

Гены брата



Вероятно, многим читателям «Химии и жизни» знаком роман Уильяма Голдинга «Наследники» (1959). Будущий лауреат Нобелевской премии изобразил контакт двух племен, кроманьонского и неандертальского — «новых людей» и «лесных дьяволов», как они называют друг друга. Для неандертальцев эта история кончается плохо, но их детеныша забирает себе женщина из «новых людей», потерявшая своего ребенка.

Неандертальцы Голдинга — скорее поэтический образ «иных разумных», чем научная реконструкция: они у него эмпаты и телепаты, а внешне больше похожи на крупных шимпанзе, чем на реального *Homo neanderthalensis*. Но первые проявления логики, юмора, нежности у этих существ, обреченных на гибель от рук «наследников», воссозданы весьма убедительно. Знаменитый английский писатель точно сформулировал главные вопросы палеоантропологии: в чем отличие человека от животных и какими были отношения между нами и другими видами рода человеческого?

Верно ли описал Голдинг особенности психики неандертальцев, мы, возможно, не выясним и в XXI веке (хотя как знать...). А вот насколько тесной была связь между нашими видами — к ответу на этот вопрос мы подошли вплотную.

Кузен или предок?

Неандертальцев впервые определили как особую группу гоминидов 150 лет назад, в 1856 году, после того как нашли останки нескольких особей в долине Неандер (Neander Thal по-немецки), неподалеку от Дюссельдорфа. Забавно, что долина получила свое название в честь богослова и поэта Иохима Нойманна, который взял себе греческий псевдоним Неандер — «новый человек».

Позднее подобные находки в Европе и Западной Азии показали, что неандерталец как вид появился около 400 000 лет назад и исчез около 30 000 лет назад. Типичные неандертальцы резко отличались от современного человека, кроманьонца. Характерные особенности их облика — массивный скелет, выступающая средняя часть лица, мощные надбровные дуги, скошенный подбородок — хорошо известны даже неспециалистам благодаря художественным и литературным реконструкциям. Неандертальцы умели обращаться с огнем, верили в загробную жизнь — во всяком случае, хороня своих мертвецов, снабжали их запасом пищи, а также изготавливали музыкальные инструменты и украшения. Правда, моду на украшения, как полагают ученые, они переняли у *Homo sapiens*.

До сих пор нет прямых доказательств, что кроманьонцы встречались с неандертальцами, но, бесспорно, их ареалы перекрывались во времени и пространстве. Наши прямые предки начали расселяться из Африки в Европу 40 000—50 000 лет назад и, очевидно, вытеснили неандертальцев — с применением силы либо просто отобрав пищевые ресурсы. Впрочем, с этим мнением согласны не все. Одни предполагают, что второй вид *Homo* не выдержал резкого потепления в конце ледникового периода, другие — что он не вымер в точном смысле слова, а был ассимилирован человеком разумным.

Эта версия привлекает многих. Палеоантропологи тщательно изучают останки, относящиеся к самому позднему времени существования неандертальцев, и порой находят экземпляры, похожие на межвидовые гибриды. Такие данные легко оспорить: где доказательства, что перед нами не хруп-

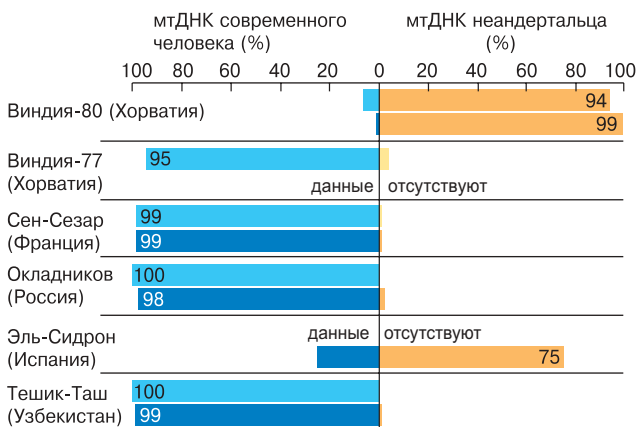


кий неандерталец или аномально здоровенный носатый кроманьонец, мало ли как проявляет себя внутривидовая изменчивость... Но профессионалы и любители продолжают сочинять гипотезы, искать у современных людей черты неандертальцев или доказывать, что рыжий цвет волос и конопатость некоторые сапиенсы унаследовали именно от них. Последняя гипотеза — вовсе не шуточная: если неандертальцы раньше нас переселились в холодную Европу, то и посветлеть они должны были раньше, чтобы лучше усваивать ультрафиолет. Вот только неизвестно, вправду ли они были рыжими.

Так все же: правы ли те, кто считает их нашими предками, или между нами никогда не было ничего, кроме безразличия, переходящего в агрессию, как и положено конкурирующим видам? Слово предоставили генетикам.

Папа или мама?

В 1997 году был секвенирован участок митохондриальной ДНК (мтДНК) из образца, найденного в долине Неандер. (Напомним читателю: митохондриальная ДНК замечательна тем, что передается потомству только по материнской линии, отцовская мтДНК не наследуется.) Затем сразу несколько научных коллективов исследовали мтДНК из 11 фрагментов костей неандертальцев, обитавших в разных европейских странах (среди них был и образец из России, из пещеры Мезмайская на Северном Кавказе). Выяснилось, что обмен мтДНК между современным человеком и неандертальцем едва ли имел место: так много различий могло накопиться только при независимой эволюции двух видов в течение полумиллиона лет.



1
Нелегко было найти образцы ДНК неандертальца, свободные от загрязнения. Например, митохондриальная ДНК, полученная из французского, российского и узбекского образцов, почти на 100% состояла из современных примесей (слева названия местонахождений). Светлые столбики — содержание 119-нуклеотидного фрагмента в каждом образце, темные — 63-нуклеотидного (по материалам "Nature", т.444, 16 ноября 2006 года)

Значит ли это, что неандерталец не был нашим предком? По материнской линии — не был. Согласно различным популяционным моделям, вклад неандертальцев в геном современного человека составляет от 25% (четверть!) до 0,1% генов. Последний результат был получен с мтДНК, — впрочем, он может и не отражать истинной картины, хотя бы из-за предполагаемой неравномерности вклада в наш геном неандертальцев и неандерталок. Не в обиду предкам и родичам будь сказано, легче представить кроманьонскую женщину с неандертальским мужчиной, чем неандерталку с кроманьонцем. (Впрочем, на самом-то деле и нашим мужчинам не был свойствен видовой шовинизм, но об этом позже.)

Неандерталец — самый близкий к нам вид, поэтому его геном может стать бесценным источником «примечаний» к нашему собственному. До сих пор мы не знали более близких родичей, чем шимпанзе (от которых нас отличают примерно 35 миллионов нуклеотидов из трех миллиардов). В ближайшем будущем данные по геномам других обезьян, таких, как орангутанги и макаки, помогут вычислить, что отличает нас и шимпанзе от прочих приматов. А сравнение с геномом неандертальца, вероятно, позволит идентифицировать генетические изменения, происходившие в последние сто тысяч лет, — те самые, которые сформировали облик и поведение *Homo sapiens*.

Как не перепутать нас с ними

Летом 2006 года стартовал проект, задачей которого было исследовать геном неандертальца — не только мтДНК, но и ядерный геном. Среди авторов статьи в ноябрьском номере «Nature», где рассказывалось о первых результатах, были сотрудники Института эволюционной антропологии Макса Планка в Лейпциге, в частности Сванте Пээбо, тот самый, кто отсеквенировал мтДНК из Неандертала. Именно он — инициатор проекта «Геном неандертальца». Автору этой статьи рассказали об идеях Пээбо в Гейдельберге, на школе для научных журналистов, организованной все тем же обществом Макса Планка (см. «Химию и жизнь», 2006, № 9). Наверное, никто из слушателей не думал тогда, что результаты появятся так скоро...

За техническую часть отвечал другой коллектив, тоже знакомый нашим читателям. Неандертальскую ДНК читали в «454 Life Science Corp.» (Коннектикут, США) тем самым методом 454-секвенирования, или пиросеквенирования, о котором «Химия и жизнь» писала ровно год назад (2006, № 1). Метод замечателен тем, что по простоте и эффективности многократно превосходит ранее известные: с его помощью можно читать единичные молекулы ДНК практически без подготовки. Разработчики метода, Майкл Эгхольм и Джонатан Ротберг, также есть среди авторов статьи в «Nature».

Выделить ДНК из окаменелостей, чей возраст исчисляется десятками тысяч лет, возможно, но нелегко. Помимо естественной деградации биомолекул есть и другая серьезная проблема — образцы часто бывают загрязнены современной органикой. А если учесть, что ДНК неандертальцев очень похожа на нашу, первой и главной задачей было ответить на вопрос: чью ДНК читаем?

Более 70 костей и зубов неандертальцев протестировали на сохранность биомолекул: выделили из них и исследовали аминокислоты. Высокий уровень рацемизации аминокислот означал, что пригодной ДНК в таком образце, скорее всего, не найдется. В итоге отобрали шесть самых многообещающих образцов, по 100—200 мг от каждого, и стали проверять, современная в них ДНК или неандертальская. Для этого провели полимеразные цепные реакции двух коротких фрагментов мтДНК (63 и 119 нуклеотидов), которые заведомо различаются у современных людей и неандерталь-

цев: сделали много копий этих участков, а потом отсековировали их. В числе прочих были исследованы образцы из пещеры Тешик-Таш в Узбекистане и пещеры Окладникова на Алтае. Кстати, авторы работы не забыли поблагодарить за сотрудничество академика А.П.Деревянко, директора Института археологии и этнографии СО РАН. И российский, и таджикский образцы подавали надежды, но, к сожалению, они не оправдались (рис. 1).

Самым многообещающим оказался образец, который был найден в 1980 году в пещере Виндия (Хорватия). Возраст его, установленный с помощью радиоуглеродного анализа, составил $38\ 310 \pm 2\ 130$ лет до наших дней. В этом образце почти не было примесей современной мтДНК, а вот неандертальской содержалось достаточно много. Логично было предположить, что так же обстоит дело и с ядерной ДНК. Этот образец и использовали в дальнейшей работе.

Не мать он нам

Напомним, в чем состоит сущность метода 454-секвенирования. Множество однокитевых фрагментов ДНК амплифицируют, то есть многократно копируют в каплях эмульсии и затем секвенируют в ячейках сот. Каждый очередной нуклеотид заявляет о себе вспышкой флуоресценции, которую фиксирует компьютер; таким методом можно прочитать 25 миллионов «букв» ДНК за четыре часа.

Преимущества метода понятны. Во-первых, ДНК не пришлось клонировать в бактериях, а при этом большая часть материала потерялась бы. Во-вторых, когда кусочки ДНК копируются по отдельности, каждый в своей капле, все копируются одинаково хорошо: нет конкуренции между матрицами. В-третьих, длина каждого читаемого по этой методике кусочка ДНК, 100—200 нуклеотидов, превышает среднюю длину фрагментов, сохраняющихся в ископаемых останках. В-четвертых, сама возможность секвенировать одновременно сотни тысяч нитей ДНК очень важна: ведь многие из них занесены в образец другими организмами, скажем почвенными бактериями.

Таким способом были прочитаны более 250 000 фрагментов ДНК из кости неандертальца. Разумеется, далеко не все из них принадлежали неандертальцу. Определить хозяина не удалось для 79% фрагментов, а большую часть остальных занесли в останки существа вроде актиномицетов. Всего 6,2% (15 701 фрагмент) были опознаны как участки геномов приматов. Но и это был успех.

Исследователей в первую очередь заинтересовала мтДНК. Ее сравнение с ДНК 311 современных людей из разных стран подтвердило ранее полученные данные: неандертальской мтДНК у нас опять не обнаружилось. (Как говорил по этому поводу известный российский генетик Н.К.Янковский, «не мать он нам».) Отличий у неандертальцев оказалось даже слишком много, как будто они прошли длинный эво-

люционный путь, чем мы, — очевидно, из-за ошибок при секвенировании. Чтобы разобраться с этим, авторы работы откопировали участки ДНК, внутри которых у неандертальца были замены по сравнению с «обобщенной» ДНК современного человека. Эти участки клонировали и секвенировали еще раз, причем 14 отличий из 34 пришлось убрать. После этого рассчитанный эволюционный путь неандертальца сравнили с известными данными, а значит, метод коррекции оказался эффективным. Ничего не поделаешь: когда читаешь плохо сохранившийся текст в единственном экземпляре, всегда есть риск, что какая-то буква прочитается неправильно! В двух третях оставшихся точек неандертальская ДНК отличалась от человеческой, но совпадала с ДНК шимпанзе — похоже, эти-то отличия были настоящими.

По результатам исследования мтДНК время расхождения видов *H.sapiens* и *H.neanderthalensis* было оценено в 461—825 тыс. лет.

Дерево, с которого мы слезли

Все остальные фрагменты ДНК неандертальца показали гомологию с ядерными генами человека. Примерно для 0,04% нашего генома нашлось соответствие с геномом неандертальца — для начала недурно! Прочитано было более 1 млн. нуклеотидов из всех хромосом, в том числе половых — X и Y. (Отсюда ясно, что хорватский неандерталец был мужчиной.) А теперь несколько слов о том, как из букв ДНК извлекают сведения о путях эволюции.

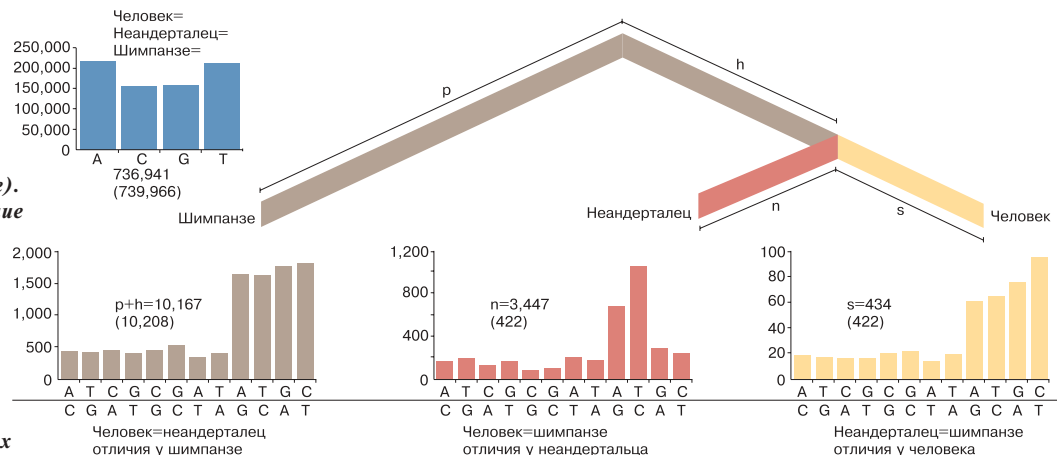
Фрагменты ДНК неандертальца сравнили с соответствующими участками в геномах современного человека и шимпанзе — это называется «трехмерный элаймент». Каждый нуклеотид отнесли к одной из пяти групп:

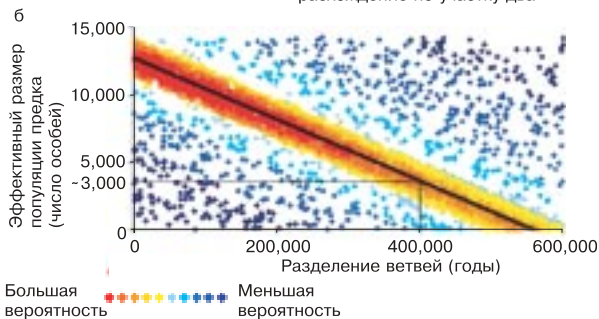
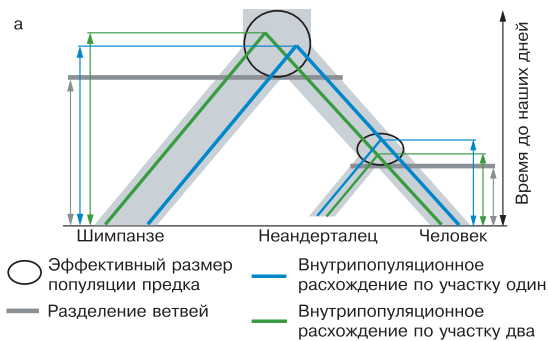
- совпадает у всех трех видов (736 941 нуклеотид);
- совпадает у человека и неандертальца, отличается у шимпанзе (10 167);
- совпадает у человека и шимпанзе, отличается у неандертальца (3 447);
- совпадает у неандертальца и шимпанзе, отличается у человека (434);
- различается у всех трех видов (51).

Итак, нам известны число замен, которые произошли после того, как разошлись наши пути с шимпанзе — или у шимпанзе, или у общего предка неандертальцев и человека (p+h), число замен у человека (s) на его собственном эволюционном пути и такое же число для неандертальца (n). (Латинские буквы взяты от латинских названий групп: *Pan*, *Homo*, *H.sapiens*, *H.neanderthalensis*.) Считая, что темп мутаций постоянен, нетрудно вычислить длину эволюционных путей (рис. 2).

Сравнительно большое число отличий в ДНК неандертальца от человека и шимпанзе списали на повреждения и ошибки сиквенса: не мог неандерталец за отведенное ему время накопить столько мутаций! Поэтому в дальнейшем число от-

2
Родословное древо, построенное на основании первых данных о генах человека, неандертальца и шимпанзе (объяснения в тексте). Слева сверху показано соотношение четырех нуклеотидов на тех позициях, которые совпали у всех трех видов. Внизу, под «ветвями», — соотношение частот всех возможных нуклеотидных замен в каждой группе; примечательно сходство этих соотношений, типичное для близких видов млекопитающих





личий у него считали равным нашему, а для расчетов использовали только совпадения в ДНК неандертальца с ДНК шимпанзе и человека. Кроме того, важно было учесть, что ошибки секвенса могли породить и ложные совпадения с ДНК человека или шимпанзе. После введения поправок с помощью математических методов все числа немного изменились (исправленные значения на рисунке указаны в скобках). В итоге, если мы примем, что наши пути с шимпанзе разошлись 6,5 миллиона лет назад, тогда с неандертальцем — 516 000 лет назад. Возьмем доверительный интервал 95% и получим 465 000—569 000 лет.

Снова о дружбе народов

Эффективным размером популяции генетики называют количество особей, которые передают свои гены следующим поколениям. Этот показатель отражает генетическое разнообразие, поэтому при наличии «волн жизни» эффективный размер считается исходя из минимального размера популяции. У современного человека эффективный размер популяции не превышает 10 000. (Это не значит, что первых людей на Земле было именно столько, это значит, что другие люди не оставили потомства, дожившего до эпохи генетики.) У шимпанзе, гориллы и орангутанга эти значения в два — четыре раза больше, а у общего предка людей и шимпанзе оно было ближе к обезьяньему, чем к человеческому. Исследования генома неандертальца дали возможность оценить эффективный размер популяции общего предка людей и неандертальцев.

Авторы работы использовали так называемый метод Уолла, который позволил рассчитать и эффективный размер предковой популяции, и время окончательного разделения наших видов (рис. 3а). Если коротко, суть метода в том, что для разных участков генома независимая эволюция началась в разное время по причине разной распространенности аллелей в популяции, и чем больше эти различия во времени, тем, очевидно, больше был размер популяции.

Исследователи также построили линию соответствия между размером популяции и временем расхождения двух видов: чем больше предполагаемая популяция, тем позднее могли разойтись наши пути. Зная из независимых источников (например, палеонтологических), когда неандертальцы отделились от нас, мы можем сделать предположение о размере предковой популяции (рис. 3б). Если считать время

3

а) Результат сложного математического моделирования и компьютерных расчетов представлен в простейшей форме. Разные участки генома нашего общего с неандертальцем предка начали независимую эволюцию не одновременно, и отсюда можно делать выводы о размере предковой популяции

б) Современные люди и неандертальцы произошли от сравнительно небольшой группы приматов: наиболее вероятное их количество — около 3000, а могло быть и меньше



ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

400 000 лет точным, то наших общих предков было всего три тысячи. Но точки вокруг прямой на рис. 3б показывают, что размер предковой группы с ненулевой вероятностью мог варьировать от 12 000 до самых малых величин.

Так или иначе, размер предковой популяции у гоминид стал небольшим еще до отделения неандертальца, то есть это не уникальное свойство современного человека. Авторы работы предположили, что такой маленький размер типичен для рода *Homo*, и в нашей истории не раз бывало, что вид возрождался из маленькой группы.

Наконец, последнее, но самое интригующее. Исследователи давно обратили внимание на так называемые SNP (single nucleotide polymorphisms) — однонуклеотидные позиции в геномной ДНК, где у разных людей могут стоять разные нуклеотиды. Именно SNP в первую очередь формируют наши индивидуальные различия, именно они зачастую определяют разницу между двумя аллельными генами, поэтому их давно изучают и картируют. На сегодня известны миллионы SNP, а мутируют они медленно, поэтому ими интересуются также эволюционисты. Теперь появилась возможность проверить, в каких из этих точек у неандертальцев остались нуклеотиды, идентичные шимпанзе, а в каких появились новые нуклеотиды (допустим, у общего предка человека и неандертальца). В 30% случаев аллели оказались новыми, и это число слишком велико, если нет неучтенных фактов. Но все станет понятно, если мы предположим, что имел место поток генов от современных людей к неандертальцам. Кстати, как заметил один из авторов работы, по X-хромосоме неандертальца уровень дивергенции выше, чем по неполовым хромосомам. А это может означать, что неандертальцы получали гены *Homo sapiens* от мужчин-кроманьонцев (не от женщин, иначе это опять-таки сказалось бы на мтДНК).

Чтобы утверждать это наверняка, нужно продолжать исследование, в частности не помешало бы полный секвенс Y-хромосомы неандертальца. Но похоже, что не только неандертальские охотники подстерегали в европейских лесах хрупких женщин нашего вида — мужчины-кроманьонцы тоже гонялись за неандерталками не исключительно с научными целями. В обоих случаях дети оставались в племени матери, так что потока митохондриальных генов не наблюдалось. Но к остальным генам это, возможно, не относится.

Итак, теперь ясно, что проект «Геном неандертальца» — не фантастика. Уже сейчас можно прикинуть, сколько останков неандертальца потребуется для проекта. В работе, о которой шла речь, была использована примерно пятнадцатая часть экстракта из 100 мг костной ткани. Чтобы таким же образом прочитать весь геном (считая его равным 3 миллиардам нуклеотидов), потребуется примерно 20 г кости с достаточной сохранностью биомолекул. Впрочем, авторы методики 454-секвенирования обещают повысить ее эффективность еще в 10 раз. Может быть, мы ознакомимся с полной версией генома неандертальца уже через два года.

