

Содержание

Введение	9
----------------	---

ЧАСТЬ I. Ингредиенты жизни

Глава 1. ДНК: код и спираль	27
Глава 2. Белки: молекулярное оригами	45
Глава 3. Гены и механика ДНК	63
Глава 4. Хореография генов	82
Глава 5. Мембраны: жидкая кожа	100
Глава 6. Предсказуемая случайность	117

ЧАСТЬ II. Жизнь во всей полноте

Глава 7. Сборка эмбрионов	135
Глава 8. Конструирование органов	159
Глава 9. Экосистема внутри вас	172
Глава 10. Восприятие масштаба	198
Глава 11. Жизнь на поверхности	220
Глава 12. Загадки размера и формы	233

ЧАСТЬ III. Конструирование организмов

Глава 13. Как мы читаем ДНК	251
Глава 14. Генетические комбинации	278
Глава 15. Как мы пишем ДНК	304
Глава 16. Конструирование будущего	333
<i>Благодарности</i>	355
<i>Рекомендуемая литература</i>	357
<i>Примечания</i>	359

ЧАСТЬ I

Ингредиенты жизни

Глава 1

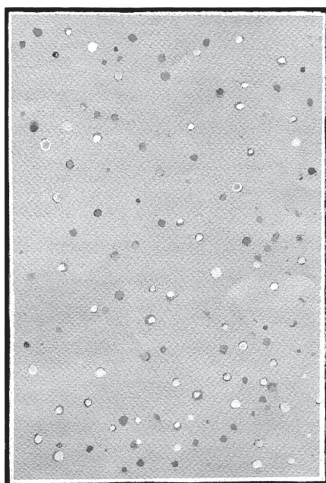
ДНК: код и спираль

В Национальной портретной галерее в Лондоне висит бежевая пластинка агаризованной питательной среды, поросшей бактериальными колониями¹. В этих бактериях содержатся копии ДНК нобелевского лауреата Джона Салстона*. И хотя друзья Салстона, вероятно, не уловили бы здесь портретного сходства с моделью, художник Марк Куинн отмечает, что именно эта работа — “самый реалистичный портрет в портретной галерее”, поскольку “содержит подлинные инструкции, которые привели к созданию Джона”².

Сегодня даже малым детям объясняют, что ДНК каким-то образом делает вас вами, определяя цвет глаз, форму носа, вашу любовь к кориандру и многое другое. Мы привыкли к мысли, что в ДНК закодированы инструкции, которые управляют нами. Но что же означает это слово — “закодированы”?

Наше биофизическое исследование структур и механизмов жизни начинается с ДНК — молекулы знакомой, даже культовой, но абстрактной во многих встречаемых нами опи-

* Британский биолог Джон Эдвард Салстон (1942–2018) известен прежде всего как исследователь эмбрионального развития модельного червя *Caenorhabditis elegans* и как одна из центральных фигур в проектах прочтения геномов *C. elegans* и человека. Нобелевскую премию в 2002 году он получил совместно с Сиднеем Бреннером и Робертом Хорвицем “за открытия, связанные с генетической регуляцией развития органов и программируемой клеточной гибели”. Салстон выступал за свободный доступ к научным данным и против патентования генетической информации, считая такой способ извлечения прибыли аморальным.



саниях. На протяжении нескольких глав мы будем изучать, как инструкции прописываются в ДНК, рассматривая белки, гены и сети взаимосвязей между ними. За последние десятилетия представления ученых о том, как из этих компонентов составляются и сами сообщения, и инструменты для чтения сообщений, сильно расширились, и мы продолжаем, образно говоря, распутывать хитросплетения ДНК. Сравнительно недавно удалось разработать головокружительные способы вмешательства в закодированную в ней информацию, правда, исходы таких вмешательств мы в полной мере еще не представляем (см. часть III). В этой главе мы сосредоточимся на самой ДНК, что сразу же позволит прочертить связи между биологией и физикой, а также между наукой и технологиями.

Четыре образа ДНК

ДНК — это не просто сборник абстрактных инструкций, а оформленное и структурированное вещество, физические свойства которого тесно связаны с его функциями. Что же

представляет собой это вещество? Твердое оно или жидкое, жесткое или гибкое, плотно уложенное или рыхло? ДНК многогранна, и можно фокусироваться на разных ее аспектах в зависимости от того, что именно нас интересует. Давайте посмотрим на ДНК с четырех ракурсов.

1. ДНК — это бесцветная слизь. Мы можем подержать ДНК в руках и рассмотреть невооруженным глазом. Это не сложно: с помощью блендера и простейших бытовых химикатов мы можем извлечь ДНК, скажем, из клубники или зеленого горошка. Рецепт примерно таков: измельчите фрукты или овощи блендером — так вы оторвете их клетки друг от друга. Добавьте в полученную массу моющее средство, чтобы растворить клеточные мембраны. Капните немного приправы для размягчения мяса или ананасового сока — там содержатся ферменты, расщепляющие белки. Теперь ДНК — единственный клеточный компонент, оставшийся невредимым. Добавьте медицинский спирт, который растворит фрагменты белка, но ДНК не тронет. ДНК соберется в длинные нити, ко-



торые можно вытянуть зубочисткой, — так мы получим мутно-белый волокнистый сгусток. Это и есть ДНК. Выглядит она так себе. Однажды извлечение ДНК на практикуме даже довело меня до слез. Дело, однако, было в том, что я совершил ужасную ошибку, выбрав в качестве исходного сырья для опыта лук — субстанцию удобно бесцветную, но страшно режущую глаз.

2. ДНК — ЭТО ЗАКОДИРОВАННОЕ СООБЩЕНИЕ. На другом полюсе осязаемости находится ДНК в образе абстрактного, закодированного четырьмя символами сообщения. Эти символы принято обозначать буквами — А, Т, Ц, Г, — но с нашей задачей справятся и четыре разноцветных квадратика. Та или иная последовательность символов кодирует информацию о том, как вашим клеткам строить то, что им необходимо строить, и делать то, что им необходимо делать. Сколько же информации способна вместить ДНК? Давайте сравним этот объем с объемом цифровой информации, хранящейся в переносном музыкальном плеере. Сегодня мы привыкли к “битам” и “байтам” — единицам информации. Бит (от англ. *binary digit*, двоичная цифра) — это любой сигнал, который может принимать лишь два значения: да или нет, 0 или 1, север или юг у магнита. Флешка емкостью 1 гигабайт содержит около 8 миллиардов бит информации: “гига” значит “миллиард”, а байт состоит из восьми бит. Ее содержимое можно записать как определенную последовательность нулей и единиц (...011101001100101000110111010000110111000011010011...). А сколько же бит в последовательности ДНК каждого человека? Наша ДНК состоит из 3 миллиардов символов, то есть из 3 миллиардов А, Т, Ц и Г. Чтобы перевести каждый символ в двоичный код, мы могли бы составить словарь, такой например:

00 = А

01 = Т

10 = Ц

11 = Г

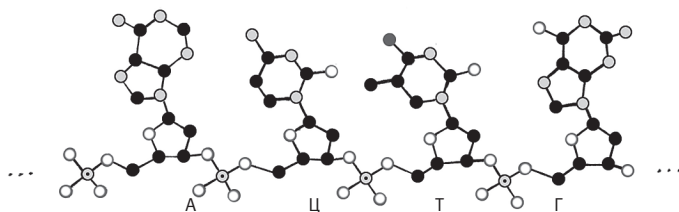
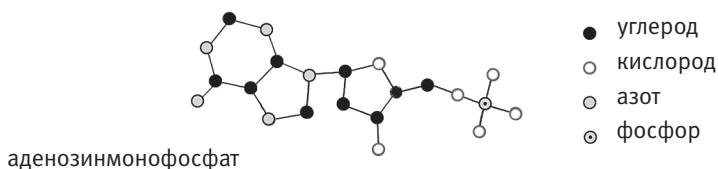
Последовательность АТТГЦ соответствовала бы 0001011110. Следовательно, в нашем геноме, состоящем из 3 миллиардов символов, содержится 6 миллиардов бит информации — это меньше гигабайта и, вероятно, заняло бы лишь малую часть памяти телефона, лежащего у вас в кармане. И вот загадка: при таком заметном дефиците информации во мне я кажусь гораздо более сложным, чем мой телефон! На страницах этой книги мы часто будем сталкиваться с концепцией сложности. Пока же нас интересует более насущный вопрос: как эта абстрактная картина с кодами и информацией соотносится с изображенным выше волокнистым сгустком?



3. ДНК — это молекула. Как и все молекулы, ДНК состоит из атомов — в ее случае из атомов углерода, водорода, кислорода, азота и фосфора, удерживаемых химическими связями. Четырьмя символами кода, упомянутыми выше, обозначают четыре специфических композиции атомов, называемые *нуклеотидами* (*нуклеозидфосфатами*)*. Они сшиты друг с другом в длинную цепь — молекулу ДНК. На рисунке ниже кружочками показаны все атомы аденозинмонофосфата (А), черными линиями обозначены химические связи. (Чтобы не перегружать рисунок, я решил пренебречь слишком уж многочисленными атомами водорода.) Ниже этой структуры я изобразил атомы четырехнуклеотидной последовательности АЦТТ, а многоточиями обозначил места, где этот фрагмент присоединялся бы к соседним нуклеотидам, входил он

* Нуклеотид = нуклеозид (азотистое основание + пятиуглеродный сахар) + фосфатная группа. В ДНК встречается четыре вида азотистых оснований: аденин (А), гуанин (Г), тимин (Т) и цитозин (Ц). Именно ими различаются нуклеотиды, а потому именно по ним мы и “читаем” ДНК (при этом, скажем, под буквой А мы обычно подразумеваем не само основание *аденин*, а нуклеотид *аденозинмонофосфат* целиком). Сахар, входящий в состав нуклеотидов ДНК, называется *дезоксирибозой*. Деоксирибозы разных нуклеотидов соединяются друг с другом через фосфатные группы в цепочки, формируя остов ДНК (*дезоксирибонуклеиновой кислоты*), а азотистые основания как бы торчат из него.

в состав более длинной нити. Определения последовательности нуклеотидов в цепи вполне достаточно, чтобы идентифицировать молекулу ДНК: сокращение АЦТГ, например, в точности соответствует структуре из атомов, которую я нарисовал, и не может относиться ни к какому другому набору атомов.



4. ДНК — это двойная спираль. Взаимодействия атомов определяют строение молекулы, а строение молекулы обуславливает ее функцию. Любой из четырех нуклеотидов — А, Т, Ц, Г — может быть связан с любым другим для формирования одной нити ДНК. Но нуклеотиды также взаимодействуют, хоть и слабее, *между* нитями, причем весьма характерным образом: А связывается исключительно с Т, а Ц — с Г. (Мы говорим, что нуклеотиды в этих парах *комплементарны* друг другу.) Одна нить ДНК — например, АГЦЦТАТГА — связывается со своей комплементарной нитью ТЦГГАТАЦГ*. На рисунке ниже показаны атомы ДНК, сформированной из нити АЦТГ и комплементарной ей ТГАЦ; тонкими пунктирными перемычками там обозначены межнитевые связи**.

* Эти нити в реальности направлены противоположно друг другу, то есть *антипараллельны*.

** Азотистые основания комплементарных цепей взаимодействуют друг с другом с помощью относительно слабых *водородных связей*.

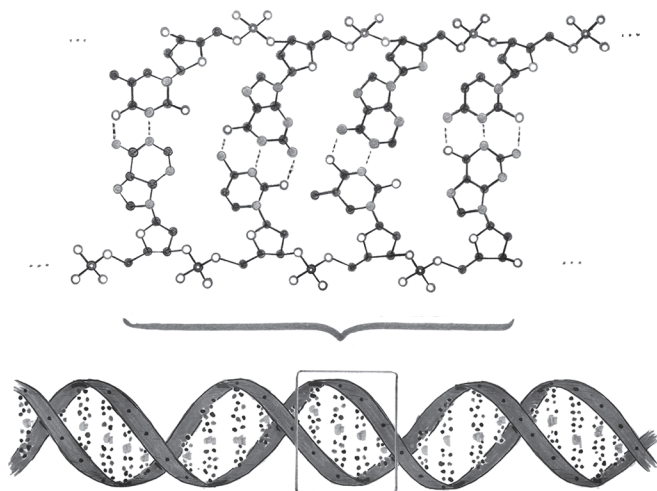
Благодаря межатомным взаимодействиям нити ДНК, как плющ, обвивают друг друга, образуя двойную спираль. Этот рисунок вторит утрированному “портрету” двойной спирали, который мы видели бесчисленное множество раз: плавно изогнутые ленты и упорядоченные точки призваны чисто схематически передать куда более сложные расстановки атомов и связей, существующие в трехмерном пространстве.

Каноническая двойная спираль ДНК не только изящна, но и функциональна. Две комплементарные нити содержат избыточную информацию: если я сообщу вам последовательность нуклеотидов в одной нити, вы будете знать и последовательность в другой, поскольку каждый нуклеотид комплементарен своему партнеру. Эта избыточность показывает, как информация может переноситься при делении из одной клетки в две дочерние: ДНК “растегивается”, словно молния, и после этого синтезируется комплемент для каждой из исходных цепей, в результате чего из одной двойной спирали ДНК получаются две.

Структуру двухцепочечной ДНК в 1953 году вычислили Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик, опираясь на великолепные рентгеновские снимки Розалинд Франклин и ее студента Рэймонда Гослинга. (Это увлекательная история, полная гениальных прозрений и трагичных этических упущений, но она прекрасно рассказана в других источниках³.) Прежде никто не знал, как выглядят молекулы ДНК. Весомее прочих выглядела гипотеза Лайнуса Полинга, одного из ведущих исследователей химических связей: он предполагал, что ДНК формирует трехнитевое перекрученное волокно (тройную спираль). После открытия двойной спирали стало ясно, как структура ДНК обеспечивает передачу генетической информации: путем копирования комплементарных цепей. Однако другие следствия такого строения ДНК не столь очевидны, и мы до сих пор продолжаем изучать ее загадки.

В живых клетках, как и в стерильных лабораторных растворах, отдельные нити ДНК самопроизвольно закручи-

ваются в двойную спираль, если содержат комплементарные последовательности нуклеотидов. Для этого не нужны ни внешние строительные леса, ни крепеж: ДНК содержит в себе механизм собственной организации, иллюстрируя принцип самосборки, снова и снова всплывающий при изучении жизни.



Каждый из описанных образов ДНК по-своему полезен и заостряет внимание на характеристиках, важных для исполнения этой молекулой разных ролей. Волокнистая слизь, извлекаемая из размолотых в пюре клеток, может, и неказиста на вид, но ни один из более эффективных способов применения ДНК — выделение из раковых клеток для изучения их геномов, сбор на местах преступлений для вычисления подозреваемых и так далее — не работал бы без учета материальной, физической природы ДНК. Образ абстрактной кодограммы сообщает нам, что информация, содержащаяся в ДНК, определяется последовательностью символов. Когда мы говорим об уникальности ДНК каждого человека, то подразумеваем, что ваша последовательность нуклеотидов, или цветных квадратиков, отличается от моей. (Правда, отличается она незначительно: более 99% на-

ших квадратиков совпадут.) Когда мы говорим, что знаем геном какого-то организма, то подразумеваем знание полной последовательности его символов. Это сообщает нам о многом, но, как мы увидим, все же оставляет массу неопределенности. Нам важно знать строение ДНК на атомном уровне — точную архитектуру ее атомов, а не только последовательность символов, — например, при разработке инструментов для разрезания и соединения нитей ДНК, о чем мы поговорим в контексте редактирования генома (см. часть III). Но чаще хватает и знания последовательности звеньев А, Ц, Г, Т. Двойная спираль описывает, как ДНК располагается в пространстве. Размер, форма, жесткость и электрический заряд двухцепочечной ДНК определяют, как она упакована в клетках и как с нее считывается информация. Чтобы понять важность физической природы двухцепочечной ДНК, рассмотрим для начала процесс, который изменил биотехнологии, — *полимеразную цепную реакцию*.

Плавится ли ДНК?

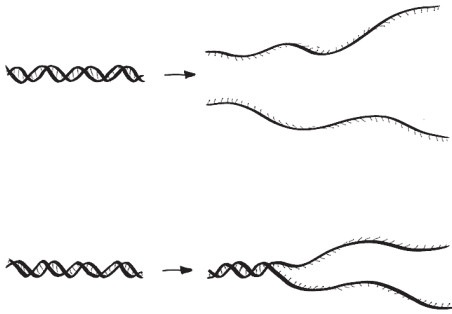
Допустим, вы хотите создать точную копию интересующей вас ДНК. Для этого пришлось бы сначала разделить две нити двойной спирали, а затем создать нуклеотидные цепочки, комплементарные каждой из них. Фактически именно это и происходит при каждом делении клеток, когда специальные белки “расстегивают” двухцепочечную ДНК. Однако за пределами клеток мы можем применять другой подход, который позволяет нам реплицировать (размножить копированием) любые участки ДНК по нашему желанию: ничтожное количество ДНК мы преобразуем в бесчисленное множество идентичных копий, чтобы генетического материала хватило для проведения анализов или переноса в новые объекты. Крошечные количества нуклеотидных цепей можно, например, добыть на месте преступления, чтобы оценить их сходство с ДНК подозреваемых; или выделить из амниотической

жидкости, чтобы проверить, нет ли у развивающегося плода генетических аномалий либо инфекций, которые можно выявить по нуклеиновым кислотам возбудителей; или извлечь из опухоли, чтобы картировать в геноме мутации, указывающие на развитие рака; или, наконец, отобрать из организма нобелевского лауреата, чтобы реплицировать и по частям внедрить в бактерии, которые разрастутся в настоящий арт-объект. Искусственная репликация ДНК, как и естественная, требует разделения двойной спирали, а его, в свою очередь, обеспечивает такое физическое явление, как *фазовый переход*⁴.

Представьте, что нас интересует, как разделить не нити двойной спирали ДНК, а прочно связанные молекулы воды, из которых состоит кубик льда. Мы знаем ответ: лед надо нагреть. При температуре выше 0 °С лед расплавляется в жидкую воду, где каждая молекула пребывает в движении, лишь мимолетно связываясь с другими молекулами. Как правило, температура выступает злейшим врагом притяжения и порядка, и эта тема постоянно всплывает в физике. В случае с водой переход из твердого состояния в жидкое происходит резко, как только достигается *температура плавления*, равная 0 °С при нормальном атмосферном давлении. Даже если температура хотя бы на пару градусов ниже нуля, вода пребывает в твердом состоянии, если же на пару градусов выше — в жидком. Не у всех веществ, однако, этот переход столь же резок. Мед при нагревании не становится текучим только в момент достижения определенной температуры, а теряет вязкость постепенно.

Как мы помним, связи *между* нитями двойной спирали ДНК слабее, чем *внутри* нити. Это позволяет нам предположить, что можно разделять нуклеотидные цепочки нагреванием, не уничтожая их. И так оно и есть, но насколько постепенно происходит это преобразование? Иными словами, *плавится* ли ДНК? Ответ на этот вопрос важен, если мы хотим разделять нити для дальнейшей репликации. Если ДНК плавится (денатурирует в узком диапазоне температур, резко), то превышением температуры фазового перехода даже на не-

сколько градусов мы точно добьемся полного разделения цепей (см. верхнюю половину рисунка). Если же ДНК не свойственен такой фазовый переход, то, скорее всего, часть молекулы останется неразделенной и ее невозможно будет скопировать (см. нижнюю половину рисунка).



Во втором случае мы можем продолжать нагрев до тех пор, пока не разделится все фрагменты ДНК, но, вероятно, на практике это потребует таких высоких температур, что сама ДНК и любые другие биологические молекулы окажутся поврежденными.

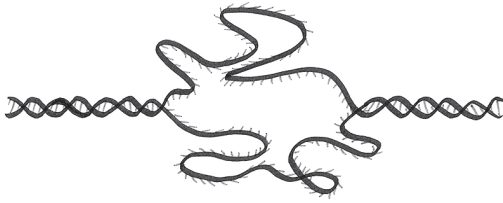
Как выясняется, цепи ДНК разделяются резко, то есть молекула действительно плавится. Если взять пробирку с ДНК и нагреть ее, молекулы останутся двухнитевыми до достижения определенной температуры плавления, а сразу после ее превышения распадутся на отдельные нити. Мы не просто можем измерить это в лаборатории, но и понимаем, почему так происходит. Выяснение природы фазовых переходов — переходов между твердым, жидким и газообразным состояниями, или между магнитной и немагнитной формами, или между любыми другими альтернативными структурами материалов — стало одним из величайших триумфов физики XX века. Плавление ДНК — это переход от порядка к беспорядку, в целом типичный для всех переходов, но имеющий свои особенности.

Все фазовые переходы отражают конфликт порядка и беспорядка. В основе порядка, как правило, лежит энергия, связанная с притяжением или выравниванием, а беспорядок определяется геометрией — тем, какими способами компоненты могут располагаться в пространстве. Повышение температуры многократно усиливает позиции беспорядка. При низкой температуре побеждает стремление к порядку, при высокой беспорядок берет верх. Так, в холоде молекулы воды выстраиваются в кристаллическую решетку льда, а когда теплеет, их положение в пространстве характеризуется типичной для жидкости хаотичностью. Утверждение, что плавление представляет собой резкий переход от одного состояния к другому, означает существование специфической температуры, разделяющей их, то есть четкой границы между фазами порядка и беспорядка.

Энергия упорядочения и разновидности беспорядка зависят от того, какие измерения может осваивать вещество. Последствия фазовых переходов драматичны, и в общем случае теория не предсказывает резкого перехода одномерных материалов из одной фазы в другую. Так, цепочка из молекул воды не должна расплавиться вдруг в какой-то точке температурной кривой: беспорядок возникнет уже при самой низкой из возможных температур и будет неуклонно усиливаться с ее повышением.

С приличной долей приближения можно сказать, что протяженная двухцепочечная ДНК одномерна — как идущие одна за другой ступеньки на приставной лестнице. Следовательно, ее резкое плавление, наблюдаемое в лаборатории, вроде бы противоречит ожиданиям. Однако, когда нити расцепляются, высвобожденная одноцепочечная ДНК изгибается и скручивается в трех измерениях (см. рисунок) под действием случайных сил, влияющих на все молекулы, которые мы обсудим в этой книге. Хотя движения нитей случайны, их последствия стабильны и предсказуемы (с подобным мы не раз еще столкнемся): благодаря конечной конфигурационной свободе пол-

ное их разделение происходит при фиксированной температуре перехода, как это свойственно трехмерным материалам. Располагая экспериментальными данными и теоретическим обоснованием, мы можем даже спрогнозировать температуру, при которой разделится та или иная молекула ДНК. Обычно температура перехода составляет около 95 °С, что чуть ниже температуры кипения воды, но точное значение сильно зависит от нуклеотидной последовательности.



Итак, мы можем разделить нити ДНК в пробирке, просто нагрев ее. Если мы хотим реплицировать эту ДНК, далее необходимо построить комплементарные последовательности к каждой из нитей. Для этого мы можем позаимствовать у природы инструмент, рутинно применяемый нашими клетками, — фермент *ДНК-полимеразу*. Однако при температуре плавления ДНК обычные белки превратятся в бесполезную резиноподобную массу наподобие вареного яичного белка (который в сухом остатке и состоит главным образом из белка). Биологам пришлось найти хитрый способ этого избежать: мы применяем *ДНК-полимеразы* из бактерий, живущих в горячих источниках, поскольку белки этих организмов в ходе эволюции приспособились исправно работать при высокой температуре. При этом важно, что для начала репликации нити ДНК любой полимеразе необходим хотя бы небольшой двухнитевой участок молекулы (см. рисунок ниже). Бактериологи обнаружили и очистили термостабильную полимеразу в 1976 году, и к началу 1980-х все ингредиенты оказались в сборе.