

Спасибо, что скачали книгу в [бесплатной электронной библиотеке Royallib.com](http://Royallib.com)

[Все книги автора](#)

[Эта же книга в других форматах](#)

Приятного чтения!

## **Сванте Пэabo**

### **Неандерталец. В поисках исчезнувших геномов**

*Элементы – «Неандерталец. В поисках исчезнувших геномов / Сванте Пэabo; пер. с англ. Е. Наймарк»: Издательство АСТ : CORPUS; Москва; 2018 ISBN 978-5-17-091066-3*

**Сванте Пэabo**

**Неандерталец. В поисках исчезнувших геномов**

*Линде, Руне и Фрейе*

© 2014 by Svante P&#228;&#228;bo

© Е. Наймарк, перевод на русский язык, 2018

© Е. Наймарк, послесловие, 2018

© А. Бондаренко, художественное оформление, макет, 2018

© ООО “Издательство Аст”, 2018

Издательство CORPUS ®

### **Предисловие**

Идею написать эту книгу мне впервые подал Джон Брокман. Без его настойчивости и поддержки я никогда бы не нашел времени для такой большой рукописи, ведь прежде я писал лишь лаконичные научные статьи. Но, раз взявшись, я получал удовольствие от этой работы.

Спасибо всем, что все получилось так, а не иначе.

Мне помогали многие люди – и вычитывать, и улучшать текст. Первая из них – моя жена Линда Виджилант, которая ко всему прочему всегда поддерживала меня в этом дерзком предприятии, даже ценой временного отлучения меня от семьи. Превосходными редакторами оказались Сара Липпинкот, Кэрол Рони, Кристин Арден, Виктор Вибе и, главное, Том Келлехер из Basic Books. Надеюсь, я многому у них научился. Карл Ханнестад, Керстин Лександер, Виола Миттаг, читая книгу кто частями, кто целиком, дали ценные рекомендации. Сукен Дандзё проявил замечательное гостеприимство в Сайкоудзи, когда мне понадобилось на некоторое время исчезнуть из мира.

Я излагаю события как запомнил. При этом я понимаю, что некоторые эпизоды могли перемешаться, а иные наложиться друг на друга. Как, например, разные конференции и поездки в Берлин или в компанию *454 Life Sciences*, ну и так далее. Я излагаю свое видение истории, останавливаясь на тех обстоятельствах, которые, по моему суждению, того заслуживают. Я знаю точно, что мой взгляд на события не единственно возможный. Чтобы не перегружать текст именами и деталями, мне пришлось опустить упоминания о многих, кто играл немаловажную роль в нашей истории. Прошу прощения у тех, кто чувствует себя незаслуженно забытым.

### **Глава 1**

#### **Неандерталец из табакерки**

Однажды поздним вечером в 1996 году, когда я уже забрался в кровать и задремывал, вдруг раздался телефонный звонок. Звонил Матиас Крингс, мой аспирант с зоологического факультета Мюнхенского университета. И он сказал: “Это не человек”.

“Еду...” – пробормотал я, натягивая штаны по дороге к машине. И поехал через город в лабораторию. В тот день Матиас зарядил наш секвенатор фрагментами ДНК из крохотного кусочка плечевой кости неандертальца. Кость досталась нам из Рейнского краеведческого музея в Бонне, именно из нее удалось извлечь ДНК и потом размножить ее. Годы разочарований научили меня не ожидать больших чудес. Обычно мы получали бактериальную или человеческую ДНК – то, что вобрали кости за 140 лет музейного хранения. Но Матиас был так возбужден... может, все же попались неандертальские гены? Лучше уж не надеяться.

В лаборатории сидели Матиас с Ральфом Шмитцем, молодым археологом, который помог нам раздобыть в Бонне разрешение взять кусочек от музейного экспоната. Они едва сдерживали восторг, показывая выползающую из секвенатора последовательность из А-Ц-Г-Т. Никто из нас в жизни такой не видел!

То, что непосвященному кажется случайной комбинацией из четырех букв, на самом деле сжатая запись химической структуры ДНК, генетического материала, который хранится почти во всех клетках тела. Две нити знаменитой двойной спирали ДНК составлены из блоков, содержащих нуклеотиды – аденин, тимин, гуанин и цитозин. Они записываются аббревиатурами А, Т, Г и Ц. Важен порядок, в котором эти нуклеотиды следуют один за другим, в нем содержится вся генетическая информация, необходимая для формирования организма и его функционирования. Нам нужна была определенная часть ДНК, а точнее, часть митохондриальной ДНК (мтДНК). Это, если кратко, то, что передается через материнскую яйцеклетку всем потомкам. В митохондриях, крошечных клеточных органеллах, хранятся бесчисленные копии этой ДНК. Они служат одной только насущнейшей цели – помочь митохондриям снабжать клетку энергией. Каждый из нас несет только один тип мтДНК, составляющей примерно 0,0005 всего генома. Но так как в каждой клетке содержатся тысячи однотипных копий, то их относительно легко изучать, не в пример ядерному геному – он в каждой клетке представлен лишь двумя копиями, одной от мамы, а другой от папы. К 1996 году уже были изучены мтДНК тысяч людей со всего мира. Обычно эти последовательности сравнивались с эталонной (эталонной, или референсной, считается та, что была определена первой). В результате множественных сравнений составилась список отличий – в каких позициях какие нуклеотиды различаются. И вот что нас привело в восторг – отличия из неандертальской кости не были похожи ни на одно из известных для человека. Я с трудом верил в реальность происходящего.

Столкнувшись с чем-то заманчивым и неожиданным, я всегда начинаю сомневаться. Так и тут: я стал искать, где мы могли ошибиться. Может, к примеру, мы взяли клей, изготовленный из коровьих костей, и теперь умиляемся коровьей ДНК. Но нет, мы сразу же проверили – это не она, а совсем другая (последовательность коровьей ДНК уже была известна). Эта новая последовательность ДНК очень походила на человеческую, но все же отличалась от всех известных донныне. И я начал проникаться мыслью, что это и вправду первый кусочек ДНК, извлеченный из останков вымерших людей.

Мы открыли бутылку шампанского, которая хранилась у нас в холодильнике в обеденной комнате. Все понимали, что если это действительно неандертальская ДНК, то перед нами открываются необъятные возможности. Вероятно, в один прекрасный день мы сможем сравнить какой-нибудь целый (!) неандертальский ген с современным человеческим. И я думал и думал об этом, бредя домой по темным улицам Мюнхена (мы выпили слишком много шампанского, и я не мог сесть

за руль). И уснуть я не мог, мысли мои раз за разом возвращались к неандертальцам – и к тому единственному, чью ДНК мы, кажется, поймали.

В 1856 году, за три года до публикации дарвиновского “Происхождения видов”, при расчистке небольшой пещеры в каменоломне в долине Неандерталь, примерно в семи милях от Дюссельдорфа, рабочие нашли верхнюю часть черепа и несколько костей. Они думали, что откопали кости медведя. Но через несколько лет эти остатки переопределили; решено было, что это вымершая, возможно предковая, форма человека. Так впервые были описаны остатки древних людей, и эта находка потрясла весь ученый мир. С тех пор исследования неандертальцев не прекращались. Кроме тех первых, нашли еще множество костей, с их помощью решались самые разные вопросы: кто такие неандертальцы, как они жили, почему исчезли около 30 тысяч лет назад, как в течение тысячелетий уживались на одной территории в Европе предшественники современных людей и неандертальцы – дружили или воевали? – и кем они нам, в конце концов, приходились, прямыми предками или просто давно умершими дальними родственниками (см. рис. 1.1). Со всей очевидностью бросаются в глаза свидетельства их вполне человеческого, понятного нам поведения и ритуалов: они и ухаживали за ранеными, и хоронили своих мертвых, и, возможно, даже играли музыку (есть на то кое-какие археологические данные). Во всем этом они больше напоминают нас, чем любую из современных обезьян. Но если больше, то насколько? Была ли у них речь? Или они представляют тупиковую линию в эволюции людей? А может, какие-то из их генов спрятаны в нас сегодняшних? Все эти вопросы вошли естественной частью в науку палеоантропологию, дисциплину, можно сказать стартовавшую от тех костей из долины Неандерталь, из которых мы теперь, кажется, смогли извлечь ДНК.

Каждый из этих вопросов достоин пристального внимания, но мне казалось, что с этим фрагментом ДНК нас ждет награда куда более ценная. Ведь неандертальцы – наши ближайшие вымершие родственники. И если бы удалось изучить их ДНК, то непременно бы выяснилось, в какой степени схожи наши гены. Несколько лет назад в нашей лаборатории отсеквенировали большое число фрагментов ДНК шимпанзе. И тогда мы показали, что у человека и шимпанзе различаются чуть больше одного процента нуклеотидов. Ясно, что неандертальцы должны отличаться от нас еще меньше. Но – и самое восхитительное “но” – именно среди этих немногих различий обязаны объявиться те, что отделяют нас от наших ранних предшественников. И не только от неандертальца, но и от мальчика из Туркана, жившего около 1,6 млн лет назад, и от Люси, возрастом около 3,2 млн лет, и от синантропа, которому около полумиллиона лет. Благодаря этим немногим различиям человеческая линия свернула на совершенно новый эволюционный курс: ускоренное технологическое развитие, появление искусства, возможно языка и культуры, как мы их теперь понимаем. Десятки-другие различий в ДНК создали для всего этого необходимую биологическую базу. И если мы сможем изучить неандертальскую ДНК, то все это само придет нам в руки. Убаюканный мечтами (или манией величия), я наконец заснул на рассвете.

*Рис. 1.1. Реконструкция скелета неандертальца (слева) и современного человека (справа). С разрешения К. Моубрей, Б. Моли, Я. Татерсол, Г. Соер. Американский музей естественной истории*

На следующий день и я, и Матиас опоздали в лабораторию. Мы, естественно, перепроверили вчерашнюю последовательность. Нужно было убедиться, что тут нет ошибок. А потом мы сели и стали думать, как нам дальше поступить. Ведь одно дело – выделить из неандертальских останков один небольшой интересный кусочек мтДНК, но

совершенно другое – убедить себя (хотя бы себя, об остальном человечестве речь пока не шла), что эта ДНК принадлежит индивидууму, жившему 40 тысяч лет назад. Предыдущие двенадцать лет работы довольно точно определяли наши дальнейшие действия. Сначала нужно повторить эксперимент. И не просто самый последний его этап, но все с самого начала, с высверливания кусочка кости. Ведь есть вероятность, что мы обманулись случайно попорченной и видоизмененной человеческой мтДНК из этой кости. Затем нужно удлинить этот фрагмент последовательности мтДНК с помощью других фрагментов, которые с ним перекрываются. За счет этого у нас появится возможность реконструировать относительно длинные участки последовательности. И уже с них начнется выяснение, насколько неандертальская мтДНК отличается от сегодняшней человеческой. И только потом приступить к третьему, важнейшему этапу. Я сам часто говорил, что результаты, из ряда вон выходящие, требуют столь же тщательных, из ряда вон выходящих проверок – а именно повторения их в других независимых лабораториях. Что совершенно нетипично для нашего насквозь конкурентного научного мира.

А заявление насчет прочтения неандертальской ДНК будет, безусловно, сочтено как раз таким, из ряда вон выходящим. Так что если мы хотим исключить возможные лабораторные ошибки, то придется отдать кусочек драгоценной неандертальской кости в какую-то независимую лабораторию и молиться, чтобы там получили те же результаты. Мы сидели и говорили обо всем этом с Матиасом и Ральфом. Прикинув план работ, мы поклялись держать все в строжайшей тайне. Не стоит привлекать к себе внимание, пока не уверимся, что все в точности так, как мы думаем.

Матиас сразу же ударился в работу. Промаявшись почти три года в тщетных попытках извлечь ДНК из египетских мумий, он воодушевился перспективой успеха. Ральф должен был вернуться в Бонн и ужасно из-за этого переживал; там он ничего не мог делать, только сидеть сложа руки и с горячим нетерпением ждать от нас весточки. Я пытался сосредоточиться на своих собственных проектах, но мне с огромным трудом удавалось отвлечься от Матиасовых занятий.

А Матиасу приходилось нелегко. Ведь мы работали не с теми чистенькими образцовыми препаратами, какие получаются из образцов крови или тканей живых индивидов. Из учебников мы привыкли к виду аккуратной двойной спирали ДНК, в которой чередой идут друг за дружкой нуклеотиды АТГЦ, соединенные попарно – аденин с тиминном и гуанин с цитозином – и пристегнутые к остову из сахара и фосфата. Но на самом деле в клеточном ядре или в митохондриях ДНК все время в движении, ее химическая структура не статична. Напротив, ее упорядоченная организация то и дело нарушается, повреждения хитрыми способами отслеживаются и исправляются. Вдобавок молекула ДНК ужасно длинная. Каждая хромосома представляет собой одну громадную молекулу. В комплекте из 23 хромосом человека собраны в сумме около 3,2 миллиарда нуклеотидов. Так как в ядре у нас два таких комплекта – один от отца, другой от матери, и в каждом по 23 хромосомы, – то всего получается 6,4 миллиарда нуклеотидов (или лучше пар нуклеотидов, так как спираль двойная). По сравнению с ядерной митохондриальная ДНК ничтожна, всего 16 500 пар нуклеотидов. Но и это число велико. Кроме того, не будем забывать, что ДНК нам попала древняя, а не современная, и как с ней работать, неизвестно.

Самый распространенный тип повреждений ДНК как ядерной, так и митохондриальной – это потеря одной из химических составляющих у цитозина. Цитозин, избавившись от аминогруппы, превращается в урацил (У), другой нуклеотид, который никогда не встречается в природных ДНК. В клетках имеются особые ферментные системы, убирающие урацил и возвращающие цитозин на место. Вырезанные урацилы отправляются на клеточную свалку.

Между прочим, по числу дефектных нуклеотидов в анализах мочи подсчитано, что в каждой клетке ежедневно примерно 10 тысяч цитозинов

превращаются в урацилы и затем возвращаются в исходную форму. И это лишь одна из десятка обычных химических опасностей, которые подстерегают наш геном. Например, нуклеотид может выпасть, получается пустое место, по которому происходит разрыв нитей двойной молекулы ДНК. С этой напастью сражаются специальные ферменты, которые вставляют нуклеотиды на место; им нужно успеть до того, как нити разойдутся. А если все же это произошло, то в бой вступают другие ферменты – их задача вновь соединить разошедшиеся нити. В действительности хватит и часа, чтобы клеточный геном изменился, не будь эти ремонтные бригады постоянно на страже.

Для бесперебойной работы ремонтных (или репарационных) систем, понятное дело, необходима энергия. Но после смерти, когда останавливается дыхание, в клетках быстро заканчивается кислород и, соответственно, энергетическая подпитка. В результате система репарации прекращает работу, и начинают накапливаться всевозможные повреждения. К повреждениям, происходящим в живой клетке, добавляются еще и спонтанные посмертные изменения молекул, связанные с процессами разложения. В живой клетке все ферменты и другие вещества содержатся отдельно друг от друга, каждое в предназначенном ему клеточном участке, компартменте. Поддержание компартментов в порядке – это одна из ключевых функций клетки. В одних отделах сконцентрированы ферменты, способные разрезать нить ДНК, они вступают в действие на некоторых этапах репарации. Другие отделы содержат ферменты, которые измельчают ДНК микроорганизмов, так или иначе попадающих в клетку. А когда организм умирает и перестает вырабатывать энергию, эти клеточные компартменты смешиваются, мембраны растворяются, ферменты вытекают наружу и разлагают ДНК каждый своим порядком. За какие-нибудь часы или дни нити ДНК разрезаются, дробятся на кусочки, все более и более мелкие по мере течения времени. Тут же начинают безудержно расти бактерии – обитатели наших кишок и легких, ведь тело потеряло способность контролировать их размножение. И в конце концов хранившаяся в молекулах ДНК генетическая информация растворяется, та информация, которая некогда сформировала наше тело, поддерживала его, заставляла действовать. И когда этот процесс завершается, уходят последние следы нашей биологической индивидуальности. В некотором смысле так заканчивается процесс физической смерти.

Но вспомним: практически каждая из триллионов клеток тела содержит полный комплект индивидуальной ДНК. Поэтому даже если в одних клетках ДНК полностью исчезнет, то в других, запрятанных в укромных тайниках тела, могут и сохраниться кое-какие генетические следы. К примеру, любые процессы разложения идут в присутствии воды. А если какой-то участок тела высохнет, не дожидаясь полного разложения ДНК? Тогда разрушение ДНК остановится, и отдельные фрагменты могут законсервироваться. Так происходит, если тело оказывается в сухом месте и мумифицируется. Тело может высохнуть случайно – мало ли, где наступает смерть, – или же труп подвергается намеренному обезвоживанию. Более всего этим знаменит Древний Египет, где примерно от 5000 до 1500 лет назад тела сотен тысяч умерших подвергались ритуальной мумификации, чтобы их души и после смерти имели пристанище.

Пусть даже никакой мумификации не происходит, но некоторые части тела, такие как зубы и кости, продолжают существовать еще долго после захоронения. Живые клетки в этих твердых тканях устроены в крошечных полостях минеральной матрицы; без живых клеток не было бы никакой возможности наращивать новую костную ткань, например при переломах.

Когда костная клетка умирает и ее содержимое растекается, то ДНК может связаться с минеральной основой. Минеральные комплексы обеспечивают химическую защиту молекулам ДНК. И за счет этого некоторой части ДНК может повезти избежать немедленного разрушения.

Предположим, что часть ДНК пережила посмертный телесный хаос. Но есть и другие процессы, которые набрасываются на генетическую молекулу, действуя, правда, гораздо медленнее. Отнесем к ним фоновую космическую радиацию, постоянно создающую активные радикалы, трансформирующие и разрушающие ДНК. И другие химические процессы, идущие в присутствии воды – такие как превращение Ц в У, – как мы уже знаем, не останавливаются при высушивании. В огромной ДНК всегда присутствуют молекулы воды, пристроенные между двумя нитями, потому что составляющие нитей имеют сильное сродство, афинность, с водой.

Эти молекулы воды вступают в самопроизвольные водозависимые реакции. Самая быстрая из таких реакций – деаминация, потеря аминогруппы цитозиним. В результате этой реакции – и не только этой, но и многих других, пока еще не расшифрованных, – молекула ДНК дестабилизируется, и нити рвутся. Так что мало опустошения, какое производит смерть в генетическом хозяйстве, ДНК продолжает убывать и дробиться, даже если удалось пережить клеточную смерть. Понятно, что темпы утраты генетической информации зависят от многих факторов: от температуры, кислотности и прочего. Но даже при самом благоприятном стечении обстоятельств генетическая программа, которая строила шаг за шагом свой персонаж, в конце концов разрушается и исчезает. Получается, что нам с коллегами удалось захватить еще не заверченный процесс деградации неандертальской ДНК: за 40 тысяч лет природные силы еще не до конца справились со своей разрушительной задачей.

Матиас прочитал кусочек последовательности мтДНК длиной в 61 нуклеотид. Для этого он должен был произвести манипуляцию, которая называется “полимеразная цепная реакция” (ПЦР). Чтобы подтвердить результат, он начал с нее, повторив в точности все свои действия шаг за шагом. Для начала ему понадобились так называемые праймеры, два искусственных коротких кусочка ДНК. Они были нарочно так сконструированы, чтобы связываться с одним из концов конкретного отрезка мтДНК, того самого, длиной в 61 нуклеотид. Раствор праймеров смешивался с ничтожным количеством ДНК из кости, и в смесь добавлялась ДНК-полимераза.

Этот фермент синтезирует новую нить ДНК, комплементарно пристраивая нуклеотиды к уже имеющимся нитям, ограниченным двумя праймерами, каждый со своей стороны. Смесь сначала подогревается, чтобы сдвоенные нити разъединились. Праймеры находят на одиночных нитях комплементарные себе участки и по мере охлаждения смеси связываются с ними: А с Т, а Г с Ц.

Необходимые ферменты затем находят праймеры и, отталкиваясь от них, достраивают нуклеотид за нуклеотидом две комплементарные цепочки, одну на первой из разъединившихся нитей, вторую – на второй. И тогда получается уже четыре нити. Четыре нити из костей неандертальца. И этот процесс размножения нитей, или амплификации, повторяется – и вот уже имеем 8 нитей, а затем и 16, и 32 и так далее. Всего можно производить тридцать-сорок циклов дубликации нитей.

Эта простая и изящная методика, предложенная в 1983 году независимым исследователем Кэри Муллисом, работает чрезвычайно мощно. Из одного-единственного фрагмента ДНК за сорок циклов дубликации можно в принципе получить около триллиона его копий. И это именно то, с чем мы работаем, так что, на мой взгляд, Муллис определенно заслужил свою Нобелевскую премию по химии, которой его наградили в 1993 году. Однако исключительная чувствительность ПЦР оборачивается против нас. В вытяжках из древней кости, где, как мы надеемся, имеется несколько выживших древних молекул (а может, и не имеется), болтается и немалое число молекул ДНК от современных людей. Это загрязнения, сопровождающие эксперимент, – из реактивов, из лабораторной посуды, из воздушной пыли. Пылинки, летающие по комнате, где живут и работают люди, это большей частью частички человеческой кожи. И они, понятное дело, содержат клетки с полным набором ДНК. Также человеческая ДНК попадает в образец, когда

человеческие руки извлекают его из земли или берут для музейного изучения. Поэтому мы и решили поискать в древних костях необычный фрагмент мтДНК, а именно такой, который у людей сильно варьирует. Такой, что если мы получим после ПЦР неоднородный набор фрагментов, то это должно насторожить нас: ага, тут ДНК от нескольких индивидов, а не единственного, ископаемого; значит, что-то мы упустили (или, скорее, набрали лишнего). Но мы-то обнаружили такой фрагмент, которого никогда ни у кого из современных людей не находили! Нам было от чего возликовать. Если бы мы увидели последовательность, зарегистрированную у современных людей, мы бы никогда не смогли сказать, откуда она взялась. Может, от древнего неандертальца, если у него она была похожа на нашу современную, а может, от какого-то прохожего, залетела в наш эксперимент с частичкой пыли.

К тому времени я был отлично знаком с загрязнениями. В течение двенадцати лет я анализировал древнюю ДНК из вымерших млекопитающих – пещерных медведей, мамонтов, гигантских ленивцев. Раз за разом получая унылые результаты (практически во всех костях после ПЦР я обнаруживал человеческую мтДНК), я обдумывал и изобретал способы, как уменьшить загрязнение. Поэтому Матиас выполнял все подготовительные к ПЦР операции (обработка образцов, вытяжки и все такое – вплоть до первого нагревания смеси) в особой комнатке, сверхчистой, отделенной с абсолютной надежностью от остальных лабораторных помещений. А когда древняя ДНК вместе с праймерами и другими необходимыми для ПЦР компонентами наливалась в пробирку, пробирка запечатывалась, ее относили в лабораторию и там уже с ней дальше работали. В “чистой комнате” раз в неделю все поверхности мыли хлоркой и каждую ночь включали ультрафиолет, чтобы разрушить всю занесенную с пылью ДНК. Чтобы туда зайти, нужно было в специальном предбаннике облачиться в защитную робу, надеть на лицо маску, на волосы специальную шапочку, на руки перчатки. Это проделывал и Матиас, и любой, кто работал в “чистой комнате”. Все реактивы и инструменты доставлялись прямо в эту комнату, минуя любые другие институтские помещения. Если кто должен был здесь работать, то здесь же и должен был начаться его день. Раз выйдя (за какой угодно надобностью), вернуться уже было нельзя, ведь мы в лаборатории анализировали огромное количество разнообразных ДНК, и их можно ненароком занести в “чистую комнату”. Мягко выражаясь, у меня развилась паранойя на почве загрязнений, и тому, честно, были причины.

И даже со всеми предосторожностями в тех первых экспериментах нашлись следы загрязнений. После ПЦР всю полученную из кости партию ДНК – а это были предположительно однотипные фрагменты из 61 нуклеотида – Матиас клонировал в бактериальных носителях. Это делалось для того, чтобы проверить, действительно ли получился только один тип фрагментов или там их несколько. В бактерию с помощью специального носителя – плазмиды – встраивался один 61-нуклеотидный фрагмент, в другую бактерию следующий, в третью бактерию следующий далее и т. д. Затем бактерии размножались, и вместе с ними клонировались и встроенные фрагменты ДНК. Таким образом, отсекуя ДНК бактерий из выросших колоний, можно было увидеть, какие типы ДНК присутствовали в полученной от ПЦР партии фрагментов. В самых первых Матиасовых экспериментах мы получили 17 колоний с идентичными фрагментами, которые при этом отличались от всех двух тысяч с хвостиком доселе известных современных. И вдобавок к ним еще один фрагмент, которому нашлось соответствие среди этих двух тысяч. Так что загрязнение все-таки было, возможно, от музейных работников, а возможно, от других людей, через чьи руки прошел образец за 140 лет изучения.

Поэтому первым делом Матиас повторил ПЦР и клонирование. На этот раз он выявил 10 клонов с одним и тем же фрагментом, тем самым, выстраданным нами, и еще два других, которые, похоже, произошли от современных людей. Потом

Матиас взял другой костный кусочек, сделал из него новую вытяжку, снова провел ПЦР и снова клонировал всю партию в бактериях. И получилось 10 колоний с нашим уникальным фрагментом мтДНК и 4 лишних, современных. И вот тут мы с удовлетворением решили: всё, наш результат прошел первую проверку, мы можем повторять все операции и получать каждый раз ту самую необычную последовательность ДНК.

Матиас приступил к “проходке” вдоль ДНК. Для этого он использовал другие праймеры. Такие, которые строили отрезки ДНК, частично перекрывающиеся с нашим первым, но и удлиняющие его по нити мтДНК (см. рис. 1.2). И снова мы увидели, что в некоторых из этих фрагментов отклонения в ДНК ни на какие современные не похожи. За несколько следующих месяцев Матиас получил 13 кусочков ДНК разной длины, повторив все опыты по меньшей мере дважды. По ходу дела мы встретились с естественными трудностями интерпретации – а что делать, если любая молекула ДНК подвержена мутациям. И причины мутаций могли быть самыми разнообразными: и древние химические модификации, и ошибки секвенирования, и редкие, но все же встречающиеся вариации мтДНК в клетках одного индивидуума. Тут помогла тактика, которую я придумал, еще работая с древней ДНК животных (см. снова рис. 1.2). Для каждой позиции мы принимали за норму такой нуклеотид (А, Т, Г или Ц), который встречается в этой позиции чаще всего во всех размноженных (амплифицированных) и прочтенных последовательностях. Также мы ввели требование, чтобы нуклеотид, стоящий в определенной позиции, был найден по крайней мере в двух независимых повторах. Это было нужно, потому что в некоторых случаях, крайне редких, ПЦР может стартовать только с одной нити. И тогда, в результате подобной ошибки в ПЦР или нарушения в самой ДНК, будут амплифицироваться только клоны этой одной нити, но не комплементарной ей, и в итоге все нуклеотиды конкретной позиции будут совершенно одинаковы. Если в двух экспериментах ПЦР давали разные результаты, то мы повторяли эксперимент третий раз и смотрели, какой из вариантов с ним сойдется. Матиас получил в результате 123 последовательности и затем, прикладывая один кусочек к другому, сложил эту мозаику в участок длиной в 379 нуклеотидов. И это был тот самый изменчивый участок мтДНК. С учетом наших критериев правдоподобия нуклеотидных позиций это был тот самый кусочек ДНК, который некогда работал в живом неандертальце (или неандерталке). Собрав длинный отрезок “нашей” ДНК, мы подобрались к самой волнующей части – к сравнению его с аналогичными современными человеческими фрагментами.

И вот мы сравниваем наш 379-нуклеотидный участок неандертальской мтДНК с аналогичными участками у 2051 современного человека со всего света. И находим, что неандертальская ДНК отличается от каждой из современных в среднем в 28 позициях. А ДНК современных людей отличаются друг от друга в среднем семью нуклеотидами (речь идет, естественно, об одном конкретном участке мтДНК). Получается, что неандертальские различия вчетверо больше современной variability.

Затем мы посмотрели – вдруг имеются какие-то указания на большее сродство неандертальской ДНК к современной европейской? Такое вполне могло бы быть, потому что эволюция неандертальцев была сосредоточена на территории Европы и Западной Азии. И некоторые палеонтологи убеждены, что европейцы своим происхождением обязаны именно неандертальцам. Чтобы понять, так ли это, мы сравнили неандертальскую последовательность отдельно с европейскими вариантами (у нас было 510 европейских последовательностей), азиатскими (478) и африканскими (494). Среднее число различий со всеми тремя группами оказалось одинаковым – по 28 нуклеотидов. Это означало, что европейская мтДНК отличается от неандертальской ровно настолько же, насколько африканская и азиатская. Тогда мы подумали: возможно, среди европейской выборки найдутся отдельные индивиды, у которых

мтДНК больше других похожа на неандертальскую; подобные отклонения могли бы проявиться, передай неандертальцы европейцам свои митохондриальные гены. Проверили и эту гипотезу: самые похожие последовательности имели “всего” 23 отличия против средних 28. В африканской и азиатской выборках такие же отклонения в сторону неандертальцев составили 22 и 23 нуклеотида соответственно. В итоге мы, во-первых, выяснили, что неандертальская мтДНК резко отличается от современной во всех частях света, во-вторых, не обнаружили никаких свидетельств какой-то особой связи между европейцами и неандертальцами.

*Рис. 1.2. Реконструкция участка мтДНК, извлеченного из кости неандертальца, тип нового образца из долины Неандерталь. Верхняя строчка – соответствующая эталонная последовательность современного человека. Каждая нижеследующая строчка – это один амплифицированный фрагмент из неандертальского образца. В тех позициях, где современные и древние нуклеотиды не отличаются, я поставил точки; там, где различия нашлись, я их указал. Самая нижняя строчка – это то, что получилось после наложения фрагментов друг на друга.*

Наши требования к определению “особых” нуклеотидов соблюдались строго: нуклеотид должен был найтись в конкретной позиции в двух независимых экспериментах и отличаться от эталонной последовательности в большинстве полученных фрагментов. Из: Matthias Krings et al. Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. Cell 90, 19–30 (1997).

Понятно, что, занимаясь простым подсчетом различий, мало что поймешь об истории той или иной области ДНК. Найденные различия представляют собой мутации, имевшие место в эволюционном прошлом. Но, как мы знаем, некоторые типы мутаций случаются чаще других, и в одних позициях нуклеотиды больше склонны к мутированию, чем в других. В таких позициях могут происходить не одна и не две мутации, особенно если речь идет о частых видах мутаций.

Поэтому, чтобы представить ход трансформации конкретного участка ДНК, нужно составить модели мутирования для каждой позиции; в особенности тех, что мутировали, как мы предполагаем, не единожды, затирая предыдущие нуклеотидные варианты. В результате такого моделирования вырисовывается дерево, его конечные веточки представляют собой последовательности ДНК, которые сходятся к определенной предковой последовательности.

Предковые последовательности – это точки схождения отдельных веточек (рис. 1.3). Прделав эту процедуру с ДНК современных людей, мы увидели, что все они собираются к одной точке, к одному общему предку.

В принципе подобного результата мы и ожидали, еще в восьмидесятых <sup>1</sup> он был получен Аланом Уилсоном. Ведь каждый из нас несет только один тип мтДНК и не может обмениваться с другими членами популяции участками этой ДНК. Митохондриальная ДНК передается нам только от матери, поэтому те матери, у которых нет дочерей, не смогут передать свою мтДНК по наследству. И тогда ее мтДНК исчезнет из популяции. Поэтому в каждом поколении некоторые линии мтДНК изымаются из оборота. Следовательно, в какой-то момент должна была существовать женщина – ее называют митохондриальной Евой, – которая несла ту единственную

---

<sup>1</sup> R.L. Cann, Mark Stoneking, and Allan C. Wilson, *Mitochondrial DNA and human evolution*. Nature 325, 31–36 (1987).

мтДНК, которая не вымерла и по мере своей истории мутировала, изменялась, давая начало другим линиям мтДНК, существующим у современных людей. Тут срабатывает простая вероятность – все линии вымерли, а одна какая-то осталась.

*Рис. 1.3. Дерево мтДНК, показывающее предковые линии современных людей; все они сходятся к митохондриальной Еве (отмечено кружком), жившей до общего митохондриального предка с неандертальцами. Порядок ветвления дерева выведен на основе сортировки различий в мтДНК, числа в точках ветвления показывают статистическую вероятность того, что реконструкция данного узла верна. Из: Matthias Krings et al. Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. Cell, 90, 19–30 (1997) с изменениями.*

По нашим расчетам выходило, что неандертальская мтДНК не соединялась с линией митохондриальной Евы. Неандертальская линия уходила в прошлое дальше нашей общей митохондриальной праматери. Этот вывод обрадовал нас несказанно! Еще бы, ведь он доказывал, что мы не ошиблись и, вне всяких сомнений, имеем дело с неандертальской ДНК. И потом, из него явствовало, что мы с неандертальцами (по крайней мере, наши с ними ДНК) глубоко различны.

С помощью моделей нам с коллегами удалось подсчитать, как давно жил носитель предковой мтДНК, объединяющей нас и неандертальцев. В общем случае число различий между двумя независимо существующими линиями мтДНК указывает, сколько потребовалось поколений, чтобы эти различия накопились. Если скорость мутирования известна и принимается постоянной, то число различий пересчитывается на количество поколений и, соответственно, на время. Конечно, в далеких группах животных, например у мышей и обезьян, скорость мутирования сильно различается. Но у близких групп, таких как люди, неандертальцы и человекообразные обезьяны, скорость мутирования более или менее одинакова. Поэтому такие расчеты времени жизни последнего общего предка неандертальцев и людей (точнее, их мтДНК) вполне реальны. По нашим данным и моделям получилось, что мт-предок всех современных людей (то есть митохондриальная Ева) жила примерно 100–200 тысяч лет назад, как и было прежде подсчитано Аланом Уилсоном и его соавторами. А общий предок, а точнее прародительница, давшая начало и неандертальской последовательности, и всем современным, существовала примерно 500 тысяч лет назад. Иными словами, она старше митохондриальной Евы, праматери современного человечества, в три-четыре раза.

Чудесно! Наконец-то я окончательно убедился, что мы прочитали кусочек именно неандертальской ДНК, которая решительно отличалась от человеческой. Но теперь, чтобы опубликовать результаты, нам предстояло преодолеть третий барьер. Мы должны были найти независимую лабораторию, которая повторила бы наши результаты. Не обязательно было проверять всю последовательность целиком, достаточно было прочитать часть ее, но такую, которая бы содержала одну или несколько нуклеотидных замен, отличающих неандертальца от нас. Так или иначе, необходимо было, чтобы независимые эксперты доказали, что мы имеем дело не со странной химерой, обосновавшейся где-то в нашей лаборатории, а с настоящей ДНК из древней кости. Но к кому обратиться? Это такой тонкий вопрос...

Конечно, многие без раздумий согласились бы принять участие в подобном потенциально высокорейтинговом проекте. Но что, если в выбранной лаборатории не будет приличной технологии очистки от загрязнений, что, если они плохо знакомы с нашими методиками? У них же тогда никакая древняя ДНК не выделится и не размножится. В этом случае наши результаты будут считаться невозпроизводимыми, а значит, публиковать их нельзя. Ни в одной лаборатории, насколько я знал, не работали в таком режиме стерильности, как у нас, но все же мы остановились на группе Марка

Стоункинга, специалиста по популяционной генетике в Пенсильванском университете. Я с ним познакомился в восьмидесятых в Беркли, когда работал после аспирантуры, он тоже там проходил стажировку после аспирантуры у Алана Уилсона.

Марк Стоункинг был среди первооткрывателей митохондриальной Евы, он участвовал в разработке гипотезы “из Африки”. Согласно этой гипотезе люди современного типа появились в Африке 100–200 тысяч лет назад и оттуда распространились по всему миру, заместив все другие формы людей, например неандертальцев в Европе, без всякого перемешивания. Я уважал в нем проницательность и честность, к тому же с ним легко было иметь дело. А еще у него была аспирантка Энн Стоун, серьезная и целеустремленная девушка, которая раньше, в 1992–1993 годах, работала у нас в лаборатории. Она изучала мтДНК из скелетных остатков индейцев, поэтому, безусловно, была знакома с нашими методами. Если кто и сможет повторить наши эксперименты, как мне виделось, то это она.

Я связался с Марком. Как я и думал, и он, и Энн с радостью согласились попробовать, и мы разделили последний костный кусочек, переданный нам Ральфом. Сообщили Марку и Энн, какой фрагмент мтДНК они должны попытаться размножить (амплифицировать) – такой, чтобы уж точно попасть хотя бы на одну, но характернейшую неандертальскую замену. Но больше ничего им не послали – ни праймеров, ни реагентов. Только кусочек кости в запечатанной пробирке, которую не открывали с самого Бонна. Такие предосторожности сводили к минимуму вероятность переноса загрязнения из нашей лаборатории в их. И конечно, мы не сказали, в какой позиции должна найтись замена: не потому, что я не доверял Марку и Энн, а потому, что хотел подстраховаться даже от бессознательной подгонки результата. Короче, Энн должна была синтезировать праймеры и все прочее сама, ничего не зная о конечном результате.

Так что, отправив быстрой почтой пробирку с косточкой, нам оставалось только ждать. Обычно на такого рода эксперименты уходит много времени, больше, чем рассчитываешь.

То праймеры вовремя не подвезут, то реактив окажется “грязным”, с человеческой ДНК, или лаборант заболевает как раз в день эксперимента, когда он должен загрузить секвенатор самыми важными образцами. Нам казалось, что мы ждали вечность. Но вот как-то вечером раздался звонок из Пенсильвании. Это была Энн. Я сразу по голосу понял, что новости не отрадные. Она нашла 15 различных вариантов того самого участка ДНК, который мы ей задали.

Но все они были современные. Какое сокрушительное поражение!

Что не так? Неужели нам попала какая-то шальная современная ДНК? Я не мог в это поверить. Если наш вариант от какого-то современного животного, то почему он так близок к человеческому? А если это все же какой-то современный человек, то очень уж странный – по ДНК у него в четыре раза больше отличий от остального человечества, чем у всех других людей между собой. А может, это какая-то старая ДНК, в которой определенные позиции особо подвержены химическим атакам неизвестной природы? Но в этом случае мы бы получили нечто похожее на современную ДНК с дополнительными изменениями и у нас бы не вышло по этой ДНК филогенетическое дерево со сколько-нибудь внятным разветвлениями. И к тому же в этом случае Энн получила бы ту же последовательность, что и мы. Вероятно все же, что у Энн в экстрактах оказалось гораздо больше загрязнений, чем у нас, и они заглушили слабый молекулярный сигнал неандертальской ДНК – это единственное логичное объяснение, какое приходило мне в голову. И что тогда делать? К Ральфу за новыми костными образцами мы больше не могли обращаться: с таким исключительно ценным материалом нужно работать наверняка, а у нас неизвестно что получится, если в этот раз мы потерпели неудачу.

И мы вот как подумали. Пусть у Энн в образцах больше загрязнений, но если она отсекует тысячи молекул, то среди них найдутся и очень редкие варианты, похожие на наши. Мы, пока суд да дело, провели эксперименты и подсчитали,

что наши ПЦР мы начинали с 50 молекул мтДНК. Для сравнения: пылевые частицы, которые могут быть источником загрязнений, содержат десятки, а то и сотни тысяч молекул мтДНК. Ясно, что подобная “поисковая” экспедиция с огромной вероятностью грозит обернуться неудачей.

Я обговорил эти проблемы с Матиасом. А потом мы обсудили ситуацию на лабораторном совещании, где присутствовали все посвященные в тонкости выделения древних ДНК. Я считаю подобные расширенные совещания исключительно полезными, за время своей работы я не раз убеждался в этом. Нашими удачами в поворотные моменты исследований мы обязаны именно таким собраниям. На этих встречах неожиданно рождаются идеи, которые никогда бы не пришли в голову, целиком занятую одной задачей. К тому же часто бывает, что ученый, влюбленный в свою тему или погруженный по уши в текущий проект, должен, так сказать, встретиться с реальностью, рассказать вслух и защитить свои идеи, иначе можно легко принять желаемое за действительное. Зачастую на таких совещаниях я выступаю как модератор, направляя разговор и отмечая стоящие предложения.

Вот и тогда на нашей рабочей встрече выработался план. Мы решили, что попросим Энн использовать праймеры, которые не подходят к современным ДНК, зато подошли бы к гипотетическому неандертальскому фрагменту: последний нуклеотид в последовательности праймера должен быть специфически “неандертальским”. С такого праймера современная ДНК будет стартовать и амплифицироваться с трудом, зато, найдись там неандертальская последовательность, вероятность выловить ее здорово повышается! Мы все обсудили, в особенности можно ли будет считать работу Энн независимым исследованием, ведь она будет искать с нашей подсказкой. Конечно, если бы у Энн все получилось само собой, без всякой предварительной информации, то это было бы просто превосходно. Но ведь мы собирались раскрыть ей для синтеза праймеров всего одну замену, а две другие, которые должны объявиться в последовательности, пусть останутся тайной. Мы ей не скажем. И если она их найдет, эти специфические замены, то это будет достаточным доказательством, что “наша”

ДНК – настоящая, неандертальская, из косточки. На том мы и порешили, этот путь казался нам вполне обоснованным.

Энн была передана необходимая информация. И она заказала нужные праймеры. Мы стали ждать. А уже была середина декабря, и Энн нас предупредила, что собирается улететь на рождественские каникулы к родителям в Северную Каролину. Не мог же я приказать ей отменить поездку, хотя, конечно, очень хотелось. Но она позвонила. Через две недели. Энн получила пять молекул из своего секвенатора. И все они содержали те самые две нуклеотидные замены, которых мы ждали, из неандертальской последовательности. Те самые, которых нет (или они крайне редки) у современных людей. Какое огромное, бесконечное облегчение!

Рождественские каникулы мы заслужили. Позвонили Ральфу в Бонн, обрадовали его хорошими новостями и разъехались.

В то Рождество в компании биологов я отправился в Альпы, на далекие лыжные склоны у австрийской границы, как часто делал в мой мюнхенский период. Но тогда, даже летя вниз по склонам головокружительных заснеженных долин, я в мыслях сочинял статью, где впервые – впервые! – будет выложена последовательность ДНК неандертальца. То, что мне предстояло описать, кружило голову куда сильнее, чем самые крутые склоны ледяных Альп.

Вернувшись в лабораторию после Рождества, мы с Матиасом засели за статью. Перед нами встал важный вопрос, где ее публиковать. Очевидный вариант представляли британский *Nature* или его американский аналог *Science*, самые уважаемые в научном сообществе и цитируемые в прессе, если бы не их жесткие требования к размеру публикаций. А мне хотелось иметь возможность описать все детально

– не только убедить мир, что у нас все по-настоящему получилось, но и познакомить научное сообщество с нашими скрупулезными методами получения и анализа древней ДНК. Вдобавок я несколько разочаровался в обоих изданиях: они то и дело печатали статьи о древних ДНК, эффектные и громкие, но не отвечающие тем научным критериям, которые моя команда считала необходимыми. Складывалось такое впечатление, что они скорее опубликуют статью, которая заинтересует первую полосу *New York Times*, чем ту, результаты которой надежны и неопровержимы.

Я обсудил все это с Томасом Линдалем, шведским ученым, работавшим в лондонской лаборатории Фонда исследования рака. Известнейший эксперт в области повреждений ДНК, мягкий в общении, Томас не отступал, если дело касалось научной истины. Я его считал в некотором роде наставником, с тех пор как в 1985 году шесть недель изучал химические повреждения в древних ДНК у него в лаборатории. Томас предложил отослать статью в журнал *Cell*, очень уважаемое издание, которое специализируется на молекулярной биологии и биологии клетки. Если опубликоваться в этом журнале, то для научного сообщества это будет означать, что секвенирование древней ДНК – твердое достижение молекулярной биологии, а не просто яркий заголовок с сомнительной сердцевиной. Вдобавок *Cell* брал и длинные статьи.

Томас позвонил редактору, прославленному Бенджамину Льюину, чтобы заранее заронить интерес, потому что наша рукопись была несколько нетипична для этого журнала. Льюин дал нам добро, предупредив, что рукопись должна пройти обычное в таких случаях рецензирование. Вот такие у нас были прекрасные новости. Теперь у нас оказалось достаточно журнального пространства, чтобы в подробностях описать все эксперименты и представить все результаты, убедившие нас, что перед нами самая настоящая неандертальская ДНК.

Я до сих пор считаю эту статью одной из моих лучших. В ней описаны и тщательнейшие методы реконструкции последовательности мтДНК, и почему найденную нами последовательность можно считать подлинной, и доказательства того, что наша последовательность не является вариацией уже известных современных. И как мы пришли к выводу, что неандертальцы не оставили генетического наследия в мтДНК современного человека. Наши выводы соотносились с моделью эволюции “из Африки”, предложенной Уилсоном, Стоункингем и их коллегами. Мы так и написали в своей работе: “Последовательность мтДНК неандертальцев, таким образом, подтверждает сценарий, согласно которому люди современного типа сформировались сравнительно недавно в Африке как отдельный вид и вытеснили неандертальцев, совсем или практически без смешения с ними”.

Мы обсудили все мыслимые возражения, какие смогли придумать. Например, мы специально отметили, что наша мтДНК отсылает лишь к небольшой части генетической истории вида. Так как мтДНК передается только по материнской линии, она отражает “женскую” часть истории. Получается, что, если неандертальцы и скрещивались с современными им людьми, мы могли бы это заметить только в случае, если бы неандертальки переходили из своей группы в человеческую. Чего, вполне возможно, и не было. Из более поздней человеческой истории известно, что группы с разным социальным статусом встречались, взаимодействовали между собой, почти всегда скрещивались и оставляли потомство. Такие взаимодействия происходили более или менее по одному сценарию: чаще всего в воспроизводстве участвовал партнер из социально доминантной группы, а дети оставались в материнской группе. Мы, конечно, не знаем, как было принято себя вести в этом смысле у людей 35 тысяч лет назад, когда они пришли в Европу и встретились с неандертальцами. Мы даже не знаем, были ли они социально доминантной группой хоть в каком-нибудь понятном нам, теперешнем, смысле. Но совершенно ясно,

что, выявив женскую линию наследования, мы увидим только половину истории.

МтДНК наследуется специфическим образом, и это тоже накладывает определенные ограничения. Как уже упоминалось, отдельная молекула мтДНК не обменивается частями со своими товарками. Далее, если у женщины рождаются только сыновья, то ее мтДНК исчезает из генофонда. Получается, что даже если в Европе мтДНК и передавалась от неандертальцев к людям в какой-то момент от 35 до 30 тысяч лет назад, то она могла исчезнуть просто по воле случая. Это конкретное ограничение не распространяется на хромосомы в клеточном ядре; вспомним, что хромосомы парные, одна хромосома достается нам от отца, а другая от матери.

Когда у нового организма формируются сперматозоиды или яйцеклетки, хромосомы сходятся и снова расходятся, будто в сложнейшем танце, в процессе которого они обмениваются своими частями. Таким образом, если бы нам удалось изучить несколько фрагментов ядерного генома у отдельного индивида, мы бы получили несколько вариаций генетической истории популяции. В результате, даже если какие-то части нуклеотидной последовательности, полученной от неандертальцев, и потеряются, другие вполне могут сохраниться. Так, имея перед глазами много частей ядерного генома, мы бы увидели картину человеческой эволюционной истории, гораздо менее исковерканную случайностями.

Наша работа прошла рецензирование в *Cell* и была принята к публикации. Как это принято в большинстве крупных изданий, редакция настояла, чтобы мы не раскрывали результаты исследований до выхода номера, для нас это был выпуск от 11 июля 1997 года<sup>2</sup>.

Они подготовили анонс, и я вылетел в Лондон на пресс-конференцию, которая должна была состояться в день выхода журнала. Моя первая пресс-конференция! И я впервые испытал на себе, как это – быть центром пристального внимания прессы. К своему удивлению, я даже получил некоторое удовольствие, разъясняя суть нашей работы, представляя выводы и рассказывая про возможные возражения. Не сказать чтобы это было легко, ведь я со своими данными угодил прямо на поле сражения, которое уже больше десяти лет вели антропологи.

Битва началась с появления гипотезы “из Африки”. Алан Уилсон с коллегами обосновали ее в основном на базе вариаций мтДНК современного человека. Вначале палеонтологическое сообщество приняло гипотезу в штыки. В то время в качестве рабочей гипотезы принималась так называемая мультирегиональная модель: считалось, что современный человек произошел от общего предка *Homo erectus*, эволюционируя независимо и более или менее одновременно на нескольких континентах. Палеонтологи усматривали в группировках современных людей глубокие исторические корни: по их мнению, предками современных европейцев были неандертальцы и, может быть, ранние европейские гоминины; современные азиаты произошли от каких-то архаичных форм, восходящих от синантропов. Тем не менее все больше и больше уважаемых ученых, среди них, например, Крис Стрингер из лондонского Музея естественной истории, склонялись к гипотезе “из Африки”, потому что именно она лучше всего объясняет полный массив данных палеонтологии и археологии. Криса пригласили на пресс-конференцию,

и он объявил во всеуслышание, что прочтение неандертальской ДНК для палеонтологии – это примерно то же, что высадка на Луну для эры космических исследований. Я, конечно же, был рад услышать такие слова из его уст, хотя они и не явились для меня неожиданностью. Но еще больше я радовался, что даже у моих “противников”, у “мультирегионалистов”, находилось доброе слово для нашей работы или хотя бы для нашей методики. Особенно мне было приятно, когда мой самый ярый

---

<sup>2</sup> M. Krings et al. *Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans.* Cell 90, 19–30 (1997).

оппонент и завзятый спорщик Милфорд Уолпофф из Мичиганского университета прокомментировал в *Science*, что “если кто-то и способен был провести такую работу, то только Сванте”.

В общем, такого эффекта от статьи я не ожидал. Ее цитировали на первых полосах главных газет, новость передавали по радио и транслировали по телевидению по всему миру.

Всю следующую неделю после публикации я провел на телефоне с журналистами из разнообразных изданий. Я работал над исследованиями древней ДНК с 1984 года, и постепенно у меня рождалось убеждение, что неандертальскую ДНК выделить возможно. Прошло девять месяцев с того момента, как Матиас поднял меня с постели, заявив, что выданная секвенатором ДНК не человеческая. У меня было время, чтобы свыкнуться с этой мыслью, а вот остальной мир новость, похоже, совершенно потрясла. Когда шумиха в прессе немного улеглась, я смог выдохнуть, осмотреться, оценить сделанное и задать себе вопрос: “А что дальше?”

## Глава 2

### Мумии и молекулы

Началось все вовсе не с неандертальцев, а с египетских мумий. Когда мне было тринадцать, мама взяла меня в Египет, и с тех пор история Древнего Египта приводила меня в живейший трепет. Но когда я начал заниматься ею всерьез в Университете Упсалы в моей родной Швеции, то стало совершенно ясно, что все эти фараоны, пирамиды и мумии не более чем юношеское романтическое увлечение. Я делал домашние работы, я учил иероглифы, я зубрил исторические даты и факты, я даже два лета подряд корпел над каталогами глиняных черепков в Музее истории Средиземноморья в Стокгольме и мог бы вполне остаться там работать, будь у меня и вправду желание стать шведским египтологом. В музее я заметил, что и в первое лето, и во второе одни и те же люди делали одну и ту же работу... И даже больше – они ходили обедать в один и тот же ресторан, всегда в одно время; заказывали всегда одну и ту же еду, за обедом неизменно обмусоливали давно известные египтологические загадки и одни и те же приевшиеся академические сплетни. И я решил, что египтология слишком для меня неповоротлива. Не так я представлял свою профессиональную жизнь. Мне хотелось чего-то захватывающего, созвучного с миром, который я видел вокруг.

Разочарование ввергло меня в душевный кризис. И потому я, следуя к тому же совету моего отца, получившего диплом биохимика, решил уйти в медицину с расчетом заняться фундаментальными исследованиями. Я поступил в медицинскую школу при Университете Упсалы и через несколько лет с удивлением обнаружил, что мне очень нравится наблюдать пациентов. Казалось, что это одна из немногих профессий, позволяющих не только встречаться с самыми разными людьми, но еще и немного улучшать их жизнь. Неожиданно во мне открылся талант ладить с людьми. Из-за этого после четырех лет обучения я снова попал в ловушку, не понимая, чего хочу дальше: оставаться врачом-практиком или все же перейти на фундаментальные исследования, как и планировал вначале. Последнее перевесило, я рассудил так: если захочу (а скорее всего, так и будет), то после защиты диссертации всегда смогу вернуться в больницу. Меня взяли в лабораторию Пера Петтерссона, одного из известнейших тогда ученых в Упсале. Незадолго до того его группа впервые расшифровала и клонировала последовательность одного из антигенов, важнейших белков главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), одного из тех, что сидят на поверхности иммунной клетки и узнают чужеродные вирусные или бактериальные белки. Так что Петтерссон не только углубил биологическое знание, да еще с выходом в клиническое применение, но и использовал новейший на тот

момент метод клонирования и трансформации ДНК: в его лаборатории практиковали клонирование ДНК, внедряя ее в бактерии.

Петтерссон пригласил меня присоединиться к исследованиям одного из белков аденовируса, того самого вируса, который вызывает понос, насморк и другие простудные проявления, не самые приятные в жизни. Предполагалось, что этот вирусный белок, попав в клетку, связывается с антигеном. Эта связка специально выставляется на поверхность клетки, и тогда ее могут узнать клетки иммунной защиты; в результате иммунные силы активизируются и уничтожают инфицированные вирусом клетки. С этим белком мы работали три года. За это время мы постепенно пришли к пониманию, что исходная гипотеза полностью неверна.

Выходило, что данный белок, вместо того чтобы выступить беспомощной мишенью иммунной системы, нарочно ищет антигены внутри клетки. А найдя, соединяется с ними, блокируя их транспорт на поверхность клетки. Из-за этого инфицированная клетка не может отправить на поверхность сигнальную ракету – антиген, и иммунная система не распознает заразу вовремя, в результате клетка умирает. Этот белок, образно говоря, прячет аденовирус. Фактически клетка превращается в долговременного производителя аденовируса и может работать в этом режиме, пока живет сам инфицированный носитель. То, что вирусы способны таким способом обманывать иммунную систему хозяев, было настоящим откровением, и в результате мы опубликовали целый ряд высокопрофильных статей в лучших журналах. На деле выяснилось, что таким же путем с иммунной защитой хозяев справляются и другие аденовирусы.

Так я впервые попробовал науку переднего фронта, и она оказалась пленительной.

Впервые (и потом еще не раз) мне пришлось столкнуться с болезненным осознанием собственных ошибок, ошибок коллег, мучительным процессом убеждения ближайших соратников и всего мира в том, что правда за тобой, что новая идея истинна. Все это, как я увидел, неизменно размечает путь научного прогресса.

Но каким-то удивительным образом, посреди всего этого биологического волшебства, я не мог до конца изгнать из головы романтическую привязанность к Древнему Египту. Как только выдавался свободный час, я бежал слушать лекции в Институт египтологии, не бросил и курс коптского языка, на котором говорили египтяне в раннехристианское время. Я подружился с Ростиславом Гольтгоером, веселым финским египтологом, обладающим феноменальной способностью дружить со всеми без всяких социальных, политических и культурных ограничений. Часто в конце семидесятых и начале восьмидесятых за долгими вечерними посиделками у него дома я жаловался, что обожаю египтологию, но не вижу для нее особенного будущего, и при этом молекулярную биологию тоже обожаю, потому что у этой науки практически безграничные перспективы для улучшения человеческого благосостояния. Я разрывался между двумя этими равно заманчивыми возможностями, а мне никто не сочувствовал: действительно, чего жалеть молодого парня, который страдает, что встретился сразу с двумя прекрасными предложениями.

Но Ростислав терпел меня. Он внимательно выслушивал мои рассказы, как ученые научились извлекать ДНК из любого организма (без разницы, гриб ли это, бактерия, вирус, растение или человек), присоединять ее к плазмиде (транспортер, состоящий из небольшой циклической ДНК), а затем запускать в бактерию, где плазида размножится тысячекратно вместе с остальными хозяйскими генами. А еще я объяснял, как мы умеем теперь определять нуклеотидную последовательность этой чужеродной ДНК и находить разницу между последовательностями двух индивидов или двух видов. Чем больше похожи две последовательности (то есть чем меньше число различий между ними), тем они ближе, родственнее друг другу. На самом деле по числу общих мутаций можно определить не только долгий эволюционный маршрут двух

наборов ДНК, так или иначе изменившихся, стартовав от общей предковой последовательности, но и прикинуть, сколько именно времени назад существовала эта предковая ДНК. Так, в 1981 году британский биолог Алек Джеффрис проанализировал нуклеотидные последовательности гена красного пигмента крови у человека и человекообразных обезьян и определил, когда началась независимая эволюция этих генов.

Очень скоро, говорил я тогда, то же самое можно будет проделать со многими генами и многими особями и видами. Работая в этом ключе, ученые смогут сказать, насколько разные виды связаны родством друг с другом и когда разошлась их история; ни морфология, ни окаменелости не дадут той точности, какая возможна при молекулярных сравнениях.

Я рассказывал и рассказывал обо всем этом Ростиславу, и в моей голове зрел вопрос.

Может, не стоит ограничиваться исследованиями образцов крови и тканей живых организмов?

Что, если взять, к примеру, египетские мумии? Могут ли в них сохраниться молекулы ДНК? И что будет, если их взять (если они, конечно, найдутся) и присоединить к плазмиде, а потом заставить бактерии их реплицировать? Возможно ли изучить древнюю последовательность ДНК и вывести, в каком родстве фараоны состояли друг с другом и с современными людьми?..

И если все это получится, то нам откроются тайны, которые не может разрешить классическая египтология. Например, как связаны современные египтяне с тем народом, которым правили фараоны 2000–5000 лет назад. Или как крупные политические и культурные события – скажем, завоевания Александра Македонского в IV веке до н. э. или Арабские завоевания в VII веке н. э. – повлияли на народонаселение Египта, произошло ли замещение большей части популяции или нет. Или вот еще: что заставляло народ перенимать новый язык, религию, жизненный уклад – военные либо политические события или нечто другое? В общем, кем были те люди, которые строили пирамиды, осталось ли от них хоть что-то в сегодняшних египтянах или они настолько перемешались с народами-завоевателями, что ничего не оставили в наследство современному населению Египта. От этих тайн захватывало дух. И наверняка ведь подобные идеи приходили в голову не мне одному.

Я отправился в университетскую библиотеку и искал информацию в журналах и книгах. О выделении ДНК из древних материалов ничего не нашлось. Похоже, никто даже не пытался это сделать. Или пытались, но ничего не получилось, потому что, если бы получилось хоть что-то, публикация бы, конечно, была. Я поговорил кое с кем из более опытных аспирантов и коллег в лаборатории. Мне возразили, что, мол, ДНК очень неустойчива, потому откуда я взял, что она может сохраняться тысячи лет. Такие разговоры не обнадеживали, но я все равно не терял надежды. В своих литературных поисках я нашел статьи, в которых авторы сообщали об обнаружении белков в музейном экспонате, простоявшем там триста лет; и эти белки все еще реагировали с антителами. Мне также попались статьи, где заявлялось, что у египетских мумий под микроскопом можно увидеть очертания клеток. Так что кое-что все же сохранялось, по крайней мере иногда. И я решил провести несколько экспериментов.

Для начала нужно было решить, может ли ДНК сохраняться хоть сколько-нибудь долго после смерти. Мне казалось, что по крайней мере в обезвоженных тканях может. Ведь ферменты, разлагающие ДНК, активны лишь в присутствии воды. А бальзамирование мумий в Древнем Египте представляет собой именно процесс обезвоживания. Это предположение нужно было проверить в первую очередь. Поэтому летом 1981 года – а летом в лаборатории остается не очень много людей – я пошел в магазин и купил кусок телячьей печени. Чек из магазина я приклеил на первую страницу нового рабочего дневника, где собирался вести

записи эксперимента. А на обложке написал только свое имя, потому что решил держать свои опыты в тайне сколько будет возможно. Петтерссон мог запретить мне своевольничать: он мог подумать, что эксперименты лишний раз отвлекают меня от высокорейтингового исследования молекулярных механизмов иммунной системы, над которым я, по идее, должен без усталости трудиться. В любом случае мне хотелось как-то обезопасить себя от насмешек коллег, если – что очень вероятно – эксперименты провалятся.

Чтобы как-то симитировать египетскую мумификацию, я решил подержать телячью печень в духовке при температуре 50 оС. В лаборатории. В результате мой секрет был немедленно раскрыт. На второй день из-за невыносимого запаха я вынужден был объясниться, и мне пришлось подробно рассказать о проекте, пока кто-нибудь не нашел печень и не выбросил ее. К счастью, по мере усыхания запах слабел, так что до моего профессора не дошли ни толика смрада и ни единого словечка о протухшей в его лаборатории телячьей печени.

Через несколько дней печенка высохла и стала черно-коричневой, совсем как египетские мумии. Я выделил из нее ДНК, и все прекрасно получилось. Она, ДНК, рассыпалась на кусочки по несколько сотен пар нуклеотидов; это, конечно меньше, чем последовательности из тысяч пар нуклеотидов из свежей ткани, но все же неплохо. Я чувствовал, что правда за мной. И в мертвых тканях может сохраняться ДНК, хотя бы в течение дней или недель, и это не так уж нелепо, как кажется на первый взгляд. Но если говорить о тысячах лет? Очевидно, следующий шаг – провести тот же фокус с египетской мумией. И тут пригодилась дружба с Ростиславом.

Ростислав был уже подготовлен моими стенаниями о египтологии и биологии и с радостью согласился посодействовать продвижению египтологии в молекулярную эру. В том музейчике, которым он заведовал, было несколько мумий, и он разрешил взять от них несколько образцов. Конечно, речь не шла о том, чтобы распотрошить мумию и вытащить из нее печень. Но если уж мумию все равно развернули и ноги или руки у нее были оторваны, то из поврежденных мест можно было взять кусочек кожи или мышц. И попробовать выделить из них ДНК. Всего нашлось три таких мумии. Но как только я сделал скальпелем первый надрез, сразу почувствовал, что по текстуре эти ткани совершенно не похожи на высушенную в духовке печень. Печень была твердой, и резать ее было трудно, а ткани мумий оказались хрупкими и под скальпелем крошились в коричневый порошок. Но это не остановило меня, я отнес образцы в лабораторию и проделал все необходимые манипуляции для выделения ДНК.

Вытяжки из тканей мумий отличались от вытяжек из печени, как и сами ткани: мумии дали коричневую жидкость, а печень – прозрачную, как вода. Далее вытяжка из мумий должна была разойтись в геле под действием электрического поля, ее нужно было окрасить специальным красителем, который, связавшись с ДНК, светится в ультрафиолетовом свете розовым цветом; в результате с вытяжкой из мумий гель получился коричневым, а свечение в ультрафиолете вместо розового оказалось синим. Не то, что должно было указать на присутствие ДНК. Я повторил процесс для двух других мумий. И снова никакой ДНК. Ничего, кроме непонятной коричневой субстанции, которая составляла конечный продукт вытяжки и которая, по моим расчетам, должна была бы содержать ДНК. Похоже, мои коллеги были правы: неустойчивой ДНК не пережить тысячи лет захоронения, ведь даже в живой клетке она нуждается в постоянном ремонтном присмотре.

Я спрятал свой секретный рабочий дневник на самое дно ящика и вернулся к вирусам, которые мошенничали с иммунной системой с помощью хитрых маленьких белков, но все равно мумии не шли у меня из головы. Ведь другие видели нечто похожее на остатки клеток...

И что это за коричневая субстанция? Может, это ДНК, но трансформированная в какую-то химическую форму, которая становится коричневой

и светится синим в ультрафиолете... а может, ДНК сохраняется далеко не в каждой мумии... и вообще, наивно ожидать, что эта ДНК объявится с первого раза, нужно проверить много образцов, чтобы найти хотя бы один достойный. В этом случае оставалось единственное – убедить музейное руководство дать мне образцы от других мумий в надежде на исчезающе малый шанс найти древнюю ДНК. И я не представлял себе, как это сделать. Нужно было, по-видимому, найти способ быстро и наиболее щадящим образом анализировать мумии. И тут подсказку дало мое медицинское образование.

Можно ведь использовать иглы, которыми берут образцы на биопсию из раковых опухолей, затем образцы фиксируют, окрашивают и исследуют под микроскопом. При этом образцы сохраняют замечательную детальность, опытный патолог может увидеть и нормальные клетки, к примеру, в эпителии кишечника, простате или молочных железах, и измененные раковые, различая их даже на ранних стадиях рака. И даже больше того, есть специальные красители, которые окрашивают ДНК прямо на предметных стеклах, и потом на них под микроскопом видно, есть ли в образце ДНК. Значит, я должен был взять мельчайшие пробы от множества мумий, окрасить их на предметных стеклах и исследовать под микроскопом. Больше всего мумий, естественно, в больших музеях. Но скорее всего, музейное руководство отнесется весьма скептически к просьбе некоего свехвосторженного студента крошить их мумии ради какого-то утопического проекта.

И опять же Ростислав оказался на высоте. Он указал на один немецкий музей, где была богатая коллекция мумий и который в принципе благосклонно относился к сотрудничеству.

Речь шла об Объединенном музейном фонде Берлина (*Staatliche Museen zu Berlin*), музейной ассоциации Восточного Берлина, столицы ГДР. Ростислав провел там довольно времени, разбираясь с коллекцией египетской керамики. Ему, профессору, разрешили работать в ГДР, вероятно из-за того, что он представлял Швецию, страну, которая пыталась найти “третий” путь развития, промежуточный между капитализмом и коммунизмом. Но скорее всего, первейшую роль сыграла его способность искренне дружить со всеми, без оглядки на любые границы – несколько руководителей музея стали его близкими друзьями. И вот летом 1981 года я сел в поезд, который привез меня к парому в Южной Швеции, а тот на следующее утро доставил меня в коммунистическую Восточную Германию.

В Берлине я пробыл две недели. Каждое утро я должен был проходить несколько пропускных пунктов и только после этого попадал в фондовые помещения музея Боде, расположенного на острове на реке Шпрее, почти в самом центре Берлина. На здании музея все еще оставались метины Второй мировой войны, хотя с тех пор прошло уже сорок лет. На нескольких фасадах вокруг окон, куда целились советские автоматы в дни взятия Берлина, были явственно видны дырки от пуль. В первый день, когда меня повели смотреть довоенную коллекцию по Древнему Египту, мне была выдана специальная каска наподобие строительной.

Причина скоро стала ясна. В крыше главного зала зияли дыры, оставленные дальнобойными снарядами и бомбами. Туда свободно залетали птицы, устраивая гнезда в саркофагах фараонов.

Все, что состояло из более податливых материалов, чем камни, благо разумно унесли. На следующий день куратор египетской коллекции показал мне все свои мумии. Потом, в оставшиеся до обеда несколько часов, сидя в его пыльном неубранном кабинете, я брал образцы тех мумий, которые уже были развернуты и попорчены. Обед был долгим мероприятием, начиная с того, что на выходе мне снова нужно было пройти несколько проверок, а затем добраться через реку до ресторана. И там нас кормили жирной едой, которую приходилось заливать изрядным количеством пива и шнапса. Потом обратно в музей, и там возлияния опять

продолжались под жалобы куратора, что он, мол, почти не бывал за границей, только один раз в Ленинграде. Скоро стало понятно, что мой хозяин мечтает поехать в какую-нибудь западную капиталистическую страну, и будь у него такой шанс, он бы там и остался. Я со всей возможной дипломатичностью дал ему понять, обрисовав потенциальные рабочие будни, что если бы он стал там, в западной стране, выпивать на работе, то немедленно был бы уволен: положение, неизвестное социализму. Но подобные печальные перспективы, кажется, не смогли очернить соблазнительные возможности капитализма, укоренившиеся в его воображении. Несмотря на все эти тянувшиеся часами теоретические дискуссии, я все же смог взять более тридцати образцов тканей мумий. Их я повез в Швецию.

*Рис. 2.1. Хрящевая ткань египетской мумии из берлинского музея. В некоторых лакунах остатки клеток светятся (на фото – темные области) предположительно из-за присутствия сохранившейся ДНК. Фото: Сванте Пэabo, Университет Упсалы*

Уже в Упсале я изготовил препараты для микрофотографирования: вымочил образцы в солевом растворе, положил на предметные стекла и прокрасил, чтобы стали видны клетки в тканях. И стал смотреть. Я делал эту работу по выходным и вечерами, чтобы публика поменьше знала о моих занятиях. Но то, что можно было рассмотреть под микроскопом, расстроило меня.

В мышечных тканях с трудом различались фибриллы, не говоря уже о каких бы то ни было следах клеточных ядер с ДНК. Я уже почти сдался. Но вот как-то вечером я рассматривал под микроскопом срез хряща из ушной раковины мумии. В плотной хрящевой ткани, как и в костной ткани, клетки помещаются в крохотных дырочках, или лакунах. Именно в этой плотной ткани хряща внутри лакун я увидел остатки клеток. В возбуждении я окрасил срез на ДНК. Руки мои тряслись, когда я уставлял стекло на предметном столике под микроскопом.

Ого! Внутри хрящевых клеток видно было нечто, окрашенное правильным образом. В этих клетках действительно сохранилась ДНК!

С новыми силами я продолжил обработку берлинских образцов. Некоторые выглядели многообещающе. Особенно кусочек кожи с левой ноги детской мумии. Когда я окрасил этот образец на ДНК, то в клетках четко засветились ядра. Это и понятно, ДНК находится в ядрах клеток; вряд ли это светились бактериальные или грибные ДНК, потому что в таком случае они были бы распределены в образце неравномерно, там, где максимален их рост. Так что в моем образце сохранилась ДНК того самого ребенка, древнеегипетского. Я сделал миллион фотографий этого образца под микроскопом.

Среди моих образцов нашлось три со следами ДНК. В тканях того ребенка клетки сохранились лучше всего.

Тут меня стали мучить сомнения: вдруг эта мумия не из древних веков, а современная?

Иногда появляются фальсификации – препараты не прочь изготовить фальшивую мумию из трупа, чтобы заработать несколько долларов на туристах и коллекционерах. Какие-то из подделок могли быть впоследствии переданы музею. Музейные смотрители в Берлине не смогли найти для меня записей об этих конкретных мумиях, потому что каталоги были уничтожены во время войны. Так что датировки можно будет получить только с помощью радиоуглеродного анализа. К счастью, в Университете Упсалы я знал специалиста по углеродному датированию – Йорана Посснерта. Он работал на ускорительном масс-спектрометре, с помощью которого определяют соотношение изотопов в крошечных кусочках вещества и по этому соотношению оценивают возраст образца. Я спросил у

него, сколько будет стоить один такой анализ, поскольку боялся, что мне просто не хватит на это моей мизерной аспирантской стипендии. Он меня пожалел, даже не стал называть цену – стоимость явно превышала мои возможности – и предложил провести анализ бесплатно. Я отнес образец Йорану и стал ждать. По мне, это самое в науке трудное – когда твоя работа зависит от других и совершенно невозможно повлиять на ход дела, остается только сидеть сложа руки и ждать результатов. Наконец я дождался новостей – и хороших. Возраст мумии был около 2400 лет, то есть относилась она примерно ко времени завоеваний Александра Македонского. Я выдохнул. Сначала я пошел и купил коробку шоколадных конфет для Йорана.

Потом стал думать, как бы мне опубликовать результаты.

Когда я был в Германии, мне стали немного понятны чувства людей, живущих при социализме. Если я опубликую статью с простыми формальными благодарностями в их адрес, они ужасно огорчатся. А мне хотелось, чтобы все было сделано как следует. Поэтому, посоветовавшись с Ростиславом и со Штефаном Грюнертом, молодым и активным немецким египтологом, с которым подружился во время поездки в Берлин, я решил готовить эту первую статью по ДНК из мумий для восточногерманского научного журнала. С трудом вспоминая школьный немецкий, я описал свои открытия, включил фотографии мумии и гистологических образцов, окрашенных на ДНК. А между тем я сделал вытяжку ДНК из этого образца. И на сей раз смог показать, что ДНК действительно присутствовала в тестовом геле. И я включил картинку с гелем в свою статью. Большая часть ДНК разложилась, но все равно остались немногочисленные кусочки по несколько тысяч нуклеотидов; фрагменты примерно такой длины можно получить и из образцов свежей крови. А это означало, как я написал тогда, что по молекулам ДНК из древних тканей можно изучать отдельные гены – размер остатков это вполне допускает. Я рассуждал, какие широкие перспективы открылись бы при систематическом изучении ДНК египетских мумий. Статья заканчивалась обнадеживающей фразой: “Работы следующих нескольких лет покажут, насколько оправданы эти ожидания”. Я отослал рукопись Штефану в Берлин. Он поправил мой немецкий, и в 1984 году статья появилась в журнале *Das Altertum*, который подчинялся восточногерманской Академии наук<sup>3</sup>.

И никакого эффекта. Никто не написал мне, ни один человек не попросил оттирок... Меня-то результат воодушевил, но кроме меня, кажется, никого...

Пришлось параллельно написать еще одну статью в западный журнал – *Journal of Archaeological Science*, – потому что я понимал, что в восточногерманские журналы мало кто заглядывает. В этой статье я описал те же результаты, только полученные на базе анализа мумифицированной головы мужчины. Но теперь меня настигло отчаяние из-за невероятной медлительности издательства – отсрочки получились даже больше, чем в восточногерманском журнале, где пришлось править язык и тщательно согласовывать с политической цензурой.

Наверное, столь изумительная неторопливость отражает ту медлительность поступи, с которой движутся все науки о древностях. *Journal of Archaeological Science* опубликовал мою статью в конце 1985 года<sup>4</sup> – к тому моменту все ее результаты были сметены ураганом событий.

Итак, ДНК в мумиях есть, и следующий шаг очевиден – нужно

---

<sup>3</sup> S. P&#228;&#228;bo. &#220;ber den Nachweis von DNA in alt&#228;gyptischen Mumien . *Das Altertum* 30, 213–218 (1984).

<sup>4</sup> S. P&#228;&#228;bo. *Preservation of DNA in ancient Egyptian mummies* . *Journal of Archaeological Sciences* 12,

клонировать ее в бактериях. Я обработал кусочки ДНК ферментами, которые увеличивают восприимчивость свободных концов нитей, смешал с бактериальными плазмидами, затем добавил ферменты, которые сшивают вместе концы ДНК. Если все сделано правильно, то получается гибридная молекула, в которой соединены ДНК мумии и бактериальной плазмиды. Когда такую плазмиду внедряют в бактерию, то вся плазмидная ДНК реплицируется, давая множество копий, в том числе и встроенных участков. Но более того, если в плазмиде присутствует ген устойчивости к антибиотику, то я могу, добавив в среду этот антибиотик, отобрать бактерий с успешно внедренными плазмидами. Если на среде с антибиотиком вырастут колонии бактерий, то это будет означать, что операция по добавлению чужеродного фрагмента к бактериальной последовательности прошла успешно. Каждая такая колония берет начало от бактериальной клетки, несущей кусочек ДНК из мумии. Результат нужно было проверить – и я проделал контрольные эксперименты, это важнейший элемент любой лабораторной работы. Я сделал все то же самое, но не добавил к плазмидам ДНК мумии, а в другом контрольном варианте добавил к плазмидам современную человеческую ДНК. Когда бактерии вобрали в себя раствор с плазмидами, я высадил их на агар (это обычная микробиологическая питательная среда) с антибиотиком и отправил на ночь в инкубатор с температурой 37 °C. Наутро я открыл дверцу инкубатора и в предвкушении вдохнул густой влажный запах питательной среды. На чашке с современной ДНК выросли тысячи колоний, они покрывали почти всю поверхность. Это значит, что плазмиды сработали – бактерии выжили, потому что захватили плазмиды внутрь клеток и стали их реплицировать. Чашка, где к плазмидам не было добавлено никаких ДНК, оказалась безжизненной – колоний на ней не было. Отсюда можно заключить, что в моем эксперименте не было никаких дополнительных источников ДНК. А в самой главной чашке, той, куда добавлены были ДНК берлинской мумии, выросло около сотни колоний. Я был совершенно счастлив – я со всей очевидностью реплицировал ДНК 2400-летней мумии! Но только вдруг это ДНК бактерий из образца мумии, а не из самой мумии? Как доказать, что хотя бы часть этой ДНК принадлежит человеку?

Мне нужно было так или иначе определить последовательность этой ДНК, показав, что она человеческая, а не бактериальная. Если я возьму случайный клон, то может попасться и человеческий, и бактериальный фрагмент, а я потрачу на определение его последовательности, секвенирование, огромный труд; ведь тогда, в 1984 году, человеческий геном за исключением небольших участков еще не расшифровали, не говоря уже о сотнях геномов микроорганизмов.

Поэтому меня не воодушевляла идея секвенировать случайный клон, нужно было выбрать строго определенный. Тут очень пригодилась методика, позволяющая идентифицировать клон, в котором присутствует последовательность нуклеотидов, похожая на некую заранее известную. Нужно взять некоторое количество бактерий из каждой колонии, поместить их на особый бумажный фильтр, где бактерии будут разрушены и их ДНК свяжется с веществом фильтра. Затем можно взять раствор с кусочками одноцепочечных ДНК, в которых присутствуют радиоактивные изотопы; эти “пробные” цепочки представляют ту последовательность, которую нужно выявить. Они будут гибридизоваться с комплементарными 411–417 (1985). цепочками ДНК, присутствующими на фильтре. Я выбрал участок ДНК с характерным элементом человеческого генома – повтором *Alu*. Эта последовательность примерно из трехсот нуклеотидов встречается в геноме человека почти миллион раз, еще она имеется у обезьян. Этот повтор настолько распространен в человеческом геноме, что составляет более 10 процентов от его объема. Если бы такой повтор нашелся в бактериальных клонах, то это бы означало, что хотя бы в некоторых из них содержится ДНК человеческой природы.

Я взял кусочек гена, с которым занимался в лаборатории – там, как я знал, имелся

повтор *Alu*, – внедрил в него радиоактивную метку. А потом обработал фильтр с теми самыми клонами. Некоторые из них гибридизовались с радиоактивной цепочкой – что и следовало ожидать от ДНК с человеческими свойствами. Я выбрал клон с самыми явными признаками гибридизации. Он содержал фрагмент ДНК, состоящий из примерно 3400 нуклеотидов. Взяв в помощники Дана Лархаммара, дипломника, который слыл у нас специалистом по секвенированию ДНК, я определил часть последовательности ДНК клона. И там действительно нашелся элемент *Alu*. Я очень обрадовался. В моих клонах присутствовала человеческая ДНК, она была получена именно с помощью бактериального клонирования.

Пока я возился с гелем и секвенированием в ноябре 1984 года, в журнале *Nature* появилась статья, имевшая ко мне самое непосредственное отношение. Расселу Хигучи, работавшему в лаборатории Алана Уилсона, автора гипотезы “из Африки” и одного из самых сильных эволюционных биологов своего времени, удалось выделить и клонировать ДНК из столетней шкуры квагги, родственника зебры, обитавшего еще сто лет назад в Южной Африке.

Рассел Хигучи выделил два фрагмента митохондриальной ДНК и показал, что, как и ожидалось, квагга ближе к зебрам, чем к лошадям. Эта работа вдохновила меня несказанно.

Если уж Алан Уилсон взялся за древнюю ДНК и если *Nature* счел исследование 120-летней ДНК стоящим, то уж мои занятия не были ни дикими, ни тривиальными.

Впервые я сел за статью, которая, как мне виделось, должна заинтересовать многих.

Подбодренный примером Алана Уилсона, я решил готовить ее для *Nature*. Я описал, как я работал с мумией из Берлина. И я, конечно же, сослался на ту статью, которая появилась в восточногерманском журнале. Но перед тем как отослать рукопись в Лондон, в издательство *Nature*, мне нужно было кое-что сделать. Я обязан был поговорить с моим руководителем, Пером Петтерссоном, показать ему рукопись, которую подготовил для публикации. К нему в кабинет я вошел с некоторым трепетом. Рассказал о том, чем занимался все это время, и о своих достижениях. Также предложил присоединиться к статье и быть соавтором, ведь он мой руководитель. Как же я недооценивал этого человека! Вместо того чтобы пенять мне на внеплановую трату фондов и драгоценного рабочего времени, он восхитился. Он обещал прочитать рукопись и сказал, что, естественно, не собирается быть соавтором работы, о которой только что узнал.

Несколькими неделями позже я получил из редакции *Nature* сообщение: они обещали опубликовать статью, если я отвечу на несколько небольших замечаний рецензентов. И вскоре я получил корректуру. Тут я стал подумывать, как бы мне подступиться к Алану Уилсону – в моем представлении полубогу – и после защиты диссертации напроситься к нему в лабораторию в Беркли. Не найдя ничего лучшего, я отправил ему корректуру без всяких комментариев, решив, что такому человеку будет приятно увидеть статью первым, до того как другие смогут прочесть ее в *Nature*. А потом напишу и спрошу насчет возможности поработать под его началом. В *Nature* с удивительной расторопностью управились с рукописью и даже нарисовали иллюстрацию на обложку к этому выпуску – мумия, обернутая спиралью ДНК. Но еще быстрее я получил ответ от Алана Уилсона, адресованный “профессору Пэбо”, – тогда, в доинтернетный и доугловый век, узнать наверняка, кто я такой, было очень трудно. Само письмо тоже было примечательно. Он спрашивал, не мог бы он провести свой грядущий преподавательский отпуск<sup>5</sup> в МОЕЙ лаборатории!

---

<sup>5</sup> В западной научной системе преподаватель университета может взять длительный отпуск, так называемый *sabbatical*, чтобы заняться собственными исследованиями. (Прим. перев.)

Такая вот забавная оплошность, случившаяся только из-за того, что я не знал, как написать письмо. Мы с товарищами в лаборатории шутили, что нельзя упустить возможность заставить Алана Уилсона, великого эволюционного биолога, мыть для меня пробирки целый год. Я сел отвечать ему – что я не профессор и даже еще не защитил диссертацию и что лаборатории у меня никакой нет, поэтому приезжать в свой отпуск ему некуда. Зато я поинтересовался, нельзя ли мне после аспирантуры приехать к нему в Беркли поработать.

### Глава 3 Умножить прошлое

Алан Уилсон ответил мне изысканным письмом, пригласив поработать в его группе после защиты диссертации. И я оказался на перепутье. После защиты передо мной открывались три возможности. Первая – завершать свое медицинское образование в больнице (что заранее навело на меня скуку после горячки недавних открытий). Вторая: поступить в какую-нибудь крупную лабораторию и в продолжение диссертации приняться за многообещающую и вполне успешную работу над вирусами и иммунной защитой. Или – на столе лежало предложение от Алана – заняться выделением древних генов. Коллеги и профессора, с которыми я обсуждал свой выбор, наперебой советовали второй вариант. Их аргументы были вполне очевидными: интерес к древним ДНК не более чем курьезное хобби, оно отвлекает меня от серьезных исследований, за которыми будущее и науки, и мое. Третий вариант, конечно, казался мне самым соблазнительным, но меня одолевали сомнения: может, все-таки заняться реальной наукой, вирусологией, а не играми в “молекулярную археологию”, которая пусть и впрямь остается моим хобби? Решение пришло в 1986 году, на симпозиуме в Колд-Спринг-Харбор.

Лаборатория Колд-Спринг на Лонг-Айленде в Нью-Йорке – это мекка для молекулярных биологов. Там организуются многочисленные встречи и конференции, и не последним среди них является ежегодный симпозиум по численным методам в биологии. После публикации моей статьи в *Nature*<sup>6</sup> меня пригласили на этот симпозиум, там я впервые сделал доклад по своей работе о ДНК мумий. Одно это было бы для меня из ряда вон выходящим событием, но нет, мало того, на симпозиуме присутствовали люди, которых я знал только по их публикациям, и сам Алан Уилсон, и Кэри Муллис, который на той же сессии, что и я, представил и описал полимеразную цепную реакцию. ПЦР оказалась настоящим методологическим прорывом, сразу отправившим на склад истории громоздкую методику клонирования ДНК в бактериях. Мне сразу стало совершенно очевидно, что для изучения древних ДНК я прекрасно смогу воспользоваться новыми методами. По сути, ПЦР позволяла выделять и размножать необходимые сегменты ДНК, даже если их сохранилось совсем немного. Сам Кэри в конце своего доклада, отсылая слушателей к моей работе, отметил, что ПЦР – идеальный инструмент для изучения мумий. Я дожидаться не мог, когда же можно будет это попробовать!

На том симпозиуме произошло еще одно волнующее событие: впервые на повестке дня стоял вопрос об общем финансировании и скоординированной работе по прочтению полного человеческого генома. И хотя я чувствовал себя совершеннейшим новичком, каким, по сути, и являлся, все равно было удивительно присутствовать при “взрослых” разговорах, где большие дяди и тети обсуждали миллионы долларов, тысячи машин, новейшие технологии, которые могут

---

<sup>6</sup> S. P. & M. M. Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature* 314, 644–645 (1985).

понадобиться для решения столь грандиозной задачи. В оживленных спорах какой-нибудь маститый ученый объявлял проект технически невыполнимым, потенциально бесполезным, пустой тратой денег, так нужных небольшим группам с одним устоявшимся лидером. Все это будоражило мое воображение; я хотел быть частью приключения под названием “геном”.

Алан Уилсон являл собой воплощение декана из Беркли, каким я его себе и представлял: скромный, с тихой и неспешной речью, совсем не как верховоидившие на симпозиуме ученые мужи, подогреваемые тестостероновыми эмоциями. Длинноволосый новозеландец, он с теплой доброжелательностью помог мне освоиться, посоветовал следовать велению души и заниматься тем, что мне самому кажется наиболее перспективным. Встреча с ним расставила все по местам, и я принял решение: сказал, что еду в Беркли.

Тут возникла некоторая загвоздка. Так как приехать в “мою” лабораторию Алан по понятным причинам не мог, то он распланировал для себя следующий год в двух лабораториях Англии и Шотландии. Для меня это означало, что и я должен где-то переждать, пока Алан вернется. Пока я писал диссертацию, некоторое время провел в Цюрихе, в лаборатории Вальтера Шаффнера. Это признанный молекулярный биолог, открывший “энхансеры”, ключевые элементы ДНК, участвующие в регуляции экспрессии генов. Вальтер всегда с энтузиазмом кидался на всякие неортодоксальные идеи и проекты и теперь пригласил меня на год к себе в лабораторию со всеми моими древностями. Особенно его интересовал вымерший сумчатый волк из Австралии, тилацин. А ну-ка, попробуй клонировать его ДНК из музейного экспоната! Я согласился и переехал в Цюрих, как только разделался с защитой диссертации.

А в это время в Берлине происходили события другого рода. Я надеялся, что после публикации статьи в *Nature* раздобыть дополнительные образцы из Восточной Германии станет проще и я смогу выделить больше клонов и исследовать гены позанимательнее скучных *Alu* повторов. Так что, отправив Ростислава в Берлин через несколько месяцев после публикации, чтобы он выправил мне документы на тестирование, затруднений я не ждал.

Однако вернулся он с тревожными вестями. Ни один из его музейных друзей не нашел минутки с ним повидаться, напротив, все они, казалось, избегали его. В конце концов ему удалось отловить одного из них на выходе из музея. Оказалось, что после публикации в музей явилась Штази, внушающая ужас секретная полиция Восточной Германии. Каждого работника музея по очереди вызывали в отдельную комнату и допрашивали о связях со мной и Ростиславом. Штази совершенно не интересовало, что еще до публикации в *Nature* первые результаты работы вышли непосредственно в Восточной Германии и что я неоднократно ссылаюсь на них в статье из *Nature*. Они внушали музейным работникам, что Университет Упсалы широко известен как центр антисоциалистической пропаганды. И как бы абсурдно ни звучала подобная характеристика старейшего университета Швеции, ни один здравомыслящий немец из Восточной Германии не согласился бы иметь с нами дело, получив предупреждение от Штази.

Бесплодная борьба с тоталитарной системой приводила меня в уныние. В моих фантазиях две враждующие политические системы уже начинали договариваться, вести диалог – могут же работать вместе ученые из разных систем, – и я даже надеялся поспособствовать хоть немного этому процессу. Я еще не знал, какую роль будет играть Восточная Германия в моей жизни, но в тот момент ни о каких образцах, ни о каком сотрудничестве даже речи не могло быть.

В Цюрихе я принялся за работу. Мне предстояло выделить ДНК из немногих оставшихся образцов мумий и из музейных экземпляров сумчатого волка. При всем моем энтузиазме проводить ПЦР по методикам Кэри было отнюдь не развлечением. Сначала требовалось нагреть ДНК до 98 оС на водяной бане, чтобы разделить цепочки спирали, потом охладить до 55 оС, чтобы присоединились праймеры,

потом добавить термочувствительные ферменты и всё вместе выдерживать при 37 оС, тоже на водяной бане, тогда образовывались новые цепочки.

Каждый эксперимент, и так-то трудоемкий, требовал тридцати повторений. Я проводил час за часом, сидя перед водяными банями, растрачивая понапрасну дорогостоящие ферменты, пытаясь размножить фрагменты ДНК. Иногда мне удавалось извлечь невнятный продукт современной ДНК, но с древними ДНК из мумий и тилацина ничего не получалось. Мне удалось добиться некоторого успеха, работая на электронном микроскопе: я показал, что сохранившиеся молекулы ДНК тилацина и мумии представляют собой сравнительно короткие отрезки. Некоторые молекулы ДНК даже соединились друг с другом вследствие химических реакций, а это, понятно, создало бы трудности, начни я проводить с ними ПЦР или размножать их в бактериях. На самом деле этот последний факт меня не удивил: я уже встречался с чем-то подобным в 1985 году, когда работал в Хартфордшире, в лаборатории Томаса Линдаля<sup>7</sup>. Томас родом из Швеции, он мировой эксперт по химическим повреждениям ДНК и репарационным системам, призванным эти повреждения ремонтировать. Работая под его руководством, мне удалось установить, каким формам повреждений подверглась древняя ДНК. И те мои исследования, и новые, цюрихские, вместе представляли добротную описательную науку, но ни на йоту не приближали меня к вожделенной цели: получить цепочку ДНК из давно исчезнувших организмов. Месяцы были потрачены на пробирки – ну и на альпийские горные склоны, – но результат так и не появился. Поэтому весной 1987 года я с превеликим облегчением переехал в Беркли, в лабораторию биохимии, куда к тому времени вернулся Алан Уилсон.

В Беркли я очень скоро осознал, что оказался в нужном месте в нужное время. Кэри Муллис именно здесь оканчивал университет, а после поступил на работу к югу по побережью, в корпорацию “Цетус” (*Cetus Corporation*), где и изобрел ПЦР. Там же работали еще несколько выпускников Алана. Получалось, что, пока я в одиночку сражался с методиками ПЦР в Цюрихе, здесь на результат работала целая армия и сильно эти методики улучшила. В “Цетусе” клонировали и выделили вариант ДНК-полимеразы (фермента для размножения нуклеотидных цепочек ДНК при ПЦР) из термофильных бактерий. Так как этот бактериальный фермент выдерживал высокие температуры, отпадала надобность открывать пробирки и добавлять фермент при каждом следующем цикле ПЦР. Это означало, что весь процесс можно автоматизировать. Один аспирант даже придумал устройство, в котором три большие водяные бани с помощью компьютера поочередно подавали воду в другую, меньшую водяную баню.

Это позволило проводить ПЦР в автоматическом режиме. Теперь я мог запустить реакцию и отправиться вечером домой. Правда, рано мы обрадовались послаблению: в какой-то момент устройство не сработало, и нужный клапан не закрылся, в лаборатории случилось великое наводнение, и нам пришлось возобновить вечерние бдения. Наше ненадежное нововведение вскорости заменила первая ПЦР-машина, или термоамплификатор, изобретенный в стенах “Цетуса”. Состоял термоамплификатор из металлического ящика с отверстиями для трубок; он нагревал и охлаждал наши образцы до любой требуемой температуры столько раз, сколько было нужно, и все это контролировалось компьютером. Помню, с каким благоговейным трепетом мы смотрели, как вкатили термоамплификатор в лабораторию. Я прямо накинулся на него, зарезервировал столько циклов амплификации, сколько позволяли приличия.

Вымершая зебра квагга, два отрезка мтДНК которой клонировал Рассел Хигучи, стала,

---

<sup>7</sup> Томас Линдаль, род. 1938, – шведско-британский биохимик, в 2015 году получил Нобелевскую премию по

так сказать, первым подопытным кроликом. Сам Рассел из лаборатории Алана ушел работать в “Цетус”, но его квагга осталась. Я выделил ДНК из частичек кожи квагги и, благо праймеры от клонирования еще остались, запустил ПЦР в новой машине. И сработало! Я получил отличные фрагменты ДНК и выстроил их в последовательность, которая оказалась чрезвычайно похожей на ту, что получил Рассел, работая с клонами в бактериях. С новой машиной я мог повторять процесс и проверять результат снова и снова. Клонирование в бактериях в этом смысле было малоэффективным и почти не давало возможности проверки, так как не удавалось предсказать, какой отрезок ДНК окажется воспроизведен. Полученная из квагги последовательность, хотя и очень похожая на Расселову, все же по двум позициям отличалась. Это, скорее всего, произошло из-за молекулярных повреждений, которые, в свою очередь, умножились в ходе бактериальной репликации. В новых условиях я мог проверить конкретную последовательность много раз, чтобы получить единообразный, предсказуемый результат. Вот она, суть научного эксперимента: предсказуемость и воспроизводимость результата.

В соавторстве с Аланом я опубликовал данные по работе с кваггой в журнале *Nature* <sup>8</sup>.

Было ясно, что эра массовых исследований древних ДНК не за горами. Вымершие животные, викинги, римляне, фараоны и неандертальцы – все они скоро станут предметом приложения мощных методов молекулярной биологии. Правда, произойдет это не быстро. (В конце концов,

нужно же уступать кое-какое время на ПЦР-оборудовании товарищам по лаборатории.) Алана в числе прочего интересовала эволюция человека. Незадолго до того он в соавторстве с Марком Стоункингем и Ребеккой Канн опубликовал одну спорную статью в *Nature* <sup>9</sup>. В ней сравнивались мтДНК представителей всех рас. Алан применил трудоемкий анализ с использованием ферментов, разрезающих молекулу ДНК в определенных местах известного участка последовательности. В результате ему удалось проследить маршрут мтДНК до общего предка человечества, жившего в Африке 100–200 тысяч лет назад. Теперь мы могли расширить это исследование на гораздо большем количестве материала. Этим у нас в лаборатории занималась молодая студентка Линда Виджилант, которая каждое утро прикатывала к институту на своем мотоцикле. Ее озорное обаяние я тогда краем глаза замечал, но прежде всего видел в ней соперницу, претендентку на драгоценное “машинное время”. Знать бы тогда, что спустя годы в другой стране мы поженимся и вырастим детей.

На тот момент реконструкция эволюции человека с помощью генетической информации ограничивалась выявлением разницы в нуклеотидных последовательностях ныне живущих людей; ориентируясь на эту разницу, ученые отслеживали миграционные пути народов.

Заключения делались с помощью моделирования. В основе моделей лежали гипотезы о процессе накопления изменений в генетических последовательностях и о том, как они передаются из поколения в поколение, но в силу технических ограничений эти модели были свехупрощенным отражением событий прошлого. Согласно, например, одному из допущений, каждый индивид имел возможность произвести потомство с любым индивидом противоположного пола. Также допускалось, что каждая когорта оставляла потомство независимо от других когорт

---

<sup>8</sup> S. P&#228;&#228;bo and A.C. Wilson. *Polymerase chain reaction reveals cloning artefacts.* Nature 334, 387–388 (1988).

<sup>9</sup> R.L. Cann, Mark Stoneking, and A.C. Wilson. *Mitochondrial DNA and human evolution* . Nature 325, 31–36 (1987).

и они не смешивались друг с другом, а уровень выживаемости полагался одинаковым для всех. Иногда мне казалось, что рассуждения слишком уж поверхностные и это не наука, а какие-то выдумки. Если бы удалось подсмотреть генетическую вариабельность давнишних поколений, то можно было бы, как я любил повторять, “поймать эволюцию за хвост”; я представлял себе, что для этого придется исследовать последовательности ДНК древних индивидуумов, а потом наложить полученные последовательности из древних ДНК на данные по современным людям, которые получила Линда.

Идея, конечно, дерзкая, и я решил, что надо быть поскромнее и выбрать образцы, отстоящие друг от друга не на тысячи лет. В Музее зоологии позвоночных в Беркли как раз размещалась гигантская коллекция мелких млекопитающих, которую насобирали биологи-натуралисты за последнюю сотню лет. Туда я и отправился изучать популяцию кенгуровых крыс, названных так за способность прыгать на необычайно длинных задних ногах.

Мне помогали Фрэнсис Вильябланка, аспирант из музея, и молодой специалист Келли Томас из нашей лаборатории (см. рис. 3.1). Кенгуровые крысы во множестве водятся в пустыне Мохаве на границе между Невадой, Ютой, Калифорнией и Аризоной. На них с превеликим удовольствием охотятся гремучие змеи. Я выделил и секвенировал мтДНК из кусочков кожи нескольких крыс, помещенных в музей в 1911 году, в 1917–&#8202;м и в 1937–&#8202;м. Мы с Фрэнсисом и Келли раздобыли старые полевые дневники и карты натуралистов и по их следам предприняли несколько путешествий в Мохаве, расставляя ловушки точно в отмеченных местах. Мы ехали по пустыне, открыв старинные карты, читая и узнавая в дневниках описания мест, по которым ходили наши предшественники семьдесят и сорок лет назад. Садилось солнце, мы искали места для ловушек среди метелок шалфея и зарослей юкки. Мы спали прямо под огромным звездным куполом неба, тишину нарушал только редкий стук захлопывающейся ловушки – так я вдруг получил чудесный перерыв в нескончаемой гонке городской жизни.

*Рис. 3.1. Чучело кенгуровой крысы столетней давности из Музея зоологии позвоночных в Беркли и ее современная родственница. Фото: Университет Беркли*

В лаборатории мы выделили и секвенировали мтДНК из собранных образцов. Затем сравнили полученные последовательности с соответствующими музейными образцами, то есть с предковыми формами, жившими 40–70 лет назад. Никаких особенных различий мы не нашли, но мы их и не ожидали. Однако эта работа была важна вот почему: в ней впервые удалось развернуть время и взглянуть на гены предков здравствующих ныне популяций. Мы поместили статью<sup>10</sup> об этом в журнале *Molecular Evolution* – и какова была наша радость, когда мы прочли на нее похвальный комментарий в *Nature!* Восходящая звезда эволюционной биологии Джаред Даймонд писал, что при новых методиках, ставших возможными после открытия ПЦР, “старые музейные образцы оказываются гигантским бесценным источником материала, который позволит отследить эволюционные изменения в генетических последовательностях, что, в свою очередь, даст нам важнейшую информацию по эволюционной биологии”. Еще он добавил, что “этот эксперимент в очередной раз напомнит некоторым узколобым ученым о неоспоримой научной ценности музейных

---

<sup>10</sup> W.K. Thomas, S. P&#228;&#228;bo, and F.X. Villablanca. *Spatial and temporal continuity of kangaroo-rat populations shown by sequencing mitochondrial-DNA from museum specimens*. Journal of Molecular Evolution 31, 101–112 (1990).

коллекций”<sup>11</sup>.

Достижения достижениями, но моей голубой мечтой оставалась история человечества, и я все обдумывал, как бы с помощью ПЦР заглянуть в наше собственное прошлое. Пока я работал в Упсале, ко мне в руки попал с виду неаппетитный, но знаменательный образец из флоридской карстовой воронки. Там в водном резервуаре в щелочных породах нашли останки индейцев; внутри черепной коробки сохранился мозг. Хотя он и усох немного, в нем удивительным образом различимы были даже детали. Действуя старыми методами, я показал присутствие в образцах человеческой ДНК и, наряду с мумиями, включил результаты исследований в тот памятный доклад в Колд-Спринг-Харбор. Теперь же Алан помог раздобыть образцы мозга 7000-летнего возраста из близких местонахождений во Флориде. Из них я тоже выделил ДНК и получил необычные, короткие фрагменты цепочек мтДНК. Они были похожи на аналоги из Азии, но никак не на индейские мтДНК. И хотя я получил один и тот же результат в двух независимых экспериментах, мне стало понятно, насколько легко можно занести и потом перепутать современную ДНК с ДНК из древних человеческих образцов. Предостерегая от этой опасности, я написал в статье, что “секвенированные цепочки, бесспорно, принадлежат человеку, однако представленные доказательства требуют более развернутого изучения выявленных фрагментов”<sup>12</sup>.

Тем не менее изыскания мои казались многообещающими. Похоже, мне предстояло узнать побольше о генетике человеческих рас. Как раз в это время с Аланом связался Рик Уорд, новозеландец, теоретик популяционной генетики, работавший в Солт-Лейк-Сити. Он хотел освоить методы ПЦР, и я вызвался поработать в его лаборатории. Для этого я месяц катался туда-сюда, в Юту и обратно. Рик, великолепный специалист в своей области, слыл благодущным эксцентриком. Он всегда, даже в мороз, носил шорты и гольфы, брался за все и ничего не заканчивал – ни научных, ни бумажных дел. Из-за этого ему не приходилось рассчитывать на звание университетского любимчика, но зато он обожал обсуждать науку и мог с бесконечным терпением объяснять сложные алгоритмы таким неучам, как я: у меня, к сожалению, не было систематического математического образования. Мы с Риком занялись изучением варибельности мтДНК у небольшого коренного канадского племени нуу-ча-нульт, живущего на острове Ванкувер. К тому времени Рик работал с их ДНК уже много лет. К своему удивлению, мы обнаружили, что у населения в несколько тысяч человек в генах нашлась почти половина вариантов мтДНК всех остальных коренных жителей Северной Америки. Для меня это означало, что общепринятая гипотеза о генетической гомогенности (однородности) подобных коренных племен оказалась попросту мифом и что люди всегда жили в группах со значительным генетическим разнообразием.

А в Беркли работа спорилась, как никогда. За что бы мы ни брались, все получалось. В лаборатории появился молодой канадский специалист Ричард Томас. Он хотел освоить ПЦР, и я предложил ему взять у меня эстафету в исследовании сумчатого волка, *Thylacinus cynocephalus*, того самого, что так подвел меня в цюрихской лаборатории. Тилацин проживал в Австралии, Тасмании, Новой Гвинее и очень напоминал обычного волка, только был сумчатым, как кенгуру и другие австралийские животные. Таким образом, у нас в руках появлялась прямо-таки иллюстрация из учебника по конвергентной эволюции. Конвергентная эволюция – это процесс, при котором

---

<sup>11</sup> J.M. Diamond. *Old dead rats are valuable*. Nature 347, 334–335 (1990).

<sup>12</sup> S. Pääbo, J.A. Gifford, and A.C. Wilson. *Mitochondrial-DNA sequences from a 7,000-year-old brain*. Nucleic Acids Research 16, 9775–9787 (1988).

неродственные животные формируют схожие морфологические и поведенческие черты, если оказываются перед сходной адаптивной задачей. С помощью секвенирования небольших фрагментов мтДНК сумчатого волка мы показали, что он приходился близким родственником другим сумчатым хищникам из этого региона, например тасманийскому дьяволу. При этом он мало связан с южноамериканскими сумчатыми, хотя некоторые из вымерших форм были внешне очень похожи на тилацинов. Таким образом, эволюция выводила волкоподобных животных даже не два, а целых три раза: один раз среди плацентарных млекопитающих и дважды среди сумчатых. Эволюция в некотором смысле повторялась – это явление известно и наверняка будет подтверждено еще не раз на самых разных организмах. Свои результаты мы оформили в статью для *Nature*, и Алан любезно предложил поставить мое имя последним, что в научных кругах обозначало ведущего исследователя<sup>13</sup>. Такое произошло со мной впервые, и я понял, что мое видение себя в научном процессе меняется. До сих пор я трудился день и – часто – ночь у пробирок и реторт, сам ставил эксперименты и добивался результатов. Даже если идеи были моими собственными, за мной всегда стоял научный руководитель, консультируя и направляя процесс. Теперь же мне самому помогали ставить эксперименты. А значит, я должен постепенно учиться вдохновлять и направлять других. И если поначалу сама мысль об этом пугала меня, то в реальной жизни все получилось само собой.

Будучи участником множества проектов по использованию ПЦР для изучения древних ДНК, я сосредоточился на технических тонкостях их выделения. Я обобщил и подытожил опыт, накопленный за годы работы в Упсале, Цюрихе, Лондоне, и опубликовал рукопись в PNAS (*Proceedings of the National Academy of Sciences*)<sup>14</sup>. По сути, в статье было написано, что фрагменты ДНК из древних образцов получают обычно короткими, содержат множество химических повреждений, часто соединяются друг с другом. Степень разложения ДНК так или иначе ограничивает возможности ПЦР. Самое главное, оказалось невозможно получить сколько-нибудь длинные фрагменты древних ДНК. Больше 100–200 нуклеотидов не удавалось собрать в цепочку. Еще я обнаружил, что если у меня было очень мало относительно длинных молекул или же все молекулы были короткими, так что ДНК-полимераза не могла без перерывов переходить от одного праймера к другому, то “сшивались” вместе короткие случайные отрезки ДНК. В результате выходили Франкенштейновы комбинации, никогда не существовавшие в изначальном геноме древнего организма. Формирование такой химерной молекулы – я назвал ее “прыжок ПЦР” – представляет значительное техническое осложнение и может запутать результат секвенирования. Я описал “прыжок” в двух статьях, но совершенно не учел возможного размаха его последствий. Как это часто случается, сам процесс “сшивания” использовал несколько лет спустя Карл Штеттер для вполне практического применения: он соединил фрагменты разных генов и получил новые “мозаичные” гены со способностью создавать белки с заданными свойствами. Именно это приложение моих работ – о котором я даже не подумал, будучи полностью погруженным в прошлое – стало основой для целой области биотехнологии.

В лаборатории все было прекрасно, работа шла своим чередом, и для меня стали постепенно вырисовываться и границы возможностей новых методов, и ограничения, налагаемые сохранностью ископаемой ДНК. Во-первых, не в каждом

---

<sup>13</sup> R.H. Thomas et al. *DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf*. *Nature* 340, 465–467 (1989).

<sup>14</sup> S. Pääbo. *Ancient DNA – Extraction, characterization, molecular-cloning, and enzymatic amplification*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 86, 1939–1943 (1989).

древних остатках есть ДНК, пригодные для выделения и исследования даже с помощью ПЦР. И больше того, совсем немногие образцы содержат подходящие для амплификации и секвенирования ДНК, если только образец не приготовили сразу после смерти животного. Во-вторых, в сохранных ДНК из-за разложения удается выделить только цепочки длиной в 100 или 200 нуклеотидов.

В-третьих, амплифицировать ядерную ДНК оказалось практически невозможно. Так что мои грезы упсальских времен, как я отыскиваю длинную цепочку ядерной ДНК, оставались несбывшейся мечтой.

И в лаборатории, и вне ее стен я жил полной жизнью. Меня всегда привлекали и мужчины, и женщины, в Швеции я активно участвовал в движении за права гомосексуалистов.

В Калифорнии в то время происходила вспышка эпидемии СПИДа, которая унесла жизни множества молодых мужчин. Я чувствовал, что должен что-то сделать, как-то помочь, и вступил добровольцем в местный СПИД-проект. Мне открылись две замечательные стороны американского общества: способность к самоорганизации и волонтерство – и то и другое не часто встретишь в Европе. И тем не менее, несмотря на все радушие американцев и научные возможности, я хотел когда-нибудь вернуться в Европу. И так вышло, что дальнейшее направление моего пути определила девушка. Барбара Вильд, немецкая аспирантка-генетик, красавица, умная и энергичная, приехала в Беркли на стажировку по рекомендации Вальтера Шаффнера. Он же и познакомил нас. У нас случился короткий, очень страстный роман, который продолжался и после ее возвращения в ее родной Мюнхен. Я использовал каждую возможность приехать в Европу; однажды мы встретились в Венеции и провели вместе необычайно забавные романтические выходные. Моя эмоциональная жизнь с юности была завязана в основном на гетеросексуальных мужчинах, которые время от времени оказывались ближе, чем просто друзья. С ними я никогда не мог себе позволить открыто выказывать чувства, и поэтому гулять с Барбарой по Венеции, не скрываясь, было просто восхитительно.

Чтобы придавать своим частым отлучкам в Мюнхен налет “научности”, я несколько раз приезжал на факультет генетики в Университет Людвиг-Максимилиана, где училась Барбара.

Однажды я даже провел там семинар по моим экспериментам с древней ДНК. После семинара Герберт Йекле, молекулярный биолог, предложил мне занять должность ассистента профессора, освобождающуюся через два месяца. Я согласился, ведь это давало бы мне возможность постоянно находиться около Барбары. Но в следующий приезд в Мюнхен я осознал, что у нее завязались отношения с ученым, работавшим, как и она, над изучением дрозофилы. И действительно, вскоре он стал ее мужем. Я же, прилетев обратно в Беркли, изо всех сил постарался забыть и Барбару, и Мюнхен.

Полгода спустя я серьезно занялся поисками работы в Европе. Я съездил в Кембридж, где мне предложили место доцента; я побывал в Упсале и обсудил возможную ставку исследователя-лаборанта. И вот однажды Германия вновь появилась в моей жизни, теперь в форме предложения от Чарльза Дэвида, американца по рождению, декана факультета биологии в Мюнхене. Не буду ли я так любезен обдумать предложение должности теперь уже профессора, а не ассистента?

Да, это означало огромный карьерный рост. Обычно ученому приходится немало лет проработать ассистентом, прежде чем ему предлагают стать профессором. Такой статус приносит не только общественное уважение, но и деньги на исследования, лабораторию, персонал. Тем не менее я сомневался. О Германии я ничего не знал, кроме того, что здесь зародилась одна из самых уродливых идеологических систем в мире. Я понятия не имел, смогу ли вписаться в

общество и не создаст ли дополнительных проблем моя бисексуальная ориентация. В конце концов Чарли и Герберт убедили меня, что в Мюнхене все прекрасно во всех отношениях, и я решил попробовать. Созрел план: воспользуюсь возможностями, которые дает профессорская должность, поработаю на совесть, тогда через несколько лет и в Швецию можно будет перебраться. Я принял предложение и одним ранним утром в январе 1990 года прибыл в Мюнхен с двумя большими чемоданами. Я был готов к независимой научной деятельности в этом новом для меня, пугающем мире.

## Глава 4 Динозавры в лаборатории

Процесс организации лаборатории кого угодно заставит содрогнуться, да еще в первый раз, да еще в незнакомой обстановке... А она оказалась незнакомой вдвойне. Начать с того, что все здесь было пронизано немецкой историей. Здание, где мне предстояло работать, университетский Институт зоологии, было построено и передано университету в дар фондом Рокфеллера во времена Великой депрессии в 1930-х годах. Американцы разбомбили здание во время войны, и фонд впоследствии восстановил его. Таким образом, институт сам по себе олицетворял непростые и многогранные отношения между Германией и Америкой, этакий маятник с размахом от войны до согласия. Институт располагался между железнодорожной станцией и комплексом зданий, возведенных Гитлером для штаба нацистской партии. Ходили слухи, что станцию и штаб соединял подземный тоннель. Не знаю, правда ли это, но в образе того тоннеля сошлись мои страхи о подспудном, затаившемся фашизме.

Следующей необычной стороной дела стала собственно специализация института – зоология. Я никогда не изучал зоологию и даже биологией не занимался на университетском уровне, только медициной, так как по шведским правилам можно поступить в медицинский институт прямо из школы. Пробелы в образовании вскрылись почти сразу по приезде, когда один профессор постарше спросил, не пожелаю ли я читать курс систематики насекомых в следующем семестре. Я только прилетел, еще не перестроился на европейское время, мысли мои занимали самые разные проблемы, поэтому я, особенно не задумавшись, выразил удивление, с чего вдруг институт зоологии занимается какими-то насекомыми, то есть не очень-то животными. В моем представлении животные – это которые с лапками, пушистые, желательно с большими ушами. Профессор воззрился на меня в замешательстве и быстро молча удалился. Мне было ужасно стыдно, что я сваял такого дурака в первую же неделю. С другой стороны, инцидент этот имел и положительный результат: больше никто ни разу не предложил мне читать энтомологию или систематику.

Пока обустроивался, я узнал, что попал на место предшественника, который неожиданно умер от отравления. Передо мной стояла непростая задача заслужить благосклонность его бывших коллег, многие из которых видели во мне неопытного эксцентричного иностранца, в некотором роде самозванца-захватчика. Однажды все эти скрытые кривотолки выплыли наружу в неприятном столкновении с заслуженным профессором Хансйохемом Аутрумом, научным руководителем покойного. Профессор Аутрум являлся влиятельной фигурой в немецкой зоологии; когда я приехал в Мюнхен, он все еще выпускал довольно известный биологический журнал *Naturwissenschaften*, и его кабинет размещался на одном этаже с моей лабораторией. В первые дни, сталкиваясь с ним на лестнице, я сердечно здоровался, но он просто не отвечал.

После этого он во всеуслышание – а мне рассказал об этом мой лаборант – жаловался, что, мол, многие молодые немецкие ученые сидят без работы, а университетское

начальство нанимает “всякую международную шуштуру”. Ну я и решил с того момента не обращать на него внимания. Много лет спустя, уже после его смерти, я стал членом престижной немецкой организации, в коей состоял и он, и мне довелось читать его некролог. Автор некролога упомянул, что до 1945 года профессор Аутрум был членом не только нацистской партии, но и штурмовых отрядов СА и вдобавок преподавал национал-социалистическую идеологию в Берлинском университете. И хотя обычно мое стремление всем нравиться даже несколько чрезмерно, но в этом случае я задним числом обрадовался, что такой персонаж не пожелал стать моим другом.

К счастью, профессор Аутрум был такой один в институте. И еще радовало, что его круг в Германии уже изживал себя. Я не скрывал недостаток образования, и не только в области систематики, но и в зоологии и в делопроизводстве. Постепенно моя искренность и открытость сплотила вокруг всех, даже старых лаборантов, и все с воодушевлением принялись создавать нечто новое и замечательное. Чарли и Герберт, в свою очередь, помогали чем могли. Когда, устраивая лабораторию, мы исчерпали все фонды, университет выделил дополнительные деньги. Шаг за шагом мы собирали необходимое оборудование, и вот наконец все было установлено. И, что самое прекрасное, некоторые студенты выразили желание поработать у меня.

Свою текущую научную задачу я видел в том, чтобы выработать систематический подход и надежные методики секвенирования древней ДНК. Еще в Беркли я начал понимать, насколько серьезна проблема внесения инородной современной ДНК в материалы с ископаемой ДНК, особенно когда применяется ПЦР. С использованием новых секваторов и термоустойчивой ДНК-полимеразы процесс могли запустить всего несколько молекул ДНК или даже одна-единственная молекула. Если, к примеру, музейный экспонат растерял все свои собственные древние ДНК, зато приобрел за время хранения несколько фрагментов ДНК музейного куратора, то мы в результате вместо древнеегипетского жреца изучали бы музейного куратора. С вымершими животными в этом отношении было проще, меньше возможности перепутать нуклеотидные последовательности. На самом деле, именно работая с животными, я осознал, насколько серьезна проблема внесения инородной ДНК: иногда, умножая мтДНК из остатков древних животных, я получал человеческую нуклеотидную последовательность. В 1989 году, еще до отъезда в Мюнхен, я опубликовал статью в соавторстве с Аланом Уилсоном и Расселом Хигучи (тем, который начал работы с квагой). Статья ввела в обиход “критерии аутентичности”, как мы их назвали, то есть ряд процедур, которые необходимо выполнить, чтобы подтвердить “древность” прочтенной ДНК<sup>15</sup>. Мы предложили параллельно с исследуемым материалом каждый раз проводить реакцию с “чистым экстрактом”, то есть использовать все те же реагенты, но без добавления ископаемого образца. Таким образом выявлялись фрагменты ДНК, случайно попавшие в сами реагенты. Кроме того, и процесс выделения ДНК, и ПЦР предлагалось провести несколько раз – требовалось, чтобы искомая цепочка ДНК появилась хотя бы дважды. И наконец, я пришел к окончательному заключению, что древние фрагменты ДНК вряд ли бывают длиннее 150 нуклеотидов. В общем, вывод из всего этого напрашивался неутешительный: все прошлые эксперименты, притязавшие на выделение древних ДНК, особенно до изобретения ПЦР, были безнадежно наивными.

Да и мои собственные результаты, те найденные ДНК-последовательности мумий, опубликованные в 1985 году, задним числом выглядели подозрительно длинными: ведь ДНК всегда разбивается на короткие фрагменты. Как показали другие

---

<sup>15</sup> S. P. &#228;&#228;bo, R.G. Higuchi, and A.C. Wilson. *Ancient DNA and the polymerase chain reaction* . Journal of Biological Chemistry 264, 9709–9712 (1989).

исследователи, я выделил гены антигенов, трансплантационных белков<sup>16</sup>. Я мог бы назвать две возможные причины их появления в составленной тогда цепочке (а мы как раз их и изучали в тот момент в лаборатории в Упсале): либо я пользовался реагентами, предназначенными для антигенов, либо фрагмент ДНК случайно попал в исследуемый материал. Учитывая длину полученной цепочки, я склоняюсь ко второму варианту. Я утешал себя мыслью, что вот таким образом я поучаствовал в научном прогрессе: методики устаревают, на их место приходят новые, лучшие. И я рад, что к этой части прогресса я буквально приложил собственные руки. К тому же с неожиданной стороны пришла помощь. В 1993 году Томас Линдаль опубликовал короткие комментарии в *Nature*, где предлагал критерии, схожие с опубликованными нами в 1989-м<sup>17</sup>. Соблюдать их он считал необходимым, если дело касалось древних ДНК<sup>18</sup>. Хорошо, что такой уважаемый ученый из другой области подтвердил наши выводы – я уже тогда обеспокоился тем, кто приходит в область исследований древней ДНК. Громкое освещение в прессе и общественное внимание привлекали ученых без достаточных знаний по биохимии и молекулярной биологии; они просто отправляли на ПЦР любые древние образцы, оказавшиеся под рукой. Мы в лаборатории называли такой подход “нелицензионной молекулярной биологией”.

Из всех возможных лабораторных проектов сам я склонялся к изучению истории человека методами молекулярной биологии. Это замечательно интересная область знаний, хотя и пестрящая домыслами и предубеждениями, взятыми напрокат из отживших идей. Мне хотелось привнести стройность в науку о человеческой истории и сделать это на основе изучения ДНК древних людей. Для этого можно было бы начать с очевидного: в качестве исходного материала взять сохранные останки человека бронзового века из торфяников Северной Германии и Дании.

Но чем больше я про них читал, тем лучше понимал, что сохранились остатки благодаря высокой кислотности среды, дававшей дубильный эффект. Кислая среда ведет к потере нуклеотидов и разрывам нуклеотидных последовательностей, что, по понятным причинам, сохранению ДНК никак не способствует. Но, что еще хуже, сам факт, что человеческие ДНК находят при лабораторных исследованиях даже в остатках животных, показывает, насколько непросто работать с остатками человеческими.

Обдумав все это, мы начали с образцов вымерших животных, таких как сибирский мамонт. Мы запустили планомерные эксперименты с контролями. Например, мои студенты Олива Хандт и Матиас Хёсс проводили опыты с использованием праймеров, специфичных для человеческой мтДНК. Я пришел в смятение, когда они уверенно выделили человеческую ДНК не только из животных образцов, но и из контрольных вытяжек, вообще без добавок. Мы повторили эксперимент с новыми реагентами, “свежедоставленными” в лабораторию, но результат был тот же. И еще раз, и еще, и еще, месяц за месяцем – человеческая ДНК присутствовала везде и всюду. Меня охватило отчаяние. Чему верить? И как вообще доверять результатам, если только они полностью не совпадут с ожидаемыми (например, у сумчатого волка ДНК-последовательность соответствует сумчатому)? А если доверять только ожидаемым результатам, то зачем вообще работать в этой области? Мы же никогда не

---

<sup>16</sup> G. Del Pozzo and J. Guardiola. *Mummy DNA fragment identified*. *Nature* 339, 431–432 (1989).

<sup>17</sup> S. Pääbo, R.G. Higuchi, and A.C. Wilson. *Ancient DNA and the polymerase chain reaction*. *Journal of Biological Chemistry* 264, 9709–9712 (1989).

<sup>18</sup> T. Lindahl. *Recovery of antediluvian DNA*. *Nature* 365, 700 (1993).

откроем ничего неожиданного, того, ради чего и существуют настоящая наука и настоящий эксперимент.

Каждый день я уходил домой разочарованный и измотанный постоянными провалами. Но постепенно я стал понимать, насколько легкомысленно относился к проблеме занесенных загрязнений. Очевидный логический вывод, следующий из чрезвычайной чувствительности ПЦР, мне в голову почему-то не пришел. И в Беркли, и в первые месяцы в Мюнхене мы экстрагировали ДНК из музейных образцов, работая на общих лабораторных столах, где в обращении было огромное число ДНК и человека, и разных других исследуемых организмов.

Даже если мельчайшее количество современной ДНК попадет в раствор, содержащий экстракт ископаемой ДНК, современная ДНК возьмет верх над древним материалом. Такое запросто могло произойти, даже если мы всего лишь забыли поменять пластиковую насадку на пипетке.

Стало понятно, что нам придется полностью отделить – причем отделить физически – работы с древними ДНК от всех остальных лабораторных проектов. В особенности стоило обратить внимание на изоляцию ПЦР, при которой получались триллионы молекул. Нам нужна была лаборатория, которая занималась бы исключительно выделением и амплификацией древнего материала. На нашем этаже нашлась маленькая комнатка без окон, мы ее полностью вычистили и покрасили, затем задумались, как бы избавиться от тех ДНК, что неминуемо проникли в лабораторию с новыми столами и инструментами. Меры мы приняли самые жесткие. Абсолютно все в лаборатории было вымыто хлоркой, которая окисляет ДНК. К потолку приделали ультрафиолетовые лампы, их включали на ночь, так как ультрафиолет разрушает молекулы ДНК. Мы купили новые реагенты – и первая в мире “чистая” лаборатория для исследования древнего материала заработала (рис. 4.1). И все сразу поменялось. Наши контрольные растворы перестали выдавать ДНК, как им и полагалось. А из рабочих растворов, как и полагалось, определялась ДНК. Но мало-помалу, спустя несколько месяцев, в контроле опять стали появляться ДНК. Я рвал и метал. Ну что опять?! Мы выбросили все реагенты и закупили новые.

*Рис. 4.1. Олива и Матиас в первой “чистой комнате” в лаборатории в Мюнхене. Фото: Мюнхенский университет*

И опять ситуация исправилась, но ненадолго. Я прямо-таки с ума сходил на почве “чистоты в чистой комнате”, а еще мы установили изувеские правила работы в “чистой комнате”, и эти правила действуют и соблюдаются до сих пор. Во-первых, доступ в комнату был открыт только тем, кто непосредственно проводил эксперимент, в нашем случае только Матиасу и Оливе. Перед тем как войти, они облачались в специальные халаты, шапочки, бахилы, надевали перчатки и закрывали лицо щитком. Еще несколько тщетных экспериментов – и у нас добавилось новое правило: входить в комнату можно только утром непосредственно из дому. Если им приходилось пройти через помещения, где содержались продукты ПЦР, вход в “чистую комнату” на весь день им был закрыт. Все химикаты поступали прямо в “чистую комнату”, мы купили новое оборудование, которое тоже привезли прямо туда. Постепенно ситуация улучшалась. И все равно новые реагенты обязательно тестировались на присутствие человеческой ДНК, и не однажды целую партию отправляли обратно. Матиаса и Оливу оставалось только пожалеть: они-то рассчитывали позаниматься ДНК древних людей и вымерших животных, а вместо этого попали в кабалу утомительных процедур, по сто раз перепроверяли реагенты и волновались, как бы не занести лишней ДНК.

В конце концов наши усилия начали приносить плоды, и общее настроение поднялось.

До сих пор мы исследовали мягкие ткани, кожные или мышечные. Но я вспомнил, как в Упсале успешно вытягивал ДНК из хрящей мумий, то есть из ткани, похожей на костную. Если бы удалось выделить ДНК из древних костей, а не из мягких тканей, то перед нами открылось бы множество новых возможностей, так как от древних людей остаются в основном кости. В 1991 году Эрика Хагельберг и Дж. Б. Клегг из Оксфордского университета опубликовали статью с описанием процесса выделения ДНК из костей древних людей и животных<sup>19</sup>.

Поэтому, взяв наконец под контроль инородные загрязнения, Матиас занялся освоением технологий выделения ДНК из костей древних животных. В этом случае вероятность перепутать целевую ДНК с загрязнениями значительно уменьшалась: ведь с животными мы почти не работали. Один из таких методов, описанных в литературе, предлагал протокол для экстрагирования ДНК микроорганизмов. Основан он на том, что ДНК в условиях солевого раствора высокой концентрации связывается с кремниевыми микрочастицами – в данном случае с тончайшей стеклянной пылью. Затем кремниевые частицы тщательно отмываются, чтобы избавиться от всех нежелательных компонентов, которые могут вмешаться в ПЦР. И после этого молекулы ДНК отделяют от кремниевых частиц методом понижения концентрации соли. Конечно, процесс экстрагирования ДНК оказался весьма громоздким, но он работал и приносил результаты.

Мы с Матиасом опубликовали описание этого метода в 1993 году; в том эксперименте мы работали с костями плейстоценовой лошади и получили последовательность ее мтДНК. Так мы доказали, что можем надежно реконструировать ДНК из костей возрастом 25 тысяч лет. А это, между прочим, была первая полученная последовательность ДНК доледниковых времен<sup>20</sup>.

Придуманый нами тогда протокол с небольшими модификациями используют до сих пор. Все предшествующие тревожения поместились в первое, вступительное предложение статьи: мы написали, что нашу молодую область знаний “омрачают проблемы”. Но и это постепенно менялось. На самом деле Матиас и Олива, сами того не сознавая, заложили фундамент для тех открытий, что нам предстояли в следующие несколько лет. В 1994 году Матиас выделил первую последовательность ДНК из сибирского мамонта: он работал с образцами четырех особей, возрастом от 9700 до 50 тысяч лет. Мы отправили результаты в *Nature*, где они и были опубликованы вместе с похожими результатами Эрики Хагельберг, получившей ДНК из костей двух мамонтов<sup>21</sup>. И, несмотря на скромную длину реконструированных фрагментов мтДНК, все же здесь просматривались серьезные перспективы, если нуклеотидов окажется побольше. К примеру, мы заметили множество различий между последовательностями ДНК у четырех особей мамонтов. Такая информация не только способна прояснить родственные связи между мамонтами и двумя существующими видами отряда – индийским и африканским слоном, – но и позволяет проследить историю мамонтов от позднего плейстоцена до самого их вымирания около 4000 лет назад. У древней ДНК появилось наконец что отпраздновать.

В то же время выяснилось, что новые технологии выделения древней ДНК приложимы

---

<sup>19</sup> E. Hagelberg and J.B. Clegg. *Isolation and characterization of DNA from archaeological bone*. Proceedings of the Royal Society B 244:1309, 45–50 (1991).

<sup>20</sup> M. H&#246;ss and S. P&#228;&#228;bo. *DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method*. Nucleic Acids Research 21:16, 3913–3914 (1993).

<sup>21</sup> M. H&#246;ss and S. P&#228;&#228;bo. *Mammoth DNA sequences*. Nature 370, 333 (1994); Erika Hagelberg et al. *DNA from ancient mammoth bones*. Nature 370, 333–334 (1994).

в неожиданных областях биологии. В один прекрасный день у меня на пороге появился университетский зоолог Феликс Кнауэр и завел разговор о применении наших ДНК-методик к “охранной генетике”, то есть в той области знаний, где генетика служит сохранению редких и исчезающих видов. Феликсу предстояло исследовать последнюю сохранившуюся популяцию итальянских медведей, обитающих на южных альпийских склонах, но в качестве материала для исследования у него был только медвежий помет. Я предложил Феликсу и нескольким студентам попробовать наш метод “кремниевый” выделения в сочетании с ПЦР на этом специфическом материале. В результате мы сумели амплифицировать ДНК медведя и показали, что можно работать и с таким материалом. До этого, чтобы получить ДНК дикого животного, его приходилось убивать или усыплять и брать кровь у сонного, что рискованно и для животного, очевидно, неприятно. Теперь же можно изучать генетические связи итальянского медведя и его европейских сородичей без всяких сложностей. Из того же материала мы реконструировали генетическую составляющую растений, которые шли медведю в пищу, так что и о медвежьей диете кое-что смогли рассказать. Все эти результаты мы опубликовали в небольшой статье в *Nature* <sup>22</sup>. С тех пор выделение ДНК из помета стало повсеместной практикой в области генетики редких животных.

Пока мы корпели над методиками распознавания и устранения занесенных чужеродных ДНК, в *Nature* и в *Science* одна за другой появлялись эффектные работы – их авторы будто бы добивались грандиозных успехов, рядом с которыми бледнели наши вымученные фрагменты ДНК возрастом в какие-нибудь несчастные пару десятков тысяч лет. Мода на такие работы началась году в девяностом, я тогда еще работал в Беркли. Ученые из Калифорнийского университета в Ирвайне опубликовали ДНК-последовательность ископаемой *Magnolia latahensis* из миоценовых отложений в Айдахо; возраст отложений составлял 17 миллионов лет<sup>23</sup>. Прямо ошеломительное открытие, и казалось, что теперь мы можем изучать эволюцию в невиданных масштабах в миллионы лет – так, пожалуй, и до динозавров недолго добратся! Но я, по правде сказать, был настроен скептически. Еще в 1985 году, когда работал у Томаса Линдаля, я на собственном опыте убедился, что фрагменты ДНК могут сохраниться спустя тысячи лет, но о миллионах даже речи не идет. Мы с Аланом Уилсоном произвели на основе работ Линдаля некоторую экстраполяцию, в которой проверили длительность жизни ДНК в присутствии воды и при усредненных условиях: при температурах не самых низких и не самых высоких, если среда не слишком щелочная и не слишком кислая. По нашим подсчетам выходило, что по прошествии нескольких десятков тысяч лет – а при самых благоприятных условиях, положим, и сотен тысяч – распадутся последние молекулы. Но кто знает – возможно, те отложения в Айдахо создавались при каких-то уж совсем исключительных условиях. Перед тем как отправиться в Германию, я посетил эти местонахождения. Они были сложены темными глинами, раскопки производились бульдозером. Первые же снятые слои обнажили зеленые листья магнолии, которые мгновенно почернели, оказавшись на воздухе. Я собрал много этих листьев и привез с собой в Мюнхен. В своей новой лаборатории я попытался выделить их ДНК и получил множество длинных фрагментов. Но далее, прогнав их через ПЦР, мне не удалось амплифицировать ни одного фрагмента растительной ДНК. Поскольку у меня было подозрение, что все длинные фрагменты последовательности принадлежат бактериям, а не растениям, я провел реакцию с бактериальными праймерами – и

---

<sup>22</sup> M. H&#246;ss et al. *Excrement analysis by PCR* . Nature 359, 199 (1992).

<sup>23</sup> E.M. Golenberg et al. *Chloroplast DNA sequence from a Miocene Magnolia species*. Nature 344, 656–658 (1990).

немедленно получил положительный результат. Очевидно, в глине развивались бактерии. Единственное возможное объяснение: группа из Ирвайна, работающая с генами растений и не имеющая специальной “чистой комнаты” для исследования древних ДНК, амплифицировала какую-то занесенную ДНК и решила, что это ДНК магнолии. В 1991 году мы с Аланом опубликовали наши теоретические подсчеты в статье о стабильности ДНК<sup>24</sup>, а в следующей статье описали мои неудачные попытки получить ДНК из ископаемых листьев из Айдахо<sup>25</sup>. За год до того Алан слег с тяжелой формой лейкемии, так что настроение было очень печальное. Несмотря на болезнь, он внес весомый вклад в обе статьи. Он умер в июле того же года в возрасте всего пятидесяти пяти лет.

Я наивно полагал, что наши работы, где прямо указано на невозможность сохранения ДНК в течение миллионов лет просто с химической точки зрения, прекратят поток изысканий супердревних ДНК. Как бы не так! Поток мало того что не прекратился – листья из Айдахо были только началом! Затем настало время супердревних ДНК из янтаря. Янтарь представляет собой смолу деревьев, образовавшуюся миллионы лет назад и застывшую в виде прозрачных золотистых кусков. Больше всего янтаря находят в карьерах Доминиканской Республики и по берегам Балтийского моря. Часто в янтаре оказываются заключены насекомые, листики, даже мелкие животные – древесные лягушки, например. Такие включения сохраняют для нас мельчайшие детали организмов, живших миллионы лет назад, и многие ученые надеялись, что, может быть, их ДНК сохранились тоже. Одна из первых работ на эту тему появилась в 1992 году в *Science*; группа из Американского музея естественной истории предлагала нашему вниманию последовательность ДНК, которую выделили из термита возрастом 30 миллионов лет. Термит застыл в куске доминиканского янтаря<sup>26</sup>. Далее последовала целая серия работ от лаборатории Рауля Кано из Политехнического университета штата Калифорния в Сан-Луис-Обиспо. Одна из них исследовала ДНК долгоносика возрастом 120–135 миллионов лет из ливанского янтаря<sup>27</sup>; еще одна предлагала ДНК листа из застывшей смолы доминиканского дерева возрастом 40 миллионов лет<sup>28</sup>. Кано после этого основал компанию, которая утверждает, что извлекла более тысячи двухсот организмов из янтаря и среди них даже девять штаммов живых дрожжей. Утверждения, конечно, диковинные, но, казалось, нельзя полностью исключать возможность сохранения ДНК в янтаре необыкновенно долго, так как организмы там защищены от влаги и кислорода, двух самых разрушительных для химии ДНК факторов. Тем не менее янтарь необязательно предохраняет ДНК от разрушительных свойств радиации; к тому же трудно объяснить, почему нам понадобились такие отчаянные усилия, чтобы амплифицировать следы ДНК из организмов в тысячи раз моложе.

---

<sup>24</sup> S. Pääbo and A.C. Wilson. *Miocene DNA sequences – a dream come true?* *Current Biology* 1, 45–46 (1991).

<sup>25</sup> A. Sidow et al. *Bacterial DNA in Clarkia fossils*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 333, 429–433 (1991).

<sup>26</sup> R. DeSalle et al. *DNA sequences from a fossil termite in Oligo-Miocene amber and their phylogenetic implications*. *Science* 257, 1933–1936 (1992).

<sup>27</sup> R.J. Cano et al. *Enzymatic amplification and nucleotide sequencing of DNA from 120–135-million-year-old weevil*. *Nature* 363, 536–538 (1993).

<sup>28</sup> H.N. Poinar et al. *DNA from an extinct plant*. *Nature* 363, 677 (1993).

Вопрос стал проясняться, когда в 1994 году к нам в лабораторию прибыл веселый калифорниец Хендрик Пойнар. Его отец, Джордж Пойнар, профессор в Беркли, являлся знатоком янтаря и всего, что в янтаре могло быть захоронено. Вместе с Кано Хендрик участвовал в публикациях нескольких “янтарных” последовательностей ДНК; его отец имел доступ к лучшему янтарию в мире. В Мюнхене Хендрик принялся за свои опыты в нашей “чистой комнате”, но безрезультатно. Он не мог воспроизвести то, что получил в Сан-Луис-Обиспо. Более того, если его контрольные вытяжки оказывались чистыми, то и из янтаря не удавалось выделить вообще никакой ДНК, независимо от того, проводил он опыты на растениях или насекомых. Сомнений у меня появлялось все больше и больше. И не только у меня. Томас Линдаль, который еще со времени моей стажировки у него в 1985 году живо интересовался палео-ДНК, опубликовал в *Nature* внушительный обзор о стабильности и распаде ДНК; часть этого обзора он посвятил древней ДНК<sup>29</sup>. Он указал – как и мы с Аланом ранее, – что с крайне малой вероятностью ДНК сохранится дольше нескольких сотен тысяч лет.

Тем не менее вопрос о сохранности ДНК в янтаре он оставил открытым. Я же, со своей стороны, не надеялся уже и на янтарь.

Томас приспособил прекрасное слово для наидревнейших ДНК: *дотопонная ДНК*. Нам оно так понравилось, что мы всю его использовали, и слово прочно вошло в наш обиход. В 1994 году произошло неминуемое. Скотт Вудворд из Университета Юты опубликовал последовательность ДНК, которую он с коллегами выделил из осколка кости в 80 миллионов лет. Кость эта, как они полагали, принадлежала какому-то динозавру<sup>30</sup>. Статья, естественно, появилась в одном из двух журналов, что меряются заголовками и зарабатывают часто незаслуженное уважение. В этот раз это был *Science*. Авторы определили множество разных мтДНК из костной ткани, некоторые из них оказались не похожими на ДНК птиц, рептилий или млекопитающих. Авторы предположили, что это специфическая для динозавров ДНК-последовательность. Для меня это прозвучало просто издевательски. У меня в лаборатории работал дотошный, даже несколько педантичный молодой специалист Ханс Цишлер. Возмущенный подобными выступлениями в нашей области, он решил объявить войну этой конкретной работе. Он провел систематизированный анализ опубликованных мтДНК-последовательностей из Юты и выяснил, что они принадлежат скорее млекопитающим или даже человеку, чем птицам или рептилиям.

И все же те цепочки казались не совсем человеческими. Чтобы понять, что же это все-таки было, придется несколько углубиться в природу мтДНК. Вспомним, что митохондриальный геном представляет собой кольцевые молекулы ДНК, состоящие из 16 500 нуклеотидов, и все это находится в митохондриях, органических образованиях, расположенных снаружи клеточного ядра почти во всех животных клетках. Эти образования, или органеллы, так же как и их геномы, получились из бактерий, которые почти 2 миллиарда лет назад проникли в первичную животную клетку; животная клетка в результате получила “бесплатный” источник энергии. Со временем подсевшая в клетку бактерия переместила большинство своих ДНК в ядро клетки-носителя, и они интегрировались в ту часть генома, которая размещается в хромосомах. Даже в современном зародышевом наборе клеток при формировании яйцеклетки и клеток спермы иногда происходит разрыв митохондрий, и фрагменты их ДНК оказываются в клеточном ядре. Тогда эффективные ремонтные механизмы распознают концы

---

<sup>29</sup> T. Lindahl. *Instability and decay of the primary structure of DNA*. Nature 362, 709–715 (1993).

<sup>30</sup> S.R. Woodward, N.J. Weyand, and M. Bunnell. *DNA sequence from Cretaceous Period bone fragments*. Science 266, 1229–1232 (1994).

разорванных цепочек и присоединяют их к другим свободным концам ДНК, так как в ядерном геноме тоже часто случаются разрывы. Таким образом, время от времени фрагменты митохондриальной ДНК встраиваются в ядерный геном, остаются там и передаются по наследству, так и не приобретая функционального значения. У нас у всех в каждом клеточном ядре найдутся сотни, если не тысячи фрагментов мтДНК, переместившихся в геном на каком-то историческом этапе.

Эти фрагменты имеют различную степень схожести с нашей реальной митохондриальной мтДНК, и хотя они напоминают предковые мтДНК-последовательности, в них накопилось огромное количество мутаций, не имеющих никаких функций, так сказать, генетический мусор, встроенный в ядерную ДНК. Ханс Цишлер как раз и занимался определением таких мтДНК-включений в ядерный геном. Мы полагали, что с той самой динозавровой ДНК произошла подобная история и группа из Юты выделила именно такой фрагмент. Учитывая наш опыт с инородными и внесенными человеческими ДНК, мы считали возможным, что в Юте нашли версию человеческой мтДНК, встроенную в ядро и получившую необычные мутации. Мы решили посмотреть, не найдется ли в человеческом ядерном геноме последовательностей, похожих на опубликованные исследователями из Юты. Сложность нашего плана заключалась в том, что любая обычная вытяжка ДНК из человеческой клетки содержит смесь из ядерной и митохондриальной ДНК; таким образом, сотни или даже тысячи копий настоящей мтДНК из митохондрий большинства клеток перемешаются с сегментами псевдо-мтДНК, той, что некогда переместилась из митохондрий в ядро. И тут нам на помощь приходит биология. Как я упомянул в главе 1, мы наследуем мтДНК только от матери, через ее яйцеклетку, от отца же мтДНК мы не получаем. Происходит это потому, что сперматозоид, проникающий в ядро, не содержит митохондрий. Следовательно, чтобы получить чистую ядерную ДНК, без сопровождающей митохондриальной, нам всего-то и нужно было раздобыть и изолировать сперматозоиды.

Я поговорил со своими парнями из лаборатории, они отнесли к нашей проблеме с пониманием и энтузиазмом, мы все договорились, и в один прекрасный день Ханс получил требуемый материал. Из спермы он выделил ДНК и прогнал через ПЦР, используя те же праймеры, что и группа из Юты. Как и ожидалось, он секвенировал множество цепочек мтДНК, полученной, соответственно, из ядерного генома. Эти фрагменты мы внимательнейшим образом сравнили с “динозавровыми” из Юты. И действительно, нашли два фрагмента, практически идентичных опубликованным. Это означало, что вместо ДНК динозавра лаборатория в Юте секвенировала сегменты человеческой ядерной ДНК, а точнее мтДНК, переместившуюся в ядерный человеческий геном. Так как эти сегменты оказались в ядре очень давно, за это время они набрали достаточное количество мутаций, чтобы не напоминать человеческий митохондриальный геном, но все еще походить на геном млекопитающих, птиц и рептилий. В технических комментариях в *Science*<sup>31</sup> я не удержался и съехидничал, написав, что у меня есть три возможных объяснения, как в лаборатории, где полно наших собственных ДНК, получают цепочки, подобные опубликованным в Юте. Во-первых, в лабораторию могло по чистой случайности занести ДНК динозавра, что, по моим предположениям, маловероятно. Во-вторых, динозавры могли как-нибудь скреститься с ранними млекопитающими этак 65 миллионов лет назад. Этот вариант мне тоже пришлось отвергнуть как не слишком вероятный. По третьему сценарию – самому естественному – человеческая ДНК была внесена во время эксперимента. *Science* опубликовал наши комментарии и комментарии двух других лабораторий, указывающие на

---

<sup>31</sup> H. Zischler et al. *Detecting dinosaur DNA*. *Science* 268, 1192–1193 (1995).

несоответствия в сравнительном анализе последовательностей ДНК; эти несоответствия в результате привели группу из Юты к ложным выводам, будто их мтДНК являются предковым вариантом для птиц.

Комментарии комментариями, но, несмотря на игривый тон, горечь там тоже присутствовала: в области изучения палео-ДНК подобные работы появляются постоянно.

Стремление к громким, пусть и сомнительным результатам портит исследования до сих пор.

Как нередко повторяли мои студенты и аспиранты, с помощью методик ПЦР очень легко получить фантастические результаты, но очень трудно доказать, что они правильные, а уж если результаты опубликованы, еще больших трудов стоит объяснить, почему исследование ошибочно, где и как закралась ошибка, как в материал попала инородная ДНК. В том конкретном случае нам удалось все это продемонстрировать, но сколько пришлось затратить усилий! И знаний это не прибавило. По сей день, например, неясно, откуда взялась “янтарная” последовательность, опубликованная в *Nature* и *Science*. Я уверен, что, вложив некоторое количество труда и времени, можно было бы найти ее источник, но мы решили, что с нас достаточно. Как сказал один мой студент: “Хватит играть в полицейских от ПЦР”. Мы решили, что с этого момента игнорируем ошибочные с нашей точки зрения работы и сосредотачиваемся на собственных изысканиях. Мы считали, что должны сконцентрироваться на исследованиях ДНК возрастом в десятки тысяч лет, выработать методы их выделения, изучения и подтверждения корректности результатов и это будет лучшее, что мы можем сделать для нашей науки. Когда дело касается древней человеческой ДНК, именно подтверждение подлинности результата представляет наибольшую сложность, так как современная человеческая ДНК проникает абсолютно всюду. И хотя для меня это было болезненное решение, пришлось на время оставить изучение человека и направить усилия на древних животных. Пришлось вспомнить, что профессорствую я на кафедре зоологии. Так мы остановились на вопросах связи вымерших животных и их ныне живущих родственников.

## **Глава 5**

### **Досада на человека**

Чарльз Дарвина во время путешествия по Южной Америке восхитили и одновременно потрясли находки ископаемых растительноядных гигантов. Эти существа, казалось ему, обойдут в размерах любого их современного наземного наследника. Вместе с чучелами птиц и зверей Дарвин отправил в Англию и несколько окаменелостей, включая крупную нижнюю челюсть, извлеченную из выветрелых прибрежных скал в Аргентине. Челюсть попала к анатому Ричарду Оуэну, и он приписал ее гигантскому наземному ленивцу размером с бегемота и дал ему имя *Mylodon darwini* (см. рис. 5.1). Такой роскошный гигантский растительноядный зверь, конечно, вызывал интерес, но всех больше воодушевляла мысль, что животное не вымерло окончательно, а где-то существует, бродит по просторам Патагонии. В 1900 году в поисках этого чуда снарядилась экспедиция мистера Хескета Причарда, которого подтолкнула сенсационная находка явно свежего помета и остатков шкуры какого-то животного, напоминающего гигантского ленивца.

Проехав по Патагонии около двух тысяч миль, Причард решительно заявил, что никакого помета и никаких иных следов, свидетельствующих о существовании милодона, нет[32]. И правильно рассудил: мы теперь знаем, что милодон вымер около 10 тысяч лет назад во время последнего ледникового периода.

Сейчас в Южной Америке живут дву- и трехпалые ленивцы; по сравнению с милодоном их вес весьма скромный, 5–10 килограммов. И они в отличие от милодона живут на деревьях.

К древесному образу жизни они приспособились, видимо, совсем недавно в масштабе геологического времени – не дело таким крупногабаритным животным забираться на деревья. Кроме того, они и в древесных верхах не слишком сноровисты, спускаются вниз лишь для такого “низменного” дела, как испражнение. Главный вопрос происхождения ленивцев – возможность параллельной эволюции: был ли у двух форм ленивцев единый наземный предок, который стал приспособливаться, довольно неуклюже, к древесному образу жизни, или же было две параллельных попытки наземных ленивцев освоиться на деревьях? Если сходные адаптации появляются независимо друг от друга – иными словами, если история повторяется раз за разом, – это означает, что возникающие экологические требования животные могут исполнить ограниченным числом способов. И если находятся две или больше несвязанных групп организмов с параллельно обретенными сходными поведенческими или морфологическими признаками, то есть случаи так называемой конвергенции, то отсюда неизбежно следует, что эволюция подчиняется определенным правилам.

Примером конвергенции может служить сумчатый волк, которого мы изучали в Цюрихе и Беркли. Как и с сумчатым волком, конвергенцию в случае с древесными ленивцами можно доказать, если понять, как дарвиновский наземный гигант связан с трех- и двупалыми ленивцами.

*Рис. 5.1. Реконструкция скелета гигантского наземного ленивца. Источник: <http://commons.wikimedia.org/wiki/>*

И я отправился в Лондон, в Музей естественной истории. Там меня опекал Эндрю Каррант, куратор отдела животных четвертичного периода, специалист по палеонтологии млекопитающих, добродушный человек, внешностью не сильно отличавшийся от плейстоценовых гигантов. Он показал мне ископаемые кости, которые собирал Дарвин, и разрешил отрезать маленький кусочек от двух костей патагонского милодона из этой коллекции. И еще я съездил в Нью-Йорк, в тамошний Музей естественной истории, и взял кое-какие образцы оттуда. Но именно в Лондоне, во владениях Эндрю, я своими глазами увидел, откуда берутся загрязнения в окаменелостях, попадающих к нам для изучения.

Например, однажды я спросил Эндрю, обработана кость лаком или нет. И он, к моему изумлению, лизнул ее. И потом ответил: эта вроде нет, не обработана. Потому что, будь она покрыта лаком, не впитывала бы слюну. А необработанная кость, напротив, так активно впитывает слюну, что язык будто прилипает к поверхности. Тут я понял, что кости, с которыми мы работаем, могли за столетие музейного хранения подвергнуться подобной проверке не знаю уж сколько раз, – и испугался.

Когда образцы прибыли в Мюнхен, за них взялся Матиас Хёсс. Как всегда, по моему настоянию мы в первую очередь занялись технической стороной дела. Ленивцы меня интересовали лишь постольку-поскольку: на них можно было отработать получение древней ДНК. Матиас оценил общее количество ДНК в вытяжке из образцов милодона, а потом прикинул, сколько там ДНК, схожей с современными ленивцами. Вышло, что собственно милодоновой ДНК в вытяжке не больше 0,1 процента, а все остальное принадлежит тем существам, которые населяли эту кость после смерти животного. Нас это не удивило, потому что цифра оказалась типичной для ископаемых остатков.

Матиас, занявшись митохондриальной ДНК, ухитрился собрать цепочку длиной больше тысячи нуклеотидов. Как? Он размножил участки, которые перекрывались друг с другом, и соединил их в правильном порядке. После оставалось сравнить аналогичные фрагменты современных трех- и двупалых ленивцев с реконструированной древней цепочкой: так Матиас доказал, что наземные гиганты около четырех метров в высоту ближе к трехпалым ленивцам, чем к двупалым. Большинство ученых на тот момент полагали, что трех- и двупалые ленивцы произошли от единой древесной формы, и тогда они должны быть

теснее связаны родством друг с другом, чем с наземным милодоном. Мы же показали, что, напротив, милодон больше похож на одного из них, значит, среди ленивцев по крайней мере дважды возникали древесные формы (рис. 5.2).

*Рис. 5.2. На этом филогенетическом древе показано положение милодона и двух видов современных ленивцев; за свою историю ленивцы, видимо, осваивали деревья дважды. Из статьи: H&#246;ss et al. Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Myloodon darwinii*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 93, 181–185 (1996)*

Примеры с ленивцами и сумчатыми волками – яркие случаи конвергентной эволюции – стали для меня наглядным напоминанием, насколько ненадежно судить о родстве по морфологическому сходству. Выходило, что стоит природным обстоятельствам измениться в определенном направлении, как любая животная форма и поведение трансформируются сходным образом в нужную сторону. По мне, о родстве вернее говорит последовательность ДНК. В ДНК накапливаются тысячи мутаций, они возникают независимо друг от друга и не влияют ни на облик, ни на повадки животного. В морфологических чертах, напротив, заключаются средства выживания, поэтому те или иные измерения признаков отражают адаптивные возможности животного. Кроме того, признаки могут быть взаимно увязаны друг с другом – взяв два признака, никогда нельзя быть уверенным в их независимости.

Так как в случае с ДНК мы имеем дело с множественными независимыми и случайно варьирующими признаками, то реконструкции получаются существенно более устойчивыми, чем основанные на морфологических вариациях. И даже больше – на базе ДНК можно получить время расхождения потомков с общим предком, чего никак нельзя сделать по морфологии. Ведь количество изменений в ДНК – это в основном функция времени, по крайней мере если речь идет о группе родственных видов.

Такие молекулярные часы и использовал Матиас. Он посчитал количество нуклеотидных различий в мтДНК и, соответственно, мутаций, которые успели накопиться по ходу эволюционного маршрута у животных, родственных ленивцам, – а это броненосцы и муравьеды. Неожиданно оказалось, что эта группа весьма древняя. Они разошлись, еще когда жили динозавры, около 65 млн лет назад. Вместе с ними, как мы знаем, появились некоторые современные группы млекопитающих и птиц, их непосредственные предки видели времена господства динозавров. Тогда существовали многочисленные виды наземных ленивцев, а теперь остались только обитатели древесных крон. До нашего открытия приходилось предполагать, что у древесных ленивцев имелось какое-то общее важное физиологическое свойство, которое помогло им пережить разнообразные климатические напасти, в том числе и последний ледниковый период. Но если общего предка у них не было, значит, вероятность такого хитрого признака уменьшается. Скорее все же их выживанию способствовал очевидный признак – приспособление к жизни на деревьях. Закончили мы свою статью[33] рассуждением, что ленивцы, забравшись повыше, смогли пережить и появление человека, который стал охотиться на их медлительных наземных сородичей. До сих пор ведутся споры, виноват ли человек, активный первобытный охотник, в вымирании американской мегафауны около 10 тысяч лет назад или тут сыграли свою зловещую роль естественные сдвиги в экологии. Но так или иначе, мы рады, что добавили в эту головоломку свой кусочек. Мы показали, что из остатков вымерших животных, живших тысячи лет назад, можно извлекать вполне достоверную ДНК и, опираясь на эту информацию, строить содержательные эволюционные гипотезы.

К середине 1990-х изучение древней ДНК так или иначе стабилизировалось, стало понятно, что возможно сделать, а что нет. Например, можно извлечь ДНК из коллекционных образцов кожи или других тканей, которые быстро высохли после смерти животного. Это мы показали на кенгуровых крысах еще в лаборатории в Беркли. После были подобные исследования на летягах, кроликах и многих других видах, в результате во многих

музеях появились лаборатории по исследованию древней ДНК – музеи и использовали старые коллекционные образцы, и собирали новые специально для этой цели. Среди первых, основавших такие лаборатории, нужно назвать Смитсоновский институт в Вашингтоне и Музей естественной истории в Лондоне. Криминалисты тоже не остались в стороне – они теперь могли экстрагировать и анализировать ДНК из образцов с мест преступлений многолетней давности. Помогло это и судопроизводству. На основе новых генетических данных были освобождены из тюрем невинные, генетические улики способствовали быстрой идентификации останков и успешному обнаружению преступников. Теперь бесследно испарилось отчаяние первых мюнхенских лет, когда я и вся моя группа сражались с загрязнениями и другими методологическими трудностями, пока другие публиковали в *Science* и *Nature* бредовые статьи о ДНК миллионолетнего возраста. Пришло чувство удовлетворения – все делалось не напрасно. Зародилась новая область знаний. Пора было братья за старую мечту – человеческие остатки.

Как уже говорилось, современная человеческая ДНК может загрязнить эксперимент множеством разных способов. Один из очевидных способов был мне продемонстрирован в Лондоне, когда куратор коллекции полизал ленивца. Но есть еще и пыль, и неочищенные химикаты, и многое другое: все это вместе создает большие проблемы. Но для меня конечной целью является человеческая история. Так что вопрос ставился следующим образом: сможем ли мы, несмотря на все препятствия, продвинуться в этом направлении?

Олива Хандт приняла вызов. Она была девушкой по-матерински доброй и донельзя самокритичной. Я видел, что для данной темы нужны как раз такие качества. Ей предстояло выполнять примерно такую же работу, какую проделал Матиас с ленивцами, но при этом следить, чтобы частички пыли не попадали в пробирку с древней человеческой косточкой. Ведь если частички пыли попадут на кость и при этом не попадут в контрольный, пустой, раствор, то как определить источник различий в наборах ДНК? Это могут быть и реальные древние различия, и пойманные с пылью. Невозможно. Поэтому решили, что Олива будет работать с останками индейцев, у которых в мтДНК есть специфические вариации, не встречающиеся у европейцев. Хотя я и не люблю эксперименты, которые можно интерпретировать только с учетом задуманных заранее гипотез, но не так уж много было вариантов, с помощью которых мы могли бы отработать метод выделения и реконструкции человеческой ДНК. Так что Олива начала опыты с образцами скелетных частей и мумифицированных тканей индейцев Юго-Запада примерно шестисотлетней давности. И пока она снова и снова упорно повторяла свои эксперименты, проверяя воспроизводимость и устойчивость результатов, появилась еще одна возможность, мимо которой нельзя было пройти.

В сентябре 1991 года в Эцтальских Альпах, на границе Австрии и Италии, неподалеку от седловины Хауслабхох два туриста нашли мумифицированные останки человека. Сначала их приняли за труп современного происхождения, жертву войны или попавшего в снежный шторм несчастного альпиниста. Но когда тело извлекли из льда, то по остаткам одежды и снаряжению стало понятно, что это не солдат и не альпинист. Погибший жил примерно на 5300 лет раньше, то есть в бронзовом веке. Из новостных сообщений я узнал, что на право обладать мумией претендует и Австрия, и Италия. Еще там говорилось о распрях между первооткрывателями и властями относительно награды за находку, а также о трудностях патологоанатомов Инсбрукского университета, которые ревниво охраняли замороженные останки от посторонних. Короче, все как обычно. Потому я был несказанно удивлен, когда ко мне пришел профессор из Инсбрука и предложил заняться анализом ДНК Эци – так назвали замороженного человека из Альп, по месту, где его обнаружили.

Мы рассудили, что останки, пролежавшие нетронутыми в замороженном виде пять тысяч лет, должны были сохраниться гораздо лучше, чем египетские или американские мумии. И решили попробовать.

Мы с Оливой поехали в Инсбрук, где патологоанатомы отделили для нас восемь маленьких образцов из левого бедра Эци; это место на мумии уже было повреждено

ледорубами, когда альпинисты, не подозревая об уникальности находки, выбивали ее из льда. В Мюнхене Олива приступила к работе – к выделению и размножению ДНК. Ей удалось провести ПЦР и получить приличные нуклеотидные цепочки – и мы были обрадованы.

Но выяснилось, что эти выделенные последовательности невозможно интерпретировать. Во многих позициях она обнаружила не один, а несколько разных нуклеотидов. Чтобы разобраться с этим, ей пришлось вернуться к старому методу клонирования, какой я практиковал в Упсале. Она вставляла каждый из производных ПЦР в бактерии, а затем секвенировала клоны. Так как каждый клон происходил от единственной бактерии с конкретным фрагментом ДНК, амплифицированным с помощью ПЦР, можно было отследить источник разнообразия фрагментов. Если все клоны окажутся одинаковыми, то, значит, вставленные в них фрагменты ДНК были одинаковыми. А если клоны выйдут разными, то, значит, и в ПЦР амплифицировались фрагменты от разных индивидов.

Верным оказалось последнее: из разных образцов получался разный набор последовательностей. Выходила ерунда. Конечно, большая часть выделенной ДНК должна принадлежать тем, кто соприкасался с Ледяным человеком после того, как его нашли. И как нам прикажете определить, древняя это ДНК Эци или современная? Ведь Эци жил не так уж давно с эволюционной точки зрения, поэтому его мтДНК, безусловно, практически та же, что и у современных европейцев, а те самые современные европейцы, очевидно, контактировали с ним, когда его нашли.

Нам повезло: два образца из Инсбрука оказались сравнительно крупными, так что мы смогли снять верхний слой ткани и взять пробу из внутренней части, к которой никто не прикасался. Мы надеялись, что так большая часть загрязнений останется на поверхности.

Это спасло положение, но только частично. Вариации в шести позициях, которых по предположению Оливы должно было быть существенно меньше, разошлись по трем или четырем индивидам. Но аккуратно разгруппировать все последовательности (всю сумму различий) на три или четыре кучки не удавалось. Варианты по каждой из шести позиций были беспорядочно рассеяны по молекулярным цепочкам. Особенно если рассматривать позиции, разделенные относительно крупными участками. Очевидно, так получалось из-за эффекта “прыгающей ПЦР”, который я описал в Беркли, когда вместо последовательного копирования одной молекулы полимераза сшивает кусочки фрагментов ДНК в новых комбинациях. Можем ли мы отделить эти химерные комбинации от настоящих, принадлежащих Ледяному человеку (если таковые вообще имеются)?

Мы рассудили, что “прыжки ПЦР” происходят скорее при попытках копирования длинных фрагментов, потому что короткие фрагменты будут вероятнее отражать оригинальную версию фрагмента, а длинные – сшитую или происходящую от контаминантов. Олива проделала ПЦР самых коротких фрагментов. И это сработало. Если амплифицировались отрезки не более 150 нуклеотидов, то не только “прыжки ПЦР” прекращались, но и во всех клонах получалась одна и та же последовательность. Картина немного прояснилась. В нашей пробе содержалась одна мтДНК, которой было сравнительно много, но она рассыпалась на много коротких кусочков. Также там были и более длинные фрагменты мтДНК двух-трех людей, но в меньшем количестве. По нашему мнению, короткие фрагменты принадлежали Ледяному человеку, а более длинные – людям, привнесшим современное загрязнение. Олива размножила каждый короткий кусочек, в каждом случае проделав это дважды, затем клонировала фрагменты в бактериях, затем секвенировала клоны... и в результате смогла сложить последовательность мтДНК, которую, по всей вероятности, и имел в свое “живое” время Ледяной человек. Оливе удалось собрать из перекрывающихся фрагментов участок в 300 нуклеотидов или чуть больше. Он отличался от аналогичного эталонного фрагмента мтДНК современного европейца двумя нуклеотидными заменами, у сегодняшних европейцев последовательность с такими заменами встречается. Не так уж и странно. Если пересчитать промежуток в 5300 лет на число поколений, скажем, для 80–90-летних долгожителей, то это даст около 250

поколений. С одной стороны, это число впечатляет, но для эволюционной перспективы маловато. Если не случится ничего катастрофического вроде эпидемии, вымирания или замещения популяции, то за 250 поколений в генах изменится не много.

Мы с коллегами прикинули, что со времен медного века на участке ДНК, подобном нашему, могла закрепиться от силы одна мутация.

Но до публикации предстояло одолеть еще один барьер. Досадуя на множество крайне сомнительных статей по нашей теме, мы взяли за правило все наши результаты отдавать на проверку в независимую лабораторию. Конечно, в прочитанной нами последовательности не было ничего необычного с биологической точки зрения, но работа, безусловно, привлечет внимание, а значит, даст нам возможность показать, как нужно делать такие вещи. И мы решили отправить один из наших образцов в Оксфорд, Брайану Сайксу. Этот генетик, прежде изучавший болезни соединительных тканей, теперь переключился на исследование изменчивости человеческой мтДНК и ее древних вариаций. Он с готовностью согласился помочь. Один из студентов Сайкса экстрагировал и амплифицировал кусочек последовательности, которую мы ему описали, и отправил нам ответ. Получилась та же последовательность, что и у Оливы. И тогда мы все как следует описали и отправили в *Science* [34].

Несмотря на успех этого исследования, для себя я сделал другой вывод: с древними человеческими остатками работать чертовски трудно. Ледяной человек “хранился” в замороженном виде и потому необычайно хорошо сохранился; кроме того, со времени его находки прошло всего два года, то есть не так много людей имели возможность в буквальном смысле приложить к нему руку и привнести загрязнения. И все же мы с трудом разобрались с целым букетом чужеродных последовательностей. Наш успех можно отнести только за счет упорства и терпения Оливы; помогло и правильное умозаключение, какие из последовательностей могут быть “родными”. Тут нужно было понимать, как разные группы молекул, длинных и коротких, появились в образце. Поэтому даже подумать страшно об изучении недавней эволюции современного человека, если придется иметь дело с множественным материалом, представленным в виде разрозненных скелетов. Это кошмар.

Зато мы уже набрали колоссальный опыт по работе с человеческими остатками и понимали, какие могут встретиться трудности. С этим внушительным базисом Олива вернулась к работе с образцами по индейцам. Как и ожидалось, дело оказалось непростым.

Мой приятель Рик Уорд добыл для нас десять образцов тканей мумий из юго-западной части Северной Америки, из Аризоны. Их возраст оценивался примерно в 600 лет.

Результаты, как можно догадаться, оказались сравнимы с полученными по Ледяному человеку. Для девяти образцов Олива не смогла получить никакого внятного ответа: что это были за последовательности, были ли они эндогенными или добавились извне – определить оказалось невозможно. Только для одного образца вышло нечто осмысленное.

Она смогла амплифицировать многочисленные короткие фрагменты и затем, клонируя эти фрагменты и секвенируя клоны, повторив эту процедуру не раз и не два, показала, что найденные последовательности обычны для современных индейцев. С некоторой досадой мы завершили статью 1996 года такими словами: “Эти результаты показывают, что для подтверждения древности ДНК из ископаемых человеческих остатков требуется существенно больше экспериментальной работы, чем при обычных исследованиях” [35]. В этой фразе, как можно легко заметить, заключалась и скрытая критика в адрес тех, кто публиковал статьи по человеческим материалам.

Несмотря на все усилия Оливы, я решил приостановить работу по человеку. В других лабораториях продолжали выходить статьи, но я понимал, что на большинство этих результатов полагаться нельзя. Все это вызывало лишь досаду и разочарование [36]. В 1986-м я оставил многообещающие медицинские исследования ради того, чтобы разработать новые точные подходы к изучению истории Египта и человеческой истории вообще. К 1996 году я смог предложить новые методы, которые превратили зоологические музеи в настоящие генетические банки; началось изучение генетики мамонтов, гигантских

ленивцев, примитивных лошадей и других животных ледникового периода. И все это, конечно, хорошо и прекрасно, но не к тому стремилась моя душа, я чувствовал, что невольно превращаюсь в зоолога.

Конечно, я не просиживал дни и ночи, страдая по этому поводу, но, возвращаясь мыслями к собственному будущему, я снова и снова чувствовал уныние. Не тем я хотел заниматься, я хотел обсуждать человеческую историю, однако выяснялось, что это почти невозможно. В большинстве случаев древнюю человеческую ДНК нельзя отличить от современной. Но потом мне пришло в голову, что я же могу предпринять кое-что гораздо более интересное, более важное для понимания человеческой истории, чем люди бронзового века или египетские мумии. Мне нужно обратиться к другим европейцам, тем, которые жили гораздо раньше Ледяного человека, – к неандертальцам.

Такой поворот сюжета может показаться странным – ведь я только что решил больше не связываться с человеком. Но в этой идее меня больше всего привлекало то, что их ДНК гипотетически должна ощутимо отличаться от современной. И не только из-за того, что они жили 30 тысяч лет назад, но и потому, что они прошли долгую историю, отличную от нашей. Неандертальцы сильно отличались анатомически от современных людей, также существенны их различия с любыми архаичными людьми, населявшими Европу в одно с ними время. Но при этом неандертальцы являются ближайшими родственниками всех ныне существующих людей. Изучая, какие генетические различия отделяют нас от наших ближайших родственников, можно в принципе понять, что позволило предкам современных людей обособиться от остальных животных на планете. По существу, мы собрались изучать самую фундаментальную часть человеческой истории – происхождение людей современного облика, прямых предков каждого сегодняшнего человека. Такое исследование должно показать, насколько неандертальцы связаны с нами. Да, неандертальская ДНК казалась мне наипрекраснейшей целью. И к тому же волею провидения я попал в Германию, где находится долина Неандерталь, откуда как раз происходят первые находки неандертальцев вместе с типовым образцом, эталоном для определения всех неандертальцев. Мне отчаянно хотелось найти подходы к музейной публике в Бонне, где хранился этот типовой экземпляр. Я понятия не имел, насколько строг куратор музейных коллекций и разрешит ли он взять образец. Недаром ведь этого эталонного неандертальца некоторые называли (вероятно, желая затушевать кое-какие аспекты германской истории XX века) самым знаменитым немцем. Он считался неофициальным национальным достоянием.

Я ломал голову несколько месяцев. Мне, как никому, было известно, сколько требуется изворотливости, чтобы ладить с музейными кураторами; ведь им приходится охранять ценные экспонаты для грядущих поколений и одновременно способствовать исследованиям. Мне встречались такие, которым главное было показать свою власть; они отказывались дать образец, даже если возможный результат решительно перевешивал ценность крошечного кусочка, нужного для исследования. Если с подобными людьми не найти сразу нужной интонации, то потом они из-за обычной гордости уже не решаются изменить собственному слову. И пока суд да дело, однажды по случайному и знаменательному совпадению мне позвонили из Бонна. Звонил Ральф Шмитц, молодой археолог, ответственный – вместе с куратором боннского музея – за коллекцию с неандертальскими костями. Не помню ли я нашу беседу несколько лет назад, спросил он.

Ральф напомнил, что в 1992 году спрашивал, каковы шансы выделить ДНК неандертальца. Этот разговор совершенно испарился из моей головы, мне много встречалось подобных ему кураторов и археологов. Но теперь я вспомнил. Тогда я открыл было рот сказать: да, шансы есть, и неплохие, и пусть кураторы поскорее передадут мне кусочек кости... Но не поддался первому лукавому порыву. Быстро сообразил, что лучше быть честным, тогда дальше продвинешься. Вместо этого я ответил, что шансы на успех, на мой взгляд, примерно 5 процентов. Ральф поблагодарил меня, и с тех пор я больше ничего о нем не слышал.

И вот теперь, четыре года спустя, он снова звонит. И говорит, что они согласны дать

нам кусочек неандертальской кости из долины Неандерталь. Как выяснилось позже (Ральф рассказал мне), к ним в музей пришли другие с теми же просьбами и утверждали, что практически наверняка получают ДНК из образцов. В музейной администрации решили узнать стороннее мнение и поручили Ральфу найти мои контакты и спросить. Оказалось, что этот народ является прямой противоположностью тем музейным обструкционистам, которых я так боялся. Как я обрадовался!

Далее потянулись недели переговоров с музеем, сколько материала и из какой части скелета можно получить. В распоряжении музея находилась примерно половина скелета взрослой особи мужского пола. Наш опыт показывал, что наилучшие результаты получаются из образцов плотной костной ткани, например головки плечевой кости или бедренной, или из корня зуба, немного хуже из тонких костей типа ребер. В конце концов мы сошлись на кусочке правой плечевой кости, той, где нет никаких гребней или других анатомических деталей, по которым судят о креплении мускулатуры к костям. Кроме того, нам ясно дали понять, что самостоятельно взять образец не разрешат. Ральф с коллегами приехал к нам в Мюнхен, и мы снабдили их стерильной пилой, защитной одеждой, стерильными перчатками, контейнерами, в которых будут храниться образцы. И они уехали обратно. В итоге все обернулось к лучшему – я в трепетном почтении перед эталонным неандертальцем не смог бы отпилить от него кусок нужного размера, постарался бы взять как можно меньше, и тогда успеха бы нам не видать.

*Рис. 5.3. Правая плечевая кость типового экземпляра неандертальца, на которой показано, откуда Ральф Шмитц выпилил для нас фрагмент. Фото: Ральф Шмитц, Рейнский краеведческий музей, Бонн*

Размер образца – а мы его получили, кусочек хорошо сохранившегося беловатого костного материала – нас впечатлил: 3,5 грамма (рис. 5.3). Ральф сообщил, что, когда они его выпиливали, по комнате разнесся запах горелой кости. Мы надеялись, что это добрый знак. Это должно было означать, что в кости сохранился коллаген, структурный белок костной основы. С благоговейным трепетом я нес пластиковый контейнер с частичкой эталонного неандертальца; этот контейнер ожидал Матиас Крингс, мой аспирант, который провел больше года в безуспешных попытках выделить ДНК из египетских мумий. Я попросил Матиаса применить к частичке неандертальца все наши новейшие и самые лучшие наработки.

## **Глава 6**

### **Вместе с хорватами**

После публикации неандертальской мтДНК я потом много месяцев вспоминал, как все получилось. Какой долгий путь был проделан от тех первых опытов с высушенной телячьей печенкой, купленной 16 лет назад в супермаркете. И вот наконец мы смогли на основе древней ДНК сказать нечто новое и очень важное про человеческую историю. У того эталонного неандертальца митохондриальная ДНК резко отличалась от современной, и они, неандертальцы, вымерли, не оставив и следа своей мтДНК современному человечеству. Чтобы приблизиться к этому успеху, нам потребовались годы кропотливого труда – пришлось разрабатывать технологии для надежного определения ДНК давным-давно почивших особей. И теперь у меня наготове имелись все эти технологии, группа обученных и активных, мотивированных сотрудников... но вот большой вопрос: куда идти дальше?

Одна задача так и просилась вперед – определить мтДНК других неандертальцев. Ведь у других неандертальцев могла быть и другая мтДНК, не похожая на ту, из долины Неандерталь. И в ней вполне могло обнаружиться больше сходства с современной мтДНК.

Кроме того, ДНК других неандертальцев чуть приоткрыла бы их собственную историю.

Например, у современных людей вариабельность мтДНК не слишком высока. Если и для неандертальцев получится то же самое, то, следовательно, они произошли и затем распространились от небольшой популяции. А если у них, как у человекообразных обезьян, вариации мтДНК широки, то можно заключить, что их численность никогда не становилась слишком низкой. И никогда они не переживали таких резких снижений и подъемов численности, какие были характерны для людей современного типа. Эту задачу – исследовать других неандертальцев – рвался взять на себя Матиас Крингс, воодушевленный успехом с “главным” неандертальцем. Тут требовался материал как можно лучшей сохранности, поэтому основной трудностью было получить доступ к таким образцам.

Я задумался, почему у нас все получилось с неандертальцем из долины Неандерталь, и пришел к выводу, что основную роль тут мог сыграть пещерный известняк. Как научил меня Томас Линдаль, кислоты разрушают нити ДНК, поэтому, к примеру, в останках людей бронзового века, захороненных в кислых болотах Северной Европы, никакой ДНК не сохраняется. Но когда вода проходит через известняк, она подщелачивается. И я решил, что нам стоит обратиться к остаткам неандертальцев из известняковых пещер.

К сожалению, в школьные годы я не особенно интересовался геологией Европы. Но зато я помнил свою первую антропологическую конференцию в 1986 году, которая проводилась в Загребе, в тогдашней Югославии. Нас возили на полевые экскурсии в Крапину и Виндию, две пещеры, где найдено большое количество неандертальских остатков. Быстро просмотрев литературу, я понял, что пещеры действительно известняковые и, значит, надежда есть. В тех пещерах находили также кости других животных, например пещерных медведей, и довольно много – это тоже подогревало надежду. Пещерные медведи вымерли примерно тогда же, когда и неандертальцы, – около 30 тысяч лет назад. Кости пещерных медведей так или иначе связаны с пещерами, часто их находят в положении, позволяющем предполагать, что они погибли во время спячки. Мне пещерные медведи могли сыграть на руку – по ним можно было проверить, сохраняется ли вообще ДНК в этих пещерах. Если мы найдем в медвежьих костях ДНК, то легче будет убедить музейных кураторов поделиться с нами образчиками ценных неандертальских останков из тех же пещер. И я решил поинтересоваться историей пещерных медведей – в первую очередь на Балканах.

После кровавой войны с Сербией Загреб стал столицей независимой республики. Самая крупная коллекция неандертальцев происходила из Крапины, что в Северной Хорватии.

Начало этой коллекции положил палеонтолог Драгутин Горянович-Крамбергер в 1899 году, раскопав около восьми сотен костей, принадлежавших 75 неандертальцам. Это самое крупное “кладбище” неандертальцев, когда бы то ни было найденное. Место им нашлось в Музее естественной истории в средневековом центре Загреба. В другой пещере – пещере Виндия в Северной Хорватии (рис. 6.1) – неандертальские остатки обнаружил и исследовал хорватский палеонтолог Мирко Малез в конце 1970-х – начале 1980-х. Ему попались костные фрагменты нескольких неандертальцев, но особенно выигрышных черепов, похожих на крапинские, ему не досталось. Зато Малез откопал целую кучу костей пещерных медведей. Все это отправилось в Институт четвертичной палеонтологии и геологии, относящийся к Хорватской академии наук и искусстваа. Я организовал поездку и в музей, и в институт. И в августе 1999 года прибыл в Загреб.

*Рис. 6.1. Пещера Виндия в Хорватии. Фото: Йоханнес Краузе, MPI-EVA*

Конечно, крапинская коллекция неандертальцев впечатляла, но я скептически оценивал ее потенциал для изучения ДНК. Ведь этим костям было 120 тысяч лет, существенно больше, чем нашим прежним образцам с ДНК. Коллекция из Виндии обнадеживала больше.

Прежде всего, она была моложе. В этой пещере неандертальцев нашли в нескольких слоях, но самый верхний, читай – самый молодой, датировался примерно в 30–40 тысяч лет, что для неандертальцев почти конец истории. К тому же меня несказанно радовали кости

пещерных медведей, там их было полным-полно. В духоте институтского подвала хранились бесчисленные бумажные свертки с костями, рассортированными по осадочным слоям и типам: упаковки с ребрами, упаковки с позвонками, упаковки с бедренными костями... и много таких. Я напал на золотую жилу древних ДНК.

За эту коллекцию отвечала Майя Паунович, дама в возрасте, которая всю жизнь проработала в институте, не выезжая на публичные выставки и имея мало возможностей для исследований. Она была вполне дружелюбна, но вместе с тем мрачновата – безусловно, понимала, что большая наука обошла ее стороной. Три дня мы провели вместе с Майей, рассматривая коллекцию. Она передала мне кости пещерных медведей из нескольких осадочных слоев и к ним еще 15 образцов костей неандертальцев. Это именно то, что нам требовалось; теперь можно было приступить к исследованиям генетической изменчивости неандертальцев. Улетая обратно в Мюнхен, я был совершенно уверен, что все у нас быстро получится.

Тем временем Матиас Крингс отсеквенировал еще один фрагмент мтДНК эталонного неандертальца. Получилась примерно та же самая картина, что и с первым фрагментом: неандертальская мтДНК отделилась от ДНК предков современного человека около полумиллиона лет назад. Хорошо, что выводы подтвердились, это и ожидалось, но после эмоционального подъема того первого открытия немного скучновато. Неудивительно, что Матиас с нетерпением ждал Майиных образцов из Загреба.

Сначала мы посмотрели на степень сохранности аминокислот. Аминокислоты – это те кирпичики, из которых построены любые белки, и для их анализа требуется существенно меньшее количество вещества, чем для выделения ДНК. Ранее мы показали, что если не удастся выявить спектр аминокислот, составляющих коллаген – основной белок костной ткани, да еще удостовериться, что эти аминокислоты присутствуют в необходимой для жизни химической форме, то вряд ли будут успешными и поиски ДНК. И тогда нет смысла уничтожать сравнительно большие куски ценной кости. Семь из пятнадцати костей показали нам пригодными, а одна выглядела особенно перспективной. Послав небольшой ее кусочек на радиоуглеродный анализ, мы получили датировку – 42 тысячи лет. Матиас приготовил пять вытяжек из этой кости и нашел два фрагмента мтДНК, аналогичных эталонному экземпляру. Хорошая работа. Он отсеквенировал сотни клонов, каждую позицию проверил минимум в двух прогонах – я настоял на этом, чтобы иметь по два повтора из независимых вытяжек. В этом случае можно быть уверенным в надежности результата.

И вдруг в марте 2000 года, когда Матиас трудился изо всех сил, в *Nature* вышла работа, заставшая нас врасплох. Британская команда отсеквенировала мтДНК еще одного неандертальца из Мезмайской пещеры на Кавказе[37]. Они обошлись без технологических излишеств, которые у нас считались обязательными. Например, они не клонировали продукты, полученные в ходе ПЦР. Тем не менее ДНК у них получилась почти идентичная эталонной. Матиас ужасно расстроился – он так хотел сам опубликовать ДНК второго неандертальца, а его опередили! И замедлилось все из-за того, что я осторожничал и требовал бесконечных проверок. Конечно, мне было жаль его, но все же радовало, что наша первая, пионерная, последовательность подтвердилась независимой командой.

Однако с комментарием в *Nature*, опубликованным вместе со статьей, я все же не согласился: мол, вторая последовательность “важнее”, потому что она, видите ли, доказывает правильность первой. Но что ж оставалось *Nature*, если первая последовательность была опубликована не там? Только такое притворное пренебрежение.

Как говорится, видит око, да зуб неймет.

Но Матиаса все же ждал утешительный приз. Последовательность второго неандертальца всего лишь подтвердила первую, расшифрованную в 1997 году и опубликованную в *Cell*. Но теперь у Матиаса вместе с неандертальцем из Виндии получалось целых три последовательности. Следовательно, можно было уже сказать кое-что о генетической вариабельности неандертальцев. Кое-что очень существенное. Имея три

последовательности, можно, как утверждает генетическая теория, с пятидесятипроцентной вероятностью выявить самую древнюю линию, предковую для популяции в целом.

Выходило, что у трех неандертальцев различались 3,7 процента нуклеотидных позиций. Для сравнения нужно было проверить, какова эта разница у человека и человекообразных обезьян. Для начала мы посмотрели тот же фрагмент мтДНК у 5530 людей со всего мира.

Из этой выборки мы брали по три случайных варианта и для них считали различия. Затем разницу по случайным тройкам усреднили. Получилось около 3,4 процента, что очень близко к значению по трем нашим неандертальцам. Затем нашли доступные данные по аналогичному фрагменту мтДНК для 359 шимпанзе. И проделали те же самые расчеты.

Разница оказалась 14,8 процента. А для 28 горилл – 18,6 процента. Так что у неандертальцев генетическая вариабельность была низкой, сравнимой с современным человечеством, и ниже, чем у обезьян. Рискованно, конечно, делать заключения всего по трем индивидам, мы так и написали в *Nature Genetics*, опубликовав наши результаты позже в 2000 году; желательно, как мы подчеркнули в статье, провести исследования большего числа неандертальцев. Но все равно вывод остался прежним: генетическая изменчивость неандертальцев невелика, и все они берут начало от небольшой популяции, совсем как мы, люди[38].

## Глава 7 Новый дом

Жизнь ведет затейливыми путями. Как-то в 1997 году, незадолго до публикации первой неандертальской ДНК, секретарша доложила, что звонил некий пожилой профессор и просил его принять. Он сказал ей, что хотел бы обсудить со мной планы на будущее. Не имея представления, кто это, я решил было, что какой-нибудь профессор на пенсии желает поделиться со мной своими бредовыми идеями о человеческой эволюции. Я очень, очень ошибся. Он пришел поговорить о вещах исключительно заманчивых.

Он объяснил, что говорит от лица Общества научных исследований Макса Планка (*Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften*, сокращенно MPG), которое поддерживает фундаментальные исследования в Германии. Помимо прочего, оно финансирует программы по развитию высокорейтинговой науки в Восточной Германии, объединившейся семь лет назад с Западной Германией. Одной из основных задач общества было способствовать развитию тех областей науки, в которых Восточная Германия серьезно отстала. По вполне понятным причинам антропология оказалась в числе слабых звеньев.

Как и у многих немецких общественных институтов, у MPG был предшественник в довоенной Германии. Назывался “Общество кайзера Вильгельма”, его основали в 1911 году.

Это общество было образовано и функционировало в виде институтов вокруг выдающихся ученых, таких как Отто Ган, Альберт Эйнштейн, Макс Планк, Вернер Гейзенберг, тех гигантов, которые работали, когда Германия была ведущей научной державой.

Мгновенный конец той эпохе положил Гитлер, выгнав лучших ученых, потому что многие из них были евреями. Несмотря на то что Общество кайзера Вильгельма формально считалось независимым, оно тоже стало частью нацистской военной машины, проводя, например, исследования вооружений. Ничего удивительного. Хуже, что Общество кайзера Вильгельма через Институт антропологии, человеческого наследия и евгеники проводило расистские исследования, переросшие в преступления. В этом берлинском институте вместе с профессорами работали такие научные ассистенты, как Йозеф Менгеле, проводившие эксперименты на заключенных Аушвица, на взрослых и на детях. И если Йозеф Менгеле был после войны приговорен за свои преступления, то профессора остались как бы ни при чем, многие из них стали преподавать в университетах.

И когда в 1946 году Общество кайзера Вильгельма сменилось Обществом Макса

Планка, то по понятным причинам антропологии старались избегать. В общем, из-за того, что творилось во время нацистского правления, вся антропология как таковая потеряла свои позиции в Германии. На антропологические исследования невозможно было выбить финансирование, туда не хотели идти хорошие студенты и творческие исследователи.

Естественно, что в Германии эта область знаний оказалась в упадке. Поэтому, как сказал мой посетитель, MPG и учредило комитет, которому предстояло решить, нужно ли в Германии организовывать новый институт антропологии под эгидой MPG. Он заметил, что, учитывая недавнюю историю Германии, мнения по этому вопросу расходятся. Тем не менее он хотел знать, поехал ли бы я в такой институт, будь он и в самом деле учрежден.

Мне было в принципе известно, что MPG распоряжается огромными фондами и что после воссоединения двух немецких государств они были использованы на организацию нескольких новых институтов в Восточной Германии. Меня, конечно, заинтриговала перспектива поучаствовать в образовании нового института, но не хотелось выглядеть чересчур заинтересованным, готовым броситься в дело при любых обстоятельствах.

Потому я ответил, что обдумую предложение при условии, что у меня будет право активно участвовать в создании института. Профессор уверил меня, что как директор-соучредитель я буду иметь большую свободу и влияние. Он пригласил меня приехать и изложить комитету свой взгляд на организационные процессы.

Через некоторое время меня попросили сделать доклад перед комитетом. Я должен был приехать в Гейдельберг и выступить перед несколькими иностранными экспертами во главе с Уолтером Бодмером, оксфордским специалистом по генетике и иммунологии человека. Я рассказывал о тех сторонах нашей работы, которые могли быть востребованы институтом антропологии, делая упор на изучение древней ДНК, особенно неандертальской, и реконструкцию человеческой истории на базе генетики, а также на базе лингвистических взаимосвязей разных человеческих групп. Велись и неформальные обсуждения, должно ли MPG поддерживать антропологию, скомпрометированную мрачной немецкой историей. Возможно, для меня, рожденного не в Германии и спустя много лет после войны, все это выглядело проще. Мне казалось, что Германия уже не может позволить себе тормозить научный прогресс, оглядываясь на преступления пятидесятилетней давности. Никто не собирается отрешиваться от своей истории или забывать уроки прошлого, но и бояться идти вперед тоже нельзя. Помнится, я даже высказал вслух мысль, что спустя 50 лет после своей смерти Гитлер не имеет права диктовать нам, что мы должны делать, а что не должны. По-моему, как я особенно подчеркнул, в любом новом институте не стоит превращать антропологию в область философских измышлений о человеческой истории. Она должна быть наукой эмпирической. Антрополог, пришедший работать в институт, должен собирать фактические доказательства и ими проверять свои гипотезы.

Не знаю уж, как воспринял комитет мои предложения. Я вернулся в Мюнхен и выбросил это из головы. А потом мне пришло приглашение на встречу с новым комитетом MPG, которому уже конкретно поручили организовать институт, ориентированный на исследования в области антропологии. Далее встречи пошли одна за другой; слушали разных кандидатов. Ни в MPG, ни в Германии не было опыта в этой научной дисциплине, что даже обернулось нам на пользу. Можно было общаться с людьми без всяких академических рамок, без оглядки на традиции и предрассудки, свободно обсуждая, как должен быть устроен современный институт, изучающий историю человека. По мере обсуждения выкристаллизовалась концепция института: не нужно структурировать институт по традиционным академическим дисциплинам, нужно сосредоточиться на одном вопросе: что делает людей особенными. Тогда получится междисциплинарный институт, где разные специалисты – палеонтологи, приматологи, психологи, генетики – начнут сообща решать этот вопрос. Базовой парадигмой для всех работ должна быть эволюция. Конечная же цель – найти объяснение, что же обеспечило людям эволюционный путь, столь отличный от прочих приматов. Другими словами, это должен быть институт эволюционной антропологии.

В эту концепцию целиком укладывались неандертальцы, ближайшие родичи человека.

Равно как и изучение человекообразных обезьян. Поэтому в институт пригласили известного американского психолога Майка Томаселло, работавшего с людьми и обезьянами, а также Кристофа Бёша, швейцарского приматолога, который вместе с женой Ядвигой много лет жил в лесу в Кот-д'Ивуар, наблюдая за шимпанзе. Эти ученые должны были основать в институте свои отделы. Приглашение в институт получил и Бернард Комри, британский специалист по сравнительной лингвистике, проработавший несколько лет в Соединенных Штатах. Меня вдохновлял не только масштаб этих научных фигур, но и их зарубежное происхождение. Из всех приглашенных, кому доверили организацию института, я, проживший в Германии семь лет, был самым "немецким". Трудно найти в европейской стране место, менее подверженное шовинистическим предрассудкам, чем гигантский научный институт – туда набрали около четырех сотен сотрудников, – управляемый целиком людьми со стороны.

В одну из первых наших мюнхенских встреч, где присутствовали все будущие главы отделов, я предложил поехать за город, чтобы без помех расслабиться и отдохнуть.

Вечером мы набились в мою маленькую машинку и отправились на озеро Тегернзее, в Баварские Альпы. Садилось солнце, мы взбирались на гору Хиршберг, куда я часто ходил с друзьями и студентами. Наша обувь никак не годилась для подобных маршрутов, и когда солнце опустилось, мы поняли, что до вершины не дойдем. Мы сели передохнуть на склоне и стали любоваться видом первозданных Альп. Я вдруг почувствовал, что мы по-настоящему связаны и что невозможно сейчас обмануть друг друга. Я спросил, вправду ли они собираются приехать в Германию жить или просто хотят получить какое-никакое финансирование для своих родных институтов за границей, оставшись работать там, как часто поступают большие научные авторитеты. И все ответили, что действительно собираются приехать. Солнце исчезло за вершинами гор, мы стали спускаться, бредя под пологом леса. Стемнело. Мы с жаром говорили о новом институте и о том, что мы там будем делать. У каждого была своя научная программа, построенная на эмпирическом материале, но нас волновало и то, чем будут заниматься другие. Все мы были примерно одного возраста. Возникло предчувствие, что новый институт действительно заработает и что я наверняка буду там счастлив.

Нам предстояло уладить множество оргвопросов как между собой, так и с Обществом Макса Планка. Главное, нужно было решить, где в Восточной Германии наш институт будет базироваться. По весомым причинам MPG решительно настаивало на Ростоке, небольшом ганзейском портовом городке на побережье Балтики. Германия подразделяется на 16 федеральных земель, и каждая вносит в бюджет MPG свою лепту соразмерно своей экономике. Политики, естественно, желают иметь в своем округе как можно больше институтов, чтобы, так сказать, оправдать свои денежки. Мекленбург – Передняя Померания, где расположен Росток, – единственная земля, где не было ни одного института MPG, поэтому тамошняя администрация вполне имела право себе таковой затребовать. Я мог их понять, но все-таки считал нашей задачей научный успех института, а не поиск политических компромиссов. Маленький Росток со своими двумя тысячами населения, без аэропорта, малоизвестен за пределами Германии. Мне представлялось, что туда трудно будет заманить стоящих людей. Я хотел, чтобы институт был в Берлине, но быстро понял, что мечтам моим не суждено сбыться. Туда уже переместилось более чем достаточно государственных институтов из Западной Германии.

Добавить к ним еще один было бы и с практической точки зрения трудно, а с политической – так и вовсе невозможно.

MPG продолжало настаивать на Ростоке, организовало поездку в город с приемом у мэра, который расписал все преимущества места и провел обзорную экскурсию. Я жестко противился Ростоку, сказал MPG, что в город мне ехать незачем и лучше я останусь работать в Мюнхене. У меня сложилось впечатление, что прежде MPG считало все мои возражения пустыми угрозами. Но в тот момент они поняли, что я и вправду не поеду в институт, если он будет в Ростоке.

Так что разговоры о местоположении института продолжились. Я бы остановился на двух вариантах, двух городах Южной Саксонии, Лейпциге и Дрездене. Они смотрелись вполне перспективно. Большие города с налаженными давними индустриальными традициями, руководство земли всемерно старалось эти традиции поощрять. К тому же в Саксонии планировали открыть еще один институт Макса Планка. Во главе его должен был встать яркий ученый, финн по происхождению, Кай Симонс. Он занимался клеточной биологией.

И я встречался с ним, когда в аспирантуре занимался вирусными белками в клетке. Его институт обещал стать прекрасным местом. По моей задумке наши институты могли бы располагаться рядом, с общим кампусом, чтобы по возможности образовывались связи между нашими группами. Но к сожалению, германская государственная структура не позволила этим мечтам сбыться. Чтобы два крупных института Восточной Германии были одновременно основаны в Саксонии, еще куда ни шло, но чтобы оба в Дрездене – совершенно невозможно вообразить. И так как Кай планировал Дрезден раньше нас и уже обосновался там, то мы обратились к Лейпцигу. И нам он понравился.

Город с красивым центром, мало пострадавшим в войну, с великолепной культурной индустрией, музыкальной и художественной, и, что еще важно, с зоопарком. Значит, имелась возможность договориться о каких-то помещениях, где Майк Томаселло сможет изучать когнитивные способности обезьян. В Лейпциге находился университет, второй по старшинству в Германии. Из разговоров с университетским руководством я понял, насколько это место было политизированным в гдээровские времена – может, даже сильнее, чем другие университеты Восточной Германии. Вероятно, из-за того, что там имели дело с тонкими материями – готовили преподавателей и журналистов. Многие лучшие профессора, кто по склонности, кто по необходимости, вступали в коммунистическую партию, а после развала ГДР вынуждены были уйти в отставку.

Несколько профессоров в результате покончили с собой. На своих должностях остались в основном те, у кого карьера в ГДР была средненькой. У некоторых карьерный рост застопорился по политическим мотивам, но большинство из них ничего особенного не достигли в силу тех же причин, по каким это происходит и на Западе: недостаток таланта, отсутствие честолюбия, другие жизненные приоритеты.

На опустевшие вакансии в политически дискредитированном университете пришли ученые из Западной Германии. Но если ты состоялся на Западе, то у тебя нет особых причин срываться на Восток и искать дополнительных приключений на свою голову. Так что для многих из тех, кто приехал, это был способ отсрочить профессиональную смерть.

Все яснее становилось, насколько нам повезло с возможностью организовать институт с нуля, не таща за собой тяжкий груз непростой истории. Дрезденский университет, конечно, встречал новое время более подготовленным, но нельзя же хотеть сразу всего. Я надеялся, что и Лейпцигский университет со временем приобретет гибкость, необходимую, чтобы двигаться дальше. В безусловный плюс Лейпцига нужно записать его замечательную комфортность для жизни, лучше, чем в Дрездене. Я уверен был, что люди сюда поедут. В 1998 году наша группа переместилась во временную лабораторию в Лейпциге.

Мы работали изо всех сил: нужно было и продолжать исследования, и заниматься организацией института. Это была опьяняющая жизнь. MPG выделило нам внушительные средства, позволившие мне устроить лабораторию мечты, в которой все отвечало нашим нуждам и соответствовало моим представлениям о функционировании моего отдела. Пусть в нем не будет закрытых комнат для совещаний, пусть еженедельные рабочие встречи и собрания руководства проходят у всех на виду. Я не хотел, чтобы создавалось ощущение, что эти встречи только для избранных и приглашенных, а хотелось, напротив, чтобы каждый мог зайти, послушать, поучаствовать в дискуссиях и уйти, если нужно.

Я надеялся привлечь в институт людей из других стран. Если приглашаешь студентов и ученых жить и работать на новом месте, то очень важно создать условия для нормальной социальной жизни, чтобы они прижились в коллективе среди своих коллег и местных

студентов. Поэтому я убедил архитекторов, что нам нужны в здании специальные места для теннисных столов, для настольного футбола, а при входе в институт решено было поставить десятиметровую альпинистскую стенку. А на крыше, памятуя о социальной роли сауны в моей родной Скандинавии, я уговорил архитекторов построить и сауну.

Но самое важное – для работы с древней ДНК я устроил по своему проекту “чистую комнату”. Вот тут-то и объявилась во всей красе моя параноя по поводу загрязнений и пыли с прилипшими современными ДНК. “Чистая комната” на самом деле занимала не одну комнату, а несколько. Они располагались в подвале, куда можно было внести чистое оборудование, минуя все помещения, где работали с современными ДНК. В чистом помещении вы сначала оказываетесь в прихожей, и там нужно переодеться во все стерильное. Затем перейти в отсек “грязной” обработки: например, там мололи костные образцы в порошок. А оттуда уже был выход в самый внутренний отсек, где проводились манипуляции с экстрагированием ДНК. Здесь же, понятно, хранились в морозильниках и ценные экстракты с ДНК. Всю работу мы делали под вытяжным шкафом с очищенным воздухом (рис. 7.1). Вдобавок весь воздух подавался в помещение через специальные фильтры. Фильтр имел отверстия размером в две десятитысячных миллиметра, воздух поступал туда сквозь решетку в полу и, очищенный, возвращался в комнату. Мы предусмотрели не один, а два таких комплекса, чтобы можно было параллельно работать с разными объектами, например с неандертальцами и вымершими животными. Из комнаты в комнату не разрешалось переносить никаких реагентов или оборудования, и если вдруг в одной из комнат обнаружится загрязнение, то другая избежит этой участи. Я чувствовал, что с такой оснасткой можно спать спокойно.

*Рис. 7.1. Самый внутренний отсек в одной из наших “чистых комнат” в Лейпциге. Фото: MPI-EVA*

Но в таком деле на первом месте, конечно, не здание и оборудование, а люди. Мне нужны были лидеры, которые могли бы вести собственные, но тематически связанные проекты.

Тогда они будут помогать друг другу и стимулировать исследования. Одним из тех, кого очень хотелось привлечь в Лейпциг, был Марк Стоункинг. Но тут все обстояло непросто.

Я познакомился с Марком в лаборатории Алана Уилсона, я тогда был молодым специалистом, а Марк аспирантом. Он занимался вариациями человеческой мтДНК и был среди основателей гипотезы митохондриальной Евы. Напомню, что согласно этой гипотезе современный человеческий митохондриальный геном сформировался в Африке 100–200 тысяч лет назад. В те годы в Беркли Марк с помощью новоизобретенной ПЦР изучал вариации мтДНК у людей из Африки, Азии, Европы. С ним вместе работала аспирантка Линда Виджилант. Они с Марком опубликовали в *Science* очень важную статью, в которой подтвердили сюжет выхода из Африки. И хотя потом их работа перепроверялась на большом статистическом материале, выводы остались неизменными.

В те лихие времена я сильно увлекся Линдой, она подкатывала на мотоцикле с мальчишеским задором, ее ум, привлекательность – все притягивало меня. Но тогда у меня случилась серьезная эмоциональная связь с одним другом, к тому же я всюю участвовал в движении в поддержку больных СПИДом. Поэтому я не очень переживал, когда за Линдой стал ухаживать Марк. В конце концов они поженились, уехали в Пенсильванский университет и родили детей. Но связь моя с Линдой на этом не оборвалась.

Спустя шесть лет, в 1996 году, я переместился из Беркли в Мюнхен, а Марк с Линдой и двумя детьми приехали на год ко мне в лабораторию провести преподавательский отпуск.

Мы часто отправлялись гулять вместе, я водил их в Альпы, на свою любимую Хиршберг, зачастую они брали мою машину. Линда тогда не работала, сидела с детьми. Ей

хотелось иногда оторваться от семьи, и мы по вечерам ходили в кино. Все шло хорошо, у меня и мыслей не было ни о каких интригах, пока один мой аспирант не намекнул в шутку, что Линда, кажется, симпатизирует мне. И тогда я осознал, насколько нас тянет друг к другу. В темных залах маленьких кинотеатров, где показывали альтернативное европейское кино, ощущение становилось осязаемым. Наши колени однажды коснулись друг друга, случайно, наверное, но мы не шелохнулись. Потом взяли за руки. И после того кино Линда вернулась домой не сразу.

Я всегда считал себя геем. На улицах в основном поглядывал на симпатичных парней. Но и к девушкам не оставался равнодушен, особенно к таким, которые знают, чего хотят, и умеют этого добиваться. В прошлом у меня дважды были отношения с женщинами. Тем не менее идея закрутить роман с Линдой, женой моего коллеги с двумя детьми, не казалась мне блестящей. Ну встретиться пару раз – еще куда ни шло. Однако шли недели и месяцы, и становилось все яснее, что мы с Линдой во всем понимаем друг друга, и в сексуальном плане тоже. И все же когда через год Линда с Марком вернулись в Пенсильванию, я был уверен, что на этом наша связь закончилась. Но случилось по-другому.

Как раз когда начались переговоры с Обществом Макса Планка, на меня вышло руководство Пенсильванского университета, предложив должность профессора с соблазнительным окладом. Я разрывался. С одной стороны, меня не привлекала перспектива жизни в захолустной атмосфере университетского колледжа. Но с другой, имея серьезное альтернативное предложение, я смогу более эффективно вести переговоры с Обществом Макса Планка. Было еще одно подспудное соображение: там жила Линда. В конце концов я стал ездить время от времени в Пенсильванский университет, и мы с Линдой продолжали встречаться.

Для меня это было трудное время. Появились секреты не только от Марка, но и наши личные с Марком. Пока Пенсильванский университет пытался переманить меня, я переманивал Марка, уговаривая его переехать в Лейпциг в новый институт. Наконец вся эта лицемерная конспирация стала мне поперек горла. Мой отец вел двойную жизнь – он жил на две семьи, причем ни одна из них не знала о другой. Имея перед глазами его пример, я гордился своей открытостью и отсутствием секретов на личном фронте. А на деле выходило, что я в смягченном варианте повторяю его путь. Поэтому я настоял, чтобы Линда призналась во всем Марку, если мы хотим продолжать отношения. И она призналась. Естественно, им нелегко пришлось. Но возможно, если бы Линда сказала о нас Марку еще позже, вышло бы гораздо хуже. Со временем Марк сумел отделить свои личные переживания от работы и принял приглашение в Лейпциг. Для институтской науки это было роскошное приобретение. Я убедил MPG дать ему постоянную профессорскую должность и снабдить достойными ресурсами. В 1998 году, когда институт заработал, Марк, Линда и двое их ребятишек переехали в Лейпциг, а вместе с Марком и его исследовательская группа. Линде, к счастью, тоже нашлось место. Кристоф Бёш, занятый организацией отделения приматологии, как раз подыскивал кого-то, кто смог бы возглавить лабораторию по изучению генетики человекообразных обезьян.

Предполагалось, что материалом для исследований будут малопривлекательные остатки – шерсть и фекалии крупных обезьян, собранные зоологами-натуралистами в джунглях. А Линда, готовя в Беркли диссертацию, научилась выделять человеческую ДНК из отдельных волосков. И я мог уверенно рекомендовать ее Кристофу. Так что в итоге Линда стала руководителем лаборатории генетики в отделении приматологии.

Мы поселились в небольшом доме, который я купил и переоборудовал. Со временем мы с Линдой стали еще ближе друг другу, а Марк нашел новую любовь, и наша повседневная жизнь текла без особых потрясений. Как-то в июне 2004 года мы с Линдой отправились погулять на Тегернзее. Вечерело, и мы уже спускались с горы Хиршберг. Разговор шел о нашей жизни и о том, что нас ждет. И что наша жизнь не бесконечна... Неожиданно Линда сказала, что если я захочу ребенка, то она бы согласилась... Я повертел мысль и так и эдак, отшутился, но вдруг осознал, что на самом деле очень хочу ребенка. И в

мае 2005 года у нас родился сын Руне.

Шли годы, жизнь потихоньку менялась. Линда и Марк мирно развелись, и в 2008 году мы с Линдой поженились. Институт превратился в исключительно успешную организацию, где естественники и гуманитарии плодотворно работали вместе. Мы продолжали набирать к себе лучшие умы, и в институте открылось пятое отделение. Его основал французский палеонтолог Жан-Жак Юблен. Для нас это стало своеобразным признанием престижа, потому что к тому моменту Жан-Жак практически вступил в должность в Коллеж-де-Франс, одном из лучших институтов Франции, но все же выбрал Лейпциг.

Вообще же за пятнадцать лет скопировать нашу концепцию успели в Кембридже, в Тюбингене и во многих других крупнейших университетах. Иногда я задумываюсь, почему же все сработало настолько удачно. Одна из возможных причин в том, что все мы съехались из разных мест и понимали, что построить институт можем только сообща.

Другой причиной можно, вероятно, назвать разницу в нашей специализации; хотя в целом мы работали над единой проблемой, но области нашего экспертного знания не перекрывались, отсюда следует минимум прямой конкуренции и соперничества. Еще, конечно, помогло щедрое финансирование от MPG, избавившее нас от мелкой грызни за мизерные фонды, которая так портит атмосферу во многих университетах. И все так необыкновенно хорошо устроилось. Мне порой хочется вернуться на тот склон на горе Хиршберг близ Мюнхена, где четверо директоров-соучредителей сидели и любовались закатом. Я бы там поставил каменный столбик, мой личный малюсенький памятник: пусть знают, что здесь, на этом месте, однажды случилось нечто очень важное. Может, когда-нибудь и поставлю.

## Глава 8

### Мультирегиональное противостояние

Пока я занимался устройством нового института, а Матиас Крингс изо всех сил пытался прочитать мтДНК из пары-тройки дополнительных неандертальцев, в научном сообществе разгорелась битва вокруг наших результатов по типовому неандертальцу из долины Неандерталь. Адепты так называемой мультирегиональной эволюции наши результаты приняли в штыки; эта гипотеза, в частности, утверждала, что неандертальцы среди прочего являются предками современных европейцев. Напрасно мультирегионалисты так разволновались. Ведь в статье 1997 года мы специально отметили, что, несмотря на очевидные различия митохондриальной ДНК неандертальца и современных людей, неандертальцы могли все же оставить свои гены в наследство современным европейцам – но только ядерные гены. Складывалось такое ощущение, будто критика наших исследований мультирегионалистами – это безнадежное сопротивление загнанного в угол: все наши результаты сходились на том, что, по крайней мере для митохондриального генома, подтверждалась модель “из Африки”, а не модель мультирегиональной эволюции.

Да и другие лаборатории, изучающие паттерны генетической variability современного человека, также склонялись в сторону африканского сценария, а не мультирегионального. Например, группа Алана Уилсона с Линдой Виджилант и Марком Стоункингом в 1980-х работала с митохондриальным геномом, и наши заключения прекрасно соотносились с их результатами, так что мы оказались в превосходной компании. И даже больше: с начала работы в Германии они расширили свои исследования и на ядерный геном, и выводы из этих исследований были совершенно очевидны.

Изучение ядерного генома современных людей вел Хенрик Кессманн – наверное, самый талантливый аспирант из всех, кого я знал. Хенрик поступил к нам в лабораторию в 1997-м. Высокий, атлетически сложенный блондин, он очень серьезно относился к работе.

Мы оба с удовольствием занимались бегом; бегали в Альпах в районе Мюнхена и особенно любили Хиршберг. (Похоже, этому месту отводилась какая-то особая роль в моей

жизни.)

После тяжелого подъема бегом по причудливым изгибам горной дороги и неторопливого спуска мы часто подолгу обсуждали научные темы, в особенности генетическую изменчивость у человека. Из работ Алана Уилсона и других мы знали, что изменчивость мтДНК у людей ниже, чем у человекообразных обезьян. Это показывает, что современные люди стартовали от небольшой популяции и тем отличны от обезьян. Но одновременно мы ясно понимали, что небольшой размер мтДНК и ее простое, прямолинейное наследование в материнской линии могут исказить реальную картину генетической истории человека и обезьян. Однако когда Хенрик пришел к нам в лабораторию, новые и быстрые способы секвенирования ДНК уже позволяли изучать куски ядерного генома, а не только митохондриального. Хенрика это заинтересовало – он решил исследовать вариабельность ядерной ДНК обезьян и человека. Встал вопрос, какой фрагмент генома взять в работу.

Нам известны функции только десяти процентов ядерного генома. Эти 10 процентов в основном кодируют белки. Тут индивидуальная вариабельность крайне невысока: подавляющее большинство мутаций в этих генах вредны. А если, положим, ген в прошлом изменился и изменил свою функцию и носитель новой вариации оказался лучше приспособлен и имел больше детей, то такой ген должен распространиться в популяции; в результате разница в геномах так или иначе отразит подобный процесс. Оставшиеся 90 процентов генома не так бдительно охраняются естественным отбором – скорее всего, именно из-за того, что их функции не столь существенны для выживания. А нас интересовали как раз случайные мутации и процесс их накопления по ходу эволюционного времени. Поэтому выбрать предстояло из этих 90 процентов. Мы решили сосредоточиться на определенном участке в 10 тысяч нуклеотидов в X-хромосоме. В нем, насколько было известно, не содержалось генов белков или чем-то примечательных фрагментов ДНК.

Определив, *что* мы будем секвенировать, теперь предстояло выбрать *кого* секвенировать, то есть чьи исследовать гены. Понятно, что выбирать нужно из мужчин, так как у них только одна X-хромосома, а у женщин две – иными словами, задача сразу облегчается в два раза. Но из каких мужчин, вот ведь вопрос! Многие просто работали с наиболее доступным материалом. Например, множество исследований, особенно в медицине, выполнялись на выборках европейцев. Какой-нибудь наивный пользователь базы данных генетической изменчивости человека может утвердиться во мнении, что у европейцев генетическая вариабельность выше, чем у других групп населения. А на самом-то деле их высокая вариабельность отражает лишь относительно бедную представленность других групп.

Создать более разумную выборку мы могли тремя способами. Во-первых, можно отбирать мужчин пропорционально численности населения в разных частях света. Эту идею пришлось отставить, поскольку образцы в таком случае будут в основном из Китая и Индии, где население сильно выросло за 10 тысяч лет в результате, в частности, развития сельского хозяйства. Другими словами, согласившись на этот вариант, о генетическом разнообразии говорить не придется. Во-вторых, можно собирать образцы, ориентируясь на территорию, то есть, например, по одному образцу с каждых двух-трех квадратных километров. Но это, вдобавок к баснословным транспортным расходам, приведет к чрезмерно раздутой выборке из областей с низкой плотностью населения, например из северного Заполярья. По третьему сценарию, на котором мы в конце концов остановились, выборка производится в соответствии с основными лингвистическими группами. Мы считали, что лингвистические группы (индоевропейская, финно-угорская и т. д.) в общем приближении отражают культурное разнообразие древности, и оно старше, чем 10 тысяч лет. Так что, если мы будем отбирать образцы по лингвистическим группам, у нас увеличатся шансы сделать выборку из групп населения с независимой генетической историей. И мы, хочется верить, получим более полную картину генетической изменчивости.

К счастью, мы были не первыми: образцы ДНК по этому принципу уже собрал

известный генетик из Стэнфорда, итальянец Лука Кавалли-Сфорца, и мы могли воспользоваться его коллекцией. Хенрик отобрал шестьдесят девять образцов – мужских представителей основных языковых групп. Для каждого образца отсековировал назначенные цепочки из десяти тысяч нуклеотидов. Сравнив затем последовательности ДНК в случайно выбранных парах, он подсчитал, что среднее число отличающихся нуклеотидов равно 3,7. Так же как и в случае с митохондриальной ДНК, Хенрик отметил большую вариабельность ядерной ДНК у пар из Африки, чем у неафриканцев. Чтобы понять смысл полученных результатов, он обратился к исследованию ближайших родственников человека – шимпанзе.

*Рис. 8.1. Эволюционное дерево человека и человекообразных обезьян; показано примерное время расхождения эволюционных ветвей от общего предка (хотя датировки очень приблизительные). С изменениями из статьи: Henrik Kaessmann and Svante Pääbo. The genetical history of humans and the great apes. Journal of Internal Medicine 251: 1- 18 (2002)*

Нам известны два вида шимпанзе, оба из Африки. “Обычные” шимпанзе обитают в экваториальных лесах и саваннах, распределяясь пятнами от Танзании на востоке до Гвинеи на западе. Бонобо, которых иногда называют карликовыми шимпанзе, живут только к югу от реки Конго, в Демократической Республике Конго. Наши эволюционные линии разошлись, как показывает сравнительный анализ ДНК этих видов, примерно 4–7 млн лет назад. А еще раньше, 7–8 млн лет назад, жил общий предок человека, шимпанзе и гориллы, другой африканской человекообразной обезьяны. И все они вместе с орангутанами с Борнео и Суматры произошли от общего предка, существовавшего 12–14 млн лет назад (рис. 8.1).

Хенрик выбрал тридцать самцов шимпанзе (обыкновенного, не бонобо), представляющих популяции Восточной, Центральной и Западной Африки, и секвенировал тот же участок X-хромосомы, с которым работал на человеческом материале. Он повторил сравнение у случайно выбранных пар. Получилось среднее различие в 13,4 нуклеотида для пары особей. Невероятный результат! Население в семь миллиардов против каких-то двух сотен тысяч шимпанзе... Население, занявшее каждый свободный клочок земли, против кучки особей, уцелевших на африканском экваторе! А генетических различий у любых двух шимпанзе в 3–4 раза больше, чем у двух людей.

Затем Хенрик составил такие же последовательности для бонобо, горилл и орангутанов. Он пытался проверить, люди ли так необычно похожи (генетически) или шимпанзе так необычно различаются. И выяснил, что изменчивость ДНК у горилл и орангутанов даже выше, чем у шимпанзе, и только у бонобо разница в нуклеотидных последовательностях такая же низкая, как у людей. Мы опубликовали результаты исследований в 1999–2001 годах в трех статьях в *Nature Genetics* и *Science* [39]. В этих статьях мы продемонстрировали, что изменчивость ядерной ДНК на выбранном участке очень похожа на ту, которую группа Алана Уилсона выявила для мтДНК. По-видимому, этот паттерн изменчивости типичен для всего человеческого генома, и у меня все больше крепло убеждение, что верна как раз модель “из Африки”. А вот критические замечания мультирегионалистов я слушал-слушал, и как-то они меня совсем не впечатляли. Я не отвечал на критику или почти не отвечал: думал, время рассудит.

Армия мультирегионалистов состояла в основном из палеонтологов и археологов. Я бы ни за что не признался вслух, но в душе не очень-то верил, что они в принципе могут решать вопросы о взаимодействии двух групп: например, одна из двух групп заместила другую, перемешалась с ней или одна группа изменилась, превратившись в нечто новое? Эти палеонтологи даже не смогли между собой договориться, как отделить одну архаичную группу от другой. И в результате разгорелись – и поныне бушуют – яростные баталии между “дробителями”, различающими множество ископаемых видов гоминин, и “объединителями”,

относящими ископаемые остатки всего к паре-другой видов. Кроме того, у палеонтологии есть и другие, так сказать, врожденные противоречия. Есть знаменитая фраза антрополога Винсента Сарича, работавшего с Аланом Уилсоном в 1980-х. Он сказал, что у ныне живущих людей предки были наверняка, иначе бы они, люди, сейчас не жили, а вот в обратную сторону – неизвестно: были у найденных ископаемых людей потомки или нет. И в самом деле, большинство ископаемых остатков из музеев выглядят вполне “по-человечески”, потому что у нас с ними в глубоком прошлом обязательно найдутся общие предки, но очень часто эти ископаемые люди не имеют прямых современных потомков, то есть они что-то вроде генеалогического тупика на нашем семейном древе. И тем не менее многие мысленно помещают их в категорию “наших предков”. Временами в приступах мечтательного энтузиазма мне видится, как с помощью ископаемых ДНК мы навсегда избавляемся от этих привычных двусмысленностей.

Среди критиков-мультирегионалистов числился знаменитый палеонтолог Эрик Тринкаус. Он заметил, что в работе с неандертальцами мы, возможно, все время совершаем одну и ту же ошибку, отбрасывая как загрязнения любые цепочки ДНК, напоминающие ДНК современного человека. Он утверждал, что любые из отброшенных фрагментов могут оказаться своими, неандертальскими. И действительно, некоторые костные образцы неандертальцев давали на выходе только последовательности, похожие на современные.

Но как раз про такие образцы я точно знал, что их неряшливо хранили, а потому не сомневался, что все эндогенные фрагменты в них давно разложились и к нам в пробирки попадают только привнесенные ДНК. И все же в рассуждениях Тринкауса логика имелась, и я понимал, что к его аргументам нужно отнестись серьезно.

К этой задаче обратился Давид Серр, французский аспирант из Гренобля. Голову его украшала невероятная копна густейших волос, зимой он носился как сумасшедший на горных лыжах, летом бесстрашно скатывался по каньонам с головокружительных водопадов. Мы решили, что если он останется жив после всех своих эскапад, то пусть выяснит, у всех ли неандертальцев митохондриальные ДНК такие же, как и у “типичного” неандертальца, и есть ли они у ранних людей современного типа, живших в Европе одновременно с неандертальцами. Вот этот-то последний вопрос и являлся основным. Как уже говорилось, выживание того или иного варианта мтДНК – это дело случая. Можно себе представить, что ранние представители современных людей добрались до Европы, там перемешались с местными жителями, неандертальцами. Тогда некоторые (или даже многие) из них получили неандертальские мтДНК, но не передали их последующим поколениям. Так могло быть, если у мам с неандертальскими мтДНК не рождались дочери.

Именно такой сценарий описал шведский биолог-теоретик Магнус Норборг вскоре после нашей публикации в *Cell* в 1997-м.

Подобные рассуждения ужасно меня раздражали, так как в них некорректно смешивались два разных вопроса. Первый вопрос – внесли ли неандертальцы генетическую лепту, которую можно отследить сегодня в составе мтДНК современного человека. Мы ответили на него отрицательно. И второй вопрос – смешивались ли люди с неандертальцами. На это ответа у нас не было. Тем не менее я считал первый вопрос более интересным и значимым.

Мне важно было знать, есть ли у меня или у кого-то из моих современников неандертальская ДНК. Если мы *не* унаследовали ДНК неандертальцев, то любые межвидовые скрещивания или нескрещивания 30 тысяч лет назад с генетической точки зрения значения не имеют. В разговорах с журналистами я неизменно подчеркивал этот аспект. Чтобы выразиться еще яснее, я говорил, что меня совершенно не интересует сексуальное поведение в позднем плейстоцене, если только это поведение не оставило в нас сегодняшних какие-нибудь генетические следы. Иногда добавлял, что меня бы удивило, если бы те люди не воспользовались возможностью вступать в половые связи с неандертальцами. Но для нас важно только одно: появлялись ли у них после этого дети, чтобы передать родительские гены далеким нам.

Несмотря на раздражение, я поручил Давиду эту задачу: отследить неандертальскую мтДНК у ранних людей из Европы, пусть даже эта ДНК и исчезла из современных геномов.

А если древние европейцы в какой-то момент получили неандертальскую мтДНК, то почему бы им не унаследовать от неандертальцев и ядерную ДНК? А это значит, что какие-то фрагменты неандертальской ядерной ДНК могли сохраниться у нас.

Мы разослали письма в несколько европейских музеев с просьбой прислать костный материал по неандертальцам и ранним представителям людей. Наш успех с исследованием “типичного” неандертальца несколько смягчил сердца музейных хранителей и позволил набрать образцы костной ткани двадцати четырех неандертальцев и сорока ранних людей современного типа. Давид проанализировал аминокислоты из всех шестидесяти четырех образцов. Судя по степени сохранности, только в образцах четырех неандертальцев и пяти человек можно было предполагать присутствие мтДНК – такова была суровая, хотя и предсказуемая реальность. Давид выделил ДНК из девяти костей и запустил ПЦР, используя праймеры для амплификации мтДНК и человекообразных обезьян, и неандертальцев, и, естественно, людей. Он получил продукты амплификации для всех девяти образцов. Составленные последовательности оказались идентичными современным. Неужели Тринкаус все-таки прав?

Я велел Давиду повторить эксперимент, только теперь взять в оборот костный материал от пятых пещерных медведей из Виндии и одного из Австрии. И что вы думаете!

Амплификация вытяжек костей медведей тоже дала человеческую нуклеотидную последовательность. Мы опять – я еще больше уверился в этом – получали на выходе цепочки человеческой современной ДНК, занесенной при работе с образцами. Давид старательно составил праймеры, которые должны были амплифицировать исключительно неандертальскую или похожую на нее мтДНК, но никак не мтДНК человека. Мы проверили эти праймеры на разнообразных ДНК, а затем опробовали их на пещерных медведях. Ничего. Амплификация не дала ничего. Прекрасно: это значило, что праймеры и впрямь специально предназначены для амплификации неандертальской мтДНК. Он испытал эти праймеры на вытяжках из неандертальских и человеческих костей. Из всех неандертальских костей он получил последовательности, похожие на те, что мы получили из “типичного” неандертальца, подтвердив еще раз, что у неандертальцев нет митохондриальных нуклеотидных последовательностей, свойственных современным людям. И напротив, ни один из образцов пяти представителей ранних людей не показал наличие “типичных” неандертальских последовательностей. Похоже, Тринкаус ошибался.

Тем не менее эту тему хорошо было бы развить, и мы обратились к теории. Мы смоделировали популяцию древних людей, в которой они скрещивались с неандертальцами, а затем их потомки просуществовали в течение 30 тысяч лет и дожили до сегодняшнего дня. Затем мы спросили себя, каков мог быть наибольший генетический вклад неандертальцев в генофонд, если ни у ныне живущих, ни у ранних людей неандертальской мтДНК не обнаружено (это мы приняли за данность). По этой модели (весьма упрощенной, так как мы не включали в нее, например, скорость роста современного населения) мт-геном и ядерный геном современного человека не могут содержать больше 25 процентов неандертальской ДНК. Но мы ведь не обнаружили прямых доказательств неандертальского генетического вклада в современный генофонд, значит, резонно допустить, что этого вклада просто не было.

Я считал, что такой результат прекрасно иллюстрирует сильные стороны нашего подхода в противоположность классическому палеонтологическому анализу. Мы пользовались четко сформулированными предпосылками и делали заключения с определенной вероятностью.

Никакой морфологический анализ костных фрагментов не мог сравниться с нашим по отточенности и объективности. Многие палеонтологи говорили об объективности и действенности собственных методов, но эти методы почему-то уже два десятка лет не могут дать сколько-нибудь определенный ответ, передали нам неандертальцы гены или нет; так что

палеонтологический подход, по всей видимости, имеет серьезные ограничения.

Мы опубликовали результаты работы Давида[40], и после этого группа теоретиков из Швейцарии, возглавляемая популяционным генетиком Лораном Эскофье, разработала более развернутую модель взаимодействия неандертальцев и представителей ранних людей. Они допустили, что когда люди, анатомически уже достигшие уровня современного человека, мигрировали в глубь Европы, любое смешение с неандертальцами происходило на границе миграционной волны. Для такой первой миграционной волны характерна небольшая численность популяции с быстрым последующим ростом. Швейцарская группа показала, что в соответствии с этой моделью даже редкие случаи скрещивания оставят след в митохондриальном генофонде, так как в среднем в растущей популяции у женщин чаще рождаются дочери, которые и передадут материнскую мтДНК. В этом случае, то есть в случае растущей популяции, у неандертальской мтДНК, попавшей в генофонд человека, меньше вероятность исчезнуть, чем при постоянной численности популяции. Так как мы не смогли обнаружить следов неандертальской мтДНК ни у представленных пятерых ранних людей, ни у тысяч живущих сейчас (по материалам наших и других исследований), группа Эскофье заключила, что все указывает на “практически полную нескрещиваемость неандертальских женщин и сапиентных мужчин и, следовательно, перед нами два разных биологических вида”[41].

По мне, такой вывод был вполне допустим, хотя, конечно же, оставалась вероятность, что обстоятельства, при которых неандертальцы и люди скрещивались, были какими-то особенными и наши модели не могли их учесть. Например, если все дети от таких смешанных связей оставались жить в неандертальских сообществах, их генетический вклад был бы равен нулю, и картина выглядела бы как результат “практически полной стерильности”, как выразилась швейцарская группа. Или представим себе, что скрещивание происходило между мужчинами-неандертальцами и женщинами-людьми, и тогда подобные события не оставили генетического следа в генофонде мтДНК, так как мужские особи не передают мтДНК своему потомству. Такой процесс оставит след только в ядерном геноме. Так что если мы хотим понять, как встречи наших предков с неандертальцами повлияли на состав нашего с вами генома, нам определенно нужно братья за ядерный геном неандертальцев.

## **Глава 9**

### **Поближе к ядру**

Работа Хенрика с X-хромосомой показала, что закономерности сходства и различия между мтДНК обезьяны и человека распространяются, по крайней мере, на некоторую часть ядерного генома. А что же касается неандертальца, то невозможно было предугадать, сможем ли мы когда-нибудь добраться до его ядерного генома. В периоды уныния я думал, что мы навечно уткнулись в бледную и упрощенную митохондриальную историю человека.

Понятно, что, не считая результатов всяких затейливых “допотопных” исследований вроде растений из янтаря или динозавров (а я их и не считал настоящими результатами), еще никому не удавалось выделить ядерную ДНК из древних остатков. Но когда уныние уступало здравому смыслу, то казалось, что попробовать все же стоит.

Именно в тот момент в лабораторию прибыл Алекс Гринвуд, ростом маленький, но очень настойчивый. Я посвятил его в наши планы по выделению ядерной ДНК и честно предупредил, что хотя результат чрезвычайно для нас важен, вероятность получить его невелика. Алекс принял вызов.

Я предложил метод “массированной атаки”. Это вот что: тестировать все подряд образцы костной ткани и отобрать те, у которых митохондриальная ДНК сохранилась наилучшим образом, затем экстрагировать всю ДНК из большего количества ткани – вдруг да объявится ядерная. Мы, конечно, не могли себе позволить обрабатывать подобную методику на материале собственно неандертальцев; сохранившихся остатков было слишком

мало, и слишком они были ценны, а риск провала слишком велик. Поэтому мы решили попробовать поработать с костями животных, материалом более массовым и потому менее ценным для палеонтологов. Вот тут-то и пригодились кости пещерных медведей, которые я вывез из темных подвалов Института четвертичной палеонтологии в Загребе. Те кости раскопали в известняковой пещере Виндия, как раз вместе с костями неандертальцев, из которых мы выделили ДНК. Так что если бы нам удалось выделить ядерную ДНК из медведей, то почему бы после не попробовать то же и с неандертальцами?

Для начала Алекс экстрагировал всю ДНК из костей хорватских пещерных медведей – а их возраст, напомним, от 30 до 40 тысяч лет. Затем он проверил, содержат ли экстракты мтДНК, схожие с медвежьими. Да, содержат. Он выбрал те вытяжки, в которых нашлось наибольшее количество мтДНК, и попробовал амплифицировать из них короткие фрагменты ядерной ДНК. Не получилось. Алекс приуныл, я тоже расстроился, но не удивился. Он столкнулся с хорошо мне знакомой проблемой: так как каждая клетка имеет сотни митохондриальных геномов и только два ядерных, то количество каждого конкретного фрагмента ядерной ДНК уменьшается сто- или тысячекратно по сравнению с количеством отдельно взятого фрагмента мтДНК. Так что даже если в наших экстрактах и присутствовало некоторое минимальное количество ядерных нуклеотидов, то вероятность того, что амплифицируются именно они, падала в 100–1000 раз.

Проблема решалась очевидным способом: увеличить количество костного материала. Алекс сделал экстракты из большего количества кости и попробовал амплифицировать более короткие участки ядерных ДНК. Он использовал такие праймеры, которые подсоединялись к концам исключительно медвежьих ДНК-фрагментов, но наверняка не человеческих. Это для того, чтобы не тратиться лишний раз на человеческие ДНК-загрязнения. В этот раз Алекс не получил ничего, вообще ничего. Из этого мегаэкстракта не удалось амплифицировать даже митохондриальной ДНК. Ничего.

После нескольких недель бесплодных попыток и опытов с различными костями мы наконец догадались, что из большого количества ткани просто невозможно экстрагировать ДНК. И не потому, что амплифицировать там нечего, а потому, что экстракты содержали какое-то вещество, угнетающее ферменты, участвующие в ПЦР; ПЦР останавливалась, и на выходе оказывалось пусто. Мы промучились некоторое время, пытаясь определить и убрать непонятный ингибитор, но не смогли. Мы стали постепенно, поэтапно разбавлять экстракт, пока амплификация мтДНК снова не активировалась. Определив разбавленный до нужной концентрации раствор, мы пробовали амплифицировать ядерную ДНК. И получали... неудачу за неудачей. Я старался сохранять оптимизм, но шли месяцы, и Алекс все больше падал духом и волновался: будут ли вообще хоть сколько-нибудь годные для публикации результаты?.. Мы обдумывали и такую возможность: после смерти животного ядерные ДНК разрушаются ферментами, проникающими сквозь ядерную мембрану разлагающейся клетки. Митохондриальная же ДНК окружена двойной мембраной, потому лучше защищена от ферментных атак. Следовательно, у нее больше шансов дожидаться, пока органическая ткань высохнет, замерзнет или окажется так или иначе недоступна для ферментов, и, таким образом, она может сохраниться. Такой сценарий заставил меня задуматься, а возможно ли в принципе обнаружить древнюю ядерную ДНК, даже если мы сумеем справиться с проблемой ингибитора ПЦР. Мало-помалу я, как и Алекс, впал в уныние. Итак, пещерные медведи нас подвели. Мы предположили, что, быть может, условия, в которых находились кости, просто не благоприятствовали сохранению ядерной ДНК. И мы приняли решение переключиться на другой материал, самой лучшей, как мы ожидали, сохранности: остатки мамонтов из вечной мерзлоты в Сибири и Аляске. Те мамонты замерзли сразу после смерти, а замораживание, как мы знаем, замедляет или совсем прекращает развитие бактерий и множество других химических реакций, включающих и разрушительные для ДНК. Мы уже знали из работ Матиаса Хёсса, что мамонты из Сибири дают большое количество мтДНК. Правда, неандертальцев никогда не находили в вечной мерзлоте, так что работа с мамонтами означала шаг в сторону от моей конечной цели. Но нам нужно было как-то узнать, способна

ли в принципе ядерная ДНК пережить 10 или даже 100 тысяч лет. Если мы не найдем ядерные нуклеотиды в замороженных тканях мамонта, то всё, можно прекращать поиски: неандертальцев находят в куда менее благоприятных для сохранения условиях, и ядерная ДНК там уж и подавно не сохранится.

К счастью, я систематически коллекционировал древние кости из разных музеев, так что Алекс смог немедленно опробовать наши идеи на имеющемся материале. Он отобрал зуб мамонта, в котором осталось особенно много мтДНК. Этот зуб выкопали из вечной мерзлоты, когда строили главное шоссе на Аляске, идущее от северо-востока Британской Колумбии до Фэрбенкса. Шоссе строили в страшной спешке во время Второй мировой войны. Зуб нашли, положили в большую коробку и оставили ее в Американском музее естественной истории, там он с тех пор и лежал. Чтобы облегчить работу по выделению ДНК, мы наметили сегмент ядерного генома, содержащего часть гена, известного как 28S рДНК; он кодирует одну из молекул РНК рибосом, органелл, управляющих синтезом белков в клетке. Преимущество этого гена нам виделось в том, что в одной клетке содержалось несколько сотен его реплик. И получалось, что после смерти животного подобных фрагментов оставалось примерно столько же, сколько и мтДНК. К моему великому облегчению и радости, у Алекса получилось амплифицировать этот рибосомальный ген. Он секвенировал размноженные копии из вытяжки мамонта и реконструировал нуклеотидную последовательность этого гена, используя методику перекрывающихся участков. Эту методику мы отработали, еще когда изучали неандертальскую мтДНК. Затем Алекс взялся сравнить полученную последовательность с соответствующими цепочками африканских и индийских слонов, ближайших родственников мамонта. У меня тогда по поводу загрязнений началась прямо-таки паранойя, и я запретил Алексу и вообще кому-то из лаборатории работать с ДНК слонов до тех пор, пока Алекс не получит результат по мамонтам. И вот теперь, выйдя наконец из “чистой комнаты”, Алекс занялся секвенированием гена 28S рДНК слонов, применив тот же праймер, что и для мамонта. И получил ту же последовательность. Соответствующий фрагмент ДНК африканских слонов отличался все же по двум позициям, что говорило о том, что мамонты ближе к индийским, чем к африканским слонам. Мы, конечно, сравнили мамонтов со слонами, но не это являлось целью всей затеи: нам нужно было выделить древнюю ядерную ДНК. Чтобы подтвердить возраст, мы отправили ткань зуба того мамонта на углеродное датирование. И когда в ответном сообщении открылось “14 тысяч лет”, я в первый раз за много месяцев удовлетворенно расслабился. Так мы впервые в истории получили ядерную ДНК позднего плейстоцена.

Вдохновленный результатом, Алекс придумал праймеры для амплификации двух коротких участков фрагмента особого гена, который носит название “ген фактора Виллебранда”; в геноме слона содержится только по одному такому гену. Фактор Виллебранда – его ген записывают как vWF – это белок крови, который помогает тромбоцитам прикрепляться к поврежденным кровеносным сосудам. Мы выбрали именно этот ген, так как его нуклеотидная последовательность как у слонов, так и у многих других млекопитающих уже была известна, и нам оставалось только выделить его из тканей мамонта и сравнить с уже имеющимися, современными. Я глазам не поверил, когда на очередном еженедельном лабораторном обсуждении Алекс показал картинку с полосками в геле, и это было не что иное, как амплифицированные фрагменты гена мамонта. Он повторил эксперимент дважды, каждый раз с заново приготовленными экстрактами из мамонтовой кости. Среди множества клонов, которые он секвенировал, были хорошо видны ошибки в отдельных молекулах ДНК, появляющиеся или из-за химического разрушения древних ДНК, или из-за пристраивания неправильного нуклеотида к цепочке ДНК при ПЦР (рис. 9.1). Но для одной из позиций Алекс заметил интересную закономерность. Он секвенировал в общей сложности тридцать клонов, проведя для каждого три независимые серии ПЦР. В одной из позиций у пятнадцати клонов стояло Ц, у четырнадцати – Т и у одного А. Единственный случай с аденином (А) мы посчитали ошибкой ДНК-полимеризации, но остальная картинка – у меня сердце замерло... Это конкретное место в цепочке являлось тем, что генетики

называют гетерозиготной позицией, или, иначе, точечным нуклеотидным полиморфизмом (сокращенно – SNP, СНИП). В этом месте две копии данного гена, полученные от мамы-мамонтихи и папы-мамонты, различались. И нам удалось увидеть самую первую гетерозиготную позицию, СНИП, ледникового периода. То есть мы имели дело с генетикой в чистом виде, с генетикой в действии, если хотите, – вот вам ядерный ген, у которого в популяции встречается два варианта. Дело пошло на лад. Если нам удалось прочитать оба варианта этого гена, тогда, в принципе, остальные части генома тоже могут быть доступны. И таким образом, откроется возможность, по крайней мере теоретически, получать генетическую информацию о видах, вымерших много тысяч лет назад.

*Рис. 9.1. Клонированные ДНК последовательности по трем амплификациям фрагмента ядерного гена мамонта возрастом 14 тысяч лет. Стрелка показывает на гетерозиготную позицию, или СНИП, впервые обнаруженную для ДНК из позднего плейстоцена. Из A.D. Greenwood et al. Nuclear DNA sequences from late Pleistocene megafauna. Molecular Biology and Evolution 16, 1466- 1473 (1999)*

Чтобы закрепить успех, Алекс отсековировал еще два фрагмента генов, имеющих по одной копии в ядре. Один из них кодировал белок, регулирующий выделение нейромедиаторов в мозге, а другой – белок, связывающий витамин А; этот последний вырабатывался палочками и колбочками в глазу. И в обоих случаях у Алекса все превосходно получилось.

Мы так долго бились с ядерной ДНК, что Алексовы результаты с мамонтом были встречены с величайшей радостью, и у меня несколько дней царил прямо праздник на душе. Но... не мамонты интересовали меня, совсем не мамонты. Неандертальцы – вот моя цель, а я точно знал, что в вечной мерзлоте неандертальцев не бывает. Я убедил Алекса вернуться к пещерным медведям и попробовать еще раз материал из Виндии: проверить, не сможем ли мы все же получить ядерную ДНК из остатков, не подвергшихся заморозке.

Он проанализировал мтДНК нескольких пещерных медведей и выбрал кость, в которой, по всей видимости, ДНК содержалось больше всего. Мы сделали ее углеродный анализ – оказалось, 33 тысяч лет, что приблизительно соответствовало возрасту неандертальцев.

Алекс стал работать именно с этой костью. Он попробовал выделить гены рибосомальной РНК – а в геноме множество их копий. И действительно, после амплификации Алексу удалось получить небольшое их количество. Далее он реконструировал последовательность из амплифицированных клонов. И выяснил, что у пещерных медведей она идентична соответствующим нуклеотидным последовательностям современных медведей.

Безусловно, это был успех, но с “ложкой дегтя”. Мы затратили столько усилий на ген с множеством копий в геноме; а что, если речь пойдет о гене, у которого есть только одна копия, например о vWF, с которым Алекс работал на мамонтовом материале? Тогда эксперименты заведомо обречены на провал. Алекс тем не менее попробовал и, как и ожидалось, потерпел неудачу. В глубине души – я никому об этом не рассказывал – я глубоко огорчился результатами экспериментов. Мы показали, что ядерная ДНК способна выдержать более десятка тысяч лет в вечной мерзлоте и что только следы даже самой распространенной ядерной нуклеотидной последовательности обнаруживаются в костях пещерных медведей. Разница между замораживанием и хранением в известняковой пещере была огромной.

В 1999 году мы опубликовали все открытия Алекса в прекрасной, на мой взгляд, работе[42], которую незаслуженно обошли вниманием. Там доказывалось, что ядерная ДНК сохраняется в остатках из вечной мерзлоты и что в ней даже можно выявить гетерозиготную позицию, такую, где две хромосомные копии несут разные варианты нуклеотидных

последовательностей. Мы с уверенностью говорили о перспективах генетических исследований остатков из вечной мерзлоты и в конце работы написали: “В отложениях вечной мерзлоты и в других холодных средах находится множество животных остатков. В подобных остатках выявляются не только мтДНК, но и ядерные ДНК-последовательности, причем во многих случаях представленные в геноме единственной копией; это открывает перспективы использования ядерных локусов в филогенетических и популяционных генетических задачах, а также в исследованиях генов, определяющих фенотипические признаки”.

Со временем другие ученые продолжили эти исследования, однако произошло это нескоро, через пять или даже десять лет. Но что еще обиднее, на тот момент казалось, что если только неандертальца не раскопают в вечной мерзлоте, никогда нам не увидеть целого неандертальского генома.

## Глава 10 Вот они, ядра

Тем временем дела в лаборатории под моим руководством продвигались вперед, медленно, но верно. И все-таки, стоило мне остаться одному, например отгородившись от мира ремнем самолетного кресла или слушая в затемненном зале не слишком интересную лекцию, как прежняя досада возвращалась: ядерную ДНК неандертальцев так и не удалось выделить. Но я знал, я чувствовал, что она там есть, должна быть, и пусть ПЦР хоть сто раз отрицает это. Просто нужно как-то исхитриться достать эту ядерную ДНК.

Очередную попытку в этом направлении предпринял Хендрик Пойнар. Исчерпав терпение в бесплодных попытках отыскать ДНК флоры и фауны, заключенной миллионы лет назад в янтарь, он решил приложить силы к задаче более перспективной. Нам с ним в некотором смысле повезло: я попал на скучную конференцию и от нечего делать обдумывал наши разработки касательно выделения ДНК из помета животных. Например, мы изучали вымершего гигантского наземного ленивца из ледникового периода. Гигантские ленивцы оставили большое количество помета, который археологи окрестили милым научным термином “копролиты”. Даже больше – например, пол в некоторых пещерах в Неваде почти целиком состоит из окаменевших экскрементов гигантского ленивца. В статье 1998 года в *Science* Хендрик уже обозначил присутствие и сохранность в подобном материале мтДНК. Мы описали процесс реконструирования растительной ДНК из одного такого комка и показали, как с помощью копролитов можно воссоздать меню ленивца, пообедавшего незадолго до своей гибели 20 тысяч лет назад[43]. Такой прекрасный результат позволял предположить, что окаменевший помет содержит большое количество ДНК, в том числе и ядерной. Я предложил Хендрику попробовать это выяснить.

Хендрик начал с того, что применил наши прошлогодние химические уловки. Еще в 1985-м, когда занимался анализом мумий из Берлина, я заметил, что почти все вытяжки содержат некий компонент, который под ультрафиолетом светится голубым, и что если видишь голубое свечение, то ДНК в экстракте нет. Я не знал, что это за компонент, но наблюдение болезненно врезалось в память из-за тогдашнего разочарования: голубое свечение появлялось вместо розового, на которое я надеялся. По ходу изучения химических процессов, происходящих в тканях тела после смерти и в следующие десятки тысяч лет, мне попала информация о явлении, известном как реакция Майяра. Этой химической реакцией занимается в основном пищевая индустрия. Так совпало, что моя мать была химиком-пищевиком, и она прислала мне кипу литературы на эту тему. Реакция Майяра происходит, когда нагревают обычные формы сахара или же подвергают их длительному воздействию сравнительно невысоких температур. В результате сахар образует связи с аминокруппами из белков и ДНК, и получаются длинные, спутанные молекулярные комплексы. Эта реакция запускается в разных процессах приготовления пищи; например, цвет и приятный запах свежее испеченного хлеба являются ее побочными эффектами. Но меня

интересовал не запах и цвет, а то, что продукты реакции в ультрафиолете светились голубым. Я подумал: а не происходит ли нечто подобное в химическом плане и с мумиями? В моей голове реакция Майяра ассоциировалась (наверное, неправильно) не только с голубым свечением, но и с характерным коричневым цветом мумий и их сладковатым запахом, вполне для меня приемлемым. И у меня возникло подозрение, что неудачи с выделением ДНК из мумий сопряжены с тем, что реакции Майяра связали древнюю ДНК с другими молекулами.

Ну что же, эту догадку можно проверить. В 1996 году в *Nature* вышла статья, описывающая химический реагент N-фенацил тиазолиум бромид, сокращенно РТВ, разлагающий молекулярные комплексы, образованные реакцией Майяра[44]. Если добавить РТВ в испеченный хлеб, то он превратится обратно в тесто (правда в такое, которое уже никому не захочется испечь снова). Так как в готовом виде РТВ не продавался, Хендрик синтезировал его в лаборатории. Когда мы добавляли реагент в вытяжки из костей пещерных медведей или неандертальцев, то иногда действительно получалась более высококачественная амплификация. И когда Хендрик добавил РТВ в копролит из Невады возрастом в 20 тысяч лет, ему удалось амплифицировать и фрагменты vWF гена, того, который Алекс секвенировал из замороженного мамонта, а еще фрагменты двух других ядерных генов – все это к моему величайшему удивлению. Мы опубликовали результаты в июле 2003 года[45]. Наконец-то у нас получилось продемонстрировать, что ядерный геном сохраняется не только в условиях замораживания.

Вдохновленный результатами, я уже решил, будто все идет к тому, чтобы возобновить эксперименты по выделению ядерной ДНК из пещерных медведей, теперь с помощью РТВ.

Печально, но ничего не вышло. Химические ухищрения не помогли. На самом деле в какой-то момент стало понятно, что копролит из Невады – это редчайшее исключение, где РТВ срабатывает. Исследования копролитов тем не менее укрепили меня во мнении, что ядерная ДНК в остатках есть, нужно только придумать новый способ ее найти.

Я спрашивал всех, кого только можно, о способах секвенирования небольших количеств ДНК. В числе прочих я подверг “допросу” шведского биохимика Матиаса Улена, неутомимого изобретателя и предпринимателя от биотехнологий. Матиас обладал безграничной энергией и с детским восторгом относился к новым идеям, заражая своим энтузиазмом творческих людей, неизменно собиравшихся вокруг него. После встреч с ним я всегда возвращался в приподнятом настроении. Одной из творческих личностей в его окружении был Поль Нюрен. Десять лет назад он, несмотря на всеобщий скептицизм, изобрел и разработал новый метод секвенирования ДНК. Матиас тотчас же разглядел научный потенциал изобретения Поля. Еще он осознавал, что технологии секвенирования ДНК пора уже обновлять: мы до сих пор использовали методики, разработанные Фредом Сэнгером в Англии, за что он и получил в 1980 году свою вторую Нобелевскую премию по химии.

Метод секвенирования Сэнгера основан на прикреплении нуклеотидов поочередно друг за другом ДНК-полимеразой, ферментом, который выстраивает новую цепочку ДНК на матрице имеющейся цепочки. В реакции секвенирования ДНК-полимераза берет старт от праймера в назначенном месте ДНК. Далее небольшие порции каждого из четырех нуклеотидов метят разными флуоресцентными красителями и, кроме того, немного изменяют их химически. В результате после встраивания такого измененного нуклеотида реакция секвенирования останавливается именно в месте его прикрепления. Получаются цепочки ДНК разной длины, и концы таких фрагментов раскрашены разными цветами. По этим цветам можно понять, что за нуклеотид сидит на конце. Эти фрагменты – а они разной длины – подвергают процедуре электрофореза. При электрофорезе кусочки ДНК распределяются в геле соответственно своим размерам (длинам, молекулярным весам). И тогда можно посмотреть, как цветные метки и, следовательно, нуклеотиды в этом геле расположены: например, метка и нуклеотид в 10-й позиции от места старта, в 11-й позиции, в 12-й и т. д. На самом лучшем оборудовании

для считывания, какое использовалось, к примеру, в проекте “Геном человека”, можно анализировать сразу сотни фрагментов ДНК длиной до 800 нуклеотидов. И что же проделал Поль Нюрен в лаборатории Матиаса? А вот что: он изобрел новый метод секвенирования, так называемый метод пиросеквенирования. И хотя пиросеквенированию предстояло еще хорошенько повзрослеть, но в перспективе оно обещало стать и быстрее, и проще метода Сэнгера.

При пиросеквенировании тоже используется ДНК-полимераза; она так же выстраивает комплементарные цепочки ДНК на матрице, но определение череды новоприкрепленных нуклеотидов устроено по-другому, в обход трудоемкого процесса разделения фрагментов по размеру. В этом случае нуклеотиды определяются по световым вспышкам, которые испускаются в момент присоединения нуклеотида к цепочке ДНК. Поль придумал, что можно добавлять в реакционную камеру по одному из четырех типов нуклеотидов по очереди. И тогда при добавлении, например, А (аденина) к исходной цепочке с концевым Т (тимин) ДНК-полимераза пристроит аденин к тимину, и в этот момент в результате химических реакций произойдет световая вспышка. Эту вспышку можно зафиксировать мощной камерой и передать на компьютер. А если в концевой позиции стоит не тимин, а любой другой нуклеотид – что же, тогда реакции не произойдет и светового импульса не будет. Поль добавлял в реакционную камеру по очереди нуклеотид за нуклеотидом, повторяя цикл за циклом. По вспышкам света он мог прочитать всю нуклеотидную последовательность фрагмента ДНК. Прекрасный метод: требуется только своевременно добавлять нуклеотиды и другие компоненты в реакционную камеру и следить за отснятыми картинками. Но что еще лучше – этот процесс можно легко автоматизировать.

И когда Матиас обо всем этом рассказывал, я воодушевился не меньше, чем он. Спустя некоторое время Матиас пригласил меня поучаствовать в экспертном совете компании “Пиросеквенирование”, которую они с Полем учредили для разработки коммерческого продукта на основе новой технологии. Я с удовольствием согласился: это давало мне возможность быть в курсе развития замечательной технологии, которая, как я считал, могла здорово изменить наши методы изучения палео-ДНК. Я стал членом экспертного совета в 2000 году, спустя год после запуска в производство первого коммерческого аппарата. Он секвенировал одновременно девятью шесть фрагментов ДНК, каждый в отдельной лунке пластикового планшета. Однако этот аппарат мог прочитать подряд только тридцать последовательных нуклеотидов или около того. По сравнению с современными машинами, работающими на принципе Сэнгера, “тридцать нуклеотидов” звучало довольно жалко, но ведь пиросеквенирование делало первые шаги и еще не достигло предела своих возможностей. На самом деле, хотя тогда я и не понимал этого, Нюрен положил начало революции в секвенировании, известной теперь как секвенирование второго поколения, которая в конце концов фундаментально изменила не только подход к изучению ископаемой ДНК, но и множество направлений в биологии.

Я очень хотел опробовать пиросеквенирование и поэтому уговорил Хенрика Кессманна отправиться в стокгольмскую лабораторию Матиаса в Королевский технологический институт. Хенрик ухватился за возможность полюбоваться на вытянутые от удивления лица стокгольмцев, когда он поприветствует их на безупречном шведском; хоть он и вырос в Германии, мать его была шведкой, и он прекрасно говорил на ее языке. Кроме того, он лихо управлялся с данными о современном народонаселении Европы и Азии и на их основе мог реконструировать возможные генетические связи между популяциями. Что же до новых технологий – он их отлично освоил, хотя не обошлось без трудностей.

В августе 2003 года совет компании “Пиросеквенирование” подписал разрешение на использование нового инструмента американской компанией *454 Life Sciences*, основанной предпринимателем-биотехнологом Джонатаном Ротбергом. *454 Life Sciences* намеревалась улучшить методы пиросеквенирования с помощью ультрасовременной струйной автоматикой. Их нововведения базировались на присоединении коротких синтетических ДНК к концам фрагментов изучаемой ДНК. С помощью этих коротких кусочков одноцепочечные нити ДНК

прицеплялись к микрошарикам, и затем в жировых капельках на шариках проходила массивированная амплификация присоединенных фрагментов. В результате этого гениального хода в капельках жировой эмульсии синтезировались одновременно, но по отдельности, каждая в своей капельке, сотни тысяч нитей ДНК. Затем шарики разделялись на планшетке теперь уже с тысячами лунок, и далее начинался собственно пирофосфатный этап. И наконец (и это такое серьезное “наконец”!), составлялись таблицы вспышек для каждой лунки в каждом цикле. Для этого компания позаимствовала методику регистрации световых импульсов у астрономов – ведь астрономам приходится наблюдать миллионы ночных звезд и как-то регистрировать свои наблюдения. И все это вместе позволило секвенировать за раз не девятсто шесть, а двести тысяч фрагментов ДНК!

С такими мощностями, подумал я, мы могли бы просто секвенировать все подряд фрагменты палео-ДНК из вытяжек, все, что попадет, а потом проверять, что в них содержится. Метод “массивированной атаки”, по сути, прямо противоположен тем техникам, когда приходится вылавливать каждый тщательно выбранный заранее кусочек ДНК. По сравнению с пиросеквенированием метод, основанный на выискивании отдельных сегментов с помощью ПЦР, не только ужасно трудоемок, но и решительно ограничивает поле зрения только одним, заранее заданным фрагментом, лишает возможности посмотреть, какие же еще ДНК содержатся в вытяжке. И хотя с помощью тогдашнего инструментария *454 Life Science* нельзя было прочитать фрагмент длиннее ста нуклеотидов, но ведь цепочки, секвенированные Алексом из мамонта и Хендриком из гигантского ленивца, все равно получались не больше ста нуклеотидов. Мне не терпелось опробовать технику *454*.

О новых методиках я советовался не только с Матиасом и остальными “пиросеквенистами”. В июле 2005 года нашу лабораторию в Лейпциге посетил Эдвард Рубин, генетик, человек кипучей, неукротимой энергии. Встречи с ним я ждал с нетерпением. Он занимал должность профессора в Лоуренсовской лаборатории в Беркли, в Калифорнии, и еще являлся директором Объединенного института генома при министерстве энергетики США.

Эдди считал, что будущее за клонированием ДНК в бактериях, то есть примерно за тем, с чего я сам начинал работу с мумиями еще в 1980-х в Упсале. Эти методы, убеждал он меня, стали теперь намного более эффективными, чем в те давние времена. Я согласился проверить эффективность новых методик и отправил ему в лабораторию в Беркли экстракты двух костей пещерных медведей, содержавшие, как мы уже знали, большое количество мтДНК. В его лаборатории к молекулам ДНК из этих вытяжек присоединили молекулы-транспортёры и с их помощью внедрили ДНК в бактерий. По ходу роста и деления каждой бактерии получается клон, содержащий тысячи копий уникальной ДНК из костной вытяжки. Остается взять и прочитать ДНК каждого из получившихся клонов, словно книги из обширной библиотеки. Команда Эдди использовала традиционную химию Сэнгера для секвенирования 14 тысяч случайным образом выбранных клонов из двух библиотек – о таких цифрах в 1984-м можно было только мечтать. Из 14 тысяч клонов только 389, то есть 2,7 процента, содержали цепочки ДНК, похожие на те, что имеются у собак, и, таким образом, с большой вероятностью принадлежавшие пещерным медведям.

Остальное пришло от бактерий и плесени, поселившихся на костях после смерти животного. И хотя пропорция собственной медвежьей ДНК была до смешного мала, но все же результат вдохновлял: значит, ядерная ДНК все-таки есть в костях из пещер Европы!

Результаты мы опубликовали в 2005 году в *Science*, Эдди и его группа значились основными авторами[46]. Статья несколько претенциозно утверждала, что прочитать древний геном – да, возможно. Но уже после публикации некоторые члены моей лаборатории, рассмотрев результаты более взвешенно и произведя дополнительные расчеты, пришли к неутешительным выводам. Группа из Беркли секвенировала каждый фрагмент ДНК из библиотек, которые мы им переслали, и выявила в сумме 26 861 нуклеотид из генома пещерного медведя. Если принять во внимание, что мы использовали десятую часть грамма костной ткани для составления библиотек и что геном состоит примерно из трех миллиардов

нуклеотидов, нам придется увеличить количество исследуемой ткани в сотню тысяч раз – то есть понадобится больше десяти килограммов костей. Только так нам удастся хотя бы приблизительно составить геном пещерного медведя. Предположим, мы справились с немислимо трудоемкой задачей перемолоть такое количество костей и получить из порошка вытяжки, но секвенирование в таких масштабах обойдется в баснословную сумму. И даже если с пещерным медведем как-то можно получить результат, то в случае действительно интересных ископаемых, от которых для исследования остаются в прямом смысле крохи, количественный, “массированный” подход просто бесполезен. Я лично считал, что секвенирование неандертальского генома с помощью клонирования в бактериях – это тупик. Просто невозможно, и все. По моим представлениям, большая часть ДНК должна была потеряться при получении бактериальных библиотек: ведь ДНК может просто не попасть в бактерию или, все же попав, деградировать под действием бактериальных ферментов. Эдди, однако, энтузиазма не терял и утверждал, что мы получили нехарактерно низкий процент продукта секвенирования. Он даже говорил, что следующие попытки потребуют меньше материала и наверняка окажутся более успешными.

Несмотря на все воодушевление Эдди, я был уверен, что необходимо попробовать и пиросеквенирование: неправильно полагаться только на один метод. Вариант с пиросеквенированием, казалось, прямо создан для нашего материала: мы могли избежать потерь, неизбежных, когда имеешь дело с капризной бактерией. К тому же Джонатан Ротберг вместе с 454 запустил установку, способную секвенировать сотни тысяч молекул ДНК за день. До самого Джонатана просто так было не добраться: он очень мудро забаррикадировался от одержимых ученых, которым во что бы то ни стало нужна была новая технология и которые по самую макушку завалили бы его запросами и требованиями. Я попытался до него дотянуться, но ничего не вышло. В какой-то момент я посетовал на это Джину Майерсу – тому самому гению биоинформатики, который помог знаменитому Крейгу Вентеру сложить геном человека в 2000 году. Я познакомился с Джином на съезде биоинформатиков в Бразилии в 2001 году, и его шутовское отношение к любой проблеме немедленно завоевало мою симпатию. Нас окончательно сблизил общий интерес к горным лыжам и дайвингу. К моменту нашего рассказа Джин занимал должность профессора в Беркли и выступал советником в организации Ротберга, так что в июле 2005-го он составил мне протекцию и помог связаться с Джонатаном.

И вот я говорю с Джонатаном и с Майклом Эгхольмом, датским ученым, менеджером 454, по трехсторонней электронной связи, – и волнуюсь. Да, Джонатан энергичен и напорист, как и следовало ожидать от предпринимателя такого масштаба, но его явно интересует только одно – прочитать геном динозавра! Как же мне быть и как себя вести? Ведь я всегда во всеуслышание заявлял, что секвенировать ДНК динозавра невозможно ни сейчас, ни в будущем. Я попытался как-то помягче, чтобы Джонатан не занес меня сразу в черный список, еще раз пройтись на эту тему и одновременно намекнуть на существование других презанятных геномов, особенно – продолжал намекать я – неандертальского. К счастью, Джонатана сразу же заинтриговала идея выяснить с помощью его аппарата, что делает человека человеком. Мне даже удалось убедить их с Эгхольмом, что начинать нужно с пещерных медведей и мамонтов.

И уже через неделю почта доставила экстракты мамонтовой и медвежьей кости в 454 *Life Sciences*. В это же время к нам в лабораторию поступил на работу трудолюбивый и талантливый молодой специалист – биоинформатик Ричард Эд Грин. Он только что защитил диссертацию в Калифорнийском университете в Беркли. Эд выиграл очень престижную и к тому же щедро финансируемую стипендию от Национального научного фонда США: он должен был выполнить проект по сравнению РНК-сплайсинга у человека и обезьян. Сплайсинг – это процесс, при котором из копий РНК, считанных с ДНК, вырезаются ненужные кусочки, разрезанные концы соединяются и превращаются в зрелую матричную (или, по-другому, информационную) РНК, и она уже непосредственно используется в белковом синтезе. По предположениям Эда, разница в схемах соединения разрезанных

концов РНК могла объяснить многие человеческие и обезьяньи особенности.

Он как раз этим занимался, когда пришли первые результаты из 454.

Команда из 454 составила сотни тысяч последовательностей ДНК из костей мамонта и пещерного медведя. Я поручил Эду разобраться с первоочередной проблемой: разделить медвежьи цепочки нуклеотидов и те, что принадлежали занесенным бактериям и другим организмам. Задача была не из простых. Он сравнивал последовательности геномов мамонта и пещерного медведя с геномами собаки и слона, то есть с самыми близкими из их живущих ныне родичей. Но цепочки палео-ДНК были короткими и к тому же с большой вероятностью химически видоизменились за прошедшие тысячелетия. Плюс к этому плесень и бактерии на костях определялись не слишком хорошо. Эда так захватила эта задача – распознать эндогенные последовательности, – что он совсем забросил свой сплайсинг. В конце концов он написал письмо в администрацию Национального научного фонда, ведавшую его стипендией. Он честно сообщил, что задачи его проекта изменились и теперь его интересует другое. К сожалению, в фонде мыслили недостаточно широко, чтобы понять, какие прекрасные возможности для информационной биологии открывает проект по неандертальскому геному, и попросту закрыли финансирование Эда. Хорошо, что наш бюджет позволял оставить его с нами.

Тем временем Эд подсчитал, что 2,9 процента ДНК, выделенных из костей мамонта, и 3,1 процента из костей пещерного медведя – эндогенные, то есть их собственные, а не привнесенные извне. Это значило, что результаты нашей работы с Эдди Рубином, когда клонирование ДНК в бактериях показало 5 процентов эндогенных ДНК от пещерного медведя, в действительности очень хороши. На первый взгляд 3 или даже 5 процентов не слишком впечатляют, но в абсолютных цифрах это 73 172 разных фрагментов ДНК мамонта и 61 667 фрагментов ДНК пещерного медведя. То есть всего лишь один эксперимент по новой методике 454, в котором участвовала только часть экстракта, выдал в десять раз больше информации, чем мы получили от бактериального клонирования в лаборатории Беркли. Казалось бы, вот он, настоящий прорыв, но я видел проблемы, сопряженные с новым методом. Наш обычный путь ПЦР позволял повторить эксперимент много раз и, таким образом, проверить результат и выявить возможные ошибки. Новый же метод показывал определенную последовательность только один раз: так как геномы – и мамонта, и медведя – были очень большими, то вероятность поймать один и тот же сегмент второй раз сводилась к минимуму. И в результате мы лишались возможности определить, какие отклонения могут появиться в результате химических модификаций молекул, неизбежных из-за долгого “хранения”, а также выявить ошибки собственно секвенирования.

Определение подобных ошибок – задача не новая, и у нас уже были кое-какие наработки. Вот, например, Михаэль Хофрайтер, дипломник из моей лаборатории, в 2001 году вместе с другими коллегами показал, что самый распространенный дефект древних ДНК – потеря аминокислотной группы в цитозинах. Это получается неизбежно само собой, если в материале присутствует хоть капля воды. Теряя аминокислотную группу, цитозин превращается в урацил, обычный нуклеотид РНК. ДНК-полимераза считает его тиминем. Так вот, нужно сравнить число тиминов в мамонтовой или медвежьей ДНК с современной слоновьей или собачьей, в особенности в тех местах, где подозреваются цитозины. И мы увидим резкое преобладание тиминов. Так оно и вышло, но, к нашему удивлению, еще обнаружилось некоторое превышение гуанинов по сравнению с аденинами. Это означало, что древний аденин, как и цитозин, может по ходу дела потерять свою аминокислотную группу. Мы, конечно, проверили это предположение: синтезировали ДНК с цитозинами и аденинами, лишенными своих аминокислотных групп, и потом посмотрели, как с такой последовательностью справится ДНК-полимераза. ДНК-полимеразу взяли ту же, которую использовала 454 для пиросеквенирования. И в результате ДНК-полимераза прочитывала Ц как Т, но и вместо А она читала Г. Мы написали об этом статью [47] и опубликовали ее в PNAS в сентябре 2006 года: не только цитозины могут терять аминокислотные группы, но и аденины – вот как. Однако довольно скоро мы обнаружили, что ошиблись.

Между тем в отношениях с группой Эдди Рубина в Беркли наметилась некоторая напряженность. Нам в Лейпциге уже стало ясно, что пиросеквенирование по крайней мере в десять раз эффективнее, чем бактериальное клонирование. Еще раньше у нас создалось впечатление, что в процессе клонирования большое количество ДНК теряется и происходит это, когда бактерию “вынуждают” присоединить к себе чужую ДНК. Но Эдди спорил, что низкая эффективность опытов с пещерными медведями не более чем случайное стечение обстоятельств. Он, как всегда, был полон энтузиазма во время регулярных телефонных конференций между нашими группами. Я разрывался. С одной стороны, после многолетнего топтания на месте мы не только сможем прочесть неандертальский геном, но даже сделать это несколькими способами. А с другой – мы скорее примем на вооружение методики, требующие граммов исходного материала, а не килограммов, как у Эдди. Пиросеквенирование <sup>454</sup> отвечало всем требованиям эксперимента, но Эдди в конце концов убедил меня еще раз попробовать клонирование. И я решил параллельно провести два эксперимента по двум разным методикам на материале – да-да – реальной неандертальской ДНК.

Мы приготовили два экстракта из неандертальской кости самой лучшей сохранности, из образца, известного как Vi-80. Из него в 2004 году Давид Серр секвенировал высокополиморфную часть мтДНК. В середине октября 2005-го мы отправили вытяжки в <sup>454</sup> Майклу Эгхольму для прямого секвенирования и в лабораторию Эдди Рубина для клонирования в бактериях и последующего секвенирования. Вытяжки готовил Йоханнес Краузе в нашей “чистой комнате”. Мы все очень волновались, не занесут ли инородные ДНК в наши “чистые” экстракты при работе в “чужих” лабораториях в Калифорнии и Коннектикуте. Ведь предстоящие эксперименты должны показать, какая из методик лучше, и ее-то мы и развернем в наших “чистых” помещениях.

А в это время в лабораторию прибывает новый дипломник, Эдриан Бриггс. Приехал он прямо из Оксфорда, где оканчивал начальные курсы, а дядя его, Ричард Рэнгем, был известным приматологом в Гарварде. Учитывая семейные связи и оксфордское образование, я ожидал появления высокомерного сноба, но все мои страхи оказались совершенно необоснованными. И даже больше: Эдриан обладал уникальной способностью мыслить в количественных категориях, не свойственной ни одному из членов моей команды. Но самым удивительным в его характере было то, что при нем человек никогда не чувствовал себя глупым, хотя Эдриан мыслил быстрее и объемнее, чем любой из нас.

Например, если я опирался только лишь на экспертное чутье, когда говорил о потерях ДНК при клонировании в бактериях и при создании библиотек ДНК пещерного медведя, то Эдриан представил расчеты. Он определил, что в бактериальных библиотеках Эдди Рубина в конечном итоге оказывалось только около полпроцента ДНК из вытяжек костей пещерных медведей. Еще Эдриан посчитал, что для секвенирования трех миллиардов с гаком нуклеотидов из медвежьего или неандертальского генома нам понадобится выделить и секвенировать 600 миллионов бактериальных клонов. А это непосильная задача даже для всего Объединенного института генома Эдди. С этими расчетами мои сомнения обрели весомую базу: процесс клонирования по эффективности не отвечал задаче составления неандертальского генома. В январе 2006-го последовал трудный и напряженный телефонный разговор с группой Эдди. Эдриан тогда доложил результаты своих расчетов. Эдди продолжал настаивать, что в экспериментах с пещерным медведем и при составлении библиотек просто что-то пошло не так. Но мы не должны забывать, что тем временем наши параллельные опыты в <sup>454</sup> и у Эдди шли полным ходом.

Пиросеквенированием палео-ДНК занимались не мы одни. В начале 2006-го, пока Эд Грин анализировал информацию по пещерным медведям и мамонтам, в *Science* вышла статья, написанная Хендриком Пойнаром, моим бывшим студентом, работавшим к тому моменту в Университете Макмастера в Онтарио, и Стивенем Шустером из Пенсильванского университета. Они применили методику пиросеквенирования, прочитав все молекулярные цепочки из вытяжек, то есть сделали то же, что и мы в <sup>454</sup> *Life Sciences*. У

них были мамонты из вечной мерзлоты, и эти образцы дали 28 миллионов нуклеотидов[48].

Я, конечно, обрадовался, что мой бывший студент подхватил тему, хотя моя группа и выражала недовольство, что не мы первые опубликовали результаты секвенирования древней ДНК по новой методике. Да, результаты пиросеквенирования уже лежали у нас на столе, но мы не спешили с публикацией, так как считали необходимым – а статья в *Science* как раз не считала – ответить на два возникших вопроса. Нам важно было выяснить, как наилучшим образом соотнести прочитанные последовательности с эталонными геномами и как определить влияние ошибок в последовательностях на конечный результат. Но все равно статья Хендрика – это очко в пользу пиросеквенирования. И вдобавок она еще раз показала, как хорошо сохраняются ткани в вечной мерзлоте. В образцах Хендрика примерно половина ДНК принадлежала мамонту. С нашими неандертальцами мы и мечтать о таком не могли: и то счастье, если получалось 1–2 процента ДНК в вытяжках. Еще статья Хендрика высветила серьезную научную дилемму. Можно провести большую работу, затратить время и усилия, чтобы постараться представить картину полнее, а тем временем кто-то другой, не заботясь о деталях и сосредоточившись только на самом главном, обойдет вас с публикацией. И даже если после этого вы опубликуете лучшую работу, научная общественность все равно будет считать, что вы подбираете крохи за теми, кто сделал настоящее открытие. Наша группа очень серьезно обсуждала эту дилемму после выхода статьи Хендрика. Многие считали, что нужно было опубликовать раньше. Наконец в сентябре 2006-го, в *Proceedings*, мы выпустили работу с анализом нуклеотидных последовательностей пещерного медведя и мамонта. В той работе мы – как назло! – сделали ошибочный вывод о потере аминокислотной аденинами и, соответственно, появлении ошибок в последовательностях[49].

Каждый год в мае в Колд-Спринг-Харбор на Лонг-Айленде проводится конференция по биологии генома. Эта встреча неофициально считается самой главной среди геномной братии. От выступающих ожидаются доклады о новейших, еще не опубликованных достижениях. Дискуссии там напряженные, часто пронизанные духом соперничества между исследовательскими центрами, подогретые конфликтами и ссорами на фоне гонки за прочтение генома человека.

Очередная встреча в 2006 году обещала быть даже более насыщенной, чем обычно. Мы получили результаты секвенирования и из *454 Life Sciences*, и от Эдди Рубина и сделали предварительный анализ. Мой доклад преследовал две цели. Во-первых, я хотел представить сравнение двух методик по секвенированию древней ДНК. Во-вторых, мне предстояло разметить принципиальные пути по составлению полного генома неандертальцев и вообще полного генома вымерших организмов. Результаты наших экспериментов подтвердили, что будущее за пиросеквенированием, так что упор я делал именно на него.

В Колд-Спринг я приехал необычно нервным и взвинченным. Меня поселили в крошечную, по-спартански обставленную комнатку в общежитии; этой чести я удостоился как постоянный докладчик, тогда как остальные тряслись каждый день в автобусе, добираясь из дальних гостиц. Весь путь в самолете из Нью-Йорка и потом весь вечер и ночь я готовился к докладу. На следующий день я собрал всех своих людей, приехавших на конференцию, в каком-то пустом зале, чтобы перед ними отрепетировать выступление.

Меня не отпускало предчувствие, что этот доклад целиком определит нашу деятельность на следующие несколько лет.

Редко когда удается полностью завладеть вниманием на научной лекции. Конференция в Колд-Спринг ничем в этом смысле не отличается. Я прочитал здесь множество докладов и привык видеть со сцены, как большинство из шести сотен слушателей что-то такое делают в компьютерах – может быть, правят свои презентации или проверяют почту, – а то и просто дремлют, утомленные сменой часового пояса и множеством специальных подробностей. Но сегодня все было по-другому. Я постепенно вел рассказ от мамонтов и пещерных медведей к результатам по неандертальцам и физически чувствовал напряженное, безраздельное внимание всех и каждого в зале. Я показал последний слайд со схемой человеческих хромосом. Маленькие стрелочки на схеме указывали расположение тех десятков тысяч

фрагментов неандертальской ДНК, которые мы прочитали. Когда этот слайд появился, зал ахнул. Мы составили всего 0,0003 процента от неандертальского генома, но каждому сидящему в зале стало ясно, что теперь возможно – хотя бы теоретически – прочитать геном целиком.

## Глава 11 Начало проекта “Геном”

В тот вечер после доклада я вернулся в свою комнатку в общежитии, бросился на кровать и невидящим взглядом уставился в потолок. Да, я сделал неплохую карьеру, некоторые даже назовут ее выдающейся. Да, у меня прекрасная, прочная должность с солидной финансовой поддержкой, увлекательные проекты, меня приглашают читать лекции со всего мира. Что же я так себя подставил? Зачем во всеуслышание пообещал прочитать геном неандертальца? Да, если получится, это станет моим величайшим достижением. А если нет? Позор, публичный позор, конец карьере без вариантов. В докладе я живописал скорый успех, но сам-то знал, сколько чудовищных трудностей лежит между обещанием и реальным результатом. Нам понадобятся по крайней мере три вещи: большое количество аппаратов 454 для секвенирования, очень много денег и хорошие образцы костной ткани неандертальцев. Ничего этого у меня не было, но, кроме меня, никто об этом не догадывался. Но я-то знал! И поэтому лежал на кровати, смотрел в потолок, а в голове неотступно крутились тревожные мысли: что делать, как делать, нужно, чтобы все получилось...

Перво-наперво следовало получить доступ к аппаратам секвенирования в *454 Life Sciences*. Очевидно, я должен поехать в Брэнфорд, в Коннектикут, к Джонатану Ротбергу.

От Колд-Спринг-Харбор это не очень далеко. На следующее утро я собрал за завтраком всех основных участников неандертальской работы, все они как раз были на конференции: Эд Грин, Эдриан Бриггс и Йоханнес Краузе. Мы загрузились во взятую напрокат машину и направились в Брэнфорд. А надо сказать, что у меня есть прискорбная манера брать на себя слишком много и считать, что я все успею, и в результате я везде опаздываю: и на собрания, и на самолеты, и вообще не укладываюсь в расписание. Теперешняя поездка не была исключением. Мы неслись по дороге к Порт-Джефферсону на севере Лонг-Айленда и точно знали, что опоздаем на паром в Бриджпорт. Но... успели! Пристроились самыми последними, но успели! (Задняя часть нашей машины даже немножечко свисала над водой, пока паром пыхтел через пролив.) И я думал: как символично – удача буквально балансирует на нашей стороне, раз нам так повезло с паромом.

После этого мы несколько раз бывали в *454 Life Sciences*, но тогда приехали впервые.

Вживую Джонатан Ротберг производил такое же впечатление, как и по телефону: напористый, с массой авантурных научных идей. И тут же, как будто для равновесия, присутствовал датчанин Майкл Эгхольм, приземленно-практичный и каждое дело доводивший до конца. За время нашей совместной деятельности оба они заслужили мое глубочайшее уважение. Вместе они составляли потрясающую пару: Джонатан давал общее направление и напор, а Майкл претворял дело в жизнь. В тот день мы обсуждали главное – что потребуется, чтобы прочитать неандертальский геном. Мы собирались применить технику шотган, или, по-другому, метод дробовика: ее ввел в обиход Крейг Вентер в своей компании *Celera*, когда работал над прочтением человеческого генома. Этот подход заключался в том, что сначала секвенируют фрагменты ДНК вразбивку, случайным образом, а потом с помощью компьютерных программ составляют из них длинные цепочки, ориентируясь на наложение одинаковых кусочков, то есть раскладывают кусочки внахлест. Главная трудность такой техники – распознать нуклеотидные повторы; в геноме человека и обезьяны такие повторы составляют примерно половину всего объема.

Большинство повторов имеют длину сотни или даже тысячи нуклеотидов, многие повторы встречаются в геноме в сотнях или тысячах копий. Поэтому при использовании метода дробовика нужно ориентироваться не только на короткие, а скорее на длинные

фрагменты, захватывающие “мостики” между повторами. Тогда повтор можно заякорить с двух сторон штучными (неповторяющимися) фрагментами и, таким образом, получить представление, между чем и чем этот повтор протягивается. Но наша древняя ДНК уже сама разбилась на короткие фрагменты. Так что мы собирались построить неандертальский геном, приняв в качестве матрицы эталонный человеческий геном (эталонный – то есть первый составленный геном человека). Понятно, что таким способом определяется набор фрагментов, представленных одной копией в геноме, повторы же мы и не надеялись выстроить. Но по-моему, жертва эта не слишком серьезная: штучные или уникальные последовательности составляют самую интересную часть генома, ту, которая содержит значительную долю генов с известными функциями.

Еще нам предстояло решить, какую часть генома мы возьмем в оборот. До приезда в 454 я держал в голове цифру в 3 миллиарда неандертальских нуклеотидов. Эта цифра диктовалась, во-первых, тем, что я считал в принципе достижимой целью, и, во-вторых, примерным размером человеческого генома. Из-за фрагментации древней ДНК мы вынуждены будем иметь дело с такой ситуацией, когда множество кусочков прочтутся только один раз, другие прочтутся дважды, некоторые трижды и т. д. А какие-то участки генома не попадут в наш список совсем, просто потому, что не окажутся ни в одном из прочитанных фрагментов. Согласно статистике, около двух третей всех нуклеотидов должно хотя бы один раз найтись в наших прочтениях, а одна треть так и не объявится.

Генетики называют это “однократной глубиной покрытия”, так как каждый нуклеотид имеет вероятность высветиться один раз. Я считал, что с однократной глубиной покрытия прочтение в нашем случае вполне достижимо и вдобавок даст неплохую прикидку неандертальского генома. И еще важно помнить, что этот геном станет определенным этапом исследований. Пусть потом другие секвенируют неандертальские кости, появятся прочтения новых геномов, их можно будет наложить на наш, увеличивая глубину покрытия еще и еще, пока неандертальский геном не предстанет в полном объеме, почти полном, пусть и без повторов.

Конечно, задача, которую я поставил перед нашей группой, была несколько расплывчатой, да и смотрелась жалковато на фоне других современных геномов, которые читались с двадцатикратной глубиной покрытия. Но с другой стороны, до чего же это была монументальная задача! В самых лучших из наших образцов мы выявляли примерно 4 процента неандертальской ДНК. Я рассчитывал найти еще такие образцы, а может, нам попадутся и получше, с чуточку большей долей сохранившейся ДНК. Если взять среднее для них в 4 процента, то для составления генома в 3 миллиарда нуклеотидов потребуется прочитать порядка 75 миллиардов нуклеотидов. Так как наши фрагменты очень коротенькие, всего по 40–60 нуклеотидов, для прочтения такого объема новым секвенаторам потребуется примерно от 3000 до 4000 перезагрузок. Получается, что компании 454 придется отставить в сторону все остальные задачи и заниматься только неандертальцами в течение нескольких месяцев – и если все это будет оплачиваться по обычным расценкам, то о таких суммах я даже не решался заикнуться.

Об этом мы – Эдриан, Эд, Йоханнес и я – тоже говорили с Джонатаном. Наши неандертальцы определенно интересовали не только самого Джонатана, но и всю команду 454. И не только из-за огромного научного потенциала и уникальной возможности узнать побольше о человеческой эволюции, но и с чисто прагматической целью: обеспечить технологиям 454 еще более широкое признание. Я с готовностью согласился, чтобы работники компании выступали как полноправные научные партнеры и соавторы будущих публикаций. Только все это вовсе не означало, что технологии 454 достанутся нам бесплатно. В результате мы договорились о цене: пять миллионов долларов. Я не понимал, пять миллионов – это хорошо или плохо в нашей ситуации. С одной стороны, я рассчитывал на меньшую сумму, но с другой – сумма была не запредельной. Мы попросили время на размышление.

После переговоров Джонатан угостил нас бутербродами и лимонадом из соседнего

магазина и предложил показать свой дом, пока мы не уехали обратно в Колд-Спринг-Харбор. Мы согласились. Съели бутерброды и последовали за ним на машине в его поместье. Я сам вырос в скромном достатке. Моя мать, бежавшая из Эстонии от советской оккупации в конце Второй мировой войны, передала мне чрезвычайно прагматичный взгляд на вещи. Так что роскошью меня не впечатлить. Но визит в поместье Джонатана остался в памяти, хотя самого дома мы так и не видели, а только прошли по его угольям на полуострове в проливе Лонг-Айленд. На берегу Джонатан выстроил точную копию Стоунхенджа, только из норвежского гранита, который тяжелее песчаника оригинала. И еще Джонатан немного модифицировал Стоунхендж, то есть сориентировал его так, чтобы солнце светило между камнями в дни рождения членов его семьи. Мы стояли и смотрели на огромные каменные глыбы, и Джонатан сказал: “Теперь вы, наверное, считаете меня сумасшедшим”. Я, конечно, сказал, что нет, и это “нет” не было простой вежливостью. Я действительно не считал его сумасшедшим. Его завораживала история, он мыслил масштабно и стремился обращать мечты в реальность. Его Стоунхендж я воспринял как еще один добрый знак – к удаче.

На следующий день, прибыв обратно в Колд-Спринг-Харбор, я совсем не мог сосредоточиться. Пять миллионов – это огромные деньги, в десять раз больше, чем самый большой немецкий грант. Общество Макса Планка снабжает директоров институтов весьма щедро, чтобы они занимались собственно исследованиями и не тратили время на выбивание грантов, но все равно весь годовой бюджет моего отдела был намного меньше пяти миллионов. Мне очень не хотелось отдавать проект в какой-нибудь центр по геномным исследованиям просто из-за нехватки собственных денег. Тут на ум мне пришло имя Герберта Йекле, который в 1989-м убедил меня переехать в Германию – а сам он, будучи специалистом по биологии развития и генетике, занимал тогда профессорскую должность в Мюнхене. Позже он перебрался в Геттинген, в Институт биофизической химии, также под эгидой Общества Макса Планка, – и опять же сыграл важную, хотя и неофициальную роль в моем переезде из Мюнхена в Лейпциг, когда организовывался Институт эволюционной антропологии. И если уж говорить прямо, то в критические моменты моей научной жизни Герберт всегда был рядом, с поддержкой и советом. А теперь он стал вице-президентом секции биомедицины в Обществе Макса Планка. К счастью, управляют обществом ученые-исследователи, такие как Герберт, а не администраторы и политиканы. В то утро я решил позвонить Герберту прямо из Колд-Спринг-Харбор.

Думаю, он сразу понял, что я звоню по срочному и важному делу – ведь перезванивались мы в общем редко. Я объяснил ситуацию, описал, как предположительно можно прочесть геном неандертальца, и выложил наши расчеты по стоимости проекта. И задал вопрос: как в Европе можно поднять такую сумму? Он пообещал подумать и перезвонить через несколько дней. Я улетел в Лейпциг, разрываясь между отчаянием и надеждой. Может, мы найдем богатого спонсора, но где они берутся, спонсоры?

Через два дня Герберт, верный своему слову, позвонил. Общество Макса Планка, сказал он мне, недавно учредило Президентский инновационный фонд для поддержки уникальных исследовательских проектов. Он обсудил наш проект с президентом общества, и общество в принципе согласно выделить требуемую сумму и выплатить ее в течение трех лет. Они даже уже отложили эти деньги и будут дожидаться письменной заявки, которая, естественно, должна быть рассмотрена экспертами в нашей области. Я просто ошалел, даже не помню, поблагодарил ли я его. Деньги! Когда они есть, мир волшебным образом меняется! Я мчался в лабораторию, и новость клокотала у меня в груди, я выпалил ее первому, кто попался мне на пути. Не останавливаясь, я настроил заявку, описав результаты и объяснив, почему мы так уверены, что сможем секвенировать неандертальский геном за три года – если найдутся достаточные ресурсы.

В конце заявки я, как полагается, приложил финансовый план. И тут меня одолело смущение: мне в голову не пришла одна важная деталь. Оговаривая с Гербертом сумму пять миллионов, я подразумевал доллары, а Герберт ведь наверняка договаривался о евро.

Кажется, он даже сказал, что общество отложило на проект “пять миллионов евро”, но

я в тот момент так растерялся, что не осознал разницу. И получается, что у меня в руках окажется шесть миллионов долларов. Что же делать? Я, конечно, могу незаметно раздуть бюджет на 20 процентов, но это как-то недостойно, и вдобавок кто-то может это заметить, когда мы будем подписывать контракт с *454 Life Sciences*. Я позвонил Герберту и, смущаясь, объяснил затруднение. Он расхохотался. И спросил, не предвижу ли я дополнительных трат здесь, в Лейпциге, кроме тех, что мы заплатим по контракту *454*. Да, конечно, предвижу. Нам нужно будет выделить ДНК из большого числа древних остатков, чтобы найти самые лучшие, и провести тестовое секвенирование каждого. Это значит, нам придется раскошелиться на аппараты *454* для секвенирования, иначе не провести анализы всех образцов на месте, плюс реагенты для экспериментов. Учитывая валютную разницу, с такими деньгами проект можно смело запускать. Я снова взбодрился и включил в финансовый план все работы, которые нам предстояло провести в Лейпциге.

А тем временем Эдди Рубин составил бактериальную библиотеку из всего неандертальского экстракта, который мы ему в свое время послали. Джим Нунан, молодой специалист из группы Эдди, секвенировал каждую каплю. Полученный ими продукт насчитывал немного более 65 тысяч пар нуклеотидов. В Брэнфорде было использовано примерно 7 процентов вытяжки, которую мы отправили, и получено около миллиона пар нуклеотидов. Как и предсказывал Эдриан, методики прямого секвенирования оказались в двести раз эффективнее по количеству прочитанных нуклеотидных цепочек. Эдди, несмотря на это, настаивал, что его метод лучше, и требовал, чтобы мы продолжали посылать ему экстракты. Так мы пришли к фундаментальным разногласиям. Совесть не позволяла мне отсылать ценные вытяжки в Беркли, ведь я знал, что мы можем извлечь намного больше информации из тех же вытяжек другим способом в Брэнфорде. С тяжелым сердцем и терзаемый дурными предчувствиями, я все откладывал окончательное решение, надеясь, что Эдди сам осознает низкую эффективность бактериального клонирования – нужно только представить результаты работы по двум методикам в письменном виде, в готовой статье.

Однако на тот момент уже невозможно было представить, что мы опубликуем одну общую статью. Мы не могли писать вместе, потому что методы у нас были совершенно разные, результаты значительно отличались по количеству полученной информации – и, конечно, из-за принципиальных разногласий по применению метода бактериальных библиотек. Мы остановились на варианте двух статей. Одну напишет Эдди, и мы выступим как соавторы, а другую напишем мы, Майкл Эгхольм, Джонатан Ротберг и другие из *454*. В своей статье Эдди написал: “Низкая глубина покрытия по библиотеке NE1 происходит по причине низкого качества самой библиотеки, а не является общей тенденцией при работе с древней ДНК”. По сути, он говорил, что если мы составим больше библиотек, то результаты улучшатся. Но, уже зная, что библиотеки по пещерным медведям дали столь же скромный выход, я не согласился с выводами. Тем не менее мы удержали отношения в рамках приличий. В июне Эдди представил статью к публикации в *Science*, и в августе ее приняли.

Из-за того что нам пришлось анализировать гораздо больше информации, мы подали свою статью в *Nature* только в июле. Эдди благородно задержал публикацию статьи по клонированию, пока шло рецензирование и рассмотрение совместной с *454* работы.

Поэтому обе статьи вышли одновременно.

А тем временем у нас начались приготовления: мы принялись за производство материала, из которого – мы надеялись на это – получится большое количество неандертальских ДНК.

Для начала я организовал у нас в Лейпциге, в наших “чистых комнатах”, создание генетических библиотек для *454*-секвенирования. Таким образом, драгоценнейшие вытяжки, в которые так легко занести инородную ДНК, могли вовсе не покидать стерильных помещений. Некоторое количество из фондовых денег было потрачено на покупку секвенатора- *454*, чтобы тестировать библиотеки. Затем мы с Майклом Эгхольмом разработали план. Мы будем готовить экстракты из костей, создавать библиотеки для *454* и тестировать их на нашем аппарате. Как только определим самые многообещающие

библиотеки, будем отсылать их в Брэнфорд для массового секвенирования. Секвенирование будет проходить поэтапно, оплата производится по результатам, то есть по получении определенного количества прочитанных последовательностей. Это я предложил такой вариант и очень удивился, что в 454 согласились, ведь все мы знали, что у нас в самой содержательной библиотеке находилось прежде только около 4 процентов неандертальской ДНК, а остальные 96 – это балластные ДНК бактерий, плесени и всякие другие. А сколько найдется эндогенной ДНК в будущих образцах, мы и представить не могли. Если, например, вытяжка будет содержать один процент вместо четырех, то 454 придется секвенировать в четыре раза больше за те же деньги, так как контракт фиксировал количество именно неандертальской прочитанной ДНК, а не общее число установленных нуклеотидов (которое включало бы все балластные фрагменты). Ни исследователи из 454, ни их юристы не обратили внимания на этот пункт при подготовке контракта. В каком-то смысле это не имело значения, так как в контракт включили специальное положение, позволяющее обеим сторонам прекратить сотрудничество в любой момент. Мы не имели права принуждать 454 продолжать секвенирование против их воли. Но, даже учитывая эту поправку, контракт в таком виде был для нас выгоднее, чем если бы 454 обязалась секвенировать определенное число “сырых” нуклеотидов независимо от их происхождения.

Я получал удовольствие от работы с 454. Наши команды прекрасно дополняли друг друга, люди легко ладили. И все-таки в одном мы отличались. 454 вынуждена была постоянно бороться за признание на рынке современных технологий секвенирования, а рынок этот очень быстро становился остроконкурентным. На тот момент сразу две большие компании заявили о намерении продавать высокопропускные аппараты для секвенирования.

Компании 454 желательно было получить широкий общественный резонанс от работы с неандертальским геномом, и хорошо бы прямо сейчас, а не через два или три года, когда мы предполагали представить для публикации прочитанный геном. Как в свое время Майкл Эгхольм принял наши заботы близко к сердцу, теперь настала моя очередь серьезно отнестись к его приоритетам. Поэтому, когда контракт с 454 подписали, 20 июля 2006 года мы организовали пресс-конференцию у нас в институте в Лейпциге. Как раз незадолго до этого мы представили к публикации в *Nature* статью в соавторстве с 454. Майкл вместе с еще одним руководителем высшего звена прилетели из Америки. На конференцию мы пригласили и Ральфа Шмитца, куратора неандертальского “типового экземпляра” из музея в Бонне; в 1997 году именно Ральф снабдил нас музейным материалом для исследований.

Он привез с собой на конференцию историческую кость неандертальца, из которой мы выделили первую митохондриальную нуклеотидную последовательность. В пресс-релизе специально подчеркивалось, что мы соединили все методы анализа древней ДНК, разработанные за много лет в нашей лаборатории, с новейшими высокопроизводительными технологиями, предоставленными нам компанией 454 *Life Sciences*, и в результате удалось начать секвенирование неандертальского генома. Мы специально отметили, что по удивительному стечению обстоятельств настоящее заявление делается точно день в день через 150 лет после того, как нашли первых неандертальцев в долине Неандерталь.

Пресс-конференция получилась потрясающая! Журналисты, пресса, трансляция по всему миру по интернету... Мы объявили, что беремся за два года прочитать 3 миллиарда нуклеотидов неандертальцев. С гордостью я оглядывался в прошлое: вот он я, двадцать лет назад в Упсале, тайком от руководителя затеваю непонятные опыты, опасаюсь, что он все узнает, – и вот он я теперь! Какой это был необыкновенный момент!

А дальше пошли взлеты и падения. Неприятности начались месяц спустя после пресс-конференции. Еще не вышли обе статьи, наша и группы Эдди Рубина, а мы уже приступили к работе по методу 454. Попутно послали данные по 454 Джонатану Притчарду. Этот молодой и талантливый генетик из Чикагского университета вместе с Эдди принимал участие в обработке той небольшой части данных, которые дало бактериальное клонирование. И тут мы получаем электронное письмо от двух аспирантов Притчарда, Грэма Купа и Шридхара Кударавалли. А там написано, что их кое-что настораживает в результатах

по 454. А именно повышенное количество отличий от человеческого эталонного генома в коротких фрагментах по сравнению с длинными. Наш Эд Грин быстренько все перепроверил. Действительно, все обстояло именно так, и аспиранты оказались правы. Плохо дело. Это могло означать, что длинные фрагменты не были неандертальскими, а являлись современными загрязнениями человеческой ДНК. Я написал Эдди, что мы обнаружили подозрительные детали в наших результатах по 454. И мы договорились обменяться данными – мы им пошлем свои, а они нам свои. И быстро получили ответ: Джим Нунан из группы Эдди подтвердил все эти отклонения в данных 454, повторив выводы чикагских аспирантов.

Нам нужно было срочно переписывать или вообще отзываться статью из *Nature*, а она уже была почти напечатана... Я послал Эдди сообщение, что мы как можно быстрее постараемся выяснить, в чем дело, чтобы не задерживать выход его статьи. Такое у меня уже было, когда я работал у Алана Уилсона: мы обнаружили ошибку в анализах, уже когда статья была принята к печати в *Nature*, и эта ошибка коренным образом меняла заключение работы. Пришлось забирать ее из журнала. Я боялся, что и теперь получится то же.

Мы все бросились в лихорадочный поиск. Конечно, первое, что по логике вещей приходит на ум, – это занесенные человеческие ДНК. Но напрямую оценить объемы загрязнений не так-то легко. Помимо того, списывать все на загрязнения было бы ошибкой. Мы ведь понимали, как мало знаем о реактивности коротких дефектных кусочков ДНК по сравнению с нормальными человеческими последовательностями. Так что могли сыграть роль и другие факторы. Какие? Соображать надо было очень быстро, ведь наша статья уже лежала в печати, а Эдди не терпелось увидеть свою собственную.

Эд заметил, что в данных по 454 в коротких неандертальских фрагментах содержится больше Г и Ц, чем в длинных. Так что короткие обогащены ГЦ, а длинные АТ нуклеотидами. Нуклеотиды Г и Ц мутируют чаще А и Т, и это в принципе может привести к разнице между короткими и длинными кусочками, если сравнивать их с человеческим эталоном. Гипотезу нужно проверить – и Эд выбрал по отдельности соответствующие неандертальским короткие и длинные фрагменты из человеческого эталона, а потом посмотрел, какова вообще вариабельность именно этих фрагментов в человеческом геноме. Из этого сравнения неандертальские фрагменты были исключены, но тем не менее результат сравнения получился весьма показательным. В человеческих геномах те самые короткие участки показали большую изменчивость по сравнению с длинными, опять же аналогами неандертальских длинных. Это означало, что ГЦ-обогащенные последовательности попросту чаще мутируют и таким образом объясняется большее число различий в коротких последовательностях. Для большей убедительности нужно было рассмотреть и другие варианты объяснений, например, как мы отыскивали место для найденных фрагментов на карте человеческого эталонного генома. Как справедливо подметил Эд, для длинного фрагмента правильное место подыскать проще, чем для короткого просто в силу большего количества информации. Поэтому короткие фрагменты с большей вероятностью могут оказаться вообще бактериальными, так или иначе сходными с человеческими участками. Вот и получится более высокая вариабельность коротких фрагментов. Такая возможность вообще лежала вне круга наших рассуждений про древние геномы. Ведь что у нас было? ДНК мамонтов с относительно длинными последовательностями. Я совершенно растерялся. Мы каждый день узнавали нечто неожиданное про короткие и длинные фрагменты и видели, насколько по-разному они проявляются в общей картине наших анализов. И вообще, что происходит по ходу наших экспериментов?.. И исключить загрязнения современной ДНК мы тоже не могли...

Естественно, мы обсуждали возможность привноса чужеродной ДНК. Ее уровень, насколько мы могли судить по мтДНК, посланным и Эдди, и в 454, на самом деле был совсем невысок. Занести постороннюю ДНК в вытяжки можно было только вне стен нашей лаборатории; и в статье в *Nature* мы особо это обговорили. Я при этом чувствовал, что

единственным надежным источником информации о загрязнениях может служить только мтДНК, потому что про нее-то мы точно знали, где загрязнение, а где нет. Все остальное слишком шатко: то ли действительно сыграла роль изменчивость в ГЦ-позициях, то ли путаница с бактериальными аналогами, то ли еще что-то неизвестное. Я решил, что нужно снова взглянуть на мтДНК, которые нам прислала 454.

В 2004 году мы секвенировали часть мтДНК из неандертальской кости Vi-80, той самой, что дала образцы и для 454, и для Эдди. Хорошо бы эту часть сравнить с результатами, пришедшими из 454. Наверняка среди них найдутся участки, по которым наш неандерталец отличается от современных людей. И тогда можно будет вычленить фрагменты наверняка неандертальские и подсчитать их долю, а отсюда примерно прикинуть возможный уровень загрязнений в конечном продукте 454. Но, к величайшему огорчению, для таких расчетов нам не хватало данных, как выяснил Эд. В отчетах, присланных 454, содержалась всего 41 последовательность мтДНК, и из них ни одна не совпадала с теми, которые мы определили сами – и для этого конкретного неандертальца, и для других. Мы перепроверили все данные из Беркли, но ни одного кусочка мтДНК в тех скудных наборах не нашлось.

Но выход, к счастью, существовал. Мы наготовили много материала для секвенирования, поэтому можно попытаться запустить процесс еще раз и найти новые кусочки ДНК.

Возможно, тогда по этим новым фрагментам мы сумеем оценить уровень загрязнений. Я связался с 454 и убедил их повторить секвенирование как можно быстрее. Они в рекордные сроки провели 6 циклов секвенирования, и, едва к нам попали результаты, Эд немедленно углядел нужные шесть кусочков, шесть наших старых знакомых из варибельной части мтДНК, с которыми мы уже имели дело в 2004-м. Все шесть в точности соответствовали неандертальским характеристикам и не были похожи на современные человеческие! Так что в наших экстрактах было минимум загрязнений, и вот оно тому доказательство. И что интересно, эти фрагменты были сравнительно длинными, около 80 или больше нуклеотидов, хотя их древность сомнений не вызывала. Значит, и среди длинных кусочков вполне допустимы настоящие древние ДНК. Так что причиной разницы в коротких и длинных фрагментах были, по всей видимости, не загрязнения, а что-то иное. Эд был так счастлив, что в имейле с описанием результатов в конце написал: “Прямо готов расцеловать всех!”

И статью в *Nature* решено было оставить. Эдди и Джиму Нунану послали длинную разъяснительную записку. Ее подготовила наша коллега Сьюзан Птак, специалист по популяционной генетике. Она писала, что, на наш взгляд, разница между короткими и длинными цепочками могла появиться в силу множества разных причин, как известных, так и неизвестных, поэтому вычленив из них фактор загрязнения не представляется возможным; также объяснила, почему мы больше доверяем прямым данным по мтДНК в вопросе о загрязнениях. Там было так: “И хотя имеются косвенные свидетельства наличия загрязнений, но теперь мы получили прямую оценку уровня загрязнений в конечном продукте, и опять-таки этот уровень оказался весьма низок”. На эту записку мы не получили никакого ответа. К тому времени наши отношения стали довольно натянутыми, так что ответное молчание нас не удивило.

Вся эта история была чудовищно изматывающей. По иронии судьбы правы оказались и мы, и Эдди. Будущее показало, что в результатах 454 действительно имелись загрязнения, но при этом косвенное определение загрязнений путем сравнения длинных и коротких фрагментов ДНК не срабатывает.

Две статьи вышли в *Nature* и *Science* 16 и 17 ноября[50]. Пресса, естественно, подняла ажиотаж, но я уже привык к медиашумихе. И вообще, мне было не до того. Я был занят. Я же обещал секвенировать 3 миллиарда нуклеотидов неандертальцев за два года. И в статье, в конце, так и было прописано. И перечислено, что для этого потребуется: 20 граммов кости и 6 тысяч запусков аппаратуры 454. И еще мы написали, что задача сама по

себе устрашающая, но если принять во внимание прогресс в техническом оснащении секвенирования, то “нетрудно предвидеть” десятикратное ускорение в работе. Что подразумевалось под прогрессом? Снижение потерь материала при загрузке машин и кое-какие грядущие усовершенствования в самих секвенаторах, о которых по секрету сообщил мне Майкл.

Так что дела наши выглядели неплохо, но все же оставалась главная трудность – где добыть хорошие неандертальские кости. По правде говоря, у нас даже близко не было двадцати граммов костного материала, сравнимого по качеству с Vi-80, а на ее анализах мы уже опубликовали две статьи. И у нас осталось не больше полуграмма. Я оптимистично утешал себя мыслью, что Vi-80 попалась нам одной из первых и в ней уже сразу было 4 процента неандертальской ДНК, наверняка будут и другие кости, может, и не хуже этой.

И даже, может, лучше. Эту проблему нужно было решать как можно скорее. Но прежде придется сделать одно очень неприятное дело – положить конец сотрудничеству с Эдди Рубином.

Поставить точку в научном сотрудничестве всегда непросто, а если коллега становится другом, то еще труднее. В Беркли я останавливался у Эдди в семье, мы вместе ездили по холмистой дороге на велосипедах от его дома до лаборатории, мы вместе сбегали с колд-спринг-харборских конференций в Нью-Йорк и ехали в театр. Мне всегда очень нравилось его общество. И я долго обдумывал письмо Эдди, написал несколько черновиков. Постарался объяснить, насколько отличается мое представление об эффективности бактериального клонирования от его взгляда и что наше взаимодействие, в особенности по этому вопросу, перестало быть продуктивным. И что, как мне видится, он со своей группой пытается заниматься тем же, что и мы, вместо того чтобы решать взаимодополняющие задачи. Однажды в телефонном разговоре, например, нам было предложено послать не только вытяжки ДНК, но и реактивы РТВ, которые мы как раз синтезировали. И для чего? Для того чтобы наши вытяжки обрабатывать нашими же реактивами. Понятно, что ни я, ни моя группа в восторг от этого предложения не пришли.

Я надеялся, что изложил причины прекращения сотрудничества в как можно менее болезненной и оскорбительной форме, но все же письмо отсылал в трепетном волнении.

Эдди ответил. Он написал, что понял мою точку зрения, но все же верит в будущие возможности и практическую ценность бактериального клонирования. Он принял мое послание с достоинством, и я вздохнул с облегчением, но теперь, со всей очевидностью, мы стали соперниками, а не сотрудниками.

Этот факт сделался явным, как только я занялся охотой за неандертальскими костями. Как я понял, Эдди тоже пытался добыть образцы, и обращался он, в общем, к тем самым людям, с которыми мы вместе работали столько лет. Кроме того, обнаружилось, что уже в июле журнал *Wired* опубликовал статью о “неандертальских” поисках Эдди. И заметка эта заканчивалась цитатой Эдди: “Хотелось бы достать еще костных образцов. Поеду, пожалуй, в Россию, возьму чемоданы с евро, и напрямик к парням в малиновых пиджаках. Чего бы это ни стоило”.

## Глава 12 Неподатливые кости

Вытяжки из костей Йоханнес Краузе начал готовить давно, еще до выхода статьи в *Nature*. Эти кости собирались годами – тут были образцы и из хорватских коллекций, и из других стран по всей Европе, – мы давно искали костный материал неандертальцев со столь же высоким содержанием ДНК, как и Vi-80. Высокий блондин Йоханнес внешне типичный немец. И очень умный. Он родился и вырос в Лайнефельде, в том самом городе, где в 1803 году родился Иоганн Карл Фульрот. Фульрот – это ученый, который еще в 1857-м, за два года до выхода в свет дарвиновского “Происхождения видов”, предположил, что кости из долины Неандерталь принадлежат доисторическим формам

людей. Так впервые была высказана идея, что на свете до нас существовали другие формы людей, за что общественное мнение публично осмеяло Фульрота, но в результате он оказался прав – это доказали последующие находки неандертальцев. Фульрот стал профессором в университете в Тюбингене, где сейчас – очень символично – профессорствует Йоханнес.

Йоханнес пришел к нам в лабораторию студентом-биохимиком. Очень быстро стало ясно, что он не только прекрасно справляется с ежедневной работой с реактивами, но и глубоко понимает наши сложнейшие эксперименты. Я всегда получал удовольствие от разговоров с ним, но проходили месяцы, и наши разговоры становились все мрачнее. Ни один из приготовленных им экстрактов из неандертальских костей не содержал столь же обнадеживающего количества ДНК, как в Vi-80. В основном в костях вообще не было неандертальской ДНК, или же нам доставался такой мизер, что даже с помощью ПЦР мы с трудом определяли следы мтДНК. Нам срочно нужны были кости, много и хорошего качества.

Понятно, что обращаться следовало в Загреб, в Институт четвертичной палеонтологии и геологии, где вместе со знаменитой костью Vi-80 хранилась вся коллекция из Виндии. В апреле 2006 года я написал в Загреб. Я объяснил, что хотел бы еще раз взять образцы кости Vi-80[51] и, если возможно, образцы других костей, найденных там же в 1974–1986 годах Мирко Малезом. Я узнал, что Майя Паунович, с которой я работал в 1999-м, умерла. Теперь у коллекции не было куратора-палеонтолога. Управлял институтом Милан Херак, заслуженный профессор геологии Загребского университета. Профессору исполнилось восемьдесят девять лет, и в институте он если и появлялся, то крайне редко.

Пожилая дама по имени Деяна Брайкович занималась рутинным администрированием, помогала ей молодая сотрудница Ядранка Ленардич. Я написал письмо, адресованное обеим дамам, где предложил продолжить успешное сотрудничество с институтом по материалам коллекции из Виндии и напомнил, что это сотрудничество уже выразилось в нескольких резонансных публикациях. Я вызвался к ним приехать и обсудить все лично и, может быть, взять образцы от других костей. Мы договорились, что я приеду и прочитаю в университете лекцию о нашей работе. Но в мае 2006 года, за четыре дня до отъезда, я получил имейл из Загреба, в котором говорилось, что в образцах костей нам отказано. Там было написано, что кости необходимо “зарегистрировать” и только после этого, когда-нибудь в неопределенном будущем, нам разрешат работать с образцами. Может быть, разрешат. У меня создалось впечатление, что за этим странным сюжетным поворотом кто-то стоит. В письме упоминалось имя Якова Радовичича, известного палеонтолога, куратора огромной коллекции очень древних неандертальских остатков из Крапины, хранящихся в Хорватском музее естественной истории в Загребе. И хотя он не был официальным распорядителем коллекции из Виндии, формально приписанной к Хорватской академии наук и искусства, я подозревал, что его авторитет распространяется и на территорию двух дам, и допускал его закулисное вмешательство. Тем не менее я решил не отступать и не отменять поездку. Мне казалось, сам проект настолько убедителен в научном отношении, что в Загребе не могут просто так от него отказаться.

Мы с Йоханнесом приехали в Загреб в начале июля и отправились прямо в институт, где несколько лет назад я столько времени провел с покойной Майей Паунович. Там царил все то же пыльное запустение, и не то чтобы была заметна кипучая деятельность. Деяна Брайкович с помощницей явно нервничали. Они отказались показать нам коллекцию, не говоря уже об образцах костей: для этого нам предписали вначале получить разрешение и консультацию от Академии наук и искусства. Но совместное чаепитие и разговор как-то расположили их к нам, и нам в конце концов разрешили посмотреть на кости. Некоторая часть коллекции пребывала в крайнем беспорядке – может быть, в том числе и из-за этого нас с такой неохотой к ней допустили. (Коллекция, конечно же, нуждалась в хорошем каталоге.) Меня особенно привлекла коробка, в которую отложил некоторые образцы Тим Уайт, палеонтолог из Беркли, работавший здесь несколькими годами раньше. В коробке

хранились фрагменты костей, добытых при раскопках Мирко Малезом: Мирко считал, что это кости пещерных медведей, но Тим не исключал, что они принадлежали неандертальцам.

Коробка с костными фрагментами напомнила мне о разговоре с Тимом, когда мы встречались в Беркли год назад. Все кости из Виндии представляли собой россыпь мелких осколков. В таком виде их находят почти во всех неандертальских раскопах. И это вполне естественно, ведь трудно ожидать приличной сохранности от костей возрастом в десятки тысяч лет. Но на осколках в тех местах, где к костям прикреплялись мышцы и связки, хорошо заметны царапины, и такие же царапины имеются на черепах. Другими словами, следы с очевидностью показывают, что плоть специально отделяли от костей, а кости, содержавшие костный мозг, разбивали. Это делали, скорее всего, чтобы добраться до их питательного содержимого. Тим тогда упомянул, что царапины на неандертальских костях похожи на те, что обнаружили при раскопках культуры анасази на юго-западе Америки: в 1100 году примерно 30 мужчин, женщин и детей были убиты и – ужасное открытие! – съедены. Еще он рассказал, что неандертальцы имели обыкновение разбивать кости убитых ими животных, оленей, например, и что кости животных разбиты тем же образом, что и найденные кости самих неандертальцев (рис. 12.1). Мы, скорее всего, никогда не узнаем, насколько распространено было людоедство среди неандертальцев и было ли поедание сородичей частью какого-то погребального ритуала. Но если вспомнить, что скелеты неандертальцев в других раскопах не повреждены и даже носят следы спланированного захоронения, то, похоже, в Виндии неандертальцам просто не повезло, и они наткнулись на голодных соседей.

Парадоксально, но именно тот факт, что неандертальцев в Виндии съели, ну или, по крайней мере, отделили плоть от костей, может объяснить присутствие относительно большого количества ДНК в некоторых костях по сравнению с бактериальной ДНК. Если бы тело неандертальца просто похоронили, то прошли бы месяцы, прежде чем бактерии и другие микроорганизмы справились бы с мягкими тканями. За это время бактерии успели бы проникнуть и в кости, разрушить клетки и молекулы ДНК, размножиться и потом умереть. Из таких костей можно выделить только ДНК микроорганизмов. Но если неандертальца убили, кости раздробили, отделили плоть и костный мозг, обглодали и выбросили, то какие-то фрагменты кости могли быстро высохнуть, так что бактерии не успели в них размножиться. Получается, нужно благодарить каннибализм за сохранность неандертальской ДНК в пещере Виндии.

*Рис. 12.1. Кость Vi-33.16 из Виндии, которую использовали для секвенирования генома неандертальцев. Она была разбита – вероятно, чтобы извлечь костный мозг. Фото: Кристин Верна, MPI-EVA*

Все это крутилось у меня в голове, когда я рассматривал коробку с осколками костей – осколками настолько маленькими, что невозможно было определить, принадлежат ли они неандертальцам или животным. Я повернулся к Деяне Брайкович и спросил, нельзя ли взять на анализ хотя бы несколько из этих осколков. Я убеждал ее, что с помощью анализа ДНК – если что-то сохранилось, конечно – мы смогли бы определить, кому кости принадлежат. Но нет, Брайкович осталась непоколебима, и – нет – кости трогать нельзя.

Она сказала, что, по ее сведениям, скоро, через несколько лет, нужно будет только поднести специальный сенсор к кости, и сенсор живо определит геном целиком. Поэтому на сегодняшний момент она не имеет права жертвовать даже мельчайшим фрагментом ценного материала. Я согласился, что техника, безусловно, в будущем шагнет вперед, но вежливо выразил сомнение, что нам при жизни посчастливится стать свидетелями такого прогресса. К тому же я подозревал, что она ничего не решает и что за проволочками стоит кто-то более влиятельный.

Во второй половине дня, отправившись в Музей естественной истории, мы нанесли

визит Якову Радовичу. Он, казалось, поддерживал наш проект, но выразил серьезные сомнения по поводу образцов как из коллекции из Крапины, так и из Виндии. Я не понимал, что происходит, и в мрачном настроении мы вернулись в нашу обшарпанную гостиницу. Я лежал на кровати, смотрел на облупившиеся стены и трясся от ярости. Насколько я знал, рядом с нами находились кости неандертальцев с самым большим содержанием ДНК.

Никакой морфологической ценности они не представляли – они ведь разбиты на такие мелкие осколки, что и не скажешь, неандертальцам они принадлежат, пещерным медведям или другим животным. И какая-то личность, достаточно влиятельная, определенно не желает допускать нас до работы с костями. Я будто превратился в ребенка, которому показывают и не дают любимую конфету; мне хотелось кричать и измолотить всех подряд, но шведское воспитание не позволило выразить эмоции таким естественным образом. Вместо этого мы с Йоханнесом отправились в отвратительный ресторан за углом, чтобы вдоволь наговориться о нашем неведомом враге.

На следующий день я прочел лекцию на медицинском факультете в Загребском университете об ископаемых ДНК вообще и о работе с неандертальской ДНК в частности.

Пришло много студентов, задавали вопросы. Молодежь в Загребе явно интересовалась наукой, и это немного приободрило меня. Вечером нас пригласил на ужин университетский профессор антропологии Павао Рудан. Он происходил из семьи крупных землевладельцев с красивейшего острова Хвар в Адриатическом море. Он предложил нам и группе коллег пойти в ресторан под названием *Gallo*, который на поверку оказался лучшим рестораном, в каком мне когда-либо доводилось бывать. Нам приносили блюдо за блюдом с дарами моря, изумительно приготовленными в средиземноморском стиле. Мы пили прекрасное вино. Пиршество завершилось необыкновенно освежающим напитком из фруктового сока, шампанского и чего-то еще неуловимого. Я немного воспрял духом. И тут Павао заговорил о науке. Так уж случилось, что тот разговор исправил настроение более капитально, чем великолепный ужин.

Сначала разговор затронул исследование небольшой народности на хорватских островах. Павао хотел определить те гены и черты жизненного уклада, которые влияют на распространение обычных болезней, например гипертонии и болезней сердца. Много лет он получал гранты из Америки, Франции и Великобритании на этот проект, что говорило о научном доверии к нему. Я подумал, что, доведись ему услышать о мощном проекте, он сразу же увидит его потенциал. Подумал – и выложил ему все о наших планах и проблемах. Говорил я долго, а Павао слушал внимательно, с пониманием, с желанием помочь. И что самое главное, он умел плавать в водах непростой академической политики своей страны. Его только что выбрали в Хорватскую академию наук и искусства, и вот-вот ему предстояло сделаться ее полноправным членом. Павао предложил представить проект не как сотрудничество между нашей исследовательской группой и институтом в Загребе, где хранится коллекция из Виндии, а как совместную работу двух академий, Хорватской и той, к которой принадлежал я.

Я и вправду являлся членом нескольких научных академий. Это, конечно, почетное звание, но до сих пор академии никакого отношения к моей научной деятельности не имели. Я ни разу не присутствовал на собраниях, где, по моим представлениям, вечно заседали высокочтимые ученые и вели высоколобые споры – пока не отходили в мир иной. И вот неожиданно членство в академиях вышло на первый план. В какую академию обратиться?

Я предложил Национальную академию наук США, самую престижную с моей точки зрения, но Павао отсоветовал этот вариант. Мы остановились на Берлинско-Бранденбургской академии естественных и гуманитарных наук, членом которой я состоял с 1999 года. Павао считал, что лучше всего будет, если президент Берлинской академии напишет президенту Хорватской академии и сам предложит наш проект в рамках “сотрудничества на высшем уровне”. Павао предложил подождать несколько недель, пока он сам формально не вступит в ряды академиков. Тогда он вместе с несколькими коллегами сможет замолвить слово за проект лично перед президентом.

На следующее утро мы вернулись в Лейпциг. Оптимизма немного прибавилось. Надежда привезти костей не сбылась, и нам еще предстояло, не очень понятно как, убедить Хорватскую академию, что в их же интересах поддерживать проект. Но благодаря Павао у нас появилась надежда.

По приезде я тотчас позвонил президенту Берлинской академии Гюнтеру Штоку. Он внимательно выслушал и выразил готовность помочь; он считал, что необходимо укреплять научные связи с Хорватией. Он прислал своего ассистента по внешним связям, и вдвоем мы вчерне составили письмо президенту Хорватской академии, предложив проект “Неандертальский геном” в качестве поля для сотрудничества между двумя академиями.

Мы отметили, что готовы поддерживать составление каталога по коллекции из Виндии и что для этого могли бы передать компьютеры и предоставить сотрудников.

Но на этом я не остановился. Я должен был сделать все возможное, чтобы преодолеть противодействие неведомых сил из Загреба. Для начала я решил вовлечь в проект всех лиц, имеющих отношение к нашей истории. Я написал Якову Радовичу и пригласил его на июльскую пресс-конференцию с 454. Там он, как я ему расписывал, мог бы представлять для прессы палеонтологический аспект работы с неандертальцами. Он ответил, что занят в эти даты и приехать не сможет. Затем я связался с Фрэнком Гэнноном, директором ЕМВО, Европейской организации молекулярной биологии (я имел членство и там). Его я попросил связаться с министром науки, образования и спорта Хорватии Драганом Приморацем. Драган Приморац был необычным политиком, так как занимал еще и должность профессора криминалистики в Университете Сплита и адъюнкт-профессора в Пенсильванском университете в Америке. Драган, с которым мы вскоре подружились, пообещал способствовать продвижению проекта. Я понятия не имел, помогут ли все эти письма и разговоры, но хотел сделать все, что в моих силах.

Тем временем в Загреб пришло письмо о сотрудничестве, подписанное профессором Штоком от имени Берлинской академии наук, – это было официальное выдвижение неандертальского проекта. К формальному письму прилагалось письмо и от меня. Павао Рудан, к которому обратилась за консультацией хорватская сторона, предложил несколько условий сотрудничества: по крайней мере один хорватский соавтор должен участвовать в каждой публикации по коллекции из Виндии; Хорватская академия должна быть поименована в разделе “Благодарности”; нам надлежит приглашать двух хорватских ученых в Лейпциг каждый год до тех пор, пока проект не закроется. Я согласился со всеми положениями и добавил, что мы, от лица Берлинской академии, поддержим составление каталога коллекции из Виндии.

На все эти переговоры ушло время. Лето перешло в осень, осень превратилась в зиму. Я запрашивал образцы из других неандертальских местонахождений, особенно из тех, где по результатам предыдущих исследований в костях сохранилась ДНК. Начать, естественно, следовало с самой долины Неандерталь, где нашли первого неандертальца в 1856 году. Ту пещеру раскопали не ученые, а рабочие каменоломни, которые просто складывали кости по мере того, как находили их. С тех пор и пещеру, и холм, в котором была пещера, срыли при выработке известняка. Множество костей из того местонахождения затерялось в отвалах. Но за несколько лет до описываемых событий у Ральфа Шмитца, с которым мы занимались изучением первого, “типového”, образца, появилась сумасшедшая, но восхитительная идея: поискать потерянные кости. Тщательно изучив старые карты и исходив пешком всю долину Неандерталь – и в изрядной мере прислушиваясь к интуиции, – он таки нашел то место, куда 150 лет назад свозили пустую породу и всякий мусор из каменных разработок. Теперь эту площадку частично занимали гараж и автомастерская. Ральф начал раскопки, и его усилия увенчались успехом: он не только нашел кости, принадлежавшие тому “типovому” индивиду, но и отыскал остатки второго индивида. В 2002 году мы выделили мтДНК из этого второго индивида и опубликовали результаты в соавторстве с Ральфом[52]. Йоханнес достал с дальней полки остатки костной ткани от тех опытов и сделал новые вытяжки. Затем проанализировал их более современными методами, пытаясь выделить ядерную ДНК

вдобавок к митохондриальной.

Результаты оказались неутешительными. Экстракты содержали 0,2–0,5 процента неандертальской ДНК – недостаточно для составления генома.

На Кавказе в пещере Мезмайская вели раскопки два археолога из Санкт-Петербурга, Любовь Голованова и Владимир Дороничев. Им попался скелет неандертальского ребенка.

Ребенка, по-видимому, специально похоронили, так как все кости были в целости и не сдвинуты. Этот скелет отличало от остальных находок кое-что еще: возраст большинства неандертальских костей, которые попадают к нам на анализ, примерно 40 тысяч лет, а этому было от 60 до 70 тысяч. Любовь и Владимир приехали к нам и привезли часть ребра на анализ, и еще они привезли фрагмент черепа неандертальца, найденного в верхних слоях раскопа. Йоханнес приготовил экстракты и получил по содержанию 1,5 процента неандертальской ДНК из экстракта ребра. Мы, конечно, рассчитывали на большее; к тому же ребро было таким крошечным, что нечего было даже надеяться выделить достаточное количество ДНК для составления генома. Но тем не менее кое-какую информацию опыты с ребром принесли.

Третье интересное для нас местонахождение находилось на северо-западе Испании, в Астурии, и называлось Эль-Сидрон. Я съездил туда в 2007 году. Если в детстве мечтаешь стать палеонтологом, то в воображении рисуешь именно такое место. Вокруг Эль-Сидрона великолепные пейзажи, а вот и сама пещера – с таинственным маленьким незаметным входом. В ней веками люди укрывались от всяких напастей. Таков Эль-Сидрон. Перед входом стоит памятник испанскому солдату, который прятался здесь и был убит фашистами во время гражданской войны. Если на четвереньках протиснуться через этот узкий вход и пройти две сотни метров вглубь и вправо, то попадаешь в обширную – двадцать четыре на двенадцать метров – боковую галерею. Именно там каждое лето проводят раскопки профессор Марко де ла Расийя и его коллеги и студенты из Университета Овьедо. Им посчастливилось найти кости нескольких неандертальцев – младенца, ребенка, двух подростков и четырех молодых людей. Длинные кости были раздроблены и с многочисленными царапинами. Только кости рук располагались в ожидаемом порядке, будто бы отделенные от тела и отброшенные в сторону. Марко де ла Расийя считает, что кости выбросили в пруд где-то в стороне от пещеры – это произошло примерно 43 тысячи лет назад – и потом вода смыла кости в пещеру.

Каждое лето на этом месте находят новые кости, и мы договорились, что поднимать из земли их будут таким образом, чтобы по возможности не заносить современную ДНК и максимально сохранить ДНК неандертальцев. Под руководством Карлеса Лалуеса-Фокса, молекулярного биолога из Барселоны, и Антонио Росаса, антрополога из Музея естественных наук в Мадриде, рабочие на раскопе обрядились в стерильные перчатки, стерильные балахоны, надели маски на лицо – в общем, оделись так, как мы у себя в “чистой комнате”. Подняв кости, подходящие для экстрагирования, они складывали их в ящик со льдом. В лаборатории Антонио в Мадриде все кости снимали на томографе, чтобы задокументировать их морфологические особенности. Затем в том же замороженном состоянии их отсылали в Лейпциг. Практически никто не прикасался к ним с момента находки, развитие бактерий на них тоже должно было быть минимальным. Я возлагал большие надежды на эти кости, но когда Йоханнес провел все эксперименты, оказалось, что они содержат только 0,1–0,4 процента ДНК неандертальцев. Ни в одном местонахождении – а я, кроме вышеописанных, связался со многими другими, и результат был еще хуже – не нашлось достаточно ДНК, чтобы составить геном неандертальца.

Похоже, подходящая кость есть только в Индии, только в ней сохранилось более или менее адекватное количество ДНК. А в Загребе дела двигались со скоростью черепахи, если вообще двигались.

Одно событие все-таки нас порадовало. К концу лета 2006 года в лабораторию прибыл талантливый хорватский аспирант Томислав Маричич. Томи сопровождал нас в прошлый наш визит в Институт четвертичной палеонтологии и геологии; его местные связи очень нам

помогли во время переговоров. Наш проект стал темой публичного обсуждения – хорошо, что Томи переводил мне газетные статьи, так что я был в курсе дела. В июле, после пресс-конференции в Лейпциге, на которой проект “Неандертальский геном” был официально объявлен, большая газета *Jutarnji List* взяла интервью у Якова Радовича. В газете он изображался как “человек, без которого невозможно представить исследование неандертальцев”. Вот его слова: “Следует спросить: а в чем же все-таки цель исследования?”

Кроме того, неясно, можно ли в принципе прочитать геном неандертальца... Ведь они используют химически агрессивные методы, разрушающие материал, а материал слишком ценен, чтобы просто так им пожертвовать”. В ноябре та же газета опять его процитировала: “Три с половиной месяца назад Сванте Пэабо приезжал в Загреб в поисках образцов для молекулярного генетического анализа... Я, однако, считаю, что мы должны бережно относиться к образцам и сохранить их для будущих поколений исследователей”.

Все эти замечания заставили меня послать Якову длинный вежливый имейл, в котором я еще раз подробно разъяснил проект. Он ответил, что, уладив некоторые формальности с коллекцией, которые могут занять “от нескольких недель до нескольких месяцев”, он намерен оказать нам “полную поддержку”. В Загребе вокруг проекта ходили всякие слухи.

Я раздражался, так как не мог понять, кто нас поддерживает, кто воюет против, кто что кому сказал, должен ли я верить тому, что мне говорят в лицо. Положиться без раздумий я мог только на Павао Рудана и двух его друзей из Академии наук и искусства. Одного звали Желько Кучан. Он был ученым государственного масштаба; пятьдесят лет назад он запустил науку об исследовании ДНК в университете Загреба. Другой – геолог Иван Гушич, Джонни для друзей. Веселый, оптимистичный, всегда дружелюбный, он вскоре встал во главе Института четвертичной палеонтологии и геологии (рис. 12.2).

В конце ноября, воспользовавшись выходом в свет наших статей в *Nature* и в *Science*, Павао решил поддержать проект публично. Он написал статью в воскресный выпуск крупной хорватской газеты *Vjesnik*. В статье говорилось, что исследования ДНК могут поведать много нового об эволюции человека и что материал из Виндии является существенным звеном исследований. “Таким образом, сотрудничество с коллегами из Общества Макса Планка необходимо продолжать и всемерно укреплять, – гласила статья. И далее: – Именно с помощью образцов из Виндии, хранящихся в нашей академии, можно впервые в истории получить геном гоминида эпохи плейстоцена... Будущее сотрудничество между нашей академией и Берлинской, особенно с группой Сванте Пэабо, значительно продвинет вперед палеоантропологию, молекулярную генетику и антропологию”. Я очень надеялся, что наши труды со временем докажут, что Павао верил в нас не напрасно.

Медленно-медленно колесо хорватской бюрократии поворачивалось в нашу пользу. Восьмого декабря 2006 года после множества проволочек, для меня в основном непостижимых, был подписан меморандум о соглашении между Хорватской и Берлинской академией наук. Я прямо не верил! Наконец-то дорога к вожделенным костям расчищена!

При первой же возможности я организовал поездку в Загреб. Поехали мы с Йоханнесом и Кристин Верна, молодой француженкой, палеонтологом из отдела эволюции человека в нашем институте в Лейпциге. Ей предстояло провести в Институте четвертичной палеонтологии и геологии десять дней и составить предварительный каталог костей неандертальцев из коллекции Виндии.

*Рис. 12.2. Павао Рудан, Желько Кучан и Иван “Джонни” Гушич, трое членов Хорватской академии наук, которые помогли нам с образцами неандертальских костей из пещеры Виндия. Фото: Павао Рудан, HAZU*

Мы с Йоханнесом пробыли в Загребе четыре дня и вернулись в компании Павао, Желько и Джонни, а у Джонни в чемоданчике лежали стерильные упаковки с восемью вожделенными костями, и среди них знаменитая Vi-80, теперь официально переименованная

Vi-33.16 (рис. 12.1).

Мы прибыли в Лейпциг поздно вечером. А с утра первым делом отнесли кости к нам в отдел эволюции человека, где их, не вынимая из упаковок, просканировали на томографе – теперь их морфологическое строение навечно зафиксировано в электронном виде. А потом в игру вступил Йоханнес и забрал кости в “чистую комнату”.

*Рис.12.3. Отбор проб из неандертальской кости стерильным буром. Фото: MPI-EVA*

С помощью стерильного зубоорудия сверла он удалял два-три миллиметра поверхности с каждой из костей. Затем сверлил маленькую дырочку до плотной внутренней части кости. Ему приходилось часто останавливаться, чтобы сверло не нагрелось и чтобы из-за нагрева не потерять потенциальную ДНК (рис. 12.3). Ему требовалось примерно 0,2 грамма костного материала; этот материал опускался в раствор, который в течение нескольких часов растворял и связывал костный кальций. От кости оставались комочки белков и других неминеральных компонентов, ДНК же попадали в раствор, то есть в жидкую часть смеси. Йоханнес изолировал молекулы ДНК, соединяя их с кремнием – этот метод четырнадцать лет назад с успехом применял Матиас Хёсс для выделения ДНК из древних костей.

Чтобы подготовить молекулы ДНК для секвенирования по методу 454, Йоханнесу нужно было с помощью определенных ферментов убрать раскрученные и одиночные кусочки нитей ДНК на концах. Потом, используя следующий фермент, он пришивал к концам древних фрагментов специально синтезированные короткие отрезки современной ДНК, так называемые адаптеры. С присоединенными адаптерами отдельные фрагменты ДНК можно было “читать” на секвенаторе, как книгу; коллекция таких прочтенных “книг” складывалась в библиотеку. Адаптеры специально синтезировали для нашего проекта: они содержали короткую последовательность из четырех оснований, ТГАЦ, и эта цепочка должна была оказаться на стыке синтезированной и древней ДНК и служить своеобразным маркером искомым фрагментов. Это была одна из тех незаметных технических мелочей, которые часто играют огромную роль в продвижении молекулярной биологии в целом и в области исследования палео-ДНК в частности. Мы применили эти маркеры, так как наши библиотеки древних ДНК должны в какой-то момент покинуть чистые помещения и отправиться на секвенаторы 454. Чтобы наверняка быть уверенными, что ДНК из других библиотек, с которыми мы работаем в лаборатории, не попали в неандертальские библиотеки, мы будем обращать внимание только на те последовательности, которые начинаются с ТГАЦ. Идею адаптеров мы разработали и опубликовали в 2007 году[53].

Проведя все эти процедуры, Йоханнес приготовил вытяжки из восьми новых костей из Виндии. Затем он прогнал экстракты через ПЦР, чтобы проверить содержание неандертальской мтДНК и уровень зараженности современной ДНК. Почти во всех костях он нашел неандертальскую мтДНК. Это вдохновляло, но после всех разочарований с костями из России, Германии и Испании я придерживал свой энтузиазм. Мы немедленно отсекуем случайную выборку фрагментов ДНК из каждой библиотеки, чтобы оценить долю ядерной неандертальской ДНК. Процесс этот занял несколько дней, и пока мы ждали результата, я едва мог сосредоточиться на чем-то другом и заниматься остальными проектами. Мы же сказали во всеуслышание по всему миру, что составим неандертальский геном. И если в костях из Виндии недостаточно ядерной ДНК, то придется столь же громко объявлять о неудаче. Я не знал, где еще искать кости, лучших не было.

И вот перед нами результаты. Некоторые кости содержали от 0,06 до 0,2 процента ядерной ДНК, так же как и в остальных местонахождениях. Но в трех костях мы нашли 1 процент, а в одной почти 3 процента ядерной ДНК! Эта одна и есть знаменитая Vi-33.16, бывшая Vi-80. Мы не отыскали “волшебную косточку” с сохранной ядерной ДНК, но с тем, что у нас есть, можно было работать.

Итак, не все потеряно!

## Глава 13 Дьявол в деталях

Новогодние каникулы я провел в размышлениях: дела наши шли отнюдь не блестяще. Подсчитав, сколько нам потребуется костного материала, чтобы отсекуировать полный геном, я получил десятки граммов. Столько не весили все имеющиеся у нас кости. Я чувствовал себя ужасно. Неужели я настолько безнадежный оптимист или просто сверх меры наивен? Что за идиотизм – верить в существование кости с б&#243;льшим содержанием ДНК, чем в той первой кости из Виндии... Или я слишком понадеялся на 454, что она волшебным образом вытащит из рукава сверхмощную методику прочтения ДНК... Зачем я так лихо рискнул спокойствием и размеренной научной жизнью? Теперь я всего этого запросто могу лишиться.

Те двадцать пять лет, которые пришлось на мою работу в молекулярной биологии, были временем безостановочной технической революции. Те задачи, которые требовали в мои студенческие годы дней и недель изнурительного труда, теперь превратились в несложную процедуру: секвенаторы, пришедшие на современный рынок, выполняют ее за одну ночь.

Трудоемкое и кропотливое бактериальное клонирование сменилось ПЦР, с помощью которой за несколько часов достигается результат тех прошлых многонедельных или многомесячных стараний. Вероятно, из-за этого я так легко решил, что за год-два мы сможем секвенировать в три тысячи раз быстрее, чем раньше, когда анализировались результаты для нашей концептуальной статьи в *Nature*. Действительно, с чего бы технологической революции останавливаться? За годы работы я усвоил, что в обычном случае, если речь не идет о сверхгениях, прорывы случаются, когда используются новейшие технологические достижения. Но это вовсе не означает, что мы должны становиться пленниками технологий и ждать, когда какое-нибудь изобретение чудесно разрешит наши трудности. Мы ведь можем немножко подсобить технологиям.

Я рассуждал так: если у нас мало костного материала и если в них ничтожное количество ДНК, то нужно хотя бы снизить потери ДНК на пути от экстракта к библиотеке. И после каникул на пятничном собрании я постарался донести до нашей группы чувство глубочайшего кризиса, в котором мы оказались. Я сказал, что на волшебную кость с кучей ДНК не осталось надежды и ничто чудесным образом нас не спасет. Мы должны использовать только то, что имеем, а это значит – заново переосмыслить каждый шаг лабораторных манипуляций. Например, что мы делаем при очистке ДНК-содержащих растворов? Ведь белков и других веществ в этих растворах совсем чуточка, а цена очистки – потеря большей доли ДНК. Если как-то минимизировать эти потери, то нам, может, и хватит имеющихся костей, и мы тогда дотянем до выпуска новых технологий 454.

Я неделю за неделей переспрашивал своих сотрудников, как именно они выполняют каждый из этапов работы с костями. Этот способ задавать один и тот же вопрос снова и снова я извлек из своего полузабытого юношеского прошлого, когда на военных сборах в Швеции нас учили допрашивать заключенных. И чем больше я спрашивал, тем больше приходил к убеждению, что при тщательной очистке вытяжек, предписанной протоколом 454, мы, по-видимому, теряем непомерно большую часть ДНК. И продолжал настаивать на осмыслении каждого шага этого протокола. А что еще оставалось делать?

В мои студенческие годы в молекулярной биологии всю использовались радиоактивные метки. Но потом во избежание обременительных мер предосторожности молекулярные биологи перешли к нерадиоактивным стратегиям. Потому теперешние студенты практически не имеют опыта работы с радиоактивными включениями. Однако при этом радиоактивные метки остаются наиболее чувствительным методом обнаружения даже ничтожного количества ДНК. И вот на одном из наших пятничных собраний я предложил

Томи Маричичу пометить небольшое количество ДНК радиоактивным фосфором и использовать раствор для приготовления отсековенной библиотеки. А раствор с остатками ДНК, которые в обычных случаях выбрасываются, можно измерить на радиоактивность. Уровень радиоактивности покажет, сколько ДНК из раствора не пошло на секвенирование. Таким образом, можно напрямую измерить уровень потерь при очистке вытяжек.

Мой план, когда я изложил его на пятничном собрании, был встречен молчанием. Я сначала подумал, что все просто замерли в молчаливом восхищении перед изяществом и простотой моего решения. Но на самом деле в своем бездумном натиске я не принял во внимание, как живет моя группа. В подобном устройстве жизни кроется реальная сила исследовательской группы, но временами оно же оборачивается не на пользу делу. У нас принято было обсуждать любую идею, каждый мог свободно высказывать свое мнение, и в результате на собраниях мы приходили к общему решению, что и как нужно сделать. Но, как и в любой демократии, временами берут верх неразумные решения. На том собрании некоторые выказали решительный скептицизм. К их мнению в группе тогда прислушивались. К моему плану предъявили ряд претензий, вызванных, по-моему, подсознательным страхом перед малознакомыми методиками, к тому же старомодными и небезопасными, и вообще жуткими. Я решил не торопить события. Сначала обратиться к другим методам – попробовать оценить, сколько ДНК остается после каждой процедуры приготовления библиотек, и испытать новую технику для ПЦР. Но все это оказалось бесполезным – обычные методы показали слабую чувствительность или не годились по другим причинам.

Месяц за месяцем я продолжал настаивать на радиоактивном эксперименте, мое нетерпение росло, и я уже страстно жалел об ушедших временах автократии, когда слово профессора было законом. Но, стиснув зубы, соглашался, не желая разрушать атмосферу свободного обмена мнениями, которая, на мой взгляд, очень важна для дела.

И вот, когда все остальные способы были испробованы и отброшены, группа скрепя сердце согласилась. Томи неохотно заказал радиоактивный фосфор, пометил некоторое количество обычной человеческой ДНК, которую мы использовали для проверочных опытов, и потом проделал все процедуры по приготовлению вытяжек для секвенирования по 454. Результат получился ошеломительным. Он показал, что на первых трех этапах теряется от 15 до 60 процентов ДНК. Для биохимических процедур такой уровень потерь в принципе ожидаем. Но на последнем этапе, когда с помощью сильных щелочей разделяются комплементарные нити ДНК, потери против изначального количества достигают более 95 процентов. Естественно, для тех, кто работает с современной ДНК, все эти потери не имеют значения – материала у них полным-полно, так что даже 95-процентная потеря незаметна. А вот при работе с древностями она оборачивается полной катастрофой. Но раз проблема выявлена, то и решение нашлось. Чтобы разделить ДНК на одиночные нити, годятся не только щелочи. ДНК можно просто нагреть. Томи испробовал этот метод и обнаружил, что выход полученного для секвенирования раствора в 10–250 раз выше, чем при воздействии щелочами! С такими картами можно продолжать игру.

В большинстве лабораторий растворы после секвенирования выливают. А мы, к счастью, к этому большинству не относились. По моему настоянию мы сохраняли вытяжки от всех экспериментов – вдруг что новое изобретут, и они вновь пригодятся. Наверное, эта моя идея была наименее популярна среди лабораторного народа. В лаборатории стояли унылые ряды холодильников, забитые замороженными остатками экстрактов, и никому в голову не приходило, что они когда-либо будут использованы. Но спасибо нашим обстоятельствам – навязчивая идея профессора была реабилитирована. Теперь Томи оставалось только подогреть образцы растворов прошлых экспериментов с костями из Виндии и получить новые неандертальские ДНК, и относительно много, и без затрат на рутинные процедуры экстрагирования. Он так или иначе усовершенствовал и другие этапы приготовления библиотек. И в результате выработал пошаговую методику от костных

вытяжек до растворов для секвенирования, в сотни раз более эффективную, чем прежние[54].

После обсуждения деталей проекта с хорватскими партнерами мы остановились на трех костях из Виндии – Vi-33.16 и двух других, Vi-33.25 и Vi-33.26. Все они, по-видимому, представляли собой осколки длинных костей, раздробленных, чтобы добраться до костного мозга (см. рис. 12.1). Благодаря усилиям Томи у нас появилась надежда получить только из этих костей 3 миллиарда нуклеотидов неандертальского генома. Но нельзя забывать, что в наших библиотеках по-прежнему содержалось не меньше 97 процентов бактериальной ДНК. Поэтому для команды из Брэнфорда путь до этой цифры – 3 миллиарда нуклеотидов – составлял от четырех до шести тысяч циклов секвенирования.

Убедить Майкла Эгхольма выполнить такой объем работы даже думать не стоило. Мне казалось, что мы намертво застряли, когда кто-то предложил поискать в трех хорватских костях “карманы” – области, в которых меньше бактериальной ДНК и, соответственно, больше неандертальской. Мы и раньше замечали, что в костях есть участки с большим или меньшим содержанием ДНК – вероятно, одни микрообласти казались бактериям более пригодными для роста, чем другие, и потому там бактерии размножались более интенсивно. Мысль обнадеживала, и Йоханнес принялся сверлить кости, чтобы найти наилучшие микрообласти. Он сверлил и сверлил – сначала кости стали похожи на флейту, затем на швейцарский сыр. Действительно, в некоторых участках мтДНК было в десять раз больше, чем в других, отстоящих на какой-то сантиметр. Но все равно – 4 процента неандертальской ДНК и не больше.

*Рис. 13.1. Команда “Неандертальского генома” в Лейпциге, 2010 г. Слева направо: Эдриан Бриггс, Эрнан Бурбано, Матиас Мейер, Аня Хайнце, Джесс Дэбни, Кай Прюфер, я, реконструкция неандертальского скелета, Дженет Келсо, Томи Маричич, Цюэмэй Фу, Удо Штенцель, Йоханнес Краузе, Мартин Кирхер. Фото: MPI-EVA*

Снова и снова мы возвращались к этой проблеме на наших пятничных собраниях. Там, на мой взгляд, концентрировался весь научный и социальный опыт: аспиранты и молодые специалисты знали, что их будущее, их карьера зависят от полученных результатов и публикаций. Поэтому они хитроумно изыскивали возможности провести ключевые эксперименты и вместе с тем избежать экспериментов дополнительных, связанных с общими нуждами, которые вряд ли войдут в громкие публикации с их авторством. Я смирился с мыслью, что начинающим ученым движут эгоистичные побуждения, и своей задачей видел соблюдение тонкого баланса между личными карьерными интересами молодого специалиста и общелабораторной линией и взвешивал всякий раз индивидуальные возможности каждого. Но когда неандертальский кризис накрыл нас с головой, я был восхищен, с какой легкостью личные интересы уступили групповым.

Группа сплотилась в единое целое, где каждый, не ожидая награды и славы, рвался выполнить любое трудоемкое дело, только бы хоть немножко продвинуть проект. Царило чувство единения во имя общей цели, и все без исключения видели в ней великое, историческое предприятие. Я чувствовал, что собрал превосходную команду (рис. 13.1).

Иной раз в приступе сентиментальности я ощущал любовь ко всем присутствующим и к каждому персонально. Из-за этого безрезультатность наших попыток казалась еще горше.

На пятничных собраниях весной 2007 года наша сплоченная группа показала себя с наилучшей стороны. Люди вбрасывали идею за идеей, одна безумнее другой, как увеличить долю неандертальской ДНК или найти “карманы” с наибольшим ее содержанием. Невозможно сказать, чья идея в конце концов сыграла, потому что мысли рождались на глазах, по ходу живейшего обсуждения, где все говорили и все принимали участие. Мы стали обсуждать, нельзя ли как-то отделить бактериальную ДНК от всего остального. Может, у бактериальной ДНК есть какое-то свойство, на которое можно нацелиться и оно

сработает: ну, к примеру, размер бактериальных и неандертальских фрагментов. Но нет и нет – размер бактериальных фрагментов был таким же, как и неандертальских.

Но все же, все же чем отличаются бактериальные последовательности от ДНК млекопитающих? – спрашивали мы себя. И вот наконец меня осенило – метилирование!

Метильные группы присоединяются к нуклеотидам, чуть-чуть химически изменяя их, но не саму последовательность. У бактериальной ДНК чаще метилируются аденины, а у млекопитающих метилируются в основном цитозины. Возможно, стоит попробовать подобрать антитела к метилированным аденинам и, таким образом, выделить бактериальную ДНК из экстрактов. Антитела – это белки, которые производятся иммунной системой, когда та узнает о внедрении чужеродной субстанции, например бактериальной или вирусной ДНК. Они циркулируют в крови, едва только обнаружат поблизости чужеродных агентов, накрепко связываются с ними и так помогают от них избавиться. Так как антитела строго специфичны, то есть связываются только с теми веществами, которые были предъявлены иммунным клеткам, они стали мощным инструментом в лабораторных работах. Например, если впрыснуть мышам метилированный аденин, то ее иммунные клетки распознают этот метилированный аденин как чужеродного оккупанта и произведут специфические антитела к метилированному аденину. Эти антитела можно потом выделить из крови мыши, очистить и использовать в лабораторных экспериментах. Я подумал, что мы можем изготовить такие антитела и попробовать с их помощью убрать бактериальную ДНК из вытяжек.

Быстрый поиск по литературе показал, что неподалеку от Бостона есть такая компания *New England Biolabs*, где исследователи уже синтезировали антитела к метилированным аденинам. Я написал Тому Эвансу, прекрасному ученому, который занимался репарацией ДНК и работал, как я знал, в этой компании. И он любезно прислал нам антитела. Теперь требовался доброволец из группы, который с их помощью попробовал бы связать бактериальную ДНК и удалить ее из вытяжки. Я надеялся, что таким образом мы сможем существенно повысить долю неандертальской ДНК. Задумка казалась мне весьма остроумной. Но когда я на собрании изложил ее нашей группе, она была встречена с изрядным скептицизмом. Я подумал, что дело опять-таки в неприятии незнакомых методик. Но теперь я припомнил им опыты с радиоактивностью. И таки настоял на своем. Эдриан Бриггс взялся за дело. Много месяцев он провел, пытаясь заставить антитела связываться с бактериальными фрагментами и отделить их от небактериальных. Он испробовал все мыслимые вариации методик. Так ничего и не сработало. Мы не понимали почему – и до сих пор не понимаем. Я уже стал привыкать к ехидным шуточкам по поводу гениальности своей идеи с антителами.

Но чем же еще эту бактериальную ДНК уничтожить, как от нее избавиться?

Высказывалось предложение найти какой-нибудь часто повторяющийся мотив в бактериальных последовательностях. Тогда мы бы смогли с помощью синтетической ДНК связать эти мотивы и убрать бактериальную ДНК, примерно так, как мы пытались это проделать с антителами. Наш тихоня Кай Прюфер, студент-компьютерщик, который после появления в лаборатории самостоятельно выучил и стал понимать биологию генома лучше, чем любой студент-биолог, вызвался поискать такие потенциально полезные мотивы. И нашел. У него определилось несколько таких комбинаций из двух – шести нуклеотидов, которые гораздо чаще встречались у бактерий, чем в неандертальской ДНК, например, ЦГЦГ, или ЦЦГГ, или ЦЦЦГГГ и т. д. И когда он доложил об этом на собрании, то все вдруг стало на свои места. Конечно, как я об этом раньше не подумал! В каждом учебнике по молекулярной биологии так и написано: в геноме млекопитающих сравнительно редки такие сочетания нуклеотидов, где Ц идет за Г. А причина этого проста – у млекопитающих метилируются только те цитозины, за которыми стоят гуанины. Такие метилированные цитозины прочитываются ДНК-полимеразой с ошибками и в этом случае превращаются – мутируют – в тимины. В результате в течение миллионов лет эволюции в геноме млекопитающих постепенно становилось все меньше и меньше ЦГ-сочетаний. У бактерий, напротив, цитозины не метилируются, или это происходит редко, и поэтому ЦГ-мотивы у

них обычны.

Можем ли мы как-то использовать это свойство? Ответ для нас всех был, естественно, очевиден. У бактерий имеются ферменты, так называемые рестриктазы, которые разрезают ДНК в местах с конкретными и специфичными мотивами, такими как ЦГЦГ или ЦЦЦГГГ. Если мы выдержим нашу неандертальскую вытяжку с набором таких ферментов, то они порежут бактериальную ДНК на мельчайшие кусочки, которые уже нельзя секвенировать, а неандертальская ДНК останется целехонька. И тогда та чуточка неандертальской ДНК увеличится относительно бактериальной, а нам того и нужно. На основе своего анализа Кай предложил коктейль из восьми рестриктаз, чтобы уж точно сработало. Мы немедленно обработали им одну из наших вытяжек этой смесью и отсековировали ее. Секвенатор выдал результат: 20 процентов неандертальской ДНК против обычных четырех процентов! А это значило, что теперь нужны не несколько тысяч циклов секвенирования, а только семь сотен. Для группы в Брэнфорде этот объем работы выглядел в пределах достижимого. Вот она, эта маленькая хитрость, сделавшая невозможное возможным. Единственный изъян методики виделся в том, что потеряются те участки, которые все же содержат мотивы ЦГ. Но их мы сможем выловить, используя различные наборы рестриктаз и сравнивая с результатами секвенирования без ферментов вообще. И вот мы представили наши наработки с рестриктазами Майклу Эгхольму в 454. “Блестяще!” – сказал он. Впервые мы почувствовали, что достижение нашей цели вообще реально.

А пока суд да дело, появляется статья молодого талантливого генетика Джеффри Уолла из Сан-Франциско, с которым мне несколько раз доводилось встречаться. Он сравнил 750 тысяч нуклеотидов из Vi-33.16, полученных нами по методу 454 и представленных в *Nature*, с 36 тысячами нуклеотидов, прочтенных группой Эдди Рубина по методу бактериального клонирования из наших экстрактов той же кости и опубликованных в *Science*. Уолл вместе с соавтором по имени Сун Ким указали на ряд различий, многие из которых мы уже обсудили при подготовке статей к печати. Они предположили, что дело может быть в недоработках методик 454, но, скорее всего, нужно винить современные загрязнения в наших библиотеках. По их расчетам, 70–80 процентов ДНК, которую мы считали неандертальской, нужно отнести к современной человеческой[55].

Расчеты настораживали. Мы знали, что загрязнения могут замешаться и в набор данных, опубликованный в *Nature*, и в библиотеки из *Science*, мы ведь отсылали экстракты в лаборатории, где не было необходимых стерильных условий нашей “чистой комнаты”.

Также мы знали, что уровень загрязнений наверняка больше в данных по 454, если уж говорить о разнице в уровнях загрязнения двух наборов данных. Но при этом понимали, что в любом случае уровень загрязнений не может быть 70–80 процентов, потому что в основе расчетов Уолла лежало предположение о равном количестве Г и Ц в коротких и длинных фрагментах, а мы уже знали, что это предположение неверно.

Пытаясь прояснить ситуацию, мы попросили *Nature* опубликовать короткую заметку, а в ней указывали, что некоторые отличительные черты в наборах данных следует отнести за счет разницы в технологиях бактериального клонирования и секвенирования по 454. Кроме того, нелишне было бы вспомнить те дополнительные эксперименты по секвенированию, которые отражали крайне низкий уровень загрязнений. Но вдруг выяснилось, что кое-какие загрязнения были внесены в наши данные по 454, вероятно, из библиотек ДНК Джеймса Уотсона, которые как раз тогда и секвенировали. Так что в заметке мы ограничились высказыванием, что “уровень загрязнений может оказаться выше того, который определяется по мтДНК”. Но насколько выше, этого мы сказать не могли. Мы дали для читателей ссылку на статью Уолла и на ту, где мы описываем методику мечения библиотечных последовательностей, которая позволяет навсегда решить вопрос с загрязнениями вне наших “чистых комнат”. Еще дали ссылку на доступную базу данных геномных последовательностей, откуда любой желающий может взять данные и сам поразбираться с волнующими его вопросами. Я очень досадовал, когда после

рецензирования *Nature* решил нашу заметку отклонить[56].

Мы обсуждали, стоило ли публиковать ту статью в *Nature*, не слишком ли мы поспешили.

Не увлеклись ли соревнованием с Эдди? Может, стоило подождать? Некоторые говорили, что стоило, другие – что нет. Даже теперь, оглядываясь назад, я уверен, что тот прямой тест загрязнения по мтДНК не соврал, оно было очень низким. У анализа по мтДНК имеются свои ограничения, но, по-моему, прямые доказательства всегда перевешивают косвенные рассуждения. В той заметке, которую *Nature* так и не опубликовал, мы написали: “Никаких тестов на загрязнение по ядерной ДНК пока не существует, но чтобы получать надежные данные по древней ДНК, необходимо их разработать”. И в следующие несколько месяцев это стало главной темой наших пятничных собраний.

## Глава 14 Карта генома

Ну вот, необходимые библиотеки ДНК составлять мы научились, скоро команда из 454 запустит свои мощные машины и все прочтает. Так что можно браться за новую задачу: картирование. Нам предстояло найти для каждого короткого фрагмента неандертальской ДНК соответствие в эталонном геноме человека. Звучит просто, но на деле задача оказалась колоссально сложной, примерно как если бы вы складывали гигантскую головоломку, в которой часть кусочков потеряна, часть попорчена и еще множество попало в коробку из других наборов и поэтому не подходит вообще.

Суть задачи по сортировке фрагментов состояла в том, что нужно было одновременно держать в голове две противоположных возможности. С одной стороны, если требовать абсолютно точного соответствия неандертальских и человеческих отрезков ДНК, то можно упустить или отбросить те, в которых имеются значимые отличия (или ошибки). И в результате неандертальский геном предстанет более похожим на человеческий, чем на самом деле. Но с другой стороны, если позволить слишком приблизительное соответствие, то в неандертальский геном попадут фрагменты бактериальных ДНК, которые иногда похожи на те или иные участки человеческой последовательности. В этом случае неандертальский геном будет слишком сильно отличаться от человеческого – больше, чем в реальности. Собственно, на том этапе можно было забыть обо всех остальных частностях и сосредоточиться на балансировании между этими двумя крайностями; от выбранного баланса зависел весь дальнейший анализ и подсчет различий между человеческим и неандертальским геномами.

Кроме того, была еще и практическая сторона дела. Компьютерные алгоритмы для картирования не могли учитывать слишком много параметров: мы ведь хотели сравнивать массивы в 3 миллиарда человеческих нуклеотидов с миллиардом неандертальских фрагментов по 30–70 нуклеотидов каждый (именно такое количество ДНК мы планировали секвенировать из костей). Программам с такими объемами быстро не справиться.

Несколько человек взялись за монументальную задачу по составлению алгоритма картирования: Эд Грин, Дженет Келсо и Удо Штенцель. Дженет приехала к нам в лабораторию в 2004 году из Университета Западно-Капской провинции в своей родной ЮАР и возглавила у нас группу биоинформатики. Как-то незаметно, но очень эффективно из самых разных и необычных личностей она создала целостную сплоченную команду.

Взять, например, Удо: немного мизантроп, убежден, что большинство тех, кто выше его в академической должностной иерархии, – спесивые дураки. Удо бросил университет, так и не получив диплом по информатике. И тем не менее, когда дело касалось программирования и умения логически мыслить, большинство его учителей не шли с ним ни в какое сравнение. Нам повезло, что он нашел неандертальский проект достойным своего внимания, хотя временами он сводил меня с ума своей абсолютной убежденностью в непогрешимости собственных знаний. Честно говоря, если бы не Дженет, я бы с ним, скорее

всего, не сработался.

Все работы по картированию полученных фрагментов, по сути, координировал Эд, чей собственный проект по сплайсингу РНК тихо и незаметно скончался. Вместе с Удо они разработали алгоритм картирования, который учитывал закономерности появления ошибок в последовательностях неандертальских ДНК. Эти закономерности, в свою очередь, определяли Эдриан с Филипом Джонсоном, талантливейшим студентом из группы Монти Слаткина из Беркли. Они-то и выяснили, что ошибки располагались в основном на концах фрагментов ДНК. Дело в том, что, когда молекула ДНК рвется, получаются две неравных по длине нити, и у той, что длиннее, конец торчит, становясь уязвимым для химических атак. Эдриан провел тщательный анализ и понял, что ошибки происходят из-за отщепления молекул азота от цитозинов, а не от аденинов, как мы ошибочно посчитали годом раньше. Даже больше: если Ц стоит на самом конце цепочки, то риск появления его в наших последовательностях в виде Т оценивается в 20–30 процентов.

Эд по-хитрому сумел включить в алгоритм эту Эдрианову закономерность: вероятность ошибок в зависимости от позиции нуклеотида в отрезке последовательности. Например, если неандертальская молекула имела Т на конце, а человеческий геном – Ц, то это считалось как точное соответствие, так как вероятность ошибки “отщепление и замена Ц на Т” очень часто встречается. И напротив, Ц на конце неандертальской молекулы и Т – человеческой считалось как полное несовпадение. Теперь мы не сомневались: алгоритм Эда значительно снизит уровень ложного наложения фрагментов и увеличит, соответственно, уровень корректных попаданий.

Дальше нам предстояло решить, какой из человеческих геномов выбрать для сравнения с неандертальским. Мы хотели понять – и это было одной из целей наших исследований, – будет ли генная последовательность неандертальцев ближе к европейскому человеку или к людям из других частей света. Ведь если мы составим карту фрагментов неандертальского генома относительно европейского варианта (а примерно половина эталонного генома принадлежит индивиду европейского происхождения, как известно)[57], то фрагменты, совпадающие с европейским геномом, останутся, тогда как те, что больше напоминают африканские геномы, отсеются. И тогда в результате мы получим геном неандертальца, слишком сильно похожий на европейский, что будет неверно. Понятно, что для сравнения нужно что-то нейтральное, и мы остановились на геноме шимпанзе. У неандертальцев, людей и шимпанзе был общий предок, и жил он, скорее всего, в промежутке от 4 до 7 миллионов лет назад. Это означало, что геном шимпанзе отличается и от человеческого, и от неандертальского. Мы также составили карту фрагментов неандертальской ДНК относительно гипотетического генома общего предка гоминидов и шимпанзе; этот геном разрабатывали в других лабораториях. После того как мы произведем картирование по геномам нашего общего отдаленного предка, фрагменты неандертальской ДНК можно будет сравнить с соответствующими последовательностями современных человеческих геномов из разных частей света. И тогда появится смысл обсуждать найденные различия, не опасаясь ошибок неверного начального выбора.

Все это вместе требовало значительных компьютерных мощностей, и, к счастью, Общество Макса Планка поддерживало нас безотказно. Специально для нашего проекта общество выделило блок из 256 мощных аппаратов в компьютерном центре в Южной Германии. Но даже с таким оборудованием обработка данных, прочтенных за один только запуск секвенатора, занимала несколько дней. Значит, на картирование всех данных уйдут месяцы. Удо считал, что лучше него никто с задачей не справится, и потому всю работу хотел сделать сам. Я призвал все имеющееся у меня терпение и стал ждать результатов.

Мы получили карты первых партий последовательностей ДНК из Брэнфорда. И тут Эд сразу же наткнулся на нечто чрезвычайно тревожное. У меня упало сердце, группа заволновалась: в коротких фрагментах обнаруживалось все больше отличий от человеческого генома, чем в длинных. Нечто похожее уже обсуждали Грэм Куп, Эдди Рубин и Джефф Уолл после нашей публикации в *Nature*. Они считали, что данная закономерность

отражает появление загрязнений, и полагали, что длинные фрагменты на самом деле являются не чем иным, как занесенными в библиотеки современными ДНК. И именно поэтому в длинных фрагментах наблюдается меньше отличий. А мы-то надеялись, что “чистые комнаты” и специальные ДНК-метки избавят нас от этого ужасного бедствия – загрязнений! Эд как сумасшедший бросился снова перетряхивать данные: занесли мы загрязнения или нет.

И выяснил, что, к счастью, нет, не занесли. Он очень быстро увидел, что если установить более строгие критерии совпадения фрагментов, то распределение отличий от эталонного генома будет одинаковым и для коротких, и для длинных. И он наглядно показал, что если использовать обычные, принятые в генетике критерии сходства, то короткие фрагменты бактериальной ДНК оказываются близки к человеческой ДНК, и тогда исследователи (и мы, и Уолл, и все другие) ошибочно включают их в анализ. В этом случае в среднем на выборку получалось, что короткие фрагменты сильнее отличаются от человеческого генома, чем длинные. Стоило Эду ужесточить критерии сходства и отсева лишних фрагментов, как проблема исчезла. Я мысленно похвалил себя за то, что, несмотря на очевидную разницу в коротких и длинных фрагментах, не верил в гипотезу загрязнений.

Вскоре группа опять столкнулась с препятствием. На сей раз вопрос стоял еще более запутанный, и мне потребовалось некоторое время, чтобы вообще понять, в чем дело, – так что наберитесь терпения, и я попробую объяснить. Для человеческого генома нормой является некоторая вариабельность: в одной и той же хромосоме на тысячу нуклеотидов в среднем бывает одно отличие. И это результат мутаций в предыдущих поколениях. Так что когда нам при сравнении двух хромосом встречаются в определенной позиции два разных нуклеотида (или два разных аллеля, как сказали бы генетики), мы вправе спросить, который из аллелей старше (какой будет считаться “предковым аллелем”, а какой более поздним “продвинутым аллелем”). Это, по счастью, проверить не так трудно – посмотреть, который из нуклеотидов в данной конкретной позиции найдется в геномах шимпанзе и других человекообразных обезьян. Тот аллель, который у них обнаружится, и является предковым: скорее всего, он-то и был у общего предка шимпанзе и человека.

Нам важно было выяснить, насколько часто у неандертальца появляются продвинутые аллели, общие с современными людьми. Чем больше их найдется, тем, значит, позже разделились эволюционные ветви неандертальцев и людей. Взявшись за анализ новой информации из 454 летом 2007-го, Эд забил тревогу. Он подтвердил более раннее наблюдение, сделанное на небольшой выборке, – его опубликовали Уолл с группой ученых в 2006 году. По сути, они написали, что длинные фрагменты неандертальской ДНК – а речь идет о фрагментах в 50 нуклеотидов и более – содержат больше продвинутых аллелей, чем короткие. Таким образом, получалось, что длинные фрагменты связаны более тесным родством с современным человеком, чем короткие, – наблюдение парадоксальное, но, вполне возможно, опять-таки являющееся результатом все тех же загрязнений.

На пятничных собраниях мы ни о чем другом и не говорили, только об этом вопросе. Одно предположение следовало за другим, и все безрезультатно. В какой-то момент у меня кончилось терпение, и я приготовился к ужасному поражению: может, действительно виной всему чужеродные ДНК и пришло время сдаться. Признать, что составить сколько-нибудь правдоподобный неандертальский геном невозможно. Мыслей больше не было ни одной, хотелось рыдать. Я, конечно, себе этого не позволил, но все равно многие в группе почувствовали, что мы по-настоящему близки к провалу. Может быть, именно это и подстегнуло группу, придало участникам куражу. Я заметил, что у Эда появились круги под глазами, будто он не спал несколько недель. Он-то и решил головоломку.

Вспомним, что продвинутый аллель появляется как мутация у отдельного индивида – что по определению делает продвинутый аллель редкостью. Если рассматривать геном в целом, то примерно 35 процентов индивидуальных различий в нуклеотидных позициях приходится на продвинутые аллели, а 65 – на предковые. Эд догадался вот о чем: такое распределение означает, что если во фрагменте неандертальской ДНК присутствует

продвинутый аллель, то от соответствующего фрагмента человеческого генома он будет отличаться в 65 процентах случаев и совпадать только в 35 процентах. Таким образом, получается, что фрагмент неандертальской ДНК скорее совпадет с человеческим, если присутствует предковый аллель! Кроме того, Эд понял, что компьютерная программа картирования часто не распознает короткие фрагменты, не совпадающие с человеческими аналогами. А длинные, наоборот, узнает: они естественным образом имеют больше совпадений по позициям, и потому программа их засчитывает, даже если в них имеется отличие-другое. В результате программа чаще отсеивает короткие фрагменты с продвинутыми (более редкими) аллелями, чем длинные, и на выходе получается, что в коротких фрагментах меньше продвинутых аллелей, чем в длинных. Эду пришлось несколько раз втолковывать мне всю эту логику, пока я не уразумел. И даже тогда я не до конца верил собственному чутью, все надеялся, что Эд сумеет отыскать более наглядное доказательство.

В конце концов Эд изобрел-таки хитроумный способ – что угодно, только бы не видеть, как я рыдаю на собрании в пятницу. Он просто взял из выборки длинные фрагменты ДНК и разрезал их пополам – естественно, виртуально, в компьютере, – получив таким образом фрагменты вдвое короче. Затем он прогнал эти короткие фрагменты через программу картирования. И, как по волшебству, частота появления продвинутых аллелей снизилась по сравнению с частотой продвинутых аллелей в длинных фрагментах. А ведь из них-то и были нарезаны короткие фрагменты. А нехватка продвинутых аллелей получалась как раз из-за того, что короткие фрагменты с такими аллелями “вызывали подозрение” у компьютерной программы и она их отсеивала. Ну наконец-то, вот оно, объяснение, и вовсе это не загрязнение! Хотя казалось очевидным, что дело в них. По крайней мере, теперь мы имели возможность выявить картину загрязнений в том первом, пробном анализе материала из *Nature*. Я мысленно выдохнул с облегчением, когда Эд представил свой эксперимент. Мы опубликовали наши догадки в узкоспециальной статье в 2009 году[58].

Работа Эда еще раз убедила меня в том, как необходим прямой количественный анализ загрязнений. Каждую пятницу мы заново обсуждали способы оценки уровня загрязнений ядерной ДНК. Но теперь, когда об этом заходила речь, я оставался спокоен. Я знал, что мы на верном пути.

## Глава 15 От костей к генам

К 2008 году команда 454 проделала 147 запусков по девяти библиотекам, приготовленным из образцов Vi-33.16. Так что было в результате получено 39 миллионов отсеквенированных фрагментов. Цифра внушительная, без сомнения, но я надеялся, что к этому времени у меня уже будет больший объем отсеквенированной ДНК. С таким набором данных мы и думать не могли подступить к составлению генома. Тем не менее очень хотелось отработать сам алгоритм картирования. Поэтому мы затеяли гораздо менее масштабное предприятие по реконструированию митохондриального генома. Ведь чем мы, да и другие тоже, располагали до того момента? Всего 800 нуклеотидов одного из переменных участков неандертальского мт-генома. А нам хотелось иметь его целиком, все 16 500 нуклеотидов.

Эд Грин принялся просеивать 39 миллионов прочтенных фрагментов ДНК; он решил сложить вместе кусочки, напоминавшие последовательности мт-генома современных людей. Затем нужно было сравнить их и, обнаружив перекрывающиеся участки, наложить друг на друга. И так шаг за шагом выстраивалась неандертальская последовательность.

Затем он снова шерстил 39 миллионов фрагментов, но уже ориентируясь на проступающую неандертальскую цепочку. Этот новый поиск выявил фрагменты, упущенные на первом этапе. Ему удалось идентифицировать 8341 митохондриальный фрагмент неандертальца, в среднем длиной в 69 нуклеотидов. Из них получилась полная цепочка

молекулы мтДНК в 16 565 нуклеотидов – самая длинная из когда бы то ни было реконструированных мтДНК.

Глядя на результат, совершенно конкретный, осязаемый, я испытывал чувство удовлетворения, пусть даже анализ этого генома не открыл ничего нового о неандертальцах. Зато мы поняли кое-что существенное о технических особенностях методик. Например, число фрагментов, относящихся к определенным участкам генома, неодинаково. Как выяснил Эд, оно зависит от относительного количества Г и Ц по сравнению с А и Т. Иными словами, те фрагменты, где Г и Ц больше, сохраняются в кости лучше, чем те, где преобладают А и Т. Или, возможно, не в кости, а у нас в экстрактах. Но самое прекрасное, что никакие части мт-генома не потерялись. У меня появилось ощущение, что нам теперь подвластны технические трудности анализа древней ДНК. Мы также выявили 133 позиции, по которым мт-ДНК неандертальцев отличалась от мтДНК современных людей[59]. До того нам были известны лишь три такие позиции, приходящиеся на те короткие фрагменты, которые мы реконструировали в 1997 году. А ведь с этими 133 отличиями мы могли бы по-настоящему надежно оценить уровень загрязнений в наших новых данных. Получилось 0,5 процента. Мы даже вернулись к старым данным эксперимента 2006 года из *Nature* и к дополнительным экспериментам по этой статье (к тем, что мы проделали, пока статья лежала на рецензии). Из 75 митохондриальных фрагментов 67 соответствовали неандертальским вариантам. Так что получилось 11 процентов загрязнений в наших библиотеках: мы рассчитывали на меньший процент, но ведь это и не те 70–80, которые пророчили Уолл и Ким. Мы собрали всю эту информацию и включили ее в статью для журнала *Cell*, где в 1997 году опубликовали наши первые результаты по неандертальским генам. И снова мы подчеркнули, что прямое тестирование на загрязнения в ядерных генах послужило бы лучше. На пятничных собраниях эта тема – как тестировать ядерные загрязнения – стала звучать все настойчивее.

Когда сбор данных для этой статьи был закончен, на первый план снова вышли проблемы с секвенированием неандертальского материала. “Не слишком ли мы медлительны?” – беспокоился я. Шел уже второй год проекта, и от публикации предварительных результатов – тех самых 3 миллиардов нуклеотидов, которые мы так громко пообещали, – нас отделяло всего несколько месяцев. Из-за этого наши пятничные собрания проходили очень напряженно. Я стал громогласным и язвительным (о чем очень потом сожалел), раздражался из-за некоторых бессодержательных споров или из-за не слишком лаконичного изложения текущего положения лабораторных дел. Но в действительности под всем этим лежало мое внутреннее ощущение, что двигаемся мы чересчур медленно.

Частично наша медлительность объяснялась низким содержанием неандертальской ДНК в полученных библиотеках, но также, со всей очевидностью, и невысокой производительностью 454. В марте 2007 года компания 454 была продана фармацевтическому гиганту *Roche*. И хотя Майкл Эгхольм оставался целиком и полностью в нашем проекте, но те, кто занимался непосредственно секвенированием наших образцов, к осени уволились. Я подозревал, что Эгхольму и его коллегам непросто отдавать все внимание неандертальским делам. У меня впервые появился соблазн обратиться к конкурентам 454.

Одним из таких конкурентов был Дэвид Бентли, очень грамотный генетик, специалист по человеческому геному. Я встречался с ним на конференции в Колд-Спринг-Харбор в мае 2007 года. В 2005-м он перешел из Института Сэнгера под эгидой *Wellcome Trust* в компанию *Solexa*, недавно образованную на базе химического факультета Кембриджского университета. В *Solexa* он заведовал отделом разработки секвенаторов, представлявших серьезную конкуренцию даже ротберговской 454. В *Solexa* тоже прикрепляли к концам молекул адаптеры и эти фрагменты с адаптерами использовали для изготовления библиотек, амплификации и секвенирования. Но в отличие от 454 в *Solexa* амплификация производилась не внутри жировых капелек, а на стеклянных шариках: к их

поверхности и прикреплялись адаптеры с цепочками ДНК. И получалось, что каждая молекула, осевшая на стеклянной поверхности, умножалась и вокруг нее образовывалось пятно, или кластер, с миллионом ее копий. Эти кластеры затем секвенировались с помощью добавления праймеров, ДНК-полимеразы и четырех нуклеотидов в достаточном количестве; каждый из четырех типов нуклеотидов метился своей флуоресцентной краской.

Первые пробные секвенаторы этого типа поступили в технологические центры в 2006 году. С их помощью можно было отсеквенировать фрагменты длиной в 25 нуклеотидов, а кроме того, как я слышал, они все время ломались. Но в принципе их потенциал был исключительно высок, потому что они обещали одновременное чтение не сотен или тысяч отдельных нитей, как в 454, а сразу нескольких миллионов. А в перспективе, когда технология будет отлажена, даже больше. Вскоре длина читаемых фрагментов увеличилась до 30 нуклеотидов, и пошли разговоры о некоем усовершенствовании, которое позволит читать нить сразу с двух сторон, так что общая длина может достигнуть 60 нуклеотидов. Это уже звучало интереснее для нас, исследователей древних ДНК. И другие стали обращать внимание на эти секвенаторы. В ноябре 2006-го биотехнологическая компания *Illumina* с базой в США перекупила *Solexa*, и Дэвид Бентли стал в этой обновленной компании заведующим по науке и вице-президентом.

На конференции в Колд-Спринг-Харбор я обсуждал с Дэвидом наш проект. Мы договорились, что я пошлю ему наши материалы с мамонтовыми или неандертальскими ДНК и он на них протестирует работу машин *Illumina*. Вообще-то мы даже уже начали потихоньку такое тестирование. В феврале 2007 года мы послали один из лучших экстрактов мамонтовой ДНК Джейн Роджерс в Институт Сэнгера, в Кембридж, а она как раз отвечала там за секвенаторы *Solexa*. Но к тому моменту она еще не откликнулась, поэтому, вернувшись с конференции, я принялся нетерпеливо забрасывать коллег из Сэнгера запросами. И вот в начале июня пришли результаты, которые нас несколько разочаровали. Эти технологии явно генерировали много ошибок. Компания изо всех сил работала над усовершенствованием технологий, но, кроме того, я понял, что большое число ошибок можно скомпенсировать огромным числом прочтенных фрагментов. В принципе можно попросту каждый фрагмент из библиотеки прочитать много раз, и тогда ошибки секвенирования будут хорошо видны, и их можно будет не учитывать при интерпретации. У *Illumina*, к сожалению, не было своего центра по секвенированию, поэтому нам пришлось покупать собственную машину. Из-за высокой востребованности этой технологии мы смогли получить ее только полгода спустя. Теперь машина могла читать уже 70 нуклеотидов, правда, все с тем же количеством ошибок. Их число возрастало по мере удлинения читаемой последовательности. В 2008 году новые поколения машин позволяли секвенировать с обоих концов цепочки каждый фрагмент из наших библиотек.

Считая, что в древней ДНК фрагменты состоят примерно из 55 нуклеотидов, каждый фрагмент можно прочесть дважды, с одной и с другой стороны. А значит, практически для каждого фрагмента мы получим надежную последовательность.

В эту работу включился Мартин Кирхер, пришедший в 2007 году еще студентом-дипломником в группу биоинформатиков Дженет Келсо. Ему предстояло проанализировать данные, выданные *Illumina*. Его обманчиво широкая мальчишеская улыбка скрывала, как я чувствовал, излишнюю самоуверенность, граничащую с высокомерием, – наверное, с легкой руки его негласного наставника Удо. Сначала меня это ужасно раздражало, но потом я мало-помалу стал понимать, что парень часто оказывается прав. Я научился уважать его способность мгновенно ухватывать суть технической проблемы и организовывать непрерывный поток данных от секвенаторов к компьютерам, превращая решения в четко поставленные технические задания лаборантам. Да и работал он невероятно много. Мы все, и я, и Дженет, все больше и больше полагались на его хозяйское отношение к *Illumina* и на организованную им компьютерную обработку иллюминовских данных.

К 2008 году стало ясно, что если мы хотим закончить проект в обозримые сроки, то с

технологией 454 нужно прощаться. Сильной стороной 454 считалась возможность считывать длинные фрагменты, но так как в наших материалах таких не было, это преимущество не играло на нас. Нам требовалось, наоборот, прочитать много коротких фрагментов, и как можно быстрее. В этом случае у *Illumina* было решительное преимущество перед 454. Но так сразу уйти от 454 мы не могли, потому что все наши программы, разработанные Эдом Грином и остальными, были адаптированы для обработки данных по 454. Нужны были существенные преобразования в процедуре обработки данных и возможность слияния различных наборов секвенированных прочтений. Ведь все эти технологии едва появились, так что просто взять и загрузить готовый софт было неоткуда. Все приходилось разрабатывать самим.

Приближалось лето 2008-го, и голова была забита всеми этими насущными проблемами. В середине июля как раз минет два года с той пресс-конференции. Ко времени мы, очевидно, не успеваем. Но журналисты начнут задавать вопросы – а когда? – и я должен хотя бы представлять новые сроки. У нас теперь имеются и кости, и наготовленные экстракты, и их хватит для получения 3 миллиардов нуклеотидов, но чтобы достичь цели, нужно перебросить секвенирование на *Illumina*. И тогда я решил взять деньги, отложенные для секвенирования на 454, и использовать их для покупки четырех новых машин *Illumina*. Если у нас будет одновременно работать пять машин, то мы справимся, а если машины доставят в срок, то даже успеем доделать геном к концу года. И снова приходилось обрывать сотрудничество. Я встретился с Майклом Эгхольмом на совещании в Дании. К счастью, он понял мои объяснения, но предсказал, что потом мы пожалеем, когда придется разбираться с этими “записками с описками”, как он пренебрежительно называл короткие прочтения *Illumina*.

Посреди всех эмоциональных взлетов и разочарований неандертальских дел я выкроил время для счастья. Первого июля мы с Линдой отправились на Гавайи, в Каилуа-Кона.

Официально (как я объяснил в лаборатории свою отлучку) я поехал туда по приглашению Академии достижений на ежегодный съезд знаменитостей – музыкантов, политиков, ученых, писателей, – где можно в свободной обстановке поговорить, поделиться идеями и опытом друг с другом и сотней студентов со всего мира.

Меня, естественно, приятно будоражила перспектива провести несколько дней в компании знаменитых и мудрых людей, но не в этом главное. А в том, что мы с Линдой решили заодно и пожениться. Мы все откладывали свадьбу, в основном из-за меня: мне она казалась старомодной формальностью. Теперь же вот решились, отчасти из практических соображений (нужно было оформить пенсию в Германии на случай, если я отойду в мир иной раньше Линды), но хотели провести этот день вдвоем и отметить его каким-нибудь маленьким сумасбродством. Мы организовали церемонию со служительницей культа нью-эйдж на берегу моря – романтичнее не придумаешь. Жрица взывала к гавайским духам, дудела в раковину на четыре стороны света, извлекая из нее низкое гудение... Мы дали друг другу обет верности, и она объявила нас мужем и женой. Несмотря на практические цели женитьбы, я чувствовал, что церемония должным образом отразила связывавшую нас взаимную преданность. С Линдой моя жизнь стала насыщеннее, богаче, особенно после рождения Руны в 2005-м – не сравнить с моим прежним монашеским существованием мюнхенского профессора.

После церемонии на пляже мы отправились в поход. Линда отыскала такой район на Большом острове, где вокруг была красотища и ни души. Мы шагали с тяжелыми рюкзаками под палящим солнцем по лунным пейзажам из застывшей лавы, пока не достигли моря. На побережье мы провели четыре дня: валялись голышом на безлюдном пляже, плавали с рыбками и черепахами, любили друг друга на песке под пальмами. И когда я засыпал под рокот океанских волн и шелест пальмовых листьев, холодная неандертальская степь уходила куда-то в неизбывное далеко. Вот такая восхитительная передышка случилась у меня в тот крайне напряженный период.

Гавайский перерыв был недолог. Через неделю после возвращения я уже выступал на

Мировом конгрессе генетиков в Берлине. В докладе я рассказал о технических и методических продвижениях в прочтении генома, а также о митохондриальных результатах. До смерти хотелось рассказать о чем-то более существенном, но было нечего.

Еще с докладом выступал Эрик Лэндер, одна из главных фигур, стоящих за общими работами по прочтению человеческого генома. Как по мне, так его ум и проницательность даже пугали немножко. Мы и раньше встречались с ним и в Колд-Спринг-Харбор, и в Бостоне, где он возглавлял Институт Брода (весьма авторитетный исследовательский институт, посвященный геномике), и я частенько выигрывал от его советов. После конгресса он приехал в Лейпциг, в нашу лабораторию. Новые четыре аппарата *Illumina* все никак не могли доставить, а с нашим одним мы ничего не успевали, потому что на один цикл требовались две недели и еще какое-то время на компьютерную обработку. А у Эрика в его институте таких аппаратов стояло несколько – он был активным поборником этой технологии. И он предложил помощь. До конца моего персонального дедлайна оставалось всего несколько дней, поэтому я без колебаний поймал его на слове. К нашему собственному сроку мы, конечно, не успевали, но могли бы успеть к концу 2008 года, как было объявлено.

Двухлетний срок подходил к концу, и по мере его приближения *Nature* и *Science* начали вовсю обхаживать нас, предлагая подать статью к ним. Я бы, конечно, поступил так же, как в 1996-м, когда публиковал первые данные по неандертальским генам, – отправил бы статью в *Cell*, самый серьезный журнал по молекулярной биологии. Но и в публикации в двух самых престижных журналах были свои плюсы. Многие мои студенты и аспиранты хотели бы видеть свои имена среди авторов *Nature* и *Science*, это сулило, как им казалось, хорошие карьерные перспективы. В июне к нам приехала Лора Зан, редактор *Science*, она хотела обсудить статью про неандертальский геном. *Science* издается Американским обществом передовых научных достижений (AAAS), и вскоре после визита Лоры я получил приглашение сделать доклад по работе над неандертальцем на ежегодном пленарном заседании AAAS в Чикаго, в середине февраля 2009 года. Это давало нам четкие сроки окончания работы, в которые я непременно рассчитывал уложиться. Так что приглашение я принял. И это означало, что публиковаться мы будем, скорее всего, в *Science*.

Как это часто бывает, процесс затянулся. До конца октября мы готовили библиотеки для *Illumina*, где ДНК были помечены специальными неандертальскими метками. Мы секвенировали небольшую порцию библиотек на нашей *Illumina* и определяли количество молекул – насчитали около миллиарда фрагментов. Вполне достаточно, чтобы прочитать весь геном. Затем образцы посылались в Институт Брода для секвенирования. Полученные результаты поступали к Мартину Кирхеру, а его программы могли выстраивать последовательности с меньшим числом погрешностей, чем коммерческие программы *Illumina*. Его программы работали с таким колоссальным объемом информации, что перегонять данные по интернету фактически не было никакой возможности. Поэтому мы организовали пересылку жестких дисков с большим объемом памяти из Бостона в Лейпциг.

В середине января 2009 года мы получили из Бостона два диска с результатами нескольких первых запусков. И тогда проявилась вся польза специальных неандертальских меток.

Мартин обнаружил, что все последовательности одного из запусков бродовской *Illumina* не имели таких меток. Все! Очевидно, что-то произошло с образцами уже в институте.

Ситуация немного нас напугала. Я было решил вернуть все назад и начать секвенировать у нас в лаборатории, благо четыре *Illumina* уже доставили и отладили. Но результаты с двух других твердых дисков из Бостона выглядели вполне прилично, и мы остались с командой Эрика. Наконец 6 февраля мы получили от Эрика быстрой почтой 18 жестких дисков. Не сказать чтобы не вовремя. Через шесть дней, 12 февраля, начиналась конференция AAAS.

Мартин, Эд и Удо занялись данными из Института Брода. Распределение

специфических меток, распределение по размерам фрагментов было таким же, как и при прогонах на нашей *Illumina*. То же получилось, когда Удо выстроил все последовательности в порядке друг относительно друга – опять-таки схожи с нашей *Illumina*. Вот радость-то! AAAS настаивала на пресс-конференции вдобавок к моему докладу, и я все боялся, что мне нечего будет на ней сказать. А теперь я мог объявить, что у нас имеются все составляющие полного генома, хоть и с однократным покрытием. И как самое первое заявление по проекту мне хотелось сделать именно в Лейпциге, городе, все еще не стряхнувшем до конца свое социалистическое прошлое, точно так же и пресс-конференцию AAAS хотелось устроить здесь. К тому же я хотел провести ее совместно с компанией *454 Life Sciences* в знак признательности за поддержку проекта на первых порах. AAAS была не против, и мы вместе с *454* организовали пресс-конференцию в Лейпциге с видеотрансляцией в Чикаго, чтобы и оттуда участники заседания и журналисты могли задавать вопросы. А потом я полечу в Чикаго читать свой доклад, запланированный на 15 февраля.

На все приготовления у нас оставалось шесть дней. Я сосредоточился на своей речи для пресс-конференции и докладе в Чикаго – говорить я собирался в основном о технических трудностях, которые нам пришлось преодолеть на пути к первому геному вымершего человека. Я описал, как Томи Маричич метил радиоактивными метками наши вытяжки и как он потом определил и усовершенствовал методические приемы на тех этапах, где потеря ДНК оказалась максимальной; как мы придумали специфические метки, которые присоединялись к фрагментам ДНК в условиях “чистых комнат” и как это помогло устранить из последовательности фрагменты с загрязнениями, исказившими результаты пилотного эксперимента; как тщательный анализ Эдриана Бриггса и Филипа Джонсона выявил картину ошибок в последовательностях ДНК; и как потом Эд Грин и Удо Штенцель разработали программы для построения самой последовательности генома, обойдя множество подводных камней.

И еще я хотел сказать кое-что о самом неандертальце. У нас не было времени выстроить всю последовательность, еще меньше времени оставалось на анализ миллиарда фрагментов. Но к счастью, за прошедшие полгода Удо вместе с коллегами работал с данными, полученными по *454*. А это все же больше ста миллионов фрагментов. И на их основе уже можно было немножко “пощупать” нашего неандертальца. Эд разобрал две гипотезы касательно якобы эволюционного наследия неандертальцев: некоторые ученые считали, что два определенных варианта генов могли появиться в современном человеческом геноме в результате генетического потока от неандертальцев. Один из этих генов занимает довольно большую область на 17-й хромосоме, его размер около 900 тысяч нуклеотидов, и у многих европейцев он перевернут (или развернут в обратном направлении, инверсирован). Полная генеалогическая летопись исландцев дает превосходное доказательство, что эта инверсия немного повышает плодовитость у женщин. Возможно ли, что она берет начало от неандертальского генома, как считают некоторые исследователи? Эд проверил этот участок на наших последовательностях, и ни у одного из трех неандертальских особей не нашлось ничего подобного. Естественно, из этого не следует, что у неандертальцев не было этой инверсии, но вероятность ее неандертальского происхождения все же несколько снизилась. Кроме того, исследовали еще один ген на 8-й хромосоме. Мутации в этом гене – а их известно несколько вариантов у современных людей – резко уменьшают размер мозга. Существовало предположение, что тот вариант мутантного гена, который встречается в Европе и Азии, достался нам от неандертальцев. Но и в этом случае Эд не нашел искомого варианта в наших неандертальских выборках. Так что, присмотревшись к деталям, мы заключили, что нет ни намека на неандертальский генетический вклад в геном современных европейцев. Меня этот вывод удовлетворил, он вполне соответствовал митохондриальным данным, которые мы получили десять лет назад. Но нас еще ждали удивительные открытия в самый последний момент.

## Глава 16 Генетический поток?

Сидя в самолете из Чикаго обратно в Лейпциг, я пытался трезво оценить наши текущие дела по проекту. Да, мы получили всю требуемую последовательность ДНК, но работы оставалось еще много. Первое, что напрашивалось, – наложить неандертальскую последовательность с *Illumina* на геномную последовательность шимпанзе и на реконструированный геном общего предка шимпанзе и человека. Лейпцигской команде нужно было адаптировать компьютерные программы, написанные Удо и Эдом для 454, под обработку новых данных с *Illumina*.

И когда программы будут готовы, можно будет начать выяснять наши родственные связи с неандертальцами. Когда разошлись наши линии? Насколько мы отличаемся?

Скрещивались ли люди с неандертальцами? Найдутся ли гены, которые у людей и неандертальцев изменялись в каком-нибудь интересном для нас направлении? Чтобы найти ответы, нам понадобится гораздо больше народу, чем у нас в лаборатории, – понадобится участие многих ученых со всего мира.

Еще в 2006 году я осознал исторический масштаб задуманного. И не только потому, что мы впервые прочтем геном доисторического человека, но и потому, что секвенирование полного генома млекопитающих будет выполняться силами небольшой лаборатории.

Раньше за подобный проект мог взяться только крупный центр по секвенированию. Но даже и такие крупные центры работают в связке с научными институтами, где анализируются различные закономерности в полученных данных. Нам, очевидно, тоже требовалось собрать нечто вроде консорциума. Тогда, в 2006-м, я уже прикидывал, из каких областей нам понадобятся специалисты и с кем бы я хотел работать.

Прежде всего нам позарез нужны были популяционные генетики. Популяционные генетики изучают вариации в последовательностях ДНК в популяциях или видах и на основании этой изменчивости выводят, что происходило с популяцией или видом в прошлом. Они могут сказать, когда популяции разошлись, существовал ли между ними обмен генами и какой тип естественного отбора доминировал в конкретной популяции. У нас в группе имелись собственные специалисты – Михаэль Лахман и Сьюзан Птак, – они могли справиться с некоторыми задачами, но мы, понятное дело, нуждались и в помощи со стороны и работать хотели только с лучшими из лучших.

И как только наш проект был запущен, я начал искать людей, в основном среди американцев. Почти все, к кому я обращался, горели желанием поучаствовать в проекте.

Еще бы! Ведь это уникальная возможность заглянуть в геном, который казался неподвластным секвенированию. Но нужны были такие люди, которые согласились бы работать на полную – или почти полную – ставку по крайней мере несколько месяцев, пока мы не закончим исследование. Я знал много случаев, когда геномные проекты затягивались на месяцы и годы. И пробуксовывали исключительно из-за того, что на ключевых лабораториях одновременно висело несколько проектов и они разрывались между ними. Поэтому, когда я разъяснял ситуацию, многие, к их чести, отказывались, разумно взвесив свою текущую нагрузку.

Особенно я был заинтересован в сотрудничестве с Дэвидом Рейхом, молодым профессором из Гарвардской медицинской школы, популяционным генетиком с неординарным мышлением. Он сначала изучал физику в Гарварде. Потом защитил диссертацию по генетике в Оксфорде. Я пригласил его в Лейпциг в сентябре 2006-го, он тогда выступил с докладом по своей весьма противоречивой публикации в *Nature* [60]. В ней утверждалось, что после разделения предковой популяции на линии шимпанзе и людей две популяции продолжали сосуществовать и обмениваться генами еще в течение миллиона лет, пока не размежевались окончательно. Беседы с Дэвидом мне показались весьма нетривиальными.

И даже где-то на грани интеллектуальных нападков. Он с устрашающей скоростью забрасывал кучей рассуждений и идей, временами я не мог поспеть за ним. Но интеллектуальный натиск уравновешивался его изумительной добротой и скромностью.

Его мало трогали и трогают вопросы научного престижа. Думаю, он разделяет мое убеждение, что гранты и награды получает тот, кто много и интересно работает. Во время того визита я обсудил с ним наш неандертальский проект и дал с собой в дорогу рукопись пилотного исследования. Через несколько дней я получил от него разбор статьи с комментариями на шести страницах. Он нам безусловно подходил, был идеальным кандидатом для работы с неандертальским геномом.

В действительности с Дэвидом мы выигрывали не только всю мощь его блестящего ума, но и замечательную возможность заполучить тесно связанного с ним Ника Паттерсона. Ник еще более необычный персонаж, чем Дэвид. Он сначала изучал математику в Кембридже в Англии, потом двадцать лет работал на британские военные службы в качестве шифровальщика. Некоторые говорили мне, что лучше него криптографа не было – он мог взломать любой код британской или американской армии. Затем Ник ушел из секретных служб и стал заниматься прогнозированием финансовых рынков. К 2000 году он заработал кучу денег на Уолл-стрит и мог позволить себе спокойную жизнь до конца своих дней. Но, подгоняемый любопытством, он оказался в Институте Брода, где приложил свои способности шифровальщика к нахлынувшей лавине геномных данных. Там, в Бостоне, он объединил силы с Дэвидом. Внешне Ник, как мне кажется, в точности соответствует образу гениального ученого из детских фантазий. Из-за врожденной болезни костей у него несоразмерно большая голова, а глаза смотрят в разные стороны, отчего возникает впечатление, будто его мысли постоянно заняты сложными математическими построениями. Я потом узнал, что он буддист и разделяет мой давний, хотя и не слишком последовательный интерес к дзен-буддизму. Ник обладает феноменальной способностью видеть в несметном количестве данных скрытые закономерности. Я так вдохновился перспективой заполучить в наш проект сразу и Ника, и Дэвида, что предложил взять на полную ставку и того и другого, если они согласятся проводить в Лейпциге три четверти своего времени. И хотя они не приняли предложения, но пообещали, что постараются включиться в неандертальский геном, насколько это возможно. И обещание сдержали до такой степени, что я и не рассчитывал.

Еще я хотел привлечь к проекту Монтомери Слаткина, или просто Монти. Он работал в Беркли, в Калифорнии, и впервые я его встретил в 1980 году, в аспирантуре у Алана Уилсона. Он сделал прекрасную карьеру в области математической биологии, его уравновешенность и собранность свидетельствовали об опыте и мудрости. Из-под его крыла вышло множество блестящих молодых ученых, которые потом руководили собственными группами, с ним работали и студенты, одаренные и многообещающие.

Первым среди них можно назвать Филипа Джонсона, который вместе с Эдрианом Бриггсом работал над поиском ошибок секвенирования неандертальского генома (см. главу 14). Меня очень радовало желание Монти присоединиться к нашему консорциуму, в частности потому, что в какой-то мере он уравновесит научный стиль Ника и Дэвида. Пусть они на свое усмотрение изобретают пути к событиям прошлого, а Монти будет, как нравится ему, тестировать классические популяционные модели: годятся ли они для неандертальских данных.

Главный вопрос, интересный всем участникам проекта, – имеется ли неандертальский вклад в геноме современного европейца. В конце концов, неандертальцы жили на территории нынешней Европы, пока примерно 40 тысяч лет назад там не объявились люди современного типа. Как утверждают некоторые палеонтологи, в скелетах ранних европейцев прослеживаются кое-какие неандертальские черты. Большинство с ними, однако, не соглашается, а у нас в статье 1997 года про мтДНК неандертальца написано, что свидетельств наследия неандертальцев у современных людей не обнаружено. И только анализ ядерного генома может дать более определенный ответ.

Чтобы понять, почему анализ ядерного генома много мощнее, чем анализ

митохондриального генома, важно не забывать, что в ядре содержатся 3 миллиарда нуклеотидов, а в митохондриях только 16 тысяч. Но еще ядерный геном перестраивается от поколения к поколению, потому что каждая хромосома обменивается участками последовательности со своей парой и затем обе передаются независимо друг от друга, каждая со своей информацией. Если от союза неандертальской и человеческой особи родится ребенок, то у него будет примерно по 50 процентов ДНК от каждого из родителей.

И если такой полукровка вырастет, найдет себе пару среди людей и вырастит своего ребенка, то этот потомок будет нести около 25 процентов неандертальских генов, а его внуки получат 12,5 процента, а у правнуков останется 6 процентов и т. д. И хотя в этом сценарии неандертальский вклад уменьшается чрезвычайно быстро, но все же 6 процентов составляют больше 100 миллионов нуклеотидов. В конце концов неандертальская ДНК распространится в популяции, и каждый получит маленькую ее порцию. Начиная с этого момента в родительской паре оба будут иметь примерно одинаковую долю неандертальской ДНК, следовательно, этот процент перестанет снижаться от поколения к поколению, а, наоборот, будет оставаться постоянным. Кроме того, образование смешанных пар, если оно было возможно, вряд ли случилось один-единственный раз. А в случае растущей популяции, где на каждого родителя приходится больше одного отпрыска, этот наследственный вклад не должен исчезнуть совсем. А мы как раз знаем, что популяция людей, заселившая европейскую территорию и сменившая неандертальцев, быстро расширялась. Поэтому мне определенно представлялось, что если скрещивание имело место, то мы обязательно увидим неандертальские гены, хоть в мизерном количестве. Однако, поскольку мтДНК не обнаруживала ни намека на подобный вклад, я все еще придерживался мнения, что его не существовало вовсе.

Само скрещивание между людьми и неандертальцами казалось мне маловероятным в силу ряда биологических препятствий, поэтому я скептически относился к неандертальскому генетическому наследию. Хотя наверняка неандертальцы и люди могли образовывать брачные пары – в конце концов, в любых человеческих группировках так бывает, – но дети от таких союзов, по идее, должны были получаться менее жизнеспособными и плодовитыми. Вот, например, у людей 23 пары хромосом, а у горилл и шимпанзе 24 пары.

Это потому, что наша самая большая хромосома, хромосома 2, получилась из двух слившихся хромосом меньшего размера. Две эти хромосомы у обезьян присутствуют розно.

Подобные преобразования то и дело происходят по ходу эволюции и обычно никаких последствий для функциональности генома не имеют. Но у гибридов от родителей с разным числом хромосом появляются трудности с размножением. Если слияние двух хромосом в хромосому 2 произошло после расхождения линий людей и неандертальцев, то даже при успешном скрещивании гибридные потомки не могли передать неандертальскую ДНК, так как сами не могли иметь детей. Но это все не более чем пустые рассуждения, а мы собирались найти твердые факты. Как это сделать? Сравнить неандертальский геном с геномами современных людей и посмотреть, к кому неандертальцы окажутся ближе: к европейцам, с которыми неандертальцы долго делили территорию, или к африканцам, на чьей территории неандертальцы не жили никогда.

К октябрю 2006 года Дэвид и Ник с головой погрузились в проект. Они работали вместе с Джимом Малликином, еще одним членом нашего консорциума. Джим заведовал секвенированием в Национальном исследовательском институте генома человека в Бетесде. Он был очень славным и неизменно полезным. Он напоминал мне Винни-Пуха, но только весьма и весьма компетентную версию этого дружелюбного медвежонка. Он отсеквенировал геномы нескольких современных европейцев и африканцев. Чтобы было на что опереться при сопоставлении с неандертальским геномом, он выделил в современных геномах те позиции, в которых у представителей разных народов стоят разные нуклеотиды. Для каждой пары народов он сделал свое сравнение. Как уже говорилось, такие изменчивые позиции называются полиморфизмами, или однонуклеотидными заменами, сокращенно СНИП, и они лежат в основе любого генетического анализа. Я помню, в какой восторг меня привело

обнаружение первого СНИПа ледникового периода в исследовании Алекса Гринвуда (см. главу 9). Он тогда реконструировал последовательность ДНК мамонта и по ходу дела нашел позиции, где в паре хромосом находились разные нуклеотиды. А теперь мы хотим перебрать сотни тысяч подобных СНИПов. Нам нужно узнать, есть ли в человеческом геноме среди полиморфных позиций такие, которые присутствовали у неандертальца 40 тысяч лет назад, много раньше тех мамонтов ледникового периода. И хотя мы работали над этим уже много лет, все равно конечная цель казалась мне чистой фантастикой.

Логика поиска неандертальской ДНК оставалась той же, что и в 1996 году, когда мы впервые занялись митохондриальным геномом. Примерно так: если неандертальцы жили только на европейской и западноазиатской территориях, то их ДНК, существуй она сегодня, скорее всего, сосредоточена там. Так что, предположив успешное скрещивание неандертальцев и древних европейцев, мы допускаем, что сегодня по Европе гуляют носители неандертальских генов, доставшихся им 30 тысяч лет назад. В этом случае европейская мтДНК в среднем будет больше похожа на неандертальскую, чем у современных африканцев. Но у нас тогда получилось, что европейцы и африканцы в равной мере отличаются от неандертальцев (или похожи на них), поэтому мы заключили, что наследственного вклада мтДНК в геном современного человека не было. Для ядерного генома справедливы те же рассуждения: если неандертальцы ничего не оставили современному человеческому геному, то в среднем все современные популяции людей будут равно отличаться от них. Правдоподобие выводов только увеличится, если мы учтем данные по большому числу СНИПов и большому числу индивидов. А если все же существует неандертальский вклад в ту или иную человеческую популяцию, то эта популяция будет больше похожа на неандертальскую последовательность, чем все остальные популяции. Вот именно с этим и начали разбираться Дэвид, Ник и Джим: выявлять те полиморфизмы, которые отличают европейцев от африканцев (их геномы Джим уже секвенировал). А потом будут определять, сколько из этих полиморфизмов, соответственно европейских и африканских, найдется в неандертальском геноме. Если неандертальцы ближе к европейцам, то у них будет больше общих полиморфизмов (СНИПов), чем с африканцами. И это будет указывать на генетический поток от неандертальцев к европейцам.

В апреле 2007 года, готовясь к очередной конференции в Колд-Спринг-Харбор, Джим, Ник и Дэвид прислали мне первые заметки по неандертальским генам. Выводы они основывали на данных по методике 454. Чтобы протестировать метод, они взяли два генома, европейца и африканца, определили, по каким СНИПам они различаются, а затем сравнили эти СНИПы с полиморфизмами еще одного современного европейца. У них получилось, что у двух европейцев 62 процента общих полиморфизмов, а у второго европейца с африканцем – 38 процентов. Так что у жителей с одной и той же территории в среднем больше общих полиморфизмов, чем с жителями любых других территорий. На тот момент у ребят была возможность сравнить современные человеческие геномы с неандертальскими по 269 полиморфизмам, которые, как уже было известно, различаются у европейцев и африканцев. И получилось, что у неандертальцев с европейцами 134 общих полиморфизма, а с африканцами – 135. Практически пятьдесят на пятьдесят – я, собственно, так и думал, что примеси быть не должно. Такой результат мне импонировал еще и по другой причине. Он означал, что у нас в руках геном персонажа, равно близкого и европейцам, и африканцам. А значит, и загрязнений, пришедших из современного мира, не так уж и много, так как любые загрязнения должны добавлять европейские полиморфизмы, сближая неандертальцев с европейцами.

Восьмого мая 2007 года, за день до конференции в Колд-Спринг-Харбор, все члены нашей бригады – а у нее теперь было официальное название, Консорциум по исследованию неандертальского генома, – первый раз собрались вместе. Начал я нашу встречу с того, что познакомил всех с новой методикой специальных меток, которую мы ввели для последующего выявления загрязнений вне “чистой комнаты”. Потом рассказал о трех археологических местонахождениях и о костях, из которых нам предстояло получить ДНК.

У нас имелись 1,2 миллиона нуклеотидов из костей Виндии, и мы уже стали метить эти фрагменты. Еще у нас имелись в запасе 400 тысяч нуклеотидов из костей типового неандертальца из долины Неандерталь, тех самых, что послужили для реконструирования митохондриального генома в 1997-м. И наконец, у нас были кости из пещеры Эль-Сидрон в Испании, и из них мы выделили в общей сложности 300 тысяч нуклеотидов; в этом местонахождении Хавьер Фортеа специально для нас поднимал кости в стерильных условиях.

Слушать о неандертальских местонахождениях с костями было несказанно спокойнее, чем вести мудреные споры о технических трудностях выделения и секвенирования ДНК из этих костей. А тот факт, что неандертальцы отстоят и от европейцев, и от африканцев на примерно одинаковое нуклеотидное расстояние, впечатлил всех. Но Дэвид Рейх при этом здраво отметил, что у нас всего лишь 269 СНИПов и на основе этой небольшой выборки мы можем лишь исключить большой генетический вклад в европейский геном. На самом деле 90-процентный доверительный интервал для полученного 49,8-процентного сходства неандертальцев с европейцами составлял диапазон 45–55 процентов. Это означало, что с вероятностью 90 процентов неандертальский вклад в современный европейский геном не превышает пяти процентов. А с вероятностью 10 процентов неандертальцы оставили нам в наследство больше пяти процентов своих генов. С подобным вероятностным подходом я чувствовал себя на своем поле. Ведь если начать спорить относительно костных форм, отверстий, гребней и т. п., то как реально оценить собственную уверенность в выводах?

Никак не оценишь. И даже если собрать больше данных, это все равно не исправит ситуацию. А ДНК исправит.

Дэвид тем временем на основе тех же СНИПов, определенных Джимом, проводил собственное исследование. Он сравнивал все характерные для современного человека СНИПы с соответствующими участками ДНК у шимпанзе. Сравнив, он мог определить, какие из вариантов или аллелей предковые, а какие получены уже в человеческой линии.

Чем дальше расходятся во времени неандертальская и человеческая линии, тем меньше должно быть у неандертальцев СНИПов, выявленных у современных людей. Когда у Дэвида набрался 951 вариант современных “африканских” полиморфизмов, он высчитал, какая доля из них присутствует у современных европейцев: 31,9 процента. А в наших неандертальских последовательностях нашлось 17,1 процента этих СНИПов, то есть примерно в два раза меньше, чем у европейцев. Если принять, что размер популяций оставался более или менее постоянным, это давало оценки времени отделения неандертальцев от африканцев в 300 тысяч лет (а мы помним возраст разъединения африканской и европейской популяций – 100–200 тысяч лет). Пока все сходилось, и результат меня радовал. У нас со всей определенностью сложилась последовательность ДНК, принадлежавшая некоему существу со своей отдельной генетической историей. Но Дэвид все время охлаждал мой пыл – мол, данных пока маловато. И правда, 90-процентный доверительный интервал давал долю продвинутых аллелей у неандертальцев от 11 до 26 процентов. И все же мы были на верном пути.

Но вот мы перешли на секвенирование с помощью *Illumina*, и данные стали поступать все быстрее и быстрее. Наши телефонные совещания два раза в месяц тянулись все дольше, и мы решили устраивать их раз в неделю. В январе 2009 года, незадолго до конференции AAAS, я попросил Ника и Дэвида провести быстрый анализ данных 454. Все же они составляли 20 процентов всего массива. Мне хотелось прикинуть, если скрещивание с неандертальцами все же было (хотя я в это и не верил), то какой наибольший процент неандертальской ДНК теоретически может присутствовать в человеческом геноме так, чтобы мы с известной вероятностью не видели ее, не натыкались на нее в своих поисках.

Иными словами, насколько большой вклад неандертальцев мы можем пропустить. Эти оценки я предполагал представить на конференции AAAS.

Шестого февраля 2009 года я получил от Дэвида имейл. И там было написано: “Теперь у нас есть надежное доказательство, что неандертальская последовательность ближе к

неафриканской части современного человечества, чем к африканской”. Я ошалел. Дэвид обнаружил, что неандертальская последовательность, которая у нас складывалась, схожа с европейской на 51,3 процента. Вроде бы от 50/50 почти не отличается, но только почти. У нас теперь было так много данных, что даже 0,22 процента оказалось бы надежным различием. То есть, если вычесть 0,22 из 51,3, все равно будет больше 50 процентов. Мне нужно было срочно пересматривать свои представления: неандертальцы скрещивались с предками европейцев. Однако оставалось и место для сомнений: вдруг методика вообще ошибочна? Дело в том, что у Дэвида получилось, что сходство неандертальцев с китайцами составляет 51,54 процента с возможной погрешностью в 0,28 процента, а неандертальцы никогда не заходили на территории современного Китая. Дэвида эти цифры тоже встревожили. Мы сошлись на том, что в принципе результаты расчетов блестящи, но могут обернуться таким же потрясающим провалом. По итогам исторического обмена имейлами с Ником и Дэвидом я согласился, что лучше пока держать эти расчеты в тайне и не обнародовать на конференции AAAS. Потому что, сделай мы это, все средства массовой информации немедленно поднимут шум. И если потом обнаружится ошибка, то мы будем выглядеть полными идиотами. Лучше, как я решил, говорить в Чикаго на менее животрепещущие темы. Все сообщения о возможных неандертальских примесях решено было оставить до съезда в Хорватии, где после конференции AAAS соберутся все члены консорциума.

## Глава 17

### Первые результаты

Через два дня по возвращении из Чикаго я снова сидел в самолете, теперь на пути в Загреб.

Я должен был читать лекцию о нашем проекте в Хорватской академии наук и искусства. А на следующий день я уже летел на юг, в Дубровник, на встречу участников консорциума и хорватских коллег, которую организовали в гостинице за городом, на берегу моря. Нам предстояло не только воздать должное успехам и достижениям, но и утвердить порядок дальнейшей работы и публикаций по неандертальскому геному.

Но все произошло совсем не так, как планировалось. Аэропорт Дубровника зажат между горами и морем и печально известен сильными боковыми ветрами. Именно там в 1996 году погиб в авиакатастрофе американский министр торговли Рон Браун.

Впоследствии американские военно-воздушные силы провели расследование и посчитали причиной катастрофы ошибку пилота и плохо организованный заход на посадку. Когда мы подлетали к Дубровнику, самолет швыряло из стороны в сторону. Хорватский пилот – скорее всего, к лучшему – решил не пытаться посадить самолет. Вместо этого мы поздно вечером приземлились в Сплите, в 230 километрах от Дубровника. Пассажиров упаковали в автобус и ночью отправили в Дубровник. В результате на первое заседание в 9 утра я попал совершенно вымотанным.

Но, увидев в конференц-зале почти всех из 25 членов консорциума, я, несмотря ни на что, почувствовал прилив сил (рис. 17.1). Сообща такая команда обязательно разберется в 40-тысячелетних нуклеотидных цепочках неандертальцев. Я выступал первым и обрисовал общую картину полученной на сегодняшний день информации. Затем следовал узкоспециальный доклад Томи о подготовке библиотек. Эд описал, как мы оценивали уровень занесенной современной ДНК в наших библиотеках, то есть вернулся к проблеме, с которой мы столкнулись после публикации в 2006 году. Те оценки, что проводились по “традиционной” митохондриальной ДНК, давали уровень 0,3 процента. К моменту нашей встречи мы разработали дополнительный метод анализа, не действующий мтДНК. Он основывался на использовании большого количества фрагментов ДНК из определенных частей генома – а точнее, из половых хромосом.

Рис. 17.1. Члены консорциума на встрече в Дубровнике, в Хорватии, в феврале 2009 г.  
Фото: Сванте Пэабо, MPI-EVA

Так как у женщин две X-хромосомы, а у мужчин одна X и одна Y-хромосома, то, если исследуется женская кость, мы обнаружим только фрагменты X-хромосомы и никаких следов Y-хромосом. Таким образом, если в библиотеке, составленной из ткани женской кости, нашлись фрагменты Y-хромосомы, то можно с уверенностью говорить о загрязнении, и источник его – современная ДНК мужчин.

Подобный анализ, предложенный на одном из пятничных собраний в Лейпциге, на первый взгляд прост. Но простота эта кажущаяся, как, впрочем, почти во всем, чем занимался Эд. Загвоздка состояла вот в чем. Хотя строение X- и Y-хромосомы отличается, некоторые их части эволюционно связаны. В результате этой общей истории появляются одинаковые нуклеотидные участки, которые путают сортировку и картирование коротких фрагментов. Чтобы избежать этого, Эд определил 111 132 нуклеотида в Y-хромосоме, не схожих ни с какими другими в геноме, даже если фрагменты для сравнения очень короткие, в 30 нуклеотидов длиной. Проверив все кусочки неандертальской ДНК, он обнаружил всего четыре фрагмента, в которых нашлись подобные специфические Y-хромосомные последовательности. Если бы кости принадлежали особи мужского пола, мы бы ожидали 666 таких кусочков. Эд сделал вывод, что все три исходных кости принадлежали женским особям и что четыре Y-хромосомных кусочка являются результатом современного загрязнения. Эта цифра дает 0,6 процента “мужского” загрязнения. Оценка, конечно, весьма приблизительная, так как включает только контаминацию от мужчин, но тем не менее она указывает на достаточно низкий уровень привнесенных современных ДНК и подтверждает цифры, полученные при работе с мтДНК.

Обсуждались и другие способы оценки уровня контаминации. Филип Джонсон из группы Монти из Беркли предложил подход, основанный на определении нуклеотидных позиций, в которых у большинства сегодняшних людей стоит продвинутый аллель, а у неандертальцев – предковый, как у обезьян. Схема его рассуждений была примерно такова. Возьмем фрагменты ДНК, где у неандертальцев не обнаруживался предковый аллель. Теперь смоделируем вероятности различных причин отсутствия этих предковых аллелей. Таких причин может быть три: это результат либо нормальной генетической изменчивости, либо загрязнения, либо ошибки секвенирования. Филип просчитал модели и получил вероятность загрязнений ниже одного процента. Наконец-то у нас в руках были оценки загрязнения, которым я доверял и которые доказывали великолепное качество отсекуенных последовательностей!

Мартин доложил о данных, полученных от *Illumina*, но еще не собранных в единые цепочки. *Illumina* представила расшифровку более 80 процентов всех отсекуенных фрагментов, а это почти миллиард. Дискуссия сосредоточилась в основном на трудностях, с которыми столкнулся Удо, переделывая алгоритмы для ускорения масштабного картирования компьютерным блоком в Германии. И хотя анализ полного генома откладывался до тех пор, пока Удо не закончит картирование всех фрагментов, но мы все равно обсуждали, как будем его проводить. Для начала следовало определить, насколько неандертальский геном отличается от человеческого. Ответить на этот простой вопрос (а на самом деле не простой) мешали ошибки. Часть их была вызвана посмертными модификациями нуклеотидов, другая часть происходила по вине технологий секвенирования. *Illumina* делала примерно одну ошибку на каждую сотню нуклеотидов.

Чтобы скомпенсировать технологические ошибки, мы повторяли секвенирование каждой древней молекулы по многу раз. Но все равно, по нашим оценкам, ошибок в неандертальских ДНК-последовательностях получалось в пять раз больше, чем в “золотом стандарте”, в эталонном человеческом геноме. Так что если мы просто возьмемся считать, сколько у человека и неандертальца различающихся нуклеотидов, то на самом деле мы

будем считать ошибки прочтения неандертальского генома.

Эд придумал, как обойти затруднение: *не* включать в базовый подсчет те позиции, по которым неандертальцы отличались от обезьян, а люди не отличались, но, напротив, учитывать только те, где человеческий геном претерпел изменения по сравнению с обезьянами. Чтобы это проделать, Эд составил список всех позиций, по которым человеческий геном отличается от генома шимпанзе и макака. Затем он проверил, какие стоят нуклеотиды в соответствующих позициях у неандертальцев: человеческие или обезьяньи. Если обнаруживался человеческий нуклеотид, то, значит, мутация старая и произошла до того, как разделились исследуемый неандертальский и человеческий геномы. Если же у неандертальца оказывался нуклеотид как у обезьян, значит, мутация произошла недавно и случилась в человеческой линии после отделения неандертальцев.

Таким образом, доля мутационных изменений, по которым неандертальцы оказывались “обезьяноподобными”, относительно общего количества мутаций показывает, насколько давно разделились человеческая и неандертальская ветви. Наш подсчет дал цифру в 12,8 процента.

Если мы допустим, что наш общий с шимпанзе предок существовал 6,5 миллиона лет назад, то последние женская и мужская особь, передавшие свои ДНК и людям, и неандертальцам, жили 830 тысяч лет назад. Эд произвел подобные же вычисления для ныне живущих людей и получил время существования их общего предка по ДНК – 500 тысяч лет назад. Это с очевидностью показывает, что неандертальцы более дальние родственники людям, чем любые современные люди друг другу. Другими словами, неандерталец от меня на 65 процентов дальше, чем любой человек в том конференц-зале в Дубровнике. Так у меня в руках впервые появилась конкретная оценка моего генетического родства с неандертальцами.

Следующий волнующий вопрос: скрещивались неандертальцы с людьми или нет. Это был вопрос Дэвиду, и он, хотя и не смог приехать в Дубровник, представил свои выводы по громкой связи: да, скрещивались. Мы всякий раз возвращались к этому заключению – и на заседаниях, и в перерывах на кофе, и во время длинных, роскошных средиземноморских обедов и ужинов, на которые не поскупились организаторы. Мы обсуждали скрещивание даже во время утренних пробежек с Йоханнесом в окрестностях Дубровника, хотя вокруг было на что отвлечься – тут и красоты средневекового города, тут и картины разрушения, принесенные городу недавней войной. Забывались мы, правда, не настолько, чтобы нечаянно сойти с асфальтированной дорожки и легкомысленно бежать по заминированным полям. Наши разговоры неизменно возвращались к романтическим отношениям между неандертальцем и человеком, которые 30 тысяч лет назад вполне могли происходить прямо здесь, в тех местах, где мы сейчас упражнялись в беге трусцой.

В этом гипотетическом скрещивании кое-что вызывало беспокойство. Анализ примесей основывался на подсчете нуклеотидных совпадений между ДНК неандертальцев и представителей каждой из трех рас – африканской, европейской и китайской. Ник, проводивший анализ, сам первый требовал проверок и перепроверок своего компьютерного кода. Ведь любой просчет мог привести к ошибочному результату. Ошибка могла появиться, например, из-за какой-нибудь незначительной, но систематической разницы в технологиях секвенирования ДНК современных людей, или, например, Джим Малликин мог чуточку по-другому искать нуклеотидные замены (СНИПы), сравнивая конкретные человеческие геномы с эталонным. Малейший недосмотр имел бы огромные последствия; в конце концов, мы ведь обсуждали разницу в один-два процента.

На заседаниях мы составляли список, что надлежит сделать для проверки результатов Дэвида и Ника. Джиму теперь предстояло сравнивать последовательности ДНК современного человека с цепочками ДНК шимпанзе, а не людей. Таким способом мы хотели проверить, нет ли систематического отклонения из-за того, что референсный геном составлен частично из ДНК европейца и частично из ДНК африканца. К тому же мы все понимали, что назрела необходимость нам самим составить последовательности

современных людей. Только так мы сможем быть уверены, что все нуклеотидные последовательности произведены и проанализированы одинаковым образом.

Соответственно, если где-то в процессе допущены систематические просчеты, то во всех последовательностях будут присутствовать ошибки одинакового типа. Мы решили секвенировать геном одного человека из Европы и одного из Папуа – Новой Гвинеи.

Выбор, казалось бы, необычен, но он был продиктован загадочным наблюдением: мы заметили сходный уровень неандертальских примесей в европейских и китайских ДНК.

Согласно принятому мнению, неандертальцы никогда не бывали на территории современного Китая, но я никогда не стеснялся поставить под сомнение “принятое мнение” палеонтологов. Может быть, в Китае жил, так сказать, неандертальский Марко Поло? Ведь обнаружил же Йоханнес в 2007 году, что неандертальцы – или, по крайней мере, люди с неандертальскими мтДНК – обитали в Южной Сибири, на 2000 километров восточнее места, “принятого” палеонтологами. Может, некоторые добрались и до Китая? Зато мы могли быть уверены, что никакие неандертальцы никогда и ни за что не добрались бы до Новой Гвинеи, так что если мы и у папуасов найдем следы скрещивания, то это уж точно будет означать, что неандертальские гены достались предкам папуасов до того, как те поселились в Новой Гвинее, и, скорее всего, до того, как разделились расы китайцев и европейцев. Еще в наш список секвенирования мы включили человека из Западной Африки, из Южной Африки и китайца. Имея на руках геномы этих пятерых, мы еще раз проведем все анализы и посмотрим, изменятся ли наши выводы.

Окончание конференции в Дубровнике отмечалось многочасовым ужином, а лучше сказать – великолепным пиром, где нас и накормили, и, конечно же, напоили. За свою профессиональную жизнь я сотрудничал со многими людьми и организациями, но ни одно сотрудничество не было таким крепким и плодотворным, как это. И все же я чувствовал, что время подгоняет нас. За ужином я не уставал повторять всем и каждому, что у нас жесткий график, и не только потому, что мир ждет публично обещанных на конференции AAAS результатов, но и из-за Эдди Рубина: мы понятия не имеем, что он делает у себя в Беркли с полученными неандертальскими костями. Вообще-то мне почти никогда ничего не снится, но тут, за ужином, я ради красного словца рассказал всем, что меня мучают ночные кошмары, будто группа из Беркли публикует работу за неделю до выхода в свет нашей – и их открытия точь-в-точь как у нас.

На следующее утро в самолете до Лейпцига я спал. Вскоре после возвращения я свалился с простудой, потом поднялась температура, потом начались боли в груди при вдохах и выдохах. Пришлось отправляться в больницу, где у меня обнаружили пневмонию и прописали курс антибиотиков. Не успел я прийти домой, как телефонный звонок заставил меня срочно вернуться обратно в больницу. Анализы показали тромбы где-то у меня внутри. И вот я уже лежу на кровати и разглядываю результаты томографии: тромбы забили значительную часть легких. Эта картина потрясла меня. Если бы тромбы попали в легкие единым сгустком, а не отдельными кусочками, я бы умер на месте. Доктора винили слишком частые перелеты и, возможно, длительную поездку в переполненном автобусе из Сплита в Дубровник. Мне прописали антикоагулянты на шесть месяцев, и я принялся изучать альтернативные методы лечения с истовостью, какая бывает только у лично заинтересованных. К моему великому удивлению, я наткнулся на упоминание одной работы моего отца 1943 года. Он объяснил структуру гепарина, того самого лекарства, которое прописали мне доктора и которое, наверное, спасло мне жизнь. Это удивило и одновременно потрясло меня, заставило увидеть свое прошлое в новом свете. Я же внебрачный – тайный – сын Суне Бергстрёма, известного биохимика, разделившего в 1982 году Нобелевскую премию за открытие простагландинов, естественных веществ, выполняющих у нас в организме различные важные функции. Повзрослев, я очень редко с ним виделся, и работа над структурой гепарина оказалась одним из бесчисленных фактов его жизни, которых я не знал. Я не знал своего отца... Меня охватила грусть. Но с нею пришло и отчетливое понимание, что я хочу быть там, где подрастает мой собственный сын. Я хотел, чтобы мой

сын меня знал. И я хотел завершить неандертальский проект.

Умирать было слишком рано.

## Глава 18 Генетический поток!

Секвенирование наших пяти современных геномов началось в 2009 году. Эх, какие же чистые это были ДНК – без бактериальных загрязнений, без химических модификаций, которые так портили наши неандертальские образцы. В результате получилось в пять раз больше фрагментов для каждого из геномов, чем для неандертальской последовательности. Мы справились за несколько недель, а ведь всего двумя годами раньше, в Лейпциге, столь скорые сроки были немыслимы. Но теперь, с технологиями *454* и *Illumina*, подобная задача – отсеквенировать несколько человеческих геномов – оказалась под силу даже такой небольшой группе, как наша.

С помощью метода, обрисованного на встрече в Дубровнике, Эд высчитал время существования последнего общего предка всех пяти индивидов и эталонного человеческого генома. У него получилось, что европеец, китаец и папуас имели общего предка с носителем эталонного генома чуть больше 500 тысяч лет назад. А если к ним добавить бушмена из Южной Африки, то время существования их общего предка отодвинется до 700 тысяч лет. Значит, разделение линий бушменов (и связанных с ними народностей) и остального человечества уходит корнями дальше всех других ветвлений человечества. А если учесть датировки разделения неандертальцев и людей – 830 тысяч лет назад, – то выходит, что точки ветвления отстоят друг от друга на 130 тысяч лет и неандертальцы, конечно, отличаются от нас, но не разительным образом.

К подобным оценкам следует относиться с осторожностью. Ведь это всего лишь одно значение возраста, которое считается справедливым для целого генома. А на самом деле геном наследуется не как единое целое, а частями. Следовательно, у каждой части имеется своя история и, очевидно, свой общий предок со своим временем существования. А все потому, что у каждого индивидуума по две копии каждой хромосомы и они передаются потомству независимо друг от друга. Поэтому у каждой хромосомы будет своя независимая генеалогия, свой исторический сюжет, если угодно. К тому же каждая пара хромосом обменивается друг с дружкой частями во время интригующего молекулярного танца, называемого рекомбинацией, танца, происходящего при формировании яйцеклеток и сперматозоидов. А это означает, что собственный сюжет имеет не только каждая хромосома, но и отдельные ее участки. Так что полученные Эдом цифры в 700 тысяч лет для африканских бушменов и 830 тысяч для неандертальцев – это решительное усреднение по всем частям генома.

На самом деле, если начать сравнивать геномы современных людей, то обязательно найдутся участки, для которых общий предок жил сотни тысяч лет назад, а для других – полтора миллиона лет назад. То же самое справедливо для сравнения неандертальцев с современными людьми. Возьмем, к примеру, одну из моих хромосом, аналогичную хромосому неандертальца и вашу, мой читатель, и прогуляемся по их генеалогии. Мы увидим, что во время нашей хромосомной прогулки нам встретятся участки, в которых я больше похож на неандертальца, чем на вас, в других – вы окажетесь больше схожи с неандертальцем, чем со мной, а порой мы окажемся в местах, где мы больше похожи друг на друга, чем на неандертальца.

Нужно обязательно понимать, что 830 тысяч лет – усредненная оценка времени существования общего генетического предка современных людей и носителей тех неандертальских генетических последовательностей, которые к нам попали. Это означает, что на тот момент все обнаруженные ДНК присутствовали в популяции, в которой появились предки неандертальцев и предки людей. Но! Это не означает, что линии неандертальцев и людей разделились именно в тот момент. Разделение должно было

произойти позже, и вот почему. Если проследить историю генетической последовательности людей и неандертальцев, то в конце концов найдется такая точка, где они встретятся, и дальше (а точнее, дальше в прошлое) уже будут существовать в виде генома единой предковой популяции (как раз в ней, очевидно, и произошло разделение на две ветви). В самой этой предковой популяции по ходу существования тоже накапливались мутации. Так что оценка в 830 тысяч лет предполагает суммарное время накопления продвинутых мутаций, когда обе ветви были еще соединены плюс когда они уже разъединились.

Предковая популяция до сих пор остается для нас загадкой, хотя можно предположить, что она существовала в Африке и что некоторая часть ее потомков покинула Африканский континент, дав начало неандертальцам. А те, кто остался, стали родоначальниками современных людей. Пока не получается высчитать, когда разделились эти две части, по крайней мере на основе различий в ДНК. Это дело куда мудренее, чем расчеты точки схождения на общем предке. Предположим, к примеру, что в предковой популяции, где живут будущие прародители людей и неандертальцев, накапливаются многочисленные мутации. Тогда большую часть обнаруженных продвинутых мутаций нужно отнести ко времени до разделения человеческой и неандертальской линий. То есть истинное время разделения окажется ближе к современности. Очень приблизительно можно оценить это время по уровню вариации точек ветвления для разных частей генома. Нужно при этом представлять продолжительность жизни генерации, то есть через сколько лет каждое поколение оставляет потомство, размножается, а это зачастую темный вопрос. Приняв во внимание все возможные неопределенности, мы постарались получить эти оценки: популяция разделилась примерно 270–440 тысяч лет назад. Впрочем, разброс может быть и больше, ведь мы могли недооценить ошибки начальных данных. Тем не менее предки современных людей и неандертальцев разошлись, вероятно, около 300 тысяч лет назад.

Интересно, конечно, порассуждать, насколько далеки люди и неандертальцы, но вернемся к исходному вопросу: что происходило, когда предки современных людей, путешествуя из Африки в Европу, встретились там с давно потерянным неандертальским “коленом”?

Обменивались они генами или нет? Эд быстренько откартировал все пять современных геномов, а Ник и Дэвид повторили свои расчеты. Теперь-то я точно знал, что данные надежны, и втайне надеялся, что с новым массивом данных то добавочное сходство европейцев и китайцев с неандертальцами по сравнению с африканско-неандертальской парой исчезнет, сгладится.

Двадцать восьмого июля я получил по электронной почте два длинных сообщения от Дэвида и Ника. И вот вам свидетельство Дэвидовой страстной преданности науке – он продолжал работать, несмотря на то что 14 июля его жена Юджени родила первенца. Ник просчитал все 10 возможных попарных сравнений для пяти современных геномов. Для каждой пары он выявил СНИПы, позиции, в которых в хромосомах разных индивидуумов имелись различия. Получилось около 200 тысяч таких различий для каждой пары геномов. Более чем достаточно, чтобы выяснить, к кому ближе неандертальцы.

Итак, согласно расчетам Ника, у неандертальцев с африканскими бушменами оказалось 49,9 процента общих полиморфизмов, а с йоруба – 50,1 процента (анализировалась, естественно, пара бушмен – йоруба). В принципе так и предполагалось, ведь неандертальцы никогда не заходили в Африку, и, следовательно, сходство со всеми африканцами у них должно быть примерно одинаковым. А потом в дело пошли полиморфизмы, по которым француз (читай – европеец) отличался от бушмена. И тут обнаружилось, что у неандертальца имеется 52,4 процента сходных с французом полиморфизмов. А для полиморфизмов, отличающих китайца от бушмена и йоруба, доля неандертальского сходства составила 52,6 и 52,7 процента соответственно. Папуасы же имеют с неандертальцами 51,9 и 52,1 процента общих полиморфизмов, если брать пары папуасы – бушмены и папуасы – йоруба. А если провести попарные сравнения между французом, китайцем и папуасом, то получатся различия на 49,8–50,6 процента. То есть сходство (или различие) между современными

представителями разных рас, за исключением африканцев, во всех случаях составит примерно 50 процентов. Но взять африканца и любого неафриканца – и сходство чуть-чуть снизится, и неандерталец окажется больше схож с неафриканцем. Насколько больше? Примерно на 2 процента или около того. Выходит, и вправду в неафриканских геномах имеется слабенький, но вполне различимый неандертальский вклад, и он более или менее одинаковый для всех живущих за пределами Африки.

Я прочитал один имейл. Потом второй. Потом перечитал оба еще раз. Где ошибка? Ошибки вроде нет. Точно нет. Откинувшись на спинку кресла, я тупо уставился на беспорядочные груды бумаг на своем столе, которые слой за слоем копились все эти годы.

А с экрана компьютера на меня безмолвно смотрели Дэвидовы и Никовы результаты. Неандертальцы все же оставили – да-да, именно так! – свою ДНК современному человечеству. Круто! Я ведь именно этого и хотел, мечтал об этом уже четверть века. У меня есть теперь твердый ответ на основополагающий и десятилетиями обсуждаемый вопрос. И ответ, надо признаться, неожиданный. Мы показали, что кое-какая часть генетической информации не дотягивается до общих предков человечества, обитавших некогда в Африке, а это, в свою очередь, противоречит гипотезе “из Африки”, которую выстроил мой наставник Алан Уилсон и в которую я безоговорочно верил. Неандертальцы вымерли не окончательно, часть их ДНК живет в современных людях.

Я сидел и пялился на свой стол. Ведь этим новым результатам противоречила не только гипотеза “из Африки”. С ней не сочеталась и альтернативная гипотеза – мультирегионального происхождения человечества. Если следовать “мультирегиональной” логике, то сходство с неандертальцами должно обнаруживаться только у европейцев, на чьей территории они жили. А у нас выходило, что и с китайцами, и с папуасами сходство такое же. Как так? Я стал автоматически прибираться на столе. Сначала медленно, потом все быстрее и быстрее, потом и вовсе с истерической энергией я сбрасывал со стола остатки старых проектов... Вокруг летела пыль, поднятая из глубоких бумажных слоев. Нужно начинать заново... Я должен срочно очистить стол!

Иногда, когда мне нужно подумать, я принимаюсь за мелкие домашние дела, и это помогает. И сейчас я убирал, а у меня в голове мало-помалу складывалась картинка: современные люди – это стрелочки на карте, они направляются из Африки, а в Европе встречаются с неандертальцами. Я представлял: вот люди встретились, завели детей, и эти дети в далеком “потом” растворились в современном человечестве. Но у меня никак не получалось отправить их ДНК в Восточную Азию. Возможно, конечно, что неандертальскую ДНК принесли в Китай последующие европейские мигранты, но тогда сходство неандертальцев с китайцами должно быть меньше, чем с европейцами. И тут на меня снизошло: люди, вышедшие из Африки, должны были встретиться с неандертальцами на Ближнем Востоке!

*Рис. 18.1. Так можно изобразить идею, что неандертальцы скрещивались с ранними выходцами из Африки, а потомки от смешения расселились затем повсюду за пределами Африки, принеся неандертальские гены даже туда, где сами неандертальцы никогда не бывали. К примеру, у китайцев имеется около двух процентов неандертальской ДНК. Фото: Сванте Пэабо, MPI-EVA*

Конечно же! Это первое место, где люди современного типа могли встретиться с неандертальцами. И если они сначала смешались с неандертальцами, а потом отправились дальше, дав начало всем популяциям людей за пределами Африки, то они должны были принести во все места примерно равное количество неандертальской ДНК (см. рис. 18.1).

Вот каким должен быть наш сценарий. Но по опыту я знал, что интуиция иногда меня подводит. К счастью, со мной были Ник, Дэвид и Монти, способные со своим математическим арсеналом быстро вернуть меня на землю.

Обсуждения открытий Дэвида и Ника, начавшись на пятничном собрании, продолжались всю неделю в телефонных конференциях консорциума. Некоторые из нас быстро согласились, что неандертальцы смешивались с людьми, другие же не поверили, хотя не смогли указать, где ошибаются Ник и Дэвид. И вот что стало мне ясно. Если так непросто убедить друг друга в существовании неандертальской примеси, то насколько труднее будет убедить в этом остальных, в особенности палеонтологов, уверенных в чистоте человеческой линии. А их суждения опираются на ископаемую летопись. Среди этих последних будут такие уважаемые знатоки, как Крис Стрингер из Лондонского музея естественной истории или Ричард Клейн из Стэнфордского университета в Калифорнии. Они, я уверен, очень острожно интерпретировали палеонтологические находки, но все же вполне вероятно, что на их взгляды повлияли предыдущие заключения по древним геномам. А ведь и мы, и другие группы старательно доказывали, что общая картина генетической изменчивости человечества свидетельствует о его недавнем африканском происхождении. Большое влияние в этом смысле имела и наша статья 1997 года, где подтверждалось отсутствие неандертальской примеси в мтДНК современных людей. Были, естественно, и контрмнения, например палеонтолога Милфорда Уолпоффа из Мичиганского университета и Эрика Тринкауса из Университета Сент-Луиса или генетиков, занятых поисками генов, пришедших к современным людям от неандертальцев. Но все их аргументы разбивались о неколебимую стену общепринятого мнения. Или мне казалось, что разбивались. Попросту говоря, неандертальские примеси не требовалось привлекать для объяснения паттернов генетической или морфологической изменчивости в современных людях. Но теперь все изменилось. У нас был геном неандертальца, и мы могли напрямую посмотреть, что там да как. И увидеть эту примесь – вот она, пусть небольшая, но ясно различимая.

Я понимал, что нам понадобятся дополнительные подтверждения, чтобы убедить мир. Обывателю трудно даже представить, насколько далека наука от того объективного и беспристрастного поиска непреложных истин, каким она видится извне. На самом деле она скорее похожа на общественное предприятие, где доминирующие персоналии и последователи порой уже почивших влиятельных фигур определяют так называемое “общепринятое” мнение. Нам, чтобы подкопаться под это “общепринятое” мнение, нужно было провести дополнительное исследование неандертальского генома. И желательно независимое от выполненного Дэвидом и Ником подсчета СНИПов. И если независимый подход тоже выявит поток генов от неандертальцев к людям современного типа, то это сильно сыграет в нашу пользу, добавит убедительности. Так что на пятничных собраниях мы принялись решать, что бы нам еще предпринять.

Решение пришло с неожиданной стороны, совсем не от участников нашего консорциума. На конференции в Колд-Спринг-Харбор в мае 2009 года Дэвид встретил Расмуса Нильсена, который в 1998-м защитил кандидатскую диссертацию по популяционной генетике у Монти Слаткина. Он стал профессором в Беркли и занимался все той же популяционной генетикой. И вот Расмус рассказал Дэвиду, что он со своим аспирантом Вэйвэем Чжаем изучал в современных геномах те области, где вариабельность (число полиморфизмов) больше у *неафриканцев* по сравнению с *африканцами*. Казалось бы, подобное соотношение хоть и допустимо, но маловероятно – ведь очевидно, что при выборе из большой популяции какой-то части в нее попадет лишь малое количество начальных вариантов, так что вообще в неафриканской части предполагается меньшая вариабельность полиморфизмов, чем в африканской. Но если все же найдутся такие участки с перевернутым соотношением вариабельности, тому может быть несколько объяснений, и одно из них для нас весьма и весьма привлекательно. Неандертальцы жили отдельно от ранних африканских людей несколько сотен тысяч лет и успели за это время получить некоторые генетические варианты, которых у ранних африканцев не было. И если потом они передали свои новые варианты людям, оказавшимся за пределами Африки, тогда метод Расмуса именно их и выявит. Это будут как раз те, у кого вариабельность вне Африки выше, чем внутри Африки. А мы с нашим неандертальским геномом сможем проверить, есть ли

среди этих вариантов хоть несколько совпадений с неандертальскими – ведь вполне возможно, что Расмусовы участки с высоким неафриканским полиморфизмом унаследованы именно оттуда. В июне 2009 года я предложил Расмусу и Вэйвю присоединиться к нашему консорциуму по анализу неандертальского генома.

Расмус занялся этими необычными участками генома – теми, где изменчивость у неафриканского населения получалась выше, чем у африканского. Всего нашлось 17 таких участков. Эд переслал Расмусу прочитанные неандертальские последовательности, соответствующие этим участкам. Их оказалось 15 из 17. И в июле я получил от Расмуса фантастические результаты. В 13 из 15 участков неандертальцы и вправду несли те варианты последовательностей ДНК, которые встречались в Европе, но не в Африке.

Сосредоточившись позже на 12 самых длинных участках, больше 100 тысяч нуклеотидов, Расмус провел более тщательный анализ и выявил неандертальские варианты в 10 из них.

Замечательно! Прекрасный результат! Теперь у меня не осталось никакого другого логичного объяснения, кроме неандертальской добавки в геноме европейцев, оказавшихся за пределами Африки. И хотя таким образом невозможно было точно подсчитать, каков был вклад в геномы европейцев и азиатов, то есть то, что в науке называется качественным, а не количественным результатом, но все равно это живо демонстрировало, что такая добавка была. И получен такой результат независимо от расчетов Дэвида и Ника, применивших количественный подход и пришедших к сходному заключению.

Обсуждение продолжалось, люди предлагали все новые методы проверки результатов. Как всегда, Дэвид фонтанировал блестящими идеями. Вот, например, такая. Если в человеческом геноме нашелся сходный с неандертальцами участок ДНК, то это означает, что либо в этом месте скорость мутаций низкая, либо мутации на данном участке оказываются смертельными, то есть носители мутации умирают, не оставив потомства.

Следовательно, мой неандерталопоподобный участок не должен отличаться от аналогичного участка у любого другого человека просто в силу его низкой скорости мутирования. Если не так, значит, мой и неандертальский участки сходны в силу другой причины: потому что мои предки унаследовали этот участок от неандертальцев. Другие люди ведь не обязаны нести следы моих предков, так что сходство генетических участков для нас необязательно.

И вообще, если мои отдаленные предки неандертальцы, то я, спасибо их обособленной эволюционной истории, могу оказаться дальше от всего остального человечества.

Дэвид воплотил свои идеи в жизнь. Он использовал европейскую часть референсного генома (собранного из геномов разных людей) и разделил ее на сегменты. Затем взял другой европейский геном (Крейга Вентера[61]) и подсчитал различия между сегментами неандертальского генома и эталонного, с одной стороны, и между сегментами вентеровского и эталонного – с другой. И отложил на графике по двум осям эти различия.

Зависимость получилась вполне ожидаемой: в целом, чем ближе друг другу были эталонный геном и неандертальский, тем ближе оказывались друг другу два европейских генома. Следовательно, в неандертальском и вентеровском геномах скорость накопления мутаций в сегментах, в общем, была сходной (оцененная относительно референсного генома). Но все менялось, когда дело доходило до тех сегментов, где сходство неандертальского и европейского геномов выходило *очень* высоким. Тогда зависимость менялась на прямо противоположную – и вот уже неандертальский геном становился заметно *больше* похож на вентеровский. К тому моменту я сам уже не сомневался, что генный поток от неандертальцев и вправду имел место. Но когда Дэвид представил эти результаты на общем собрании в декабре 2009 года – он как раз приехал к нам в лабораторию, – я почувствовал, что мы таки сможем убедить в этом и остальных. Пусть знают, что в современных людях прижилась частичка неандертальцев. Как бы ни анализировались данные, мы неизменно приходим к этому выводу.

Теперь на повестке дня встал следующий вопрос: где, когда и как люди современного

типа вступили в столь тесный контакт с неандертальцами? Справившись с другими задачами, мы могли бросить все силы на решение этих. Во-первых, если уж разговор о передаче генов, то была ли эта передача от неандертальцев к людям, от людей к неандертальцам или же она была двусторонняя, и туда и сюда? Теоретически можно предположить, что при встрече двух человеческих популяций новые гены получают обе популяции в равной мере, но на практике такого почти никогда не происходит. Чаще одна группа доминирует в социальном смысле, а другая находится в подчинении. Мужчины из доминантной группы берут себе женщин из подчиненных слоев, а появившиеся дети остаются с матерями.

Поэтому генетический поток будет направлен от доминантной группы к подчиненной. Наглядным примером могут служить белые рабовладельцы на американском Юге и британские колонисты в Африке и Индии.

Мы с легкостью представляем, что люди современного типа доминировали над неандертальцами, потому что неандертальцы вымерли, а мы нет. Но наши данные свидетельствуют о генетическом потоке *от* неандертальцев *к* людям. Вот, к примеру, последние результаты Дэвида. Они показывают, что некоторые европейцы с типичными неандертальскими участками очень сильно отличаются от других европейцев. Как это понять? А так: эти участки накапливали полиморфизмы отдельно от других европейцев и только потом влились в общий европейский генофонд. Скорее всего, накопление полиморфизмов происходило в самом геноме неандертальцев. Если же генетический поток шел в обратном направлении – от людей к неандертальцам, – то привнесенные участки должны быть в среднем одинаково схожи у всех европейцев. С этими фактами (а были и кое-какие другие) мы решили, что генетический поток был направлен от неандертальцев к людям.

При этом вовсе не обязательно, что полукровки от браков неандертальцев и людей не могли воспитываться в неандертальских сообществах. В 2008 году Лоран Эскофье, швейцарский популяционный генетик, внимательно следивший за нашими результатами, опубликовал работу о генетических потоках. В ней он исследовал, что происходит, если при обмене генетической информацией одна популяция расширяется, увеличивает численность, а другая уменьшается в числе. Тогда гены, полученные при обмене, скорее всего, останутся в той, что увеличивается, а в той, что уменьшается, исчезнут. Если популяция получает эти новые гены на волне расширения, то они могут достичь высокой массовости в популяции. Это явление Эскофье метко назвал “аллельным серфингом”: мутация, поймавшая популяционную волну, поднимается на ней до известных частотных высот. Значит, обмен генами мог происходить в обоих направлениях, но следы его не сохранились у неандертальцев, так как, вероятно, после смешения их популяции стали уменьшаться.

А потом, мы могли не обнаружить признаков смешения у неандертальцев просто из-за того, что смешение произошло после времени жизни нашего неандертальца из Виндии, после отметки в 38 тысяч лет. Нам, наверное, никогда не узнать действительные подробности тех давних событий, но, по правде сказать, меня это не слишком волнует. По мне, “кто с кем и как” в позднем плейстоцене – вопрос второстепенной важности. А важно лишь то, что неандертальцы оставили нам, сегодняшним людям, свои гены. Только это имеет значение для исследования нашей генетической истории.

Итак, сомнений в результатах Дэвида и Ника больше не было, и теперь нам интересно стало подсчитать, какая часть современного неафриканского генома представлена неандертальскими генами. Просто так, из сопоставлений СНИПов это делать некорректно, потому что вычисленное количество совпадений между неандертальцами и неафриканцами зависит от ряда других переменных. Одна из переменных – время существования общего предка неандертальцев и людей современного типа, другая – когда неандертальцы и люди смешались друг с другом, обменявшись генами, третья – размеры неандертальской популяции. Монти Слаткин оценил долю неандертальской ДНК в генофонде современного человечества, построив модель истории популяций людей и неандертальцев. У него

получилось, что в геноме европейца или азиата содержится от одного до четырех процентов неандертальской ДНК. У Дэвида и Ника, занявшихся вопросом, насколько далеки европейцы и азиаты от стопроцентного неандертальца, и проделавших отдельный анализ для тех и других, вышли цифры 1,3 и 2,7 процента. В итоге мы заключили, что неандертальский вклад в неафриканский геном точно не превышает пяти процентов. Немного, конечно, но не заметить нельзя.

И последний острый вопрос: как все же неандертальская ДНК оказалась не только у европейцев, но и у китайцев и папуасов? Неандертальцы, напомним, никогда не добирались до китайских территорий и тем более до Новой Гвинеи. Отсюда следует заключить, что предки китайцев и папуасов встречались где-то намного западнее их теперешнего местожительства.

Я пока придерживал свои мыслишки о Ближнем Востоке, нужно ведь, чтобы другие умные головы предложили свои соображения – все, какие только возможно. Так что во время наших телефонных сессий я помалкивал. К похожему на мой сценарию пришел Монти. Он перво-наперво предположил, что неандертальские предки произошли где-то в Африке, затем покинули ее, двинувшись в Западную Евразию примерно 300–400 тысяч лет назад.

Потом, допустим, в этом же самом “африканском где-то” появились и ранние люди современного типа, а произошло это через 200 тысяч лет; и, допустим, популяции, там обитавшие, жили изолированно друг от друга. Тогда у неандертальских мигрантов и популяций ранних людей успеет накопиться достаточно различий. В этом случае, двинувшись из Африки, волна мигрантов подхватит за счет смешения генетические варианты неафриканских неандертальцев, а те, кто, оставшись, отправятся покорять остальной Африканский континент, прихватят ту вариативность, которая накопилась после отделения неандертальцев. Тогда картина распределения африканской и неафриканской вариативности окажется именно такой, какой мы ее сегодня наблюдаем.

Такой вариант развития событий в принципе допустим, но только при условии длительной, в течение сотен тысяч лет, изоляции африканских популяций. А это, как заметил сам Монти, маловероятно, так как люди в принципе склонны к перемещениям.

Еще больше настораживала сложность сценария. В любых реконструкциях прошлого предпочтение нужно отдавать самым простым, способным увязать имеющиеся факты. А другие вероятности посложнее следует рассматривать уже во вторую очередь. Подобная тактика – выбирать наиболее простой вариант – называется принципом экономии, или парсимонии. Вот, например, некоторые рассуждали так: предки современных людей и неандертальцев произошли в Азии, а затем предки людей мигрировали в Африку, не оставив за собой в Евразии никаких резидентов, а затем снова расселились, вытеснив неандертальцев. Такое объяснение вполне годилось для согласования всех имеющихся фактов, но требовало слишком много популяционных передвижений и слишком много популяционных вымираний. Лучше уж помещать колыбель неандертальцев в Африке, а азиатское происхождение неандертальцев, согласно принципу парсимонии, придерживаться в качестве менее вероятной гипотезы. Мы все сошлись на африканском происхождении.

При этом структурно-изоляционный сценарий приняли как сомнительный, так как опять же существовал вариант более простой и совершенно очевидный. Настолько очевидный, что несколько членов нашего консорциума пришли к нему одновременно и независимо друг от друга. Это ближневосточный сценарий.

## **Глава 19**

### **Толпы переселенцев**

Как известно, вне Африки самые древние остатки человека современного типа найдены на горе Кармель в Израиле. Там в пещерах Схул и Кафзех обнаружены кости возрастом более 100 тысяч лет. А неподалеку от них, в пещерах Табун и Кебара, раскопали скелеты

неандертальцев, возраст которых 45 тысяч лет. Эти находки необязательно означают, что 50 тысяч лет назад люди и неандертальцы жили бок о бок на горе Кармель. К слову сказать, многие палеонтологи полагают, что люди современного типа явились сюда с юга, когда климат стал более теплым, и что неандертальцы, двигаясь с севера, заселяли эти земли в периоды похолоданий, и тогда ранние люди уходили оттуда. Еще принято считать, что люди современного типа из пещер Схул и Кафзех вымерли, не оставив потомства. Но даже если у них не осталось наследников, то родственники, скорее всего, были. И еще: каким бы непостоянным ни было соседство неандертальцев и людей, за тысячи лет они не могли совсем не встречаться, хотя из-за изменений климата зона контакта могла смещаться то к северу, то к югу. Таков, в двух словах, сценарий развития событий на Ближнем Востоке.

О том, что Ближний Восток рассматривается как возможная зона смешивания людей и неандертальцев в период 50–100 тысяч лет назад, я узнал из рассказов палеонтологов.

Особенно мне помог Жан-Жак Юблен, французский палеонтолог, который в 2004 году приехал в наш институт возглавить отдел эволюции человека. Во-первых, Ближний Восток – единственное место на свете, где люди и неандертальцы могли, хотя бы в принципе, находиться в контакте в течение долгого времени. Во-вторых, видимо, ни одна из этих двух групп явно не доминировала в тот период. Например, они использовали одинаковые каменные орудия. На самом деле, поскольку каменные орудия идентичны, то определить, являлась ли стоянка на территории Ближнего Востока человеческой или неандертальской, можно, только если археологам попадутся скелетные остатки.

Но вскоре после отметки в 50 тысяч лет назад все изменилось. Пройдя этот рубеж, люди современного типа прочно обосновались за пределами Африки и начали быстро расселяться по всем направлениям; продвигаясь в глубь Старого Света, за следующие несколько тысяч лет они добрались до Австралии. Их взаимоотношения с неандертальцами, похоже, стали другими. По европейским находкам, которые особенно хорошо изучены и датированы, можно с определенностью сказать, что когда в каком-то месте появлялся человек, то неандертальцы уходили сразу или почти сразу. Такая же картина наблюдается и по всему миру: если где-то появлялся человек, то более ранние человеческие формы так или иначе исчезали.

Чтобы отличать этих целеустремленных людей-оккупантов от тех, что 50–100 тысяч лет назад осели в Африке и на Ближнем Востоке, я дал им название “переселенцы”. У них развилась более сложная технология орудий труда – археологи называют ее ориньякской.

Для нее характерны кремниевые отщепы разных сортов, включая большое разнообразие ножей. В местонахождениях ориньякского типа археологи часто находят костяные наконечники копий и стрел, то есть, возможно, первых пробойных метательных орудий.

Если это правда, то подобное изобретение, впервые позволившее человеку убивать животных и врагов на расстоянии, как раз и могло стать тем фактором, который решительно сдвинул стрелку конкуренции в пользу людей. Встречаясь с неандертальцами или другими древними человеческими формами, они неизменно побеждали. Ориньякская культура подарила и первые пещерные рисунки, и первые глиняные фигурки животных, и фигурки мифологических существ, полулюдей-полузверей. Все это говорит о сложном внутреннем мире и о желании поделиться им с другими членами своего сообщества. Таким образом, в поведении переселенцев появляются черты, не свойственные ни неандертальцам, ни другим ранним людям современного типа из пещер Схул и Кафзех.

Мы не знаем, откуда пришли переселенцы. На самом деле они могли быть и просто потомками людей, обосновавшихся на Ближнем Востоке раньше; переселенцы переняли их культурные открытия и новшества и, снарядившись как следует, начали экспансию. И все же скорее они появились из Африки. Но в любом случае какое-то время переселенцы должны были провести на Ближнем Востоке.

Продвигаясь по территории Ближнего Востока, переселенцы, возможно, встречали и ассимилировали местные группы людей. А те, в свою очередь, вполне могли задолго до того

повстречать неандертальцев и произвести потомство, и через такое смешанное потомство ДНК неандертальцев передались переселенцам, а через них уже и нам. Эта модель более сложная, ее трудно назвать идеальной из-за некоторой избыточности. Тем не менее модель прямого наследования, по которой переселенцы скрещивались с неандертальцами, обязана ответить на неизбежно возникающий вопрос: если на Ближнем Востоке переселенцы с готовностью вступали в связь с неандертальцами и выращивали общих детей, то почему они не делали того же самого позже, на территории Западной и Центральной Европы, откуда они неандертальцев вытеснили? А если переселенцы скрещивались с европейскими неандертальцами, то нынешние европейцы должны нести больше неандертальской ДНК, чем азиаты. Модель непрямого наследования предполагает, что переселенцы никогда не скрещивались с неандертальцами, а получили неандертальский генетический вклад через других людей, тех, чьи остатки нашли в пещерах Схул и Кафзех. Те древние люди, будучи близки в культурном отношении неандертальцам и соседствуя с ними десятки тысяч лет, возможно, были склонны вступать с неандертальцами в связь, а не вытеснять их.

Понятно, что модель непрямого наследования не что иное, как чистое теоретизирование. Может быть, мы не видим у европейцев дополнительного неандертальского генетического вклада просто потому, что он слишком мал и его невозможно различить. Также возможно, что разница в количестве неандертальской ДНК объясняется мощным популяционным ростом, который последовал за смешением людей и неандертальцев на Ближнем Востоке.

В этом случае смешение людей и неандертальцев будет явственно отслеживаться именно для этой популяционной волны из-за “аллельного серфинга”, разобранный Эскофье. А если следующие события скрещивания не поймут столь же интенсивную волну популяционного роста, то их генетические последствия отследить будет куда труднее. Еще можно предположить, что более поздние выходцы из Африки “разбавили” генетический вклад неандертальцев. Надеюсь, в будущем найдутся надежные факты, которые помогут прояснить ситуацию. И если когда-нибудь появится возможность изучить ДНК людей из пещер Схул и Кафзех, то можно будет определить, перемешивались они с неандертальцами или нет, а если перемешивались, то в какой мере. Тогда бы мы выяснили, имелись ли у них такие же фрагменты неандертальской ДНК, как у теперешних европейцев и азиатов.

Но на сегодняшний день самый простой – и самый “парсимоничный” – сценарий развития событий примерно такой. Переселенцы встречались и скрещивались с неандертальцами, от таких союзов рождались дети. Эти полукровки вливались в группы переселенцев и несли дальше неандертальские ДНК, превращаясь в своего рода живых хранителей ископаемой истории. На сегодня такие живые хранители вымерших неандертальцев распространились от южной оконечности Южной Америки до Огненной Земли и до острова Пасхи в Тихом океане. Неандертальцы продолжают жить во многих из нас.

Когда научные изыскания довели нас до этой точки, я забеспокоился о реакции общества и социальных последствиях наших открытий. Конечно, ученые обязаны докладывать общественности правду, но я считал, что при этом нужно предусмотреть и уменьшить возможность злоупотреблений. Такое случается, особенно когда дело касается истории человека и генетической изменчивости. И мы обязаны задавать себе вопросы: как новые открытия повлияют на бытующие в обществе предрассудки? Могут ли открытия быть неправильно интерпретированы и использованы в расистских целях? Или в каких-либо других целях, нарочно или по непониманию?

Я вполне представлял себе несколько сюжетов. Прозвище “неандерталец” в обществе едва ли воспринимается как комплимент, и некоторые граждане могли бы по ассоциации связать неандертальскую ДНК с агрессивностью или другими чертами, присущими, по их мнению, колониальной европейской экспансии. Тем не менее в таких рассуждениях я лично не видел особой опасности, так как подобный “расизм наоборот”, то есть по отношению к европейцам, потенциально не содержит заряда смертельной ненависти.

Более серьезно следовало отнестись к факту отсутствия неандертальской ДНК у африканцев. Значит ли это, что африканцы не входили в число переселенцев? Правомерно ли считать их историю фундаментально отличной от европейской?

Обдумывая этот последний вопрос, я для себя уяснил, что нет, скорее всего, неправомерно.

Самым разумным было бы считать, что на сегодня все люди, независимо от того, живут ли они в Африке или нет, являются наследниками переселенцев. И хотя многие палеонтологи и генетики, включая и меня самого, думали, что переселенцы распространились по миру, не смешиваясь со встреченными на пути человеческими группами, но уж если мы доказали, что один раз это случилось, то нет причин считать подобное событие уникальным. Так как у нас нет информации по древним геномам из разных частей света, мы попросту не в состоянии оценить возможный генетический вклад других архаичных человеческих форм. Особенно это утверждение правомерно для Африки, где генетическая вариабельность самая высокая, так что определение генетического вклада архаичных людей превращается в трудновыполнимую задачу. Тем не менее, когда переселенцы начали распространяться по самой Африке, они вполне могли смешаться с древними людьми и вобрать их ДНК в свой генофонд. Я решил, что при разговоре с журналистами мне стоит особо отмечать именно этот аспект рассуждений, то есть ясно дать понять, что у нас нет причин предполагать отсутствие архаичной ДНК в геноме африканцев. Архаичный компонент присутствует у всех современных людей, и последние исследования по современным африканцам подтверждают это.

Однажды вечером я пришел домой после какого-то особо утомительного дня и с трудом уложил спать расшалившегося пятилетнего сына. Тут у меня неожиданно возникла почти бредовая идея. Если в геноме современного человека содержится от одного до четырех процентов неандертальских генов, то может ли на свет появиться ребенок – допустим, в результате причудливого сочетания ДНК сперматозоида и яйцеклетки, – чьи гены окажутся целиком неандертальскими? Может ли так получиться, что все фрагменты неандертальской ДНК, сохранившиеся в современном человеке, как-то соберутся в моей сперме и в яйцеклетке Линды и в результате у нас получится вот такой первобытный хулиган? То есть до какой степени он – или я – можем быть неандертальцами?

Я решил произвести простые вычисления. Средняя длина сегментов, которые определил Расмус, – 100 тысяч нуклеотидов. Примерно 5 процентов неафриканцев являются носителями одного из таких фрагментов. Если принять, что неандертальские фрагменты все примерно такой длины и из них составляется целый неандертальский геном (около 3 миллиардов нуклеотидов), то мы насчитаем 30 тысяч неандертальских фрагментов, рассеянных по современному человеческому генофонду. На самом деле многие фрагменты неандертальской ДНК короче и встречаются реже, чем у пяти процентов неафриканцев, к тому же они необязательно составляют в целый геном, но я специально сделал такие допущения, чтобы понять, может ли мой сын, хотя бы в принципе, оказаться неандертальцем. При таких допущениях вероятность получить определенный фрагмент неандертальской ДНК в какую-нибудь хромосому – это все равно что выиграть в пятипроцентную лотерею. А в каждую хромосому из пары – это вытянуть выигрышный билет в лотерею два раза подряд. То есть 5 процентов от пяти процентов – итого 0,25 процента. Чтобы заполучить целый неандертальский геном от меня и целый неандертальский геном от Линды, нашему сыну придется вытягивать выигрышный билет по два раза подряд для каждого из 30 тысяч сегментов, то есть 60 тысяч раз подряд!

Вероятность такого события неизмеримо мала (а точнее,  $76$  тысяч нулей после запятой и потом какие-то цифры). Так что ни мой сын не мог оказаться неандертальцем, и ни один человек из 8 миллиардов жителей планеты не мог произвести на свет ребенка-неандертальца. И еще можно не опасаться, что в один прекрасный день в лабораторию постучится неандерталец и добровольно сдаст кровь на анализ, одним движением смахнув в мусорную корзину все наши титанические усилия по выделению неандертальского генома из древних

костей.

Тем не менее важнейшими задачами для современного исследователя должны стать, во-первых, определение тех рассеянных в генах современного человечества сегментов, которые унаследованы от неандертальцев, и, во-вторых, выяснение, насколько полно представлен неандертальский геном в современном человечестве. Размер и количество этих сегментов прояснят до некоторой степени, какое количество детей от смешанных связей обеспечило генетический вклад неандертальцев в генофонд переселенцев и когда это происходило. Также факт отсутствия тех или иных фрагментов интересен сам по себе, поскольку отсутствующие фрагменты могли нести как раз ту решающую генетическую информацию, которая определяет разницу между переселенцами и неандертальцами.

Добравшись до этой точки в своих рассуждениях, я вдруг подумал, что и другим, наверное, будет интересно узнать, какая часть их генома унаследована от неандертальцев. Я каждый год получал письма от людей, утверждающих, что они – или их близкие – на какую-то часть неандертальцы. Часто в письма были вложены фотографии с изображениями немного кряжистых индивидуумов, а порой люди предлагали прийти и сдать кровь для наших исследований. И теперь, когда у нас есть геном неандертальца, я легко представил, как мы берем ДНК какого-нибудь человека, определяем, какие сегменты его генома так или иначе схожи с неандертальскими, и, сравнив, показываем уровень неандертальского наследия. В конце концов, в мире существует масса компаний, которые предлагают такого рода услуги, то есть определяют степень родства человека с народами разных стран.

Например, американцы в США очень часто интересуются, какова в них доля наследия из Африки, Европы, Азии и от индейцев. В будущем к ним можно будет добавить и неандертальцев. Идея меня заинтриговала, но одновременно и обеспокоила. А вдруг оказаться “неандертальцем” будет считаться позорным? А не будет ли для человека ужасно, если он узнает, что часть генов, отвечающих за работу мозга, досталась ему от неандертальцев? И не превратятся ли ссоры между супругами во что-то вроде “Ты никогда не выносишь мусор, у тебя же гены в мозгах неандертальские”? Может ли позор, связанный с неандертальскими генами, лечь на целую группу людей, если у какой-то определенной части населения особенно часто будет встречаться неандертальский вариант гена?

Я считал, что мы обязаны контролировать подобные виды практического использования наших исследований. С моей точки зрения, единственным способом контроля было запатентовать использование неандертальского генома для такого наследственного тестирования. Если мы это сделаем, то любой, кто захочет брать деньги за проведение тестов, должен будет получить у нас лицензию. Таким образом, мы получим возможность ставить определенные условия, в каком виде информация выдается клиентам. Лицензию можно выдавать за плату – так наша лаборатория и Общество Макса Планка немного возместили бы затраты на неандертальский проект. Я поговорил об этом с Кристианом Кильгером, бывшим нашим студентом, ныне берлинским юристом со специализацией по биотехнологическим патентам. Мы даже обсудили с ним предполагаемую прибыль от патентов и как ее распределить среди исследовательских групп консорциума.

Полагая, что план может вызвать некоторые вопросы, я представил его на одном из пятничных собраний. И тут выяснилось, что я изрядно промахнулся. Некоторые бурно протестовали против идеи патента. Особенно Мартин Кирхер и Удо Штенцель, чей профессионализм я глубоко уважал: идея патентовать нечто природное, как, например, неандертальский геном, казалась им абсолютно неприемлемой. В целом это мнение поддерживало меньшинство, но зато с каким-то религиозным пылом. Другие придерживались прямо противоположной точки зрения. Эд Грин, например, даже съездил в Калифорнию, в самую большую коммерческую организацию, которая занималась определением генетического наследия, *23andMe*, и, похоже, был не против поработать с ними когда-нибудь после. Споры разгорались, спорили в кафе, в лаборатории, за рабочими столами. Я пригласил Кристиана Кильгера и юриста по патентам из Общества Макса Планка, чтобы они разъяснили, что такое патент и как он работает. Они разложили все по полочкам,

особо подчеркнув, что патент наложит ограничения только на коммерческое использование неандертальского генома – и то только в случае конкретной задачи тестирования генетического наследия – и что он ни в коей мере не ограничит научного использования наших открытий. Все это ни на йоту не изменило ничьих мнений и не снизило градус эмоционального накала.

Меньше всего мне нужны были раздоры в группе. Чего мне бы не хотелось, так это давить авторитетом для протаскивания собственного мнения против желания убежденного меньшинства. До публикации нам предстояло много работы, и сплоченность в группе была необходима. В результате через две недели после начала споров я объявил на очередном пятничном собрании, что принял решение оставить идею патента. Я получил от Кристиана электронное письмо, заканчивавшееся словами: “Какая возможность упущена!” Мне и самому было жаль. Такая прекрасная возможность поднимать деньги на будущие исследования и регулировать использование наших открытий в коммерческих целях. На самом деле, пока я это все пишу, компания *23andMe* уже начала предлагать на рынок услуг тестирование генов на наличие неандертальских компонентов. Да и другие компании, без сомнений, вскоре к ней присоединятся. Но наш проект двигала вперед сплоченность всех членов группы. Именно она являлась нашим главным капиталом, и рисковать ею было нельзя.

## Глава 20 Человеческая суть?

Замечательное место – наш институт в Лейпциге. Там все занимаются более или менее одним вопросом: что значит “быть человеком”? Но при этом все исследования ориентированы на материальные, фактологические данные, на экспериментальную работу. Одно из интереснейших направлений, которое поддерживается у нас в институте, возглавляет Майк Томаселло, директор отделения сравнительной и возрастной психологии. Его группа изучает, как различается формирование когнитивных функций у человека и человекообразных обезьян.

У него в группе для оценки когнитивных различий обезьянам и детям предлагаются сходные тесты на “сообразительность”. Особенно интересно, как детки и обезьянки вовлекают взрослого наблюдателя в свои планы по добыванию конфетки или игрушки с помощью хитроумных конструкций. Как показывают исследования Майка, до десяти месяцев между человеческими и обезьяньими малышами когнитивных различий практически не обнаруживается. Но зато после года дети начинают делать нечто, чего обезьянки не делают никогда. Они начинают привлекать внимание к предметам, которые их интересуют, показывать на них. Более того, после года большинству детишек это действие, показывать на предметы, кажется чрезвычайно занимательным. Они показывают на лампу, цветок, кошку не потому, что хотят этим объектом завладеть, а просто потому, что забавно привлекать к ним внимание мамы, папы или кого бы то ни было. Им ужасно нравится само по себе привлечение внимания другого человека.

По-видимому, около года ребенок начинает открывать для себя, что у других людей, как и у него, имеются интересы и свой взгляд на мир, и пытается научиться управлять вниманием других людей.

Майк предполагает, что побуждение управлять вниманием других людей появляется у ребенка раньше других уникальных для человека когнитивных свойств[62]. Это свойство с определенностью указывает, что у ребенка началось становление модели психического состояния, как выражаются психологи, то есть у него формируется представление, что другой человек воспринимает мир по-своему. В принципе нетрудно понять, как из способности встать на место другого и управлять его вниманием и интересом могла развиваться, колоссально расширившись, человеческая предрасположенность к социальной активности, к манипулированию, к политике, к совместной деятельности и отсюда к сложно

устроенным обществам. По-моему, Майк и его группа нащупали здесь некое основополагающее различие, благодаря которому мы пошли совсем иным историческим путем, нежели человекообразные обезьяны и многие вымершие виды людей, в том числе и неандертальцы.

Еще одно отличительное качество, которое особенно выделял Майк, – это способность к имитации у детей. Они гораздо более склонны повторять за родителями или другими взрослыми, чем обезьяньи малыши. Другими словами, дети “обезьянничают” гораздо больше самих обезьян. А взрослые, в свою очередь, поправляют и меняют поведение своих малышей гораздо больше, чем обезьяньи родители. Во многих обществах такое поведение во многом зарегулировано, это то, что мы называем наставничеством, обучением. На самом деле большая часть общения взрослых с детьми в явной или неявной форме посвящена именно обучению. А общественные институты, взявшие под контроль эту способность, мы знаем как школы или университеты. У обезьян, напротив, наставничество практически не наблюдается. Меня просто восхищает, что наша способность легко обучаться от других начинается с совместного, разделенного с кем-то внимания и на первых порах проявляется, когда малыш просто показывает папе лампу, заставляя его посмотреть на нее.

Для человеческих обществ столь явный акцент на обучении как таковом имеет фундаментальные последствия. Обезьяны могут получить собственный опыт только путем проб и ошибок, без помощи родителей или других учителей из их группы, тогда как люди исключительно эффективно воспринимают опыт предыдущих поколений. В итоге, если инженеру нужно улучшить механизм, то не обязательно изобретать все с нуля. Инженер будет иметь в виду все изобретения, сделанные предыдущими поколениями, от сложного двигателя, появившегося в XX столетии, до колеса, доставшегося нам из античности.

Инженеру останется только добавить кое-какие изменения, чтобы улучшить свою конструкцию, а последующие поколения инженеров примут с благодарностью эти улучшения и с их учетом будут уже строить свои. Майк назвал это явление эффектом храповика, не позволяющим откатываться назад. Колоссальный культурный и технологический прогресс человеческого общества совершенно очевидно коренится именно в этом.

Мой энтузиазм по отношению к работам Майка вырос из убеждения, что уникальные человеческие свойства, такие как совместное внимание, способность к обучению сложным вещам, имеют генетическую базу. И доказательств у нас для этого на самом деле предостаточно. В прошлом были такие случаи – сегодня их считают неэтичными экспериментами, – когда люди дома выращивали своих детей вместе с детенышами обезьян. Маленькие обезьянки выучивались многим человеческим вещам – манипулировать хозяйственной утварью, строить простые предложения из одного-двух слов, кататься на велосипеде и курить сигареты. Но они так и смогли освоить сложные навыки и не вовлекались в многоплановые отношения до той же степени, что и дети.

Иными словами, они не достигали человеческого разумения. Для полного восприятия человеческой культуры нужна, как мы понимаем, определенная биологическая база.

При этом, естественно, не имеется в виду, что одни только гены ответственны за восприятие человеческой культуры, они лишь необходимый для этого субстрат.

Представим умозрительную ситуацию, когда ребенок воспитывается без всяких контактов с другими людьми. У такого вряд ли разовьются все те способности, какие мы связываем с человеческой сущностью, в том числе и понимание личности, наличие своих интересов у других людей. У этого несчастного воображаемого дитяти никогда, вероятно, не появится наиболее тонко организованное свойство, которое вырастает из нашей способности к совместному вниманию. Я имею в виду язык. Я убежден, что для становления человеческого разума необходимы социальные стимулы. Для обезьян, однако, не важно, в какой момент и в каком объеме они становятся объектом человеческого обучения и человеческой социальной среды, они все равно способны развить лишь самые элементарные культурные навыки. Одного социального обучения мало. Чтобы усвоить человеческую

культуру, нужна предрасположенность, обусловленная генами. Уверен, что и человеческое дитя, выращенное в семье шимпанзе, не сможет начать думать как шимпанзе. Потому что для этого нужна своя предрасположенность, обусловленная генами шимпанзе, которых человек не имеет. Но, как и положено людям, нас больше интересует, что делает нас людьми, чем что делает шимпанзе обезьянами. В этом случае не следует стесняться своего “человекоцентризма”. У нас есть объективная причина для подобного парохизма. Ведь именно люди, а не шимпанзе пришли к господству на планете и в биосфере. И в этом нам помогла мощь культурных и технологических навыков; с их помощью мы нарастили свою численность, поселились и живем даже там, где без них не смогли бы и выжить, под нашим влиянием меняется, иногда в плачевную сторону, внушительная часть биосферы. Поэтому волнующей, а вернее насущнейшей проблемой, с которой столкнулись сейчас ученые, стала расшифровка причин нашего уникального развития. И одним из путей может быть сравнение геномов неандертальца и современного человека. Именно чувство волнительной и настоятельной необходимости руководило мной, заставляя преодолевать все новые и новые технические препятствия на пути к геному неандертальца.

Согласно данным палеонтологической летописи, неандертальцы появились 300–400 тысяч лет назад, а вымерли где-то 30 тысяч лет назад. За это время их технологии не слишком изменились. На протяжении своей истории они использовали примерно одни и те же орудия, а их история между тем была в четыре раза длиннее истории людей современного типа. Только под конец своего существования, как раз когда они могли встретиться с людьми, у них кое-где появились некоторые нововведения. Тысячелетие за тысячелетием они то расширяли, то сокращали свои территории, следуя за изменениями климата в Европе и Западной Азии, но так и не сумели переплыть через море и заселить новые части мира. Они расселялись примерно так же, как любые другие крупные млекопитающие, и в этом походили на другие виды вымерших людей, живших в Африке последние 6 миллионов лет или в Евразии последние 2 миллиона лет.

Но все круто изменилось, когда в Африке появились люди современного типа и двинулись по миру толпой переселенцев. За следующие 50 тысяч лет – время вчетверо или в восемь раз короче всего периода существования неандертальцев – эта толпа заняла каждый пригодный уголок планеты, а потом изобрела новые технологии и отправилась на Луну и дальше. И если у этого технологического и культурного взрыва имеется – а я уверен, что да – генетическая подоплека, то мы ее сможем увидеть, сравнив геномы неандертальцев и современных людей.

Эта мечта не давала мне покоя, руки чесались добраться до анализа существенных различий человека и неандертальца. Тем более что к лету 2009 года Удо наконец откартировал все фрагменты неандертальского генома. При этом я понимал, что мечты мечтами, но нужно быть реалистом: различия в геномах не могут рассказать все. Открою маленький грязный секрет геномики: нам не известно ничего, точнее практически ничего, о том, как наш геном превращает вещество в отдельно взятое, живое и дышащее существо. Если я, например, отсеку геном и передам последовательность генетику, то он определит, в какой части планеты я живу или жили мои предки. Он может сделать такой вывод, сравнив полиморфизмы в моем геноме с их географической вариабельностью в разных частях света. Но что я за человек – умный или глупый, высокий или низкий, или еще что-нибудь про меня, – этого он не скажет. Мы сейчас бросили столько сил на изучение геномов, в основном нацелившись на борьбу с тяжелыми болезнями, такими как Альцгеймер, рак, диабет или сердечная недостаточность, но пока не слишком преуспели. В настоящий момент мы в состоянии лишь сказать с высокой степенью неопределенности, имеется ли у человека склонность к этим болезням. Поэтому, возвращаясь к реальности, я понимал, что многого неандертальская геномика нам не откроет. Никаких дымящихся пистолетов на месте преступления не предвидится.

Но все же, имея в руках неандертальский геном, стоит задаться вопросом, что же разнит людей и неандертальцев. Этим путем сможем пойти не только мы, но и следующие

поколения биологов и антропологов. Для начала следовало сделать каталог всех генетических изменений, которые произошли у людей после разделения линий людей и неандертальцев. Таких изменений найдется, по-видимому, много, и большая их часть не имела видимых последствий, но среди них обязательно будут и ключевые мутации, которые нас интересуют.

Этот каталог с инвентаризацией всех уникальных человеческих модификаций взялись начерно собирать Мартин Кирхер и Дженет Келсо, его руководительница. В идеале каталог должен включать все генетические изменения, которые произошли после того, как неандертальцы отправились своим эволюционным путем, а предки современных людей – своим. То есть там должна содержаться перепись всех позиций в геноме, по которым неандертальцы похожи на шимпанзе и других человекообразных обезьян, а все люди вне зависимости от их географического положения отличаются и от неандертальцев, и от обезьян. Но в 2009 году мы еще не были готовы сделать полную и корректную перепись.

Прежде всего, у нас на руках было всего 60 процентов неандертальского генома, так что в любом случае каталог заполнится только на 60 процентов. Во-вторых, даже если мы зарегистрируем позицию, где человеческий эталонный геном отличается от геномов неандертальца и шимпанзе, то не обязательно любой человеческий геном будет похож на эталонный в этой позиции. Большинство таких позиций окажутся переменными, то есть будут отличаться у разных людей, но у нас нет достаточной информации, чтобы эту переменность оценить и учесть, отделить реальные отличия от ложноположительных сигналов (не нашли – не значит, что их в действительности нет). К счастью, параллельно приступили к работе несколько крупных проектов, нацеленных на исследование генетической переменности людей. Например, проект *1000 Genomes Project* ставил своей задачей получение генетических вариантов одного процента всех людей на планете. Но тогда этот проект только стартовал. В-третьих, нас сильно ограничивало то обстоятельство, что неандертальский геном был собран из ДНК всего лишь трех неандертальцев, да и то большая часть фрагментов принадлежала только одному из них. Мне, правда, это не казалось слишком серьезной проблемой. Если обезьяний, предковый, вариант встретился у одного из неандертальцев, то нас не должно особо волновать, что у другого неандертальца может оказаться продвинутой, человеческий аллель. Нам достаточно знать, что в тот момент, когда неандертальская и человеческая линии разделились около 400 тысяч лет назад, в генофонде неандертальцев присутствовал этот предковый аллель. И его можно рассматривать в качестве кандидата на роль универсального отличительного сигнала неандертальцев от людей.

Дженет и Мартин сравнили человеческий эталонный геном с геномами шимпанзе, орангутана и макаки и, таким образом, зафиксировали все позиции, по которым человек отличался от обезьян. Потом сделали новое сравнение, теперь уже человека и трех видов обезьян с неандертальским геномом. Но при этом позаботились учесть только те позиции, для которых место в геноме определялось совершенно надежно. В результате получили 3 202 190 нуклеотидных позиций, отличающих неандертальцев и людей (человеческую линию) от обезьян. По большинству этих позиций неандертальцы были схожи с людьми.

Оно и понятно – ведь неандертальцы существенно ближе к нам, чем к обезьянам. Но все же 12,1 процента позиций, схожих с обезьяньими, отличали неандертальцев от людей. На следующем шаге Дженет и Мартин посмотрели, найдутся ли позиции, где предковые (обезьяньи) варианты, обнаруженные у неандертальцев, все еще присутствуют и у современных людей. В большинстве подобных случаев у людей присутствовали и предковые, и продвинутые аллели, то есть у некоторых людей оказывались предковые аллели, а у других – продвинутые. Так и должно быть, потому что мутации в этих позициях произошли совсем недавно. Но некоторые из новых вариантов имели все люди без исключения (насколько мы могли судить по доступным данным). И именно они представляли для нас особый интерес.

А еще пристальнее следовало присмотреться к тем мутациям, которые могли иметь

функциональные последствия. Перво-наперво это модификации цепочек аминокислот в белках. Как мы, конечно, знаем, белки закодированы последовательностями ДНК, называемыми генами. В генах определены аминокислотные последовательности, в них в тех или иных сочетаниях чередуются двадцать разных аминокислот. Белки выполняют в организме самую разную работу: это и регуляция активности генов, и построение тканей, и контроль метаболизма. И скорее именно модификации в белках будут иметь какие-то последствия для организма, чем любые другие мутации. Подобные потенциально бессмысленные мутации – заменяющие одну аминокислоту на другую в белке или изменяющие длину белковой последовательности – встречаются гораздо реже других, не играющих столь драматической роли. Мартин в конце концов выдал мне их список – 78 мутаций, затрагивающих аминокислотные цепочки, по которым все люди отличаются от обезьян и неандертальцев. К этому списку по мере продвижения наших дел и проекта *1000 Genomes* некоторые позиции будут добавляться, ну а другие вычеркиваться.

Так что можно вполне обоснованно предположить, что с момента разделения неандертальской и человеческой линий у людей закрепилось не больше двух сотен аминокислотных мутаций.

В будущем, когда сформируется более полное понимание работы каждого белка в организме и в мозге в том числе, биологи смогут порассуждать, как влияет каждая отдельная аминокислота на функционирование белка и насколько проявлялось это влияние у неандертальцев. К сожалению, столь внушительный объем информации будет собран нескоро, когда я сам уже присоединюсь к неандертальцам на том свете. Но мне приятно думать, что прочтенный нами неандертальский геном (и его улучшенная версия, которая появится стараниями других ученых, сегодняшних и будущих) станет заметной вехой на этом пути.

Но на тот момент эти 78 позиций могли дать лишь очень приблизительный намек. Имея только нуклеотидную запись этих новоприобретений, трудно представить, что за изменения в организме за ними стояли. Среди них мы, однако, заметили пять таких белков, где заменилась не одна аминокислота, а две. Вряд ли это можно считать случайностью, если 78 мутаций распределяются случайным образом по 20 тысячам наших белков. Так что эти пять белков, скорее всего, изменились сравнительно недавно в человеческой истории. Вполне возможно, что они потеряли свое былое значение и теперь могут накапливать мутации без всяких осложнений. В любом случае к этой пятерке стоило присмотреться получше.

Первый из белков с двумя мутациями был связан с подвижностью сперматозоидов. Меня это не удивило. Хорошо известно, что у человека и других человекообразных приматов гены, связанные с мужской репродукцией и свойствами сперматозоидов мутируют весьма часто. Это объясняется прямой конкуренцией между сперматозоидами за право оплодотворения, когда у самки имеется возможность многократного спаривания с разными самцами. Легко понять, что любое изменение, благоприятствующее победе в отчаянном соревновании за яйцеклетку, например увеличивающее подвижность и скорость сперматозоидов, быстро распространится в популяции. Такое изменение находится под действием положительного отбора, то есть увеличивает шансы своего носителя на выживание и передачу генов потомкам. Если подумать, то чем яростнее битва между разными сперматозоидами вокруг каждой яйцеклетки, битва за наследство, так сказать, тем мощнее действует положительный отбор. Поэтому имеется зависимость между уровнем свободы скрещиваний и силой положительного отбора, обнаруживаемого в генах мужской репродукции. Так, у шимпанзе, у которых самки во время течки стремятся спариться со всеми самцами, каких только могут привлечь, свидетельств положительного отбора в этом направлении множество, существенно больше, чем у горилл. У тех самки имеют возможность спариться только с доминантом, старым самцом с серебристым загривком, монополюсально контролирующим всех своих дам. Им только и достается сперма серебристого монополиста, а сперматозоидам молодых подчиненных самцов не позволено участвовать в конкурентной борьбе за яйцеклетку. Точнее, они участвуют в этой борьбе, но на более

раннем, социальном, этапе, когда утверждается иерархическое положение каждого самца. И очень примечательно, что даже столь косвенный признак, как относительный размер мошонки, отражает разницу в конкурентных стратегиях самцов. У шимпанзе размер мошонки относительно большой, а карликовые шимпанзе бонобо, склонные к широчайшему промискуитету, оснащены еще более впечатляющими фабриками по производству спермы; при этом крупные доминантные самцы горилл имеют довольно жалкие по размеру яички. У людей, судя по размеру яичек и данным по положительному отбору в генах, ответственных за мужскую репродуктивную функцию, сочетается шимпанзиня склонность к промискуитету и горилловая моногамия. Наши предки, скорее всего, не сильно отличались от нас, балансируя между эмоционально поощряемой преданностью партнеру и заманчивыми сексуальными альтернативами.

У второго белка из списка Мартина функции так и остались неизвестными. И это отражает вопиющую неполноту наших знаний о работе генов. Третий белок участвовал в синтезе факторов, контролирующих производство белков в клетке. И что означают изменения в нем, мы не имеем ни малейшего представления. Вполне небезосновательно предполагать, учитывая пробелы в наших знаниях, что данный белок приобрел какую-то дополнительную, неизвестную нам функцию. Но зато два оставшихся белка с парой аминокислотных замен присутствуют у нас в коже. Один принимает участие в соединении клеток друг с другом, в особенности он проявляет себя при заживлении ран, а другой обнаруживается в верхних слоях кожи, в потовых железах и в волосяных луковицах.

Следовательно, мы можем заключить, что по ходу эволюции в человеческой линии произошли некие серьезные изменения кожных покровов. Остается лишь надеяться, что в дальнейшем ученые прояснят сущность этих изменений: может, первый белок способствовал более эффективному заживлению ран, а второй мог модифицироваться из-за того, что люди избавились от меховой шкуры. Но сейчас мы ничего определенного не скажем. Слишком уж велико наше невежество в вопросах конкретной работы генов в организме.

Когда будет готова полная версия неандертальского генома и когда соберется достаточно информации по современной генетической variability, Мартин и Дженет должны будут, конечно, скорректировать свой каталог. В новой версии будут отражены все модификации, которые появились в человеческой линии около 400 тысяч лет назад после разделения с неандертальцами и до отметки в 50 тысяч лет, когда толпа переселенцев двинулась из Африки, заполонив весь мир. После этого времени вряд ли можно найти изменения, которые имелись бы у *всех* людей, просто потому что люди оказались на разных континентах. Если ориентироваться на имеющиеся данные по неандертальскому геному, общее число модифицированных позиций у людей составляет порядка 100 тысяч.

Эта цифра и есть точный ответ на вопрос “Что делает человека человеком?”, по крайней мере с точки зрения генетики. И если мысленно вернуть обратно все эти 100 тысяч нуклеотидов в их изначальное состояние, то получится как раз общий предок неандертальца и человека современного типа. И в будущем одной из важнейших задач антропологии станет тщательное изучение созданного каталога, с него начнется поиск генетических изменений, предопределивших человеческие разум и поведение.

## Глава 21 Публикуем геном

Научный результат редко бывает окончательным. На самом деле, стоит ученому получить важный результат, часто приложив колоссальные усилия, как немедленно открывается способ улучшить или развить идею. И тем не менее необходимо уметь в какой-то момент остановиться и сказать самому себе: все, здесь мы подводим итоги и публикуем их. Осенью 2009 года я понял, что для нас настал такой момент.

Работа, которую мы собирались написать, обещала стать важной вехой с нескольких точек зрения. Самое главное, что это будет первая публикация генома вымершей формы

человека. Да, группа Эске Виллерслева из Копенгагена весной уже представила геном из волос эскимоса. Но их материалу – волосам – было всего 4000 лет, и сохранялся он в вечной мерзлоте, к тому же в нем обнаружили только 80 процентов человеческой ДНК да 20 – посторонних загрязнений. Заголовок статьи сообщал, что отсеквенирован геном “вымерших палеоэскимосов”, и мне было бы интересно спросить какого-нибудь здравствующего эскимоса, как он относится к утверждению, что он вообще-то вымер.

Неандертальцы же были действительно древней, действительно вымершей, действительно отдельной формой людей, и при этом эволюционно самой близкой современному человеку, в какой бы части света тот ни жил. Еще я считал, что мы заложили методический фундамент для целой области будущих исследований. В отличие от скелетов из вечной мерзлоты, наш костный материал сохранялся в обычной среде. Наши образцы были найдены в типичных, ничем не примечательных условиях, как и многие другие костные остатки человека и животных по всему миру. Я надеялся, что разработанные нами приемы можно будет использовать для реконструкции полных геномов из многих подобных костей. Наверняка самые горячие споры вызовет утверждение о генетическом вкладе неандертальцев в геном современных евразийцев. Но так как мы проверили этот вывод с трех разных концов и каждый раз получали один и тот же результат, я считал вопрос решенным. Будущие исследования должны прояснить, как, где и когда происходило смешение, но мы, по крайней мере, доказали, что оно имело место. Пришло время предъявить миру наши результаты.

Я задумал написать статью так, чтобы она была понятна самому широкому кругу читателей. Ведь нашей работой интересуются не только генетики, но и археологи, и палеонтологи, и масса других людей. По поводу этой публикации на меня давили со всех сторон. Редактор *Science* звонил с вопросами о сроках подачи статьи, журналисты осаждали и меня, и членов моей команды, спрашивая, когда же мы опубликуемся. Если мне приходилось делать доклад на какую-нибудь узкоспециальную тему, я чувствовал себя все более неуютно: все в зале понимали, что про геном у меня есть что сказать и поинтереснее методических тонкостей. Несмотря на давление, я понимал, что главные открытия необходимо держать в секрете до самой публикации. Меня беспокоило, что один из пятидесяти – или около того – посвященных проговорится журналистам, что мы обнаружили свидетельство неандертальского генетического наследия. А если кто-то проговорится, то новость в мгновение ока станет достоянием печати.

Еще я постоянно тревожился, вдруг кто-то опубликует похожие результаты раньше нас. Понятно, что основным источником тревоги был конкретный человек – наш бывший коллега, а теперь соперник Эдди Рубин из Беркли. Мы знали, что у него есть доступ к костям и необходимым для исследований ресурсам. Я думал обо всех невероятных усилиях, затраченных каждым из участников проекта за прошедшие четыре года, и пытался вообразить, каково это: проснуться и увидеть заголовки в утренней газете о “неандертальских генах у современных людей” – сенсацию, построенную на информации в десятки раз беднее нашей, да еще обработанной в спешке, кое-как... Я человек эмоционально устойчивый, но эти мысли не оставляли меня, не давали покоя.

Во время еженедельных телефонных переговоров я уже не мог скрыть своей тревоги. Я уже надоел всем, повторяя, что ни при каких условиях, как бы ни настаивали журналисты, никому, ни о чем, ни единого слова... И то, что ни один член консорциума не проговорился, есть неопровержимое свидетельство общей преданности делу. Кроме того, я требовал от каждого описания проделанной работы. Эта задача была уже потруднее.

Некоторые ученые настолько движимы научным любопытством, что, когда решение загадки найдено, они теряют исследовательский азарт и совершенно не желают включаться в кропотливый процесс написания и публикации научных выводов. Это, конечно, неправильная позиция. Ведь не только общественность, которая по большому счету оплачивает научную работу, имеет право узнать о результатах, но и другим ученым необходимы подробности процесса и методик исследования. Иначе нельзя потом

усовершенствовать процесс и двинуться дальше. Именно поэтому, когда какого-то ученого продвигают или предлагают новую должность, то смотрят не на количество начатых увлекательных проектов, а на то, сколько проектов ученый закончил и опубликовал.

Некоторые члены консорциума очень быстро представили свои тексты, некоторым понадобилось больше времени, и представили они черновые наброски, а некоторые совсем ничего не написали. Я никак не мог придумать, как же заставить своих коллег все-таки сесть и все зафиксировать как следует, и тут мне пришла идея: сыграю-ка на честолюбии.

Ученому, как и любому человеку, хочется, чтобы его успех оценили по достоинству. Они очень чувствительны к тому, сколько раз их работу процитировали в других публикациях и как часто их приглашают читать лекции. Определить количественно, в процентном отношении, личный вклад каждого в наш проект представлялось чрезвычайно трудным.

Несколько групп и больше пятидесяти исследователей участвовали в проекте, и их имена появятся в списке авторов будущей статьи; каждый из них проделал сложную работу, требующую порой остроумной изобретательности, так что невозможно сказать, кто заслужил больше, кто меньше. Все беззаветно трудились во имя общего дела, но я считал, что необходимо отметить и личный вклад каждого отдельного участника. Я только не знал, как это сделать, так сказать, технически и одновременно подтолкнуть людей написать отчеты хорошо и побыстрее.

Объемные научные труды – и наш в том числе – обычно публикуют определенным образом: большинство результатов попадает в так называемый сопроводительный материал, приложение, которое не печатают в бумажном издании, а публикуют в электронном виде на сайте журнала. Приложение в результате представляет собой огромный массив информации по узкоспециальным темам, интересным только профессионалам. Обычно авторами подобных приложений значатся те же люди, и перечислены они в том же порядке, что и в печатном издании. Я решил это изменить. Я предложил, чтобы у каждой части приложения был свой автор или авторы. А из них назначим ответственного, к кому будут отсылаться вопросы читателей. При такой системе сразу станет понятно, где чей эксперимент и где чей анализ или модель. К тому же теперь каждый сам отвечает за качество своего раздела, так что вся слава – или все упреки – достанутся каждому лично, по крайней мере отчасти. Чтобы дополнительно повысить качество материала, одному специально назначенному члену консорциума, не вовлеченному в эту конкретную область проекта, надлежало внимательно вычитывать тексты и искать недочеты и шероховатости изложения. Все это очень помогло. Люди действительно представили свои части приложения; оно разрослось до 19 разделов на 174 страницах. Я должен был отредактировать весь этот материал и написать заглавную статью, которая и будет напечатана в бумажной версии журнала. На этом этапе мне очень помог неутомимый Дэвид Рейх. Письма с изменениями и исправлениями основного текста летали туда-сюда по электронной почте, но в конце концов, в начале февраля 2010 года, Эд Грин отправил весь наш труд в *Science*.

В первых числах марта мы получили комментарии от первых трех рецензентов, а почти три недели спустя пришла четвертая рецензия. Вообще-то рецензенты на этом этапе публикации нередко делают замечания и находят упущения. Но не в нашем случае: два года непрерывных поисков просчетов и недоделок в работе друг друга не прошли даром; все слабые места исследования мы уже сами определили и исправили. Тем не менее у редактора нашлось множество вопросов по поводу собственно текста, и несколько раз текст возвращался для поправок. Но вот наконец 7 мая 2010 года наш труд вкуче со 174 страницами приложений вышел в свет[63]. Это была “скорее книга, чем статья”, как заметил один палеонтолог.

В тот день, когда статья вышла в печать, две основные организации, предоставляющие обществу доступ к данным по геномным последовательностям, открыли информацию по неандертальскому геному для широкого доступа. Это были Европейский институт биоинформатики в Кембридже, в Англии, и американский ресурс *Genome Browser*,

который поддерживается Калифорнийским университетом в Санта-Крузе. Кроме того, мы отослали в базы данных открытого доступа все фрагменты ДНК, секвенированные из костей неандертальцев, включая и те, которые мы сами относили к бактериальным. Мне хотелось, чтобы у каждого появилась возможность проверить все без исключения наши шаги. И чтобы каждый, кто может сделать что-то лучше нас, имел для этого возможность.

С публикацией началась ожидаемая шумиха в печати. Но к тому времени журналисты так доконали меня, что общаться с прессой я предоставил Эду, Дэвиду, Йоханнесу и всем остальным членам команды. Мало того, в тот день, когда статья должна была появиться в печати, мне предстояло читать большую лекцию в Университете Вандербильта в Нэшвилле, в штате Теннесси. Эта давно запланированная поездка послужила удобным предложением избежать натиска прессы. Но все-таки ажиотаж повлиял даже на доброжелательных организаторов лекции в далеком Нэшвилле. Они всерьез забеспокоились о моей безопасности, когда кто-то странный позвонил в отель и стал разыскивать меня по телефону. Они подумали, что мне могут угрожать христианские фундаменталисты, выступающие против эволюционных представлений о происхождении человека, и вынудили полицию отследить звонок. Звонок был сделан из кампуса; почему-то это встревожило организаторов еще сильнее, и они приставили ко мне двух полицейских в штатском, чтобы те сопровождали меня повсюду. Так у меня впервые появилась охрана во время лекций. Я, конечно, был благодарен за заботу, вдобавок было интересно почувствовать себя такой важной персоной. Но представьте, как неловко мне пришлось после лекции, когда ко мне подходят люди поговорить, а тут эти двое – здоровые молодцы в темных костюмах, с рациями, подозрительно так разглядывают всех, кто ко мне приближается.

Так получилось, что статья вышла за неделю до генетической конференции в Колд-Спринг-Харбор 2010 года. Поэтому прямо из Нэшвилла я отправился на Лонг-Айленд. Я испытал огромное удовлетворение, делая доклад о наших достижениях в том самом зале, где четыре года назад объявлял о намерении открыть проект. Я закончил доклад, выразив надежду, что в будущем неандертальский геном окажется полезным для многих исследовательских проектов. Так уж случилось, что это самое будущее началось через пять минут после доклада.

Сразу после меня выступал Кори Маклин, дипломник Стэнфордского университета. У меня пронеслось в голове, что ему не позавидуешь: нелегко выступать после сенсационного доклада. Но о снисходительности, как я быстро понял, не могло быть и речи. Кори сделал великолепный доклад. Он проанализировал геномы людей и обезьян и выявил 583 длинных отрезка ДНК, присутствующих у обезьян, но утерянных у человека. Затем он определил, какие гены располагались на тех потерянных участках – и некоторые оказались весьма примечательны. Так, один из них кодировал белок, который экспрессировался в особых шипообразных выростах на пенисе самцов обезьян, а эти выросты обеспечивают быструю эякуляцию. У человека таких выростов нет, что позволяет нам получать удовольствие от длительного соития. Причиной тому как раз и может быть потеря гена, которую заметил Кори. Еще один утерянный отрезок ДНК кодирует белок, ограничивающий клеточное деление, то есть так или иначе связанный с ростом мозга у людей. Вот так удивительные открытия! Но больше грело мое сердце другое – с публикации неандертальского генома прошло всего несколько дней, а Кори уже проверил, какие из потерянных участков есть у неандертальцев, а каких нет. Именно так я и представлял себе использование нашей работы: она раздвинет временные рамки эволюционных событий в человеческой линии, ученые смогут понять, в какой момент происходили те или иные генетические изменения. Кори обнаружил, что у неандертальцев тоже отсутствовал ген, отвечающий за образование выростов на пенисе. Так что мы немедленно получили новую информацию об интимной анатомии неандертальцев, которую никак бы не смогли получить, ведь в ископаемом материале таких подробностей не увидишь. Тот ген, что участвовал в регуляции размера мозга, был утерян также и у неандертальцев. Этот результат можно было предугадать, так как, судя по ископаемым неандертальским черепам, их мозг по размеру не уступал нашему.

Другие утерянные отрезки ДНК, до которых у Кори еще руки не дошли, у неандертальцев присутствовали.

По-хорошему нужно бы исследовать, действительно ли они отсутствуют у *всех* современных людей, и если это так, то в какой степени эти участки определяют отличия неандертальцев и людей.

Я не смог поймать Кори после заседаний, слишком много народу хотело поговорить и с ним, и со мной, но на следующий день специально разыскал его. Мне очень хотелось сказать ему, как важно для меня его исследование. Меня переполняли эмоции, я чуть не обнимал его. Насколько мне известно, Кори первым запустил наш геном в работу.

Из всех моих публикаций неандертальский геном вызвал самую сильную реакцию в научной среде. Положительно отзывались почти все. Лучшее из отзывов о работе говорил Джон Хоукс из Висконсинского университета в Мэдисоне. Будучи палеонтологом и учеником Милфорда Уолпоффа, Джон стоял у истоков гипотезы о мультирегиональном происхождении человека. Он приобрел известное влияние в антропологических кругах благодаря своей интернет-странице, где вдумчиво и творчески обсуждал новые публикации и идеи в антропологии. “Эта группа ученых, – писал он в блоге, – сделала царский подарок человечеству. Неандертальский геном позволяет посмотреть на самих себя со стороны. Теперь мы видим – и, что важно, понимаем – ключевые генетические изменения, сделавшие из нас людей, то есть то, что способствовало становлению и глобальному распространению нашего вида... Именно в этом и состоит сущность антропологии”. Мы, конечно, страшно радовались. Только Эд старался не поддаваться горячке похвал, он послал консорциуму имейл со словами: “Кто-нибудь, дайте Джону Хоуксу кислородную подушку! Пусть вдохнет наконец”.

Я отметил только один по-настоящему отрицательный отзыв. Написал его Эрик Тринкаус. Я знал, что он резко отрицательно относится к участию генетиков в антропологических исследованиях. Ему представлялось, что генетика не может дать антропологии ничего существенного. Поэтому я отправил ему наш труд заранее, за несколько дней до публикации, чтобы у него была возможность подготовиться к вопросам журналистов, которые, безусловно, станут спрашивать его мнение. Я надеялся, что статья убедит его, что мы сделали настоящую, хорошую работу, и мы даже обменялись парой писем, где я пытался разъяснить те места в тексте, которые, как мне казалось, он неправильно понял. Я очень старался достучаться до Эрика и потому ужасно расстроился, когда одна журналистка из Парижа спросила, как я отношусь к объемному комментарию, который Эрик прислал в их издание. Она процитировала его так: “Если вкратце, то из ископаемых остатков мы имеем множество анатомических доказательств генетического потока между неандертальцами и ранними формами человека, и, скорее всего, генетический обмен явился результатом ассимиляции неандертальцев популяциями ранних людей современного типа, а произошло это примерно 40 тысяч лет назад. Другими словами, появившаяся информация по ДНК не внесла почти ничего нового в дискуссию о происхождении человека... Большинство авторов статьи просто не знакомы с современной литературой по данному вопросу, не понимают ископаемого материала, равно как и современного человеческого разнообразия и поведенческого / археологического контекста эволюционных модификаций у человека. В целом эта работа является результатом дорогостоящего, технологически громоздкого анализа, который если и продвинул общее понимание происхождения человека и неандертальцев, то очень незначительно – а в некоторых аспектах даже заставил сделать шаг назад”.

Неужели Эрик и вправду считал, что наше знание уменьшилось после составления неандертальского генома?! Я был потрясен. Мой ответ прозвучал так: “Печально, что доктор Тринкаус так низко оценивает наш вклад в копилку знаний о неандертальцах”. Но несмотря на его отзыв, я был уверен, что генетика и палеонтология прекрасно дополняют друг друга и что все остальные это понимают.

Геном заинтересовал очень многих, и, что самое удивительное, к нему проявили

интерес американские христиане-фундаменталисты. Спустя несколько месяцев после выхода статьи мне довелось встретиться с Николасом Матцке из докторантуры Центра теоретической эволюционной геномики Калифорнийского университета в Беркли.

Оказывается, наш труд вызвал бурные дискуссии в среде креационистов. Ник объяснил, что креационисты делятся на две категории. Первая – так называемые младоземельные креационисты, они верят, что небо, земную твердь и всю жизнь на ней сотворил сам Господь где-то от 10 тысяч до 5700 лет назад. Они склонны считать неандертальцев “полноценными людьми” и иногда упоминают их в качестве другой, ныне вымершей “расы”, которая рассеялась по свету после падения Вавилонской башни. Как следствие, младоземельные креационисты совершенно не возражали против идеи смешения людей и неандертальцев. Однако существуют еще и староземельные креационисты, они признают древний возраст Земли, но отвергают возможность естественной, то есть небожественной эволюции. Одну из главных ветвей староземельных креационистов, “Обоснование веры”, возглавляет Хью Росс. Он верит, что человек современного типа – это отдельный “проект” создания, имевший место 50 тысяч лет назад, и что неандертальцы относятся не к людям, а к животным. Росс и его адепты приняли в штыки заключение о скрещивании неандертальцев и людей. Ник послал мне расшифровку радиопередачи, в которой Росс комментировал нашу работу. Он сказал, что скрещивание можно было предвидеть, “так как Бытие есть история об особо нечестивом поведении людей” и Богу, видимо, пришлось “намеренно рассеять людей по миру”, чтобы прекратить сношения такого рода, сравнимые разве что с “животной разнужданностью”.

Да, мы даже не представляли, что наша работа затронет такой большой круг читателей. При этом никого особенно не шокировала мысль, что его далекие предки вступали в связь с неандертальцами. Наоборот, многие находили это любопытным – некоторые даже добровольно предлагали себя для исследования на предмет неандертальского наследия. В начале сентября я заметил одну закономерность: писали в основном мужчины. Я проверил все прошлые письма и насчитал сорок семь человек, подозревавших в себе неандертальские черты, и что же – сорок шесть оказались мужчинами! Я рассказал об этом студентам, и они предположили, что, возможно, мужчины просто больше интересуются геномикой, чем женщины. Но это не могло быть правдой, ведь мне написали и женщины, двенадцать человек, только не потому, что они считали себя неандертальцами, нет, а потому, что считали неандертальцами своих супругов! Знаменательно, что ни один мужчина не написал, что подозревает неандерталку в своей жене (правда, с тех пор один все-таки написал). Среди нас ходили шутки на тему “налицо интереснейшие наследственные генетические закономерности, которые необходимо исследовать”. Но на самом деле мы наблюдали проявление культурных стереотипов по поводу внешности и поведения неандертальцев. По бытующим представлениям, неандерталец должен быть большим, мощным, мускулистым, грубым и, скажем так, недалеким. И если мужчине такой образ до некоторой степени подходит и где-то даже льстит, то женщину он уж точно никак не украсит. Эта мысль осенила меня, когда *Playboy* попросил рассказать о нашей работе в интервью. Я согласился, рассудив, что вряд ли мне когда-либо еще выпадет шанс появиться на страницах *Playboy*. В результате в журнале опубликовали статью на четырех страницах, озаглавленную: “Неандертальские страсти: ляжете в постель с этой женщиной?” К статье прилагалась картинка с грубой, очень грязной женщиной с копьём наперевес на вершине заснеженной горы. Ну что же, столь непривлекательный образ прекрасно объяснял, почему ни один мужчина не сознался, что женат на неандерталке.

Еще один вопрос оказался в центре обсуждений: что дает неафриканцам присутствие некоторых неандертальских генов? Повторю, что неандертальцы с очевидностью пользовались дурной репутацией. *Jeune Afrique*, новостной еженедельник, специализирующийся на культурных и политических новостях франкофонной Африки, задал тон, закончив историю словами: “Но одно... очевидно: зная об обезьяноподобной внешности неандертальцев, те, кто до сих пор верит в отсталость “черной” Африки, ничего не

понимают”.

В целом реакция людей отвечала скорее укоренившимся у них представлениям о мире, чем действительным событиям 30–40-тысячелетней давности. Например, многие интересовались, какие преимущества дают неандертальские гены неафриканскому населению. И хотя вопрос можно рассматривать как вполне осмысленный, меня он все равно заставлял насторожиться. В такой его постановке некоторым образом читалось, что в унаследованных фрагментах должно быть что-то положительное, так как их обладателями оказались европейцы и азиаты, нередко заявлявшие о своем превосходстве над другими народами. В данном случае для меня отправным утверждением, или нулевой гипотезой (нуль-гипотеза – эта та, с которой начинается любое научное исследование), является отсутствие каких бы то ни было функциональных следствий у генетических изменений. Случается, что некоторые пытаются это опровергнуть – например, как в нашем случае, с помощью исследований распределения генетического разнообразия. До сих пор нам не попалось ни намек на модификации, ведущие к изменению функций, так что на вопрос читателей я всегда отвечал одинаково: у нас нет причин отвергать нулевую гипотезу. Возможно, вся открытая нами генетическая картина – это просто далекие следы естественных межгрупповых смешений. Но с этим нам предстоит еще разобраться. К примеру, в течение года после публикации генома на эту тему были сделаны кое-какие открытия.

Питер Парэм является ведущим мировым специалистом по главному комплексу гистосовместимости (ГКГС). Это, наверное, самая сложная генетическая система человеческого генома, именно по ней я когда-то давно защищал диссертацию в Упсале.

ГКГС кодирует трансплантационные антигены, то есть те белки, которые присутствуют почти во всех клетках тела. В их обязанности входит связываться с фрагментами вирусных и микробных белков, инфицирующих клетку, и переносить их к поверхности клетки, где их распознают клетки иммунной системы. Обнаружив чужеродный белок, иммунные клетки уничтожают инфицированную клетку и, таким образом, ограничивают распространение инфекции по организму. Но ГКГС открыли вовсе не в ходе изучения нормального процесса борьбы с инфекцией, а когда увидели бурный ответ организма на трансплантацию тканей, кожи, почек, сердца и т. д. Столь агрессивное отторжение трансплантированных тканей (отсюда и само название “комплекс гистосовместимости”) происходит в силу того, что белки трансплантационных антигенов очень разнообразны, они кодируются десятками и сотнями различных вариантов генов ГКГС. Таким образом, если человеку пересаживают орган не от родственника, то в донорском органе неизбежно будут другие варианты трансплантационных антигенов, и в результате иммунная система воспримет пересаженную ткань как чужеродную и начнет с ней бороться. Чтобы купировать иммунную реакцию, человеку всю жизнь приходится принимать иммунодепрессанты, даже если донором был родственник, то есть генетически близкий пациенту вариант. И напротив, если донором выступает однояйцовый близнец, то пересадка происходит без всяких осложнений со стороны иммунной системы, так как у донора и реципиента одинаковые гены ГКГС и, соответственно, трансплантационные антигены. Мы в точности не знаем, почему белки ГКГС столь variabelны, но, возможно, высокое число вариантов позволяет иммунной системе эффективнее распознавать зараженные и здоровые клетки.

Питер Парэм взял в разработку те фрагменты неандертальской ДНК, которые по расположению в геноме соответствовали генам ГКГС. Эд Грин много способствовал этой работе (а он к тому времени перебрался в Калифорнийский университет в Санта-Крузе на должность профессора); он помог определить в неандертальском геноме некоторые участки ГКГС, которые мы пропустили из-за высокой variability этой генетической системы. Через год после выхода нашей статьи на очередной конференции они сделали доклад об одном из генов ГКГС: он был обнаружен у европейцев и азиатов, а также у неандертальцев. Но его не нашли у африканцев! Как было показано, неандертальцы передали европейцам примерно половину всех вариантов этого гена, а китайцам – около 72 процентов. Если

принять во внимание, что неандертальское наследие составляет не больше 6 процентов современного генома, такое невероятное разрастание разнообразия именно в этом одном участке свидетельствует о какой-то важной его роли, о том, что этот конкретный ген как-то помог переселенцам выжить. Питер предположил, что неандертальцы, прожив на евразийских территориях больше 200 тысяч лет, выработали в генах ГКГС какие-то адаптации к местным болезням, отсутствовавшим в Африке. Так что новопоселенцы, смешавшись с неандертальцами, приобрели эти адаптации в готовом виде.

И соответственно, устойчивость к некоторым болезням давала носителю адаптивное преимущество, что, в свою очередь, обеспечило быстрое распространение и высокую частоту этого гена. В августе 2011 года Питер и его группа опубликовали работу с описанием своих открытий[64].

Третьего декабря 2010 года, через семь месяцев после публикации, мне прислала имейл Лора Зан, редактор журнала *Science*, отвечавшая за нашу статью. Она писала, что наша работа получила премию AAAS[65]. Меня не раз награждали за научные достижения, чем весьма подкрепляли мою веру в свои силы. Но эта премия имела особое значение. Она была основана в 1923 году как ежегодная награда за лучший научный труд, опубликованный в *Science*. Сначала премию называли *\$1000 Prize*, хотя впоследствии сумма была увеличена до 25 тысяч долларов. Я больше всего радовался потому, что награждались все авторы статьи, то есть отмечалось коллективное достижение всего нашего консорциума. Как сказала мне тогда Линда: “Статья в *Science* – это уже достижение. Но лучшая статья в *Science*? Об этом и мечтать не всякий может”.

Я поговорил с Дэвидом и Эдом, основными соавторами статьи, и мы решили ехать в Вашингтон за премией вместе. Награждение на собрании AAAS должно было состояться в феврале 2011 года. А призовые деньги мы потратим на организацию встречи консорциума осенью 2011-го в Хорватии. Там мы планировали наметить будущие направления исследования неандертальского генома. Я предполагал, что собрание будет столь же насыщенным, как и предыдущее в 2009 году в Дубровнике. На самом деле к тому времени, как я получил письмо от Лоры, мы уже знали, что на повестке дня у нас не только неандерталец. Мы держали в руках геном еще одной вымершей формы людей, из другой части света.

## Глава 22

### Очень странный палец

В декабре 2009 года я поехал в Колд-Спринг-Харбор на конференцию, посвященную геному крысы. Там мне предстояло делать доклад по одному из проектов, который несколько лет велся в моей лаборатории, – по искусственной доместикации крыс. И вот иду я после завтрака из столовой в конференц-зал, и тут у меня звонит телефон. Йоханнес Краузе из Лейпцига, и голос у него какой-то необычно возбужденный. Я спрашиваю, что случилось. А он в ответ: “Вы там стоите или сидите?” – “Стою, а что?” – “Тогда вам лучше сесть”. Сажусь и сразу начинаю волноваться, вдруг что-то ужасное произошло.

Он спрашивает, помню ли я ту малюсенькую косточку, которую нам передал Анатолий Деревянко из России (рис. 22.1). Анатолий – научный руководитель Института археологии и этнографии Сибирского отделения Российской академии наук и один из ведущих российских археологов. Он начал работать в середине 1960-х и стал не только видным ученым в российском академическом мире, но и влиятельной политической фигурой. За те несколько лет, что мы работали вместе, я проникался к нему все большим уважением и симпатией. Всегда вежливый и открытый для сотрудничества, он располагает к себе необыкновенно теплой улыбкой. К тому же он весьма опытный полевик и физически активный, выносливый человек. В Новосибирске все знают, что он плавает на километровые дистанции по водохранилищу недалеко от института. И хотя внешне он совсем не похож на Ростислава Гольтгоера, моего приятеля-египтолога, имеющего русские корни, но их объединяет

замечательное качество – преданность друзьям, вообще, как мне кажется, свойственная русским. И мне страшно повезло, что довелось с ним сотрудничать.

Несколькими годами ранее Анатолий привез к нам в лабораторию несколько крошечных косточек в пластиковых мешочках. Их нашли при раскопках в пещере Окладникова на Алтае в Южной Сибири, там, где граничат Россия, Казахстан, Монголия и Китай. Эти косточки были такие маленькие и фрагментарные, что по ним невозможно было определить, кому они принадлежали, но мы из них выделили ДНК и нашли признаки неандертальских митохондриальных генов. Вместе с Анатолием мы опубликовали в 2007-м статью в *Nature* [66] и там определили новый ареал неандертальцев, сдвинув его против прежних принятых границ на 2000 километров восточнее. До того никаких следов неандертальцев к востоку от Узбекистана не находили.

*Рис. 22.1. Анатолий Деревянко с коллегами. Фото: Бенсе Виола, MPI-EVA*

Весной 2009 года мы получили еще один костный фрагмент от Анатолия. Он был обнаружен его группой во время прошлогодней экспедиции в Денисову пещеру, тоже на Алтае, в долине между сибирскими степями и границами Китая и Монголии. Фрагмент был совсем ничтожный, и я отложил его до лучших времен, когда появится окно в работе и можно будет посмотреть, есть ли там ДНК, хоть какая-нибудь. А вдруг она окажется неандертальской? Тогда добавится информация о вариациях мтДНК на восточных окраинах ареала.

*Рис. 22.2. Кусочек кости последней фаланги мизинца, найденной Анатолием Деревянко и Михаилом Шуньковым в 2008 году в Денисовой пещере. Фото: MPI-EVA*

И вот у Йоханнеса появилось немножко времени, и он приготовил вытяжки из этой косточки. А потом Цяомэй Фу, талантливая китайская студентка-дипломница, сделала библиотеки по методу Эдриана Бриггса; этот метод позволял отсортировать фрагменты мтДНК из библиотек. И нашлось в этих библиотеках весьма внушительное количество мтДНК – в общей сложности 30 443 фрагмента, из которых собрался полный митохондриальный геном, причем с высокой глубиной покрытия. Каждая позиция была прочитана в среднем 156 раз, что неожиданно для столь старой кости. Все это радовало, но Йоханнес велел мне сесть не из-за этого. А из-за того, что посмотрел на результаты сравнения получившегося мт-генома с полными мт-геномами шести неандертальцев, которые у нас к тому времени были, и с мт-геномами современных людей из разных частей света. И если неандертальцы отличались от людей по 202 нуклеотидным позициям, то денисовский представитель – по 385 позициям, то есть почти в два раза больше! На кладограмме, отражающей уровень сходства и различия, линия денисовского человека отделилась от общего человеческого ствола гораздо раньше, чем разошлись линии неандертальцев и людей. Откалибровав скорость накопления мутаций по двум точкам – времени разделения людей и шимпанзе примерно 6 млн лет назад и времени разделения людей современного типа и неандертальцев около полумиллиона лет назад, как мы прежде подсчитали, – Йоханнес получил ориентировочное время отделения ветви денисовцев: около миллиона лет назад! Я с трудом верил тому, что Йоханнес мне сообщил.

Эта косточка не принадлежала ни неандертальцу, ни человеку современного типа. А кому-то совсем, совсем другому!

У меня кружилась голова. Что это за вымершая группа людей, которая отделилась от общего ствола миллион лет назад? Эректусы? Но самые древние остатки *Homo erectus* за пределами Африки найдены в Грузии и имеют возраст 1,9 млн лет, а это значит, что эректусы вышли из Африки, очевидно отмежевавшись от остальной человеческой линии не

позже 2 млн лет назад. Гейдельбергский человек? Но *Homo heidelbergensis* считается прямым предком неандертальцев, так что его эволюция предположительно началась при разделении человеческой и неандертальской ветвей. А может, эта косточка от кого-то еще неизвестного науке? От какой-то вымершей неизвестной формы людей? Я попросил Йоханнеса рассказать о косточке все, что ему известно.

Косточка и вправду совсем махонькая, размером как две рисинки. Это кусочек последней фаланги мизинчика (см. рис. 22.2), скорее всего, незрелой особи. Йоханнес высверлил из него зубным буром 30 мг материала, потом из этого порошка экстрагировал ДНК, а полученный экстракт отдал Цюмэй Фу для синтеза библиотек. Судя по количеству мтДНК, которое они с Цюмэй Фу получили из этой навески, сохранность ДНК в образце была превосходной. Нам следовало встретиться и решить, что делать дальше. Но только через три дня, когда я вернусь в Лейпциг.

Разговор закончился. Но я так и не смог сосредоточиться на крысиных линиях, в которых геномы так или иначе отличаются друг от друга. Было по-зимнему солнечно, сухо, и я пошел гулять вдоль берега в окрестностях Колд-Спринг-Харбор, брел и думал о юном человеке, умершем где-то далеко-далеко в сибирской пещере тысячи лет назад. И все, что от него осталось, – это крохотный осколок косточки, но – надо же! – этого хватило, чтобы дать нам понять, что существовали люди, нам еще неизвестные, и что они ушли из Африки вслед за эректусами, но раньше неандертальцев. И что это были за люди? Можем ли мы это разгадать?

Вернувшись в Лейпциг, я сразу устроил совещание с Йоханнесом и остальными, чтобы решить, как поступить дальше. Работа по неандертальскому геному была близка к завершению, так что у людей освободилось немного времени – можно было его использовать в этом интригующем направлении. Но сначала нужно было понять, нет ли ошибки с этой мтДНК в реконструкциях Йоханнеса. Цюмэй и Йоханнес получили тысячи фрагментов мтДНК, из них меньше процента несли нуклеотидные замены, которые можно было бы посчитать загрязнениями. Так как эта мтДНК оказалась совсем не похожей на человеческую, то загрязнения легко вычленились из общего массива. Еще раньше я решал вопрос, как быть с теми участками мтДНК, которые некогда, тысячи или миллионы лет назад, встроились в ядерный геном, стали частью хромосом. Такие фрагменты, своего рода ископаемые мтДНК, можно легко принять за части реальной последовательности мтДНК.

Но к счастью, у этой проблемы имелось решение: кольцевая форма митохондриальной молекулы ДНК. Та последовательность, которую реконструировал Йоханнес из перекрывающихся фрагментов, явственно замыкалась в кольцо. Так что, с моей точки зрения, никакой ошибки тут не было. Тем не менее Йоханнес и Цюмэй снова сделали экстракты из оставшегося костного порошка, снова получили библиотеки и снова провели картирование фрагментов. Просто для очистки совести. Я-то был уверен, что результат останется прежним.

Но что же это за форма людей? Если бы у нас имелись еще образцы из той пещеры, мы бы попытались ответить. Как мне объяснили, Анатолий Деревянко дал нам только кусочек косточки, наверное, в Новосибирске осталась большая ее часть. А возможно, были еще и другие кости: вдруг по ним можно заключить что-нибудь осмысленное о строении этих загадочных людей или получить дополнительные ДНК.

Я немедленно написал Анатолию, что мы обнаружили нечто совершенно неожиданное и что нам нужно встретиться и обсудить все лично. И как можно скорее. И еще что хотелось бы проанализировать оставшуюся часть кости – и хорошо бы датировать ее. Анатолий ответил на следующий день, попросив описать результаты поподробнее. Я в общих чертах суммировал их, и мы быстро организовали поездку в Новосибирск для меня, Йоханнеса и Бенсе Виолы, жизнерадостного археолога венгерского происхождения. Он специализировался на палеонтологии Центральной Азии и Сибири, и мы с ним не раз работали вместе. Я как раз переманил его к нам в Лейпциг из Вены, в отделение палеонтологии. Еще к нам присоединился Виктор Вибе. Он писал диссертацию в

Новосибирске в восьмидесятых, знал Анатолия и нескольких коллег из его группы, а со мной работал уже 12 лет. В этой поездке его помощь как переводчика обещала быть неоценимой. Я-то учил русский язык 35 лет назад, во время военных сборов в Швеции, но к тому времени у меня в голове осталось только несколько простейших вопросов, которые задаются военнопленным. И они, понятное дело, не годились для научных бесед.

Семнадцатого января, после пересадки в Москве и долгого ночного перелета, мы приземлились в Новосибирске. Цифровое табло в зале прилета показывало 6:35 утра. А потом переключилось на температуру:  $-41$  оС. Получив багаж, я открыл чемодан и надел на себя все, что у меня было. Воздух оказался сухим, и снег поднимался вокруг ботинок водоворотами блестящей мелкой пыли. Сделав вдох, я почувствовал, как крылья носа примерзают к перегородке.

До Академгородка мы ехали около часа. Академгородок, как явствует из названия, был построен в 1950-х годах Академией наук СССР специально для научных целей. Во времена расцвета здесь проживало более 65 тысяч ученых с семьями. Но после развала Советского Союза многие уехали из Академгородка, и большинство научных институтов закрылись. С начала 2000 года российское правительство и несколько крупных компаний начали вкладывать деньги в развитие города, так что теперь, к 2010 году, здесь чувствуется некоторое оживление и осторожный оптимизм.

Нас привезли в гостиницу “Золотая долина”, с виду казавшуюся мне обычной советской девятиэтажкой. Я там уже однажды останавливался, и тогда, помню, отключили горячую воду; я живо вспоминаю, как каждое утро добрых полчаса шел через березовую рощицу к Обскому морю поплавать. Но то было летом, а теперь, в мороз, нельзя сказать чтобы меня не волновала исправная работа отопления. Напрасно я тревожился: когда мы с Йоханнесом вошли в номер, то обнаружили не только горячую воду в кранах, но и здорово работающие батареи. Так здорово, что температура в комнате оказалась невыносимой:

$+40$  оС. На батареях не было никаких регуляторов, и мы в конце концов просто открыли окно. В комнату ворвался воздух на  $80$  ниже. Так мы и держали окно открытым до конца нашего пребывания.

Мы приехали в воскресенье, встреча с Анатолием была запланирована только на следующий день, поэтому после небольшого отдыха мы вчетвером решили прогуляться.

На улице мы, к своему восторгу, увидели открытый ларек с мороженым. Осознав, что мне никогда в жизни больше не представится случай поесть мороженое при  $-35$ о, я пошел к ларьку. Продавщица, признав во мне иностранца, посоветовала съесть мороженое как можно быстрее, потому что на улице оно мигом охладится до окружающей температуры, превратится в ледяной камень и есть его будет невозможно. И я его быстро съел. Потом мы пошли к Обскому морю, где я плавал теплыми летними днями два года назад. Там было пусто, кроме нас никого. На чистом небе светило бледное солнце, не посылая ни капли тепла. К счастью, было безветренно. Потому что малейшее дуновение проникало сквозь одежду ледяным прикосновением. Пальцы в ботинках вскоре отмерзли и онемели. И мы вернулись в жаркий гостиничный номер.

На следующий день мы встретились с Анатолием в его просторном директорском кабинете в Институте археологии и этнографии. Там же присутствовал и Михаил Шуньков, руководивший раскопками в Денисовой пещере, и несколько его сотрудников. Йоханнес доложил о результатах, которые они с Цяомэй получили, и все просто оторопели. Неужели новая форма людей? Неужели это местная сибирская или даже исключительно алтайская форма? Такое вполне возможно, так как известны виды растений и животных, которые встречаются только на Алтае. За обедом, накрытым у Анатолия в кабинете – вкуснейшая нарезка под водку, – мы горячо обсуждали результаты и что бы они могли значить. А когда обстановка за столом дошла до известного уровня расслабленности и одновременно возбуждения, я вбросил идею, что определенный ответ может дать ядерный геном. Если бы взять образцы из оставшейся части кости пальца, то мы бы смогли реконструировать и ядерные гены и, таким образом, получить более полную картину связи этого индивида с

современными людьми и неандертальцами, чьи геномы мы секвенировали. Сначала я не разобрал, что мне ответил Анатолий, и виной, подозреваю, мой плохой русский и хмельной дурман. Виктор перевел, но я все равно ничего не понимал. Анатолий вроде говорил, мол, отдал оставшуюся часть моему другу еще год назад, а у него ничего не осталось. В недоумении я посмотрел на Виктора, на Бенсе, на Йоханнеса. Какому такому другу? У кого из них кость? Но они так же ошарашенно глядели на меня. Тогда Анатолий пояснил: “Эдди, Эдди Рубину в Беркли”.

Не представляю, как я в тот момент выглядел, и не помню, что говорил. Я знал, что Эдди пытается достать образцы и секвенировать неандертальский геном раньше нас. И вот сейчас мы узнаем, что уже год у него находится кость, изрядный ее кусок, больше нашего, в которой количество сохранившейся ДНК такое, что весь ядерный геном можно секвенировать за несколько недель. И при этом не понадобится прогонять образцы через многочисленные циклы секвенирования. А нам еще несколько недель до подачи нашей неандертальской статьи в *Science*, не говоря уже о выходе статьи в свет. Тут выступили все мои худшие подспудные кошмары: прямо перед нами выходит великолепно выполненная статья из Беркли с описанием генетической последовательности, причем с высоким покрытием, новой вымершей формы людей. И кому тогда будет интересно, какие нам пришлось преодолеть трудности, работая над методикой экстрагирования ДНК, обогащения вытяжек, отделения неандертальской ДНК от широчайшего ассортимента бактериальной? Все эти подробности, конечно, пригодятся в долгосрочной перспективе для работы с костями, не сохранившимися столь безупречно, как эта единственная. Но геном вымершего представителя человеческих родичей Эдди получит первым, просто по счастливой случайности.

Я изо всех сил старался сохранить самообладание, не выдать своих чувств. Но мне только и удалось, что промямлить что-то насчет сотрудничества. Потом мы ушли, договорившись встретиться за ужином в Доме ученых, культурном центре Академгородка. На обратном пути в “Золотую долину” я не чувствовал холода. Йоханнес пытался меня утешить. Он говорил, что мы делаем самую лучшую науку, какая только возможна, и плевать на конкурентов. Конечно, он был прав. Но теперь тем более нельзя медлить. Теперь мы должны изо всех сил поспешить.

За ужином царило дружелюбное веселье, как и всегда бывало у Анатолия. Нас угощали превосходно: лосось, селедка, икра, а за ними несколько вкуснейших основных блюд.

Говорили тосты, как это принято в России: каждый участник ужина вставал, поднимал рюмку водки и предлагал выпить за что-нибудь для всех значимое – за сотрудничество, за мир, за наших учителей, за наших студентов, за женщин, за любовь и т. д. Сначала, когда я приезжал в Россию, мне эта традиция ужасно не нравилась: приходилось в смущении бормотать что-то невнятное на темы, о которых я не собирался распинаться перед кучей жующего народа. Но постепенно я к этому привык, даже оценил по достоинству один аспект. Ведь так каждый может получить хоть ненадолго безраздельное внимание публики, даже социально незначительные фигуры, в иных обстоятельствах лишенные возможности не то что блистать в застольных беседах, но вообще быть услышанными.

К тому же делу помогло то, что я в глубине души очень сентиментален, и алкоголь немало способствует проявлению этого качества. А тосты все как раз о чувствах. Сначала я предложил тост за наше сотрудничество, потом за мир, отметив, между прочим, что я вырос в капиталистической Швеции, где все время ждали новой масштабной войны в Европе, а России в этом сценарии отводилась роль нашего общего врага. Швеция при этом сохраняла официальный нейтралитет, поэтому возможный враг именовался “сверхдержава”. Но, что характерно, в наших военных играх мы говорили с потенциальным противником на русском языке. Эта война, которой все ожидали, не началась. Мы никогда не встречались друг с другом на полях сражений, как враги. А вместо этого сидим по-дружески за столом, работаем, открываем удивительные вещи.

Спасибо алкоголю, я смог собрать все эти слова и сказать речь. Потом говорил

Йоханнес.

Как самый младший из присутствующих, он произнес тост за учителей. От его слов я прямо прослезился, и тогда понял, что уже порядочно набрался. Он сказал, что у него два научных отца: один – это я, открывший ему молекулярную эволюцию и древнюю ДНК, а второй – Анатолий, познакомивший его с археологией в двух экспедициях на Алтай и Узбекистан. Думаю, я так расчувствовался потому, что мы оба говорили чистую правду, которую иначе никогда бы не произнесли вслух.

Мы шли к гостинице по главной улице Академгородка. Было темно и холодно, звезды светили неправдоподобно ярко – в ледяном воздухе влага не удерживается. Но я ничего не замечал. Напряжение минувшего дня заставило меня глотать водку стопку за стопкой, быстрее, чем обычно. Мне кажется, я так не напивался со времен безбородой юности. Мы с Бенсе брели, нетвердо переставляя ноги по заснеженной дорожке, и тут он поведал мне нечто такое, что проникло даже в мои залитые алкоголем мозги. Пока суд да дело, Анатолий выдал Бенсе зуб, найденный в Денисовой пещере девятью годами раньше.

Коренной зуб (рис. 22.3), возможно подростка, но огромный. Бенсе сказал, что он никогда не встречал похожего зуба, ни среди коллекций неандертальских костей, ни у человека современного типа. Он даже заметил, что если бы не знал, где в точности этот зуб нашли, то подумал бы, что он принадлежал какому-то еще более древнему предку человека, может быть, *Homo erectus* из Африки, или *Homo habilis*, или даже *Australopithecus*. Зуб этот был самым удивительным из всех, какие ему приходилось видеть. В опьянении (буквальном и переносном) мы совершенно уверовали, что зуб и фаланга пальца принадлежали одной форме людей и что это создание должно было быть ни на что не похожим. На Алтае бытовали легенды о снежном человеке, называемом алма. По дороге в гостиницу мы кричали во все горло, что отыскивали алму! Мы дурачились вовсю, что, мол, сделаем радиоуглеродный анализ, и зубу окажется всего несколько лет, и что йети так и живут где-то на границе между Россией и Монголией. Я не очень помню, как мы вернулись в гостиницу и как я лег спать в ту ночь.

Утро было тяжелым. Мы с трудом встали, поймали такси в аэропорт. Первые два часа перелета мы почти не разговаривали. Затем до меня постепенно стала доходить безотрадная реальность, приправленная тоской и холодным потом ужасного похмелья. А что, если они там, в Беркли, уже пишут работу по денисовской мтДНК? После Рождества мы начали оформлять результаты в статью, но теперь ее позарез нужно было закончить в кратчайшие сроки.

*Рис 22.3. Денисовский коренной зуб. Фото: Бенсе Виола, MPI-EVA*

Куда отправить эту статью? Редакция журнала *Science* ждет не дожидается рукописи по геному неандертальца. Если прийти к ним с другой темой, они могут списать нас со счетов, решив, что мы и с одним-то проектом не справляемся, не говоря уже о двух. Мы решили попробовать *Nature*. Пока ждали пересадки в московском аэропорту, я написал Генри Джи, редактору, ответственному за публикации по палеонтологии, и Магдалене Скиппер – редактору по геномике. В письме говорилось, что у нас почти готова статья с описанием “находок, которые мы интерпретируем как новые виды гоминин на основании составленной полной последовательности мтДНК; время ее отхождения от общего человеческого ствола в два раза больше, чем возраст неандертальской линии”. Я четко осознавал, что процесс опубликования может тянуться много месяцев. Работу даже могут в конце концов отклонить после всевозможных обсуждений и переписок с редакцией и рецензентами, после чего придется отправлять ее в другой журнал и повторять весь этот длинный, утомительный процесс. Мне очень не хотелось, чтобы так случилось на этот раз, поэтому я сразу выложил, что у нас ситуация прямого соревнования и что рассмотреть вопрос о публикации нужно быстро. Ровно через час и пятнадцать минут я получил ответ от

Генри: “Как интересно! Ничего не могу твердо обещать заранее, но тем не менее, если вы пришлете статью, мы рассмотрим ее в первоочередном порядке”.

По приезде в Лейпциг мы закончили работу и отправили ее в *Nature*. Называлась она “Полный митохондриальный геном неизвестного гоминида из Южной Сибири”. Это уникальная работа. Впервые в истории новая форма вымерших людей была описана на основании только лишь последовательностей ДНК, при полном отсутствии скелетных остатков. Учитывая, что описанная мтДНК так сильно отличалась и от человеческой, и от неандертальской, мы были уверены, что открыли новую форму вымершего человека. Нас так увлекла эта идея, что, посоветовавшись, мы решили описать эту форму как новый вид и даже дали ему название – *Homo altaiensis*.

И все-таки что-то было неправильное в идее нового вида, что-то меня подспудно тревожило. Для меня таксономия, то есть классификация по видам, родам, отрядам и т. д., есть в чистом виде интеллектуальное упражнение, особенно когда речь заходит о вымерших формах людей. Иногда студенты посылают мне свои черновики с использованием латинских линнеевских названий вместо обычных обиходных – например: “Для лучшего понимания закономерностей генетической вариабельности у *Pan troglodytes* мы секвенировали...” Я всегда вычеркиваю латынь и даже иногда вставляю едкие замечания вроде: “На кого вы пытаетесь произвести впечатление своими *Pan troglodytes* вместо шимпанзе?” Есть еще одна причина, по которой я не люблю таксономию: она вызывает споры, не имеющие принципиального решения. К примеру, стоит назвать неандертальца *Homo neanderthalensis* и, таким образом, отнести его к отдельному от *Homo sapiens* виду, как тут же начинают злиться мультирегионалисты. Для них между неандертальцами и современными европейцами имеется непрерывная череда переходов. А в наименовании *Homo sapiens neanderthalensis* подразумевается, что неандертальцы являются подвидом человека, который противопоставляется *Homo sapiens sapiens*. И тогда наверняка недовольными окажутся приверженцы гипотезы “из Африки”.

Я предпочитаю не вмешиваться в эти споры, и хотя мы уже выяснили (но еще не опубликовали), что неандертальцы и люди перемешивались, но “таксономические войны” вокруг неандертальцев не остановятся, так как у таксономистов попросту нет подходящего данному случаю определения вида. Обычно вид определяют как группу организмов, способных скрещиваться друг с другом и производить плодовитое потомство и не способных скрещиваться с организмами другого вида. В этом случае по определению неандертальцы и человек современного типа принадлежат одному виду. Однако данное определение имеет свои ограничения. Например, в природных условиях белые медведи и гризли могут скрещиваться и производить плодовитое потомство (и иногда это делают, если встречаются). При этом они и выглядят по-разному, и поведение у них различается, и приспособлены они к разным условиям. По меньшей мере сомнительно, если не сказать анекдотично, считать их одним и тем же видом. Да, у современных людей имеется 2–4 процента неандертальских генов, но имеет ли смысл на этом основании относить их к одному виду? Мы этого не знаем. И вот я, всегда избегавший именовать неандертальцев по-латыни, уже почти вознамерился ввести новое номенклатурное латинское название.

И действительно, несмотря на подозрительное отношение к непродуктивным таксономическим спорам, у меня были кое-какие основания отступить от своих принципов. Митохондриальная ДНК денисовской особи отличалась от человеческой в два раза больше, чем неандертальская. То есть случай походил скорее на *H. heidelbergensis*, имеющего собственное латинское видовое название. Но вообще-то тут присутствовал и некоторый элемент тщеславия. Мало кому выпадает случай подарить имя новому виду людей (гоминин), так что искушение было велико, тем паче в нашем случае новый вид устанавливался только по генетической информации. И все-таки решающим аргументом стало мнение Генри Джи из *Nature*, поддержанное некоторыми членами нашей группы. Вот примерно так: если мы не возьмем на себя смелость поименовать новый вид, это обязательно сделает кто-нибудь другой, и название может нам не понравиться. Так что,

посоветовавшись с Анатолием и его командой, участвовавшей в раскопках и откопавшей тот “исторический” палец, мы приняли предварительное название *Homo altaiensis*.

Журнал *Nature* сдержал обещание и быстро рассмотрел поданную рукопись: через одиннадцать дней мы получили четыре отзыва от анонимных рецензентов. Все они положительно прокомментировали методики и тщательность проведенной работы, но мнение их разделилось, когда речь зашла о новом виде. Два рецензента высказали подозрение, что мы, возможно, секвенировали ДНК позднего *Homo erectus*. По их мнению, если представители *H. erectus* в течение продолжительного времени имели контакт с популяциями людей из Африки, то в их мтДНК может оказаться не так много различий, как можно было бы ожидать после двухмиллионнолетнего размежевания с линией людей.

Для меня это звучало сомнительно. Но четвертый рецензент сделал – или сделала – замечание, которое в конце концов уберегло нас от ошибки. В комментарии говорилось: “Если название публикуется в открытой таксономической литературе, потом его уже нельзя отозвать. Так что, на мой взгляд, называть что-то “предварительно” не представляется обдуманым шагом”. Я прочитал эту фразу, и до меня дошло, какими мы были глупцами.

Тем временем мы вдруг осознали, что если Йоханнес выделил такое большое количество мтДНК из денисовских ДНК-библиотек, то ничто не мешает нам попробовать составить и ядерный геном. Таким образом, стала бы более определенной связь между денисовским человеком и неандертальцами, с одной стороны, и с человеком современного типа – с другой. Одновременно прояснился бы таксономический статус денисовской особи. Мы переписали статью, изъяв все упоминания о “новом виде”. Вместо этого мы написали: “Чтобы определить связь между денисовской особью, неандертальцами и человеком, потребуется изучение ядерных последовательностей ДНК”. В таком виде статья была отослана в *Nature* и опубликована в начале апреля[67]. Сколько раз я потом сказал спасибо, что мы удержались от наименования нового вида! Последующие события все расставили по местам.

## Глава 23 Неандертальская родня

И мы немедленно принялись за секвенирование ядерной ДНК. У нас для этого уже имелись библиотеки, которые Йоханнес подготовил из кости мизинца. Результаты нас потрясли. Стоило Удо наложить их на человеческий геном, как немедленно нашлись совпадения почти для 70 процентов фрагментов ДНК. И это при том, что количество привнесенной с загрязнениями современной человеческой ДНК, если судить по результатам исследования мтДНК, было чрезвычайно мало. Это означало, что более двух третей (!) нуклеотидов из кости принадлежало умершей особи. Для сравнения, только 4 процента ДНК из наших лучших костных образцов неандертальцев были истинно неандертальскими; типичный же результат давал менее процента собственной неандертальской ДНК. Сохранность этой кости оказалась сравнима с сохранностью мамонта, которого секвенировал Хендрик Пойнар, или с остатками эскимоса, с которым работал Эске Виллерслев в Копенгагене. Но и мамонт, и эскимос сразу после смерти подверглись заморозке в зоне вечной мерзлоты. Этим объясняется почти полное отсутствие бактериальной ДНК в обоих случаях, но я так и не смог понять, почему в образце из Денисовой пещеры оказалось такое высокое количество собственной древней ДНК. Но какой бы ни была причина, она чертовски помогла анализу генома. Скажу больше: если обычно, работая с неандертальским материалом, мы занимались выуживанием жалких крох эндогенных фрагментов, сейчас мы роскошествовали, просто вычеркивая ДНК микробов. Теперь мы задали себе главный вопрос: насколько полно мы можем собрать ядерный геном? Как всегда в наших опытах, мы не использовали для приготовления экстрактов материал с поверхности кости. Во-первых, было бы безответственно истратить сразу весь образец, ведь мы не знали, какое количество

использовал Эдди со своей группой в Беркли, а ему досталась большая часть кости.

Во-вторых, если куда и внесли современную ДНК, то как раз на поверхность. Поэтому Йоханнес приготовил из внутренней части костной ткани две вытяжки. Проведя контрольные тесты подготовленных библиотек, Мартин Кирхер рассчитал, что новый геном будет представлен даже более полно, чем неандертальский.

Создавая библиотеки из экстрактов, Йоханнес применил одну из инноваций Эдриана Бриггса, которая помогала разобраться с химическими повреждениями, превращающими цитозины в урацилы. Эдриан заметил, что основная часть У-нуклеотидов располагается ближе к концам древней молекулы ДНК, и показал, как избавиться от поврежденных концов. При этой процедуре терялись в среднем один-два нуклеотида на концах у примерно половины древних фрагментов, но одновременно устранялось большинство ошибок в составленных последовательностях ДНК. Так как в этом случае больше не требовалось учитывать частые ошибочные замены Ц на Т, то составлять геном стало намного легче. С помощью этого метода Йоханнес создал две большие библиотеки генома.

Эти библиотеки не только содержали целых 70 процентов ДНК денисовского индивида, но и ошибок в них было намного, намного меньше, чем в неандертальских фрагментах. Это был настоящий прорыв. Тем не менее я ужасно нервничал, мне не давала покоя мысль, что Эдди сейчас работает параллельно с нами по той же теме и, может, в этот самый момент как раз ставит точку в превосходной, готовой к публикации рукописи. Поэтому я торопил свою команду как мог. Всех занятых секвенированием попросил оставить другие проекты, бросить все силы только на этот проект и работать как можно быстрее.

Одновременно меня страшно интересовал странный зуб, который нам передал Анатолий. Определить, чей он, насколько он связан с денисовским пальцем, можно было только по ДНК. Йоханнес осторожно, будто заправский дантист, просверлил в зубе маленькую дырочку, сделал вытяжку из полученной микростружки и затем создал из нее библиотеку ДНК. Из этой библиотеки он отобрал фрагменты мтДНК. Вдобавок мы сразу же отсеквенировали случайную выборку фрагментов, чтобы прикинуть содержание эндогенной ДНК.

В результате нас ожидали хорошая новость и плохая новость. Хорошая: Йоханнес сумел воссоздать мтДНК-геном целиком. Между ним и геномом из фаланги пальца обнаружилось два различия, и это означало, что зуб и палец принадлежали двум разным особям, но относящимся к одной форме людей. Плохая же новость заключалась в том, что эндогенной ДНК в зубе осталось только 0,2 процента. И от этого еще более загадочной выглядела феноменально высокая сохранность ДНК в пальце. Я даже обдумывал, не был ли тот палец отсечен сразу после смерти хозяина, что замедлило бы разложение ДНК в мертвых клетках и остановило бы развитие бактерий. В качестве шутки я предложил и такой вариант: то существо умерло, воздев мизинец к небу, мизинец быстренько мумифицировался, и бактерии лишились возможности размножаться.

Теперь, когда выяснилось, что зуб принадлежал тому же типу людей, что и палец, Бенсе с удвоенной энергией занялся изучением его строения. И хотя я не специалист по зубам, даже на мой взгляд зуб казался необычайно крупным. Он был в полтора раза больше моих коренных зубов. Еще Бенсе сказал, что кроме размера зуб отличается от неандертальских аналогов по строению зубной коронки – некоторые неандертальские особенности отсутствовали, а другие, которых у неандертальцев не было, наоборот, наличествовали.

Корни тоже были необычными. У неандертальцев корни зубов располагались очень близко друг к другу или даже срастались, а у этого зуба заметно расходились. Бенсе заключил: строение зубов позволяет предположить, что денисовцы отличались и от неандертальцев, и от современного человека. Кроме того, так как у денисовского зуба нет неандертальских черт, приобретенных около 300 тысяч лет назад, то, как рассудил Бенсе,

предки денисовских людей разошлись с другими представителями человеческой линии до этого времени. На это же указывала и мтДНК. Но когда дело касалось интерпретации морфологии, я всегда предпочитал осторожность, которая кому-то может показаться чрезмерным скептицизмом. Возможно, что в ходе эволюции зубы денисовцев вернулись к архаичной морфологии, стартовав от морфологии неандертальской или даже человеческой. Только исследование ядерного генома могло бы развернуть эту сюжетную линию.

*Рис 23.1. Монти Слаткин, Анатолий Деревянко и Дэвид Рейх на встрече в Денисовой пещере в 2011 г. Фото: Бенсе Виола, MPI-EVA*

И вот заработали секвенаторы, выдавая на-гора цепочки ядерной ДНК денисовского человека. Одновременно мы вносили последние редакционные штрихи в статью о неандертальцах. У нас не хватало времени, чтобы немедленно заняться денисовскими последовательностями, но я надеялся, что стоит нам только начать, и мы быстро с ними справимся. За последние четыре года, занимаясь неандертальским геномом, мы разработали компьютерные программы, замечательно подходящие и для анализа денисовской ДНК. И все же я опасался, что Эдди далеко нас обошел, поэтому перегруппировал консорциум, выделив маленькую мобильную команду, которая, отложив в сторону все остальное, сосредоточилась на работе с денисовским геномом. Нам как никогда нужны были Дэвид Рейх, Ник Паттерсон и Монти Слаткин со своей бригадой (рис. 23.1). Сначала мы назвали себя группой “Мистер Икс”, поскольку не знали, кто такой этот денисовский персонаж. Затем Бенсе обнаружил, что кость пальца принадлежала совсем юному существу, трех – пяти лет; вдобавок мы секвенировали наследуемую по материнской линии мтДНК; все это плохо сочеталось со знакомым по комиксам образом мачо. Я подумывал о “Девиге Икс”, но это уж слишком напоминало персонаж японских анимэ. В конце концов у меня получилось название “Мисс Икс”, оно и прижилось. Группа “Мисс Икс” сразу же начала еженедельные телефонные совещания.

Удо сравнил фрагменты ДНК с геномом человека и шимпанзе. Это было не очень трудно, так как мы пользовались методиками Эдриана для устранения большинства ошибок. Удо предупредил, что сравнение только предварительное.

Несмотря на это, мы ознакомили консорциум с информацией Удо. Вскоре после отправки в журнал окончательного варианта статьи по мтДНК Ник Паттерсон прислал предварительный анализ предварительных результатов Удо. Прочитав его, я мысленно произнес слова благодарности рецензенту, убедившему меня не спешить с названием нового вида. Ник сделал два открытия.

Во-первых, он обнаружил, что геном из денисовского пальца ближе к неандертальцам, чем к современным людям. Разница между денисовским и неандертальским геномами оказалась всего чуть больше, чем различия геномов современных людей – если, например, сравнивать ДНК папуасов Новой Гвинеи и африканских бушменов. Картина выходила совсем не та, что представлялась по сравнениям одних только мтДНК. И первое, что пришло в голову: приток генов неких архаичных форм гоминин из Азии привнес соответствующую мтДНК в геном денисовского человека. В конце концов, не мы ли только что доказали, что неандертальцы скрещивались с современным человеком? Почему бы и здесь не предположить генетический обмен? Однако с выводами спешить не следовало.

Второе открытие Ника оказалось еще более неожиданным. У человека из Денисовой пещеры было больше одинаковых мутантных аллелей (СНИПов) с папуасами, чем с китайцами, европейцами или с двумя африканскими индивидуумами. Возможно, люди, родственные денисовцам, перемешались с предками папуасов, хотя, учитывая расстояние между Сибирью и Новой Гвинеей, нам опять же не стоило торопиться с выводами. Может быть, мы совершили ряд ошибок, к тому же Удо еще раз напомнил, что геном, составленный им из фрагментов ДНК, строго предварительный. Возможно, что-то пошло не так в сложном компьютерном анализе, и, таким образом, появилось добавочное сходство между геномом неандертальцев и денисовцем, а также между папуасским и денисовским геномами. Также

приходилось учитывать, что оба утверждения Ника могли быть ошибочными.

Спустя неделю Эд завершил свой собственный анализ всего массива новой информации. Он почти не нашел фрагментов У-хромосом среди составленных цепочек, так что наша Мисс Икс действительно оказалась женщиной, а если учесть крошечный размер кости, то и вообще девочкой. Отсутствие фрагментов У-хромосом указывало и на низкое количество мужской чужеродной ДНК. Опираясь на различия денисовской, человеческой и неандертальской ДНК, Эд подтвердил выводы Ника: если взять продвинутые, необезьяньи СНИПы, то денисовский геном больше похож на неандертальца, чем на современного человека. Исходя из этого он предположил, что общие предки денисовской девочки и неандертальцев вначале отделились от общей линии, куда входили и предки современных людей, и только затем их пути разошлись, дав начало неандертальцам и денисовцам.

Другими словами, неандерталец и денисовская девочка более близки между собой, чем с современным человеком. Вся эта информация заставила нас задать себе несколько важных вопросов, которые стали темой обсуждения на наших пятничных совещаниях в Лейпциге и при телефонных разговорах с Ником, Дэвидом, Монти и остальной командой. Почему денисовская мтДНК так сильно отличается от неандертальской, а ядерный геном – нет, и при этом он ближе к неандертальскому, чем к современному человеческому? Может быть, у денисовской девочки в ближайших предках числились неандертальцы и какая-то более архаичная человеческая форма, например поздний *Homo erectus*. Или может, в денисовском геноме смешались архаичная форма гомининов и человек современного типа? Но похоже, эти гипотезы никуда не годились.

Несколько месяцев Удо картировал фрагменты, тщательно сравнивая их с каждым из имеющихся у нас геномов. И наконец закончил. Результат не изменил общей картины: я убедился, что денисовская девочка принадлежала популяции, у которой был общий предок с неандертальцами, но которая существовала отдельно от неандертальцев по меньшей мере так же долго, как, например, современные финны и африканские бушмены.

Последовательность денисовской ДНК оказалась чуть ближе к евразийской, чем к африканской, но сходство было менее выражено, чем у неандертальцев и евразийцев.

Комбинацию этих фактов логичнее всего объяснять наличием общего предка у неандертальцев и денисовцев, так что, когда неандертальцы перемешались с современными людьми, предки евразийцев получили немного “денисовской” ДНК, просто потому что те были родственны неандертальцам.

Таким образом, стало понятно, что популяция, к которой принадлежала денисовская девочка, отделилась от неандертальцев до того, как неандертальцы повстречали людей современного типа. Эту популяцию нужно было как-то назвать. Мы, естественно, не собирались давать ей латинское название, потому что тогда пришлось бы недвусмысленно определять популяцию как вид или подвид. Но народ этой популяции отличался от неандертальцев не больше, чем я отличаюсь, скажем, от бушменов, а значит, и отдельным видом их считать как-то негоже. Тем не менее именовать их как-то нужно. Какое-нибудь обиходное имя, то, что в таксономии называется тривиальным или народным названием, примерно как “финны”, “бушмены”, “немцы” или “китайцы”. Неандертальцы, например, получили имя по названию долины Неандера в Германии (*Thal* – старое написание немецкого *Tal*, “долина”). Следуя этой традиции, я предложил название “денисовцы”.

Анатолий согласился, мы без дальнейших проволочек на следующем же телефонном совещании объявили название официальным, и с того момента популяция, в которую входили Миссис Икс и особь с большими коренными зубами, стала именоваться денисовцами.

Оставался еще один волнующий вопрос. То, что обнаружил Ник относительно большего сходства денисовцев и папуасов, – это правда, или систематическая ошибка анализа данных, или причуда работы наших компьютерных программ? В течение следующих нескольких недель мы непрерывно обсуждали возможные технические отклонения, которые могли бы послужить причиной такой вот картины, но не пришли ни к

чему определенному. Может быть, именно у папуасов как-то так специально оказались выстроены цепочки нуклеотидов, что они случайно стали напоминать денисовцев. У меня это не укладывалось в голове: если местом обитания денисовцев была, как мы знаем, Сибирь, как же так получилось, что предки папуасов где-то встретились с денисовцами, а предки китайцев – нет? Ведь у китайцев нам ни разу не подалось ни следа этой гипотетической денисовской примеси. Конечно же, денисовцы могли жить не только в Сибири. Мы решили набрать побольше материала по ДНК ныне живущих людей. Это отодвигало время публикации, но мы не могли рисковать своей научной репутацией и заявлять об открытиях, которые на поверку окажутся результатом недосмотра или технических упущений. Мы запланировали сравнить последовательности еще семи человек разных национальностей. Наш выбор пал на африканца мбути и европейца с Сардинии, то есть двух людей, в чьей ДНК не должно было быть ничего общего с денисовцами. Также мы включили в список монгола из Центральной Азии, так как он жил недалеко от Алтая; камбоджийца, то есть географического соседа новогвинейцев, а еще индейца племени каритиана из Южной Америки, чьи предки пришли из Азии и в принципе могли в какой-то момент своей истории встретиться с денисовцами. Кроме того, в нашем списке оказались два жителя Меланезии, еще один папуас и обитатель острова Бугенвиль[68].

Получив геномы всех этих людей, Ник со своей группой еще раз все перепроверил. Результат подтвердился: действительно прочитывалось родство между денисовцами и папуасами с бугенвильцем. И напротив, у денисовцев с европейцами, камбоджийцами, монголами и американскими индейцами не выявилось никакой дополнительной общности – читай, продвинутых СНИПов.

Мартин тоже обнаружил кое-что необычное. В геноме денисовцев он заметил признаки более высокой вариабельности предковых (обезьяноподобных) аллелей, чем в геноме неандертальцев. Это могло означать генный приток от каких-то архаичных людей в генофонд денисовцев. Привнесенные архаичные гены могли стать причиной повышенного разнообразия в митохондриальных ДНК. Тем не менее и Ник, и Монти волновались, не вкралась ли в эксперимент какая-то ошибка, не упускаем ли мы что-то важное. Не рискуем ли мы, проводя параллельный анализ геномов денисовцев и неандертальцев? Ведь и те и другие геномы древние, и те и другие провели в земле не одну тысячу лет, так что могли появиться стереотипные отклонения. Мы даже немножко пообсуждали возможность какого-нибудь таинственного технического сбоя, который сместил картину генного потока и указал на папуасов Новой Гвинеи.

К маю я так извелся, что в порыве отчаяния и ужасного настроения после очередного длинного, бессмысленно-сложного обсуждения возможных технических ошибок разослал консорциуму имейл. Я написал, что, по моему мнению, основной вклад в нашу область знания – это собственно карта генома денисовцев, исследование зуба и его необычного строения. До нас науке была известна только мтДНК денисовцев и, соответственно, что неандертальцы и современные люди являются близкими родственниками, а денисовцы отдалены от них в родственном отношении. Из наших теперешних исследований ядерного генома стало понятно, что, наоборот, денисовцы и неандертальцы ближе между собой, чем к современным людям. Мы должны, написал я, изложить эти результаты и предоставить составленный геном в пользование научному сообществу. И даже если мы не уверены, перемешивались ли денисовцы и папуасы, нам необязательно обсуждать это все в одной статье. Мы можем обратиться к этому вопросу в следующих статьях, когда у нас будет возможность изучить данные подробнее.

Предложение мое было умышленно агрессивным, и многие из более разумных коллег по консорциуму выступили против. Эдриан в ответ написал следующее: “Очевидно, что, публикуя результаты без папуасской истории, мы рискуем вот чем: кто-нибудь проведет собственный анализ, разгадает загадку “папуасских” примесей и немедленно все это опубликует. То, что мы сами опустили этот вопрос в своей работе, будет истолковано как а) некомпетентность, б) поспешность, в) игры в политическую корректность. Проблема, да?”

Ник согласился с ним: “Мы обязаны доработать папуасский вопрос, иначе мы будем выглядеть глупцами или трусами”.

Итак, наши изматывающие попытки объяснить непонятный результат техническими просчетами продолжались. В конце концов мы пробили эту стену. Ник сравнил денисовский геном с большим количеством общедоступной информации, и это стало поворотным моментом папуасского сюжета. Проект разнообразия человеческого генома, или HGDP (*Human Genome Diversity Project*), предоставляющий данные из центра в Париже, является, по сути, коллекцией клеточных линий и их ДНК от 938 человек из 53 популяций со всего мира. Все эти образцы были проанализированы по методикам “золотого стандарта”, призванным с величайшей точностью прочитать каждое из 642-690 переменных мест генома: какие нуклеотиды там сидят. И вот Ник выбрал у денисовцев и неандертальцев все продвинутые СНИПы, определенные с высокой надежностью, и сравнил их с данными из коллекции. И обнаружил, что геномы всех семнадцати человек из Папуа – Новой Гвинеи и десяти жителей Бугенвила стоят особняком, находясь ближе других к денисовскому геному. Это в точности согласовывалось с информацией, полученной от нашего собственного секвенирования. Теперь мы все убедились, что между денисовцами и предками папуасов точно существовали какие-то отношения.

С помощью генетических карт неандертальцев и денисовцев Дэвид и Ник подсчитали, что примерно 2,5 процента генофонда неафриканцев унаследовано от неандертальцев и что более поздний генетический вклад денисовцев привнес в генофонд папуасов приблизительно 4,8 процента ДНК. В генофонде папуасов прослеживается и неандертальский компонент, а это означает наличие у них примерно 7 процентов ДНК, пришедших от древних человеческих форм. Это совершенно удивительное открытие! Мы изучили геномы двух вымерших человеческих форм. В обоих случаях генетические следы этих древних популяций выявляются у современных людей. Значит, для людей современного типа, пустившихся осваивать новые территории, перемешивание с архаичными человеческими формами, пусть и незначительное, являлось скорее правилом, чем исключением. Следовательно, неандертальцы с денисовцами не исчезли полностью и окончательно. Какая-то их часть продолжает жить в нас сегодняшних. Денисовцы, как показали наши исследования, должны были иметь широкий ареал обитания, хотя они, похоже, не смешались с тогдашними жителями территорий Монголии, Китая и Камбоджи, да и вообще с древними людьми материковой Азии, а почему – непонятно. Вероятно, в наших результатах видны следы смешения с первыми популяциями современных людей, которые вышли из Африки и двинулись вдоль южного берега Азии, и случилось это до заселения остальной территории Азии людьми современного типа. Палеонтологи и антропологи допускают вероятность таких древних миграций вдоль берегов Ближнего и Среднего Востока до Южной Индии, Андаманских островов, Меланезии и Австралии. Если эта миграционная волна на пути встречалась и смешивалась с денисовцами – возможно, на территории современной Индонезии, – то их потомки в Папуа – Новой Гвинее, на Бугенвиле и аборигены Австралии окажутся носителями денисовской ДНК. А то, что денисовской примеси больше нигде не обнаруживается, можно объяснить иными, более “материковыми” маршрутами последующих мигрантов, заселивших всю азиатскую территорию. Они могли идти в обход денисовских поселенцев, а может, ко времени позднейших миграций денисовцы уже исчезли, так и не повстречавшись с остальными людьми.

И действительно, уже после публикации денисовского генома Дэвид и Марк Стоункинг из нашего отдела сделали детальный обзор южноазиатских народностей и таки нашли примеси денисовских ДНК у народов Меланезии, полинезийцев, австралийских аборигенов и у некоторых филиппинских племен, но более нигде в этом регионе, включая Андаманские острова. Таким образом, подтвердилась наша первоначальная гипотеза, что мигранты из Африки прошли южным путем, встретили денисовцев и где-то на территории Юго-Восточной Азии произошло смешение.

Монти Слаткин взял все генетические данные, которые мы сгенерировали, и

протестировал несколько популяционных моделей. Как я и ожидал, сразу весь набор данных объясняла простейшая модель: неандертальцы скрестились с современным человеком, а денисовцы затем перемешались с предками меланезийцев. Но нам еще предстояло объяснить странности денисовской мтДНК. Предлагались две возможности.

Во-первых, та конкретная линия мтДНК могла появиться в генофонде денисовцев в результате смешения с какой-то архаичной группой гоминин. Про себя я голосовал именно за эту идею. Во-вторых, могло произойти то, что мы называем неполной сортировкой линий. Проще говоря, у общего предка неандертальцев, денисовцев и современного человека, конечно, имелись ранние версии всех трех линий мтДНК. Затем один вариант мтДНК получили денисовцы, а два других, соответственно, неандертальцы и современные люди. Волею случая денисовцам достался вариант с сильными отличиями от двух других линий, которые, в свою очередь, оказались гораздо более похожи друг на друга. Если предположить, что та общая предковая популяция имела высокую численность, а значит, и высокое разнообразие мтДНК, то такое объяснение кажется более предпочтительным. Но по моделям Монти выходило, что обе возможности равновероятны: и генетические примеси, и неполная сортировка. И хотя надежно выбрать один из вариантов не удавалось, но сюжет с перемешиванием казался мне более осмысленным. В конце концов, мы же только что выявили две истории со скрещиванием архаичных групп, и я теперь стал считать перемешивание обычным делом в человеческой эволюции. И потом, если денисовцы охотно вступали в сексуальные отношения с предками современного человека, то они вполне могли скрещиваться и с другими группами древних людей. У меня возникло убеждение, что в общей картине расселения человека не должна превалировать идея тотального вымирания изгнанников. Некоторое заметное количество их ДНК просачивается и рассеивается в замещающей группе, так что я даже позаимствовал специальный термин для описания этого процесса: “замещение с протечкой”. Быть может, думал я, вытеснение денисовцев и было таким “негерметичным”.

В июле мы начали готовить статью. Так как 70 процентов ДНК из костной ткани денисовцев были эндогенными, секвенирование генома не требовало той дьявольской изворотливости, которую пришлось проявить при картировании неандертальского генома.

Это также означало, что полученная денисовская последовательность будет гораздо лучшего качества, с глубиной покрытия 1,9 против неандертальской 1,3. И, что еще важнее, отсечение отщепленных концов с дефектными цитозинами уменьшило количество ошибок в полученной картине генома, так что их оказалось в пять раз меньше, чем в неандертальском геноме. В середине августа статью представили в *Nature* для публикации.

Статья, с моей точки зрения, получилась знаменательная. Представьте: из обломка кости размером в четверть утреннего кусочка сахара определяется геномная последовательность, и на ее основе доказывается, что владелец кости принадлежал неизвестной доселе человеческой группе. Так становится ясно, что молекулярная биология способна внести новое, фундаментальное знание в палеонтологию.

Журнал *Nature* отослал нашу рукопись четырем рецензентам. Полученные комментарии разнились диаметрально, от завистливых и сварливых до глубоких и содержательных. Как и в работе с мтДНК, один из комментариев в результате способствовал значительному улучшению статьи. Рецензент указал на потенциальные недосмотры в том месте анализа, где мы рассматривали вместе геномы денисовцев и неандертальцев. Нам это понадобилось, чтобы обосновать гипотезу о притоке архаичных генов в мт-геном денисовцев. Мне казалось, что наши методики вполне адекватны, но рецензия заставила нас пересмотреть методику и выбрать более осторожный подход, вообще отказавшись от такого анализа. Та же рецензия инициировала дополнительное исследование: мы должны были подтвердить, что признаки смешения в меланезийских геномах невозможно отнести на счет разницы в сохранности ДНК, технологий секвенирования или других особенностей первичных данных. Мы переработали рукопись в соответствии со всеми полезными комментариями, и тогда тот рецензент написал, любезно отметив наши усилия: “Часто

бывает, что если у рецензента возникает вопрос в отношении методик анализа, стоящих за результатами исследования... авторы просто отмахиваются от вопроса, ответив на него формально... Здесь же авторы поступили точно наоборот: восприняли мои замечания очень серьезно, добросовестно изучили вопрос и соответственно переписали статью". Я был горд, как школьник, заслуживший похвалу учителя. Рецензент даже назвал свое имя: Карлос Бустаманте, популяционный генетик из Стэнфорда – я его всегда уважал.

В последних числах ноября 2010 года *Nature* принял рукопись к публикации. Редактор предложил задержать публикацию до середины января, чтобы обеспечить более широкое внимание прессы, потому что в декабре газеты традиционно пишут о рождественских праздниках. Мы обсудили это на собрании консорциума. Некоторые согласились с редактором. Я считал, что если уж мы работали на максимальной скорости с маячившими на заднем плане конкурентами, то нет смысла медлить с последним шагом. Я пошел против мнения большинства и настоял на скорейшей публикации. Статья вышла 23 декабря[69]. Я уверен, что из-за этого наша работа получила менее широкую огласку, чем могла бы, но меня грела мысль, что в один год мы опубликовали и неандертальский геном, и эту статью.

В то Рождество мы ехали на машине с Линдой и Руной в наш заснеженный домик в Швеции, и я думал: какой же у нас был удивительный год! Я и не мечтал о таких достижениях!

Неандертальский геном... Открытый путь к генетике вымерших человеческих групп... Но сколько же тайн еще ждет нас. Вот, например, большой вопрос: когда жили денисовцы?

Костного фрагмента и зуба недостаточно для радиоуглеродного датирования. Зато мы получили датировки по семи другим костям с царапинами и иными следами человеческой обработки из того же культурного слоя в Денисовой пещере. Четыре из семи оказались старше 50 тысяч лет, остальные три моложе: 30–16 тысяч лет. Вероятно, в этой пещере люди жили сначала 50 тысяч лет назад, а потом поселились снова, уже 30 тысяч лет назад.

Мне кажется, что более раннее заселение было денисовским, а позже пещеру заняли люди современного типа, но в точности этого никто не знает. В том культурном слое, откуда, по всей видимости, происходил и палец, профессор Шуньков и Анатолий откопали поразительно сложные каменные орудия и полированный каменный браслет. Могли ли их сделать денисовцы? Идея почти бредовая, но археологи не отвергают ее окончательно.

Насколько широко распространились денисовцы? Вот еще одна загадка. Нам известно, что они жили в Южной Сибири, но они же встречались и производили детей с предками меланезийцев, а это заставляет предположить, что когда-то они жили на более обширном пространстве. Может быть, они пропутешествовали по всей Юго-Восточной Азии, от тропиков до субарктических регионов. Я считал, что теперь на очереди поиски денисовской ДНК в ископаемых костях из Китая. Как было бы чудесно, если бы Анатолий отыскал более сохранные и информативные остатки денисовцев на Алтае! И если бы в тех костях нашлись какие-то признаки, по которым бы денисовцы выделились из массы других древних людей, то, возможно, и другие ископаемые из Азии по этим признакам объединились бы с денисовцами.

Моя команда работает над разрешением всех этих загадок. Другие ученые пользуются нашими методиками для изучения эпидемий древнейших времен и истории древних цивилизаций. Но в те декабрьские дни я чувствовал такое полное удовлетворение, какое редко испытывал за всю свою научную жизнь. То, что началось как тайное увлечение тридцать лет назад, в далекие студенческие годы в Швеции, четыре года назад превратилось в проект из области научной фантастики. И теперь этот проект успешно завершен. В маленьком уютном домике, в кругу семьи, я еще никогда не был так счастлив, как в то Рождество.

## Постскрипtum

С тех пор прошло три года, и вот я сижу и пишу эту книгу. Про судьбу остального

кусочка денисовской фаланги, отданного в Беркли, так ничего и не известно. Не исключено, что он в какой-то момент объявится и можно будет провести датирование. Тогда мы узнаем, когда жила денисовская девочка.

Анатолий со своей командой продолжает раскопки в Денисовой пещере и находит там необыкновенные вещи. Им попался еще один коренной зубище с характерной денисовской ДНК. Еще они нашли косточку от большого пальца ноги, и эта кость принадлежала неандертальцу.

Дэвид Рейх со своим аспирантом Шрирамом Санкараманом на основе генетических моделей определили время перемешивания неандертальцев и людей современного типа [70]. Получилось примерно 40–90 тысяч лет назад. Из этого следует, что подтвердился более простой сценарий смешивания, согласно которому неандертальцы скрещивались с выходцами из Африки, а не тот, который в качестве альтернативы был предложен в 2010 году – повторное соединение каких-то ранее размежевавшихся внутриафриканских групп.

Матиас Мейер, служивший у нас в лаборатории кем-то вроде технического волшебника, разработал новые высокочувствительные методы экстрагирования ДНК и подготовки библиотек. И в результате мы смогли даже из того крохотного кусочка денисовской косточки реконструировать геном с 30-кратным покрытием [71]. А недавно мы прочитали ДНК из кости пальца ноги из Денисовой пещеры и получили геном с 50-кратным покрытием. А это, между прочим, большая точность, чем у большинства прочитанных геномов современных людей.

Сравнивая неандертальский геном с ДНК денисовской девочки, мы отметили признаки присутствия ДНК более древних человеческих линий, разошедшихся с денисовцами и неандертальцами еще до их собственного разделения. Кроме того, мы показали, что денисовцы скрещивались с неандертальцами и что небольшая доля их генов все же присутствует у современного азиатского населения. В 2010 году, имея геном с небольшой глубиной покрытия, мы эту чуточку не обнаружили, а она тем не менее свидетельствует о давно ушедших в историю межпопуляционных скрещиваниях. Все вместе данные открывают картину множественных смешений между различными человеческими формами в позднем плейстоцене, но в малых пропорциях.

Тем временем проект *1000 Genomes* набрал данные, так что появилась возможность составить практически полный каталог вариативных позиций в геноме современных людей, по которым все современные люди отличаются от неандертальцев, денисовцев и обезьян. В этом каталоге зарегистрированы 31 389 однонуклеотидных замен (СНИПов), 125 вставок и выпадений участков из нескольких нуклеотидов. В их числе 96 модификаций, связанных с изменениями аминокислотных замен в белках, и около 3000 изменений в регуляторных генах, включающих и выключающих другие гены. Еще наверняка остались неучтенные модификации, спрятанные в нуклеотидных повторах, но все равно понятно, что генетический “рецепт” изготовления современного человека не слишком длинный. Следующим на очереди стоит большой вопрос: как нам разобраться с функциональными последствиями этих модификаций?

Джордж Черч, блестящий инженер-изобретатель из Гарварда, говорит, что ученым нужно взять этот каталог, модифицировать гены в человеческих клетках до предкового состояния, а затем воссоздать или клонировать неандертальца. Как раз когда мы закончили секвенирование неандертальского генома и представляли его на совещании AAAS в 2009 году, Джордж выступил на страницах *New York Times* с заявлением: “С современными технологиями неандертальца можно вернуть к жизни, для этого потребуется примерно 30 млн долларов”. И еще он сказал, что если кто-то возьмет на себя финансирование, то “я все могу сделать сам”. К его чести, он добавил, что тут обязательно возникнут этические проблемы, но в любом случае можно взять не человеческие клетки, а клетки шимпанзе.

Я, конечно, не подписываюсь под этим смелым заявлением, равно как и под другими, высказанными Джорджем, как я думаю, специально на публику. Тем не менее они обозначают некую возможность. Ведь как мы изучаем специфичные для человека

особенности, например способность к языку или разум? Мы, естественно, не можем в силу технических и этических сложностей пойти по пути Джорджа. Но мы используем человеческие или обезьяньи клеточные линии, модифицируем их по образцу неандертальцев, выращиваем в лаборатории в чашках Петри и исследуем; или вносим видоизмененный генетический вариант мышам и потом изучаем их физиологию и поведение. Совершенно не обязательно клонировать неандертальцев. Наша лаборатория в Лейпциге уже начала работу в этом направлении. В 2002 году мы обнаружили, что белок, который синтезируется геном *FOXP2*, отличается от своего аналога у мышей, шимпанзе и других млекопитающих двумя аминокислотными заменами[72]. А сам ген *FOXP2*, как было показано раньше группой англичанина Тони Монако из Оксфорда, связан со способностью к речи. И вот, приняв во внимание, что у шимпанзе и мыши этот ген практически идентичен, мы решили вставить мышам человеческий ген. По этой теме несколько лет напряженно работал Вольфганг Энард, талантливый студент, впоследствии ставший у нас аспирантом, а затем и ведущим исследователем. И вот наконец он вывел мышей с человеческой версией *FOXP2*. Результаты далеко превзошли все ожидания. Двухнедельные мышата, когда их выносили из гнезда, пищали, и этот писк не сильно, но совершенно явно отличался у мышат с человеческим вариантом гена; их братья и сестры с мышинным вариантом пищали по-другому. Из этого следовало, что ген *FOXP2* действительно связан с голосовой коммуникацией. Эта работа дала толчок другим, в которых были разобраны последствия этих двух аминокислотных замен: они влияют на процесс образования нейронных контактов и обработку сигналов в частях мозга, связанных с моторным обучением[73]. И мы вместе с Джорджем Черчем теперь пытаемся внедрить эти модификации в клеточные линии, которые дифференцируются в нейроны.

И хотя в случае с этими двумя нуклеотидными заменами неандертальцы и денисовцы не отличаются от людей[74], но в принципе понятно, каким может быть направление будущих исследований человеческой природы. Легко представить, как в клеточные линии или в мышинные линии вносятся те или иные генетические модификации, которые “очеловечивают” или, наоборот, “неандертализуют” биохимические каскады, а дальше изучается эффект этих модификаций. Однажды мы поймем, чем толпа переселенцев отличалась от своих давнишних современников и почему из всех приматов только современный человек смог занять все мыслимые уголки планеты, изменив невольно или намеренно всю окружающую природу. Я убежден, что ответ – возможно, один самых великих в человеческой истории – отчасти скрыт в древних геномах, которые мы смогли прочитать.

## Послесловие

*Прошлое – это колодец глубины несказанной. Томас Манн*

Читатель, любопытный, терпеливый и вдумчивый, добравшийся до этих последних страниц и даже открывший их, вполне имеет право на небольшое продолжение.

2010 год, июль. Представьте лекторий Всемирного палеонтологического конгресса, полный зал, все ждут выступления Сванте Пэабо. Ученая публика, безусловно, знакома с его “неандертальскими” статьями, читала про ДНК мамонтов, обсуждала и так и эдак ДНК динозавров, насекомых и бактерий из янтарей... Но одно дело читать выглаженные по всем стандартам научные публикации, а другое – посмотреть на ученого, открывшего целый новый мир.

Сванте Пэабо вышел на сцену. Высокий, худой, в темном пиджаке, а под пиджаком видна футболка с синими китами. И начал рассказывать. Сначала сдержанно, про первые открытия мтДНК, затем про технические сложности и как их решали... По ходу доклада картинки презентации сменялись все быстрее, Сванте все больше воодушевлялся, ходил, даже бегал по сцене, размахивал длинными руками, и синие киты выскакивали из-под пиджака... Ясно было, что только такой человек, вдохновенный, совершенно свободный и в

мыслях, и в поступках, может совершить столь колоссальный научный прорыв. Создать новую научную область. И не просто область, а такую, которая интересна все людям – ведь она про нас. Кто мы такие, откуда мы пришли, кто наши предки, те далекие, от которых уже не осталось фотографий, преданий, ржавых мечей и истлевших кожаных башмаков...

Эта книга написана в 2013 году, три года спустя после описанных в ней событий. Еще четыре года ушло на издание русского перевода. Для целой научной области это совсем немного, если представить ее долгий будущий путь. Но для новорожденной науки первые годы жизни исключительно важны – каждый день происходит нечто замечательное. В постскриптуме Пэабо кратко сообщил о нескольких важных статьях, вышедших уже после написания книги: о неандертальских соседях денисовцев, о возможных смешениях денисовцев с древними азиатскими популяциями, о миграциях потомков от этих смешанных браков в Австралию и Океанию; о гене *FOXP2*, связанном с речью, который у неандертальца не отличается от человеческого. Пэабо только чуть обозначил возможные задачи, которые в принципе подвластны палеогеномике. Теперь с отлаженными методиками и секвенированием нового поколения дело пошло, и даже помчалось, с космической скоростью, работы по палеогеномике публикуются одна за одной; утратив сенсационность, они стали научной повседневностью. Манти Слаткин в обзорной (!) статье 2015 года назвал прошедшее пятилетие “палеогеномной революцией” (7). Он указал около сотни статей, в которых опубликованы данные по реконструкциям ядерного генома ископаемых людей со всех континентов. Некоторые из самых важных открытий стоит упомянуть напоследок, потому что они показывают, как продолжается работа группы Пэабо и какой огромный научный потенциал имеет палеогеномика в целом.

Усть-Ишим, Западная Сибирь. На этой территории найден обломок кости, ее возраст 45 тысяч лет. Антропологи определили, что кость принадлежит какому-то представителю гоминид. По морфологии обломка трудно сделать какие-либо определенные выводы, а его возраст заставляет насторожиться. Судя по прежним антропологическим находкам, время заселения Сибири сапиенсами оценивалось в 25 тысяч лет. Значит ли это, что 45 тысяч лет назад по Сибири бродил какой-то другой вид людей? Кость отправили в лабораторию Сванте Пэабо. Ядерная ДНК, выделенная из этой кости, дала точный ответ: кость принадлежала сапиенсу (1). Следовательно, они заселили холодные сибирские степи не менее 45 тысяч лет назад; они вполне могли быть теми охотниками, которые оставили обнаруженные многочисленные следы стрел и копий на костях мамонта возрастом 44 тысячи лет (2).

В геноме древнего усть-ишимца обнаружено 2 процента неандертальских примесей (примерно как у современных обитателей Евразии), но нет следов скрещивания с денисовцами. Его геном имеет одинаковый уровень сходства как с европейскими охотниками-собирающими, так и с жителями Восточной Азии. Это значит, что популяция сапиенсов, обитавшая в Сибири 45 тысяч лет назад, сформировалась еще до того, как предки современных азиатов отделились от предков европейцев.

Важно и то, что находка позволила датировать период скрещиваний праевразийцев с неандертальцами, в результате которых у современных европейцев и азиатов теперь имеются те самые 2 процента неандертальских генов. Для этого достаточно было оценить среднюю длину кусочков неандертальской ДНК в геноме усть-ишимца. Действительно, нетрудно представить, что происходит с кусочками полученных генетических вставок: при половом размножении в результате рекомбинации хромосом каждый участок ДНК дробится. Поэтому чем больше рекомбинаций (читай – скрещиваний), тем мельче нарезаются первоначальные вставки. У усть-ишимца череда предков, передававших потомкам неандертальское наследие, была гораздо короче, чем у современных людей.

Значит, кусочки неандертальских вставок должны быть длиннее. Так и оказалось – неандертальские вставки у усть-ишимца и вправду заметно длиннее. Зная время его существования (45 тысяч лет назад) и примерное число разделяющих нас поколений, ученые прикинули и время, когда мигранты, покинувшие Африку, скрещивались с неандертальцами. Расчеты дали оценку в 50–60 тысяч лет назад. Именно тогда толпа переселенцев, как их

называет Сванте Пэабо, встретились с неандертальцами на Ближнем Востоке. Оттуда одни популяции людей расселились на восток, в Азию, и дошли до Сибири, а другие отправились на запад, достигнув Пиренейского полуострова. И эта детальная картина древних миграций раскрылась благодаря молекулам ДНК из одного обломка кости.

Сванте Пэабо изначально поставил предел временного разрешения палеогеномики около сотни тысяч лет. За это время под действием химических процессов длинные молекулы ДНК распадаются до неузнаваемых фрагментов. Но вскоре стало понятно, что этот возраст можно отодвинуть и дальше. В лаборатории Сванте занялись костями из пещеры Сима-де-лос-Уэсос, которые датируют возрастом 400 тысяч лет (3). Это местонахождение на севере Испании давно известно палеонтологам, и название пещеры говорит само за себя – “яма костей”: там найдены кости трех десятков человек, которых относят к виду *Homo heidelbergensis*. Если бы удалось прочитать его геном, тогда можно было бы понять, кто такие эти загадочные гейдельбергские люди: прямые предки неандертальцев или имеют еще какую-то примесь?

Сама работа с ДНК стала возможной благодаря превосходным условиям “хранения” костей. Карстовая пещера расположена на глубине 30 метров под поверхностью земли и в 500 метрах от ближайшего выхода. Там всегда одна и та же температура (10,6 °C) и почти стопроцентная влажность. В целом это те самые условия, весь их комплекс, которые, по предположению Пэабо, должны замедлять разрушение молекул ДНК. Отметим, кстати, что за проблему сохранности древней ДНК взялись теперь весьма основательно. И если в лаборатории Сванте начались поиски особых “карманов” в костях, откуда можно извлечь больше древней ДНК, то сейчас местоположение таких надежных “карманов” уже известно. Например, лучше всего ДНК выделять из каменистой части височной кости, самой прочной из всех костей черепа; там ДНК сохраняется не только в идеальных условиях известняковых пещер, но даже в захоронениях жаркого и влажного климата (6).

С костями из Сима-де-лос-Уэсос было ясно, что если в них что-то и сохранилось, то в плачевно мизерном количестве. Так что специалисты сосредоточились сперва на митохондриальной ДНК, представленной в каждой клетке в сотне копий. Извлекли мтДНК из бедренной кости, причем для получения достаточного количества генетического материала пришлось израсходовать почти два грамма кости, тогда как обычно достаточно миллиграммов. Но главная трудность состояла, конечно, в сильной загрязненности образцов фрагментами ДНК современного человека. Как-никак кости были выкопаны еще в 1990-е годы, и люди все время работали с этими образцами. Чтобы отделить кусочки мтДНК древнего человека от современных человеческих и бактериальных загрязнений, ученые применили несколько хитроумных “фильтров” и использовали их в разных комбинациях. Во-первых, были отброшены участки ДНК длиной свыше 45 нуклеотидов: маловероятно, чтобы такие длинные фрагменты могли долго сохраняться. Во-вторых, авторы воспользовались тем обстоятельством, что одонитевые концы обрывков древней ДНК со временем накапливают характерные посмертные мутации: Ц заменяется на Т в результате спонтанной деаминации цитозина (вспомним главу о том, как научились работать с такими заменами). Большое количество замен Ц на Т является “сертификатом подлинности” древнего фрагмента ДНК: чтобы произошло много таких замен, требуется много времени. Каждый фрагмент ДНК сравнивали с подходящим фрагментом человеческого митохондриального генома, и если оказывалось, что на концах обрывка слишком мало цитозинов заменилось тиминами, такой обрывок не учитывался при реконструкции. Но если тиминов было много, то он шел в дело. В результате эти тщательно отобранные кусочки были сложены в длинные фрагменты мтДНК, составившие вместе около 98 процентов митохондриального генома. И это была ДНК человека, жившего 400 тысяч лет назад!

Эта мтДНК имела больше сходных элементов с ДНК денисовских людей, чем с сапиенсами и неандертальцами. Здравый смысл подсказывает, что люди из Сима-де-лос-Уэсос вряд ли были предками денисовцев, а сапиенсы и неандертальцы при этом эволюционировали отдельной ветвью. Все же люди из Лос-Уэсос имели скорее

неандертальский облик; трудно вообразить, что неандертальские черты сформировались независимо в двух разных линиях. Скорее снова имело место межвидовое скрещивание. Ученые предположили, что архаичные варианты мтДНК попали к предкам неандертальцев и денисовцев в результате скрещивания их общих предков с местными, евразийскими, племенами *Homo erectus*.

Известно, что судьба привнесенной мтДНК сильно различается в разных популяциях из-за генетического дрейфа. Она может быстро исчезнуть у одних, а у других, напротив, размножиться и закрепиться. Похоже, что у денисовцев архаичные варианты мтДНК сохранились. Сохранили их и гейдельбергские люди. А вот неандертальцы, равно как и сапиенсы, их утеряли.

В 2013–2014 годах предполагали, что за ядерной ДНК охотиться бесполезно: технически невозможно отделить ее от современных загрязнений. Но все же через два года удалось прочесть фрагменты ядерного генома людей из Сима-де-лос-Уэсос (4). Этим невероятным (действительно, в это трудно поверить!) проектом руководил Матиас Мейер. Кропотливый поиск иголок в сотне стогов сена дал результат – по количеству древних замен Ц на Т на концах подозрительных фрагментов и другим критериям аутентичности отдельные участки ядерной ДНК гейдельбергских людей были определены. Но на этот раз результаты оказались более ожидаемыми: близость с неандертальцами получилась выше, чем с денисовцами. Так было окончательно доказано, что гейдельбержцы из Сима-де-лос-Уэсос представляли линию, близкую к предкам неандертальцев. Эта популяция существовала после того, как разделились линии неандертальцев и денисовцев. Матиас Мейер считает, что она могла нести то, общее с денисовцами, митохондриальное наследие от эректусов. Но также он предполагает, что неандертальцам, возможно, досталась мтДНК более поздних переселенцев, с которыми они тоже могли скрещиваться и которые не оставили следа в нашей генетической истории.

Раз уж ученые читают геномы такой древности, то чтение палео-ДНК более поздних обитателей Европы и Азии стало почти рутинной. Если возникает вопрос, откуда взялись те или иные группы людей, сразу отвечают: нужно бы их ДНК посмотреть. Так, интересная картина получилась с геномами неандертальцев из Хорватии (пещера Виндия) и Алтая. В Денисовой пещере, как выяснилось, жили и денисовские люди, и неандертальцы. От последних группе Пэабо достался зуб и кусочек кости стопы. Оказалось, что европейские и алтайские неандертальцы имеют в своих геномах разные примеси. У алтайских неандертальцев выявилось повышенное сходство с африканским современным населением. Его нет у европейских неандертальцев. И у денисовцев его тоже нет. Откуда оно у алтайцев? Предполагается, что они получили эту примесь при встрече с мигрантами сапиентной волны, которая двинулась из Африки около 120–100 тысяч лет назад. Ведь не только сапиенсы унаследовали кое-какие гены от неандертальцев, но и неандертальцы получили сапиентные вставки. Так что предки алтайских неандертальцев, встретившись с сапиенсами где-то в Передней Азии и заполучив в свой геном сапиентные гены, выдвинулись в Азию. Европейские неандертальцы с этой волной переселенцев не встречались, поэтому они, в отличие от алтайцев, выявленной генетической подписи не имеют. Зато у денисовцев, как мы помним, имеется примесь от более древних людей, вышедших из Африки около миллиона лет назад и скрестившихся с предками гейдельбержцев. Вот и получается, что у соседей, обитавших в районе Денисовой пещеры, совершенно разная генетическая история. Одни дают нам возможность увидеть гибридизацию древнейшего времени, другие – ту, которая происходила существенно позже, 100 тысяч лет назад. Неандертальцы из хорватских пещер показывают позднейшую, около 50–60 тысяч лет назад, гибридизацию с внеафриканскими сапиенсами, а денисовцы – с сапиенсами, освоившими потом Австралию и Океанию.

Так прочтенные геномы древних людей помогли выявить сложную картину межвидовых скрещиваний. То, что в 2009 году виделось шокирующей экзотикой – скрещивание двух видов людей, – уже через пять лет стало обычным явлением. Что тут удивительного?

Группы людей, пусть и неродственные, встретившись на одной территории, с высокой долей вероятности оставят потомство. Сейчас доказано по меньшей мере шесть эпизодов межвидовых скрещиваний в истории человеческих популяций (5). И это уже не сенсация, как было с неандертальским довеском в нашем геноме, а одно из наиболее вероятных допущений. Вот как изменился научный взгляд за прошедшие пять лет.

Палеогеномные данные помогают понять происхождение различных современных рас и народов. В этом смысле интересна работа, опубликованная в 2013 году в PNAS (8). Она помогла найти общих предков представителей монголоидной расы. Ученые анализировали ДНК людей из пещеры Тяньянь (район Чжоукоудянь). Их остатки датируются возрастом 40 тысяч лет, а морфология скелетов указывает на близость с ранними сапиенсами. Вместе с тем в их анатомии присутствуют и неандертальские черты.

Так что в исследовании звучал конкретный вопрос о возможных примесях и сходстве древних азиатов с различными расами. Кто они – родичи европейцев, китайцев, индейцев, папуасов, австралийцев, африканцев? Из костных остатков удалось выделить митохондриальный геном, а также собрать целиком 21-ю хромосому. И по всем показателям древние азиаты, жившие в районе Чжоукоудянь, оказались сапиенсами, весьма далекими от неандертальской ветви. Ближе всего к тяньянцам придвинулись китайцы и индейцы (для анализа ДНК взяли людей из южноамериканского племени каритиана), а дальше других отстоят французы и итальянцы. Следовательно, как заключили авторы, древний тяньянец принадлежал народу, уже отделившемуся от европейской линии и какое-то время существовавшему в изоляции от нее. Этот народ дал начало предкам всех монголоидов, разделившихся потом на азиатскую и индейскую группы.

Среди ископаемых популяций из Сибири даже удалось выявить такие, которые годятся на роль непосредственных предков индейцев Америки (9). Это популяции, существовавшие около 24 тысяч лет назад в Сибири. Речь идет о местонахождении Мальта в Иркутской области. ДНК этих людей ближе всего к индейцам, зато от восточноазиатских современных представителей они отстоят существенно дальше. Эти результаты означают, что 24 тысячи лет назад здесь жили те, кто дал начало всем индейским линиям. И в это время они уже отделились от прокитайцев, так что в их генофондах накопились свои различия.

Любопытно, что эта популяция людей, по-видимому, весьма преуспевала. Она занимала очень широкий ареал и существовала много тысяч лет. Выводы о ее географическом распространении ученые сделали на основе близости мальтийского генома к современному западноевразийскому. А о ее продолжительном времени существования свидетельствует ДНК человека с Афонтовой горы. Географически Афонтова гора расположена сравнительно близко от Мальты, но датировки костей значительно моложе: их возраст составляет около 17 тысяч лет. Геном афонтовца мало чем отличается от мальтийского, несмотря на разделяющие их 7000 лет. Так ученым представилась возможность познакомиться с людьми, которые в какой-то момент своей истории отправились по Берингийскому мосту, соединявшему Сибирь и Аляску, и освоили целый новый континент. Нужно подчеркнуть, что с появлением возможности чтения ископаемых геномов открываются новые, все более захватывающие страницы древнейшей истории индейцев и эскимосов.

Особняком от проблемы миграций и скрещиваний стоит вопрос о нашем неандертальском наследии. Что оно дало современной популяции людей? Помимо, конечно, сложного психологического чувства, описанного Сванте в журнале *Playboy*. Во время написания “Неандертальца” ученые только начали обдумывать, как бы поаккуратнее подступиться к этому вопросу. Сейчас мы уже имеем кое-какие результаты этих раздумий. Помогает, конечно, то, что к настоящему времени собраны колоссальные базы данных по генотипам современных людей.

В одном из исследований на эту тему рассматривается общая вредность и полезность неандертальских генов (10). Генетики изучили распределение неандертальских фрагментов ДНК в хромосомах тысячи современных людей с разных континентов, оценив в этих

фрагментах частоту встречаемости неандертальских аллелей. При этом ученые различали функциональные фрагменты и нейтральные. И выяснили, что неандертальские вставки реже встречаются в функционально важных участках генома и в X-хромосоме, а также в генах, работающих в семенниках. В нейтральных участках неандертальских вставок оказалось больше. Это означает, что многие неандертальские гены, попавшие в генофонд сапиенсов в результате гибридизации, были вредными для наших предков и в последующие эпохи постепенно отбраковывались отбором.

Некоторые из привнесенных генов снижали плодовитость мужчин и женщин метисов. Например, пониженная доля неандертальских фрагментов в X-хромосомах современных людей указывает на то, что мужчины смешанного сапиентно-неандертальского происхождения, по-видимому, оставляли в среднем меньше потомства по сравнению с чистокровными конкурентами. Снижение приспособленности могло проявляться, в частности, в нарушениях сперматогенеза, как это часто бывает при межвидовой гибридизации у животных. Чтобы проверить эту гипотезу, сравнили количество неандертальских заимствований в генах, работающих в разных тканях человеческого организма. Как и предполагалось, неандертальских аллелей оказалось меньше всего в генах, избирательно экспрессирующихся в семенниках. Значит, гибридизация действительно ударила по мужской репродуктивной функции, а отбор впоследствии выбраковывал из генофонда сапиенсов неандертальские примеси, негативно влияющие на производство сперматозоидов.

Это исследование, выполненное в 2013–2014 годах, положило начало масштабным поискам, в которых главную роль играли колоссальные современные базы данных по медицинской генетике. С их помощью появилась принципиальная возможность определить генетическую основу многих заболеваний. А отметив среди невыгодных для здоровья генетических комплексов неандертальские элементы, можно более содержательно оценить роль нашего неандертальского наследия (11). Именно это и было проделано: рассмотрели связь между встречаемостью неандертальских аллелей и широким набором заболеваний.

Сначала установили связь между наиболее частыми неандертальскими однонуклеотидными полиморфизмами (таких нашлось около полутора тысяч) и риском развития пятидесяти самых распространенных патологий. Наиболее значимые результаты получились по депрессии и другим аффективным расстройствам, а также по заболеваниям кожи (кератозы, то есть патологические изменения кожи под действием солнечного излучения). С несколько меньшей достоверностью неандертальские гены влияют на риск ожирения, атеросклероза, инфаркта миокарда, повышенной свертываемости крови и никотиновой зависимости. Все эти влияния не очень сильные: для депрессии, аффективных расстройств и кератозов неандертальские аллели объясняют 1–2 процента риска заболеваний, для остальных расстройств – менее процента. Это влияние слабое, но достоверное, так что можно говорить о негативном влиянии неандертальских генов.

Многие из этих генов могли быть полезны нашим палеолитическим предкам, но потом стали вредными в связи с изменением условий жизни. Поэтому неандертальские аллели, оказавшиеся вредными в силу изменений среды или чужого генетического контекста (вид-то совсем другой), постепенно вычищались отбором. В результате неандертальская примесь в геномах европейцев сократилась от исходного уровня около 3 процентов (как это стало известно опять же из прочтения древних геномов) до нынешних 2 процентов.

Однако из того, что большая часть неандертальских генов не пошла на пользу нашим предкам, вовсе не следует, что коренное неандертальское население Западной Евразии не могло передать выходцам из Африки и какие-то полезные гены. В конце концов, неандертальцы сотни тысячелетий жили в этом регионе, который и по климату, и по спектру доступных пищевых ресурсов, и по набору патогенных вирусов, бактерий и прочих паразитов сильно отличался от африканской прародине сапиенсов. Поэтому было бы логично, если бы среди неандертальских генов, пошедших сапиенсам на пользу, нашлись полезные гены, к примеру связанные с иммунной системой, строением кожи (ее

пигментацией, чувствительностью к ультрафиолету и т. п.), а также с усвоением различной пищи. О пользе неандертальских аллелей мы пока знаем немного, но польза одной из денисовских вставок недавно была разгадана. Ставший знаменитым древний ген называется *EPAS1*.

Ген *EPAS1* кодирует транскрипционный фактор, который включается при недостатке кислорода. Он регулирует давление в сосудах, развитие и работу сердечной мышцы. У жителей высокогорных районов Тибета, которые испытывают постоянный недостаток кислорода, как выяснилось, работают специфические аллели этого гена. Они обеспечивают усиленную выработку гемоглобина. Очевидно, что увеличенная частота этого аллеля в популяции является адаптацией к высокогорным условиям с пониженным атмосферным давлением и, соответственно, дефицитом кислорода. За пределами Тибета эти специфические “тибетские” аллели чрезвычайно редки: из всей мировой базы данных по современным геномам они встретились только у двух представителей китайских народностей. Но самое интересное, что эти же “тибетские” аллели найдены в ископаемом образце денисовского человека (12). Значит, тибетцы сохранили наследие денисовских людей, доставшееся им от древних метисов, потомков денисовцев и сапиенсов. Как мы теперь знаем, денисовцы в результате этих скрещиваний привнесли заметную долю генетического разнообразия в популяции современных папуасов и чуть меньше – в генофонд китайского населения. В числе этих генов, по-видимому, передался и пригодившийся в хозяйстве аллель устойчивости к дефициту кислорода.

И наконец, завершая круг, вернемся к рождению науки палеогеномики, к египетским мумиям. С мумий начался интерес Сванте Пэабо к человеческой истории, за ними он отправился в Берлин, и так стартовала целая научная область. Забавно, что первая статья Сванте, в которой описывается ДНК мумий, на самом деле содержала ошибки.

Прочитанные кусочки генов оказались потом обычными современными загрязнениями. Но те кусочки из мумий заставили молодого ученого поверить в возможность чтения древних геномов. А что же мумии? В “Неандертальце” Сванте пишет, что ДНК мумий из-за особых условий бальзамирования полностью деградирует, связываясь с сахарами (реакция Майяра, вспомним главу 10), так что прочитать ее невозможно. Кроме того, даже если что-то и остается, то разделение древней и современной ДНК технически невыполнимо.

Но, как выяснилось, и то и другое препятствие можно преодолеть. Мечту юности Пэабо – прочитать геном мумий – осуществил его ученик Йоханнес Краузе, участвовавший с самого начала в работе с ископаемыми геномами (13).

Его команда с центром в Институте истории человечества в Йене, в Германии, начала с поиска тканей, где ДНК все же сохраняется в достаточном количестве. Они выяснили, что наилучшими хранилищами ДНК мумий являются кости черепа и зубы. Оттуда в принципе выделяются митохондриальные ДНК. Ведь их сравнительно много, так что по количеству они отделяются от посторонних загрязнений. А кроме того, уже опробована и отработана методика выделения древних фрагментов по большому числу замен Ц на Т. То, что в начале чтения древних геномов выглядело как непонятная и весьма досадная помеха, теперь обернулось хорошим методом для распознавания “паспорта” древности. В ходе работ группе Краузе удалось прочитать мтДНК из 90 мумий. А вот ядерный геном очистить от загрязнений гораздо труднее. Из этих 90 образцов только в трех специалистам удалось выделить “родную” ДНК. Все 90 мумий с прочитанным генетическим “паспортом” происходят из единственного захоронения Абусир эль-Мелек, расположенного на юге Египта. С одной стороны, это не очень удобно, так как захоронения представляют жителей одного небольшого района. Но с другой – коллекция датируется очень широким временным диапазоном: от 1300 лет до н. э. до первых веков н. э. Иными словами, можно увидеть генетические изменения в популяции людей, существовавших в одном месте на протяжении полутора тысяч лет. И это прекрасная возможность судить о пришельцах и завоевателях, изменивших облик местного населения.

Краузе с коллегами выяснили, что древние египтяне (абусирцы) на протяжении этого

долгого времени не слишком активно скрещивались с пришлыми чужаками, так как их геном оставался весьма стабилен. Они были близки по своей генетической специфике к неолитическим и современным жителям Ближнего Востока и Леванта, а с современными египтянами у них сходства существенно меньше. Судя по некоторым генетическим элементам, у них кожа была светлее, чем у современного населения Египта, а глаза темные; также выявляется непереносимость к молоку. Генотип современных египтян получил заметную африканскую примесь, вероятно, уже после эпохи римского господства.

Ученые предполагают, что большую роль в этом могли сыграть развитие работоторговли и налаживание торговых связей. Дальнейшие исследования ДНК мумий смогут расширить картину связей фараонов и их подданных, как это хотелось Сванте Пэабо.

Читая про “посленеандертальские” открытия, вы можете заподозрить, что книга устарела. Но это тысячу раз не так. Быстрее или медленнее, всякая наука движется вперед, и всякая книга со временем теряет острую актуальность. Та книга, в которой одни только сведения о последних открытиях, устареет быстрее. Но та, что рассказывает о жизни в любых ее проявлениях, останется с нами гораздо дольше. “Неандерталец” относится, без сомнения, ко второй категории: он полно и подробно рассказывает, что такое наука, чем она отличается от других сторон человеческой деятельности, дает рецепт, как вырваться на передовую, где не будет никого, кроме вас и ваших идей. Читая, совершенно ясно понимаешь, что наука – это не синекура, где можно снисходительно рассуждать о непонятном, это не спокойное болото, где высоколобые умники занимаются своими малополезными и плохо оплачиваемыми делами, это не область, где провозглашается бесстрастная истина. Это арена страстной битвы, где необходимы хитрые стратегические решения, терпение, способность трезво оценивать текущие победы и поражения. Это место, где человек вынужден быть предельно честен перед собой и обществом. Эта книга именно о такой битве. Которая, к счастью, завершилась победой.

Елена Наймарк

## Литература

(1) Qiaomei Fu, Heng Li, Priya Moorjani, Flora Jay, Sergey M. Slepchenko, Aleksei A. Bondarev, Philip L.F. Johnson, Ayinuer Aximu-Petri, Kay Prüfer, Cesare de Filippo, Matthias Meyer, Nicolas Zwyns, Domingo C. Salazar-García, Yaroslav V. Kuzmin, Susan G. Keates, Pavel A. Kosintsev, Dmitry I. Razhev, Michael P. Richards, Nikolai V. Peristov, Michael Lachmann, Katerina Douka, Thomas F.G. Higham, Montgomery Slatkin, Jean-Jacques Hublin, David Reich, Janet Kelso, T.

Bence Viola & Svante Pabo. *Genome sequence of a 45,000-year-old modern human from western Siberia* // Nature. 2014. V. 514. P. 445–449.

(2) Vladimir V. Pitulko, Alexei N. Tikhonov, Elena Y. Pavlova, Pavel A. Nikolskiy, Konstantin E.

Kuper, Roman N. Polozov. *Early human presence in the Arctic: Evidence from 45,000-year-old mammoth remains* // Science. 2016. V. 351. P. 260–263.

(3) Matthias Meyer, Qiaomei Fu, Ayinuer Aximu-Petri, Isabelle Glocke, Birgit Nickel, Juan-Luis Arsuaga, Ignacio Martínez, Ana Gracia, José María Bermúdez de Castro, Eudald Carbonell &

Svante Pabo. *A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos* // Nature.

Published online 04 December 2013

(4) Matthias Meyer et al. *Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins* // Nature. 531, 504–507(24 March 2016)

(5) Martin Kuhlwilm, Ilan Gronau, Melissa J. Hubisz, Cesare de Filippo, Javier Prado-Martinez, Martin Kircher, Qiaomei Fu, Hernn A. Burbano, Carles Lalueza-Fox, Marco de la Rasilla, Antonio Rosas, Pavao Rudan, Dejana Brajkovic, Jelko Kucan, Ivan Gušić,

Tomas Marques-Bonet, Aida M.

Andr#233;s, Bence Viola, Svante Pbo, Matthias Meyer, Adam Siepel & Sergi Castellano. *Ancient gene flow from early modern humans into Eastern Neanderthals* // Nature. 2016. V. 530. P. 429–433.

(6) Pinhasi R., Fernandes D., Sirak K., Novak M., Connell S., Alpaslan-Roodenberg S., et al. (2015) *Optimal Ancient DNA Yields from the Inner Ear Part of the Human Petrous Bone*. PLoS ONE 10(6): e0129102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129102>

(7) Montgomery Slatkin, Fernando Rasimo. *Ancient DNA and human history* . PNAS, 2016, vol. 113, no. 23, p. 6380–6387

(8) Qiaomei Fu, Matthias Meyer, Xing Gao, Udo Stenzel, Hernn A. Burbano, Janet Kelso, and Svante Pbo. *DNA analysis of an early modern human from Tianyuan Cave, China*. PNAS, 2013, vol. 110, no. 6, p. 2223–2227

(9) Raghavan M., Skoglund P., Graf K.E. et al. *Upper Palaeolithic Siberian genome reveals dual ancestry of Native Americans* // Nature. 2013. 20 November. doi:10.1038/nature12736.

(10) Sriram Sankararaman, Swapan Mallick, Michael Dannemann, Kay Pr#252;fer, Janet Kelso, Svante Pbo, Nick Patterson & David Reich. *The genomic landscape of Neanderthal ancestry in present-day humans* // Nature. Published online 29 January 2014

(11) Corinne N. Simonti, Benjamin Vernot, Lisa Bastarache, Erwin Bottinger, David S. Carrell, Rex L. Chisholm, David R. Crosslin, Scott J. Hebring, Gail P. Jarvik, Iftikhar J. Kullo, Rongling Li, Jyotishman Pathak, Marylyn D. Ritchie, Dan M. Roden, Shefali S. Verma, Gerard Tromp, Jeffrey D. Prato, William S. Bush, Joshua M. Akey, Joshua C. Denny, John A. Capra. *The phenotypic legacy of admixture between modern humans and Neanderthals* // Science. 2016. V. 351. P. 737–741

(12) R. Nielsen et al. *Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA* // Nature. 2014. DOI:10.1038/nature13408

(13) Verena J. Schuenemann, *Ancient Egyptian mummy genomes suggest an increase of Sub-Saharan African ancestry in post-Roman periods* // Nature Communications 2017, v. 8, Article number 15694

Спасибо, что скачали книгу в [бесплатной электронной библиотеке Royallib.com](http://royallib.com)

[Оставить отзыв о книге](#)

[Все книги автора](#)