миллиардов долларов.

После того как первопроходцы биотехнологического рынка разобрали между собой все легкодоступные активы – белки с известными физиологическими свойствами, в частности инсулин, тканевый активатор плазминогена (ТРА), человеческий гормон роста (СТГ) и эритропоэтин (ЭПО), начался второй, более спекулятивный этап в развитии этой индустрии. Поделив все однозначно выигрышные продукты, компании, изыскивающие новые источники обогащения, предприняли попытки застолбить другие перспективные продукты с прицелом даже на отдаленную перспективу. Зная, что некое вещество «работает», производителям оставалось лишь надеяться, что потенциальный продукт не подведет. К сожалению, производителям приходилось сталкиваться со значительной неопределенностью, техническими сложностями и бюрократическими препонами, прежде чем препарат получал одобрение Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и многие биотехнологические стартапы, построенные лишь на энтузиазме, разваливались на пути к цели.

Открытие факторов роста – белков, обеспечивающих размножение и выживаемость клеток, – также породило активный рост новых биотехнологических компаний. В частности, две из них – *Regeneron*, расположенная в Нью-Йорке, и *Synergen* (позже поглощенная *Amgen*), находящаяся в Колорадо, – пытались найти лекарство от бокового амиотрофического склероза (БАС), также известного в США под названием «болезнь Лу Герига». Это тяжелое, медленно прогрессирующее, неизлечимое заболевание нервной системы, связанное с дегенеративным расстройством нервных клеток. В принципе, обе компании руководствовались верными идеями, но на практике в те времена было попросту слишком сложно определить, как работают нервные факторы роста, так что это практически поиски вслепую. Клинические испытания на двух группах пациентов с боковым амиотрофическим склерозом провалились, и болезнь по сей день остается неизлечимой. Однако эксперименты дали интересный побочный эффект: те, кто принимал лекарство, хорошо сбрасывали вес. Это показывает, какие неожиданные повороты случаются в биотехнологическом бизнесе. Компания *Regeneron* опробовала модифицированную версию препарата как средство для похудения, но результаты клинических испытаний получились

противоречивыми, и лекарство так и не попало на рынок. Тем не менее компания *Regeneron* добилась своего процветания благодаря разработке некоторых других сверхуспешных препаратов, среди которых ингибитор фактора роста эндотелия сосудов (Eylea), применяемый для лечения старческого макулярного отека, который формируется, когда жидкость и белковые отложения накапливаются на макуле или под макулой глаза (желтое пятно в центральной части сетчатки) и заставляют ее утолщаться и набухать, вызывая отек, который может привести к искажению центрального поля зрения человека, так как пятно располагается рядом с центром сетчатки в задней части глазного яблока.

Другое, исходно спекулятивное начинание, похоронившее изрядное количество коммерческих надежд, было связано с технологией получения моноклональных антител. Когда в середине 1970-х годов Сезар Мильштейн и Жорж Кёлер получили такие антитела в Лаборатории молекулярной биологии Совета по медицинским исследованиям (MRC) при Кембриджском университете, моноклональные антитела восхваляли как «серебряные пули», которые вскоре изменят облик медицины. Тем не менее MRC допустил немыслимый по нынешним меркам просчет и не позаботился о том, чтобы их запатентовать. Серебряных пуль из моноклонов не вышло, но спустя целые десятилетия разочарований эти антитела наконец-то заняли достойную них нишу.

Антитела – это молекулы, которые синтезируются факторами адаптивной иммунной системы; их назначение – идентифицировать враждебные микроорганизмы, антигены и связываться с ними. Моноклональные антитела происходят от одной и той же линии антителообразующих клеток (плазмоцитов), и они «запрограммированы» на связывание с уникальной для каждого антитела мишенью. В организме мышей они быстро образуются в ответ на инъекцию вещества-мишени, вызывающего иммунный ответ. Затем в культуре клеток выращиваются мышинные В-лимфоциты, продуцирующие моноклональные антитела. Поскольку данный тип антител способен распознавать конкретные молекулы и связываться с ними, ученые надеялись, что их можно будет с прицельной точностью использовать для борьбы против многочисленных патологических образований, содержащих антигены, например раковых клеток. На волне такого оптимизма был основан целый ряд компаний, занятых разработкой мышинных моноклональных антител, но очень скоро все они столкнулись с трудностями. По иронии судьбы, основным препятствием оказался человеческий иммунитет как таковой, воспринимавший мышинные моноклоны как инородные тела и

уничтожавший их еще до того, как они успевали добраться до мишеней в макроорганизме. Предлагались различные методы по «очеловечиванию» мышинных моноклональных антител – ученые пытались максимально сблизить по составу антитела мыши с человеческими. Последнее поколение таких антител – это наиболее бурно развивающаяся отрасль современных биотехнологий^[10].

Компания *Centocor*, располагавшаяся близ Филадельфии, а сегодня принадлежащая *Janssen Biotech*, разработала препарат ReoPro (абциксимаб) – антитело, специфичное к белку, появляющееся на поверхности бляшек, которые приводят к образованию тромбов. ReoPro не допускает склеивания бляшек и поэтому, например, снижает вероятность смерти от тромбоэмболии у пациентов, проходящих ангиопластику. *Genentech*, никогда не дававшая спуска конкурентам в биотехнологической гонке, в 1998 году успешно запатентовала герцептин – антитело, нацеленное на борьбу с некоторыми разновидностями рака груди (см. в главе 14). Пятнадцать лет спустя Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило Kadcyla – гибридный конъюгат антител с лекарственным препаратом, который вскоре стал новым многомиллиардным проектом, «тяжелой артиллерией» против рака груди. Компания *Immunex* из Сиэтла (приобретенная *Amgen*) производит препарат Enbrel, используемый в лечении ревматоидного артрита. Это расстройство возникает из-за избыточной продукции конкретного белка, фактора некроза опухолей (ФНО), участвующего в регуляции иммунного гомеостаза. Enbrel захватывает лишние молекулы ФНО, ослабляя таким образом активность иммунного реагирования на антигены собственных тканей суставов. Это был один из самых востребованных препаратов в 2014 году, его продажи составили восемь миллиардов долларов.

Есть и такие биотехнологические компании, которые занимаются клонированием генов, чьи белковые продукты являются потенциальными мишенями для новых препаратов. Так, весьма активно отыскиваются гены поверхностных белков, располагающихся на поверхности клетки и выполняющих функции рецепторов для нейромедиаторов, гормонов и факторов роста. Именно при помощи таких химических мессенджеров с плейотропным действием человеческий организм координирует работу каждой отдельной клетки с работой триллионов других клеток, осуществляя гомеостатическое регулирование. Недавно выяснилось, что лекарственные средства, ранее разработанные практически вслепую методом проб и ошибок, воздействуют именно на такие рецепторы.

Крупнейшая и, пожалуй, наиболее важная группа подобных препаратов – это рецепторы, сопряженные с G-белком (G-protein-coupled receptors, GPCR), – семейство трансмембранных рецепторов, выполняющих функцию активаторов внутриклеточных путей передачи сигнала, приводящих в итоге к клеточному ответу. Это тип молекул, которые находятся снаружи клетки и служат проводником сигналов между клеткой и окружающей ее средой. GPCR обеспечивают работу органов зрения, обоняния, участвуют в работе иммунной системы и многих других сигнальных систем. Так, когда человек принимает атропин, расширяющий зрачки, либо морфин, притупляющий невыносимую боль, эти препараты модулируют сигнальные пути различных GPCR. В 2012 году Роберт Лефковитц (Университет Дьюка) и Брайан Кобилка (Стэнфордский университет) совместно получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине за сложные исследования атомной структуры и биохимической функции GPCR. Известно, что сотни уже изученных GPCR служат мишенью примерно для 30 % лекарств, присутствующих на современном рынке; среди них Zургеха для лечения шизофрении и Zантас для борьбы с язвой желудка.

Теперь, когда мы рассматриваем механизм действия этих лекарств на новом, молекулярном уровне, становится понятным, почему многие лекарства, мишенью для которых являются рецепторы, дают побочные эффекты. Рецепторы зачастую относятся к большим семействам схожих по структуре белков. Препарат действительно может «бить по непосредственной цели», то есть по рецептору, вызывающему заболевание, с которым мы боремся, но при этом случайно затрагивать и схожие рецепторы, провоцируя побочные эффекты. Интеллектуальный подход к разработке лекарств должен обеспечить более избирательное действие на отдельные рецепторы, так чтобы блокировались исключительно те из них, на которые нацелено действие препарата. Однако большинство моноклональных антител, которые на бумаге кажутся просто превосходными, очень часто пробуксовывают при практическом применении, и извлечь из них прибыль оказывается еще более сложным делом.

Несмотря на имеющиеся успехи препаратов, действие которых направлено на рецепторы, иногда даже самые «высоконаучные» попытки по разработке такой терапии терпят фиаско. Возьмем, к примеру, SIBIA – стартап из Сан-Диего, связанный с Институтом Солка. Открытие мембранного рецептора для нейромедиатора никотиновой кислоты сулило настоящий прорыв в лечении болезни Паркинсона, но, как часто бывает в

биотехнологиях, хорошая идея оказалась лишь первым шагом в начале долгого пути к научному достижению. Потенциальное лекарство, разработанное SIBIA, в итоге показало хорошие результаты только в испытаниях на обезьянах, но для людей оказалось непригодным. Другая многообещающая биотехнологическая компания, *EPIX Pharmaceuticals*, разработала несколько препаратов, нацеленных на GPCR, но была расформирована в 2009 году.

Тем не менее иногда такие решения оправдывают себя самым неожиданным образом. Мы уже упоминали разработанный *Regeneron* фактор роста нервной ткани, неожиданно проявивший себя в качестве средства для похудения. Многие другие биотехнологические прорывы также связаны с чистым везением, а не с точным расчетом и тщательной разработкой. Например, в 1991 году компания *ICOS* из Сиэтла, которой руководил Джордж Ратман, прославившийся еще в *Amgen*, работала с классом ферментов под названием фосфодиэстеразы, которые разрушают молекулы, обеспечивающие клеточную сигнализацию. Компания искала новые препараты для борьбы с повышенным давлением, но при разработке обнаружился весьма удивительный «побочный эффект». Оказалось, что полученные вещества действуют подобно «Виагре» и лечат эректильную дисфункцию, так что здесь производителям удалось сорвать такой джекпот, о котором никто даже и не мечтал^[11].

Несмотря на процветание рынка препаратов по лечению эректильной дисфункции, все-таки основной и важнейшей движущей силой биотехнической индустрии (что совсем неудивительно) стал поиск лекарства от рака. Классический способ борьбы с раком, связанный с уничтожением клеток (при помощи облучения или химиотерапии), неизбежно губит и нормальные, здоровые клетки, что обычно дает чрезвычайно губительные для организма побочные эффекты. Научившись работать с ДНК, исследователи наконец-то начинают синтезировать препараты, нацеленные на белки, среди которых много факторов роста и их рецепторов, расположенных на поверхности клеток. Белки, на которые обратила внимание научная общественность при изучении проблем рака, обеспечивают рост и деление раковых клеток. Разработка препарата, который ингибирует лишь конкретный белок, не затрагивая другие жизненно необходимые структуры, – чудовищно сложная задача даже для экспертов по клинической биохимии. Тернистый путь от определения мишени лекарственного препарата до одобрения лекарства в Управлении по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США и его широкого применения на рынке лекарственных средств – это

подлинная одиссея, редко занимающая менее десяти лет. При этом каждый препарат, который успешно пройдет этот непростой путь через доклинические и клинические испытания и будет одобрен, требует подстраховки со стороны биотехнологических и фармацевтических компаний, поскольку приходится тратиться и на разработку других лекарств, которые в итоге останутся не у дел.

Еще совсем недавно истории успеха таких проектов оставались единичными, теперь я с облегчением наблюдаю, как их число постоянно преумножается. Классический образец успешного противоракового лекарства – препарат Gleevec от компании *Novartis*, один из представителей нового класса таргетных цитостатиков, избирательно воздействующих на клетки, имеющие те или иные характерные для опухолей генетические дефекты, эффективный в лечении хронического миелолейкоза. Препарат прицельно блокирует ростстимулирующую активность аберрантного белка, который в переизбытке синтезируют раковые клетки такого типа, и ингибирует гибридную тирозинкиназу BCR-ABL, ген которой находится на «филадельфийской хромосоме» (Ph), образующейся вследствие реципрокной транслокации между 9-й и 22-й хромосомами, происходящей при данной патологии. Обычно, если прием Gleevec начинается на ранней стадии болезни, препарат обеспечивает длительные периоды ремиссии, а иногда и полное излечение. Однако к некоторым несчастным пациентам болезнь возвращается из-за новых мутаций онкогена, после которых Gleevec теряет эффективность. На основе Gleevec разработано несколько препаратов второго поколения, помогающих эффективнее сдерживать рак (мы более подробно поговорим о противораковой терапии в главе 14).

В 1998 году – ни много ни мало в пятницу тринадцатого – Джон и Эйлин Кроули узнали убийственную новость: оказалось, что их дочь Меган (в возрасте года и трех месяцев) страдает болезнью Помпе – редким генетическим расстройством, из-за которого организм не в состоянии перерабатывать сахар (гликоген). В результате сахар накапливается в теле и становится токсичен, повреждая мышечные и нервные клетки по всему организму. Ожидаемая продолжительность жизни при такой болезни обычно составляет всего два года. Джон Кроули бросил прежнюю работу в фармацевтической сфере и основал небольшую биотехнологическую компанию *Novazyme* специально для того, чтобы найти лекарство для Меган. Кроули продал свою компанию примерно за 135 миллионов долларов фирме *Genzyme*, завершившей разработку нового препарата, названного *Myozyme*. В 2006 году вышла книга о мытарствах Кроули под названием *The Cure* («Лекарство»), и после публикации Джону позвонил

актер Харрисон Форд (естественно, Джон подумал, что это розыгрыш). Форд хотел снять фильм об истории семьи Кроули. В итоге вышла лента «Крайние меры», в которой Харрисон Форд сыграл ведущего исследователя. Премьера фильма состоялась в 2010 году. Миниатюрного Кроули сыграл высокорослый Брендан Фрейзер, звезда фильма «Джордж из джунглей». Кроули тогда грустно пошутил, что у кого-то в отделе подбора актеров на роли явно была дислексия.

Немногие руководители биотехнологических компаний удостоились внимания Хана Соло, но в биотехнологическом мире хватает драматизма – от захватывающих историй успеха до бесславных поражений и забытых технологий. Прошрое десятилетие характеризовалось стабильным развитием биотехнологической индустрии. В 2015 и 2016 годах этот сегмент фармацевтической индустрии получил более чем по семь миллиардов долларов ежегодных инвестиций от венчурных компаний. Среди многочисленных новых лекарств, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов в 2013 году, есть не менее семи потенциальных «тяжеловесов» (каждый из которых может принести более миллиарда долларов прибыли ежегодно). Кроме того, инвесторы вложили еще миллиарды долларов в стартапы, продвигая новые диагностические средства и методы терапии.

В индустрии произошла явная «смена караула» – те компании, что ранее классифицировались как биотехнологические (то есть занятые разработкой биохимических лекарств или миноклональных антител), в частности *Amgen*, *Gilead Sciences* и *Regeneron Pharmaceuticals*, в настоящее время окрепли и диверсифицировались. Сейчас они оцениваются выше, чем многие традиционные гиганты фармацевтической индустрии, не справившиеся с «патентным обвалом», из-за которого они практически за одну ночь лишились миллиардов долларов прибыли из-за истечения срока действия патента на их флагманский препарат. Учитывая, как растут активы биотехнологических компаний, эти амбициозные фирмы всерьез вкладываются в развитие геномики, считая, что именно она – ключ к дальнейшему прогрессу в разработке лекарств. Так, *Amgen* за 415 миллионов долларов приобрела *deCODE Genetics* – исландскую компанию, прославившуюся тем, что ей удалось собрать полную базу данных о геномах всех 320 тысячах жителей Исландии. *Regeneron*, в свою очередь, объединила усилия с *Geisinger*, одной из крупнейших американских компаний, занятых в сфере здравоохранения, чтобы секвенировать геномы 100 тысяч добровольцев и найти ответы или подсказки, которые позволили бы превратить рекомбинантные ДНК в новые лекарства. В 2016 году

компания *AstraZeneca* анонсировала десятилетнюю программу по секвенированию геномов двух миллионов человек, руководить которой будет стэнфордский генетик Дэвид Голдстейн. Компания собирается инвестировать сотни миллионов долларов в поиск редких патологических разновидностей генов. По-видимому, наконец-то настали времена геномики.

Биотехнология зародилась в Сан-Франциско, поэтому совершенно неудивительно, что и специалисты из Кремниевой долины всерьез присматриваются к этой отрасли. Так, компания *Google* (от лица своего холдинга *Alphabet*) пригласила на работу Арта Левинсона (*Art Levinson*), легендарного бывшего директора *Genentech*, а также ряд других ключевых управленцев и основала новую биотехнологическую компанию *Calico* (это своеобразная аббревиатура названия *California Life Company*, которое является реверансом в адрес *Genentech*, где действовало такое правило именования). *Calico* изучает генетику процессов старения и долголетия – эта тема, по-видимому, вызывает у предпринимателей из Кремниевой долины настоящую одержимость. Компания *23andMe*, занимающаяся персонифицированной геномикой, была основана при участии Анны Воджицки, бывшей жены сооснователя *Google* Сергея Брина, и в начале деятельности ее иногда порицали как «компанию по развлекательной генетике» (об этом мы поговорим в главе 8). Тем не менее компания *23andMe*, подписавшая контракты с крупными игроками на фармацевтическом рынке на доступ к базе ДНК по одному миллиону клиентов, четко обозначила, что собирается сама стать одним из таких игроков. Фирма пригласила на работу Ричарда Шеллера, бывшего директора *Genentech* по исследованиям и разработкам, возглавившего в *23andMe* их собственную программу по поиску новых лекарственных средств. Двое ветеранов *Twitter* основали *Color Genomics* – диагностическую компанию, предлагающую секвенировать набор из 30 раковых генов (в том числе *BRCA1*) за неслыханно низкую цену – всего 224 доллара.

Двое других ученых – «титанов» от геномики также развивают амбициозные биотехнологические проекты. Крейг Вентер, ключевой деятель в области секвенирования генома человека (подробнее см. главу 7), основал две компании: *Synthetic Genomics*, занимающуюся разработкой биотоплива, и *Human Longevity*, которая, по планам Крейга Вентера, к 2020 году должна отсекувенировать один миллион человеческих геномов. Сайд-проект подназванием *Health Nucleus* предлагает персонализированную лечебную платформу, в рамках которой выполняется секвенирование

генома, полный бактериальный и метаболический скрининг, а также полное МРТ-сканирование всего тела. Лерой Худ, гигант геномной индустрии, изобретатель технологий автоматизированного синтеза ДНК и белков, помог запустить *Arivale*, компанию, позиционирующую себя как фирму «научного оздоровления», которая предлагает годовичную программу стоимостью 3500 долларов, сочетающую генетический анализ и персональный коучинг.

Несмотря на то что большинство биотехнологических компаний все-таки сосредоточиваются на разработке небольших молекул или моноклональных антител, существует также ряд других стратегий. Результатом реализации этих стратегий стали подлинно захватывающие успехи в лечении печально известных генетических заболеваний. Бостонская компания *Vertex Pharmaceuticals*, финансируемая при поддержке Фонда муковисцидоза, разработала лекарства для пациентов, страдающих муковисцидозом и имеющих специфические мутации гена муковисцидоза (CFTR), который локализован в середине длинного плеча 7-й хромосомы. Следствием мутации гена является нарушение структуры и функции белка, получившего название муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (МВТП). Выпустив первый препарат под названием Kalydeco (нацеленный на лечение небольшой выборки пациентов), компания представила Orkambi, предназначенный для лечения больных с наиболее распространенной мутацией (Delta F508). Аналитики считают, что Orkambi, появившийся в продаже в 2015 году, должен принести *Vertex* прибыль. Правда, скептики при этом отметили бы, что оптовая цена годового курса лечения, требуемого одному пациенту, составит целых 250 тысяч долларов.

Лечение другого генетического расстройства – мышечной дистрофии – было настоящей мечтой еще до того, как Лу Кункель и Тони Монако (*Tony Monaco*) в конце 80-х годов идентифицировали ген наиболее распространенной формы такого заболевания – миодистрофии Дюшенна. Заболевание вызывается делециями или дупликациями одного или нескольких экзонов либо точечными мутациями в гене дистрофина, кодирующем белок дистрофин (ген DMD). Делеции располагаются по длине гена неравномерно, чаще в его начале (5'-концевая область) и в середине. Дистрофин в больших количествах находится в клеточной мембране мышечных клеток; нарушение структуры мембраны ведет за собой дегенерацию органелл и гибель миофибрилл (органеллы, отвечающие за сокращение мышц). Разработка лекарства тормозилась из-за того, что белок дистрофина оказался просто огромен, но

биотехнологические компании применили инновационные стратегии. Две американские фирмы, *Sarepta Therapeutics* и *PTC Therapeutics*, воспользовались технологиями, помогающими «намеренно» просматривать участок кодирующей ДНК (или экзон), в котором находится специфическая мутация, имеющаяся у некоторых пациентов с миодистрофией Дюшенна. Результатом может стать наличие укороченной, но при этом рабочей разновидности дистрофина. Тем временем в компании *United Kingdom Summit Therapeutics*, которую основала Дейм Кей Дэвис, генетик из Оксфордского университета, на этапе клинических испытаний исследуют препарат, который должен включать близкородственный ген. Препарат называется «утрофин», причем есть заметные признаки того, что белок, продуцируемый этим геном, может функционально замещать недостающий дистрофин.

Широкие коммерческие перспективы биотехнологического бизнеса по-прежнему привлекают инноваторов, инвесторов и просто мечтателей. Так, например, тридцатилетний Вивек Рамасвами, бывший специалист по хедж-фондам, выложил скромные пять миллионов долларов за отбракованный препарат-кандидат компании *GlaxoSmithKline*, предназначенный для лечения болезни Альцгеймера. Однако после выхода на рынок его компания *Axovant Sciences* оценивается уже почти в три миллиарда долларов – это крупнейшая биотехнологическая котировка в истории. Если соединение под названием RVT-101 будет одобрено, оно станет новым лекарством от болезни Альцгеймера за более чем десятилетний период^[12].

Элизабет Холмс бросила Стэнфорд, чтобы основать *Theanos* – потенциально революционную диагностическую компанию, предлагающую плановое исследование, для которого требуется всего несколько капель крови пациента. *Theanos* заключила крупную сделку с *Walgreens*, и рыночная стоимость компании составила около девяти миллиардов долларов, хотя подробности этой технологии хранятся в строгом секрете. Настроения общества и бизнес-сообщества переменялись после выхода журналистского расследования, опубликованного в *Wall Street Journal* обладателем Пулитцеровской премии Джоном Каррейру. В нем сообщалась сенсационная новость: оказывается, большинство анализов в *Theanos* проводилось при помощи традиционных технологий, а не в рамках проприетарной платформы, которую запатентовала компания. Последовала тщательная проверка со стороны организации «Центры государственной медицинской помощи по программам *Medicare* и *Medicaid*», а затем на *Theanos* были наложены суровые санкции. В результате Элизабет Холмс

решила закрыть все лаборатории своей компании и сосредоточиться на производстве коммерческого оборудования для анализов крови. Такая головокружительная и авантюрная история просто просилась на экран. Вышел фильм, сценарий которого был основан на книге Джона Каррейру *Bad Blood* («Дурная кровь»). Роль Элизабет Холмс в этой ленте сыграла Дженнифер Лоуренс.

В 2015 году еще один менеджер по хедж-фондам, переквалифицировавшийся в гендиректора биотехнологической фирмы (по имени Мартин Шкрели), оказался под огнем критики за наглое искусственное взвинчивание цен. Компания Шкрели *Turing Pharmaceuticals* приобрела фактическую монополию на генетический препарат *Daraprim*, применявшийся для лечения токсоплазмоза (паразитическая инфекция, часто встречающаяся у больных СПИДом). Когда Шкрели объявил, что планирует повысить цены на препарат на немыслимые 5000 % – с 13,5 до 750 долларов за таблетку (один прием), – его просто демонизировали в бизнес-СМИ, порицали участники президентской гонки, а также коллег-управленцы из фармакологической индустрии, среди которых, надо сказать, были и такие, кто сам занимался ценообразованием на грани фола. В США, в отличие от других развитых стран, правительство никак не регулирует цены на лекарственные препараты. Компания *Gilead*, добившись в рекордные сроки одобрения своего препарата *Sovaldi* от гепатита С, установила в США цену по 1000 долларов за одну таблетку (курс лечения рассчитан на двенадцать недель по одной таблетке в день). В то же время за границей этот препарат продается со скидкой до 99 %. Пациенты, налогоплательщики и организации здравоохранения просто бы взвыли от чека на 84 тысяч долларов за курс лечения, отметив, что себестоимость производства одной таблетки – около одного доллара. Главный директор по медицине в компании *Express Scripts* назвал такое ценообразование «антиробингудовским».

Впоследствии Мартин Шкрели взялся урегулировать цены на свои препараты, и его позиция вновь привлекла всеобщее внимание к острому вопросу ценообразования на лекарства. По иронии судьбы, последнее слово может остаться за свободным рынком: конкурирующая биотехнологическая компания *Imprinis* заявила о планах производить аналог *Dataprim* по цене один доллар за дозу, что скажется на ценообразовании.

С тех пор как рекомбинантные технологии подчинили себе клетки, заставив их продуцировать любые интересные человеку белки, возникает логичный вопрос: а стоит ли вообще ограничиваться только лекарствами?

Возьмем, к примеру, паутину. Так называемые каркасные нити, образующие расходящиеся лучи паутины, состоят из исключительно прочных волокон. В пересчете на вес каркасная паутина впятеро прочнее стали. Хотя, казалось бы, всегда можно завести пауков, которые пряли бы достаточное количество паутины сверх собственных нужд, все попытки создания паучьих ферм, к сожалению, провалились: пауки – слишком территориальные животные, выращивать их «скопом» не получается. Однако сегодня уже можно выделить паутинные гены и внедрить их в другие организмы, которые, таким образом, послужат «фабриками паутины». Исследователи из Университета штата Юта вывели трансгенных коз, у которых основной ген паутины встроен в генетические схемы синтеза молока. Как только у козы в возрасте 18 месяцев начинается лактация, при дойке у нее выделяется каркасная паутина, которая затем очищается, как при сыроварении. Эти исследования финансировал Пентагон, планирующий в будущем вооружить солдат «арсеналом Человека-паука». Возможно, когда-нибудь солдаты и смогут облачиться в защитные костюмы из паучьего шелка; такая броня будет во много раз прочнее кевлара.

Еще один захватывающий рубеж биотехнологических исследований связан с доработкой естественных белков. Зачем довольствоваться дарами природы, сформировавшимися под действием некоего случайного и сегодня уже нерелевантного эволюционного давления, если при помощи минимального вмешательства можно получить вещество с гораздо более полезными свойствами? Например, берем существующий белок, вносим мельчайшие продуманные изменения в его аминокислотную последовательность. Потенциал такого метода весьма ограничен, поскольку мы не всегда представляем, как повлияет на общие свойства белковой молекулы изменение хотя бы одной аминокислоты.

Вариант решения проблемы нам снова подсказывает сама природа: разработан метод направленной молекулярной эволюции, фактически имитирующий естественный отбор. При естественном отборе новые разновидности генов возникают случайным образом в результате мутаций, а затем отсеиваются в ходе конкуренции с другими вариантами. Успешные (более приспособленные) варианты генов с большей вероятностью будут сохранены и переданы следующему поколению. При направленной молекулярной эволюции этот процесс протекает *in vitro*. После биохимических манипуляций, позволяющих внести в ген белка случайные мутации, можно опытным путем симитировать генетическую рекомбинацию и, таким образом, комбинировать мутации, создавая новые

последовательности аминокислот. Из полученных в результате экспериментов новых белков система выбирает те, которые лучше всего функционируют в заданных нами экспериментальных условиях. Весь цикл повторяется многократно, причем на каждой итерации срабатывают «успешные» молекулы из предыдущих циклов.

Для иллюстрации яркого примера, раскрывающего возможности направленной молекулярной эволюции, достаточно заглянуть в прачечную. Вообразите себе, какая катастрофа разразится, если единственная цветная вещь попадет в кипу белого белья. Краска с нашей, например, красной футболки обязательно окрасит общую кучу – и все белые простыни в доме станут розоватыми, о чем вы узнаете постфактум. Оказывается, фермент пероксидаза, который естественным образом синтезируют некоторые несъедобные грибы (точнее, грибы-навозники), эффективно обесцвечивает текстильные красители. Правда, есть проблема: этот фермент не действует в горячем мыльном растворе, которым наполнена стиральная машина. Тем не менее при помощи направленной молекулярной эволюции удалось оптимизировать свойства фермента и добиться, чтобы он функционировал в любой среде. Например, один специально «доработанный» фермент выдерживает температуру в 174 раз выше, чем естественный фермент гриба-навозника. Такая полезная «эволюция» совершается достаточно быстро в сравнении с естественным отбором, который длится целую вечность. Для сравнения – направленная молекулярная эволюция *in vitro* позволяет решить задачу в течение считанных часов или дней.

Инженеры-генетики давно обнаружили, что подобные технологии могут быть полезны также в сельском хозяйстве. Всем, кто сегодня занимается биотехнологиями, отлично известно, какие жаркие споры бушуют по поводу генно-модифицированных растений (ГМО). Поэтому интересным является более раннее, чем в растениеводстве, использование биотехнологии в животноводстве с целью повышения надоев. В свое время информация об этом технологическом решении также вызвала неадекватную реакцию в обществе.

Бычий гормон роста во многом похож на человеческий, но обладает полезным животноводческим эффектом: увеличивает надои у коров. Сельскохозяйственная химическая компания *Monsanto* из Сент-Луиса клонировала ген бычьего гормона роста и синтезировала рекомбинантный вариант (rbGH). У коров этот гормон образуется естественным путем, но после инъекций rbGH от *Monsanto* надои увеличивались примерно на 10 %. В 1993 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов одобрило использование rbGH, и к 1997 году

примерно 20 % из 10 миллионам коров в США давали пищевые добавки с rbGH. Их молоко ничем не отличалось от молока обычных коров: в надоях коров, получавших и не получавших rbGH, содержалось незначительное количество бычьего гормона роста. На самом деле основной аргумент против маркирования молока как «без bGH» и «с bGH» заключался в том, что первое молоко совершенно неотлично от второго, поэтому невозможно определить, являлась ли такая реклама злоупотреблением власти. Поскольку rbGH позволяет фермерам достигнуть высоких производственных показателей при меньшем поголовье коров, применение этого гормона даже благоприятно для окружающей среды, поскольку позволяет сократить численность молочных стад. Проблема в том, что в организме скота образуется метан, который вносит ощутимый негативный вклад в общий парниковый эффект. Поэтому в долгосрочной перспективе планируется сокращение численности стад, что должно благотворно сказаться на климате и привести к ослаблению глобального потепления. Метан в двадцать пять раз лучше, чем углекислый газ, сохраняет тепло, а пасущаяся корова в среднем производит шестьсот литров метана в день – им можно надуть сорок больших праздничных шариков.



Джереми Рифкин, профессиональный скептик: дайте ему тему, и он на нее ополчится

На тот момент я удивился, что rbGH спровоцировал такой всплеск лоббирования против ДНК. Теперь, когда разгораются споры о ГМО-продуктах, я убедился, что профессиональные полемисты могут раздуть проблему из чего угодно. Джереми Рифкин, самый закоренелый противник биотехнологий, начал свою карьеру скептика еще в 1976 году – в двухсотлетнюю годовщину образования США. Он поднял протесты до невероятных высот, ополчившись против рекомбинантной ДНК. Когда в 1980-е годы ему указали, что rbGH вряд ли вызовет возмущение в обществе, он ответил: «Я подниму волну! Найду что-нибудь! Это первый биотехнологический продукт, и я буду против него бороться». Так он и сделал. «Он ненатурален» (но неотличим от гормона из «натурального» молока). «Он содержит канцерогенные белки» (нет, не содержит, причем при пищеварении все белки все равно расщепляются). «Он вытеснит с рынка мелких фермеров» (но в отличие от примеров с другими новыми технологиями rbGH не требует никаких запредельных расходов, так что мелкие фермеры никоим образом не дискриминируются). «Он навредит коровам» (двадцать лет коммерческого применения гормона на миллионах коров показали, что это не так). В конце концов, как во времена асиломарского скепсиса против рекомбинантной ДНК, проблема была исчерпана сама собой, когда выяснилось, что все апокалиптические сценарии Рифкина безосновательны.

Заваруха с bGH стала предтечей последующих событий. Для Рифкина и подобных ему ДНК-фобов bGH послужил своеобразным аперитивом; главным блюдом для таких скептиков вскоре стали генетически модифицированные продукты.



Британская пресса «кормится» на проблеме генетически
модифицированных продуктов

Глава 6

Буря в миске с кашей: генетически модифицированные продукты

В июне 1962 года книга Рейчел Карсон *Silent Spring* («Безмолвная весна») стала настоящим бестселлером после того, как журнал *New Yorker* опубликовал ее в виде серии статей. Автор сделала потрясающее заявление: пестициды есть не только в окружающей среде, но и в нашей пище. На тот момент я работал в Консультативном комитете по науке при президенте США (PSAC) Джоне Кеннеди. Я в основном отвечал за контроль над военными программами по разработке биологического оружия, поэтому был несказанно счастлив, когда меня временно отозвали поработать в подкомитете, который должен был сформулировать официальный ответ администрации президента на претензии Рейчел Карсон. Сама Карсон дала показания, и меня впечатлило, насколько тщательно она обрисовывала проблемы и насколько всесторонне к ним подходила. В личном общении она также ничуть не походила на истеричную, далекую от проблем отрасли, «зеленую» мракобеску, какой ее выставляли ангажированные представители пестицидной индустрии. Например, один управленец из Американской цианамидной компании заявил, что «если добросовестно следовать учению мисс Карсон, то мы вернемся в Темные века, и Земля вновь окажется во власти насекомых, различной заразы и червей». Еще один гигант пестицидной индустрии, компания *Monsanto*, раскритиковала «Безмолвную весну» в статье «Бесплодный год» и распространила ее тиражом 5000 экземпляров.

Однако год спустя я сам оказался в мире, описанном Карсон, когда возглавил комиссию National Capital Region (PSAC) по расследованию угрозы, которую насекомые-вредители, в особенности насекомое хлопковый долгоносик, представляли для производителей хлопка в национальном масштабе. Побывав на хлопковых плантациях в дельте Миссисипи, Западном Техасе и Калифорнийской долине, я не мог не заметить тотальную зависимость хлопководов от химических пестицидов. На пути в инсектологическую лабораторию, расположенную близ Браунсвилля в штате Техас, наш автомобиль случайно попал в облако пестицидов, которые распыляли с самолета. В этом регионе на придорожных рекламных щитах рекламировали не какие-нибудь кремы для

бриться (как мы обычно привыкли видеть) – нет, здесь расхваливали новейшие и великолепнейшие инсектициды. Казалось, что ядовитые химикаты – важнейшая часть жизни в этом хлопковом краю.



D D T
(Dichloro) (Dipheno) (Trichloroethane)

The Famous Wartime Insecticide Discovery
Now Available to Civilians

D D T is a powder used as a basic ingredient for various types of insecticides, powders and liquid. There are various mixtures for different uses:

- Compounded with other powders, for dusting purposes
- Solutions, containing DDT mixed with water
- DDT mixed with other ingredients and volatile solvents, for spraying or brushing

Prices will vary according to type and quality of the product.

There Will Be Forging Types and Qualities of D D T Sprays. For Your Protection, Get Facts About Each Before You Buy!

MADACO DDT Base Insecticide

is a liquid compound of D D T, PYRETHRUM and other ingredients, (CONTAINING 95% DDT) making it most effective against household insects. It is to be used as a spray for killing, as well as repelling, all household pests. Used according to directions MADACO DDT BASE INSECTICIDE will kill them promptly and act to repel them for a period of from sixty to ninety days.

30 Gall. Drums, per gal.	\$3.10	30 Gall. Drums, per gal.	\$3.25
1 Gallon Containers, per gal.	\$3.50	1 Gallon Containers, per gal.	\$3.75
1 Gallon Containers, per gal.	\$3.85		

Out-of-town shipments prepaid on orders of five (5) gallons or over. Check or money order must accompany one and two gallon mail orders. Deliveries will be made promptly. Add 25¢ per gal. to cover shipping charges on one or two gallon orders out of Jacksonville.

Proper Precautions Necessary for Best Results

All containers are labeled with proper instructions and precautions conforming with bulletins issued by the War Food Administration, Office of Marketing Services, Washington, D. C.

Marion H. Davis & Co.
1212 Mary St. Phone 9-6636

В 1962 году Рейчел Карсон выступила перед подкомитетом Конгресса, которому было поручено рассмотреть ее заявления об опасности пестицидов. До того как она забила тревогу, ДДТ (справа) казался всеобщим благом

Независимо от того, насколько точно Рейчел Карсон оценила пестицидную угрозу, требовалось найти более приемлемый способ борьбы с шестиногими вредителями хлопчатника, а не загрязнять огромные территории химикатами. Один из возможных вариантов решения проблемы предложили ученые из Министерства сельского хозяйства, работавшие в Браунсвилле: мобилизовать активность естественного врага насекомых, например вирус ядерного полиэдроза, атакующий хлопковую совку (которая вскоре оказалась вредителем страшнее хлопкового

долгоносика). Однако на практике такие методы не прижились. На тот момент я еще не представлял себе решения, связанного с селекцией растений, у которых была бы «врожденная» сопротивляемость к вредителям. Такая идея казалась попросту слишком идеальной, чтобы быть правдой. Тем не менее сегодня фермеры борются с вредителями именно таким способом – не впадая при этом в зависимость от токсичных химикатов.

Генная инженерия позволила вывести злаки со «встроенной» устойчивостью против вредителей. В данном случае выигрывает прежде всего природа, поскольку снижается использование пестицидов. При этом парадоксально то, что природоохранные организации наиболее яростно выступают именно против культивации так называемых генно-модифицированных растений.

Как и при генетической инженерии на животных, первый сложный этап в ботанической генной инженерии – внедрить нужный фрагмент ДНК (полезный ген) в растительную клетку, а затем – в геном растения. Как зачастую убеждаются молекулярные биологи, в природе уже давным-давно сформировался отработанный механизм такого рода.

Корончатый галл – это болезнь растений, из-за которой на стебле формируется устойчивое разрастание, которое так и называется – «галл». Виновник болезни – распространенный почвенный микроб *Agrobacterium tumefaciens*, оппортунистическая бактерия, проникающая в растение, например, через повреждения, оставленные насекомыми-вредителями. Взаимоотношения агробактерий с растениями представляют собой особый вид паразитизма, когда бактерии не просто используют питательные вещества растения-хозяина, но и встраивают свою генетическую информацию в геном клеток хозяина. Примечательно, как именно паразитирует эта бактерия. Она проделывает своеобразный молекулярный «туннель», через который вводит в растительную клетку свою генетическую информацию, содержащую участок ДНК, тщательно вырезаемый из специальной плазмиды *Agrobacterium*, например Ti-плазмиды, а затем заворачивает в защищенную оболочку, и вот в таком виде генетическая информация поступает в «туннель». Оказавшись на месте, «пакет» с ДНК бактерии интегрируется в ДНК клетки-хозяина, подобно вирусной ДНК. Однако в отличие от вируса такой участок ДНК после закладки не начинает синтезировать новые собственные копии, а включается в продукцию гормонов роста и специализированных белков того растения, в котором оказался микроорганизм. Причем гормоны роста этого растения служат питательными веществами для бактерии, и таким

образом одновременно стимулируется как деление растительных клеток, так и размножение бактерий. Возникает положительная обратная связь: под действием гормонов роста растительные клетки делятся все стремительнее, причем при каждом акте деления клетки-хозяина копируется и инвазивная бактериальная ДНК, и в результате синтезируется все больше растительного гормона роста и питательных веществ для бактерий.

В результате такого бурного и неконтролируемого клеточного деления на стебле образуется шишка-галл, которая служит бактериям своеобразным пищеблоком. Растение производит именно ту массу, которая нужна бактериям, как правило, это количество избыточно. С точки зрения эволюционной стратегии, бактерия *Agrobacterium* – выдающийся паразит; она довела эксплуатацию растений в свою пользу до настоящего искусства.



Растение, пораженное корончатым галлом – болезнью, которую вызывает *Agrobacterium tumefaciens*. Шишка на стебле – хитроумное

бактериальное «изобретение», благодаря которому растение с лихвой удовлетворяет потребности микроба

Подробности паразитизма *Agrobacterium* были исследованы в 1970-е годы; этой работой занимались Мэри-Делл Чилтон из Университета штата Вашингтон, город Сиэтл, а также Марк ван Монтегю и Джефф Шелл из Гентского университета в Бельгии. В те времена споры о рекомбинантной ДНК бушевали в Асиломаре, да и вообще повсюду. Мэри-Делл Чилтон и ее коллеги из Сиэтла впоследствии иронически замечали, что «работа с *Agrobacterium* велась параллельно другим молекулярно-биологическим исследованиям и часто в обход карантинных комплексов, где обеспечивалась бы защита уровня Р4», нарушая тем самым предписания Национальных институтов здравоохранения.

Вскоре уже не только Чилтон, ван Монтегю и Шелл увлеченно занимались *Agrobacterium*. В начале 1980-х годов компания *Monsanto*, та самая, что «поливала грязью» Рейчел Карсон за ее борьбу против пестицидов, осознала, что *Agrobacterium* – нечто большее, чем просто сюрприз природы. Ее удивительный паразитический образ жизни подсказывал исследователям, как внедрять гены в растение. Когда Чилтон переехала из Сиэтла в филиал Вашингтонского университета в город Сент-Луис – именно в этом городе находился головной офис *Monsanto*, – оказалось, что ее новые соседи проявляют далеко не праздный интерес к проводимым Чилтон исследованиям. Возможно, *Monsanto* поздновато подключилась к борьбе за *Agrobacterium*, но компания располагала финансовыми и другими ресурсами, позволяющими быстро набрать темп. Вскоре лаборатории Чилтон, а также ван Монтегю и Шелла уже финансировались этим химическим концерном в обмен на договоренность делиться информацией об исследованиях со спонсором.

Своим успехом *Monsanto* была обязана научной проницательности троих специалистов: Роба Хорша, Стива Роджерса и Роба Фрейли. Все они пришли работать в компанию в начале 1980-х годов. В течение следующих двадцати лет они совершили революцию в сельском хозяйстве. Робу Хоршу всегда «нравилось, как пахнет почва и исходящее от нее тепло». Даже мальчиком он всегда предпочитал «выращивать что-нибудь сам, а не покупать в магазине». Он сразу же сообразил, что работа в *Monsanto* – это шанс воплотить собственную мечту в колоссальном масштабе. Стив Роджерс, биолог из университета штата Индиана, напротив, сначала проигнорировал приглашение компании, расценивая перспективу такой работы как предложение «продаться» в индустрию. Однако, побывав в

Monsanto, он обнаружил там не только кипучую исследовательскую атмосферу, но и финансовое изобилие – тот основной ресурс, которого всегда так не хватает в академических центрах. И он согласился. Роб Фрейли еще в молодости мечтал о сельскохозяйственных биотехнологиях. Он пришел в компанию после знакомства с Эрни Джаворски – дальновидным и смелым менеджером, который запустил в *Monsanto* биотехнологическую программу. Джаворски оказался не только прозорливым, но и благожелательным работодателем. При первой встрече с новичком, которая произошла в бостонском аэропорту Логан, Джаворски невозмутимо отнесся к заявлению Фрейли, сказавшего, что его цель – отобрать у Джаворски работу.

Все три группы исследователей *Agrobacterium* – лаборатория Чилтон, лаборатория ван Монтегю и Шелла и отдел *Monsanto* – рассматривали паразитическую стратегию бактерии как трамплин для манипуляций с генетикой растений. На тот момент было уже несложно вообразить, как при помощи стандартного арсенала молекулярной биологии, позволяющего «вырезать и вставлять», можно выполнить относительно несложную операцию: вставить в плазмиду *Agrobacterium* специально подобранный ген, который требуется доставить в растительную клетку. Далее, когда генетически модифицированная бактерия инфицирует хозяина, она внедрит нужный ген в хромосому растительной клетки. *Agrobacterium* – готовая система для доставки инородной ДНК в клетки растений, естественный генный инженер. В январе 1983 года на конференции в Майами Чилтон Хорш (от имени концерна *Monsanto*) и Шелл независимо друг от друга представили результаты собственных исследований, демонстрирующие, что *Agrobacterium* по силам такая инженерная задача. На тот момент все три группы уже подали патентные заявки на собственные методы генетической модификации с использованием *Agrobacterium*. Заявка Шелла была одобрена в Европе, но в США разгорелась тяжба, ходившая по судам до 2000 года (все началось из-за разрыва между Чилтон и *Monsanto*). Наконец патент все-таки достался Чилтон и ее новому работодателю, компании *Syngenta*. Учитывая, какие стычки в духе Дикого Запада происходили при патентовании интеллектуальной собственности, вряд ли кто удивится, узнав, что на этом история не закончилась. Некоторое время *Monsanto* работала над сделкой о слиянии с *Syngenta*, и сделка оценивалась в 45 миллиардов долларов. Однако в 2016 году вмешалась фармацевтическая компания *Bayer*, которая приобрела *Monsanto* за ошеломительные 66 миллиардов долларов.

Сначала считалось, что возможности внедрения *Agrobacterium*

распространяются только на определенные растения. К ним, увы, не относилась ключевая сельскохозяйственная группа, в которую входят пищевые злаки, и в частности кукуруза, пшеница и рис. Однако, с тех пор как *Agrobacterium* дала толчок генно-инженерным исследованиям растений, генетики усердно работали над самой бактерией, и технический прогресс позволил распространить сферу досягаемости бактерии даже на самые «непокорные» злаки. До появления этих инноваций приходилось полагаться на довольно стихийный, но тем не менее эффективный способ внедрения нужной ДНК в клетки кукурузы, пшеницы или риса. Нужный ген прикрепляется к крошечной золотой или вольфрамовой крупинке, которую мы затем просто выстреливаем в клетку (как пулю). Успех фокуса состоял в том, чтобы крупинка проникала в клетку, но не прошивала ее насквозь! Этот метод не столь изящен, как природный у *Agrobacterium*, но тем не менее срабатывал.

Такую «генную пушку» в начале 1980-х годов разработал Джон Сэнфорд, трудившийся на опытной сельскохозяйственной станции Корнелльского университета. Он экспериментировал с луковичками, поскольку у луковички крупные клетки, с которыми удобно работать. Сэнфорд вспоминал, что в его лаборатории пахло горелым луком и порохом, как в ресторанчике: такой импровизированный «Макдоналдс» на стрельбище. Поначалу его изобретение воспринимали скептически, но в 1987 году Сэнфорд рассказал о своей ботанической пушке на страницах журнала *Nature*. В 1990-е ученые напрактиковались стрелять генами из этого устройства в кукурузу – а это важнейший в Америке злак, который служит не только пищей, но и биотопливом. В одном лишь 2015 году в Америке вырастили кукурузы на 52 миллиарда долларов.



Генная пушка для выстреливания ДНК

Кукуруза – уникальный представитель американских злаков; уже давно эта культура высоко ценится за растительные клетки не только как пищевая, но и как семенная. С финансовой точки зрения семеноводство всегда казалось убыточным бизнесом: крестьянин покупает у вас семена, но впоследствии он может оставить на семена часть того зерна, которое вырастил сам, и уже никогда не будет покупать семена у вас. Американские компании, торговавшие семенами кукурузы, справились с проблемой таких разовых заказов в 1920-е годы, рекламируя гибридную кукурузу. Такие семена получались от скрещивания двух конкретных генетических линий. Гибрид получался высокоурожайным и поэтому был очень привлекателен для фермеров. Менделевские механизмы размножения устроены так, что в данном случае невозможно будет использовать на семена часть полученного урожая (то есть семена, полученные от скрещивания двух гибридных растений). Дело в том, что у большинства семян не будет тех высокоурожайных свойств, которые есть у исходного гибрида. Поэтому фермеру приходится каждый год вновь обращаться в семеноводческую компанию и закупать новую партию высокоурожайных гибридных семян.

Крупнейшая американская компания, работающая в этой отрасли, *DuPont Pioneer* (ранее называлась *Pioneer Hi-Bred*) долго вела свою деятельность лишь в пределах Среднего Запада. Сегодня компания

контролирует около 35 % американского рынка семян кукурузы, а в 2014 году продала товара на семь миллиардов долларов. Эту компанию основал в 1926 году Генри Уоллес, впоследствии ставший вице-президентом в администрации Франклина Д. Рузвельта. Каждое лето компания приглашала на работу 40 тысяч старшеклассников, чтобы аккуратно собрать гибридную кукурузу. Две родительские линии выращиваются в соседних загородах, а затем наемные «жнецы» руками обрывают мужские соцветия (метелки), производящие пыльцу одной генетической линии, пока они не успели созреть. Следовательно, в дальнейшем источником пыльцы служит только кукуруза другой линии, и все семена, полученные с растений с оборванными метелками, однозначно получатся гибридными. Даже сегодня на такую сезонную работу привлекаются тысячи человек; например, в 2014 году компания *Pioneer* наняла 16 тысяч рабочих.

Одним из первых клиентов *Pioneer* был Росуэлл Гарст, фермер из Айовы. Он впечатлился уоллесовскими гибридами и приобрел лицензию на продажу семенного зерна *Pioneer*. Двадцать третьего сентября 1959 года, когда в холодной войне между СССР и США наступила небольшая оттепель, первый секретарь ЦК КПСС Никита Сергеевич Хрущев посетил ферму Гарста, чтобы поближе познакомиться с американским сельскохозяйственным чудом и его главной составляющей – гибридной кукурузой. Нация, власть над которой Хрущев принял после Сталина, ударными темпами проводила индустриализацию, не уделяя должного внимания развитию сельского хозяйства, и новый лидер всерьез намеревался поправить положение. В 1961 году администрация Кеннеди одобрила продажу семенной кукурузы в СССР, а вместе с кукурузой стали поступать сельхозтехника и удобрения. Все это позволило всего за два года удвоить производство зерна кукурузы в СССР.



Компании, выращивающие гибридную кукурузу, каждый год нанимают на работу целую армию «жнецов», которые обрывают с растений мужские цветы – метелки. Таким образом предотвращается самоопыление, и созревающие семена гарантированно получают гибридными, то есть являются плодом скрещивания двух разных линий кукурузы

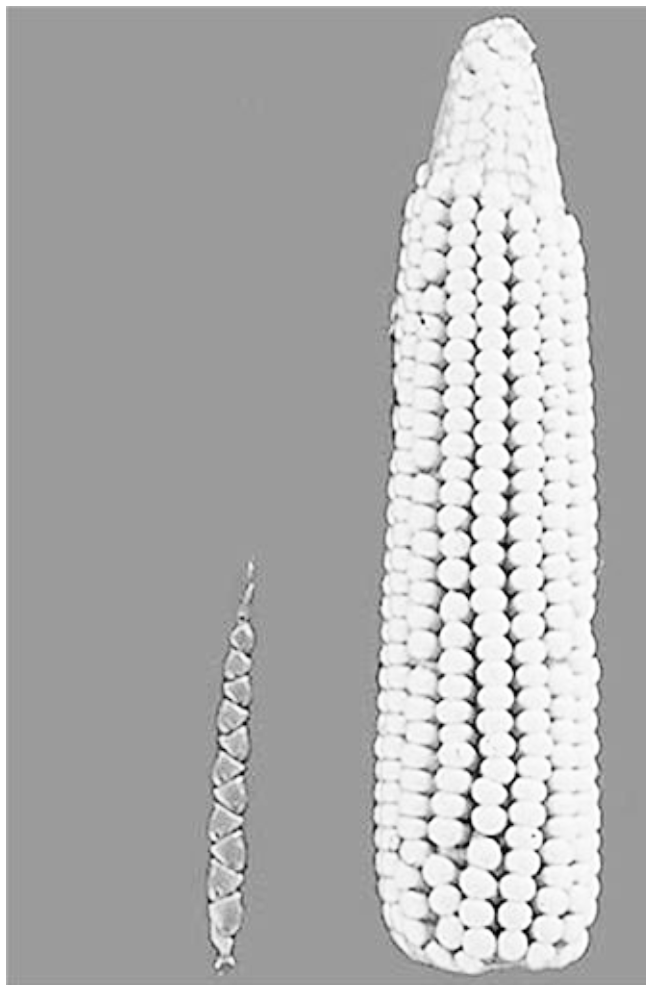


«Кукурузный саммит» времен холодной войны: советский лидер Никита Хрущев с айовским фермером Росуэллом Гарстом (справа) в 1959 году

Сейчас, когда вокруг бушуют дискуссии о генно-модифицированных продуктах, важно осознавать, что мы уже несколько тысяч лет питаемся генно-модифицированной пищей. Действительно, и домашний скот (источник мяса), и сельскохозяйственные культуры, с которых мы жнем зерно, собираем фрукты и овощи, в генетическом отношении очень далеко ушли от своих диких предков в результате искусственного отбора и селекции.

Земледелие не возникло тысячи лет назад на пустом месте, тем более как полноценный род занятий довольно значительной части человечества. Многие дикие предки злаков были весьма непривлекательны для

крестьянина: их было сложно выращивать, и они давали низкие урожаи. Чтобы земледелие смогло успешно развиваться, злаки требовалось модифицировать. Древние земледельцы понимали, что модификация должна быть унаследованной (мы бы сказали, «генетической»), если мы стремимся к тому, чтобы желательные признаки той или иной культуры передавались из поколения в поколение. Так наши предки-земледельцы развернули колоссальную программу генетической модификации. У них не было генных пушек и других подобных инструментов, поэтому вся работа зависела от своего рода искусственного отбора: крестьяне размножали лишь те особи, которые обладали нужными признаками (например, для размножения брали коров с максимально высокими надоями). Фактически крестьяне воспроизводили происходящий в природе естественный отбор: из всех доступных генетических вариантов выбирались те, которые гарантировали, что представители следующего поколения будут в избытке обладать полезными потребительскими качествами (в этом и состояла цель крестьян) либо будут более жизнеспособны (путь естественного отбора). Биотехнология сегодняшнего дня позволяет генерировать нужные варианты, не дожидаясь, пока обладающие ими особи вырастут естественным путем. В принципе, это всего лишь новейший метод в долгой последовательности различных практик, применявшихся для генетической модификации продуктов, используемых человеком.



Результат многовекового искусственного отбора: кукуруза и дикий теозинт (слева), от которого она произошла

Всем известно, как сложно избавиться от сорняков. Это такие же растения, как и злаки, но которые интенсивностью своего развития и занимаемых территорий «забивают» злаки. Как же искоренить сорняки, не навредив злакам? В идеале нужна некая «пропускная система», которая не позволит проникнуть ни одному растению, не обладающему «защитной меткой». В таком случае растения без «метки» (сорняки) будут уничтожаться, а «помеченные» (злаки) – сохраняться. Благодаря генной инженерии крестьяне и садовники обзавелись такой системой – она была разработана компанией *Monsanto* и называется Roundup Ready. Roundup (химическое наименование – глифосат) – это гербицид широкого профиля, открытый Джоном Францем, который убивает практически любые растения. Но при помощи генной инженерии ученые из *Monsanto* также смогли вывести сорта растений линии Roundup Ready, обладающие

«врожденной» устойчивостью к этому гербициду и превосходно растущие там, где сорняки гибнут от химиката. Сегодня устойчивостью к Roundup в США обладают большинство посевов кукурузы и сои. Естественно, такая практика коммерчески выгодна: фермеры, покупающие модифицированные семена *Monsanto*, вынуждены покупать и гербицид от этой компании. На самом деле такой подход благоприятен и для окружающей среды. Как правило, фермер вынужден использовать целый букет химикатов – каждый химикат травит конкретный сорняк, но щадит злаки. Приходится защищаться от многих групп потенциально вредных растений. При применении же единственного гербицида для защиты всех культивируемых растений окружающая среда загрязняется в меньшей степени, а сам гербицид Roundup быстро разлагается в почве.

Увы, сорняки точно так же, как бактерии и раковые клетки, превосходно развивают генетическую сопротивляемость к инородным веществам. Именно это произошло по мере того, как Roundup стал использоваться все активнее. В 1996 году было произведено 13,5 тысячи тонн гербицида, а в 2012 году – более 110 тысяч тонн. За это время свинорой пальчатый (*Cynodon dactylon*) – травянистое растение из семейства злаков – и многие другие сорняки развили устойчивость к Roundup, усилив ген, кодирующий мишень глифосата, – EPSP-синтазу. «Давно прошли те дни, когда можно было дважды в год выйти в поле, распылить Roundup и идти домой», – признается Майк Питцик, фермер из Небраски. Весьма предсказуемый и поэтому грустный финал истории с Roundup, возможно, еще и окажется историей с эпилогом. Фермеры осваивают все более токсичные гербициды, а ВОЗ тем временем охарактеризовала глифосат как «вероятный канцероген». Агентство по охране окружающей среды США (EPA) запустило повторную экспертизу Roundup – впервые с 1993 года. Следует ожидать, что толпа противников генетической модификации (как и в истории с пламенной риторикой и тщательно поданной дезинформацией, чем отметились «дискуссии» по поводу генетически модифицированных организмов) клянет Roundup как источник всевозможных болезней – от аутизма и синдрома гиперактивности до непереносимости глютена. *Monsanto*, в свою очередь, наконец-то решила предпринять контратаку против беспочвенного нагнетания страхов, запустив сайт Just Plain False («Просто чушь»), где развенчиваются многочисленные мифы, связанные с самой компанией и генетически модифицированными злаками в целом.

Фермерам приходится бороться не только с сорняками. К сожалению, развитие сельского хозяйства оказалось благом не только для наших

предков-крестьян, но и для растительноядных насекомых. Вообразите, что вы – насекомое, питающееся пшеницей и родственными дикими травами. Давным-давно, много тысяч лет тому назад, вам приходилось отправляться в дальние вылазки, преодолевать огромные расстояния, чтобы найти себе пропитание. Затем возникло земледелие, и люди так любезно стали потчевать вас до отвала. Неудивительно, что злаки приходится оберегать также от насекомых-вредителей. Что касается борьбы с насекомыми, то уничтожить их гораздо легче, чем сорняки, – можно разработать такие яды, которые действуют на животных, но не на растения. Проблема состоит в другом: и человек, и ценный скот, и домашняя птица – тоже животные.

Истинные масштабы рисков, связанных с использованием пестицидов, оставались без особого внимания, пока Рейчел Карсон не стала документировать эту информацию. Оказалось, что пестициды, основанные на устойчивых соединениях хлора, например 1,1,1-трихлор-2,2-бис(4-хлорфенил)этан (ДДТ), который запрещен в Европе и Америке с 1972 года, разрушительно воздействуют на окружающую среду. Кроме того, существует опасность, что остаточное количество этих пестицидов попадет в пищу. В малых дозах этот инсектицид, пожалуй, не смертелен – в конце концов, они разрабатывались в качестве отравы для животных, отстоящих на эволюционной лестнице довольно далеко от нас. Однако остаются опасения по поводу их возможных мутагенных эффектов, которые могут вызывать рак и врожденные дефекты развития. В качестве альтернативы ДДТ появилась группа фосфорорганических пестицидов, в частности тиофос. Плюсом этих веществ стал их быстрый распад после применения – они не задерживаются в экосистеме. С другой стороны, они еще токсичнее, чем ДДТ; например, газ зарин, примененный в террористической атаке в токийском метро в 1995 году, относится как раз к фосфорорганическим соединениям.

Даже результаты научных решений, результатом которых стало использование естественных, «природных» химикатов, сопровождались неприятной «отдачей». В 1960-е годы химические компании приступили к разработке синтетической разновидности пиретрина, естественного инсектицида, добываемого из далматской ромашки. Такие вещества в течение более чем десяти лет помогали контролировать численность полевых насекомых-вредителей, но, что неудивительно, из-за широкого применения этих химикатов возникли резистентные к пиретрину популяции насекомых. Еще худшей проблемой оказалось то, что пиретрин хоть и натурален, но отнюдь не безвреден для человека. На самом деле, как и многие инсектициды растительного происхождения, он может быть

довольно токсичен. Когда пиретрин испытывали на крысах, у животных развивались симптомы, напоминающие болезнь Паркинсона, и в настоящее время эпидемиологи отмечают, что этот недуг чаще встречается в сельской местности, чем в городах. В целом – хотя достоверных данных очень мало, – по оценкам Агентства по защите окружающей среды (ЕРА), среди американских фермеров ежегодно может насчитываться 10–20 тысяч случаев заболеваний, вызванных пестицидами.

Фермеры, пользующиеся лишь органическими технологиями, придумывают свои хитроумные методы, чтобы работать без пестицидов. Один из них – применение токсинов бактериального происхождения (или самих бактерий) для защиты растений от насекомых-вредителей. Бактерия *Bacillus thuringiensis* в естественной природе поражает клетки кишечника насекомых и питается веществами, вытекающими из пораженных клеток. Поврежденный бактериями кишечник парализуется, и насекомое гибнет одновременно от истощения и от повреждения тканей. *Bacillus thuringiensis* была открыта в 1901 году, когда эта бактерия в прямом смысле «выкосила» популяцию японского шелковичного червя, но видовое название получила лишь в 1911 году, когда вызвала эпидемию в популяции мучной моли в немецкой земле Тюрингии. В качестве пестицида ее впервые использовали во Франции в 1938 году, причем изначально считалось, что эта бактерия опасна только для гусениц (личинок моли и бабочек). Однако другие штаммы *Bacillus thuringiensis* впоследствии оказались эффективны для борьбы против пчелиных и мушиных личинок. Наиболее удобным было то, что эти бактерии паразитируют именно на насекомых: в кишечнике у большинства животных кислотная среда (то есть низкое значение pH), а среда в кишечнике личинок насекомых сильно щелочная (высокое значение pH) – и именно в ней активируется токсин *Bacillus thuringiensis* (Bt).

В эпоху рекомбинантной ДНК и соответствующих технологий успех использования *Bacillus thuringiensis* в качестве пестицида вдохновил генных инженеров. Что если не распылять бактерию на посевы, а генно-инженерными методами внедрить ген Bt-токсина в геном злаков? Фермеру больше никогда не придется обрабатывать свои посевы пестицидами, поскольку растения станут ядовиты для насекомых, которые попытаются их поедать (но не ядовиты для человека). Этот метод обладает по меньшей мере двумя достоинствами по сравнению с традиционным распылением пестицидов на полях. Во-первых, мы будем уничтожать только тех насекомых, которые поедают нужные нам агроинженерные культуры, безвредные насекомые не пострадают, не то что в случае с распылением. Во-вторых, после внедрения гена Bt-токсина в растительный геном этот ген

будет воспроизводиться во всех клетках растения. Это будет происходить из-за того, что в трансгенных сортах первого поколения продукция, кодируемая этим геном Bt, присутствует во всех частях растения, даже в тех, которые насекомыми не поражаются.

Сегодня существует множество модифицированных культур с геном Bt, в том числе кукуруза, картофель, хлопок, соя. В результате использования Bt удалось радикально сократить использование пестицидов. В 1995 году хлопководы в дельте Миссисипи опрыскивали поля в среднем 4,5 раза за сезон. Всего через год, когда прижился Bt-модифицированный хлопок, этот средний показатель – в пересчете на все хозяйства, в том числе те, где выращивают немодифицированный хлопок, – упал до 2,5 раза. По некоторым оценкам, с 1996 года благодаря культивации Bt-модифицированных злаков ежегодное потребление пестицидов в США снизилось на 7,5 миллиона литров. В последнее время я не бывал на хлопчатниках, но готов поспорить, что на рекламных щитах больше не расхваливают инсектицидные ядохимикаты; подозреваю, что на место рекламы пестицидов триумфально вернулась реклама кремов для бритья. Другие страны также начинают с пользой применять эти культуры: в Индии и Китае благодаря выращиванию Bt-хлопка удалось сократить применение пестицидов на тысячи тонн.

Биотехнологии позволили повысить сопротивляемость растений и в отношении других традиционных сельскохозяйственных напастей; речь идет о предотвращении болезней, а сам процесс отдаленно напоминает прививку. Мы же вводим нашим детям аттенуированные штаммы различных микробов, чтобы сформировать иммунный ответ. У детей появятся антитела, которые защитят их от заболевания, когда организм столкнется с полноценной инфекцией. У растения, строго говоря, нет иммунной системы, но примечательно: если привить ему определенный вирус, то впоследствии у растения развивается устойчивость к другим разновидностям того же вируса. Роджер Бичи из Вашингтонского университета в Сент-Луисе осознал, что такой феномен «перекрестной защиты» позволит генетикам-инженерам «иммунизировать» растения против опасных заболеваний. Он попытался внедрить ген капсидной оболочки вируса и проверить, получится ли таким образом организовать перекрестную защиту, не инфицируя растение вирусом как таковым. Действительно, получилось. По какой-то причине при наличии в клетке гена вирусной оболочки вторгающиеся в растение вирусы такую клетку не трогают.



Bt-модифицированный хлопок. Генетически модифицированный хлопок, синтезирующий Bt-токсин, смертельный для насекомых (справа), бурно растет, а обычный хлопок дочиства съеден вредителями

Благодаря методу Роджера Бичи удалось спасти гавайские плантации папайи. В период с 1993 по 1997 год урожаи папайи на островах упали на 40 % из-за того, что туда занесли вирус кольцевой пятнистости дынного дерева. Тогда одна из основных отраслей хозяйства на Гавайях оказалась под угрозой исчезновения. Внедрив в геном папайи ген, лишь частично кодирующий оболочку вируса, ученым удалось вывести растения, невосприимчивые к вирусу, и плантации папайи были спасены.

Позже ученые из *Monsanto* таким же безвредным методом смогли побороть распространенную болезнь картофеля, которую вызывает вирус картофеля X. (Названия у вирусов картофеля скучные. Еще есть вирус картофеля Y.) К сожалению, *McDonalds* и другие ведущие игроки бургерного бизнеса опасались, что за использование таких модифицированных клубней их станут бойкотировать противники генно-модифицированной пищи. Поэтому крупнейший закупщик картофеля в США продолжает сторониться генно-модифицированного картофеля, и сейчас цена на картошку фри неоправданно завышена в том числе по этой

причине.

Природа «изобрела» встроенные защитные системы за миллионы лет до того, как генетики-биоинженеры принялись внедрять гены Bt в культурные растения. Биохимикам известен целый класс растительных веществ, которые не участвуют в общем метаболизме растения, но защищают растение от травоядных животных и других потенциальных вредителей. Иногда обычное растение просто сочится химическими веществами и токсинами, которыми оно обзавелось в ходе эволюционного развития. Разумеется, естественный отбор всегда поддерживал только те растения, которые изобилуют такими гнуснейшими вторичными продуктами, поскольку эти растения меньше страдают от травоядных. Многие вещества, которые человек, получая их из растений, научился использовать для медицинских нужд (так, например, дигиталис из наперстянки при точной дозировке показан при лечении заболеваний сердца), в качестве стимуляторов (кокаин из растения коки) или пестицидов (пиретрин из далматской ромашки), относятся именно к таким вторичным продуктам. Эти вещества, ядовитые для естественных врагов растения, образуют его тщательно выработанный защитный арсенал.

Брюс Эймс создал одноименный генетический тест с использованием бактерий *Salmonella typhimurium*. Тест предназначен для оценки мутагенного потенциала химических соединений. Положительный результат в тесте показывает, что химическое вещество может обладать канцерогенными свойствами. Так как малигнизация часто связана с повреждением ДНК, тест также может быть использован в качестве экспресс-метода для оценки канцерогенного потенциала различных химических соединений. Так вот, Эймс отмечал, что химические соединения, содержащиеся в нашей пище, столь же летальны, как и синтетические, которые нам так не нравятся. Например, он рассказывает об опытах на крысах, в которых использовался обычный кофе.

В чашке кофе содержится больше канцерогенов для грызуна, чем в ежегодной дозе пестицидных осадков – для нас. Здесь мы просто демонстрируем двойные стандарты: синтетические вещества нас шокируют, а натуральные ничуть не волнуют.

В химическом защитном арсенале, которым пользуются растения, есть интересная группа веществ – фуранокумарины. Они становятся токсичными, только если их облучать ультрафиолетом. Благодаря такой адаптации токсины активируются только после того, как травоядное

животное начинает жевать растение, нарушая целостность клеток, – так их содержимое оказывается на солнечном свету. Фуранокумарины есть в кожуре лайма, и именно из-за них произошла вспышка странной болезни, поразившая карибский курорт компании *Club Med* еще в 1980-е годы. У некоторых отдыхающих появился жуткий зуд в области бедер – оказывается, все они играли в игру, где нужно было передавать друг другу лайм, не пользуясь руками, ступнями или головой. На жарком карибском солнце в игру «включились» фуранокумарины в истерзанном лайме, которые жестко отыгрались на человеческой коже.

Животные и растения втянуты в эволюционную «гонку вооружений»: так природа благоприятствует растениям, которые становятся все более ядовиты, а травоядные все эффективнее справляются с защитными свойствами растений, прекрасно их переваривая. Некоторые животные взяли на вооружение хитрые контрмеры. Например, существуют гусеницы, которые свертывают лист в трубочку, прежде чем жевать его. Солнце не проникает в такую трубочку, поэтому и фуранокумарины не включаются в химические реакции.

Внедрение конкретного Vt-гена в злаки – лишь один из способов, которым человек как заинтересованная сторона может оказать растениям помощь в эволюционной гонке. Нам не следует удивляться, что вредители в конечном итоге развивают устойчивость к конкретному токсину. В конце концов, такая реакция – лишь следующий ход в издревле разыгрывающейся партии под названием эволюция. Когда произойдет очередной шаг, фермеры, возможно, обнаружат, что в природе есть множество токсичных, похожих на Vt штаммов, и именно такое разнообразие дает возможность выхода из замкнутого эволюцией пространства. Например, когда вредители приобретают устойчивость к одному Vt-штамму, его можно просто заменить другим.

Современные биотехнологии позволяют не только защитить растения от вредителей, но и вывести на рынок более привлекательную продукцию. К сожалению, иногда даже умнейшие биотехнологи не в силах разглядеть «лес за деревьями» (или плоды за посевами). Именно такая история приключилась с *Calgene* – инновационной калифорнийской компанией. В 1994 году *Calgene* была отмечена тем, что стала производить самый первый генетически модифицированный продукт, попавший на полки супермаркетов. *Calgene* решила важнейшую проблему, связанную с выращиванием томатов: как доставлять на рынок спелые овощи, а не собирать их еще зелеными (традиционная практика). Однако, празднуя технологический триумф, компания упустила самую суть: их помидоры,

довольно неудачно названные *FlavrSavr*, поскольку никаким особым ароматом они не отличались, к тому же получились невкусными и совсем недешевыми. Помидоры *FlavrSavr* относительно недолгое время просуществовали на рынке и стали первым генно-модифицированным претендентом на выбывание.

Технология, использованная *Calgene*, была весьма интересной. Известно, что при созревании помидоры размягчаются – за это отвечает особый ген, кодирующий фермент под названием полигалактуроназа (ПГ); этот фермент размягчает плод, разрушая в нем клеточные стенки, что делает их более восприимчивыми к повреждениям от грибковых инфекций. Поскольку мягкие помидоры сложно транспортировать, их обычно собирают, пока они еще зеленые (и, соответственно, крепкие), а затем оставляют дозревать под действием газа этилена. Сбор помидоров в незрелом состоянии позволяет упростить обработку и увеличить срок хранения. В случае с *FlavrSavr* генетическая трансформация не предусматривала встраивание какого-либо гена, касаясь лишь удаления гена полигалактуроназы, фермента, катализирующего расщепление пектина, что приводило к появлению помидоров с повышенной мягкостью. Они внедрили в помидоры обратную копию гена полигалактуроназы, который комплементарен фрагменту мРНК, благодаря чему способен образовывать с мРНК гибрид и ингибировать ее нормальную трансляцию на рибосомах. Таким образом, ген олигалактуроназы переставал синтезировать размягчающий пектин фермент. Поскольку при отсутствии полигалактуроназы помидоры получались более крепкие и лежкие, то открывалась возможность доставлять эти овощи на полки магазинов более спелыми и свежими. Однако *Calgene*, преуспевшая в молекулярном чародействе, упустила нюансы простейшей культивации помидоров. Один земледелец, нанятый на работу в компанию, отозвался об этом так: «оставьте молекулярного биолога на ферме, и он умрет с голоду». Тот сорт помидоров, который взялись модифицировать в *Calgene*, оказался абсолютно пресным и почти безвкусным: никакого «аромата», который стоило бы сохранять, там не наблюдалось, была одна лишь «свежесть». С технологической точки зрения это был успех, а с коммерческой – провал.

Потенциально наиболее важный вклад растениеводства в благосостояние человека, возможно, заключается в том, что агрономы смогли оптимизировать питательность сельскохозяйственных культур, частично устранив их естественные продовольственные недостатки. Обычно растения бедны аминокислотами, важными для жизнедеятельности человека, поэтому те из нас, кто придерживается чисто

вегетарианской диеты, могут страдать от дефицита тех или иных аминокислот. Благодаря генной инженерии растение накапливает более полноценный набор питательных веществ, в том числе аминокислот, по сравнению с немодифицированными культурами, которые выращиваются и используются в пищу.

Например, в 1992 году, по оценке ЮНИСЕФ, около 124 миллионов детей по всему миру страдали от опасного дефицита витамина А. В результате ежегодно фиксировалось около полумиллиона случаев ретинопатии; многие из этих маленьких пациентов даже умирали, не дождавшись витамина А. Поскольку рис не содержит витамина А или его биохимических предшественников, такие «обделенные» витамином А популяции сосредоточены в основном в тех регионах, где основу рациона составляет рис.

Международная программа, финансируемая в основном Фондом Рокфеллера (организация некоммерческая и, следовательно, неуязвимая для типичных нападков противников ГМО – фонд не обвинишь в коммерческих или эксплуататорских намерениях), позволила разработать так называемый золотой рис. Хотя в таком рисе не содержится витамина А как такового, в нем есть важнейший предшественник этого витамина – бета-каротин (придающий моркови ярко-оранжевый цвет, а золотому рису – более бледный оранжевый оттенок, которым и объясняется такое название). Однако те, кто занимается гуманитарной помощью, знают, что причины плохого питания могут быть сложнее, чем нехватка одного элемента: так, предшественники витамина А в кишечнике лучше всего всасываются в присутствии жира, но голодающие, в помощь которым был выведен золотой рис, зачастую совсем не употребляют в пищу жиров. Тем не менее золотой рис – это хотя бы первый шаг в верном направлении. Это пример, который показывает, что генетически модифицированные сельскохозяйственные культуры действительно могут облегчить жизнь человека; это пример технологического решения социальных проблем.

Мы пока еще только в самом начале великой революции генных модификаций в растениеводстве, едва начинаем изучать невероятно большое поле новых потенциальных вариантов применения ГМО. Генномодифицированные растения смогут обеспечить нас нужными питательными веществами, когда-нибудь они, возможно, станут средством для перорального приема вакцинных препаратов. Если, допустим, методом генной инженерии вывести банан, синтезирующий белок вакцины от полиомиелита, – который останется в целостности и сохранности, ведь бананы обычно и перевозят, и употребляют сырыми, то когда-нибудь вакцину от

полиомиелита можно будет доставлять в регионы, где нет бесплатной медицинской инфраструктуры. Растения также могут послужить для не столь «жизненно важных», но все равно крайне полезных целей. Например, одна компания преуспела в интродукции хлопка, естественным образом синтезирующего разновидность полиэстера и, таким образом, дающего натуральную хлопчато-полиэстеровую смесь. С учетом возможных перспектив, открывающихся с использованием растений-ГМО, мы можем снизить зависимость от химического производства (например, получение полиэстера – это один из таких процессов) и избавиться от побочных продуктов, загрязняющих окружающую среду, геновая инженерия открывает огромные возможности по защите окружающей среды.

Компания *Monsanto* – бесспорный лидер по производству генетически модифицированных продуктов, которая постоянно находится в условиях конкурентной борьбы. Немецкая фармацевтическая компания *Hoechst* (ныне *Bayer Crop Science*) разработала собственный эквивалент Roundup, гербицид под названием Basta (в США продается под маркой Liberty). Затем компания стала продвигать на рынке культуры LibertyLink с генетически повышенной устойчивостью к вредителям. Другой европейский фармацевтический гигант, *Aventis*, вывел собственную разновидность Bt-кукурузы под названием StarLink.

Monsanto, стремясь заработать на репутации «крупнейшей» и «первой» корпорации, агрессивно лоббировала лицензирование своих продуктов в крупных семеноводческих компаниях, особенно *Pioneer*. Однако *Pioneer* по-прежнему зависела от давно наработанных методов по работе с гибридной кукурузой, поэтому ее реакция на ожесточенные судебные тяжбы была индифферентной. В сделках, заключенных за период с 1992 по 1993 год, *Monsanto* показала свою некомпетентность, когда смогла отсудить у семеноводческого гиганта всего 500 тысяч долларов за лицензию на сою Roundup Ready и 38 миллионов долларов за лицензию на Bt-кукурузу. Роберт Шапиро в 1995 году, став генеральным директором *Monsanto*, отыгрался за это поражение, выведя компанию в абсолютные лидеры на семеноводческом рынке. Для начала он взялся за застарелую проблему посевного бизнеса: развернул наступление на фермеров, которые оставляют на семена часть прошлогоднего урожая, а не платят семеноводческой компании заново. Гибридное решение, так хорошо сработавшее с кукурузой, оказалось неприменимо для других злаковых культур. Поэтому Шапиро предложил фермерам, использующим Bt-семена, подписать с *Monsanto* «технологическое соглашение», обязывавшее их не только платить за использование таких генов, но и воздерживаться от

пересева полей зерном, полученным от собственных растений. Так Шапиро встал на прямой путь к тому, чтобы фермерское сообщество перестало поддерживать *Monsanto*.

Роберт Шапиро мало походил на типичного гендиректора агрохимической компании со Среднего Запада. Работая юристом в фармацевтической организации *Searle*, он совершил маркетинговую находку, сравнимую с гениальным открытием в науке («Эврика!»). Убедив компании *Pepsi* и *Coca-Cola* указать бренд *Searle* (компания производила химический подсластитель) на контейнерах с диетической газировкой, Шапиро сделал бренд *NutraSweet* синонимом «низкокалорийного» образа жизни. В 1985 году *Monsanto* приобрела *Searle*, и Шапиро зашагал вверх по карьерной лестнице уже в головной компании. Естественно, получив пост гендиректора, господин *NutraSweet* должен был доказать, что он человек разносторонний.

Потратив в 1997–1998 годах восемь миллиардов долларов, *Monsanto* приобрела ряд крупных семеноводческих компаний, в том числе *DEKALB* – крупнейшего конкурента *Pioneer*. Шапиро планировал вывести *Monsanto* в ранг «*Microsoft* посевного рынка». В частности, он собирался купить компанию *Delta and Pine Land*, контролировавшую 70 % американского рынка хлопчатников. Кроме того, эта компания владела правами на интересную биотехнологическую инновацию, изобретенную в исследовательской лаборатории Министерства сельского хозяйства США в городе Лаббок, штат Техас; речь шла о методе, позволявшем выращивать культуру абсолютно бесфертильных семян. Дальнейшим шагом стали работы по выведению сортов растений, в которые встроен «ген-терминатор», представляющий последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемую РНК-полимеразой как сигнал к прекращению синтеза молекулы РНК и диссоциации транскрипционного комплекса, блокирующий прорастание семян второго поколения. Это вынуждало фермеров каждый год покупать семена у производителя. В итоге культура первого поколения развивается нормально, но ее семена гарантированно не прорастают. Вот где, казалось, был настоящий ключ к обогащению в семеноводческом бизнесе! Фермерам пришлось бы каждый год обращаться за закупкой новых семян.

Хотя такая разработка может показаться нелогичной и даже своеобразным оксюмороном, в долгосрочной перспективе непрорастающие семена в целом даже полезны для сельского хозяйства. Если фермеры ежегодно закупают семена (что на самом деле и приходится делать в случае с гибридной кукурузой), то развивается экономика семеноводства, и это

стимулирует выведение новых (более качественных) сортов. Обычные (прорастающие) семена всегда найдутся для тех, кому они нужны. Фермеры будут покупать непрорастающие семена лишь при условии, если сорт обладает высокой урожайностью и другими свойствами, критичными для фермера. Короче говоря, технология непрорастающих семян лишает фермеров одной возможности, но в то же время предоставляет семена высочайшего качества, гарантирующие урожайность.

Однако для *Monsanto* эта технология спровоцировала пиар-катастрофу. Активисты прозвали новый ген терминатором уже в прямом смысле слова. Они апеллировали к образу обездоленного крестьянина из третьего мира, следующего традициям и привыкшего оставлять часть урожая на семена. Внезапно обнаружив, что эти семена не прорастают, земледелец не имеет иного выхода, кроме как возвращаться в семеноводческую транснациональную корпорацию или, как Оливер Твист, униженно выпрашивать новую партию семян. *Monsanto* дала задний ход, униженный Шапиро публично забраковал эту технологию, и сегодня «ген-терминатор» не используется. *Monsanto* утверждает, что строго воздерживается от коммерциализации технологии стерильных семян в сегменте пищевых культур.

Как было сказано в предыдущей главе на примере бычьего гормона роста, истерия против генетически модифицированной пищи в основном была срежиссирована профессиональными пиар-паникерами, такими как Джереми Рифкин. Аналогичный персонаж из Великобритании, лорд Питер Мелчетт, действовал не менее эффективно, пока не дискредитировал себя в кругах «зеленых», покинув «Гринпис» и переметнувшись в PR-фирму, которая ранее работала на *Monsanto*. Джереми Рифкин вырос в семье самостоятельно пробившегося в жизни чикагского производителя пластиковых пакетов, поэтому по стилю он отличается от Питера Мелчетта – выпускника Итона, специалиста «голубых кровей». Однако оба они представляли Америку корпораций как паутину заговоров, нацеленных против беспомощного простого человека.

Негативно повлияли на репутацию генно-модифицированных продуктов импульсивные, политически ангажированные настроения и даже научная некомпетентность, типичные для государственных регулирующих органов – в случае США речь идет об Управлении по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) и Агентстве по охране окружающей среды (EPA), – столкнувшихся с этими новыми технологиями. Роджер Бичи, первым заметивший феномен перекрестной защиты и спасший гавайскую отрасль по выращиванию папайи от краха,

вспоминает, как ЕРА отреагировало на результаты его исследований:

Я наивно полагал, что выведение устойчивых к вирусам растений с целью сокращения использования инсектицидов будет расценено как прогрессивный шаг. Однако в ЕРА мне фактически сказали: «Если вы используете ген, защищающий растения от вирусов, то есть от вредителей, то этот ген должен считаться пестицидом». Таким образом, ЕРА приравнило генетически измененные растения к пестицидам. Суть истории в том, что по мере развития генетической науки и биотехнологий правительственные органы словно впадали в оторопь. Их сотрудникам не хватало опыта и компетенции ни для того, чтобы регулировать использование новых сортов растений, выведенных таким образом, ни для того, чтобы судить об экологическом эффекте от использования трансгенных культур, закреплявшихся в сельском хозяйстве.

Еще более вопиющий пример некомпетентности государственных управленцев – так называемый «случай со StarLink». Bt-сорт кукурузы, выведение которого финансировалось StarLink, выведенный транснациональной европейской компанией *Aventis*, не угодил Агентству по охране окружающей среды, когда выяснилось, что Bt-белок этой кукурузы разлагается в кислой среде (такой, как в человеческом желудке) не столь быстро, как другие Bt-белки. В принципе, при употреблении Bt-кукурузы может возникнуть аллергическая реакция, но на практике таких случаев зафиксировано не было. Агентство по охране окружающей среды колебалось. В конце концов, кукурузу StarLink одобрили в качестве кормовой, а не продовольственной культуры. А при отсутствии толерантности со стороны ЕРА любой продукт, в котором нашлась бы даже одна-единственная молекула StarLink, считался бы загрязненным и противозаконным. Фермеры выращивали кукурузу с содержанием и без содержания Bt-сорта StarLink на соседних делянках, и «чистые» культуры неизбежно загрязнялись. Урожай с целого поля можно было забраковать, если туда случайно попадет единственное модифицированное растение со StarLink. Неудивительно, что StarLink Bt стал «всплывать» в пищевых продуктах.

В абсолютном выражении он содержался там в мизерных количествах, но генетические анализы на присутствие StarLink Bt сверхчувствительны. В конце сентября 2000 года *Kraft Foods* была вынуждена отозвать коржи

для лепешек тако, в которых нашелся StarLink Bt. Неделью спустя *Aventis* принялась выкупать у фермеров распроданные семена, в которых обнаружился StarLink Bt. Такая «программа по зачистке» обошлась примерно в 100 миллионов долларов.

Порицать за эти бесчинства следует лишь чрезмерно рьяное и иррациональное влияние Агентства по охране окружающей среды. Разрешить такую кукурузу в качестве корма скоту и не разрешить в пищу человеку, а затем требовать абсолютной чистоты – это абсурд, в чем теперь нет ни малейших сомнений. Давайте определимся: если «загрязнение» наступает при попадании в продукт единственной молекулы инородного вещества, то любая щепотка еды загрязнена! Свинцом, ДДТ, бактериальными токсинами и бесчисленными прочими ядами. С точки зрения общественного здравоохранения важна именно концентрация всех этих веществ, которая может варьироваться от количества, которым можно пренебречь, до смертельной дозы. Также следует рассмотреть и следующее разумное требование: некое вещество должно маркироваться как «загрязнитель», если имеются хотя бы минимальные доказательства того, что данное вещество вредно для здоровья. StarLink никогда и никому не навредил, даже лабораторным животным. В этой грустной истории был тем не менее и положительный результат: ЕРА изменило свои жесткие требования по «разделению» продукции на чистую и загрязненную. Теперь сельскохозяйственный продукт либо получает одобрение как кормовой, так и пищевой культуры, либо однозначно бракуется.

В Европе сложилось особенно сильное лобби против генно-модифицированных продуктов. У европейцев, и особенно у британцев, безусловно, есть самые веские основания присматриваться к составу своей пищи и не доверять тому, что о ней рассказывают. В 1984 году фермер на юге Англии первым заметил, что его корова ведет себя необычно; к 1993 году уже 100 тысяч голов скота в Великобритании пало от нового заболевания мозга, губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота, более известной под названием коровье бешенство. Правительственные чиновники поспешно сообщили населению, что болезнь, вероятно, передается через коровий фураж, изготовляемый из останков забитых животных, и для человека не опасна. Но к февралю 2002 года 106 британцев умерли от человеческой разновидности коровьего бешенства. Они заразились, употребляя в пищу мясо «бешеных коров».

Опасность и недоверие, возникшие в ситуации с коровьим бешенством, перекинулись на споры о ГМО, которые британская пресса окрестила «франкенпищей». В апреле 1997 года организация «Друзья

Земли» опубликовала пресс-релиз, в котором заявила: «Кто после коровьего бешенства поверит, что промышленники не попытаются впихнуть нам в рот вместе с пищей некоторые “скрытые” ингредиенты?» Однако именно попытками продвинуть на европейский рынок модифицированные продукты собиралась заниматься в Европе компания *Monsanto*. Нисколько не сомневаясь, что кампания против ГМО-продуктов лишь временная помеха, менеджеры *Monsanto* форсировали свои планы по выводу такой продукции на полки европейских супермаркетов. Это оказалось их крупным просчетом: в 1998 году потребители дали отпор, который набирал обороты. Авторы заголовков в британских таблоидах учуяли, что запахло жареным. Передовицы газет пестрели заголовками: «ГМО играют в игры с природой: если рак станет единственным побочным эффектом, то считайте, что еще легко отделались!», «Вопиющий обман в исполнении ГМО-империи», «Зерна-мутанты» и т. д. Когда премьер-министр Тони Блэр нерешительно попытался вступить за ГМО, журналисты еще больше раззадорились, появились уже другие заголовки: «Премьер-Монстр Блэр признался: я ем франкенштейновские продукты – это безопасно!» В марте 1999 года сеть британских супермаркетов *Marks and Spencer* объявила, что не будет торговать продуктами, содержащими ГМО, и мечты *Monsanto* о биотехнологическом завоевании Европы оказались под угрозой. Стоит ли удивляться, что другие европейские продовольственные ретейлеры поступили сходным образом: логично было с максимальным вниманием отнестись к опасениям клиентов и абсолютно бессмысленно – надрываться, защищая интересы непопулярной американской транснациональной корпорации.

Примерно в те годы, когда Европа устремилась в пучину «франкенштейновских» дебатов, в США появились новости о «генетерминаторе» и о планах *Monsanto* подчинить глобальный семеноводческий рынок. Партия «зеленых» организовывала массовые протестные мероприятия, а попытки компании защищаться были безуспешными из-за ее же прошлого. *Monsanto* начинала путь как производитель пестицидов, поэтому не могла пойти на то, чтобы открыто отречься от этих химикатов и признать их опасными для окружающей среды. Тем не менее одно достоинство у Roundup и Bt-технологий было, оно заключалось в резком снижении потребности в гербицидах и инсектицидах. С 1950-х годов официальная позиция производителей формулировалась так: при грамотном использовании подходящих пестицидов мы не вредим ни природе, ни крестьянам, которые их используют. *Monsanto* так и не согласилась признать, что Рейчел Карсон с

самого начала была права. Поскольку компания не могла одновременно осуждать пестициды и торговать ими, у нее не нашлось убедительных аргументов в пользу применения биотехнологий в сельском хозяйстве.

Monsanto так и не удалось переломить негативную тенденцию в обществе. В апреле 2000 года компания вышла на слияние, но ее партнера, фармацевтического гиганта *Pharmacia & Upjohn*, в первую очередь интересовала *Searle*, лекарственное подразделение *Monsanto*. Агробизнес, позднее оформленный в виде отдельной организации, до сих пор работает под маркой *Monsanto*. Проблемы с имиджем у фирмы сохраняются, но при этом бизнес процветает. Компания вернула себе авторитет крупнейшего поставщика семян в мире и тяжеловеса в области ГМО-технологий. В 2009 году журнал *Forbes* назвал ее «компанией года», а в 2015 году *Monsanto* похвасталась приростом капиталов почти в 50 миллионов долларов. «Каждую весну фермеры отдают свои голоса компании, – сказал генеральный директор компании Хью Грант, – они к вам вновь обратятся, если вы работаете хорошо». Когда в 2016 году *Bayer* объявила о намерении приобрести *Monsanto*, в денежном выражении это стало одной из крупнейших покупок в истории.

Споры о ГМО-продуктах вскрыли две разные группы проблем. Во-первых, существовали чисто научные вопросы о том, представляют ли ГМО опасность для здоровья и для окружающей среды. Во-вторых, были экономические и политические вопросы, связанные с тактикой агрессивных транснациональных компаний и с эффектами глобализации. Давайте в виде тезисов обсудим имеющиеся проблемы.

«...Они ненатуральны...». Практически никто из современных людей, кроме немногочисленных сохранившихся охотников и собирателей, не питается истинно «натуральными» продуктами. Вопреки мнению принца Чарльза, который в 1998 году заявил, что генетическая модификация «наделяет человека полномочиями, принадлежащими Господу и только Господу», наши предки тысячелетиями пользовались такими полномочиями, употребляя в пищу модифицированные самой эволюцией продукты питания.

Первые растениеводы часто скрещивали разные виды, выводя совершенно новые экземпляры, не имеющие прямых аналогов в природе. Так, пшеница – это результат целой последовательности искусственных скрещиваний между пшеницей-однозернянкой (или зандури), дикорастущим видом пшеницы (*Triticum boeoticum*) и эгилопсом, представителем семейства злаков (*Aegilops triuncialis*). В результате таких скрещиваний получилась пшеница-двузернянка. Далее в результате

следующего этапа скрещивания, в результате которого двузернянка гибридизировалась с другими представителями злаков, возникла современная пшеница. Таким образом, пшеница – результат искусственной комбинации, которая, возможно, никогда не возникла бы в природе, сочетающей признаки всех ее диких предков.





На фрагменте картины Брейгеля «Жатва» видно, что в XVI веке пшеница вырастала до полутора метров. Впоследствии под действием искусственного отбора ее высота уменьшилась наполовину, и жатва упростилась. Поскольку пшеница тратит меньше ресурсов на отращивание стебля, колосья получаются крупнее и питательнее

Более того, скрещивание растений дает комплексное обновление всего генофонда: в процессе скрещивания активируется каждый ген, хотя эффекты такого обновления порой бывают непредсказуемыми. Напротив, биотехнологические механизмы позволяют гораздо «прицельнее» обогащать растения новым генетическим материалом. Вот почему традиционное сельское хозяйство можно сравнить с генетической кувалдой, а биотехнологию – с генетическим пинцетом.

«...Таким образом в пищу попадут токсины и аллергены...» Огромным достоинством современных трансгенных технологий является то, с какой прицельностью они позволяют модифицировать растение. Зная, что некоторые вещества могут вызывать аллергические реакции, мы, соответственно, можем их избегать. Тем не менее такой скепсис в обществе сохраняется, и отчасти он связан с широко цитируемой историей о том, как в бобы сои добавляли белок бразильского ореха. Это было

благонамеренное предприятие: в рационе многих жителей Западной Африки не хватает метионина – аминокислоты, которая в изобилии содержится в бразильских орехах. Казалось разумным внедрить ген этого белка в западноафриканскую сою, но кто-то вспомнил, что бразильские орехи часто вызывают аллергию, которая может повлечь серьезные последствия, – и проект заморозили. Естественно, ученые не собирались пускать в продажу продукт, который сразу вызовет у тысяч людей анафилактический шок; проект приостановили, как только были оценены его серьезные недостатки. Однако большинство комментаторов восприняли по-своему: молекулярная инженерия – это безответственная игра с огнем. В принципе, генная инженерия даже помогает снизить аллергенность пищевых продуктов; возможно, когда-нибудь появятся и бразильские орехи без того белка, внедрение которого в сою сочли небезопасным.

«...Метод неизбирателен и навредит нецелевым организмам...» В 1999 году было проведено знаменитое ныне исследование, показавшее, что гусеницы бабочки-монарха вымирают, если питаются листьями, густо усыпанными пылью от Vt-кукурузы. Это было отнюдь не удивительно: такая пыльца содержит ген Vt, а следовательно, и Vt-токсин, специально предназначенный для уничтожения насекомых. Все мы любим бабочек, поэтому «зеленые», враждебно настроенные к ГМО, нашли себе в бабочках «символ» для борьбы. Не станет ли бабочка-монарх, вопрошали они, первой в ряду множества невинных жертв ГМО-технологий? Проверка показала, что условия эксперимента, проводившегося на гусеницах, были экстремальными – то есть поддерживались такие высокие уровни Vt-токсина, что эксперимент не давал практически никакой адекватной информации о смертности гусениц монарха в естественных условиях. Дальнейшие исследования показали, что влияние Vt-растений на бабочку-монарха (и на других нецелевых насекомых) тривиально. Однако, даже если бы все было наоборот, следовало бы спросить: можно ли сравнивать такой эффект с результатом воздействия пестицидов? Как мы убедились, при отсутствии ГМО-альтернатив пестициды и инсектициды должны применяться в огромном количестве, чтобы сельское хозяйство могло удовлетворить потребности современного общества в продуктах питания. Да, токсин, внедренный в Vt-растения, летален только для тех насекомых, которые поедают эти растения (и в меньшей степени для тех, кто вступает в контакт с пылью), а пестициды однозначно травят всех насекомых, которые попадают под их действие, как вредителей, так и безвредных. Если бы бабочка-монарх могла вмешаться в эти дебаты, то, определенно, отдала бы голос в пользу Vt-кукурузы.



Сообщения о том, как гусеницы монарха погибают от пылицы Вt-кукурузы, раззадорили противников аграрных биотехнологий. Участник митинга 2000 года, нарядившийся бабочкой-монархом. На него обратили внимание бостонские полицейские

«...Такая практика сорвет экологический баланс и приведет к появлению “супертрав”...» В данном случае опасения связаны с тем, что гены устойчивости к гербицидам (как в растениях Roundup Ready) переключаются из генома культурных растений в генофонд других трав вследствие межвидовой гибридизации. Такой возможности нельзя исключать, но в широких масштабах подобное маловероятно. Межвидовые гибриды обычно крайне уязвимы и плохо выживают в природе, тем более если один из видов – одомашненная порода или сорт, выведенный с таким расчетом, что он может успешно плодиться лишь при хозяйском уходе. Тем не менее давайте предположим как один из вариантов, что гены устойчивости к гербицидам действительно оказались в популяции диких трав и закрепились в ней. Конец света и даже конец земледелия от этого не

наступит, а всего лишь повторится эпизод, который уже неоднократно наблюдался в природе: речь о вредителях, развивавших устойчивость к пестицидам. Наиболее примечательный пример – эволюция невосприимчивости к ДДТ. Фермер, использующий пестицид, задействует сильный фактор естественного отбора, поддерживающий развитие такой толерантности. Эволюция, как известно, ловкий и умелый противник: сопротивляемость формируется быстро. Выше мы рассмотрели, как быстро приспособились к Roundup всевозможные растения. В результате ученым приходится вновь браться за дело и разрабатывать новый пестицид или гербицид, токсичный для целевого вида. Весь эволюционный цикл повторится, пока этот целевой вид вновь не обретет сопротивляемость уже к новому яду. Такое развитие невосприимчивости практически сводит на нет любые попытки длительного сдерживания вредителей; это возможно только при использовании ГМ-технологий. Будем считать, что на каждом технологическом этапе вновь и вновь раздается гонг и начинается следующий раунд борьбы, а человеческий гений вновь вынужден изобретать что-то новое.

Суман Сахаи из неправительственной организации *Gene Campaign* в Нью-Дели выразила беспокойство о том, как транснациональные компании могут повлиять на крестьян из таких стран, как Индия. Она указывает, что споры о ГМ-продуктах ведутся в тех социальных группах, где пропитание не является вопросом жизни и смерти. В США еду в шокирующих количествах выбрасывают на свалку из-за каких-нибудь тривиальных косметических «некрасивостей» или из-за истекшего срока годности. Но в Индии, отмечает Сахаи, где люди в буквальном смысле умирают с голоду, до 60 % фруктов, выращенных в холмистой местности, сгнивает еще до попадания на рынок. Только вообразите, какую потенциальную пользу могла бы принести технология, замедляющая созревание плодов, наподобие той, что использовалась с помидорами FlavrSavr. Возможно, важнейшая роль ГМ-продуктов заключается в спасении жителей развивающихся стран, где высокая рождаемость, а пахотных земель немного и на них приходится выращивать достаточно продовольствия, чтобы прокормить жителей этой страны. Поэтому в таких странах в чрезмерном количестве используются пестициды и гербициды, что отражается не только на состоянии окружающей среды, но и на фермерах, которые их применяют. Недоедание там – образ жизни, а зачастую и причина смерти. Именно там гибель посевов из-за вредителей может стать смертным приговором для крестьянина и его семьи. Без ГМО-технологий вся Африка будет вынуждена просить пропитания извне. Европейцам

кажется, что это сейчас в мире кризис мигрантов? На самом деле он может случиться в случае реального голода и массовой миграции в европейские страны огромного количества голодных людей.

Как уже было сказано, возникновение технологий рекомбинантной ДНК в начале 1970-х годов вылилось в массу споров, критики и самокритики, кульминацией которых стала Асиломарская конференция. Теперь все повторяется. На момент Асиломарской конференции можно было как минимум утверждать, что перед нами уравнение с несколькими неизвестными: в то время мы еще не могли с уверенностью утверждать, может ли вмешательство человека в генетическую структуру *E. coli* породить новые штаммы болезнетворных микробов. Но наше стремление во всем разобраться и поиски новых возможностей продолжились, пусть иногда процесс происходил медленно. Что касается нынешних споров, то озабоченность продолжает сохраняться, даже несмотря на то что сейчас мы гораздо лучше отдаем себе отчет, чем именно занимаемся. Хотя многие из участников Асиломарской конференции призывали быть осмотрительнее, сегодня уже сложно найти ученого, который был бы принципиально против генно-модифицированных продуктов. Признавая силу ГМ-технологий, их пользу как для нашего вида, так и для природы в целом, о них лестно высказался даже прославленный эколог Э. О. Уилсон: «В случаях, когда генетически модифицированные продукты целесообразны с продовольственной и экологической точки зрения, их следует использовать... при условии проведения тщательных исследований и строгой регламентации».

В оппозиции к генно-модифицированным продуктам находятся в основном деятели социополитического движения, чьи аргументы, пусть и наукообразны, в целом ненаучны. Некоторые псевдонаучные заявления против ГМО, распространяемые в СМИ либо ради сенсаций, либо из-за благонамеренной, но ошибочной озабоченности, отчасти даже забавны, если бы не было очевидно, что их выступления являются эффективным оружием пропаганды. Роб Хорш из *Monsanto*, который к настоящему времени стал заместителем директора в фонде Билла и Мелинды Гейтс, успел принять участие в в стычках с протестующими:

Однажды на пресс-конференции в Вашингтоне, округ Колумбия, один активист обвинил меня в том, что я подкупал фермеров. Я попросил его пояснить, что он имеет в виду. Активист ответил, что если мы даем фермерам более качественный продукт за меньшую цену, то эти фермеры имеют с

него профит. Я долго смотрел на него, открыв рот от удивления.





Вандалы разнесли опытные деланки в лаборатории Колд-Спринг-Харбор в 2000 году

По объективным параметрам и результатам научных публикаций безопасность ГМ-продуктов в долгосрочной перспективе однозначно подтверждается. В 2012 году Американская ассоциация содействия развитию науки поддержала многочисленные престижные научные издания, высказавшись в отношении ГМ-продуктов так: «С научной точки зрения все ясно: оптимизация сельскохозяйственных культур при помощи современных молекулярных биотехнологических методов безопасна». В 2013 году в Италии был опубликован аналитический обзор свыше 1750 научных статей за период более 10 лет. При анализе этого научного труда не удалось найти информации о существенных угрозах, связанных с употреблением ГМ-культур. В 2014 году Элисон ван Эненнаам из Калифорнийского университета в Дэвисе провела самый длительный в истории мониторинг воздействия ГМ-продуктов. Ее группа проанализировала данные о кормлении более 100 миллиардов генетически

модифицированных животных (в основном кур), охватив период и до, и после введения в пищу животных ГМ-добавок (что произошло в 1996 году). Результаты были изложены в *Journal of Animal Science*. Вывод был ясен: применение генно-модифицированного корма никак не влияет на здоровье животных. А в 2016 году совет представителей Национальных академий естественных наук, инженерии и медицины заключил, что генно-модифицированные злаки и продукты безопасны.

Позвольте без всяких обиняков озвучить мою точку зрения: я считаю, что попросту абсурдно лишать себя всей той пользы, которую несут генно-модифицированные продукты, демонизируя их. Учитывая, как остро в них нуждаются развивающиеся страны, было бы в корне неверно вестись на предположения некоторых политиков и принца Чарльза. Большинство американцев считают, что ГМ-продукты нужно соответственно маркировать, и я не имею ничего против, хотя, на мой взгляд, ингредиенты продукта гораздо важнее, чем метод, которым он получен. Если потребители желают любой ценой избегать использования генно-модифицированных продуктов, то уже есть совершенно адекватное название для таких продуктов: «органические».

Когда большинство западных политиков сбросят оковы луддитской паранойи, мы осознаем, что весьма серьезно отстали в агротехнологической сфере. Производство пищи в Европе и США скоро может оказаться более затратным и менее эффективным, чем где-либо в мире. Тем временем такие страны, как Китай, для которых подобная мнительность – непозолотительная роскошь, станут фаворитами. Китай прагматично подходит к проблеме ГМО: в этой стране живет около 20 % населения Земли, но имеется всего 7 % мировых пахотных угодий. Китаю необходимо повышать урожаи и пользоваться повышенной пищевой ценностью ГМ-культур, чтобы прокормить свой народ.

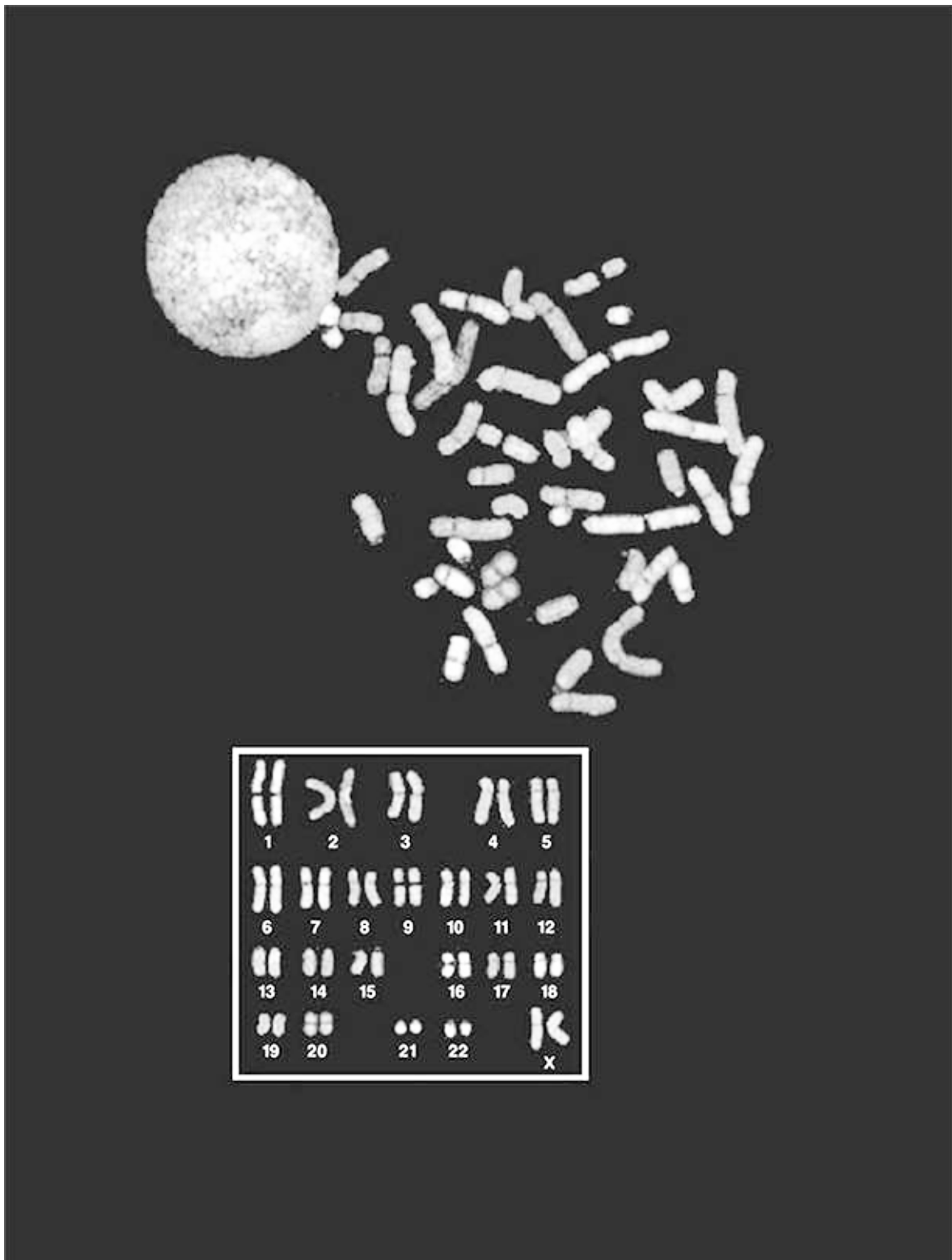
Поразмыслив, могу сказать, что мы слишком перестраховались в Асиломаре, спасовав перед плохо рассчитанными опасениями по поводу неизвестных и непрогнозируемых бед от ГМ-продуктов и технологий. После дорогостоящего простоя мы вновь стали следовать высочайшему моральному обязательству науки перед обществом: применять имеющиеся знания ради максимального блага для человечества. В нынешних спорах, когда обществу порой мешает ханжеское невежество, мы должны работать, постоянно помня о том, как много поставлено на кон: речь о здоровье голодающих людей и сохранении драгоценнейшего наследия предков – окружающей среды.

В июле 2000 года вандалы, протестующие против ГМ-продуктов,

разнесли делянку опытной кукурузы в лаборатории Колд-Спринг-Харбор. В действительности на этом поле не было никаких генно-модифицированных растений; они просто перечеркнули двухлетний труд двух молодых сотрудников лаборатории. Однако история весьма показательная. Во времена, когда по всей Европе по-прежнему вспыхивают новости об уничтожении ГМ-культур и когда даже за научный поиск можно попасть под удар политических партий, те, кто действует на переднем крае этой проблемы, должны задаться вопросом: за что мы боремся?

Тем не менее все факты говорят за то, что приходит время, о котором мы говорим «ветер перемен». В Европе одобрены первые генно-модифицированные сорта кукурузы – появляется надежда, что рациональное мышление победит. Возможно, оно победит и в США, ведь уже сейчас там под серьезной угрозой оказывается одна из старинных национальных традиций. Вскоре можно лишиться того освежающего стакана апельсинового сока, который американцы привыкли выпивать по утрам, поскольку по миру стремительно распространяется «желтый дракон» – опаснейшая болезнь, также известная под названием «позеленение цитрусовых». Болезнь вызывает бактерия *Candidatus liberibacter*, переносчиком которой является сокососущее насекомое азиатская листовлошка. Болезнь появилась в Китае более ста лет тому назад и с тех пор постепенно перемещалась на запад – в Африку, Южную Америку, а в 2005 году была обнаружена во Флориде. По ежегодному производству апельсинового сока Флорида уступает лишь Бразилии. Всего за десять лет ситуация оказалась на грани катастрофы: количество насаждений цитрусовых сократилось на 30 %, продажи упали на 40 %, а оптовые цены на апельсины утроились. Позеленение цитрусовых не удастся победить ни повышенными дозами пестицидов, ни поисками путей повышения естественной резистентности растений: по-видимому, культурные цитрусовые не обладают иммунитетом к этой болезни. Сейчас испытываются новые бактерицидные химикаты, в том числе аэрозоль Zinkicide на растительной основе, но фермеры из Флориды, выращивающие цитрусовые, все охотнее присматриваются к трансгенным апельсинам – пусть даже переход на них потребует полностью пересмотреть само понятие «100 % натуральный продукт». Один перспективный вариант, одобренный ЕРА, связан с внедрением в апельсины гена шпината, который кодирует белок против этой бактерии. Один читатель, прокомментировавший статью об этом в *New York Times*, выразился так: «По-видимому, у нас всего три альтернативы: больше никакого апельсинового сока из Флориды, апельсиновый сок, напичканный

пестицидами, или апельсиновый сок со шпинатом. Я бы выбрал апельсиновый сок со шпинатом».



На фото: полный набор человеческих хромосом, окрашенных специфичными флуоресцентными красителями. В каждой клетке содержится сорок шесть хромосом – два полных набора, по одному от каждого из родителей. Геном – это полный хромосомный набор. Двадцать три хромосомы – это двадцать три очень длинные молекулы ДНК

Глава 7

Геном человека. Сценарий жизни

Человеческий организм очень сложен. Традиционно биологи сосредоточивались на изучении какого-то отдельного органа и старались понять, как он устроен. Такой подход не изменился и в эру молекулярной биологии. Как правило, ученый специализируется на одном гене либо на группе генов, образующих какой-либо биохимический путь. Однако не существует машины, детали которой работали бы независимо друг от друга. Если бы я собрался изучить карбюратор в моторе моего автомобиля, даже в мельчайших деталях, мне все равно нужно представлять себе, как работает весь двигатель, не говоря уже обо всей машине. Чтобы понять, для чего нужен мотор и как он функционирует, мне нужно изучить весь механизм: рассмотреть карбюратор в контексте, рабочий элемент среди множества других. Это же касается и генов. Чтобы понять генетические процессы, лежащие в основе жизни, нужно не просто детально представлять себе, как именно работают те или иные гены в биохимических путях; нужно рассматривать эту информацию в контексте целостной системы – генома.

Геном – это полный набор генетических инструкций, содержащийся в ядре каждой клетки (фактически любая клетка содержит два генома, по одному от каждого родителя; две копии каждой хромосомы, которые мы наследуем, каждая хромосома содержит свою копию гена, как раз поэтому – у нас две копии генома). Размер генома у разных видов различается. Измерив, сколько ДНК содержится в каждой клетке, можно понять, что геном человека включает примерно 3,2 миллиарда пар оснований, или 3 200 000 000 А, Т, Г и Ц.

От генов зависят все наши успехи и горести, включая смерть. В некоторой степени генетически обусловлены все причины смерти, не считая несчастных случаев. Наиболее очевидные примеры – болезни, возникающие непосредственно из-за мутаций, например муковисцидоз или болезнь Тея – Сакса. Многие другие гены действуют столь же смертельно, хоть и менее явно; от них зависит, насколько мы подвержены распространенным смертельным болезням, например насколько велики наши шансы заболеть раком или сердечно-сосудистыми заболеваниями. В обоих случаях прослеживается семейная предрасположенность. Даже

реакция на инфекционные заболевания, такие, например, как корь или обычная простуда, часто имеет генетическую составляющую, состояние факторов антимикробной защиты также находится под контролем генов. Старение – также генетически детерминированный феномен; внешние признаки, которые мы ассоциируем со старением, в некоторой степени отражают многолетнее накопление мутаций в наших генах. Следовательно, если мы желаем полностью понять генетические факторы, от которых зависит жизнь и смерть, а затем и научиться справляться с ними, нам нужна полноценная опись всех генетических «игроков» человеческого организма, то есть описание генома.

В человеческом геноме содержится ключ к вопросу, что означает «быть человеком». Свежеоплодотворенные яйцеклетки человека и шимпанзе (по меньшей мере, на первый взгляд) неотличимы друг от друга, но в одной из них содержится геном человека, а в другой – геном шимпанзе. В каждой клетке макроорганизма заложена ДНК, контролирующая онтогенетическое развитие, причем геном шимпанзе приведет к развитию шимпанзе, а геном человека породит человека. Данный процесс невероятно сложен, поскольку в организме взрослого человека примерно 30 триллионов клеток. Геном человека – великолепный свод сборочных инструкций, управляющий развитием каждого из нас. В этих инструкциях записана сама природа человека.

Несмотря на высокие ставки и степень ответственности специалистов по молекулярной биологии, продвижение проекта по секвенированию генома человека – дело бесспорно нужное для всего человечества. Тут даже не о чем спорить, поскольку истина лежит на поверхности. Тем не менее в середине 1980-х годов, когда возможность секвенирования генома только обсуждалась, такая идея многим казалась сомнительной, причем среди скептиков были некоторые выдающиеся ученые. Кому-то она казалась до нелепости амбициозной, например как предложение воздухоплавателю времен королевы Виктории попытаться доставить человека на Луну на воздушном шаре.

Проект «Геном человека» удалось запустить благодаря – подумать только! – телескопу. В начале 1980-х годов астрономы из Калифорнийского университета предложили сконструировать самый крупный и мощный телескоп в мире – смета на проект составила около 75 миллионов долларов. Когда Фонд Макса Хоффмана пожертвовал на это 36 миллионов долларов, благодарный Калифорнийский университет согласился назвать проект в честь щедрого спонсора. К сожалению, такая форма благодарности осложнила получение остальных 39 миллионов, поскольку потенциальные

спонсоры не горели желанием жертвовать деньги на телескоп, уже названный в честь кого-то, поэтому проект застопорился. В конце концов другая (значительно более богатая) благотворительная организация из Калифорнии, Фонд У. М. Кека, согласилась выступить поручителем всего проекта. Калифорнийский университет с готовностью согласился: Хоффман, не Хоффман... какая разница, а новый телескоп Кек на вершине Мауна-Кеа на Гавайях должен был выйти на полную проектную мощность к маю 1993 года. Не готовый играть второй скрипкой при Кек, Фонд Хоффмана отозвал свою заявку на участие в проекте, и администрация Калифорнийского университета поняла, что открывается возможность инвестирования теперь уже свободных 36 миллионов долларов. В частности, Роберт Синсхеймер, ректор Калифорнийского университета в городе Санта-Крус, осознал, что деньгами Хоффмана можно профинансировать крупный научный проект, благодаря которому «город Санта-Крус появится на всех картах», то есть приобретет мировую известность.

Синсхеймер имел биологическое образование и был полон решимости вывести свою дисциплину в «высшую лигу» науки, где крутятся большие деньги. У физиков есть дорогие суперколлайдеры, у астрономов – спутники и телескопы по 75 миллионов долларов; почему бы и биологам не реализовать свой высококласный дорогостоящий проект? Поэтому он предложил организовать в Санта-Крусе институт, который занимался бы строго секвенированием генома человека. В мае 1985 года в Санта-Крусе была организована конференция для обсуждения идеи Синсхеймера. В целом ее расценивали как слишком амбициозную, и все участники конференции сходились во мнении, что на первом этапе следует сосредоточиться на исследовании конкретных участков генома, важных с медицинской точки зрения. Дискуссия эту тему не привела к конкретному результату, поскольку деньги фонда Хоффмана так и не попали на счета Калифорнийского университета, но начало проекту в Санта-Крусе было положено.

Следующий шаг к реализации проекта «Геном человека» также был сделан издалека: помогло Министерство энергетики США. Хотя деятельность министерства, естественно, была сосредоточена на нуждах национальной энергетики, оно занималось решением как минимум одной биологической задачи: оценкой риска влияния ядерной энергетики на здоровье человека. Поэтому Министерство энергетики профинансировало работы по долгосрочному отслеживанию генетических нарушений у людей, выживших при атомных взрывах в Хиросиме и Нагасаки, а также у

их потомков. Что могло быть полезнее при изучении мутаций радиационного происхождения, чем полная «справочная» карта человеческого генома? Осенью 1985 года представитель Министерства энергетики Чарльз ДеЛизи созвал совещание, чтобы обсудить вклад геномного проекта в общую стратегию министерства. Биологический истеблишмент воспринял идею работы по министерскому заказу по меньшей мере скептически: генетик из Стэнфорда Дэвид Ботстейн порицал проект как «министерскую программу для безработных бомбоделов», а Джеймс Вингаарден, в ту пору возглавлявший Национальные институты здравоохранения, сравнил идею с «инициативой национального бюро стандартизации по постройке бомбардировщика В-2». Примечательно, что впоследствии Национальные институты здравоохранения стали виднейшим представителем коалиции, реализовавшей проект «Геном человека». Со скепсисом ученых или без него, но необходимо признать, что Министерство энергетики сыграло важную роль в реализации проекта и в конечном итоге обеспечило секвенирование примерно 11 % генома.

К 1986 году шумиха вокруг генома продолжала нарастать. В июне 1986 года я организовал в лаборатории Колд-Спринг-Харбор специальное заседание по поводу этого проекта. На наше совещание собрались крупнейшие специалисты по генетике человека. Уолли Гилберт, годом ранее побывавший на конференции Синсхеймера в Калифорнии, взял слово и представил объем и смету исследований, она была невероятна по всем параметрам. Нужно секвенировать три миллиарда пар оснований, а значит, потребуется не менее трех миллиардов долларов. В самом деле, это было чрезвычайно дорогостоящее научное исследование. Сумма получалась еще более немыслимой, собрать ее было реально лишь с привлечением софинансирования, и некоторые из присутствовавших беспокоились, что такой мегапроект, успех которого отнюдь не гарантирован, в итоге просто отнимет деньги у других, более важных исследований. Многие опасались, что проект «Геном человека» окажется научной «бездонной бочкой». На уровне личных научных амбиций многим казалось, что в этом проекте даже при наилучших раскладах игра едва ли стоит свеч. Проект «Геном человека» сулил массу технических находок, но не мог предложить интеллектуального азарта или славы тем, кому бы пришлось с этим разбираться. Любой уже имеющийся серьезный научный прорыв в молекулярной биологии казался ничтожным по сравнению с той титанической работой, которую предстояло проделать. Кто согласился бы положить всю жизнь на бесконечное секвенирование, секвенирование, секвенирование? Дэвид Ботстейн из Стэнфорда требовал действовать с

крайней осторожностью, вот его слова: «...Все это означает, что придется перекроить всю структуру науки, втянуть всех нас, особенно молодых, в этот колоссальный проект, подобный Space Shuttle».

Несмотря на далеко не восторженные мнения, собрание в Колд-Спринг-Харбор убедило меня в том, что в скором времени секвенированию генома человека суждено стать приоритетным международным научным проектом и, когда это произойдет, Национальные институты здравоохранения должны сыграть в нем ведущую роль. Я добился от фонда Джеймса С. Мак-донелла, чтобы организация профинансировала глубокое исследование соответствующих проблем под эгидой Национальной академии наук. Учитывая, что комитет возглавлял Брюс Альбертс из Калифорнийского университета в Сан-Франциско, я не сомневался, что все идеи будут тщательнейшим образом проверяться. Альбертс опубликовал статью, в которой предупреждал, что развитие «большой науки» может поглотить обширный архипелаг разнообразных инновационных наработок, которые поступают из отдельных лабораторий со всего мира, и может задавить уже проводимые исследования. Не зная в точности, что, собственно, мы найдем, я занял место рядом с Уолли Гилбертом, Сиднеем Бреннером и Дэвидом Ботстейном в составе комитета из 15 человек, который в 1987 году в деталях разработал потенциальный геномный проект.



Рождение проекта «Геном человека»: словесная перепалка между Уолли Гилбертом и Дэвидом Ботстейном в лаборатории Колд-Спринг-Харбор, 1986 год

Тогда, на начальном этапе, Гилберт активнее всех продвигал проект «Геном человека». Он правомерно называл его «беспрецедентным инструментом для всестороннего исследования функций человеческого организма». Однако Гилберт уже успел испытать на себе в компании *Biogen* (которую сам и помог основать) действие пьянящей биотехнологической смеси: наука плюс бизнес. Поэтому-то и в проекте «Геном человека» он видел новую экстраординарную возможность для развития бизнеса. По этой же причине, некоторое время потрудившись в комитете, он уступил свое место Мэйнард Олсону из Вашингтонского университета. Он сделал это, чтобы в перспективе избежать любого возможного конфликта интересов. Молекулярная биология уже заявила о себе в большом бизнесе, и Гилберт не видел необходимости обращаться за помощью к общественным организациям. Он считал, что частная компания с достаточно мощной лабораторией для секвенирования справится собственными силами, а затем он собирался продавать генетическую информацию производителям фармацевтики и другим заинтересованным лицам. Весной 1987 года Гилберт объявил о планах основать *Genome Corporation*.

Игнорируя жалобы на то, что теперь информация о геномах может попасть в руки частных лиц и, возможно, помешает использовать эти данные для всеобщего блага, Гилберт попытался привлечь капитал венчурных фондов. К сожалению, против него сработал его же собственный далеко не радужный послужной список на посту гендиректора. Как только он оставил в 1982 году работу в Гарварде и встал у руля *Biogen*, компания разом потеряла 11,6 миллиона долларов в 1983 году и 13 миллионов долларов в 1984 году. В свете происходящих событий Гилберт быстро спрятался за увитые плющом стены, вернувшись в Гарвард в декабре 1984 года, но и после его ухода компания продолжала терять деньги. Едва ли такая история могла стать лакомым кусочком для инвесторов. Однако грандиозные планы Гилберта рухнули по причинам, не связанным с его управленческими просчетами: всему виной оказался крах фондового рынка, случившийся в октябре 1987 года и похоронивший новорожденную под названием *Genome Corporation*.

Гилберта тут обвинить совершенно не в чем, кроме того что он своими идеями опередил свое время. Его план не слишком отличался от проектов Дж. Крейга Вентера и компании *Celera Genomics*, которые были с успехом воплощены через десять лет после того, как *Genome Corporation* оказалась похороненной. За это время дискуссии по поводу частного владения информацией о секвенировании ДНК стали еще острее – ведь проект «Геном человека» уже стал набирать обороты.

План, разработанный нашим академическим комитетом уже без Гилберта, но во главе с Альбертсом, на момент февраля 1988 года казался нам весьма перспективным, проект «Геном человека» выполнялся в более-менее строгом соответствии с нашими рекомендациями. Проведенная нами оценка стоимости и сроков проекта также оказалась весьма близка к реальности. Каждый из нас являлся пользователем потребительской электроники и поэтому знал, что со временем все технологии совершенствуются и удешевляются. Учитывая вышеизложенные обстоятельства, мы рекомендовали отложить основной объем работы по секвенированию ДНК до тех пор, когда технологии не придут к разумному соотношению цена – качество. До наступления этого времени следовало уделить максимум внимания оттачиванию методик секвенирования. Следуя этой логике, мы рекомендовали для начала секвенировать более мелкие геномы простейших организмов. Приобретенные при этом знания были бы ценными как сами по себе (в качестве опорного материала, который можно было бы сравнить с геномом человека), так и в качестве полигона для испытаний наших методов перед тем, как подступиться к главной цели

проекта. Первыми «пробными» кандидатами на определение генома стали представители славной старой гвардии генетики: *Escherichia coli*, мушка дрозофила, пекарские дрожжи, *C. elegans* (червь-нематода, который приобрел популярность благодаря исследованиям Сиднея Бреннера). Мы приняли решение постараться с максимальной точностью картировать геном с использованием физических и генетических технологий. При генетическом картировании определяют относительные позиции генов, положение «контрольных точек» на хромосоме, именно так изначально работали лаборанты, или, как их называли, «мальчики» Томаса Ханта Моргана с хромосомами дрозофил. Генетическое картирование позволяет, например, определить, что ген 2 находится между генами 1 и 3; физическое картирование сообщает, что ген 2 удален на миллион пар оснований от гена 1, а ген 3 расположен на хромосоме еще на 2 миллиона пар оснований дальше. Генетическое картирование позволяет очертить базовую структуру генома; если же секвенаторы «заблудятся» в геноме, то физическое картирование даст им четкие пространственные метки на хромосомах. В таком случае положение на хромосоме в каждом отдельном фрагменте последовательности можно будет определить, ориентируясь на эти метки.

По нашим оценкам, для осуществления всего проекта требовалось около 15 лет работы и 200 миллионов долларов ежегодных вложений. Мы проводили подсчеты разными способами, но каждый раз возвращались к пророческим цифрам Гилберта: один доллар вложений на каждую пару оснований. Рейс космического корабля шаттл обходился в 470 миллионов долларов, а проект «Геном человека» получился в шесть раз дороже.

Пока комитет Академии наук еще размышлял над необходимостью проведения исследований такого рода, я отправился на встречу с ключевыми представителями Верхней и Нижней палат парламента из подкомитетов по вопросам здравоохранения, которые контролируют бюджет Национальных институтов здравоохранения. Джеймс Вингаарден, глава Национальных институтов здравоохранения, по его словам, «с самого начала» симпатизировал проекту «Геном человека», но его менее дальновидные коллеги были против. Озвучив в своем обращении к членам организации цифру 30 миллионов долларов на геномный проект, я подчеркивал, насколько пригодятся в медицине знания о последовательности генов. Законотворцы тоже были людьми, которые так же, как и все остальные, болели и теряли близких людей от генетически детерминированных заболеваний, например от рака, поэтому смогли реально оценить, как знания о последовательности человеческих генов помогут в борьбе с этими недугами. В итоге мы получили 18 миллионов

долларов.

Тем временем Министерство энергетики гарантировало вложение 12 миллионов за свою часть работы – энергетики рассматривали этот проект как технологическое чудо. Тогда, как вы помните, лидером производственных достижений была Япония. Развитие японского автомобилестроения привело к обнищанию Детройта, и многие опасались, что далее Америка «по принципу домино» уступит Японии и в сфере высоких технологий. Ходили слухи, что три гигантских японских техногенных концерна (*Matsui*, *Fuji* и *Seiko*) планируют общими усилиями сконструировать аппарат, позволяющий секвенировать миллион пар оснований в день. Как впоследствии оказалось, тревога была ложной. Но происходящие волнения лишь усилили наш энтузиазм, весьма похожий на подъем, позволивший США опередить СССР в гонке за лунное первенство.

В мае 1988 года Вингаарден предложил мне руководить той частью проекта, за которую ранее отвечали Национальные институты здравоохранения. Когда я попытался уклониться, сказав, что не хочу бросать руководство лабораторией в Колд-Спринг-Харборе, он устроил так, чтобы я занимался работой в Национальных институтах здравоохранения по совместительству. Теперь я уже никак не мог отказаться. Спустя полтора года, когда развитие проекта «Геном человека» приобрело необратимый характер, геномный отдел Национальных институтов здравоохранения был преобразован в Национальный центр по изучению генома человека; я был назначен его первым директором.

Моими основными задачами как директора стали «выбивание» денег у Конгресса и контроль их разумного использования. Для меня было важным, чтобы бюджет проекта «Геном человека» существовал отдельно от общего бюджета Национальных институтов здравоохранения. Также был принципиален вопрос о том, чтобы «Геном человека» не ставил под удар прочие научные разработки. Чего бы стоили все успехи нашего мегапроекта, если бы они были достигнуты ценой закрытия разработок наших коллег? В то же время я чувствовал, что мы, ученые, взявшиеся за такое беспрецедентное предприятие планетарного масштаба, должны каким-то образом обозначить, что понимаем всю его глубину и степень своей ответственности. Проект «Геном человека» – это не просто масштабная инвентаризация А, Т, Г и Ц: я чувствовал, что он ценен как сокровищница знаний, которые рано или поздно окажутся в распоряжении человечества и позволят ответить на фундаментальные философские вопросы и о природе человека, и о смысле добра и зла. Я принял решение, что 3 % нашего бюджета – часть, конечно, небольшая, но сумма весьма

солидная – должны пойти на исследование этических, юридических и социальных аспектов проекта «Геном человека». Позже, по настоянию Альберта Гора, который тогда был сенатором, эту долю увеличили до 5 %.

Проект инициировал технологии и механизмы международного сотрудничества. В США мы руководили основными направлениями в проекте и взяли на себя выполнение половины всей запланированной работы. Остальная часть проекта была реализована преимущественно в Великобритании, Франции, Германии и Японии. Вопреки сложившимся традициям в генетике и молекулярной биологии, Совет по медицинским исследованиям Великобритании принимал незначительное участие в данном проекте. Как и вся британская наука, Совет страдал от недальновидной политики Маргарет Тэтчер, скудно финансировавшей такие проекты. К счастью, на помощь пришла *Wellcome Trust*, частная благотворительная медицинская организация. В 1992 году близ Кембриджа был выстроен специальный научный комплекс для проведения секвенирования – Сенгеровский центр, названный, как вы догадались, в честь Фреда Сенгера. Руководя международным проектом, я старался распределять исследование различных частей генома между представителями разных наций. Я рассудил, что каждая страна будет заниматься конкретным участком работы – скажем, секвенировать определенное плечо хромосомы, а не трудиться над случайным набором безымянных клонов. Например, японцы занимались в основном 21-й хромосомой. К сожалению, работали мы в спешке, и наши стройные порядки смешались. Оказалось, не так просто наложить карту генома на карту мира.

С самого начала я был убежден, что проект «Геном человека» невозможно реализовать в рамках объединения огромного количества мелких лабораторий. Логистика безнадежно бы в них запуталась, и мы бы лишились всех преимуществ такого размаха и автоматизации, который предполагала цельность проекта. Поэтому с самого начала мы организовали центры по картированию генома в Вашингтонском университете Сент-Луиса, в Стэнфорде, в Калифорнийском университете Сан-Франциско, в Мичиганском университете (город Анн-Арбор), а также в Бэйлорском медицинском колледже в Хьюстоне. Министерство энергетики сначала сконцентрировало свои разработки в собственных лабораториях, расположенных в Лос-Аламосе и Ливерморе, но постепенно все они были передислоцированы в Уолнат-Крик, штат Калифорния.

Следующим пунктом «повестки дня» разработчиков проекта стала разработка альтернативных технологий секвенирования, призванных

снизить общую стоимость работ до пятидесяти центов на каждую пару оснований, то есть примерно в половину от запланированной стоимости. Были запущены несколько пилотных проектов. По иронии судьбы, тот метод, который в итоге себя оправдал, – автоматизированное секвенирование с применением флуоресцентных красок – на первом этапе у нас не заладился. Задним числом могу сказать, что пилотную стадию такой машинной обработки следовало доверить Крейгу Вентеру, штатному исследователю из Национальных институтов здравоохранения, который уже доказал, что способен выжать из любой методики максимум пользы. Он сам вызвался заняться решением этой задачи, но мы предпочли кандидатуру Ли Худа, автора этой самой технологии. Позднее мы еще не раз пожалели, что отказали Вентеру.

В конце концов, проект «Геном человека» не требовал разрабатывать с нуля совершенно новые методы анализа ДНК; речь шла, скорее, об оптимизации и автоматизации уже имеющихся методов, что постепенно позволило секвенировать пары оснований сначала сотнями, затем тысячами, а потом миллионами. Ключевую роль в проекте сыграл революционный метод генерации нужных сегментов ДНК в огромных количествах – метод амплификации. Для проведения секвенирования нужно было иметь много экземпляров того гена, который мы собирались изучать. До середины 1980-х годов амплификацию того или иного участка ДНК можно было выполнить лишь молекулярным клонированием по методу Коэна – Бойера: вырезали нужный сегмент, внедряли его в кольцевую плазмиду, затем видоизмененную плазмиду вставляли в бактериальную клетку, которая затем делилась, и при каждом делении у нас появлялся новый экземпляр нужного сегмента ДНК. После того как бактерии размножатся, мы вычленили нужный сегмент из общей массы ДНК в бактериальной культуре. Со времени первых экспериментов Коэна и Бойера эта процедура была доработана, но все равно оставалась неудобной и затратной по времени. Огромным скачком вперед стало изобретение полимеразной цепной реакции (ПЦР), которая позволяла выполнить селективную амплификацию нужного фрагмента ДНК всего за пару часов, вообще без всякой возни с бактериями.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) была изобретена в 1983 году биохимиком Кэри Муллисом, работавшим в компании *Cetus*. Открытие этой реакции было весьма примечательным. Позже Муллис вспоминал: «Однажды пятничным вечером в апреле 1983 года меня словно озарило. Я был за рулем, катил по залитой лунным светом извилистой горной дороге в Северную Калифорнию, край секвойных лесов». Впечатляет, что именно в

такой ситуации его посетило вдохновение. И дело совсем не в том, что на севере Калифорнии особенные дороги, способствующие озарению; просто его друг однажды видел, как Муллис безрассудно мчался по обледенелой дороге с двусторонним движением и это его совершенно не смущало. Друг рассказал *New York Times* следующее: «Муллису привиделось, что он погибнет, врезавшись в секвойю. Поэтому он ничего не боится за рулем, если вдоль дороги не растут секвойи». Наличие секвой вдоль дороги заставляло Муллиса сосредоточиться и... вот оно, озарение. За свое изобретение в 1993 году Муллис получил Нобелевскую премию по химии и с тех пор стал еще более странным в своих поступках. Например он является сторонником ревизионистской теории о том, что СПИД не связан с ВИЧ, чем значительно подорвал собственную репутацию и помешал врачам.

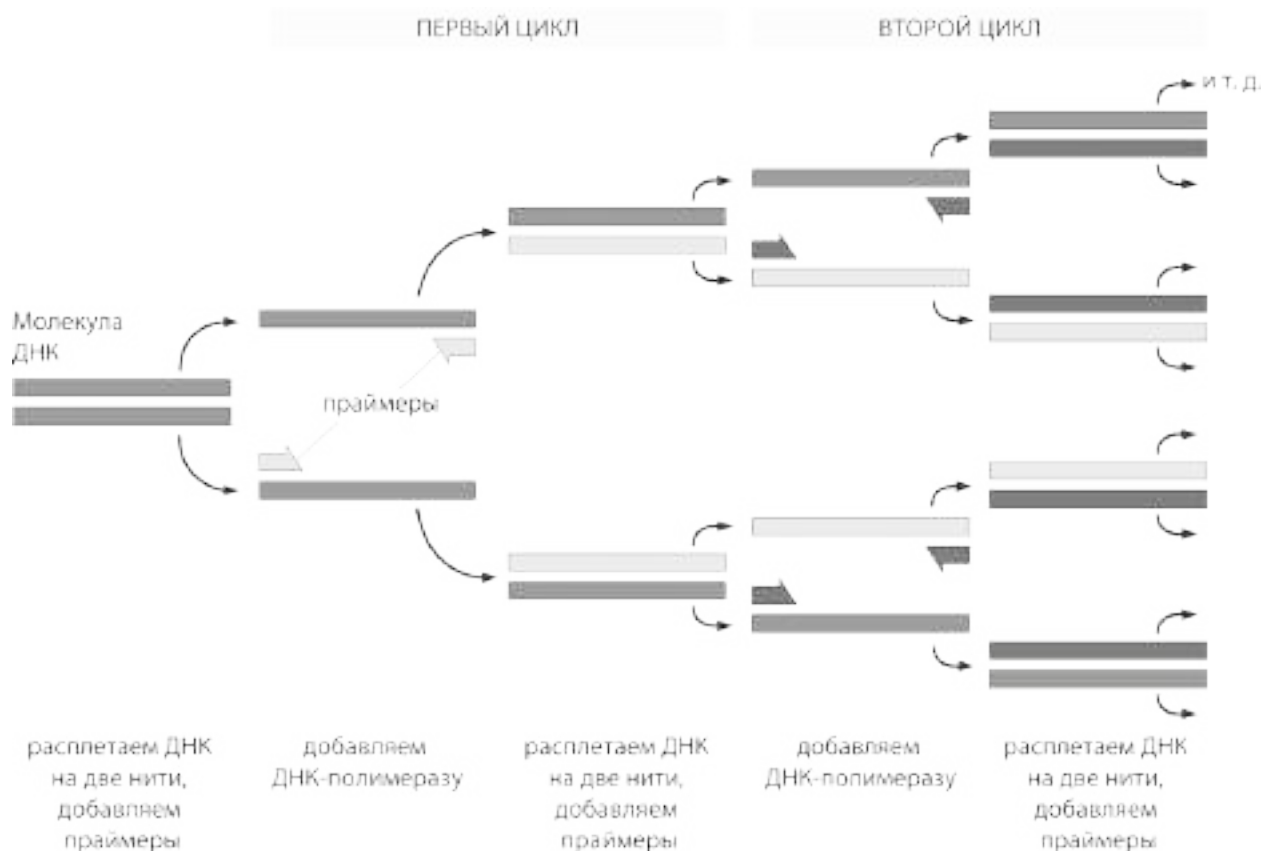
ПЦР – довольно простая реакция. Для ее проведения нам требуется два химически синтезированных праймера, комплементарные противоположным концам разных цепей требуемого фрагмента ДНК. Праймеры – это короткие участки однонитчатой ДНК, каждый примерно по 20 пар оснований в длину. Особенность праймеров такова, что они соответствуют участкам ДНК, которые требуется амплифицировать, то есть ДНК-матрице.



Кэри Муллис, изобретатель ПЦР

Специфичность ПЦР основана на образовании комплементарных комплексов между матрицей и праймерами, короткими синтетическими олигонуклеотидами. Каждый из праймеров комплементарен одной из цепей двуцепочечной матрицы и ограничивает начало и конец амплифицируемого участка. Фактически полученная «матрица» представляет собой цельный геном, и наша цель – выделить из нее интересующие нас фрагменты. Для этого двухцепочечную ДНК-матрицу нагревают до 95 °С на несколько минут, чтобы цепи ДНК разошлись. Эта стадия называется денатурацией, так как разрушаются водородные связи между двумя цепями ДНК. Когда цепи разошлись, температуру понижают, чтобы праймеры могли связаться с одноцепочечной матрицей. ДНК-полимераза начинает репликацию ДНК, связываясь с отрезком цепи нуклеотидов. Фермент ДНК-полимераза реплицирует матричную цепь, используя праймер в качестве затравки или примера для копирования. В результате первого цикла получаем

многократное последовательное удвоение определенного участка ДНК. Далее мы повторяем эту процедуру. После каждого цикла получаем участок-мишень в двойном количестве. Спустя двадцать пять циклов ПЦР (то есть менее чем через два часа) имеем интересующий нас участок ДНК в количестве, в 2^{25} раза превышающем исходное (то есть мы амплифицировали его примерно в 34 миллиона раз). Фактически на входе у нас получалась смесь из праймеров, матричной ДНК, фермента ДНК-полимеразы и свободных оснований А, Ц, Г и Т, количество специфического продукта реакции (ограниченного праймерами) растет экспоненциально, а количество «длинных» копий ДНК линейно, поэтому в продуктах реакции доминирует.



Амплификация нужного участка ДНК: полимеразная цепная реакция

На заре использования ПЦР основная проблема заключалась в следующем: после каждого цикла нагревания-охлаждения приходилось добавлять в реакционную смесь ДНК-полимеразу, так как она инактивировалась при температуре 95 °С. Поэтому нужно было заново добавлять ее перед каждым из 25 циклов. Процедура проведения реакции

была сравнительно неэффективной, требовала много времени и фермента полимеразы, а материал это весьма недешевый. К счастью, на помощь пришла матушка-природа. Многие животные чувствуют себя комфортно при температуре гораздо выше 37 °С. А почему для нас стала важной цифра 37 °С? Это произошло потому, что данная температура является оптимальной для *E. coli*, из которой исходно получали фермент полимеразу для ПЦР. В природе встречаются микроорганизмы, чьи белки за миллионы лет естественного отбора стали более устойчивыми к действию высоких температур. Было предложено использовать ДНК-полимеразы из термофильных бактерий. Эти ферменты оказались термостабильными и были способны выдерживать множество циклов реакции. Их использование позволило упростить и автоматизировать проведение ПЦР. Одна из первых термостабильных ДНК-полимераз была выделена из бактерии *Thermus aquaticus*, обитающей в горячих источниках Йеллоустонского национального парка, и названа Таq-полимеразой.

ПЦР быстро превратилась в главную рабочую лошадку проекта «Геном человека». В общем, процесс не отличается от разработанного Муллисом, просто он был автоматизирован. Мы больше не зависели от толпы подслеповатых аспирантов, кропотливо переливающих капельки жидкости в пластиковые пробирки. В современных лабораториях, осуществляющих молекулярно-генетические исследования, эта работа выполняется на роботизированных конвейерах. ПЦР-роботы, занятые в столь масштабном проекте по секвенированию, как «Геном человека», неумолимо трудятся с огромными объемами термостойкой полимеразы. Некоторые ученые, работающие в проекте «Геном человека», были возмущены неоправданно высокими отчислениями, которые добавляет к стоимости расходных материалов владелец патента на ПЦР, европейский индустриально-фармацевтический гигант *Hoffmann-LaRoche*.

Другим «движущим началом» стал сам метод секвенирования ДНК. Химическая основа этого метода в то время уже не была новинкой: Межгосударственный проект «Геном человека» (HGP) взял на вооружение тот же самый хитроумный метод, что еще в середине 1970-х годов разработал Фред Сенгер. Инновация же заключалась в масштабе и степени автоматизации, которых удалось достичь при секвенировании.

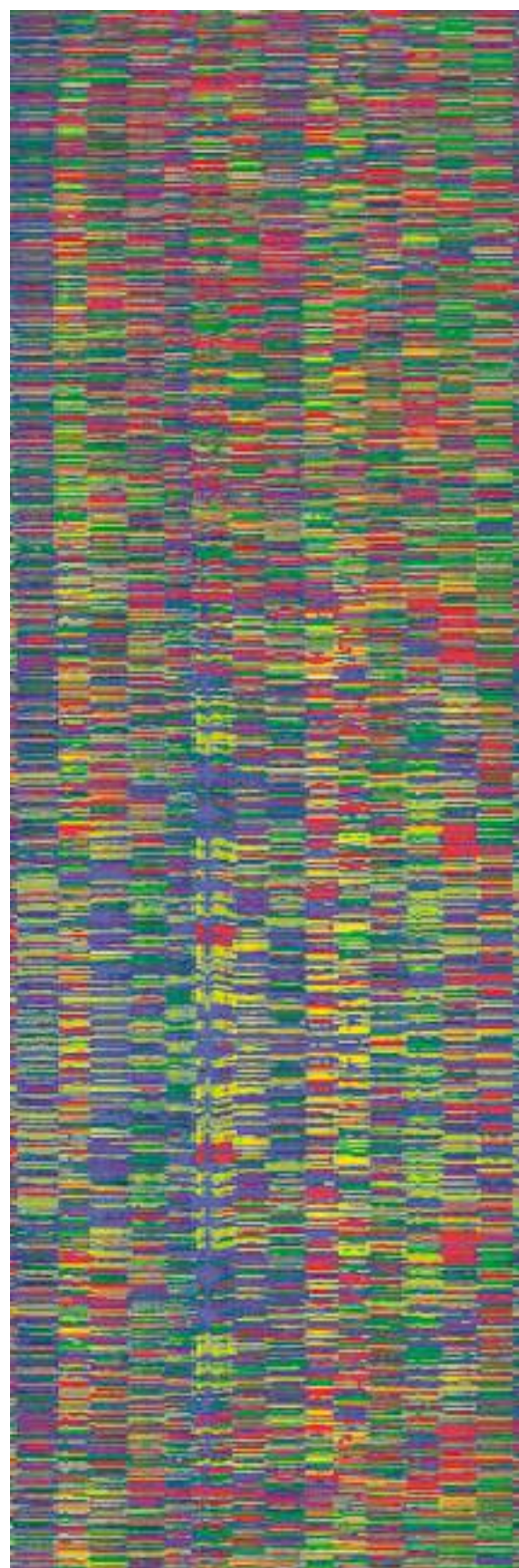
Автоматическое секвенирование исходно разрабатывалось в лаборатории Ли Худа в Калифорнийском технологическом институте. Он заканчивал школу в штате Монтана и играл в американский футбол на позиции нападающего; благодаря Худу команда не раз выигрывала чемпионат штата. Навыки командного взаимодействия пригодились ему и в

научной карьере. В лаборатории Худа трудилась пестрая компания химиков, биологов и инженеров, и вскоре его лаборатория вышла в лидеры по части технологических инноваций.

Фактически метод автоматического секвенирования изобрели Ллойд Смит и Майк Хункапиллер. Майк Хункапиллер, который тогда работал в лаборатории Худа, обратился к Ллойд Смит, предложив ему усовершенствованный метод секвенирования, в котором основания каждого типа окрашивались бы каждый в свой цвет. Такая идея могла в четыре раза повысить эффективность сенгеровского процесса. У Сенгера при секвенировании в каждой из четырех пробирок (по числу оснований) при участии ДНК-полимеразы образуется уникальный набор олигонуклеотидов разной длины, включающих праймерную последовательность. Далее в пробирки добавляли формамид для расхождения цепей и проводили электрофорез в полиакриламидном геле на четырех дорожках. В варианте Смита и Хункапиллера дидезоксинуклеотиды метят четырьмя разными красителями и проводят ПЦР в одной пробирке. Затем во время электрофореза в полиакриламидном геле луч лазера в определенном месте геля возбуждает активность красителей, и детектор определяет, какой нуклеотид в настоящий момент мигрирует через гель. Сначала Смит был настроен пессимистично – он опасался, что использование сверхмалых доз красителя приведет к тому, что нуклеотидные участки будут неразличимы. Однако, превосходно разбираясь в лазерных технологиях, он вскоре нашел выход из положения, используя специальные флюорохромные красители, которые флуоресцируют под действием лазерного излучения.

В классическом варианте метода Сэнгера одна из цепочек анализируемой ДНК выступает в качестве матрицы для синтеза комплементарной цепочки ферментом ДНК-полимеразой, затем последовательность фрагментов ДНК сортируется в геле по размеру. Каждый фрагмент, который включается в состав ДНК во время синтеза и позволяет впоследствии визуализировать продукты реакции, помечается флуоресцентным красителем, соответствующим терминальному основанию (об этом говорилось на с. 124); следовательно, флюоресценция этого фрагмента будет идентификатором для данного основания. Затем остается лишь провести детекцию и визуализировать продукты реакции. Результаты анализируют с помощью компьютера и представляют в виде последовательности разноцветных пиков, соответствует одно из четырех нуклеотидам. Далее информация передается непосредственно в информационную систему компьютера, что исключает затратный по

времени и порой мучительный процесс ввода данных, который весьма усложнял секвенирование.



Мелким шрифтом: последовательность ДНК, расшифрованная с использованием автоматического секвенатора, полученная из аппарата для автоматического секвенирования. Каждому цвету соответствующих четырем оснований.

Майк Хункапиллер покинул лабораторию Худа в 1983 году и поступил на работу в недавно образованную приборостроительную компанию *Applied Biosystems Inc.*, известную под названием ABI. Именно ABI произвела первый коммерческий аппарат для секвенирования по методу Смита – Хункапиллера. По мере того как проект «Геном человека» набирал обороты, резко повысилась эффективность всего процесса секвенирования: от неудобных и вязких гелей было решено отказаться, реакционную смесь стали разделять методом капиллярного электрофореза в растворе, обладающем высокой пропускной способностью, фрагменты ДНК, выходящие из капиллярной колонки, регистрируются детектором флуоресценции. В сравнительном аспекте секвенаторы ABI отличались высокой скоростью; они работали примерно в тысячу раз быстрее сенгеровского прототипа. При минимальном участии человека (примерно пятнадцать минут работы на каждые 24 часа) эти машины успевали отсеквенировать примерно полмиллиона пар оснований в день. Автоматизация значительно ускорила процесс секвенирования и позволила осуществить секвенирование целых геномов, включая геном человека, что и позволило реализовать проект «Геном человека».

На первых этапах проекта «Геном человека» была оптимизирована технология секвенирования ДНК, следующей стала стадия картирования генома. Наша главная цель заключалась в приблизительной оценке всего генома, чтобы всем стало понятно, где именно локализуется каждый участок концевой последовательности ДНК. Геном предстояло разделить на удобоваримые фрагменты, которые затем предстояло картировать. Изначально мы решали эту задачу на материале искусственных хромосом дрожжей (YAC). Этот метод разработал Мэйнард Олсон, внедрявший большие фрагменты человеческой ДНК в клетки дрожжей. После имплантации YAC реплицировались вместе с обычными хромосомами дрожжей. Но при попытке загрузить миллион пар оснований из человеческой ДНК в одну хромосому дрожжей мы столкнулись с методологическими проблемами. Оказалось, что хромосомные сегменты перемешиваются, а поскольку суть картирования – это определение последовательности генов в хромосоме, подобное перемешивание – самое худшее, что могло бы произойти. Вот почему нам так пригодились

искусственные бактериальные хромосомы (ВАС), разработанные Питером де Йонгом в Буффало, представляющие векторные системы на основе F-плазмиды *E. coli*. Они мельче, длиной всего по 100 000–200 000 пар оснований, и гораздо менее подвержены перемешиванию. Короткий фрагмент ДНК исследуемого организма вставляется в хромосому, а затем амплифицируется и секвенируется. После этого прочитанные последовательности выравниваются *in silico*, в результате чего получается полная последовательность генома организма.



Команда, составившая костяк французского геномного проекта: Жан Вессанбаш – третий слева, а Дэниэл Коэн стоит справа. Рядом с Коэном – нобелевский лауреат Жан Доссе, иммунолог-провидец, инициировавший эти работы

Для тех групп, которые взялись за «прицельное» картирование человеческого генома, – это были ученые из Бостона, Айовы, Юты и Франции – на первых и, безусловно, важнейших этапах требовалось найти генетические маркеры, те места, где одни и те же фрагменты ДНК, взятые у двух различных особей, отличались на одну или более пар оснований. Такие различающиеся сайты послужили бы ориентирами и помогли

скоординировать работу над геномом. Вскоре французской группе под руководством Дэниэла Козна и Жана Вессанбаша в *Genethon*, институте геномных исследований (по объему выполняемых исследований этот институт больше напоминал фабрику) при финансировании Французской ассоциации по борьбе с мышечной дистрофией, удалось построить пробные карты генома. Подобно благотворительной медицинской организации *Wellcome Trust*, расположенной через Ла-Манш, французская благотворительная организация по борьбе с мышечной дистрофией частично компенсировала недостаточную финансовую поддержку государства.

Когда на последнем этапе потребовалось подробное физическое картирование с использованием векторных систем, основанных на искусственных хромосомах бактерий – ВАС (bacterial artificial chromosome), решением этой задачи занималась группа Джона Макферсона из Вашингтонского университета в Сент-Луисе.

По мере того как проект «Геном человека» набирал обороты, продолжались дискуссии о том, каким образом его лучше всего реализовывать дальше. Некоторые ученые указывали, что значительная часть генома человека состоит из так называемой мусорной ДНК – участков, которые, по-видимому, ничего не кодируют. Действительно, на гены, или участки, которые кодируют белки, приходится лишь небольшая часть всей двойной спирали. Почему же тогда, спрашивали критики, мы должны секвенировать весь геном, зачем возиться с этим мусором? В научном мире существовал и другой подход, позволяющий «дешево и сердито» картировать кодирующие гены в геноме с использованием фермента обратной транскриптазы, катализирующей синтез ДНК на матрице РНК в процессе, называемом обратной транскрипцией. Эта технология описана нами в главе 5. Очищаем образец мРНК (кодирующую соответствующий генный продукт: белок, РНК) и проводим с ней в качестве матрицы обратную транскрипцию транспортной РНК из ткани любого типа: так, например, если образец взят из тканей или клеток мозга, мы получим образец РНК со всеми генами, которые экспрессируются в мозге. Затем при помощи обратной транскриптазы делаем копии ДНК (так называемой комплементарной ДНК) этих генов и эту ДНК потом можем секвенировать.

Однако такой подход – «дешево и сердито» – это не всегда способ решения проблемы в целом. Как мы уже знаем (и позже об этом еще поговорим), многие интереснейшие фрагменты генома лежат за пределами генов и образуют управляющие механизмы, которые включают и

выключают гены. Например, в только что описанном случае с анализом кДНК из мозговой ткани мы получим обзор генов, включающихся в мозг, но не поймем, как именно они включаются: крайне важные регуляторные области ДНК не транскрибируются в РНК ферментом РНК-полимеразой, копирующим участок ДНК в транспортную РНК.

Сидней Бреннер, работавший в относительно скудно финансируемом Совете по медицинским исследованиям (MRC) в Великобритании, первым применил метод с использованием комплементарной ДНК (кДНК) для обнаружения и клонирования генов эукариот в прокариотных генах. кДНК – это ДНК, синтезированная на матрице зрелой мРНК в реакции, катализируемой обратной транскриптазой. Располагая ограниченным бюджетом на исследования, он выяснил, что секвенирование кДНК – наиболее экономически эффективный вариант расходования имевшейся у него суммы. Совет по медицинским исследованиям, решивший извлечь коммерческую выгоду из отсекуенных последовательностей, запретил Бреннеру публикацию этой информации, пока британские фармацевтические компании не смогли воспользоваться ею для собственного обогащения.

Крейг Вентер, наведавшись в лабораторию к Сиднею Бреннеру, был впечатлен столь искусной стратегией с применением кДНК. Он не мог дождаться, когда наконец сможет вернуться в свою лабораторию Национальных институтов здравоохранения близ Вашингтона, округ Колумбия; там он одним из первых с энтузиазмом продвигал технологии автоматизированного секвенирования ДНК. Поэтому он решил сам опробовать метод Бреннера и создать коллекцию новых генов. Отсекуенировав даже небольшую часть каждого из них, Вентер смог определить наличие новых, еще не описанных генов. В июне 1991 года он опубликовал в журнале *Science* эпохальную статью, в которой рассказал, что ему предположительно удалось идентифицировать 337 новых генов, основываясь на их сходстве с известными генами из баз данных ДНК. Тогда Вентер впервые оказался в «огнях рампы» на сцене геномики и с тех пор уже никогда ее не покидал. Официальный представитель Национальных институтов здравоохранения убеждал его подать патенты на эти новые гены, хотя механизм их действия Вентеру был неизвестен. Через год, применив технику кДНК на большом объеме материала, Вентер добавил в список еще 2421 последовательность и вот теперь уже отправил свои результаты в патентное бюро.

Я считаю, что сама мысль вслепую патентовать последовательности, даже не зная, как они работают, «не лезет ни в какие ворота». Всегда

хочется задать вопрос: что именно ты защищаешь? Поступок Вентера можно расценивать как заблаговременную финансовую претензию на подлинно бессмысленное открытие, которое, возможно, уже успел сделать кто-нибудь еще. Я поделился моими опасениями с ведущими специалистами Национальных институтов здравоохранения, но безрезультатно. При этом упорное стремление агентства потворствовать такой практике – позднее организация от такой политики отказалась – означало, что моя карьера бюрократа на государственной службе постепенно подходит к концу. Я испытывал смешанные чувства, когда Бернадин Хили, глава Национальных институтов здравоохранения, в 1992 году вынудила меня уволиться. Четырех лет в вашингтонском душном пекле бюрократии мне хватило надолго. Однако важнее всего для меня было то, что к моменту моего ухода проект «Геном человека» уже давно набрал крейсерскую скорость.

Тяга Вентера к коммерческим перспективам патентования генома по частям лишь подогрела его аппетит. Однако Вентер хотел усидеть на двух стульях одновременно: остаться членом академического сообщества, где можно было свободно обмениваться информацией, а зарплаты были невысоки, и закрепиться в сфере бизнеса, где открытия можно было скрывать до выправления патента, а уже патент затем – монетизировать. Заручившись помощью своего замечательного патрона, венчурного капиталиста Уоллеса Стейнберга (изобретателя зубной щетки Reach), Крейг Вентер воплотил свою мечту в 1992 году. Стейнберг выделил 70 миллионов долларов на обустройство не одной, а целых двух организаций: некоммерческого Института генетических исследований (*The Institute for Genomic Research*, TIGR), возглавить который предстояло Вентеру, а также дочерней компании *Human Genome Sciences* – ею должен был руководить молекулярный биолог Уильям Хэлтайн, обладавший деловой хваткой. Предполагалось, что система будет работать так: исследовательский центр расположится в *Institute for Genomic Research* – там будут проводиться большинство исследований по идентификации генов, поточное производство последовательностей кДНК, а *Human Genome Sciences* останется бизнес-подразделением, которое станет систематизировать данные, полученные в TIGR, в течение полугода и лишь затем их публиковать. Исключение составляли открытия, которые потенциально могли бы стать основой для разработки новых лекарственных средств, – в таком случае HGS получала на рассмотрение таких данных целый год.

DEFLATION IN JAPAN STRATEGIES: BELLSOUTH, COMPAQ

BusinessWeek

MAY 8, 1995

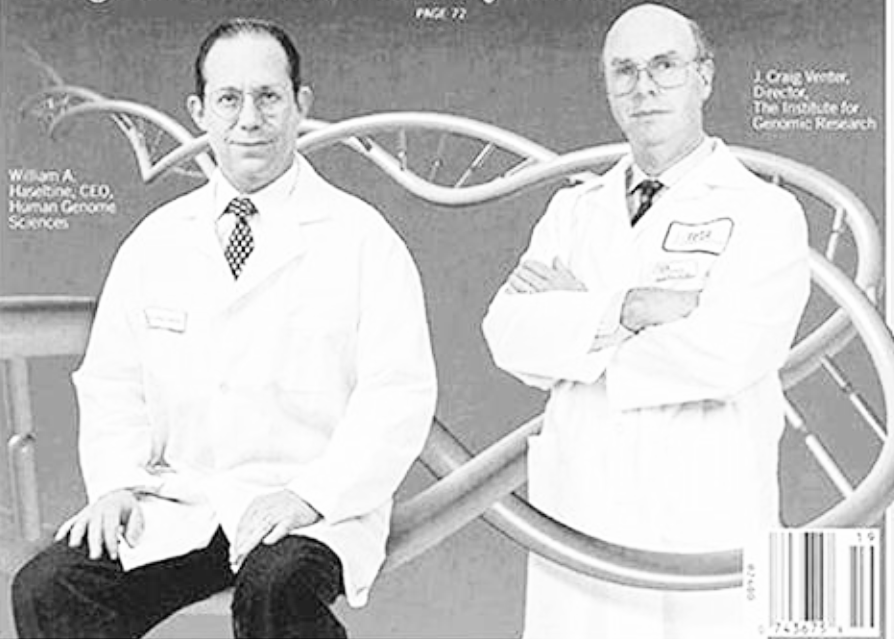
A PUBLICATION OF THE MCGRAW HILL COMPANIES

\$2.75

THE GENE KINGS

Two men have laid claim to a potential gold mine of genetic codes. Will they be able to cash in?

PAGE 72



Проект «Геном человека» становится коммерческим: Уильям Хэзлтайн и Крейг Вентер

Вентер вырос в Калифорнии, с юных лет отличался темпераментным индивидуализмом, увлекался морскими видами спорта: серфингом и судоплаванием, хотел заниматься виндсерфингом, а не получать высшее образование. Однако ему довелось прослужить медбратом во Вьетнаме целый год. Столкнувшись с ранеными и умирающими военнослужащими, он окончательно решил посвятить свою жизнь

медицине и спасению человеческих жизней, что для него должно было закончиться обучением. Вернувшись в США, он вскоре получил высшее образование и степень PhD по физиологии и фармакологии в Калифорнийском университете, Сан-Диего. Его переход из академической сферы в бизнес казался оправданным с финансовой точки зрения: Вентер признавался, что к моменту основания TIGR у него было всего две тысячи долларов на банковском счете. Но он смог быстро приумножить свое состояние: в начале 1993 года британская фармацевтическая компания *Smith Kline Beecham*, стремившаяся «застолбить себе участок» во время геномной золотой лихорадки, заплатила 125 миллионов долларов за исключительные коммерческие права на постоянно пополнявшийся вентеровский список новых генов. Год спустя газета *New York Times* написала, что 10 % акций *The Institute for Genomic Research*, принадлежавшие Вентеру, оцениваются в 13,4 миллиона долларов. Он с готовностью их тратил, выложив четыре миллиона за двадцатипятиметровую гоночную яхту, парус-спинакер которой украсил собственным портретом.

В 1970-е годы Уильям Хэзелтайн был гарвардским аспирантом, учился у меня и у Уолли Гилберта. Затем он руководил инновационным центром по исследованию ВИЧ в медицинской школе Института онкологии Дейни – Фарбера. В 1980 году благодаря браку с Гейл Хейман (миллиардершей, соосновательницей парфюмерной марки *Giorgio Beverly Hills*, статусного аксессуара 1980-х годов) Уильям Хэзелтайн стал публичной персоной и смог рассчитывать на гораздо более серьезные суммы, чем те две тысячи долларов на счете, которыми располагал на момент основания HGS. Еще до того как Хэзелтайн ушел в большой бизнес, его роскошный образ жизни дал почву для подколов со стороны коллег из лаборатории Гарвардской медицинской школы: «Чем Господь отличается от Билла Хэзелтайна? Господь повсюду, и Хэзелтайн – повсюду, увы, кроме Бостона, где ему положено быть по долгу службы».

Для воплощения стремления Вентера и Хэзелтайна запатентовать все без исключения гены, которые им удалось бы найти при помощи секвенирования кДНК, практически не требовалось ни сноровки, ни изобретательности. Только механически увеличиваемый объем проводимых исследований – метод, безусловно, эффективный. Однако *The Institute for Genomic Research* и *Human Genome Sciences* повели себя просто как два ребенка на детской площадке, каждый из которых забрал себе все игрушки и не хотел ими поделиться с остальными детьми. В 1995 году HGS подала патент на ген под названием *CCR5*. Предварительный анализ

последовательностей, проведенный HGS, показывал, что этот ген кодирует белок, относящийся к иммунной системе и расположенный на поверхности клеток-эффекторов иммунитета: лимфоцитов, макрофагов. Соответственно, такой белок стоило «приватизировать», поскольку такого рода белки потенциально могли послужить мишенями для лекарств, воздействующих на иммунную систему. Патент на *CCR5* входил в единый пакет со 140 другими патентами на аналогичные гены, которые также подала HGS. Однако в 1996 году исследователи выявили роль *CCR5* в биохимическом пути, по которому ВИЧ (вирус, вызывающий СПИД) проникает в Т-клетки иммунной системы, а именно хелперную популяцию лимфоцитов. Также было обнаружено, что мутации в гене *CCR5* связаны с устойчивостью к ВИЧ. Выяснилось, что некоторые гомосексуальные мужчины – имевшие мутантный ген *CCR5* – не заболевали СПИДом, несмотря на многократный контакт с вирусом. Поэтому ген *CCR5* сразу превратился в ключевую мишень в терапевтической борьбе против ВИЧ. При этом HGS, не вложившая ни капли труда, никаких научных разработок в определение ключевой роли *CCR5* в борьбе с ВИЧ-инфекцией, изрядно на нем обогатилась, просто потому, что первая добралась до этого гена, обложила «налогом» любые попытки применить эти новые знания на пользу человечеству. Хэзелтайн повел себя эгоистично («Если кто-либо использует ген в программе поиска новых препаратов после того, как ген запатентован, и делает это в коммерческих целях... то нарушает патент») и порой даже возмутительно («...Мы имеем право не только на агрессию, но и на асимметричную агрессию... при попытках нарушить патент»).

Такое спекулятивное патентование генов затормозило медицинские научные исследования и разработки, в долгосрочной перспективе сократив число терапевтических средств и снизив их качество. Фактически при этом патентовались потенциальные мишени для препаратов – белки, на которые эти препараты могли бы воздействовать, причем даже тогда, когда эти препараты еще не были даже изобретены. Для большинства крупных фармацевтических фирм работа с запатентованными генами, которые потенциально могли служить мишенями для фармацевтических препаратов, превратилась, образно выражаясь, в «отравленные пилули». Крупные проценты за использование патентов, взимаемые монополиями, занятыми поиском генов, склоняли экономический баланс не в пользу разработки лекарств: клонировать мишень препарата – это не более одного процента работы на пути к получению и синтезу лекарственного средства. Более того, если компания создала препарат с запатентованной мишенью, у нее теряется стимул к дальнейшему совершенствованию этого препарата. У

фармацевтических компаний на тот период времени возникал вполне резонный вопрос: зачем тратить время и деньги на усовершенствование препарата, если ваш патент отсекает любых потенциальных конкурентов, позволяя сделать такую разработку запредельно дорогой либо вообще незаконной?

Перспектива такого развития событий, при котором триумвират TIGR/HGS/Smith Kline Beecham захватит всю коммерческую сферу секвенирования человеческого генома, тревожила как научное, так и коммерческое сообщество молекулярных биологов. В 1994 году компания Merck, один из традиционных крупных соперников Smith Kline Beecham на фармацевтическом рынке, перечислила центру геномики Вашингтонского университета в Сент-Луисе 10 миллионов долларов на секвенирование человеческой кДНК и публикацию результатов в открытом доступе, тем самым парировав выпад HGS.

Примерно в тот же период, когда TIGR и HGS делали первые шаги в деле коммерциализации генома, руководителем программы геномных исследований в Национальных институтах здравоохранения вместо меня назначили Френсиса Коллинза. Коллинз отлично подходил на этот пост. Он зарекомендовал себя первоклассным «охотником за генами», уже успев открыть несколько важных генов, вызывавших тяжелые болезни (в том числе гены муковисцидоза, нейрофиброматоза (так называемой болезни человека-слона), а также – в рамках коллективного проекта – генов болезни Хантингтона). Если бы на ранних этапах реализации проекта «Геном человека» вручались призы – за победу при картировании и описании важных генов, то пальма первенства, безусловно, досталась бы Коллинзу. Сам он вел счет своих побед весьма необычным способом. Каждое новое картирование гена заканчивалось наклейкой на его мотошлеме переводной картинкой (Коллинз был большим любителем мотоциклов и сам владел мотоциклом «Хонда Найтхок»). Френсис Коллинз вырос в штате Виргиния в долине Шенандоа на ферме. Это была ферма без водопровода, она занимала девяносто пять акров. Сначала Коллинз получал домашнее образование: его учили родители – отец, профессор драматургии, и мама, автор пьес. В возрасте семи лет он и сам написал сценарий по сказке «Волшебник страны Оз» и осуществил домашнюю постановку. Однако злая ведьма от науки не дала Коллинзу сделать театральную карьеру: получив степень PhD по физической химии в Йельском университете, он отправился в медицинскую школу, закончив которую сделал карьеру в медицинской генетике. Коллинз – представитель редкой породы глубоко религиозных ученых. Он вспоминал, что в колледже был «совершенно

беспардонным атеистом», но все изменилось в медицинской школе: «я видел людей с тяжелыми недугами, постоянно боровшихся за жизнь; многие терпели поражение. Я видел, как некоторые люди поддерживают себя верой, какую силу она им дает». Придя в проект «Геном человека», Коллинз принес научное мастерство, а также духовность, которая совершенно отсутствовала у его предшественников.

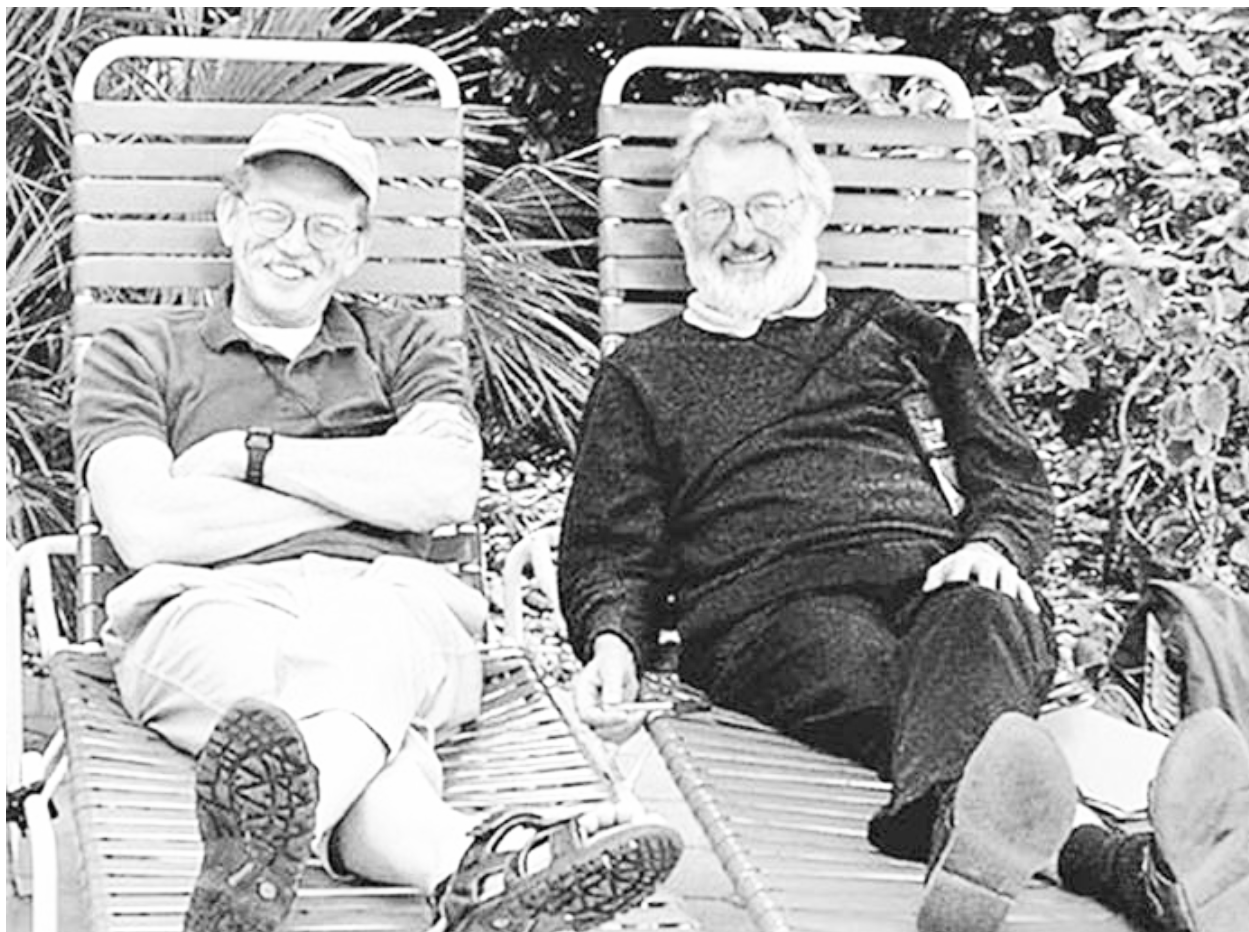
К середине 1990-х годов, когда было выполнено первичное картирование человеческого генома, а технологии секвенирования быстро развивались, пришло время заглянуть в самую суть взаимодействий А, Ц, Г и Т – приступить к этапу секвенирования. Придерживаясь плана, в самом начале обозначенного комитетом Национальной академии наук, мы первым делом подступились к «тренировочным» организмам – для начала к бактериям, а затем и к более высокоорганизованным существам с более сложными геномами. Примитивный червь-нематода, *C. elegans*, был первым серьезным небактериальным «пациентом», и секвенирование его генома стало блестящим совместным достижением Джона Салстона из британского Сенгеровского центра и Боба Уотерсона из Вашингтонского университета; это был великолепный образчик международного сотрудничества. Последовательность генома червя была опубликована в декабре 1998 года – все 97 миллионов пар оснований. Такой червь не крупнее запятой на этой странице и состоит из фиксированного числа клеток (959)^[13]; тем не менее у него примерно 20 тысяч генов.

Сначала казалось, что Джон Салстон плохо подходит на роль руководителя крупного научного проекта. Большую часть профессиональной карьеры он провел, уставившись в микроскоп, чтобы подробнейшим образом, во всех деталях, описать развитие червя – клетка за клеткой. Салстон был бородат и добросердечен, родился в семье англиканского викария и являлся убежденным социалистом: он страстно верил, что между бизнесом и человеческим геномом не может быть ничего общего. Как и Френсис Коллинз, Салстон обожал мотоциклы: он привык курсировать на своем байке с объемом двигателя 550 см³ от дома близ Кембриджа до Сенгеровского центра. Так и продолжалось до тех пор, пока проект «Геном человека» не заработал в полную силу, а как раз набирал обороты, и Джон Салстон не попал в серьезное ДТП, где получил тяжелые травмы, а сам мотоцикл, как он выразился, «едва ли можно было собрать по винтику». Представители фонда *Wellcome Trust*, финансировавшего Сенгеровский центр, в ужасе узнали, что научный руководитель проекта каждое утро рискует жизнью, добираясь на работу. «И это после того, как мы вложили столько денег в этого типа!» – жаловалась Бриджет Огилви,

бывшая в ту пору директором фонда.

Боб Уотерсон, американский партнер Салстона, получил диплом инженера в Принстоне и употребил свою инженерную подготовку и сноровку в руководстве крупным центром по секвенированию в Вашингтонском университете в Сент-Луисе. Уотерсон умел экстраполировать – начинать с малого и заканчивать великим. В свое время он любил сопровождать дочь на пробежке, пристрастился к бегу и к настоящему времени уже стал опытным марафонцем. За первый год работы его группа отсеквенировала всего сорок тысяч пар оснований в геноме червя, но всего через пару лет работа пошла «стахановскими темпами», и Уотерсон одним из первых стал призывать ученых к тотальному секвенированию человеческого генома.





Международное сотрудничество. Вверху: британские и американские ученые первыми полностью секвенировали геном многоклеточного организма – червя-нематоды *C. elegans*. Внизу: руководители проекта Боб Уотерсон и Джон Салстон решили отдохнуть

В то самое время, когда члены международного проекта «Геном человека» начали пробовать секвенировать живые организмы, примериваясь к большому, вся отрасль содрогнулась от настоящего молекулярно-биологического землетрясения.

Дела у Крейга Вентера и TIGR шли нормально. После нескольких лет оттачивания стратегии обнаружения генов на кДНК Вентер заинтересовался секвенированием цельных геномов. Он был убежден, что и на этом поле его подход окажется наилучшим. Сотрудники проекта «Геном человека» тщательно картировали различные фрагменты ДНК на хромосомах, прежде чем их секвенировать. Таким образом, мы уже знали, что фрагмент А прилегает к фрагменту В, могли отыскивать между ними пересекающиеся участки и связывать их в окончательную последовательность. Вентер предпочел «полногеномный метод дробовика»

(WGS), при котором первичное картирование не проводилось: просто рубили геном на фрагменты случайной длины, заливали все эти последовательности в секвенатор и ждали, чтобы машина расставила их в правильном порядке, ориентируясь на перекрывающиеся участки и не располагая никакой исходной информацией об их местоположении. Вентер и его группа в TIGR показали, что такой грубый метод на самом деле работоспособен, как минимум при работе с простыми геномами. В 1995 году они опубликовали первую расшифрованную последовательность бактериального генома, принадлежащего *Haemophilus influenzae*, полученную именно таким методом.

Однако оставалось невыясненным, применим ли метод WGS в случае крупных и сложных геномов, например генома человека, который примерно в тысячу раз больше бактериального. Проблема заключалась в наличии повторяющихся фрагментов: в разных частях генома попадались идентичные участки, и эта проблема, в принципе, могла оказаться роковой при секвенировании методом дробовика. Такие повторы вполне могли запутать даже самый изощренный компьютерный алгоритм. Так, если повтор встречается во фрагментах A и P, то компьютер может случайно поставить A перед Q, а не перед B – туда, где он на самом деле должен быть. Сотрудники проекта «Геном человека», в свою очередь, обсуждали такой сценарий, размышляя, не прибегнуть ли и им к методу дробовика. Опираясь на тщательные вычисления Фила Грина из Сиэтла, консорциум пришел к выводу о том, что такая работа, вероятно, не увенчается успехом из-за огромного числа длинных дублирующихся последовательностей в мусорной ДНК.

В январе 1998 года Майк Хункапиллер из ABI, создатель машин-секвенаторов, пригласил Вентера опробовать свою новую модель секвенатора PRISM 3700. Аппарат впечатлил Вентера, но он даже вообразить не мог, что последует дальше. Хункапиллер предложил Вентеру сформировать новую компанию, которая бы подчинялась *Perkin-Elmer* (головной компании ABI) и получала с ее стороны средства на секвенирование генома человека. Вентера ничуть не смущала перспектива забросить TIGR – его отношения с Хэзелтайном из HGS давно испортились. Поэтому он, не теряя времени, основал новую фирму, впоследствии названную *Celera Genomics*. Девиз компании звучал так: «Скорость прежде всего. Открытия не могут ждать». В планах компании было секвенировать весь геном человека полногеномным методом дробовика, соорудив поточную линию из 300 новых машин Хункапиллера и самого мощного кластера компьютеров за пределами Пентагона. Проект

должен был быть реализован за два года и обойтись в 200–500 миллионов долларов.

Сенсационная новость была опубликована в *New York Times* в мае 1998 года, как раз перед тем, как руководители будущего названного «некоммерческим» (в противовес частному) проекта «Геном человека» собрались в лаборатории Колд-Спринг-Харбор. Мягко говоря, эти новости были восприняты прохладно. На глобальный некоммерческий проект уже потратили примерно 1,9 миллиарда долларов денег налогоплательщиков, а теперь *Times* пишет, что мы за эти деньги не можем предъявить обществу ничего, кроме мышинового генома, а у Вентера уже вытанцовывается священный грааль – геном человека. В данном случае особенно раздражало, что Вентер надругался над так называемыми бермудскими принципами. В 1996 году прошла конференция участников проекта «Геном человека» на Бермудских островах – Вентер там присутствовал. На конференции было решено, что данные о секвенировании должны выкладываться в открытый доступ сразу же после того, как будут получены. Все мы сошлись во мнении, что последовательность генома должна быть общественным достоянием. Впоследствии Вентер радикально изменил свое мнение: он заявил, что будет придерживать новые данные о секвенировании в течение трех месяцев, продавая лицензии фармацевтическим компаниям и другим организациям, всерьез намеренным купить эти данные для «предпросмотра».

К счастью, Майкл Морган из *Wellcome Trust* смог активизировать реализацию публичного проекта всего через несколько дней после заявления Вентера, сообщив, что удвоит финансовую поддержку Сенгеровского центра, доведя общую сумму примерно до 350 миллионов долларов. Хотя время для заявления было выбрано так, как будто он стал прямой реакцией на выпад Вентера, на самом деле повышение финансирования к тому моменту уже обсуждалось в течение некоторого времени. Вскоре после этого Конгресс США также внес свой вклад в закрома некоммерческого проекта «Геном человека». Началась гонка за обладание прав на расшифрованный геном. Фактически с самого начала в ней намечались по меньшей мере два победителя. Во-первых, наука: реальная польза могла быть получена лишь путем сравнения полученных в разных лабораториях двух геномных последовательностей. Во-вторых, компания PRISM: ей предстояло продать еще множество секвенаторов, которых не было в большинстве лабораторий, занятых в некоммерческом проекте, и теперь они были вынуждены покупать их, чтобы не отстать от Вентера!

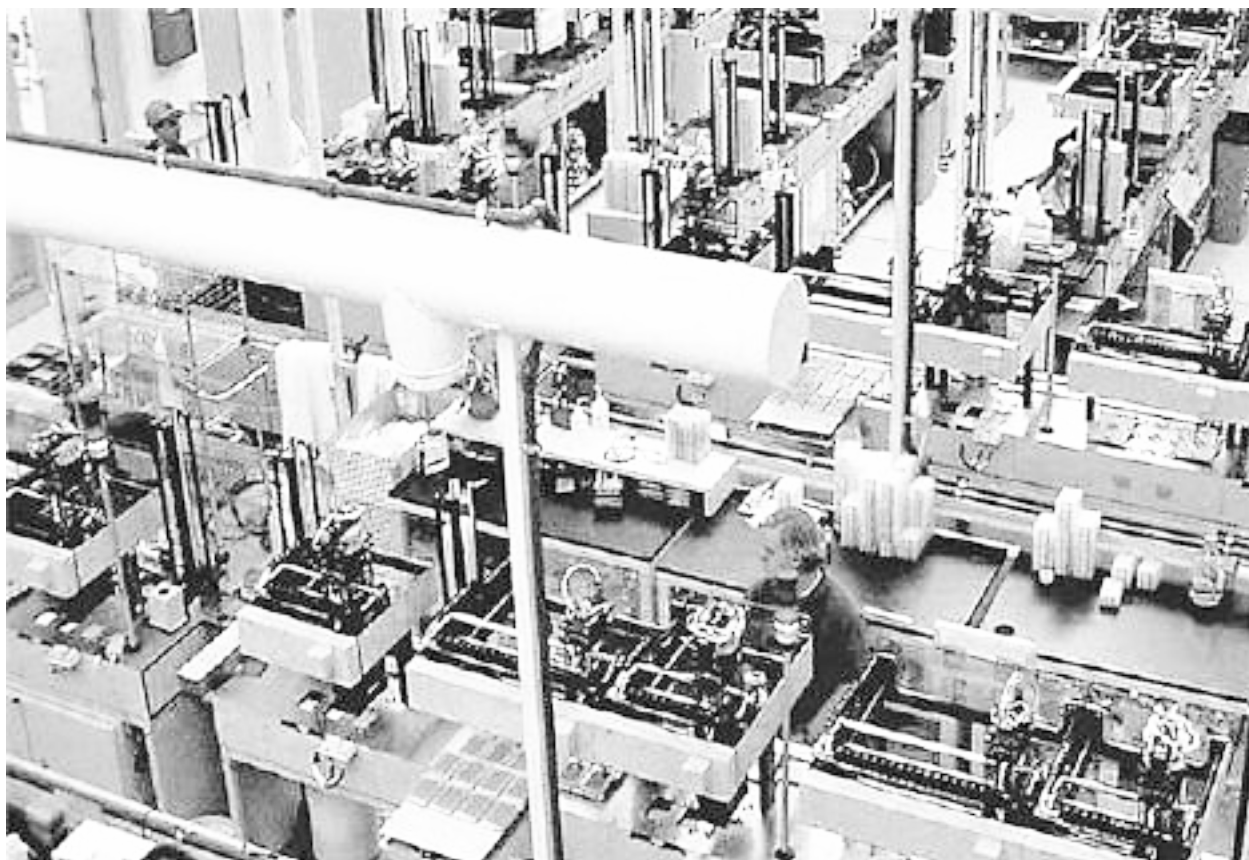
Язвительная перепалка между руководителями двух проектов – частного и некоммерческого – стала постоянной темой научных газетных публикаций в следующие пару лет. Такое препирательство дошло до крайности, так что президент Клинтон даже дал поручение своему научному консультанту: «Исправьте ситуацию... заставьте этих людей сотрудничать». Несмотря на трудности кооперации между двумя параллельными проектами, секвенирование продолжалось. Вентер продемонстрировал, что его «метод дробовика» может быть применен на достаточно крупном геноме, когда в союзе с фракцией ученых – исследователей генома дрозофилы он смог в начале 2000 года объявить о готовности представить черновой вариант генома дрозофилы. Однако в геноме дрозофилы содержится не так много повторяющихся фрагментов мусорной ДНК, и успех *Celera* в анализе этого генома никоим образом не гарантировал, что полногеномный метод дробовика успешно сработает и на человеческом геноме.

Никто с таким жаром не воспринял вызов, брошенный *Celera*, как Эрик Ландер. Именно он ратовал за практически полностью автоматизированный процесс секвенирования, где лаборантов заменяют роботы, и именно он с таким запалом воплощал эту мечту в реальность. Из резюме Ландера следовало, что этот парень кое-что понимал в научном драйве. Мальчик из Бруклина зарекомендовал себя как математик-вундеркинд в манхэттенской старшей школе Стайвесанта. Он также выиграл первый приз на конкурсе компании Вестингауз по поиску юных талантов. Позже Ландер стал почетным спикером класса на вечере в Принстоне ('78), после чего получил в Оксфорде степень PhD, куда поступил на стипендию Родса. Макартуровская премия для «гениев», присужденная ему в 1987 году, казалась практически избыточной. Кстати, его мать понятия не имела, как это вышло: «Мне нравится говорить, что это я как мать внесла свою лепту в гениальность сына, но это не так... скорее, это все-таки – удача».

Решив в конечном счете, что чистая математика – «отвлеченная и затворническая дисциплина», Эрик Ландер, уже успевший прослыть по стандартам этой области компанейским парнем, присоединился к гораздо более веселому коллективу Гарвардской школы бизнеса. Однако вскоре он всерьез увлекся биологией и отвлекся на труды своего младшего брата, нейрофизиолога. Вдохновившись, Ландер самостоятельно освоил биологию при свете луны на биофаках Гарварда и Массачусетского технологического института и чуть совсем не бросил свою основную работу в школе бизнеса: «Можно сказать, что я изучал молекулярную

биологию на перекрестках, – признавался он, – но в тех краях было очень много хороших перекрестков». В 1990 году он стал профессором биологии и начал работать в здании на одном из этих перекрестков – в Институте Уайтхеда при Массачусетском технологическом институте.

Даже в так называемой большой пятерке, включавшей крупнейшие центры, участвовавшие в некоммерческом проекте по секвенированию генома человека: Сенгеровский центр, Центр секвенирования генома человека при Вашингтонском университете, Бэйлорский медицинский колледж и лабораторию Министерства энергетики в Уолнат-Крик, где именно лаборатория Ландера замыкала список, удалось проделать наибольший объем работы по секвенированию ДНК благодаря группе Ландера в Массачусетском технологическом институте, тем самым радикально ускорить производительность труда на финише и максимально быстро подготовить черновой вариант генома. Семнадцатого ноября 1999 года некоммерческий проект отпраздновал секвенирование миллиардной пары оснований – гуанина. Всего четыре месяца спустя, 9 марта 2000 года, отсеквенировали двухмиллиардное основание – тимин. Большая пятерка работала ударно. Поскольку *Celera* пользовалась результатами, полученными в ходе реализации некоммерческого проекта, которые немедленно выкладывались в интернет, а теперь лились сплошным потоком, Вентер наконец тоже ускорился – ведь фактически *Celera* пришлось секвенировать вдвое меньше оснований, чем планировалось изначально.



Секвенирование ДНК в режиме поточного производства: в Институте Уайтхеда при Массачусетском технологическом институте наладили международную альтернативу проекту Вентера и компании Celera

Пока СМИ писали, что гонка между некоммерческим и частным проектом достигла кульминации, за линией «фронта» все больше внимания уделялось вычислительным мощностям: ученые корпели за компьютерами. Именно они должны были извлечь информацию из грубо отсековированных последовательностей А, Т, Г и Ц. Перед ними стояли две основные задачи. Во-первых, надо было собрать окончательную и полную последовательность из множества имевшихся у них фрагментов. Многие части генома были отсековированы многократно, поэтому требовалось отсортировать объем информации размером в несколько геномов – составить из него единую каноническую последовательность генов. С точки зрения информационных технологий это была колоссальная работа. Во-вторых, нужно было определить, «что есть что» в этой окончательной последовательности и, самое главное, где какие гены находятся. Вычленение компонентов генома, то есть искусство отличать одну последовательность А, Ц, Г и Т, в которой находится молекулярный

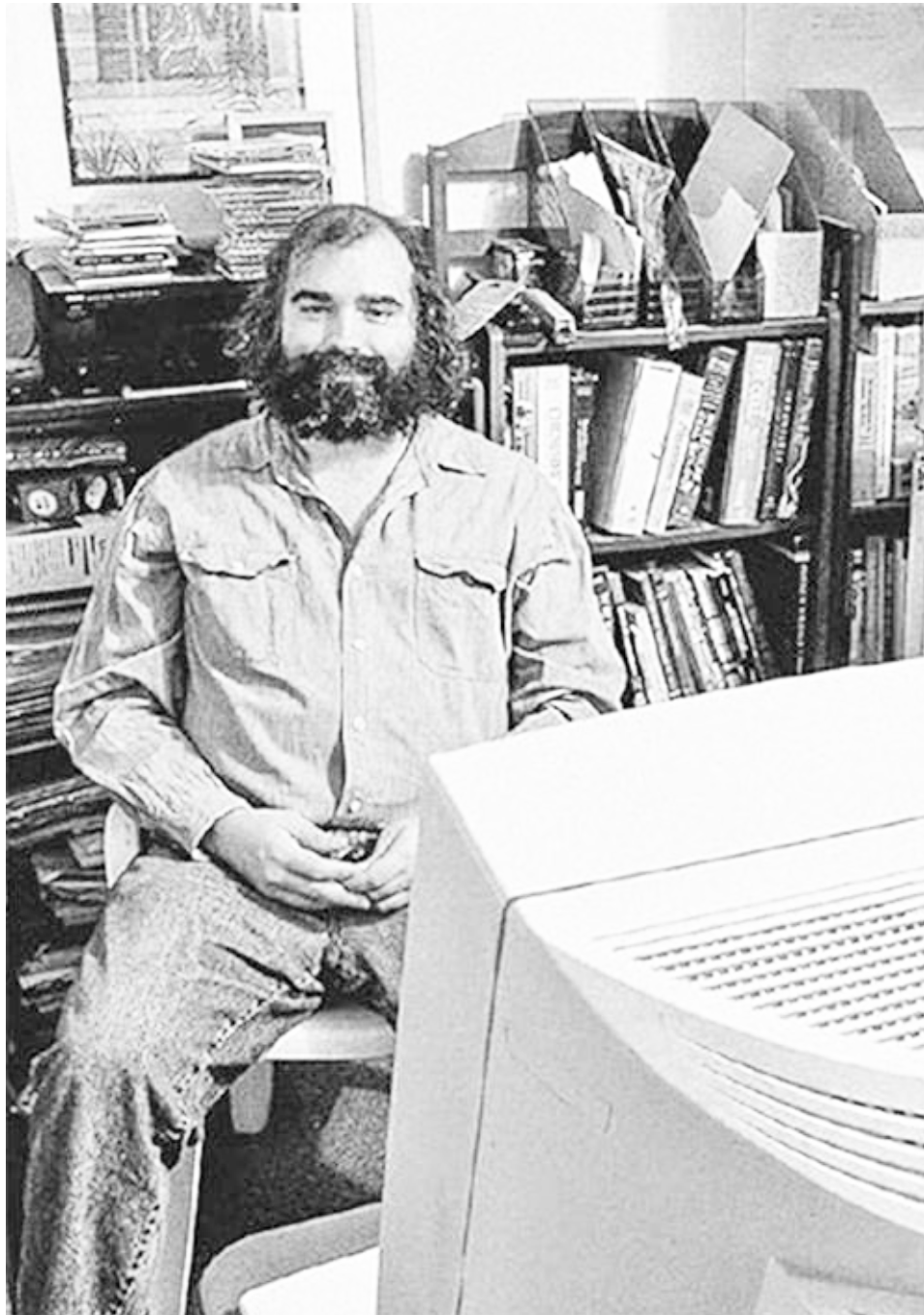
мусор, от другой, кодирующей белок, требовало исключительно интенсивной вычислительной работы.

За компьютерную обработку в компании *Celera* отвечал Джин Майерс, ученый-информатик, который всеми руками и ногами ратовал за полногеномный метод дробовика. Вместе с Джеймсом Уэбером из Маршфилдского медицинского исследовательского фонда в Висконсине они предложили задействовать систему полногеномного секвенирования (WGS) в некоммерческом проекте, еще когда *Celera Corporation* не была создана. Джин Майерс видел в использовании современных молекулярных технологий как повод для личной гордости, так и общественную целесообразность.

При создании генетической карты были установлены последовательности расположения генетических маркеров (в этом качестве использовали различные полиморфные локусы ДНК, то есть наследуемые вариации в структуре ДНК) по длине всех хромосом с определенной плотностью, то есть на достаточно близком расстоянии друг от друга. Наличие таких ориентиров уже не делало задачу по сборке последовательности, поставленную в некоммерческом проекте, столь неподъемной, как вариант Майерса (метод полногеномного секвенирования (WGS) никаких маркеров не предполагал). При окончательном анализе *Celera* пользовалась данными о картировании, бывшими в доступе в GenBank в рамках некоммерческого проекта. Проблема заключалась в том, что при слепом подсчете маркерных участков была существенно недооценена их роль. Все это говорит о том, насколько сложна была с технической точки зрения задача построения генетической карты. В то время как *Celera* подключила к проведению исследований компьютерные технологии, некоммерческий проект сосредоточился на ускорении процесса секвенирования. Лишь на самом последнем этапе лидеры некоммерческого проекта осознали, что, хотя у них на тот момент уже имелась карта генов, они все равно были похожи на того папашу из анекдота, который в сочельник, перед Рождеством, таращится на разобранный велосипед и не знает, что и куда прикрутить. Дату готовности (и сборки) «примерного плана» назначили на конец июня. Однако в начале мая некоммерческий проект вообще не располагал никакими реальными инструментами для систематизации всех полученных ими последовательностей. «Deus ex machina» принял весьма странный облик, представ перед ними в виде аспиранта из Калифорнийского университета в Санта-Крус.

Звали его Джим Кент, и с виду он походил на рокера из *Grateful Dead*.

Он занимался программированием с тех самых пор, как появились компьютеры, разрабатывал код для графических и анимационных программ, но затем решил пойти в аспирантуру и заняться биоинформатикой – новой дисциплиной, посвященной анализу ДНК и белковых последовательностей.



Джим Кент задействовал сотню персональных компьютеров и собрал «рабочий вариант» генома для некоммерческого проекта

Он осознал, что завязывает с коммерческим программированием, когда получил от *Microsoft* увесистый пакет из 12 CD для разработки программ под Windows 95. Слова самого Джима Кента были такими: «Я подумал, что весь геном человека уместился бы всего на одном диске, причем он не стал бы изменяться каждые три месяца». В мае он уже был уверен, что справится с широко обсуждавшейся на тот момент задачей анализа и систематизации генома, и убедил родной университет, чтобы ему «одолжили» на время сотню компьютеров, закупленных для учебных целей. Затем он на четыре недели погрузился в разработку программного обеспечения для решения задачи. По ночам даже массировал запястья, чтобы их не сводило судорогой от долгой работы на компьютере, а сам день за днем «ваял» генетический код. Крайним сроком было 26 июня – именно на эту дату приходился анонс чернового варианта генома. Дописав программу, Кент запустил в работу всю сотню компьютеров, и 22 июня эта компьютерная «орда» справилась с проблемой построения генома для некоммерческого проекта. Майерс в *Celera* уложился в еще более сжатые сроки: он завершил свою сборку в ночь на 25 июня.

Затем наступило 26 июня 2000 года. Билл Клинтон в Белом доме и Тони Блэр на Даунинг-стрит, 10, одновременно объявили, что первый черновой вариант человеческого генома готов. Все решили, что результатом соревнования по расшифровке генома стала ничья, и поэтому честь победителя также была разделена пополам. К счастью, соперники смогли преодолеть свои амбиции – по крайней мере на одно утро. Клинтон изрек: «Сегодня мы начинаем понимать язык, на котором Господь написал книгу жизни... Обладая этими глубокими новыми знаниями, человечество вот-вот обретет безграничную, новую силу исцеления». Великие слова о грандиозном событии. Невозможно было не испытывать гордости за достижение, которое в прессе сравнивали с первой посадкой «Аполлона» на Луну, даже несмотря на то что «официальная» дата триумфа казалась немного притянутой. Секвенирование было еще не закончено, и прошло еще почти восемь месяцев, прежде чем одновременно вышли две научные статьи, резюмирующие информацию о геноме. Некоммерческий проект опубликовал свою работу в *Nature*, а Вентер и его коллеги из *Celera* – в *Science*. Было высказано предположение о том, что дату 26 июня назначили, ориентируясь не на готовность проекта «Геном человека», а на рабочий график президента Клинтона и премьера Блэра.

За шиком и блеском приема в Белом доме совершенно потерялся тот факт, что торжество устроили по поводу всего лишь чернового варианта

генома человека. Оставалось еще немало работы. В полной мере удалось завершить лишь секвенирование двух самых маленьких хромосом, 21 и 22, – и эту информацию сразу опубликовали. Но даже в случае расшифровки генома этих хромосом невозможно было похвастаться непрерывными последовательностями – «от одного конца молекулы к другому». Что же касается других хромосом – некоторые просто пестрели пробелами. Коллинз с коллегами осознавали, что могут пройти годы, а возможно, и десятилетия, прежде чем будут секвенированы все основания, поэтому проект «Геном человека» даже при всем желании нельзя было назвать завершенным. В апреле 2003 года они заполнили большинство пробелов в геноме и выстроили точную «практически полную» последовательность. Таким образом, геном был отсеквенирован минимум на 95 % с погрешностью не более одной ошибки на 10 тысяч оснований. Неслучайно анонс подгадали к полувековой годовщине с момента выхода нашей с Френсисом Криком статьи о двойной спирали, опубликованной в журнале *Nature*. Френсис Коллинз гордо отметил, что проект «Геном человека» закончен досрочно и с профицитом бюджета.



26 июня 2000 года. Крейг Вентер (слева) и Френсис Коллинз (справа), получившие черновой вариант генома, заключили перемирие, вместе купаясь в лучах славы рядом с президентом Биллом Клинтон



На выходе из Белого дома: я с Эриком Ландером (Уайтхед, Массачусетский технологический институт), Ричардом Гиббсом (Бэйлор, Хьюстон), Бобом Уотерсоном и Риком Уилсоном (Вашингтонский университет, Сент-Луис)

Одним из тех, благодаря кому международной команде молекулярных биологов, занимающихся проблемой секвенирования, удалось преодолеть заключительные преграды, был Рик Уилсон, грубоватый добряк со Среднего Запада, сменивший Боба Уотерсона на посту руководителя в центре секвенирования в Вашингтонском университете. Все предприятие зависело от контроля качества, поэтому на каждую хромосому был назначен координатор, который должен был наблюдать за общим ходом

работ и гарантировать, что работа в его зоне ответственности соответствует общей специфике проекта. Иногда возникали сбои в работе, например в одну из позиций в базе данных генома человека каким-то образом вкралась часть генома риса. Но проведение процедур менеджмента качества на всех этапах работы помогло надежно избавляться от таких инородных включений.

За десять лет, минувших с того момента, как мы имели честь заявить, что проект «Геном человека» завершен, ученые продолжали изучать тайны генома, образно говоря, «рассматривали его под микроскопом», как археологи, которые каторжно трудятся, просеивая породу и каталогизируя ее шихты в поисках заветных исторических артефактов. Эталонная последовательность, полученная в рамках некоммерческого проекта, остается драгоценной основой всех нынешних и дальнейших разработок. Уже после многолетнего тщательного анализа – завершилось несколько крупных международных проектов, построенных на тех же принципах командной работы и свободного обмена данными, которые были закреплены в проекте «Геном человека», – мы гораздо лучше представляем себе общую генетическую вариативность в различных популяциях. Уже построена трехмерная карта генома, заключенная в клеточном ядре; с каждым годом мы все полнее понимаем функциональные элементы этой последовательности и сопутствующие химические модификации, управляющие включением и отключением генов. Все эти открытия стали возможны благодаря драматичным успехам в технологии секвенирования ДНК, позволившим менее чем за десять лет повысить производительность нашего труда в миллион раз.

Проект «Геном человека» стал эпохальным достижением, но это была всего лишь одна эталонная последовательность – геном-мозаика, собранный из кусочков, взятых примерно от двадцати волонтеров, откликнувшихся на объявление в газете города Буффало, где предлагалось сдать образцы ДНК. Эти образцы стали базовым материалом в заключительной части проекта «Геном человека». Тот факт, что выбор пал на город Буффало, может показаться немного курьезным, но именно там жил Питер де Йонг, молекулярный генетик из Голландии, работающий в институте Росуэлл-Парк и широко признанный как ведущий эксперт по созданию библиотек искусственных бактериальных хромосом; именно его исследования подготовили почву для секвенирования ДНК. Мы так и не узнали, кто именно был волонтером и сдал свой биоматериал для создания эталонного генома, но анализ, проведенный в Институте Броуда Дэвидом Джаффе и его коллегами, показал, что там есть существенная

афроамериканская составляющая. Эталонный геном стал основой, своеобразным контуром, как в раскраске «нарисуй картинку по точкам»; отталкиваясь от нее, другие исследователи стали вычерчивать практически бесконечно разнообразные иные последовательности человеческого генома – с севера на юг и с востока на запад.

WANTED

20 Volunteers

to participate in the
Human Genome Project
a very large international scientific research effort.

The goal is to decode the human hereditary information (*human blueprint*) that determines all individual traits inherited from parents. The outcome of the project will have tremendous impact on future progress of medical science and lead to improved diagnosis and treatment of hereditary diseases.

Volunteers will receive information about the project from the Clinical Genetics Service at Roswell Park, and sign a consent form before participating.

No personal information will be maintained or transferred.

Volunteers will provide a one-time donation of a small blood specimen. A small monetary reimbursement will be provided to the participants for their time and effort.

Individuals must be at least 18 years of age.
Persons who have undergone chemotherapy are not eligible.

ROSWELL PARK
CANCER INSTITUTE

For more information please contact the
Clinical Genetics Service
345-5720 (9:00 am - 3:00 pm)
March 24 - 26, 1997

Объявление из газеты Buffalo News о поиске доноров-волонтеров, которым предлагалось сдать ДНК для проекта «Геном человека»

В рамках проекта *HapMap* (International Haplotype Mapping, Международный проект «Карта гаплотипа») началось каталогизирование всех этих многочисленных вариантов. Благодаря революции, произошедшей в картировании геномов в 1980-е годы, мы уже видели, как далеко и глубоко смогли продвинуться ученые в обнаружении мутаций, вызывающих наследственные заболевания. Однако для поиска генетических дефектов, из-за которых у человека возникает предрасположенность к диабету, сердечно-сосудистым заболеваниям и

раку, требуется систематически изучать генетическую вариабельность. Цель проекта *HarMap* – разработка карты гаплотипа генома человека, чтобы описать общие закономерности наследственной генетической изменчивости людей. Собирая информацию о местоположении миллионов однонуклеотидных полиморфизмов (сокращенно SNP, произносится «снип»), исследователи накопили обширную базу маркеров, из которых формируются репрезентативные выборки для проведения крупномасштабных исследований GWAS («полногеномный поиск ассоциаций») и идентификации генов, вызывающих распространенные заболевания (см. главу 12).

Для включения в *HarMap* были выбраны четыре группы населения: 30 взрослых и их оба родителя Йоруба из Ибадана, Нигерия (YRI), 30 резидентных троек жителей штата Юты североамериканского и западноевропейского происхождения (CEU), 44 не связанных между собой японцев из Токио, Япония (JPT), и 45 не родственных между собой китайцев из Пекина, Китай (CHB). Такое государственно-частное сотрудничество началось со скрининга ДНК волонтеров *HarMap* на наличие трех миллионов снипов (рассматривался весь геном). Основная масса генотипической работы была проделана в *Perlegen*, дочерней компании *Affymetrix*. Компания *Affymetrix* стала одним из первопроходцев в исследовании генов чипов и определила матрицу из более чем трех миллионов равномерно расположенных снипов, служивших своеобразными «верстовыми столбами» – по одному примерно на девятьсот – тысячу оснований. Так была проложена дорога для триумфального шествия GWAS, проводившихся фондом *Wellcome Trust* и другими организациями. Сегодня в каталоге человеческих снипов более 10 миллионов позиций, в среднем по одному на каждые триста оснований. На смену проекту *HarMap* пришел новый проект «1000 геномов», который наконец успешно завершился в 2016 году.

Одной из важнейших задач, решавшихся в рамках проекта «Геном человека», была сборка «геномной ведомости» человеческого организма. Каталогизировав примерно 20 тысяч генов – во много-много раз меньше, чем было озвучено в учебниках всего десятью годами ранее, мы все еще не могли справиться с весьма запутанной проблемой: есть ли вообще какое-либо назначение у «мусорной ДНК»? Является ли эта «темная материя» молекулярной генетики всего лишь отбросами, оставшимися после долгих миллионов лет эволюции, следами древних вирусных инфекций и перегруппировки генов, либо у нее все-таки есть какая-то таинственная функция?

Для того чтобы ответить на этот вопрос, был организован еще один международный проект. Он назывался ENCODE («Энциклопедия элементов ДНК») и объединил более четырехсот ученых из тридцати двух стран. Задуманный как продолжение проекта «Геном человека», ENCODE ставит целью проведение полного анализа функциональных элементов генома человека. Все результаты, получаемые в ходе реализации проекта, публикуются в общедоступных базах данных. Ученые погрузились в лабораторные исследования сроком на пять лет (потратив на работу примерно триста лет компьютерного времени), чтобы разгадать тайну «мусорной ДНК». Проект ENCODE позволил взглянуть на геном по-новому и рассмотреть его с высоким разрешением, а не на «зернистой киноплёнке», как ранее. В 2012 году сотрудники ENCODE опубликовали полноценную книгу о своей работе – тридцать глав-статей в *Nature* и нескольких других журналах. Результаты породили не меньше противоречий и дискуссий, чем геномные войны, бушевавшие в конце 1990-х годов. Согласно выводам авторов ENCODE, целых 80 % генома функциональны и характеризуются «особой биохимической активностью». Вот вам и «мусорная ДНК»! Например, там могут находиться сайты связывания (они же «энхансеры» или «промоторы» в терминологии генетиков) для факторов транскрипции или регуляторных генных белков, включающих и отключающих гены. Проект также позволил пролить свет на плохо изученные участки ДНК между генами; именно на этих участках начинается транскрипция РНК. В отличие от транспортной РНК они по какой-то причине не транслируются в белки. Специалисты ENCODE отнюдь не собирались проигнорировать эти участки генома как обычный мусор, но утверждали, что там сосредоточены бесполезные реликвии и старье, как пресловутый «потерянный на чердаке хобот».

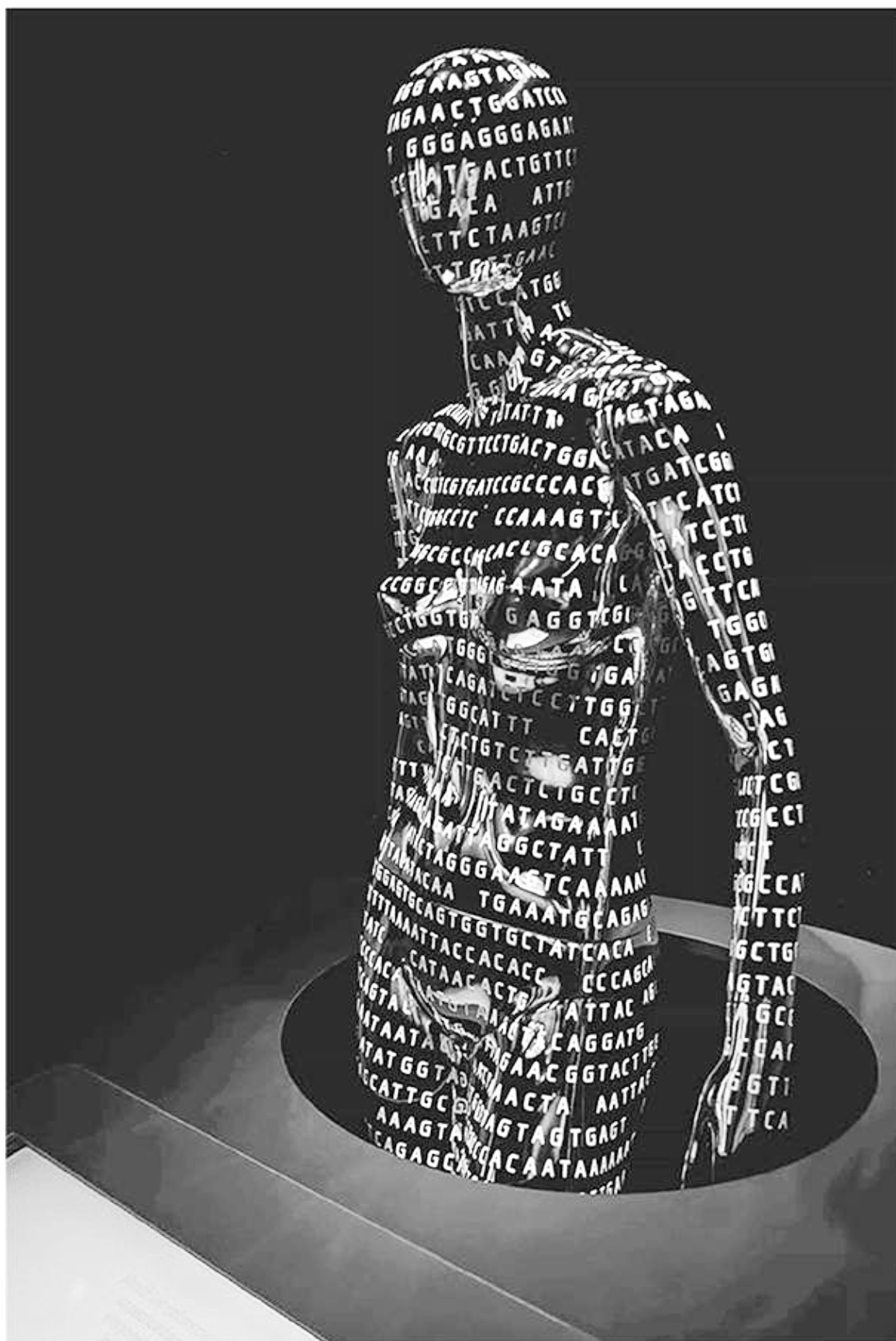
Растиражированное заявление сотрудников ENCODE о «80 процентах» яростно оспаривалось. Противоречия открылись уже в том, что считать «функциональным», а что мусорным в составе генома. По словам Юэна Бирни, одного из ключевых архитекторов ENCODE, проблема сводится к следующему: изменяет ли данный элемент генома каким-то образом биохимические процессы в клетке или влияет на фенотип (внешний вид) организма? Иными словами, является ли факт транскрипции достаточным доказательством функциональности? Некоторые исследователи были готовы поспорить на эту тему, хотя к этому времени с учетом накопленных знаний это было непросто. Для 8 % генома имелись бесспорные доказательства физического контакта между ДНК и белками, в частности факторами транскрипции. Признаться, назначение остальных

72 % нашей «функциональной» ДНК пока не совсем ясно. Тем не менее ENCODE представил убедительные доказательства того, что даже те последовательности, которые значительно удалены от кодирующих регионов, регулируют некоторые аспекты экспрессии генов. Бирни указывает, что целых 60 % генома сейчас считается «экзонными» или «интронными» участками, поэтому «нет ничего удивительного, что мы видим дополнительные 20 % сверх этих 60 %».

Проект «Геном человека» навсегда останется выдающимся технологическим достижением. Если бы в 1953 году кто-нибудь предположил, что в ближайшие 50 лет геном человека будет полностью секвенирован, то мы с Криком бы просто посмеялись и купили собеседнику еще стаканчик алкоголя. Такой скептицизм казался оправданным даже двадцать пять лет спустя, когда наконец-то были разработаны первые методы секвенирования ДНК. Бесспорно, эти методы стали технологическим прорывом, но процесс секвенирования все равно оставался удручающе медленным – в ту пору казалось титанической работой сгенерировать последовательность даже крошечного гена длиной несколько сотен пар оснований. А затем, еще через двадцать пять лет, мы отпраздновали полное секвенирование 3,2 миллиардов пар оснований. Нам всегда нужно помнить, что описание генома – отнюдь не просто памятник нашей технологической сноровке, каким бы ошеломительным ни показался этот архитектурный шедевр. Какова бы ни была политическая мотивация, представители Белого дома совершенно справедливо прославляли оказавшееся в наших руках новое оружие для борьбы с болезнями. Более того, наш проект стал началом новой эры представлений об устройстве живых организмов и функциональных возможностях и ответил на вопрос: чем мы биологически отличаемся от представителей других видов – словом, что делает нас людьми. Однако, прежде чем перейти к этим темам, давайте обсудим поразительные революционные изменения в секвенировании ДНК и анализе геномов, наступившие после того памятного дня лета 2000 года, когда мы сделали первый маленький шаг в эру геномики.



Кас Крамер с коллегами из Лейчестерского университета полностью распечатали всю последовательность человеческого генома. Каждая стопка книг с одноцветными корешками соответствует одной из хромосом. В каждой клетке человеческого тела зашифрована целая энциклопедия данных



Generation Genome – экспонат с выставки «Разгадывая код жизни», продюсировавшейся при участии Смитсоновского национального института естественной истории и Национального института генома человека

Глава 8

Время первых

Как-то раз в конце 2005 года мне неожиданно позвонил предприниматель-биотехнолог по имени Джонатан Ротберг. Хотя мы с ним никогда лично не встречались, я кое-что знал о его достижениях. В начале 1990-х годов Ротберг основал в Коннектикуте биотехнологическую компанию. От Колд-Спринг-Харбора до Коннектикута было недалеко, достаточно переправиться на пароме через пролив Лонг-Айленд. Эта коммерческая организация под названием *Curagen*, как и многие другие биотехнологические предприятия того времени, пережила взрывной приток капитала и некоторое время оценивалась на рынке необоснованно высоко, пока не ушла в глубокое пике во время общего обвала рыночных котировок. Однако к 2005 году Ротберг основал уже новую компанию под названием *454 Life Sciences*. Сначала я понятия не имел, что означали цифры 454, но потом стало понятно, что Ротберг занялся конструированием нового секвенатора ДНК. Как я потом понял, ему это удалось, поскольку в августе 2005 года я прочел в *Nature* статью, соавтором которой был Ротберг. В статье был описан новый секвенатор «454» – первый из так называемых секвенаторов нового поколения.

Позже я узнал, откуда взялось число 454. В 1999 году жена Ротберга родила недоношенного ребенка, сразу помещенного в инкубатор для новорожденных. Ротберг места себе не находил и в ожидании новостей брал в руки то одну вещь, то другую. Наконец он вытащил из брифкейса компьютерный журнал, на обложке которого красовался новейший высокомощный микропроцессор. Тогда его озарило: что будет, если применить в новой системе для секвенирования ДНК (которая могла бы прийти на смену системе Сенгера) два достижения компьютерной революции: миниатюризацию и распараллеливание. Он вообразил, что когда-нибудь такая система помогла бы уменьшить беспокойство родителей и могла бы решить проблему ранней диагностики болезней у новорожденных.

Пару месяцев спустя Ротберг посетил меня в Колд-Спринг-Харборе.

Я увидел высокого, слегка растрепанного человека с копной непослушных темных вьющихся волос – примерно таков был и я в юности. Он обратился ко мне с совершенно необычным предложением, спросив, не

хочу ли я послужить геномике в качестве подопытной морской свинки и стать первым в мире человеком, чья ДНК будет полностью расшифрована? Недолго думая, я согласился: не то чтобы я очень хотел быть первым в этом деле и тем более не горел желанием заглянуть в собственный геном; однако, думал я, такой проект мог бы очень пригодиться в просветительских целях.

Я согласился, чтобы мой геном секвенировали и выложили результаты в общий доступ, но поставил всего одно условие. Я хотел как можно больше узнать об одном гене из 19-й хромосомы, который называется *APOE* (аполипопротеин E). Нейрогенетик из Университета Дьюка по имени Аллен Розес (скоропостижно скончавшийся в 2016 году в Международном аэропорту им. Джона Кеннеди по дороге на конференцию) убедительно продемонстрировал, что редкая разновидность (аллель) этого гена под названием *APOE4* повышает риск возникновения болезни Альцгеймера, особенно если человек унаследовал сразу две аллельные комбинации E4. Одна моя тетушка страдала болезнью Альцгеймера, и я, конечно, не хотел бы переживать по поводу моей предрасположенности к этому тяжелому заболеванию.

Примерно в течение года после визита Ротберга я ничего не слышал об этом проекте, но в конце 2006 года люди Ротберга вновь связались со мной, и мы договорились, что я сдам кровь для исследования. Технологии компании Ротберга серьезно усовершенствовались, а стоимость секвенирования тем временем значительно снизилась. Теперь у команды Ротберга был образец ДНК, нужный для запуска проекта, названного «Джим». В мае 2007 года я полетел в Хьюстон в качестве почетного гостя на презентацию своего генома. Хотя собственно секвенированием занимались 454 ученых, этот процесс был относительно тривиален по сравнению с требующей титанических усилий задачей, с которой столкнулись специалисты по биоинформатике и генетики, пытавшиеся осмыслить полученную информацию о миллионах оснований. Эту задачу Ротберг решал совместно с группой специалистов из Бэйлорского медицинского колледжа, во главе которой стояли генетики Ричард Гиббс и Джим Лапски, специалист по биоэтике Эми Макгуайр и биоинформатик Дэвид Уилер. На церемонии Ротберг вручил мне внешний диск для компьютера, где был записан весь мой генетический код. Хочу, чтобы читатели оценили масштаб исследования. Обратите внимание: когда мы говорим, что геном секвенирован, мы имеем в виду не «однократно секвенирован», а проанализирован как минимум 30 раз, только таким количеством исследований можно обеспечить относительно точное

описание генома, дающее более-менее реальную информацию. В условиях клинического исследования необходимость повторов должна быть еще выше – примерно 45 раз. Кто-то из присутствующих поспешно обвязал этот диск тоненькой красной ленточкой, чтобы он выглядел как подарок. Мне грех было жаловаться: Ротберг оценил стоимость секвенирования моего генома примерно в один миллион долларов.



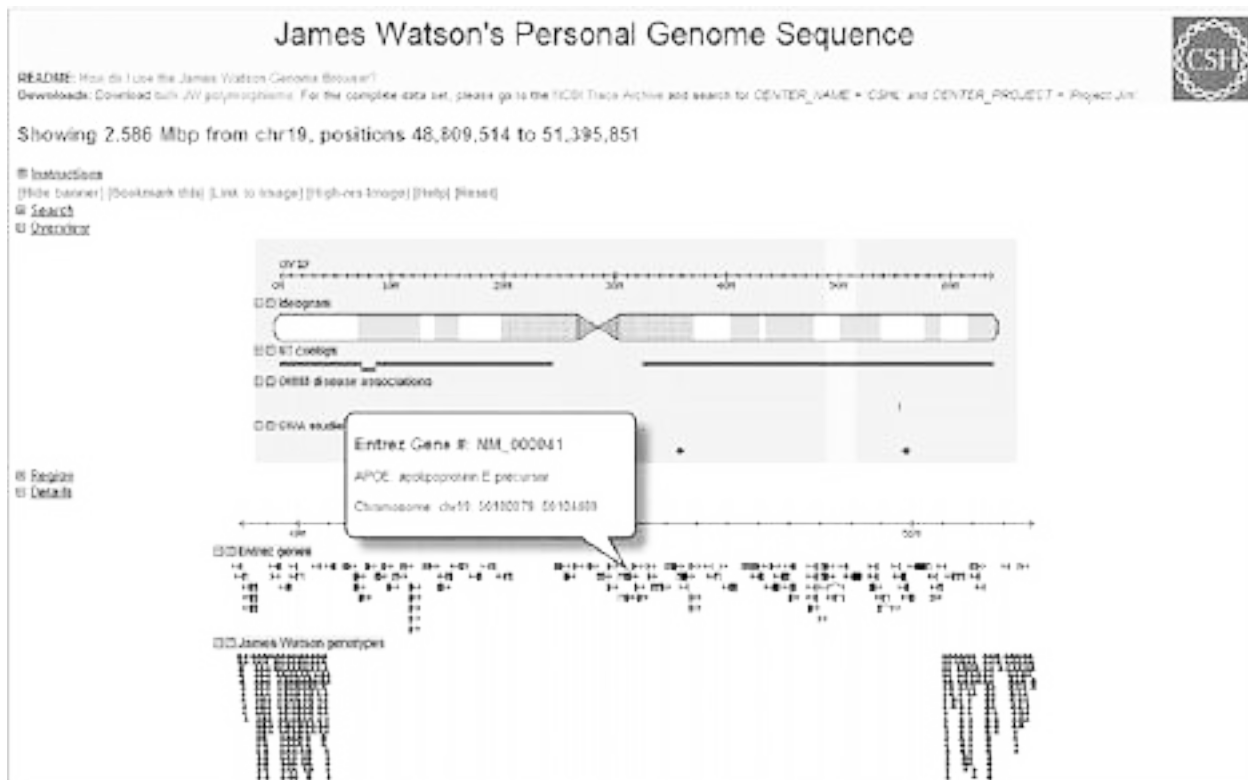
Первый из многих: в мае 2007 года основатель компании 454 Джонатан Ротберг вручает мне внешний жесткий диск, на котором записана вся информация о моем отсеквенированном геноме

На самом деле я был, мягко говоря, разочарован тем, что нашлось в моей ДНК, – вернее, тем, чего там не нашлось. Накануне за ужином группа Бейлора заранее показала мне самые интересные детали моего генома. Например, в моей ДНК оказался редкий вариант гена, кодирующего важный фермент под названием цитохром P450, – в этом заключалась причина того, что я плохо метаболизирую некоторые препараты, в частности тот, что мне прописывают от повышенного давления. Я

действительно замечал, что из-за этих таблеток меня клонит в сон. Вооружившись такой генетической информацией, я решил снизить дозу и поступаю так по сей день. Это была побудительная к действию информация. В то же время я, конечно, обеспокоился, узнав, что у меня нашлись какие-то подозрительные аллели гена *BRCA1*, отвечающего за рак желудка, – это был серьезный повод для беспокойства о здоровье моих племянниц, также имеющих такие же маркеры. Однако впоследствии я узнал от Мэри-Клэр Кинг (той самой, которая в 1990 году картировала ген *BRCA1* – об этом мы поговорим в главе 14 – и изучала функцию этого гена на сотнях семей, члены которых страдали раком груди), что аллели в моей генетической последовательности – это всего лишь «безобидные ирландские полиморфизмы».

Линкольн Стейн, мой бывший коллега по Колд-Спринг-Харбору, создал сайт, на котором выложил всю последовательность моего генома – кроме вышеупомянутого гена *APOE*. Однако мы упустили одну вещь: поскольку передача наследственной информации происходит с помощью генов случайным образом (здесь можно провести аналогию с тасуемой колодой карт), любой генетик, пусть даже со средним уровнем подготовки, теоретически может определить, какие именно у меня имеются варианты гена *APOE*. Для этого ему достаточно просмотреть генотипы соседствующих с ним генов в 19-й хромосоме. Об этом и заявил во всеуслышание один молодой ученый, администратор сайта по имени Майкл Карьясо, занимающийся анализом и хранением информации обо всех фрагментах ДНК, ценных с медицинской точки зрения. Сайт, который он администрировал, называется SNPedia. Линкольн Стейн оперативно отреагировал, потребовав удалить информацию примерно о тридцати моих генах, то есть примерно о миллионе оснований по обе стороны от гена *APOE*, и принести мне извинения по поводу доставленных неудобств, связанных с разглашением информации. В 2007 году лишь один человек, кроме меня, полностью отсеквенировал свой геном. Неудивительно, что это был Крейг Вентер – ведь именно он десятью годами ранее инициировал такое исследование в *Celera Genomics*, когда реализация проекта «Геном человека» была в самом зените. Коллеги Вентера просекли, к чему ведет проект «Джим», и опубликовали свои результаты примерно за полгода до того, как статья с окончательным описанием моего генома наконец появилась в журнале *Nature*. Однако ключевое отличие состояло в том, что геном Вентера секвенировали традиционным сенгеровским методом, а мой – при помощи технологии «454», то есть с использованием секвенатора нового поколения. Поэтому ряду ученых секвенирование именно моего,

довольно заурядного генома кажется фактом более важным. Френсис Коллинз назвал меня «первым из всех нас». Думаю, он был прав: после краткого затишья, вслед за которым, буквально выдавливая «по капле», секвенировали лишь единичные геномы, работа по секвенированию превратилась в настоящий шквал. Полагаю, что к моменту написания этих строк полностью отсеквенировано уже около 400 тысяч человеческих геномов, а стоимость секвенирования снижается и уверенно движется к отметке 1000 долларов, хотя сумма в 1000 долларов тогда казалась нереальной, в каком-то смысле «взятой с потолка». Последствия такой революции в персональной геномике – для науки, медицины и общества в целом – и будут рассмотрены в данной главе.



Пробел в геноме: последовательность моего генома выложена в интернете в свободном доступе; исключение составляет небольшой фрагмент 19-й хромосомы. Фрагмент охватывает окрестности гена АРОЕ, связанного с болезнью Альцгеймера

В декабре 2001 года, примерно через девять месяцев после публикации первых черновых вариантов человеческого генома, фельдмаршал этого проекта Френсис Коллинз пригласил около сотни ведущих ученых на встречу в пасторальной Виргинии. Предполагалось, что они смогут честно

и прямо обсудить перспективы будущих исследований и определить приоритеты новой эпохи в генетике, которую уже стали называть постгеномной. Один из важнейших вопросов, который им требовалось решить, – устаревание технологии для секвенирования ДНК. Метод с применением дидезокси-оснований, за который Фред Сенгер был удостоен Нобелевской премии (см. главу 4), превосходно послужил биохимическому сообществу, но отдача от него была крайне низкой, вернее сказать, медленной. Если технологии Сегнера использовать и далее, то Коллинзу и Вентеру понадобились бы целые фабрики по секвенированию, состоящие из сотен новейших машин-секвенаторов, каждая стоимостью сотни тысяч долларов, которые должны были бы обслуживать толпы лаборантов в белых халатах, работающих посменно круглые сутки. И все это для того, чтобы только сделать первые наброски нашего генетического кода. Дальнейший прогресс в геномике, а фактически в большинстве сфер биомедицинских и клинических исследований, застопорился до тех пор, пока специалисты не смогут ускорить, удешевить и оптимизировать секвенирование ДНК.

Во время дискуссий, развернувшихся в виргинской глуши, впервые речь зашла о «геноме за тысячу долларов». Вспомним время начала работы над проектом «Геном человека». Тогда, в начале пути, Уолли Гилберт написал мелом на доске в аудитории Колд-Спринг-Харбора: «3 миллиарда» – на этот раз ведущие специалисты по геномике вновь решились назвать столь же отвлеченную цифру: «1000 долларов». В такой величине не было никакого особого смысла или «магии» – просто небольшое красивое круглое число. Тем не менее, если бы его действительно удалось достичь, и стоимость секвенирования генома конкретного человека приблизилась бы к этой цифре, возможно, секвенирование человеческого генома стало бы рутинной процедурой.

Неудивительно, что различные академические и коммерческие группы ученых по обе стороны Атлантики, в том числе сотрудники Ротберга из компании 454, активно включились в разработку альтернативных методов секвенирования, на порядок дешевле и быстрее сенгеровского. В следующем году Вентер заявил на одной из конференций, что лично выплатит премию в 500 тысяч долларов той группе, которая достигнет наиболее значительного технологического прорыва в этой области. Одним из первых претендентов на премию стала компания *U. S. Genomics* – детище бывшего студента-медика из Гарварда по имени Юджин Чан. Он предлагал новый вариант секвенирования. Суть технологии заключалась в том, что молекула ДНК или РНК, несущая на себе существенный

отрицательный заряд, под воздействием электрического поля «протискивается» через белковую пору, помещенную в бислойную мембрану, что вызывает уменьшение силы электрического тока из-за уменьшения сечения отверстия. Считывая изменение силы тока, секвенатор определяет нуклеотид, проходящий через пору в конкретный отрезок времени: оказывается, что каждый «кирпичик» в нуклеиновой кислоте имеет собственное «сечение» (и, соответственно, это влияет на силу тока). Увы, как и многие другие претенденты, компания Чана столкнулась с серией препятствий и вышла из гонки за лидерство. Таким образом, инициативу захватили компания Ротберга 454 и британская компания *Solexa*.

Биотехнологическую фирму *Solexa* основали двое молодых ученых-химиков из Кембриджского университета – Шанкар Баласубраманиян и Дэвид Кленерман. Изначально в их планы не входило преобразование медицины или секвенирование 100 тысяч человеческих геномов – они просто хотели изучить процесс биосинтеза ДНК. Планы по созданию их стартапа зародились в одном из пабов, но не в «Игл», где мы с Френсисом отмечали открытие двойной спирали, а в *Panton Arms*, поскольку химики из Кембриджа предпочитают именно это питейное заведение. В *Solexa* разработали ряд интересных методов для работы с основаниями. Эти методы позволяли синтезировать молекулы ДНК в медленном темпе – так, чтобы молекула наращивалась всего на одно и строго на одно основание за один шаг. Размечая основания флуоресцентными красителями (каждое из четырех оснований своим цветом), специалисты *Solexa* смогли зафиксировать каждый этап реакции и логически определить, какое основание добавляется в каждую точку ДНК, просто по цвету. Таким образом, растущие спирали можно было анализировать, как при покадровом просмотре видео. Лишь гораздо позднее компания доработала свою технологию для применения в медицине.



Шанкар Баласубраманиян и Дэвид Кленерман из Кембриджского университета выпивают праздничную пинту в пабе Panton Arms, где они сформулировали принципы работы системы секвенирования нового поколения, применяемой в компании Solexa

При всей своей красоте этот метод с технологической точки зрения тоже был далеко не идеален. В частности, на первом этапе за каждый шаг удавалось считывать совсем мелкие фрагменты, всего по несколько десятков оснований каждый. Поэтому выстроить полную картину какого-либо генома было очень сложно. Тем не менее *Solexa* не сдавалась, и однажды воскресным вечером в феврале 2005 года Клайв Браун отправил старшим коллегам электронное письмо, тема которого была: «МЫ СДЕЛАЛИ ЭТО!!!» Им удалось успешно секвенировать свой первый геном — речь о геноме крошечного вируса ФХ174, секвенированием которого прославился в 1977 году и Фред Сенгер. Пусть это и был в буквальном смысле самый маленький геном на нашей планете, причем уже известный, это достижение стало ключевой вехой не только для компании *Solexa*, но и для всей новой эпохи секвенирования. Однако Браун с коллегами, в том числе новый гендиректор компании Джон Уэст, не поддались соблазну сразу открывать шампанское и публиковать статью с самопиаром в каком-нибудь престижном журнале. Они хранили молчание, оставляя Ротбергу и прочим по ту сторону океана догадываться, насколько они продвинулись в работе.

После принятого в 1999 году спонтанного решения основать

компанию 454 Ротберг рассмотрел несколько стратегий развития и наконец остановился на новой методике под названием пиросеквенирование, ранее разработанной шведскими исследователями. Идея пиросеквенирования заключается в регистрации пирофосфата, который образуется при присоединении очередного нуклеотида ДНК-полимеразой. Детекция пирофосфата осуществляется за счет каскада химических реакций, который заканчивается выделением кванта света. Для реализации метода создается иммобилизованная на твердой фазе клональная библиотека одноцепочечных фрагментов ДНК. Ко всем фрагментам ДНК присоединяется адаптер, с которым будет комплементарно связываться праймер – затравка для синтеза комплементарной цепи ДНК-полимеразой. Далее производится серия последовательных циклов, в процессе которых к закрепленной на твердой фазе ДНК по очереди добавляют дезоксинуклеотидтрифосфаты всех четырех типов: А, Т, Г, Ц. Если на секвенируемой цепи ДНК есть комплементарный к добавленному нуклеотиду, то при образовании фосфодиэфирной связи побочным продуктом станет пирофосфат. Он активирует каскад химических реакций: пирофосфат вместе с адено-зинсульфофосфатом (АСФ) при помощи фермента АТФ-сульфуриказы образуют АТФ, который является источником энергии для проведения реакции окисления фермента люциферина (фермент, обеспечивающий биoluminesценцию у светлячков) в оксильюциферин с выделением кванта света. Интенсивность выделяемого света пропорциональна числу включенных в цепь нуклеотидов (чем больше подряд одинаковых нуклеотидов, тем сильнее световой сигнал). Команда Ротберга состояла из талантливых ученых и программистов; один из инженеров даже участвовал в разработке телескопа «Хаббл». Успешная стратегия компании способствовала ее переходу на коммерческие рельсы.

Летом 2005 года компания 454 опубликовала статью (я прочел ее в журнале *Nature*), в которой был описан не только ее прибор GS20, но и методика секвенирования бактериального генома. В следующем году при помощи секвенатора GS20 учеными было успешно реализовано несколько проектов, упоминания о которых неизменно становились «научным хитом». Так, по кусочкам секвенировали геном неандертальца, идентифицировали вирус, из-за которого таинственно исчезали медоносные пчелы, и (это буквально сюжет для сериала «CSI: Место преступления») обнаружили редкий вирус, из-за которого умер европейский студент, пешком путешествовавший по Австралии. Наступила новая эра секвенирования. Технология крепла, Ротберг решил взяться за секвенирование генома реально живущего человека – и зародился проект

«Джим». Хотя до «генома за 1000 долларов» было еще очень далеко, смета проекта «Джим» в один миллион долларов была ничтожно мала по сравнению с сотнями миллионов долларов, потраченных на первое секвенирование генома человека.

```
From: Clive Brown <clive.Brown@solexa.com>
Date: Sun, 20 Feb 2005 16:34:46 +0100
To: Nick McCooke <Nick.McCooke@solexa.com>, Tony Smith <Tony.Smith@solexa.com>, Peta Torrance <Peta.Torrance@solexa.com>, Harold Swardlow <Harold.Swardlow@solexa.com>, John Milton <JM.Milton@solexa.com>, Geoff Smith <Geoff.Smith@solexa.com>, Kevin Hall <Kevin.Hall@solexa.com>, Colin Barnes <Colin.Barnes@solexa.com>, Lisa Davies <Lisa.Davies@solexa.com>, Vincent Smith <Vincent.Smith@solexa.com>, Klaus Maisinger <Klaus.Maisinger@solexa.com>
Conversation: WE'VE DONE IT !!!!
Subject: WE'VE DONE IT !!!!

Tony Cox, Peta and I now agree - having looked at all of the PH0374 data.

We have re-sequenced our first genome !!!!!!!
```

Маленький шаг вперед: внутрикорпоративное письмо руководителям Solexa, в котором сообщается о ключевом достижении – отсеквенирован первый геном крошечного вируса ФХ174

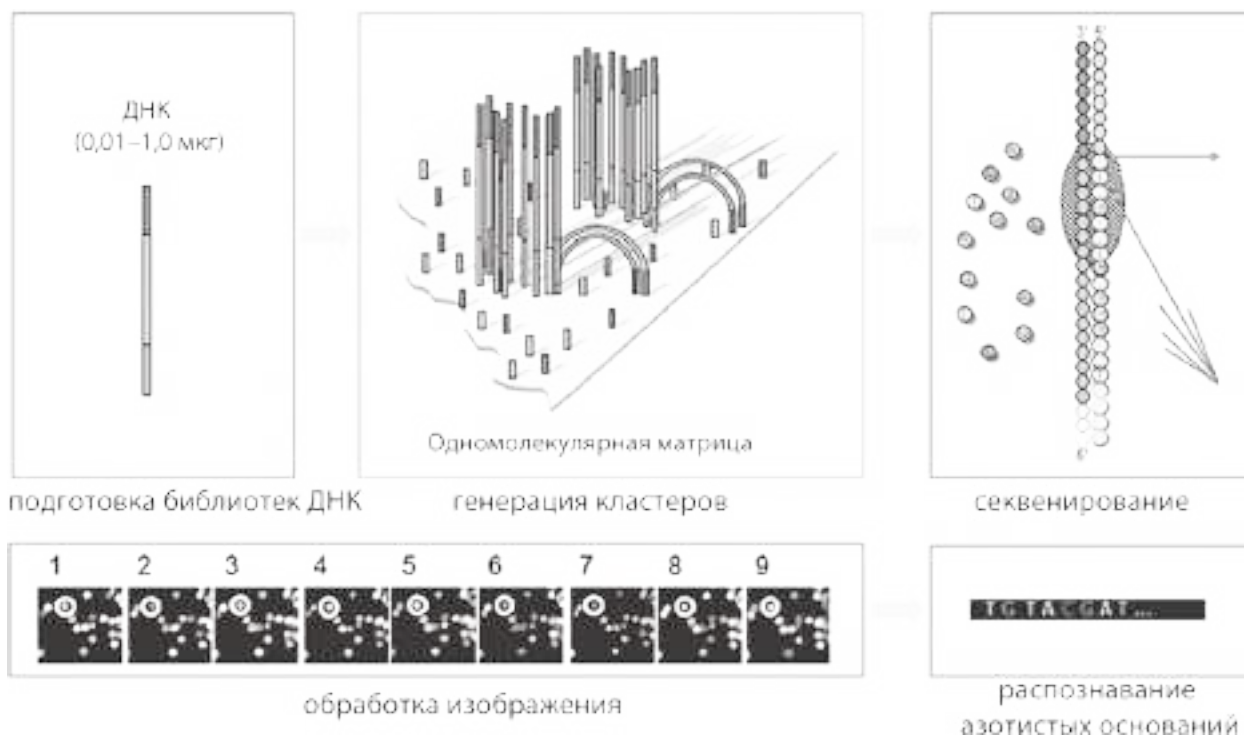
К апрелю 2008 года, когда статья об этом исследовании была опубликована в *Nature* (через 50 лет после публикации статьи о двойной спирали), у Ротберга и компании 454 развеялись всяческие сомнения по поводу поля и места деятельности. На ниве «новаторского секвенирования» становилосьлюдно. В 2005 году талантливый профессор из Стэнфорда Стив Квейк опубликовал статью с описанием нового метода одномолекулярного секвенирования ДНК. Метод был применен для считывания всего пяти оснований, но это настолько впечатлило венчурного капиталиста и предпринимателя Стэна Лapidуса, что он немедленно полетел в Калифорнию, чтобы уговорить Квейка на открытие новой биотехнологической компании. *Helicos* сконструировала секвенатор, который позволил наблюдать на уровне единичной молекулы за синтезом комплементарной цепи одной молекулы одноцепочечной ДНК с помощью одной молекулы ДНК-полимеразы. В этой технологии флуоресцентно меченные нуклеотиды и конфокальная микроскопия высокого разрешения позволяют секвенировать последовательность в реальном времени и одновременно для многих полимераз. Лapidус окрестил его «генным микроскопом». С помощью этого микроскопа Квейк собирался секвенировать собственный геном за каких-нибудь 50 тысяч долларов. Увы, компания *Helicos* столкнулась с технологическими сложностями и разорилась, но ее технологиями по-прежнему пользуются некоторые весьма солидные фирмы.

Компания *Pacific Biosciences (PacBio)* коммерциализировала технологию одномолекулярного секвенирования. В основе метода лежало использование Zero-mode waveguide (ZMW) – углублений диаметром несколько десятков нанометров, ко дну которых прикреплена единичная молекула ДНК-полимеразы. Сквозь дно в ZMW-ячейку подается свет в виде крошечного прожектора, который специалисты именуют «волновод нулевой моды». Особенность конструкции ZMW-ячейки не дает распространяться световой волне и оставляет освещенным только объем порядка 20 цептолитров (20×10^{-21} литров) около дна ячейки. Компания *PacBio* использовала ту же самую технологию, которая применяется на сетке в дверце вашей микроволновки; сетка не допускает утечки микроволн, пока вы наблюдаете, как ваша курочка карри шкворчит внутри. Технологические новшества позволили *наблюдать* флуоресценцию единичной флуорохромной метки, прикрепленной к тому нуклеотиду, который в данный момент встраивается ДНК-полимеразой. Соответственно, к четырем типам нуклеотидов пришиты разные флуоресцентные метки, что позволяет их идентифицировать. В результате при полимеризации цепи ДНК зафиксированным в Zero-mode waveguide ферментом можно получить зависимость интенсивности флуоресценции от времени, из графика которой по пикам разного спектра затем и будет определена последовательность ДНК.

Хью Мартин, первый гендиректор и основатель *PacBio*, побился о заклад, что к 2013 году будет секвенировать человеческий геном за 15 минут. Он и близко не подошел к решению этой проблемы, поскольку секвенатор, применявшийся в компании, напоминал саркофаг и весил почти тонну, а продажи на первом этапе шли отчаянно медленно. Тем не менее по мере совершенствования технологии *PacBio* удавалось считывать все более и более длинные отрезки ДНК – в некоторых случаях по 50–60 тысяч оснований, а именно такие фрагменты удобно сшивать при окончательной сборке генома. Более того, компания предполагает найти рынок сбыта для своих технологий в зарождающейся отрасли – эпигенетике. В компании планируют использовать изменения кинетических показателей полимеризации ДНК и, опираясь на полученные результаты, обнаруживать химически помеченные нуклеотиды. В 2015 году появилась информация о новой версии секвенатора с очень удачным названием Sequel, который стоит всего 350 тысяч долларов и может параллельно обрабатывать до миллиона одномолекулярных реакций. С его помощью можно в полном объеме и очень точно отсеквенировать геном человека всего за 10–20 тысяч долларов.

Важнейшее деловое событие в области новых технологий секвенирования произошло в 2007 году, когда компания *Illumnia* из Сан-Диего приобрела *Solexa* за 650 миллионов долларов. На тот момент *Illumnia* была активно развивающейся генно-инженерной компанией, отвоевавшей у *Affymetrix* львиную долю на рынке биологических микрочипов, однако ей не хватало коммерческой технологии секвенирования ДНК. Пилотные модели настольных приборов-секвенаторов от *Solexa* только начинали поступать в крупнейшие геномные центры: Сенгеровский институт фонда *Wellcome Trust* в Кембридже в Великобритании и в Броудовский институт в Кембридже, штат Массачусетс. Вскоре логотип *Solexa*, красовавшийся на этих аппаратах, сменился на логотип *Illumnia*. Один ведущий ученый из *Life Technologies* – эта компания являлась одним из основных конкурентов *Illumnia* – был настолько раздосадован сделкой с Сенгеровским институтом, что даже написал жалобу в Палату лордов британского парламента, потребовав расследовать дело и намекая, что здесь не обошлось без коммерческого сговора.

К концу 2008 года – спустя шесть месяцев после того, как информацию о моем геноме опубликовали в *Nature*, – у *Illumnia* не осталось сомнений в том, что именно их компания обладает более выигрышной технологией секвенирования. В одном из выпусков *Nature* были опубликованы три исследовательские статьи, описывавшие секвенирование геномов от трех разных людей. Статья специалистов из Вашингтонского университета в Сент-Луисе рассказывала о секвенировании первого генома онкобольного; группа китайских ученых из Пекинского института геномики (ПИГ) впервые секвенировала геном монголоида; компания *Illumnia* описала секвенирование генома анонимного африканского мужчины, снискав заслуженное признание ученых из *Solexa*, которые неотступно и целенаправленно разрабатывали эту технологию в течение предшествующего десятилетия. На тот момент секвенирование человеческого генома по-прежнему обходилось дороже 500 тысяч долларов. Тем не менее это было вдвое дешевле стоимости секвенирования моего генома. Никогда ранее в одном номере научного журнала не публиковалось нескольких работ о нескольких человеческих геномах. Уже просматривались перспективы секвенирования сотен, если не тысяч, различных человеческих геномов – некоторые секвенировались бы исходя из медицинской необходимости, а другие – из чистого любопытства.



Секвенирование путем синтеза молекулы ДНК: схематическое изображение метода секвенирования ДНК, изобретенного в компании Solexa и впоследствии доработанного в компании Illumina. Молекулы ДНК прикрепляются к подложке и амплифицируются. Нуклеотиды, помеченные флуоресцентными веществами – каждое основание своим цветом, пропускаются через участки ДНК и связываются с теми основаниями, которые им комплементарны. На снимке заметно местоположение всех встроившихся флуоресцентных оснований. После того как краситель будет удален химическим путем, цикл повторяется (обычно выполняется 100–200 таких циклов). Из последовательностей распознанных оснований в каждом кластере ДНК выстраивается вся последовательность генома

Сравнительные показатели основных коммерческих платформ для секвенирования нового поколения (по состоянию на 2016 год)

Прибор	Длительность цикла	Миллионов прочитываний за цикл	Средняя длина прочитываемого фрагмента	Стоимость реагентов на один цикл	Стоимость реагентов на 1 Гб	Основной за цикл
<i>Applied Biosystems 3730</i>	2 часа	0,000096	650	144 доллара	2,308 миллиона долларов	62 400
<i>Illumina HiSeq X</i>	3 дня	6000	300	12 750 долларов	7 долларов	1800 Гб
<i>Ion-Torrent Proton I</i>	4 часа	70	175	1000 долларов	190 долларов	12,25 Гб
<i>Pacific Biosciences Sequel</i>	0,5–6 часов	0,7	8000	500 долларов	90 долларов	5,6 Гб
<i>Oxford Nanopore MinION</i>	48 часов	4,4	10 000	900 долларов	1000 долларов	900 М

Стоит ли говорить, что идея персонального секвенирования генома привлекает далеко не только горстку самых состоятельных людей, даже если с научной точки зрения такой проект сравним с приобретением персонализированного автомобильного номера. Джордж Чёрч из Гарвардской медицинской школы – ученый-генетик и ярый сторонник секвенирования – основал компанию *Knome*, которая собралась зарабатывать именно на таких «особых клиентах» персональной генетики. Первым из этой компании стал швейцарский топ-менеджер из биотехнологической отрасли Дэн Стоическу, заплативший 350 тысяч долларов за то, что ему окажут особую честь: его ДНК будет интерпретирована командой светил медицины и биоинформатики. Он сообщил газете *New York Times*, что собирается изучить свой геном – записанный на фирменной флешке компании – не менее внимательно, чем разбирал бы инвестиционный портфель.

Ходили слухи, что среди первых клиентов компании *Knome* был и кто-то из членов британской королевской семьи. Открыто сообщалось, что секвенирование генома заказывал Оззи Осборн – вокалист *Black Sabbath* и известная звезда телевизионных реалити-шоу. Главный инженер компании *Knome* по интерпретации геномов Натан Пирсон летал в Великобританию, чтобы лично вручить Осборну результаты секвенирования в его шикарном имении в Букингемшире. Однако секрет долголетия звезды хэви-метал по-

прежнему остается тайной, зашифрованной в его геноме. В 2010 году компания *Illumina* также начала предоставлять подобные услуги со стартовой ценой 50 тысяч долларов за геном. Генеральный директор компании Джей Флэтли заказал секвенирование собственного генома и предсказал, что вскоре самые обычные люди будут разглядывать собственные геномные последовательности в приложениях для смартфонов и планшетов. Актриса Гленн Клоуз, активно пропагандирующая благотворительную помощь душевнобольным, также выразила желание секвенировать свой геном. Среди первых претендентов на секвенирование был топ-менеджер биотехнологической компании *Solexa* – Джон Уэст, организовавший вхождение *Solexa* в состав *Illumina*. Уэст также оплатил секвенирование генома своей жены и двух детей-подростков, пытаясь выяснить семейную предрасположенность к таким заболеваниям, как тромбоз глубоких вен, а через пару лет опубликовал подробный анализ этой информации. Предлагая услуги по персонализированной геномике, Флэтли принял важное стратегическое решение. Опасаясь возмутить Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA), которое могло воспротивиться прямому «обращению к клиентам», он рассудил, что все испытуемые должны перед секвенированием пройти медицинское обследование и получить направление врачей на исследование своего генома. В результате появились первые рекомендации на персональное секвенирование генома. Сегодня *Illumina* проводит по всему миру конференции «Узнай свой геном», посетители которых могут за несколько тысяч долларов получить полную информацию о собственном геноме и ее предварительную медицинскую интерпретацию.

Правы оказались те, кто говорил, что мой геном будет лишь первым из многих полностью секвенированных человеческих геномов. Однако существует гораздо более дешевый и эффективный способ предоставления персональной генетической информации потребителю, без такого полного секвенирования, которое делали для меня. Берется ДНК из буккального мазка или пробы слюны, а затем выполняется стандартное генотипирование этого образца. Проще говоря, мы не считываем все три миллиарда оснований в геноме, а исследуем около одного миллиона заранее выбранных сайтов – так называемых однонуклеотидных полиморфизмов или SNP («снипов»). В геноме есть места, где генетический код у разных индивидуумов различается очень сильно: там, где у вас А, у меня может быть Г. Большинство этих генетических трансформаций совершенно безобидны (хотя по-своему полезны в качестве маркерных участков в

экспериментах по генетическому картированию), но среди них есть и тысячи таких, которые ассоциированы с редкими или распространенными заболеваниями, а также с разными физиологическими и поведенческими признаками. Каждую неделю генетики каталогизируют медицинские проявления и ассоциации для все новых и новых SNP, и эта информация появляется на страницах ведущих медицинских и специализированных журналов по генетике.

В ноябре 2007 года две исключительно уважаемые компании – калифорнийская *23andMe* и исландская *deCODE Genetics* – стали рекламировать персональный анализ генома на основе SNP. Руководители этих компаний – Энн Войжитски и Кари Стефанссон соответственно – были убеждены в том, что благодаря таким услугам человек сможет в какой-то степени контролировать свое здоровье. Энн Войжитски на тот момент была замужем за Сергеем Брином, сооснователем *Google* – таким образом, и Энн, и Сергей занимались поиском. В течение более чем десяти лет компания *deCODE* успела исследовать геномы большинства исландцев (население страны невелико), выполнив при этом массу прорывных исследований в области генетических ассоциаций и облегчив поиск множества новых лекарств. Однако ни *23andMe*, ни *deCODE* не рекламировали свои услуги как диагностические анализы, пусть и сообщали информацию о некоторых генах, важных с медицинской точки зрения. Обсуждение результатов чьей-либо генетической экспертизы с врачом или генетиком-консультантом допускалось, но не являлось обязательным.

Всего за 199 долларов компания *23andMe* предлагала любому желающему узнать свои генетические факторы риска. Длинный персонализированный каталог однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) сводился к самой обычной таблице в Excel. В нее включались те однонуклеотидные маркеры, которые, по мнению большинства специалистов и публикаций в рецензируемых научных изданиях, связаны с серьезными патогенетическими нарушениями, в частности с болезнью Паркинсона и некоторыми сердечно-сосудистыми заболеваниями. Также эти SNP могут быть связаны с менее интересными признаками, например с вязкостью ушной серы или способностью ощущать запах спаржи в собственной моче (опять же если до этого вы ели спаржу). Теперь любой желающий мог воспользоваться услугами по составлению собственного каталога однонуклеотидных полиморфизмов и проверить, есть ли у него А или Г в конкретной точке 17-й хромосомы. Для человека это может быть признаком критической мутации в гене, вызывающей рак. Мутационные


изменения в 7-й хромосоме свидетельствуют о высоком риске тромбоза – речь идет о мутации фактора коагуляции V (также именуемого «фактор Лейдена»). Кроме того, можно установить наличие гена *APOE*, ассоциированного с болезнью Альцгеймера, это как раз тот фрагмент моей генетической информации, которую я осознанно решил не афишировать. Также всем желающим были предложены анализы на аллельные варианты генов, ассоциированные с повышенным риском развития широко распространенных, но сложно диагностируемых болезней: рака, сердечных заболеваний, рассеянного склероза и др. Компании, пользуясь патентованными алгоритмами, могут рассчитать ваш персональный риск и сравнить его с общепопуляционным риском.

Персональный анализ генома позволяет судить о предках исследуемого человека: сколько в вас европейской, азиатской и африканской крови. Проводится анализ Y-хромосомы, наследуемой от отца, и митохондриальной ДНК, передаваемой исключительно по материнской линии. Компания *23andMe* стала весьма успешно выпускать линию одежды, в частности футболки, на каждой из которой запечатлено, какова же доля генов неандертальца у ее обладателя.



В 2010 году я оказался на конференции в Бостоне вместе с примерно двадцатью другими первопроходцами геномики – теми, чьи геномы были полностью секвенированы. Среди них были генеральные директора компаний, занимающихся секвенированием: Джей Флэтли (у меня за

спиной), Грег Люсьер (в первом ряду с левого края) и Джордж Чёрч (мужчина с бородой в заднем ряду). Также присутствовали волонтеры, участвовавшие в гарвардском проекте «Персональный геном», в том числе гарвардский историк Генри Луис Гейтс по прозвищу Скип (в заднем ряду с левого края). Справа от меня – самая младшая в компании первопроходцев Энн Уэст

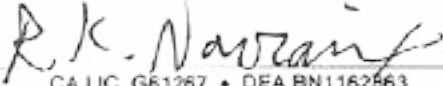
 **UCSD Medical Group**

Robert K. Naviaux, M.D., Ph.D.
Departments of Internal Medicine and Pediatrics
The Mitochondrial and Metabolic Disease Center
200 WEST ARBOR DRIVE
SAN DIEGO, CALIFORNIA 92103-8467
TELEPHONE (619) 294-6104

NAME ANNE WEST AGE 17
ADDRESS _____ DATE 11/7/09

R
BLOOD AND SALIVA FOR PERSONAL
GENOME SEQUENCING BY ILLUMINA

☐ LABEL REFILL _____ TIMES
☐ PRESCRIBE AS WRITTEN

 M.D.
CALIC 061267 • DEA BN1162563

Один из первых рецептов на полное секвенирование генома, выданный тинейджеру Энн Уэст (дочери бывшего гендиректора компании Solexa Джона Уэста)

Очевидно, что недостаток информации в области персональной генетики и геномики может быть опасным или как минимум бессмысленным. После выхода компании *23andMe* на рынок посыпались бесчисленные проклятия со стороны медицинского истеблишмента и стали слышаться шутки о «развлекательной геномике». Наиболее широкий отклик получила редакционная статья в «Медицинском журнале Новой Англии» (*New England Journal of Medicine*). Главный редактор Джеффри

Дрейзен и его коллеги писали: «Пока мы не можем употребить геном ради практической пользы, клиентам лучше тратить деньги на тренажерный зал или на личного инструктора по фитнесу», а также рекомендовали придерживаться здоровой диеты и заниматься физкультурой, чтобы снизить риск сердечно-сосудистых заболеваний и т. д. Например, мой друг Сидней Бреннер порицал так называемую развлекательную геномику, ставя ее в один ряд с астрологией.

Хотя медицинский истеблишмент имеет право настороженно относиться к научной значимости и клинической применимости анализов ДНК, предлагаемых пациентам «в розницу» как товар, их скептические замечания были изрядно сдобрены патернализмом. Неудивительно: они не учитывали в своих «уравнениях» среднестатистического врача. С одной стороны, я чистосердечно приветствую право потребителя знать собственную персональную генетику и на основе этих данных принимать меры, которые он сам сочтет необходимыми. Генетические стартапы, нацеленные на потребителя, всего лишь цитируют уже опубликованные в литературных источниках сведения на предмет наличия известных ассоциаций между маркерами ДНК и болезнями, а затем соотносят эту информацию с ДНК конкретных клиентов, предусматривая при этом все необходимые оговорки. С другой стороны, одно дело – раскрывать генетические тонкости, связанные с консистенцией ушной серы (влажная она или сухая), атлетическими талантами (спринтер или стайер) или с феноменом внезапного чихания при раздражении сетчатки глаза ярким светом, и совершенно иное – озвучивать, каков у конкретного пациента риск болезни Альцгеймера или возникновения мутации, вызывающей рак груди.

На этом тесном рынке компания *23andMe* скоро стала выделяться среди прочих, причем в большей степени благодаря талантливому маркетингу, чем техническому совершенству методов и качеству предлагаемых услуг. На первом этапе фирма получала финансовую поддержку от *Google*, а также выгодно использовала свои «корни» из Кремниевой долины. Компания давала «светские рауты», на которых присутствовали рок-звезды, модели и голливудские знаменитости – от Питера Гэбриэла в Давосе до Харви Вайнштейна и Руперта Мёрдока на Манхэттене. Рекламные дирижабли с логотипом *23andMe* можно было заметить над бухтой Сан-Франциско, а в 2008 году фирма выиграла конкурс «Изобретение года», проводимый журналом *Time* (тогда их исландские конкуренты были в ярости). Шокирующим откровением поделился и сам Сергей Брин: в истории его семьи были случаи болезни

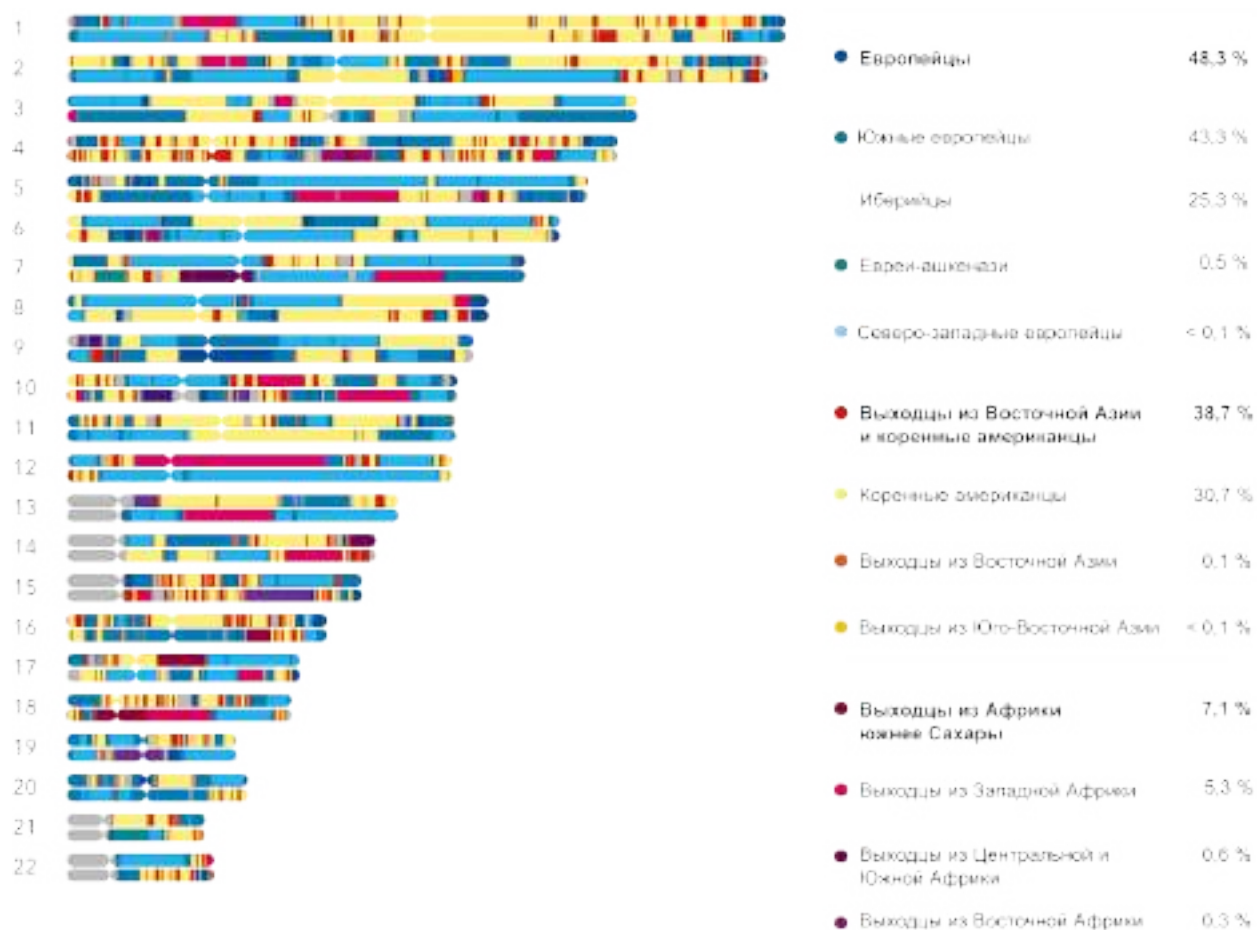
Паркинсона, и Брин обнаружил у себя мутацию в гене *LRRK2*, как раз отвечающем за эту болезнь. Конкуренция понемногу угасла, вскоре представители *deCODE* отправились в суд оформлять банкротство. Другой ранний конкурент, компания *Pathway Genomics*, ненадолго опередила *23andMe*, заключив сделку с аптечной сетью *Walgreens*, в результате которой их наборы для анализа ДНК оказались на аптечных полках. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, обеспокоенно наблюдавшее со стороны за индустрией потребительской генетики, довольно быстро задавило эту инициативу *Pathway Genomics*, пока такая диагностика не приняла неконтролируемые масштабы.

За шесть лет *23andMe* собрала базу данных из более чем 650 тысяч индивидуальных профилей ДНК, или, как бы мы сказали, генетических паспортов. Большинство клиентов компании дали добровольное согласие на обработку персональной информации о состоянии своего здоровья, предоставленной в анкетах через онлайн-сервисы, что позволило ученым из *23andMe* проводить виртуальное моделирование по генетическому картированию и находить новые гены, отвечающие за болезнь Паркинсона, астму и другие заболевания. Однако в ноябре 2013 года Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, встревоженное очередной рекламной кампанией на телевидении, наконец не выдержало. Агентство направило Войжитски письмо с требованием о приостановлении и последующем прекращении деятельности, запретив *23andMe* сообщать клиентам о генетических аспектах их состояния здоровья. Новые клиенты могли получить генетическую информацию исключительно о своих предках. Серьезное беспокойство было связано с тем, что клиент мог получить ошибочную информацию либо такие данные, которые можно неправильно интерпретировать. В качестве примера агентство приводило такую гипотетическую ситуацию: женщина получает ложноположительный результат анализа на наличие гена *BRCA1*, который может ввести в заблуждение лечащего врача и спровоцировать его на проведение ненужной хирургической операции. При этом любопытно, что FDA не запрещало клиентам скачивать из интернета их генетическую информацию в необработанном виде либо получать ДНК-отчет, действуя наоборот: загружать информацию о геноме на сайты, предлагающие услуги по интерпретации генов; одним из таких сервисов был Promethease.

В основе столкновения между FDA и *23andMe* лежал фундаментальный вопрос: следует ли позволять индивиду иметь доступ к подробной информации о собственном геноме без посредничества врача-

профессионала, играющего, по сути, роль «ключника»? Я твердо убежден: да, следует. FDA заняло эту позицию, видимо, полагая, что широкая общественность может столкнуться с некой гипотетической катастрофой, хотя и не продемонстрировало ни единого реального примера. Действительно, большинство фактов (в том числе описанных в многочисленных рецензируемых статьях, опубликованных не где-нибудь, а в *New England Journal of Medicine*) свидетельствуют о том, что общество вполне в состоянии понимать риски, связанные с потребительскими генетическими анализами. Генетик Роберт Грин и специалист по биоэтике Нита Фарахани в своей статье, опубликованной в *Nature*, писали следующее: «агентство должно воздерживаться от ограничений в сфере потребительской геномики, пока не выявлены эмпирические факты нанесенного ею вреда».

Через несколько месяцев после того, как FDA ввело запрет, все-таки удалось задокументировать случай некачественного потребительского генетического анализа. Как сообщили Кэт Браунштейн и ее коллеги из Детской больницы Бостона, клиент неназванной компании, получивший результаты генетического тестирования, был неверно проинформирован, что у него найдена серьезная мутация в гене *TPMT*. От этого гена зависит, излечима ли в его случае болезнь Крона, которой он страдает. Наличие этой мутации делает неэффективной и даже токсичной всю ранее проводимую терапию. Ситуация могла обернуться катастрофой для пациента. К счастью, секвенирование генома, выполненное другой диагностической компанией, показало, что заявленной мутации на самом деле нет. Таким образом, при получении результата необходимо учитывать, что анализ генома, как и любой медицинский анализ, может давать определенный процент как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. Учитывая вышесказанное, необходимо понимать, что выбор лечебных мероприятий не должен быть основан на результатах только одного генетического анализа.



Флуоресцентное окрашивание хромосом позволяет представить себе состав генома того или иного индивида. Ивонн Морантес – сотрудница компании 23andMe, у нее мексиканские и пуэрториканские корни. Теперь она гораздо лучше представляет себе свою генетическую родословную

Компании 23andME, столкнувшейся с препонами, которые чинило агентство FDA, пришлось принять меры. Во-первых, после долгих дискуссий с агентством компания 23andMe в апреле 2017 года наконец одержала победу, получив разрешение передавать клиентам результаты анализов и их интерпретацию по набору из 10 болезней, в том числе по болезням Альцгеймера и Паркинсона. Во-вторых, компания открыла в Великобритании и других странах филиалы, не подчиняющиеся ограничениям, наложенным FDA. Наборы для анализа ДНК теперь снова свободно продавались в одной из британских аптечных сетей, ориентированной на массового потребителя. Имея в распоряжении более миллиона профилей ДНК, 23andMe наконец достигла критической массы, при которой она стала представлять интерес для больших

фармацевтических компаний, заключила с ними несколько прибыльных сделок и наняла на работу гениального специалиста – бывшего директора компании *Genentech* по научным исследованиям и разработкам, которому и поручила возглавить корпоративную программу поиска новых лекарств.



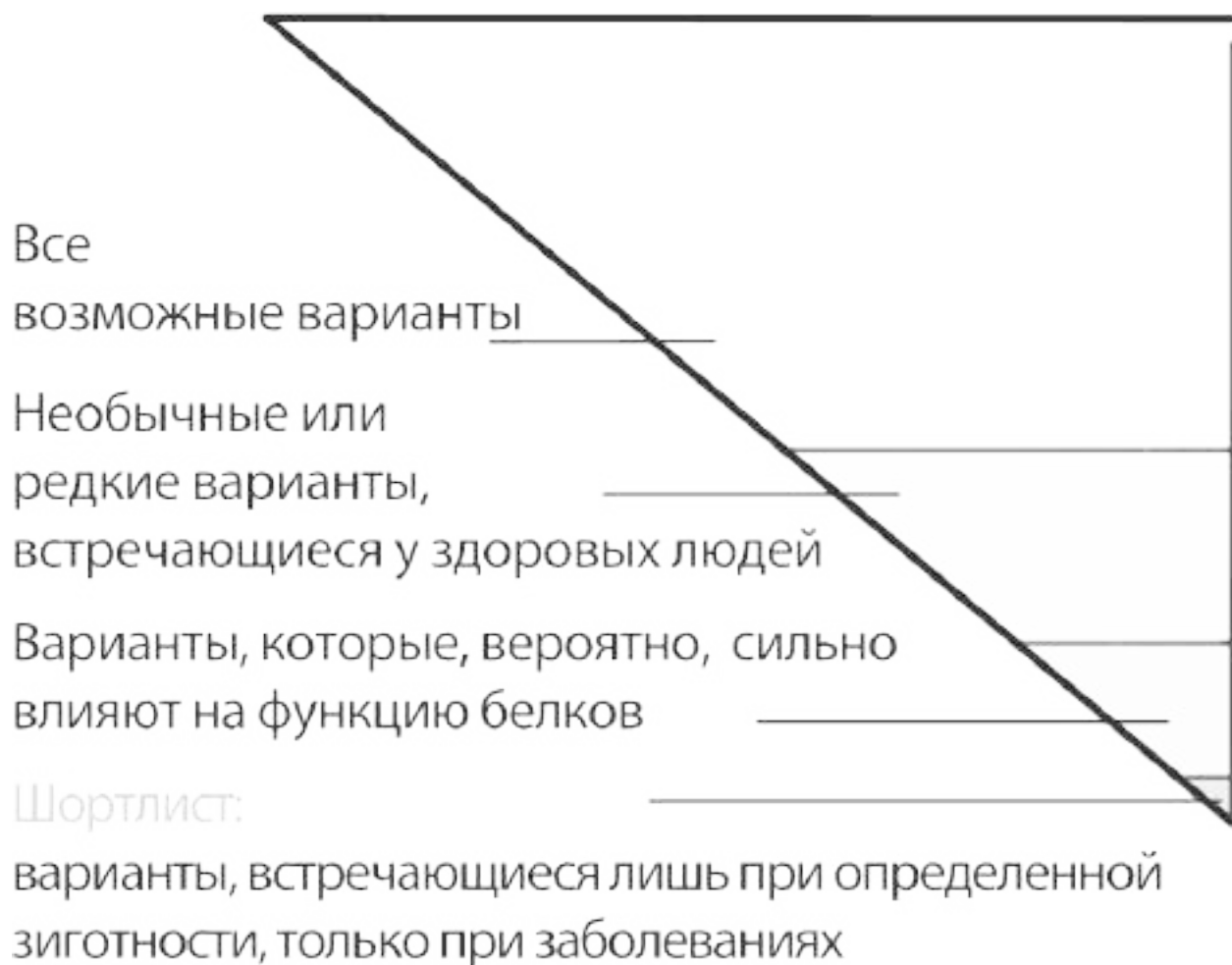
Николас Волкер: ребенок-символ, демонстрирующий, как секвенирование генома может положить конец безнадежной диагностической одиссее

Николас Волкер только что отпраздновал свой одиннадцатый день рождения, как любой другой мальчик, он был счастлив носиться по танцевальному залу, заниматься йогой, плаванием и карате. Хотя, глядя на него, не скажешь, что он – также ребенок-символ в истории революции клинического секвенирования геномов.

Эта история началась в один уик-энд летом 2009 года, когда Говард Джейкоб, генетик из Медицинского колледжа штата Висконсин, открыл

электронное письмо от коллеги-врача, в котором тот в душераздирающих тонах изложил просьбу храброго четырехлетнего мальчика. Врачи, наблюдавшие и лечившие маленького Ника, никак не могли диагностировать, чем же он болен, – подозревали аутоиммунное заболевание, медленно сжирающее его пищеварительный тракт. Ник перенес больше сотни операций – врачи тщетно пытались залатать дыры у него в кишках. Большую часть времени из четырех лет своей жизни он провел в детской больнице.

В письме, открытом на экране компьютера у Джейкоба, был единственный вопрос: если секвенировать геном Ника – появится ли шанс обнаружить генетическую подоплеку болезни мальчика в том случае, если дело действительно в генах? В лаборатории Джейкоба ставили эксперименты на крысах, а не на людях, но он ждал подходящего момента, чтобы опробовать клиническое секвенирование генома. В данном случае представилась отличная возможность. Что, если странное заболевание Ника в мельчайших подробностях прослеживается в его генетическом коде? Однако в то время врачи могли лишь предложить тестировать подозрительные гены по одному. Джейкоб признавал, что для поиска истины, которая помогла бы завершить генетическую одиссею Ника (так он ее называл), врачи должны были провести полномасштабный поиск: секвенировать геном ребенка и систематически отсеивать все варианты ДНК, пока наконец не выявят тот, из-за которого болеет Ник.



Иголка в стоге сена: чтобы вычлениить редкую разрушительную мутацию из пула с тысячами потенциальных вариантов ДНК в геноме пациента, исследователи сужают поле поиска, отсеивая такие изменения последовательностей, которые сравнительно широко распространены, либо те мутации, которые, скорее всего, не будут влиять на функцию белков. Таким образом, список «подозрительных» мутаций иногда сужается менее чем до десяти

Еще в 2009–2010 годах стоимость полного секвенирования генома оставалась запредельно высокой, поэтому команда Джейкоба, сотрудничавшая с *Life Sciences*, пошла на хитрость, секвенировав экзом Ника, то есть 2–3 % генома, на которые приходится около 20 тысяч генов, и наудачу предположив, что мутация не затеряна в куче некодирующей «мусорной» ДНК. Одна из коллег Джейкоба, шотландский биоинформатик Лиз Уортис составила список примерно из двух тысяч потенциально подозрительных генов – это целых 10 % генетического багажа человека.

Никаких особенных мутаций там не обнаружилось. Но Лиз обратила

внимание на ген *XIAP*, находящийся в X-хромосоме. У Ника на этом участке оказался такой вариант последовательности, который явно указывал на редкое генетическое заболевание, именуемое «X-сцепленный лимфопрофилиративный синдром второго типа», разрушающий нормальную работу иммунной системы. Команда из Висконсина догадалась, «откуда ветер дует»: нужно было срочно действовать, ведь теперь лечащие врачи Ника имели все основания назначить ему трансплантацию костного мозга.

Эпопея Ника была изложена в виде серии статей в *Milwaukee Journal Sentinel*, удостоенной Пулитцеровской премии, а затем в книге *One in a billion* («Один на миллиард»), написанной теми же авторами. После успешной трансплантации Ник впервые в жизни смог с удовольствием отметить Хэллоуин, попробовать твердую пищу и даже пошел в школу. Увы, невзгоды Ника пока не закончились: он стал страдать настолько частыми приступами эпилепсии, что вынужден был носить защитный шлем. Родители Ника обратились в Законодательное собрание штата Висконсин с просьбой разрешить мальчику принимать ограниченные дозы марихуаны, которая помогает от эпилепсии. Все-таки для Ника это был огромный прогресс. Выражение «конец диагностической одиссеи» стало ассоциироваться прежде всего с тем подходом, который впервые опробовали Джейкоб с коллегами. Это и неудивительно: сегодня стоимость полного секвенирования генома пациента составляет от двух до трех тысяч долларов, что, по иронии судьбы, даже меньше платежей, взимаемых за секвенирование единственного ракового гена, запатентованного некоторыми компаниями, такими как, например, *Myriad Genetics*, контролирующая проведение теста *BRACAnalysis*.

После того как генетики, выступив в роли сыщиков, смогли идентифицировать характерные для ряда заболеваний мутации, многие дети повторили путь Ника; в некоторых случаях (но пока их очень мало) удалось достичь весьма примечательных результатов. Так, близнецы, дети Ретты и Джо Берри, с раннего детства страдали неврологическими расстройствами. Им было выставлено огромное количество крайне противоречивых диагнозов, в том числе судорожная параплегия. Лечение нейрорхимическим препаратом L-диоксифенилаланином ненадолго давало положительный эффект, но затем маленькой Алексис снова становилось хуже. К счастью, Джо Берри, отец детей, работал главным системным администратором в *Life Technologies*, поэтому у него были полезные связи, позволившие провести секвенирование. Когда коллеги секвенировали ДНК его детей, там обнаружилась редкая мутация, указывающая на синдром

Сегавы. Достаточно было дополнить L-диоксифенилаланин селективным ингибитором обратного захвата серотонина (это очень распространенное и доступное лекарство) – и близнецы практически полностью выздоровели.

Многие дети избежали диагностических одиссей с тех пор, как история Ника Волкера попала на первые полосы газет. Это были Лилли Гроссман из Ла-Хольи, штат Калифорния; Джейкоб и Дилан Эллингемы из Сакраменто, храбрый Шелби Вейлинт из Финикса, штат Аризона (Шелби теперь может ходить благодаря тому, что удалось открыть критическую ошибку в его гене, отвечающем за синтез дофамина). Когда Кэт Браунстейн и ее коллеги из детской больницы Бостона устроили соревнование между тридцатью командами, которым было поручено идентифицировать мутации у трех пациентов, одна мама, узнавшая, что мышечное расстройство у ее сына обусловлено мутацией в гигантском гене титина, едва сдерживала слезы, когда благодарила ученых. Ее сын одиннадцать лет блуждал по медицинским лабиринтам, и вот эта история закончилась постановкой диагноза.

В настоящее время все больше и больше медицинских центров предлагают те или иные варианты клинического генетического секвенирования. В детской больнице города Мэдисон, штат Висконсин, врачи ежемесячно проводят встречи, на которых представляют и обсуждают пациентов-кандидатов, которым безотлагательно требуется полное секвенирование генома. Ни в одном другом медицинском центре не изучили столько полных геномов пациентов, сколько в Бэйлорском медицинском колледже, город Хьюстон. Кристин Энг с коллегами секвенировали ДНК двух тысяч пациентов; при этом в 25 % случаев удалось верифицировать диагноз. Аналогичные показатели успешной диагностики наблюдаются и в большинстве других центров, в частности у группы Джейкоба, открывшей специализированный центр клинической геномики в Хантсвилле, штат Алабама. По мере того как медицинская польза от клинического секвенирования генома становится все очевиднее, страховые компании также стараются на этом зарабатывать: зачастую все затраты на секвенирование генома возмещаются, хотя такую работу можно сравнить просто с высокотехнологичным походом на рыбалку.

Правда, даже у самых многообещающих подходов есть свои недостатки. Во-первых, приходится компилировать колоссальную массу генетической информации, не связанной с рассматриваемым заболеванием, – генетик Айзек Кохейн назвал эти данные словом «инциденталом». Какие права имеют пациенты и их родственники на эту дополнительную информацию? Следует ли сообщать им информацию

лишь об одном, рассматриваемом гене? Как поступать с информацией о десятках других обнаруженных генов, которые могут серьезно влиять на здоровье?

С разрешения Американского колледжа медицинской генетики (АКМГ) ученые, занимающиеся этим вопросом, составили список примерно из двадцати генов, которые врач должен проверять вне зависимости от обстоятельств. Критики возражали, говоря, что при этом нарушаются права пациента, который, возможно, чего-то о себе знать не хочет, но Роберт Грин, один из авторов доклада, развенчивает такие опасения: «Радиолог, интерпретирующий ваш рентгеновский снимок... по долгу службы обязан изучить весь снимок и сообщить вам обо всех случайных находках, которые потенциально может обнаружить». Невозможно оправдать врача, который не скажет пациенту об опухоли в почке, потому что искал у него всего лишь камни. То же должно касаться и генетических анализов. Проанализировав результаты общественного мнения в отношении своих исходных рекомендаций, АКМГ выпустил обновленные рекомендации, согласно которым семьи должны иметь возможность добровольно отказаться от информации о каких-либо дополнительных результатах, полученных при секвенировании, но это должно произойти до момента проведения процедуры секвенирования, а не после предоставления результатов.

Стоимость секвенирования геномов резко снизилась, и это событие резонировало во всей индустрии, специализирующейся на диагностике генов. Кажется абсурдным, что сегодня можно секвенировать геном пациента полностью за ту же цену – несколько тысяч долларов, какую некоторые компании требуют за анализ единственного гена. Думаю, что со временем врачи массово перейдут к полному секвенированию геномов, хотя для этого понадобится решить множество проблем – от поддержки компьютерных систем до обеспечения страхового возмещения и пересмотра всей системы преподавания современной генетики студентам-медикам. Добавьте сюда и некоторые юридические аспекты.

В мае 2009 года Американский союз защиты гражданских свобод (ACLU) подал иск от лица двух женщин против Патентного бюро США и *Myriad Genetics*, диагностической компании из Солт-Лейк-Сити, запатентовавшей гены *BRCA1* и *BRCA2*, отвечающие за рак груди. В иске говорилось, что компания *Myriad*, агрессивно отстаивая собственную монополию на проведение генетических исследований, позволяющих выявить рак груди, не позволила одной из истниц перепроверить результат ее же собственных анализов, другая истица не смогла получить страхового

покрытия по программе Medicare за анализ. Дело дошло до Верховного суда США. На кону была не только судьба патентов *Myriad*, связанных с генами *BRCA*; теперь уже был подвергнут сомнению один из центральных столпов биотехнологической индустрии – убеждение, что идентифицированные человеческие гены подобны изобретениям и что их можно патентовать.

Адвокаты компании *Myriad* доказывали, что их фирма не просто идентифицировала *BRCA1* в 17-й хромосоме, но и первой выделила его, то есть фактически «изобрела», изготовив отредактированную копию гена, которую затем использовала во всех своих анализах. Истицы ответили двумя следующими ключевыми доводами. Во-первых, ген – это естественная часть хромосомы, поэтому обычное выделение участка ДНК едва ли может быть объектом для патентования. Судья Соня Сотомайор парировала речь адвоката следующими словами: «Если отрезать ломтик печени, это же не позволяет запатентовать печеночную ткань. Вы берете ген и вырезаете из него кусочек, верно? Так в чем же разница?»

Излагая свой второй аргумент, Эрик Ландер камня на камне не оставил от фундаментального допущения, применявшегося при патентовании генов, согласно которому изолированные гены – это фрагменты ДНК, не встречающиеся в природе. Ландер утверждал, что все как раз наоборот: исследования показывают, что копии генов действительно существуют в крови и их там вполне достаточно для диагностических целей. Я прибавил к этому собственное консультативное заключение, в котором указывал, что ради блага науки гены не должны патентоваться; гены по природе своей уникальны в отличие от любых прочих обычных, пригодных для патентования «составов вещества».

13 июня 2013 года, четыре года спустя после первого процесса, Верховный суд отменил «генетические патенты». «*Myriad* ничего не создала, – постановила судья Кларенс Томас. – Следует признать, что *Myriad* открыла важный и полезный ген, но выделение этого гена из окружающего генетического материала не является актом изобретения». В сущности, суд постановил, что идентификация и извлечение важного гена из человеческого генома ценны само по себе, но не дают права патентовать генетическую последовательность.

Такое решение было с восторгом воспринято среди ученых-генетиков. Гарри Острер из Медицинского колледжа города Нью-Йорка им. Альберта Эйнштейна выразил мысли многих: «Такое решение возвращает изолированную ДНК и ее гены в собственность Природы, где им и положено быть... это решение откроет возможности для новых анализов и

даст второй шанс тем, кто сейчас его лишен». А Мэри-Клэр Кинг, впервые выделившая ген *BRCA1* (это было в то время, когда многие вообще сомневались в наличии генетической предрасположенности к раку груди; об этом мы поговорим в главе 14), приветствовала это решение как «фантастический результат в пользу пациентов, врачей, ученых и здравого смысла». В течение считанных недель после этого вердикта несколько диагностических фирм запустили собственные программы анализа на наличие *BRCA1* уже по гораздо более доступным ценам.

Стремительное удешевление секвенирования ДНК вкупе с другими технологическими достижениями изменило весь профиль клинической диагностики. Одним из важнейших достижений стал метод NIPT (неинвазивная пренатальная диагностика); метод основан на том, что ДНК плода в небольшом количестве присутствует в материнском кровотоке. Следовательно, при помощи обычного анализа крови можно выявить такие расстройства, как синдром Дауна и иные так называемые трисомии, связанные с наличием лишней хромосомы в геноме плода. Такой анализ позволит многим будущим матерям обойтись без амниоцентеза или биопсии хориона; обе эти процедуры представляют хоть и небольшой, но доказанный риск для плода (теперь такие анализы могут проводиться лишь для подтверждения положительного результата NIPT). Несколько компаний, в том числе *Sequenom*, *Ariosa*, *Ventara* и *Natera*, теперь предлагают на рынке анализы для определения таких состояний.

В настоящий момент NIPT-тестирование позволяет выявлять лишь немногочисленные врожденные аномалии. В принципе, с помощью такого метода можно полностью исследовать геном плода. Новаторскую идею предложил Джей Шендью, врач-исследователь из Вашингтонского университета. Он вместе с коллегами разработал метод, позволяющий почти со стопроцентной точностью вычислять геномную последовательность плода, полученную из образца материнской крови, сравнивая ее с последовательностями, взятыми у обоих родителей. Им удалось на основе анализа проб крови матери и слюны отца полностью реконструировать наследственный материал будущего ребенка и проверить его на наличие так называемых моногенных заболеваний.

Этические проблемы в области секвенирования генов предположительно здорового плода будут обсуждаться еще много лет. Но сегодня такая практика существует. Разиб Хан, аспирант тридцати с небольшим лет, блогер, решил секвенировать ДНК своего первого ребенка, когда жена еще была беременна. Хотя еще в 2012 году в *New England Journal of Medicine* появилась статья о полном секвенировании генома

плода на этапе внутриутробного развития, эта операция была проделана для подтверждения положительного цитогенетического анализа. Хан решил секвенировать геном своего еще не рожденного ребенка не из-за каких-то безотлагательных проблем с его здоровьем, а потому что это «круто» и Хану нравилось «раздвигать границы возможного». Он убедил коммерческую компанию, занимавшуюся генетическими анализами, провести биопсию хориона на материале кусочка плаценты жены, но чтобы образец ДНК врачи вернули обратно Хану. (Представители компании колебались: как правило, образец ДНК передают лечащему врачу, а не мужу пациентки.) Затем Хан уговорил коллегу запустить ДНК на свободную дорожку в рамках текущего высокопроизводительного эксперимента по секвенированию. Воспользовавшись бесплатным веб-ресурсом Promethease, Хан проанализировал данные и с облегчением убедился, что ДНК его ребенка «довольно скучная». В чарующем своей новизной новом мире персональной геномики «скучная» означает «ура, пронесло».



Президент Джордж Буш подписывает закон о запрете дискриминации на основе генетической информации (GINA) в 2008 году

Еще одно юридическое решение, на сей раз касающееся генетической

конфиденциальности, серьезно повлияло на нарождающуюся геномную медицину. По мере того как все больше и больше людей получали доступ к своей генетической информации, неудивительно, что становится необходимо позаботиться о приватности и безопасности этой информации. Что если данные о моей ДНК окажутся в распоряжении моей страховой компании? После нескольких неудачных попыток удалось принять в Конгрессе закон, запрещающий использовать генетическую информацию для какой-либо дискриминации при трудоустройстве либо отказывать в страховании здоровья исходя из такой информации. В 2008 году президент Джордж Буш утвердил закон о запрете дискриминации на основе генетической информации, сокращенно GINA. Неясно, удалось ли предотвратить при помощи этого закона случаи такой дискриминации. Также отметим, что GINA никак не влияет ни на страхование жизни, ни на долгосрочное страхование по медицинскому уходу. Генетик Роберт Грин припоминает случай из практики: несколько лет назад он проводил клиническое исследование того, как родственники пациентов с болезнью Альцгеймера воспринимают собственные анализы на присутствие гена APOE. Прежде всего, было изучено, какой психологический эффект оказывает новость о повышенном риске развития деменции с поздним началом. Грин отметил, что волнение по этому поводу минимально; однако, как показывают наблюдения, многие носители этого гена интересуются долгосрочным страхованием по медицинскому уходу. Конечно, можно понять, почему эти люди пользовались «инсайдерской» информацией с целью переиграть систему. Следует признать, что эта упреждающая информация является формой знаний о самом себе. Однако если такая практика распространится на другие состояния и станет широко использоваться, то в результате будет уничтожен бизнес долгосрочного страхования по медицинскому уходу, а также частное медицинское страхование, когда здоровые платят за больных, но никто заранее не знает, в какой из категорий кто окажется. Поэтому руководство страховых компаний крайне заинтересовано в выявлении случаев использования данных такой «агентурной разведки». Да, уж вот где есть веские причины для паранойи.

В 2013 году Янив Эрлих, израильский ученый, тогда работавший в Институте Уайтхеда, опубликовал результаты исследования, которые всколыхнули все генетическое сообщество. Группа Эрлиха использовала для исследования предположительно анонимную геномную информацию из открытых баз данных и путем перекрестного сравнения этой информации с подборками родословных смогла идентифицировать

конкретные личности. Эрлих хотел доказать, что людям, сдающим ДНК для клинических исследований, не гарантирована конфиденциальность. Какие еще лазейки могут быть найдены в период всего биоинформационного бума нашего времени?

В 2005 году генетик Джордж Чёрч из Гарвардской медицинской школы основал проект PGP («Личный геном»), стремясь изменить подходы к ранее имевшимся проблемам. Проект PGP архивирует и собирает информацию с абсолютно открытых для общего пользования источников. Чёрч предлагает добровольцам полностью расшифровать их геном, в обмен на что они соглашаются выложить в открытый доступ полученные генетические данные. Среди первых добровольцев были двое гарвардских коллег Чёрча – Генри Луис Гейтс-младший по прозвищу Скип, психолог и писатель Стивен Пинкер, а также инвестор Эстер Дайсон и Миша Ангрист из Университета Дьюка, описавший становление всего проекта в книге *Here Is a Human Being* («Это человек»). «А король-то голый, – говорит в своей книге Миша Ангрист, – абсолютная приватность и конфиденциальность – это всего лишь иллюзия». Правда, в утопических представлениях о полной прозрачности мира в целом и конкретного генома в частности нравится жить далеко не каждому члену социума.

В январе 2014 года бывший генеральный директор *Illumina* Джей Флэтли стал возмутителем спокойствия на крупной медицинской конференции в Сан-Франциско. В аудитории, до отказа забитой банкирами, инвесторами и аналитиками, он заявил, что его компания вот-вот преодолеет рубеж «геном за тысячу долларов». Компания уже захватила лидерство в гонке по производству аппаратуры для секвенирования, а здесь представила новый инструмент: HiSeq X Ten. Работая на полную мощность в течение проектного срока (четыре года), машина должна была отсеквенировать тысячи человеческих геномов по тысяче долларов за каждый. Проблема заключалась в том, что сами машины можно было заказать только в комплекте по 10 штук (отсюда и название) и стоимость каждой составляла миллион долларов. Тем не менее исследовательские центры и корпорации поспешили закупить эти машины, отчаянно стремясь не отстать в гонке по секвенированию геномов. Среди заказчиков были крупные геномные центры из Бостона, Нью-Йорка и Великобритании, азиатские организации, занимающиеся заказными научными исследованиями, а также новая компания Крейга Вентера *Human Longevity*.

Не все были готовы признать, что *Illumina* достигла психологического рубежа «геном за тысячу долларов». В журнале *Nature* появился комментарий автора, назвавшегося Уинстоном Черчиллем, который

доказывал, что этот ценовой порог может быть достигнут только в 2018 году. Но попутный ветер благоприятствовал Флэтли и его фирме из Сан-Диего. После того как в конце 2008 года *Illumina* опубликовала свои первые несколько последовательностей геномов, она набрала темп, повысила качество работы и длину считываемых фрагментов, а гонка тем временем практически прекратилась. Конкуренты один за другим сошли с дистанции. Среди них была компания *Helicos*, разработчик прибора HeliScore для одномолекулярного секвенирования; в компании не смогли справиться с технологическими сложностями своего аппарата, который был размером с заводской рефрижератор. Не выдержала конкуренции и *Roche*, фармацевтический гигант, который на раннем этапе приобрел 454 *Life Sciences*, но так и не смог развить их технологию, подняв ее на более высокий уровень.

На протяжении нескольких лет наиболее серьезную конкуренцию для *Illumina* составляла компания *Life Technologies*, которая приобрела небольшую бостонскую фирму *Agencourt* и взялась за разработку альтернативного метода секвенирования. В отличие от *Illumina* и большинства других конкурентов, работавших с ДНК-полимеразой, в основе системы SOLiD использовалась ДНК-лигаза. Командой секвенаторов SOLiD руководил Кевин Маккернан, умный словоохотливый энтузиаст-биотехнолог, который по иронии судьбы ранее выступал конкурентом предшественника *Life* (*Applied Biosystems*). Это было в те годы, когда он работал в команде Эрика Ландера на проекте «Геном человека». Система секвенирования SOLiD конкурировала непосредственно с *HiSeq*. В течение года с небольшим Маккернан и Флэтли упражнялись в немного ребяческой пикировке мнениями, выпуская пресс-релизы в духе «у меня точно как у тебя, но на один больше». Тот факт, что штаб-квартиры обеих компаний – *Life Technologies* и *Illumina* – располагались в районе Сан-Диего, лишь распалял их соперничество.

Пока многие академические лаборатории, в том числе Бэйлорский геномный центр Ричарда Гиббса, осваивали приборы SOLiD, на тот момент компании *Life* не удавалось выдвинуть *Illumina* с ее лидерских позиций. В 2010 году *Life* сменила курс, рискнув по-крупному: она выделила около 725 миллионов долларов на поддержку новейшей компании Джонатана Ротберга *Ion Torrent Systems*. После ухода из компании 454 Ротберг продолжал разрабатывать альтернативные варианты секвенирования. Он придумал хитроумный метод, суть которого заключалась в следующем: метод основан на связи между химической и цифровой информацией, что позволяет быстрее и проще секвенировать большое количество образцов.

Эта технология также называется pH-индуцированным секвенированием. Процесс основан на детекции протонов, которые получаются при синтезе цепи ДНК как побочный продукт. Как следствие, pH раствора меняется, что и можно детектировать. Платформа Ion Torrent отличается от остальных технологий секвенирования тем, что в ней не используются модифицированные нуклеотиды и оптические методы. Метод Ion Torrent позволяет исследовать транскрипты, малые РНК. Платформа Ion Torrent позволяет считывать последовательность ДНК гораздо дешевле, чем другие имеющиеся инструменты, работа которых связана с использованием мощных лазеров и дорогих камер.

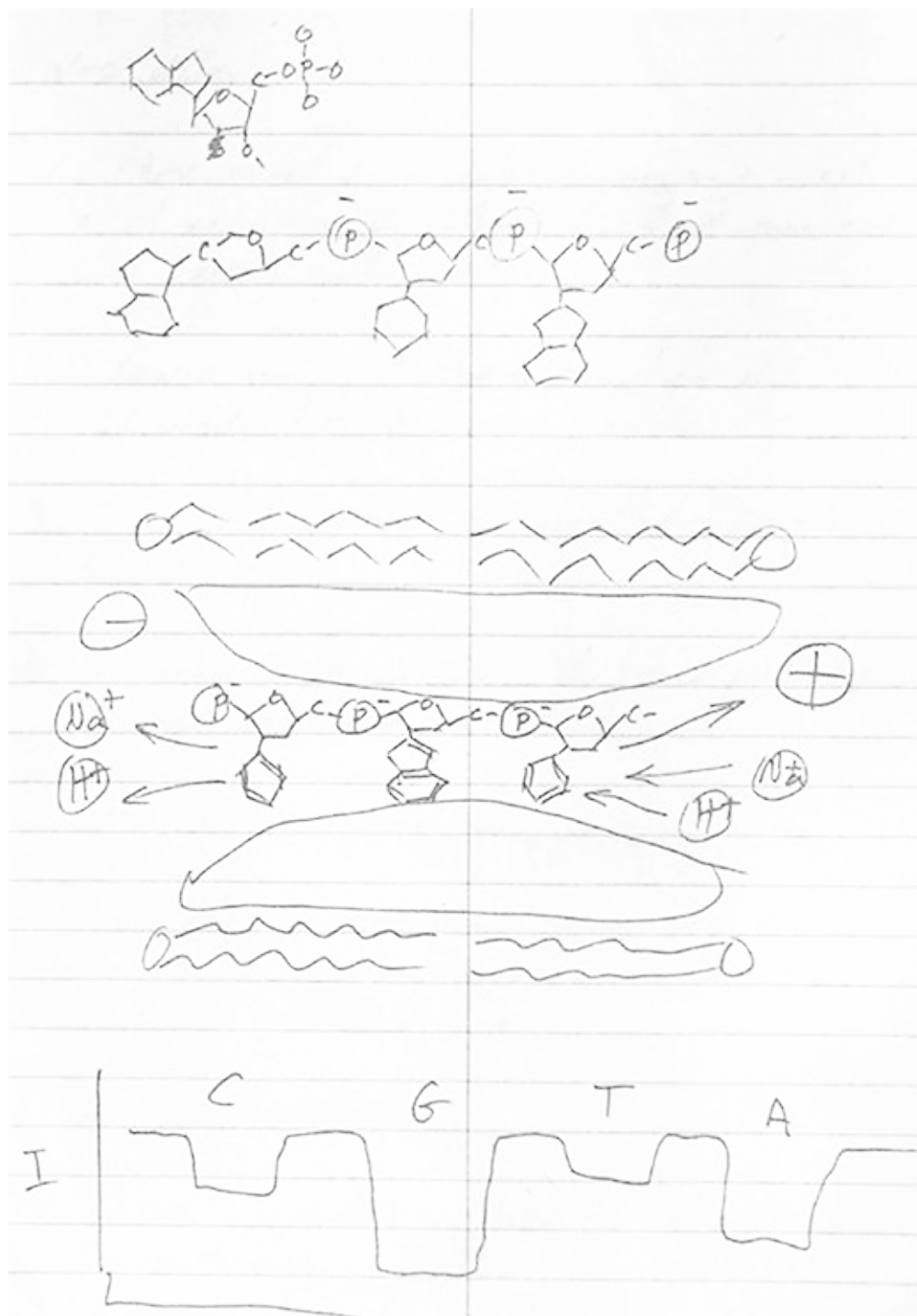
Когда воодушевленный Ротберг представил аппарат Personal Genome Machine в переполненной аудитории на конференции по геномике в 2011 году, он даже заявил, что еще вчера эта машина секвенировала ДНК прямо у него в гостиничном номере, хотя это, возможно, противоречило указаниям FDA. Двое коллег Ротберга водрузили прибор на сцену, чтобы продемонстрировать, насколько (относительно) мобильна эта машина. Аппарат Ротберга, стоивший каких-то 50 тысяч долларов, был призван демократизировать секвенирование – и это в какой-то степени удалось. Продажи росли благодаря заманчивой перспективе, что каждое последующее поколение чипов в основе системы позволит экспонентно повышать темпы секвенирования. В результате состязание за победу в деле инновационного секвенирования превращалось в гонку двух фаворитов – *Illumina* и *LifeTechnologies*; компания 454 проигрывала конкуренцию, а замыкала этот дивизион компания *Roche*.

Однако «гонка секвенаторов», несомненно, должна была пройти еще немало зигзагов и поворотов. Более двух десятилетий исследователи работали над, казалось бы, простой новой концепцией: дело в том, что при протягивании ДНК через бактериальные белковые мембраны, образованные естественным образом и именуемые нанопорами, можно определять последовательность нуклеотидов. Впервые эту идею сформулировал химик Дэвид Димер из Калифорнийского университета в Санта-Крус, обрисовавший такую систему в 1989 году на листе желтоватой линованной бумаги.

Через несколько лет Димер совместно с Дэном Брэнтоном из Гарварда опубликовал результаты исследования, подтверждающие эту концепцию. «При условии дальнейшей доработки этот метод, в принципе, мог бы обеспечить непосредственное и высокоскоростное обнаружение последовательности оснований в отдельно взятых молекулах ДНК или РНК», – прогнозировали авторы, в то время как коллеги еще только

готовились к первым черновым работам по секвенированию человеческого генома.

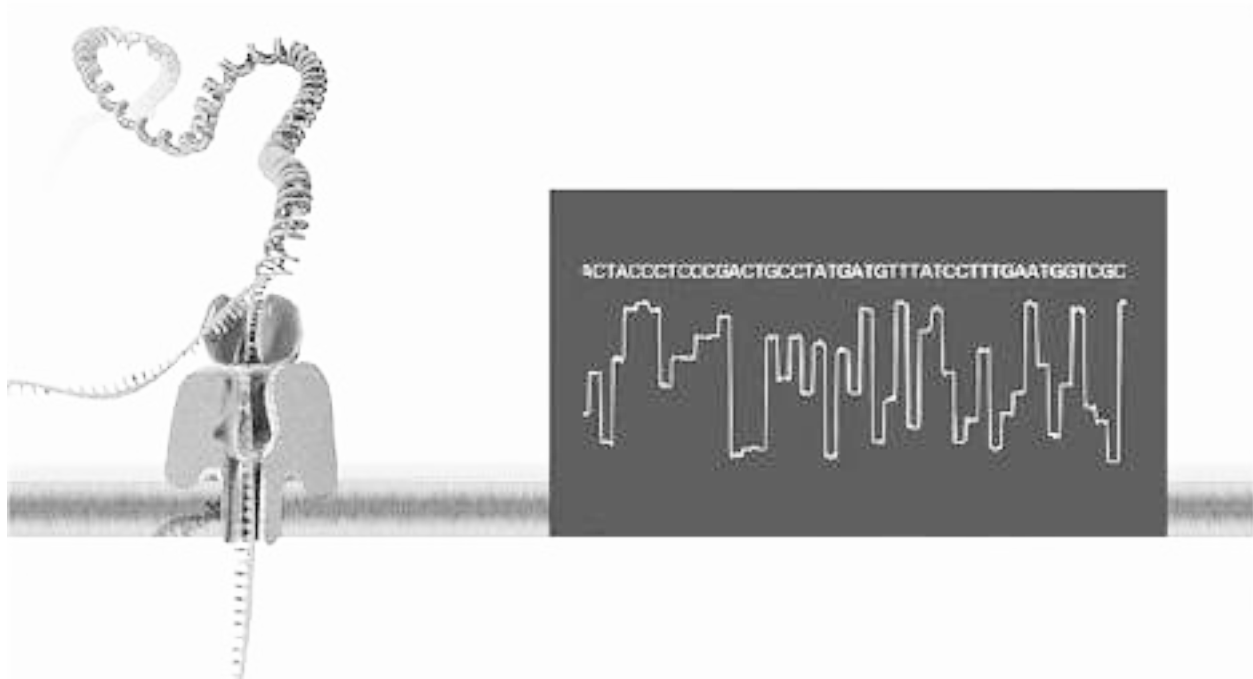
Спустя чуть более десяти лет британский химик и специалист по нанопоровому секвенированию оксфордский профессор Хаган Бейли основал компанию *Oxford Nanopore Technologies*. Компания пригласила на работу двух «ветеранов» из *Solexa*: Клайва Брауна и Джона Милтона, – которым было поручено разработать технологии: от компьютерных и программных систем до создания самих нанопор и других компонентов. Работа в значительной степени базировалась на идеях, сформулированных Димером и Брэнтоном еще в 1990-е годы: проделываем белковую нанопору в плоской полимерной мембране, так что ДНК может проникнуть через мембрану лишь сквозь эту крошечную нанопору. Пропускаем через мембрану электрический ток и измеряем сопротивление (изменение тока) за период времени. ДНК проскальзывает сквозь эту пору со скоростью, стремящейся к 500 основаниям в секунду. Далее задействуем хитрую информатику – например, такой инструментарий, как рекуррентные нейронные сети, – чтобы идентифицировать конкретные основания исходя из результатов измерения тока.



В 1989 году Дэвид Димер схематически изобразил идею нанопорового секвенирования ДНК

Разумеется, будь все так просто, *Oxford Nanopore* – либо одна из конкурирующих компаний – стала бы известна в каждом доме. На самом деле ученым из компании предстояло методом проб и ошибок отместить

множество стратегий, прежде чем остановиться на системе, применяемой в настоящее время. Исходная идея, которую окрестили «срежь и брось», была связана с использованием фермента под названием экзонуклеаза. Фермент отхватывает отдельные нуклеотиды с хвостового конца последовательности ДНК, примерно как «Пакман», после чего эти фрагменты один за другим проходят через пору, расположенную снизу. Но эта идея оказалась провальной; от нее отказались и стали пропускать через пору цельную ДНК, используя другой фермент, расплетающий двойную спираль.



Замечательный прибор-секвенатор от компании Oxford Nanopore. Фермент расплетает двойную спираль, и одиночная нить ДНК, извиваясь, проходит сквозь центральную пору бактериального нанопорного белка. Анализ флуктуаций электрического тока позволяет идентифицировать конкретные основания, проникающие через пору



Секвенатор сильно уменьшился: Oxford Nanopore планирует запустить производство прибора SmidgION, который буквально вставляется в смартфон, как флешка

Возможно, наиболее революционное достижение оксфордской технологии – сам прибор. Это крошечное мобильное устройство не больше смартфона, которое подключается к ноутбуку через обычный USB-кабель.

Качественно подготовленный образец ДНК помещают в маленький приемник (нишу в устройстве), откуда биоматериал поступает в камеру с нанопорами. Каждая нанопора находится в центре специальной зоны в этом устройстве, как горошина посреди футбольного поля. Единственного устройства MinION, конечно, недостаточно для секвенирования целого человеческого генома, но благодаря мобильности и удобству применения этого устройства для него открываются новые рынки и области прикладного использования: от полевой исследовательской работы и прогнозирования до изучения инфекционных заболеваний и применения в школах. Так, MinION применяли в Гвинее (Западная Африка) для изучения вспышек вируса Эболы, в Бразилии для контроля эпидемии вируса Zika, а также на Международной космической станции для анализа штаммов микроорганизмов в режиме реального времени. Компания планирует создать обширную облачную базу данных, информация в которую поступает с мобильных секвенаторов ДНК. Браун намерен «сломить редуты медицинских и страховых компаний, после чего миллионы людей смогут свободно обмениваться генетической информацией, создавая виртуальные рекомбинации и так называемых виртуальных интернет-существ».

Спустя годы ожиданий может показаться, что генетическое сообщество весьма скептически воспринимает перспективы новых технологий. Когда в 2014 году исследователь из Броудовского института предъявил первые общедоступные данные, сгенерированные при помощи оксфордской технологии MinION, аудитория явно не впечатлилась. Однако, пока коллеги с нетерпением ждали дальнейшего повышения точности и производительности этой технологии, я с восхищением отметил, что теперь, с новой технологией, мы обрели возможность определять генетически последовательности в реальном времени, читая код жизни по обычным флуктуациям тока. Да, предстоит еще долгая работа, но я верю, что эта технология – либо некая ее альтернатива, например работа с искусственными нанопорами, вытравленными на кремниевых пластинах, – будет следующим большим прорывом в секвенировании.



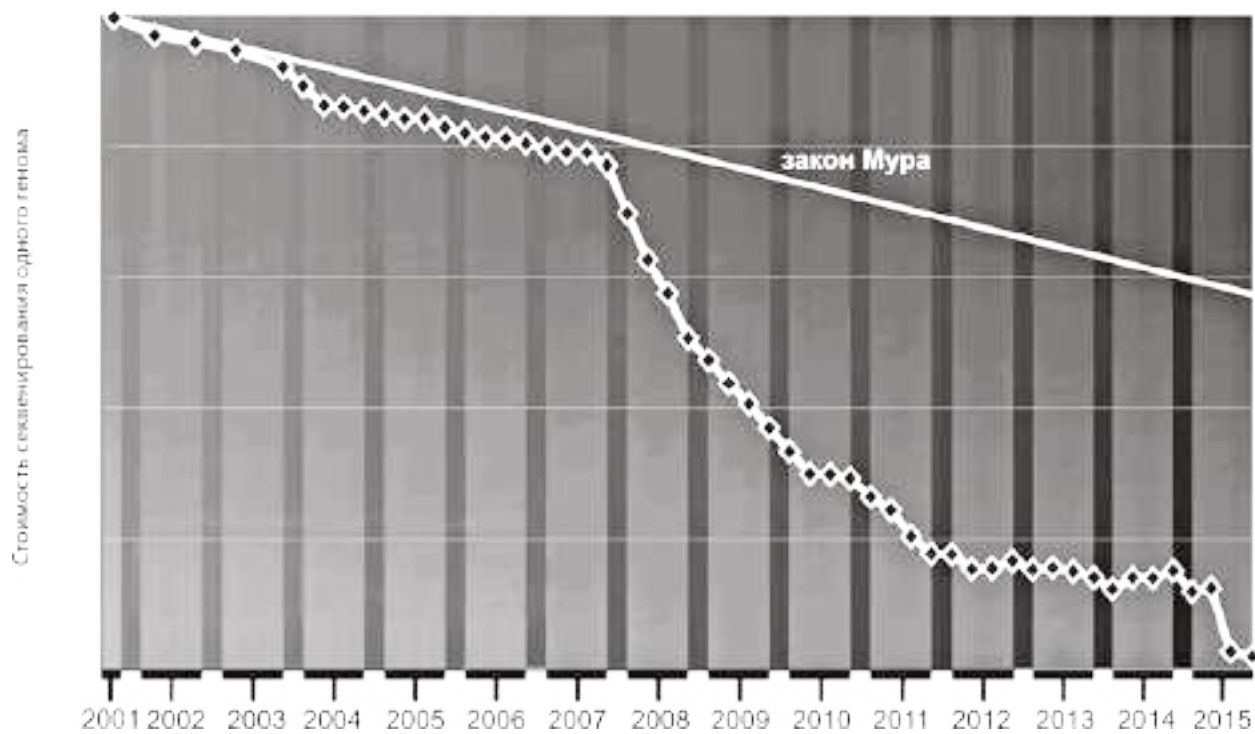
Инга Моралес из Университета Сан-Паулу, охотница за вирусами, закладывает образец в портативный секвенатор ДНК, занимаясь проектом ZiBRA (анализ на бразильский вирус Zika в реальном времени)

В 2010 году в Колд-Спринг-Харборе состоялась конференция по персонализированной геномике, где мы познакомились с молодым

человеком по имени Боги Элиазен, у которого были наполеоновские планы: секвенировать геномы всех своих соотечественников. Родом он с небольшого архипелага, численность населения которого всего 50 тысяч человек, и генетической меккой эта территория пока не считается. Я был заинтригован.

Фарерские острова – это группа из одиннадцати живописных островов в Северном море; архипелаг расположен примерно на полпути между Шотландией и Исландией. Цель проекта FarGen, основным организатором которого стал Элиасен, заключается в секвенировании геномов всех фарерцев, что должно быть полезно для медицинского обслуживания проживающего населения. Эти данные не будут предоставляться гражданам – их станут вносить в медицинские карты, которыми смогут пользоваться врачи.

С тех пор было анонсировано еще несколько амбициозных национальных геномных проектов, в том числе Саудовская программа по секвенированию генома человека и программа Genomics England, финансируемая британским правительством. Каждая из подобных программ нацелена на то, чтобы секвенировать по 100 тысяч геномов произвольно отобранных индивидов. «Великобритания станет первой страной, которая внедрит эту технологию в основную систему здравоохранения и возглавит глобальную гонку за более качественные анализы, препараты и – самое главное – за персонализированный уход, что поможет спасти человеческие жизни», – обещал министр здравоохранения Джереми Хант.



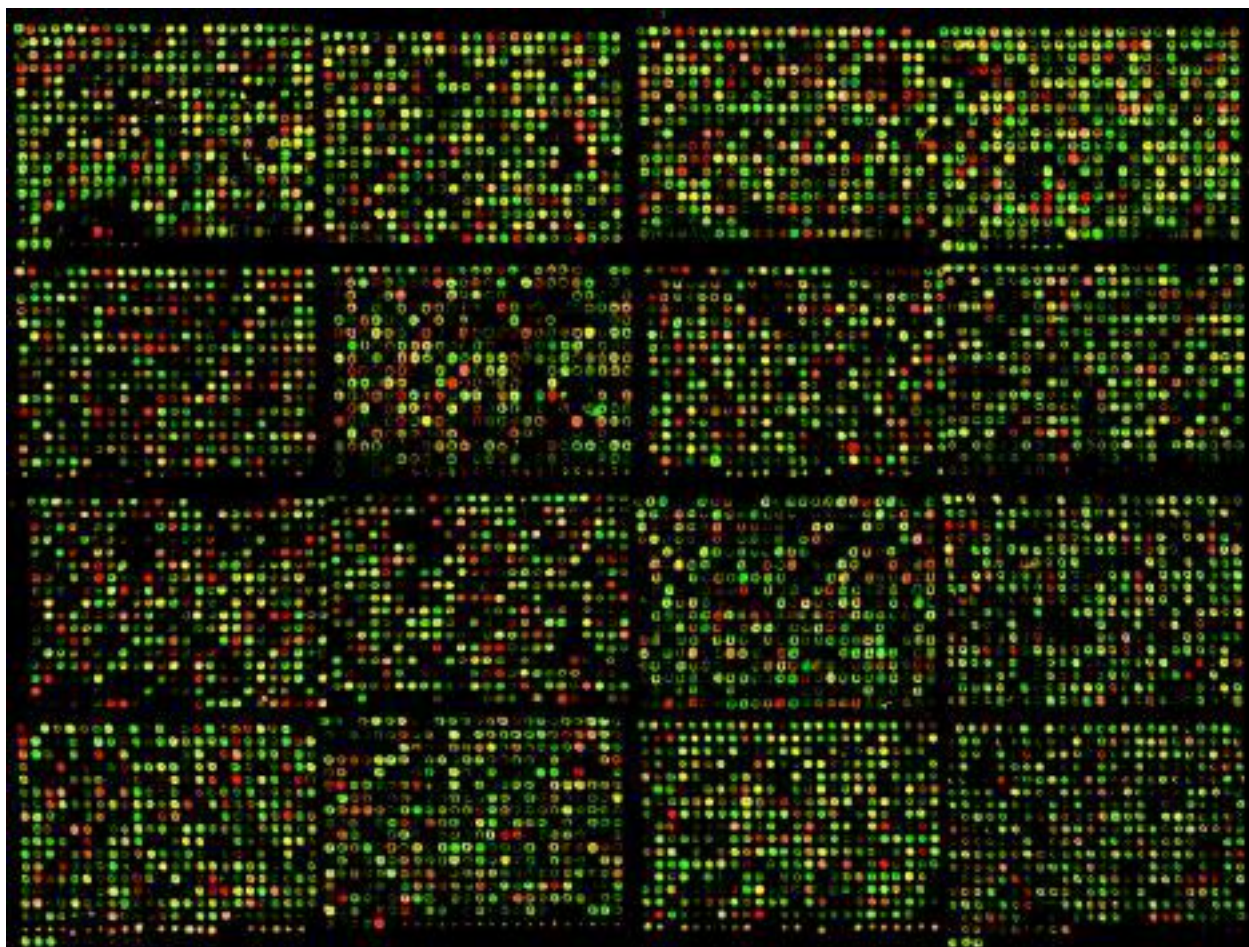
Значительное (на порядки) удешевление секвенирования человеческого генома с 2007 года (коммерческий запуск секвенирования нового поколения) до наших дней. Уже достигнута контрольная точка в 1000 долларов, а в ближайшие годы процедура может стать даже еще дешевле. Технологии секвенирования развиваются настолько быстро, что давно не подчиняются закону Мура (сплошная линия). Так называется знаменитая закономерность, указанная сооснователем компании *Intel* Гордоном Муром, согласно которой вычислительная мощность компьютеров, доступных за конкретную сумму, должна удваиваться примерно каждые два года

Проекты по секвенированию геномов в больших популяциях не могли не заинтересовать и представителей частного сектора экономики. Крейг Вентер, который (как ни странно) около десяти лет оставался невостребованным в области геномики, вернулся в высшую лигу во главе новой компании *Human Longevity*, стартовый инвестиционный капитал которой составил 70 миллионов долларов. Цель проекта, по утверждению Вентера, – идентифицировать ключевые варианты ДНК, обеспечивающие здоровье и долголетие; для этого были отсеквенированы геномы сотен пациентов, в том числе страдавших болезнью Альцгеймера. Забавно, что, как и во времена компании *Celera*, Вентер сулит, что часть этой информации может представлять ценность для фармацевтических

компаний. Однако времена изменились: секвенирование геномов стремительно превращается в повседневную практику, и сложно вообразить, как единственная компания могла бы обеспечить себе монополию на всю такую информацию. Кроме того, кажется вполне логичным (если не сказать – неизбежным), что в большинстве фармацевтических компаний секвенирование геномов скоро станет неотъемлемой частью процесса этапа клинических исследований и тем самым средством, которое позволит отсортировать добровольцев на группы, где препарат был эффективен и где нет, с целью анализа механизмов действия каждого нового фармацевтического средства.

В начале этой главы я вспоминал, как около десяти лет назад мой геном отсеквенировали примерно за один миллион долларов. Сегодня такие компании, как *Veritas Genetics*, предлагают персонализированное секвенирование генома и интерпретацию данных за 1000 долларов, с дополнительной консультацией врача. В январе 2017 года новый генеральный директор компании *Illumina* Френсис де Суза продемонстрировал новейший прибор для секвенирования, разработанный в их организации. Прибор называется NovaSeq, и уже через несколько лет он скорее всего сможет обеспечить секвенирование генома всего за 100 долларов. В будущем нас, несомненно, ждет повсеместное распространение геномики и получение информации о геноме в режиме реального времени, что реорганизует всю сферу здравоохранения и персонального медицинского ухода. Пока это лишь отдаленная перспектива. У нас в организме находится не только геном любой из соматических клеток, прослеживаемый вплоть до оплодотворенной яйцеклетки, из которой развился каждый человек; кроме того, человеческий организм содержит миллиарды микроорганизмов, и у каждого свой геном. Совокупность этих микробов может составлять от одного до трех процентов массы нашего тела, и от тонкого баланса этой микрофлоры может зависеть многое: реализация аутоиммунных реакций, риск развития ожирения, некоторые психические расстройства, связанные с уровнем нейромедиаторов (на уровень нейромедиаторов также может влиять состояние нашей кишечной микробиоты). Каждый день подтверждается, что так называемый микробиом (собираательный термин, означающий совокупность геномов триллионов бактерий, живущих у нас на коже, во рту, в кишечнике и в других полостях) влияет на наше здоровье гораздо сильнее, чем можно было бы предположить. В самом деле, по сравнению с имеющейся у нас бактериальной ДНК объем человеческой ДНК просто ничтожен. Возможно, нам не удастся полностью реализовать

потенциал геномики для улучшения качества жизни, пока не будут учтены все ДНК, которые для нас, строго говоря, чужеродны, но необходимы для нашей жизни. Если трактовать секвенирование в таком контексте, оно никогда не станет ни молниеносно быстрым, ни слишком дешевым.



За пределами генома: микроматричный анализ молекулярного «переключения» генов. Здесь каждая точка соответствует одному из шести тысяч различных генов *Plasmodium falciparum*, микроорганизма, который является причиной тяжелой формы малярии. Для поиска эффективных лекарств или вакцины от этого заболевания необходимо выяснить, какие гены активны на разных этапах жизненного цикла плазмодия. Красным цветом обозначены гены, активные лишь в первой фазе, а не во второй, а зеленым – активные во второй фазе, но не в первой. Гены, активные в обеих фазах, обозначены желтым цветом

Глава 9

Изучение геномов. Эволюция в действии

Я с нетерпением ждал завершения секвенирования человеческого генома, чтобы узнать, насколько полученное количество пар оснований в геноме будет близким к числу 72 415 генов. Почему именно эта цифра так магически привлекала и манила меня? Происходило это в связи с событиями и сюрпризами, которые были ранее на проекте «Геном человека». В декабре 1999 года выяснилось, что между двумя важнейшими «вехами» геномной последовательности – отметками «миллиард» и «два миллиарда» пар оснований – находятся результаты анализа первой целиком отсеквенированной хромосомы – под номером 22. Хотя по размерам эта хромосома совсем маленькая – на ее долю приходится всего 1,1 % генома, в ней все равно 33,4 миллиона пар оснований. Детально проанализировав 22-ю хромосому, мы впервые попытались предположить, как может выглядеть весь геном в целом. В журнале *Nature* был опубликован отклик на это событие. Автор отклика написал, что мы словно «впервые взглянули на поверхность или ландшафт другой планеты». Интересным фактом стала установленная плотность расположения генов в хромосоме. Мы были уверены, что 22-я хромосома позволит нам судить обо всем человеческом геноме – в ее последовательности мы ожидали найти примерно 1,1 % всех человеческих генов. Таким образом, если отталкиваться от стандартной «академической» оценки, согласно которой, у человека около 100 тысяч генов, логично было предположить, что в 22-й хромосоме их обнаружится примерно 1100. В действительности оказалось, что 22-я хромосома содержит вдвое меньше генов: 545. Это был первый «важный звоночек» молекулярным генетикам: человеческий геном далеко не так богат генами, как нам ранее казалось.

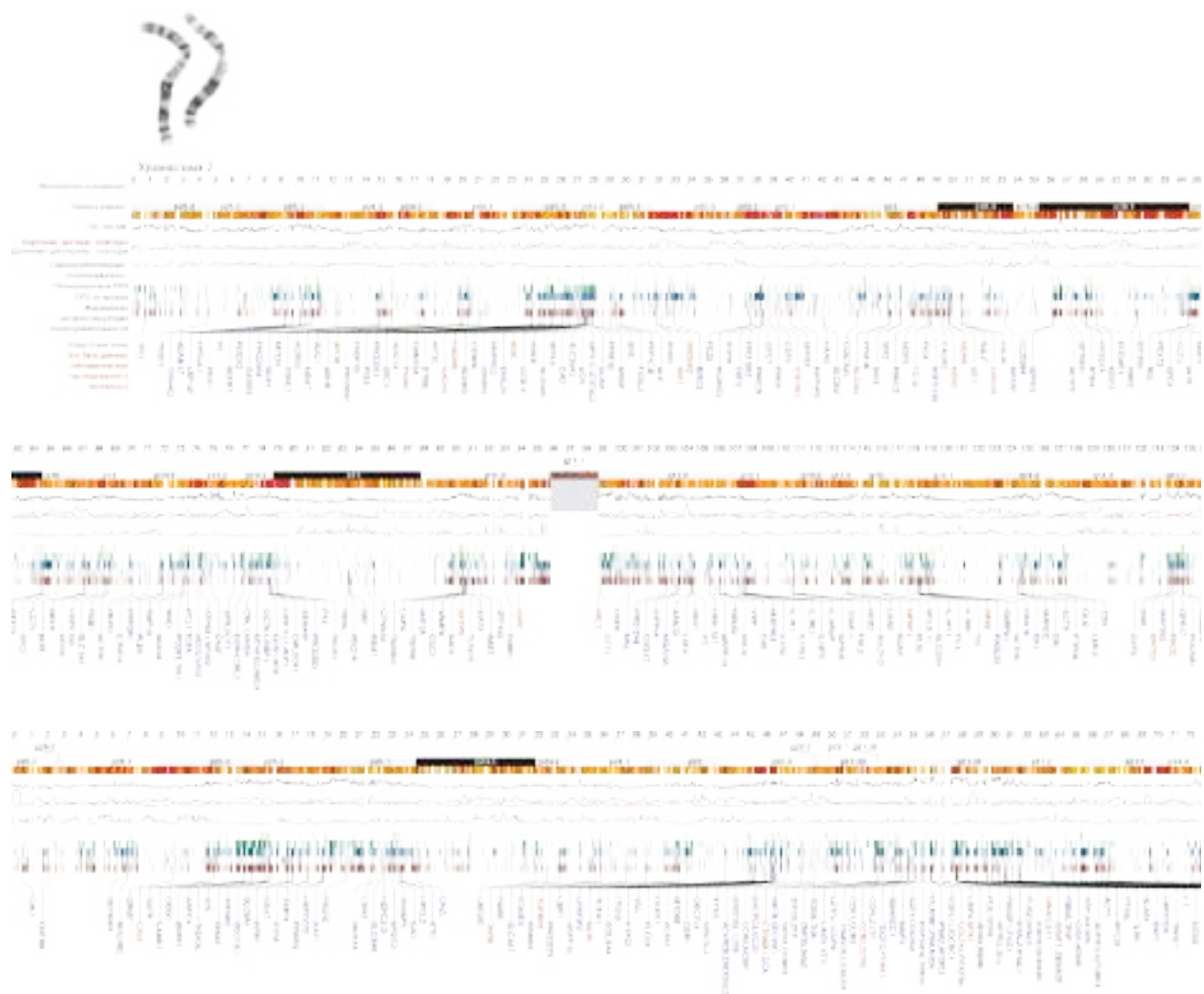
Вопрос о количестве генов у человека стал особенно актуальным в связи с определенными событиями. На конференции о геноме человека, состоявшейся в мае 2000 года в лаборатории Колд-Спринг-Харбор, Юэн Бирни (тогда возглавлявший в Сенгеровском институте центр по компьютерному анализу геномной последовательности) организовал конкурс, который назвал GeneSweep. Это была лотерея, выигрыш в которой зависел от правильного определения числа генов, а результат предполагалось озвучить, когда секвенирование генома будет закончено, то

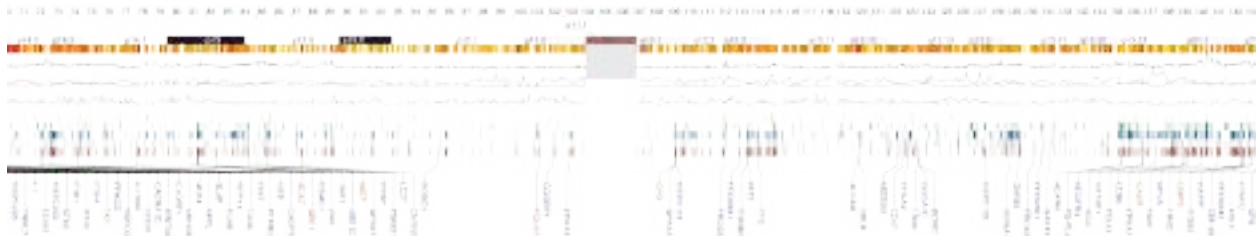
есть в 2003 году или ранее, как получится. Победителем было решено объявить того, чей прогноз окажется ближе всего к фактическому результату. Очевидно, что именно Бирни стал неофициальным букмекером проекта «Геном человека», ведь числа – его стихия. Закончив высшую школу в Итоне, он целый год занимался количественными исследованиями в области биологии и в это время жил в моем доме на Лонг-Айленде, весьма далеко от троп Гималаев и шикарных баров Рио, двух наиболее вероятных мест, где молодой британец предпочел бы провести свободный год перед поступлением в университет. Результатом работы Бирни в Колд-Спринг-Харборе стала публикация двух важных исследовательских работ.

Возвращаемся к нашему научному тотализатору. Исходно Бирни брал доллар за версию, но цена «участия» повышалась после опубликования каждой новой оценки, приближавшей нас к конечному результату. Я оказался в первых рядах, поставив доллар на 72 415. Я выбрал такое число специально, пытаясь попасть в промежуток между «академической» цифрой в 100 тысяч и наиболее точной текущей оценкой генома в 50 тысяч, которая была выведена по итогам секвенирования 22-й хромосомы на тот момент времени. С тех пор минуло уже более 10 лет, а генетики до сих пор спорят о точном количестве генов, но уже совершенно очевидно, что моя оценка получилась крайне завышенной. Так я потерял на угадывании генома доллар.

Пожалуй, не менее важным был вопрос, вызывавший бурю спекулятивных дискуссий и тем для разговоров намного больше, чем просто подсчет числа генов. Вопрос заключался в следующем: чьи именно гены мы секвенируем? Хотя эта информация была конфиденциальной, поскольку в данном случае от заказчиков передачи денег из рук в руки не предполагалось, тем не менее этот вопрос интересовал многих. В рамках публичного проекта все было ясно. Отсеквенированная нами выборка ДНК была получена от множества произвольно выбранных доноров-добровольцев, проживающих в районе города Буффало, штат Нью-Йорк; именно в этом районе происходила и вся обработка материалов: извлечение ДНК, внедрение ее в искусственные бактериальные хромосомы, картирование и секвенирование. Изначально компания *Celera* заявляла, что ее биоматериал также получен от шести анонимных доноров, представителей разных культур. Однако в 2002 году Крейг Вентер не удержался и поведал всему миру через средства массовой информации, что для секвенирования был использован и его собственный геном. На сегодняшний день эта информация – все, что связывает Вентера с компанией *Celera*. Руководители этой компании были так обеспокоены, что

секвенирование геномов при всей своей гламурности и инновационности в перспективе может оказаться убыточным бизнесом, что переформатировали организацию в фармацевтическую компанию и в 2002 году распрощались со своим основателем. Что до Крейга Вентера, то он основал в Сан-Диего новый институт имени себя, а также еще две амбициозные компании: одна пыталась использовать бактериальные геномы для поиска свежих источников возобновляемой энергии, а вторая, подражая *Celera*, занимается высокопроизводительным секвенированием отдельных геномов в поисках таких вариантов, которые обеспечивают здоровье и долголетие. Как уже упоминалось ранее, Вентер заявил, что его компания *Human Longevity* отсеквенирует один миллион человеческих геномов к 2020 году.





Гены хромосомы человека 2: 243 миллиона пар оснований

Теперь, располагая полной последовательностью человеческого генома, мы понимаем, что плотность распределения генов в 22-й хромосоме несколько не атипична. Если уж на то пошло, 22-я хромосома с ее 545 генами оказалась при своем маленьком размере, скорее, даже насыщена генами, а не бедна ими. В 21-й хромосоме – примерно такого же размера – удалось выделить всего 236 генов. В настоящее время всего известно около 21 тысячи генов в полном наборе человеческих хромосом (22 + X + Y). Пока остается смириться и признать, что мы по-прежнему не знаем, сколько именно генов в человеческом геноме, хотя проект «Геном человека» завершился уже более десяти лет назад. Несколько международных групп, в том числе Национальный центр биотехнологической информации при Национальных институтах здравоохранения, организация *Ensembl* в Англии и международный консорциум под названием GENCODE, постоянно анализируют и уточняют реестр генов. Последние прогнозы о числе генов, кодирующих белки, варьируют от 19 800 до 22 700 – в среднем получается 21 035. Кроме того, есть еще от 35 тысяч до 40 тысяч генов, кодирующих транскрипты РНК, но не кодирующих сами белки. Ясно одно: окончательное число явно не дотягивает до отметки 50 тысяч, не говоря уж о 100 тысячах генов.

Насколько не дотягивает – покажет время. Поиск генов – нетривиальная задача; области, кодирующие белки, – это просто последовательности А, Г, Т и Ц, «встроенные» в геном посреди других А, Г, Т и Ц; они ничем особо не выделяются. Как вы помните, всего около 2 % генов в геноме человека кодируют белки; все остальное, пренебрежительно именуемое в учебниках «мусорная ДНК», до недавнего времени казалось набором явно нефункциональных отрезков различной длины, многие из которых встречаются неоднократно. Мнение об этом принципиально изменилось в свете данных, полученных в проекте ENCODE (об этом было рассказано в главе 7). Такой «мусор» бывает рассеян даже в самих генах; гены, нашпигованные некодирующими сегментами (интронами), могут занимать обширные участки ДНК, и кодирующие элементы напоминают

отдельные городки, расположенные вдоль пустынной молекулярной автомагистрали. Некоторое время самым длинным человеческим геном считался дистрофин (мутации в этом гене вызывают мышечную дистрофию), который простирается более чем на 2,4 миллиона пар оснований. Всего 11 055 из них (0,5 гена) кодируют сам белок; остальная часть гена приходится на 78 интронов (человеческий ген содержит в среднем восемь интронов). Именно из-за такого несуразного устройства генома идентифицировать гены настолько сложно. Но потрясающая воображение длина дистрофина меркнет по сравнению с длиной коннектина (титина), основного белка эластичной решетки цитоскелета и третьего по распространенности мышечного белка. Этот сократительный белок поперечно-полосатых мышц состоит примерно из 33 тысяч аминокислот, и длина его достигает 1 микрометра. Ген, кодирующий титин, расположен во 2-й хромосоме; он простирается почти на 300 тысяч оснований и содержит 363 экзона.

В последние годы поиск человеческих генов значительно упростился, поскольку значительно лучше, чем раньше, изучены геномы мыши, шимпанзе и многих других млекопитающих. Многие стали понятными благодаря знанию процессов эволюции: функциональные части человеческого и мышинного генома весьма схожи (как и геномы всех млекопитающих), за миллионы лет с тех пор, как жил последний общий предок всех видов, они недалеко отошли друг от друга. Напротив, некодирующие области ДНК были «диким полем» эволюции: поскольку они не подпадали под естественный отбор, накопление мутаций в них ничем не сдерживалось (в отличие от кодирующих сегментов). Поэтому мутации накопились там в изобилии, и именно в некодирующих регионах геномы человека и мыши существенно различаются. Поэтому, отыскивая схожие участки в генетических последовательностях у человека и у других млекопитающих, можно эффективно обнаруживать функциональные области, то есть гены.

Идентификация человеческих генов еще более упростилась после того, как был подготовлен черновой вариант генома рыбы-иглобрюха. Ценителям японской кухни эта рыба более известна под названием фугу, в ее организме содержится сильный яд тетродотоксин. Умелый шеф-повар удаляет у рыбы ядовитые органы, так что, пообедав ею, вы можете ощутить лишь небольшое онемение во рту. Тем не менее около 80 человек в год умирают от плохо приготовленной рыбы фугу, а представителям японской императорской семьи законодательно запрещено лакомиться этим деликатесом. В конце 1980-х годов мой давний друг, нобелевский лауреат

Сидней Бреннер, всерьез увлекся иглобрюхими, по меньшей мере в качестве генетического материала. Геном фугу в десять раз меньше человеческого, и там гораздо меньше «мусорной» ДНК, чем у нас с вами; приблизительно треть всех имеющихся генов кодирует белки. Под руководством Бреннера примерный вариант генома рыбы фугу удалось выполнить за 12 миллионов долларов – просто находка по меркам секвенирования геномов, бытовавшим в начале 2000-х годов. Число генов, то есть участков генома, кодирующих белки, у фугу составляет 19 200 – примерно столько же, сколько у человека. Однако интересно, что, хотя число интронов в геноме фугу примерно такое же, как в геноме человека и геноме мыши, сами интроны фугу обычно гораздо короче.

Человек	ATGGTTTGAATGCTCTCCAGAAAGTGTCTACCCAGTTGAAGACAAACCTCACAGTGTCCACAAAGAACCGTGCAGATAAGG
Мышь	GTGGTTTGAATGTACTCCAGAAAGTGTCTGCCAATTGAAGACGAACCTAACAAAGTGTCCACAAAGAACCGTGCAGATAAGG

Человек	TAAATGGTGCCTTTGTGGCATGTGAAGTCAAGCCGTGTCAGTCTAGAGAGGAAACTGGAGCTGAGACTTTCC-AGGTAT
Мышь	TGAATGGCAC----TGCAGCTAGAGATGACATGCC-GATATCACTGGGGTGGAAAC-AGAGCTCAGACTTTTCTAGATTA

Человек	TTTGCTTGAAGCTTTTAACTGAGGGCTTACTTATGGATTCTTTCTTTCTTTTCTTTTATAGAAATGCTATTCATAA
Мышь	GTTGCCAGAAAGATTCTAAATGCCAA--CTG----TGG-----T--TTCTTTCACTTTTTCCTATAGAAATGCTATTCATAA

Человек	TCACATTTCGTTTGTGTTGAACCTCTTGTATATAAAGCTTTAAACAGTACACGACTACAAACATGTGTGCAGTTACAGAAGC
Мышь	TCACATTAGGTTATTTGAGCCTCTTGTATATAAAGCATTGAAGCAGTACACCACGACAACATCTGTACAAATTGCAGAAGC

Человек	AGGTTTTCAGATTGCTGGCGCAGCTGGTTCAGTTACGGGTAAATTACTGTCTCTGGATTTCAGATCAG
Мышь	AGGTTTTCGATTGCTGGGCAGCTGGTTCAGCTACGGGTCAATTACTGTCTCTGGATTTCAGATCAG

Сравнение ДНК человека и мыши в одном и том же гене. В частности, показан интрон (некодирующая последовательность внутри гена, ограниченная рамкой считывания) и участки двух экзонов (областей, кодирующих белок, синтезируемый геном). В двух последовательностях выделены те основания, которые не изменились в ходе эволюции. Дефис означает утрату основания у человека или у мыши. Общее сходство генетических последовательностей у человека и у мыши демонстрирует, что естественный отбор исключительно эффективно отбраковывает мутации. В интронах, где мутации, как правило, несущественны, разница заметнее, чем в экзонах; ведь экзоны могут влиять на функцию белка.

Даже при оценке в 21 тысячу генов или около того создается немного преувеличенное представление о том, насколько сложно устроен человек с генетической точки зрения. Правда, в ходе эволюции некоторые гены породили общности из родственных генов, так получились группы схожих генов, лишь слегка различающихся с функциональной точки зрения. Так

называемые совокупности родственных генов возникают случайно, когда при образовании сперматозоида или яйцеклетки фрагмент с хромосомой случайно дублируется и в хромосоме оказывается два экземпляра одного и того же гена. Если одна из копий является функциональной, то вторая копия не отсеивается в ходе естественного отбора и может развиваться в любом направлении, в том числе накапливая мутации. Иногда в результате мутаций ген приобретает новую функцию, как правило тесно связанную с функцией исходного гена. Действительно, многие гены человека являются вариацией на относительно немногочисленные генетические темы. Так, например, геном человека содержит около пятисот генов протеинкиназ, которые составляют около 2 % всех генов. В клетке протеинкиназы регулируют метаболические пути, а также пути сигнальной трансдукции и передачи сигналов внутри клетки. Кроме того, у человека имеется около тысячи генов, отвечающих за обоняние; кодируемые ими белки – это рецепторы запахов, каждый из которых распознает свою пахучую молекулу или свой класс молекул. У мыши также примерно тысяча генов отвечает за запах, но по сравнению с человеком есть различия: мыши адаптировались к преимущественно ночному образу жизни, поэтому сильнее полагаются на обоняние. Естественный отбор среди мышей благоприятствовал самым лучшим «нюхачам», и большинство генов, отвечающих за запах, остались в рабочем состоянии. У человека примерно 60 % этих генов в процессе эволюции успешно деградировали, такие генетические реликты называются «псевдогенами». Возможно, это произошло потому, что мы в большей степени полагались на зрение и нам требовалось меньше обонятельных рецепторов. Вот поэтому естественный отбор и не отсеивал тех мутаций, из-за которых многие из наших обонятельных генов вышли из строя. В результате человек оказался относительно неумелым «нюхачом» по сравнению с другими теплокровными.

Много ли у нас генов по сравнению с другими организмами?

Общеупотребительное название	Латинское название вида	Число генов
Человек	<i>Homo sapiens</i>	21 000
Горчица	<i>Arabidopsis thaliana</i>	27 000
Нематода	<i>Caenorhabditis elegans</i>	20 000
Дрозофила	<i>Drosophila melanogaster</i>	14 000
Пекарские дрожжи	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6000
Кишечная палочка	<i>Escherichia coli</i>	4000

Итак, по набору кодирующих генов мы не дотягиваем даже до обычного травянистого растения. Еще более удручает сравнение с нематодой – это существо состоит всего из 959 клеток (против примерно 30 триллионов клеток у нас), 302 из которых – нервные, образующие изрядно примитивный «мозг» червя (наш мозг состоит из 100 миллиардов нервных клеток). Структурная сложность у человека и у нематоды различается на порядки, однако и у нас, и у этого червячка примерно одинаковое число генов. Как объяснить такое удручающее для человека несоответствие? В действительности же расстраиваться здесь совершенно ни к чему: просто контроль у человека работает гораздо эффективнее.

Готов предположить, что существует корреляция между высоким уровнем интеллекта и немногочисленностью генов. Полагаю, что смышленость – обладание внушительным нервным центром, таким как у нас или даже у плодовой мушки, – обеспечивает сложное поведение, даже если генов сравнительно немного (если число 21 тысяча можно охарактеризовать с точки зрения геномного анализа как «немного»). Человеческий мозг обеспечивает нам огромные сенсорные и нервно-двигательные способности по сравнению с теми, которые доступны безглазой медлительной нематодой, и, следовательно, гораздо более разнообразные варианты поведенческих реакций. У укоренившегося растения возможностей еще меньше: ему требуется иметь «на борту» полный комплект генетических ресурсов для реагирования на любые проявления со стороны факторов окружающей среды. Напротив, организм, обладающий развитым мозгом, может справиться, скажем, с резким похолоданием, воспользовавшись нервными клетками и попытавшись отыскать более приемлемые условия (теплая норка – вполне подходящее место).

Сложной организации позвоночных также могли поспособствовать

гены, которые детерминируют процессы роста и дифференцировки и которые довольно часто называют генами-регуляторами (переключателями). Теперь, когда секвенирование генома завершено, можно подробно проанализировать эти регуляторные участки, в которых регуляторные белки связываются с ДНК, включая или выключая прилегающие к ним гены. По-видимому, позвоночные обладают гораздо более многогранными переключающими механизмами, нежели более примитивные организмы. Именно эта гибкая и сложная система генетической координации обеспечивает сложную жизнедеятельность позвоночных. Более того, любой конкретный ген может отвечать за синтез различных белков, и вот почему: либо функционально сочетаются разные экзоны, продуцирующие слегка различающиеся белки, в данном случае мы имеем вариант сплайсинга матричных РНК, который получил название «альтернативный сплайсинг» (белки, получаемые трансляцией таких мРНК, в результате имеют разные аминокислотные последовательности; таким образом, при альтернативном сплайсинге один транскрипт обеспечивает синтез сразу нескольких белков), либо в уже синтезированных белках происходят биохимические изменения.

Когда вскрылась столь неожиданная для исследователей малочисленность человеческих генов, несколько серьезных авторов, которых можно назвать колумнистами, немедленно изложили свои размышления на тему: а так ли важно число генов? Рассуждения были выдержаны в едином ключе. Стивен Джей Гулд (страстный оратор, который, к сожалению, рано ушел из жизни) опубликовал в *New York Times* статью, где торжествующе объявлял, что немногочисленность генов – «последний гвоздь в гроб редукционизма», хотя редукционизм сейчас – это сложившаяся доктрина, буквально доминирующая во всех биологических дисциплинах. Согласно редукционизму, сложные явления в биологии могут быть полностью объяснены с помощью законов, свойственных явлениям более простым. Иными словами, для того чтобы понять процессы, происходящие на уровне со сложной организацией, сначала требуется уяснить, как устроена система на более простых уровнях, и проследить динамику процессов в восходящем направлении. Таким образом, поняв устройство генома, мы в конце концов узнаем, как происходит «сборка» на организменном уровне. Гулд и его последователи апеллировали к факту об удивительно малом числе генов у человека как к подтверждению того, что восходящий подход не только неработоспособен, но и несостоятелен. Антиредукционисты наоборот настаивали, что уж если в свете такой неожиданной генетической простоты человеческий организм вполне

жизнеспособен, то ни в коем случае нельзя подходить к пониманию человека как к совокупности простых процессов. С их точки зрения, малочисленность генов подразумевает, что именно условия развития, а не наследственность максимально влияют на каждого из нас. Короче говоря, это была «декларация независимости против мнимой деспотии наших генов».

Как и Джей Гулд, я вполне признаю, что условия развития и внешней среды существенно влияют на каждого из нас. Однако его взгляд на проблемы наследственности абсолютно неверен: немногочисленность генов у человека никоим образом не отменяет редуccionистского подхода к биологическим системам, равно как и не оправдывает логического вывода о том, что гены не играют для нас определяющей роли. Из оплодотворенной яйцеклетки, содержащей геном шимпанзе, как ни крути, обязательно родится шимпанзе, а из оплодотворенной яйцеклетки с геномом человека – человек. Сколько бы мы при этом ни показывали шимпанзе, например по телевизору, концертов классической музыки или сцен насилия, человеком она не станет. Конечно, нам еще предстоит долго разбираться, каким образом информация этих двух очень схожих геномов реализуется в развитие столь непохожих друг на друга организмов, но факт остается фактом: сущность любого организма в большей степени строго запрограммирована в геноме. Я действительно считаю, что открытие малочисленности человеческих генов – 21 тысяча против расчетных 100 тысяч – порадует сторонников биологического редуccionизма; ведь гораздо проще классифицировать эффекты 21 тысячи генов, нежели оценивать действие 100 тысяч генов.

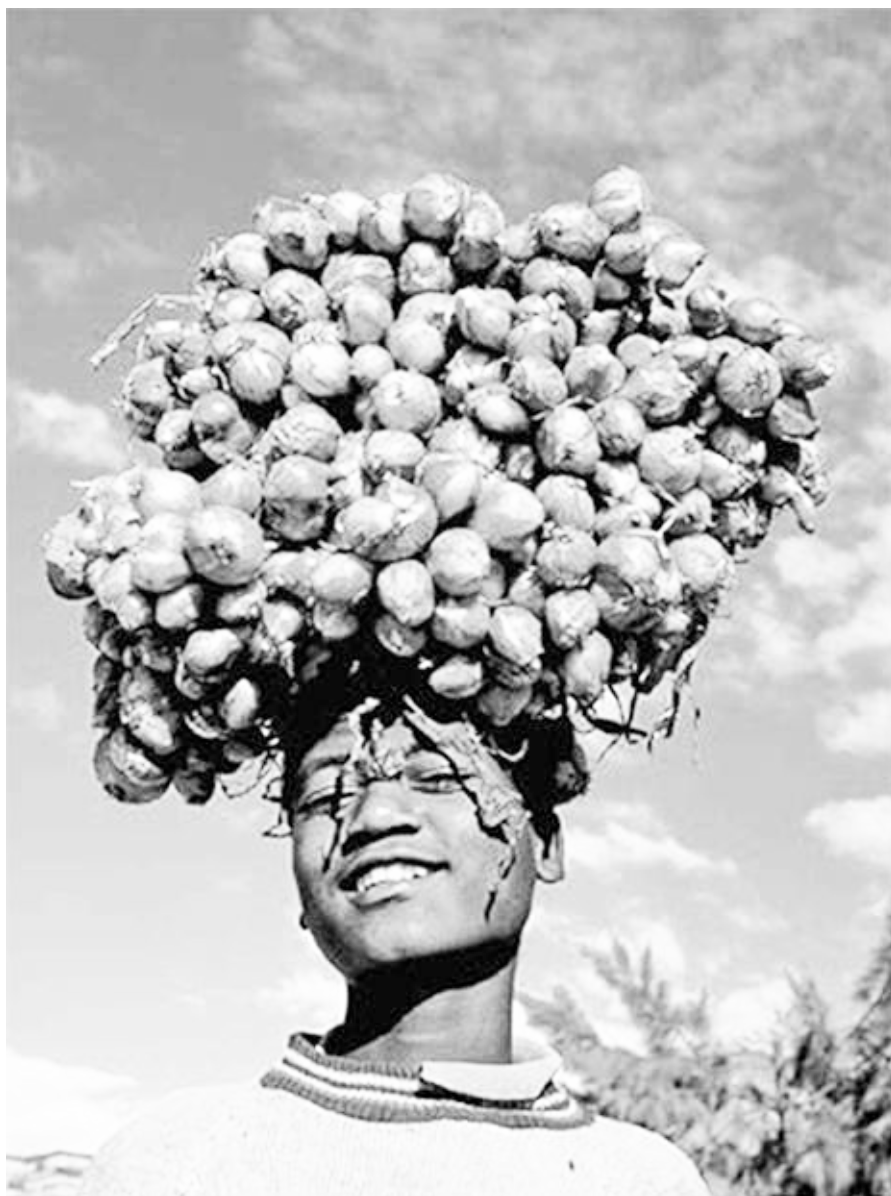
Пусть человек и не обладает колоссальным числом генов, тем не менее наш геном действительно большой и запутанный – вспомните хотя бы огромный ген титина. Вернусь к сравнению с червем: по числу генов мы не обходим нематоду даже вдвое, но физически наш геном в тридцать три раза крупнее. Откуда такое несоответствие? Специалисты, занятые поиском генов, описывают человеческий геном как пустыню, по которой рассеяны редкие оазисы генов. Половина нашего генома приходится на повторяющиеся «мусороподобные» последовательности, не выполняющие конкретных функций; 10 % нашего генома состоит из миллиона разбросанных включений одной и той же последовательности, так называемого «элемента *Alu*»:

ГГЦЦГГГЦГЦГГТГГЦТЦАЦГЦЦТГТААТЦЦЦАГЦАЦТТТГГ
ГАГГЦЦГАГГЦГТГГЦГГАТЦАЦЦТГАГТТЦАГГАГТТЦГАГА
ЦЦАГЦЦТГГЦЦААЦАТГГТГАААЦЦЦГТЦТЦТАЦТАААААТА
ЦАААААТТАГЦЦГГГЦГТГГТГГЦГЦГЦГЦЦТГТААТЦЦЦАГ
ЦТАЦТЦГГГАГГЦТГАГГЦАГГАГААТЦГЦТТГААЦЦЦГГГА
ГГЦГГАГГТТГЦАГТГАГЦЦГАГАТЦГЦГЦЦАЦТГЦАЦТЦЦА
ГЦЦТГГГЦГАЦАГАГЦГАГАЦТЦЦГТЦТЦАААААА

Alu-повтор был открыт при обработке ДНК человека рестриктазой Alu, отсюда и название. Запишите этот повтор миллион раз – и тогда сможете оценить масштаб присутствия элементов *Alu* в нашей ДНК. На самом деле степень повторяемости некоторых последовательностей даже выше, чем может показаться на первый взгляд: последовательности, которые когда-то однозначно идентифицировались как повторы, за многие поколения с накоплением мутаций изменились до неузнаваемости, став элементами того или иного класса повторяющихся последовательностей ДНК. Рассмотрим набор из трех коротких повторов: АТТГ АТТГ АТТГ. Со временем они изменятся под действием мутаций, но если изменения начались недавно, то исходные последовательности еще узнаваемы и выглядят так: АЦТГ АТГГ ГТТГ. Через определенный, но длительный период исходный рисунок будет совершенно утрачен в мешанине мутаций: АЦЦТ СГГГ ГТЦГ. Процентное соотношение повторяющихся последовательностей ДНК у многих других видов гораздо ниже, чем у человека: 11 % у горчицы, 7 % у нематоды и всего 3 % у дрозофилы. Наш геном такой крупный во многом из-за того, что в нем накопилось гораздо больше «мусора», чем у многих других видов.

Общепотребительное название	Латинское название вида	Приблизительный размер генома (миллионы пар оснований)
Дрозофила	<i>Drosophila melanogaster</i>	180
Фугу (иглобрюх)	<i>Fugu rubripes</i>	400
Змея	<i>Boa constrictor</i>	2100
Человек	<i>Homo sapiens</i>	3200
Саранча	<i>Schistocerca gregaria</i>	9300
Лук	<i>Allium cepa</i>	18 000
Саламандра	<i>Amphiuma means</i>	84 000
Двоянодышщая рыба	<i>Protopterus aethiopicus</i>	140 000
Папоротник	<i>Ophioglossum petiolatum</i>	160 000
Амеба	<i>Amoeba dubia</i>	670 000

Такие различия в количестве «мусорной ДНК» объясняют застарелый эволюционный парадокс. Тема о количестве мусора в нашей ДНК – одна из самых «горячих» тем в научном сообществе. Вокруг этого вопроса среди ученых разгораются настоящие словесные баталии. В целом считается, что сравнительно сложные организмы должны обладать более крупными геномами, чем относительно примитивные, поскольку первым требуется закодировать больше информации, чем вторым. Действительно, существует корреляция между размером генома и уровнем сложности существа; геном дрожжей больше, чем геном *E. coli*, но меньше, чем наш. Однако степень таких корреляционных связей очень слабая.



Лук одержал верх: геном луковицы в шесть раз больше, чем геном несущего его человека

Логично было бы предположить, что естественный отбор должен поддерживать максимальную компактность генома. Судите сами: при каждом акте деления клетка должна реплицировать всю свою ДНК; чем больше приходится копировать, тем шире поле для ошибок, тем более энергозатратен и длителен процесс репликации. Задача кажется непростой для амёбы (или саламандры, или двоякодышащей рыбы). Так почему же ДНК у этих видов так невероятно разрослась? Имея дело с необычно длинными геномами, можно лишь логически заключить, что какие-то другие факторы отбора должны были нивелировать стимулы к поддержанию компактности

генома. Например, крупный геном может быть предпочтителен для видов, обитающих в экстремальной среде. Двоякодышащая рыба живет на стыке воды и суши и может выдерживать длительные засушливые периоды, закапываясь в ил. Возможно, для такого образа жизни требуется более объемная генетическая «матрица», чем для жизни всего в одной экологической среде.

Избыток ДНК обусловлен двумя основными эволюционными механизмами: удвоение генома и пролиферация конкретных последовательностей в геноме. Многие виды, особенно из царства растений, – потомки скрещивания более древних видов. Новый вид зачастую просто объединяет ДНК двух предковых видов и приобретает геном двойного размера. Однако возможны и такие генетические случайности, из-за которых геном может удвоиться и без участия другого вида. Например, один из «старожилов» молекулярной биологии – пекарские дрожжи – содержит примерно 6000 генов. Но, если внимательно присмотреться к этому геному, можно увидеть, что многие гены у дрожжей дублируются: у каждой «особи» ряд генов имеются в парных «разошедшихся» вариантах. Очевидно, на каком-то раннем этапе эволюционного развития дрожжей их геном удвоился. Изначально копии генов были идентичны, но со временем сходство было утрачено.

Еще более благодатным источником избыточной ДНК оказалось приумножение тех генетических последовательностей, которые могут внезапно менять расположение в геноме или плодить многочисленные копии – это так называемые прыгающие гены, мобильные элементы (транспозоны).

Когда Барбара Мак-Клинтон впервые объявила об этом открытии в 1950 году, сама идея о мобильных генетических элементах большинству ученых, привыкших к логике Менделя, казалась невероятной. Мак-Клинтон была выдающимся специалистом по генетике кукурузы, но ее путь в науке складывался очень непросто. Когда в 1941 году стало понятно, что постоянный контракт в Университете Миссури ей получить не удастся, она прибыла в лабораторию Колд-Спринг-Харбор, где продолжала активно работать до самой смерти в 1992 году в возрасте девяноста лет. Однажды Мак-Клинтон сказала коллеге: «Просто поверь в то, что видишь». Именно так она и занималась наукой. Революционную идею, согласно которой мобильные элементы влияют на гены, селективно ингибируя и регулируя их активность, она вывела из простых эмпирических фактов. Изучая генетические механизмы, обуславливающие появление мозаицизма у кукурузы, она заметила, что иногда в процессе развития зерна его цвет

меняется. Некоторые зернышки в процессе созревания могли стать пестрыми, например с фиолетовыми пятнышками на желтом фоне. Как объяснить такое внезапное изменение цвета? Мак-Клинтон сделала вывод, что некий (мобильный) генетический элемент то внедряется в пигментный ген, то покидает его.



Барбара Мак-Клинтон, первооткрывательница мобильных генетических элементов

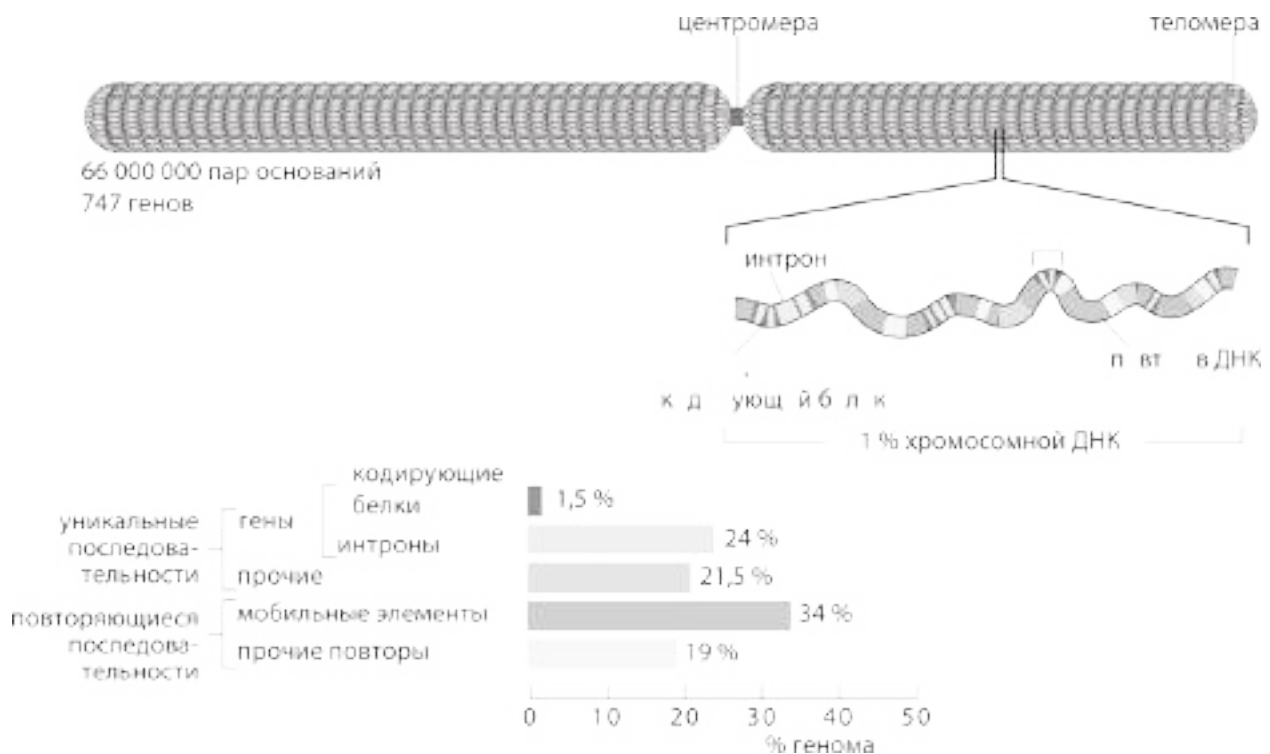
Только после появления технологий по работе с рекомбинантной ДНК удалось оценить, насколько распространены мобильные генетические

элементы; оказалось – это важнейшие компоненты большинства (если не всех) геномов, в том числе нашего. Некоторые наиболее распространенные мобильные элементы – те, что снова и снова обнаруживаются в различных сайтах одного и того же генома, – получили названия, отражающие их кочевую природу. Так, среди десятков мобильных элементов в геноме дрозофилы есть *gypsy* («цыган»), *hobo* («бродяга»), *looper1* («пяденица») и, что предсказуемо, *McClintock*. А те, кто изучает простейшее растение вольвокс, нашли у этого организма элемент, крайне активно «прыгающий» по всему геному; его назвали *Jordan* в честь знаменитого баскетболиста.

В мобильных генетических элементах содержатся последовательности ДНК, кодирующие ферменты, например фермент транспозазу, необходимый для перемещения контролирующих элементов, которые способны «вырезать» и «вставлять» хромосомную ДНК. Благодаря этим ферментам материал «прыгающего» гена оказывается на новых участках хромосом. Если в результате очередного переноса мобильный генетический элемент окажется в мусорной последовательности, на жизнедеятельность организма это не повлияет – просто увеличится количество мусорной ДНК. Если же мобильный генетический элемент окажется в жизненно важном гене и выключит его, то вмешаются факторы естественного отбора: организм может погибнуть или каким-то иным образом лишиться возможности передать видоизмененный ген потомкам. Перемещения мобильных элементов могут как способствовать появлению новых генов, так и видоизменять имеющиеся таким образом, что это оказывается на пользу хозяину. Следовательно, в процессе эволюции мобильные элементы преимущественно способствовали обновлению генома. Любопытно, что в новейшей истории человечества почти не встречается следов активных геномных перемещений; из чего я могу предположить, что наша мусорная ДНК, по-видимому, сформировалась очень давно. Напротив, в геноме мыши есть много активно повторно внедряющихся мобильных элементов – соответственно, геном мыши гораздо динамичнее человеческого. По-видимому, мышам такая активность генов ничуть не мешает; мыши – животные с высоким репродуктивным потенциалом – легко переносят генетические «аварии», связанные с частым попаданием мобильных элементов в жизненно важные регионы генома.

Поскольку большинство основных фактов о работе ДНК были выяснены на материале бактерии *E. coli*, то можно утверждать, что она обладает беспрецедентным послушным списком в качестве подопытного микроорганизма. Неудивительно, что секвенирование именно генома *E. coli* было одной из приоритетных задач на ранних этапах проекта «Геном

человека». Активнее всех рвался приступить к этой работе Фред Блатнер из Висконсинского университета. Однако выиграть грант ему не удалось до тех пор, пока не началось реальное финансирование проекта «Геном человека», и тогда ему, заметьте, одному из первых, одобрили грантовую поддержку на проведение секвенирования. Если бы на начальном этапе Блатнер не противился автоматическому секвенированию, то именно в его лаборатории впервые был бы полностью отсеквенирован бактериальный геном. В 1991 году он всеми возможными способами пытался увеличить скорость проведения исследования – увы, он делал это по старинке, за счет подключения к работе большого числа старшекурсников. С автоматизацией опоздал и Уолли Гилберт, которого я за два года до этого уговаривал заняться секвенированием мельчайшего из известных бактериальных геномов – генома внутриклеточного микроорганизма микоплазмы. К сожалению, стратегия секвенирования вручную не получила широкого распространения среди исследователей, и изучение генома *Mycoplasma* на тот момент времени «приказало долго жить». Однако Блатнер все-таки вовремя одумался и стал активно использовать методы автоматического секвенирования. Результатом его работы стало определение в 1997 году генома *E. coli*. Было показано, что геном этой бактерии содержит около 4000 генов.



Вот как выглядит фрагмент нашего генома: основные элементы

Двумя годами ранее состоялось крупномасштабное состязание за расшифровку первого бактериального генома; победу в Institute for Genomic Research праздновала команда, во главе которой стояли Хамилтон Смит, Крейг Вентер и его супруга Клэр Фрейзер. Они секвенировали геном бактерии *Haemophilus influenzae*, той самой, с которой еще двадцать лет назад работал Смит и, соответственно, мог предоставить для этой работы высококачественные библиотеки клонированной ДНК. Мы ведь все помним Смита, этого высоченного шестифутового математика, переметнувшегося в медицинский вуз. Из *Haemophilus influenzae* он впервые извлек ферменты-рестриктазы, нужные для нарезки ДНК; за это достижение в 1978 году он был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине. Вентер и Фрейзер работали с ДНК *Haemophilus*, подготовленной Смитом, используя полногеномный метод дробовика, а именно фрагментации генома на тысячи осколков ДНК, а затем, после обнаружения конкретных перекрывающихся последовательностей, они проводили реконструирование генома по последовательности отдельных фрагментов. Поскольку Вентер давно искал подходящий геном, чтобы попробовать метод дробовика для секвенирования целого генома, то он очень гордился возможностями, которые открывал метод секвенирования *H. influenzae*. Был еще интересный момент: у *H. influenzae* был сходный состав по соотношению оснований Г/Ц с ДНК человека. Наконец у Вентера появилась реальная возможность секвенировать геном свободноживущего организма. Им предстояло секвенировать 1,8 миллиона пар оснований. Уже на этапе документирования первых результатов расшифровки генома команда Вентера стала понимать, за какую адову работу они взялись и что им предстоит при секвенировании более крупных геномов. Если напечатать все А, Г, Ц и Т из генома *Haemophilus* на бумаге формата этой книги, то получится 4000-страничный том. Для каждого из 1727 генов *Haemophilus* потребовалось бы в среднем по две страницы. Что касается функций этих генов, их удалось однозначно определить лишь для 55 % генома. Например, в процессах энергообеспечения участвуют 112 генов, а на репликацию, починку и рекомбинацию ДНК их требуется минимум 87. Анализируя последовательности, можно предположить, что оставшиеся 45 % генов также функциональны, хотя их функционал не вполне понятен.

По бактериальным меркам геном *Haemophilus* довольно мал. Мы уже знаем, что размер бактериального генома коррелирует с тем, в насколько разнообразных экосистемах может очутиться тот или иной штамм.

Haemophilus относится к тем бактериям, местообитанием которых является единственная и, главное, однородная среда – скажем, кишечник другого живого существа – они вполне обходятся относительно небольшим геномом. Но бактерия, желающая пообщаться с внешним миром, должна быть приспособлена к более разнообразным условиям и уметь на них реагировать. Гибкость таких реакций обычно зависит от того, располагает ли бактерия альтернативными наборами генов; каждый набор заточен под конкретные условия и оперативно включается, как только они наступят.

Не менее интересный организм – *Pseudomonas aeruginosa*, бактерия, вызывающая у человека серьезные инфекции, крайне опасная для пациентов с муковисцидозом, – обитает в самых разных экосистемах. В главе 5 обсуждалось, как генетически модифицированная форма *Pseudomonas aeruginosa* стала первым запатентованным живым организмом; интересно, что эта форма была приспособлена к жизни в нефтяных пятнах, среде, даже отдаленно не напоминающей человеческие легкие, где обитает обычная *Pseudomonas*. В геноме *P. aeruginosa* 6,4 миллиона пар оснований и примерно 5770 генов. Около 7 % этих генов кодируют факторы транскрипции, то есть белки, включающие и выключающие гены. Возвращаясь к *E. coli*, добавлю: «репрессор» *E. coli*, существование которого предсказали в начале 1960-х годов Жак Моно и Франсуа Жакоб (см. главу 3), – именно такой фактор транскрипции. Представлялось важным разбить ДНК на фрагменты определенного размера таким образом, чтобы при случайной выборке из миллионов фрагментов лишь от 20 до 30 тысяч из них статистически представляли собой всю ДНК генома. Вентер продемонстрировал, как мы облегчили процесс сборки генома, применив метод секвенирования спаренных концов к обоим концам каждого фрагмента.

структуры, принадлежат облигатным симбионтам – не способным к автономному существованию организмам. Оказалось, что в относительно короткой последовательности *M. genitalium* насчитывается 517 генов, из которых 482 кодируют белки, плюс несколько десятков генов, кодирующих РНК. Полный объем генома составляет 580 тысяч нуклеотидных пар. Естественно, возник вопрос: какие из генов являются жизненно важными? Вернер предпринял попытки, пытаясь приблизительно очертить минимальное количество генов, при котором организм продолжает оставаться жизнеспособным. Начались эксперименты, в ходе которых гены *M. genitalium* поочередно выключались, чтобы проверить, какие из них абсолютно необходимы для жизни, а какие – нет. Анализируя расположение транспозонов в секвенированных геномах, удалось установить, что жизненно необходимыми для организма являются от 265 до 350 генов. В 2006 году группа Вентера сообщила, что у генно-модифицированной бактерии можно отключить 100 генов и это не приведет к фатальным последствиям для жизнеспособности; таким образом, «минимальный геном» стал включать 382 гена. Признаться, этот «минимум» слегка надуман, поскольку микроорганизмы с выключенными генами находились в идеальной питательной среде, где имелись все вещества, необходимые для их жизнеобеспечения. Ситуация с микроорганизмами до смешного похожа на ту, при которой мы объявляем: «почки не являются жизненно необходимым органом, ведь пациент вполне просуществует на аппарате для гемодиализа».

На решение задачи создания синтеза живого организма с нуля путем объединения отдельных очищенных компонентов, так называемой лабораторной микоплазмы, Вентер потратил более десяти лет. Учитывая, что у *Mycoplasma* 482 белка и молекулы некоторых из них содержатся в клетке в огромном количестве, а другие единичны, задача создания столь невероятно сложной системы казалась мне почти безнадежной. Я, к примеру, с трудом улавливаю сюжет сериала «Игра престолов», где есть всего четверо или пятеро главных персонажей, от лица которых излагаются сюжетные линии; мысль о том, чтобы частично заблокировать сложные взаимодействия между жизненно важными элементами в клетке, буквально взрывает мозг. Ведь живая клетка – это не аккуратная миниатюрная машинка; скорее, это, по образному выражению Сиднея Бреннера, «молекулярный серпентарий».

Вентер твердо верил в то, что мы находимся на заре новой эры, когда можно будет создавать искусственные клетки. Он, конечно, забежал вперед, не желая тратить время на решения комитета по биоэтике, не задумываясь

о необходимости хотя бы посоветоваться на тему: а стоит ли так быстро бежать в этом направлении? Люди вроде меня не видят моральной дилеммы в «творении жизни» таким образом, но не все думают как я. Прошло 15 лет от начала первой попытки секвенирования бактериального генома до сборки первой синтетической клетки. Вторая попытка синтезировать бактериальный геном была предпринята в 2010 году. Команда Вентера, преодолев многочисленные технологические и биохимические сложности, вышла на этот этап, для чего переключила внимание с *M. genitalium* на более крупную *Mycoplasma mycoides* (несмотря на то что в геноме *M. mycoides* более миллиона оснований, для работы она оказалась удобным объектом, поскольку растет в лабораторных условиях гораздо быстрее, чем *M. genitalium*). В качестве прототипа была выбрана хромосома бактерии *Mycoplasma mycoides* (подвид *capri* GM12) объемом 1,08 миллиона нуклеотидных пар. Созданный геном получил кодовое обозначение JCVI-syn1.0. Он практически полностью повторял геном одного из штаммов бактерии *Mycoplasma mycoides*, за исключением нескольких искусственно внедренных генетических маркеров, нескольких удаленных в процессе синтеза незначимых генов и 19 мутаций, возникших в процессе сборки фрагментов ДНК. Искусственные бактериальные хромосомы были спроектированы на компьютере, синтезированы из четырех реактивов, собраны в дрожжевых клетках, перенесены в бактерию и, наконец, трансплантированы в оболочку бактериальной клетки. «Это первый самовоспроизводящийся вид на планете, созданный при помощи компьютера», – объявил Вентер. Клетки с искусственным геномом нормально функционируют и способны к многократным делениям.

Ранее было сказано, что в искусственный генетический код были встроены четыре водяных знака, отчасти для того чтобы развеять окончательные сомнения в том, что эта клетка не человеческая. В водяных знаках значились фамилии сорока шести членов команды, а также подборка цитат, в том числе слова ирландского писателя Джеймса Джойса: «Жить, заблуждаться, падать, торжествовать, воссоздавать жизнь из жизни». Однако наследников Джойса это совершенно не устроило, они направили Вентеру письмо с требованием о приостановке и прекращении деятельности, заявив, что он использовал цитату без разрешения. Команда Вентера также включила в водяные знаки цитату знаменитого физика Ричарда Фейнмана из Калифорнийского технологического института; впоследствии, правда, оказалось, что они ее переврали, переставив слова местами и изменив значение некоторых фраз.

Такой замечательный и успешный проект лишний раз подтверждает

истину, давно известную всем молекулярным биологам: основа жизни – это сложная химия и ничего более. Открытие Вентера попало в растиражированные заголовки и предсказуемо вызвало упреки в «посягательстве на божественное», но сам Вентер в большей степени заинтересован в практическом применении синтетической биологии в различных сферах: от производства биотоплива до разработки вакцин. Теперь только прямо противоположный вывод о том, что жизнь не сводится к сумме простейших первоэлементов и процессов, мог бы всерьез взбудоражить современное научное сообщество.

Анализ ДНК уже преобразил микробиологию. До широкого применения методов секвенирования ДНК идентификация бактериальных штаммов напрямую зависела от разрешающей способности приборов: можно отметить, какова форма колонии, растущей в чашке Петри, рассмотреть форму отдельных клеток в микроскоп либо воспользоваться относительно грубыми биохимическими анализами, например окрашиванием по Граму. В таком случае штамм может быть признан грам-положительным или грам-отрицательным в зависимости от структуры его клеточной стенки. Однако с появлением секвенирования ДНК микробиологи вдруг смогли ориентироваться на отличительные признаки, которые однозначно, определенно характеризовали любой конкретный вид. Даже такие штаммы, которые обитают в глубинах океана и поэтому не могут быть выращены в лабораторных культурах (поскольку сложно воспроизвести условия, характерные для их естественной среды обитания), поддаются анализу ДНК – достаточно добыть с глубины нужный образец.

В 2006 году компания TIGR вошла в состав Института Дж. Крейга Вентера. Эта организация до сих пор остается флагманом бактериальной геномики. Вскоре ученые как следует отсеквенировали геномы более ста различных бактерий, в том числе *Helicobacter*, вызывающую язву желудка, холерный вибрион, *Neisseria* (возбудитель менингита) и *Ch. pneumoniae*. Самым серьезным конкурентом Институту Дж. Крейга Вентера был Сенгеровский институт. Во главе британского направления стоял Барт Баррелл, работы которого проводились за пределами США, ему в этом плане, можно сказать, повезло; в Америке его скромные научные регалии не позволили бы пробиться в высшую научную лигу. Баррелл занялся наукой сразу по окончании старшей школы и работал ассистентом у Сенгера задолго до того, как секвенирование ДНК стало реальностью; он был одним из немногих, кто получил степень PhD, не имея законченного высшего образования. Прежде чем приступить к работе с бактериями, Баррелл зарекомендовал себя как пионер автоматизации, вооружившись

несколькими капиллярными ABI-секвенаторами и обработав с их помощью около 40 % генома пекарских дрожжей, состоящего из 12 миллионов оснований. Это происходило в то время, пока крупный европейский консорциум, занятый секвенированием генома дрожжей, все еще ограничивался ручными методами секвенирования. Позднее усилия группы Баррелла были вознаграждены: именно его команда первой отсеквенировала геном *Mycobacterium tuberculosis*, возбудителя тяжелого хронического заболевания, которое некогда именовалось «чахотка».

Все перспективы анализа бактериальной ДНК в полной мере удалось реализовать в медицинской диагностике: для эффективного лечения врач должен первым делом идентифицировать возбудителя. Традиционно для этого требовалось культивировать бактерии из инфицированных тканей – это медленный процесс, особенно мучительный, когда нельзя терять ни минуты. Пользуясь таким быстрым, простым и точным анализом ДНК для распознавания микробов, врач мог приступить к адекватному лечению гораздо быстрее. Внедрение этой технологии было буквально навязано практической медицине в интересах национальной безопасности: осенью 2001 года требовалось выявить источник распространения сибирской язвы, зарегистрированный в США. Секвенировав бактерию сибирской язвы из образца, взятого у первой жертвы, исследователи из TIGR получили точный «генетический отпечаток» именно этого штамма. В 2008 году Брюс Айвинс, микробиолог на госслужбе, которого признали главным подозреваемым по этому делу, совершил самоубийство. В 2011 году, когда в Германии из-за смертельной вспышки токсикоинфекции погибло 23 человека, молниеносное секвенирование ДНК позволило выявить опасную бактерию за считанные дни. Сколько жизней при этом было спасено!

По мере того как мы всё больше узнаем о геномах микроорганизмов, вырисовывается поразительная закономерность. Как мы уже знаем, эволюция позвоночных – это история прогрессирующей генетической экономии: благодаря расширению арсенала регуляторных генетических механизмов одни и те же гены становятся все более многофункциональными. Даже если и появляются новые гены, они обычно представляют собой всего лишь вариации на имеющуюся генетическую тему. Напротив, бактериальная эволюция оказалась целой сагой о гораздо более радикальной трансформации; это головокружительный процесс, благоприятствующий импорту или созданию совершенно новых генов, а не доводке того материала, который уже имеется в геноме.

В действительности, рекомбинантная технология стала возможной именно потому, что бактерии превосходно умеют инкорпорировать новые

фрагменты ДНК (обычно в виде плазмид). Неудивительно, что и во всей бактериальной эволюции прослеживается драматическая история заимствования генов, уходящая в прошлое. *E. coli*, безобидная обитательница нашего кишечника (и чашек Петри в наших лабораториях), в результате заимствования генов превращается в убийственные штаммы. Яды, выделяемые одним из штаммов, провоцируют вспышки токсикоинфекций (например, в Шотландии в 1996 году – 21 погибший). Появляются заголовки о «смертоносных гамбургерах». Все дело в обширном межвидовом генетическом «заимствовании» у бактерий.

Как правило, генетический материал передается «по вертикали» – от предков к потомкам. Вышеописанный мной механизм заимствования ДНК именуется «горизонтальным переносом». Если сравнить геномную последовательность обычной *E. coli* и патогенного штамма, то видно, что в обоих геномах имеется общий генетический «остов», демонстрирующий, что оба штамма относятся к одному и тому же виду, но в ДНК у патогенной бактерии есть множество уникальных дивергентных «фрагментов». В целом у патогена отсутствует 528 генов, имеющих у обычной бактерии, зато есть 1387 таких, которыми она не обладает. Именно такая замена – 528 на 1387 – позволяет понять, как один из самых безобидных организмов в природе превращается в убийцу. Анализ того штамма *E. coli*, который спровоцировал смертельную вспышку в Германии в 2011 году, показал, что опасная бактерия приобрела несколько генов антибиотикорезистентности.

Для других патогенных бактерий тоже характерен подобный массовый горизонтальный перенос генов. Так, холерный вибрион, возбудитель холеры, интересен тем, что у него есть две отдельные хромосомы (что нехарактерно для бактерий). Более крупная из них (около трех миллионов пар оснований), по всей видимости, имела у микроба изначально, и именно в ней содержится большинство генов, жизненно важных для работы клетки. Меньшая хромосома (около миллиона пар оснований) кажется мозаичной, составленной из лоскутков ДНК, заимствованных у других видов. Примечательный и беспрецедентный случай горизонтального переноса генов недавно выявлен у вируса (бактериофага) WO, который обычно гнездится внутри бактерий, обитающих в клетках у насекомых. Секвенировав геном серовара WO, исследователи с удивлением обнаружили, что треть его ДНК не вирусного и даже не бактериального происхождения, а заимствована у насекомых и паукообразных. Поразительно, что в этом генетическом миксе нашелся даже фрагмент гена, кодирующего латротоксин – основное действующее вещество в яде паука «черная вдова». Небанальный вирус WO получил новое прозвище:

франкенфаг.

Так уж устроены сложно организованные существа, в особенности такие крупные, как люди, что их внутренний метаболизм, включая биохимический гомеостаз, изолирован от факторов внешней среды. Как правило, чужеродные антигены не могут серьезно на нас повлиять, если мы их не вдыхаем и не проглатываем. В этом причина того, что биохимические процессы у позвоночных протекают практически одинаково. В то же время бактерия гораздо сильнее подвержена химическим перипетиям окружающей среды: колонию может внезапно смыть потоком химических соединений, таких, например, как дезинфицирующий хозяйственный отбеливатель. Стоит ли удивляться, что эти исключительно уязвимые организмы обзавелись удивительно разнообразными биохимическими особенностями. Действительно, двигатель бактериальной эволюции – биохимические инновации, изобретение новых ферментов (или модернизация старых) для всевозможных химических трюков. Один из самых захватывающих и наглядных примеров такого эволюционного принципа наблюдается у группы бактерий, чьи физиологические тайны стали приоткрываться лишь совсем недавно. Речь об «экстремофилах» – микроорганизмах, предпочитающих максимально негостеприимные экосистемы.

Бактерии *Pyrococcus furiosus*, обнаруженные в геотермальных источниках Йеллоустонского парка, превосходно чувствуют себя в кипящей в воде и замерзают только тогда, когда температура падает ниже 70 °С. Подобные бактерии также обитают в перегретой воде «черных курильщиков» (это горячие источники, расположенные на дне океана; из-за огромного давления вода в них не закипает). Эти бактерии нашли в среде, не уступающей по агрессивности концентрированной серной кислоте, а также в крайне щелочных растворах. *Thermoplasma acidophilum* – всем экстремофилам экстремофил; латинское название означает, что эта бактерия выдерживает как экстремально высокие температуры, так и низкие значения pH. Некоторые экстремофилы были найдены в нефтеносных породах; оказалось, что они способны получать энергию для метаболических процессов из нефти и других углеводородов. Такие бактерии напоминают миниатюрные автомобильчики. Один из таких видов обитает в породах на полуторакилометровой глубине и ниже, а в присутствии кислорода погибает; неудивительно, что его называли *Bacillus infernus*.

Самыми известными микробами, открытыми в последнее время, являются представители вида, наличие которых опровергает одну из

ключевых догм биологической науки – убеждение, что вся энергия для жизнеобеспечения поступает к нам от Солнца. Даже *B. infernus* и нефтеперерабатывающие бактерии не утратили связи с органическим прошлым, ведь миллионы лет тому назад Солнце согревало те растения и животных, которые сегодня превратились в ископаемое топливо. Однако так называемые литоавтотрофы способны извлекать необходимые питательные вещества прямо из пород, *de novo* образующихся при вулканических процессах. В этих породах (таких как гранит) нет ни следа какой-либо органики; они не содержат ни капли энергии, которая могла бы сохраниться с доисторических солнечных дней. Литоавтотрофам приходится синтезировать собственные органические молекулы из этих неорганических веществ. Они буквально «грызут гранит».

О том, насколько слабо мы представляем себе микробную вселенную в целом, красноречивее всего свидетельствует запоздалое открытие бактериального рода *Prochlorococcus*, относящегося к планктону; эти одноклеточные бактерии фотосинтезируют, плавая в толще воды. В кубическом миллиметре воды может насчитываться до 200 тысяч таких бактерий – пожалуй, это и есть самый многочисленный вид на планете. Определенно, на долю *Prochlorococcus* приходится значительный вклад в глобальные пищевые цепи. Тем не менее *Prochlorococcus* оставался неизвестен вплоть до 1988 года.

Наличие удивительной вселенной микроорганизмов, окружающих нас повсюду, демонстрирует феноменальную мощь естественного отбора, продолжавшегося миллиарды лет. Действительно, историю жизни на нашей планете можно считать «историей бактерий»; более сложные организмы (и мы в том числе) появились совсем недавно, буквально «напоследок» эволюционного пути. По-видимому, жизнь возникла около 3,5 миллиарда лет тому назад именно в бактериальной форме. Первые эукариоты – клетки, чей генетический материал заключен в ядре, – появились примерно 800 миллионов лет спустя, но эти существа оставались одноклеточными на протяжении еще около миллиарда лет. Лишь примерно полмиллиарда лет тому назад произошел настоящий биологический прорыв, в результате которого появились существа, подобные земляному червю, плодовой мушке, а также первый вид, способный читать и записывать ДНК – *Homo Sapiens*. Доминирование бактерий весьма заметно при реконструкции древа жизни по ДНК – впервые такая модель была построена покойным Карлом Вёзе из Университета штата Иллинойс. Древо жизни – это генеалогическое древо бактерий, где на самых молодых веточках начинают появляться

многоклеточные существа. Сегодня идеи Вёзе являются общепризнанными, но поначалу они вызвали серьезное сопротивление в среде биологического истеблишмента. Некоторые следствия, проистекающие из выстроенной схемы эволюционного древа на базе ДНК, принять было непросто. Так, по этим данным выходило, что между растениями и животными нет тесного родства, как считалось ранее; на самом деле ближайшие родственники животных – грибы. Люди и грибы происходят от одного и того же эволюционного корня.

Проект «Геном человека» подтвердил правоту Дарвина в значительно большей степени, чем мог предположить сам Дарвин. Молекулярное сходство в конечном итоге проистекает из того, как именно различные организмы связаны общим происхождением. Успешное эволюционное «изобретение» (мутация или совокупность мутаций, поддержанных естественным отбором) передается от поколения к поколению. По мере того как древо жизни ветвится – существующие эволюционные линии порождают новые (например, рептилии как таковые сохраняются, но от них происходят птицы и млекопитающие), такое «изобретение» в итоге может оказаться в распоряжении самых разнообразных видов-потомков. Например, у 46 % белков, имеющих у дрожжей, также есть человеческие гомологи. (Грибная) эволюционная линия дрожжей и та линия, от которой в конечном итоге произошли люди, разделились (вероятно) около миллиарда лет тому назад. С тех пор обе линии развивались независимо, каждая по своей эволюционной траектории; фактически с момента жизни нашего с дрожжами общего предка минул один миллиард лет эволюционной активности. Тем не менее за все это время та совокупность белков, которой располагал наш общий предок, изменилась минимально. Как только эволюции удастся решить конкретную задачу, например синтезировать фермент, который будет катализировать определенную химическую реакцию, природа жестко придерживается этого направления эволюции. Мы уже знаем, как эволюционная инерция обусловила центральную роль РНК в клеточных процессах. Жизнь (об этом впервые высказался Карл Вёзе) началась в «мире РНК», и наследие тех времен сохраняется по сей день. Такая инерция распространяется и на биохимические особенности: 43 % белков червей, 61 % белков дрозофилы и 75 % грибных белков содержат последовательности, аналоги которых есть и в белках человека.

Сравнение геномов также помогает понять эволюцию белков. Как правило, белковую молекулу можно считать совокупностью из различных участков, так называемых фрагментов аминокислотных цепочек, выполняющих конкурентную функцию либо образующих характерную

пространственную структуру. По-видимому, эволюция просто перетасовывает эти участки и создает новые комбинации. Выдающийся пример такого рода – эукариотический организм *Oxytricha trifallax*, обитающий в стоячей пресной воде. Лора Ландвебер провела интересные и изящные исследования, которые показали, что при спаривании их геном буквально крошится на фрагменты и затем восстанавливается заново. Две клетки *Oxytricha* сходятся и взаимно обмениваются геномами примерно наполовину (отдают примерно по 18 500 генов). Пока половина генов остается в так называемом рабочем ядре, остаток переходит во второе ядро, состоящее примерно из 100 хромосом. Каждая клетка лишается примерно 90 % новоприобретенной ДНК и остается примерно с 16 тысячами нанохромосом, во многих из которых всего по одному гену. Возможно, такая перестройка генома при рождении новой особи и объясняет, каким образом *Oxytricha* удалось просуществовать на Земле около двух миллиардов лет. Вероятно, это эволюционный реликт, утраченный всеми существами, кроме *Oxytricha*.

Предположительно, большинство вариантов белковых молекул, полученных в результате перестановок, структурно случайны, поэтому бесполезны и, соответственно обречены на отбраковку естественным отбором. Очень редко новая комбинация оказывается полезной, тогда возникает новый белок. Примерно 90 % участков, найденных в человеческих белках, также обнаружены в белках дрозофилы и червей. Фактически уникальный человеческий белок не что иное, как пересобранная версия белка дрозофилы.

Такое биохимическое сходство между разными организмами нагляднее всего демонстрируется в ходе так называемых спасительных экспериментов, цель которых – устранить тот или иной белок у одного вида, а затем задействовать соответствующий белок от другого вида, чтобы ликвидировать сложившиеся в ходе патологического процесса или уже имеющиеся дисфункции. Мы уже видели, как эта стратегия применяется в случае с белком инсулином. Поскольку человеческий и коровий инсулин схожи, диабетики выживают, принимая коровий инсулин в качестве заменителя человеческого.

В опыте, напоминающем эпизод из проходного научно-фантастического фильма, исследователи смогли вырастить глаза на лапках у дрозофил, манипулируя конкретным геном, определяющим расположение глаз у этой мушки. Этот ген инициирует работу множества других генов, участвующих в формировании глаза в заданном месте. Аналогичный мышинный ген настолько похож на ген дрозофилы, что будет работать точно

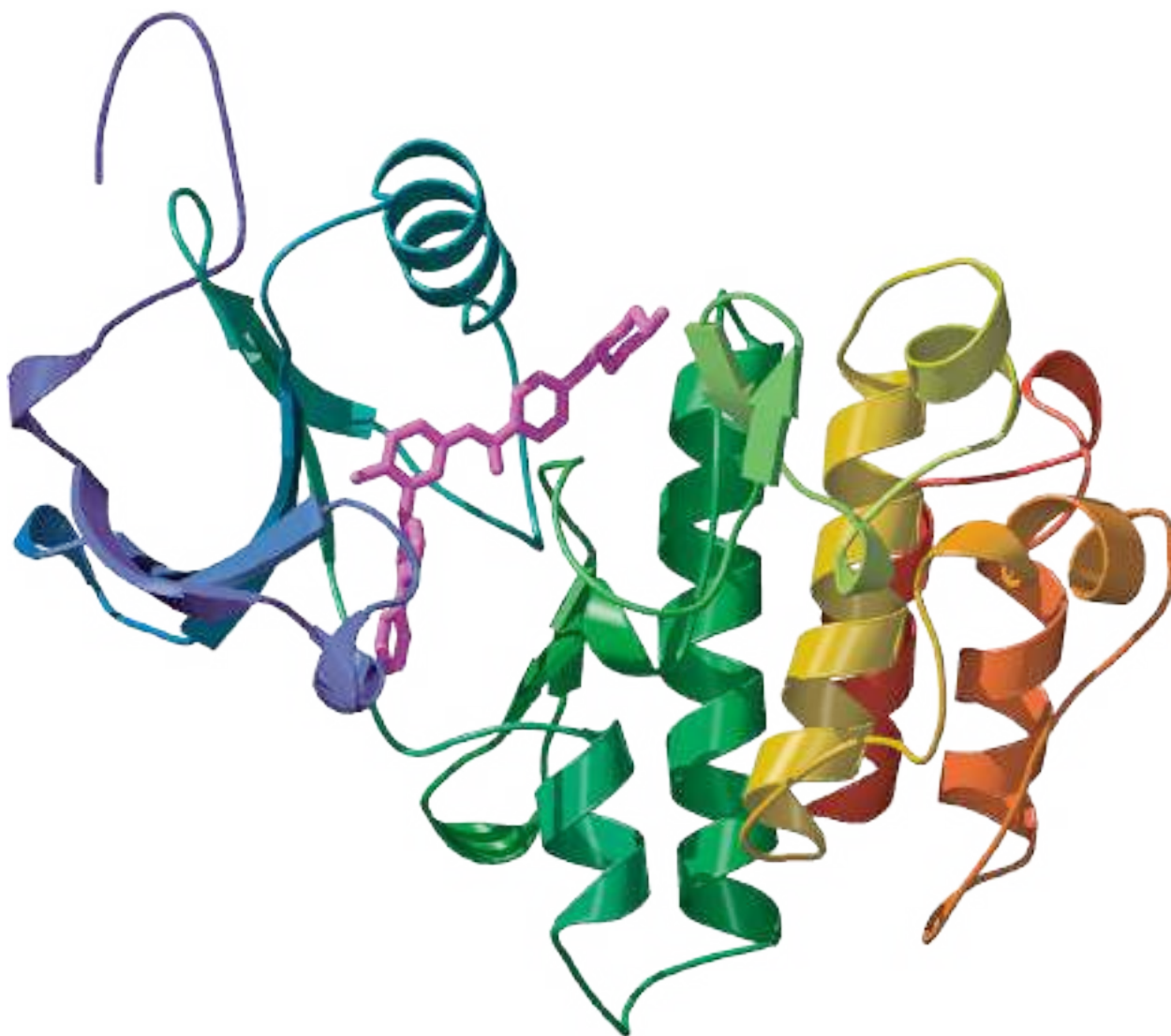
так же, если поместить его – к слову, современный генетик делает это мановением руки – в геном дрозофилы, у которой этот ген ранее устранен. Сам факт, что такое возможно, мягко говоря, примечателен. Эволюция разделила предков дрозофил и мышей не менее полумиллиарда лет тому назад. Таким образом – следуя логике, которая применима к формированию эволюционных линий человека и дрожжей, развивавшихся одновременно и независимо друг от друга, – этот ген сохранился на протяжении более миллиарда лет эволюции. Ситуация станет еще более удивительной, если учесть, что мышинный глаз принципиально отличается от глаза дрозофилы как по структуре, так и по оптическим характеристикам. Предположительно, в каждой эволюционной линии глаз адаптировался к решению конкретных задач, но базовый механизм, определяющий местоположение глаза, в совершенствовании не нуждался и поэтому не изменился.

Наиболее отрезвляющим в рамках проекта «Геном человека» было осознание того, как удивительно мало мы знаем о функциях абсолютного большинства человеческих генов. Отсеквенированный геном – это подробный инвентарный список для сборки организма, но в нем не прописано, как именно собрать организм и как он затем будет работать. Чтобы воспользоваться этой добытой с таким трудом информацией, необходимо разработать методы для изучения функций генов в масштабах всего генома.

На заре разработки проекта «Геном человека» быстро сформировалось несколько новых научных дисциплин, получивших незапоминающиеся названия, которые заканчивались на «-омика», по образу «геномики». Две наиболее важные дисциплины именуются протеомика и транскриптомика, наряду с ними существуют еще и гликомика, липидомика, метаболомика и масса других дисциплин с еще более уморительными названиями. Протеомика – это наука о белках, кодируемых генами. Протеомика изучает, где и в каких ситуациях экспрессируются гены, то есть какие гены проявляют транскрипционную активность в конкретной клетке. Если требуется так или иначе понять работу генома в динамике, то есть рассмотреть, как разыгрывается сценарий жизни, то протеомика, транскриптомика и им подобные науки помогут взглянуть на это действо. Проблема состоит в том, что чем больше мы узнаем, тем лучше понимаем, что жизнь – это кинофильм с бесконечным числом кадров.

Ученые давно догадывались, что с биологической точки зрения белок гораздо сложнее, чем линейная последовательность аминокислот, из которых он состоит. Чтобы понять, как работает белок, необходимо

разобраться, как именно эта последовательность сворачивается в уникальную трехмерную конфигурацию – такими вопросами и занимается протеомика. Структурный анализ белков по-прежнему выполняется при помощи рентгеновской дифракции: молекула бомбардируется рентгеновскими лучами, которые отражаются от атомов и при рассеянии образуют характерный узор, по которому можно определить трехмерную форму белка. В 1962 году Джон Кендрю и Макс Перуц, с которыми нам в свое время довелось вместе работать в Кавендишской лаборатории, совместно получили Нобелевскую премию по химии за уточнение структур двух белков: миоглобина (участвующего в создании в мышцах кислородного резерва, который расходуется по мере необходимости, восполняя временную нехватку кислорода) и гемоглобина (способного обратимо связываться с кислородом, обеспечивая его перенос в ткани). Это была фундаментальная работа. Рассматривая рентгеновские дифракционные снимки, которые они интерпретировали, я смог понять, насколько же просто (в сравнении с белками) устроена ДНК!



Протеомика: трехмерная структура белка BCR-ABL, вызывающего рак. Слияние двух генов, вызванное хромосомной аномалией, приводит к синтезу этого гибридного белка, вызывающего пролиферацию клеток и провоцирующего одну из форм лейкемии. Сиреневым показан препарат Gleevec, селективный ингибитор BCR-ABL (см. главу 14). Работа с такой трехмерной моделью помогает при разработке лекарств. (В структурной модели BCR-ABL не демонстрируются детали атомов или отдельных аминокислот, тем не менее компоновка белка передана точно.)

Представление об объемной структуре белка значительно облегчает работу химиков-фармацевтов, занятых поиском новых действенных лекарств (терапевтическая функция многих препаратов основана на ингибировании действия определенных белков). В нашем все более специализированном и автоматизированном мире фармацевтических

исследований появились компании, предлагающие услуги по определению структуры белка, словно белок – штампованная конвейерная продукция. Теперь такая работа выполняется проще, чем во времена Перуца и Кендрю: появились более мощные рентгеновские облучатели, автоматизировалась запись данных, сами компьютеры стали гораздо быстрее, а их программы – интеллектуальнее. Поэтому расшифровка структуры белка теперь может занимать не годы, а считанные недели. В конце 2015 года в «базе данных белков» содержались атомные структуры более 26 тысяч человеческих белков.

Однако сплошь и рядом трехмерная структура как таковая ничего не говорит о функции белка. Напротив, важные подсказки можно получить, изучая, как именно неизвестный белок взаимодействует с белками-партнерами, ранее известными. Простой способ идентификации таких взаимодействий (BiFC) заключается в следующем: в условиях *in vitro* известный белок соединяем с неизвестным, обработанным флюорохромной меткой, флюорохром подбираем таким образом, чтобы испускаемое излучение было видимым в ультрафиолете. Остается обнаружить флуоресцентные сигналы заметной интенсивности взаимодействующих белковых комплексов. В таком случае можно предположить, что и внутри клетки два этих белка должны взаимодействовать. BiFC-подход существенно облегчил визуализацию сайтов белковых взаимодействий на субклеточном уровне.

В идеале, чтобы знать «сценарий» жизни и видеть, как разворачивается действие «фильма» под названием жизнь, требуется открыть все мельчайшие изменения в составе белка, происходящие в процессе развития особи, от оплодотворения до зрелой особи. На протяжении этого процесса действует множество белков, некоторые оказываются специфичны для конкретного этапа развития, поэтому в каждой фазе роста предстоит увидеть в действии различные совокупности белков. Например, гемоглобин зародыша и взрослой особи слегка различаются. Аналогично каждая разновидность ткани синтезирует собственные профильные белки.

Наиболее надежный способ отсортировать различные белки из имеющегося образца ткани – по-прежнему все тот же проверенный метод гельфореза с использованием двумерных гелей для разделения белковых молекул на основе различий их электрического заряда и молекулярной массы. Разделенные таким образом несколько тысяч белковых проб также можно проанализировать при помощи метода масс-спектрометрии, позволяющего исследовать состав белка на основании определения

отношения массы к заряду ионов, образующихся при ионизации представляющих интерес компонентов пробы. Таким образом можно определять молекулярную последовательность каждой аминокислоты. Прошло более десяти лет после завершения проекта «Геном человека», а приблизительная карта человеческой протеомы еще не была построена. В 2014 году два консорциума наконец-то достигли этой цели. Проанализировав 30 разных тканей, они смогли каталогизировать 84 % белковых продуктов человеческого организма. В ходе этой работы были открыты сотни новых белков, в том числе продукты длинных, протяженных межгенных некодирующих РНК. С большой долей уверенности можно говорить, что каталог протеомики незаменим для понимания человеческого генома, хотя господствующая на сегодняшний день точка зрения – что информация передается от генома к РНК (транскриптома) и далее к белкам (протеома). Благодаря наличию новых данных, выложенных в открытый доступ, фармацевтические компании получили данные для работы на десятилетия вперед.

По сравнению с высокопроизводительной протеомикой, где применяются дорогое оборудование и автоматизация в промышленном масштабе, практическая транскриптомика на деле оказалась гораздо дешевле и проще: функционирование всех генов в геноме можно отследить, измеряя относительное содержание продуктов матричной РНК (мРНК) каждого из белков. Если вам интересно, какие гены экспрессируются, скажем, в клетках человеческой печени, вы выделяете образец мРНК из тканей печени. Получается «снимок» популяции мРНК в печеночной клетке: самые активные гены, транскрибируемые чаще всего и продуцирующие множество молекул мРНК, будут представлены более многочисленной популяцией, но если ген транскрибируется редко, в образце окажется всего несколько экземпляров его мРНК.

Ключом к транскриптомике стало на удивление простое изобретение под названием «ДНК-микрочип». Представьте себе стеклянную пластину размером 12,8 × 12,8 мм, на которую в виде сетки нанесены десятки или сотни тысяч крошечных точечных отверстий (они вытравлены в стекле). В эти отверстия с помощью микропипетки вносим последовательности ДНК от конкретного гена, они составят матрицу, в которой будет локализован один из генов человеческого генома. Критически важно, что мы знаем, где именно на этой пластине локализован каждый ген ДНК. Компания *Affymetrix*, расположенная близ Стэнфорда, смогла изготовить еще более миниатюрные чипы, вытравив их на кремниевой пластине такого размера, что применяются в небольших компьютерах. Так и получился «ДНК-чип».

Ученый Марк Чи, основавший *Affymetrix*, также был сооснователем компании *Illumina*, ставшей крупнейшим поставщиком на рынке таких микрочипов.

При помощи стандартных биохимических методов можно помечать печеночные мРНК химическим флуоресцентным маркером, так что вышеупомянутые белки обязательно будут флуоресцировать в ультрафиолете. На следующем этапе во всем своем великолепии проявляется вся сила и простота метода: просто сливаем наш образец мРНК на микрочип, где нас уже ждет миниатюрная пластинка с отверстиями, в которые уже внесены конкретные гены. Те самые связи, что возникают при спаривании оснований и удерживают вместе две нити двойной спирали, заставят каждую молекулу мРНК прикрепиться к тому гену, которому она комплементарна. Комплементарность точна и совершенно безошибочна: мРНК от гена X закрепится лишь в том отверстии в микрочипе, где находится ген X. На следующем этапе остается зарегистрировать флуоресценцию мРНК. На каких-то участках мы не увидим флуоресценции, и это будет обозначать, что комплементарной ему мРНК в образце не было. Следовательно, можно сделать вывод о том, что активной транскрипции этого гена в печеночных клетках не происходит. В то же время многие участки заметно флуоресцируют, некоторые – особенно интенсивно; это означает, что к ним прикрепилось множество молекул мРНК. Вывод: мы выявили очень активный ген. Таким образом, при помощи единственного экспериментального анализа мы идентифицируем все без исключения гены, активные в клетках печени. Такие молекулярные обзоры стали реальностью благодаря успешности проекта «Геном человека» и новому мировоззрению, которое проект привнес в биологию: исследователи больше не удовлетворяются изучением разрозненных фрагментов, они рассматривают полную картину генома во всей его великолепной красоте. Стоит ли удивляться тому, что Пэт Браун из Стэнфорда, один из ведущих практикующих специалистов, использующих этот метод, считает ДНК-микрочипы «новой разновидностью микроскопа».

Еще один эпохальный метод для изучения различных межбелковых взаимодействий ряд исследователей именует «интерактом». Название обозначает полный набор взаимодействий между молекулами в отдельной клетке. Интерактом включает как непосредственные физические контакты между белками (белок-белковые взаимодействия), так и не прямые взаимодействия генов, это как минимум дважды гибридный метод. В 1989 году его разработал генетик из Университета штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук Стэн Филдс, специализирующийся на инновационных

научных технологиях, способных простимулировать научные открытия. В таком двухгибридном анализе смешиваются и стыкуются пары белков, и все происходит не на инертной матрице, а в живой дрожжевой клетке. Метод заключается в том, чтобы проанализировать взаимодействие белков *in vivo* в дрожжах путем связывания интересующих белков А и В с разделенными ДНК-связывающим и ДНК-активационным доменами некоторого активатора транскрипции. Конструкция «белок А + ДНК-связывающий домен» называется наживкой (*bait*), а конструкция «белок В + активационный домен» называется жертвой (*prey*). Если белки А и В взаимодействуют, то из двух фрагментов собирается функциональный активатор транскрипции, который запускает транскрипцию репортерного гена (например, вырабатывающего некий флуоресцентный белок), иначе репортерный ген не транскрибируется и сигнал не наблюдается, или, если конкретнее, когда интересующие нас белки связываются друг с другом, то активируется репортерный ген, обеспечивающий рост дрожжей.

Транскриптомика качественно расширила наши возможности в охоте на гены, провоцирующие болезни: технология микрочипов позволила выявить химическую основу конкретных заболеваний, показала различия между здоровыми и пораженными тканями как функцию экспрессии генов. Логика проста. Выполняем на микрочипе анализ экспрессии генов в обычной ткани и в раковой, находим разницу между двумя результатами, смотрим, какие гены экспрессируются в одной ткани и не экспрессируются в другой. Стоит нам определить, работа каких генов дает сбой, то есть либо недостаточна, либо чрезмерно активна, к примеру в раковой ткани, и уже можно определить мишень, а затем атаковать ее при помощи таргетной молекулярной терапии, а не неселективной химиотерапией и облучением, ведь известно что эти методы губят как больные, так и здоровые клетки.

Те же технологии позволяют различать разные формы одной и той же болезни, например раковой опухоли. Стандартная микроскопия, делающая возможной цитологические и гистологические исследования, не всегда годилась для решения такой задачи: разновидности рака, которые выглядят схоже на первый взгляд врача, могут критически различаться на молекулярном уровне. Браун, комментируя прежнюю точку зрения, в соответствии с которой все виды рака в конкретной ткани имеют один и тот же корень, говорил: «Все равно что думать, будто у любой желудочной боли одна и та же причина. Понимая различия, мы можем эффективнее лечить все эти виды рака». Например, исследования с применением ДНК-микрочипов показали чрезмерную экспрессию рецептора тирозинкиназы под названием FLT3 при некоторых формах лейкемии; такие исследования

не только позволили повысить точность диагностики, но и простимулировали разработку нескольких ингибиторов FLT3, которые кажутся перспективными с клинической точки зрения.

Майкл Уиглер из лаборатории Колд-Спринг-Харбор взял на вооружение метод, при котором аккумулируется не РНК, а ДНК раковых клеток и тем самым составляется профиль генетического разнообразия опухолей. Многие виды рака обусловлены переупорядочиванием хромосом – подобное может происходить, если сегменты хромосомы случайно дублируются и возникает избыток генов, кодирующих те белки, что стимулируют клеточный рост (см. главу 14). Другие виды рака возникают из-за утраты генов, кодирующих белки-репрессоры клеточного роста. Работая по методу Уиглера, врачи делают биопсию раковых и здоровых тканей одного и того же человека. ДНК раковой ткани химически помечается красным красителем, а ДНК здоровой ткани – зеленым. Микрочипы ДНК, запрограммированные всеми известными человеческими генами, обрабатываются смесью из двух образцов. Как и мРНК в стандартном эксперименте с микрочипами, помеченные молекулы ДНК связываются с комплементарными последовательностями в матрице. Гены, амплифицируемые в раковых клетках, дают заметное красное окрашивание (поскольку с этим участком связывается гораздо больше молекул с красным красителем, чем с зеленым), а гены, утраченные в раковых клетках, выглядят на микрочипе как зеленые пятна (поскольку «красным молекулам» там не с чем связываться). Такие эксперименты значительно расширили список известных генов, провоцирующих рак груди и другие онкологические заболевания.

Всякий раз, когда мы беремся за лечение конкретной болезни человека, понимаем, что в значительной степени мы, по сути, бродим в потемках. Мы могли бы значительно ускорить продвижение к сути проблемы, то есть приблизиться к пониманию того, в чем именно заключается проблема и как ее разрешить, разобравшись, как именно происходит экспрессия наших генов, когда организм работает в условиях физиологической нормы. Полностью представив в динамике, как именно работает каждый из нашей 21 тысячи с лишним генов при нормальном развитии от оплодотворенной яйцеклетки до полноценной взрослой особи, мы получили бы отправную точку для понимания патогенеза любой болезни. Для дальнейшего продвижения вперед нужно достроить карту человеческой «транскриптомы». Это следующий этап постижения тайн «священного Грааля» генетики. Эксперименты с ДНК-микрочипами сыграли ключевую роль в работе по созданию полной картины активности человеческих генов,

эта техника проторила путь РНК-секвенированию – адаптации высокопроизводительного изучения последовательностей.

Изучение экспрессии генов при помощи ДНК-микрочипов в ходе жизненного цикла дрожжей продемонстрировало, какая ошеломительно сложная молекулярная динамика присуща клетке при делении. В процессе участвует более восьмисот генов, и каждый активируется в строго определенный момент клеточного цикла. Здесь мы, опять же, можем столкнуться с эволюционным «упрямством» из разряда «не чинить то, что работает»: некий биологический процесс, который однажды успешно сформировался, скорее всего, так и будет опираться на все те же базовые молекулярные механизмы до тех пор, пока не прекратится жизнь на Земле. Насколько мы можем судить, те самые белки, что управляют развитием дрожжевой клетки в ее жизненном цикле, играют весьма схожую роль в клетках человека.

В конце концов, цель всех этих «-омик» (ген-, проте-, транскрипт- и прочих) – построить полную, детализированную до отдельных молекул картину, показывающую, как формируются и функционируют живые существа. По мере того как такой холистический подход, именуемый «системной биологией», привлекает все более пристальное внимание, можно задуматься даже о компьютерном моделировании поведения отдельной клетки «*in silico*».

Как мы убедились, даже примитивнейшие биологические процессы отличаются огромной сложностью, и, несмотря на внушительный прогресс, достигнутый после завершения проекта «Геном человека», перед нами по-прежнему стоят не менее важные задачи. Молекулярные основы развития – это захватывающее путешествие от яйцеклетки до взрослой особи, записанное четырьмя буквами генетического алфавита, – пока лучше всего изучено на плодовых мушках, но это начало большого пути.

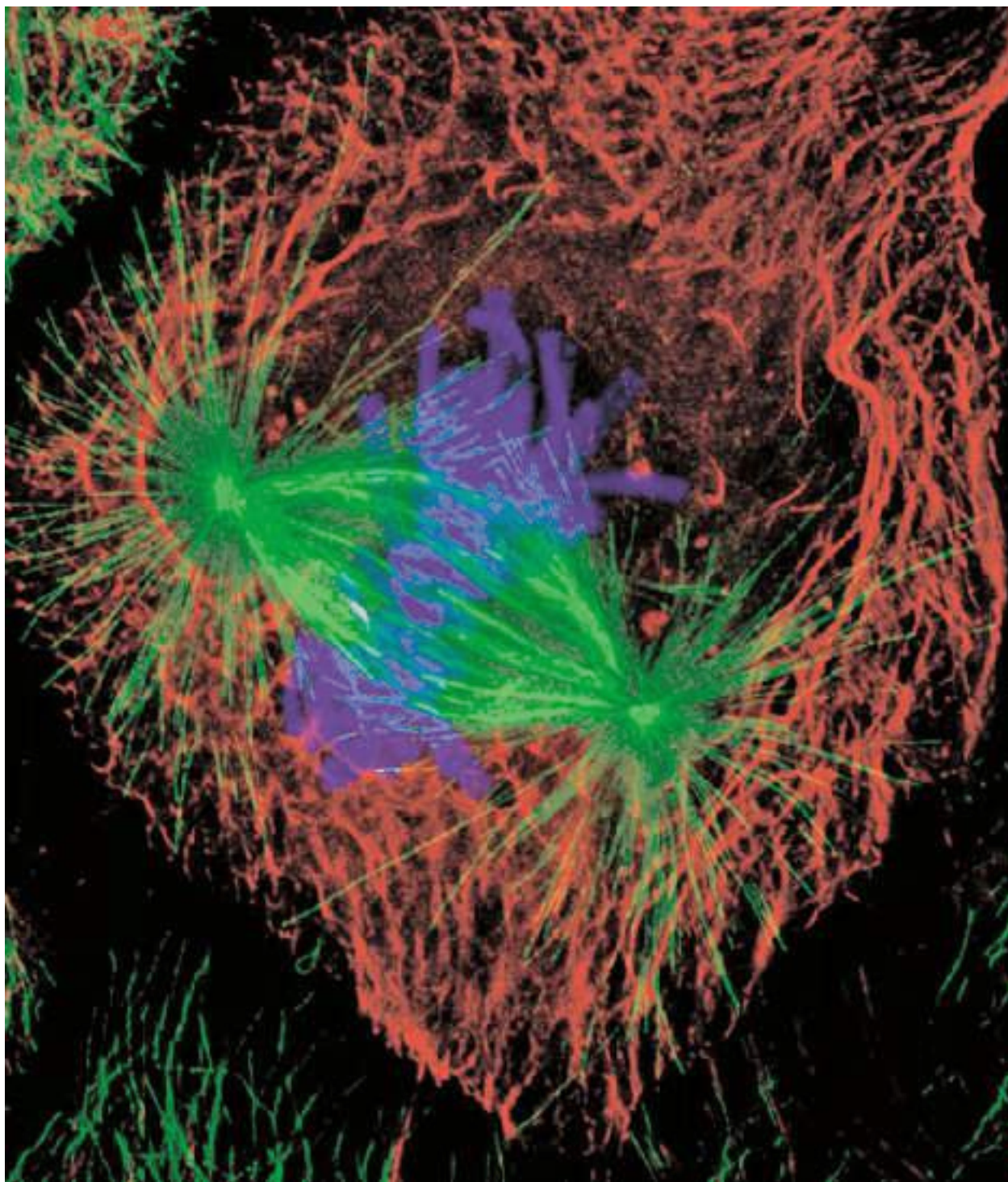
Разумеется, дрозофилу активно использовали в генетических исследованиях еще со времен Т. Х. Моргана. Тем не менее в последующие периоды постоянных инноваций *Drosophila melanogaster* оставалась для генетиков настоящей «генетической золотой жилой». В конце 1970-х годов Кристиана Нюслайн-Фольхард по прозвищу Янни, работавшая в Европейской молекулярно-биологической лаборатории в Гейдельберге, и Эрик Вишаус развернули яркий амбициозный проект по изучению дрозофилы. Они вызывали у мушек мутации при помощи химических соединений, а затем изучали нарушения на очень ранних эмбриональных стадиях развития насекомого. Традиционно генетики, разрабатывавшие «золотую жилу» мутаций дрозофилы, работали с имаго – как, например,

Морган, обнаруживший, что в случае мутаций могут выводиться мушки с белыми (а не красными) глазками. Нюслайн-Фольхард и Вишхаус, сосредоточившись на эмбрионах, не только были обречены на долгие годы глазного напряжения за микроскопами в поисках этих неуловимых мутантов – они устремились в *terra incognita*. Однако их труды были с лихвой вознаграждены. Анализ выявил несколько групп генов, закладывающих фундаментальные «чертежи» организма при развитии мушиной личинки.

Более универсальный «месседж» их работы заключался в том, что генетическая информация организована иерархически. Нюслайн-Фольхард и Вишхаус заметили, что на некоторых мутантах опыты отражались на широкой совокупности признаков, а на других – более ограниченно; из этого они сделали верный вывод о том, что гены, оказывающие «ковровый» эффект, действуют на ранних этапах развития, то есть находятся на вершине иерархии генетических переключений. А гены, оказывающие более ограниченный эффект, включаются позднее. Они открыли каскад факторов транскрипции: одни гены включают другие, которые, в свою очередь, включают третьи и так далее. Действительно, подобное иерархическое включение генов – важнейший механизм для построения сложных организмов. Ген, продуцирующий биологический аналог кирпича, наделает огромную кучу таких кирпичей, если пустить процесс на самотек; однако при верной координации он поможет выстроить сначала стену, а затем здание.

Нормальное развитие требует, чтобы клетки «знали», в какой части организма находятся. В конце концов, клетка, расположенная на кончике крыла мушки, должна развиваться в соответствии с иными моделями, чем клетки, входящие в состав нервных узлов. Первый вопрос, который возникает относительно такой ключевой «позиционной» информации, прост: как же развивающийся эмбрион дрозофилы узнает, «что и куда поставить»? Где будет голова, а где крыло? Белок bicoid, продуцируемый одним из генов материнской особи, распределяется так, что в разных частях эмбриона его концентрация варьируется. Такой эффект именуется «градиент концентрации»: содержание белка максимально в головной части и уменьшается по мере перемещения к хвостовой. Следовательно, градиент концентрации bicoid «сообщает» всем клеткам эмбриона, в какую часть организма им встать по оси «голова – хвост». Дрозофила развивается сегментами: все ее тело состоит из члеников; при этом у всех члеников много общего, но каждый обладает и собственными уникальными чертами. Во многих отношениях головной сегмент структурно похож на грудной

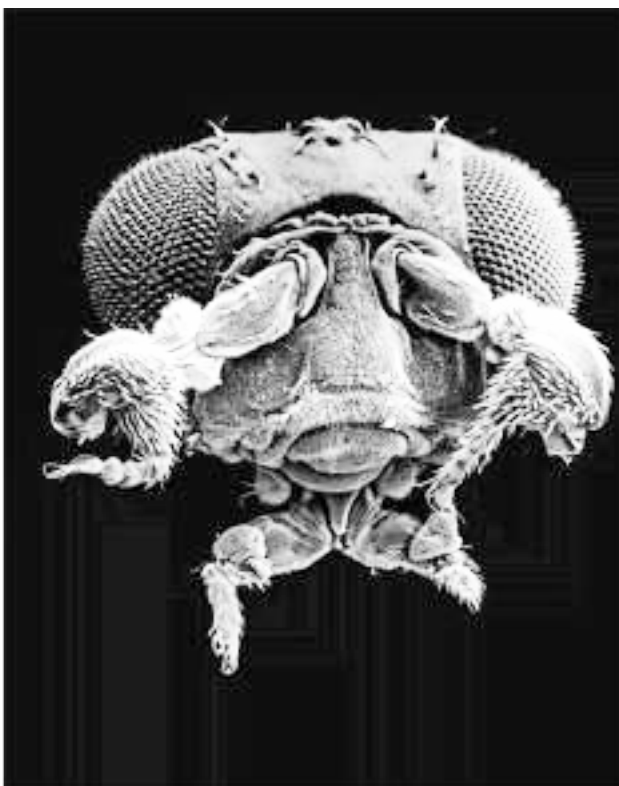
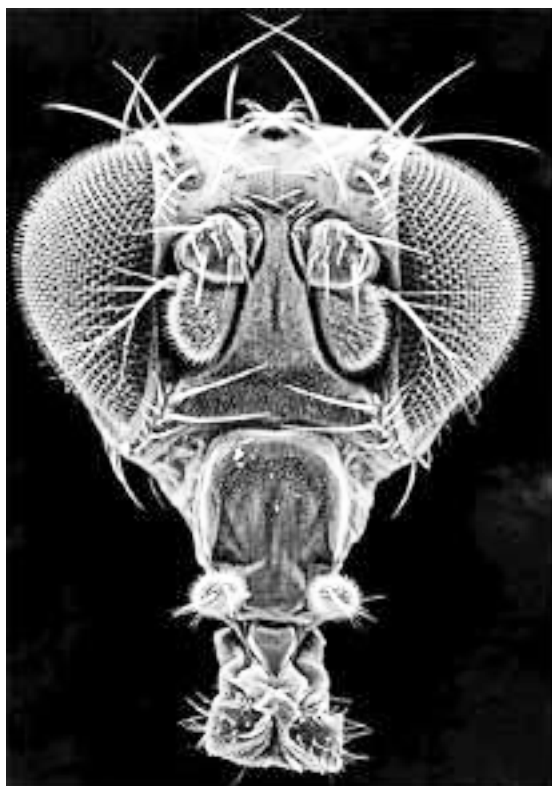
(средняя часть тельца насекомого), но в первом есть специфические «головные» органы, например глаза, а во втором – «грудные», например лапки. Нюслайн-Фольхард и Вишхаус нашли группы генов, задающие характеристики различных сегментов. Так, гены группы «pair-rule» кодируют факторы транскрипции – генетические переключатели, экспрессируемые в перемежающихся сегментах. При мутациях в этих генах у эмбриона возникают пороки развития в каждом втором сегменте.



Клеточное деление. Хромосомы в клетке (синие) дублируются, а затем выстраиваются вдоль особого «веретена» (зеленое), после чего присваиваются дочерним клеткам. Высокотехнологичные приемы визуализации помогают воплотить на экране монитора блистательный «хромосомный вальс», обеспечивающий самораспространение жизни

В 1995 году Нюслайн-Фольхард и Вишхаус совместно получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине за свои революционные исследования. В отличие от большинства лауреатов они оба продолжили активную лабораторную работу, а не укрылись в просторных кабинетах, увешанных дипломами. Для Вишхауса наука по-прежнему притягательна: «Поскольку эмбрионы красивы, а в клетках происходят замечательные вещи, я каждый день иду в лабораторию с прежним энтузиазмом». Вишхаус провел детство в Бирмингеме, штат Алабама, и в ту пору мечтал стать художником. Однако, будучи второкурсником в Университете Нотр-Дам, он нуждался в деньгах и поэтому взялся за одну из самых вонючих и низменных работенок в науке: готовить корм для подопытных популяций дрозофилы, выращиваемой для лабораторных исследований (это мерзкая желатиноподобная масса, состоящая в основном из черной патоки). Большинство из тех, кто служил шеф-поваром для нескольких сотен тысяч снующих неприятных насекомых, скорее всего, на всю жизнь их возненавидели. Но с Вишхаусом все вышло совершенно наоборот: он посвятил жизнь изучению дрозофилы и секретов ее развития.

Нюслайн-Фольхард родилась в семье немецких художников и была одной из тех студенток, кто преуспевает во всем, за что бы они ни брались, а всем прочим абсолютно не занимается. Ее усердная работа по исследованию генетики развития полна достижений, которых хватило бы и на две научные карьеры, но после получения Нобелевской премии она переключила свое внимание на изучение развития совершенно другого животного – *Danio rerio* (вид пресноводных лучеперых рыб семейства карповых). Эта новая работа может раскрыть многие секреты, связанные с онтогенезом позвоночных. На торжественном мероприятии, состоявшемся в 2001 году в честь столетия Нобелевской премии, я поразился, что среди всех этих седовласых ученых мужей присутствовала всего одна женщина. Она была уже десятой женщиной, получившей Нобелевскую премию по естественным наукам (с тех пор еще семь женщин были удостоены такой чести в Стокгольме).



Личинки дрозофил. Слева – нормальная особь, у нее пара выступающих мохнатых усиков. Справа – мушка-мутант с антеннапедией, ее усики видоизменились и превратились в полностью сформированные лапки

На торжестве по поводу столетия Нобелевской премии – незабываемое собрание лауреатов прошлого и настоящего – присутствовал также ныне покойный Эд Льюис из Калифорнийского технологического института, получивший премию совместно с Нюслайн-Фольхард и Вишхаусом. Он тоже давно занимался генетическим контролем развития дрозофил, но его особенно интересовали мутации, вызывающие замену одной из структур тела на другую в процессе индивидуального развития, – гомеотические мутации. Результаты их работы самые причудливые: развивающийся сегмент ошибочно принимает себя за соседний. Долгая и кропотливая работа Льюиса с *Нох*-генами, в которых случаются такие мутации, – пример следования настоящим ценностям, редкий в нашу эпоху, когда повестка дня науки часто зависит от различных причуд и финансовых проблем.

О гомеотических мутациях известно, что они разрушают гены, кодирующие факторы транскрипции (генетические переключатели), – и эффект может быть катастрофическим. Мутация «антеннопедия» приводит

к тому, что у мушки начинают расти лапки там, где должны расти усики. Две полностью сформированные ножки торчат у нее прямо из головы. Не менее странно выглядит мутация «двугрудости». Как правило, из одногогрудного сегмента у мушки растет пара крылышек, а из следующего сегмента по направлению от головы к хвостовой части выходят два маленьких отростка-стабилизатора, так называемые «жужжальца». У двугрудой мушки из сегмента для жужжалец ошибочно начинают расти крылышки, поэтому у мушки, которой нужно два крылышка, их оказывается четыре, причем вторая пара так же полностью сформирована, как и первая.

Если гены, регулирующие характеристики сегментов, работают правильно, то благодаря им в каждом членике тела оказываются органы, которые там и должны быть. На головном сегменте растут усики, на грудном – крылышки и лапки. Но при гомеотических мутациях характеристики члеников перепутаются. Таким образом, при антеннопедии головной сегмент «считает себя» грудным, и из него исправно растут лапки, а не усики. Тем не менее обратите внимание: хотя лапка и выросла не в том месте, это все равно совершенно полноценная лапка. Вывод: при антеннопедии затрагивается целая группа генов. В нормальном случае должна работать группа, формирующая усики, а при генетическом расстройстве срабатывает та, что формирует лапку, но координация в рамках самой этой группы не нарушается, пусть даже эти гены активируются не в том месте и не в то время. В данном случае, опять же, видно, как гены, расположенные на высоком уровне онтогенетической иерархии, контролируют судьбу многих и многих других генов, расположенных ниже. Любой библиограф вам подтвердит, что иерархическая организация упрощает хранение и поиск информации. В такой каскадной структуре изменения в группе из считанных генов могут повлечь далеко идущие последствия.

Выше в этой главе мы отмечали, какое удивительное сходство сохранилось в процессе эволюции между генами мух и мышей. Совершенно неудивительно, что *Нох*-гены, ответственные за план строения тела у мушек и сохранившиеся исключительно хорошо, управляют формированием тела и у человека. У нас 39 *Нох*-генов, распределенных по четырем генетическим кластерам в разных хромосомах. При возникновении мутаций как минимум в десяти из этих генов проявляются пороки формирования конечностей и другие расстройства развития – от полидактилии (появление лишнего пальца на руке или на ноге) до нарушений в развитии ствола мозга и гениталий. В 1998 году педиатр из

Сиэтла Майкл Каннингем описал случай с маленькой девочкой, страдавшей редким синдромом, при котором ухо напоминает по форме вопросительный знак. Синдром известен не только из-за характерного вида ушей, но и из-за того, что нижняя челюсть у больной морфологически совершенно не отличалась от верхней. Пятнадцать лет спустя ученые описали мутации в паре генов, провоцирующих такое расстройство, причем оба они расположены в иерархии выше *Нох*-гена.

Итак, мы вступили в новую эпоху исчерпывающего понимания биологии, чему поспособствовал невозможный ранее проект «Геном человека». Любопытно, что теперь, оказавшись непосредственно на переднем крае следующего научного фронта (теперь речь идет о генетике развития), мы вновь вернулись к старым добрым дрозофилам. Пока у нас нет другого пути, кроме как назад в будущее, поскольку, даже имея в распоряжении весь геном человека, мы по-прежнему не представляем себе программ и подсказок, согласно которым выполняются действующие в нем инструкции. В конце концов, мы должны понять сценарий человеческой жизни в таких же подробностях, в каких знаем сценарий жизни дрозофилы. Будет разработано полное описание закономерностей экспрессии человеческих генов (транскриптома), получен подробный каталог действий всех белков (протеома). Перед нами во всей красе и сложности предстанут чертежи каждого из нас, и мы поймем, как действует каждая из бесчисленных молекул нашего организма.

Но ученые, написав такую картину, на этом не остановятся. Они уже собираются ее переписывать и готовят вставки. Международный консорциум под руководством Джефа Бёке из Нью-Йоркского университета уже движется к созданию синтетического генома дрожжей – это прелюдия к написанию человеческого генома с чистого листа. Исследователи, не готовые удовлетвориться вентеровским брендом «синтетическая геномика» и мощными инновационными инструментами редактирования генов, такими как CRISPR (см. главу 12), уже достраивают сам генетический алфавит. Ученые из Скриппсовского исследовательского института в Сан-Диего под руководством Флойда Ромсберга успешно внедрили пару синтетических оснований (творчески названных X и Y) в геном бактерии *E. coli*, одним мановением руки увеличив генетический алфавит на 50 %. Стивен Беннер с коллегами достигли в своей лаборатории схожего успеха через пятьдесят лет после того, как впервые стали вычерчивать искусственные нуклеотиды в блокноте. Беннер свои вставные элементы ДНК называет P и Z. Ромсберг говорит: «Дело даже не в том, что я якобы считаю, что жизнь нуждается в более разнообразной генетической

информации, а в том, чему мы можем научиться на этом опыте, какие лекарства можем разработать, чтобы расширить возможности клеток». В соответствии с веянием времени он основал компанию, занятую синтезом искусственной ДНК, которая поведет эволюцию на новую, неизведанную территорию.





На фото: барбекю в каменном веке и в наши дни. Сверху – художественная реконструкция стоянки неандертальцев, существовавшей в Восточной Европе около 35 тысяч лет тому назад. Снизу – аналогичная сцена из сравнительно недавнего прошлого. Намного ли мы отличаемся от неандертальцев? Сегодня в связи с проведенными исследованиями наши знания о ДНК неандертальцев, фрагменты которой сохранились в геноме у многих из нас, значительно расширены

Глава 10

Путь из Африки: ДНК и человеческое прошлое

В августе 1856 года немецкие рудокопы, взрывая известняковую породу в долине Неандерталь близ Дюссельдорфа, обнаружили фрагмент скелета. Сначала им показалось, что это кости вымершего медведя, часто встречающиеся в пещерах, но местный школьный учитель догадался, что кости принадлежат существу, гораздо более похожему на человека. Однако попытка точно определить, чьи же это кости, вызвала серьезные споры. Особенно загадочно выглядели толстые надбровные дуги на черепе. Высказывали даже такую дикую версию: якобы кости принадлежали раненому всаднику-казаку, который, оказавшись в этом районе в годы наполеоновских войн, заполз в пещеру и умер. Этим фактом нелепость теории не ограничивалась: якобы из-за суровых условий существования бедняга-казак испытывал хронические боли и постоянно хмурился, поэтому у него и сформировались такие рельефные надбровные дуги. В 1863 году, в самый разгар споров о происхождении человека, вызванных публикацией дарвиновской работы «О происхождении видов» (она вышла четырьмя годами ранее), существу, которому принадлежали неандертальские кости, присвоили научное название: *Homo neanderthalensis*. Его кости были костями человека, похожего на *Homo sapiens*, но явно принадлежавшего к самостоятельному виду.

Несмотря на то что именно кости немецкого скелета были впервые официально признаны неандертальскими, ранее уже попадались подобные образцы, например в Бельгии и в Гибралтаре. Теперь и эти останки признали относящимися к тому же виду. Более века спустя при раскопках было найдено еще множество экземпляров неандертальцев, и сегодня считается, что эти люди обитали по всей Европе, на Ближнем Востоке и в некоторых регионах Северной Африки, пока не вымерли около 30 тысяч лет тому назад. Укоренившийся образ неандертальца сформировался в основном благодаря модели, сделанной французским палеонтологом Марселеном Булем: неандерталец у него получился туповатый и нескладный. Для этой реконструкции Буль использовал материал из французского местечка Ла-Шапель-о-Сен, принадлежавший всего одной особи; впоследствии выяснилось, что этот неандерталец был стар и

страдал артритом. На самом деле мозг неандертальца даже чуть больше нашего (и имеет немного иную форму, поскольку череп неандертальца уплощен). Археологические данные, полученные путем анализа материала из захоронений, свидетельствуют, что неандертальцы обладали достаточно развитой культурой, в частности участвовали в погребальных ритуалах; возможно, они даже верили в загробную жизнь.

Самые серьезные дебаты, последовавшие за открытием неандертальцев, касались не того, насколько они были умны, а какова степень их родства с современным человеком. Являются ли они нашими прямыми предками? По палеонтологическим данным, люди современного типа пришли в Европу примерно в то же время, когда вымерли последние неандертальцы. Может быть, две эти группы скрестились друг с другом либо неандертальцы были попросту истреблены другой группой? Поскольку затрагиваемые события происходили в далеком прошлом, а вещественных доказательств с тех пор почти не сохранилось – если не считать случайных костей, – такие споры могли продолжаться сколь угодно долго, а кабинетные палеонтологи и антропологи нашли себе поистине бесконечное занятие. Является ли конкретная кость промежуточной формой между толстыми костями неандертальцев и более тонкими костями современных людей? Такие кости могли принадлежать гибридам, родившимся от скрещивания между представителями двух групп, – вот вам и недостающее звено. Но они с таким же успехом могли принадлежать полноценному неандертальцу с аномально легкими костями либо, если уж на то пошло, настоящему современному человеку с чрезмерно толстой костью.

К всеобщему изумлению, разрешить этот почти бесперспективный спор помог анализ ДНК: молекула ДНК возрастом тридцать тысяч лет была извлечена из тех самых, найденных в 1856 году костей, с которых все началось. ДНК миллионы лет развивалась как надежный носитель информации, позволяющий передавать ее из поколения в поколение. Поэтому неудивительно, что с химической точки зрения ДНК необыкновенно стабильна. Она самопроизвольно не распадается, не проявляет химической активности в отношении других молекул. Но она, как и все молекулы, не защищена от химического разрушения. В случае смерти генетический материал организма, как и все прочие составляющие, попадает под удар бесчисленных разлагающих веществ: это биологически активные вещества и ферменты, разрушающие молекулярную структуру. Но химические реакции лизиса протекают только в присутствии воды, поэтому ДНК может сохраниться, если труп как следует иссохнет. Однако

даже при соблюдении идеальных условий молекула сохраняется не более 50 тысяч лет. Поэтому попытка получить читабельную последовательность ДНК из плохо сохранившихся останков неандертальца возрастом 35 тысяч лет была как минимум непроста.

Однако Сванте Паабо, высокий немногословный швед (в ту пору он работал в Мюнхенском университете), решил подступить к решению проблемы. Я думаю, если кому-то и было под силу ее решить, то именно Паабо. Сванте – сын двух выдающихся ученых, лауреата Нобелевской премии биохимика Суне Бергстрёма и Карин Пяэбо, химика из Эстонии, – интересовался древней ДНК еще в подростковые годы, когда мать брала его с собой за компанию в путешествия по Египту. В 1981 году Паабо сделал первые шаги к изучению древней ДНК: прокаливал образцы печеночной ткани, чтобы доказать, что впоследствии сможет извлечь из них и проанализировать генетический материал. Через несколько лет он уже мог отсекавировать генетические последовательности египетских мумий, утаивая это свое хобби от научного руководителя до тех пор, пока не извлек некоторое количество ДНК. Затем Паабо перешел к изучению мамонтов из вечной мерзлоты и пятидесятилетнего «ледяного человека», которого нашли в подтаявшем альпийском леднике в 1991 году. Однако, несмотря на впечатляющие результаты, перспектива подступить к драгоценным останкам неандертальцев в поисках ДНК (если их ДНК вообще можно будет выделить и изучить) была совсем нетривиальной задачей. Как вспоминал его коллега-археолог Ральф Шмиц, «это все равно что попросить права на исследование среза с портрета Моны Лизы».



Сванте Паабо (институт Макса Планка) с черепом одного из наших кузенов-неандертальцев

За проект взялся Маттиас Крингс, аспирант Паабо. Поначалу он был настроен пессимистично, но первые анализы, при помощи которых он попытался оценить сохранность костей, оказались удачны, и воодушевленный Крингс стал развивать это сразу ставшее успешным направление. Он приступил к поискам драгоценной ДНК не в клеточных ядрах, как можно было бы предположить, а в маленьких органеллах, именуемых митохондриями, – они рассеяны по всей клетке вне ядра, и именно они снабжают клетку энергией. В каждой митохондрии есть кольцевые молекулы ДНК длиной примерно 16 600 пар оснований. Поскольку в каждой клетке насчитывается от 500 до 1000 митохондрий, но всего две копии полноценного генома (в ядре), Крингс заключил, что в полуистлевших костях неандертальцев гораздо скорее обнаружатся нетронутые митохондриальные последовательности, чем цельные ядерные. Более того, митохондриальная ДНК (мтДНК) давно стала главным предметом исследований при изучении эволюции человека, поэтому в распоряжении у Крингса уже имелось множество митохондриальных последовательностей от современного человека, с которыми можно было

сравнивать находки.

Больше всего Крингс и Паабо волновались по поводу загрязнения образцов. Ранее уже делалось несколько ошибочных сообщений об удачном секвенировании древней ДНК, которые впоследствии не подтвердились: оказалось, это была ДНК из современных источников, случайно попавшая в образец. Ежедневно у каждого из нас отслаивается множество мертвых клеток поверхностного плоского эпителия, мы буквально сорим нашей ДНК вокруг, и она может оказаться где угодно. Полимеразная цепная реакция (ПЦР), при помощи которой Крингс рассчитывал амплифицировать участок мтДНК (который надеялся обнаружить), настолько чувствительна, что для ее срабатывания достаточно единственной нашей молекулы. Наличие минимального фрагмента ДНК приведет к амплификации любой из молекул в реакции, независимо от того, древняя она или свеженькая. Что если неандертальская ДНК слишком деградировала, но ПЦР сработает за счет невидимой частицы ДНК самого Крингса? В таком случае ему пришлось бы придумать объяснение, почему последовательность митохондриальной ДНК у него и у неандертальца полностью совпадает, но вряд ли такой результат понравился бы его шефу, а еще меньше это впечатлило бы именитых родителей Крингса. Чтобы исключить такой вариант, Крингс и Паабо решили выполнить репликацию в специальной лаборатории – нужная лаборатория нашлась у Марка Стоункинга в Университете штата Пенсильвания. Контаминация, конечно, могла случиться и там, но это была бы не ДНК Крингса, ведь Крингс находился на другом континенте. А если бы результаты анализа образца в обеих лабораториях совпали, то было бы логично предположить, что ученые нашли подлинную неандертальскую последовательность.

«Не могу описать, насколько это было захватывающе, – рассказывает Крингс о том, как впервые взглянул на результат секвенирования ДНК, – у меня мурашки по спине побежали». Хотя, как и опасались ученые, некоторые последовательности действительно оказались контаминированы, в остальном они были поистине удивительны: там обнаружилась удивительная совокупность сходств и различий с генетической последовательностью современного человека. Собирая мелкие фрагменты, ученые сумели реконструировать участок митохондриальной неандертальской ДНК длиной 379 пар оснований. «Тогда мы и откупорили шампанское», – вспоминал Крингс.

Неандертальская последовательность мтДНК оказалась ближе к человеческим последовательностям, чем к аналогичным последовательностям шимпанзе, и это означало, что неандерталец,

бесспорно, представитель человеческой эволюционной линии. В то же время обнаружились принципиальные различия между неандертальскими последовательностями и теми 986 образцами мтДНК современного человека, с которыми Крингс сравнивал свой образец. Причем даже те 986 образцов, что наиболее походили на неандертальский, отличались от него не менее чем на 20 пар оснований (то есть на 5 %). Впоследствии была секвенирована митохондриальная ДНК еще двух неандертальцев, одного из которых нашли на юго-западе России, другого в Хорватии. Как и ожидалось, эти последовательности не совпали с исходной. Это было логично, поскольку совершенно очевидно, что особи-неандертальцы обладали изменчивостью, как и современные люди, при этом они были похожи.

Обобщив все эти факты, Паабо и другие эксперты заключили, что, хотя место неандертальцев на одном эволюционном древе с человеком и его родичами, неандертальская ветвь довольно далека от ветви современного человека. Такие результаты анализа митохондриальной ДНК позволяли предположить, что, хотя два вида и вступили в контакт в Европе около 40 тысяч лет тому назад, современные люди, скорее, истребили неандертальцев, чем гибридизировались с ними. Это был смелый вывод, особенно с учетом того, на каком мизерном объеме драгоценной ДНК его пришлось сделать. Но Паабо был полон решимости продолжить свою работу и полностью отсеквенировать геном наших родичей-неандертальцев.

В течение следующего десятилетия Паабо, теперь трудившийся в Институте эволюционной антропологии в Лейпциге, разработал новые методы анализа неандертальской ДНК. Он оборудовал чистые лабораторные залы, каким позавидовали бы изготовители микропроцессоров, взял на вооружение новейшие технологии секвенирования. После длительных поисков Паабо выбрал фрагмент неандертальской кости, найденной в хорватской пещере Виндия в 1980 году; методом радиоуглеродной датировки возрастности оценивался примерно в 40 тысяч лет. («Волшебная косточка», как назвал ее Паабо, длиной около пяти сантиметров сохранилась исключительно хорошо, но, совершенно заброшенная, пылилась в хорватском музее.) Опубликовав в 2006 году предварительный анализ скрупулезно изученной последовательности ДНК длиной около миллиона оснований, Паабо продолжил работу. В 2010 году его группа опубликовала в журнале *Science* анализ двух миллионов оснований – примерно 55 % неандертальского генома.

Хотя картина неандертальского генома по нынешним меркам получалась очень приблизительной, результаты исследования уже тянули на шокирующие заголовки: «Паабо сравнил первые черновики неандертальских последовательностей с только что секвенированными геномами пяти людей, обитавших в разных регионах мира. Рассмотрев геномы троих живших в Европе и Азии, он обнаружил характерные участки неандертальской ДНК, полностью отсутствовавшие в геномах двух других людей родом из Западной Африки (йоруба) и Южной Африки (сан)». Действительно, неандертальцы никогда не жили в Черной Африке. Такие результаты убедительно свидетельствуют о том, что современные люди и неандертальцы действительно гибридизировались в период, когда их пути пересеклись; предположительно это произошло на Ближнем Востоке в период между 40 и 75 тысячами лет тому назад.

И вот уже мы имели два результата, анализ которых привел к очень разным выводам: один по итогам секвенирования митохондриальной ДНК, другой ДНК из молекул ДНК, содержащихся во всех хромосомах клетки. По анализу митохондриальной ДНК скрещивания между неандертальцем и современным человеком не наблюдалось, а по основной геномной ДНК скрещивание было, причем весьма значительное. Лишь один из этих результатов верен, не так ли? Правда, этот явный конфликт результатов объясним с учетом нюансов наследования митохондриальной ДНК. Существует ряд возможных сценариев этого события, но, вероятно, простейший из них связан с половой асимметрией при наследовании митохондриальной ДНК. Тогда как ДНК из моего генома получена мною от обоих родителей – я получился из отцовского и материнского генома, – мтДНК полностью получена мною от матери. После оплодотворения яйцеклетки сперматозоиды передают плоду лишь геномную ДНК. Митохондрии (и митохондриальная ДНК, что в них находится) присутствуют в цитоплазме яйцеклетки – то есть мтДНК наследуется по материнской линии. Что, если в гибридизации между нашими видами участвовали лишь неандертальцы-мужчины? В таком случае наши предки получили бы из спермы неандертальцев геномную ДНК, а неандертальскую митохондриальную ДНК не получили бы. Поэтому геномная ДНК у нас от обоих видов, а митохондриальная только от одного, *H. sapiens*.

С Ближнего Востока генетический след неандертальцев распространился по миру, поскольку люди современного типа расселились на восток – в Азию, на север и запад – в Европу. Геном современных европеоидов и монголоидов, как правило, примерно на 2,5 % состоит из

неандертальской ДНК (этот факт гордо красуется на фирменных футболках от компании 23andMe). Разумеется, Паабо потратил два десятилетия жизни не просто на то, чтобы у перспективного коммерческого стартапа появился прикольный слоган. На то, чтобы оценить истинную важность проекта по расшифровке неандертальского генома, уйдут десятки лет. Паабо мечтал прояснить конкретные генетические изменения, благодаря которым современный человек оказался таким особенным и которые позволили нам расселиться и «освоить всю сушу до последнего пятнышка» – это как раз то, чего наши древние человекоподобные предки даже не пытались делать. Паабо говорит: «Они просуществовали два миллиона лет, но так и не обрели решимости переправляться через водную преграду, если не видели противоположного берега». Люди современного типа существуют всего около ста тысяч лет – но мы уже слетали на Луну, плюс нам хватило изобретательности, чтобы по кусочкам собрать мозаику, из которой выстроилось древо жизни. Чтобы понять функциональные последствия тех мутаций, благодаря которым современный человек отличается от неандертальца, нам потребуется вся наша изобретательность. Однако для начала нужно идентифицировать эти ключевые отличия. «С высоты птичьего полета» геномы неандертальца и современного человека удивительно схожи: при секвенировании они совпадают на 99,5 %. Некоторые различия локализованы на участках, кодирующих белки, и именно эти участки могли давать важный физиологический и функциональный эффект. Среди них есть подмножество, которое, возможно, даже позволило бы объяснить фундаментальные поведенческие, морфологические или когнитивные различия между двумя видами. Например, Паабо и стэнфордский иммунолог Питер Пархэм предположили, что от неандертальцев к людям современного типа перешла ключевая мутация, повлиявшая на иммунную систему и, возможно, обеспечившая нам устойчивость к некоторым инфекционным болезням. Две новые мутации в гене рецептора меланокортина-1 позволяют предположить, что неандертальцы вполне могли быть светлокожими и рыжеволосыми.

Другим интересным геном является *FOXP2* – белок человека, кодируемый геном *FOXP2* на 7-й хромосоме и представляющий собой фактор транскрипции – регулятор активности множества других генов. *FOXP2* кодирует регуляторный белок, вероятно, связанный с эволюцией языка и речи, поскольку в семьях с мутацией в этом гене наблюдаются серьезные речевые расстройства. Интересно, что у неандертальцев и людей современного типа в этом гене одни и те же мутации, но у наших более

давнихродичей по эволюционному древу (шимпанзе) они отсутствуют. Если присмотреться, то выявляются и другие изменения в одном из регуляторных регионов того гена, от которого могли зависеть речевые различия между людьми современного типа и неандертальцами.

Однако можно ли объяснить ключевые различия между неандертальцами и нами структурными вариациями примерно в сотне генов? Возможно, ответ связан не столько с генетической последовательностью как таковой, сколько с активностью генов? На генетическую регуляцию влияют так называемые эпигенетические модификации, рассеянные по нашей ДНК. В процессе так называемого метилирования (прикрепления метильных групп) изменяется структура ДНК, а значит, и ее доступность для белков, переключающих гены. Ученые из Еврейского университета в Иерусалиме логически вывели месторасположение метилированных участков в неандертальской ДНК, что, в свою очередь, позволило им спрогнозировать относительную активность генов. По-видимому, тысячи генов, активных у современного человека, у неандертальцев были угнетены, а сотни неандертальских генов, которые явно были функциональны, сейчас неактивны у нас. Суть активности некоторых из этих генов, например кластера *HOXD*, позволяет вполне правдоподобно объяснить, почему у неандертальцев и у нас по-разному росли конечности. Однако доказать такую теорию оказалось бы непросто.

Итак, родство между людьми современного типа и неандертальцами оказалось не столь тесным, как считалось ранее, но Паабо с коллегами не остановились на этом открытии и вдобавок преподнесли миру еще один огромный сюрприз. Речь шла о форме ископаемой геномной последовательности ДНК, извлеченной из окаменевшего детского пальца, обнаруженного в Денисовской пещере в Алтайских горах. Оказалось, что носитель этой ДНК не был ни человеком современного типа, ни неандертальцем, а относился к совершенно новой группе – первому человеческому виду, открытому исключительно на основе анализа ДНК. Книги по истории человеческой эволюции вновь требовалось переписывать. Анализ геномов показал, что денисовцы были ближе к неандертальцам, чем к современным людям, но, опять же, наблюдаются признаки гибридизации между нами и этими нашими древними сородичами. В геномах современных меланезийцев (папуасов) и австралийских аборигенов присутствуют существенные следы денисовской ДНК – примерно 5 %. По-видимому, следы денисовской ДНК прослеживаются в иммунной системе каждого из нас. Еще интереснее, что

некоторые особенно полезные фрагменты денисовской ДНК оказались как бы «прихвачены» в геном современного человека, чтобы облегчить ему адаптацию к конкретным условиям. Так, тибетцы живут на большой высоте и обходятся малым количеством кислорода. У них есть участок ДНК, унаследованный от денисовцев и, очевидно, развившийся именно для этой цели.

Примерно 2,3 % вашей ДНК унаследовано от неандертальцев.



По данным популярной фирмы, занимающейся «генетикой для потребителя», у одного из моих соавторов в геноме чуть меньше неандертальской ДНК, чем обычно встречается у людей-европеоидов

Закключение о том, что практически у каждого из нас в геноме имеются фрагменты неандертальской ДНК, может быть, и задевает наше коллективное «эго», но, если поразмыслить, отнюдь не кажется удивительным. Все исследования человеческой эволюции на молекулярном уровне – это урок о том, как поразительно мы близки на генетическом уровне ко всем прочим живым существам. По сути, молекулярные данные зачастую ставят под сомнение (и часто опровергают) устоявшиеся представления об эволюции человека.

Великий химик Лайнус Полинг был родоначальником современного молекулярного подхода к эволюции. В начале 1960-х годов они с Эмилем Цукеркандлем сравнили аминокислотные последовательности аналогичных белков от нескольких видов. Тогда секвенирование белков только начинало развиваться, поэтому полученные ими данные неизбежно оказывались неполными. Тем не менее этими учеными была обнаружена поразительная закономерность: чем ближе друг к другу два вида с

эволюционной точки зрения, тем более похожи у них последовательности аналогичных белков. Так, сравнивая одну из белковых цепочек в молекуле гемоглобина, Полинг и Цукеркандль заметили, что из всех образующих ее 141 аминокислоты у шимпанзе и у человека наблюдается всего одно различие, а у человека и лошади там же насчитывается уже 18 различий. Данные молекулярных последовательностей свидетельствуют, что человек состоит в более близком родстве с шимпанзе, чем с лошадью. Изучение эволюционной истории, скрытой в биомолекулах, сегодня уже стало рутинной практикой, однако в те времена эта идея казалась, с одной стороны, новаторской, а с другой стороны – весьма неоднозначной.

Успех молекулярного подхода к изучению эволюции зависит от корреляции двух составляющих: длительности периода, истекшего с момента расхождения двух видов, и степени молекулярной дивергенции между ними. Логика таких «молекулярных часов» проста. Чтобы ее проиллюстрировать, давайте вообразим скрещивание между двумя парами однояйцевых близнецов: первая однояйцевая самка скрещивается с первым однояйцевым самцом, вторая – соответственно, со вторым. Затем каждая из пар изолируется на необитаемом острове. С генетической точки зрения обе популяции, оказавшиеся на островах, изначально неотличимы одна от другой. Однако спустя несколько миллионов лет в популяции с одного из островов накопятся мутации, которых не будет в популяции с другого острова, и наоборот. Поскольку мутации возникают нечасто, а отдельно взятые геномы велики и потому разброс участков, где могли бы произойти мутации, просто огромен, невозможно себе представить, что обе популяции могут приобрести одинаковые наборы мутаций. Поэтому, секвенируя ДНК потомков каждой из пар, мы найдем множество различий между некогда идентичными геномами, накопившихся со времени их разделения. В таком случае говорят, что между популяциями произошла «генетическая дивергенция». Чем дольше они были разделены, тем сильнее будет дивергенция.

Однако как определить, если можно так выразиться, точку отсчета, с которой мы начинаем считать эти молекулярные часы? Иными словами, как измерить генетическую дивергенцию между нами и, скажем, другими представителями живой природы? В конце 1960-х годов, задолго до появления ДНК-секвенирования, Аллан Уилсон, эксцентричный новозеландец, работавший в Калифорнийском университете в городе Беркли, решил вместе с коллегой Винсом Сэйричем проверить логику Полинга и Цукеркандля на человеке и его ближайших родичах. Поскольку в то время секвенирование белков все еще оставалось печально

обременительным и крайне трудоемким делом, Уилсон и Сэйрич придумали хитроумный выход из ситуации.

Сила иммунного ответа на инородный белок отражает степень его чужеродности: если он сравнительно схож с собственным белком организма, то реакция относительно слабая, но с увеличением разницы реакция пропорционально усиливается. Уилсон и Сэйрич проверяли силу реакции, беря белок от одного вида и измеряя иммунный ответ, который он провоцировал у других видов. Так они смогли построить индекс молекулярной дивергенции между двумя видами, однако, чтобы добавить в такие молекулярные часы параметр времени, их требовалось откалибровать. Палеонтологические данные свидетельствуют о том, что обезьяны Старого и Нового Света (две основные группы обезьян) произошли от общего предка, жившего около 30 миллионов лет тому назад. Соответственно, Уилсон и Сэйрич приравняли иммунологическую «дистанцию» между обезьянами Старого и Нового Света к 30 миллионам лет, истекших с момента расхождения этих линий. Насколько в таком случае отстоят люди от своих ближайших эволюционных родичей, шимпанзе и горилл? В 1967 году Уилсон и Сэйрич опубликовали результаты своих расчетов, согласно которым эволюционные линии человека и человекообразных обезьян разделились около пяти миллионов лет тому назад. Это заявление встретили в штыки: в палеоантропологических кругах считалось общепризнанным, что этот акт дивергенции произошел около 25 миллионов лет тому назад. Научный истеблишмент настаивал, что промежуток между человеком и человекообразными обезьянами намного больше пяти миллионов лет. Уилсон и Сэйрич выдержали этот натиск. Дальнейшие исследования показали, что предложенная ими датировка расхождения человека и человекообразных обезьян на удивление точна.

Когда пришло время распространить такой анализ расхождения между человеком и человекообразными обезьянами с белков на ДНК, Уилсон доверил эту работу своей аспирантке Мэри-Клэр Кинг (которая впоследствии сделала себе имя в изучении генетики рака груди). В результате в 1975 году была написана одна из самых выдающихся научных статей в XX веке. Однако долгое время такой триумфальный исход казался маловероятным, особенно на взгляд Кинг. Работа у нее не клеилась во многом потому, что за годы, проведенные в Университете Беркли, львиную долю ее рабочего времени отнимали бушевавшие там в начале 1970-х годов выступления против вьетнамской войны. Кинг решила перебраться в Вашингтон, округ Колумбия, и поработать с Ральфом Нейдером, но, к

счастью, сначала обратилась за советом к Уилсону. Он мудро напомнил ей, что «если бы все, у кого не получаются эксперименты, бросали науку, то никакой науки не было бы». Кинг к нему прислушалась.



Мэри-Клэр Кинг

Кинг и Уилсон сравнивали геномы человека и шимпанзе разными методами, в том числе при помощи хитроумного приема под названием «гибридизация ДНК». Когда две комплементарные цепочки ДНК объединяются и образуют двойную спираль, их можно разделить, нагрев образец до 95 °С, – молекулярные генетики между собой именуют этот процесс «плавление ДНК». Что же произойдет, если две нити ДНК не абсолютно комплементарны, то есть если в одну из них вкрались мутации? Оказывается, такая ДНК «расплавится» при температуре ниже 95 °С. А вот насколько ниже – зависит от степени различия между двумя нитями. Чем

больше разница, тем меньше требуется нагревать раствор, чтобы их расплести. Именно по такому принципу Кинг и Уилсон стали сравнивать ДНК шимпанзе и человека. Чем больше совпадают последовательности двух этих молекул, тем ближе будет точка плавления двойной спирали к абсолютному стандарту 95 °С. Оказалось, что сходство и в самом деле удивительное: Мэри-Клэр Кинг удалось определить, что последовательности ДНК человека и шимпанзе различаются не более чем на 1 %. На самом деле, у человека и шимпанзе даже больше общего, чем у шимпанзе и гориллы – геномы последних отличаются друг от друга примерно на 3 %.

Этот результат был настолько поразителен (а получен он был, заметьте, за двадцать пять лет до первых черновых набросков генома человека), что Кинг и Уилсон считали своим долгом попытаться объяснить явное несоответствие между темпами генетической эволюции (медленная) и анатомически-поведенческой эволюции (быстрая). Как столь незначительные генетические изменения могут обусловить такие существенные различия, которые мы видим в зоопарке между шимпанзе в клетке и посетителем по другую сторону вольера? Кинг и Уилсон предположили, что наиболее существенные эволюционные изменения произошли в тех частях ДНК, которые управляют включением и выключением генов. Таким образом, даже небольшое генетическое изменение могло дать масштабный эффект, изменив, например, хронометраж экспрессии гена. Иными словами, природа может создать два очень несхожих существа, попросту по-разному координируя работу одних и тех же генов.

Следующее сенсационное сообщение из лаборатории Уилсона в Беркли поступило в 1987 году. Исходя из закономерностей изменчивости в последовательностях ДНК, он и его коллега Ребекка Канн построили родословное древо для всего нашего вида. Это было одно из немногих открытий, новость о котором попала на обложку журнала *Newsweek*.

Из практических соображений Ребекка Канн и Аллан Уилсон работали преимущественно с митохондриальной ДНК (мтДНК). В то время, когда ПЦР-реакция еще не применялась в научных исследованиях так широко, как сегодня, было очень затруднительно получить тот или иной ген или участок ДНК в достаточном количестве для проведения исследований. А в исследовании Канн и Уилсона требовалось обработать не один, а 147 образцов! В любом фрагменте человеческой ткани гораздо больше митохондриальной ДНК, чем хромосомной (содержащейся в клеточном ядре). Тем не менее, чтобы в достаточном количестве добыть хотя бы

митохондриальную ДНК, нужна была особая технология. Выход нашелся: решили использовать плаценту. Обычно в больницах ее просто утилизируют после родов, но именно там очень много митохондриальной ДНК. Канн и Уилсону всего-то оставалось уговорить 147 рожениц пожертвовать свою плаценту во имя науки, но фактически 146, так как Мэри-Клэр Кинг просто мечтала отдать им плаценту от своей дочери. При этом исследователям было известно, что для максимально полной реконструкции человеческого генеалогического дерева нужно подобрать группу доноров так, чтобы обеспечить в ней как можно более широкое генетическое разнообразие. В данном случае американский «плавильный котел» из национальностей оказался весьма кстати. Не было необходимости ехать в Африку для сбора африканской ДНК – благодаря работоторговле африканские гены оказались в изобилии завезены на американские берега. Соратники проекта, работавшие в Новой Гвинее и Австралии, взялись раздобыть плаценту аборигенных австралоидных женщин (которых нет в генетическом пуле США), готовых поучаствовать в исследовании.

Как мы уже знаем, митохондриальная ДНК наследуется от матери. Весь генетический материал отца находится в головке единственного сперматозоида, но митохондриального материала там нет. ДНК сперматозоида внедряется в яйцеклетку, где уже есть митохондрии, полученные от матери. Следовательно, Канн и Уилсон собирались проследить историю человечества по женской линии. Поскольку митохондриальная ДНК наследуется лишь от одного из родителей, она никогда не претерпевает рекомбинации – это процесс обмена сегментами плеч хромосом, так что мутации перекочевывают из одной хромосомы в другую. Отсутствие рекомбинации в митохондриальной ДНК – одно из основных преимуществ, которое оказалось крайне важным при реконструировании родословного дерева на основе сходства между последовательностями ДНК. Если в двух последовательностях обнаружится одна и та же мутация, то мы знаем, что они должны происходить от одного и того же общего предка (у которого исходно эта мутация возникла). Однако в случае рекомбинации одна из родословных линий могла получить мутацию совсем недавно, в результате перетасовки генов. Поэтому наличие общей мутации не обязательно означает, что у двух особей был общий предок. Схожие последовательности – в которых много общих мутаций – указывают на близкое родство; последовательности с большим числом различий – на более дальнее. Для наглядности близких родственников – происходящих от общего предка, жившего относительно

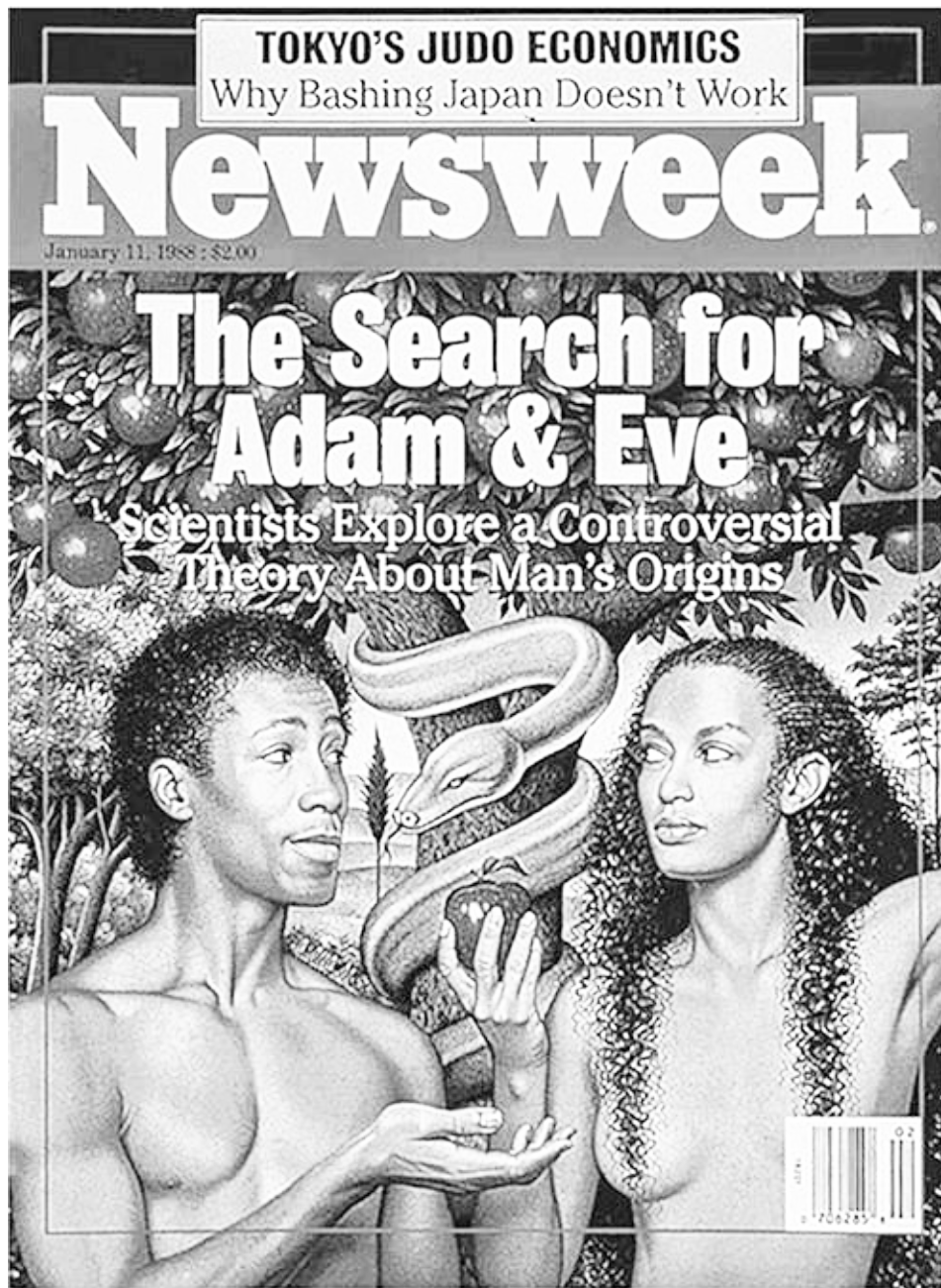
недавно, – можно представить в виде одной сплоченной группы. Дальние родственники будут рассредоточены сильнее, поскольку их общий предок жил относительно давно.

Канн и Уилсон обнаружили, что на родословном дереве человека прослеживаются две основные ветви, причем к одной из них относятся различные антропологические группы, проживающие в Африке, а к другой – лишь некоторые африканцы и все остальные. Таким образом, люди современного типа возникли в Африке, именно там жил наш общий древнейший предок. Согласитесь, идея не нова. Еще Чарльз Дарвин отмечал, что наши ближайшие родичи, шимпанзе и гориллы – это африканские животные; отсюда он делал вывод, что и люди изначально развивались в Африке. Наиболее поразительный и неоднозначный аспект родословного дерева, выстроенного Канн и Уилсоном, заключается в том, насколько далеко оно уходит в прошлое. Сделав ряд простых допущений о темпах накопления мутаций в процессе эволюции, можно вычислить возраст этого родословного древа – определить время, в которое жила наша общая прапрапрапра... прабабушка. Канн и Уилсон пришли к цифре около 150 тысяч лет. Все люди, живущие сегодня, даже абсолютно неродственные, происходят от общего предка, жившего всего 150 тысяч лет тому назад.

Многие представители антропологического сообщества восприняли такой результат расчетов Канн и Уилсона с яростным недоверием. В то время существовали определенные закрепившиеся представления о человеческой эволюции, согласно которым наш вид произошел от особей, покинувших Африку около двух миллионов лет тому назад, а затем расселившихся в Старом Свете. Такая модель предполагала, что наше родословное дерево должно быть как минимум в тринадцать раз длиннее. Альтернативная версия Канн и Уилсона, прозванная в средствах массовой информации «Гипотеза Евы», или, что ближе к сути, «Путь из Африки», не отрицала и более древних миграций, но подразумевала, что, когда люди современного типа прибыли в Европу, они вытеснили существовавшие там популяции более древних гоминид, обосновавшихся в Европе после первого исхода (состоявшегося два миллиона лет тому назад). *Homo erectus* – представители вида, распространившегося из Африки два миллиона лет тому назад, мигрировали через Старый Свет. Следующая волна дочеловеческих переселенцев хлынула из Африки в Европу 600 тысяч лет тому назад – от них произошли неандертальцы, населявшие Европу и Западную Азию. Затем, примерно 100 тысяч лет тому назад, в Европу пришла следующая группа – *Homo sapiens*, людей современного

типа, которые также были потомками *Homo erectus*, но развивались, никогда не покидая родного континента, но повторив путь из Африки, который за сотни тысяч лет за них проделали *H. erectus* и *H. neanderthalensis*.

Канн, Уилсон и их коллеги принципиально изменили наши представления о человеческом прошлом.



Митохондриальная Ева – девушка с обложки

Дальнейшие исследования подтвердили выводы Канн и Уилсона. Многие из этих новых исследований были выполнены в стэнфордской лаборатории Луиджи Луки Кавалли-Сфорцы. Он был первым, кто стал решать антропологические задачи генетическими методами. Кавалли-Сфорца вырос в аристократической миланской семье и с юности увлекался микроскопами и микроскопией. В 1938 году он, не по годам развитый шестнадцатилетний парень, поступил на медицинский факультет Университета Павии. Если бы он этого не сделал, то ему пришлось бы служить в армии Муссолини. Когда мы с Кавалли-Сфорца впервые встретились в 1951 году, он все еще был подающим надежды генетиком-бактериологом. Но одна случайная ремарка, отпущенная неким аспирантом, побудила Кавалли-Сфорцу переключиться на изучение генетики человека. Аспирант, ранее учившийся на священника, упомянул, что католическая церковь ведет подробные реестры всех браков, заключенных за три последних века. Осознав, каким плодотворным материалом для научных исследований могут оказаться такие записи, Кавалли-Сфорца стал склоняться к изучению человеческой генетики. Он один из немногих специалистов в этой области, кто с полным правом может сказать, что нашел свое призвание благодаря церкви.

Кавалли-Сфорца понимал, что наиболее убедительным подтверждением выкладок Канн и Уилсона о человеческой эволюции в идеале были бы гены, передаваемые только по мужской линии. Если бы удалось прийти к тем же выводам, проследив родословную человека по мужской линии – по патрилинейному, а не по матрилинейному маршруту (второй путь Канн и Уилсон уже проследили по митохондриальной ДНК), то было бы получено подлинно независимое подтверждение ранее высказанных догадок. Естественно, наиболее «самцовый» компонент генома – это Y-хромосома. По определению, обладатель Y-хромосомы – мужчина (пол эмбриона зависит от сперматозоида, поскольку в яйцеклетке всегда содержатся только X-хромосомы: из комбинаций XX получаются девочки, а из XY – мальчики). Таким образом, в Y-хромосоме записана генетическая история мужчин. Кроме того, поскольку рекомбинация происходит лишь между парными хромосомами, при работе с Y-хромосомой мы обходим рекомбинацию, настоящий бич эволюционного анализа: любая Y-хромосома уникальна, у эмбриона по определению не может найтись другой Y-хромосомы, с которой она могла бы обмениваться материалом.

Питер Андерхилл, коллега Кавалли-Сфорцы, опубликовал в 2000 году

статью, которая произвела эффект разорвавшейся бомбы: в ней он описал, как проделал с Y-хромосомой те же манипуляции, что Канн и Уилсон проделали с мтДНК. Выводы тех и других исследований получились поразительно схожими. По данным Андерхилла, корни нашего родословного древа также уходят в Африку, и это дерево на удивление небольшое, а не раскидистый вековой дуб, как представляли себе антропологи, – оно, скорее, похоже на кустик, который получился на схеме у Канн и Уилсона, и этому кусту всего около 150 тысяч лет.

Получение схожей картины человеческого прошлого на двух независимых генетических наборах данных выглядит особенно убедительным. Если изучается всего один участок ДНК, скажем мтДНК, то результаты все равно нельзя признать неокончательными: найденная закономерность может попросту отражать тонкости исторического развития именно этого участка ДНК, а не влияние какого-то масштабного исторического события на весь наш вид в целом. Особенно важно, что та точка, в которой начинается ствол генетического родословного древа, соответствует нашему древнейшему общему предку по всем последовательностям, тому самому прапрапра... прадедушке (или прабабушке) – не обязательно соответствует какому-либо конкретному событию в истории человека. Хотя она и может подразумевать, что происхождение нашего вида связано с каким-либо другим исторически важным демографическим эпизодом, этот эпизод (в масштабах человеческой истории) вполне может оказаться и совершенно тривиальным. Возможно, речь идет всего лишь о воздействии естественного отбора на митохондриальную ДНК. Однако если подобные паттерны изменений будут прослеживаться в нескольких участках генома, то вполне вероятно, что мы и в самом деле подошли к открытию генетического отпечатка какого-то важного древнего события. Именно такую совокупность изменений нашел Андерхилл. Полученное совпадение требовало признать, что в рассматриваемый момент (150 тысяч лет тому назад) человеческая популяция действительно претерпела радикальные генетические изменения, такие, что одновременно затронули и митохондриальную ДНК, и Y-хромосому. Этот феномен, который мы подробно обсудим чуть ниже, называется в генетике «эффект бутылочного горлышка».

Как демографические факторы могут влиять на родословное древо? Любая генеалогия – результат развития и отмирания эволюционных линий, составляющих это древо; со временем некоторые достигают процветания, а другие исчезают. Возьмем, к примеру, фамилии. Допустим, тысячу лет

назад на каком-то далеком острове на всех жителей было всего три фамилии: Смит, Браун и Уотсон. Также предположим, что иногда возникали небольшие ошибки в транскрипции – «мутации», когда имена новорожденных вносили в метрики. Такие ошибки были незначительными и случались нечасто, поэтому долгое время оставалось понятно, какова была исходная фамилия: так, «Броун» – это, очевидно, мутация «Браун». Теперь представим, как будет выглядеть эта популяция сейчас, тысячу лет спустя. Окажется, что на острове найдутся носители фамилий Браун, Брауни, Баун, Фраун и Броун. Например, фамилии Смиты и Уотсоны со временем исчезли, тогда как линия Браунов расцвела (и стала гораздо разнообразнее благодаря мутациям). Как это могло произойти? По чистой случайности эволюционные линии Смитов и Уотсонов исчезли. Так, возможно, что в каком-то поколении у нескольких мистеров и миссис Смит рождались в основном дочери. Предположим, что (согласно традиции, а не действующему ныне альтернативному порядку) фамилии передаются по мужской линии, поэтому такое обилие дочерей значительно уменьшило бы представительство Смитов в следующем поколении. Теперь предположим, что в следующем поколении Смитов опять наблюдался переизбыток дочерей и этот демографический эффект только закрепился – да, вы уже понимаете. В итоге фамилия Смит окончательно исчезает. Аналогичная ситуация происходила и с Уотсонами.

На самом деле подобное случайное вымирание статистически неизбежно. Однако обычно оно протекает настолько медленно, что ощущается лишь на очень длительных временных отрезках. Тем не менее иногда возникает «бутылочное горлышко» – период, в который численность популяции быстро и сильно падает, и этот процесс резко ускоряется. Если наша островная популяция началась всего с трех пар (шести особей), логично предположить, что фамилии Смит и Уотсон могут быть утрачены всего за одно поколение, так как довольно велики шансы, что в обеих этих семьях родятся только дочери либо что семьи не оставят потомства. В крупной популяции эволюционные линии, конечно, не могут исчезать так резко; статистически немыслимо, чтобы в популяции, где есть множество пар по фамилии Смит, все эти пары произвели на свет только дочерей либо оказались бездетными. Лишь спустя много поколений постепенно накопится эффект поредения смитовских рядов. Действительно, можно привести вполне реальный пример такого гипотетического процесса исчезновения фамилий. Шестеро мятежников с корабля «Баунти» колонизировали остров Питкэрн на юге Тихого океана, создав семьи с тринадцатью таитянками. Спустя семь поколений на

острове остались всего три фамилии.

Если сегодня взглянуть на фамилии в нашей теоретической популяции – Браун, Брауни, Баун, Фраун и Броун, то можно логически заключить, что все они произошли всего от одной из трех стартовых эволюционных линий: Браун. Поэтому едва ли нас должно удивлять, в каком виде сейчас человеческая митохондриальная ДНК и Y-хромосома: 150 тысяч лет тому назад существовало множество разных последовательностей митохондриальной ДНК и Y-хромосомы, но каждая из этих линий произошла от единственного предка. Все остальные исчезли, скорее всего, в результате какого-то древнего эволюционного события, спровоцировавшего эффект бутылочного горлышка. Популяция могла резко сократиться в результате эпидемии, климатических изменений либо по какой-то другой причине. Однако, каким бы ни был катаклизм нашей ранней истории, ясно одно: после этого эволюционного происшествия группы наших предков отправились в путь из Африки, и началась эпическая сага об освоении планеты человеком.

Еще одно интересное открытие, подтвержденное на материале как мтДНК, так и Y-хромосомы, – это положение, занимаемое на генеалогическом древе человечества племенами сан из Южной Африки^[14]. Их ветвь – самая длинная и, соответственно, самая древняя. Это ни в коем случае не означает, что они «примитивнее» нас: все люди в молекулярном и эволюционном отношении одинаково удалены от наших ближайших родичей среди человекообразных обезьян.

Если проследить нашу родословную до нашего последнего общего предка с шимпанзе, то для меня этот показатель составит от 5 до 7 миллионов лет и для сан – столько же. Действительно, в течение большей части этих бесчисленных лет наши с сан эволюционные линии совпадают; их линия отделилась от родословных линий всех остальных людей лишь около 150 тысяч лет тому назад.



Охотники сан

Анализ данных генетики предполагает, что сан после самой первой миграции в Восточную и Южную Африку жили в относительной изоляции на протяжении всей человеческой истории. К такому выводу нас приводит и социолингвистика, когда мы рассматриваем регион распространения необычных (для нашего уха) «щелкающих» языков, на которых говорят сан. В настоящее время этот регион крайне ограничен, поскольку около 1500 лет тому назад на этих территориях стали закрепляться племена банту, пришедшие из Западной и Центральной Африки. Из-за экспансии банту сан

оказались вытеснены в малопригодные для жизни районы, например в пустыню Калахари.

Учитывая такую относительно стабильную историю, можно ли предположить, что сан выглядят именно так, как наши доисторические предки? Да, это возможно, но не обязательно – вполне вероятно, что и в родословной линии сан за последние 150 тысяч лет могли происходить серьезные изменения. Даже экстраполяции образа жизни наших древних предков на основе быта сан сомнительны: может быть, нынешний образ жизни сан – это результат адаптации к суровой пустынной экосистеме, в которой они оказались заключены со времени относительно недавнего вторжения племен, говорящих на языках банту? В 2000 году я приобрел уникальный и занятный опыт: несколько дней прожил в общине сан в пустыне Калахари. Меня поразили их замечательный прагматизм, их эффективный и абсолютно грамотный подход к решению всех стоящих перед ними задач, даже выходящих за пределы их обычного быта, например замена спустившейся шины. Я поймал себя на мысли, что было бы неплохо, если бы и многие мои коллеги умели так хорошо ко всему адаптироваться. Если же, по большому счету, эти люди генетически «отличаются» от меня, как и все на планете, то я не мог не впечатлиться тем, как же схоже мы мыслим.

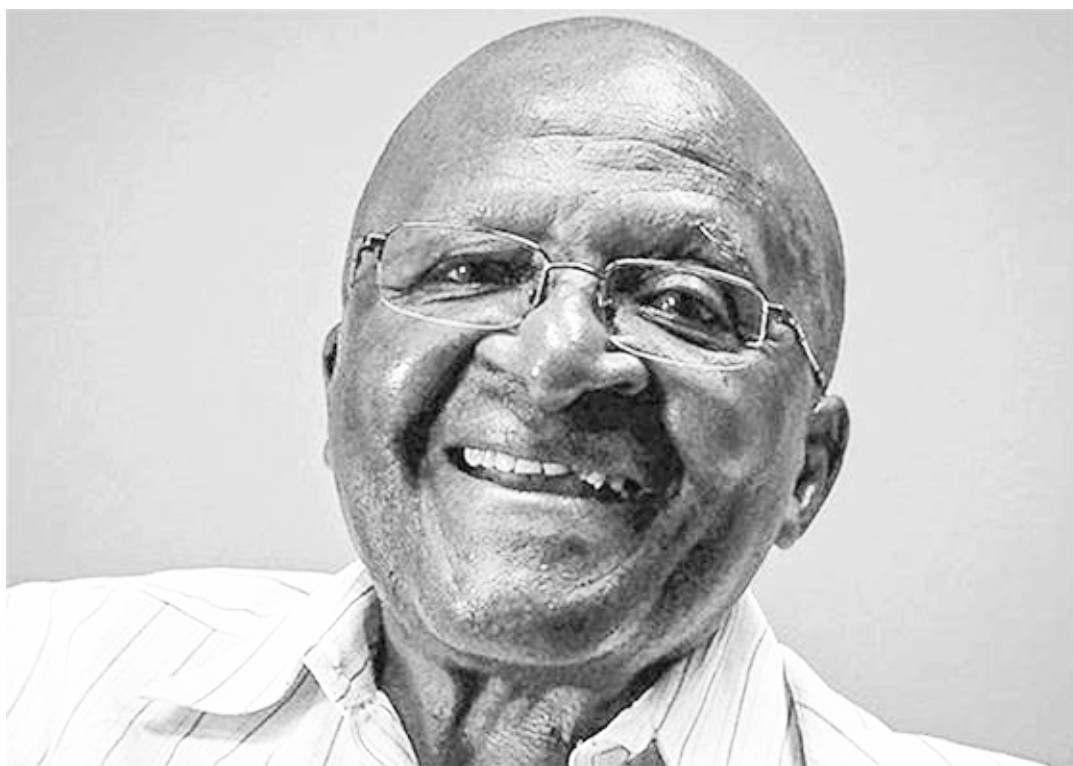
Увы, вскоре генетическая и культурная уникальность сан будет утрачена. Молодые люди из Калахари не горят желанием вести древнюю простую жизнь охотников и собирателей, как их родители-кочевники. Так, в той группе, в которой мне довелось побывать, когда сан пускались в традиционный «трансовый танец», именно молодежь раздражалась старомодностью «предков». Они покидают свои племена и вступают в браки с представителями других групп.

На самом деле, история уже подтверждает тенденцию смешения сан с другими народами. Так, племя коса, из которого происходил Нельсон Мандела, с генетической точки зрения представляет собой смесь племен банту и сан, а язык коса, пусть и основан на банту, содержит множество щелкающих звуков, типичных для сан. В наши дни и времена, когда мир стремительно меняется под напором технологий, маловероятно, что генетическое и культурное своеобразие сан сохранится достаточно долго.

В 2010 году южноафриканские генетики Ванесса Хейз и Стефан Шустер секвенировали два генома, демонстрирующие глубокую генетическую изменчивость среди африканцев. Одним из добровольцев, участвовавших в секвенировании, был архиепископ Дезмонд Туту, представитель крупной группы банту, гордо принявший предложение Хейз

вскоре после упразднения режима апартеида. Другим добровольцем был! Губи, представитель койсанов (племени бушменов из пустыни Калахари), живущих в Намибии и Ботсване. Эти народы принадлежат к древнейшим туземным этносам Африки. Своими исследованиями Шустер и Хейз показали, что между индивидами из племен койсанов наблюдается даже бóльшая генетическая изменчивость, чем между типичными европейцами и азиатами.

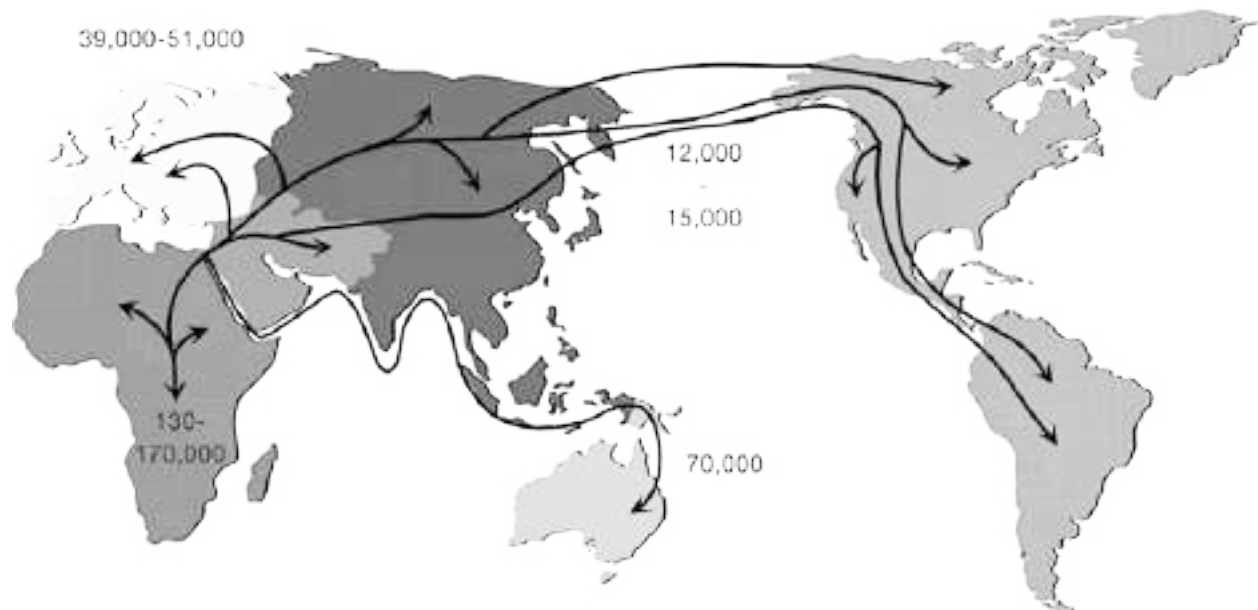
К сожалению, даже самые современные методы современной генетики не позволяют выяснить происхождение человеческой культуры. По археологическим данным, наши предки на первом этапе эволюции занимались примерно тем же, что и другие гоминиды, в том числе неандертальцы. Действительно, пещерная стоянка в районе Схул (Израиль) демонстрирует, что около 100 тысяч лет тому назад популяции *Homo sapiens* и *Homo neanderthalensis* сосуществовали друг с другом, пока люди современного типа постепенно не стерли с лица Земли своих тяжелокостных родичей около 30 тысяч лет тому назад. Представляется, что около 70 тысяч лет тому назад люди современного типа благодаря культурным и/или технологическим достижениям каким-то образом завоевали лидерство.



!Губи, охотник-собираатель из Намибии, один из первых африканцев

(наряду с изображенным ниже общественником-активистом Дезмондом Туту), чей геном был секвенирован. Губи происходит из койсанской общины, одной из наиболее древних и разнообразных человеческих популяций. Он является первым представителем малочисленного африканского народа, чей геном был секвенирован

Независимые археологические данные подтверждают эту гипотезу. По всей видимости, около 50 тысяч лет тому назад люди современного типа внезапно достигли значительного культурного прогресса. В раскопках, относящихся к этому периоду, впервые начинают встречаться настоящие орнаменты. Люди начинают регулярно работать с обычной и слоновой костью, с ракушками, из которых изготавливают знакомые нам удобные артефакты. Тогда же впервые начинают модернизироваться технологии охоты и собирательства. Что тогда произошло? Возможно, мы этого никогда не узнаем. Но соблазнительно предположить, что все это произошло благодаря изобретению языка – да и не только это, а и все наши дальнейшие достижения.



Из Африки и дальше по планете. Наш вид возник в Африке и распространился оттуда. Примерные даты колонизации разных регионов рассчитаны по митохондриальной ДНК

Доисторический период, по определению, является бесписьменным; однако в последовательностях ДНК каждого индивида мы находим хронику путешествий наших предков. В новой науке – молекулярной антропологии

применяются закономерности генетической изменчивости, обнаруживаемые среди различных групп, и так реконструируется история расселения человека по Земле, и мы узнаем «предысторию» человечества.

Исследования распределения генетической изменчивости по континентам вкупе с археологической информацией открывают определенные подробности глобальной экспансии наших предков по планете. Путешествие по кромке Азии и через архипелаги современной Индонезии, далее на Новую Гвинею и в Австралию состоялось 60–70 тысяч лет тому назад. Чтобы попасть в Австралию, людям пришлось преодолеть несколько серьезных водных преград, то есть уже в древнейшей истории наши предки пользовались лодками. Люди современного типа прибыли в Европу 40 тысяч лет тому назад, а спустя примерно 10 тысяч лет проникли в Северную Азию, в частности в Японию.

Майкл Хаммер из Аризонского университета, как и многие другие ведущие специалисты в этой области, учился в берклийской лаборатории у Аллана Уилсона. Хотя поначалу Майкл Хаммер проводил работы с использованием мышей, публикация Канн и Уилсона, посвященная исследованию мтДНК, заставила его переключиться с изучения грызунов на первобытных людей. Именно он одним из первых осознал, что информация из Y-хромосомы позволяет однозначно проверить общую гипотезу Канн и Уилсона. В конце концов он и другие ученые превратили Y-хромосому в антропологический кладезь, и ее исследование увенчалось публикацией веховой статьи Андерхилла.

Основная линия в исследованиях Y-хромосомы подстегнула наши попытки реконструировать человеческие попытки колонизировать Новый Свет – это произошло сравнительно недавно. Предметом споров является место древнейшего поселения человека в Америке; традиционно этот рекорд приписывается стоянке в Кловисе, штат Нью-Мексико, ее возраст оценивают примерно в 11 200 лет. Однако сторонники альтернативной версии указывают стоянку Монте Верде в Чили, возраст которой, по их мнению, составляет не менее 12 500 лет. Также оспаривается способ, каким первые представители америндской расы попали в Америку: либо по суше через нынешний Берингов пролив во время последнего ледникового периода, либо более южным маршрутом на лодках. Однако генетические данные четко свидетельствуют, что первая группа эмигрантов была невелика: в Америке обнаружено всего два основных класса последовательностей Y-хромосомы, что, по-видимому означает: до Америки добрались всего две самостоятельные группы, и каждая, возможно, объединяла членов единственной семьи. Среди представителей

американской расы изменчивость мтДНК гораздо шире, чем изменчивость Y-хромосомы, и это означает, что в обеих группах первопроходцев-женщин было больше, чем мужчин. Вероятно, более распространенная из двух последовательностей Y-хромосомы соответствует первому прибытию; популяция потомков этих эмигрантов уже успела сформироваться к моменту попадания в Америку потомков второй группы, предков современных племен апачей и навахо. Для более распространенной последовательности характерно и иное отличие: это мутация (впервые обнаруженная в 2002 году), редко встречающаяся где-либо еще на планете. Эта мутация, дополнительно доказывающая, что ее носители были первыми американскими поселенцами, возникла около 15 тысяч лет тому назад – гораздо раньше всех человеческих стоянок, обнаруженных в Америке археологическими методами.

Генетический анализ помогает реконструировать и более ранние этапы человеческой предыстории. Так, Хаммер показал, что современные японцы возникли от смешения древних охотников-собирателей дзёмон (сегодня из них сохранились только айны, аборигенное население Японии) и относительно недавно прибывших иммигрантов яёй, проникших в Японию с Корейского полуострова около 2500 лет тому назад, именно они принесли с собой ткачество, кузнечное дело и рисоводческое земледелие. В Европе также прослеживаются признаки нескольких волн миграции, часто связанных с прорывами в земледелии. Некоторые народы, например баски, живущие в Пиренеях на границе Франции и Испании, и кельты (прибывшие позже и сегодня живущие на северо-западной окраине Европы в Ирландии, на западе Британии и во французской Бретани), генетически отличаются от остальных европейцев. Возможное объяснение этому факту: каждую из этих групп новоприбывшие племена могли вытеснить в относительно глухие регионы.

Брайан Сайкс из Оксфорда много сделал для того, чтобы прояснить, как сложна генетическая карта современной Европы. На протяжении долгих лет существовало устоявшееся мнение, что современные европейцы в основном произошли от ближневосточных народов из Плодородного полумесяца (территория между Средиземным морем и Персидским заливом), из тех, кто изобрел земледелие. Однако Сайкс обнаружил, что родословная большинства европейцев прослеживается не до народов из Плодородного полумесяца, а до более древних групп, живших здесь до прибытия переднеазиатских мигрантов, а также от некоторых кочевников, пришедших из Центральной Азии. К таким группам, в частности, относятся кельты и гунны, появившиеся в Европе около 500 года до н. э.

и 400 года н. э. соответственно. Расширив анализ мтДНК еще на шаг, Сайкс заявил, что практически все европейцы произошли от семи «дочерей Евы» – так он назвал удивительно немногочисленные основные предковые узлы в родословном древе европейской мтДНК. Он основал компанию *Oxford Ancestors*, которая первой стала оказывать услуги по секвенированию митохондриальной ДНК и определять, от какой именно из «дочерей Евы» ведет свой род клиент.

Кроме того, ключом к пониманию прошлого человека могут стать наблюдения, которыми плодотворно занимаются Кавалли-Сфорца и другие: закономерности генетической эволюции часто коррелируют с закономерностями развития языка. Естественно, существуют очевидные параллели между генами и словами. И гены, и язык передаются от одного поколения к следующему, и гены, и язык изменяются, причем в последнем случае изменения могут быть особенно быстрыми – это знают все подростки и их родители. Аналогично, американский английский похож на британский, но все равно эти диалекты различаются, хотя и развиваются по отдельности всего несколько сотен лет. Таким образом, на основе сходства и различия можно реконструировать родословное древо языков примерно таким же образом, как и генетическое родословное древо. Однако зачастую еще важнее, что, как впервые предсказывал еще сам Дарвин^[15], мы можем найти между двумя этими «деревьями» информативные соответствия и, изучая одно из деревьев, глубже понять другое. Кельты и баски – драматичнейшие примеры такого рода: эти народы генетически стоят особняком по отношению к другим народам Европы, и, соответственно, их языки сильно отличаются от других европейских языков. Что касается Нового Света, существует неоднозначная теория, согласно которой коренные американцы говорят на языках, относящихся всего к трем основным семьям, и две из этих семей соответствуют двум ранним иммиграциям, также прослеживающимся по двум вариантам америндской Y-хромосомы. К третьей, совсем маленькой семье относятся изолированные языки эскимосов.

Благодаря наличию генетических данных, специфичных по половому признаку – мтДНК у женщин, Y-хромосома у мужчин, – хочется сравнить мужскую и женскую историю. Марк Сейелстад, аспирант Кавалли-Сфорцы, решил сравнить закономерности миграций исходя из полового признака. Логика его проста. Допустим, некая мутация в Y-хромосоме возникает у человека, живущего в районе Кейптауна в Южной Африке. Скорость, с которой эта мутация достигнет, скажем, Каира, характеризует темп мужской миграции. Аналогично скорость, с которой из Кейптауна в

Каир попадет мутация митохондриальной ДНК, характеризует темп женской миграции.

Хорошо это или плохо, но история – это в основном хроника мужских, а не женских путешествий. Как правило, мужчины отправлялись в путь за добычей или властью: достаточно вспомнить поход Александра Великого из Македонии до северных окраин Индии; викингов и их жестокие морские рейды из Скандинавии в Исландию и далее в Америку. Вспомним Чингисхана, чьи всадники проносились через степи Центральной Азии. Даже если не учитывать такие путешествия с воинственными намерениями, мужчины все равно считаются в обществе более мобильными, чем женщины. Традиционно в обществах охотников и собирателей мужчины ходили на промысел (и при этом могли забредать далеко), а женщины оставались дома, запасали пищу поблизости от дома, воспитывали детей. Соответственно, у Сейелстада были все основания полагать, что именно мужчины преимущественно распространяли гены нашего вида. Но реальные данные поразительным образом опровергли этот тезис. Оказалось, что женщины в среднем в восемь раз мобильнее мужчин.

На самом деле при всей кажущейся нелогичности этого факта объяснить такую закономерность просто. Практически во всех традиционных обществах на всем земном шаре действует механизм, который антропологи именуют патрилокальностью. Когда вступают в брак жители двух разных деревень, жена переезжает в дом к мужу, а не наоборот. Допустим, женщина из деревни А вышла замуж за мужчину из деревни В – в таком случае она переселяется в деревню В. В семье рождаются дочь и сын. Девушка выходит замуж за человека из деревни С и переезжает в деревню С. Сын женится на девушке из деревни D – и она перебирается к нему в деревню В. Таким образом, мужская линия остается в В, а женская (за два поколения) перемещается из А в С через В. Этот процесс повторяется поколение за поколением, и в результате женщины активно мигрируют, а мужчины – нет. Мужчины действительно иногда отправляются в путь – захватывать далекие земли, но эти события несущественны в грандиозной системе человеческих миграций. Именно пошаговая женская миграция, от деревни к деревне, сформировала историю человечества – как минимум на генетическом уровне.

Подробные региональные исследования изменчивости Y-хромосомы и митохондриальной ДНК также могут кое-что поведать о принципах половых отношений и брачных обычаях, распространявшихся в ходе колонизации. Так, в Исландии, которая до прибытия викингов была необитаема, обнаруживается выраженная асимметрия при сравнении

мтДНК и Y-хромосомы. Большинство Y-хромосом, что логично, – норвежского происхождения, но значительная популяция типов мтДНК завезена из Ирландии. Очевидно, норвежцы, колонизировавшие Исландию, привезли туда с собой ирландских женщин. К сожалению, по данным мтДНК невозможно определить, как с ними при этом обращались.

Подобный эффект наблюдается при изучении изменчивости мтДНК и Y-хромосомы в Колумбии. В большинстве социальных слоев колумбийские Y-хромосомы имеют испанское происхождение – это прямое биологическое наследие испанской конкисты, развернувшейся в Испанском Мэйне (колониальных владениях испанской короны в Америке). Действительно, примерно 94 % изученных там Y-хромосом европейского происхождения. Однако интересно, что митохондриальная картина существенно иная: у современных колумбийцев имеются разнообразные америндские типы мтДНК. Понятно, что это означает: захватчики-испанцы (мужчины) брали местных женщин себе в жены. Америндские типы Y-хромосомы практически отсутствуют, что приоткрывает трагическую историю колониального геноцида: индейцев-мужчин истребляли, а местные женщины подвергались половой «ассимиляции» со стороны конкистадоров.

Правда, иногда долгосрочные асимметрии такого рода – результат культурной преемственности, а не кровавых цивилизационных столкновений. Так, в Индии проживают парсы – этнокультурное меньшинство, потомки зороастрийцев. Это индоевропейские люди арийского происхождения, в XVII веке бежавшие в Индию из Ирана из-за религиозных репрессий. Генетический анализ современных парсов действительно демонстрирует, что они сохранили «иранские» Y-хромосомы, но мтДНК у них обычно «индийского» происхождения. В данном случае асимметрия обусловлена традицией. Чтобы считаться истинным парсом-зороастрийцем, необходимо, чтобы твой отец был парсом-зороастрийцем. Такая принадлежность к сообществу парсов передавалась по мужской линии вместе с Y-хромосомой. Здесь генетика подтверждает соблюдение традиций.

Именно традицией обусловлены и закономерности генетической изменчивости среди евреев. Последние исследования показывают, что члены касты священников (коэны) – и их потомки, зачастую имеющие фамилию Коэн, – обладают достаточно своеобразной Y-хромосомой, отличающей их от других групп. Даже в еврейских популяциях весьма туманного происхождения, самых далеких от Израиля, таких как южноафриканский этнос лемба, коэновская Y-хромосома сохранилась

практически как священный религиозный текст. Считается, что она происходит от самого Аарона, основателя касты коэнов, брата Моисея. В самом деле, возможно, что Y-хромосомная последовательность коэнов принадлежит именно ему и с тех пор передавалась от отца к сыну из поколения в поколение. Такие строгие традиции соблюдались на протяжении истории евреев.

Хаммер и прочие исследователи, воспользовавшись Y-хромосомой для оценки истории всей еврейской диаспоры, пришли к интересным результатам. Например, ашкеназы, жившие в Европе на протяжении последних 1200 лет (а теперь они живут в США и по всему миру), тем не менее сохранили генетические признаки, указывающие на их ближневосточное происхождение. Молекулярные исследования фактически не оставили сомнений в том, что как минимум на генетическом уровне евреи практически идентичны всем остальным ближневосточным народам, в том числе палестинцам. Так, кстати, и записано в исторических документах. Великий праотец Авраам имел двоих сыновей от разных женщин: Исаака, прародителя евреев, и Исмаила, предка арабов. Горькая ирония: сколь смертельная вражда разгорелась между потомками одного человека – в настоящее время становится еще горше оттого, что геномный анализ, по-видимому, подтверждает текст предания.

Просто прогулявшись по Манхэттену и оглядевшись по сторонам, можно предположить, что мы – самый генетически изменчивый вид на планете. По факту, геном человека отличается меньшей вариабельностью, чем геномы большинства видов, по которым у нас есть такая информация. У двух человеческих особей различается в среднем одна пара оснований на 1000. Генетически все мы схожи на 99,9 % – по сравнению с другими видами различия между нами мизерны. Например, у дрозофил – нам они все кажутся практически одинаковыми – генетическая изменчивость примерно в десять раз выше. Даже пингвины Адели, живущие в Антарктиде огромными колониями, символ одинаковости, генетически примерно вдвое вариабельнее нас. Наши ближайшие родичи также не обделены генетической изменчивостью: у шимпанзе она примерно втрое выше, чем у нас, у горилл – в два раза, у орангутанов – в 3,5 раза.



Авраам размышляет о своих сложных семейных перипетиях

Хотя показатель генетической схожести – 99,9 % – у человека между неродственными индивидами широко известен, должен отметить, что фактическая степень генетической изменчивости между отдельными людьми гораздо выше – думаю, раз в десять. В последние годы исследователи зафиксировали новый уровень генетической изменчивости, так называемую вариацию числа копий генов (она же структурная

вариация). Она проявляется в участках генома длиной от одного до сотен килобаз, которые дублируются или удаляются. Накапливается все больше доказательств того, что такие варианты обуславливают клинические и поведенческие расстройства, в частности аутизм.

Имея в распоряжении результаты семейных анализов мтДНК и Y-хромосомы, мы сразу понимаем, почему все люди так похожи. Все дело в том, что наш общий предок жил совсем недавно; по эволюционным меркам 150 тысяч лет – просто мгновение, за такой период существенная изменчивость (обусловленная мутациями) просто не успела накопиться.

Еще один парадоксальный факт об изменчивости человека (при всем его незначительности) – гипотеза в основном не коррелирует с расой. Прежде чем Канн и Уилсон продемонстрировали удивительно недавний выход человечества из Африки, предполагалось, что различные группы жили в изоляции друг от друга на разных континентах в течение периода до двух миллионов лет. В таком случае у нас успели бы накопиться существенные генетические различия, что согласовывалось бы с моделью Полинга и Цукеркандля, где степень генетической дивергенции между изолированными популяциями рассчитывается как функция времени, в течение которого они были изолированы. В свете выводов Канн и Уилсона о том, что мы имеем гораздо более недавнего общего предка, у географически удаленных популяций просто не было времени, чтобы развить ту самую значительную дивергенцию. Поэтому, несмотря на то что генетические различия (например, цвет кожи) и очевидны среди человеческих популяций, расово-специфичные генетические различия обычно очень ограничены. На самом деле, наши скудные отличия в основном равномерно распределены во всех популяциях: в африканской популяции варианты генов обнаруживаются так же легко, как и в европейской. Остается предположить одно: генетическая изменчивость нашего вида в основном сформировалась еще до выхода из Африки и уже имела в группах, которые отправились покорять остальной мир.

Осталось окончательно добить нас в направлении нашего понимания и оценивания генетической изменчивости: проект «Геном человека» показал, что только 2 % нашей ДНК кодирует гены. Что это означает? 98 % нашей изменчивости приходится на неэффективные участки генома. Поскольку естественный отбор очень эффективно отбраковывает мутации, влияющие на функционально важные участки генома (например, на гены), изменчивость накапливается преимущественно в некодирующих, или мусорных, участках. Поскольку история человеческой изменчивости в эволюционном масштабе очень короткая, большинство устойчивых

различий, наблюдаемых между человеческими популяциями, вероятно, обусловлены естественным отбором, как, вспомним например, цвет кожи.

Кожа шимпанзе (наших ближайших родственников) под плотным мехом в основном не пигментирована (можно даже сказать, что шимпанзе белые). Предположительно, последний общий предок человека и шимпанзе, от которого пошла человеческая эволюционная линия, жил 5–7 миллионов лет тому назад и был похож на шимпанзе. Таким образом, можно сделать вывод о том, что выраженная пигментация кожи у африканцев (и у древнейших людей современного типа, родившихся именно в Африке) возникла в ходе дальнейшей эволюции человека. После потери волосяного покрова наличие пигментации кожи стало принципиально важным фактором, поскольку пигмент защищает кожу от разрушительного ультрафиолетового (УФ) излучения. Сегодня на молекулярном уровне доказано, что ультрафиолетовые лучи могут вызывать рак кожи: под действием ультрафиолета тиминовые основания в ДНК слипаются друг с другом, и в молекуле ДНК, так сказать, формируется «узелок». Когда такая ДНК реплицируется, из-за этого «узелка» в молекулу часто встраивается не то основание, и возникает мутация. Если такая мутация случится в гене, отвечающем за механизмы клеточного роста, то может начаться рак. Меланин – пигмент, синтезируемый в клетках кожи, – смягчает пагубное воздействие ультрафиолета. Любой читатель, столь же безнадежно бледнолицый, как я, хорошо знаком с солнечными ожогами. Хотя, как правило, они не смертельны, реагировать на них и лечить приходится гораздо оперативнее, чем рак кожи. Поэтому легко предположить, что естественный отбор поддержал потемнение кожи как средство для борьбы не только с раком, но и с инфекциями, которые легко могут возникать в результате тяжелых солнечных ожогов.

Почему жители высоких широт утратили меланин? Наиболее убедительное объяснение связано с синтезом витамина D_3 – этот процесс протекает в коже под действием ультрафиолета. Витамин D_3 усиливает всасывание кальция в кишечнике и реабсорбцию фосфора в почечных канальцах, нормализует формирование костного скелета (дефицит витамина D_3 может привести к рахиту и остеопорозу). Возможно, наши предки мигрировали из Африки в районы с выраженной переменной времен года, где ультрафиолетового излучения в некоторые месяцы могло не хватать. Тогда естественный отбор поддержал бледнокожих индивидов, поскольку они, менее обремененные экранирующим кожным пигментом, более эффективно синтезировали витамин D_3 при недостатке ультрафиолета. Та

же логика применима и к миграциям наших предков в пределах Африки. Например, народность сан, живущая в Южной Африке, где интенсивность ультрафиолета сопоставима со средиземноморской, имеет поразительно светлую кожу. А что насчет эскимосов, живущих в отнюдь не знойной Арктике, но обладающих удивительно темной кожей? По-видимому, у них возможности синтеза витамина D ограничены еще сильнее, ведь эскимосам круглый год приходится тепло одеваться. Фактически селективное давление отбора, благоприятствующее светлокожести, на эскимосов почти не действовало, и они по-своему решили проблему с витамином D₃: в их рационе много рыбы, богатой этим жизненно важным витамином.

Учитывая, каким мощным (и в основном неблагоприятным) фактором оставался цвет кожи на протяжении всей человеческой истории, а также исходя из собственного опыта, остается лишь удивляться, как мало нам известно о генетической подоплеке этого признака. Однако такая неизученность связана совсем не с ограниченностью научных возможностей, а с вмешательством политики в науку. Сейчас академический мир терроризируют политкорректностью, и даже изучение молекулярной основы данного признака считается неким табу. Сегодня известно, что у мышей за цвет меха отвечает множество генов и у человека есть полностью аналогичные гены. Один из генов, влияющих на цвет человеческой кожи, может мутировать – и тогда возникает альбинизм. Другой ген, рецептор меланокортина, также связан с рыжеволосостью и бледной (зачастую веснушчатой) кожей. Ген меланокортина вариателен среди европейцев и азиатов, но инвариантен среди африканцев; это означает, что в Африке естественный отбор систематически отбраковывает мутации этого гена, то есть действует против рыжеволосых и бледнокожих индивидов. Сегодня в африканских популяциях иногда рождаются альбиносы, у которых кожный пигмент вообще отсутствует (возможно, африканский альбинизм – результат новых мутаций, не унаследованных от родителей), но острая чувствительность альбиносов к солнечному свету оказывается для них крайне неблагоприятной, порой летальной.

Еще один морфологический признак, вероятно, определяемый естественным отбором, – комплекция тела. В жарком климате, где важно предотвратить перегрев, сформировались два основных типа комплекции. Нилотская форма, представителями которой является восточноафриканский народ масаи, – это высокие поджарые люди, у которых доведено до максимума отношение площади кожи к объему тела, что обеспечивает нормальное охлаждение. Еще существует пигмейская

форма. Пигмеи отличаются субтильным телосложением и при этом очень низкорослые. В данном случае к физически напряженному образу жизни (охота и собирательство) оказались лучше приспособлены те, кто минимизировал затраты энергии при движении. Зачем тебе огромное тело, если нужно рыскать в поисках пищи? Напротив, в высоких широтах естественный отбор благоприятствовал такой комплекции, которая помогает сберегать тепло: минимальному отношению площади кожи к объему тела. Поэтому неандертальцы, жившие в Северной Европе, имели массивное телосложение; такова обычная комплекция и у современных европейцев. Мы наблюдаем некоторые атлетические различия между представителями разных человеческих популяций: возможно, они связаны как раз с такими различиями в комплекции. Не стоит удивляться, что рослое нилотское тело лучше приспособлено к прыжкам в высоту, чем тело малорослого, коренастого человека.



Эволюционная реакция на климат, заметная на уровне комплекции: кенийский масаи, хорошо приспособленный к жаре, и гренландские

эскимосы, легко переносящие холод

Если и есть такой признак, распределение которого в человеческих популяциях чрезвычайно трудно объяснить, так это непереносимость лактозы. Молоко млекопитающих (в том числе женское) богато молочным сахаром (лактозой), и у новорожденных млекопитающих обычно вырабатывается фермент лактаза, расщепляющий молоко в кишечнике. Однако, повзрослев, большинство млекопитающих, в том числе люди – как минимум большинство африканцев, все американские индейцы и азиаты, перестают вырабатывать лактазу и вследствие этого не переносят лактозу. «Непереносимость лактозы» означает, что обычный стакан молока может обернуться для вас неприятными последствиями, в частности диареей, метеоризмом и болью в животе. В это же время большинство европеоидов и представителей других групп нормально перерабатывают лактозу всю жизнь и, следовательно, всю жизнь могут пить молоко. Было предложено такое объяснение: возможно, представители этих популяций исторически максимально зависели от молочных продуктов. Однако такая закономерность прослеживается далеко не всегда. Так, в Средней Азии существуют пастушьи племена – там каждому жителю найдется свой кусочек сыра, если у человека непереносимость лактозы. Я, например, сам страдаю непереносимостью лактозы, хотя происхожу из этнической группы, которая хорошо ее переносит.

Если естественный отбор поддержал переносимость лактозы в некоторых популяциях, то почему эта работа не доведена до конца? Вероятное объяснение заключается в том, что эволюция переносимости лактозы разворачивается прямо на наших глазах. Одомашнивание крупного скота неоднократно происходило на протяжении последних десяти тысяч лет, и мы наблюдаем независимую эволюцию этого признака в нескольких скотоводческих популяциях, например среди европейцев и среди африканцев. Переносимость лактозы связана с «генетической перепрошивкой» системы, которая в обычном режиме должна отключать синтез лактазы примерно в трехлетнем возрасте. Мутации, возникающие в европейских и африканских популяциях, различаются, но дают одинаковый эффект: человек обретает способность всю жизнь синтезировать лактазу. Анализ древней ДНК, принадлежавшей европейцам, жившим 10 тысяч лет тому назад, показывает, что они не переносили лактозу, а значит, естественный отбор стал действовать в пользу переносимости лактозы совсем недавно (по эволюционным меркам) – как и должно быть, учитывая историю одомашнивания животных. Однако Пардис Сабети, ученый-врач

из Гарварда, разработала более объективный метод идентификации таких участков в генах, которые, гарантируя некоторые преимущества, селективно отбирались в ходе человеческой эволюции. Если бы были живы Чарльз Дарвин и Альфред Уоллес, они бы ее без сомнения поддержали. Сабети – лауреат Родсовской стипендии, вокалистка рок-группы и практикующая «охотница на вирусы», но первая любовь этой американской персиянки – вычислительная генетика. Воспользовавшись стратегией, разработанной Эриком Ландером, Сабети стала просеивать геном в поисках недавних актов «выметания генов отбором». Допустим, в хромосоме возникает полезная мутация, и постепенно частота этой мутации в популяции под действием естественного отбора увеличится (например, носители этой мутации в среднем оставляют больше потомства). Однако частота в данном случае возрастает не только под влиянием конкретной мутации. Другие аллели, расположенные в хромосоме поблизости от этого участка с мутацией, «зацепляются» за нее (среди популяционных генетиков также популярен термин «генетический автостоп»). Размер подцепляемого таким образом участка зависит от скорости рекомбинации на этом участке и от силы/темпа селективного процесса. В конечном итоге повторяемость полезной мутации достигнет 100 %, равно как и повторяемость пограничных с ней аллелей, которые за нее зацепились, и возникнет целый фрагмент ДНК, где нет никакой вариативности – последовательность будет идентична у всех особей данного вида. Сабети выявила в геноме множество характерных сигнатур, свидетельствующих о положительном отборе. Это те самые «генно-археологические» следы воздействия естественного отбора на последовательности нашей ДНК. Один из примеров – ген *EDAR* (отвечающий за структуру и качество волосяного покрова), повлекший определенное изменение, со временем ставшее характерным для большинства жителей Восточной Азии. По-видимому, этот вариант возник в Центральном Китае около 35 тысяч лет тому назад. Мыши, которым во время опытов был внедрен такой ген, имели более густой мех и больше потовых желез. Возможно, распространение этого гена обусловлено селективным преимуществом, связанным с терморегуляцией либо с половым отбором – а возможно, и с обоими факторами.

В настоящее время Сабети изучает естественную устойчивость к западноафриканской лихорадке ласса. Этот вирус вызывает геморрагическую лихорадку, клинически схожую с лихорадкой эбола, но с меньшим процентом летальности. В Нигерии и Сьерра-Леоне на удивление много людей, обладающих естественной невосприимчивостью к этому вирусу. Сабети надеется, что ее генетическое исследование позволит

выявить источник этой невосприимчивости и поможет предотвратить новые эпидемии.

Однако интересны не столько небольшие различия между отдельными расами, как те черты, которые нас объединяют – и, соответственно, отличают от наших ближайших родичей. Как мы уже убедились, наши с шимпанзе эволюционные линии разделились 5–7 миллионов лет тому назад, и за это время наши геномы разошлись не более чем на 1 %. Тем не менее на этот 1 % приходятся критически важные мутации, благодаря которым мы превратились в таких необычных мыслящих и говорящих существ. Возможны дискуссии о том, обладают ли представители других видов теми или иными ограниченными формами сознания, но в их роду определенно не появилось представителей уровня Леонардо да Винчи или Френсиса Крика.

Хромосомы у человека и у шимпанзе очень похожи. Однако у шимпанзе двадцать четыре пары хромосом, а у нас – двадцать три. По-видимому, хромосома 2 образовалась от слияния двух других хромосом, которые у шимпанзе являются отдельными. Кроме того, у шимпанзе и у человека различаются хромосомы 9 (крупнее у человека) и 12 (крупнее у шимпанзе). Сложно сказать, окажутся ли эти хромосомные различия существенными в дальнейшем.

Некоторые наиболее захватывающие новейшие открытия, связанные с тем самым «одним процентом» различий между человеком и шимпанзе, подчиняются простой эволюционной логике. Как мы убедились, естественный отбор превосходно сохраняет аминокислотные последовательности важных белков: мутация, которая испортит этот белок, естественным образом будет отбракована из популяции, поскольку носитель этой мутации окажется уязвим для факторов окружающей среды. Как следствие этого мы наблюдаем отличное сохранение общих генетических последовательностей у таких разных организмов, как человек и нематода. А как же случаи, когда правило сохранения генов в человеческой эволюционной линии нарушалось? Может быть, именно к таким участкам следует присмотреться: ген сохранялся на протяжении сотен миллионов лет, а затем, именно у наших предков, стал стремительно развиваться, вероятно, в ответ на действие некоего фактора отбора, действовавшего именно на человека. Типичный пример – ген *FOXP2*, наличие которого связывают с развитием языковых навыков человека^[16]. Аминокислотная последовательность этого гена более или менее идентична у всех млекопитающих – что означает сильную селективную консервацию – кроме нашего вида (включая неандертальцев и денисовцев).

Поэтому очень соблазнительно (но пока преждевременно) предположить, что *FOXP2* – тот самый эволюционный «дым», которого не бывает без огня, и именно с его участием произошел критически важный шаг к возникновению языка как средства общения. В пользу этой идеи говорят исследования, выполненные на генетически измененной линии мышей. Сванте Паа-бо, Вольфганг Энард и их коллеги внедрили этим мышам человеческий вариант *FOXP2*. У созданных химерных мышей, в чей белок *FOXP2* были внесены две «человеческие» аминокислотные замены, было отмечено «качественное изменение вокальных сигналов, подаваемых детенышами». У взрослых грызунов было отмечено снижение исследовательского поведения и сниженные уровни дофамина в мозге, что позволяет предположить воздействие «гуманизированного» *FOXP2* на базальные ганглии. Вряд ли «вокал» этих мышей можно сравнить с пением Барри Уайта, а важность этого гена для развития речи по-прежнему обсуждается, но *FOXP2* остается одним из наиболее интригующих генетических различий между человеком и шимпанзе.

В 2005 году исследователи завершили первый этап проекта секвенирования генома шимпанзе и подтвердили, что генетические вариации между нами и шимпанзе составляют примерно 1 %, это выяснили еще Кинг и Уилсон до того, как было изобретено секвенирование ДНК. В этом исходном наборе в двух аналогичных последовательностях ДНК зафиксировано около 35 миллионов различий. Однако другое сравнение показало, что два вида различаются тысячами «удаленных» и «вставленных» фрагментов ДНК, и тогда суммарное число различий в геноме составляет около 90 миллионов пар оснований. Таким образом, мы и наши ближайшие родичи в животном мире схожи примерно на 96 %. В любом случае, располагая таким каталогом, можно сосредоточиться на изучении важнейших различий, которые находятся не только в генах, но и в некодирующих последовательностях и влияют на их регуляцию. Сегодня расшифрованы и геномы других человекообразных обезьян, занявшие достойное место в нашей драгоценной коллекции – я имею в виду геномы орангутана и гориллы. У меня есть догадка, что люди – просто человекообразные обезьяны с несколькими уникальными (особыми) генетическими переключателями.

Величайшая миссия молекулярной биологии – ответить на вопросы о нас и о происхождении нашего вида. Каждый человек в душе жаждет узнать столь же подробную историю о собственном происхождении. ДНК также позволяет построить и более индивидуализированное родословное древо. Можно сказать, что в моей ДНК записана история моей

эволюционной линии, тот сюжет, который я могу рассматривать с различным приближением, то есть имею возможность вставить мою последовательность нуклеотидов в эволюционное древо человечества, построенное Канн и Уилсоном, что позволит пристальнее всмотреться в прошлое моей семьи. Моя Y-хромосома и мтДНК поведают две разные истории – о предках отца и о предках матери.

Я никогда не интересовался генеалогией. Но в моей семье, подозреваю, как и во многих, есть семейный архивист. В нашем случае это тетушка Бетти, всю жизнь выяснявшая, кто с кем состоит в родстве и каким образом произошли эти браки. Именно она определила, что Уотсоны происходят из породы лоулендских шотландцев (прибывших со Среднешотландской низменности), впервые обосновавшихся в США в Камдене, штат Нью-Джерси, в 1795 году. Именно она настаивала, что у меня по отцовской линии есть какой-то предок из дома Эйба Линкольна, Спрингфилд, штат Иллинойс. Персонально меня больше всего интересовали мои ирландские корни – моя бабушка по материнской линии была ирландкой. Дед и бабка моей матери бежали из Ирландии в 1840-е годы, когда из-за неурожая картофеля разразился великий голод, и оказались в Индиане, где дед моей матери Майкл Глисон умер в 1899 году, том самом, когда она родилась. На могильном камне Глисона написано, что он прибыл из ирландского городка Глей.

Побывав в Ирландии, я попытался побольше разузнать о своем прапрадедушке в краеведческом центре города Нина, графство Типперэри (ранее в этом здании располагалась тюрьма). Мои попытки полностью провалились. Поскольку я не обнаружил ни одного упоминания о городке Глей, мне оставалось лишь заключить, что топоним на могиле моего предка (вероятно, неграмотного), был просто выдуман. На этом я забросил генеалогические изыскания, однако совсем недавно к ним вернулся. Теперь, когда Канн и Уилсон уже очертили контекст моего родословного древа, появилось желание выяснить, где на нем я. Такие компании, как *Ancestry.com* и *23andMe*, позволяют взглянуть на генеалогические исследования в новом свете: на смену пыльным архивам пришли высокотехнологичные лабораторные методы. К сожалению, анализы показывают, что у меня в роду романтика и экзотика полностью отсутствуют. Действительно, как и предполагалось, я – отпрыск самых обычных шотландско-ирландских крестьян. Зная это, я не смогу обвинить в собственном крутом нраве каких-нибудь древних викингов, которые могли бы «совершить вторжение» в мою родословную.



Барри Шек (крайний слева) и Питер Нойфельд при работе над важнейшим делом своей жизни

Глава 11

Генетическая дактилоскопия. ДНК в суде

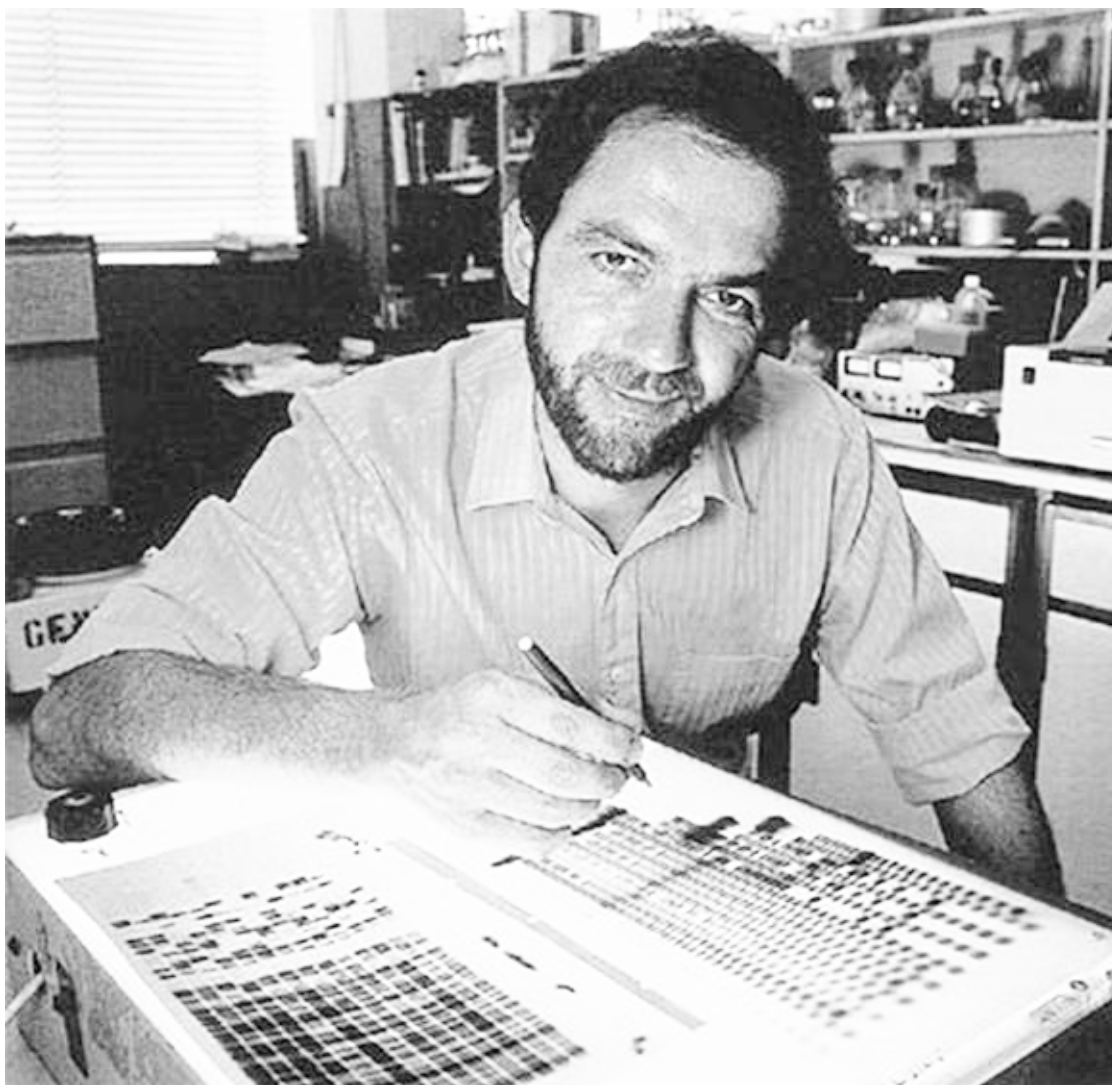
В 1998 году тридцатичетырехлетний Марвин Ламонт Андерсон был освобожден из государственной тюрьмы штата Виргиния. Там он провел пятнадцать лет, практически большую часть жизни после совершеннолетия, поскольку обвинялся в жутком преступлении: якобы в июле 1982 года он жестоко изнасиловал молодую женщину. Обвинение представило неопровержимые доказательства: жертва опознала Андерсона по фотографии; указала на него при предъявлении подозреваемых, а также узнала в суде. Андерсон был признан виновным по всем статьям и получил приговоры с последовательным отбывтием наказания, суммарный срок по которым составил более двухсот лет.

Дело очевидное. Однако более опытный адвокат мог бы эффективнее парировать доводы стороны обвинения, явно предвзято игравшей против его подзащитного. Андерсона взяли исключительно на основании заявления жертвы (белокожей женщины) о том, что ее насильник (чернокожий мужчина) хвастался, что «имел сексуальную связь с белой женщиной». Насколько было известно местным властям, из всех афроамериканцев в округе лишь у Андерсона была белокожая подружка. Среди тюремных фото, предъявленных жертве, только снимок Андерсона был цветным. При этом из всех мужчин, чьи фотографии были показаны жертве, на линейке для опознания присутствовал только Андерсон. Более того, по имевшимся показаниям выяснилось, что всего за полчаса до нападения другой человек (Джон Отис Линкольн) украл велосипед, которым воспользовался насильник, но адвокат Андерсона не пригласил Линкольна в качестве свидетеля.

Спустя пять лет после суда над Андерсоном Линкольн под присягой сознался в преступлении, но судья первой инстанции счел его показания ложными и отказался что-либо предпринимать. Андерсон тем временем продолжал настаивать на своей невинности и потребовал, чтобы вещественные доказательства, найденные на месте преступления, были подвергнуты анализу ДНК. Однако ему ответили, что, согласно действующему регламенту, все эти улики уничтожены. Тогда Андерсон связался с адвокатами из организации «Проект Невинность» (*Innocence Project*). Эта группа уже была известна в масштабах США своими

убедительными проектами по установлению окончательных доказательств вины или невинности по уголовному судопроизводству. Пока «Проект Невинность» работал по запросу Андерсона, того выпустили на свободу в режиме условно-досрочного освобождения; срок условно-досрочного освобождения истекал в 2088 году, то есть при условии соблюдения выставленных условий Андерсон получил возможность спокойно прожить свой век вне стен тюрьмы.

В конечном итоге выяснилось, что Андерсона спасла небрежность лаборантки из криминологической лаборатории, которая не завершила надлежащим образом анализ группы крови с вещественных доказательств, взятых на месте преступления в 1982 году. Она совершила должностной просчет, забыв вернуть образцы в уполномоченный орган для регламентированного уничтожения, и, когда Андерсон затребовал перепроверки результатов, оказалось, что эти образцы не уничтожены, а все еще существуют. Однако директор Департамента уголовного правосудия штата Виргиния отклонил запрос, аргументировав отказ тем, что «таким образом можно создать неблагоприятный прецедент». Тем не менее на основании нового законодательства адвокаты «Проекта Невинность» добились судебного ордера на проведение таких анализов (раз уж они были), и в декабре 2001 года анализ однозначно показал, что Андерсон не мог быть насильником. «Дактилоскопия» ДНК показала, что преступник – Линкольн. Линкольна осудили, а Андерсону принес извинения лично Марк Уорнер, губернатор штата Виргиния.



Алек Джеффрис, основатель генетической дактилоскопии

Генетическая дактилоскопия – технология, избавившая Марвина Андерсона от незаслуженного пожизненного заключения, – была совершенно случайно открыта в сентябре 1984 года британским генетиком Але-ком Джеффрисом. С первых дней революции, которая началась с применения рекомбинантной ДНК, Джеффрис интересовался межвидовыми генетическими различиями. В университете Лейчестера он занимался исследованиями, связанными преимущественно с геном миоглобина, продуцирующим белок, похожий на гемоглобин; этот белок встречается в основном в мышцах. Именно в ходе такого молекулярного препарирования Джеффрис обнаружил нечто очень интересное: короткий фрагмент ДНК многократно повторялся. Похожий феномен наблюдали в 1980 году Рэй Уайт и Арлин Уайман, изучавшие другой ген; они показали,

что число таких повторов у разных индивидов различается. Джеффрис определил, что выявленные им повторы относятся к мусорной ДНК, не кодирующей никаких белков, но вскоре догадался, что и от этого «мусора» может быть толк.

Алек Джеффрис выяснил, что данный короткий повторяющийся фрагмент ДНК имеется не только в гене миоглобина, а рассеян по всему геному. Хотя эти повторяющиеся участки немного различались, во всех экземплярах была одна коротенькая, практически идентичная последовательность – всего пятнадцать нуклеотидов. Джеффрис решил воспользоваться ею в качестве «зонда»: взяв очищенный образец такой последовательности, помеченный радиоактивной молекулой, он мог «охотиться» за ней в масштабах всего генома. Если разложить всю ДНК из генома на специальном нейлоновом фильтре, то «зонд» приклеится к ней именно там, где найдется комплементарная ему пара оснований (этот хитроумный прием, разработанный английским молекулярным биологом Эдом Саузерном, известен под названием «Саузерн-блот»). Накладывая нейлон на отрезок рентгеновской пленки, Джеффрис затем мог срисовать узор пятен, полученных в результате облучения. Проявив пленку после того исторического опыта (в 9:05 утра в понедельник 10 сентября 1984 года), он был ошеломлен увиденным.

Зонд выявил множество схожих последовательностей в самых разных образцах ДНК. «Первая моя реакция была: “Господи, что за мешанина”», – вспоминал Джеффрис. Однако, когда он всматривался в повторяющиеся фрагменты на полосках рентгеновской пленки, похожие на генетический штрихкод, его осенило. По итогам опыта впору было воскликнуть «Эврика!». Различий между любыми двумя подобными образцами все равно оставалось так много, что по ним можно было идентифицировать даже членов одной семьи. В итоге в 1985 году Джеффрис опубликовал в журнале *Nature* статью, в которой отметил: «Полученный профиль уникально идентифицирует человека, как дактилоскопия на уровне ДНК».

Термин «генетическая дактилоскопия», использованный Джеффрисом, был достаточно произволен. Действительно, эта технология позволяла идентифицировать любого человека точно так же, как и традиционная дактилоскопия. Джеффрис с коллегами взяли образцы ДНК собственной крови и провели с ними точно такую же процедуру. Как и ожидалось, по рентгеновским снимкам можно было безошибочно определить любого человека. Джеффрис осознал потенциальную широту и диапазон применения этой технологии:

Теоретически мы знали, что метод применим для судебно-медицинской идентификации и для установления отцовства. Этим способом можно было определить, идентичны ли близнецы – эта информация важна при трансплантации органов. Технология применима для проверки приживаемости костномозговых трансплантатов. Также мы убедились, что эта техника [должна работать] на зверях и птицах. Можно было выявить, насколько те или иные организмы родственны друг другу – это основополагающая информация, если вы занимаетесь естественной историей биологических видов. Кроме того, мы понимали, как эта техника могла бы применяться в природоохранной биологии... Список кажется бесконечным.

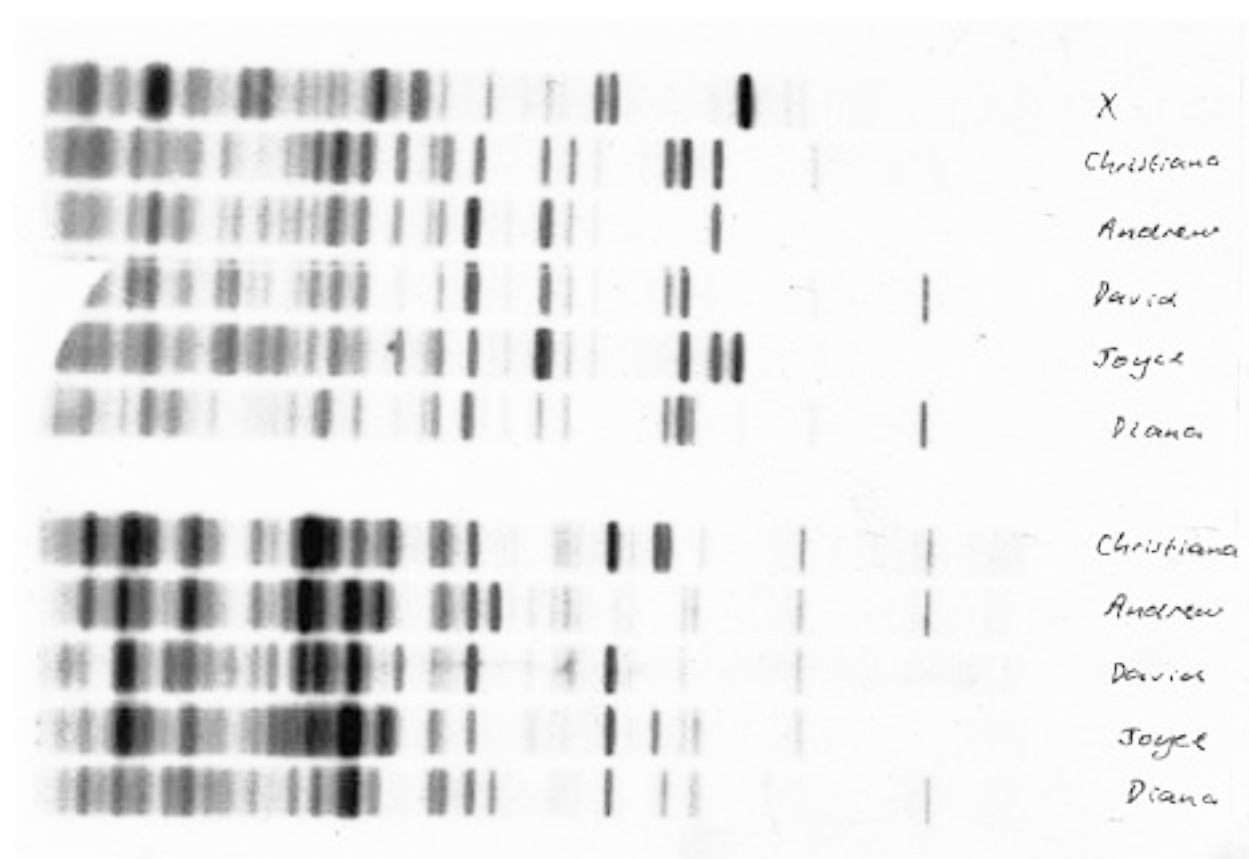
Однако первая прикладная задача для этой процедуры была куда необычнее, чем Джеффрис мог даже вообразить. На самом деле, Джеффрис обязан своей жене тем, что генетическая дактилоскопия впервые была применена для решения иммиграционного спора.

Летом 1985 года Кристиана Сарбах столкнулась с серьезной проблемой. Двумя годами ранее ее сын Эндрю вернулся в Англию из Ганы, где гостил у отца. Но в аэропорту Хитроу британские сотрудники миграционной службы отказались пускать парня обратно в страну, хотя он родился в Великобритании и был британским подданным. Тем не менее чиновники отказывались признавать Сарбах матерью Эндрю и предполагали, что на самом деле он сын одной из ее сестер и пытается проникнуть в страну нелегально по поддельному паспорту. Адвокат, знавший об этом деле, прочел в газете репортаж о работе Джеффриса и обратился за помощью к генетикам. Позволит ли новый анализ ДНК доказать, что Эндрю – сын, а не племянник миссис Сарбах?

Анализ осложнялся еще и тем, что не было возможности взять образцы генетического материала ни у отца Эндрю, ни у сестер Сарбах. Джеффрис подготовил ДНК из образцов, взятых у матери и троих детей, чье кровное родство с нею не оспаривалось. Анализ показал, что у всех этих детей и у Эндрю один и тот же отец, а Сарбах – мать Эндрю. Вернее, оставалась вероятность менее одного шанса на шесть миллионов, что настоящая мать Эндрю – одна из сестер Сарбах. Миграционная служба не стала оспаривать выводов Джеффриса, но и не признала собственную ошибку, попросту замяв дело. Эндрю воссоединился с матерью. Затем Джеффрису довелось встретиться с ними, и он вспоминал: «У нее в глазах читалось попросту волшебное облегчение!»

Но сработает ли такой прием с образцами крови, семенной жидкости и волос, которые обычно находят на месте преступления? Вскоре Джеффрис доказал, что метод реально работает. Так генетическая дактилоскопия произвела революцию в криминалистике.

Однажды утром в среду, в ноябре 1983 года, на тропе Блэк Пэд на окраине деревни Нарборо близ Лейчестера нашли тело пятнадцатилетней школьницы Линды Манн. Девушку изнасиловали и убили. По прошествии трех лет преступление так и не было раскрыто. Затем эпизод повторился: в субботу в августе 1986 года на Тен-Паунд Лейн, другой тропе в Нарборо, нашли тело еще одной пятнадцатилетней девушки – Доны Эшуорт. Полиция не сомневалась, что оба убийства – дело рук одного и того же человека, и вскоре в них обвинили семнадцатилетнего кухонного рабочего. Однако подозреваемый, сознавшись в убийстве Доны Эшуорт, отрицал причастность к более раннему делу. Поэтому полиция обратилась к Джеффрису, чтобы тот помог доказать, что подозреваемый убил обеих девушек.



Первое применение ДНК-фингерпринтинга: рентгеновская пленка, используемая Алеком Джеффрисом для определения истинного

происхождения Эндрю Сарбаха

Джеффрис выполнил генетическую дактилоскопию и сообщил властям две новости: хорошую и плохую. Сравнение образцов от двух жертв подтверждало, что оба убийства действительно совершил один и тот же человек, как и полагала полиция. К сожалению (для полицейских), анализ показал, что задержанный кухонный рабочий не убивал ни одну из жертв, этот результат подтвердили и другие эксперты, к которым обратилась полиция. Уже при первом применении генетической дактилоскопии в криминалистике подозреваемый был оправдан и выпущен на свободу.

Таким образом, единственная версия следствия не подтвердилась, а среди местных жителей тем временем нарастало беспокойство. Тогда полиция предприняла экстраординарный шаг. Не сомневаясь в том, что генетическая дактилоскопия не подведет, власти постановили взять образцы ДНК у всех взрослых мужчин из Нарборо и окрестностей. Развернули множество пунктов для сбора анализов крови и смогли отместить абсолютное большинство «кандидатов» при помощи традиционного (более дешевого) анализа на совместимость групп крови. Оставшиеся образцы отправили на генетическую дактилоскопию. Естественно, в хорошем голливудском сценарии по этой истории Джеффрис должен был найти настоящего убийцу. Так и произошло, но впереди ждал еще один крутой поворот сюжета, также достойный Фабрики грез. Оказалось, что преступник изначально ускользнул из генетической ловушки. Колин Пичфорт, узнав об обязательном анализе, под предлогом того, что страшно боится иголок, уговорил друга сдать анализ за него. Лишь впоследствии, когда этот друг случайно проболтался, Пичфорка задержали и он снискал сомнительную славу первого преступника, взятого по результатам генетической дактилоскопии.

Случай в Нарборо продемонстрировал правоохранительным органам всего мира, что за генетической дактилоскопией будущее уголовной криминалистики. Очень скоро доказательства такого рода были впервые применены и в американской судебной практике.

Вероятно, британская юридическая культура такова, что англичане больше доверяют властям и всему тому, что власти предпринимают для раскрытия преступлений, либо молекулярный шахер-махер оказался слишком мудреным для американцев, но был воспринят в штыки; вполне обоснованно, если учесть, что результаты первых опытов генетической дактилоскопии в США получились крайне противоречивыми.

Юриспруденция всегда с трудом воспринимала следствия (да и сам феномен) научных фактов. Даже самым интеллектуальным адвокатам, судьям и присяжным на первых порах это удавалось с трудом. В одной из первых известных криминальных судебных кинодрам анализ группы крови однозначно показывает, что персонаж, роль которого исполнил Чарли Чаплин, не может быть отцом ребенка. Из субтитров мы видим, что по сюжету мать ребенка подала иск об установлении отцовства. Итак, все говорит против отцовства Чарли Чаплина, тем не менее по сюжету фильма присяжные вынесли вердикт в пользу матери.

Для проверки приемлемости научных доказательств в американских судах в порядке стандартной практики применялся тест Фрайе. Этот законодательный акт был сформулирован на основе одного из первых процессов, где применялись криминалистические доказательства, и призван отменить ненадежные факты; в регламенте было указано, что научная основа таких криминалистических доказательств «должна быть официально признана научной общественностью в соответствующей дисциплине». Однако понятие «официально признана научной общественностью» весьма условно конкретизировано, поэтому тест оказался ненадежен при оценке «экспертных» заключений. Такая ситуация сохранялась вплоть до 1993 года, когда состоялся процесс *«Добер против Меррелл Доу Фармасьютикалз»*; в ходе этого процесса Верховный суд постановил, что должны применяться Федеральные правила о доказательствах; судья должен определять, надежны ли предоставленные доказательства, то есть можно ли считать их достоверными с научной точки зрения.



Колин Пичфорк – английский пекарь, в 1988 году обвиненный в убийстве двух девушек-подростков в британском Лейчестере. Процесс Пичфорка стал первым уголовным делом, в котором убийцу удалось выявить при помощи генетической дактилоскопии

Сегодня, когда первоклассный криминалистический анализ стал неотъемлемым элементом сюжета таких телесериалов, как «С.С.И.: Место преступления» и «Закон и порядок», порой уже сложно представить себе, с каким трудом американская юридическая система поначалу принимала генетические доказательства. Хотя с 1953 года, после нашего знакового открытия, ДНК уже была у всех на слуху, ее все равно окружал некий непроницаемый ореол научности. Действительно, генетическая наука того времени была достаточно загадочной, чему немало способствовали громогласные вести о каждом очередном ее прорыве, появлявшиеся в популярных средствах массовой информации. И хуже всего было то, что все обвинения, подкрепленные анализом ДНК, подавались не как неопровержимый факт, а как некоторая вероятность. Причем какая вероятность! Когда мы оперируем такими цифрами, как «1 из 50 миллиардов», рассуждая о виновности или невиновности подсудимого, следует ли удивляться, что многие готовы усомниться в компетентности адвокатов, судей, присяжных и дорогих судебных разбирательств, если дело вполне может разрешить генетик, располагающий научным авторитетом.

Как бы там ни было, большинство судебных процессов не сводятся к

простому сопоставлению двух образцов ДНК. Тем временем новые методы приживались хоть и медленно, но неотвратно. В некотором смысле теоретической и практической популяризации этих методов способствовали сами адвокаты, делавшие себе имя на тех самых делах, исход которых решался в зависимости от анализа ДНК. Подкованные юристы (в частности, Барри Шек и Питер Нойфельд) поднаторели в генетике не хуже экспертов, занимаясь перекрестной проверкой результатов, которые те получали. Шек (приземистый, неряшливого вида и весьма боевитый) и Нойфельд (высокий, аккуратный и тоже боевитый) приобрели известность, когда стали выискивать технические недоработки в делах, рассматривавшихся на заре применения генетической дактилоскопии. Они впервые встретились в 1977 году в Обществе юридической помощи в Бронксе – районном правозащитном центре для работы с малоимущими гражданами. Шек вырос в Нью-Йорке, в семье успешного импресарио, работавшего с такими звездами, как Конни Френсис. Шек обрел свое политическое призвание, когда, будучи студентом Йеля, участвовал в общенациональной студенческой забастовке, последовавшей в 1970 году за расстрелом в Кентском университете. Решительно не доверяя властям и осуждая злоупотребление полномочиями, он вызвался поучаствовать в защите Бобби Сила в ходе нью-хейвенского процесса над «Черными Пантерами». Нойфельд вырос на Лонг-Айленде, в пригороде Нью-Йорка, неподалеку от лаборатории Колд-Спринг-Харбор. Он не меньше товарища увлекался левацкими идеями, а в одиннадцатом классе получил выговор за организацию антивоенных протестов.

Следовало ли удивляться, что двое молодых прирожденных социальных активистов стали адвокатами, с фанатизмом вставшими на баррикады юридических услуг в Нью-Йорке именно в то время, когда город переживал лихие времена, уровень преступности постоянно рос и многим казалось, что идеал «правосудие для всех» пошатнулся ради стремления к всеобщей безопасности. Десять лет спустя Шек занял пост профессора в юридической школе Кардозо, а Нойфельд занялся частной юридической практикой.

Я познакомился с Шеком и Нойфельдом на конференции по генетической дактилоскопии, ставшей исторической, состоявшейся в лаборатории Колд-Спринг-Харбор. Споры бушевали отчасти потому, что криминалистическая технология применялась все шире, хотя все еще реализовывалась оригинальным (и довольно грубым) методом Джеффриса; в качестве названия этого таинственного анализа именовалась аббревиатура RFLP (*Restriction fragment length polymorphism*), в переводе –

полиморфизм по длине рестрикционных фрагментов ДНК. Естественно, некоторые результаты плохо поддавались интерпретации, поэтому генетическую дактилоскопию критиковали как с научных, так и с юридических позиций. На той конференции в Колд-Спринг-Харборе специалисты по молекулярной генетике, в том числе Джеффрис, фактически впервые оказались лицом к лицу с криминалистами и адвокатами, оперировавшими результатами анализов ДНК в зале суда. Дискуссия кипела. Молекулярные биологии обвиняли криминалистов в небрежном подходе к лабораторной работе (попросту в том, что те недостаточно тщательно проводят анализы). Действительно, в те времена генетическая дактилоскопия в криминалистических лабораториях практически никак не регламентировалась и не инспектировалась. Не менее сомнительными казались и статистические погрешности, которые были нестандартизированы и применялись для расчета чисел различных порядков, подразумевавших что независимо от данных результаты анализов будут практически однозначны. Генетик Эрик Ландер выразил мнение целой плеяды озабоченных участников конференции, когда чистосердечно заявил: «Внедрение [генетической дактилоскопии] было слишком поспешным».

Практические проблемы, с которыми сталкивались криминалисты, оказались довольно типичными, в том числе для дела, которым Шек и Нойфельд занимались в Нью-Йорке. Джозефа Кастро обвинили в убийстве беременной женщины и ее двухлетней дочери. RFLP-анализ, выполненный частной компанией *Lifecodes*, показал, что биоматериал с пятен крови на наручных часах Кастро принадлежит убитой. Однако в ходе предварительных слушаний, которые состоялись после длительной проверки данных ДНК, обвинение и защита совместно уведомили судью, что, на их взгляд, анализ ДНК был выполнен некомпетентно. Судья забраковал улики, связанные с ДНК, как неприемлемые. Дело так и не дошло до суда, поскольку в конце 1989 года Кастро сам признался в этих убийствах.

Несмотря на отбраковку улик, связанных с ДНК, дело Кастро позволило сформулировать юридические стандарты генетической криминалистики. Именно эти стандарты были использованы в гораздо более известном деле, за которое взялись Шек и Нойфельд. Как раз после этого дела термин «генетическая дактилоскопия» стал в США общеупотребительным, по крайней мере в тех частях страны, где были телевизоры. Я имею в виду суд над О. Джеем Симпсоном, состоявшийся в 1994 году. Бывший спортивный кумир рисковал получить смертный

приговор, если будет доказана его вина в преступлении, вменяемом ему окружным прокурором Лос-Анджелеса. Симпсона обвиняли в зверском убийстве бывшей жены, Николь Браун Симпсон, и ее любовника Рональда Голдмана. Обвиняемый собрал на своей стороне настоящую юридическую «команду мечты», в состав которой вошли, в частности, Шек и Нойфельд; именно они внесли решающий вклад в защиту и оправдание Симпсона. Судмедэксперты собрали образцы крови с места преступления в доме Николь Браун Симпсон, а также улики в доме Симпсона, взяли биоматериал с печально известных перчатки и носка, а также с не менее печально известного белого «Форда Бронко», принадлежавшего Симпсону. Улики, по которым исследовали ДНК, всего сорок пять образцов крови, по мнению стороны обвинения, железобетонно доказывали вину Симпсона. Но на стороне Симпсона выступали самые искусные камнеломы, каких только можно купить за деньги. Защита выдвигала контраргументы один за другим, и, поскольку процесс транслировался по телевидению на весь мир, на экране в полной мере проявились некоторые ключевые противоречия, годами маячившие в криминалистике.

За десять лет до дела Симпсона, когда обвинение только начинало прибегать к доказательствам на основе анализа ДНК и лишь прокурор мог затребовать применение генетических технологий, адвокаты быстро парировали любые нападки обвинения. Вопросы адвокатов выглядели приблизительно так: по каким стандартам определяется совпадение между образцом ДНК, найденным на месте преступления, и образцом, взятым у подозреваемого при анализе крови? Такие вопросы оставались спорными до тех пор, пока технология еще основывалась на методе RFLP. При его применении «отпечаток» ДНК представляет собой последовательность полосок на рентгеновской пленке. Если полосы, получающиеся при анализе ДНК с места преступления, не идентичны с рисунком из ДНК подозреваемого, то какой процент различий можно считать допустимой погрешностью, превышение которой дает основание для признания двух образцов несовпадающими? В иначе сформулированном виде вопрос выглядел так: что такое «одинаковые» образцы? Также оспаривалась техническая компетентность специалистов, проводивших исследование. Дело в том, что изначально, когда генетическая дактилоскопия выполнялась в криминалистических лабораториях, сотрудники которых не обладали бесспорным опытом в анализе ДНК и обращении с ней, то и дело случались критические ошибки. Правоохранительные структуры понимали: для того чтобы сохранить в арсенале это новое мощное орудие, необходимо снять возникающие вопросы. На смену методу RFLP пришел

новый аналитический метод, связанный с исследованием маркеров под названием «короткие tandemные повторы» (*short tandem repeat, STR*). Размер таких STR-маркеров можно измерить гораздо точнее, избавившись от субъективного сравнения RFLP-полос на рентгеновской пленке. Криминалистическое сообщество действительно испытывало затруднения, связанные с разной технической компетентностью специалистов, – было необходимо выработать единую регламентацию для процедур генетической дактилоскопии, систему ее аккредитации.

Однако наиболее яростно адвокаты обрушивались на числовые показатели. Тогда как прокурор выдвигал доказательства, связанные с ДНК, в терминах бесстрастной и, казалось бы, неопровержимой статистики, адвокат иногда давал ему отпор, указывая на тенденциозные допущения, возникавшие при вычислении погрешностей из разряда «одно совпадение на миллиард». Располагая фингерпринтом ДНК с места преступления, чем можно руководствоваться при расчете вероятности (или, скорее, невероятности) того, может ли эта ДНК принадлежать кому-либо, кроме главного подозреваемого? Следует ли сравнить эту ДНК с образцами из случайной выборки, взятой у других индивидов? Например, если главный подозреваемый – европеоид, то следует ли сравнивать его ДНК лишь с ДНК европеоидов, учитывая что генетическое сходство обычно выше среди представителей одной расы, нежели в случайной выборке индивидов? Но мы-то с вами знаем, что так бывает далеко не всегда. Шансы будут варьировать в зависимости от того, какие допущения покажутся вам разумными.

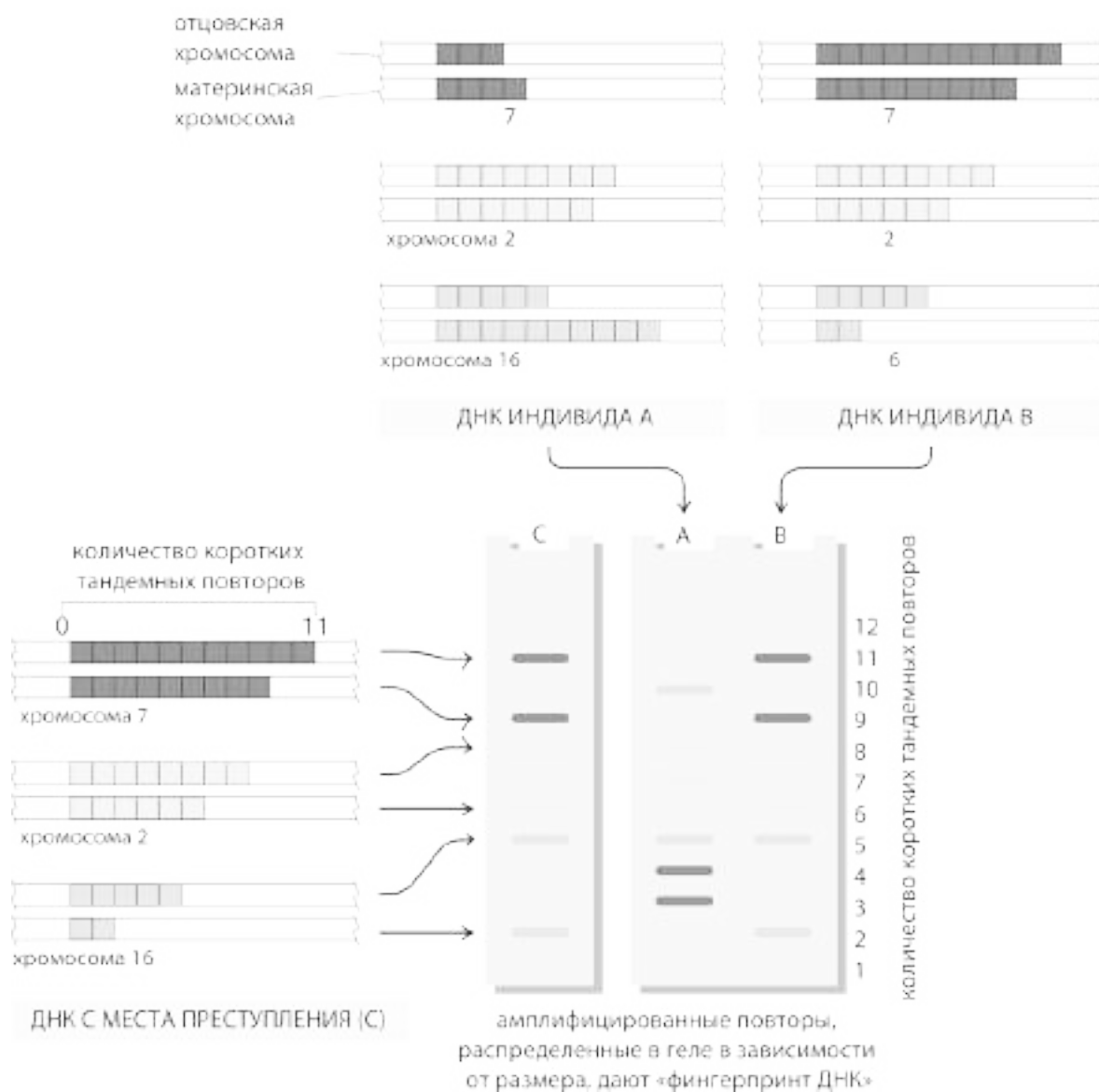
Попытки отстаивания выводов, основанных на малопонятных принципах популяционной генетики, могут дать обратный эффект, например запутать присяжных или усыпить их внимание. Зрелище, как некто из всех сил пытается натянуть перчатку, которая ему попросту не подходит, может говорить больше (по собственному опыту о гораздо большем), чем целая гора статистических данных.

Результаты генетической дактилоскопии, представленные на процессе Симпсона, были фактически не в пользу обвиняемого. Капля крови, взятая с тела Николь Браун Симпсон, а также другие капли крови, найденные на дорожке рядом с местом преступления, практически наверняка принадлежали О. Джею Симпсону. Не менее бесспорно удалось установить, что на перчатке, найденной дома у Симпсона, присутствует кровь самого Симпсона и обеих жертв. Кровь, найденная на носках и в салоне «Бронко», также совпадала с образцами крови Симпсона и его бывшей жены.

Тем не менее в конце концов, с точки зрения присяжных, уголовное дело против Симпсона следовало закрыть не столько из-за невозможности объяснить таинственные тонкости популяционной генетики, сколько из-за более старой беды – обвинения в некомпетентности в адрес полиции. Молекула ДНК настолько стабильна, что ее можно извлечь из пятен спермы, которым несколько лет, либо из пятен крови, собранных с тротуара или с руля автомобиля-универсала. Однако ДНК легко распадается, особенно при высокой влажности. Как и с любыми криминалистическими уликами, достоверность доказательств с применением ДНК зависит от качества сбора, сортировки и представления оных. В уголовных делах всегда существует формальное требование – необходимость собрать «цепочку доказательств», подтверждающих, что предмет, найденный, по словам оперативников, в конкретном месте, действительно там находился, прежде чем оказался в самозакрывающемся пакете с ярлыком «основное вещественное доказательство». Отследить путь молекулярных улик несравнимо сложнее, чем путь ножа или пистолета; соскоб с тротуара визуально может быть неотличим от соскоба со стойки ворот, а извлеченные из него образцы ДНК в пластмассовых пробирках, несомненно, будут выглядеть еще более схожими между собой. Команда адвокатов Симпсона под руководством харизматичного Джонни Кокрейна-младшего смогла привести ряд доводов в пользу как минимум возможности или даже вероятности того, что образцы были перепутаны или, того хуже, загрязнены.

Например, такой вопрос возник по поводу пятна крови, найденного на задних воротах в доме Николь Браун Симпсон. Пятно каким-то образом упустили во время первичного обследования места преступления, и этот образец взяли лишь через три недели после убийства. Криминалист Деннис Фунг предъявил фотографию пятна, однако Шек представил другую фотографию, сделанную на следующий день после убийства: там пятна не было. «Где оно, мистер Фунг?» – воскликнул Шек в лучших традициях Перри Мейсона. Ответа не было. Защита смогла посеять в рядах присяжных настолько серьезные сомнения по поводу происхождения образцов ДНК и обращения с этими уликами, что в итоге все эти улики были забракованы.

КАК РАБОТАЕТ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФИНГЕРПРИНТИНГ



Генетическая дактилоскопия с применением коротких tandemных повторов. ДНК двух подозреваемых сравнивается с ДНК, найденной на месте преступления. Фингерпринт В совпадает с ДНК, найденной на месте преступления

С конца 1990-х годов анализ с использованием коротких tandemных повторов пришел на смену анализу полиморфизма по длине рестрикционных фрагментов ДНК в качестве ключевого метода генетической идентификации. Короткие tandemные повторы, где последовательности по два – четыре основания

могут встречаться по семнадцать раз, обычно амплифицируются при помощи реакции ПЦР. Например, D7S820 – участок хромосомы 7, где последовательность АГАТ может встречаться от семи до четырнадцати раз. Оказывается, ДНК-полимераза – фермент, копирующий ДНК, – плохо воспроизводит именно такие повторяющиеся фрагменты (в недостаточном количестве), поэтому на уровне копирования последовательности АГАТ в седьмой хромосоме возникает множество мутаций. Иными словами, число копий АГАТ у разных людей отличается сильной вариабельностью. Получая по две копии седьмой хромосомы (по одной от каждого из родителей), мы обычно получаем разное число АГАТ-последовательностей от каждого – скажем, восемь от отца и одиннадцать от матери. Однако это не означает, что индивид не может быть гомозиготным, то есть получить от обоих родителей равное число таких последовательностей (например, 11 и 11). Если выполнить генетическую дактилоскопию образца, найденного на месте преступления, и если он при этом совпадет с фингерпринтом участка D7S820 у подозреваемого (например, 8 и 11), то у нас есть факт в пользу совпадения, опять же только факт, а не однозначное доказательство. Поэтому необходимо проверить множество участков; чем больше найдется таких участков, где ДНК с места преступления совпадает с ДНК подозреваемого, тем авторитетнее доказательства и тем меньше вероятность, что ДНК с места преступления могла принадлежать кому-то другому. По стандартам ФБР, генетическая дактилоскопия выполняется по фингерпринтам ДНК с 12 таких участков, а также по маркеру, определяющему пол того индивида, которому эта ДНК принадлежит. В январе 2017 года ФБР увеличило число участков, исследуемых методом STR, до 20.

Как было рассказано в предыдущей главе, загрязнение образцов – одно из основных препятствий, парализующих усилия по установлению личности молекулярно-генетическими методами. Поскольку полимеразная цепная реакция позволяет получить копию ДНК даже из мельчайшего образца, взяв ее за основу, современные ученые-криминалисты амплифицируют конкретные участки ДНК. Так, на процессе Симпсона важнейшим вещественным доказательством служила частица крови, соскобленной с тротуара. Однако ДНК в достаточном количестве для ПЦР можно извлечь из клеток слюны, оставшейся на окурке. На самом деле,

ПЦР может успешно амплифицировать ДНК, даже если за основу берется всего одна молекула, поэтому при наличии даже самых незначительных следов ДНК из другого источника – например, ДНК, принадлежащей лаборанту, – образец загрязняется, и результаты анализа оказываются в лучшем случае сомнительными, а в худшем бесполезными.

Со времени дела Симпсона разрешающая способность генетической дактилоскопии значительно улучшилась. В 2015 году семья Савопулос была захвачена и убита в собственном доме в Вашингтоне, округ Колумбия, поблизости от резиденции вице-президента. Злодей поджег дом, попытавшись скрыть все отпечатки пальцев. Тем не менее образец ДНК удалось взять с выброшенной корочки от пиццы «Domino», которую доставили в дом во время удержания заложников. Оказалось, образец совпадает с ДНК известного уголовного преступника Дэррона Винта, работавшего в семейной компании Савопулосов. Хотя на этом процессе адвокат Винта заявлял, что полиция взяла не того, поскольку его клиент не любит пиццу.

Другим способом применения генетической дактилоскопии, вдохновляющим юристов, является возможность создания компьютерного фоторобота, работающего на основе ДНК-маркеров, хотя сегодня это скорее научная фантастика, чем наука. Хизер Хьюи-Дагборг, именуемая себя «информационной художницей», серьезно заинтересовала СМИ своей выставкой *Stranger Visions*. Она начала этот проект, собирая сплюнутые жвачки и окурки в разных районах Нью-Йорка. Извлекая из них ДНК и анализируя гены, связанные с цветом волос, глаз и кожи, Дьюи-Хагборг создавала трехмерные реконструкции лиц таинственных бродяг. Несмотря на то что проект Дьюи-Хагборг скорее художественный, чем научный, в основе ее работы лежит метод под названием «криминалистическое ДНК-фенотипирование», заинтересовавший правоохранительные органы. В начале 2015 года впервые в истории полиция города Колумбия, штат Южная Каролина, выпустила компьютерный фоторобот подозреваемого по делу об убийстве, построенный не на основе свидетельских показаний, а по анализу ДНК. Фоторобот составила компания *Parabon NanoLabs* – одна из немногих, работающих в этой отрасли, финансируемая Министерством обороны США. Марк Шрайвер из Университета штата Пенсильвания отмечает: «В настоящее время мы не можем восстановить портрет по ДНК или ДНК по портрету, но, думаю, скоро это станет возможно».

Когда генетическая дактилоскопия стала все шире применяться и признаваться в качестве одного из методов идентификации личности, в правоохранительных органах задумались: а не целесообразно ли собрать

пробы ДНК у всех и каждого – как минимум у тех, кто может быть потенциальным преступником? Аргументация такова: естественно, ФБР и аналогичные структуры в других странах должны располагать централизованной базой генетических копий по аналогии с базой обычных отпечатков пальцев. Действительно, в некоторых штатах США приняты законы об обязательном сборе образцов ДНК у всех, кто обвиняется в тяжких преступлениях, например в изнасилованиях и убийствах. Так, в 1994 году в Северной Каролине был принят закон, санкционирующий взятие крови у заключенных, обвиняемых в тяжких преступлениях, при необходимости принудительно. С тех пор в некоторых штатах такая норма распространилась на всех арестованных независимо от того, признаны ли они виновными в преступлении.

В 2009 году Алонсо Кинга-младшего арестовали в штате Мэриленд за сексуальное надругательство. Фингерпринт его ДНК попал в базу ФБР и совпал с образцом, собранным в 2003 году при расследовании так и не раскрытого изнасилования. Кинга-младшего признали виновным в этом преступлении и осудили на пожизненное заключение, но он успешно обжаловал приговор, доказав, что имеет право на защиту приватности в соответствии с четвертой поправкой. Через четыре года дело *«Штат Мэриленд против Кинга»* дошло до Верховного суда. В 2013 году суд голосованием «пятеро против четырех» постановил, что полиция вправе брать анализ ДНК у человека, арестованного за серьезное преступление, – фактически точно так же, как отпечатки пальцев. «Не обольщайтесь и не радуйтесь, – предупредил судья Антонин Скалиа, объясняя, почему голосовал против в этом деле, – ваша ДНК может попасть в национальную базу данных, если вас хоть раз арестуют (заслуженно или незаслуженно) по какой бы то ни было причине».

Борцы за гражданские права активно возмутились этим решением, причем небезосновательно: ведь фингерпринт ДНК – не то же самое, что отпечатки пальцев. Он представляет собой высокоспецифичные гибридизационные полосы на электрофореграммах, полученных с помощью ДНК-фингерпринтирования, и отражает индивидуальный полиморфизм длин рестрикционных фрагментов геномной ДНК, причиной которого могут быть мутации в пределах сайта рестрикции, изменение числа повторов в ДНК. В принципе, взятый таким образом фингерпринт ДНК можно использовать далеко не только для установления личности; он может многое о человеке рассказать. Например, есть ли у меня мутации, которые могут привести к муковисцидозу, серповидноклеточной анемии либо болезни Тея – Сакса. Когда-нибудь, в недалеком будущем, можно

будет узнать, есть ли у вас генетическая предрасположенность к шизофрении, алкоголизму или к насилию и социально опасному поведению. Может ли генетическое профилирование в самом деле стать новым орудием, которое позволит правоохранительным органам работать на опережение? В 1956 году Филип Дик написал роман «Особое мнение», по которому в 2002 году был снят одноименный фильм, – и сегодня научно-фантастический сюжет этого фильма уже не так далек от реальности, как могло бы показаться.

Чем бы ни окончились нынешние споры о том, кто обязан сдавать образцы ДНК на анализ и с какими мерами предосторожности следует хранить эти образцы, факт остается фактом: пока я пишу эти строки, генетическая дактилоскопия набирает обороты. В 1990 году ФБР организовала собственную базу данных по ДНК под названием CODIS (Объединенная система индексирования ДНК). В 2002 году там насчитывалось уже более миллиона ДНК-фингерпринтов, а в 2015 году – более 10 миллионов записей. С момента основания CODIS была использована для идентификации примерно 4500 лиц, причем иным образом провести такую идентификацию было бы невозможно.

Важнейший довод в пользу ведения такой общенациональной базы данных – создание потенциала для раскрытия преступлений по «холодным следам». Допустим, следователи нашли на месте преступления образец ДНК в пятнышке крови на разбитом окне, в сперме на нижнем белье – и сделали фингерпринт. Теперь предположим, что все традиционные методы расследования не дают результата, но при вводе фингерпринта в базу CODIS в ней обнаруживается соответствие человеку, включенному в базу данных. Именно это и произошло в Сент-Луисе в 1996 году. Полиция расследовала два случая изнасилования юных девушек – преступления были совершены на противоположных концах города. Хотя исходный RFLP-анализ двух образцов спермы показал, что оба преступления совершил один и тот же мужчина, найти подозреваемого не удавалось. Три года спустя образцы были повторно проанализированы методом STR, и полученные данные сравнили с реестром CODIS. В 2000 году насильник был найден – им оказался Доминик Мур. Фингерпринт ДНК Мура попал в CODIS потому, что в 1999 году его обвиняли еще в трех изнасилованиях.

Случались еще более невероятные поздние раскрытия «по холодным следам», и некоторые преступники в ужасе осознали, что молекулярное «я обвиняю» могут предъявить даже те жертвы, которые давно похоронены. Четырнадцатилетнюю Мэрион Крофтс из Великобритании изнасиловали и убили в 1981 году, задолго до того, как стала использоваться генетическая

дактилоскопия. К счастью, некоторые вещественные доказательства с того процесса сохранились, и фингерпринт ДНК удалось сделать в 1999 году. Увы, власти и безутешную семью Крофтс постигло разочарование: оказалось, что в Британской национальной базе данных ДНК совпадений с этим образцом не найдено. Однако в апреле 2001 года за изнасилование собственной жены был арестован Тони Джасинский, и у него в обычном порядке взяли анализ ДНК. Когда образец попал в базу данных, он-то и совпал с фингерпринтом неизвестного насильника, не найденного двадцатью годами ранее.

Во многих штатах США такие преступления, как изнасилование, обычно имеют срок давности. Например, в штате Висконсин ордер на арест подозреваемого насильника может быть выдан не более чем через шесть лет с момента преступления. Хотя такой срок давности может казаться чудовищной несправедливостью по отношению к жертве. В конце концов, разве ужас от надругательства просто так исчезает спустя шесть лет? Срок в шесть лет традиционно выдерживается для обеспечения правовых гарантий. Известно, как ненадежны бывают свидетельские показания, а воспоминания со временем стираются. Поэтому срок давности был нужен для предотвращения судебных ошибок. Однако ДНК – «свидетель» совершенно другого порядка. При хранении в надлежащих условиях образцы могут оставаться неповрежденными много лет, а фингерпринты ДНК как таковые ничуть не становятся менее весомыми как доказательства обвинения спустя десятилетия.

В 1997 году в криминалистической лаборатории штата Висконсин был создан реестр фингерпринтов ДНК, и в том же году в полицейском управлении города Милуоки начался пересмотр всех нераскрытых случаев изнасилования, по которым сохранились вещественные доказательства, доступные для сопоставления с базой данных. Обнаружилось пятьдесят три таких дела, и через полгода фингерпринты ДНК позволили найти по холодным следам восьмерых уголовников, уже отбывавших сроки за другие преступления. В одном из случаев идентификация настолько затянулась, что ордер на арест прокурору удалось выдать всего за восемь часов до истечения срока давности.

Занимаясь расследованием этих практически уже «висяков», Управление полиции штата вышло на серийного насильника. Несмотря на то что рассматривались три отдельных случая и три отдельных образца спермы, ДНК-фингерпринты всех трех образцов указывали на одного и того же человека. Истекал срок давности, и Норм Ган, ассистент окружного прокурора, оказался перед дилеммой. Времени на поиск насильника по

базе данных не хватало, но он не мог выписать ордер на арест, не зная имени подозреваемого. Ган пошел на хитрость. Согласно уголовному кодексу штата Висконсин, в случаях когда имя подозреваемого неизвестно, законный ордер может быть выдан «на основе любого описания, по которому подлежащее аресту лицо может быть идентифицировано с должной степенью надежности». Естественно, заключил Ган, любой суд примет фингерпринт ДНК в качестве идентификатора, соответствующего такому стандарту. Он выдал ордер с формулировкой «Штат Висконсин против Джона Доу, чей профиль дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) совпадает с генетическим профилем подозреваемого на участках D1S7, D2S44, D5S110, D10S28 и D17S79». Однако, несмотря на изобретательность Гана, этого «Джона Доу» до сих пор не поймали.

Тем временем первый судебный иск о выдаче ордера на арест Джона Доу по его ДНК был составлен в Сакраменто, где мужчину, условно названного «Насильник из эпизода два», обвинили в совершении трех изнасилований за несколько лет. Местный прокурор Энн Мэри Шуберт последовала примеру Гана и выписала ордер на арест Джона Доу по его ДНК всего за три месяца до истечения срока давности. Однако ей надлежало выполнить требования, касавшиеся ее собственной юрисдикции; в частности, по калифорнийскому законодательству необходимо, чтобы ордер идентифицировал подозреваемого «с достаточной конкретизацией», поэтому она сформулировала: «неизвестный мужчина... чей генетический профиль считается уникальным и может встречаться в европеоидной популяции с частотой примерно 1 к 21 секстиллиону, в афроамериканской популяции – с частотой примерно 1 к 650 квадриллионам, в латиноамериканской популяции – с частотой примерно 1 к 420 секстиллионам». Вскоре после того как ордер был выдан и фингерпринт ДНК Джона Доу попал в базу данных штата, оказалось, что он совпадает с профилем Пола Юджина Робинсона, арестованного в 1998 году за нарушение условий досрочного освобождения. В ордере формулировку «Джон Доу» заменили на «Пол Юджин Робинсон» и на его STR-маркеры, после чего Робинсона оперативно арестовали. Адвокат заявил, что первый ордер недействителен, поскольку имя Робинсона в нем не значится. К счастью, судья подтвердил законность ордера, отметив, что «ДНК, по-видимому, – наилучший идентификатор личности, имеющийся у нас в распоряжении».

Учитывая, какой общественный резонанс вызвали такие успешные ордера на арест Джона Доу по ДНК, во многих штатах было откорректировано законодательство, касающееся изнасилований, и

предусмотрены исключения в случаях, когда среди вещественных доказательств есть образцы ДНК.

Сегодня генетическая дактилоскопия позволяет достать истину даже с того света. В 1973 году в Южном Уэльсе были изнасилованы и убиты девочки-подростки Сандра Ньютон, Паулина Флloyd и Джеральдина Хьюз. Спустя двадцать пять лет фингерпринты ДНК удалось составить на основе вещественных доказательств, собранных на месте преступления, но, к сожалению, в Национальной базе данных ДНК совпадений не нашлось. Поэтому ученые-криминалисты стали искать не точное совпадение, а тех, чья ДНК показала бы возможное родство с убийцей. Таким образом удалось найти сотню человек, и полиция получила массу новых улик, в свете которых можно было пересмотреть массив информации, собранной при исходном расследовании. Совместив ультрасовременный криминалистический анализ ДНК и старые, проверенные методы сыщиков, оперативники вышли на единственного подозреваемого – Джо Каппена. Правда, загвоздка заключалась в том, что мистер Каппен умер от рака в 1989 году – и что делать в такой ситуации?

В 2002 году останки Каппена эксгумировали из семейного захоронения в Порт-Талботе и выполнили генетическую дактилоскопию. Действительно, фингерпринты совпали со взятыми на месте трех изнасилований. Возможно, рак стал возмездием, настигшим преступника, которому удалось ускользнуть от правосудия; по крайней мере, семьи девочек наконец-то получили слабое утешение, узнав имя злодея.

Генетическая дактилоскопия помогла разобраться и с останками, более таинственными, чем тело Джо Каппена. Речь идет об ужасной истории расстрела Романовых, российской царской семьи.

В июле 1991 года небольшая группа поисковиков, экспертов-криминалистов и милиционеров прибыла на грязную, пропитанную водой прогалину близ поселка Коптяки. Здесь в июле 1918 года поспешно захоронили одиннадцать тел. Это были останки царя Николая II, царицы Александры, их сына цесаревича Алексея и четырех дочерей – Ольги, Татьяны, Марии и Анастасии, а также четверых самых верных слуг. Все они были зверски убиты несколькими днями ранее; на расстреле Анастасия так и не выпустила из рук любимую собаку породы кинг-чарльз-спаниель, рухнув под градом пуль. Сначала убийцы сбросили тела в шахту, но, опасаясь раскрытия этого злодеяния, на следующий день извлекли их оттуда и захоронили в яме на той самой лесной прогалине.

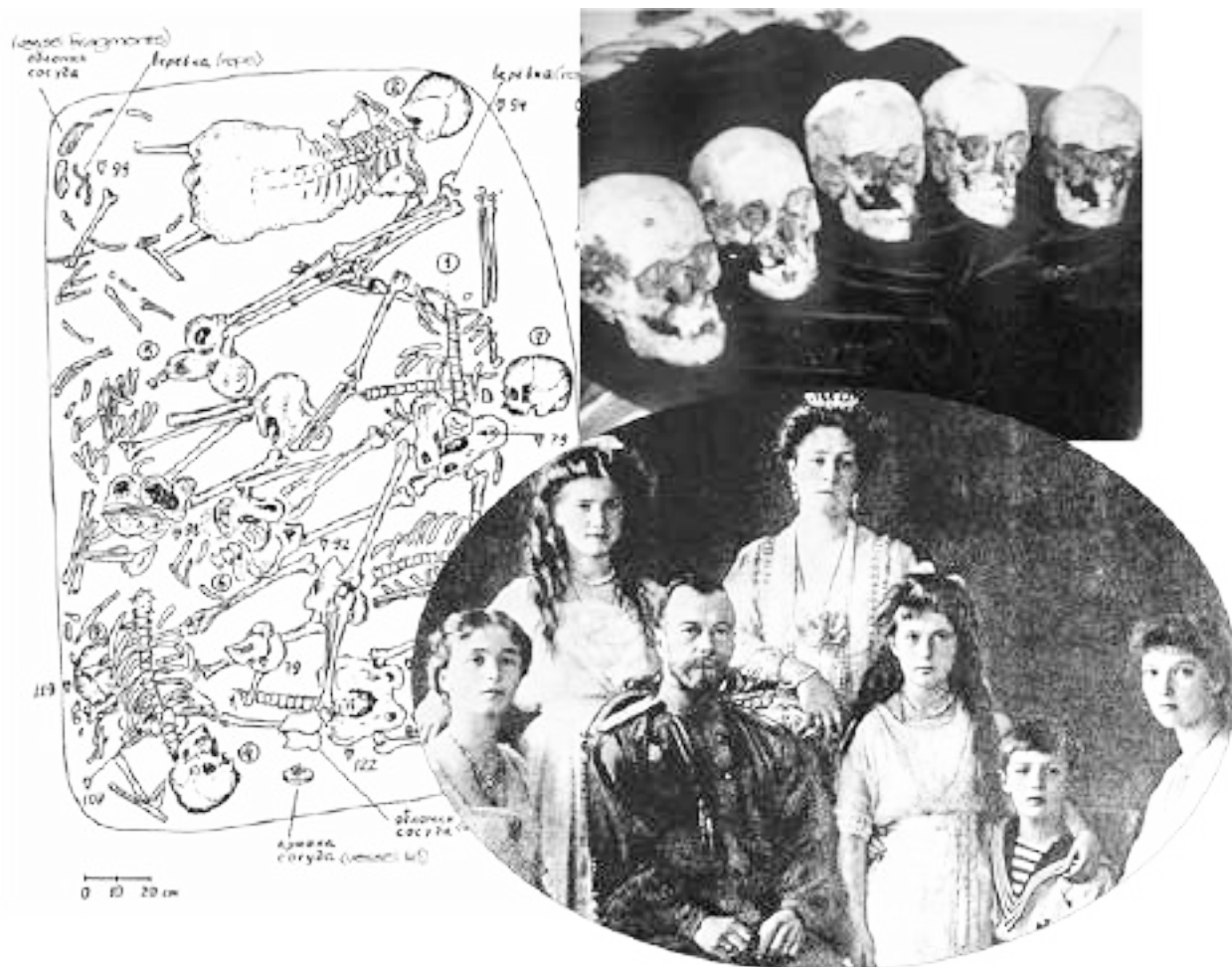
Общая могила была обнаружена в 1979 году благодаря поискам Александра Николаевича Авдонины, советского геолога, интерес которого к

судьбе царской семьи граничил с одержимостью. Вместе с ним работал режиссер Гелий Трофимович Рябов, заслуживший официальное право снять документальную ленту о русской революции и получивший доступ к соответствующим секретным архивам. Фактически Авдонин и Рябов обнаружили место захоронения благодаря рапорту, составленному главным исполнителем расстрела своему начальству. В захоронении они нашли три черепа и много костей. Поскольку длань Коммунистической партии в те годы была тяжела как никогда, оба поисковика здраво рассудили, что лишь осложнят себе жизнь, если привлекут внимание к расправе большевиков над царской семьей. Они перезахоронили останки.

После потепления политического климата в стране, кульминацией которого стал распад Советского Союза, Авдонин и Рябов наконец получили долгожданную возможность, и на лесной прогалине снова замахали лопатами.

Эксгумированные останки – всего около сотни фрагментов черепов и костей – были доставлены за 1800 километров в московский морг, где началась сложнейшая работа по идентификации скелетов. И сразу же было сделано поразительное открытие. Убийцы зафиксировали, что расстреляли одиннадцать человек – шесть женщин и пятерых мужчин, но в могиле обнаружили кости всего девяти тел – пяти женских и четырех мужских. Стало ясно, что не хватает тел Алексея (на момент смерти ему было четырнадцать) и Анастасии (ей было семнадцать).

Такие результаты идентификации восприняли с некоторым скептицизмом, в особенности потому, что результаты не сходились у российских и американских ученых, вызвавшихся им помочь. В сентябре 1992 года доктор Павел Иванов привез девять костных образцов в лабораторию Питера Джилла, работавшего в Британской криминалистической службе. Джилл и его коллега Дэвид Уэрретт были соавторами той самой первой статьи, которую опубликовал Алек Джеффрис, основавший свою научную дисциплину. С тех пор их Криминалистическая служба стала флагманской британской лабораторией, где занимались генетической дактилоскопией.



Романовы и их генетически подтвержденные останки

Джилл разработал метод генетической дактилоскопии с применением митохондриальной ДНК (мтДНК), которая (как было рассказано в главе о неандертальской мтДНК) особенно удобна в случаях, когда добыть нужное количество ДНК затруднительно: ее гораздо больше, чем хромосомной ДНК, содержащейся в ядре.

Первым делом Джиллу и Иванову предстояло заняться весьма тонкой работой: извлечь из костных образцов и ядерную, и митохондриальную ДНК. Анализ показал, что пять тел принадлежат родственникам, причем три – сестрам. Однако на самом ли деле это кости Романовых? Как минимум в случае императрицы Александры можно было ответить на этот вопрос, сравнив фингерпринт (предположительно) ее мтДНК с фингерпринтом ее внучатого племянника принца Филипа, герцога Эдинбургского. Фингерпринты совпали.

Найти родственников царя было сложнее. Тело великого князя Георгия Романова, его младшего брата, покоилось в роскошном мраморном

саркофаге; считалось, что он слишком дорогой, чтобы его вскрывать. Племянник царя отказался помогать, по-прежнему тая обиду на британские власти, отказавшиеся предоставить его семье убежище, когда разразилась революция. Было известно, что в Японии сохранился испачканный кровью носовой платок – им царь воспользовался после покушения в 1892 году, когда на него напал вооруженный мечом убийца. Джилл и Иванов раздобыли небольшую полоску ткани от этого платка, но за прошедшие годы реликвия оказалась безнадежно загрязнена ДНК других людей. Вопрос решился много позже, когда наконец удалось найти двух дальних родственников царя; тогда и подтвердилось, что фингерпринт мтДНК действительно принадлежит Николаю II.

На этом сюрпризы не закончились. Анализ показал, что последовательности мтДНК предполагаемого царя и его ныне живущих родственников схожи, но не идентичны. Так, на позиции 16 169, где у царя был цитозин, у двух родственников оказался тимин. Дальнейшие проверки лишь осложнили дело. В митохондриальной ДНК царя обнаружилась смесь молекул двух типов – и с цитозином, и с тиминем на этой позиции. Такое необычное свойство именуется гетероплазмией; речь о том, что у конкретного индивида может быть более одного типа митохондриальной ДНК.

Еще через несколько лет удалось успокоить всех, кроме самых убежденных сторонников теории заговора. Российское правительство наконец договорилось о вскрытии саркофага Георгия Романова, брата царя, и Иванов получил образец его тканей. В митохондриях герцога обнаружилась точно такая же гетероплазмия, как и в костях, эксгумированных из общей могилы. Несомненно, эти кости принадлежали царю. В 1998 году, спустя 80 лет после казни Романовых, останки царя Николая II, восьми его родственников и слуг наконец упокоились в Петропавловском соборе Санкт-Петербурга.

Но как быть с легендой об Анастасии, чей скелет так и не нашли в лесной могиле? С момента казни всегда хватало самозванцев, выдававших себя за уцелевших Романовых, и самой настойчивой из них была Анна Андерсон, всю жизнь утверждавшая, что она и есть потерянная великая княжна. Впервые она заявила об этом в 1920 году и сразу стала героиней множества книг, а также фильма *«Анастасия»*. В этой ленте ее играет Ингрид Бергман, и по сюжету выясняется, что она – действительно великая княжна. После смерти Андерсон в 1984 году ее личность все еще была предметом споров, но не было никакой возможности прекратить обмен аргументами и контраргументами между ее сторонниками и критиками.

Анна Манахан (в девичестве Андерсон) была кремирована, поэтому извлечь ткани из ее останков оказалось невозможно. Но был обнаружен альтернативный источник ее ДНК: в августе 1970 года ей сделали экстренную операцию на брюшной полости в больнице Марты Джефферсон в Шарлоттсвилле, штат Виргиния. Ткани, удаленные при операции, были отправлены в патологоанатомическую лабораторию, где из них готовили препараты для дальнейшего изучения под микроскопом и где они благополучно сохранились даже спустя 24 года. После ряда судебных разбирательств (запутанных прямо в духе всей этой истории царской семьи) по поводу разрешения на доступ к этому образцу в июне 1994 года Питер Джилл отправился в Шарлоттсвилл и вернулся с крошечным сохранившимся фрагментом тела Анны Манахан.



Самозванка Анна Андерсон в 1955 году и Ингрид Бергман в главной роли в фильме «Анастасия», снятом на основе истории, рассказанной Андерсон

Результат был очевидным: Анна Андерсон никогда не состояла в родстве ни с царем Николаем II, ни с императрицей Александрой. Все последние сомнения были окончательно развеяны в 2007 году, когда

археологи-любители обнаружили фрагменты зубов и костей неподалеку от захоронения царской семьи. Анализ ДНК этих останков неопровержимо показал, что они принадлежат двум оставшимся детям Романовых: Алексею и его сестре.

Возможно, дом Виндзоров мог бы сыграть своеобразное cameo в идентификации своих российских кузенов, но недавно генетическая дактилоскопия позволила разрешить еще более давнюю историческую загадку, связанную с древней британской королевской семьей. Примечательно, что в центре этой истории – исследование останков, найденных в Лейчестере, в шаговой доступности от лаборатории сэра Алека Джеффриса.

22 августа 1485 года армии тридцатидвухлетнего короля Ричарда III и Генри Тюдора схлестнулись в Лейчестершире в битве при Босуорте. Король Ричард III Плантагенет был убит – это был последний английский король, погибший в бою, и его тело привезли в Лейчестер, где передали группе монахов-францисканцев в церковь Грейфрайрз. После того как Генрих VIII в 1538 году упразднил монастыри, все сведения о месте захоронения Ричарда III были утрачены.

Так все и оставалось в течение почти пятисот лет, пока группа генетиков, археологов, историков и других ученых из Лейчестерского университета и Общества Ричарда III не возобновила поиски. В августе 2012 года начались раскопки в районе Грейфрайрз города Лейчестер – там надеялись обнаружить бывшее аббатство. Шансы идентифицировать останки последнего короля из династии Плантагенетов казались призрачными. Однако после двух недель раскопок Джо Эпплби нашел череп с отчетливыми следами травм, полученными в бою. Там же нашелся скелет, между двумя позвонками которого застрял кусок проржавевшего железа, а позвоночник был характерно искривлен (известно, что у Ричарда III был сколиоз). Археологи так вспоминали тот исторический вечер: «Наконец на заходе солнца мы погрузили все находки в фургон, и останки короля Ричарда III покинули церковь Серых Братьев, где покоились последние 527 лет».

Несмотря на разнообразные косвенные доказательства – место находки, сколиоз, боевые рубцы, радиоуглеродная датировка, – окончательно идентифицировать останки можно было, лишь проанализировав ДНК. Работу возглавил генетик Тьюри Кинг, сделавший ставку на более многочисленную митохондриальную ДНК и на ДНК из Y-хромосомы. Сравнение образцов мтДНК из останков с мтДНК двух живущих ныне (примерно через двадцать поколений) родственников

Ричарда III, потомков его старшей сестры Анны Йоркской, показали превосходное полногеномное совпадение в одном случае и разницу всего в одно основание в другом. По мнению Кинга и коллег, общие доказательства получились «ошеломительными». Но, разгадав одну историческую тайну, лейчестерская команда совершенно случайно наткнулась на другую. Анализ Y-хромосомы ныне живущих родственников короля по мужской линии не совпал с королевским фингерпринтом, и это означало ложное отцовство где-то на протяжении двадцати поколений, что, впрочем, никого не удивило.

26 марта 2015 года останки короля Ричарда были перезахоронены со всеми подобающими почестями в Лейчестерском соборе, от скопления народа яблоку было негде упасть. В ходе этой поистине голливудской истории Бенедикт Камбербэтч, дальний родственник Ричарда III, прочитал стихи под названием «Позволь мне вырезать мое имя». Среди собравшихся была и прослезившаяся Венди Далдиг, внучатая племянница короля в семнадцатом поколении, благодаря которой и удалось проверить митохондриальную ДНК и получить столь грандиозное соответствие.



Останки неупокоенного короля Ричарда III были эксгумированы на лейчестерской парковке. Анализ ДНК завершил идентификацию последнего короля из династии Плантагенетов

Возможно, судьба русских и британских монархов напоминает сказки, далекие от обыденной жизни, но генетическая дактилоскопия обычно применяется в суровой реальности и удручающе близка каждому из нас. Одна из самых жутких задач, решаемых при помощи таких исследований, – идентификация тел после трагедий с массовой гибелью людей, например при крушении самолета. По разным причинам, и в частности для выдачи свидетельства о смерти, такие процедуры предписываются законом. При этом никогда нельзя недооценивать отчаянной эмоциональной потребности семьи погибших похоронить своих близких по-человечески. Для большинства из нас уважение к погибшим связано с необходимостью получить их останки, пусть и фрагментированные; а для решения такой задачи требуется идентифицировать личность.

В 1972 году в битве при Анлоке во Вьетнаме был сбит американский военный самолет; считалось, что его пилотировал Майкл Блэсси. Останки были вывезены с места крушения, но некачественная судебно-медицинская экспертиза, проведенная в 1978 году (анализировали группу крови и кости), показала, что это не Блэсси. Неопознанные кости были помечены как «Х-26, дело 1853» и на торжественной церемонии в присутствии президента Рейгана захоронены в могиле Неизвестного Солдата на Национальном Арлингтонском кладбище. В 1994 году в новостях канала Си-Би-Эс выступил Тед Сэмпли из «Вестника ветеранов Вьетнама», заявивший, что Х-26 – это Блэсси. Когда в результате расследования, проведенного Си-Би-Эс, обнаружились доказательства, подтверждающие слова Сэмпли, семья Блэсси подала петицию в Министерство обороны с просьбой о проверке. Проведенная генетическая дактилоскопия показала, что фингерпринт неизвестных костей Х-26 совпадает с фингерпринтами матери и сестры Блэсси. Через двадцать лет после смерти летчика похоронили в Сент-Луисе. Мать, стоявшая у его надгробия, смогла сказать: «Мой сын дома. Мой сын наконец-то дома».

С тех пор Министерство обороны успело организовать «Хранилище образцов биологического материала для идентификации останков». У всех новобранцев берут анализ крови, из которой извлекаются образцы ДНК – это касается как солдат срочной службы, так и резервистов. По состоянию на март 2001 года в хранилище содержалось более трех миллионов образцов.

В сентябре 2001 года я как раз направлялся на работу, когда услышал, что самолет протаранил одну из башен Всемирного торгового центра. Как и многие другие, я поначалу предположил, что это авиакатастрофа – все

прочее казалось невообразимым. Но почти сразу, когда другой самолет врезался во вторую башню, стало понятно, что это преступление самого чудовищного рода, направленное против тысяч ни в чем не повинных людей. Вероятно, никому, кто смотрел в тот день телевизор, не забыть людей, свешивающихся из окон высоко в башнях либо падающих и разбивающихся насмерть. Эта трагедия не обошла и наш кампус в Колд-Спринг-Харборе, живший своей размеренной жизнью в сорока милях от Манхэттена: двое наших сотрудников в тот день лишились сыновей.

В окончательном списке жертв значится 2753 человека – это удивительно мало, учитывая, что в момент теракта в башнях находилось примерно 50 тысяч человек. Тем не менее при такой колоссальной трагедии и разрушениях не стоит ожидать, что найдутся неповрежденные тела, а тем более – выжившие. Так поиск уцелевших со всей трагической неизбежностью превратился в поиск останков; миллионы тонн искореженной стали, бетона, превратившегося в пыль, и бесчисленные осколки стекла просеивались в поисках любого человеческого фрагмента, который мог бы там обнаружиться. Было найдено около 20 тысяч фрагментов; их поместили в трейлеры-рефрижераторы, выстроившиеся рядом со зданием судмедэкспертизы. В ходе этой титанической криминалистической работы многих погибших удалось идентифицировать по слепкам с зубов и по обычным отпечаткам пальцев. Однако, после того как удалось разобраться со сравнительно простыми случаями, вся оставшаяся сложная идентификация выполнялась при помощи анализов ДНК. Генетической дактилоскопией после трагедии занялись *Myriad Genetics* из Солт-Лейк-Сити и *Celera Genomics* – обе компании обладали большим опытом крупномасштабных анализов ДНК. Также использовалась база данных, разработанная софтверной фирмой *Gene Codes* из Мичигана. Тем не менее даже с применением новейших технологий процесс опознания получился долгим и мучительным.

В марте 2015 года семье Мэтью Ярнелла, банковского клерка, работавшего на девяносто седьмом этаже Южной башни, сообщили, что его останки наконец-то удалось идентифицировать. Однако останки более 1100 жертв до сих пор не опознаны.

Человеку свойственно интересоваться собственными предками: кто они и откуда пришли. США – это нация, сформировавшаяся из многих поколений иммигрантов, поэтому у американцев такая информационная тяга особенно сильна. В последние годы генеалогический ажиотаж подогревается в интернете, который также позволяет условно оценивать популярность того или иного феномена. Так, *Google* выдает по поисковому

запросу «генеалогия» более миллиона соответствий. ДНК позволяет сравнивать генетические отпечатки индивидов и тем самым позволяет проводить прицельные генеалогические расследования; так, один из подобных проектов позволил Джиллу и Иванову уточнить, была ли Анна Андерсон родственницей Романовых (нет, не была). Но генеалогию можно выяснять и в более широком контексте, находить связи, сравнивая ДНК-отпечаток индивида и целых популяций.

Брайан Сайкс из Оксфорда погрузился в собственную историю, проанализировав свою ДНК. Зная, что и фамилия, и Y-хромосома передаются по мужской линии, он предположил, что у всех мужчин-однофамильцев также должна быть одна и та же Y-хромосома – та, что принадлежала самому первому мужчине, носившему эту фамилию. Разумеется, такая связь между Y-хромосомой и фамилией разрывается, если имя дается произвольно, если мужчина по какой-либо причине меняет фамилию, а также (что бывает со многими мальчиками) если мальчик берет фамилию не биологического отца, а другого человека. Например, если мать тайно забеременела от молочника, то ее сын, с большой долей вероятности, будет носить ту же фамилию, что и ее муж.

Профессор Сайкс связался с 269 своими однофамильцами и смог добыть сорок восемь образцов для анализа. Оказалось, что 50 % их Y-хромосом действительно идентичны его «сайксовской» хромосоме, в остальных нашлись признаки адюльтера со стороны одной или более миссис Сайкс. Поскольку происхождение этой фамилии задокументировано и ее историю можно проследить как минимум на семь веков, есть возможность вычислить «коэффициент неверности» на каждое поколение. В среднем получается совершенно благопристойный 1 % на поколение – это означает, что 99 % сайксовских жен в каждом поколении успешно противостояли соблазну прелюбодеяния.

Когда Сайкс основал собственную компанию *Oxford Ancestors*, оказывающую услуги по генетической дактилоскопии, среди его клиентов оказалось Генеалогическое общество Джона Клофа, члены которого прослеживают свою генеалогию вплоть до британца с такой фамилией, иммигрировавшего в Массачусетс в 1635 году. Общество даже выяснило, что его предок по имени Ричард (из валлийской линии) был произведен в рыцари за свои подвиги в Святой Земле, совершенные во время крестового похода. Однако им не хватало исторических доказательств, которые позволили бы связать их семьи с однофамильцами по ту сторону Атлантики. Компания Сайкса проанализировала Y-хромосому массачусетских Клофов, а также генеалогию от прямого предка по мужской

линии сэра Ричарда. Две линии действительно оказались идентичны – факт в пользу массачусетской ветви. Тем не менее не у всех американских Клофов нашелся повод для радости. Выяснилось, что члены общества из Алабамы и Северной Каролины не родственники не только сэру Ричарду, но и массачусетским Клофам.

Сегодня сайты современных компаний, занимающихся персонализированной генетической генеалогией, таких как *23andMe* и *Ancestry.com*, изобилуют примечательными историями о том, как люди находят своих давно потерянных родственников: братьев и сестер, родителей, кузенов и детей. *Ancestry.com* предлагает услугу, позволяющую восстановить родословную клиента вплоть до 1700-х годов просто по образцу ДНК.

В типичном американском дневном ток-шоу с такими ведущими, как Мори Пович или Джерри Спрингер, часто выступают нервного вида молодые женщины и мужчины. Ведущий открывает конверт, многозначительно смотрит на пару, а потом зачитывает карточку. Женщина закрывает лицо руками и начинает истерически рыдать, а мужчина просто подпрыгивает от восторга и триумфально вскидывает кулаки. Либо женщина начинает прыгать, победоносно указывая на мужчину, а тот сидит, ссутулившись, в своем кресле. В обоих случаях вашему вниманию предлагается еще более экзотический вариант применения генетической дактилоскопии – исключительно развлекательное.

Да, возможно, все дневные шоу постановочные, но анализ отцовства – серьезное дело с давними традициями. Со времен зарождения человечества жизнь каждого, его социальное, психологическое и юридическое бытие во многом зависели от того, кто его отец. Поэтому, естественно, под анализ отцовства стали подводить научную основу с тех самых пор, как начали развиваться генетические методы идентификации личности. До появления молекулярной генетики наиболее авторитетным маркером отцовства с научной точки зрения была кровь. Принципы наследования были хорошо изучены и вполне понятны, но с учетом того, что групп крови всего раз, два и обчелся, разрешающая способность такого метода была невелика. На практике анализ крови более или менее успешно выявлял случаи ложного обвинения в отцовстве, но не позволял узнать, кто же настоящий отец. Если наши с вами группы крови несовместимы, то я точно не ваш отец, а если совместимы – то это еще не доказывает, что я ваш отец; то же касается всех остальных мужчин, у которых, как и у меня, первая группа крови. При использовании других маркеров наряду с известной классификацией по группам крови (ABO) разрешающая способность подобного метода

повышается, но по статистическим меркам он все равно не может тягаться со STR-типированием; генетическая дактилоскопия по методу STR достаточно легко позволяет дать положительный анализ отцовства.

Технология генотипирования развивается так быстро, что компании, в которых можно заказать анализ отцовства по почте, буквально процветают. На улицах некоторых городов встречаются гигантские билборды с рекламой местной службы таких анализов с совершенно беззастенчивым слоганом: «А папа кто?» Вы платите, и такая компания присылает вам набор для анализа ДНК, в котором есть тампон для взятия клеточного образца изо рта. По почте отправляете клеточный материал в лабораторию, и там из него извлекают ДНК. Фингерпринт ребенка сравнивается с материнским; любые STR-повторы, имеющиеся у ребенка и отсутствующие у матери, определенно получены от отца, кем бы он ни был. Если в фингерпринте предполагаемого отца ни одного из этих повторов нет, то он не отец. Если присутствуют все, то число повторов позволяет количественно выразить вероятность совпадения по так называемому индексу отцовства (PI). Таким образом оценивается, с какой вероятностью в этих STR-повторах могут быть и те, что получены не от отца, причем показатель варьируется в зависимости от того, насколько данный STR распространен в популяции. PI всех коротких tandemных повторов перемножаются и дают общий индекс отцовства.

Разумеется, большинство анализов отцовства выполняется в условиях максимальной конфиденциальности (если, конечно, вы не участник ток-шоу), но один из недавних анализов попал во все заголовки, учитывая, какой огромный исторический интерес представляет личность предполагаемого отца. Давно существовали подозрения, что Томас Джефферсон, третий президент Соединенных Штатов и основной автор Декларации независимости, был не только одним из отцов-основателей; еще он якобы имел одного или более детей от своей рабыни Салли Хемингс. Впервые такое обвинение было выдвинуто в 1802 году, спустя всего двенадцать лет после рождения ее первого сына Тома, который впоследствии взял фамилию одного из своих господ – Вудсона. Кроме того, сильным сходством с Джефферсоном отличался последний сын Хемингс, Эстон. Решить этот вопрос удалось при помощи анализа ДНК.

Who's The Daddy?

DNA Paternity Testing

BRT Laboratories, Inc.

400 W. Franklin Street

410-225-9595



А папа кто? Генетический тест на установление отцовства

У Джефферсона не было законных наследников по мужской линии, поэтому выявить маркеры его Y-хромосомы невозможно. Однако исследователи взяли образцы ДНК от мужчин, происходящих от Филда Джефферсона, приходившегося Томасу Джефферсону дядей по отцу (а значит, Y-хромосомы у них с президентом были идентичны), и сравнили их с образцами ДНК мужчин – потомков Тома и Эстона. Анализ показал четкий фингерпринт Джефферсона в Y-хромосоме, но его фингерпринт не нашли у потомков Тома Вудсона. На первый раз репутация Джефферсона устояла. Однако у потомков Эстона Хемингса сигнатура Y-хромосомы была однозначно джефферсоновской. Правда, анализ ДНК не может с бесспорной достоверностью показать, каков источник этой хромосомы. Неизвестно, на самом ли деле отцом Эстона был Томас Джефферсон либо какие-то другие мужчины из рода Джефферсонов, которые также могли иметь связь с Салли Хемингс. На самом деле определенные подозрения пали на Ишема Джефферсона, племянника президента.

Даже если нация веками тебя почитает, тебе все равно не укрыться от суровой реальности, которую открывает анализ ДНК. Не помогут ни знатность, ни любые деньги. Когда бразильская модель Лусиана Морад заявила, что отцом ее сына является Мик Джаггер, вокалист *Rolling Stones* этого не признал и потребовал сделать анализ ДНК. Возможно, Джаггер блефовал, надеясь, что угроза криминалистического завершения дела ослабит решимость сеньориты Морад и она отзовет претензию. Но она этого не сделала. Анализы оказались положительными, и Джаггера юридически обязали участвовать в воспитании сына. Борис Беккер также сдавал анализ на отцовство по поводу девочки, родившейся у русской модели Анжелы Ермаковой. Таблоиды отлично заработали на истории о том, как звездный теннисист посчитал, что его оклеветала русская мафия. Детали схемы, по которой якобы был осуществлен этот заговор, лучше

оставить на страницах таблоидов. Достаточно сказать, что анализ ДНК оказался положительным, Беккер признал отцовство и обязался поддерживать свою биологическую дочь.

В 2007 году актер Эдди Мёрфи признал, что является биологическим отцом Энджел Браун, дочери Мелани Браун, более известной как Мел Би, одной из солисток группы *Spice Girls*. В то же время именно анализ ДНК позволил освободить от фиктивных обвинений в отцовстве таких знаменитостей, как Киану Ривз и Тайгер Вудс.

Генетическая дактилоскопия применялась для определения биологических родственников ребенка и в более драматичных историях, чем те, что приключились с господами Джаггером и Беккером. В период с 1975 по 1983 год в Аргентине негласно устранили 15 тысяч человек, выражавших несогласие с политикой правящей военной хунты. Многих детей этих исчезнувших отправили в детские дома, либо их нелегально «усыновили» офицеры. Матери, у которых режим отнял детей, впоследствии занялись поисками детей их детей – чтобы вернуть себе хотя бы внуков. «Лас Абуэлас» (бабушки) привлекли внимание к своим поискам, каждый четверг устраивая шествие на центральной площади Буэнос-Айреса. Поиски продолжаются и сегодня. После того как ребенок найден, генетическая дактилоскопия позволяет определить, кто его родственники. С 1984 года Мэри-Клэр Кинг – с которой мы уже познакомились, когда обсуждали другой набор родственных связей, между людьми и шимпанзе, – обеспечила «Лас Абуэлас» генетическими анализами, необходимыми для воссоединения семей, разорванных за восемь кошмарных лет беззакония.

Со времени своего зарождения в криминалистике генетическая дактилоскопия прошла долгий путь. Сегодня это направление – один из столпов поп-культуры, потребительский товар для тех, кому любопытна генеалогия, ловушка в непрерывной игре в «кошки-мышки», в которую мы играем с богатыми и знаменитыми и теми обывателями, которые желают хоть раз засветиться на телевидении. Однако ее наиболее серьезные прикладные задачи по-прежнему связаны с решением юридических вопросов, касающихся жизни и смерти. США – единственное государство западного мира, где по-прежнему применяется смертная казнь. В период с 1976 года, когда Верховный суд восстановил высшую меру наказания после десятилетнего перерыва, по 2015 год привели в исполнение более 1400 смертных приговоров. В апреле 2015 года в США было более 3000 заключенных-смертников. Именно в таком контексте следует оценивать работу проекта «Невиновность» и его основателей Барри Шека и Питера Нойфельда, одних из первых и наиболее убежденных критиков

генетической дактилоскопии – как минимум в том виде, в каком она практиковалась поначалу. С самого начала Шек, Нойфельд и другие адвокаты осознали, что криминалистическая технология, против которой они выступают, на самом деле – мощный инструмент достижения справедливости, фактически более пригодный для оправдания невиновных, чем для обвинения преступников. Чтобы доказать невиновность, достаточно найти единственное несоответствие между фингерпринтом ДНК подзащитного и образцом, взятым на месте преступления. Для доказательства виновности требуется статистически убедительная демонстрация, что такой фингерпринт практически может быть только у обвиняемого, а вероятность остальных вариантов пренебрежимо мала.

По состоянию на март 2017 года работа адвокатов и студентов, занятых в проектах «Невиновность» (сегодня существует целая сеть таких проектов, функционирующих в юридических вузах США), позволила оправдать 349 незаслуженно обвиненных граждан.

В штате Иллинойс было вынесено шесть ошибочных смертных приговоров, из-за чего тогдашний губернатор штата Джордж Райан пошел на примечательный и – учитывая народную поддержку таких юридических паллиативов, как высшая мера наказания, – рискованный непопулярный шаг, введя в штате бессрочный мораторий на смертную казнь. Кроме того, Райан назначил специальную комиссию, которая должна была проверить, как ведутся дела, связанные со смертной казнью. В апреле 2002 года эта комиссия опубликовала отчет, где среди самых настоятельных рекомендаций предлагалось обеспечить ДНК-тестирование всех подзащитных и приговоренных, с которыми работает уголовное правосудие штата.

Все вышесказанное совершенно не означает, что ДНК-тестирование приводит к снятию обвинений со всех, кто настаивает на своей невиновности. Джеймс Хэнрэтти был осужден за одно из самых известных убийств, совершенных в Великобритании в XX веке. Он пристал к молодой паре, застрелил мужчину, а женщину изнасиловал, после чего выстрелил в нее пять раз и бросил умирать. Несмотря на то что Хэнрэтти настаивал на собственном алиби (в момент убийства он якобы был за много миль от места преступления), его признали виновным и приговорили к повешению. В 1962 году он стал одним из последних преступников, казненных в Великобритании.

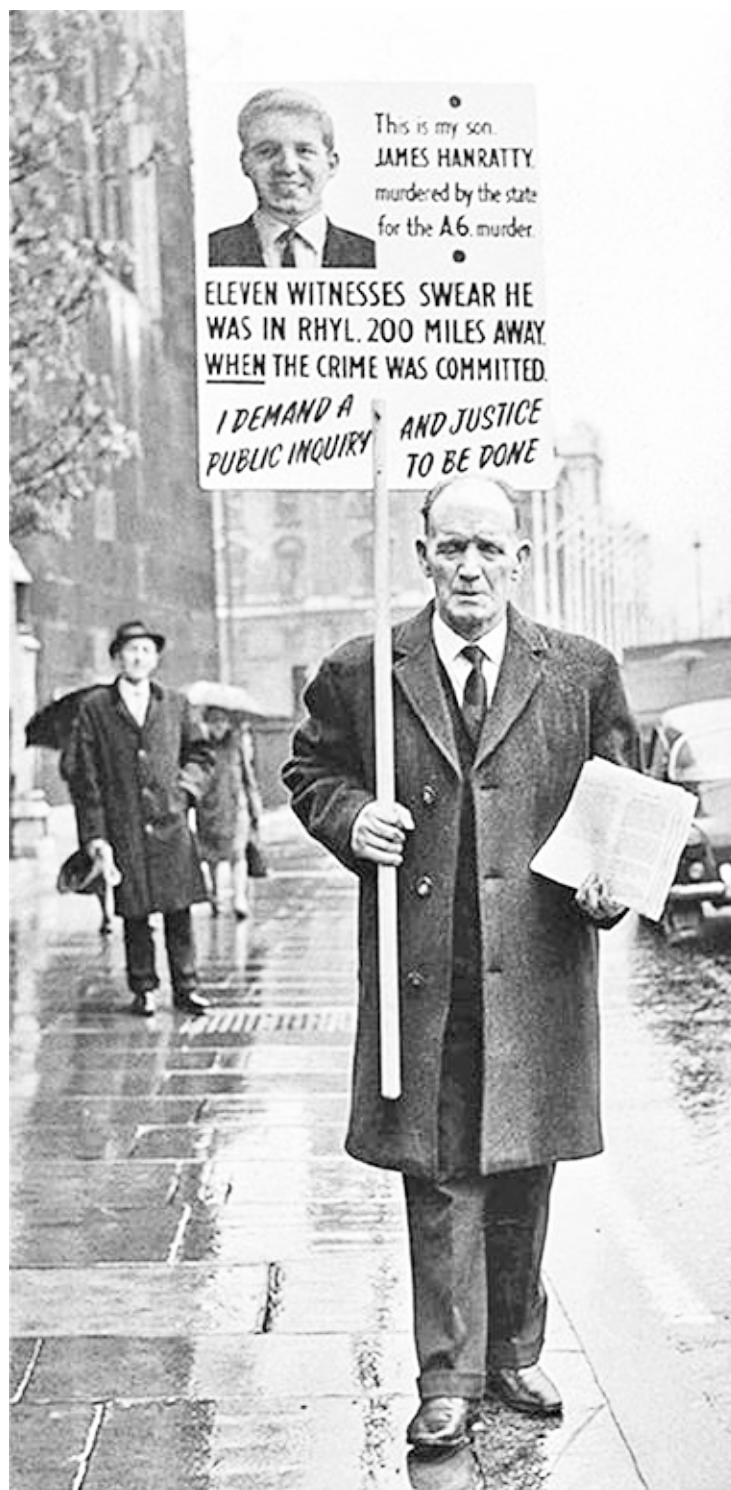
Перед смертью Хэнрэтти кричал о своей невиновности, и даже после казни семья развернула кампанию по его реабилитации. Эта деятельность вызвала настоящую шумиху: семье удалось убедить власти извлечь ДНК из

пятен семенной жидкости на белье изнасилованной женщины и из носового платка, при помощи которого насильник скрывал лицо; затем оба образца сравнили с ДНК-фингерпринтами матери и брата Хэнрэтти. Однако анализ показал, что ДНК с места преступления действительно принадлежит члену семьи Хэнрэтти. Тем не менее родственники и на этом не остановились, добившись в 2001 году эксгумации тела своего непутевого сына, чтобы взять ДНК на анализ и из этих останков. Такой непосредственный анализ однозначно показал, что ДНК на женском белье и на носовом платке действительно принадлежит Хэнрэтти. Наконец, хватаясь за соломинку, семья, памятуя о недавнем оправдательном приговоре Симпсону, заявила, что с образцами ДНК обращались неаккуратно и загрязнили их. Но господин главный судья сразу отменил эту претензию: «Анализ ДНК совершенно недвусмысленно показывает, что убийцей был Джеймс Хэнрэтти».

Обычно самые категорические возражения против пересмотра дела поступают от окружного прокурора, который, естественно, не хочет отмены выбитого с таким трудом приговора по результатам послесудебной проверки. Но иногда подобная упертость может быть контрпродуктивной. Обвинители уже давно уловили, что если генетические доказательства позволяют адвокатам вырвать победу, то с тем же успехом ДНК может заставить оппонента замолчать. Здесь очень уместен пример Бенджамина Лагера. В 1984 году он был приговорен к пожизненному заключению за изнасилование, совершенное в Леоминстере, штат Массачусетс, однако не переставал настаивать на своей невинности. Как и Хэнрэтти, он собрал вокруг себя целую свиту богатых и знаменитых сочувствующих, которые в 2001 году организовали и оплатили анализ образцов его ДНК. Должно быть, результат их всех удивил: Лагер оказался насильником. Его мотивацию можно понять: если человек мотает пожизненный срок за решеткой, то, делая такие заявления, он ничего не теряет. Однако вот гримаса судьбы: еще через два года окружной прокурор добился фингерпринтинга ДНК. Как было детально изложено в редакционной колонке газеты *St. Petersburg Times*: «Теперь, по прошествии времени, ясно, что прокурор мог бы потратить меньше времени на споры и заявить: “Ну я же говорил!” – если бы гораздо раньше согласился сделать подсудимому анализ ДНК».

Борцы за гражданские права всегда будут протестовать против широкого применения генетической дактилоскопии в обществе. Однако сложно отрицать социальную важность этой технологии для тех, кто по той или иной причине попадает в машину уголовного правосудия:

к сожалению, шансы вернуться туда после первой ходки крайне велики. Криминологические данные свидетельствуют о том, что осужденные за мелкие нарушения с большей вероятностью пойдут и на более серьезные преступления. Так, 28 % убийств и 12 % случаев сексуального насилия во Флориде связаны с лицами, ранее судимыми за кражу со взломом. Такой рецидивизм заметен и среди «белых воротничков»: из двадцати двух человек, осужденных в штате Виргиния за подделку денег, десятеро были замешаны в убийствах или изнасилованиях (это как раз удалось выяснить при помощи генетической дактилоскопии).



Изначально безнадежный одинокий крестовый поход отца: длительная кампания по обелению Джеймса Хэнрэтти «пошла прахом», когда его преступление доказали при помощи анализа ДНК

Ведутся работы по расширению баз данных с генетическими

фингерпринтами. Первая подобная национальная база данных ДНК была создана в Великобритании в 1995 году. По состоянию на июль 2014 года в ней содержалось более 4,9 миллиона профилей, и, таким образом, она охватывала примерно 8 % населения страны. В Англии и Уэльсе полиция вправе хранить образцы ДНК как от оправданных граждан, так и от тех, кого арестовали, но так и не предъявили обвинения. (В Шотландии образцы ДНК должны уничтожаться, если субъект оправдан либо ему не предъявлено обвинение.) В девятнадцати штатах США в настоящее время образцы ДНК берутся у всех преступников, а не только у тех, кто замешан в тяжких насильственных преступлениях.

Я считаю, что каждый должен сдать образец своей ДНК. Я не хочу сказать, что не разделяю опасений насчет неприкосновенности частной жизни либо относительно злоупотреблений такой генетической информацией. Как я уже рассказывал, занимая должность первого директора проекта «Геном человека», я выделил существенную часть нашего бюджета на исследование этических вопросов в контексте клинически применимой генетической информации. Однако уголовное правосудие – это совсем другая история. Я считаю, что здесь потенциал однозначной общественной пользы значительно перевешивает риск злоупотреблений. Поскольку все мы должны чем-то пожертвовать за благо жить в свободном обществе – благодаря откровениям Эдварда Сноудена мы смогли лучше понять, сколь многим приходится жертвовать, именно такая частичная потеря анонимности не кажется запредельной ценой, учитывая, что в законодательстве прописан строгий и продуманный контроль за доступом к таким базам данных. Честно говоря, призрачная возможность того, что когда-нибудь «Большой Брат» злоупотребит моим генетическим фингерпринтом с какой-то гнусной целью, волнует меня гораздо меньше, чем перспектива, что завтра на свободу может выйти опасный преступник (возможно, лишь для того, чтобы и дальше злодействовать), либо чем исход, при котором невинный может угодить в тюрьму из-за обычного анализа ДНК. Обширная база образцов ДНК также позволила бы обойтись без избыточного этнического профилирования, существующего во многих юрисдикциях.

Однако в целом протесты против сбора образцов ДНК не прекращаются, и иногда они доносятся из самых отдаленных регионов. Повсюду – от Нью-Йорка до австралийского штата Тасмания – юристы предлагают провести генетическую дактилоскопию всех сотрудников полиции. Логика проста: отслеживаем ДНК полицейских, и, таким образом, она гарантированно не учитывается при расследовании любого

преступления, которым они могут заниматься. По иронии судьбы, такие меры были забракованы правоохранительными органами в обеих юрисдикциях. Те самые структуры, чья работа могла бы значительно упроститься при широкой доступности генетической дактилоскопии, не желают с ней связываться в делах, где может быть замешана ДНК их сотрудников. Подозреваю существование здесь каких-то иррациональных факторов. Как и проблема генетически модифицированных продуктов, ДНК в обыденном сознании ассоциируется с какой-то мистикой: в ней есть что-то страшное и таинственное. А из-за недостаточного понимания генетических сложностей человек оказывается под влиянием наихудших опасений и теорий заговора. Надеюсь, что, как только люди станут лучше понимать эти проблемы, исчезнет нерешительность, после чего эта новая, мощная и полезная технология начнет использоваться по максимуму.

В предисловии к своей книге *Actual Innocence* («Фактическая невиновность») Барри Шек и Питер Нойфельд пишут: «Анализ ДНК сыграл в правосудии такую же роль, как и телескопы в астрономии. Это не урок биохимии, не демонстрация чудес увеличительной оптики, а возможность увидеть вещи такими, каковы они на самом деле». Разве с этим поспоришь?



Нэнси Векслер (Nancy Wexler) держит на руках ребенка, у которого в раннем возрасте началась болезнь Хантингтона. На озере Маракайбо, Венесуэла

Глава 12

Гены и болезни: поиски и лечение

Было настолько раннее и безлюдное утро, что даже встреча с пьяным человеком в это время казалась странной. Еще более удивительно было увидеть в этот час пьяную, немолодую, нелепо одетую женщину. Она шла по улице виляющей из стороны в сторону походкой, и всем, кто ее тогда видел, она казалась именно пьяной, даже постовому, дежурившему рядом со зданием суда, который сделал ей замечание, чтобы та в свои годы не позорилась. На самом деле Леонора Векслер не была пьяна. Ее начинал одолевать злой рок, который уже свел в могилу нескольких ее родственников прямо у нее на глазах – участь, которая, как она надеялась, ее минует.

Вскоре после описываемого эпизода, в 1968 году, Милтон Векслер, бывший муж Леоноры Векслер, должен был отпраздновать в Лос-Анджелесе свое шестидесятилетие вместе с двумя дочерьми: Элис (ей было 26 лет) и Нэнси (23 года). Однако, как оказалось, семья собралась вместе не только ради торжества. Милтон сообщил дочерям, что их пятидесятитрехлетняя мать страдает болезнью Хантингтона, разрушительным неврологическим расстройством, вызывающим прогрессирующую деградацию функций мозга: больные постепенно забывают абсолютно все и о близких, и о себе самих. Они также теряют контроль над собственными конечностями. Сначала нарушается походка, как в случае Леоноры, но по мере нарастания деградации больной также начинает совершать непроизвольные конвульсивные движения. Выражаясь научной терминологией, болезнь Хантингтона – наследственное заболевание, при котором у людей среднего возраста появляются периодические мышечные подергивания или спазмы и происходит постепенная дегенерация мозговых клеток, приводя к хорее, атетозу и ухудшению интеллектуальных функций. Лекарств, способных отсрочить это неуклонное движение к смерти, не было.

Элис и Нэнси вспомнили, что трое их дядюшек, братьев Леоноры, умерли в молодости, как и отец самой Леоноры, Абрахам Сейбин. Они уже понимали, что болезнь Хантингтона – наследственная. Милтону выпала тяжелая доля ответить на их естественный вопрос: «А какова вероятность того, что то же самое случится с каждой из нас?» Ответ отца

был: «Пятьдесят на пятьдесят».

Болезнь, о которой мы говорили выше, открыл Джордж Хантингтон. Сам он родился в семье врачей и вырос в Ист-Хэмптоне на Лонг-Айленде, где еще мальчиком сопровождал отца на обходах больных. Получив диплом врача в Колумбийском университете, Хантингтон на несколько лет вернулся к семейной практике на Лонг-Айленде, а затем перебрался в Помрой, штат Огайо. В 1872 году он представил в Медицинской академии Мейджса и Мейсона в расположенном неподалеку Миддлпорте свою статью, озаглавленную «О хорее». Термин «хорея» происходит от греческого слова, означающего «танец»; с XVII века врачи называли этим словом болезни, при которых у больных наблюдались конвульсивные движения.

В статье молодого врача был мастерски описан синдром, позже получивший название «хорея Хантингтона», а ныне известный как «болезнь Хантингтона». В статье признавалось, что эта болезнь наследственная: «Если болезнь проявилась у одного или у обоих родителей, то один или более их отпрысков также неизбежно заболеют. Болезнь не минует ни одного поколения. Вступив в свои права, она остается у человека на всю жизнь». Иными словами, болезнь Хантингтона является наследуемой по доминантному типу. Также было очевидно, что она в равной степени поражает как мужчин, так и женщин, то есть ее ген находится где-то в двадцати двух неполовых хромосомах (аутосомах).

Тогда, в 1968 году, о болезни Хантингтона было известно не так много: она наследственная, необратимо прогрессирует, убивая нервные клетки в конкретных зонах мозга. Милтон Векслер основал Фонд по борьбе с наследственными заболеваниями (HDF) для сбора денег на исследование болезни Хантингтона и привлечения к ней внимания властей. Его дочь Нэнси активно участвовала в работе фонда. В 1970-е годы, когда стало очевидно, что для прогресса в работе необходимо лучше изучить генетику заболевания, она полностью взяла работу фонда в свои руки.

В Венесуэле есть озеро Маракайбо, на берегах которого царит жестокая нищета и к тому же гораздо чаще, чем обычно, встречается болезнь Хантингтона. В 1979 году Нэнси Векслер приступила к сбору образцов ДНК у крестьян и стала записывать родословные местных жителей, чтобы построить генеалогию всех местных жителей, пострадавших от этой болезни. Понимая, что в будущем недуг может поразить и ее, Нэнси Векслер заботилась о людях, живших в деревянных хижинах на сваях прямо над водой. При ходьбе эти люди раскачивались, как пьяные, точно как ее мать. Местные жители называли Нэнси Векслер

«Катира» за длинные светлые волосы. Америко Негретте, ее венесуэльский коллега, впервые написавший о случаях болезни Хантингтона на берегах озера Маракайбо, рассказывает, что она превратила местных жителей в свою огромную семью, всякий раз приветствуя их «без наигранности и позерства, при встрече с венесуэльцами ее глаза просто лучились нежностью».

Цель экспедиций Нэнси Векслер заключалась в том, чтобы в конце концов найти ген, отвечающий за болезнь Хантингтона. Однако как генеалогия жителей Маракайбо могла помочь выявить виновника? Векслер и другие специалисты по генетическим болезням знали, что с людьми придется работать так же, как Морган и его ученики более века назад работали с дрозофилами. В эпоху секвенирования ДНК Векслер с коллегами могли отслеживать генетические маркеры в семейной родословной, то есть через несколько генетических скрещиваний, просто проанализировав ДНК в нескольких поколениях. Успехи в изучении патогенеза этой болезни начались за год до того, как Векслер приступила к своим генеалогическим исследованиям. Как и во многих других случаях научных прорывов, здесь не обошлось без интуитивной прозорливости.

В процессе работы над этой проблемой сформировался ежегодный ритуал: небольшая компания аспирантов из Университета штата Юта вместе с научными руководителями отправлялась на горный курорт Альта в горах Уосач-Маунтин на интенсивный семинар по своим профильным исследованиям (и, конечно, для того чтобы покататься на лыжах). Обычно к ним присоединялись двое-трое маститых ученых из других университетов, чтобы конструктивно покритиковать данные, предоставляемые каждым из волнующихся аспирантов. В 1978 году среди таких «тузов науки» были Дэвид Ботстейн из Массачусетского технологического института и Рон Дэвис из Стэнфорда.

Известные ученые, прибывшие на горный курорт, были весьма неординарными личностями. Дэвид Ботстейн был «склонен говорить и думать исключительно быстро, причем зачастую делал то и другое одновременно». Рон Дэвис – спокойный и сдержанный. В тот апрель в Юте Ботстейн и Дэвис, несмотря на полное несходство их темпераментов, обоюднo пришли к общему заключению. Они слушали доклад одного из аспирантов, ученика Марка Школьника – молодой человек с сожалением рассказывал о скудости генетических маркеров при бесплодном выискивании гена той или иной болезни. В этот момент Ботстейн и Дэвис обменялись взглядами и внезапно одновременно осознали истину. Хотя они специализировались на изучении дрожжей, оба одновременно догадались,

как картировать человеческие гены! Новые ультрасовременные методы работы с рекомбинантной ДНК позволяли применить при изучении человека точно такой же генетический анализ, что уже использовался при картировании генов у других видов, но именно Ботстейн и Дэвис первыми реализовали на практике возможности этого метода в изучении генетики человека.

Методологическая находка Ботстейна и Дэвиса, ныне именуемая как «анализ сцепления», позволяет определить положение неизвестного гена относительно известных генов-ориентиров. Принцип прост. Например, было бы непросто найти на карте США незнакомый для вас Спрингфилд, штат Масачусетс, если бы вы больше ничего не знали об этом городе, кроме названия. Если же я вам подскажу, что город Спрингфилд находится на половине пути между Нью-Йорком и Бостоном (двумя городами-ориентирами, обозначенными на карте), задача значительно упростится. Анализ сцепления позволяет проделать с генами то же самое: он выявляет связи между известными генетическими маркерами и неизвестными генами. Этот метод успешно зарекомендовал себя при работе с плодовыми мушками, использование его у человека представляло определенные трудности, поскольку у человека было известно очень мало генетических маркеров. Но Ботстейн и Дэвис осознали, что проблему возможно решить, используя достижения молекулярной биологии.

Маркерами в ДНК, на которые они обратили внимание, были те самые полиморфизмы длин рестрикционных фрагментов. ПДРФ, *Restriction fragment length polymorphism, RFLP* – способ исследования геномной ДНК путем разрезания ДНК с помощью эндонуклеаз рестрикции и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов (рестриктов) путем гель-электрофореза (электрофореза ДНК). Напомню, что большинство ферментов-рестриктаз режут ДНК только в том месте, где встречаются конкретную палиндромную последовательность. Если генетическая «буква» в этом месте изменится, то фермент больше не сможет разрезать ДНК в прежнем месте. Чаще всего эти повторы, которых в нашем геноме миллионы, встречаются в мусорной ДНК и потому в практическом отношении не имеют функционального эффекта.

После семинара в Альте Ботстейн, Дэвис и Школьник вместе с Рэем Уайтом, тогда работавшим в Университете штата Масачусетс, стали исследовать феномен полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. В 1980 году на основе материала, полученного в процессе их сотрудничества, была написана эпохальная статья, открывшая новую страницу в молекулярной генетике человека. В статье был предложен четкий план

того, как при помощи ПДРФ-маркеров можно построить карту маячков-маркеров в каждой человеческой хромосоме. Дэвид Ботстейн с коллегами вычислили, что 150 ПДРФ, равномерно распределенных по всему геному, вполне хватит, чтобы выявить мутантные гены, вызывающие болезнь. Собирая образцы ДНК в семьях, состоящих из нескольких поколений, в которых болезнь поражает предков и потомков, можно поочередно отследить закономерности наследования ПДРФ, отыскивая именно те гены, из-за которых болезнь сохраняется в семьях и которые показывают расположение мутантного гена.

В 1983 году Хелен Донис-Келлер (в ту пору жена Дэвида Ботстейна) основала Отдел генетики человека в бостонской компании *Collaborative Research, Inc.* Она стремилась построить карту сцепления ПДРФ в масштабах всего человеческого генома. Через четыре года после описываемых событий она опубликовала результаты своей работы в статье, метко названной «Карта генетических сцеплений в геноме человека». На этой карте было 403 маркера (гораздо больше, чем по исходной оценке Дэвида Ботстейна), охватывавших добрых 95 % генома. Та первая карта не была совершенной; например, некоторые хромосомы имели четко установленное место, расположение других подвергалось сомнению. Тем не менее возможность составления такой карты показала, что картирование всего генома осуществимо, что было важным достижением тех лет.



РЕКОМБИНАЦИЯ ПРИВОДИТ К
ПЕРЕМЕШИВАНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАЦИЙ
ПРИ СОЗРЕВАНИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ И ЯЙЦЕКЛЕТОК

ОПЛОДОТВОРЕНИЕ, МНОЖЕСТВО ПОТОМКОВ
ПРОВЕРЯЕТСЯ НА НАЛИЧИЕ БОЛЕЗНИ Х
И НАЛИЧИЕ ПДРФ-МАРКЕРОВ

копия хромосомы 6,
полученная каждым из
потомков от родителя А



БОЛЕЗНЬ Х



ВЫВОД:

БОЛЕЗНЬ Х У ПОТОМКОВ СВЯЗАНА ЛИШЬ С ПДРФ с
И, СЛЕДОВАТЕЛЬНО, СООТВЕТСТВУЕТ ЭТОМУ
УЧАСТКУ ХРОМОСОМЫ 6

Генетическое картирование гена, отвечающего за болезнь. Для удобства показаны всего два поколения и лишь несколько индивидов. Чтобы анализ обладал статистической мощностью, в нем необходимо учесть большое число родственных индивидов

По мере того как работа по созданию подробной генетической карты набрала обороты, Дэвид Хаусман (David Houseman) из Массачусетского технологического института был готов начать работу, которую Ботстейн на данном этапе считал невыполнимым делом. Дэвид Хаусман поставил себе цель: локализовать ген болезни Хантингтона. Решить эту амбициозную задачу он поручил Джиму Гузелле, только что получившему звание PhD в лаборатории Хаусмана. Поначалу Ботстейн был настроен пессимистично, это было связано с отсутствием маркеров, необходимых для работы: ПДРФ хорошо выглядели только на бумаге, на тот момент работа по их сбору и анализу только началась. К 1982 году у Джима Гузелле было всего 12 ДНК-маркеров. Нэнси Векслер тем временем вернулась на Маракайбо и пыталась уточнить ранее собранную генеалогию: выяснить, кто и с кем вступал в брак, состояние здоровья их детей, кто кому приходился кузеном. Всего в одном семейном генеалогическом дереве, которое удалось выстроить Векслер, насчитывалось 17 тысяч имен! Помню одно из собраний, состоявшееся в Колд-Спринг-Харборе в октябре 1982 года, когда Джим Гузелла представил свои самые новые данные. Ни один из первых пяти маркеров не давал даже намеков на находку сцепления между генами, и меня не покидала мысль, что вся эта работа напоминает поиски иголки в стоге сена, а Джим Гузелла пока вытаскивал из стога всего несколько соломинок. Когда он завершил свою речь словами: «Обнаружение гена болезни Хантингтона – всего лишь дело времени», я про себя добавил: «Безусловно, только *очень* долгого времени».

Но удача любит смелых. К изумлению Гузеллы и всех прочих, двенадцатый маркер, обозначенный G8, оказался связан с болезнью Хантингтона. Впервые ген человеческой болезни удалось найти в хромосоме, не опираясь на данные о сцеплении с полом и не обладая никакими исходными знаниями о биохимической основе расстройства. Внезапно открылась новая научная перспектива: нам показалось, что в конце концов удастся проанализировать все те генетические дефекты, которые были бичом рода человеческого с начала времен его существования. Оказалось, что полиморфизмы длин рестрикционных фрагментов – очень действенный диагностический инструмент. После обнаружения гена болезни Хантингтона на конце короткого плеча 4-й

хромосомы наши мощные методы клонирования генов, определенно, позволят выделить сам этот ген – это лишь дело времени, причем весьма недалекого.

Болезнь Хантингтона творит свое черное дело уже со взрослыми людьми. Мы знаем, что очень часто генетические болезни поражают детей, и они тем более ужасны, поскольку их жертвы практически не имеют шансов порадоваться этой жизни. Часто после постановки диагноза можно с суровой определенностью описать всю дальнейшую жизнь ребенка. Именно такая ситуация складывается с миодистрофией Дюшенна – прогрессирующим заболеванием, которое истощает мышцы, вызывает затруднения при движениях с детского возраста, которые прогрессируют с течением времени. Миодистрофия Дюшенна сцеплена с полом: вызывающая это заболевание мутация локализуется в X-хромосоме. Женщин, имеющих хромосому с такой мутацией, обычно спасает от болезни вторая, нормальная копия этого гена в другой X-хромосоме. Однако если хромосома с мутантным геном передается сыну, то мальчик заболеет миодистрофией Дюшенна, так как не имеет второй X-хромосомы с нормальной копией гена. Когда ребенку будет около пяти лет, родители заметят, что ему сложно встать с пола или подняться по лестнице. Примерно к десяти годам он окажется в инвалидной коляске. Вероятнее всего, больной умрет в подростковом возрасте либо проживет чуть больше двадцати лет.

В конце 1970-х годов цитогенетики (ученые, изучающие хромосомы под микроскопом) обнаружили аномалию в коротком плече X-хромосомы, встречающейся у тех считанных девочек, которые подвержены миодистрофии Дюшенна. Речь идет об участке Хр21. Анализ сцепления, выполненный Бобом Уильямсоном из Медицинской школы при больнице Святой Марии в Лондоне, а также его коллегой Кей Дэвис (в замужестве Дейм), подтвердил, что все дело в участке Хр21. Тем временем генетик-клиницисты воспользовались полиморфизмами длин рестрикционных фрагментов в качестве диагностического инструмента, позволяющего определить, кто из членов той или иной семьи (не исключая этапа внутриутробного развития) несет такую мутацию. Например, если у женщины есть мутация, провоцирующая миодистрофию Дюшенна, то ее сын с вероятностью 50 % заболеет этим недугом. Впервые в истории с помощью метода ПДРФ врачам удалось внутриутробно определить риск рождения ребенка с генетическим заболеванием.

Такой метод диагностики впервые представили в 1978 году сотрудники Калифорнийского университета в Сан-Франциско Юэт Кан и

его коллеги. Они использовали сцепленные ПДРФ для диагностики плода с β -талассемией. ДНК для анализа забиралась либо из амниотической жидкости, в которой присутствуют клетки плода, либо из плаценты. Такая процедура называется «биопсия хориона». Правда, точность этого метода не составляла 100 %, поскольку, если вы помните из первой главы, при возникновении яйцеклеток хромосомы подвергаются рекомбинации. Если такая перестановка генетического материала происходит между ПДРФ и интересующим нас геном, то результат биопсии получится неверным, отсюда и погрешность. Она составляет при раннем обнаружении миодистрофии Дюшенна около 5 % и является неизбежным следствием рекомбинации. Но результаты пренатальной диагностики целиком и полностью зависели от выявления конкретного гена, а не от маячковых маркеров.



Брюс Брайер, чья частичная делеция Х-хромосомы позволила идентифицировать ген миодистрофии Дюшенна. Брюс погиб в автокатастрофе в возрасте семнадцати лет, но прожил относительно полноценную жизнь и даже был отличным органистом.

Ген миодистрофии Дюшенна удалось идентифицировать благодаря мальчику по имени Брюс Брайер, у которого в коротком плече Х-хромосомы не хватало очень большого фрагмента. Этот участок был таким большим, что Брюс страдал не только миодистрофией Дюшенна, но и еще тремя другими генетическими заболеваниями. В 1985 году Лу Кункель из Гарвардской медицинской школы рассудил, что мог бы воспользоваться

ДНК Брюса, чтобы выделить нормальный ген из ДНК здорового мальчика. Кункель осознал, что вся ДНК Брюса должна быть и у здорового мальчика, а те фрагменты, которые есть у здорового мальчика, но отсутствуют у Брюса, и несут разгадку. Воспользовавшись рекомбинантной технологией, Лу Кункель извлек из нормальной ДНК ту часть, которая была у Брюса, и стал изучать отличающиеся фрагменты, по его мнению, именно в них должен был находиться ген миодистрофии Дюшенна.

Полностью тайна заболевания была разгадана Тони Монако, аспирантом Лу Кункеля. Оказалось, что последовательность рERT87 отсутствует у пятерых мальчиков, страдающих миодистрофией Дюшенна; она располагалась очень близко к искомому гену, иногда даже входила в его состав. Теперь гену уже можно было дать подходящее название: дистрофин. Несколько лет этот ген считался самым крупным в геноме человека, поскольку в нем очень много больших интронов, но затем дистрофин уступил первенство гену, кодирующему другой мышечный белок и не менее удачно названному «титин»^[17].

Эти новые знания были немедленно использованы для пренатальной диагностики миодистрофии Дюшенна. Однако, несмотря на то что функция дистрофина была исследована на протяжении десятилетий, мы по-прежнему не в силах эффективно лечить или облегчать течение миодистрофии Дюшенна. Именно это удручает в текущем положении дел: генетика позволяет идентифицировать и понять болезнь, но пока в большинстве случаев не позволяет исправить генетические ошибки. Подобные истории связаны и с болезнью Хантингтона, и с муковисцидозом, и с другими наиболее серьезными генетическими расстройствами. По сравнению с разработкой препарата, позволяющего блокировать известную мишень, лечение генетического заболевания – вызов совершенно иного плана: здесь требуется добавить недостающие гены или заменить нефункциональные. В случае с миодистрофией Дюшенна речь идет как раз о том, как доставлять достаточно крупный белок к мышцам.

Среди некоторых наиболее перспективных методов борьбы с миодистрофией Дюшенна рассматривается возврат к методу генетической терапии, который ранее считался совершенно безнадежным, об этом мы поговорим далее в главе. Исследователи пробуют организовать доставку дистрофина в мышечные волокна при помощи вирусов – речь идет либо о полноценном гене, либо о его уменьшенной версии. Другой метод больше подходит тем немногим пациентам с миодистрофией Дюшенна, которые страдают от иной мутации: она преждевременно блокирует трансляцию

транспортной РНК дистрофина. Биотехнологические компании, например *PTC Therapeutics*, разрабатывают препараты, позволяющие рибосоме миновать ложные стоп-сигналы для получения полноценной коммуникации, на основе которой выстраивается полноценный белок. В 2016 году компания *Sarepta Therapeutics* получила одобрение Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) на препарат этеплирсен, увы, это лекарство предназначено для лечения немногих пациентов, а его клиническая эффективность остается до конца невыясненной. Наконец, Кей Дэвис и ее коллеги из Оксфордского университета разработали метод замены недостающего дистрофина, искусственно усиливая экспрессию родственного гена, который называется утрофин. Этот метод хорошо работает на мышинных моделях с миодистрофией Дюшенна, пока ведутся клинические испытания.

Наиболее интенсивные поиски генов наследственных болезней пришлось на 1980-е годы, когда врачи пытались побороть одно из самых распространенных генетических заболеваний – муковисцидоз. Охота за геном муковисцидоза вышла особенно примечательной по двум причинам: впервые коммерческая компания участвовала в картировании гена человеческой болезни, и впервые развернулось жестокое соперничество среди ученых, причастных к этому направлению исследований.

При муковисцидозе в легких у больного скапливается густая слизь, затрудняющая дыхание. Клетки, выстилающие легочные трубки, не могут элиминировать слизь, в которой размножаются бактерии, поэтому человек страдает от инфекций верхних и нижних дыхательных путей. До открытия антибиотиков ожидаемая продолжительность жизни при муковисцидозе составляла не более десяти лет; сегодня выживаемость значительно увеличилась, многие пациенты разменивают свой четвертый и даже пятый десяток. В Северной Европе муковисцидоз встречается с частотой примерно один случай на 2500 человек. Эта болезнь наследуется по рецессивному принципу: человек заболевает, лишь если у него сразу две мутантные копии гена. Мутантный ген муковисцидоза встречается примерно у каждого 25-го жителя Северной Европы, то есть на удивление часто. Существует гипотеза, что его носители обладают селективным «преимуществом гетерозигот», например как защита от малярии, которую дает серповидноклеточная анемия. Вероятно, муковисцидоз уберегал носителя от инфекционных заболеваний, свирепствовавших в Европе в XVII–XVIII веках, например от туберкулеза и холеры.

Лап-Чи Цуй родился в Шанхае, вырос и выучился в Гонконге, а в США приехал в 1974 году, уже будучи аспирантом. Цуй освоил

молекулярную генетику, изучая вирусы, а затем в 1981 году перебрался в Торонто, где стал работать над проблемой муковисцидоза, кропотливо выискивая любые ПДРФ в семьях, страдающих этой болезнью. Но не только Цуи искал ген муковисцидоза: в то же самое время поисками занимались Боб Уильямсон в Лондоне и Рэй Уайт в Юте, в их распоряжении была подробная генеалогическая информация, собранная церковью мормонов. Метрики мормонов, именуемые «Анналы предков», позволяют их современным потомкам отдать должное почившим предкам, прожившим жизнь вне церкви или умершим до ее основания (церковь мормонов существует с 1830 года). Подробная запись данных у мормонов преследовала вполне определенную цель – воссоединить семьи в вечности. Для нас это тот самый случай, когда нужды генетики и религии так замечательно совпали.

Лап-Чи Цуи добился первых успехов в 1985 году, когда нашел связь между патентованным набором ПДРФ, открытым для использования с целью анализа генов муковисцидоза, и непосредственно самим геном муковисцидоза. Уильямсон и Уайт буквально дышали ему в затылок. Их статьи были одновременно опубликованы в журнале *Nature*, и в этих работах сообщалось, что ген муковисцидоза локализован в длинном плече седьмой хромосомы, а ближайший маркер отстоит от него примерно на миллион оснований.

Следующий этап обещал быть еще тяжелее, если вы помните, поиски происходили за пять лет до запуска проекта «Геном человека». Миллион оснований по-прежнему оставался огромным промежутком для клонирования «генетиков-навигаторов». Поэтому Лап-Чи Цуи объединился с Френсисом Коллинзом, экспертом по молекулярной генетике, который в ту пору работал в Мичиганском университете, а впоследствии успешно сменил меня на посту директора проекта «Геном человека».



Лап-Чи Цуи, искатель генов

Френсис Коллинз разработал методы «прыжков» между двумя известными полиморфизмами длин рестрикционных фрагментов. В 1989 году, после двух лет работы, Цуи и Коллинз смогли идентифицировать кандидатный ген, кодирующий мембранный белок, известный своей ролью в функционировании потовых желез у человека; известно, что у больных муковисцидозом эти железы не работают. Секвенирование гена и поиск мутаций в обеих его копиях у пациентов с муковисцидозом завершились успехом: оказалось, что у большинства больных отсутствует участок ДНК длиной в три основания, а в достаточно большом по размерам белке муковисцидоза не хватает всего одной аминокислоты. Такого дефицита

аминокислоты оказалось достаточно, чтобы полностью нарушить естественную укладку белка и доставку его к клеточной мембране. На эту единственную мутацию приходится 70 % всех случаев муковисцидоза. Кроме описанного дефекта зарегистрировано еще более тысячи связанных с ним мутаций. Такое изобилие патологических вариантов значительно усложнило гено-диагностику муковисцидоза.

В то время как генетическое сообщество праздновало удачное картирование и выделение гена муковисцидоза, Нэнси Векслер, Дэвид Хаусман, Джим Гузелла и их коллеги все занимались поисками гена болезни Хантингтона. Ушло десять лет работы, в которой участвовало 150 ученых со всего мира, пока «зловредный» ген наконец не был засечен: консорциум ученых выделил его на критически важном участке 4-й хромосомы в позиции 4p16.3, который назвали IT15 («интересный транскрипт 15»). Генетический дефект, приводящий к хорее Хантингтона, обусловлен экспансией нестабильного тринуклеотидного кодона CAG, кодирующего глутамин, который транслируется в протеине как полиглутаминовый повтор. У здорового индивида встречается меньше 35 последовательных CAG, а у пациентов с болезнью Хантингтона таких фрагментов множество. CAG – это генетический код аминокислоты глутамина. У страдающих болезнью Хантингтона структура белка хантингина может быть самой разной, так как из-за полиморфизма гена в белке содержится разное количество остатков глутамина. Молекулярная масса хантингина в основном зависит именно от количества остатков глутамина. Вероятно, такое различие влияет на работу белка в клетках мозга; его молекулы могут образовывать внутри клетки «липкие белковые комочки», и из-за этого клетка погибает. Такое любопытное увеличение последовательностей повторяющихся тринуклеотидов лежит в основе патогенеза многих других неврологических заболеваний, в том числе при синдроме фрагильной X-хромосомы и при спиноцеребеллярной атаксии (*spinocerebellar ataxia, SCA*). Однако мы до сих пор не вполне понимаем, почему клетки мозга становятся уязвимы для подобных причудливых мутаций.

Несмотря на то что на поиск генов, отвечающих за генетические расстройства – болезнь Хантингтона, миодистрофию Дюшенна и муковисцидоз, – уходит немало времени, по генетическим меркам это «простые» болезни. Они возникают из-за мутации единственного гена и практически не зависят от условий окружающей среды. Таких расстройств существует огромное число, только в современной генетической базе данных перечислено более тысячи, хотя общепопуляционно их число

невелико, и каждое из них встречается лишь в отдельных семьях.

Гораздо более распространены «сложные», или полигенные, расстройства, к которым относится множество самых известных недугов: астма, шизофрения, депрессия, врожденные пороки сердца, гипертензия, диабет и рак. Они возникают из-за взаимодействия множества генов, каждый из которых в отдельности оказывает лишь незначительный эффект. Причем для полигенных расстройств обычно характерна еще одна проблема: такие группы взаимодействующих генов могут провоцировать предрасположенность к определенному заболеванию, но разовьется оно или нет, зависит от условий окружающей среды. Допустим, у вас есть набор генетических вариантов, предполагающий склонность к алкоголизму. Однако ваша судьба в этом направлении, а именно ответ на вопрос, станете ли вы алкоголиком, зависит от того, как вы отреагируете на источник возможной болезни, то есть на алкоголь. То же касается и астмы: «хорошим» летом, когда в воздухе мало пылицы и спор, никаких симптомов астмы у вас может и не быть, несмотря на генетическую предрасположенность к этому заболеванию.

Сложные взаимодействия генов и окружающей среды наиболее очевидны в онкологии. Как будет рассказано в главе 14, рак по сути своей – генетическое расстройство, возникающее из-за мутаций в нескольких генах и в итоге приводящее к возникновению злокачественных клеток. Есть два варианта возникновения раковых мутаций. Некоторые передаются по наследству. Всем известна фраза «это у них семейное», и если некоторые социальные признаки, характеризующиеся таким образом, например католицизм, не всегда передаются по наследству, некоторые виды рака неизбежно наследуются. Множество раковых мутаций возникает и в ходе нормальной жизнедеятельности. ДНК может быть повреждена из-за ошибок в работе ферментов, отвечающих за репликацию или починку генетической молекулы, либо вследствие побочных эффектов при нормальных химических реакциях в клетке. Многие виды рака возникают из-за наших же глупых пристрастий к канцерогенам: например, нам нравится жариться под ультрафиолетом или выкурить сигарету. Смысл в том, что ДНК легко повреждается, но именно мы в силах свести эти поломки к минимуму, осознанно организуя свою личную и социальную жизнь.

В 1974 году Мэри-Клэр Кинг (прославившаяся изучением родства между человеком и шимпанзе и работой с «Лас Абуэлас») перебралась в Калифорнийский университет в городе Беркли, где целиком посвятила себя поискам гипотетического гена, вызывающего рак груди. На тот момент до

разработки метода, использующего полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, оставалось еще шесть лет, но Кинг взялась собирать информацию о семьях, у членов которых в раннем возрасте развивался рак груди (и яичников). Она рассудила, что эти заболевания вполне могут иметь наследственную природу. Скептики были убеждены, что рак груди слишком сильно зависит от факторов окружающей среды и генетический анализ в данном случае бесполезен. Непоколебимая Мэри-Клэр Кинг продолжала уточнять свой набор данных и к 1988 году, проанализировав более 1500 семей, собрала доказательства в пользу того, что ген предрасположенности к раку груди действительно существует.

Завершив анализ сцепления более сотни маркеров ДНК, Кинг поразила все медицинское сообщество, когда в 1990 году объявила, что нашла в 17-й хромосоме участок полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, ассоциированный с раком груди в подгруппе, состоящей из 23 семей ее выборки. На эти 23 семьи суммарно пришлось 146 случаев рака груди. Прислушавшись к предположению одного из своих аспирантов, Мэри-Клэр Кинг совершила открытие: в тех семьях, где рак груди начинал развиваться в сравнительно юном возрасте, вероятность наследования гена предрасположенности к этому виду рака была выше. Таким образом, выяснено, что ген расположен в хромосоме на участке 17q21 и при его мутации риск заболеть раком груди у женщины сильно возрастает. После публикации статьи Кинг в журнале *Science* в 1990 году началась гонка – кто первым выделит сам этот ген, названный *BRCA1* (ген кодирует рак груди первого типа^[18]), а также развернулись не завершившиеся до сих пор споры о коммерческом использовании генов.

Выделение гена *BRCA1* неизбежно обещало быть событием планетарного масштаба. Мэри-Клэр Кинг стала работать вместе с Френсисом Коллинзом, незадолго до этого идентифицировавшим ген муковисцидоза. В сентябре 1992 года представительница одной большой семьи со множеством случаев рака груди, назову ее Анна, рассказала Барбаре Уэбер, сотруднице Коллинза, что ей назначена профилактическая мастэктомия, хотя у нее не было никаких признаков рака. Не в силах больше выносить неопределенность, Анна решилась на такой радикальный превентивный шаг. Однако Барбара Уэбер сделала ей анализ сцепления ДНК и пришла к выводу, что Анна не унаследовала патологического гена *BRCA1*: она рисковала заболеть раком груди не больше, чем любая другая женщина, не имеющая такого семейного анамнеза. Но этот вывод был сделан в контексте ведущегося исследовательского проекта, причем было заранее оговорено, что такие предварительные данные не будут

использованы для клинической диагностики.

Однако Уэбер и Коллинз решили, что просьба Анны перевешивает такую регламентацию. Они сообщили женщине, что та почти не рискует, и она с огромным облегчением отказалась от операции. Неудивительно, что исследователи чувствовали себя обязанными оказать такую же услугу и другим членам ее семьи, если те их об этом попросят. Одна из женщин этой семьи, которая, как оказалось, тоже практически не рисковала, уже перенесла профилактическую двустороннюю мастэктомию пятью годами ранее. Она отнеслась к долгожданному диагнозу философски: рассудила, что благодаря операции смогла пять лет прожить спокойно. Сегодня доказано, что профилактическая мастэктомия действительно снижает смертность от рака среди женщин, входящих в группу риска; аналогично при удалении яичников в возрасте до сорока лет снижается вероятность как рака яичников, так и рака груди. Генетический анализ может помочь женщине принимать решения, которые для нее в буквальном смысле являются вопросом жизни и смерти.

Кинг и Коллинз столкнулись с жесткой конкуренцией в погоне за геном *BRCA1*. Марк Школьник из штата Юта, генетик, участвовавший в прорывных исследованиях сцеплений, совместно с Уолли Гилбертом основал компанию *Myriad Genetics* (Уолли Гилберт еще не растерял предпринимательского духа даже после непростых времен, пережитых в компании *Biogen*). Бизнес-план *Myriad* был таков: воспользоваться массивом данных о родословной мормонов и на основе этой информации картировать и изолировать ген *BRCA1*. *Myriad Genetics* одержала победу в четырехлетней гонке, опередив конкурентов на считанные недели и опубликовав в журнале *Science* статью об эпохальном открытии гена рака груди *BRCA1*. Во главе команды поисковиков из *Myriad* стоял молодой биолог-молекулярщик Александер (Саша) Кам, внук великого Лайнуса Полинга. Это был сокрушительный удар для Мэри-Клэр Кинг, но она и не думала отступать, продолжая дополнять длинный список мутаций *BRCA1*, зафиксированных в тех семьях, которые она изучала. В 1997 году была одобрена патентная заявка *Myriad Genetics* на этот ген, и компания воспользовалась этим, чтобы стать монополистом в области анализов на *BRCA1*. Не менее интенсивная гонка развернулась при поисках второго гена рака груди *BRCA2*, локализованного в 13-й хромосоме. На этот раз группа ученых из Института онкологических исследований в Великобритании заявила, что обогнала *Myriad Genetics*, но патент на данную последовательность успели подать обе группы.

Уже был понятен коммерческий потенциал этих генов. Риск

возникновения рака груди к семидесятилетнему возрасту у носительницы гена *BRCA1* или *BRCA2* из-за накопления мутаций в этих генах достигал 80 %. Более того, те же самые мутации в 45 % случаев также повышают риск возникновения рака яичников. Женщины из семей, в которых наследуются такие мутации, должны как можно раньше узнавать, есть ли у них дефектный вариант первого или второго гена. Широко известно, на какие действия пошла актриса Анджелина Джоли: в таких случаях приходится делать мучительно тяжелый, но потенциально спасительный выбор. Выборочная двусторонняя мастэктомия у женщин, подверженных высокому риску возникновения рака груди, позволяет снизить число случаев такого рака на 90 %. В то же время генетический скрининг помогает выявить в таких семьях индивидов с нормальными генами; и женщина, у которой нет мутации, сможет успокоиться, осознав, что никакого повышенного риска для нее нет.

За двадцать лет *Myriad Genetics* помогла тысячам женщин принять информированные решения о здоровье, возможно, спасшие многим жизнь. Тем не менее компанию из Солт-Лейк-Сити часто приводят в качестве примера порочной практики, возникающей, когда коммерция подмешивается к науке. Ведь как ни рассуждай, компания *Myriad* десять с лишним лет наживалась на своей глобальной монополии на анализ гена *BRCA1*, заявляя, что вправе зарабатывать деньги таким образом, чтобы вернуть миллионы долларов, потраченные на поиск генов и разработку анализа. Вопрос надоставить по-другому. Сколько денег вправе таким образом заработать компания? Ее тестирование на наличие наследственного рака молочной железы и яичников (*BRAC Analysis*) стоит более трех тысяч долларов, при том что *Myriad Genetics* вдобавок к этому держала в строгой тайне обширную базу данных по мутациям *BRCA*, собранную ими за двадцать лет.

После нескольких бурных разбирательств между компаниями с пациентами в мае 2009 года Американский союз защиты гражданских свобод (ACLU) подал от имени этих нескольких пациентов иск против компании *Myriad Genetics* и Ведомства по патентам и товарным знакам США. Как уже было рассказано мной в главе 8, в 2013 году Верховный суд единогласно постановил, что успех *Myriad*, позволивший компании почти двадцатью годами ранее выделить ген *BRCA1* и разработать анализ для его диагностики, нельзя считать изобретением. Такой вердикт сразу же развязал руки другим диагностическим компаниям, в том числе *Ambry Genetics*, *Gene by Gene* и *Pathway Genomics*, которые стали оспаривать монополию *Myriad* и запустили производство собственных бюджетных

исследований, проверявших сразу два гена: *BRCA1/2*. В настоящее время все (или практически все) юридические вопросы между сторонами улажены.

В 1990-е годы, одновременно с разработкой проекта «Геном человека» анализ сцепления генов помог выявить ряд других раковых генов, в том числе вызывающих нейрофиброматоз (болезнь, которой страдал Джозеф Кэри Меррик, «человек-слон»), рак прямой кишки и рак простаты. Также были картированы гены, вызывающие редкие наследственные формы болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. Тем не менее при всей внешней эффективности поиск по принципу «ген за геном» получался медленным и трудоемким, каждое исследование зависело от того, удастся ли найти подходящие семьи для анализа. Существует и другая стратегия: искать небольшие изолированные популяции, где та или иная болезнь встречается очень часто. В природе сложно найти более крошечную и изолированную популяцию, чем население острова Тристан-да-Кунья.

Тристан-да-Кунья – это вулканический остров, его крутые и негостеприимные берега вздымаются посреди моря. Он представляет собой просто клочок суши площадью всего 98 квадратных километров посреди Южной Атлантики и считается одним из самых отдаленных мест на планете. Первое постоянное поселение на острове состояло из служащих британского гарнизона, который высадился на него в 1816 году, чтобы помешать французским войскам устроить там базу для вызволения императора Наполеона из ссылки на острове Святой Елены, расположенном на расстоянии 2,5 тысячи километров к северу. В дальнейшем население острова росло эпизодически: в какой-то части острова обосновались немногочисленные поселенцы, где-то – выжившие после очередного кораблекрушения. По неофициальной переписи 1993 года, численность населения острова составляла всего 301 человека. Именно в тот год группа сотрудников Торонтского университета отправилась на остров, чтобы изучить отдаленные результаты медицинских исследований, в которых островитяне участвовали еще в 1961 году, когда из-за проснувшегося на острове вулкана все население острова временно эвакуировали в Англию. Самым удивительным оказалось то, что в анамнезе более чем у половины беженцев была астма.



Пожалуй, самая отдаленная обитаемая территория на планете: вид на остров Тристан-да-Кунья с близлежащего необитаемого острова

Современное исследование ученых из Торонто, включавшее 282 островитянина, также показало, что у 161 человека (57 %) наблюдаются симптомы астмы. Канадцы подняли генеалогию всех местных семей – потомков первых 15 поселенцев. По всей видимости, астму занесли на остров две женщины, обосновавшиеся здесь в 1827 году, после чего население значительно возросло, но фактически представляло собой одну расширенную семью. В более крупной и смешанной популяции астма, вероятно, могла бы быть вызвана различными наборами аллелей, но на острове такого события произойти не могло в силу изолированности. Именно из-за разнородности тяжело выделить генетические первопричины сложных заболеваний. Остров дал фантастические возможности для проведения исследований.

Далее команда медиков из Торонто стала работать совместно с компанией *Sequana* из Сан-Диего, основанной специально для поиска генов, вызывающих патологические процессы. Впоследствии представители *Sequana* заявляли, что обнаружили в 11-й хромосоме два

гена, провоцирующих предрасположенность к астме. Далее было проведено исследование, в ходе которого были изучены примерно 2 миллиона фрагментов у тысяч астматиков; исследование позволило предположить, что наиболее распространенные генетические факторы риска связаны с 17-й хромосомой, а конкретно – с иммунными факторами. Тем временем канадские активисты заявили, что компания совершила «акт биопиратства», «нарушив основополагающие права тех людей, у которых брали образцы ДНК», то есть принцип добровольного информированного согласия. Пока до социального извержения было далеко, но первый толчок в обществе уже произошел.

Буря, разразившаяся по поводу «биопиратства» *Sequana*, не шла ни в какое сравнение с ураганом, налетевшим на Кари Стефанссона (*Kári Stefánsson*) и его компанию *deCODE Genetics* несколько лет спустя. Кари Стефанссон решил, что для исследования тоже нужно найти отдаленный остров, но более густонаселенный, чем Тристан-да-Кунья, у обитателей которого можно было бы сразу определить несколько патологических генов. Так сложилось, что Кари Стефанссон родился именно на таком острове.

Родина Кари Стефанссона – Исландия, по площади примерно как штат Кентукки, но население всей страны составляет примерно 323 тысячи человек, что в 13 раз меньше, чем в этом штате. В IX–X веках остров заселили викинги, которые привезли с собой женщин, похищенных в Ирландии во время набегов. Поэтому Исландия была интересна для предприимчивого охотника за генами сразу по нескольким причинам. Во-первых, население Исландии исключительно однородно: практически все жители происходят от тех самых первых поселенцев, со времен викингов в страну мало кто иммигрировал. Во-вторых, имеются метрики всех родившихся в стране жителей с 1838 года, кроме этого реестра, есть и подробные генеалогические архивы, уходящие в прошлое на много поколений. Стефанссон утверждал, что может проследить собственную родословную на тысячу лет в прошлое, вплоть до легендарного исландского поэта и воина Эгилля Скаллагримссона, одного из героев исландских саг. В-третьих, в Исландии с 1914 года действует государственная служба здравоохранения, поэтому медицинские карты всей нации есть в наличии, они хранятся в строгом порядке, и их можно изучать.

Кари Стефанссон, невролог с гарвардским дипломом, интересовался сложными генетическими расстройствами, в частности рассеянным склерозом и болезнью Альцгеймера. Понимая, что его соотечественники –

идеальная популяция для подобных исследований, он стал сооснователем компании *deCODE* и взялся за соотношение реестров медицинских (уже имеющихся) с реестрами генетическими. Стефанссон решил собрать максимально полную базу данных для поиска генов. На это у него имелось официальное разрешение от исландского парламента.

В 2000 году *deCODE* получила двенадцатилетнюю лицензию на создание и эксплуатацию Исландской медицинской базы данных. Генеалогические сведения были общедоступны, но в базу данных попадала информация из медицинских карт лишь тех островитян, которые на это согласились. В дальнейшем такие заверения жителей не спасли *deCODE* от широкого общественного осуждения относительно приватности генетических данных.

Большинство исландцев одобрили миссию компании, а также потенциальный положительный эффект для небольшой экономики своей страны. После завершения проекта «Геном человека» компания *deCODE* стала одной из самых успешных и плодотворных в плане открытий генетических организаций, открывшей аллели, ответственные за развитие десятков сложных, генетически ассоциированных нарушений: сердечных заболеваний, остеопороза, депрессии, шизофрении, инсульта и рака. Компания взяла на вооружение технологию ДНК микрочипов, позволившую генетикам отследить сотни тысяч однонуклеотидных полиморфизмов в рамках единого исследования ассоциаций, охватывающего весь геном. Момент истины для полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) наступил в 2007 году, когда в журнале *Nature* была опубликована знаковая статья от фонда *Wellcome Trust* Сенгеровского института. В этой статье были опубликованы результаты исследования, проведенного с участием около 17 тысяч человек. Результатом этого исследования было выявление аллелей, вызывающих семь распространенных заболеваний, в том числе депрессию, болезнь сердца и болезнь Крона. На сегодняшний день уже существуют воспроизводимые опыты, доказывающие ассоциацию более 10 тысяч вариантов всевозможных патологических состояний с генетическими признаками: кардиологических расстройств, фибрилляции предсердий, многих видов рака, артрита, волчанки, целиакии, причем этот список далеко не полон.

Одновременно со стремительным падением стоимости полногеномного секвенирования и ее приближением к отметке в тысячу долларов росли амбиции ученых, планировавших крупномасштабные популяционные исследования. Речь шла уже не об идентификации отдельных генов, а об обеспечении проекта комплексного геномного

здравоохранения. Примеры таких проектов ранее уже существовали: рассмотренный выше *FarGen* (Фарерские острова), *Genomics England* (финансируемая правительством Великобритании программа по секвенированию ДНК 100 тысяч пациентов), *Precision Medicine Initiative* (Инициатива в сфере точной медицины) в США. Первое поколение исследователей генома, включающее академические и коммерческие организации, зачастую сосредоточивалось на изучении одного гена или одного заболевания. Сегодня секвенирование ДНК и анализ геномов настолько усовершенствовались, что медицинские и фармацевтические компании могут вынашивать идеи крупномасштабных проектов по секвенированию геномов сотен тысяч человек в поисках мельчайших генетических мутаций, влияющих на наш разум, состояние организма и долголетие.



В 2015 году президент Обама официально объявил в Белом доме о старте проекта «Инициатива в сфере точной медицины»

Хотя сегодня мы значительно лучше представляем себе генетическую подоплеку распространенных болезней, чем до реализации проекта «Геном человека», пока мы выиграли лишь одну битву, но не войну в целом. С 2007 года были достоверно установлены ассоциации примерно с сотней генов и других участков генома, при которых у человека могут развиваться воспалительные заболевания кишечника. Эта информация оказалась очень полезной, но встал другой вопрос: какие гены наиболее важны? Теперь

исследователям требовалось проанализировать список наиболее актуальных и интересных «генов-подозреваемых», и практически каждый из этих генов может стать потенциальной терапевтической мишенью. Хуже того, почти половина ассоциаций, которые можно воспроизвести экспериментально, находятся вне генов, в плохо изученных «пустынных» регионах генома. В некоторых случаях такие генетические варианты нарушают работу регуляторных участков, влияя на работу генов, расположенных очень далеко. Более того, совокупность всех генов, которые ассоциированы с тяжелыми соматическими заболеваниями, например болезнью Крона или диабетом, составляет малую долю всех генетических изменений у конкретного человека. Эта досадная неопределенность часто именуется термином, напоминающим заглавие детективного романа: «скрытая наследуемость». Мне грустно об этом говорить, но генетические находки не так хорошо помогают нам понять биологию заболеваний, как нам хотелось. Еще один пример – шизофрения, проблема, крайне актуальная для моей семьи. Однако генетические исследования этой болезни весьма сумбурны. В 1988 году группа лондонских ученых объявила, что в ходе анализа сцеплений им удалось картировать доминантный ген шизофрении, расположенный в 5-й хромосоме. Результаты этого исследования были опубликованы в журнале *Nature*, равно как и результаты дальнейших исследований, безапелляционно развенчавших это заявление. Давайте перенесемся вперед на двадцать пять лет: представители нового поколения исследователей объединились, чтобы проанализировать миллионы последовательностей у тысяч пациентов в поисках таких аллелей, которые связаны с риском развития шизофрении. На начальном этапе исследований в нем участвовало шесть тысяч пациентов, затем 20 тысяч, но увеличение испытуемых не приблизило нас к пониманию проблемы. Расширенное исследование 110 тысяч больных и добровольцев из контрольной группы показало, что на подобные ассоциации указывает около сотни маркеров ДНК. Наиболее сильный маркер связан с геном четвертого фактора системы комплемента (C4), более известного своей ролью в реализации протективных свойств врожденного иммунитета, но, что весьма интересно, выполняющего совершенно иную функцию, приводя к мутациям, изменяющим нейронную сеть и влияющим на синаптическую пластичность, необходимое условие для обучения и памяти. По-видимому, чем активнее этот ген, тем выше риск развития шизофрении.

Вполне возможно, что это и есть ключевая подсказка о сути патогенетического пути развития шизофрении, но позволит ли она

фармацевтам подступиться к созданию лекарства от этой болезни? Я отчаянно надеюсь, что так и будет. Все, о чем я сейчас говорю, всего лишь одно из проявлений фундаментальной проблемы, которая касается исследования всевозможных генетических заболеваний: как редких, так и распространенных. Как только мы найдем все или почти все аллели, обуславливающие эти болезни, возникнет другой вопрос: что делать дальше?

Иногда генетические болезни можно излечить без помощи новейших препаратов или специальной терапии, а просто поняв базовую причину такого заболевания. Возьмем, к примеру, один из наиболее изученных врожденных дефектов метаболизма, тот самый, из-за которого на некоторых продуктах, особенно на бутылках с газировкой, мелким шрифтом предупреждают: содержит фенилаланин. Фенилаланин – это аминокислота (один из основных первокирпичиков, слагающих белки), которая не усваивается людьми с генетическим расстройством под названием фенилкетонурия (ФКУ).

Эта история началась в Норвегии в 1934 году. Молодая мама была полна решимости выяснить, что же не так с двумя ее детьми четырех и семи лет, которые, казалось бы, родились совершенно здоровыми. Старший был плохо приучен к горшку и едва выговаривал несколько слов, а уж о полноценных предложениях не шло и речи. Врач и биохимик Асбьерн Феллинг выявил у этих детей любопытную биохимическую аномалию: у них в моче было слишком много фенилаланина. Асбьерн Феллинг обнаружил еще тридцать четыре таких случая в двадцати двух семьях по всей Норвегии и понял, что столкнулся с генетическим заболеванием.

На сегодняшний день уже известно, что ФКУ обусловлена мутацией в гене фенилаланингидроксилазы – это фермент, преобразующий фенилаланин в другую аминокислоту, тирозин. Это редкое наследственное заболевание, имеющее аутосомно-рецессивный путь передачи, в Северной Америке встречается примерно 1 раз на 10 тысяч человек. У детей, страдающих этой болезнью, фенилаланин накапливается в крови, тормозит развитие мозга и приводит к тяжелому отставанию в умственном развитии. Предотвратить заболевание просто: дети с ФКУ вырастают нормальными, если с самого рождения живут на диете, бедной фенилаланином, то есть с минимальным содержанием белка и без искусственно подслащенных напитков. Принципиально важно как можно раньше, лучше после рождения выяснить, рискует ли ребенок заболеть ФКУ. Роберт Гатри разработал простой анализ крови, позволяющий определить уровень фенилаланина, и неустанно продвигал его, пока анализ не вошел в

стандартную практику медицинского скрининга. С 1966 года в США у каждого новорожденного берут анализ крови из пятки и проверяют уровень фенилаланина. Тест Гатри, при котором не проверяется ни единой «буквы» ДНК, ежегодно позволяет выявить у миллионов младенцев редкие генетические заболевания, в том числе ФКУ. До появления этого анализа 1 % всех случаев умственной отсталости в США связывали с ФКУ; теперь выявляется всего несколько случаев в год.

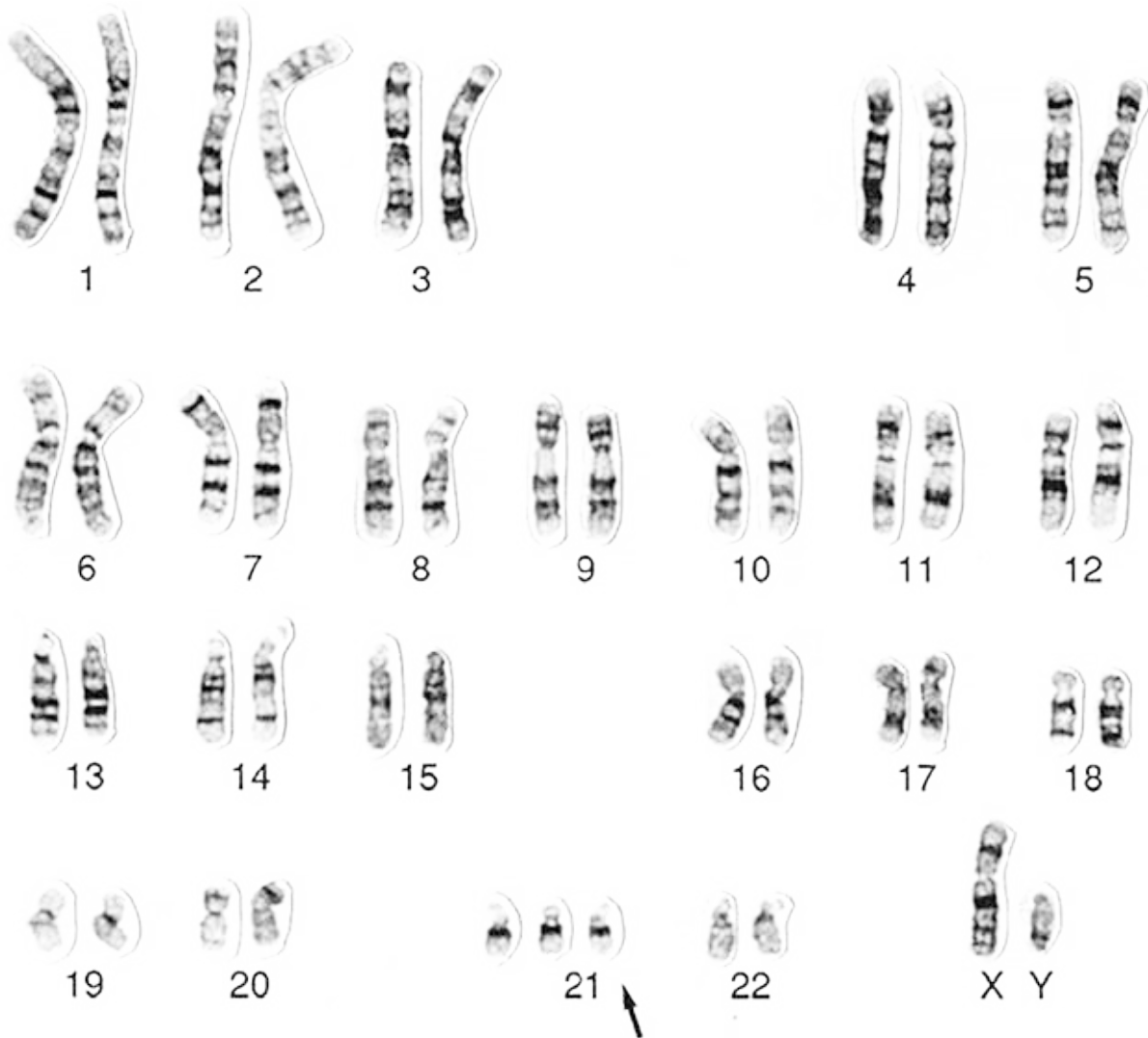
К сожалению, не по всем болезням и не во всех штатах проводится такой скрининг. В 2005 году Джим Келли, бывший квотербек в команде «Буффало Биллз» (американский футбол), и его жена Джил потеряли сына Хантера, который скончался от редкого генетического расстройства – болезни Краббе. Подобное заболевание показано в фильме «Масло Лоренцо», оно поддается лечению при условии ранней диагностики. Семья Келли основала фонд «Надежда Хантера», позволивший собрать миллионы долларов на исследование болезни Краббе и более полный скрининг новорожденных. Однако в масштабах такого огромного государства, как США, лишь в Нью-Йорке и еще нескольких штатах младенцев обязательно проверяют на болезнь Краббе, что является весьма постыдным фактом.

Через пятьдесят лет после появления теста забора крови из пятки у новорожденных Роберт Грин и его коллеги из Гарвардской медицинской школы запустили *Baby Seq* – рандомизированное клиническое исследование, в рамках которого планируется секвенировать геномы более сотни новорожденных и отследить в них 1700 заболеваний, начинающихся в детском возрасте. Для Гарварда это всего лишь небольшое клиническое исследование, но оно даст возможность совершить огромный скачок в оценке пользы от всеобщего скрининга новорожденных.

На 1950-е годы пришлось активное развитие цитогенетики – изучения хромосом под микроскопом. В диагностической практике этот подход показал, что при нарушении числа хромосом, когда их больше или меньше нормы, неизбежно возникают тяжелейшие болезни. Проблемы связаны с дисбалансом числа генов, то есть с отклонением от нормы «по два гена от каждого». Подобные расстройства не передаются по наследству, как миодистрофия Дюшенна или муковисцидоз, но все равно являются по сути генетическими; они возникают спонтанно при сбоях в клеточном делении и при образовании дефектных сперматозоидов и яйцеклеток.

Наиболее известная из таких болезней – синдром Дауна. Названа болезнь в честь Джона Лэнгдона Дауна, который в 1866 году впервые описал его характерные клинические признаки. «...Это [внешнее сходство] столь выраженное, что, если посадить таких детей бок о бок, сложно

поверить, что они из разных семей». Девяносто лет спустя французский врач Жером Лежен обнаружил, что у детей с синдромом Дауна по три экземпляра одной хромосомы (впоследствии выяснилось, что лишняя 21-я хромосома). Среди генетиков-профессионалов такое расстройство именуется «трисомия 21».



Трисомия 21 (синдром Дауна). Кариотип (полный набор хромосом), взятый у мужчины с синдромом Дауна. Обратите внимание на лишнюю 21-ю хромосому

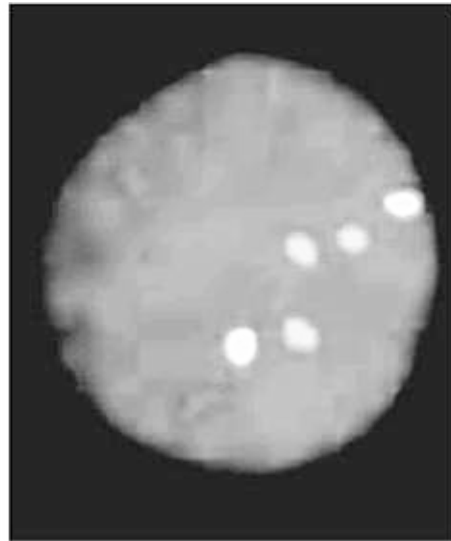
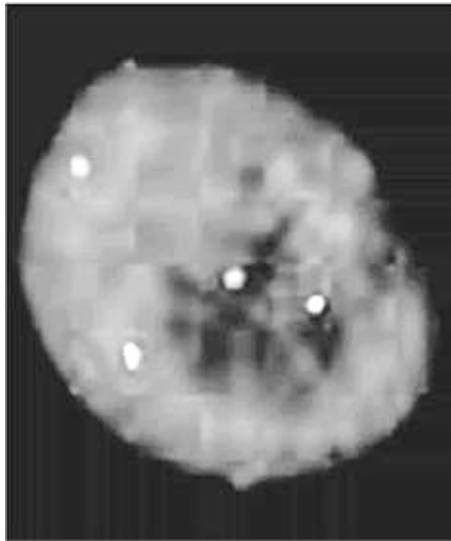
Чем старше мать, тем выше риск синдрома Дауна. Когда матери 20, вероятность родить такого ребенка составляет примерно 1:1700, когда 35 – уже 1:400, а в 45 достигает 1:30. Именно поэтому многие старородящие женщины выбирают пренатальную диагностику, позволяющую определить,

есть ли у плода тройная 21-я хромосома. Сегодня такой анализ входит в стандарт обследования беременных женщин старше 35 лет.

В Великобритании 30 % беременностей с синдромом Дауна обнаруживается при плановом тестировании у 5 % самых старородящих женщин. Этот метод выделяется своей высокой эффективностью по соотношению «число обнаруженных случаев на каждый потраченный фунт стерлингов», но что насчет остальных 70 % случаев синдрома Дауна? Неинвазивные методы являются альтернативными умеренно рискованным технологиям: амниоцентезу и биопсии хориона, – меняют профиль пренатальной диагностики. В конце 1990-х годов различные исследователи, в частности Деннис Ло из Китайского университета в Гонконге, показали, что ДНК плода можно обнаружить в плазме крови матери. Десять лет спустя Ло и группа ученых из Стэнфордского университета под руководством Стивена Квейка независимо показали, что анализ такой ДНК позволяет выявить трисомию 21. Процедура под названием «неинвазивное пренатальное тестирование» (NIPT) относительно проста: исследователь секвенирует 5–10 миллионов коротких произвольно взятых фрагментов ДНК из материнской плазмы, а затем сличает их с соответствующими хромосомами. Если в ДНК плода обнаруживается лишняя 21-я хромосома, то из 21-й хромосомы будет больше фрагментов, чем из других. Аналогично обнаруживаются трисомии и в других хромосомах, в частности в 13-й или 18-й. Такие трисомии вызывают соответственно синдром Эдвардса и синдром Патау, тяжелые генетические расстройства; ребенок с такими болезнями обычно умирает спустя несколько недель или месяцев после рождения. Другие трисомии летальны на пренатальном этапе, так прерывается около 30 % беременностей, и около половины подобных случаев прерывания беременности связаны с теми или иными хромосомными абберациями.

Точность и эффективность метода неинвазивного пренатального тестирования (NIPT) была доказана в ходе клинических исследований, и первый клинический анализ по такому методу диагностики был выставлен в 2011 году. Вскоре появились и другие, и NIPT стал стандартной диагностической пренатальной процедурой, которую обычно проходят на первых 10 неделях беременности. Увы, этот метод не абсолютно точен. В 2014 году в Атланте был зафиксирован первый «ложноотрицательный» результат NIPT: ребенок родился с синдромом Дауна, хотя диагностика показала, что плод здоров.

Пока скрининг ДНК плода, взятой из плазмы материнской крови, позволяет выявить лишь ограниченный набор генетических расстройств.



Флуоресцентное окрашивание, позволяющее определить число хромосом. Ядро клетки (синее) анализируется на присутствие 10-й хромосомы (голубая) и 21-й хромосомы (розовая). Слева показан нормальный кариотип, в котором по два экземпляра обеих этих хромосом; справа – кариотип, соответствующий синдрому Дауна (три 21-х хромосомы)



Симон – итальянский студент, страдающий синдромом Дауна. Снимок предоставлен Positive Exposure – некоммерческой организацией, цель которой – поддержка «особенных» людей, стремящихся вести нормальную жизнь

Однако, по мнению Джея Шендью (*Jay Shendure*), врача-исследователя из Вашингтонского университета, вскоре появится возможность считывать по такой ДНК всю геномную последовательность плода. Джей Шендью с коллегами предложили метод неинвазивного взятия образцов материнской

ДНК и сравнения этого материала с геномными последовательностями родителей. Так с высокой точностью удастся определить геномную последовательность плода. Проблемы остаются, но, как заявил Джей Шендью в беседе с журналистом *New York Times*, «...это уже не научная фантастика».

По мере того как генетические анализы становятся все более сложными, открывается ящик Пандоры с этическими дилеммами. Подоплека их далеко не ограничивается исходными проблемами, для решения которых разрабатывался анализ, а последствия касаются не только тех людей, которые такой анализ сдают. Ни в какой другой отрасли медицины эта проблема не проявляется так очевидно, как при генетических анализах в семьях с заболеваниями, передающимися по наследству, например миодистрофией Дюшенна, болезнью Хантингтона или муковисцидозом. Недавно мужчина в возрасте за двадцать попросил проверить его на болезнь Хантингтона. Его дед по отцу умер от этой болезни, а отец, которому было уже за сорок, решил не сдавать анализ, предпочтя, подобно Нэнси Векслер, жить с пятидесятипроцентной неопределенностью, а не знать наверняка. Поскольку болезнь Хантингтона обычно поражает пожилых, существовала вероятность, что и у отца есть такая мутация, просто симптомы еще не проявились. Молодой человек понимал, что у него вероятность^[19] такой мутации (и, соответственно, вероятность заболеть в будущем) составляет 1 к 4. Но он хотел знать, что его ждет. Проблема состоит вот в чем: если мутацию у сына обнаружат, то получить ее он мог только от отца, и, следовательно, отца болезнь неизбежно настигнет. Стремление сына доискаться генетической правды прямо противоречит нежеланию отца ее знать. Отец с сыном рассорились, и в конце концов, после долгих уговоров матери, сын отказался от анализа. Мать убедила сына в том, что его желание знать правду меркнет по сравнению с правом отца защититься от информации, которая может стать для того смертным приговором. Этот драматический пример показывает, как сильно генетический анализ отличается от любого иного. Любая информация, которую я могу узнать о моих генах, отразится на моих биологических родственниках независимо от того, хотят ли они ее знать или предпочитают скрыть.

Иногда такие следствия могут быть актуальны не для самих носителей мутации, а для их потомков. Синдром хрупкой Х-хромосомы – самое распространенное наследственное заболевание, приводящее к умственной отсталости. Кроме сниженного IQ, для больных этим синдромом характерно продолговатое лицо с выдающейся нижней челюстью и

оттопыренными ушами, а также гиперактивность и раздражительность. Как и миодистрофия Дюшенна, это расстройство сцеплено с X-хромосомой, но в отличие от миодистрофии Дюшенна поражает и женщин, и мужчин. Очевидно, одной нормальной копии гена недостаточно, чтобы полностью устранить эффект мутантного гена. Тем не менее у женщин эта болезнь протекает легче, чем у мужчин, а частота ее составляет 1:6000 у девочек против 1:4000 у мальчиков. Синдром фрагильной X-хромосомы обусловлен примерно такой же мутацией, как и болезнь Хантингтона: в ДНК повторяется триплет ЦГГ, и эти последовательности растягиваются, как гармошка, достигая патологической длины. У здорового человека от пяти до сорока экземпляров такого триплета, а у больного с синдромом ломкой X-хромосомы – двести и более. По непонятным причинам число таких повторов обычно увеличивается из поколения в поколение, и как только накапливается примерно 230 триплетов ЦГГ, ген больше не может синтезировать тРНК и, соответственно, перестает работать. Болезнь названа по характерной структурной непрочности X-хромосомы, вызванной всеми этими повторами.

По мере увеличения числа повторов из поколения в поколение заболевание становится все тяжелее, болезнь прогрессирует все раньше (этот феномен называется «антиципация»). Последние представители в роду, пораженном синдромом фрагильной X-хромосомы, обычно имеют максимальное число повторов и заболевают раньше, чем предки, от которых им досталась эта мутация. Следовательно, генетики могут выявить индивидов, обладающих «премутацией»: у них не так много повторов, чтобы это отразилось на здоровье, но достаточно, чтобы у их потомков развился синдром ломкой X-хромосомы, поскольку имеющаяся у носителя последовательность, вероятно, должна увеличиться. До сих пор неизвестно, как именно работает белок, кодируемый этим геном, но, по-видимому, он участвует в управлении трансляцией тРНК в белок в синапсах во время онтогенеза.

Я, будучи первым директором проекта «Геном человека», обеспечил финансирование исследований, которые помогают понять, как именно (к добру или к худу) повлияют на жизни миллионов людей те знания, что мы вскоре будем непрерывно получать при помощи секвенаторов ДНК. Исходно я выделил на это 3 % нашего суммарного бюджета (впоследствии эта цифра составила 5 %) и назначил Нэнси Векслер, носительницу болезни Хантингтона, главой совета ELSI, которой было поручено изучать этические, юридические и социальные последствия наших исследований. Одной из первых инициатив ELSI стал ряд пилотных исследований по

генетическому скринингу. Во времена, когда каждого новорожденного проверяют на предрасположенность к ФКУ, необходимо задаться вопросом, может ли медицина по каким-нибудь причинам не дать возможность человеку проверить себя на предрасположенность к муковисцидозу, миодистрофии Дюшенна, синдрому ломкой X-хромосомы и другим тяжелейшим человеческим заболеваниям, предсказать которые наука в состоянии. Такие вопросы мы ставили перед собой в начале 1990-х годов. Я думаю, что сегодня мы вседалеко ушли от пилотной стадии, несмотря на появление новых методов скрининга, в частности NIPТ.

Анализ на наличие дефектного гена, ответственного за миодистрофию Дюшенна и болезнь Хантингтона, обычно проводился лишь в тех семьях, где уже был хотя бы один больной. Такая практика применяется потому, что эти заболевания редкие, а исследования дорогие. Подобная социальная бухгалтерия – вещь спорная, однако данный аргумент абсолютно несостоятелен в случае муковисцидоза, анализ на который тоже применяется ограниченно. Причины этого мне не ясны. Как вы помните, муковисцидоз встречается с частотой 1:2500 – это одно из самых распространенных генетических заболеваний. Преодолены технические сложности, связанные с тестированием муковисцидоза, который может возникать почти из-за двух тысяч мутаций. Качество новых методов секвенирования повышается одновременно с их доступностью, чем открываются новые возможности для популяционного скрининга. И самое главное, прогресс в лечении муковисцидоза значительно увеличил ожидаемую продолжительность жизни больных; выглядит многообещающей молекулярная терапия, направленная против конкретных мутаций, вызывающих эту болезнь.

Несмотря на удручающее нежелание использовать все преимущества крупномасштабного генетического скрининга, в краткой истории этого метода уже найдутся наглядные примеры крайне успешных скрининговых программ в популяциях, где высок риск различных генетических расстройств.

Гемоглобинопатии – это болезни, вызванные теми или иными нарушениями в работе молекулы гемоглобина. К ним относятся, в частности, различные талассемии и серповидноклеточная анемия; считается, что это самый обширный класс генетических заболеваний; от 5 до 7 % всего населения Земли обладают мутациями такого рода. Как мы уже знаем, ген серповидноклеточной анемии поддерживался естественным отбором, поскольку его наличие сдерживает заболеваемость малярией. Ранее говорилось, что особенно часто гемоглобинопатии встречаются в

регионах, эндемичных по малярии. Аналогичные адаптивные преимущества объясняют закономерности распространения других гемоглобинопатий в регионах Африки и Средиземноморья. Некоторые мутации более характерны для конкретных этнических групп Африки и Средиземноморья, где бы сейчас ни жили их представители.

Так, целых 17 % представителей диаспоры греков-киприотов, проживающих в Лондоне, носители талассемий. При тяжелой форме заболевания у человека образуются неполноценные эритроциты, поэтому у больного увеличиваются печень и селезенка, и он рискует не дожить до совершеннолетия. Когда в 1974 году Бернадетт Модел из Медицинской школы Университетского колледжа Лондона запустила программу по систематическому скринингу на предмет этого заболевания, лондонская киприотская община отнеслась к этому с энтузиазмом – киприоты как никто другой понимали всю серьезность этого недуга, который с давних времен так пагубно отражался на их жизни. Аналогичная программа на острове Сардиния позволила радикально снизить частоту талассемий – с 1:250 до 1:4000.

Евреи-ашкеназы – еще одна группа, на себе испытавшая, какими бедами чревата смертельно опасная мутация в изолированной общине. Болезнь Тея – Сакса – жуткий недуг, который встречается у ашкеназов в сто раз чаще, чем в большинстве нееврейских популяций. Дети с болезнью Тея – Сакса рождаются на вид здоровыми, но постепенно развитие ребенка затормаживается, и он слепнет. Примерно в двухлетнем возрасте его начинают мучить судороги. Дегенерация продолжается до тех пор, пока ребенок не умирает примерно в четырехлетнем возрасте, слепой и парализованный. Остается загадкой, почему болезнь Тея – Сакса так часто встречается среди ашкеназов. Возможно, все дело в том, что они сначала миновали генетическое «бутылочное горлышко» (оценочно около IX–X века), а затем дрейф генов оказал влияние на генофонд относительно небольшой группы евреев, которые откололись от основного этноса и дали начало ашкеназам во времена Второго рассеяния. Аналогичный феномен объясняет, почему такая мутация аномально часто встречается среди франкоканадцев в Квебеке и среди каджунов в штате Луизиана; эта смертоносная мутация скорее всего могла присутствовать в небольшой группе отцов-основателей этих популяций. Альтернативное объяснение связано с преимуществом гетерозигот: так, носитель рецессивного гена болезни Тея – Сакса может обладать повышенной устойчивостью к туберкулезу. Возможно, это преимущество особенно пригодились европейским евреям, исторически селившимся в густонаселенных

центральных городских кварталах, где свирепствовало это заболевание.

Причина болезни Тея – Сакса была обнаружена в 1968 году, когда выяснилось, что эритроциты больных переполнены ганглиозидом GM2. Это вещество – важнейший компонент клеточной мембраны, и у здорового человека избыточный ганглиозид расщепляется за счет синтеза фермента гексозаминидазы А – химического катализатора-посредника, находящегося в лизосомах и принимающего участие в утилизации ганглиозидов в ЦНС. В 1985 году Рэйчел Майеровиц вместе с коллегами из Национальных институтов здравоохранения удалось выделить ген, кодирующий фермент-гексозаминидазу А, и показать, что у пациентов с болезнью Тея – Сакса он действительно отсутствует из-за генетического дефекта, вызываемого мутацией гена HEXA, ответственного за синтез этого фермента.

При положительном диагнозе в ходе пренатального скрининга остается единственный выход: прерывание беременности, а среди ортодоксальных евреев-ашкеназов аборт запрещен. К счастью, можно обследовать потенциальных родителей. Поскольку такое решение было морально приемлемо, именно эта программа и была развернута для семейных пар. Четверо из десяти детей у рабби Джозефа Экштейна из Нью-Йорка умерли от болезни Тея – Сакса прямо у него на глазах. В 1983 году он основал программу Дор Йешорим, «род правых», в рамках которой представители местной ортодоксальной еврейской общины делают тест на болезнь Тея – Сакса. Молодых людей мотивируют бесплатно сдавать такой анализ в школах и колледжах в специально назначаемые дни. Программа исключительно конфиденциальна; даже самому тестируемому не сообщают, является ли он носителем гена; по результатам анализа он получает лишь кодированный номер. Если впоследствии двое молодых людей подумывают вступить в брак, они связываются с Дор Йешорим и называют свои номера. В том случае, если оба потенциальных супруга являются носителями гена, им об этом сообщают и предлагают прийти на консультацию. Такое разглашение по принципу «действительной необходимости» практикуется для того, чтобы носители гена не становились изгоями, однако угрозу болезни Тея – Сакса можно было бы предотвратить.

К настоящему времени в рамках программы Дор Йешорим проверено более 200 тысяч человек и обнаружены сотни пар, относящихся к группе риска, такие мероприятия привели к тому, что сейчас в Северной Америке почти не рождается детей с этой болезнью. Тем не менее некоторые усматривают принуждение в сути самой этой программы: всех молодых

людей вынуждают сдавать анализ, а строгие рекомендации многим кажутся столь угрожающими, что некоторые пары даже решают не вступать в брак. Оппоненты заклеили инициативу рабби Экштейна как «евгенику» (хотя нигде и никогда это слово не имеет такой порочной коннотации, как в еврейском сообществе), однако подобная демагогия едва ли меняет ключевой факт: эта программа действительно пользуется активной поддержкой в той целевой аудитории, для которой предназначена. Реализованная программа Дор Йешорим продемонстрировала, что, с одной стороны, можно уважать культуру, а с другой – успешно участвовать в медицинском скрининге, позволяя программе работать даже в такой ситуации, когда обычаи и религиозные каноны кажутся совершенно несовместимыми с генетическими анализами.

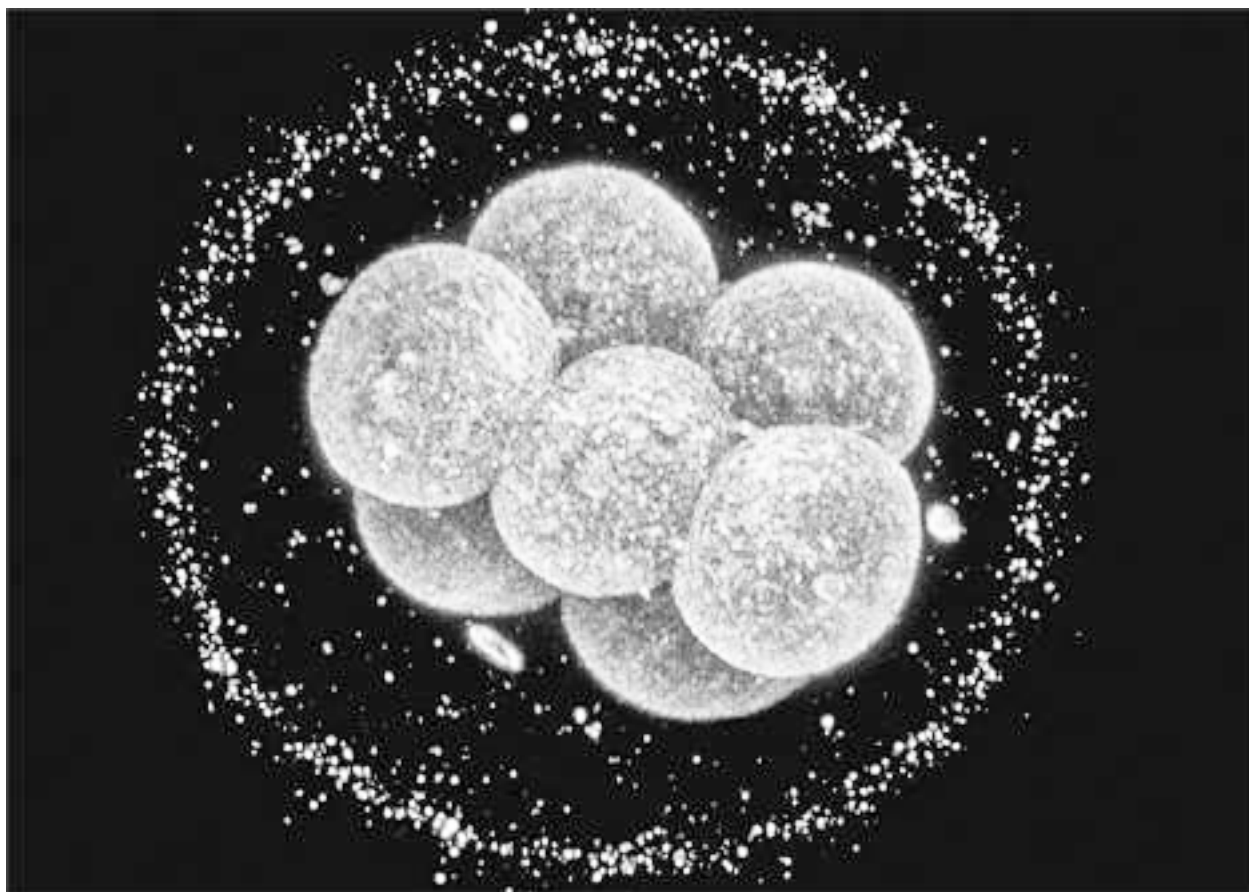
Пренатальный скрининг оборачивается жестким выбором для любой беременной женщины, которая получила положительный результат после проверки на генетическое заболевание: прерывать или не прерывать? Амниоцентез обычно невозможен, пока плоду нет пятнадцати недель, и поэтому прерывание беременности на поздних сроках получается еще более травматичным. На данном этапе при аборте уничтожается не ровненький многоклеточный шарик, а миниатюрное существо, которое вполне можно рассмотреть на УЗИ. Для многих родителей было бы бесконечно предпочтительнее принимать такие тяжелые решения по итогам генетического анализа на более ранних этапах развития плода. Именно поэтому была изобретена преимплантационная генетическая диагностика (ПГД).

Роберт Уинстон, профессор естественных наук и социологии в Имперском колледже Лондона, является ведущим гинекологом-микрохирургом и одним из самых известных на британском телевидении популяризатором науки и биомедицинских исследований. Будучи исключительно разносторонним человеком, он находит время (как лорд Уинстон Хаммерсмитский) заседать в парламенте и консультировать правительство по вопросам его компетенции. Комбинируя две ультрасовременные технологии – экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО^[20]) и ДНК-диагностику на основе реакции ПЦР, – Роберт Уинстон первым применил метод, позволяющий проверить генетическое состояние эмбриона еще до того, как он прикрепится к стенке матки. После ЭКО несколько продуктов зачатия выращиваются в чашке Петри, пока каждая оплодотворенная яйцеклетка не поделится три-четыре раза и не превратится в шарик из восьми-шестнадцати клеток. У каждого эмбриона аккуратно берутся одна-две клетки, так называемые бластомеры, и из них

извлекается ДНК, которая затем при помощи ПЦР-реакции используется для амплификации нужной генетической последовательности и проверки, есть ли в геноме искомая мутация. После этого родителям могут подсаживать только те эмбрионы, проверка которых не выявила генетических заболеваний.

В ходе первых ПГД-анализов, выполнявшихся в 1989 году, проверяли только пол плода – это важная информация, поскольку существует риск генетических расстройств, сцепленных с полом, к которым относится, например, миодистрофия Дюшенна. Так, мать, являющаяся носителем этого гена, может выбирать лишь эмбрионов-девочек, учитывая, что их болезнь не затронет, хотя они и могут быть ее носительницами. Коллега Уинстона Алан Хендисайд и другие впоследствии расширили область применения ПГД, научившись находить при помощи таких анализов конкретные мутации. В 1992 году этот метод был впервые применен для скрининга муковисцидоза, генетической болезни, не сцепленной с полом.

Поскольку синдром ломкой Х-хромосомы может поражать как мальчиков, так и девочек, данное расстройство, естественно, рассматривается в качестве следующей цели для преимплантационной генетической диагностики. Однако пострадавшим родителям, знающим, как тяжело растить ребенка с такой болезнью, все равно потребовалось применить все свое влияние, чтобы врачи наконец взяли за решение этой задачи. У Дебби Стивенсон, ранее работавшей продюсером теленовостей, есть сын Тейлор, которому диагностировали синдром ломкой Х-хромосомы лишь после того, как мать родила его младшего брата Джеймса. Хотя Джеймс, по счастью, выиграл в «рулетку 50/50» и оказался здоров, Стивенсоны опасались снова испытывать судьбу и заводить третьего ребенка. Тогда они решили попробовать метод ПГД. «Некоторые считают, что неэтично выбирать только здоровые эмбрионы, – говорит Дебби Стивенсон, – но я считаю, что это лучше, чем принимать душераздирающее решение о прерывании беременности, когда уже точно знаешь, что твой ребенок родится тяжело больным». Сейчас в семье Стивенсонов трое здоровых детей, не унаследовавших разрушительной болезни Тейлора.



Восьмиклеточный эмбрион

Репродуктивная биология человека кажется неисчерпаемым источником противоречий, а тема, подразумевающая манипуляции над человеческими эмбрионами, по определению взрывоопасна. Преимплантационная генетическая диагностика – не исключение. Тем не менее в последние годы область ее применения расширилась, охватив тысячи редких патологических генов, метод полностью доказал свой потенциал мощного орудия для борьбы с генетическими болезнями. Генетик Марк Хьюз является основателем детройтской клиники под названием *Genesis Genetics*, предлагающей анализы по всем известным менделевским моногенным заболеваниям, и в частности по болезни Тея – Сакса, миодистрофии Дюшенна, болезни Хантингтона и тысячам других. Кто-то считает, что Хьюз играет с огнем, предлагая ПГД по патологическим генам, которые включаются лишь в зрелом возрасте: ген *BRCA1*, гены, вызывающие болезнь Альцгеймера с ранним началом, гены, связанные с раком прямой кишки. На замечания и выпады Марк Хьюз говорит: «Я стремлюсь наладить работу диагностической лаборатории, а не руководить курсом по этике. Мне не нужно быть полисменом... Оказывается, люди

весьма здраво рассуждают о том, зачем им терпеть такие мытарства, чтобы завести ребенка». Хотя Марк Хьюз вспоминает одну пару, где оба супруга страдали наследственной глухотой. Они заказали у Хьюза ПГД, но хотели не здорового ребенка, а такого же глухого, как и они сами. Хьюз отказал им в диагностических мероприятиях.



Семья Дебби Стивенсон. Старший сын Тейлор болен синдромом хрупкой Х-хромосомы. Преимплантационная диагностика показала, что малышка Саманта не унаследует этой болезни

Другая область, в которой эффект ПГД оказался столь же примечательным, но не менее противоречивым, – это работа с так называемыми детьми-спасителями. В августе 2000 года Лиза и Джек Нэш радовались рождению сына, Адама. Перед этим они прошли ПГД, поскольку ранее их единственная дочь Молли родилась больной. Она страдала анемией Фанкони. Адам не только был здоров и не имел анемии Фанкони, его эмбрион был выбран на основе того, что его костный мозг идеально подходил Молли по системе главного комплекса гистосовместимости и в случае необходимости Адам мог бы стать для сестры донором этой ткани и спасти ей жизнь. В Великобритании и в других странах идея подобрать эмбрион как источник «запчастей» для уже имеющегося ребенка многим кажется аморальной. Вопрос спорный, поскольку потенциальное излечение для больного брата или сестры – это как раз тот результат, о котором можно только мечтать.

Значение ПГД трудно переоценить, особенно если семья подвержена генетической болезни из поколения в поколение. Как быть, если таких болезней в семейной истории нет? В 2007 году Энн Моррисс и ее друг, профессор из Гарвардской бизнес-школы, решили создать семью. Они выбрали в банке спермы биоматериал от донора с чертами, которые их устраивали, – так, Моррисс хотела человека с хорошим чувством юмора. Однако в банке спермы почти не дают информации о генетическом скрининге доноров. Исключают только такие факторы риска, как муковисцидоз, серповидноклеточная анемия и болезнь Тея – Сакса. Беременность протекала хорошо, но вскоре после рождения сына Алека Моррисс позвонил врач и тревожно спросил, каково здоровье ее сына, сообщив, что ему угрожает смертельная опасность. Скрининг новорожденного показал, что у Алека редкое наследственное рецессивное заболевание, встречающееся примерно 1 раз на 17 тысяч человек: недостаточность среднецепочечной дегидрогеназы жирных кислот (MCAD). Несмотря на всю ничтожность такого шанса, Адек унаследовал мутантные гены и от Энн (у которой в семейном анамнезе не было случаев этой болезни), и от анонимного донора спермы. Ген кодирует фермент под названием «среднецепочечная дегидрогеназа жирных кислот», обеспечивающий расщепление жиров и извлечение из них энергии. К счастью, результаты поступили в больницу вовремя, еще до того, как у

Алека начались какие-либо физические проблемы. С болезнью можно справиться, если пациент с самого раннего детства будет принимать пищу регулярно – раз в пару часов. Этот жизненный опыт одновременно и потряс, и разбередил душу Энн.



Энн Моррисс, генеральный директор компании GenePeeks, делает ставку на потенциал виртуального потомства

Энн Моррисс вместе с генетиком Ли Силвером из Принстонского университета основали диагностическую компанию *Gene Peeks*, цель которой – сообщать потенциальным родителям генетическую информацию об их будущих, еще не зачатых детях. Алгоритм, разработанный Ли Силвером, моделирует «виртуальное потомство», совмещая на компьютере

ДНК двух человек. Примерно за тысячу долларов *GenePeaks* может спрогнозировать, в каких парах существует повышенный риск рождения детей с какими-либо из тысячи генетических заболеваний. Зная результаты, будущие родители могут воспользоваться ПГД либо взять сперму или яйцеклетки у доноров. Ли Силвер всерьез заявляет: «Предвижу, что в будущем люди будут размножаться без секса – это слишком опасный для размножения метод».

Все расстройства, которые мы здесь рассмотрели, «просты» с генетической точки зрения: они возникают из-за мутации в единственном гене, и ваши шансы заболеть подобным недугом никак не зависят от условий окружающей среды. Выше мы обсуждали рак груди – болезнь, где основной эффект дают конкретные варианты генов, независимо от внешних иницирующих факторов. Мало найдется расстройств, вселяющих такой ужас, как болезнь Альцгеймера, каждый год выхватывающая из жизни все больше людей, которых ждет чудовищная физическая и умственная немощь. Этим синдромом страдают более пяти миллионов американцев. На поздних стадиях болезни человек не понимает, кто он и где находится, не узнает даже ближайших родственников. Поскольку болезнь неотвратимо разрушает память и самосознание, человек разрушается как личность.

Как правило, первые признаки болезни Альцгеймера проявляются в возрасте около 60 лет, но иногда (5 % всех случаев) болезнь приходит уже после сорока. В 1995 году были обнаружены три гена, вызывающих болезнь Альцгеймера с ранней манифестацией. Все они так или иначе связаны с переработкой запасов белка амилоида, который накапливается в мозге у больного; это еще в 1906 году заметил доктор Алоис Альцгеймер, впервые описавший болезнь. На сегодняшний день совершенно очевидно, что болезнь Альцгеймера с ранним началом явно передается по наследству. А что известно насчет более распространенной разновидности этой патологии?

Покойный Аллен Роузес из Университета Дьюка исследовал гораздо более знакомую врачам и распространенную форму болезни Альцгеймера с поздним началом, которая иногда также встречается в разных поколениях одной и той же семьи. Так, Рональд Рейган, объявивший о своей болезни в 1994 году и умерший десять лет спустя, также потерял мать и брата Нила, скончавшихся от болезни Альцгеймера с поздним началом. Аллен Роузес, получивший квалификацию невролога, приступил к поискам в 1984 году. В 1990 году он заявил, что один из генов 19-й хромосомы, по-видимому, коррелирует с болезнью, но его слова восприняли скептически. Однако

ничто так не подталкивало Роузеса к продолжению работы, как возможность доказать неправоту оппонента. Два года спустя он действительно идентифицировал критически важный ген, кодирующий аполипопротеин Е – белок, связанный с переработкой холестерина. Существуют три формы (аллеля) гена: *APOE2*, *APOE3* и, самая важная, *APOE4* – даже если у человека всего одна копия такого аллеля, вероятность получить болезнь Альцгеймера увеличивается в четыре раза. Человек с двумя копиями в 10 раз сильнее подвержен риску, чем люди, вообще не имеющие аллеля *APOE4*. Аллен Роузес обнаружил, что у 55 % людей с двумя копиями аллеля *APOE4* к 80 годам развивается болезнь Альцгеймера. При этом у множества людей, обладающих двумя копиями *APOE4*, болезнь Альцгеймера не случается. Однако скрининг на *APOE4* в комбинации с клиническими обследованиями действительно повышает точность диагностики болезни Альцгеймера. В главе 8 я упоминал, что, поскольку ген *APOE4* как таковой не является предвестником болезни Альцгеймера, для себя я не пытался выяснить, сколько у меня копий этого аллеля. Поэтому мой статус относительно гена *APOE4*, в отличие от всех остальных генов в моем геноме, остается абсолютной тайной для всех – в том числе и для меня.

Что же насчет лечения большинства генетических заболеваний? Мы уже достаточно знаем о многих из них, чтобы проводить раннюю диагностику, возможно, избегать, но почти не умеем их лечить. К счастью, в отдельных случаях наши генетические поиски помогли победить болезнь до конца и подобрать для некоторых заболеваний эффективную терапию.

Одна из наиболее воодушевляющих и свежих историй: борьба с распространенным заболеванием – высоким уровнем холестерина. По иронии судьбы этот этап связан с поиском редких мутаций у человека и, можно сказать, является побочным продуктом поиска. «Из всех интригующих последовательностей ДНК, о которых “проболтался” геном человека, – писал Стивен Холл, – наиболее многообещающей, пожалуй, выглядит мутация гена *PCSK9*, способная быстро и масштабно повлиять на здоровье человека». Липопротеин низкой плотности, так называемый «плохой» холестерин, выводится из кровотока рецепторами липопротеинов низкой плотности, расположенными на поверхности клеток печени. Такое взаимодействие регулирует белок под названием пропротеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9 (*PCSK9*), имеющий сродство к рецептору липопротеинов низкой плотности. В 2003 году исследователи сообщили, что у пациентов с редкой формой гиперхолестеринемии в гене *PCSK9* обнаружена мутация «с приобретением функции»: ген

продуцировал слишком много такого белка, блокируя, таким образом, работу рецептора и мешая ему связывать «плохой» холестерин. Хелен Хоббс из Юго-Западного медицинского центра Техасского университета заключила, что снижение уровня рецептора липопротеинов низкой плотности вызывает пониженный метаболизм липопротеинов низкой плотности, что может привести к гиперхолестеринемии. Для проверки этой гипотезы Хелен Хоббс обследовала пациентов, участвовавших в кардиологическом исследовании Dallas Heart Study. Она пришла к выводу, что некоторые мутации гена *PCSK9* могут приводить как к увеличению, так и к снижению холестерина крови. Мутации, которые нарушают связывание *PCSK9* с липопротеинами низкой плотности, приводят к увеличению эффективности работы рецептора и, как следствие этого, к понижению концентрации холестерина в крови. У таких носителей наблюдается пониженный холестерин липопротеинов низкой плотности и снижение риска инфаркта миокарда и другой сердечной патологии. Наиболее ярко эффект такого рода проявлялся среди афроамериканцев. Более того, она нашла одну здоровую женщину – афроамериканку, тренера по аэробике, которой было уже за сорок, гомозиготную по признаку мутации *PCSK9*. Белок *PCSK9* у нее вообще не образовывался, а уровень холестерина составлял всего 14 мг/дл.

Убедившись, что генетическое типирование с *PCSK9* в качестве мишени позволяет радикально снизить «плохой холестерин», фармацевтические компании принялись наперегонки разрабатывать лекарства, которые могли бы работать точно таким же образом. За десять лет было создано и одобрено два препарата направленного механизма действия с использованием моноклональных антител: один произвела компания *Amgen*, другой был совместным продуктом *Regeneron* (США) и *Sanofi* (Франция). Ожидается, что эти и подобные вещества станут фармацевтическими блокбастерами, востребованными не менее, чем статины (группа препаратов, действие которых направлено на снижение уровня холестерина в крови).

Довольно часто генетические заболевания приводят к прогрессирующему отмиранию клеток в той или иной ткани. При миодистрофии Дюшенна это происходит с мышцами, при болезни Хантингтона и Альцгеймера – с нервными клетками. Подобный патологический распад пока предотвратить невозможно. Пока мы в самом начале долгого пути, хотя мне порой кажется вполне вероятным, что со временем мы научимся лечить такие болезни при помощи технологии стволовых клеток. Большинство стволовых клеток в организме способны

порождать лишь сами себя: так, из стволовой клетки печени может вырасти лишь полноценная клетка печени, но некоторые из них могут давать различные специализированные типы клеток. Простейший пример – свежеоплодотворенная яйцеклетка; это стволовая клетка с максимальным потенциалом. В итоге из нее образуются клетки всех известных типов, у человека их различают две сотни или более. Соответственно, стволовые клетки удобнее всего получать из эмбрионов; у взрослых они тоже встречаются, но такие стволовые клетки лишены эмбриональной способности превратиться в клетку любого типа. Работа по освоению потенциала этих многофункциональных клеток, по определению, связана с уничтожением эмбрионов. Из-за этических возражений против такой практики появились ограничения на выращивание новых линий стволовых клеток, из-за чего клеточного материала для таких исследований всегда не хватало. Наконец, в мае 2009 года эти ограничения были сняты специальным исполнительным указом по результатам опросов, отражающих волю большинства американцев.

Любой атеист согласится, что случится настоящая трагедия, как для науки, так и для всех, кто мог бы излечиться при помощи стволовых клеток, если исследования в этой области станут тормозиться из-за протестов религиозного характера. Однако дискуссии на морально-этические темы возникают повсеместно, и их исход прогнозировать весьма затруднительно. К счастью, последние исследования показывают, что существуют и альтернативные способы добиться многофункциональности стволовых клеток, не требующие уничтожать эмбрионы. Важнейшее достижение произошло в 2006 году, когда Синья Яманака и его коллеги из Киотского университета в Японии продемонстрировали четыре фактора транскрипции, способные менять закономерности регуляции генов и перепрограммировать клетки взрослого организма, превращая их в стволовые. Всего через шесть лет Яманака был удостоен Нобелевской премии за это открытие. Гарвардский ученый Дуг Мелтон, специализирующийся на биологии развития, посвятил свою карьеру исследованию стволовых клеток после того, как его сыну Сэму диагностировали диабет I типа. В 2014 году группа Мелтона сообщила, что из человеческих эмбриональных стволовых клеток удалось синтезировать β -клетки поджелудочной железы, которые были вживлены мышам и стали в их организме вырабатывать инсулин. СМИ поторопились, возвестив о прорыве в лечении диабета, думаю, потребуются годы клинических исследований, прежде чем эти надежды воплотятся в реальность.

На сегодняшний день лечение генетических заболеваний не вышло на

уровень полноценной замены старых клеток на новые, выращенные из стволовых. Тем не менее мы уже умеем обеспечивать человека недостающими белками. Болезнь Гоше – редкое расстройство, встречающееся с частотой примерно 1:50 000. Оно возникает из-за мутации в гене глюкоцереброзидазы, приводящей к его недостаточности, которая в свою очередь приводит к накоплению глюкоцереброзида во многих тканях, включая селезенку, печень, почки, легкие, мозг и костный мозг. В 1994 году биотехнологическая компания *Genzyme*, воспользовавшись рекомбинантными методами, приступила к производству модифицированной разновидности фермента, который позволил бы обеспечить пациентов с дефектным геном этим жизненно важным белком.

Метод заместительной ферментной терапии не просто осуществим, но и весьма эффективен. Однако лечение обходится дорого, около 300 тысяч долларов в год. В 2014 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрило разработанный *Genzyme* пероральный препарат для лечения некоторых форм болезни Гоше, но стоимость его остается крайне высокой. Биотехнологические компании отстаивают право высокой цены на препараты, направленные против так называемых орфанных (очень редких) заболеваний, мотивируя это высокой стоимостью этапов разработки лекарств, необходимостью инвестирования в научно-исследовательские и опытно-конструкторские технологии и поддержание бизнеса на устойчивом уровне. Специалисты по патентному праву и некоторые политики считают, что отдельные компании просто «задирают цены», являясь монополистами.

Естественно, генетики давно мечтают разработать методы, которые позволили бы устранить проблему в корне, а не просто смягчить ее эффекты. Идеальное лечение генетических болезней, внесение тех или иных генетических изменений, исправление проблемных генов. Результаты такого лечения будут сохраняться пожизненно: излечив болезнь, мы устраним ее окончательно. Для этого существуют, по крайней мере в принципе, два метода: соматическая генная терапия, при которой мы меняем гены прямо в клетках пациента, и терапия зародышевой линии, когда мы работаем с генами в сперматозоидах и яйцеклетках пациента, не допуская передачи вредных мутаций следующему поколению.

Идея генетической терапии в обществе широкой поддержкой не пользуется. Если общество настороженно относится к генетической модификации кукурузы, можете себе представить, какой отпор встречает идея создания трансгенных людей – генно-модифицированных гуманоидов,

если хотите, – при всей ее потенциальной пользе. Также ожидаемо, что еще более громкие претензии выдвигаются по поводу генетического изменения зародышевой линии из-за этических опасений по поводу перманентного изменения нашей генетики и рисков, связанных с повреждением генов при манипуляциях с ДНК. При соматической генетической терапии такой ущерб можно ограничить, но при работе с зародышевой линией, в принципе, возможно случайно повредить жизненно важный ген и породить неполноценного человека. Даже поборники генных методов терапии, именно к таким я себя отношу, никогда не станут выступать за распространение таких процедур, пока не будет доказана их полная безопасность. Многие ученые считают, что за генетическую терапию зародышевой линии вообще не следует браться. До недавних пор такие споры оставались чисто академическими: генетическая терапия зародышевой линии была технически невозможна. Все изменилось с появлением новой технологии CRISPR, о которой я расскажу чуть ниже. Пока давайте поговорим о злоключениях, связанных с соматической генетической терапией.

Первый бесспорный практический успех генетической терапии относится к 1990 году и является заслугой Френча Андерсона, Майкла Блеза и Кена Кулвера из Национальных институтов здравоохранения. Они решили поработать с очень редким расстройством, именуемым аденозиндезаминазной недостаточностью, при котором не образуется фермент аденозиндезаминаза (*adenosine aminohydrolase*, ADA), что обуславливает тяжелую форму иммунодефицита, тип наследования – аутосомно-рецессивный. Молекула аденозиндезаминазы является бифункциональной и, с одной стороны, участвует в регуляции синтеза предшественников нуклеиновых кислот, а с другой – определяет структуру рецептора интерлейкина-2, важнейшего цитокина, обеспечивающего кооперацию Т- и В-клеток в иммунном ответе. В эксперименте участвовали две маленькие девочки с подобным заболеванием: четырехлетняя Ашанти де Силва и девятилетняя Синди Катшелл.

Как внедрить новый ген в клетки пациента? На тот момент казалось логичным сделать это при помощи ретровирусов. Как правило, эти вирусы сравнительно мягко и нетравматично обращаются с клеткой-хозяином: вирус размножается, не разрушая клетку. При помощи генной инженерии ученые создали ретровирусы, которые максимально безопасны для использования при генетической терапии. У них удалены все гены, кроме тех, что абсолютно необходимы для встраивания в геном клетки-хозяина.

Однако как нацелиться лишь на клетки, затронутые мутацией, те, в

которых нужно заменить ген? Для первого, пилотного испытания генетической терапии аденозиндезаминазная недостаточность была выбрана удачно: те иммунные клетки, которые нуждаются в коррекции при этой болезни, легко доступны, так как присутствуют в кровотоке в значительном количестве. Команде Андерсона удалось извлечь из крови девочек миллионы лимфоцитов, культивировать их, затем инфицировать ретровирусом, несущим функциональную копию гена. После инкорпорации в естественную клеточную ДНК гена-заменителя клетки пациента можно было повторно ввести в организм.

В сентябре 1990 года Ашанти де Силва первой прошла эту процедуру, а Синди Катшелл четыре месяца спустя. Обе получали инфузию генетически измененных иммунных клеток раз в несколько месяцев. Параллельно обе продолжали проходить негенетическую терапию по замене ферментов, но в меньших дозах: считалось слишком опасным испытывать на девочках новые методы лечения без такой подстраховки. По-видимому, эксперимент стал работать: иммунитет у обеих улучшился, они стали лучше справляться с инфекциями. Могу лично подтвердить, что Синди выглядела весьма здоровой одиннадцатилетней девочкой, когда в 1992 году вместе с семьей побывала у меня в лаборатории Колд-Спринг-Харбор. Сегодня обе эти женщины здоровы; для своих семей они героини, сыгравшие историческую роль в развитии генетической медицины, пусть даже оба случая слишком неоднозначны, чтобы считать их бесспорным успехом генетической терапии.



Синди Катшелл – одна из первых пациенток, прошедших генетическую терапию. Побывав в лаборатории Колд-Спринг-Харбор, она прислала рисунок, где я был изображен за работой

Клинические испытания с участием Катшелл и де Силва были проведены через десять лет после первого в истории эксперимента по генетической терапии. Этот эксперимент окончился неудачей и породил такие серьезные противоречия, что правительство США убило это новое начинание в зародыше. Мартин Клайн был умным и амбициозным врачом,

стремившимся облегчить страдания своих пациентов, особенно тех, кто страдал β -талассемией. После успешных экспериментов на животных Клайн обратился в наблюдательный совет Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе (именно в этом университете он и работал), запросив разрешения опробовать на людях генетическую терапию с применением нерекомбинантной ДНК. В то время как его заявка находилась в стадии рассмотрения, нетерпеливый Мартин Клайн договорился о том, чтобы применить свои методы для лечения двух женщин за пределами США (в Израиле и в Италии), при этом воспользовался рекомбинантными генами. Одобрения Национальных институтов здравоохранения США получено не было. Вернувшись в Лос-Анджелес, Клайн узнал, что его просьбу отклонили. И не мудрено. Он нарушил практически все ранее существовавшие правила: без разрешения лечил пациентов и пользовался при этом однозначно запрещенными методами. В результате Мартин Клайн лишился федерального финансирования и был вынужден уйти с поста руководителя своего отдела. Генетическая терапия потеряла своего первого практика.

Случай с Клайном, конечно, оказался не последним, когда ученые, пытавшиеся применять генетическую терапию, действовали наперекор социальным регуляторам. К сожалению, только смерть пациента в ходе клинического испытания оказалась достаточно веским доводом, чтобы донести печальную истину: генетическая терапия опасна, поэтому требуется строгий надзор за всеми процедурами, связанными с лечением людей. Джесси Джелсинджер умер не только из-за того, что наших знаний было недостаточно, чтобы с полной уверенностью спрогнозировать реакцию конкретного организма на генетическую терапию, но и потому, что ученые позволили себе непозволительную служебную небрежность.

В 1999 году Джесси Джелсинджер, юноша из Аризоны, узнал об эксперименте, который проводил Джеймс Уилсон, директор Института генетической терапии при Пенсильванском университете. Джелсинджер страдал недостаточностью орнитинтранскарбамилазы (ОТС), наследственным заболеванием, при котором печень не способна перерабатывать мочевины, естественный продукт белкового обмена веществ. Эта болезнь смертельна, если ее не лечить, и, хотя у Джелсинджера была лишь легкая форма, он вызвался добровольцем, надеясь, что с его помощью будет найдено лекарство для себя и для других. В лечебной программе Пенсильванского университета в качестве генотерапевтических векторов использовали аденовирусы (один из вирусов этой группы вызывает простуду). Но через несколько часов после того, как

вирусы внедрили нормальный ген орнитинтранскарбамилазы в клетки печени Джелсинджера, у того началась лихорадка. За действиями генетиков последовала крайне тяжелая инфекция, сопровождавшаяся тромбообразованием и печеночными кровотечениями. Через три дня после инъекции Джесси Джелсинджер умер.

Смерть юноши шокировала не только его семью, но и все исследовательское сообщество. Подробный ретроспективный анализ показал, что, хотя ранее в том же исследовании у двух пациентов наблюдались признаки печеночной интоксикации, об этих случаях не сообщили в регулирующие органы, кроме того, скрыли эту информацию от всех добровольцев, участвовавших в исследовании. Трагедия серьезно подкосила развитие генетической терапии. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов временно заблокировало все подобные эксперименты в Пенсильванском университете и где бы то ни было. Президент Клинтон призвал повысить стандарты «информированного согласия», ратуя за право участников исследований знать обо всех потенциальных рисках. Если смерть Джелсинджера и принесла какую-либо пользу, то она состояла в ужесточении федерального надзора за клиническими испытаниями с участием людей.

Генно-терапевтическое сообщество все еще было взбудоражено произошедшими грустными событиями, когда из-за океана пришли вдохновляющие новости о достигнутом успехе. В 2000 году команда под руководством Алейна Фишера в парижской детской больнице Неккер применила генетическую терапию для лечения двух маленьких детей, которые страдали тяжелым комбинированным иммунодефицитом, поэтому с рождения содержались в стерильных камерах. Как и в случае с лечением аденозиндезаминазной недостаточности, врачи использовали ретровирус для доставки необходимого гена в клетки, взятые у малышей; затем эти клетки вводились им повторно. Однако необходимо отметить важную инновацию: французские исследователи собирали клетки для последующей модификации из костного мозга детей, стремясь получить самовоспроизводящиеся генетические заплаты. При делении стволовых клеток увеличивается не только количество самих этих клеток, но и количество специализированных соматических клеток, в которые стволовые клетки естественным образом превращаются при дифференциации. Следовательно, любые Т-лимфоциты, получающиеся из измененных стволовых клеток, также будут нести внедренный ген, поэтому повторные инфузии модифицированных клеток уже не нужны.

Именно так и вышло: десять месяцев спустя у обоих пациентов уже были Т-лимфоциты с рабочей копией ранее отсутствовавшего гена, и их иммунная система работала так же хорошо, как и у обычных детей. С тех пор методом Фишера лечили многих детей, страдающих тяжелым комбинированным иммунодефицитом. После долгого и не самого благоприятного начального этапа генетическая терапия наконец подошла к бесспорному успеху. Однако пить шампанское пришлось недолго. В октябре 2002 года врачи обнаружили у одного из тех первых пролеченных пациентов лейкемию – рак костного мозга. Напрашивался неизбежный вывод: генетическая терапия помогла ребенку излечиться от тяжелого комбинированного иммунодефицита, но в качестве побочного эффекта дала рак. Таково грустное напоминание о том, что генетическая медицина, как и более традиционные фармацевтические методы, может обернуться непредвиденными последствиями.



Тогда казалось, что все хорошо: Алейн Фишер и Марина Каваццана-Кальво в апреле 2000 года представляют результаты своего фундаментального прорыва в области генетической терапии

Смерть Джесси Джелсинджера и инциденты с лейкемией заострили внимание на множестве сложных проблем, которые предстоит решить для того, чтобы соматическая генетическая терапия превратилась в медицинский мейнстрим. Но эта дисциплина постепенно совершенствуется, уже достигнуты заметные успехи в лечении рака, гемофилии и редкой формы слепоты. Возможно, самым ярким воплощением новой генетической терапии можно считать Кори Хааса, которому в 2008 году сделали операцию на глазах в детской больнице Филадельфии – всего в нескольких милях от той больницы, где ранее умер Джелсинджер. Через четыре дня он громко и пронзительно закричал на входе в филадельфийский зоопарк, когда впервые увидел яркое солнце. Кори страдал редкой формой слепоты, наследуемой по рецессивному принципу, врожденным амаврозом Лебера. Из-за дефектного гена *RPE65* или иных генов, кодирующих белки сетчатки, участвующие в восприятии света, в сетчатке умирают и не восстанавливаются светочувствительные клетки. Ген *RPE65* был введен Кори при помощи другого вектора, аденоассоциированного вируса, который, судя по всему, безвреден для человека и избирательно внедряет свою ДНК в конкретный участок человеческого генома; таким образом, была сведена к минимуму вероятность повредить какой-нибудь жизненно важный ген.

Однако некоторым сторонникам генетической терапии не терпится наконец-то дождаться реального прогресса. В 2015 году сорокачетырехлетняя Элизабет Пэрриш, генеральный директор биотехнологической компании *Bio Viva* из Сиэтла, вошла в историю, пройдя неоднозначную генетическую процедуру, в рамках которой попыталась обратить старение вспять. Не получив от Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов соответствующего разрешения, Элизабет Пэрриш отправилась в колумбийскую клинику, где ей сделали инъекцию теломеразы, применив в качестве вектора аденоассоциированный вирус. По сообщению *Bio Viva*, Пэрриш стала «первым человеком в истории, успешно омолодившимся при помощи генетической терапии» – якобы теломеры у Элизабет Пэрриш стали длиннее. В принципе, я считаю, что риск – дело благородное, но опасаясь, что генетическая терапия может быть вновь отброшена назад, если начинание Пэрриш не будет успешным или приведет к осложнениям.

Современная генетическая терапия далеко не ограничивается доставкой функциональных последовательностей ДНК для замены поврежденного гена. В 2006 году двое американских ученых, Энди Файр и Крейг Мело, совместно получили Нобелевскую премию за открытие

биологического процесса под названием РНК-интерференция (РНКи). РНКи – это естественный механизм, при помощи которого организм обнаруживает и разлагает инородный генетический материал. Если приспособить такой процесс для отбраковки дефективной РНК, продуцируемой мутантными генами, пока она не успела выстроить на основе такого «генетического сценария» нездоровый белок, то открывается захватывающий путь для излечения множества болезней. Несмотря на то что первые клинические испытания РНКи проходят с переменным успехом, некоторые биотехнологические компании, например *Alnylam*, уже нацелены на борьбу с рядом заболеваний, среди которых гемофилия, гиперхолестеринемия и гепатит.

В дальнейшем генетическая медицина позволит не просто внедрять в организм здоровый ген, но и исправлять или ремонтировать дефектные последовательности в ДНК. Научное сообщество по-настоящему зачаровано одним из таких методов, который позволяет использовать экстраординарный терапевтический потенциал естественного механизма редактирования генов, именуемого CRISPR (короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами). Эти естественные последовательности в ДНК составляют основу рудиментарной иммунной системы у микробов, но ученые блестяще приспособились использовать их для редактирования любых генов. РНК транскрибируются с локусов CRISPR совместно с ассоциированными с CRISPR белками Cas, что обеспечивают адаптивный иммунитет за счет комплементарного связывания РНК с нуклеиновыми кислотами чужеродных элементов и последующего разрушения их белками Cas9. Использование методик CRISPR-Cas для направленного редактирования геномов является перспективным направлением в современной генной инженерии. Практически молниеносно лаборатории во всем мире приспособили CRISPR/Cas9 для работы с клетками всевозможных тканей, растительных и животных организмов. Потенциальными реализациями этой техники мы во многом обязаны совместным исследованиям Дженнифер Дудны из Калифорнийского университета в Беркли и Эммануэль Шарпентье из берлинского Института инфекционной биологии им. Макса Планка. В 2014 году они получили многомиллионную премию Breakthrough Prize («Премия за прорыв») за то, что одними из первых распознали самые многообещающие перспективы метода CRISPR. Дальнейшие исследования, проведенные Фэн Чжаном из Массачусетского технологического института, показали, что такая система может редактировать гены и в человеческих клетках, но именно Фэн Чжан первым получил патент на

данную технологию.





Высший свет CRISPR: научное сообщество во всем мире признает важный вклад Эммануэль Шарпентье и Дженнифер Дудны (сверху; получают в 2017 году премию в Японии) и Фэн Чжана (снизу), хотя институты, в которых работают эти ученые, являются конкурентами за патентное первенство

В дисциплине, где создание медийной шумихи по поводу всех технологических достижений в порядке вещей, CRISPR задает новые стандарты. В то время как я пишу эти строки, в разгаре серьезная патентная тяжба между двумя университетами, где свои открытия

совершили Дженнифер Дудна и Фэн Чжан, а отголоски этой борьбы будут слышны повсюду – от совещательных комнат в биотехнологических компаниях до Шведской академии в Стокгольме. Уже созданы десятки генно-инженерных моделей животных, в которых используется технология CRISPR. Исследователи изменили клетки печени у взрослых мышей, чтобы исправить дефектный ген в модели, где, наряду с другими расстройствами, наблюдалась наследственная тирозинемия. Эксперты считают, что более доступные ткани: глаза, легкие и клетки крови – в недалеком будущем могут стать объектом такой терапии. В конце 2016 года китайские исследователи объявили, что использовали CRISPR в инжиниринге Т-лимфоцитов у пациента, страдающего раком легких, намереваясь усилить иммунный ответ на опухолевые антигены (см. главу 14).

CRISPR может оказаться революционным инструментом для борьбы с такими разрушительными инфекционными заболеваниями, как малярия или лихорадка Зика. Например, инженерия москитного генома в рамках так называемого генетического дрейфа могла бы сделать весь вид бесплодным или блокировать передачу малярийного плазмодия или вируса Зика. Миллионы жизней были бы спасены, но откуда нам знать, на самом ли деле генный дрейф совершенно безопасен? «Существуют определенные риски, связанные с выпуском в природу насекомых, генетически измененных в лаборатории, – считает Энтони Джеймс, исследователь из Калифорнийского университета в Ирвайне, – но я думаю, что бездействие ученых в такой ситуации гораздо опаснее».

Неудивительно, что всевозможные варианты применения CRISPR вызывают глубокие этические вопросы, и прежде всего требуется ответ на самый главный вопрос современной молекулярной биологии: следует ли воспользоваться этим методом для перманентного изменения человеческой зародышевой линии? Я еще вернусь к этой теме в следующей главе.



Близнецы-двойняшки, участвующие в ежегодном фестивале в городе
Твинсбург, штат Огайо

Глава 13

Что важнее: наследственность или воспитание?

Взрослея, я втайне переживал из-за своего ирландского происхождения по материнской линии. Я хотел быть самым умным в классе, однако ирландцы неизменно были предметом насмешек. Более того, мне сказали, что раньше объявления о работе часто оканчивались фразой: «Ирландцы в качестве кандидатов не рассматриваются». Тогда я еще не понимал, что подобная дискриминация может быть связана с чем-то, кроме объективной оценки способностей ирландцев. Я знал только то, что, несмотря на наличие у меня ирландских генов, никакой я не тугодум. Я понял, что неказистый, как думали многие, ирландский интеллект, скорее всего, обусловлен средой, а не генами. Все дело в воспитании, а не в наследственности. Теперь, немного зная историю Ирландии, я понимаю, что вывод, к которому я пришел в юности, оказался не далек от истины. Ирландцы совсем не глупые, однако британцам было очень выгодным считать их таковыми.

Завоевание Ирландии Оливером Кромвелем – несомненно, один из самых жестоких исторических эпизодов. Его кульминацией стало вытеснение коренных ирландцев в неразвитые и суровые западные регионы страны, например в Коннахт, в то время как более пригодные для проживания восточные земли были поделены между сторонниками лорда-протектора, которые принялись англицизировать покоренную провинцию. После прибытия на остров протестантов, считавших католичество гибельной ересью, Кромвель в 1654 году провозгласил, что у ирландцев только один выбор: отправиться «в ад или в Коннахт». В то время было неясно, что хуже.

Усматривая в католицизме корень «ирландской проблемы», британцы приняли драконовские меры для подавления религии, а вместе с ней, как они надеялись, ирландской культуры и национальной идентичности. Таким образом, последующий период ирландской истории характеризовался жестоким апартеидом, не менее суровым, чем практиковавшийся в Южной Африке, с той оговоркой, что в данном случае дискриминация шла по религиозному признаку, а не по цвету кожи.

В «Карательных законах», принятых для «предотвращения

дальнейшего распространения папизма», особой целью стало образование. Один из статуты 1709 года включал следующие положения:

Любой человек, исповедующий папскую религию, который публично преподает в школе или обучает молодежь на дому, а также выступает в качестве ассистента или помощника любого протестантского школьного учителя, должен быть привлечен к уголовной ответственности.

За обнаружение любого католического архиепископа, епископа, викария, иезуита, монаха или другого человека, подпадающего под юрисдикцию иностранной церкви, с дальнейшим задержанием и осуждением этого человека полагается вознаграждение в размере 50 фунтов, 20 фунтов – за обнаружение монашествующего священника или незарегистрированного приходского священника, и 10 фунтов – за каждого папского школьного учителя, ассистента учителя или помощника учителя; указанная награда будет взиматься с жителей католических поселений, где будут обнаружены вышеозначенные лица.

Британцы надеялись, что ирландскую молодежь, посещающую про-британские протестантские школы, удастся отдалить от католицизма. Однако их надежды не оправдались: ни угнетение, ни поощрение не могли заставить ирландцев отказаться от своей религии. В результате возникло спонтанное подпольное образовательное движение, стали появляться так называемые подзаборные школы со странствующими учителями-католиками, тайно ведущими уроки прямо под открытым небом, постоянно меняющими место занятий. Часто условия в таких школах были просто ужасающими. Как заметил один из посетителей в 1776 году: «С таким же успехом их можно было бы назвать “школами в канавах”, поскольку я видел много канав, заполненных учениками». Однако к 1826 году из общего числа учеников, составлявшего на тот момент около 550 тысяч, «подзаборные школы» посещало примерно 403 тысячи человек. Этот романтический символ ирландского сопротивления вдохновил поэта Джона О’Хейгена на такие строки:

*Прячась за приютившей их изгородью
Или вытянувшись на горном папоротнике,
Учитель и его ученики тайно встречались, чтобы учиться.*

Хотя британцы и потерпели неудачу в деле религиозного принуждения, они, несмотря на героические усилия странствующих учителей, существенно понизили качество образования для многих поколений ирландцев. В результате сформировался образ «глупого» ирландца, которого следовало бы точнее назвать «невежественным», ставшего таковым из-за антикатолической политики Кромвеля и следующих правителей.

Таким образом, вывод, который я сделал в детстве, оказался не так далек от истины: пресловутое проклятие ирландцев действительно сформировалось из-за особенностей воспитания, развития при дефиците серьезных образовательных возможностей, а не из-за наследственности, так называемых ирландских генов. Разумеется, сегодня никто, даже самый упертый англичанин, не станет утверждать, что ирландцы глупее других людей. Современная ирландская система образования более чем восполнила ущерб, причиненный эпохой «подзаборных школ»: сегодня ирландцы – одна из самых образованных наций на планете. Тем не менее мое ребяческое суждение по данному вопросу при всей моей тогдашней абсурдной неосведомленности послужило очень ценным уроком – оно показало, как опасно предполагать, что различия, наблюдаемые среди людей или их групп, обусловлены генами. Мы сильно ошибемся, если не сможем уверенно исключить решающее влияние факторов окружающей среды.

Тенденция объяснять все факторами «воспитания», а не «наследственности» помогла достичь важной социальной цели – искоренить многовековой фанатизм. К сожалению, слишком много хорошего – это тоже плохо. Нынешнее засилье политкорректности довело общество до того, что даже допустить возможность объяснения различий генетическими факторами считается очень щекотливой темой: есть принципиальное неприятие той роли, которую наши гены почти наверняка играют в формировании межличностных различий.

Наука и политика в какой-то мере неотделимы друг от друга. Связь между ними очевидна в таких странах, как США, где значительная часть научных исследований зависит от ассигнований со стороны демократически избранного правительства. Однако политика вторгается в процесс научного поиска по-разному, в том числе и исподволь. Научная конъюнктура отражает общественные предрассудки, причем очень часто социальные и политические соображения в конечном итоге перевешивают

чисто научные. Примером может служить развитие евгеники, которая стала ответом некоторых генетиков на общественные запросы той эпохи. Обладая исчезающе слабой научной базой, это движение представляло собой псевдонаучный механизм для пропаганды совершенно ненаучных предубеждений таких людей, как Мэдисон Грант и Гарри Лафлин.

Современная генетика хорошо усвоила грустные уроки евгеники. Ученые, как правило, стараются избегать вопросов с откровенно политическим подтекстом и даже таких, политическая составляющая которых не вполне ясна. Например, мы видели, как генетики проигнорировали совершенно очевидную человеческую характеристику: цвет кожи. Трудно их в этом упрекнуть: в конце концов, при существующем обилии интересных тем для исследования зачем выбирать ту, которая может вызвать негативную реакцию со стороны прессы или, что еще хуже, навлечь на вас обвинения в пропаганде превосходства белой расы? Однако антипатия к полемике часто имеет практический и, что еще хуже, более коварный политический аспект. Большинство ученых склонно к либеральным воззрениям и голосуют за демократов. Несмотря на то что никто не может точно сказать, насколько это обусловлено принципами, а насколько — прагматическими соображениями, считается, что демократическая администрация выделяет на исследования больше средств, чем республиканская^[21]. Поэтому, примкнув к либеральному политическому крылу и оказавшись в условиях нетерпимости к тем истинам, не соответствующим идеологии определенного этапа жизни общества, большинство ученых тщательно избегают исследований, которые могли бы открыть подобные истины. Но то, что они при этом должны придерживаться генеральной линии либеральной доктрины, стремящейся уважать и признавать различия, избегая при этом любого намека на их биохимическую основу, на мой взгляд, вредит науке, демократическому обществу и, в конечном счете, благосостоянию всего человечества.

Знание, даже открывающее порой неприятные, с точки зрения человека, истины, несомненно, предпочтительнее невежества, каким бы блаженным оно ни было в краткосрочной перспективе. Однако слишком часто политическая озабоченность потворствует невежеству и мнимой безопасности: существует невысказанный страх, что информация о генетической подоплеке цвета кожи может быть так или иначе использована разжигателями ненависти в качестве аргумента против межрасовых браков. Однако та же самая генетическая информация может оказаться жизненно важной для таких, как я, чья ирландско-шотландская

бледнокожесть становится фактором онкологического риска в тех краях, где солнечнее, чем в Типперэри и на острове Скай, откуда родом были предки моей матери. Аналогично исследование генетически обусловленных различий умственных способностей может не только поднять неудобные вопросы, но и позволить педагогам разрабатывать программу обучения с учетом сильных сторон индивида. Сейчас принято заострять внимание на наихудших сценариях и избегать потенциально спорных научных вопросов; я считаю, что настало время уделить внимание потенциальным выгодам.

У современной генетики нет никакого законного основания для того, чтобы избегать определенных вопросов лишь потому, что они представляли интерес для дискредитировавшей себя евгеники.

Существенная разница заключается в том, что Линдсей Энн Дэвенпорт и его последователи просто не имели никаких научных инструментов для выявления генетической основы изучаемых ими поведенческих признаков. Научные направления, которые пропагандировал Дэвенпорт и ему подобные, не позволяли обнаружить материальные факты, которые могли бы подтвердить или опровергнуть ими же самими высказанные предположения. Вследствие этого они «видели» только то, что хотели видеть, а такая практика не заслуживает того, чтобы называться наукой. Часто они приходили к выводам, явно противоречащим истине: например, о том, что «слабоумие» передается по аутосомно-рецессивному типу. Какими бы ни были выводы современной генетики, они не имеют никакого отношения к этой манере рассуждений. Теперь, если мы выявим определенную мутацию в гене, связанном с болезнью Хантингтона, мы можем быть уверены, что у ее обладателя разовьется данная болезнь. Генетика человека перешла от предположений к фактам. Различия в последовательностях ДНК однозначны; они не могут быть истолкованы по-разному.

По иронии судьбы люди, которые больше всего беспокоятся о том, что могут открыть нам неконтролируемые генетические исследования, придают политическую коннотацию основным открытиям, сделанным в данной области. Возьмем, к примеру, открытие, согласно которому история нашего вида подразумевает отсутствие существенных генетических различий между группами, соответствующими общеизвестным расам: предполагалось, что в нашем обществе следует прекратить использовать категорию «расы» в любом контексте, исключив ее, например, из медицинских карт. В данном случае теория свидетельствует о том, что качество лечения может зависеть от того, как вы охарактеризуете свою этническую принадлежность в записи о госпитализации. От расизма не

свободна ни одна профессия, и медицина – не исключение. Однако совершенно неизвестно, поможет ли вам тот факт, что вы не укажете свою этническую принадлежность в таком документе, если вы окажетесь лицом к лицу с врачом-расистом. Что в данном случае гораздо очевиднее, так это опасность утаивания информации, которая может оказаться важной для постановки диагноза. Доподлинно известно, что некоторые заболевания чаще встречаются в определенных этнических группах: у индейцев племени пима есть особая предрасположенность к диабету второго типа; афроамериканцы гораздо чаще страдают от серповидноклеточной анемии, чем выходцы из Ирландии; муковисцидоз поражает преимущественно людей североευропейского происхождения; болезнь Тея – Сакса гораздо чаще встречается среди евреев-ашкеназов. Это не фашизм, расизм или произвол Большого Брата. Это вопрос максимально эффективного использования любой доступной информации для пользы пациента.

Идеология любого рода и наука – далеко не лучшие товарищи. Наука действительно может раскрыть неприятные истины, однако принципиально важно, что это именно истины. Любые усилия, как злонамеренные, так и благие – разрушительны, если они направлены на утаивание правды или препятствование ее раскрытию. Слишком часто в нашем свободном обществе ученые, желающие заниматься вопросами с политическим подтекстом, вынуждены платить за это слишком высокую цену. Когда в 1975 году Э. О. Уилсон из Гарварда опубликовал свой труд «Социобиология: новый синтез», представляющий собой подробный анализ эволюционных факторов, лежащих в основе поведения животных, начиная от муравьев, на изучении которых специализировался ученый, и заканчивая людьми, он подвергся нападкам со стороны профессионального сообщества и средств массовой информации. В 1984 году в ответ на работу Уилсона была опубликована книга, название которой говорило само за себя: *Not in Our Genes* («Не в наших генах»). Э. О. Уилсон подвергся даже физическому нападению, когда протестующие против генетического детерминизма, усмотренного в его работе, облили его водой из кувшина во время публичного собрания. Аналогично работа Роберта Пломина, посвященная влиянию генетики на человеческий интеллект, к которой мы обратимся далее, вызвала такую враждебную реакцию среди американских ученых, что автору пришлось покинуть Пенсильванский университет и уехать в Англию.

Страсти неизбежно закипают, когда наука угрожает разрушить или изменить наши представления о человеческом обществе и о себе – нашу видовую и личностную идентичность. Можно ли представить себе вопрос

более радикальный, чем вопрос о том, что определяет меня сильнее: последовательность нуклеотидов А, Т, Г и Ц, унаследованная от моих родителей, или опыт, который я приобрел с тех пор, как сперматозоид моего отца слился с яйцеклеткой моей матери много лет тому назад? Родоначальник евгеники Френсис Гальтон первым сформулировал вопрос о том, что важнее – наследственность или воспитание. Следствия этого вопроса затрагивают в меньшей степени философские и в большей практические сферы. Например, все ли студенты-математики рождаются с равными способностями? Если нет, то, может быть, не стоит тратить время и деньги на преподавание дифференциального исчисления таким людям, как я, которые просто не способны усвоить эту информацию? В обществе, основанном на идеалах эгалитаризма, предположение, что люди не рождаются равными, для многих является недопустимым. Дело не только в том, что на карту поставлено очень многое, но и в трудности решения соответствующих проблем. На человека влияют как гены, так и окружающая среда. Как разделить эти два фактора, чтобы определить степень влияния каждого из них? Если бы мы имели дело с лабораторными крысами, мы могли бы провести ряд экспериментов, обеспечив их размножение и выращивание в определенных унифицированных условиях. Но, к счастью, люди – не крысы, поэтому в нашем случае ответ найти гораздо труднее. Сочетание важности вопроса и крайней сложности поиска адекватного ответа подогревает этот многовековой неутихающий спор. Тем не менее свободное общество не должно уклоняться от честной постановки честных вопросов. Предельно важно, чтобы обнаруженные истины использовались только во благо человека.

Из-за отсутствия достоверных данных споры о приоритете наследственности или воспитания были полностью подчинены переменчивым ветрам социальных изменений. В начале XX века, во времена расцвета евгенического движения, ведущей считалась наследственность. Однако, когда стали очевидны заблуждения евгеники, вылившиеся в ужасающие опыты нацистов, воспитание начало отвоевывать позиции. В 1924 году Джон Уотсон (мы с ним просто однофамильцы), основатель такого влиятельного направления американской психологии, как бихевиоризм, изложил свою точку зрения на воспитание следующим образом:

Дайте мне дюжину здоровых, нормально развитых младенцев и мой собственный особый мир, в котором я буду их растить, и я... выбрав наугад ребенка, смогу сделать его по

собственному усмотрению специалистом любого профиля – врачом, адвокатом, торговцем и даже попрошайкой или вором – вне зависимости от его талантов, наклонностей, профессиональных способностей и расовой принадлежности его предков.

Восприятие ребенка в качестве «табула раса» – чистой доски, на которой с помощью опыта и образования можно начертать любое будущее, хорошо сочеталось с либеральной конъюнктурой, сложившейся в 1960-х годах. Гены (и обусловленный ими детерминизм) не учитывались. Сбросив со счетов наследственность, психиатры заявляли, что психические заболевания обусловлены разнообразными стрессами, вызванными факторами окружающей среды. Подобное утверждение сеяло чувство вины и паранойю среди родителей, чьи дети страдали подобными расстройствами. «Что мы сделали не так?» – спрашивали они. Парадигма «табула раса» остается популярной среди политически ангажированных защитников некоторых наиболее несостоятельных взглядов на человеческое развитие. Например, непоколебимым участницам женского движения предположение о биологически или генетически обусловленных половых различиях и умственных способностях кажется просто немыслимым: мужчины и женщины одинаково способны к решению любой задачи, точка. Тот факт, что мужчины сильнее в одних областях, а женщины – в других, по мнению этих теоретиков, является результатом разнонаправленного социального давления: мужчине уготована одна судьба, а женщине – другая, а начинается все с укутывания девочки в розовое одеялко, а мальчика – в голубое.

Сегодня мы наблюдаем отход от крайности, приписывающей решающее влияние воспитанию. Неслучайно, что этот отход от бихевиоризма совпадает по времени с первыми попытками изучать генетические основы поведения. Как мы узнали из главы 9, долгие годы развитие генетики человека отставало от развития генетики дрозофил и других существ, однако завершение проекта «Геном человека», а также проведенный за многие годы анализ десятков тысяч человеческих геномов, дали свои преимущества, особенно в сфере диагностики и лечения наследственных заболеваний. Тем не менее определенные усилия молекулярных биологов были направлены на вопросы, не связанные с медициной. Так, Роберт Пломин применял этот подход для выявления генов, влияющих на коэффициент интеллекта (IQ), работая на ежегодных сборах самых умных школьников со всей страны в штате Айова. Учитывая,

что средний показатель IQ среди этих особенно умных деток составлял 160 баллов, именно здесь стоило начинать поиск генов, которые могут отвечать за умственные способности. Роберт Пломин сравнил их ДНК с образцами «обычных» детей со средним IQ, как у нас с вами^[22], и действительно обнаружил слабую связь между генетическим маркером на хромосоме 6 и запредельно высоким IQ. Это позволило предположить, что один или несколько генов на этом участке могут каким-то образом способствовать более высокому коэффициенту интеллекта.

Конечно, любой механизм, определяющий такой сложный признак, скорее всего, связан со множеством генов. Сегодня ученые, занятые поиском генов, связанных со сложными поведенческими характеристиками, располагают гораздо более мощными инструментами. В 2014 году опубликованы результаты обширного полногеномного исследования ассоциаций, в которых приняло участие более 100 тысяч человек. Выводы были неоднозначными: с одной стороны, данные указывали на три конкретных гена или участка (в хромосомах 6, 8 и 10), связанных с когнитивными способностями. С другой стороны, предполагаемое влияние этих «умных генов» невероятно мало, а вариабельный участок ДНК в хромосоме 6 находится слишком далеко от участка, который указал Роберт Пломин. Как мы видели ранее на примере с шизофренией, для более или менее точного определения сложноизмеримого влияния отдельных генов на интеллект может потребоваться проведение исследования с участием по меньшей мере одного миллиона человек.

Другой способ поиска генов, связанных с интеллектом, предполагает выявление генов, которые функционируют неправильно (или отсутствуют) у людей с умственной отсталостью или другими формами когнитивных нарушений. В последние годы этот подход начал давать результаты. Ханс-Хильгер Роперс, специалист в области медицинской генетики из Научно-исследовательского института молекулярной генетики Общества им. Макса Планка, всесторонне проанализировал геномы 136 семей из Ирана и других стран, дети в которых рождены от родителей, состоящих в кровном родстве, и выявил более 50 новых генов, связанных с умственной неполноценностью, многие из их указывают на важные биологические пути, задействованные в процессе нормального развития мозга.

Но даже генетически обусловленная предрасположенность может не проявиться, если вы воспитывались в среде, где акцент делается на обучении и интеллектуальном развитии, а не на просмотре мультфильмов. Тем не менее открытие и признание любой молекулярной подоплеки

умственных способностей – это шаг вперед, который смог быть реализован только революционными генетическими открытиями.

До начала работы с маркерами ДНК специалисты по поведенческой генетике в основном занимались изучением близнецов. Близнецы бывают двух видов: разнорядцевые близнецы развиваются из разных яйцеклеток, оплодотворенных разными сперматозоидами, а одноядцевые – из одной оплодотворенной яйцеклетки, которая на раннем этапе развития (обычно на стадии восьми или шестнадцати клеток) разделяется надвое. Разнорядцевые близнецы генетически похожи друг на друга не более, чем обычные братья и сестры, в то время как одноядцевые близнецы являются генетически идентичными. Поэтому одноядцевые близнецы всегда одного пола, а разнорядцевые близнецы могут быть разнополыми. Удивительно, что это фундаментальное различие между двумя типами близнецов было осознано недавно. Фрэнсис Гальтон, который в 1876 году первым предложил использовать близнецов для определения относительного влияния наследственности и воспитания, еще не знал о данном различии (его научное обоснование было разработано всего двумя годами ранее) и ошибочно предположил, что близнецы разного пола могут развиваться из одной оплодотворенной яйцеклетки. Тем не менее из его более поздних публикаций следовало, что он уже учел полученные учеными данные.

Одноядцевые близнецы рождаются по всему миру с частотой примерно четыре раза на тысячу, и это событие не может рассматриваться иначе, как случайное. С другой стороны, появление разнорядцевых близнецов может быть обусловлено наследственностью, а частота случаев их рождения может варьировать в зависимости от популяции: больше всего разнорядцевых близнецов рождается в Нигерии – сорок случаев на тысячу беременностей, тогда как в Японии таких случаев всего три на тысячу беременностей.

Стандартные исследования близнецов обычно строятся на предположении, что оба члена однополрой пары разнорядцевых или одноядцевых близнецов растут в одинаковых условиях (то есть получают аналогичное «воспитание»). Предположим, нас интересует легко определяемая характеристика, например рост. Если бы разнорядцевые близнецы РБ1 и РБ2 получали одинаковое количество еды, заботы и т. д., то любую разницу в росте можно было бы объяснить некоторым совокупным влиянием генетических различий и незначительных различий в образе жизни (например, РБ1 в отличие от РБ2 всегда допивает молоко). Однако если ту же логику применить к одноядцевым близнецам ОБ1 и ОБ2, то их генетическая идентичность позволит исключить генетическую вариацию

как фактор, то есть любые различия в росте можно будет объяснить небольшими различиями в окружающей среде. При прочих равных условиях среди однояйцевых близнецов будут меньшие различия в росте, чем среди разнояйцевых, и степень соблюдения этой закономерности даст представление о влиянии генетических факторов на рост. Аналогично более близкое сходство однояйцевых близнецов по коэффициенту IQ по сравнению с разнояйцевыми близнецами отражает влияние генетической изменчивости на коэффициент интеллекта.

Такой анализ аналогично работает при изучении наследования генетически детерминированных заболеваний. Близнецы называются конкордантными, если у обоих выявлена болезнь. Более высокая конкордантность в парах однояйцевых близнецов по сравнению с парами разнояйцевых должна свидетельствовать о том, что болезнь в значительной степени обусловлена генетически: например, конкордантность разнояйцевых близнецов по диабету второго типа составляет 25 % (если болен один из близнецов, то в одном случае из четырех болен и другой), тогда как конкордантность однояйцевых близнецов по данному заболеванию составляет 95 % (если болен один из близнецов, то в 19 случаях из 20 болен и второй). Отсюда делаем вывод: диабет второго типа во многом обусловлен генетической предрасположенностью. Тем не менее даже в этом случае среда играет большую роль; в противном случае у однояйцевых близнецов наблюдалась бы 100 %-ная конкордантность.

Довольно долго методология близнецового метода, который, как я уже говорил, заключается в сопоставлении особенностей членов близнецовой пары, позволяющем определить степень влияния наследственных факторов и среды на формирование качеств человека, подвергалась критике. Как правило, родители обращаются с однояйцевыми близнецами более схожим образом, чем с разнояйцевыми. Иногда родители превращают их идентичность в своеобразный фетиш: например, однояйцевых близнецов часто одинаково одевают, и некоторые близнецы переносят эту привычку во взрослую жизнь. Такая критика обоснована, поскольку более выраженное сходство однояйцевых близнецов (по сравнению с разнояйцевыми) рассматривается как свидетельство влияния генетики, когда на самом деле может происходить из более схожих факторов среды, в которой воспитывались однояйцевые близнецы. Есть и еще одна проблема: как определить, являются ли два однополых близнеца разнояйцевыми или однояйцевыми? «Это легко, – скажете вы. – Достаточно просто посмотреть на них». И вы ошибетесь! В небольшой, но значительной части случаев родители принимают своих разнояйцевых близнецов за однояйцевых (и,

следовательно, растят их в практически идентичных условиях, например одевая обеих дочерей в одинаковые розовые комбинезоны), и, наоборот, некоторые родители однояйцевых близнецов ошибочно принимают их за разнояйцевых близнецов (одевая одного ребенка в кислотно-розовый комбинезон, а другого – в ярко-зеленый). К счастью, методы генетической дактилоскопии позволили не превращать близнецовые исследования в подобную комедию ошибок. С помощью такого анализа можно точно определить, являются ли близнецы разнояйцевыми или однояйцевыми. Такие пары близнецов, ошибочно принятых за «однояйцевых» или «разнояйцевых», как это описано выше, в будущем могут служить идеальной контрольной группой при проведении исследований: например, разница в росте среди разнояйцевых близнецов не может быть объяснена различиями в воспитании, если родители растили их как однояйцевых.

Наиболее информативной формой близнецового метода является изучение однояйцевых близнецов, разлученных сразу после рождения. В таких случаях среда, в которой воспитываются близнецы, оказывается очень разной, поэтому выраженное сходство объясняется именно их общими чертами, то есть генами. Сообщения о разделенных при рождении близнецах, у которых в квартирах оказываются одинаковые красные бархатные диваны и собаки по кличке Эрнест, конечно, весьма примечательны. Однако, какими бы удивительными ни были такие случаи сходства, скорее всего, это просто совпадение. Почти наверняка не существует гена, обуславливающего предпочтение красной бархатной обивки или определенной клички собак. По статистике, если вы перечислите тысячу признаков: марку и модель автомобиля, любимое телешоу и т. д. для любых двух человек, вы неизбежно найдете совпадения, но в прессе эти сообщения, как правило, печатаются в разделе «Хотите – верьте, хотите – нет». Например, я и соавторы этой книги предпочитаем одинаковые автомобили «Вольво»-универсал и коктейли, хотя мы и не родственники.

Безотносительно популярности, у близнецового метода пестрая история. Он снискал дурную славу отчасти благодаря работам сэра Сирила Берта, выдающегося британского психолога, который хорошо потрудился, чтобы близнецов стали использовать для исследования генетических факторов, влияющих на коэффициент интеллекта. После его смерти в 1971 году подробное изучение работ Берта показало, что некоторые приведенные в них данные были поддельными. Сэр Сирил, по утверждению некоторых, иногда мог выдумать нескольких близнецов для увеличения размера выборки. Все еще не ясно, насколько правдивы эти

обвинения, но одно отрицать нельзя: этот эпизод компрометирует не только близнецовые исследования, но и любые попытки постичь генетическую основу интеллекта. Действительно, махинации Берта, помноженные на щекотливость данной темы, фактически погубили такие исследования из-за сокращения грантового финансирования. Все четко: нет денег – нет исследований.

Том Бушар, выдающийся ученый из Университета Миннесоты, в 1990 году провел обширное исследование близнецов, выросших отдельно друг от друга, и тем самым вывел это направление на качественно новый уровень. Он испытал такие трудности с привлечением средств, что был вынужден обратиться к правым организациям, поддерживающим поведенческую генетику в собственных сомнительных политических целях. Одним из светил основанного в 1937 году фонда *Pioneer Fund* был Гарри Лафлин, специалист по генетике домашней птицы, упомянутый в первой главе. В свое время Лафлин переключился на исследование людей и примкнул к авангарду американского научного расизма. Целью фонда было «расовое улучшение с особым акцентом на население Соединенных Штатов». То, что столь уважаемым исследователям, как Бушар, приходилось выбирать между поддержкой со стороны сомнительного спонсора и отказом от своей работы, – грандиозное обвинение в адрес федеральных структур, отвечающих за финансирование научных исследований. В то время средства в поддержку инноваций в науке, к сожалению, выделялись из бюджета налогоплательщиков исходя из политических, а не из научных соображений.

Близнецовый метод, используемый Томом Бушаром в Миннесоте, показал, что гены существенно влияют на многие черты характера, измеряемые с помощью стандартизованных психологических тестов. Фактически более 50 % изменчивости, наблюдаемой во всем спектре характеристик человека, например склонность к религиозности, обычно связано с вариациями в генах. Бушар пришел к выводу, что воспитание на удивление слабо влияет на личность: «По многочисленным параметрам характера и темперамента, профессиональным склонностям, интересам и социальным установкам однояйцевые близнецы, воспитывавшиеся отдельно друг от друга, оказались почти так же похожи между собой, как и однояйцевые близнецы, воспитывавшиеся вместе». Другими словами, когда дело доходит до измеримых личностных характеристик, создается впечатление, что наследственность берет верх над воспитанием. Такое отсутствие влияния воспитания на развитие личности озадачило даже Бушара. Однако, несмотря на хоть небольшой, но вклад воспитания,

данные свидетельствуют о значительном влиянии факторов окружающей среды. Двое однояйцевых близнецов различаются в зависимости от того, росли они вместе или нет. Существует ли такой фактор окружающей среды, который можно было бы отделить от воспитания? По некоторым предположениям, важными могут оказаться различия пренатального опыта, то есть жизни плода в утробе матери. Даже небольшие различия на этом раннем этапе развития, когда формируется мозг, могут значительно повлиять на то, кем мы в итоге станем. Однояйцевые близнецы могут расти в матке в очень разных условиях из-за естественных нюансов имплантации (прикрепления эмбриона к стенке матки) и развития плаценты. Расхожее мнение о том, что все однояйцевые близнецы развиваются в одной плаценте (и, следовательно, находятся в матке в одинаковых условиях), ошибочно: в 25 % случаев однояйцевые близнецы развиваются каждый в отдельной плаценте. Исследования показали, что такие близнецы отличаются друг от друга значительно больше, чем пары, развивавшиеся в одной плаценте.

Главная задача близнецового метода исследований заключается в выявлении генетических факторов, влияющих на коэффициент интеллекта. В какой степени наши умственные способности обусловлены генами? Жизненный опыт свидетельствует о существовании множества вариаций. Преподавая в Гарварде, я наблюдал известную закономерность: в любом коллективе есть несколько не очень умных людей и несколько невероятно умных; при этом подавляющее большинство обладает средними способностями. Тот факт, что в Гарвард отбираются люди с высоким коэффициентом интеллекта, не имеет значения. В любой группе людей сохраняются одни и те же пропорции. Разумеется, этому нормальному распределению подчиняется практически любая характеристика, которая варьируется от человека к человеку: большинство из нас среднего роста, однако среди нас попадаются очень высокие и низкорослые люди. Тем не менее попытки использовать кривую нормального распределения для описания вариаций человеческого интеллекта обычно воспринимаются в штыки. Дело в том, что в стране с равными возможностями, где каждый может свободно развиваться сообразно своим талантам, интеллект превращается в особенность конкретного человека с глубоким социально-экономическим подтекстом: его уровень определяет степень успешности человека. В данном случае проблема наследственности/воспитания вступает в конфликт с благородными устремлениями нашего меритократического общества. Учитывая сложное взаимодействие этих двух факторов, как мы можем с достаточной долей точности определить их

относительное влияние? Умные родители не только передают «умные» гены; они растят детей таким образом, чтобы способствовать их интеллектуальному развитию, тем самым смешивая влияние генов с влиянием факторов окружающей среды. Вот почему тщательно проведенные исследования близнецов ценны при анализе интеллектуальных качеств.

Работа Тома Бушара и более ранние исследования показали, что до 70 % изменчивости в уровне интеллекта объясняется соответствующими генетическими вариациями, что серьезно свидетельствует в пользу приоритета наследственности над воспитанием. Однако действительно ли это означает, что наш интеллект в значительной степени обусловлен генами и что образование (и даже наша собственная свободная воля) мало влияет на то, кем мы являемся? Совсем нет. Как и в случае с любой другой характеристикой, хорошо, если нам повезло с генами, однако от воспитания во многом зависит, какое именно место займет человек в обширной «середине спектра», где в основном и складываются различия в социальном положении.

Рассмотрим случай с кастой буракуминов в Японии. Это потомки японцев, которые в период феодализма были вынуждены выполнять в обществе «нечистые» работы, например заниматься забоем скота. Несмотря на модернизацию японского общества, буракумины и сейчас остаются бедными и маргинализированными изгоями и при тестировании на IQ набирают на 10–15 баллов меньше, чем среднестатистический японец. Обусловлено ли это генетикой или их коэффициент интеллекта просто отражает их низкий статус в японском обществе? Скорее всего, верно последнее: буракумины, иммигрировавшие в Соединенные Штаты, где они ничем не отличаются от других американских японцев, продемонстрировали повышение уровня IQ, и со временем пятнадцатibalльный разрыв, существовавший между ними и их соотечественниками на родине, исчез. Образование, безусловно, играет важную роль.

В 1994 году Чарльз Мюррей и Ричард Херрнстайн опубликовали книгу *The Bell Curve* («Колоколообразная кривая»), в которой писали, что, несмотря на несомненное влияние образования, различия в средних показателях IQ разных рас могут быть обусловлены генами. Утверждение чрезвычайно спорное, однако в нем оказалось гораздо больше истины, чем многие полагали. Мюррей и Херрнстайн понимали, что комбинированные исследования генетической основы интеллекта и различий в среднем показателе IQ среди человеческих групп не позволяют судить о том, что

гены ответственны за межгрупповые различия. Представьте себе, что вы посеяли семена растений определенного вида и высота этих растений варьирует в зависимости от состава генов. Одну часть семян вы посеяли в ящик с богатой микроэлементами почвой, а другую – в ящик с бедной почвой. В обоих ящиках мы увидим растения разной высоты: одни будут выше других, как и ожидалось с учетом генетической изменчивости. Однако мы также увидим, что средняя высота для растений в ящике с бедной почвой меньше средней высоты растений в ящике с богатой почвой. На растения повлиял фактор окружающей среды: качество почвы. Несмотря на то что генетические особенности являются доминирующим фактором, определяющим различия в высоте растений в одном ящике (при прочих равных условиях), они никак не связаны с различиями, наблюдаемыми между ящиками.

Можно ли применить тот же аргумент к афроамериканцам, которые отстают от других американцев по показателям IQ? Поскольку уровень нищеты среди афроамериканцев относительно высок, а значительная их часть прозябает в гетто, где образованию детей уделяется недостаточно внимания, факторы окружающей среды, безусловно, влияют на их и так низкие результаты при прохождении тестов IQ. Однако Мюррей и Хернстайн утверждали, что величина расхождения настолько велика, что ее нельзя объяснить лишь влиянием факторов окружающей среды. Аналогично только влиянием факторов среды нельзя объяснить, почему из всех рас в мире монголоиды в среднем отличаются более высоким уровнем интеллекта. Мне совершенно не нравится идея измеримых вариаций среднего уровня интеллекта по этническому признаку. С другой стороны, сомнительность заявлений, приведенных в книге *The Bell Curve*, не должна помешать нам подробно изучить влияние факторов среды и расовые особенности на интеллект. Самым весомым доказательством такого влияния является эффект Флинна – всемирно известный феномен, выражающийся в постепенном повышении показателя IQ, названный в честь новозеландского психолога, который первым его описал. С начала XX века этот показатель увеличивался в Соединенных Штатах, Великобритании и других развитых странах на 9–20 баллов за поколение; данные по этим странам достаточно надежны. Исходя из того, что нам известно об эволюционных процессах, мы можем быть уверены: этот процесс не связан с глобальными генетическими изменениями среди людей. Эти изменения следует связать с повышением качества образования, здравоохранения и питания. Несомненно, действуют и другие, пока еще не выявленные факторы, однако эффект Флинна прекрасно

подчеркивает тот факт, что признак, изменчивость которого в значительной степени зависит от генетических различий, в конце концов поддается влиянию. Таким образом, мы не просто марионетки, полностью зависящие от генов.

Прежде чем завершить тему близнецового метода исследований, вернемся к предположению, которое я сделал в самом начале главы: однайцевые близнецы генетически неразличимы. Несмотря на то что последовательности из трех миллиардов пар оснований в геномах однайцевых близнецов на самом деле идентичны, в их геномах могут быть существенные различия на уровне химических модификаций. Это явление, изучаемое эпигенетикой, играет важную роль не только для нормального развития человека, но и при развитии таких распространенных заболеваний, как рак, диабет, и многих других.

Эпигенетика касается происходящих на разных этапах развития химических модификаций, которые регулируют активацию определенных генов. Если геном – это оркестр, то эпигенетическая регуляция – это дирижер (или, по крайней мере, помощник дирижера). Двумя наиболее важными примерами эпигенетической модификации являются ДНК-метилирование и модификации белков-гистонов. Присоединение метильной химической группы к Ц-нуклеотидам в последовательности ДНК, а также химическая модификация (ацетилирование) конкретных остатков в гистонах, на которые накручена двойная спираль, – это ключевые факторы, от которых зависит не только сохранение здоровья, но и развитие болезней. Основным примером эпигенетической регуляции является инактивация одной из двух X-хромосом в женских клетках. Феномен инактивации X-хромосомы, впервые обнаруженный у мышей британским генетиком Мэри Лайон, в честь которой также именуемый лайонизацией, позволил решить генетическую загадку: как преодолевается неизбежный генетический дисбаланс, вызванный различием количества X-хромосом у мужчин и женщин? Мужские (XY) клетки экспрессируют гены только из одной X-хромосомы, тогда как женские (XX) клетки должны, по идее, продуцировать вдвое больше белка из своего двойного набора X-сцепленных генов. Почему этот дисбаланс имеет столь принципиальное значение? Оказывается, клетки очень чувствительны к количеству продуцируемого белка. Напомню, что синдром Дауна связан с наличием одной дополнительной (третьей) копии 21-й хромосомы. Это самая маленькая из всех человеческих хромосом, однако дисбаланс, вызванный ее лишней копией, влечет далеко идущие последствия. Лайонизация – это эпигенетическое преодоление дисбаланса XX/XY между женщинами и

мужчинами. Во время эмбрионального развития женщины одна из двух X-хромосом плотно сворачивается и становится недоступной, превращаясь в так называемый гетерохроматин.

Тот факт, что у двух однояйцевых эмбрионов последовательности ДНК одинаковы, еще не значит, что эти последовательности ДНК подвергнутся идентичным химическим модификациям. Этот механизм отчасти позволяет правдоподобно объяснить скрытую наследуемость, выявленную ранее в ходе полногеномного поиска ассоциаций. Новым направлением в исследованиях является изучение однояйцевых близнецов с различными заболеваниями, которые могут быть связаны с вариациями в эпигенетической модификации. Короче говоря, исследователи ищут участки генома, различающиеся по уровню метилирования у идентичных однояйцевых близнецов, поскольку эти участки могут как минимум коррелировать или как максимум объяснять дискордантность по риску заболевания. Несмотря на то что подобные исследования проводятся сравнительно недавно, они демонстрируют ощутимые результаты, касающиеся многих распространенных заболеваний, включая психические расстройства и аутоиммунные заболевания. Например, Тим Спектор и его коллеги из лондонского Кингс-Колледжа изучили ДНК у 27 пар однояйцевых близнецов и обнаружили несколько промоторов генов, метилирование в которых было нетипичным для людей с диабетом второго типа. Некоторые из этих участков совпадают с генами, уже выявленными в ходе обычного полногеномного поиска ассоциаций. Будем надеяться, что этот подход позволит не только лучше понять основные пути развития распространенных заболеваний, но и выявить маркеры и потенциальные мишени для новых лекарственных препаратов.

В настоящее время эпигенетика – это захватывающая дисциплина для исследователя. Мы уже давно поняли многие способы включения и отключения генов, однако эпигенетика описывает новый набор этих регуляторных механизмов. Ранее мы видели, что гены включаются или выключаются в ответ на экологические триггеры: присутствие лактозы заставляет бактерии включать гены, которые производят ферменты, расщепляющие лактозу, однако большинство подобных реакций краткосрочны: когда вся лактоза будет израсходована, синтез редуцирующих ее ферментов сразу прекратится. Напротив, эпигенетические механизмы способны вызывать относительно долгосрочные изменения активности генов, которые могут передаваться от одного поколения клеток к другому. Таким образом, знание эпигенетических механизмов будет иметь большое значение для понимания

процессов дифференциации тканей в процессе развития: клетки почек, например, экспрессируют определенный набор генов, специфичных именно для клеток почек, которые могут эпигенетически регулироваться так, что новые клетки почек, сформировавшиеся из старых, наследуют от них эпигенетические метки и, следовательно, имеют тот же набор активных генов, что и клетки-предшественники. Биологи, занимающиеся исследованием стволовых клеток, выявляют все больше молекулярных подробностей, описывающих, как из одной оплодотворенной яйцеклетки в процессе развития образуются десятки разных типов клеток, каждая из которых имеет ту же самую ДНК, но экспрессирует специфичные для конкретной ткани гены.

Несомненно, что эпигенетические модификации могут передаваться от одного поколения клеток к другому. Спорным остается вопрос, могут ли эти изменения передаваться от одного поколения животных к другому. В работе этого механизма трудно разобраться, поскольку новая особь развивается из одной оплодотворенной яйцеклетки, которая, выражаясь языком биологии стволовых клеток, должна быть *тотипотентной*, то есть способной производить любые типы клеток-потомков: клеток мышц, нервов, почек, печени и т. д. Таким образом, яйцеклетка не может иметь эпигенетический профиль, скажем, клетки почки (или любой другой дифференцированной клетки), поэтому существуют предположения о том, что ДНК яйцеклеток и сперматозоидов очищается от эпигенетических меток, в результате чего оплодотворенная яйцеклетка с эпигенетической точки зрения является «чистым листом». Однако результаты некоторых исследований позволяют предположить, что отдельные эпигенетические метки могут сохраниться в процессе эпигенетической очистки сперматозоида/яйцеклетки. Это означает, что детали приобретенного опыта родителей и эпигенетические модификации, полученные в результате этого опыта, могут передаваться потомству.

Вывод о существенном влиянии генетики на наше поведение уже никого не должен удивлять; было бы удивительнее, если бы это было не так. Мы есть порождение эволюции: естественный отбор, несомненно, сильно повлиял на все черты наших предков, благоприятствовавшие выживанию. Человеческая рука с ее чудесным противостоящим большим пальцем – продукт естественного отбора. Следовательно, в прошлом должны были существовать различные формы руки, а естественный отбор способствовал сохранению той формы, которую мы имеем сегодня, путем распространения соответствующих генетических вариантов. Таким образом, эволюция позаботилась, чтобы каждый представитель нашего

вида был наделен этим исключительно ценным инструментом.

Поведение тоже очень много значило для выживания человека и, следовательно, строго обусловлено естественным отбором. Предположительно, именно в процессе эволюции сформировалась наша тяга к жирной и сладкой пище. Наши предки всегда недоедали, поэтому склонность при первой возможности употреблять еду, богатую энергией, приносила огромную пользу. Естественный отбор способствовал любым генетическим вариациям, вызывающим любовь к сладкому, поскольку те особи, которым это было свойственно, имели больше шансов на выживание. Сегодня эти же самые гены – бич для любого жителя стран, победивших голод; современный человек борется с лишним весом. То, что помогало нашим предкам, теперь создает нам проблемы.

Мы являемся представителями чрезвычайно общительного вида, поэтому логично предположить, что естественный отбор когда-то благоприятствовал генетическим адаптациям, способствующим социальному взаимодействию. Мало того что жесты вроде улыбки развились в качестве средства, позволяющего сообщить о своем настроении другим членам социума. По-видимому, также существовало сильное избирательное давление в пользу развития психологических адаптаций, позволяющих судить о намерениях других. Социальные группы часто страдают из-за нахлебников; всегда есть люди, которые стремятся извлечь выгоду из членства, не внося свой вклад в обеспечение общего блага. Способность выявлять таких тунеядцев очень важна для успешной совместной деятельности. Хотя современные члены мегаполисов редко собираются группами около одного костра, на котором готовится общий ужин, наша способность просчитывать настроения и мотивы окружающих может являться следствием тех ранних этапов нашего развития как социального вида.

Со времени публикации в 1975 году работы Уилсона «Социобиология: новый синтез» эволюционные подходы к пониманию человеческого поведения тоже изменились, что привело к возникновению современной дисциплины под названием «эволюционная психология». В этой дисциплине ведутся поиски общих знаменателей нашего поведения – черт человеческой природы, характерных для всех нас, начиная от горцев Новой Гвинеи и заканчивая парижанами. Эти черты мы стремимся понять с учетом некоторых прошлых адаптивных преимуществ, обеспечиваемых каждой из них. Некоторые такие корреляции просты и относительно непротиворечивы, например хватательный рефлекс новорожденного, благодаря которому он руками и ногами удерживает тело на весу,

предположительно, пришел из тех времен, когда умение цепляться за волосатую мать было важно для выживания младенца.

Тем не менее сфера применения эволюционной психологии не ограничивается такими обыденными навыками. Является ли относительная немногочисленность женщин-математиков во всем мире универсальным фактом культуры или существует вероятность того, что тысячелетняя эволюция приспособила мужской и женский мозг для разных целей? Можем ли мы понять в строго дарвиновских категориях стремление зрелых мужчин вступать в брак с более молодыми женщинами? Учитывая то, что девушка-подросток, вероятно, произведет на свет больше детей, чем тридцатипятилетняя женщина, можно ли считать, что эти мужчины поддаются влиянию эволюционной обусловленности, побуждающей каждого из них приумножить число своих потомков? Аналогично объясняется ли тяга молодых женщин к богатым и зрелым мужчинам тем, что естественный отбор в прошлом действовал в пользу предпочтения наделенного властью мужчины с большим количеством ресурсов? На данный момент обо всем этом мы можем только догадываться. Тем не менее я уверен, что по мере обнаружения все новых поведенческих генов эволюционная психология перейдет со своих нынешних позиций на периферии антропологии в самое сердце этой дисциплины.



Иллюстрация викторианской эпохи: ребенок делает то, что получается у него само собой

В настоящее время влияние генов на поведение более детально проанализировано не у человека, а у других видов, которыми мы можем пользоваться как подопытными моделями в генетических экспериментах. Одним из самых старых и наиболее эффективных приемов такой манипуляции является искусственный отбор, давно используемый животноводами для увеличения удоев коров или повышения качества шерсти овец. Однако этот метод применим не только в сельском хозяйстве. Собаки произошли от волков, возможно, от тех особей, которые рыскали

поблизости от человеческих селений в поисках объедков и тем самым помогали людям избавляться от отходов. Считается, что они начали претендовать на звание «лучшего друга человека» десять тысяч лет тому назад, что по времени примерно совпало с возникновением сельского хозяйства. С тех пор за довольно короткое время собаководы вывели множество пород, различающихся анатомией и поведением. Выставки собак – это демонстрация силы генов, а каждая из пород – отдельный стоп-кадр удивительного фильма о генетическом разнообразии собак. Конечно, наиболее яркими и интересными являются морфологические различия: пекинес похож на пушистый шарик; огромный лохматый английский мастиф иногда весит более 120 килограммов; такса имеет длинное тело; у бульдога квадратная и широкая голова с выпуклым морщинистым лбом и вздернутым коротким носом. Нам с вами именно поведенческие различия собак разных пород кажутся наиболее впечатляющими.



Homo sapiens – культурное чудо. Такие разные представления о шике: Париж 1950-х годов и горные районы Папуа – Новой Гвинеи. Эволюционная психология стремится привести к общему знаменателю разные модели поведения

Разумеется, не все собаки одной породы ведут себя (или выглядят) одинаково, но, как правило, особи одной породы похожи друг на друга гораздо больше, чем на представителей других пород. Лабрадор-ретривер ласковый и уступчивый; борзая нервная; бордер-колли будет пасти кого угодно, если поблизости не окажется стада овец; питбуль, как часто сообщают в новостях, чрезвычайно агрессивная собака. Некоторые поведенческие черты собак настолько общеизвестны, что превратились в стереотипы. Возьмем, к примеру, стойку пойнтера: это не просто трюк, которому обучают каждую отдельную собаку, это генетически закрепленная особенность представителей данной породы. Несмотря на разнообразие, все современные собаки относятся к одному виду. Это означает, что, в принципе, даже самая разнородная пара может произвести потомство, как в 1972 году показал отважный самец таксы, которому удалось покрыть самку большого датского дога, в результате чего на свет появилось тринадцать «очень крупных такс».

Большинство поведенческих черт, несомненно, обусловлено воздействием множества генов. Но несколько простых генетических манипуляций, проведенных в ходе экспериментов с мышами, показали, что, если изменить даже единственный ген, это может серьезно повлиять на поведение. В 1999 году невролог Джо Цинь из Принстонского университета применил необычные методы рекомбинации ДНК для создания «умной мыши» с лишними копиями гена, продуцирующего белок, действующий в нервной системе как приемник химических сигналов. Трансгенный грызун справлялся с тестами на обучаемость и память лучше, чем обычные мыши; например, он быстрее находил выход из лабиринтов и лучше запоминал полученные знания. Джо Цинь назвал эту породу мышей «Дуги» (Doogie) в честь юного гениального медика, которого сыграл Нил Патрик Харрис в сериале «Доктор Дуги Хаузер» (Doogie Howser, MD). В 2002 году Кэтрин Дюлак из Гарвардского университета обнаружила, что удаление всего одного гена у мыши позволяет влиять на процесс обработки химической информации, содержащейся в феромонах – веществах, которыми мыши пользуются при коммуникации. Тогда как мыши-самцы обычно нападают на других самцов, пытаясь спариться с самками, те самцы, над которыми поработала Кэтрин Дюлак, не могли отличить самца от самки и пытались спариться с первой попавшейся мышью. На поведение мышей, связанное с заботой о потомстве, также можно влиять, манипулируя одним геном. Самки инстинктивно заботятся о своих новорожденных мышатах, однако Дженнифер Браун и Майк Гринберг из Гарвардской медицинской школы сумели повлиять на этот инстинкт, инактивировав ген под названием *fosB*.

Модифицированная таким образом мышь, во всем остальном совершенно обычная, совершенно игнорировала свое потомство.

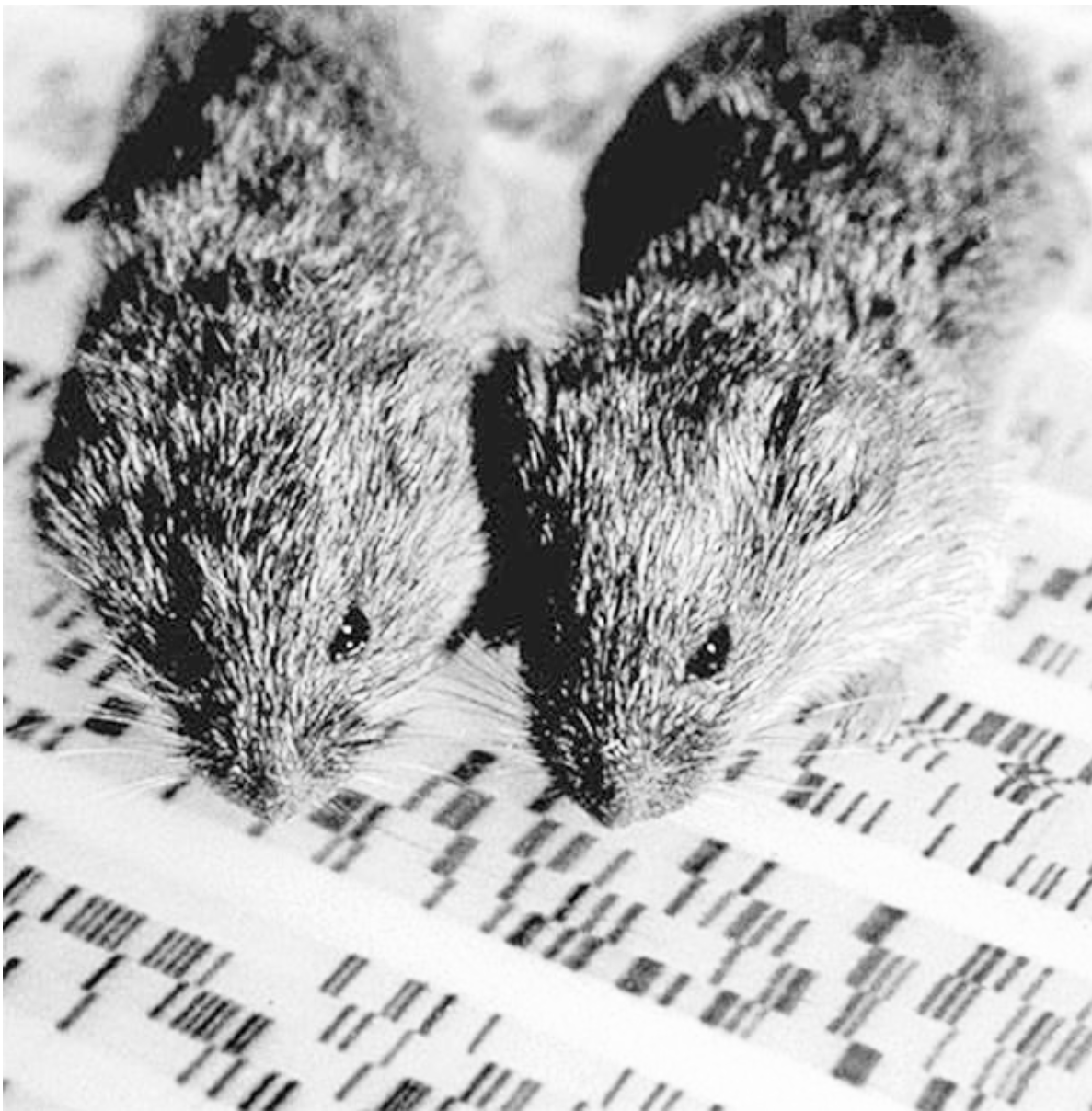
Благодаря грызунам мы получили некоторое представление о механизмах того, что применительно к людям называем любовью. У грызунов этот феномен называется менее романтично – «образование пар». В Северной Америке распространены мышевидные полевки. Несмотря на то что они выглядят почти одинаково, разные виды ведут разный образ жизни. Прерийные полевки моногамны, они образуют пары на всю жизнь; однако их близкие родичи, горные полевки, полигамны: самец спаривается, а затем покидает самку, и в течение всей жизни самка обычно приносит приплод от разных самцов. Какие различия могут лежать в основе таких несхожих половых стратегий? Отчасти это объясняется гормонами. У всех млекопитающих окситоцин задействован во многих аспектах материнства: он стимулирует как схватки во время родов, так и лактацию; он также играет определенную роль в налаживании связи между матерью и потомством. Может ли тот же самый гормон порождать еще один вид связи – долговременные отношения между парой прерийных полевок? Как оказалось, может! Данный механизм кроме окситоцина регулирует гормон вазопрессин, который в основном контролирует процесс синтеза мочи. Вопрос состоит в том, почему же горная полевка, которая также производит оба этих гормона, является такой «ветреной зверушкой» по сравнению со своими прерийными родичами? Оказывается, причина заключается в рецепторах гормонов – молекулах, которые связываются с циркулирующими гормонами, инициируя ответ клетки на гормональный сигнал.



Достаточно одного гена. Вверху – нормальная мышь, которая усердно заботится о детенышах. Внизу – мышь с нерабочим геном *fosB*, которая игнорирует своих новорожденных мышат

Том Инсел, психиатр из Университета Эмори, внимательно изучив рецептор вазопрессина, обнаружил существенное различие между видами полевок, но не в самом гене рецептора, а в соседнем участке ДНК, который определяет, когда и где этот ген будет активироваться. Оказалось, что у прерийных и горных полевок очень сильно различается распределение рецепторов вазопрессина в головном мозге. Но разве одно это различие в регулировании генов объясняет, почему один вид, с точки зрения человека, является любвеобильным, а другой бесцерепонно бросает своих партнерш

после спаривания? По-видимому, да. Том Инсел и его коллега Ларри Янг ввели обычной лабораторной мыши (склонной к промискуитету, как и горная полевка) ген вазопрессина прерийной полевки вместе с соседним регуляторным участком. Хотя трансгенные мыши не сразу превратились в романтических и верных супругов, Том Инсел и Ларри Янг отметили заметное изменение в их поведении. Вместо того чтобы, как обычно, бесцеремонно бросить самку после спаривания, трансгенный самец демонстрировал нежную заботу о ней. Короче говоря, добавление гена хоть и не стало гарантией вечной «мышьиной любви», но все же улучшило «моральный облик» мыши.



Две прерийные полевки, недавно нашедшие друг друга, с интересом рассматривают последовательность ДНК, которая кодирует их связь

Мы должны помнить о том, что человеческий мозг устроен гораздо сложнее, чем мозг мыши. Ни один грызун, хоть из прерий или с гор, еще не создал крупного произведения искусства. Тем не менее стоит иметь в виду самый отрезвляющий вывод проекта «Геном человека»: человеческий и мышинный геномы поразительно схожи. Базовая генетическая прошивка, управляющая как мышами, так и людьми, не сильно изменилась за 75 миллионов лет эволюции, с тех пор как наши пути развития разошлись.

Учитывая невозможность выделить у человека конкретные гены для инактивации или улучшения нашей природы, как это можно делать при генетических опытах на мышах, специалистам по генетике человека остается полагаться на своего рода естественные эксперименты – спонтанные генетические изменения, которые влияют на функционирование мозга. Многие из наиболее выраженных генетических нарушений влияют на умственные способности. Синдром Дауна, связанный с наличием лишней 21-й хромосомы, обуславливает, с одной стороны, более низкий коэффициент интеллекта, а с другой – неизменно благостное настроение. Людис синдромом Вильямса, вызванного утратой небольшой части 7-й хромосомы, также имеют низкий коэффициент интеллекта, но часто обладают выдающимися музыкальными способностями.

Во всех этих случаях психические аспекты конкретного расстройства являются побочными эффектами системной дисфункции. Таким образом, они могут поведать самый минимум о генетической подоплеке поведения. Это все равно, что обнаружить неожиданную для себя вещь: оказывается, компьютер не работает при отключенном питании. Хорошо, что теперь мы знаем, что для работы компьютера необходимо электричество, однако из факта того, что компьютер не работает, мы мало что узнаем о специфических функциях компьютера. Чтобы понять генетику поведения, нам нужно исследовать нарушения, непосредственно влияющие на умственные способности.

Среди психических расстройств, привлечших внимание специалистов по картированию генов, двумя самыми грозными являются биполярное аффективное расстройство (БАР, маниакально-депрессивный психоз) и шизофрения. Обе болезни имеют сильные генетические компоненты (конкордантность близнецов в отношении БАР достигает 80 %, а в отношении шизофрении около 50 %), и оба этих заболевания

разрушительно влияют на психическое здоровье людей во всем мире. Один человек из ста страдает шизофренией, показатели заболеваемости БАР примерно такие же.

Как мы видели, сложность картирования полигенных признаков объясняется тем, что каждый отдельный ген вносит лишь небольшой вклад в общую картину, а сам признак часто опосредуется средой, как в случае с обоими вышеприведенными расстройствами. Однако эта общая сложность также спровоцировала необъективность со стороны исследователей: они склонны публиковать только положительные результаты, не сообщая о том, что осталось за кадром. Проблему усугубляет и обратное – понятное, но в конечном итоге контрпродуктивное стремление информировать о любой корреляции, выявленной после того, как изучение прочих генетических маркеров ничем не увенчалось. В идеальном случае выявление корреляции должно предшествовать более глубокому анализу, помогающему отделить значимые результаты от статистических совпадений: в конце концов, если мы исследуем достаточное число маркеров, нам следует время от времени ожидать появления случайной корреляции даже при отсутствии генетической связи. Сильный общественный натиск, связанный с получением результатов, заставляет исследователей делать преждевременные заявления, которые впоследствии приходится опровергать в связи с невозможностью их воспроизводимости, после того как другая группа специалистов не сможет воспроизвести опыт с теми же результатами.

Для выявления генов, ответственных за психическое заболевание, существуют и другие препятствия. Постановка диагноза психического заболевания, как бы он ни стандартизировался в справочниках по психиатрии, часто является скорее искусством, чем наукой. Случаи заболевания могут быть выявлены на основе неоднозначных симптомов, поэтому кому-то из пациентов может быть поставлен неверный диагноз; эти ложноположительные результаты часто вносят путаницу в процесс генного картирования. Другая сложность заключается в том, что расстройства выявляются и диагностируются в соответствии с их симптомами, и все же вполне вероятно, что ряд генетических причин приводит к формированию аналогичных наборов симптомов, то есть в разных случаях развитие шизофрении может обуславливаться различными генами. Даже очевидные различия между синдромами могут оказаться менее выраженными, если рассматривать их сквозь призму генетики. С 1957 года известно, что БАР и униполярная депрессия (состояние, характеризующееся только депрессией) представляют собой генетически

отличные друг от друга синдромы, однако между ними существует некоторое генетическое совпадение: униполярная депрессия гораздо чаще встречается среди родственников пациентов с БАР, чем в популяции в целом.

Из-за этих причин крайне сложно выявить генетические причины психических расстройств. За годы, прошедшие с момента запуска проекта «Геном человека», в результате проведения десятков полногеномных поисков ассоциаций было выявлено более ста предполагаемых разновидностей ДНК, связанных с шизофренией. В ряде случаев были обнаружены поразительные совпадения между участками генов, задействованных в клиническом проявлении и шизофрении и депрессии. Кроме того, дефекты в этих генах могут быть причиной бредовых или галлюцинаторных эпизодов, характерных как для БАР, так и для шизофрении. История исследования этих тяжелых как для человека, так и для общества в целом заболеваний, увы, полна несбывшихся надежд. Несколько лет назад генетики Нил Риш и Дэвид Ботстейн метко охарактеризовали такие разочарования:

Недавнюю историю исследований генетического сцепления [маниакальной депрессии] можно сравнить только с ходом самой болезни. Эйфория, обусловленная выявлением связи, сменяется дисфорией из-за неспособности найти ее [в других популяциях]. Из-за этой закономерности многие специалисты в области психиатрической генетики и заинтересованные наблюдатели ощущают себя как на американских горках.

Я очень надеюсь, что, вступая в эпоху генетического анализа, мы положим конец поднадоевшей всем игре с генами и клиническими признаками заболевания по типу: «сейчас у нас это есть, а теперь – уже нет». В этом, я надеюсь, нам помогут две инновации. Во-первых, поиск генов с учетом так называемых генов-кандидатов. Благодаря новому пониманию генома человека и его функций можно конкретизировать поиск, выбирая гены, функции которых связаны с конкретным расстройством. Например, в случае БАР (состояния, по-видимому, обусловленного сбоем механизма регуляции мозгом концентрации определенных нейромедиаторов, в частности серотонина и дофамина) логичными кандидатами являются гены, кодирующие эти нейромедиаторы или их рецепторы. В 2002 году команда Эрика Лендера из Института Уайтхеда при Массачусетском технологическом институте провела исследование 76

генов-кандидатов, ответственных за развитие БАР. Было обнаружено, что с данным расстройством коррелирует только один ген, кодирующий специфический для мозга фактор роста нервов. Этот фактор представляет белок, поддерживающий жизнеспособность нейронов, стимулирующий их развитие и активность. В данный момент фактор роста нервов тестируется в качестве возможного лекарства от болезни Лу Герига (см. главу 5). Интересно, что ген, дефект которого приводит к этой тяжелой болезни, находится на 11-й хромосоме, на участке, который уже давно отслеживается в связи с развитием БАР. К сожалению, даже спустя десятилетие напряженной работы возникают споры о значении этой конкретной генетической ассоциации.

Одной из причин моего оптимизма по поводу охоты на эти «неуловимые гены» является технологическое совершенствование методов секвенирования ДНК, тех самых методов нового поколения. Чтобы обнаружить небольшой эффект, обусловленный конкретным геном, нам нужны сверхчувствительные методы статистического анализа, которые сами по себе требуют обработки огромных массивов данных. Только теперь с появлением высокопроизводительных методов секвенирования и генетического типирования есть возможность собрать данные по огромному числу маркеров у достаточного числа людей; численный состав обследуемых принципиально важен для статистической полноценности выборки. Биотехнологические компании, например *de CODE Genetics* в Исландии, идентифицировали гены, связанные с нейромедиаторами, ответственные за формирование шизофрении. Сегодня биотехнологические фирмы нового поколения, включая упомянутую ранее *Human Longevity*, основанную моим старым другом Крейгом Вентером, приступают к секвенированию геномов сотен тысяч людей с целью выявления генов, связанных с геронтологическими заболеваниями. Исследования такого масштаба как раз и потребуются для выявления генетических факторов риска развития шизофрении, БАР и других психических расстройств. Будем надеяться, что это приведет к улучшению методов лечения, а также поможет лучше понять, как гены контролируют работу нашего мозга.

При попытке проанализировать вопрос возникновения клинических признаков заболевания, о нейрохимической основе которых мы не имеем никакого представления, мы должны честно признать, что до финиша нам еще очень далеко и на этом сложном отрезке пути нас, скорее всего, ожидает череда эйфории и разочарований. Это уже довольно часто случалось в сфере исследований непатологических нарушений поведения. Примером может служить скандальный анализ генетической основы

мужской гомосексуальности, проведенный в 1993 году Дином Хемером. Тогда он выявил конкретный участок X-хромосомы, который, предположительно, коррелирует с гомосексуальностью, и это вызвало крупную шумиху в обществе. Неожиданно оказалось, что нетрадиционная сексуальная ориентация так же обусловлена генами, как, скажем, цвет кожи. Однако вывод Дина Хемера не выдержал испытания временем. Тем не менее я подозреваю, что по мере разработки все более эффективных методов статистического анализа, в котором мы научимся распознавать и отбрасывать слабые корреляции, будут выявлены те генетические факторы, которые predisполагают человека к определенной сексуальной ориентации. Это не следует воспринимать как абсолютную предопределенность; влияние среды никогда не стоит сбрасывать со счетов, а predisположенность еще ни к чему не обязывает. Мой бледный цвет лица может predisполагать меня к раку кожи, но при отсутствии воздействия ультрафиолетового излучения окружающей среды мои гены не более чем потенциал.

Другой вывод Дина Хемера, привлечший огромное внимание, кажется более надежным. Хемер исследовал генетическую основу стремления к новизне или «поиска острых ощущений», одного из пяти ключевых параметров личности, выявленных психологами. Вы забиваетесь в угол, когда ваш привычный уклад жизни рушится? Или всеми силами стараетесь не увязнуть в рутине и постоянно стремитесь к новым приключениям? Это, конечно, крайности. Обнаруженные Дином Хемером факты свидетельствовали о небольшом, но значительном влиянии вариации в гене, кодирующем рецептор дофамина, сигнальной молекулы мозга. Этот же ген был задействован при таких способах поиска острых ощущений, как злоупотребление наркотиками.

Насилие тоже можно рассматривать через призму генетики. Некоторые люди более жестоки, чем другие. Это неоспоримый факт. Жестокое поведение может быть обусловлено единственным геном плюс факторами окружающей среды. Это, конечно, не означает, что у всех нас есть «ген насилия», хотя у большинства жестоких индивидов есть особенности Y-хромосомы. Нами выявлено по меньшей мере одно простое генетическое изменение, приводящее к вспышкам ярости. В 1978 году Ханс Бруннер, врач-генетик из Университетской больницы в голландском Неймегене, изучил семью, где у мужчин из поколения в поколение проявлялись агрессия и умственная отсталость. Ханс Бруннер выявил в роду восьмерых мужчин, которые, несмотря на принадлежность к разным нуклеарным семьям, проявляли сходные формы насилия. Один из них изнасиловал свою

сестру, а впоследствии ударил ножом тюремного охранника; другой сбил на автомобиле своего начальника после легкого выговора за лень; двое других членов семьи были поджигателями.

Тот факт, что агрессивное поведение демонстрировали только мужчины, предполагало наследование, сцепленное с полом. Наследование агрессии было ассоциировано с геном, возможно находящимся в X-хромосоме и являющимся рецессивным, это означало, что данный ген не экспрессируется у женщин, у которых другая (нормальная) копия на второй X-хромосоме купирует влияние дефектного гена. У мужчин с их единственной X-хромосомой рецессивный вариант гена экспрессировался автоматически. Работая вместе с Ксандрой Брикфилд из Массачусетской больницы общего профиля, Ханс Бруннер обнаружил, что все эти восемь агрессивных мужчин имели мутантную нефункциональную копию X-сцепленного гена, кодирующего моноаминоксидазу. Этот белок, обнаруженный в мозге, регулирует уровни целого класса нейромедиаторов, называемых моноаминами, к числу которых относятся адреналин и серотонин.

История моноаминоксидазы интересна не только случаем с восемью агрессивными голландцами. Как оказалось, она позволяет составить впечатление о взаимодействии между генами и окружающей средой, дает представление о сложной взаимосвязи наследственности и воспитания, которая полностью обуславливает наше поведение. В 2002 году Авшалом Каспи и его коллеги из Института психиатрии Кингс-колледжа Лондона попытались выяснить, почему некоторые мальчики из неблагополучных семей вырастают нормальными, в то время как другие становятся асоциальными личностями. Речь шла о тех, для кого характерны реальные поведенческие нарушения, а не просто о застенчивых парнях, предпочитающих виртуальное общение в интернете контактам с живыми людьми. Такие ребята на вечеринке любят в одиночестве лакомиться бутербродами, сидя в уголке. По итогам исследования был выявлен генетический предиктор того или иного варианта развития: наличие или отсутствие мутации на участке, прилегающем к гену моноаминоксидазы. Это переключатель, регулирующий количество продуцируемого фермента. Мальчики, страдавшие от жестокого обращения, но обладающие высоким уровнем этого фермента, с меньшей вероятностью станут асоциальными личностями, чем мальчики из этой же среды с низким уровнем фермента. В последнем случае гены и факторы окружающей среды предрасполагают мальчиков к конфликтам с законом. В случае с девочками эта вероятность меньше: поскольку ген расположен в X-хромосоме, они должны

унаследовать не одну, а две копии гена. Девочки, обладающие двумя копиями, скорее всего, будут демонстрировать такое же асоциальное поведение, как и мальчики. Но опять-таки ни в случае с мальчиками, ни в случае с девочками речь не идет о стопроцентной вероятности: плохое обращение в детстве и низкий уровень моноаминоксидазы никоим образом не гарантируют того, что человек станет преступником.

Среди самых удивительных открытий моногенного (определяемого только одним геном) воздействия на сложную форму человеческого поведения есть и так называемый грамматический ген. В 2001 году Тони Монако (в то время работавший в Оксфорде) обнаружил редкие мутации в гене *FOXP2*, приводящие к ухудшению способности использовать и воспринимать язык. Мало того что люди с такой мутацией имеют сложности с артикуляцией, их также ставят в тупик простые грамматические рассуждения, не представляющие проблемы для обычного четырехлетнего ребенка: «Я каждый день гуляю; вчера я...» Напомним, что ген *FOXP2* кодирует фактор транскрипции – генетический регулятор, который, по-видимому, играет решающую роль в развитии мозга. Ген *FOXP2* не оказывает непосредственного влияния на поведение (в отличие от моно-аминоксидазы), а воздействует на поведение опосредованно, формируя центральный поведенческий механизм. Я считаю, что ген *FOXP2* в будущем позволит сделать множество важных открытий. Если я прав, то среди наиболее важных генов, управляющих поведением, окажутся те, которые участвуют в формировании самого удивительного органа, по-прежнему являющегося в высшей степени непостижимой массой материи, я веду речь о человеческом мозге. Роль этих генов заключается в том, как они кодируют сложнейшую «машинерию», опосредующую все наши действия.

Мы еще только начинаем постигать генетические факторы, влияющие на наше поведение, как в целом (человеческая природа), так и отличающие нас друг от друга. Однако эта фантастически захватывающая область исследований быстро развивается. В будущем нам предстоит разложить генетическую природу личности по полочкам, и сложно представить, что будет, если в споре о влиянии наследственности и воспитания наши открытия заставят нас все сильнее склоняться в пользу определяющей роли наследственности. Это может напугать некоторых, но только если мы так и останемся в плену этой застарелой и, в конечном счете, бессмысленной дихотомии. Если выяснится, что какой-либо признак, даже обладающий значительным «неполиткорректным» подтекстом, в большей мере обусловлен генами, это еще не означает, что мы обнаружили незыблемую

истину. Мы просто сможем лучше понять человеческую природу, которая корректируется воспитанием, и осознавать, что именно мы – как общество, так и отдельные люди – должны делать, чтобы способствовать этому процессу. Не следует допускать, чтобы сиюминутные политические соображения определяли научную повестку дня. Да, мы можем раскрыть истины, которые окажутся неудобными в свете новых обстоятельств, однако именно на эти обстоятельства, а не на природную истину политикам следует обращать внимание. Ирландские дети, посещавшие подзаборные школы, очень хорошо понимали, что знание, добываемое порой с таким трудом, всегда лучше невежества.



Скульптура What a Mad Pursuit («Что за безумная гонка») Киндры Крик, внуки Френсиса Крика. Скульптура заказана Британским институтом исследований рака для сбора средств на открытие в Лондоне института им. Френсиса Крика. Она экспонируется в MRC (Лаборатории молекулярной биологии) в Кембридже. На одной спирали воспроизведены буквы и наброски Френсиса, которые он рисовал мелом на доске. На второй спирали – насыщенно-синей, с золотой каймой – изображены абстрактные узоры, которые должны метафорически показать, как распространяются, изменяются и растут идеи

Глава 14

Рак: война без конца?

Когда я еще жил дома, в Чикаго, и как раз заканчивал Чикагский университет (было это в 1947 году), дяде Стэнли, младшему брату моего отца, отцу двоих сыновей, исполнилось сорок. В тот год у него обнаружили злокачественную меланому. В те времена меланома была абсолютно неизлечимым раком кожи. Вероятно, Стэнли прихватил ее, загорая на песчаных пляжах озера Мичиган. Когда хирург удалил у него с руки черную бородавку, рак уже метастазировал и проник во внутренние органы, куда скальпелю, увы, не добраться. Ужасные воспоминания о том, как на руках и на лице у Стэнли возникали новые опухоли, не покинут меня никогда. Поэтому позднее, работая в Гарварде, я всегда надевал широкополую шляпу, выходя на расположенный неподалеку пляж или прогуливаясь рядом с нашим летним домиком на острове Мартас-Винъярд, несмотря на то что там в изобилии росли тенистые вязы. Даже сегодня, когда мне уже почти девяносто, я так и не играю в теннис на Лонг-Айленде в полуденные часы, даже обмазанный кремом от загара с сильным протективным эффектом. Самая надежная стратегия борьбы с раком, как раньше, так и теперь, это профилактика, поскольку обычно эта жуткая болезнь нападает совершенно внезапно.

При этом каждое утро я по-прежнему принимаю две таблетки детского аспирина, поскольку всерьез отношусь к достоверным эпидемиологическим данным, что это хорошее противовоспалительное средство на 25 % снижает вероятность развития рака. Поскольку я до сих пор поигрываю в теннис, такая физическая нагрузка помогает дополнительно обогащать мышцы реактивными формами кислорода, которые снижают вероятность серьезной онкологии еще на 25 %. Пока неизвестно, помогает ли дополнительно защититься от рака ежедневная доза в 500 мг метформина – это сахароснижающее средство, которое помогает от диабета. Так или иначе, я метаболизирую меньше глюкозы.



Кэролайн Бернади – ей удалось излечиться от рака

Через шестьдесят лет после того, как рак диагностировали моему дяде Стэнли, женщина по имени Кэролайн Бернади, сорокачетырехлетний маркетолог из Сиднея, как раз рассылала клиентам рождественские подарки, когда после обеда ее отвлек от работы телефонный звонок с известием, которое ужасает каждого, но которое тем не менее раз в жизни суждено услышать каждому третьему: «У вас рак». Биопсия шейного отдела показала, что у Кэролайн Бернади немелкоклеточный рак легкого на стадии 3В. Врач сказал, что опухоль неоперабельна, и оценил шансы Бернади прожить еще 12 месяцев не более чем в 5 %. «Мне показалось, словно я села в скоростной поезд и все вокруг словно расплылось и стремительно понеслось мимо. Однако я просто застыла и пыталась осмыслить тот вихрь, в котором очутилась», – рассказывает Кэролайн.

Новость сокрушила всех ее домашних, в том числе двух маленьких детей. Все это казалось чудовищной несправедливостью: Бернарди была физически здорова, в семейном анамнезе у нее не было рака, и она за всю жизнь не выкурила ни единой сигареты.

После того как химиотерапия не помогла, Майкл Бойер, лечащий врач Бернарди из Сиднейского онкологического центра, решил пойти ва-банк. По поручению компании *Pfizer* он отвечал за клиническое исследование экспериментального противоракового препарата дакомитиниба, проводившегося в Азии и Австралии. Лекарство показывало первые обнадеживающие результаты у тех пациентов, которые не реагировали на иные препараты, например на *Tarceva* или *Iressa*, также воздействующие на рецептор эпидермального фактора роста, важный трансмембранный сигнальный белок, с которым связан рост многих типов раковых клеток. Спустя пару месяцев Кэролайн Бернарди присоединилась к исследованию, составив компанию еще двадцати с лишним волонтерам – первопроходцам на неизведанной территории таргетной онкологической медицины. Всего через несколько дней она почувствовала, что опухоли у нее на шее стали размягчаться. Через два месяца компьютерная томография показала, что пять опухолей у нее в легких рассосались, рака не было и в пораженных лимфоузлах. «Это было попросту красиво!» – вспоминает она.

К сожалению, истории о такой поразительной ремиссии, как у Бернарди, остаются исключением, а не правилом. На каждую историю о победе над раком найдется множество пациентов, которым не помогает ни химиотерапия, ни новейшие препараты либо у которых рак на время отступает, а затем возвращается – с еще более худшими клиническими проявлениями, чем прежде. На каждое лекарство, добавляющееся в фармакопею онколога (обычно на разработку лекарства уходит десять лет и более), приходится множество препаратов, которые «сходят с дистанции», поскольку оказываются слишком токсичными, неспецифическими или недостаточно эффективными. Фактически то же самое произошло и с дакомитинибом, пополнившим ряды некогда многообещающих препаратов, которые, однако, не были одобрены регламентирующими органами. Однако при всем при этом случай Кэролайн Бернарди все равно кажется чудом. Именно ее рак удалось полностью вытравить экспериментальным препаратом, тогда как другим участникам исследования не повезло – такой феномен врачи именуют «эффект Лазаря». Бернарди словно уверовала – она продолжает ежедневно принимать дакомитиниб, но считает, что излечиться ей помогли и другие факторы: теперь она медитирует, лучше питается, каждый день делает зарядку, прибегает к иглоукалыванию и

другим приемам традиционной китайской медицины. Она на волонтерских началах работает в больницах и написала книгу, чтобы вдохновить других онкобольных и их семьи. Ее врач не смог уверенно ответить, что же именно ей помогло, поэтому разумно, но осторожно посоветовал: «Продолжайте делать все, чем занимаетесь сейчас».



Джон Даймонд, писатель и журналист



Точка слома: определенные мутации в гене BRCA1 коррелируют с развитием рака груди и яичников. Здесь показаны два снимка хвостового региона белка BRCA1. Слева выделена аминокислота метионин 1775, расположенная рядом со щелью, где BRCA1 связывается с другим белком, помогающим находить и чинить поврежденную ДНК. Справа в результате мутации подставляется остаток аргинина, который отключает такое «партнерское» свойство. Считается, что именно такая мутация M1775R вызывает рак груди

Когда в 1997 году британскому журналисту Джону Даймонду (первому мужу знаменитого ресторанный критика Найджелы Лоусон) диагностировали рак пищевода, он стал вести в газете *Times* регулярную колонку о своей болезни. «Когда вам стукнет сорок, – писал он, – каждая из тридцати с чем-то триллионов ваших клеток успеет поделиться пару тысяч раз. Какова вероятность, что хотя бы некоторые из этих клеток не ударятся в цитологическую анархию, которая вызовет рак и погубит вас?» Даймонд, умерший в 2001 году, даже не будучи ученым, сделал пронзительное естественнонаучное наблюдение. Действительно, малейшая ошибка в работе фермента, обеспечивающего рутинную химическую реакцию, мимолетное воздействие инородного химиката или случайный космический луч могут повредить спираль ДНК и спровоцировать необратимый и безудержный рост клеток. Скорее, удивительно не то, как много людей заболевает раком, а то, какому множеству удастся этого избежать.

Тот факт, что рак обусловлен, прежде всего или даже исключительно, генетическими изменениями, впервые был отмечен при исследовании семей, в которых прослеживались редкие заболевания, например синдром Линча. При таких расстройствах рак передается из поколения в поколение примерно как наследственное заболевание. Новые случаи рака ожидаемо возникают без какой-либо явной причины, например без участия известных

естественных генетических канцерогенов, таких как табачный дым, сажа или асбест. Теперь известно, что многие или все такие семьи предрасположены к раку из-за ошибок в сложнейшей системе репарации нашей ДНК. В нашем геноме действительно есть копируемый механизм, в работе которого неизбежно возникают ошибки, но рак возникает, когда эта первая линия защиты нас подводит.

К наиболее известным относятся случаи таких поломок, связанные с генами *BRCA1* и *BRCA2*. (В главе 12 мы обсуждали, как Мэри-Клэр Кинг героически искала и наконец картировала ген *BRCA1*. Ее миссия растянулась на двадцать лет и легла в основу фильма «Расшифровка Энни Паркер», где в роли Кинг снялась Хелен Хант. Фильм рассказывает об одной из первых женщин в Северной Америке, прошедших генетический анализ на *BRCA1*.) У женщин мутации в этих генах провоцируют более половины всех известных случаев рака груди, а также большинство случаев наследственного рака яичников. У мужчин с мутацией в гене *BRCA1* в шесть раз повышена частота рака простаты. Очень редко такая мутация (это подтвержденный факт) у мужчин тоже может вызвать рак молочной железы. Оба этих гена кодируют белки, которые играют ключевые роли в обеспечении целостности генома, корректируют несовпадения в парах оснований и проверяют последовательность на наличие неповрежденных, гомологичных нитей ДНК. Остается неясным, почему среди сотен зарегистрированных мутаций конкретные канцерогенные варианты генов *BRCA1* и *BRCA2* встречаются чаще среди евреев-ашкеназов или среди некоторых групп франкоканадцев.

Идентификация генов *BRCA1* и *BRCA2* – две примечательные победы в долгой, затяжной войне с раком, но, как правило, исследователям вдобавок требуется превратить генетические находки в осмысленные методы лечения, дающие длительный терапевтический эффект. В декабре 1971 года, более сорока лет тому назад, президент Никсон объявил войну раку. С тех пор на эту войну ежегодно тратятся миллиарды долларов налогоплательщиков, но результаты борьбы неоднозначны. Негативная сторона проблемы такова: с тех пор как началась эта война, смертность от рака в США практически не уменьшилась, особенно если сделать поправку на то, что американцы стали значительно меньше курить. Есть такое заурядное кино про автоугонщиков с Николасом Кейджем в главной роли, называется «Угнать за 60 секунд». Именно каждые 60 секунд в США кто-нибудь умирает от рака. В 2016 году более 550 тысяч американцев умерли от злокачественных новообразований.



Хелен Хант в роли Мэри Клэр-Кинг, картировавшей ген BRCA1, в фильме «Расшифровка Энни Паркер» (2013)

Положительный аспект состоит в том, что сегодня мы располагаем несколькими новыми действенными средствами против рака. Лучшим противораковым лекарством уже более двадцати лет остается иматиниб. Он регулярно выводит на плато многолетней ремиссии пациентов с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ). Еще один действенный препарат – герцептин, помогающий бороться с определенными формами метастатического рака молочной железы. Тем не менее большинство видов рака даже после ремиссии, достигаемой в том числе при помощи геномных препаратов, впоследствии возвращается в гораздо более агрессивной форме, и тогда больному остается жить от нескольких месяцев до одного года. Поэтому, несмотря на все перспективы лекарств, используемых на сегодняшний день и действующих на генетическом уровне, онкологическое заболевание остается источником страха и мучений. Увы, так будет до тех пор, пока не разработают новые методы избирательного уничтожения раковых клеток, в том числе на поздних стадиях болезни.

Этого можно добиться несколькими способами. Во-первых, разрабатывать новые мощные лекарства, блокирующие безусловно опасные канцерогенные вещества, например белки генов RAS и MYC. Сегодня они считаются двумя наиболее приоритетными мишенями, поскольку (как будет рассказано дальше) до сих пор не поддаются большинству современных терапевтических методов. Во-вторых, разрабатывать более качественные иммунотерапевтические лекарства, в частности нацеленные на взаимодействие с белками контрольной точки опухоли, «тормозами» иммунной системы. Иммунотерапия, то есть мобилизация иммунной системы пациента на борьбу с раковыми клетками, кажется очень многообещающей, но требует тонкой настройки, чтобы гарантировать, что иммунные клетки пациента станут бороться с раком, не причиняя чрезмерного сопутствующего вреда, который сейчас остается настоящим бичом при подобном лечении и сводит на нет самые перспективные виды хваленной иммунотерапии. В-третьих, нужно серьезно работать над проблемой побочных эффектов большинства химиотерапевтических препаратов, чтобы их можно было применять подолгу и достигать полноценного лечебного эффекта.

В 2003 году Эндрю фон Эшенбах, в тот период руководивший Национальным институтом онкологии (NCI), поставил задачу «покончить с летальностью и мучениями от рака» к 2015 году. Естественно, эта цель была заведомо недостижима; позже он признал ошибку и уточнил, что имел в виду не победу над раком, а взятие болезни под контроль. Я долгие годы скептически высказываюсь на эту тему в статьях для *New York Times* и других изданий. Еще в августе 2009 года я заявил, что победа над раком – весьма «реалистичная цель, поскольку в кои-то веки мы знаем его подлинные генетические и химические свойства». После этого заключения пришлось взять тайм-аут. Такие программы, как «Атлас онкологического генома» (последовавшая за проектом «Геном человека»), дали нам массу информации о генетической природе рака, но более чем за десять лет, прошедших от этого заключения, так и не произвели желаемого эффекта в онкологии.

В 2016 году к дискуссии подключился президент Обама, затронувший эту тему в своем последнем послании «О положении страны». «Давайте сделаем Америку страной, в которой рак будет побежден раз и навсегда», – призвал Обама. Руководство такой амбициозной противораковой программой он поручил вице-президенту Джо Байдену, который незадолго до того потерял сорокачетырехлетнего сына Бо, умершего от опухоли мозга. Естественно, для рака авторитетов не существует. Пока Обама

выступал в Белом доме, бывший президент Джимми Картер, которому тогда исполнился 91 год, проходил лечение от метастатической меланомы с помощью экспериментального иммунотерапевтического препарата *Keytruda*. Позже Байден сказал, что «президент Никсон объявил раку заведомо проигрышную войну, не имея ни армии, ни орудий, ни информации». Байден сказал, что цель этих противораковых наполеоновских планов – «не развязать новую войну против болезни, а выиграть ту, которую президент Никсон объявил еще в 1971 году». Первая цель программы им. Бо Байдена^[23] – «изменить культуру обмена данными, информацией, не припрятывать ее». В основе программы – благие намерения, но меня неизменно разочаровывают все новые «крестовые походы» такого рода, учитывая, сколько раз мы уже пытались их начинать.

Несмотря на весь прогресс, достигнутый за последние десятилетия, многие диагностированные новообразования мы пытаемся лечить традиционными подсечно-огневыми методами: в ход идет скальпель хирурга и ионизирующее излучение. Рентгеновские лучи стали применяться в медицине вскоре после того, как в 1895 году их открыл Вильгельм Рентген – тогда неожиданно выяснилось, что они избирательно уничтожают раковые клетки. Даже сегодня лучевая терапия остается основным орудием в арсенале почти всех онкологических клиник. Однако если рак не удастся выявить, пока он мал и локализован, лучевая терапия позволяет лишь уменьшить размеры опухоли. В настоящее время такие методы используются скорее чтобы смягчить страдания, чем чтобы продлить жизнь. К сожалению, слишком часто рак удается обнаружить лишь тогда, когда он уже распространился далеко от первичной опухоли. На таком этапе, именуемом «метастазирование», лишь немногие виды рака поддаются излечению (например, метастатическая карцинома яичка поддается лечению при помощи химиотерапии, препаратом цисплатин). Вот уже более семидесяти лет первоочередной задачей онкологических исследований остается поиск таких противораковых препаратов, которые были бы способны избирательно уничтожать раковые клетки, не затрагивая при этом здоровые.

Попытки лечить рак химиотерапией начались в годы Второй мировой войны. Первоначально для этого использовали алкилирующие аналоги горчичного газа – вещества, напоминающие иприт, один из первых химикатов, который Германия применяла в годы Первой мировой войны при газовых атаках. В годы Второй мировой войны такие жуткие газы на полях сражений в Европе не использовались, однако сотни человек погибли от химического оружия 2 декабря 1943 года, когда немецкая авиация

совершила сокрушительный налет на итальянский порт Бари. Среди кораблей, потопленных при этом налете, был и американский транспортный корабль «Джон Харви» типа «либерти», перевозивший секретный груз из двух тысяч бомб, начиненных горчичным газом – якобы для ответных мер на случай, если нацисты решатся применить химическое оружие. В ходе последующего разбирательства военный врач Стюарт Френсис Александер заметил, что в крови у пострадавших и погибших резко снизился уровень лимфоцитов. Из этого он заключил, что производные горчичного газа могут действовать как противораковые препараты, снижая переизбыток лимфоцитов при лимфомах и лейкомии.

К тому моменту двое врачей из Медицинской школы при Йельском университете – Альфред Гилман и Луис Гудман – уже работали над этой проблемой. 27 августа 1942 года польский эмигрант, который остался в истории под псевдонимом Джей-Ди, прошел у них экспериментальную химиотерапию от лимфокарциномы. Поскольку Министерство обороны засекретило эту информацию, препарат из медицинской карты Джей-Ди именовался «вещество Икс», а не «аналог горчичного газа». «При лечении пациента удалось выяснить, что рак реагирует на химические инъекции, а также что химиотерапия чревата потенциально смертельными осложнениями, связанными с угнетением работы костного мозга», – писал Джон Фенн, йельский специалист по сосудистой хирургии. Именно с этого пациента началась терапевтическая онкология. Хотя Джей-Ди умер в год начала его лечения с использованием методов химиотерапии, вскоре затеплилась надежда, что когда-нибудь препараты на основе аналогов горчичного газа позволят лечить людей от всех видов рака. Ремиссии после такого метода терапии регистрировались повсеместно. Первый случай был зафиксирован в Нью-Хейвене, далее такие случаи стали фиксироваться по всем США. Но зарегистрированные ремиссии оказались краткосрочными.

К счастью, в ходе более ранних диетологических исследований зеленолистных овощей удалось выявить вещество, оздоравлившее костный мозг. Это была фолиевая кислота. При дефиците фолиевой кислоты количество лимфоцитов в костном мозге уменьшается – эффект напоминает воздействие горчичного газа. Вскоре после Второй мировой войны Сидней Фарбер стал сотрудничать с Лабораторией Ледерле при детской больнице Бостона и занялся разработкой ряда ингибиторов фолиевой кислоты, в том числе действенного препарата аметоптерина, сегодня более известного под названием метотрексат. Применив его в 1948 году, Сидней Фарбер впервые добился бесспорной ремиссии при детском остром лимфобластном лейкозе. Постепенно ремиссии становились все более и более длительными. К

концу 1960-х годов многих детей удалось полностью излечить от острого лимфобластного лейкоза, комбинируя сразу несколько агрессивных химиотерапевтических средств, в том числе алкалоид винкристин. Столь же удовлетворительных результатов удалось достичь при лечении взрослых пациентов, страдавших обширной онкологией лимфатических узлов – болезнью Ходжкина. Болезнь Ходжкина хорошо излечивалась при помощи еще одного растительного алкалоида – прокарбазина, уничтожающего делящиеся клетки. Прокарбазин применяется при некоторых комбинированных видах химиотерапии. Крепла надежда на то, что удастся найти еще более качественные химиотерапевтические агенты, которые позволят достичь более длительных ремиссий или даже полностью вылечиться. Химиотерапия помогала от многих онкологических заболеваний крови, а также от таких видов рака, как, например, рак груди и легких. Поэтому филантроп Мэри Ласкер, сотрудничавшая с Сиднеем Фарбером в 1960-е годы, смогла пролоббировать в Конгрессе США расширенные программы грантовой поддержки для Национальных институтов здравоохранения, нацеленные на исследования рака, и в частности на подбор комбинаций лекарств для химиотерапевтических режимов.

После того как президент Никсон в конце 1971 года объявил войну против рака, Национальный онкологический институт перешел в непосредственное подчинение президенту, а не главе Национальных институтов здравоохранения. Хотя я был одним из первых членов Консультативного комитета по онкологии при президенте США, вскоре я впал в немилость, и меня выгнали из этого престижного круга, в основном потому что я не питал иллюзий выиграть эту войну всего за десять лет. Именно десятилетний срок в 1961 году озвучил президент Кеннеди, поставив задачу отправить человека на Луну, поэтому такой же срок дали и нам на борьбу с раком. Я считал, что мы слишком мало знаем о раке, как в генетическом, так и в биохимическом отношении, чтобы ответственно планировать устранение большинства видов рака к концу 1970-х годов. По моим наиболее адекватным оценкам, на это могло потребоваться как минимум двадцать, если не тридцать лет.

Естественно, я всерьез обеспокоился, когда в 1979 году моей сорокадевятилетней сестре Бетти диагностировали агрессивный отечно-инфильтративный рак груди. К счастью, она тогда жила в Вашингтоне, округ Колумбия, и могла лечиться в Национальном онкологическом институте – одном из лучших в мире учреждений, занимавшихся инновационной химиотерапией. Более года она еженедельно принимала

химиотерапию в почти смертельных дозах. В Национальном онкологическом институте мою сестру вылечили от рака – болезнь так и не вернулась к ней до самой смерти. Однако, как ни прискорбно, впоследствии этот успех практически не удавалось повторить у пациентов, больных этим видом рака, а тем более гораздо более агрессивными его видами: раком легкого, поджелудочной железы, прямой кишки и мозга. Даже сегодня, когда в очень редких случаях и удается добиться полной ремиссии, этот рак почти всегда возвращается в новой и гораздо более агрессивной форме, устойчивой к химиотерапии, и в таком случае болезнь обычно оставляет человеку всего один-два года. Считаю, что Бетти смогла прожить еще более двадцати лет без следа рецидивов болезни именно благодаря той годичной химиотерапии. Она прожила по меньшей мере вдвое дольше, чем обычно прогнозируют на современном этапе пациентам с раком груди. С тех пор эта мысль меня не оставляет, и я думаю, что ее стоит обдумать многим исследователям-онкологам.

Я стал гораздо больше интересоваться исследованиями рака с тех пор, как впервые услышал об опухолевых вирусах, то есть более тридцати лет тому назад. Осенью 1947 года, будучи новоиспеченным аспирантом Университета Индианы, я стал посещать курс по вирусологии, который читал тридцатипятилетний микробиолог Сальвадор Лурия, получивший образование в Италии. Узнавая о вирусах, провоцирующих рак, и в частности о вирусе саркомы Рауса и вирусе папилломы Шоупа, я задумывался над тем, а есть ли у них канцерогенные гены (онкогены). Однако узнать об этом наверняка удалось лишь после того, как в 1953 году мы смоделировали структуру ДНК и поняли, что она напоминает двойную спираль. В результате плодотворных размышлений мы поняли, что, поскольку у вирусов относительно немного нуклеиновых кислот, их хромосомы могут кодировать от силы несколько онкогенов. В начале 1968 года меня назначили директором лаборатории Колд-Спринг-Харбор на Лонг-Айленде, и я поставил себе первоочередную цель: найти, а затем изучить канцерогенные гены на материале человеческого опухолевого вируса SV40, который был открыт незадолго до этого. Мне ни разу не пришлось пожалеть об этом решении, поскольку с тех пор лаборатория в Колд-Спринг-Харборе была центром изучения регуляции генов у эукариот, а также генетических основ рака.

До изобретения технологий планомерного выращивания вирусов в средах для культивирования клеточных культур (эти методологии разработали Гарри Игл из Национальных институтов здравоохранения и Ренато Дульбекко, тогда трудившиеся в Калифорнийском технологическом

институте) те впечатляющие наработки 1970-х, показавшие, как именно вирусы вызывают рак, или были бы просто невозможными, или же продвигались бы с черепашной скоростью. Не менее важную роль для быстрого прогресса в этой сфере сыграла растущая доступность радиоактивных изотопов, которыми помечают основные компоненты вирусных нуклеиновых кислот. Многие талантливейшие интеллектуалы, решившие заняться биологией и медициной после открытия двойной спирали, разумно присоединились к поиску вирусных генов, вызывающих рак.

У многоклеточных животных циклы роста и деления большинства клеток происходят не самопроизвольно, а требуют внешнего сигнала – такой сигнал дают гормоны, поступающие из других органов. Таким образом, клетки делятся лишь тогда, когда организму это требуется. Большинство этих белковых сигналов для запуска/перезапуска клеточного роста либо воздействуют на поверхность клетки (например, эпидермальный фактор роста связывается с соответствующим рецептором), либо опосредуются гормонами роста, поступающими через цитоплазму к ядру, где связываются с рецепторами гормонов, расположенными в ядерном хроматине (таков, например, рецептор эстрогена). Так запускается синтез определенных факторов транскрипции. Многие белки, покрывающие поверхность клеток растущего эмбриона, – это рецепторы факторов роста. Прямо под ними, на внутренней стороне клеточной мембраны, находятся погруженные в цитоплазму другие важные сигнальные белки, например RAS и фосфоинозитид-3-киназа (PI3Ks), которые передают сигналы, стимулирующие рост, на рибосомы – клеточные органеллы, где синтезируются белки для сборки новых клеток.

Механизм репликации вируса саркомы Рауса впервые предсказали в Университете Висконсина в начале 1960-х. Говарда Темина озадачил вопрос, почему размножение этого вируса в мышинных клетках блокируется актиномицином, ингибитором синтеза ДНК. Темин предположил, что первый этап размножения этого вируса заключается в синтезе одноцепочечных нитей ДНК, комплементарных одноцепочечным матрицам РНК, вызывающим инфекцию. Получающиеся в результате двойные спирали, состоящие из ДНК и РНК, затем должны рекомбинироваться в одну или несколько мышинных хромосом, пока возникают провирусы саркомы Рауса, то есть пока вирусные геномы встраиваются в клетки хозяина. При дальнейшей транскрипции этих провирусных последовательностей ДНК генерируются новые цепочки РНК вируса саркомы Рауса. Таким образом, Темин обнаружил вирусы, обладающие

активностью обратной транскриптазы и существующие как провирусы в ДНК клеток животных.

Провирусная гипотеза Темина была подтверждена в 1970-е годы, когда он сам и Дейвид Балтимор из Массачусетского технологического института независимо друг от друга открыли, что обработанные детергентом разорванные вирусные частицы встраивают дезоксинуклеозидтрифосфаты в растущую цепочку ДНК. В присутствии фермента рибонуклеазы, расщепляющего РНК, ДНК не образуется – таким образом, шаблоном для ее синтеза служит вирусная РНК. Такой синтез катализирует фермент обратная транскриптаза, отвечающая за построение ДНК. Этот фермент кодирует один из четырех генов, линейно расположенных вдоль единственной цепочки ДНК у вируса саркомы Рауса. Длина его ДНК около шести тысяч оснований. Таким образом, способность РНК-содержащих вирусов поражать клетки тканей человека и животных – это следствие так называемой обратной транскрипции, то есть возможности передачи генетической информации не от ДНК к РНК, затем к белку (транскрипция), а наоборот, от молекулы РНК к ферменту ДНК – полимеразе (ревертазе) и уже от него к клетке, которая в результате перерождается в опухолевую. (За открытия, касающиеся взаимодействия между опухолевыми вирусами и генетическим материалом клетки, Темин и Балтимор были совместно удостоены Нобелевской премии в 1975 году). Два из этих генов получили название *Gag* и *Env* – они кодируют у вируса саркомы Рауса соответственно внутренние (связывающиеся с РНК) и внешние структурные белки оболочки. В конце генома РНК расположен ген *Src* – он кодирует фермент, который фосфорилирует тирозиновые остатки и обеспечивает базовый внутриклеточный регуляторный этап в самом начале биохимического пути, по которому внешние сигналы, стимулирующие рост клетки, передаются с мембраны к клеточному ядру.

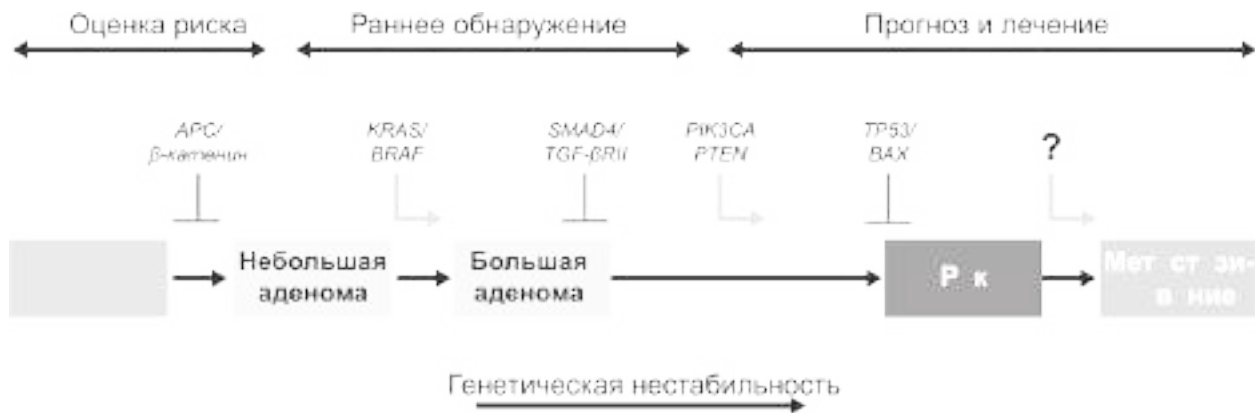
Следующее важное открытие также было отмечено Нобелевской премией. Его совершили Майк Бишоп и Гарольд Вармус из Калифорнийского университета в Сан-Франциско, определившие, что во всех клетках позвоночных содержится неонкогенный вариант гена *Src*, очень похожий на тот, что кодирует вирусную саркому Рауса. Они выявили первый человеческий онкоген. Естественно, Бишоп был польщен, когда однажды рано утром в 1989 году его разбудил звонок из Стокгольма, но тем не менее настаивал на более раннем времени своей пресс-конференции, чтобы успеть в тот вечер поболеть за любимую команду «Сан-Франциско Джайентс», вышедшую в плей-офф главной лиги бейсбола. Вскоре исследователи открыли и неканцерогенные варианты других вирусных

онкогенов, в частности *RAS*-онкогенов (они встречаются в трех вариантах: H, K и N). Подобные гены передают сигналы, стимулирующие рост, от многочисленных мембранных рецепторов факторов роста. Такие онкогены, как рецептор *HER2* (из семейства эпидермальных факторов роста), часто амплифицируются в раковых клетках; при их наличии соответствующие нисходящие пути роста всегда активны. Напротив, в нормальных клетках ген *HER2* почти все время неактивен.

Воздействие мутантных онкогенов, таких как *EGFR*, *HER2*, *RAS* и *P13K*, можно сравнить с ситуацией, когда педаль газа все время выжата до упора – из-за этого клетка-хозяин неконтролируемо растет и делится. Напротив, при мутациях в генах иного класса, так называемых опухолевых супрессорах, эти гены действуют, скорее, как заклинившие тормоза, отключающие жизненно важные защитные механизмы клетки. Люди, унаследовавшие дефектный опухолевый супрессор, в некотором смысле находятся на краю пропасти: если будет повреждена вторая, последняя копия этого гена, то у них вполне может развиваться рак. Среди опухолевых супрессоров можно назвать *PTEN*, подавляющий метаболизм роста, а также *p53* и *RB* – в нормальной ситуации эти гены препятствуют запуску деления митотических клеток.

Работу этих генов впервые красочно продемонстрировали Берт Фогельштейн (*Bert Vogelstein*), Кеннет Кинцлер (*Kenneth Kinzler*) и их коллеги из Университета им. Джона Хопкинса, показавшие, что сбои в работе некоторых онкогенов и опухолевых супрессоров накапливаются до тех пор, пока не спровоцируют возникновение и прогрессирование рака прямой кишки.

Хотя, конечно, есть такие виды рака, которые возникают из-за единственной мутации, гораздо вероятнее, что должно произойти как минимум несколько мутаций, прежде чем начнется рак, представляющий угрозу для жизни. Одна или несколько мутаций включают клеточный рост, опосредованный синтезом белков; очередная мутация запускает неконтролируемый клеточный цикл – например, из-за того что в клетке перестает работать ген *p53*. Скорее всего, большинство видов рака у человека начинаются после двух-трех мутаций в онкогенах, а затем такого же числа мутаций в опухолевых супрессорах. Однако, возможно, и не требуется свести на нет все эти мутации, чтобы добиться эффективности препаратов, действующих на уровне генов. Есть надежда, что по-настоящему переломить ситуацию удастся после появления эффективных препаратов против *RAS* и *MYC*.



Долгий путь от здоровой ткани к распространению рака. Классические исследования Берта Фогельштейна, Кеннета Кинцлера и их коллег показали, что рак прямой кишки и другие онкологические заболевания возникают из-за накопления последовательных мутаций во множестве генов

Один из важнейших генов опухолевых супрессоров был открыт в 1979 году сэром Дэвидом Лейном и его коллегами из Университета Данди. Оказалось, что белок *p53* – один из центральных узлов, где сходится масса нормальных функций и клеточных биохимических путей; в частности, здесь пролегает ключевой этап сложного пути, приводящего к раку прямой кишки. Имена онкологов Фредерика Ли и Джозефа Фраумени увековечены в названии редкого наследственного синдрома, при котором у человека в раннем возрасте развивается сразу множество видов рака, в том числе рак молочной железы, крови и мозга. Наследственные мутации в гене *p53* вызывают синдром Ли – Фраумени, а соматические мутации в *p53* встречаются более чем в 50 % всех случаев рака. Поэтому ген *p53* полностью оправдывает свое пафосное прозвище «страж генома».

Однако шансы на возникновение заболевания для всех организмов, больших и малых, различаются, хотя и в этом случае *p53* также оправдывает свою репутацию. Прославленный статистик из Оксфордского университета сэр Ричард Пето однажды сформулировал интересный вопрос: почему повторяемость случаев рака не коррелирует с абсолютными размерами тела и, соответственно, с количеством клеток? Почему рак у человека развивается с той же частотой, что и у мышей, но чаще, чем, скажем, у слонов? Оказывается, разгадка парадокса Пето заключается в следующем. В геноме слона примерно 20 копий гена *p53*, поэтому слон обладает «системой раннего оповещения» с высокой избыточностью. Поскольку в клетках слона белок *p53* синтезируется в огромных количествах, организм не пытается «ремонттировать» ДНК (как делают

некоторые человеческие варианты этого гена), а просто провоцирует апоптоз клеток, чтобы «не рисковать». Естественно, у слона множество клеток, способных к самопроизвольному уходу в апоптоз.

После обнаружения важнейших онкогенов, в частности *RAS*, несколько новоиспеченных биотехнологических компаний, специализирующихся в области онкологии, принялись искать препараты, блокирующие работу этих генов. Еще в 1980-е годы я работал консультантом в одной такой компании на Лонг-Айленде, которую планировалось назвать *Oncogene Sciences*, однако она приобрела известность под именем *OSI Pharmaceuticals*. Среди основных онкогенных белков, на которые она нацелилась, был *RAS*. В те годы сформулировали множество основополагающих описаний работы *RAS* на генетическом и биохимическом уровнях организации, и в этом была заслуга Майка Уиглера и Линды ван Эльст, работавших всего в нескольких километрах от лаборатории Колд-Спринг-Харбор. Однако как тогда, так и сейчас *RAS* крайне тяжело поддается лекарственному воздействию. Поэтому *OSI* переключилась на поиск препаратов против эпидермального фактора роста, чрезмерная экспрессия которого – одна из важнейших причин, вызывающих рак легких. Однако прошло почти десять лет, пока *OSI* получила от Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрение на препарат, блокирующий эпидермальный фактор роста, именуемый *Tarceva*. К сожалению, с помощью этого препарата редко удается продлить жизнь человека более чем на два года, а большинству пациентов разница «еще полгода» или «еще полтора года» не очень принципиальна. Поэтому у *Tarceva* был крайне ограниченный коммерческий успех. *OSI* не имела шансов превратиться в мирового биотехнологического игрока, сравнимого с *Genentech*, и в 2010 году за четыре миллиарда долларов ее приобрела японская фармацевтическая компания *Astellas*. Хотя основатели *Oncogene* и работавшие там ученые так и не стали баснословно богаты, я, по крайней мере, смог употребить свой заработок на существенную филантропическую поддержку для лаборатории Колд-Спринг-Харбор.

Значительно более успешным противораковым средством оказались гуманизированные моноклональные антитела^[24], на основе которых был получен препарат герцептин (о нем я уже упоминал). Этот препарат блокирует рецептор *HER2*, стимулирующий рост всех потенциально летальных протоковых разновидностей рака груди. Поскольку герцептин довольно часто обеспечивает ремиссии, длящиеся по несколько лет, а не месяцев, как ранее, создание этого препарата – один из крупнейших

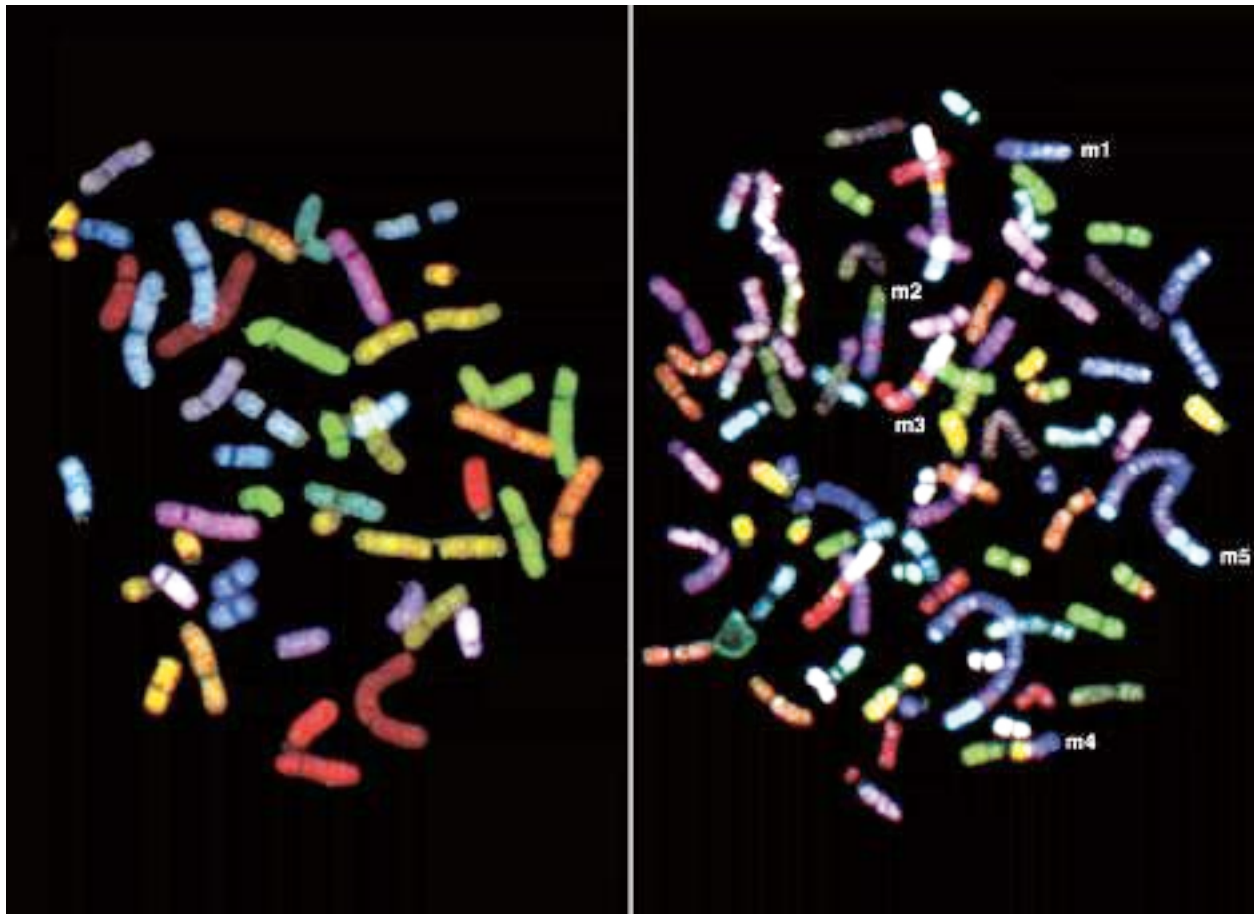
прорывов в лечении рака за два последних десятилетия. Исходно *HER2* был описан в 1980-е годы учеными из *Genentech*, показавшими, что это продукт одного из первых онкогенов (*NEU*), идентифицированных в Массачусетском технологическом институте группой Боба Вейнберга. Онколог Деннис Слеймон из Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе показал, что амплифицированные гены *HER2* – основной фактор развития протокового рака груди. У пациентов с лишними копиями гена *HER2* зачастую возникал более агрессивный метастазирующий рак. В течение нескольких следующих лет Слеймон сотрудничал с *Genentech*, участвуя в разработке моноклонального антитела для блокировки рецептора *HER2*. Гуманизированную форму этого моноклонального антитела называли «герцептин» – неологизм составлен из аббревиатуры *HER2* и английского слова *intercept* (перехватывать). К тому времени (в 1998 году) Деннис Слеймон уже представил на крупной конференции по онкологии драматичные результаты третьего этапа своего клинического исследования – поэтому препарат был одобрен без всяких сомнений.

На сегодня наиболее успешным противораковым препаратом, работающим на генетическом уровне, остается иматиниб (*Gleevec*). Большинство современных препаратов от лейкемии – это по-прежнему адаптированная «побочка» терапии другой онкопатологии, поскольку фармацевтические компании не склонны инвестировать средства в разработку лечения, нацеленного на относительно малую подгруппу пациентов. Однако в 1990 году, когда молодой швейцарский химик-органик Юрг Циммерманн получил в Базеле свою первую серьезную фармацевтическую работу в компании *Ciba-Geigy* (позже она слилась с компанией *Sandoz*, и вместе они образовали корпорацию *Novartis*), ему первым делом поставили следующую задачу: синтезировать низкомолекулярные кандидатные препараты для лечения хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ). Хотя это и не самая распространенная форма лейкемии, в мире ежегодно диагностируется около 6000 случаев ХМЛ, эта болезнь обычно приводит к смерти максимум за пять лет, и единственное доступное лечение – это трансплантация костного мозга.

Однако основная причина ХМЛ была известна уже несколько десятилетий: в 1960 году двое ученых из Филадельфии описали любопытную аномалию в белых кровяных тельцах у больных. Еще через десять лет Джанет Роули, генетик из Университета Чикаго, точно описала хромосомную аномалию как филадельфийскую хромосому. Воспользовавшись новым методом окрашивания, с которым она ознакомилась во время творческого отпуска в Оксфорде, Джанет Роули

смогла сделать микрофотографии хромосом с нанесенными полосками. В 1972 году она раскладывала эти снимки прямо на обеденном столе, вырезала из них изображения отдельных хромосом и аккуратно попарно складывала, уговаривая своих маленьких детей, игравших рядом, чтобы те не чихали. Оказалось, что филадельфийская хромосома – это патологическое слияние двух обычных хромосом, 9 и 22. Джанет Роули написала о своем открытии в журнале *Nature*. Описав хромосомные транслокации при двух других типах лейкемии, она убедилась, что именно эти aberrации и есть причина рака, а не какой-нибудь побочный эффект другого заболевания. Так появилось первое солидное доказательство, что рак возникает из-за повреждений ДНК.

Аномальная хромосома, образующаяся вследствие переноса части 9-й хромосомы на 22-ю, при ХМЛ синтезирует химерный онкогенный белок BCR-ABL, который кодирует на поверхности клетки киназу, провоцирующую рост и отличающуюся при ХМЛ чрезмерной экспрессией.



Здоровые неповрежденные хромосомы из обычной клетки (слева) и хромосомы из клеточной линии *SKB3*, вызывающей рак груди (справа). В сущности, все раковые хромосомы изменены (либо структурно, либо по числу копий). В двух длинных искривленных синих хромосомах содержится множество лишних копий онкогена *MYC*

Команда Юрга Циммермана взяла «на прицел» четко обозначенную графически трехмерную модель белка-мишени, после чего ученые стали искать маленькое соединение, выстраивающееся в активный сайт гибридного белка и не дающее ему связываться с естественным субстратом (в данном случае с нуклеотидом АТФ). По признанию врача Чарльза Сойерса, позже сотрудничавшего с *Novartis*, до тех пор пока метод не заработал, «эта идея казалась безумной». Безумные идеи редко бывают по душе тем, кто занимается разработкой лекарств – кропотливым и заоблачно дорогим делом. В среднем на открытие препарата тратится пятнадцать лет и более миллиарда долларов; приходится провести многолетние клинические исследования, и только тогда, когда будет доказана безопасность и эффективность лекарства, наконец получить одобрение.

Тем не менее Юрг Циммерманн не отчаялся и приступил к поиску известных ингибиторов других белковых киназ. Он стал экспериментировать с химической структурой известного химического соединения: добавлять группу атомов там, корректировать тут. Своему чутью он доверял больше, чем компьютерным программам для моделирования молекул. К августу 1992 года он синтезировал молекулу, получившую лабораторное название STI-571 (ингибитор сигнальной трансдукции 571). Поначалу менеджеры компании препаратом не воодушевились, поскольку, как я уже упоминал, у лекарства не было потенциала, чтобы стать «блокбастером» в фармации и давать по миллиарду долларов чистой выручки ежегодно. К счастью, тестировать соединение Циммерманна поручили онкологу Брайану Друкеру. Первые исследования показали, что препарат токсичен для собак, но Друкер смело заявил, что такой результат может и не повториться при испытаниях на людях. Действительно, по итогам первого этапа клинического исследования, запущенного в 1996 году, STI-571 оказался безопасным и удивительно эффективным. Всего за несколько недель повышенные титры белых кровяных телец у пациентов с ХМЛ вернулись к нормальным значениям. Молекула прошла и дальнейшие испытания, после чего в 2001 году FDA за рекордные десять недель одобрило препарат, сегодня известный под названием иматиниб. Это произошло всего через три года после первых клинических испытаний и через девять лет после того, как Юрг Циммерманн синтезировал это соединение. Поскольку иматиниб блокирует не только BCR-ABL, но и другие киназы, Друкер, Соьерс и их коллеги догадались, что потенциально препарат может лечить и другие виды рака, в частности гастроинтестинальную стромальную опухоль (ГИСО). ГИСО возникает из-за мутаций в онкогене *c-KIT* и на первый взгляд совершенно не похожа на лейкемию. Сходство выявляется лишь на уровне молекулярной генетики.

Однако надежды на то, что иматиниб может полностью излечить пациента от ХМЛ, вскоре рухнули. Любая спонтанная мутация в присутствии иматиниба помогает раковым клеткам ускользать от этого препарата. Уже в ходе клинических испытаний врачи отметили, что у некоторых пациентов развилась резистентность к препарату. Одна мутация даже привела к тому, что сайт раковой клетки, продуцировавший BCR-ABL, вновь заработал на полную мощность. Клетка подставила на этот сайт вместо обычной кислоты другую, более крупную, и стала неуязвима для иматиниба. Пока Друкер и Соьерс рассказывали коллегам-онкологам о резистентности при ХМЛ, исследователи из компании *Bristol-Myers Squibb*

разрабатывали собственный ряд ингибиторов киназ для лечения ХМЛ. Они открыли молекулу, которая, подобно иматинибу, могла блокировать BCR-ABL в его активной конфигурации. Теперь у онкологов было на выбор несколько ингибиторов киназ, в том числе нилотиниб, препарат следующего поколения от *Novartis* (под названием *Tasigna*), который случайно (или как раз кстати) поступил на рынок в 2015 году, именно тогда, когда истекал патент на *Gleevec*. Сейчас ведутся еще несколько исследований, призванных определить, какие комбинации препаратов обеспечивают максимальную вероятность долгосрочной ремиссии при ХМЛ.



Боб Вайнберг (слева) и Дуглас Ханахан (справа) – исследователи, выделившие наиболее характерные признаки рака

Прошло почти двадцать лет с тех пор, как Боб Вайнберг из Института Уайтхеда при Массачусетском технологическом институте и Дуглас Ханахан, на тот момент директор Института экспериментальных онкологических исследований в швейцарской Лозанне, встретившись на конференции на Гавайях (в 1998 году), решили воспользоваться своим свободным временем и вместе спуститься в кратер потухшего вулкана. Этот поход позволил им договориться, что они в соавторстве напишут

обзорную статью, где, по словам Вайнберга, «попытаются кодифицировать принципы, по которым здоровая клетка превращается в раковую». Дуглас Ханахан придумал для статьи запоминающееся название: *The Hallmarks of Cancer* (Рак: характерные особенности), и в январе 2000 года эта статья была опубликована в журнале *Cell*. По признанию самого Боба Вайнберга, он ожидал, что статья «утонет, как камень в спокойном пруду; мы даже и не думали, что она получит поистине всеобщее признание в широком научном сообществе». Действительно, с тех пор ее цитировали тысячи раз – такой чести удостоились авторы, сумевшие свести к сухому остатку ошеломительно сложную биологию рака и сформулировать стройную систему из считанных фундаментальных признаков.

Никто не удивился, что первые два признака, выделенные Ханаханом и Вайнбергом, уже обсуждались ранее: 1) онкогены, поддерживают в клетке сигнальные механизмы для самодостаточного роста; 2) дефектные опухолевые супрессоры, которые должны реагировать на сигналы роста (ингибировать их), но не работают или блокируются иным образом. Остальные характерные признаки рака: 3) избегание запрограммированной клеточной смерти (апоптоза); 4) способность к неограниченной репликации; 5) постоянное наращивание сетки кровеносных сосудов (ангиогенез); 6) способность к инвазии в другие ткани (метастазирование). Десять лет спустя, как воссоединившиеся рок-звезды онкологии, решившие отправиться в турне с лучшими хитами, Ханахан и Вайнберг вновь объединили усилия и немного дополнили свою классическую схему, добавив в нее еще два признака: 7) избегание уничтожения иммунными механизмами и 8) дерегуляция клеточной энергетики.

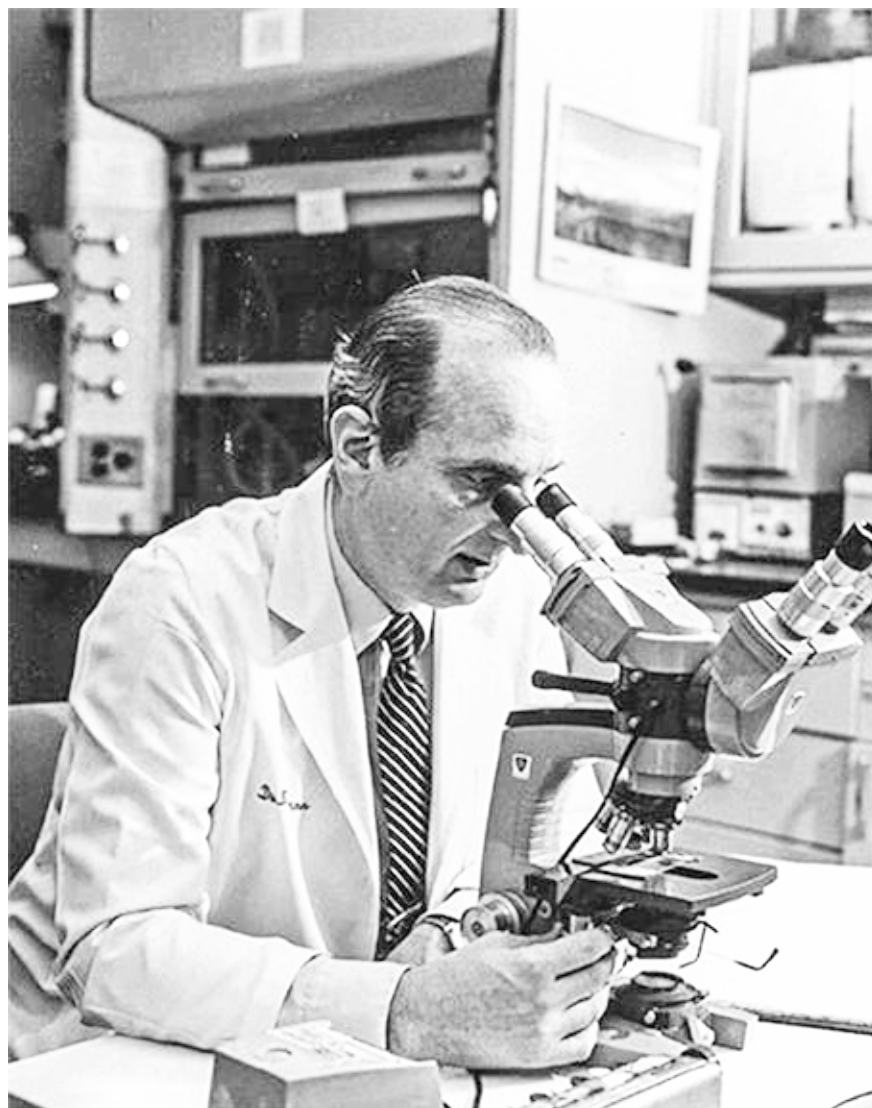


Характерные признаки рака, сформулированные Дугласом Ханаханом и Бобом Вайнбергом. В обновленной версии статьи упоминаются еще два ключевых признака: «избегание уничтожения иммунными механизмами» и «дерегуляция клеточной энергетики»

Долгие годы исследователи зондируют эти фундаментальные свойства рака в поисках новых возможностей лечения. Так, у нормальных клеток в участках ДНК на кончиках хромосом встроен специальный «счетчик», ограничивающий их способность к репликации. Такие защитные структуры называются теломеры и действуют примерно как пластиковые наконечники на шнурках: чем сильнее они изнашиваются, тем сложнее зашнуровать ботинки. Важнейшие фундаментальные исследования, связанные с тело-мерами, выполнила Элизабет Блэкберн, учившаяся у

Фреда Сэнгера и взявшаяся за изучение этих структур лишь потому, что эти фрагменты ДНК относительно легко секвенировать. По ее мнению, теломерные участки хромосом характеризуются отсутствием способности к соединению с другими хромосомами или их фрагментами и выполняют защитную функцию. Элизабет Блэкберн менее всего предполагала, что этот путь приведет ее к Нобелевской премии.

Человеческая теломера содержит последовательности из шести пар оснований (ТТАГГГ), и обычно в клетке около двух тысяч копий таких последовательностей. Как правило, после каждого акта деления клетки теломеры укорачиваются, однако их может снова нарастить фермент под названием теломеразы. В раковых клетках теломеразы активируется гораздо сильнее, поэтому таким клеткам удается преодолеть так называемый предел Хейфлика. Это число актов деления, которые может претерпеть нормальная клетка. Эта величина составляет от сорока до шестидесяти и названа в честь американского биолога Леонарда Хейфлика (*Leonard Hayflick*), оценившего ее в 1961 году. Таким образом, работа с теломерами представляется терапевтической стратегией широкого профиля для борьбы с раком. Сообщают о некотором прогрессе – уже получается отключить теломеразу, однако здесь предстоит еще много работы.



Джуда Фолкман (Judah Folkman) первым стал выступать за ингибирование ангиогенеза как один из способов борьбы с раком

Ангиогенез – еще один важный характерный признак рака – давно интересует ученых как потенциальная ахиллесова пята этой болезни. Ангиогенез – это образование новых кровеносных сосудов, необходимых раковой опухоли для поддержания роста. Идею о том, что мелкие опухоли становятся опасны лишь после того, как в них прорастают и начнут их подпитывать мелкие кровеносные сосуды, первым начал отстаивать Джуда Фолкман в начале 1960-х годов. В то время он работал в Научно-исследовательском медицинском институте ВМФ близ Вашингтона, округ Колумбия. Джуда Фолкман, талантливый отпрыск раввина из Огайо, уже к моменту перехода в старшие классы успел поработать ассистентом хирурга-ветеринара. Он был первым выпускником Университета штата

Огайо, поступившим в Гарвардскую медицинскую школу, а в возрасте 34 лет стал самым молодым профессором хирургии в истории Гарварда. Фолкман хотел лечить рак, а не просто изучать его и был убежден, что опухоли можно сдерживать, обескровливая их. В 1971 году он изложил свои провокационные идеи в *Медицинском журнале Новой Англии*, где впервые предложил термин «ангиогенез». Исследователи-онкологи дружно порицали его, однако Фолкман как хирург самостоятельно изучил немало опухолей, поэтому не сомневался в своей правоте.

В течение нескольких последующих десятилетий в лаборатории Фолкмана занимались решением задачи, которая состояла в том, чтобы охарактеризовать факторы роста, жизненно важные для роста эндотелиальных клеток, выстилающих кровеносные сосуды лабораторных мышей. Особенно интересными оказались мышинные факторы ангиогенеза ангиостатин и эндостатин – оба в 1990-е годы выделил Майкл О’Рейли. Хотя эти опыты на мышах уже давно казались многообещающими, меня сильно огорчило, когда на передовице *New York Times* случайно процитировали мои слова: «Джуда собирается победить рак за два года». Это было еще в апреле 1998 года. Мне довелось узнать, что у человека далеко не один биохимический путь, определяющий рост кровеносных сосудов. Однако в 2004 году FDA одобрило антиангиогенный препарат *Avastin* от *Genentech* (международное название – бевацизумаб) для лечения метастатического рака прямой кишки. Его противораковая эффективность оказалась минимальной. Однако препарат стал важнейшим средством для лечения распространенной формы слепоты (невозрастная макулярная дегенерация).

Фолкман трагически скоропостижно скончался от сердечного приступа в январе 2008 года; это случилось в аэропорту, когда он направлялся в Денвер на конференцию. Поэтому ему не суждено было увидеть, как его идеи проверяются в клинике. Я чувствовал себя словно заблудшая душа, когда стоял на его похоронах вместе с его женой и дочерьми на холодном продуваемом кладбище на севере Бостона. Я потерял своего героя, того, кто вселял в меня надежду, что большинство смертельных видов рака с поздними рецидивами вскоре будут излечимы.

Потеряв Джуду, вселявшего в меня такую уверенность, я вновь стал по несколько часов в день читать научную литературу об уничтожении раковых клеток. Вскоре я понял, что большинство молекул, наиболее эффективно применяемых при химиотерапии, – это оксиданты, которые, реагируя с кислородом, дают активные формы кислорода (ROS), в том

числе супероксид (O_2^-), пероксид водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал (OH^-).

У всех живых организмов химическое уничтожение клеток почти всегда происходит при помощи оксидантов, причем на молекулярном уровне это только улучшает выживаемость клеток, а не мешает ей. Следовательно, химиотерапия убивает раковые клетки точно так же, как и ионизирующее излучение. Тем не менее эффективность химиотерапии быстро понижается, поскольку обрабатываемые клетки развивают сопротивляемость, в частности производят антиоксиданты для борьбы с активными формами кислорода, например глутатион и тиоредоксин, противодействующие окислению.

Устойчивость к химическому воздействию развивается по отношению к активным формам кислорода, не только поступающего извне, но и образующегося внутри организма. Практически все *RAS*-активируемые клетки генерируют активные формы кислорода, передавая сигналы, которые сначала включают рибосомные механизмы синтеза белков, а затем добавляют молекулярную оснастку для цикла деления митотических клеток. Поэтому уровни активных форм кислорода в растущих клетках, претерпевающих клеточный цикл, неизбежно выше, чем в аналогичных им клетках, которые не делятся. Еще больше активных форм кислорода обнаруживается в раковых клетках, действующих на основе онкогенов (там, где сигнализация, стимулирующая клеточный рост, всегда включена). Серьезную проблему представляют критически высокие уровни активных форм кислорода при раке легких, поджелудочной железы и прямой кишки (управляемых онкогенами *KRAS*). Соответственно, они генерируют и массу антиоксидантов, активируя фактор транскрипции *NRF2*; поэтому такие виды рака считаются видами, хуже всего поддающимся химиотерапии.

К счастью, сегодня онкологи все активнее принимают некогда вызывавшую неприятие идею о том, что выборочное уничтожение раковых клеток активными формами кислорода может быть связано с высокими уровнями активных форм кислорода, обусловленных действием онкогенов. Мнение обывателей заключается в том, что рак побеждает человека, потому что «такой здоровый» и на нем удобно создавать собственную среду для размножения клеток. На самом же деле опухолям в нашем организме не хватает многих важнейших питательных веществ, поскольку активные формы кислорода угнетают функцию митохондрий. «Здоровья» раку хватает лишь на то, чтобы как-то существовать. Однако что если удастся нарушить этот шаткий баланс, резко снизив в опухоли уровень

антиоксидантов (то есть заблокировав синтез тех антиоксидантов, которых в клетках больше всего)?

Хотя наиболее активным антиоксидантом является глутатион, первые клинические испытания, в которых планировалось исследовать ингибирование его синтеза, почти не принесли результатов – возможно, из-за того что не удалось одновременно блокировать биохимический путь синтеза альтернативного антиоксиданта, тиоредоксина. Напротив, если одновременно отключить защитные биохимические пути обоих этих ключевых антиоксидантов, развитие различных патологических процессов быстро замедляется, а сами они протекают не так тяжело (подтверждено на подопытных животных). Лекарства, блокирующие биохимические пути глутатиона и тиоредоксина, применяются при лечении ревматоидного артрита и, возможно, скоро будут опробованы и в онкологических клинических испытаниях на людях. Уже существуют убедительные доказательства того, что регулярные инъекции витамина Е (мощного антиоксиданта) усиливают, а не угнетают рак легких и рак простаты у человека.

С той поры конца 1990-х, когда набирал обороты проект «Геном человека», удалось добиться серьезного прогресса и в описании онкологических процессов на генетическом уровне. Это было связано с появлением ДНК-чипов. Первопроходцами в этой сфере выступили Патрик Браун из Стэнфорда и Дэвид Ботстейн, а коммерческим распространением чипов занималась компания *Affymetrix*. Одновременно измеряя активность десятков генов в раковых клетках (подсчитывая, сколько фиксируется операций *транскрипции* РНК от каждого гена) и сравнивая результаты с показателями здоровых клеток, ученые смогли выявить характерные изменения уровня экспрессии генов в тех опухолях, которые под микроскопом казались совершенно идентичными.

Мутации раковых генов, классифицированные по биологическим функциям и биохимическим путям. В таблице перечислены важные гены, мутирующие в ходе различных клеточных процессов

Клеточные процессы, изменяющиеся при изменении генома	Раковые гены, открытые при помощи геномики
Сигнальные пути рецепторов тирозинкиназ (RTK)	<i>EGFR, ERBB2, MET, ALK, JAK, RET, RAS, FGFR1, FGFR2, PDGFRA</i> и <i>CRKL</i>
Сигнальные пути рецепторов митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) (онкоген)	<i>KRAS, NRAS, BRAF, MAP2K1</i>
Сигнальные пути рецепторов митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) (опухолевый супрессор)	NF1

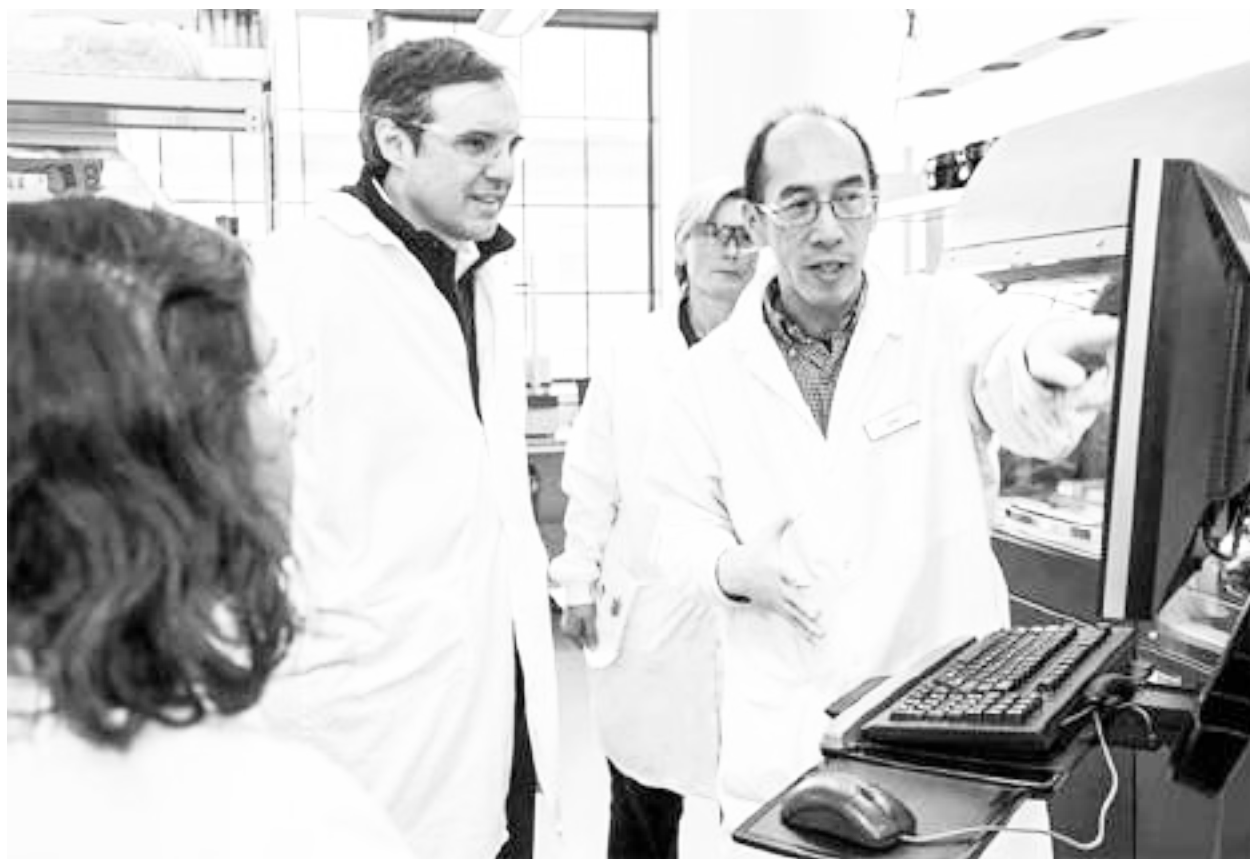
Клеточные процессы, изменяющиеся при изменении генома	Рановые гены, открытые при помощи геномики
Сигнальные пути PI3K (онкоген)	PIK3CA, AKT1 и AKT3
Сигнальные пути PI3K (опухолевый супрессор)	PTEN и PIK3R1
Сигнальные пути NOTCH (онкоген или опухолевый супрессор)	NOTCH1, NOTCH2 и NOTCH3
Сигнальные пути мишени рапамицина (опухолевый супрессор)	STK11, TSC1 и TSC2
Сигнальные пути Wnt/ β -катенина (опухолевый супрессор)	APC и CTNNB1
Сигнальные пути трансформирующего ростового фактора-бета (опухолевый супрессор)	SMAD2, SMAD4 и TGFBR2
Сигнальные пути транскрипционного фактора NF- κ B (онкоген)	MYD88
Другие сигнальные пути	RAC1, RAC2, CDC42, KEAP1, MAP3K1, MAP2K4, ROBO1, ROBO2, SLIT2, SEMA3A, SEMA3E, ELMO1 и DOCK2
Эпигенетика	DNMT3A, TET2
Хроматиновые гистон-метилтрансферазы	MLL, MLL2, MLL3, EZH2, NSD1 и NSD3
Хроматиновые гистон-деметилазы	JARID1A, UTX, KDM5A и KDM5C
Хроматиновые гистон-ацетилтрансферазы	CREBP и EP300
Хроматиновый комплекс SWI/SNF	SMARCA1, SMARCA4, ARID1A, ARID2, ARID1B и PBRM1
Хроматин (прочее)	CHD1, CHD2 и CHD4
Факторы, участвующие в развитии организма	MITE, NKX2-1, SOX-2, ERG, ETV1 и CDX2
Фактор транскрипции (прочее)	MYC, RUNX1, GATA3, FOXA1, NKX3.1, SOX9, NFE2L2 и MED12
Сплайсинг	SF3B1, U2AF1, SFRS1, SFRS7, SF3A1, ZRSR2, SRSF2, U2AF2 и PRPF40B
Трансляция/белковый гомеостаз/убиквитинирование	SPOP, FBXW7, WWP1, FAM46C и XBP1
Метаболизм	IDH1 и IDH2
Целостность генома	p53, MDM2, MSH, MLH и ATM
Стабильность теломер	Мутации промотора TERT
Клеточный цикл (онкоген)	CCND1 и CCNE1
Клеточный цикл (опухолевый супрессор)	CDKN2A, CDKN2B и CDKN1B
Регуляция апоптоза	MCL1, BCL2A1 и BCL2L1

К 1999 году удалось получить воспроизводимые опытным путем изменения в экспрессии генов и четко разделить клетки острого миелоидного лейкоза от клеток острого лимфобластного миелоидного лейкоза.

После первых исследований в этом направлении потребовалось почти десять лет, чтобы Элен Мардис и Рик Уилсон, тогда работавшие в Институте генома им. Макдоннелла при Вашингтонском университете в Сент-Луисе, сочли, что новые технологии секвенирования ДНК достаточно окрепли и можно взяться за полное секвенирование генома пациента, больного раком. Однако эксперты, оценивавшие заявку Элен Мардис и Рика Уилсона на грант, с ними не согласились. Элен Мардис вспоминала, что рецензенты «откровенно зарубили» ее планы; они подчеркивали, что разумнее было бы сосредоточиться на изучении отдельных генов или участков с активными мутациями, а не заниматься кропотливым секвенированием всего генома, потратив на это немалые деньги. Тем не менее команда из Сент-Луиса не отступилась, и вскоре усилия уже принесли первые плоды. Результаты полногеномного секвенирования первого ракового генома были опубликованы в 2008 году. Прошло более двадцати лет с тех пор, как мой друг, нобелевский лауреат Ренато Дульбекко, небесспорным образом поддержал идею секвенирования ракового генома. «Если мы хотим подробнее изучить рак, то сейчас должны сосредоточиться на свойствах клеточного генома, – писал он в комментарии в журнале *Science*. – Есть два варианта. Либо по одному выявлять гены, вызывающие злокачественные новообразования... либо в целом секвенировать весь геном».

Со времени эпохального отчета, составленного группой из Сент-Луиса, отсеквенировано уже множество раковых геномов, что помогло лучше определить спектр мутационных механизмов, стимулирующих рост опухолей. Вооружившись материалами программ Национального онкологического института, и в частности «Атласом ракового генома» (TCGA) – исчерпывающими каталогами генетических вариантов и генетической активности в десятках видов опухолей у тысяч пациентов, мы до сих пор обнаруживаем новых генетических персонажей в онкологической трагедии. Среди них множество генов, которые ранее никто и не думал подозревать в связи с раком. Красота систематических полногеномных исследований рака в том, что они дают непредвзятую картину всего спектра раковых мутаций. Мы больше не ограничены лишь тем набором генов, которые осознанно ищем. Уже известно, что при

различных онкологических заболеваниях возникают мутации примерно в трех сотнях генов; ученые составили схемы тех процессов и биохимических путей, когда эти пути нарушаются. Гены могут быть связаны с метаболизмом, клеточным циклом, эпигенетикой, модификацией гистонов, генетической регуляцией и обеспечением целостности генома. Наконец-то за деревьями начал просматриваться лес. Пестрое множество мутантных генов постепенно упорядочивается в виде удобоваримого списка путей и процессов, которые нарушаются при раке.



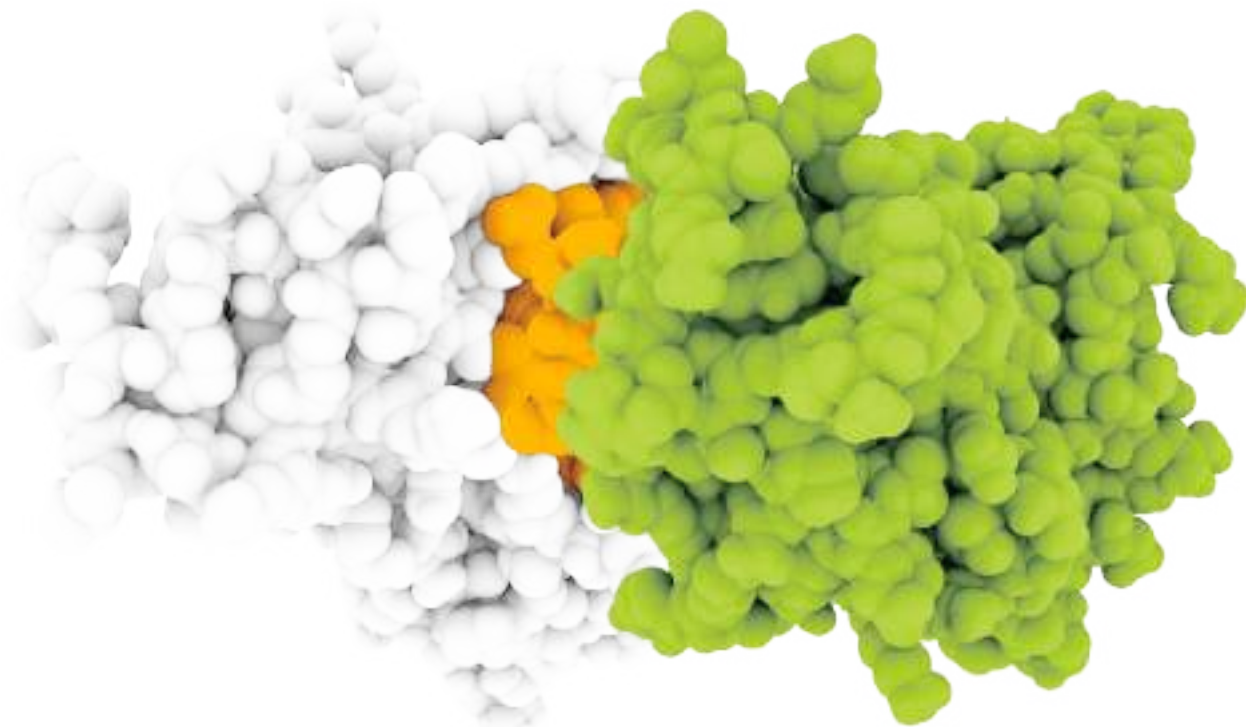
Первооткрыватель лекарств Джей Бреднер (слева) знакомится с исследовательскими данными в компании Novartis

Недаром Джей Бреднер, онколог, ранее работавший в Институте онкологических исследований Даны Фарбер в Гарварде, а теперь возглавляющий отдел НИОКР в кембриджской компании *Novartis*, называл *RAS*, *MYC* и *p53* «тримя неуязвимыми всадниками ракового апокалипсиса». Они стали такими знаменитыми мишенями не только потому, что так распространены, но и потому, что десятилетиями стимулировали разработку лекарств, упрямо не давая ни одной подходящей молекулярной

канавки, которую мог бы заблокировать мелкомолекулярный препарат. Поэтому химики между собой называют их лекарственно недостижимыми («undruggable»). В то время как большинство белков услужливо предлагают сколько угодно уголков и закоулков, где может разместиться маленький ген, *RAS*, например, является совершенно ровным, и там решительно негде закрепиться.

Для того чтобы найти препарат, который мог бы наконец справиться с *RAS*, Гарольд Вармус, еще будучи директором Национального института онкологии, в 2013 году запустил программу стоимостью 10 миллионов долларов под названием *RAS Initiative*. «Поиск лекарства для *RAS* – национальный приоритет», – считает Грег Вердайн, опытный химик из Гарвардского университета. *RAS* – первоочередная цель для его биотехнологической компании *Warp Drive Bio*. Возможно, определение приоритетов наконец начало приносить плоды. Кеван Шокат, исследователь из Медицинского института Говарда Хьюза при Калифорнийском университете в Сан-Франциско, недавно разработал новое соединение, которое может необратимо связываться со специфической формой *RAS*, вызывающей рак легких, но при этом не повреждает нормальную молекулу *RAS*. «*RAS* – словно переключатель, запускающий рак, а эта молекула позволяет надежно удерживать его в выключенном состоянии», – поясняет Кеван Шокат.

Наряду с *RAS* в списке приоритетных целей у разработчиков лекарств значится *MYC*. Этот белок активируется в семи из десяти случаев рака и вызывает рост и пролиферацию клеток. *MYC* – важнейшая шестеренка в процессе нормального клеточного деления, но в раковых клетках он напоминает сорванный вентиль. Срочность с разработкой лекарства от *MYC* объясняется тем, что он играет центральную роль во многих сигнальных путях и сетях. Как и *RAS*, он также удручающе гладкий. Поэтому многие исследователи пытались приглушить вредоносность *MYC*, нацеливаясь на другие шестеренки в онкогенной сети, в частности на небольшую группу белков, именуемых *BET*-активаторами. Первый эффективный ингибитор *BET*, который удалось разработать, называется *JQ1* в честь Цзюнь-Ци, китайского сотрудника из лаборатории Бреднера. Цзюнь-Ци синтезировал соединение *JQ1*, которое, связываясь с белком *BRD4* из группы *BET*, не позволяет ему соединиться с промоторным участком ДНК, включающим *MYC*. Становится понятным: чтобы полностью заблокировать *MYC*, потребуются гораздо более эффективные ингибиторы *BET*.



В поисках кооперации: лекарственное нацеливание – подход, широко применяемый в компании Warp Drive Bio, – обеспечивает связывание мелкомолекулярного препарата (оранжевый) с презентирующим белком (серым), который, в свою очередь, прикрепляется к мишени, например к RAS

Совершенно неудивительно, что среди первых пациентов, пытавшихся излечиться от рака при помощи секвенирования ДНК, были знаменитости первой величины с хорошими связями среди известных деятелей медицины. В 2004 году сооснователь *Apple* Стив Джобс по электронной почте сообщил коллегам, что ему диагностировали нейроэндокринный рак поджелудочной железы. Сделав ему биопсию опухоли, врачи секвенировали ДНК, но не получили четких результатов, необходимых для идентификации конкретных мутаций или лекарственных мишеней, чтобы спасти Джобса. Когда в 2010 году британскому писателю, литературному критику и убежденному атеисту Кристоферу Хитченсу диагностировали рак пищевода – ту самую болезнь, от которой умер его отец, – к нему обратился его знакомый, директор Национальных институтов здравоохранения (и искренний христианин) Френсис Коллинз, иногда выступавший его оппонентом в ходе дебатов. Коллинз предложил Хитченсу провести секвенирование генома. ДНК из опухоли Хитченса (которую Коллинз сравнил со «слепым и бесчувственным монстром») секвенировала

группа Мардис и Уилсона в Вашингтонском университете в Сент-Луисе.



Отчет об анализе генома пациента с аденокарциномой легких. Перечислены гены, в которых кроются потенциально опасные мутации

Результаты оказались удивительными: обнаружилась специфическая мутация, связанная с одной из форм лейкемии, а не с раком пищевода. Поэтому врачи решили не прибегать к традиционной терапии, а прописали Хитченсу *Gleevec*, нацеленный на борьбу именно с этой мутацией. В таком режиме лечения Хитченс как никогда активно размышлял о проблеме рака – до самой смерти в конце 2011 года (он умер от пневмонии). Хотя ни Джобс, ни Хитченс не излечились от рака, их случаи иллюстрируют фундаментальную перемену в наших представлениях об онкологии, связанную с возможностью геномного анализа. Для принятия наиболее точного и эффективного решения требуется понимать генетику опухоли, а не ее локализацию в организме (как считалось ранее в течение целых десятилетий).

Благодаря постоянному удешевлению секвенирования ДНК эта процедура выдает все больше и больше данных, которые могут подсказать, что делать, а медицинские центры предлагают услуги генетической диагностики, осуществляют скрининг ДНК и персонализированную молекулярную биопсию каждого конкретного ракового генома. Эрик Ландер, будучи директором обеспеченного Броудовского института, расположенного близ Массачусетского технологического института, сформировал там один из ведущих мировых центров по изучению генетики рака. Хотя Ландер особо не заинтересовался секвенированием собственного генома, он признался: «Если бы у меня обнаружили рак, то я

незамедлительно отдал бы мой рак на секвенирование».

Диагностическая компания *Foundation Medicine*, основанная Ландером, предлагает составление персональных онкологических профилей и терапевтические рекомендации пациентам, больным раком. Онкологи в медицинских центрах или муниципальных больницах со всей страны могут направлять биопсии опухолей (или образцы крови) в *Foundation*, где ученые извлекают ДНК и секвенируют набор из сотен потенциально канцерогенных генов. Далее они указывают, какие клеточные пути нарушены у пациента, и прогнозируют, какие препараты могут быть наиболее эффективными для его лечения. В их медицинских рекомендациях пациенту могут порекомендовать клинические исследования на предмет его болезни с целью оказания помощи в лечении заболевания. Многим больным, воспользовавшимся таким персонализированным профилированием, действительно стало лучше благодаря подобранным препаратам и участию в клинических испытаниях новейших препаратов. В 2015 году компания *Roche* приобрела контрольный пакет акций *Foundation Medicine* за один миллиард долларов.

Потенциально еще более мощный подход, чем профилирование опухолевой биопсии, заключается в отслеживании первых предвестников рака еще до того, как его можно будет диагностировать традиционными методами. Такая технология называется «жидкостная биопсия» (*CancerIntercept*), это новая эффективная технология детекции опухолевых биомаркеров в крови или других биологических жидкостях. Она чем-то напоминает неинвазивный пренатальный скрининг, о котором мы говорили в главе 8. У каждого из нас в кровотоке есть следовые количества свободно плавающей ДНК. У пациентов с бессимптомным протеканием рака около 0,01 % такой ДНК должно быть опухолевого происхождения. *Illumina* основала новое дочернее предприятие под названием *GRAIL* (проект оценивается в миллиарды долларов), получив на это инвестиции от Билла Гейтса и Джеффа Безоса, основателя *Amazon*. Потребуется еще серьезно повысить чувствительность и точность этой технологии, но я считаю, что к 2020 году у нас появится возможность пройти безболезненную заблаговременную проверку на рак – не сложнее, чем на уровень холестерина.

Естественно, и я горячо на это надеюсь, некоторые широко рекламируемые сегодня противораковые препараты, связанные с иммунным ответом, а также лечебные процедуры – в совокупности весь этот арсенал называется «иммунотерапия» – действительно окажутся победоносными.

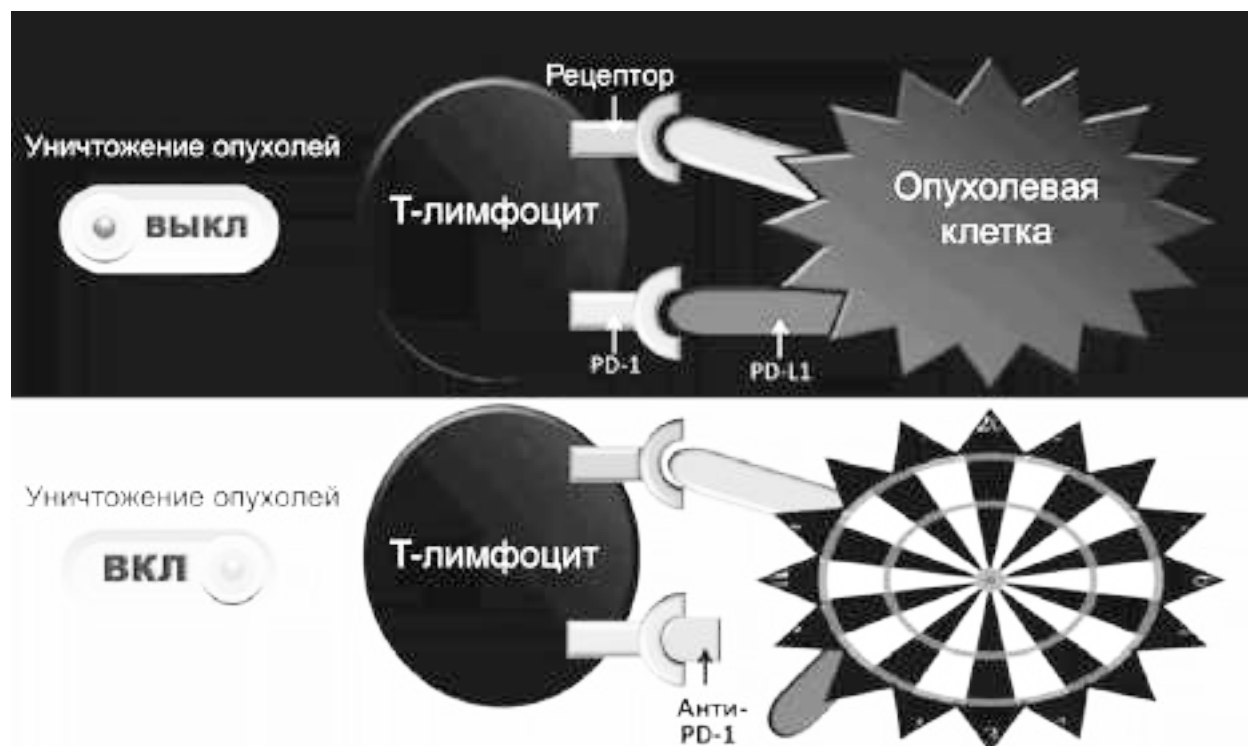
На самом деле, у нас за плечами долгая и изменчивая дорога из несбывшихся надежд на то, что многие онкологические процессы, не поддающиеся химиотерапии, когда-нибудь сможет обуздать иммунная система нашего собственного организма. Известны таинственные случаи, когда изредка раковая опухоль прекращает расти, а затем рассасывается. После Второй мировой войны, когда исследования рака наконец стали хорошо финансироваться, самые прозорливые руководители онкологических центров начали принимать на работу первоклассных иммунологов, надеясь, что те научатся провоцировать у пациентов варианты иммунного ответа, способные спасти им жизнь.

Аминокислотные переключатели, в основном отвечающие за иммуногенность конкретных онкологий у человека, вероятно, совершенно не связаны с мутациями, провоцирующими конкретные виды рака. Напротив, они отражают постоянное возникновение новых аминокислотных последовательностей и нарастание изменчивости из-за случайных ошибок при копировании ДНК во время роста опухоли. Многие такие изменения обусловлены активными мутагенами (например, солнечным светом), воздействующими на растущую опухоль и делящиеся раковые клетки. Все чаще секвенируются неизлечимые раковые опухоли состоятельных обреченных американцев – ведь есть надежда, что именно в данном случае рака найдутся варианты, которые позволят спровоцировать потенциальный иммунный ответ.

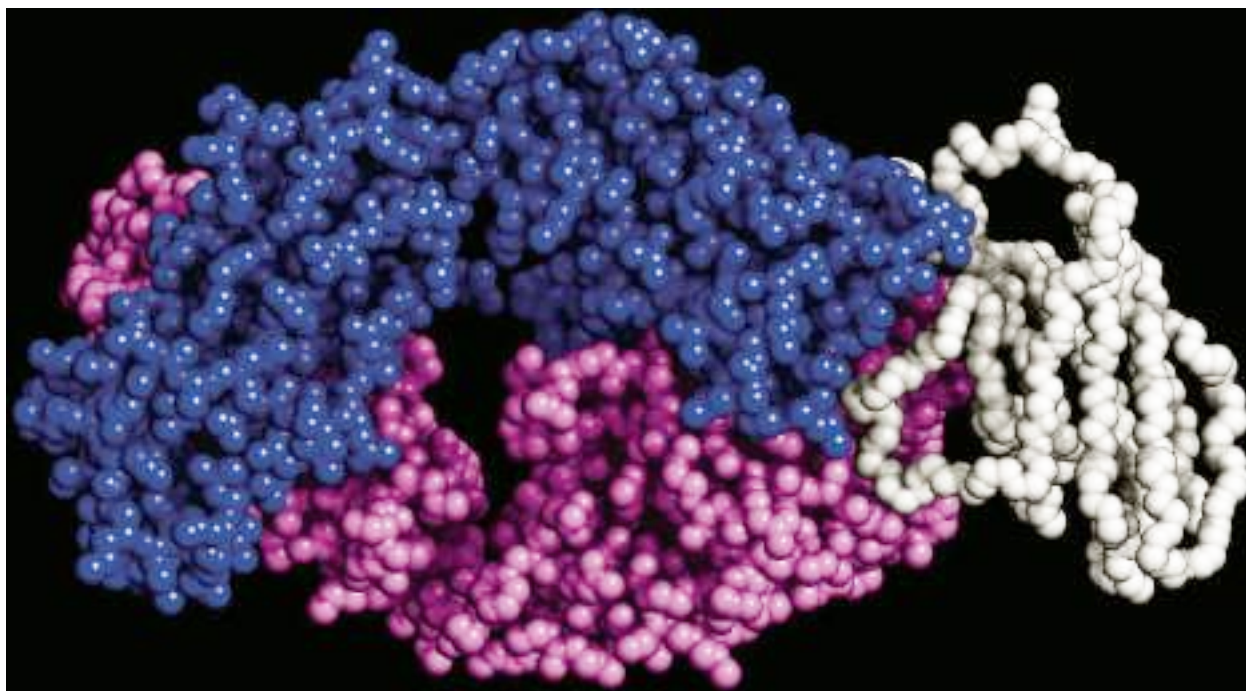
Одними из наиболее передовых клинических препаратов современности являются так называемые ингибиторы иммунных контрольных точек, предназначенные для запуска иммунного ответа против многих видов рака – таких, которые нацелены на мишень, выделяя естественные антииммунные вещества. Сейчас практически во всех крупных фармацевтических компаниях наращиваются программы по разработке ингибиторов иммунных контрольных точек, но любые торжества по поводу чудесной ремиссии у пациента быстро омрачаются новостями о клинических задержках и испытаниях, от которых пришлось отказаться. «Наша цель – найти лекарство, – говорит Карл Джун из Пенсильванского университета, один из ведущих пропагандистов иммунотерапии, – но мы не можем произносить этого слова».

Два таких препарата – *Keytruda* от *Merck* и *Opdivo* от *Bristol-Myers* – уже одобрены FDA, а компании-производители силами своих гениальных маркетологов и пиарщиков уже продвигают их по сетевому телевидению. Однако описания побочных эффектов, которые обязывает приводить FDA, в рекламе озвучиваются вполголоса, хотя некоторые из них ничуть не легче

рака. Так, производители *Opdivo* предупреждают, что их препарат «может спровоцировать аутовоспалительные реакции, направленные на здоровые ткани и органы, что может повлиять на их функционирование. Побочные эффекты терапии могут произойти в любой момент курса лечения или после него и привести к серьезным осложнениям и к смерти». Неудивительно, что многие из нас в глубине души считают, что война против рака – это самая долгая война, которую наша страна проигрывает.



Точное попадание в мишень: многообещающая иммунотерапевтическая стратегия, связанная с блокированием рецептора PD-1 на поверхности Т-клетки. Препарат (обозначен зеленым) усиливает противоопухолевые свойства лейкоцитов



Keytruda, многообещающее моноклональное антитело. Препарат известен тем, что его принимал президент Джимми Картер для борьбы с меланомой. Моноклональное антитело состоит из тяжелых (синих) и легких (розовых) цепочек. Здесь показано, как они связываются со своей мишенью, лигандом PD-1

Первый клинический успех, связанный с использованием человеческого ингибитора контрольной точки против рака, резистентного к химиотерапии, достигнут несколько лет назад в Калифорнийском университете города Беркли, где онколог-иммунолог Джим Эллисон (*Jim Allison*) впервые добился долгосрочных ремиссий при злокачественных меланом. Сегодня в большинстве крупных клинических центров ингибиторы контрольных точек испытывают на пациентах с неоперабельным процессом. Несмотря на то что эти препараты вызывают бурный и обширный иммунный ответ со множеством нежелательных побочных эффектов, на счету *Keytruda* от *Merck* уже, по-видимому, есть одна чистая победа: президент Джимми Картер достиг полной ремиссии после метастатической меланомы, спровоцированной солнечной радиацией. Однако стоимость такого лечения (в случае *Keytruda* около 150 тысяч долларов в год), к сожалению, позволит применять его лишь в ограниченном объеме, учитывая, что всего в 20 % случаев удастся добиться надежной ремиссии. Клинические данные по *Opdivo* менее полные – препарат примерно такой же дорогой, но, по-видимому, несколько более

эффективный. Пока остается только наблюдать, сможет ли иммунотерапия, широко перевозносимая как средство, способное переломить ситуацию, оказаться чем-то большим, нежели одним из многих инструментов в противораковом арсенале. Реализация идеи, столь привлекательной в теории, на практике по-прежнему сталкивается со множеством преград.

Я питаю надежды на то, что очень скоро еще больше запущенных онкологических процессов станут излечимы, поскольку слежу за инновационным препаратом, который разработала биотехническая компания *Boston Biomedical*, чей опыт работы исчисляется десятилетиями (сегодня она входит в состав японской *Dainippon Sumitomo Pharma*). После того как я в марте 2015 года прочел о противораковых свойствах VBI608 (напабукасина), я побывал в головном офисе компании в Кембридже, штат Массачусетс, чтобы подробнее узнать, как этот натуральный растительный продукт убивает раковые клетки в насыщенных антиоксидантами запущенных опухолях, не поддающихся химиотерапии. Вскоре после этого я стал научным консультантом в команде разработчиков VBI608. В настоящее время VBI при поддержке Американского общества клинической онкологии опубликовала результаты клинических испытаний, демонстрирующие, что препарат позволяет контролировать или даже устранять многие не излечимые иными средствами опухоли поджелудочной железы и прямой кишки. Противоопухолевое воздействие VBI608 основано на способности препарата активировать выработку активных форм кислорода.

Более того, этот препарат наиболее эффективен в синергии с химиотерапевтическими препаратами, в частности с паклитакселом. Генерируя активные формы кислорода, VBI608 значительно снижает уровень антиоксидантов в клетках и не позволяет раку развить устойчивость к химиотерапии. Первые догадки о том, как именно этот препарат действует на молекулярном уровне, появились после сравнения противораковых свойств VBI со свойствами аналогичного естественного продукта, оксидативного нафтохинона лапашона. Это вещество широкого спектра, воздействующее на самые разные организмы: простейшие, грибы, многие бактерии, а также на раковые клетки. Это вещество много веков применяется в народной медицине амазонских индейцев. Его добывают из коры дерева лапачо. Однако лапашон начинает воздействовать на опухоли, не поддающиеся химиотерапии, лишь после того, как путем катализа его удастся превратить в другое вещество, генерирующее активные формы кислорода. Комбинации веществ, генерирующих активные формы

кислорода, в частности витамин С и витамин К₃ (производная нафтохинона), уже более 15 лет используются в Бельгии для избирательного уничтожения человеческих раковых клеток, выращиваемых в культуре клеток или в организме мышей. К сожалению, попытки задействовать в клинической практике эту потенциально недорогую смесь витаминов тормозятся из-за крайней дороговизны клинических исследований, а также из-за регламентирующего контроля, ограничивающего возможности работы с комбинациями из витаминов. Поскольку такие комбинации демонстрируют успех в доклинических испытаниях по контролю тяжелой трипаносомной паразитарной инфекции, вызывающей болезнь Шагаса, здравый смысл убедительно подсказывает, что следует допустить использование этой комбинации и при лечении рака, хотя бы под строгим надзором лечащего врача. К сожалению, сравнительно низкий потенциал лапашона в отношении генерации активных форм кислорода пока мешает разрабатывать на его основе эффективные противораковые препараты, такие как ВВІ608.

В коммерческом отношении у ВВІ608 сейчас есть серьезный конкурент в борьбе с неизлечимыми формами рака – это экспериментальный препарат СРІ-613 от компании *Cornerstone Pharmaceuticals*. Он был впервые получен в лаборатории Пола Бингэма (*Paul Bingham*) в Стоуни-Бруке на Лонг-Айленде. Поскольку этот препарат снижает количество основных молекул, нарушающих клеточный метаболизм, его широкое использование должно обеспечить излечимость многих устойчивых опухолей при помощи оксидативной химиотерапии. Однако, как и в случае с ВВІ608, рано говорить о победе, пока гораздо более широкие клинические исследования не продемонстрируют устойчивых ремиссий у пациентов с острым миелоидным лейкозом и другими видами рака, изучаемыми в *Cornerstone*.

Молекулы естественного происхождения (получаемые из растений, грибов и бактерий), как правило, сдерживают (или даже убивают) опасные патогены, не нанося при этом вреда организму-хозяину. Активные формы кислорода действуют не так «топорно и грубо», как, скажем, синтетические молекулы вроде цисплатина или химические модификации естественных веществ, например паклитаксел. На мой взгляд, перспективным направлением может стать поиск в закромах природы естественных нафтохинонов, генерирующих еще больше активных форм кислорода, чем ВВІ608. Огромные запасы против раковых хиноновых сокровищ природы пока еще ждут своих первооткрывателей. Принципиально важно как можно

скорее выяснить, в каких масштабах высшие животные, а также растения используют нафтохиноны, генерирующие активные формы кислорода, в качестве первой линии защиты против токсичных паразитов.

Еще один интересный факт. В 1890-е годы хирург Уильям Коли, работавший в Мемориальной больнице Нью-Йорка, наблюдал, как у онкологических пациентов иногда наступала ремиссия после того, как им случалось перенести острую бактериальную инфекцию. Естественно, он заинтересовался, нет ли какой-то связи между исчезновением опухолей и этими инфекциями. Чтобы проверить свою догадку, Коли сделал инъекции с живыми бактериями пациенту с неоперабельной опухолью на терминальной стадии. Инфекция поразительным образом вылечила его подопечного: он прожил еще 26 лет, а затем скончался от сердечного приступа. В настоящее время практически повсеместно применяются антибиотики (начиная с пенициллина), поэтому у наших современников почти не бывает серьезных бактериальных инфекций. Даже если догадка Коли была верна и бактериальные инфекции потенциально могут излечивать многие опасные формы рака, современное состояние медицины не позволяет повторить это открытие.

Уильям Коли больше никогда не пытался добиться разрешения сделать живому человеку инъекцию летального патогена. В дальнейшем он продолжал лечить своих раковых пациентов смесью из бактерий, убитых нагреванием (так называемый токсин, или вакцина, Коли»), надеясь мобилизовать «защитные силы» человеческого организма. Хотя он и верил в то, что его «токсины» обеспечивают высокую выживаемость, они так и не дали такого терапевтического эффекта, как лучевая терапия, которая стала практиковаться после открытия рентгеновских лучей и гамма-излучения. Когда после Второй мировой войны появилась химиотерапия, токсины Коли оказались оттеснены на периферию медицины. В 1965 году Американское онкологическое общество внесло токсины Коли в список под названием «Неподтвержденные методы лечения рака».

Однако дочь Уильяма Коли, Хелен Коли Ноутс, полагала, что открытие ее отца оказалось проигнорировано напрасно. Получив в подарок от Нельсона Рокфеллера две тысячи долларов, она стала соосновательницей Института онкологических исследований (CRI) в Нью-Йорке и пригласила в консультативный совет несколько влиятельных иммунологов. К 1971 году институт располагал достаточными финансовыми возможностями, чтобы назначить своим первым директором знаменитого иммунолога Ллойда Олда, ранее работавшего в Институте Слоана Кеттеринга (при Мемориальной больнице). Руководству было известно: Олд также считает,

что токсины Коли могли бы продлить жизнь многим жертвам рака. Теперь, почти через пятьдесят лет, я задумываюсь над вопросом, были ли ремиссии, достигнутые Коли, связаны с улучшенным иммунным ответом организма, боровшегося с бактериями. Нет, возможно, все дело было в активации естественных хинонсодержащих веществ, генерирующих активные формы кислорода и имеющихся у всех позвоночных.

От бывшего президента Обамы и далее к директорам Национальных институтов здравоохранения, Национального онкологического института, топ-менеджерам таких компаний, как *Foundation Medicine*, и ко всему американскому народу сейчас направлено послание о том, что планомерное секвенирование ДНК опухолевых клеток уже привело нас в эпоху персонализированной онкологии. Скоро врачи смогут воспользоваться полученными генетическими знаниями для лечения и даже излечения многих видов рака у человека. Однако всего лишь 5 % известных онкологических изменений, выявленных при секвенировании, излечимы теми противораковыми препаратами, что пока доступны. Более того, среди всех этих препаратов лишь иматиниб – препарат, который подавляет пролиферацию и индуцирует апоптоз Bcr-Abl-позитивных клеточных линий, а также молодых лейкозных клеток с положительной филадельфийской хромосомой при хроническом миелолейкозе, может продлить пациенту жизнь более чем на пару лет.

Для большинства из нас персонализированное лечение рака пока за гранью реальности. Однако я надеюсь, что уже скоро экспериментальные противораковые препараты, в частности BVI608 и CPI-613 (оба предназначены для лечения онкопатологии, резистентной к химиотерапии), войдут в широкую клиническую практику. Их эффективность может в значительной степени зависеть от точного понимания тех генетических мутаций, из-за которых рак получается столь убийственным. Если все произойдет так, как я описываю в этой книге, то менее чем через десять лет персонализированное лечение онкологии станет обычным делом. Мне сейчас всего восемьдесят девять, и я надеюсь дожить до того времени, когда на моих глазах большинство видов рака будет побеждено.

Эпилог

Наши гены и перспективы на будущее

Предисловие Перси Биши Шелли к роману его жены, Мэри Шелли, «Франкенштейн» начинается так: «Событие, на котором основана эта повесть, по мнению доктора Дарвина и некоторых немецких писателей-физиологов, не может считаться абсолютно невозможным». Этот сюжет сегодня известен гораздо лучше, чем любые произведения самого поэта. Вероятно, с момента публикации «Франкенштейна» ни одна другая история так не живописала пугающую сторону науки, связанной с открытием тайны жизни. Вероятно, никто более глубоко не исследовал социальные последствия обретения человеком полубожественных способностей.

Идея оживления неживой материи и совершенствования живых существ, возникших на Земле естественным образом, не давала человеку покоя задолго до публикации книги Мэри Шелли в 1818 году. Существует греческий миф о скульпторе Пигмалионе, которому удалось уговорить богиню любви Афродиту вдохнуть жизнь в статую красавицы, вырезанную им из слоновой кости. Однако именно в ходе бурного научного прогресса, последовавшего за эпохой Просвещения, ученые впервые поняли, что человек вполне может овладеть секретом жизни. Доктор Дарвин, о котором говорится в предисловии, – это не всем известный Чарльз, а его дед Эразм, чьи эксперименты с использованием электричества для «оживления» мертвых конечностей занимали Шелли (знакового с Эразмом). В ретроспективе понятно, что исследование так называемого гальванизма, которым занимался доктор Дарвин, было тупиковым; секрет жизни оставался не раскрытым вплоть до 1953 года. Только после открытия двойной спирали и с началом генетической революции появились основания полагать, что когда-нибудь мы можем обрести способности, всегда считавшиеся уделом богов. Как мы теперь знаем, жизнь – это, в сущности, огромная совокупность согласованных химических реакций. «Секрет» этой согласованности заключен в невероятно сложном наборе инструкций, закодированных опять-таки химически в нашей ДНК.

Однако нам еще предстоит очень долгий путь, прежде чем мы сможем понять, как работает ДНК. Например, изучение человеческого сознания пока остается на такой зачаточной стадии, что сохраняются аргументы, апеллирующие к витализму, несмотря на то что они уже

решительно опровергнуты. Тем не менее наше понимание жизни и доказанная способность манипулировать ею – это факты нашей культуры. Поэтому неудивительно, что у Мэри Шелли нашлось много заправских последователей: художники и ученые очень заинтересовались возможными плодами обретенных нами генетических знаний.

Многие художественные произведения на эту тему примитивны и выдают невежество автора по поводу того, что осуществимо или неосуществимо с биологической точки зрения. Однако среди них есть работа, в которой, на мой взгляд, стильно и убедительно раскрываются важные вопросы. В фильме Эндрю Никкола 1997 года под названием «Гаттака» изображено общество, одержимое генетическим совершенством. В мире будущего существует два типа людей – генетически улучшенный правящий класс и низший класс, представители которого генетически несовершенны, как мы с вами. Высокоточные анализы ДНК гарантируют, что вся лучшая работа достается генетической элите, а «второсортные» недолюди на каждом шагу подвергаются дискриминации. Герой фильма «Гаттака», «второсортный» Винсент (Итан Хоук), был зачат при случайной связи (на заднем сиденье автомобиля). Младший брат Винсента, Антон, был как следует спроектирован в лаборатории и наделен первоклассными генетическими свойствами. По мере взросления братьев Винсент вспоминает о своей неполноценности каждый раз, когда безуспешно пытается обогнать младшего при заплыве. Из-за генетической дискриминации Винсент в конечном итоге вынужден взяться за грязную работу в качестве носильщика в Корпорации Гаттака.

В Гаттаке Винсент лелеет несбыточную мечту: полететь в космос. Однако для того чтобы войти в состав пилотируемой миссии на Титан, он должен скрыть свой «второсортный» статус. Поэтому он выдает себя за представителя генетической элиты Джерома (Джуд Лоу), бывшего спортсмена, который попал в аварию и теперь нуждается в помощи Винсента. Винсент покупает образцы волос и мочи Джерома и использует их для незаконного участия в программе подготовки пилотов. Кажется, что все идет хорошо, он встречает красавицу Айрин и влюбляется в нее. Однако за неделю до назначенного полета случается катастрофа – убивают руководителя миссии, а в ходе полицейского расследования на месте преступления обнаруживается волосок «второсортного». Потерянная Винсентом ресница не только ставит под угрозу исполнение мечты, но и может послужить ДНК-доказательством, достаточным, чтобы его несправедливо обвинили в убийстве. Разоблачение Винсента кажется неминуемым, однако ему удастся ускользнуть из кошмарной генетической

ловушки до тех пор, пока не находят настоящего убийцу – другого топ-менеджера Гаттаки. Финал фильма благополучен лишь наполовину: Винсент улетает в космос, но без Айрин, у которой обнаруживаются определенные генетические дефекты, несовместимые с длительными космическими миссиями.

Немногие из нас хотели бы, чтобы наши потомки жили в условиях генетической тирании, показанной в фильме «Гаттака». Оставив в стороне вопрос технологической осуществимости представленного в кино сценария, мы должны рассмотреть центральную проблему, поднятую в этом произведении: ведет ли изучение ДНК к неизбежному делению общества на генетические касты? Будет ли общество расколото на сверхчеловеков и недочеловеков? Самые пессимистичные критики предвидят еще более мрачный сценарий: возможно ли, что однажды мы дойдем до того, что создадим породу клонов, обреченных на рабскую жизнь, навязанную их ДНК? Будем ли мы вместо поддержки слабых стремиться к тому, чтобы сделать потомков сильных еще более сильными? Самое важное – следует ли вообще манипулировать человеческими генами? Ответы на эти вопросы во многом зависят от наших представлений о человеческой природе.

Сегодня всеобщая паранойя по поводу опасности манипуляций с человеческим геномом в основном объясняется вполне понятным опасением, связанным с присущим нам эгоизмом. Эгоизм жестко запрограммирован эволюцией для обеспечения выживания индивида – при необходимости за счет других. Критики описывают мир, где генетические знания будут использоваться исключительно для расширения пропасти между избранными (теми, кто поставит генетику себе на службу) и второсортными (теми, кого с помощью генетики можно подвергнуть еще более серьезному угнетению). Однако это односторонний взгляд на человеческую природу.

Если я и трактую результаты развития генетических знаний и технологий существенно иначе, то в том числе потому, что также признаю и другую сторону медали. Несмотря на нашу склонность к конкуренции, мы чрезвычайно отзывчивы. Помощь нуждающимся или страждущим – такой же генетический элемент нашей природы, как и склонность улыбаться, когда нам радостно. Даже если некоторые современные моралисты готовы приписать наши альтруистические порывы эгоистическим соображениям, когда доброта к ближнему проявляется с целью получения все той же выгоды, факт остается фактом: мы являемся представителями уникального социального вида. С тех пор как наши

предки впервые объединились для совместной охоты на мамонта, сотрудничество между людьми – это основа человеческой истории успеха. Учитывая мощное эволюционное преимущество, обусловленное взаимопомощью, естественный отбор, вероятно, наделил каждого из нас стремлением добиваться блага (а не зла) для других людей и, следовательно, для всего общества.

Даже те, кто считает, что стремление улучшить других членов социума – часть человеческой природы, не могут прийти к согласию относительно того, как это следует делать. Это вечный предмет социальных и политических дискуссий. Господствующее мнение таково: оптимальный способ помощи согражданам – это решение проблем с воспитанием. Недокормленные, недолюбленные и необразованные люди имеют меньше шансов для полноценной жизни. Однако, как мы видели, воспитание при всей его важности все-таки не всесильно, что наиболее ярко проявляется при серьезных генетических нарушениях. Даже при тщательно выверенном питании и качественном обучении мальчики с синдромом хрупкой Х-хромосомы все равно никогда не смогут сами позаботиться о себе. Аналогично никакие дополнительные занятия никогда не сделают тупоумов лучшими учениками в классе. Таким образом, если мы серьезно настроены на совершенствование образования, мы не можем надеяться на воспитание как на панацею. Тем не менее я подозреваю, что образовательная политика слишком часто разрабатывается людьми, которым лозунг «Ни одного отстающего ребенка» нравится именно потому, что он не вызывает никаких возражений. Однако дети будут отставать, если мы продолжим настаивать на том, чтобы каждый из них обладает одинаковым потенциалом для обучения.

Мы пока не понимаем, почему некоторые дети учатся быстрее, чем другие, и я не знаю, когда мы достигнем этого понимания. Но если мы посмотрим, сколько открытий в области биологии, о которых нельзя было помыслить пятьдесят лет назад, получили распространение благодаря генетической революции, этот вопрос теряет смысл. Скорее, проблема заключается в том, готовы ли мы использовать, безусловно, огромный потенциал генетики для улучшения как отдельного человека, так и общества в целом? Захотим ли мы руководствоваться генетической информацией при разработке программ обучения, наиболее подходящих для индивидуальных потребностей наших детей? Не понадобится ли нам со временем таблетка, позволяющая мальчикам с синдромом хрупкой Х-хромосомы ходить в школу вместе с другими детьми, или такая, которая позволит детям, от природы медленнее усваивающим информацию, не

отставать от их быстро обучающихся одноклассников? А как насчет еще более отдаленной перспективы генной терапии клеток зародышевой линии? Идентифицировав соответствующие гены, захотим ли мы использовать будущую власть для преобразования медленно обучающихся людей в быстро обучающихся еще до их рождения? Это не научная фантастика: ведь мы уже можем улучшить память мышей. Есть ли причина, по которой мы не можем задаться целью сделать то же самое для людей?

Интересно, какой была бы наша естественная реакция на такие возможности, если бы история человечества не знала темных времен движения последователей евгеники? Содрогались бы мы тогда при словах «генетическое улучшение»? Реальность такова, что идея улучшения генов, полученных от природы, страшит людей. При обсуждении своих генов мы, похоже, готовы совершать так называемую «натуралистическую ошибку», полагая, что естественное является благоприятным. Отапливая свои дома и принимая антибиотики, чтобы справиться с инфекцией, мы не допускаем этой ошибки в нашей повседневной жизни, однако упоминания о генетическом улучшении заставляют нас заявлять, что «природа знает, как лучше». Думаю, именно по этой причине идея генетического улучшения, скорее всего, будет принята именно благодаря усилиям по профилактике заболеваний.

Генная терапия с использованием стволовых клеток потенциально может сделать людей устойчивыми к разрушительным последствиям ВИЧ. Технологии рекомбинантных ДНК, позволившие специалистам по молекулярной генетике растений вырастить устойчивый к вирусам картофель, также могут сделать людей устойчивыми к СПИДу. Однако следует ли нам прибегать к таким методам? Есть те, кто считает, что вместо изменения человеческих генов нам следует сосредоточить усилия на лечении заболевших и на донесении до остальных людей информации об опасностях беспорядочных половых связей. Однако я нахожу такую моралистическую точку зрения абсолютно безнравственной. Образование оказалось мощным, но явно недостаточным оружием в нашей войне. На протяжении нескольких десятилетий этот вирус сбивал с толку лучших ученых благодаря своей удивительной способности ускользать от попыток его контролировать. Хотя в развитых странах распространение болезни удастся сдерживать, огромные регионы планеты напоминают демографические бомбы замедленного действия. Я с ужасом думаю о будущем этих стран, населенных в основном малоимущими людьми, которые недостаточно богаты и образованны для того, чтобы эффективно ответить на этот вызов. Остается только надеяться, что производство

мощных противовирусных препаратов или эффективных вакцин против ВИЧ станет достаточно бюджетным для того, чтобы их могли получить все нуждающиеся. Однако с учетом современной истории терапевтических разработок – без поддержки со стороны фармацевтических компаний, берущихся за борьбу с серьезнейшими известными болезнями по премиум-ценам, – очень велика вероятность того, что никакого серьезного прогресса в этой сфере ждать не следует. Тем, кто ратует за генетическую модификацию стволовых клеток для борьбы со СПИДом, придется подождать, пока привычные надежды не будут исчерпаны – и пока не произойдет глобальная катастрофа, – и только тогда ученым будет позволено продолжать свою работу.

В настоящее время во всем мире ученым запрещено вносить ДНК в зародышевые клетки человека. Эти запреты пользуются поддержкой различных слоев электората. Значительная доля этого общественного мракобесия связана с религиозными группами, считающими, что «возиться с человеческой зародышевой линией все равно, что “играть в Бога” или становиться ему подобным». В свою очередь, светские критики опасаются кошмарной социальной трансформации вроде той, которая показана в фильме «Гаттака», когда естественное человеческое неравенство фантазмагорически возрастет, а от эгалитарного общества не остается и следа. Несмотря на то что такая возможность хороша в качестве киносценария, мне она кажется не менее фантастичной, чем представление о том, что генетика может привести нас к утопическому обществу.

Даже если мы предположим, что генетическое совершенствование, как и любая мощная современная технология, может быть использовано во зло, то нам тем более следует развивать эту технологию. Учитывая, что сдерживать технологический прогресс практически невозможно, а также тот факт, что большая часть того, что сейчас запрещено, вот-вот найдет практическое применение, станем ли мы тормозить собственные исследования и решимся ли отвечать за то, что нас опередит культура, не разделяющая наших ценностей? С того момента, как наш предок впервые сделал из палки копье, исход конфликтов на протяжении всей истории диктовался развитием технологий. Мы не должны забывать, как отчаянно форсировал Гитлер разработку ядерного оружия в Третьем рейхе, насаждая на физиков. Вероятно, однажды успех в борьбе против нового Гитлера будет зависеть от нашего мастерства в области генетических технологий.

Я вижу только один по-настоящему рациональный аргумент в пользу сдерживания технологии генетического улучшения человека. Большинство ученых задается вопросом: возможно ли будет когда-нибудь обеспечить

безопасную генетическую терапию с использованием стволовых клеток? Смерть Джесси Джелсинджера в 1999 году обоснованно и всерьез компрометировала генетическую терапию в течение почти десяти лет. Тем не менее стоит отметить, что, в принципе, организовать безопасную генетическую терапию с применением стволовых клеток должно быть проще, чем с использованием соматических клеток. В последнем случае мы вводим гены в миллиарды клеток, и всегда остается вероятность того, что, как в случае нескольких пациентов с синдромом тяжелого комбинированного иммунодефицита (SCID), один или несколько важных генов в одной из этих клеток будут повреждены и наступит кошмарный побочный эффект – рак. Напротив, при генетической терапии с применением стволовых клеток мы внедряем ДНК в единственную клетку и весь процесс гораздо легче контролировать. Однако при генетической терапии с применением стволовых клеток ставки гораздо выше: неудачный эксперимент может привести к немыслимой катастрофе – рождению человека с врожденными уродствами, которые возникнут из-за манипуляций с его генами. Последствия могут быть трагическими. Пострадала бы не только семья – все человечество понесло бы невосполнимую потерю из-за того, что наука была бы отброшена назад в своем развитии.

Из-за неудачного эксперимента по генетической терапии, проводимого на мышах, мухах или рыбах данио-рерио, ничья карьера не рухнет и финансирование не иссякнет. В то же время, если применение технологии генетического совершенствования приведет к рождению детей, менее приспособленных к жизни, нежели нормальные дети, использование ДНК-технологий наверняка будет отложено на долгие годы, если не на десятилетия. К экспериментам на людях следует переходить только после разработки совершенных методов введения функциональных генов в клетки наших ближайших родичей, приматов. Однако даже после разработки безопасных методов генетического совершенствования макак и шимпанзе (еще более близкого к нам вида) потребуется мужество, чтобы приступить к экспериментам над человеком; потенциальные выгоды возможны только при помощи экспериментов, сопряженных с определенным риском для жизни. Как бы то ни было, и для обычных медицинских процедур, особенно новых, требуется подобная смелость: хирургическая операция на мозге тоже может пойти не по плану, но все же пациенты соглашались на нее, если потенциальные положительные результаты перевешивают возможную опасность.

До недавнего времени обсуждение темы генной терапии с

использованием стволовых клеток можно было проигнорировать просто из-за огромных технических сложностей. Однако эти возражения стали неактуальны с появлением технологии CRISPR, которая, как мы видели в главе 12, произвела революцию в практике редактирования генов. Теперь такая работа стала не сложнее, чем реакция ПЦР или секвенирование ДНК. Ведущие молодые ученые, работающие в этом направлении, в том числе Дженнифер Дудна, Эммануэль Шарпантье и Фэн Чжан, уже были награждены поощрительными и денежными научными премиями, и я не удивлюсь, если в будущем они станут лауреатами Нобелевской премии.

В 2015 году, спустя сорок лет после проведения Асиломарской конференции по рекомбинантной ДНК, Национальная академия наук в Вашингтоне, округ Колумбия, провела встречу, на которой обсуждались быстрый прогресс и этические следствия редактирования клеток человеческой зародышевой линии с использованием технологии CRISPR. Главным организатором был нобелевский лауреат Дейвид Балтимор, который участвовал в Асиломарской конференции сорока годами ранее. Причиной для проведения данного симпозиума послужил доклад, опубликованный в апреле 2015 года в независимом журнале. Там рассказывалось о независимой группе китайских исследователей, впервые применивших технологию CRISPR к (нежизнеспособным) человеческим эмбрионам. Результаты были невпечатляющими, однако суть в другом: гораздо большую озабоченность, особенно у представителей научного истеблишмента, вызывает переход через некую этическую грань.

Главным противником редактирования стволовых клеток является директор Национальных институтов здравоохранения Фрэнсис Коллинз, который утверждает, что это своеобразная красная черта, которую пока нельзя пересекать. Фрэнсис Коллинз не видит никакой медицинской необходимости вмешиваться в ход эволюции, длящейся уже 3,5 миллиарда лет, даже используя абсолютно безопасную технологию. «Дизайнерские дети хороши для голливудских фильмов. Однако они представляют собой пример очень плохой науки и, по-моему, по-настоящему плохой этики», – сказал он. По мнению Фрэнсиса Коллинза, проблема безопасности, которую некоторые называют «риском необратимости», по-прежнему широко распространена, равно как и отсутствие абсолютной медицинской необходимости, когда другие технологии, например преимплантационная генетическая диагностика, оставляют родителям определенный выбор без необратимого вмешательства в ДНК будущих поколений.

Противоположную позицию отстаивает генетик Джордж Черч из Гарвардской медицинской школы, основавший вместе с Чжаном и Дудной

компанию *Editas Medicine*. Он предвидит множество прикладных вариантов этой технологии, включая устранение патологических генов и совершенствование других признаков. Что касается безопасности, то, по словам Черча, несмотря на то что CRISPR иногда задевает и другие последовательности, эти непредвиденные эффекты значительно менее опасны по сравнению со спонтанными мутациями, случающимися при делении клеток.

Выражая мнение многих, Эрик Ландер сказал, что мы по-прежнему слишком многого не знаем о геноме. Устранение генов, которые на первый взгляд попадают «в очередь на ликвидацию», вполне может привести к непредвиденным последствиям. Например, мутация в рецепторе *CCR5* лишает ВИЧ способности инфицировать клетки, но при этом повышает риск развития лихорадки Западного Нила. Эрик Ландер предложил пару гипотетических сценариев, связанных с модификацией клеток зародышевой линии, например создание гена *APOE* для удаления варианта E4, связанного с повышенным риском развития болезни Альцгеймера, или удаление гена *PCSK9* для снижения уровня ЛПНП («плохого холестерина»). Однако и он настоятельно призывает к осторожности. «Если эта идея так хороша, мне хочется спросить, почему эволюция не попыталась это сделать ранее и применить по всей популяции?» – сказал он. Комиссия Национальной академии наук повторила эту мысль, сделав вывод об отсутствии достаточной причины для разрешения экспериментов над эмбрионами человека с использованием технологии CRISPR. Однако эта же комиссия не рекомендовала вводить мораторий на исследования с использованием такой технологии. Потенциал технологии CRISPR слишком велик, слишком интересен, чтобы кто-то смог преградить ей путь и столкнуть с дороги.

Я считаю, что, несмотря на риски, мы должны серьезно рассмотреть вопрос генетической терапии с применением стволовых клеток. Только я надеюсь, что многие биологи, которые разделяют мое мнение, будут отстаивать его в предстоящих дебатах и не испугаются неизбежной критики со стороны общественных деятелей. Некоторые из нас уже знают, каково подвергаться нападкам, которые раньше испытали на себе те, кто пытался заниматься евгеникой. В конечном счете, это весьма небольшая цена за восстановление генетической справедливости. Если такая работа будет называться евгеникой, то я первым объявляю себя евгенистом.

Всю свою карьеру с момента открытия двойной спирали я восхищался величиим того, что создала эволюция в каждой нашей клетке, и это чувство по силе сравнимо только с болью из-за жестокой неизбирательности, с

которой генетические болезни поражают людей, особенно детей. В прошлом за устранение этих вредных генетических мутаций отвечал естественный отбор – процесс, который одновременно является изумительно эффективным и ужасно жестоким. Сегодня естественный отбор все еще действует: ребенок, рожденный с болезнью Тея – Сакса, который может прожить всего несколько лет, с бесстрастной биологической точки зрения является жертвой отбора, действующего против мутации Тея – Сакса. Но теперь, идентифицировав многие из этих мутаций, вызывавших столько страданий на протяжении многих лет, мы можем обойти действие естественного отбора. Разумеется, при возможности заблаговременной диагностики любой человек может дважды подумать, прежде чем заводить ребенка с такой болезнью. Рожденному с такой болезнью ребенку светит три или четыре долгих года сплошных страданий, после которых смерть покажется милосердным избавлением. Поэтому если и есть какая-то первостепенная этическая проблема, связанная с обширным новым генетическим знанием, полученным в ходе реализации проекта «Геном человека», то, на мой взгляд, она заключается в слишком медленном темпе внедрения на практике наработок, которые помогли бы уменьшить или облегчить человеческие страдания. Абстрагируясь от неопределенностей, связанных с генетической терапией, я считаю, что откладывать внедрение достижений, даже самых однозначных, совершенно бессовестно. То, что в нашем обществе развитой медицины практически ни одна женщина не проходит скрининг на выявление мутации, связанной с синдромом ломкой X-хромосомы, спустя уже два десятилетия после того, как открыта эта мутация, свидетельствует только о невежестве или бескомпромиссности. Любая читательница этой книги должна понять, что одна из важнейших задач, которые она может выполнить в качестве потенциального или фактического родителя, заключается в сборе информации о генетических опасностях, с которыми могут столкнуться ее еще не рожденные дети. Она должна узнать, какие генетические дефекты были у нее в семейном анамнезе, исследовать родословную своего партнера или сам зародыш зачатого ребенка. Пусть никто не говорит, что женщина не имеет права получить доступ к такой информации. Она имеет право и на это, и на то, чтобы принимать решения о сохранении беременности на основе этих данных, поскольку именно ей придется иметь дело с прямыми последствиями принятого или, наоборот, непринятого решения.

Благодаря нашей новообретенной способности удивительно эффективно (и дешево) секвенировать ДНК мы теперь можем изучать влияние мутаций на наш вид. Секвенирование геномов семейных трио –

родителей и их ребенка – показало, что каждый новорожденный человек несет в своем геноме от 60 до 100 новых мутаций. Интересен тот факт, что их точное число отчасти зависит от возраста родителей, при этом чем старше родитель, тем больше мутаций он передает. Многие из этих мутаций могут оказаться несущественными, появившись в части генома, маловажной с функциональной точки зрения, однако другие могут значительно влиять на работу нашего тела и разума. В конце концов, мы – сложные биохимические машины, зависящие от триллионов взаимосвязанных частей, поэтому случайное изменение информации, лежащей в основе работы этой системы, скорее всего, приведет к сбоям. Возможно, в будущем использование какой-нибудь технологии вроде CRISPR позволит нам вмешаться, исправить ошибки, связанные с мутациями, и избавиться от неприятностей, к которым они неизбежно приводят.

Несколько лет тому назад, вскоре после завершения проекта «Геном человека», мои взгляды по этому вопросу были очень холодно восприняты в Германии. Мое эссе *Ethical Implications of the Human Genome Project* («Этические последствия проекта “Геном человека”»), опубликованное в авторитетной газете *Frankfurter Allgemeine Zeitung (FAZ)*, вызвало бурю критики. Возможно, именно таково было намерение редакторов: без моего ведома, не говоря уже о согласии, мое эссе появилось в газете под другим названием, придуманным переводчиком: *The Ethic of the Genome – Why We Should Not Leave the Future of the Human Race to God* («Этика генома: Почему нам не следует доверять будущее человеческой расы Богу»). Несмотря на то что я не исповедую никакой религии и не скрываю своих атеистических взглядов, я никогда бы не высказал свою позицию в такой провокационной форме. На удивление враждебная реакция последовала от ученого, президента Федеральной врачебной палаты Германии, который обвинил меня в «следовании логике нацистов, делящих людей на тех, кто достоин жизни, и тех, кто ее не достоин». На следующий день в той же газете, где было опубликовано мое эссе, появилась статья редактора под названием *Unethical Offer* («Неэтичное предложение»). Ее автор Хеннинг Риттер с самодовольной убежденностью утверждал, что в Германии решение о прекращении жизни генетически дефектных эмбрионов никогда не станет частным делом. Однако его громкое заявление продемонстрировало простое незнание национальных законов; в настоящее время в Германии лишь сама беременная женщина после получения медицинской консультации вправе решать, донашивать ребенка или нет.

Более благородно поступали критики, которые ввязывались в

открытый спор исходя из личных убеждений, без отсылки к ужасающим призракам немецкого прошлого. Уважаемый президент Германии Йоханнес Рау возразил мне, заявив, что «ценность и смысл не основаны исключительно на знании». Будучи убежденным протестантом, он находит истину в религиозном откровении, в то время как я, будучи ученым, полагаюсь исключительно на наблюдения и эксперименты. Таким образом, я должен оценивать действия, основываясь на своей моральной интуиции. Я вижу, насколько бессмысленно причинять женщине вред, лишая ее доступа к пренатальной диагностике до тех пор, пока не появятся лекарства для исправления соответствующих дефектов. Выражаясь менее сдержанно, протестантский богослов Дитмар Мит назвал мое эссе «Этикой ужаса», усомнившись в моем утверждении, что более полные знания помогут людям лучшим образом разрешать этические дилеммы. Однако существование дилеммы подразумевает выбор, который необходимо сделать, и, на мой взгляд, наличие выбора всегда лучше, чем его отсутствие. Женщина, узнавшая, что ее будущий ребенок поражен болезнью Тея – Сакса, теперь должна решать, что ей делать, однако, по крайней мере, у нее есть выбор, которого раньше не было. Хотя я уверен, что множество немецких ученых со мной согласны, слишком многие из них, похоже, запуганы политическим прошлым и религиозным настоящим, кроме моего давнего дорогого друга Бенно Мюллера-Хилла, чья смелая книга о нацистской евгенике *Tödliche Wissenschaft* («Смертельная наука») по-прежнему не дает покоя немецкому академическому истеблишменту. В результате всей этой полемики ни один немецкий ученый не встал на мою защиту.

Я не оспариваю право людей использовать религию в качестве личного морального ориентира, но возражаю против разделяемого слишком многими религиозными людьми предположения, что атеисты существуют в моральном вакууме. Те из нас, кто не нуждается в моральном кодексе, записанном в древней книге, на мой взгляд, обращаются к врожденной моральной интуиции, давно сформированной естественным отбором для обеспечения социальной сплоченности в группах наших предков.

Разрыв между традицией и секуляризмом, возникший с наступлением эпохи Просвещения, определял место биологии в обществе в его более или менее нынешней форме, начиная с викторианского периода. Есть те, кто будет продолжать верить, что люди созданы Богом, чью волю мы должны исполнять, и есть те, кто будет по-прежнему использовать эмпирические данные, свидетельствующие о том, что люди появились в результате эволюционного развития, растянувшегося на много миллионов поколений.

Джон Скоупс, школьный учитель из штата Теннесси, осужденный в 1925 году за преподавание теории эволюции, образно говоря, остается на скамье подсудимых и в XXI веке; религиозные фундаменталисты, высказывая свое мнение при разработке учебных программ для государственных школ, продолжают требовать, чтобы религиозная история преподавалась в качестве серьезной альтернативы дарвинизму. Поскольку теория эволюции прямо противоречит религиозной версии сотворения мира, эта теория – прямое вторжение науки в религиозную сферу, поэтому креационисты вынуждены от нее защищаться. Может случиться, что с расширением генетических знаний в будущем, когда все больше людей начнут понимать, что каждый из нас родился в результате случайной комбинации генетических «игральных костей» – произвольной комбинации родительских генов и нескольких столь же случайных мутаций, – священным станет новое знание, которое на самом деле гораздо древнее, чем современные религии. Наша ДНК, книга о сотворении человека, вполне может соперничать с религиозным текстом в качестве носителя истины.

Я могу не быть религиозным человеком, но это не мешает мне находить много истинного в Священном Писании. Например, в первом послании к Коринфянам Павел пишет: «Если я говорю языками человеческими и ангельскими, а любви не имею, то я – медь звенящая или кимвал звучащий.

Если имею дар пророчества и знаю все тайны, и имею всякое познание и всю веру, так что могу и горы переставлять, а не имею любви, то я ничто».

Я считаю, что апостол Павел очень верно выразил суть гуманизма. Любовь – тот импульс, который заставляет нас заботиться друг о друге, вот что позволило нам выжить и добиться процветания на этой планете. Я считаю, что именно этот импульс защитит нас в будущем, когда мы отправимся в путь по генетической *terra incognita*. Я уверен, что способность любить закодирована в нашей ДНК. Учитывая, насколько фундаментальна любовь для человеческой природы, светский апостол Павел сказал бы, что любовь – это величайший дар человечеству от наших генов. Если когда-нибудь наука позволит усилить именно эти гены, чтобы победить ненависть и насилие, что человечество от этого потеряет?

Помимо обманчиво мрачной картины будущего, выписанной в фильме «Гаттака», его авторы придумали слоган, нацеленный на самые глубинные предубеждения в отношении генетического знания: «Нет гена человеческой души». Тот факт, что огромное количество людей желают, чтобы это

оказалось правдой, говорит о существовании в нашем обществе опасного слепого пятна. Если бы истина, открытая в результате изучения ДНК, была воспринята без страха, нам не пришлось бы беспокоиться за наших потомков.

Благодарности

Эта книга изначально была опубликована в виде нескольких частей, которые вместе представляют собой серьезную попытку отметить пятидесятилетнюю годовщину открытия двойной спирали. Все проекты, включая данную книгу, телевизионный сериал из пяти частей, мультимедийный образовательный продукт, а также короткометражный фильм для естественнонаучных музеев, были во многих отношениях взаимосвязаны. Поэтому мы должны отдать должное гораздо большему числу людей, чем обычно перечисляется в разделе с благодарностями типичного произведения публицистического жанра. Приведенный ниже список имен позволяет оценить масштаб этого совместного проекта.

На протяжении всей работы Фонд Альфреда Слоана, Медицинский институт Говарда Хьюза и Университет Северной Каролины оказывали невероятно щедрую поддержку. Мудрость и здравый смысл Джона Клири и Джона Марони позволили им осуществить сложное логистическое управление проектом, не допустив разрыва ни одной из его многочисленных нитей.

Телевизионный сериал, выпущенный в 2003 году, был спродюсирован Дэвидом Дуганом из *Windfall Films* в Лондоне, а режиссерами выступили Дэвид Гловер и Карло Массарелла. При подготовке образовательной составляющей Макс Уитби из лондонской компании *Red Green & Blue* сотрудничал с командой под руководством Дейва Миклоса из Учебного центра ДНК в Колд-Спринг-Харборе и гениальным аниматором Дрю Берри из Института Уолтера и Элизы Холл в Мельбурне, Австралия.

Оригинальные иллюстрации для книги были подготовлены Китом Робертсом из Центра Джона Иннеса в Норидже, Англия. Объединив в своем обычном стиле дизайн с четкой передачей научных концепций, Кит вместе с Найджелом Орме создал серию иллюстраций, которые, по нашему мнению, значительно повысили ценность данной книги. Для первого издания Питер Андерсен, наш дизайнер из издательства *Knopf*, чудесным образом соединил в одно целое текст и картинки.

Это издание просто не увидело бы свет без Бренны Мак-Даффи из издательства *Knopf*, которая терпеливо и ловко вела нас до самого финиша. Работать с ней было сплошным удовольствием, и мы бесконечно ей благодарны. Мы также хотим сказать спасибо Кассандре Паппас за элегантный обновленный дизайн, а также поблагодарить Кэтлин Фриделлу.

Многие люди читали версии книги или глав, относящихся к их областям знаний. Перечисленные далее люди любезно предоставили подробные и ценные комментарии к рукописи: Фред Аусубель, Пол Берг, Дэвид Ботстейн, Стэнли Козн, Фрэнсис Коллинз, Джонатан Айзен, Майк Хаммер, Дуг Ханахан, Роб Хорш, сэр Алек Джеффрис, Мэри-Клэр Кинг, Эрик Ландер, Фил Ледер, Виктор Мак-Элени, Сванте Паабо, Джо Сэмбрук и Нэнси Векслер.

Многие другие люди также предоставили полезную информацию и/или изображения: Брюс Эймс, Джей Аронсон, Жаклин Барато, Антонио Барбадила, Джон Бэрренджер, Кэролайн Берри, Сэм Берри, Юэн Бирни, Ричард Бонди, Херб Бойер, Пэт Браун, Клэр Банс, Кэролайн Кэски, Том Кэски, Луиджи Лука Кавалли-Сфорца, Ширли Чан, Фрэнсис А. Чифари, Кеннет Калвер, Чарльз Делизи, Джон Доубли, Хелен Донис-Келлер, Кэт Эберстарк, Майк Флетчер, Джуда Фолкман, Норм Ган, Уолли Гилберт, Дженис Голдблум, Эрик Грин, Уэйн Гроуди, Майк Хаммер, Криста Ингрэм, Лимор Джошуа-Тор, Линда Полинг Камб, Дэвид Кинг, Роберт Кениг, Тереза Крюгер, Бренда Мэддокс, Том Маниатис, Ричард Маккомби, Бенно Мюллер-Хилл, Тим Маллиган, Кэри Муллис, Гарри Ноллер, Питер Нойфельд, Маргарет Нэнс Пирс, Наоми Пирс, Томи Пирс, Даниэл Поллен, Мила Поллок, Тим Рейнолдс, Джули Реза, Сью Ричардс, Мэтт Ридли, Барри Шек, Марк Сиелстад, Фил Шарп, Дэвид Спектор, Рик Стаффорд, Дебби Стивенсон, Бронуин Террилл, Уильям С. Томпсон, Лап-Чи Цуй, Питер Андерхилл, Элизабет Уотсон, Дайана Уэлсли, Дженнифер Уайтинг, Рик Уилсон, Дэвид Витт, Джеймс Вингаарден, Ларри Янг и Нортон Зиндер.

Мы также хотели бы поблагодарить тех, кто любезно предоставил фотографии и изображения для обновленного издания: Шанкара Баласубрамания, Кэролайн Бернарди, Стива Бернштейна, Джейсона Бобе, Клайва Браун, Киндру Крик, Дэвида Димера, Кэтлин Галлахер, Рика Гуидотти, Дуга Ханахана, Ванессу Хейс, Питера де Йонга, Тури Кинг, Каса Крамера, Ника Ломана, Зои Макдугалл, Ивонн Морантес, Энн Моррисс, Сванте Паабо, Альфреда Пасиека, Сандру Портер, Томаса Рида, Джонатана Ротберга, Тодда Смита, Энн Уэст и Боба Вайнберга.

Вышеперечисленные люди сделали все возможное, чтобы очистить текст от неточностей. Тем не менее мы принимаем на себя полную ответственность за ошибки, которые остались незамеченными.

Об авторах

Джеймс Д. Уотсон возглавлял лабораторию в Колд-Спринг-Харборе в Нью-Йорке с 1968 по 1993 год, а в настоящее время является ее почетным канцлером (chancellor emeritus). Он был первым директором Национального центра исследования генома человека при Национальных институтах здравоохранения с 1989 по 1992 год. Кроме того, он является членом Национальной академии наук и Королевского общества. Уотсон получил Президентскую медаль Свободы, Национальную научную медаль США, а в 1962 году – Нобелевскую премию по физиологии или медицине совместно с Фрэнсисом Криком и Морисом Уилкинсом.

Эндрю Берри преподает органическую и эволюционную биологию в Гарвардском университете. Будучи писателем и преподавателем, он является редактором сборника сочинений биолога викторианской эпохи Альфреда Рассела Уоллеса *Infinite Tropics* («Бесконечные тропики»).

Кевин Дэвис является автором книг *The \$1,000 Genome* («Геном за тысячу долларов») и *Cracking the Genome* («Взлом генома»). Кроме того, он является основателем и главным редактором издания *Nature Genetics*, ведущего мирового журнала, посвященного генетике, а также журнала *Bio-IT World*. Раньше он был издателем журнала *Chemical & Engineering News*, а в 2017 году получил стипендию Гуггенхайма.

СНОСКИ

Доступно на сайте издательства по адресу: bit.ly/DopMat

Шекспир У. Полн. собр. соч.: В 8 т. Т. 8. С. 193. Перевод М. Донского.

Этот мотив, как и большинство последовательностей в рестриктазах, является палиндромом, то есть комплементарная последовательность оснований с противоположного конца читается точно так же: ГААТТЦ.

4

Вот как происходит такая химическая модификация: фермент добавляет к основаниям метильные группы CH_3 .

Термин «клонирование» означает создание множества идентичных образцов фрагмента ДНК, вставляемого в бактериальную клетку. Этим термином также именуется клонирование целых организмов, самый известный из которых – овечка Долли. В первом случае копируется лишь единственный участок ДНК, а во втором – целый геном.

Термин «рекомбинантная ДНК» немного неудачен, поскольку возникает путаница с «рекомбинацией», которую мы уже обсуждали в контексте классической генетики. В менделевской генетике рекомбинация связана с разделением и пересборкой хромосом, в результате чего все фрагменты хромосом «заново смешиваются». В молекулярной версии такое «смешивание» происходит в гораздо более мелком масштабе: два участка ДНК объединяются в одну составную молекулу.

Машина Руба Голдберга – это карикатурное устройство, решающее простую задачу карикатурно сложным способом, https://ru.wikipedia.org/wiki/Машина_Голдберга. – *Примеч. пер.*

В 1998 году, когда на смену старому экономическому порядку пришел новый, проект Вестингауза был переименован в Intel Science Talent Search. С 2015 года конкурс спонсирует компания Regeneron.

Фред Сенгер – один из немногих дважды лауреатов Нобелевской премии, и компания у него самая изысканная. Мария Кюри получила премию сначала по физике (1903), а затем по химии (1911). Джон Бардин был дважды удостоен премии по физике: сначала за открытие транзисторов (1956), а затем за исследования сверхпроводимости (1972). Лайнус Полинг в 1954 году получил премию по химии, а в 1962 году – премию мира.

Сегодня моноклональные антитела – сложившаяся технология лечения многих онкологических и аутовоспалительных реакций. – *Примеч. науч. ред.*

Препарат «Виагра» имеет аналогичную историю. Это лекарство изначально также разрабатывалось для борьбы с повышенным давлением, но при испытаниях на студентах-медиках удалось выявить и другие его свойства.

В 2016 году компания *Pfizer* решила прекратить разработку препарата PF-05212377, обладавшего схожим механизмом действия.

У *C. elegans* взрослый гермафродит состоит из 959 клеток, а взрослый самец – из 1031 клетки.

Сан также известны под названием «бушмены» – уничижительное прозвище, которое дали им голландские колонисты в конце XVII века.

В «Происхождении видов» Дарвин отмечал: «Если бы у нас была полная генеалогия человеческого рода, то генеалогическое размещение рас человека дало бы наилучшую классификацию разных языков, употребляемых в настоящее время во всех странах света».

Enard W., Przeworski M., Fisher S., Lai C., Wiebe V., Kitano T., Monaco A., Pääbo S. (2002). «Molecular evolution of FOXP2, a gene involved in speech and language». *Nature* 418 (6900): 869–872. DOI:10.1038/nature01025. PMID 12192408. – *Примеч. науч. ред.*

Строчка «выделил ген наследственной болезни» обычно хорошо смотрится в резюме; ныне Монако возглавляет Университет Тафта в Бостоне.

Кинг любит говорить, что аббревиатура BRCA также расшифровывается «Беркли, штат Калифорния».

Существует вероятность 1:2 того, что отец унаследовал мутацию от деда, и, если с отцом это случилось, – дополнительная вероятность 1:2 того, что мутация перешла от него к сыну. Сын может получить мутацию в результате двух этих независимых событий, то есть с вероятностью 1:4, или в 25 % случаев.

Это одна из вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), при которой слияние сперматозоида и яйцеклетки происходит в лабораторном сосуде. Получающийся в результате эмбрион (на ранних этапах развития этой технологии их довольно грубо именовали «детьми из пробирки») затем подсаживается в матку и далее развивается естественным путем.

Оказывается, что это не так. Самый скудный научный бюджет в новейшей истории США был при Джимми Картере.

Мой IQ равен 122 баллам – не блестяще, но довольно неплохо. Я увидел свой результат в списке на столе у учителя, когда мне было одиннадцать.

Во вступном разделе «Закона о методах лечения XXI века», принятого Сенатом США в 2016 году, упоминались «Проект им. Бо Байдена по лечению рака и инновационные проекты Национальных институтов здравоохранения», а также декларировалось, что на исследования рака в течение семи лет будет выделено 1,8 миллиарда долларов.

Такие антитела синтезируются в лаборатории путем комбинации человеческих антител с небольшими фрагментами мышинных или крысиных антител. Мышиные или крысиные антитела связываются с антигеном-мишенью, а человеческая составляющая обеспечивает более надежную защиту от иммунной системы. Гуманизированные моноклональные антитела содержат до 95 % человеческого иммуноглобулина.