



# Живое из неживого

**Е. Клеценко**

Крейг Вентер родился в 1946 году и успел побывать на вьетнамской войне — был отправлен туда после призыва в армию, работал в полевом госпитале. То, что он там увидел, побудило его всерьез заняться медициной, а позднее он решил, что делом его жизни станет молекулярная генетика. Уже в 1975 году Крейг Вентер получил докторскую степень в университете Калифорнии (Сан-Диего), а с 1984 года начал работать в Национальном институте здоровья США.

Всемирная слава пришла к нему на рубеже веков, когда его детище, компания «Celera Genomics», вступило в состязание с международным проектом «Геном человека», пообещав вы-

полнить задачу быстрее и дешевле. Вентер был сторонником «метода дробовика», который большинство ученых считало недостаточно надежным для такого сложного генома, как человеческий. (При методе дробовика ДНК «нарезают» случайным образом, затем читают эти миллионы фрагментов и состыковывают с помощью компьютерной программы, которая распознает перекрывающиеся участки разных кусков.) Действительно, качество генома от «Celera» уступало тому, которое предложил «Геном человека», зато впечатляли темпы и относительно низкая стоимость: примерно 300 миллионов против 3 миллиардов.

Отношения между «конкурентами» были непростыми. Крейг Вентер обещал отдать последовательность генома человека в общественное пользование, но, чтобы окупить затраты, в «Celera» решили предоставлять дополнительные данные по платной подписке. Однако другие ученые, и прежде всего руководитель проекта «Геном человека» Фрэнсис Коллинз (отрывок из его книги см. в «Химии и жизни», 2009, № 9), сочли этот вариант неприемлемым: геном человека должен прино-

Джон Крейг Вентер — биолог, но биолог особенный. Журнал «Тайм» два года подряд включал его в список ста самых влиятельных людей планеты. У менее важных персон он вызывает разнообразные чувства, от восхищения до неприязни.



## ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

сдать пользу всему человечеству, а не группе лиц, как бы умны и талантливы они ни были. В итоге Коллинз и Вентер вдвоем докладывали о расшифровке генома человека Биллу Клинтону и Тони Блэру, и сегодня базы данных по геному человека доступны любому желающему. Уже в 2002 году Крейг Вентер покинул пост президента компании из-за конфликта с главным инвестором. Главная причина, по его собственным словам, состояла в том, что его целью было ускорение развития науки, а не получение прибыли, и к частному предпринимательству он обратился только тогда, когда не получил финансирования из других источников.

В середине 2000-х на свет появился Институт Джона Крейга Вентера (JCVI) — некоммерческая организация, занимающаяся геномными исследованиями. В ее состав наряду с двумя другими организациями вошли Фонд научных технологий Крейга Вентера и Институт геномных исследований (The Institute for Genomic Research, TIGR), созданный Вентером в 1992 году. Именно там в 1995 году впервые секвенировали геном свободноживущего организма — гемофильной палочки *Haemophilus influenzae*, возбудителя пневмонии и менингита.

В 2007 году электронный журнал «PLOS Biology» опубликовал статью сотрудников Института Крейга Вентера, а также их соавторов из Канады, Испании и университета Калифорнии. Статья была посвящена исследованию геномной последовательности Джона Крейга Вентера и провозглашала наступление эры индивидуальной геномики. (Полученные до того геномы человека были составлены из участков ДНК многих доноров, по большей части анонимных.) Предмет изучения прилагался к статье, он доступен и сейчас: PLoS Biol 5(10): e266. doi:10.1371/journal.pbio.0050266, по ссылке в конце, после предложения «Вы можете сами исследовать геном Крейга Вентера», грузится объемистый файл.

Этот шаг комментаторы оценивали как рискованный. Мирская общественность узнала о самом влиятельном биологе много интересного — например, что у него повышенная предрасположенность к антисоциальному поведению, болезни Альцгеймера и сердечно-сосудистым заболеваниям и даже что сера у него в ушах влажная, а не сухая (эта важная подробность тоже определяется генами).

Но конечно, главной целью работы было не это. Во-первых, секвенировали не гаплоидный геном Вентера, а диплоидный, то есть не три миллиарда нуклеотидов, а шесть миллиардов — двойной набор хромосом. Это давало возможность оценить вклад отцовских и материнских генов. Во-вторых, был усовершенствован «метод дробовика», точнее, компьютерный алгоритм, отвечающий за стыковку фрагментов, и повысилось качество чтения. В-третьих, неанонимный донор добросовестно предоставил информацию о состоянии своего здоровья, о своей родословной и о том, чем болели его кровные родственники, — было интересно сопоставить это с данными о его генах. В-четвертых, сравнение генома Крейга Вентера с «эталонным» геномом человека показало, что индивидуальных отличий в наших геномах намного больше, чем предполагалось.

Другой проект Крейга Вентера — широкомасштабное исследование геномов морских микроорганизмов, Global Ocean Sampling (GOS) Expedition. Для этого проекта Вентер предоставил свою собственную яхту «Sorcerer II». Изучение разно-

образия морских организмов приблизит нас к пониманию фундаментальных закономерностей экологии моря, в частности преобразований углерода. Кроме того, у морских организмов можно найти интересные гены для нужд науки и биотехнологий — нашли же сотрудники Сергея Лукьянова у кораллов флуоресцентные белки, которые дали ученым столько новых возможностей («Химия и жизнь», 2005, № 8). Это сближает GOS с еще одним увлечением Крейга Вентера. В 2005 году он стал одним из создателей компании «Synthetic Genomics», которая работает над получением бактерий, дрожжей и водорослей, способных производить биотопливо — этанол и водород. Разработку биотоплива многие считают делом несерьезным и полужанитарным, но крупная нефтяная компания «Эксон», один из спонсоров «Synthetic Genomics», очевидно, придерживается другого мнения.

В последние месяцы имя Крейга Вентера снова появилось в новостных лентах. Очередная авантюра: ни много ни мало, создание живого существа в пробирке. Рукотворный организм, на основе которого можно будет создавать другие организмы, с любыми необходимыми нам свойствами — клетки-микрореакторы, производящие хоть чистый бензин, хоть лекарство. Но главное, какова сама идея: собрать из простых органических молекул геном существа, которого нет в природе, — и запустить эту ДНК в производство, сделать шаг от геномного типа к фенотипу, сотворить существо небывалого биологического вида. Почти так, как говаривал герой Виктора Авилова в фильме «Господин оформитель»: «Вы знаете этого, с ним-то на голове? Мы с ним соперники».

Чтобы идея выглядела менее сумасшедшей, уточним, что это итог пятнадцати лет упорной работы. В 1996 году группа сотрудников TIGR под руководством Клер Фрэзер (в то время жены Вентера) секвенировала геном *Mycoplasma genitalium*. Эта паразитическая бактерия, обитающая в половых и дыхательных системах приматов, долгое время считалась организмом с самым коротким геномом — 582970 пар оснований, менее двух тысяч генов. (Потом в горячих источниках на дне океана была найдена архея *Nanoarchaeum equitans* с еще более коротким геномом, но она не может самостоятельно синтезировать многие важные биомолекулы и живет только «по соседству» с другими клетками.)

Примерно к этому же времени относится сенсационная находка «нанобактерий» в метеорите марсианского происхождения («Химия и жизнь», 1997, № 3, 1998, № 7). Марсианские нанобактерии оказались артефактом, но тем не менее сыграли важную роль в развитии биологии, вызвав дискуссии: какой объем займет самый короткий из возможных геномов и какова должна быть его длина в нуклеотидах?

Логично было взять самый маленький геном и двинуться по пути, хорошо знакомому экспериментаторам: «выключать» гены микоплазмы по одному и смотреть, без каких генов она может обойтись. Сотрудники Вентера так и поступили, разработав метод транспозонного мутагенеза: мобильные генетические элементы встраивались в геном случайным образом, а затем геном выживших штаммов читали, начиная от этого элемента, чтобы выяснить, куда влетела «опечатка». Но так можно было нокаутировать по одному гену, а если клетка выживает без гена А и гена В, отсюда не следует, что она выжи-

вет без обоих. Поэтому возникла идея зайти с другого конца: не урезать природный геном, а собирать его искусственно, добавляя фрагменты «до результата».

Вентер с коллегами начали с генома бактериального вируса ФХ174 — первый секвенированный геном ДНК-вируса, размером «всего» в 5 тысяч пар нуклеотидов. ДНК такой длины еще в 90-е годы возможно было синтезировать в бесклеточной системе. Однако искусственный геном почему-то не желал работать как надо — будучи введенным в клетку бактерии, не запускал сборку вирусных частиц. Работа надолго затормозилась, в том числе потому, что Вентер и его коллеги «отвлеклись» на геном человека. А причина неудачи оказалась банальной: синтезированная ДНК содержала слишком много ошибок. Как сказали бы программисты, баги пофиксили, и тут же все получилось: в клетке кишечной палочки, которую заразили пробирочной ДНК, начали собираться вирусные частицы.

Синтезировать очень длинные молекулы ДНК чисто химическим путем невозможно: они ломаются, и приходится обращаться к помощи клеток, чтобы они смотали и упаковали как следует этот ценный полимер. Небольшие фрагменты ДНК клонировали в клетках той же кишечной палочки и соединяли, постепенно увеличивая размер. Наконец, четыре фрагмента по четверти генома микоплазмы в каждом «поручили» дрожжевым клеткам, добавив к ним центромеры — последовательности, характерные для хромосом дрожжей. Система рекомбинации дрожжей собрала крупные фрагменты в одно целое. В январе 2008 года Институт Крейга Вентера объявил о том, что геном микоплазмы полностью синтезирован — собран «с нуля» из нуклеотидов. Полученной ДНК дали название *Mycoplasma genitalium* JCVI-1.0. В ней

поврежден ген, обеспечивающий патогенность, зато присутствуют участки, не встречающиеся в природе, — своего рода метки, чтобы можно было узнать эту ДНК и подтвердить ее искусственное происхождение.

Вообще, при переносе ДНК одного вида в клетку другого часто возникают проблемы. Например, если ген гемофильной палочки кодирует продукт, токсичный для *E. coli*, этот ген будет сложно клонировать в кишечной палочке: бактерия постарается избавиться от вредоносной последовательности. (С этим и столкнулись сотрудники TIGR, когда секвенировали геном *Haemophilus*.) С другой стороны, различия в генетических «диалектах» организма — донора ДНК и реципиента, в котором эта ДНК клонируется, могут сыграть на руку исследователям. Например, у микоплазмы некоторые нуклеотидные триплеты имеют не те значения, что у кишечной палочки и дрожжей. Триплет UGA — у большинства организмов терминирующий, ему не соответствует никакая аминокислота, и он обозначает конец белковой цепочки. У микоплазмы ему соответствует аминокислота триптофан, и, возможно, поэтому ее белки не синтезируются в дрожжах — а значит, дрожжевая клетка может без вреда для себя копировать гены микоплазмы.

Все эти и многие другие тонкости придется учитывать специалистам по синтетической геномике. Мало написать программу — чтобы она заработала, необходимо оборудование, способное ее выполнить, то есть ферменты, белковые факторы, рибосомы, транспортные РНК, предназначенные для работы именно с такой ДНК. Конечно, белки и РНК можно закодировать в синтетическом геноме, но штука в том, что они должны присутствовать в системе и до запуска — иначе запуск не со-

## Крейг Вентер: «В течение ближайшего года это случится»



*Как насчет последней стадии — запуска синтетического генома? Насколько вы к ней близки?*

Каждый раз, когда мы пытались запустить синтетический геном, мы сталкивались с новым набором проблем. На наш взгляд, сегодня мы решили их все, но точно сможем это сказать, только когда получим клетку, полностью подконтрольную геному, созданному химическим путем. На данный момент мы этого еще не сделали, но есть шанс, что в течение ближайшего года это случится — о чем, напомню с некоторым оптимизмом, я говорил последние два года.

*В будущем ставку сделают на синтетическую ДНК?*

Нет. Для начала у нас имеется спектр из 20–40 миллионов генов. Некоторые из них придется синтезировать, остальные можно будет копировать методом ПЦР. У нас будет 40 миллионов колб с генами, и в будущем мы станем собирать геномы из них. Но, думаю, чтобы доказать свою концепцию, для нас важно начать с четырех колб с химическими веществами и поставить на геноме водяной знак — сделать понятным абсолютно каждому, что эту клетку действительно контролирует синтетическая хромосома. <...>

*Насколько мы еще далеки от понимания того, как регулируются сложные генетические циклы в синтетической системе?*

Согласно принципам «эволюции в пробирке», достаточно иметь минимальную основу, каркас, чтобы воспроизвести

миллиарды лет эволюции, добавляя к ней дополнительные компоненты. Достаточно посмотреть на то, что делают различные группы ученых — группа Джея Кислинга, которые создают генно-инженерные дрожжи, производящие артемизинин (вещество, полученное из полыни однолетней, применяется для лечения малярии. — *Примеч. ред.*); синтез пропандиола в *E. coli*, осуществленный в корпорации «Дюпон», — чтобы увидеть: большая часть усилий у них ушла на то, чтобы отсечь пути, отклоняющие потоки углерода от цели. (Имеется в виду углерод в каркасе органических молекул, которые перестраивает клетка. — *Примеч. ред.*) Было бы идеально построить живой объект, основываясь на изначальном принципе. Мы не хотим начинать со сложных систем и пытаться их упростить — мы пытаемся построить вещи, которые действительно понимаем и умеем контролировать. Мы хотим начать с минимальной системы, а потом уже добавлять в нее что угодно. Или получить несколько универсальных каркасов, которые по-настоящему работали бы. Именно этим и занимается сейчас наша команда, в том числе использованием новых аминокислот. Некоторые группы развивают биологические циклы превращения веществ. Так же, как в прошлом использовались транзисторы и конденсаторы, в будущем мы сможем брать с полки биологические компоненты, чтобы создать новую схему. Мы просто пытаемся установить для этого основные принципы. Я уже много раз наблю-



стоит. Именно поэтому в природе всякая клетка происходит из клетки и никак иначе: от родительской клетки наследуется молекулярная машинерия, необходимая для запуска программы. Геном, созданный *de novo*, должен будет позаимствовать эту машинерию у клетки-реципиента, поэтому выбор «суррогатной матери» для искусственной ДНК будет отдельной задачей. Крейг Вентер, впрочем, говорил о создании универсальной реципиентной системы, которая сумеет прочесть и запустить любую ДНК-программу. Но на этом интригующем моменте мы остановимся и вернемся к микоплазме.

Следующим шагом должен стать перенос синтезированного генома обратно в клетку микоплазмы. По мысли авторов, синтетический геном перепрограммирует ее и возникнет новый организм, которому уже придумали название — *Mycoplasma laboratorium*. Но лабораторная микоплазма пока еще не с нами, так как возникли новые проблемы. Ученые пробовали выделить геном из клетки другого вида микоплазмы — *M. mycoides* и ввести ее в клетку другого вида, и все получалось как надо. А точно такая же ДНК после клонирования в дрожжах упорно отказывалась руководить клеткой.

Некоторые читатели уже догадались, что причина может быть в рисунке метилирования — присоединении  $\text{CH}_3$ -групп к нуклеотидам, которое не меняет последовательность «букв» генома, но регулирует активность генов. Пришлось получать ферменты микоплазмы, отвечающие за метилирование, и обрабатывать ими хромосомы, извлеченные из дрожжевых клеток. Манипулировать сверхдлинными молекулами ДНК пришлось не в растворе, а в гелевых блоках, чтобы не повредить сверхспирализованную структуру. «Команда выполнила бле-

дал в науке: как только это произойдет, переход к следующим стадиям будет очень быстрым.

#### **Каким может быть коммерческое использование синтетических организмов?**

В данный момент компании рассчитывают, что появятся способы производить за счет солнечного света топливо, или нефть, или пищевые продукты, или чистую воду, — и все это начнется с природных организмов или самых простых модификаций существующих организмов. Если сегодня вкладывают миллиарды в инфраструктуру, использующую живые клетки версии 1.0 — то есть клетки, модифицированные с помощью классической генной инженерии, или метаболической инженерии, или даже имеющие искусственно сконструированные пути метаболизма, которые гарантированно работают, — то будущее будет полностью основано на синтетической геномике.

Потому что как только будет выстроена эта мультимиллиардная инфраструктура производства, развитие биологии станет самой важной экономической целью. Изменения последуют очень быстро, как в любой индустрии. Посмотрите, какими примитивными кажутся сейчас наши опыты 15-летней давности по секвенированию ДНК. Эти ранние работы теперь признаны этапными. В TIGR у нас было самое большое в мире производство, способное осуществлять 100 000 сиквенсов в год. В «Celera» мы делали 100 000 в день с помощью 300 машин, а сейчас для этого до-

статочно единственной машины нового поколения. Такие же изменения произойдут и с синтетической биологией. Инструменты, которые используются сейчас, весьма примитивны. Думаю, идеи, стоящие за работой нашей команды, очень важны, потому что они доказывают: то, о чем мы говорим, возможно.

#### **Как ваши работы сочетаются с другими исследованиями в области синтетической биологии?**

Сейчас многие называют синтетической биологией классическую молекулярную биологию — как физиологию превратили в системную биологию. Есть люди вроде Ли Гуда (американский биолог Лерой Гуд. — *Примеч. ред.*), которые жестко ограничивают понятие «системная биология», но зачастую люди просто думают, что им нравится такое сексуальное название; они прекращают заниматься физиологией и объявляют себя системными биологами. Сейчас все хотят уцепиться за эти новые соблазнительные термины — и притворяются, что занимаются системной биологией или синтетической геномикой.

#### **В чем вы видите главное значение вашей работы?**

Изначальной нашей целью было понять, что лежит в основе работы живой клетки и можно ли это воспроизвести. Думаю, наше открытие — что для жизни нужны только молекула с информацией в ДНК и возможность читать информацию, чтобы создавать белки, самособирающиеся в живые клетки, — очень важно. Мы начи-

стящую работу. В науке так всегда бывает — именно маленькие ежедневные прорывы приводят к грандиозным открытиям» — так сказал Крейг Вентер главному редактору журнала «Nature Biotechnology» Эндрю Маршаллу в интервью под названием «Волшебник синтетических геномов» (2009, № 12). Поводом для беседы стала статья Крейга Вентера, Гамильтона Смита, Клайда Хатчинсона и др., опубликованная в «Science» (2009, т.325, с.1693—1696). Среди «др.» есть русские имена, но все участники работы — сотрудники института Вентера. Они клонировали целый геном *Mycoplasma mycoides* в дрожжах и затем поместили его в клетку близкородственного вида — *Mycoplasma capricolum*. (С синтетической ДНК решили повременить.) В дрожжевой клетке геном был модифицирован, так что после пересадки клетка-реципиент дала начало новому штамму *M. mycoides*. Вот фрагменты из интервью (перевод В.Дегтяревой).

наем с живых клеток и перепрограммируем их новыми ДНК, но не создаем жизнь из базовых элементов. Я думаю, для многих оказалось удивительным, что можно полностью перепрограммировать клетки и создать новые виды, всего лишь заменив программное обеспечение.

Я бы отделил синтетическую геномику, как более узкое понятие, от синтетической биологии, которая может включать в себя все что угодно — от молекулярной биологии до генной инженерии и генных циклов. Но цель синтетической геномики — начать в компьютере, в цифровом мире, с цифровой биологии и сделать новые ДНК-конструкции для совершенно особенных целей. Поэтому так важно доказать, что это возможно. Мы еще не полностью осуществили задуманное, но уже подобрались совсем близко. Это может означать, что как только мы выясним законы жизни, то сможем создать самообучаемых роботов и вычислительные системы. С помощью комбинаторной геномики, используя 20 миллионов генов в наших базах данных, одна-единственная роботизированная система узнает о биологии больше, чем за все предыдущее десятилетие. Это начало новой эры очень быстрого познания. Если бы наука двигалась вперед линейно, мы все потерпели бы неудачу. Нет ни одного аспекта человеческой жизни, который потенциально не мог бы кардинально перемениться в будущем благодаря этим технологиям.



## **ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ**

