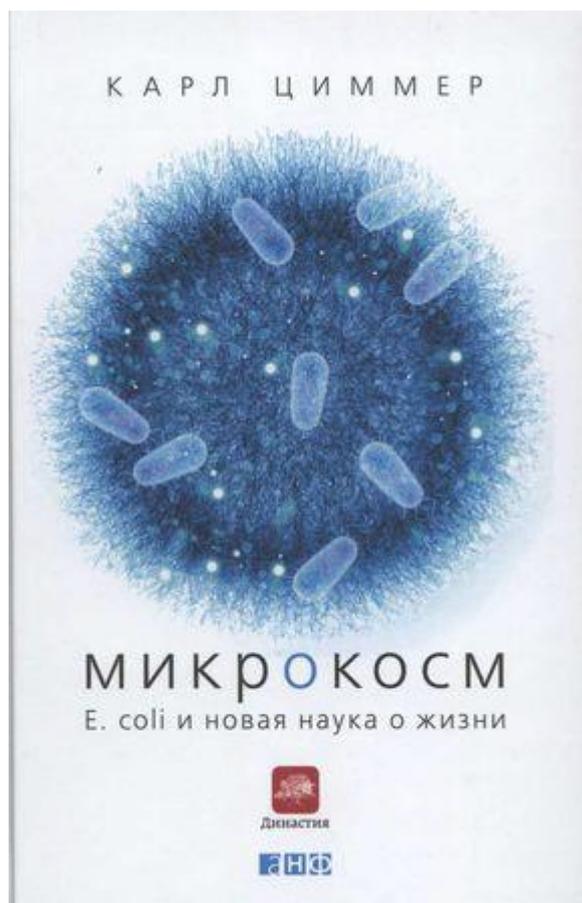


## Карл Циммер - Микрокосм. *E. coli* и новая наука о жизни (2013)



взято: <http://profilib.com/chtenie/150044/karl-tsimmer-mikrokosm-e-coli-i-novaya-nauka-o-zhizni.php>

*E. coli*, или кишечная палочка, - микроорганизм, с которым мы сталкиваемся практически ежедневно, но который при этом является одним из важнейших инструментов биологической науки. С ним связаны многие крупнейшие события в истории биологии, от открытия ДНК до новейших достижений генной инженерии. *E. coli* - самое изученное живое существо на Земле.

Интересно, что *E. coli* - общественный микроб. Автор проводит удивительные и тревожные параллели между жизнью *E. coli* и нашей собственной жизнью. Он показывает, как этот микроорганизм меняется практически на глазах исследователей, раскрывая перед их изумленным взором миллиарды лет эволюции, закодированные в его геноме.

Издание подготовлено при поддержке Фонда Дмитрия Зимина "Династия"

Династия

Фонд некоммерческих программ "Династия" основан в 2001 г. Дмитрием Борисовичем Зиминим, почетным президентом компании "Вымпелком". Приоритетные направления деятельности Фонда - поддержка фундаментальной науки и образования в России, популяризация науки и просвещение. В рамках программы по популяризации науки Фондом запущено несколько проектов. В их числе - сайт [elementy.ru](http://elementy.ru), ставший одним из ведущих в русскоязычном Интернете тематических ресурсов, а также проект "Библиотека "Династии" - издание современных научно - популярных книг, тщательно отобранных экспертами - учеными. Книга, которую вы держите в руках, выпущена в рамках этого проекта.

### МИКРОКОСМ. *E. coli* и новая наука о жизни

#### Глава 1. Росчерк жизни

Я держу в руках прозрачную круглую коробочку и смотрю в окно. Всюду жизнь: двор зарос овсяницей и клевером, зверобой тянет листочки к солнцу и приманивает цветками жужжащих шмелей. Рыжий кот притаился под кустом сирени и, задрав голову, выслеживает зазевавшегося щегла. В небе летают снежные цапли и чайки. Нагло выглядывают из травы поганки и весёлки. У них есть общая черта, отличающая их от валунов и водопадов, катеров и канцелярских кнопок, - они живые.

Нам-то понятно, что эти объекты живые, но совершенно не очевидно, что значит быть живыми для них самих. Как все молекулы в теле снежной цапли умудряются работать

согласованно и поддерживать жизнь птицы? Хороший вопрос, особенно с учетом того факта, что ученые на данный момент расшифровали лишь несколько коротких участков ДНК снежной цапли. Большинство встречающихся на Земле видов живых существ таят такие же загадки. Даже о себе мы знаем не так уж много. Да, сегодня мы можем прочесть весь геном человека, все 3,5 млрд пар нуклеотидов ДНК, с помощью которых записан "рецепт изготовления" *Homo sapiens*. В этом генетическом фолианте ученым удалось идентифицировать около 18 000 генов, каждый из которых кодирует один из белков - строительных материалов нашего тела. При этом ученые не имеют представления о том, для чего нужна добрая треть упомянутых генов, и слабо понимают назначение большинства остальных. Мало того, наше невежество простирается гораздо дальше этих загадочных генов. Ведь гены, кодирующие белки, составляют всего лишь около 2% человеческого генома. Остальные девяносто восемь - практически неисследованная территория.

На всей планете есть лишь несколько видов живых существ, представляющих собой исключение из этого правила. Крупнейшее из исключений живет в круглой пластиковой коробочке, которую я держу в руках. Сама коробочка - чашка Петри - кажется совершенно безжизненной по сравнению с биологическим буйством за окном. На обратной стороне крышки видны несколько капелек воды. На дне чашки находится слой агара - плотного серого студня, изготовленного из водорослей с добавлением сахара и других веществ. На поверхности агара можно разглядеть цепочку бледно - золотистых точек, словно след кисти художника - пуантилиста. В каждой из этих точек - миллионы бактерий. Все они принадлежат к виду, который ученые интенсивно изучали в течение столетия и теперь понимают лучше, чем практически любой другой вид на Земле. Именно этот вид стал моим проводником в жизнь - экспертом, способным рассказать о том, чем живые организмы отличаются от безжизненной материи, о принципах, которым подчиняются все живые существа, будь то бактерия, снежная цапля или любопытный человек. Я переворачиваю коробочку. На дне, на кусочке пластыря, надпись: *E. coli* K-12 (штамм P1).

Я стал обладателем чашки Петри с кишечной палочкой *Escherichia coli* во время посещения Лабораторий Осборна - похожего на крепость здания на территории Йельского университета. На четвертом его этаже располагается лаборатория, заставленная инкубаторами с неаппетитным содержимым и бутылками, наполненными мутной жидкостью. Аспирантка Надя Моралес надела перчатки лилового цвета и поставила на лабораторный стол две чашки Петри - одну стерильную, другую с мутной кашицей, кишащей *E. coli*. Она взяла специальную петлю - изогнутую проволочку на пластмассовой ручке - и сунула ее в пламя газовой горелки. Петля засветилась оранжевым. Моралес вынула ее из пламени, дала остыть, а затем погрузила в кашницу. Открыв пустую чашку, она мазнула капелькой кашицы по стерильному агару - будто подпись поставила. После этого девушка тщательно закрыла крышку чашки и проклеила стык пластырем.

- Вероятно, первые колонии вы увидите завтра, - сказала она, подавая мне чашку. - А через несколько дней она завоняет.

Казалось, аспирантка дала мне философский камень. Очень скоро в безжизненном агаре моей чашки Петри закипели невиданные химические процессы. Старые молекулы распадались на части и соединялись в совершенно иных сочетаниях. Из воздуха в чашке исчезали молекулы кислорода, вместо них появлялся углекислый газ и капельки воды на крышке. Все пространство чашки было завоевано жизнью. Если бы у меня был микроскоп, я мог бы все это время наблюдать, как сотни *E. coli*, подаренных мне Моралес, передвигались по чашке, питались и росли. По форме каждая из них напоминает микроскопическую подводную лодку, защищенную оболочкой из липидов и полисахаридов. За ней тянутся похожие на пропеллеры хвостики, вращающиеся с частотой несколько сотен раз в секунду. Бактерия построена из десятков миллионов молекул, которые, сталкиваясь и взаимодействуя друг с другом, обеспечивают ее рост. *E. coli*, доросшая до достаточной длины, делится ровно пополам. Делясь снова и снова, она дает начало миниатюрной династии; именно эти династии, набрав численность, становятся видимыми как золотистые точки. Из этих точек складывается след живого росчерка аспирантки Моралес.

Если вам прежде доводилось слышать о кишечной палочке *E. coli* только в новостях, где речь шла о пищевых отравлениях, то выбор именно этого микроорганизма в проводники к тайнам жизни может показаться странным. Бесспорно, среди эшерихий есть и смертельно опасные штаммы. Но большая их часть совершенно безобидна. Примерно сотня миллиардов *E. coli* мирно живет в моем кишечнике, еще сотня миллиардов - в вашем; они во множестве населяют организм практически любого теплокровного животного на Земле. Их можно встретить в реках и озерах, в лесах и городских дворах. Помимо этого *E. coli* обитает в тысячах

лабораторий, где ее разводят в бутылках с пенящимся содержимым и размазывают по чашкам Петри.

В начале XX в. ученые, стремясь познать природу жизни, начали исследовать безвредные штаммы *E. coli*. И кое-кому из них уже в конце первого десятилетия пришлось съездить в Стокгольм за Нобелевскими премиями, присужденными за эти работы. Позже новые поколения ученых пытались разобраться в устройстве *E. coli*. Они тщательно изучили большую часть из четырех с чем-то тысяч генов этого микроорганизма и открыли новые законы жизни.

Именно на примере *E. coli* мы начинаем понимать, как гены согласованно работают, поддерживая жизнь, и как жизнь попирает стремление Вселенной к беспорядку и хаосу. *E. coli* - одноклеточный микроорганизм и как таковой имеет на первый взгляд мало общего с представителями высокоорганизованных видов, таких как наш. Но ученые продолжают находить все новые и новые параллели между нами. Как и мы, *E. coli* должна жить рядом с другими представителями своего вида, сотрудничать, конфликтовать и общаться с ними. Подобно нам, *E. coli* представляет собой продукт эволюции. Сегодня ученые могут пронаблюдать, как происходит эволюция *E. coli* - мутацию за мутацией. Вдобавок, исследуя *E. Coli*, они видят древнюю историю живых существ - в том числе и нашу; эта история включает в себя, в частности, происхождение сложных структурных элементов клетки - общего предка всех живых организмов, мир до возникновения ДНК. *E. coli* может рассказать нам не только о собственной давней истории, но и о действии естественного отбора, сформировавшего некоторые важнейшие черты нашего сегодняшнего мира - от альтруизма до смерти.

На примере *E. coli* мы можем увидеть историю жизни, а также ее будущее. В 1970-е гг., когда ученые впервые пробовали вносить изменения в живые организмы, объектом для своих исследований они выбрали именно *E. coli*. Сегодняшнее поколение генных инженеров манипулирует *E. coli* еще более решительно, расширяя при этом границы наших представлений о том, что такое жизнь. Знания, полученные при изучении *E. coli*, помогают генетикам изменять другие виды, например кукурузу, свиней, рыб. Может быть, пройдет совсем немного времени, и они приступят к работе с человеком. Но первой была *E. coli*.

Я подношу чашку Петри к окну. Сквозь агаровую дымку проглядывают все те же деревья и цветы. Каждая точка золотистого росчерка преломляет изображение. Я смотрю на жизнь сквозь увеличительное стекло, состоящее из миллионов *E. coli*.

## Глава 2. *E. coli* и слон

### "Роскошный рост"

*Escherichia coli* обитала в организме наших предков на протяжении миллионов лет еще тогда, когда предки эти вовсе не были людьми. Но только в 1885 г. вид *Homo sapiens* и его жильцы были официально представлены друг другу. Немецкий педиатр по имени Теодор Эшерих занимался выделением бактерий из пеленок здоровых младенцев и среди обнаруженных им видов заметил палочковидный микроб, демонстрировавший "невероятный, роскошный рост". Этот микроорганизм прекрасно рос в любой пище - молоке, картофеле, крови.

Современная биология тогда только зарождалась, и Эшерих мало что мог сказать о новой бактерии помимо того, что она существует. В 1880-е гг. ученые практически ничего не знали о том, что происходит внутри *E. coli* - как именно молоко, картофель или кровь превращаются в живую материю. Ученые сходились во мнении, что живой организм подобен биологической печи, где сжигается топливо - пища и производятся тепло, отходы и органические молекулы. Но о том, нужна ли для этих превращений загадочная "искра жизни" или это всего лишь разновидность обычных химических процессов, которые можно воспроизвести в любой лаборатории, шли горячие споры.

Бактерии во времена Эшериха представлялись особенно загадочными. Казалось, что эти существа принципиально отличаются от животных и других многоклеточных организмов. К примеру, человеческая клетка по размеру в тысячи раз превосходит *E. coli*. У нее сложная внутренняя "география": в центре клетки находится большой мешочек, получивший название ядра, в котором располагаются гигантские образования - хромосомы. У бактерий же ученые не смогли обнаружить не только ядер, но и вообще почти ничего. Бактерии казались крохотными безликими мешочками с жизнетворной слизью, зависшими где-то на границе между жизнью и нежизнью.

Эшерих, врач - педиатр с передовым мышлением, принял радикально новую точку зрения на устройство бактерий: они вовсе не пассивные мешочки со слизью, а живые существа, способные инфицировать людей и вызывать болезни. Как педиатра его больше всего тревожило заболевание, которое он назвал "самым убийственным из всех кишечных болезней", - диарея, или в просторечии понос. В XIX в. младенческая смертность от диареи в Германии была ужасающей, и врачи не понимали почему. Эшерих был убежден (и справедливо), что малышам убивают бактерии. Но обнаружить патогенные микробы было очень непросто, потому что в кишечнике даже самых здоровых младенцев полным - полно бактерий. Прежде чем распознать микроба - убийцу, Эшериху надо было отбросить все безвредные виды микроорганизмов.

"Казалось бы, попытка проверить и отделить случайно обнаруженные бактерии - бессмысленное и сомнительное занятие", - писал он. Но ученый все же попытался это сделать и в процессе исследований наткнулся на вроде бы безобидного обитателя кишечника, которого мы сегодня называем *E. coli*.

Эшерих опубликовал краткое описание *E. coli* в одном из немецких медицинских журналов вместе с небольшим групповым портретом палочковидных бактерий. Его открытие не вызвало никакого фурора. После смерти Эшериха в 1911 г. на его надгробном камне не выгравировали об этом ни слова. *E. coli* была всего лишь одной из строчек в длинном списке видов бактерий, которые в те годы обнаруживали ученые. Тем не менее именно это открытие оказалось главным вкладом Эшериха в науку.

С тех пор невероятный, роскошный рост *E. coli* наблюдали в лабораториях всего мира. Пытаясь разобраться в механизмах этого роста и таким образом понять фундаментальные основы жизни, ученые проводили тысячи экспериментов. Конечно, в развитии современной биологии сыграли свою роль и другие виды. Плодовая мушка дрозофила и кресс водяной, уксусная нематода и хлебная плесень также поделились с нами своими секретами. Но история *E. coli* поразительно и неразрывно переплелась с историей современной биологии. Когда ученые едва ли не до драки спорили по поводу очередного фундаментального вопроса жизни - из чего состоят гены и у всех ли живых организмов есть гены, - то главным свидетелем и экспертом в этих спорах зачастую выступала именно *E. coli*. Разобравшись, как *E. coli* обеспечивает свой роскошный рост - как она выживает, питается и размножается, - биологи сделали огромный шаг к пониманию механизма жизни как таковой. В 1969 г. биолог Макс Дельбрюк, получая Нобелевскую премию за открытия, сделанные при изучении вирусов, инфицирующих *E. coli*, заявил: "Мы можем открытым текстом сказать: "Эта загадка жизни разрешена"".

## Единство жизни

Первоначально Эшерих назвал свою бактерию *Bacterium coli communis* - бактерия толстой кишки обыкновенная. В 1918 г., через семь лет после смерти Эшериха, ученые переименовали бактерию в его честь: *Escherichia coli*. К моменту получения нового имени бактерия Эшериха успела начать новую жизнь. Уже тогда микробиологи стали миллиардами выращивать ее в своих лабораториях.

В начале XX в. ученые пытались "разобрать" живые клетки на части, чтобы понять, из чего они сделаны и как превращают сырье в живую материю. Одни ученые исследовали клетки мышечной ткани коровы, другие - сперму лосося. Многие работали с бактериями, в том числе и с *E. coli*. Во всех исследованных живых организмах они обнаруживали один и тот же базовый набор молекул. Основное внимание ученые сосредоточили на белках. Оказалось, что некоторые белки придают живому форму и структуру - это коллаген в коже или кератин в конских копытах. Другие белки, получившие название ферментов, побуждают определенные молекулы вступать в химические реакции. Одни ферменты отщепляют атомы от молекул, другие, наоборот, связывают молекулы друг с другом.

Существует безумное количество разнообразных белков, но их объединяет одно общее фундаментальное свойство. Все белки, где бы они ни образовались - в организме человека или в бактериальной клетке, - построены из одних и тех же "деталей" - 20 небольших молекул, именуемых аминокислотами. И работают белки в бактериях примерно так же, как и в человеческом организме. Ученые с удивлением обнаружили, что одни и те же ферменты часто отвечают за одни и те же химические реакции у всех без исключения видов.

"От слона до маслянокислой бактерии - всюду одно и то же!" - заявил в 1926 г. голландский биохимик Альберт Клуйвер.

Может быть, биохимические основы и одинаковы у всех живых организмов, но и различия между ними огромны. Самое важное из них - наследственность. В начале XX в. генетики открыли законы, в соответствии с которыми животные, растения и грибы передают потомкам свои гены. Но бактерии, такие как *E. coli*, казалось, не хотели играть по общим правилам. Более того, на первый взгляд у них вообще не было генов.

Большую часть информации о наследственности генетики в то время получали из лабораторий, наполненных мушками и гнилыми бананами. Томас Хант Морган, биолог из Колумбийского университета, разводил плодовую мушку дрозифилу - *Drosophila melanogaster*, чтобы выяснить, как родительские признаки передаются потомкам. Морган назвал факторы, определяющие те или иные признаки, генами, хотя о том, что такое на самом деле гены, не имел никакого представления. Он знал, однако, что свои гены потомку передают и мать, и отец, и что иногда ген может не проявиться в первом поколении, но вновь "всплыть на поверхность" в следующем. Он мог скрестить красноглазую мушку с белоглазой и получить целое поколение исключительно красноглазых мушек. Но если он скрещивал этих гибридных мушек между собой, то у некоторых мушек второго поколения вновь появлялись белые глаза.

Морган и его студенты искали в клетках дрозифилы молекулы, которые могли бы иметь какое-то отношение к этим таинственным генам. Их внимание привлекли странные структуры в ядре клетки - хромосомы. После специальной окраски хромосомы становятся похожи на мятые полосатые чулки. При этом ученые обнаружили, что полосы на хромосомах дрозифилы столь же характерны и уникальны, как и вездесущие ныне штрихкоды. Большая часть хромосом парная, при этом одна хромосома в паре унаследована от матери, другая - от отца. Сравнив их "полоски", Морган и его студенты показали, что от поколения к поколению они могут меняться. В процессе развития половых клеток дрозифилы парные хромосомы подходят друг к другу вплотную и обмениваются сегментами. От того, какие именно сегменты унаследует мушка - потомок, зависит и комбинация генов, которую она получит.

Закономерности наследования выглядели почти как какие-то математические абстракции. Джордж Бидл, один из аспирантов Моргана, решил вернуть гены с высот абстракции на землю и попытался выяснить в точности, как именно гены определяют цвет волос и другие признаки. Вместе с биохимиком Эдвардом Тейтемом Бидл попытался проследить путь от генов дрозифилы до молекул, из которых состоит окрашивающий ее глаза пигмент. Однако этот эксперимент оказался слишком сложным. Бидл и Тейтем отказались от плодовых мушек в пользу более простого вида - хлебной плесени *Neurospora crassa*.

Конечно, у хлебной плесени нет таких очевидных признаков, как глаза и крылья; тем не менее она синтезирует многочисленные ферменты, часть из которых отвечает за производство аминокислот. Чтобы посмотреть, каким образом гены плесени управляют синтезом этих ферментов, Бидл и Тейтем подвергали плесень воздействию рентгеновского излучения. Ученые знали, что у личинок мух при подобном воздействии некоторые гены мутируют, и эти мутации приводят к появлению новых признаков - лишних крылышек или другой окраски глаз, которые мутанты могут передавать следующим поколениям.

Теперь Бидл и Тейтем занялись производством мутантов хлебной плесени. Некоторые из них теряли способность синтезировать определенные аминокислоты, потому что лишились ключевого фермента. Но если Бидл и Тейтем затем скрещивали мутантную плесень с обычной, то некоторые потомки такого союза вновь обретали эту способность. В 1941 г. ученые сделали вывод: за каждым ферментом хлебной плесени стоит один ген.

Вырисовывалась смутная, но непротиворечивая картина того, как работают гены - по крайней мере гены животных, растений и грибов. Но бактериям в этой картине, казалось, места не было. Становилось все очевиднее, что гены находятся в хромосомах, а у бактерий хромосомы, на первый взгляд, вообще отсутствовали. Если у них и есть гены, то в те времена ученые почти не надеялись их найти. Гены дрозифилы удавалось изучать благодаря тому, что мушки размножаются половым путем. В ходе этого процесса хромосомы обмениваются участками, и гены попадают к потомкам в разных сочетаниях. На бактериях, однако, ученые не могли проводить подобных экспериментов, потому что они не имеют пола. На первый взгляд бактерия просто растет, а затем делится пополам. Многие исследователи рассматривали бактерии просто как мягкие мешочки с ферментами - принципиально иной тип жизни.

Со временем выяснилось, однако, что вся жизнь на Земле, включая и бактериальную, основана на одних и тех же фундаментальных принципах. Раскрыть ученым многие тайны этого единства было суждено бактерии *E. coli*, которая стала для биологов одним из самых мощных инструментов исследования жизни.

Превращение обычной бактерии в инструмент науки началось с простого вопроса. Эдвард Тейтем заинтересовался, применимо ли к бактериям открытое им в экспериментах с плесенью правило "один ген - один фермент". Он решил провести такой же опыт, как с хлебной плесенью, но на этот раз облучить не плесень, а бактерии. Для эксперимента Тейтем выбрал штамм *E. coli* с обозначением K-12. Он был выделен в 1922 г. из организма больного дифтерией в штате Калифорния, и с тех пор культура этого штамма поддерживается в Стэнфордском университете для занятий по микробиологии.

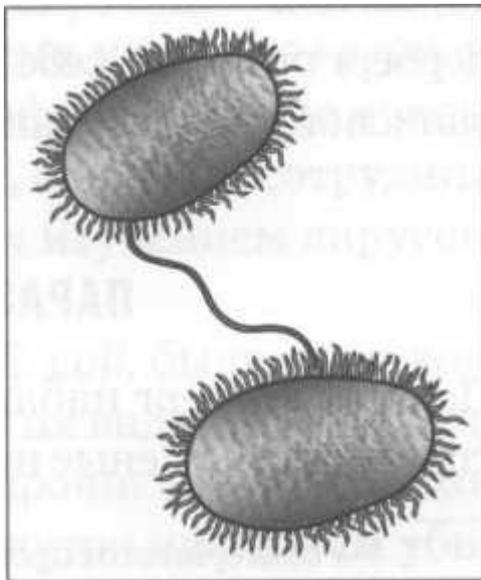
Выбор Тейтема был обусловлен практическими соображениями. Подобно большинству других штаммов *E. coli*, K-12 безвреден. Кроме того, *E. coli* способна самостоятельно производить все необходимые ей аминокислоты и множество других молекул. Для питания ей почти ничего не нужно, кроме сахара, аммиака и некоторых микроэлементов. Если *E. coli* использует многочисленные ферменты, чтобы превращать пищу в живую материю, то мишень для рентгеновского облучения у Тейтема должно было оказаться достаточно. Даже если бы облучение привело к появлению всего нескольких мутантных бактерий нужного типа, благодаря "роскошному росту", которым знаменита *E. coli*, ученый смог бы их увидеть. Ведь одна - единственная бактериальная клетка *E. coli* способна очень быстро, всего за сутки, дать колонию, видимую невооруженным глазом.

Итак, Тейтем обрабатывал колонии *E. coli* мощным рентгеновским излучением, способным убить 9999 из каждых 10000 бактерий. Среди немногочисленных выживших он отыскивал мутантов, способных расти, только если их обеспечивали какой-то определенной аминокислотой. С такой поддержкой мутанты могли даже размножаться, но их потомство наследовало тот же дефект. По существу, Тейтем получил такой же результат, что и в опытах с хлебной плесенью. Было похоже, что за каждым ферментом *E. coli* тоже скрывается один-единственный ген.

Это было серьезное открытие, но Эдвард Тейтем подходил к оценке его значения с осторожностью. Да, получалось, что у бактерии тоже есть гены, но наверняка он этого утверждать не мог. Лучший способ доказать наличие у биологического вида генов - скрестить мужские и женские особи и изучить их потомство. Но *E. coli*, как ни печально, бесполой и в брак не вступает. "Поэтому понятие "ген" можно использовать по отношению к бактериям лишь в самом общем смысле", - писал Тейтем.

Положение несколько изменилось, когда в лаборатории Тейтема в Йельском университете появился мрачный молодой студент. Джошуа Ледербергу было всего 20 лет, но амбиции у него были серьезные: выяснить, есть ли у бактерий половое размножение. Во время службы в армии в годы Второй мировой войны Ледербергу довелось работать в военно - морском госпитале на Лонг - Айленде. В частности, он занимался исследованиями малярийного паразита, завезенного в Америку моряками, воевавшими в Тихом океане. Он наблюдал за этими простейшими и видел, что те иногда размножаются делением, а иногда образуют женские и мужские формы и вступают в половой процесс. Что если у бактерий тоже время от времени происходит половой акт, просто никто этого до сих пор не замечал? И пускай другие высмеивают его идею как необоснованную фантазию, Ледерберг твердо решил, что игра стоит свеч, и, как он сам говорил позже, "сделал ставку на бактериальный секс".

Услышав про эксперименты Тейтема, Ледерберг понял, что их вполне можно приспособить к поиску полового размножения у бактерий. У Тейтема к тому времени уже собралась хорошая коллекция мутантных форм *E. coli* штамма K-12, в том числе и двойных мутантов - бактерий, которым для выживания требовалась постоянная подкормка двумя химическими соединениями. Ледерберг рассудил, что если смешать две разновидности двойных мутантов, то они, возможно, сумеют через половой акт передать друг другу работающие версии поврежденных генов.



Две *E. coli* занимаются "бактериальным сексом"

Ледерберг выбрал для эксперимента мутантный штамм, не способный самостоятельно производить аминокислоту метионин и один из витаминов группы В - биотин. Второй выбранный им штамм не мог производить две другие аминокислоты - треонин и пролин. Ледерберг поместил оба штамма в бульон, насыщенный всеми четырьмя необходимыми веществами, так чтобы мутантные бактерии могли расти и размножаться. В течение нескольких недель они жили вместе в бульоне, где у них были все условия для гипотетического "секса".

Через некоторое время Ледерберг взял пробы получившейся бактериальной культуры и перенес их в свежие чашки Петри.

Теперь он поместил бактерии в среду, где отсутствовали все четыре питательных вещества, которые те не умели синтезировать самостоятельно: треонин, пролин, метионин и биотин. Ни один из исходных мутантных штаммов не смог бы выжить в такой среде. И если бы их потомки были всего лишь копиями предков, размышлял Ледерберг, они тоже должны были прекратить рост и погибнуть.

Несколько первых недель принесли ученому лишь разочарования - погибшие пробы, мертвые колонии, но в конце концов Ледерберг получил в одной из чашек живую и процветающую колонию *E. coli*. Какая-то часть бактерий обрела способность производить все четыре аминокислоты. Ледерберг сделал вывод о том, что их предки должны были обмениваться генами в ходе некоего процесса, сходного с половым актом<sup>[1]</sup>. Кроме того, в ходе этого процесса они доказали, что обладают генами.

В последующие годы открытие Ледерберга позволило ученым разводить *E. coli* как плодовых мушек; в результате им удалось изучить ее гены намного подробнее, чем раньше. Двенадцать лет спустя, в "преклонном" возрасте 33 лет, Ледерберг (совместно с Тейтемом и Бидлом) получил Нобелевскую премию по медицине. Но в 1946 г., увидев в чашке Петри вожделенные точки колоний, развившихся из бактерий, которые появились в результате полового размножения, Ледерберг позволил себе пометить результаты опыта в своей записной книжке одним - единственным словом: "Ура!"

## Паразит и его хозяин

Пока Ледерберг наблюдал, как *E. coli* занимается "сексом", другие ученые наблюдали, как эта бактерия болеет, и узнавали при этом не менее важные вещи о природе жизни.

Первым оценил, насколько информативна может быть больная *E. coli*, не биолог, а физик. Макс Дельбрюк первоначально учился у Нильса Бора и других пионеров квантовой физики. В 1930-е гг. казалось, что при помощи нескольких красивых уравнений можно разрешить многие великие загадки Вселенной. Но природа не собиралась уступать. Физиков поражало, что гены, необходимые для создания любого живого существа, будь то кенгуру или, скажем, мох печёночник, упакованы в одну - единственную клетку. Дельбрюк решил сделать темой своих исследований жизнь, или, говоря конкретнее, гены живых существ.

Ген, предположил Дельбрюк, представляет собой полимер, образованный с помощью многократного повторения одних и тех же атомных структур. Чтобы раскрыть законы, которым подчиняется этот полимер, Дельбрюк приехал в США и поступил в лабораторию

Моргана, где работали с мушками. Однако, будучи физиком, он отверг весь тот клубок сложностей, к которому приводил выбор дрозофилы в качестве объекта исследования. Ему требовалась другая, более простая система, изучение которой могло бы дать гораздо больше информации. По счастливому совпадению Эмори Эллис, еще один сотрудник лаборатории Моргана, занимался изучением вирусов, инфицирующих *E. coli*.

Вирусы, способные заразить *E. coli*, были слишком малы; Дельбрюк и Эллис не могли их видеть. Насколько тогда было известно, эти вирусы проникают в своих хозяев - бактерий и размножаются внутри них; затем убивают микроорганизм и выходят наружу в поисках новых жертв. Казалось, что вирусы - потомки в точности похожи на предков, и это позволяло предположить, что они тоже могут обладать генами. Дельбрюк и Эллис решили выяснить историю болезни *E. coli*, вызываемой вирусами-бактериофагами.

При изучении бактериофагов ученые могли опираться только на косвенные свидетельства. Стоило добавить вирусы в чашку с *E. coli*, как они проникали внутрь бактерий и начинали там размножаться. Новые бактериофаги выходили наружу, оставляя за собой бранные останки хозяина, и заражали другие бактерии. Через несколько часов культура бактерий в чашке оказывалась испещрена прозрачными лужицами - следами безжалостного побоища. "О присутствии бактериальных вирусов можно судить по погубленным бактериям, - говорил Дельбрюк, - так же как по исчезновению куска торта можно судить о присутствии маленького мальчика".

Ученые располагали лишь косвенными признаками присутствия бактериофагов, зато признаков этих было много. Целая чашка могла заполниться миллиардами новых вирусов всего за несколько часов. Необъятные возможности разработанной Дельбрюком и Эллисом методики привлекли к ним небольшую стайку молодых ученых. Они называли себя приверженцами "Церкви фагов", с папой Дельбрюком во главе. Эту молодежь сумели наглядно продемонстрировать, что бактериофаги, инфицирующие *E. coli*, не все одинаковы. Некоторые вирусы паразитировали лишь на определенных штаммах бактерии, другие штаммы им не давались. Вызывая у вирусов мутации, исследователям удавалось добиться, что эти вирусы начинали заражать новые штаммы, причем способность поражать *E. coli* передавалась по наследству. Стало ясно, что у вирусов тоже есть гены, причем гены, которые, по идее, должны быть очень похожи на гены хозяина, то есть *E. coli*.

На самом деле гены хозяина и паразита настолько похожи, что некоторые разновидности вирусов способны как бы встроиться в хромосомы *E. coli* и замаскироваться. Эти, как их называли, умеренные бактериофаги могли проникнуть в клетки *E. coli* и, по существу, исчезнуть<sup>[2]</sup>. Носители бактериофага вели себя нормально, росли и делились точно так же, как их не зараженные вирусом собратья. Тем не менее ученые обнаружили, что бактериофаги умудрялись уцелеть внутри *E. coli*, которая исправно передавала их геном следующим поколениям бактерий. Чтобы "оживить" бактериофаг, ученым достаточно было облучить чашку с зараженной *E. coli* ультрафиолетом. Бактерии тут же лопались, выпуская на волю сотни новых вирусов, которые пускались на поиски новых хозяев, оставляя за собой прозрачные лужицы разрушения. В общем, двое сливались воедино, чтобы при случае вновь разделиться надвое.

## Из чего сделаны гены?

В танце - слиянии *E. coli* и ее вирусов приверженцы "Церкви фагов" сумели отыскать ключи к некоторым великим загадкам жизни. А для них не было вопроса более великого, как вопрос о том, из чего сделаны гены.

До 1950-х гг. большинство ученых склонялось к мысли, что гены состоят из белков. Прямых доказательств получить не удавалось, но серьезных косвенных свидетельств было немало. Уже тогда становилось ясно, что гены есть у всех живых организмов, даже у бактерий и вирусов. Белки не менее вездесущи. При изучении плодовых мушек ученые определили, что их гены располагаются в хромосомах; а хромосомы содержат белки. Было ясно, что молекулы в генах должны быть сложными - ведь в генах каким-то неведомым образом зашифрована информация о жизни во всех ее проявлениях. При этом ученые знали, что структура белка часто бывает весьма замысловатой. Оставалось только выяснить, как именно белки исполняют функции генов.

Первый серьезный вызов этой общей, хотя и не слишком определенной, позиции появился в 1944 г., когда один врач во всеуслышание заявил, что гены на самом деле состоят не из белка. Освальд Эйвери, работавший в больнице Института Рокфеллера, занимался исследованием бактерии *Pneumococcus*. У этой бактерии существует как безвредная форма, так и

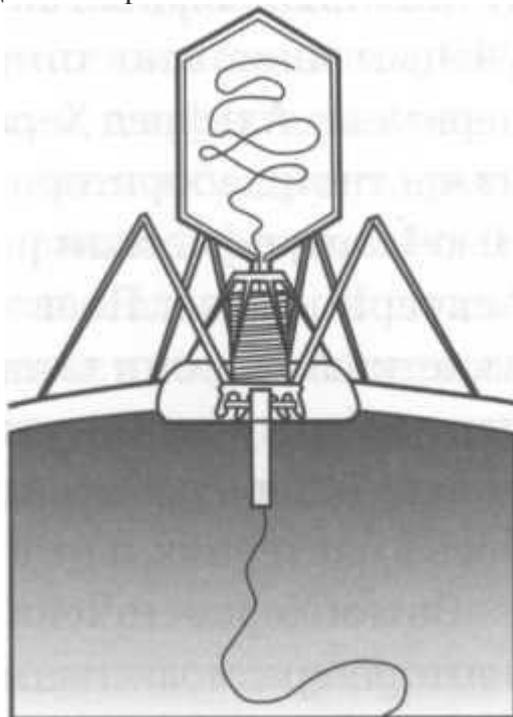
болезнетворная, вызывающая пневмонию. Более ранние эксперименты дали основания считать, что именно гены отвечают за различное поведение этих штаммов. Если ученые убивали опасный штамм, а затем вводили убитые бактерии мышам, то мыши не заболели. Но если убитые бактерии опасного штамма смешивали с живыми бактериями безвредного штамма *Pneumococcus*, то инъекция такой смеси убивала мышей. Безвредный штамм каким-то образом превращался в болезнетворный, и их потомки также сохраняли патогенность. Иными словами, генетический материал переходил из умерщвленных бактерий патогенного штамма к живым бактериям.

Эйвери и его коллеги стали выделять из убитых бактерий одно химическое соединение за другим и добавлять их в чашки с непатогенными штаммами бактерий. Они обнаружили, что интересующее их превращение обеспечивает только одно вещество. И это был не белок, а соединение под названием дезоксирибонуклеиновая кислота, или сокращенно ДНК.

О существовании ДНК ученые знали уже несколько десятилетий, но не представляли себе, зачем она нужна. В 1869 г. швейцарский биохимик Иоганн Мишер обнаружил в гное на повязках раненых солдат богатое фосфором вещество, которое получило название нуклеиновой кислоты. Позже ученые выяснили, что существует две почти идентичные нуклеиновые кислоты: дезоксирибонуклеиновая и рибонуклеиновая (РНК)<sup>[3]</sup>. Каркас ДНК состоит из остатков фосфорной кислоты, соединенных с остатками сахара дезоксирибозы. К нему прикрепляются четыре типа богатых углеродом и азотом соединений - так называемые азотистые основания.

Было ясно, что ДНК играет в живом организме важную роль - ведь ученые находили ее практически в любых клетках. Ее обнаруживали даже в хромосомах, где, как уже было известно, располагались гены. Но многие исследователи считали, что ДНК просто обеспечивает хромосоме жесткую основу, каркас - возможно, она обвивается вокруг генов, как манжета. Мало кто думал, что ДНК имеет достаточно сложную структуру, чтобы быть материальным носителем генов. ДНК, как выразился однажды Дельбрюк, "такое глупое вещество!"

Глупое или нет, но Эйвери сделал вывод: ДНК - именно то, из чего состоят гены. Но его эксперименты не смогли убедить закоренелых скептиков:



Вирус вводит свою ДНК в клетку *E. coli*

Коллеги решили, что ДНК у него была недостаточно хорошо очищена и, возможно, содержала примеси каких-то белков.

Чтобы восстановить репутацию ДНК, потребовалось еще целое десятилетие исследований на *E. coli* и ее вирусах. Пока Эйвери исследовал пневмококк в поисках генов, адепты дельбрюковской "Церкви фагов" пытались увидеть вирусы *E. coli*. Надо сказать, что вирусы в представлении ученых были уже не математическими абстракциями, а вполне материальными маленькими существами. При помощи недавно изобретенного прибора - электронного микроскопа - Дельбрюк и его коллеги обнаружили, что бактериофаги заключены в оболочку элегантной геометрической формы. Закрепившись на поверхности *E.*

*coli*, фаг прокалывал клеточную стенку бактерии с помощью специальной белковой иголки и вводил в своего нового хозяина некую субстанцию. Гены вируса проникали в клетку *E. coli*, а пустая оболочка оставалась на ее поверхности.

Жизненный цикл вирусов, инфицирующих *E. coli*, дал ученым возможность провести простой и красивый эксперимент. Альфред Херши и Марта Чейз, исследователи из частной лаборатории в Колд - Спринг - Харбор в штате Нью - Йорк, поместили радиоактивными изотопами ДНК бактериофагов. Позволив этим вирусам внедриться в клетки *E. coli*, они затем с помощью высокоскоростного центрифугирования удалили с бактерий их пустые оболочки. Теперь радиоактивное излучение регистрировалось в бактериях, а не в покинутых оболочках.

Затем Херши и Чейз провели обратный эксперимент, в котором радиоактивные метки вводились не в ДНК, а в белок вируса. В этом случае после инфицирования *E. coli* радиоактивность сохраняли только пустые оболочки. Так через десять лет после эксперимента Эйвери Херши и Чейз подтвердили его вывод: гены состоят из ДНК.

Среди тех, кого больше других заинтересовали новые результаты, был молодой американский биолог Джеймс Уотсон. Его приняли в лоно "Церкви фагов" в возрасте всего лишь 20 лет, и при подготовке диссертации он, как и его коллеги, с энтузиазмом облучал вирусы *E. coli* рентгеновским излучением. Он прекрасно усвоил общепринятое мнение о том, что гены сделаны из белков, но собственные исследования заставили молодого ученого обратить внимание на ДНК. В эксперименте Херши и Чейз Уотсон увидел "новое убедительное доказательство того, что первичным генетическим материалом является ДНК".

Однако, чтобы понять, как ДНК может служить генетическим материалом, необходимо было как следует разобраться в структуре этого вещества. К этому времени Уотсон уже работал в Кембриджском университете, где быстро объединил усилия с Фрэнсисом Криком - британским физиком, тоже мечтавшим раскрыть тайну жизни. Вместе они тщательно изучили все данные о ДНК, собранные к тому времени учеными, и попытались разобраться, как располагаются по отношению друг к другу фосфаты, сахара и азотистые основания. В феврале 1953 г. они внезапно поняли структуру этой молекулы. Молодые люди собрали из стальных пластинок и стержней гигантскую модель, похожую на скрученную в спираль лесенку из сахаров и фосфатов, перекаладинами которой служили азотистые основания.

Модель была красива, проста и красноречива. Она, казалось, сама готова была рассказать, как работают гены. Обе нити ДНК построены из миллиардов звеньев - нуклеотидов, расположенных линейно, как буквы в строке текста. Каждый нуклеотид состоит из фосфата и сахара дезоксирибозы, к которому крепится одно из азотистых оснований. Четырем типам азотистых оснований соответствует четыре типа нуклеотидов. Сам текст может иметь бесконечное число значений в зависимости от порядка расположения нуклеотидов. Благодаря этому ДНК может вместить информацию, необходимую для строительства любого белка любого биологического вида.

Структура ДНК помогла Уотсону и Крику понять, каким образом она может репродуцироваться. Они предположили, что нити ДНК расходятся, после чего к каждой из них добавляется новая нить - этот процесс получил название "репликация". Синтез новой ДНК упрощает тот факт, что азотистые основания способны соединяться между собой лишь вполне определенным образом: у каждого типа оснований есть один - единственный возможный партнер. В результате получается идеальная копия первоначальной молекулы.

Теория получилась красивая, а вот серьезных доказательств не хватало. Макса Дельбрюка, в частности, беспокоила "проблема распутывания". Реально ли разделить двойную спираль на две отдельные нити и достроить каждую из них до полноценной молекулы ДНК, не получив взамен спутанный клубок непонятно чего? Дельбрюк попытался найти ответ на этот вопрос, но потерпел неудачу. Успех пришел в 1957 г. к другим - к магистранту Мэтью Мезельсону и научному сотруднику доктору Фрэнку Сталю из Калифорнийского технологического института. С помощью *E. coli* они поставили эксперимент, который получил известность как самый красивый в биологии.

Мезельсон и Сталь поняли, что репликацию ДНК можно отследить, если выращивать *E. coli* на особой диете. *E. coli* для роста и размножения обязательно нужен азот, поскольку этот элемент входит в состав любого нуклеотида. Обычный атом азота содержит 14 протонов и 14 нейтронов, но существуют и другие, более легкие или более тяжелые изотопы азота, в которых нейтронов меньше или больше. Мезельсон и Сталь добавляли в питательную среду *E. coli* аммиак, содержащий тяжелый азот с 15 нейтронами в каждом атоме. Через некоторое время, когда у бактерии сменилось множество поколений, они извлекли и поместили в центрифугу немного ДНК. Измерив расстояние до точки, куда переместилась ДНК при вращении

центрифуги, они вычислили ее массу и выяснили, что ДНК *E. coli*, выращенной на тяжелом азоте, как и ожидалось, тяжелее ДНК нормальной *E. coli*.

Затем Мезельсон и Сталь провели тот же эксперимент чуть иначе. Они отделили немного *E. coli* с тяжелым азотом в колбу, где бактерии могли питаться нормальным азотом с 14 нейтронами в атоме. Дав бактерии совсем немного времени - всего на один цикл деления, - ученые извлекли ее ДНК и вновь поместили в центрифугу. Их целью была проверка теории Уотсона и Крика, которая давала на этот случай вполне четкие предсказания. Согласно этой теории при делении микроорганизмов внутри каждого из них тяжелые нити ДНК должны были разделиться и разойтись, а новые нити достраивались бы к ним уже из легких атомов. Таким образом, ДНК в новом поколении *E. coli* должна была получиться наполовину легкой, наполовину тяжелой - и образовать при центрифугировании полосу ровно посередине между тяжелой и легкой ДНК. Так и получилось.

Может быть, Уотсон и Крик построили красивую модель. Но для того, чтобы другие ученые признали их теорию верной и приняли модель на вооружение, потребовался красивый эксперимент на *E. coli*.

## Универсальный код

Когда выяснилось, что у *E. coli* все же есть половой процесс, ученые впервые получили возможность ближе познакомиться с устройством хромосомы. Оказалось, что половой акт у *E. coli* протекает довольно своеобразно. Одна из бактерий выбрасывает нитевидный вырост, который называют половым пилем, и с его помощью подтягивает к себе партнера. В течение примерно полутора часов ее ДНК перетекает во второй микроорганизм. Эли Вольман и Франсуа Жакоб из Института Пастера поняли, что эту связь можно разорвать. Они смешивали мутантные штаммы и позволяли им какое-то время конъюгировать, а затем помещали смесь в блендер. В зависимости от времени, которое было у бактерий для конъюгации, реципиент мог получить - а мог и не получить - ген, необходимый для выживания. Вольман и Жакоб измеряли, через какой промежуток времени гены проникают во вторую особь *E. coli*, и составляли таким образом генетическую карту. Выяснилось, что гены *E. coli* расположены на хромосоме, замкнутой в кольцо.

Ученые обнаружили, что наряду с главной хромосомой у *E. coli* есть дополнительные кольцевые ДНК, получившие название плазмид. Плазмиды несут гены и некоторые из этих генов используют для собственного воспроизводства. А есть плазмиды, которые несут гены, позволяющие им перемещаться из одного микроорганизма в другой. Например, у *E. coli* штамма K-12 в плазмидах содержатся гены, в которых закодированы половые пили. Сойдясь, бактерии обмениваются копиями плазмидной ДНК, а также частью главной хромосомы.

Пока одни ученые составляли генетическую карту *E. coli*, другие пытались понять, как именно закодированная в генах информация превращается в белки. В Вашингтонском Институте Карнеги исследователи давали *E. coli* аминокислоты, меченные радиоактивными изотопами, - строительный материал для белков. Через некоторое время эти аминокислоты скапливались вокруг особых округлых образований - так называемых рибосом, случайным образом разбросанных внутри бактерии. Свободные аминокислоты входили в рибосому, а выходили из нее готовые белки. Но это означало, что каким-то образом инструкции, зашифрованные в ДНК *E. coli*, должны "сообщать" рибосомам, какие именно белки следует делать.

Оказалось, что у *E. coli* есть для этого особые молекулы. На первом этапе синтеза белка некий фермент<sup>[4]</sup> должен прикрепиться к гену и проползти по всей его длине. При этом он выстраивает одонитчатую РНК - копию гена. Эта РНК, которую называют матричной, или информационной (мРНК), затем отправляется к рибосоме и доставляет свое генетическое послание.

Однако оставалось неясным, каким образом рибосома читает это послание. РНК, как и ДНК, содержит четыре типа нуклеотидов. Белки же, как известно, представляют собой комбинации 20 аминокислот. Ясно, что без "словаря" *E. coli* никак не смогла бы перевести инструкцию, записанную на языке генов, на язык белков.

В 1957 г. Фрэнсис Крик выдвинул гипотезу о том, что может представлять собой подобный "словарь". Он предположил, что каждая аминокислота кодируется последовательностью из трех нуклеотидов, получившей название кодона. Гипотеза Крика требовала экспериментальной проверки, и вскоре ученые из Национального института здоровья США Маршалл Ниренберг и Генрих Маттеи начали соответствующие опыты. Они тщательно растерли *E. coli* пестиком в ступке и разлили получившуюся массу по пробиркам. В каждую

пробирку они добавили одну из аминокислот, а затем - синтезированную ими РНК, состоящую из нуклеотидов одного типа, с азотистым основанием урацилом (обнаруженным в РНК, но отсутствующим в ДНК)[5]. Таким образом, эта РНК содержала единственный повторяющийся много раз кодон. Ученые хотели посмотреть, опознает ли этот кодон одну из аминокислот.

В девятнадцати пробирках ничего не произошло. В двадцатой пробирке, содержащей аминокислоту фенилаланин, - и только в ней - сформировался новый белок. Так Ниренберг и Маттеи перевели первое слово в словаре жизни - УУУ[6], которое обозначало фенилаланин. За несколько последующих лет им и другим ученым удалось полностью расшифровать генетический код *E. coli*.

Расшифровав код *E. coli*, Маршалл Ниренберг и его коллеги попытались сравнить *E. coli* с животными. Они наполнили пробирки разрушенными клетками морской свинки и лягушки и добавили в них РНК. Оказалось, что оба вида использовали при строительстве белков тот же рецепт, что и *E. coli*. В 1967 г. Ниренберг и его коллеги объявили об открытии "по существу, универсального кода".

Ниренберг стал одним из лауреатов Нобелевской премии на следующий год. Дельбрюк получил свою премию годом позже. Ледерберг, Тейтем и многие другие ученые, работавшие над *E. coli*, тоже получили приглашения в Стокгольм. Скромная кишечная палочка привела их всех к славе и способствовала созданию новой науки, объединяющей все формы жизни и известной сегодня как молекулярная биология. Жак Моно, еще один нобелевский лауреат из числа работавших с *E. coli*, перефразировал известное утверждение Альберта Ключейвера по - новому; многие ученые и сегодня повторяют вслед за ним:

"Что верно для *E. coli*, верно и для слона".

## Облик живого

С рождением молекулярной биологии олицетворением и главным признаком живого стали гены. В 2000 г. президент США Билл Клинтон объявил о том, что ученые завершили составление рабочего черновика структуры человеческого генома - последовательности нуклеотидов ДНК человека. Он заявил: "Сегодня мы познаем язык, на котором Бог создал человека".

Однако сами по себе гены мертвы, а их инструкции бессмысленны. Если каким-то образом извлечь хромосому из клетки *E. coli*, то вне организма белки синтезироваться не будут. ДНК не сможет репродуцироваться. Эта хрупкая петелька попросту распадется. Так что познание генов живого организма - всего лишь первая ступень познания того, что для организма значит быть живым.

Многие биологи посвятили свою научную деятельность вопросу о том, что значит быть живой конкретно для *E. coli*. Вместо того чтобы выбрать какой-либо иной вид и начинать все с нуля, эти ученые в своих исследованиях решили опереться на опыт предыдущих поколений исследователей. И такая стратегия привела к успеху. В 1997 г. была опубликована полная карта генома *E. coli* штамма K-12 с указанием расположения 4288 генов.

Благодаря накопленным за много лет знаниям о *E. coli* сегодня исследователю относительно несложно создать на ее основе мутантный штамм, у которого отсутствовал бы один из этих генов, а затем посмотреть по его поведению, чем управляет этот ген. И сегодня ученым известно назначение всех генов *E. coli*, за исключением примерно шестисот. Из сотен тысяч статей, посвященных *E. coli*, перед нами встает портрет живого существа, которое подчиняется законам и правилам, приложимым в той или иной форме к любому живому существу и к жизни вообще. Когда Жак Моно щеголял высказыванием о слоне и *E. coli*, он имел в виду лишь гены и белки. Но *E. coli* оказалась гораздо сложнее - и намного более похожа на нас, - чем могли предположить ученые его поколения.

Самый очевидный факт, который наблюдатель сразу замечает при взгляде на *E. coli*, - то, что ее вообще можно заметить. Это не туманное облачко молекул, а плотно заполненная упаковка, у которой есть внутренняя и наружная части. Вообще, границы жизни могут принимать самые разные формы. Человек обернут в мягкую кожу, а краб щеголяет в твердом наружном скелете. Секвойя отращивает снаружи кору, кальмар - слой плотной упругой ткани. *E. coli* окружена оболочкой толщиной всего лишь в несколько сотен атомов, но эту оболочку ни в коем случае нельзя назвать простой. На самом деле она состоит из нескольких слоев, причем каждый из них обладает собственной тонкой структурой и выполняет сложную задачу.

Оболочка *E. coli* - клеточная стенка - представляет собой капсулу из углеводов - белковых полимеров - пептидогликанов, взбитых, как нити сахарной ваты. Снаружи она покрыта сложно устроенной внешней мембраной, которая несет множество функций: к примеру,

препятствует проникновению в клетку токсических веществ. Под слоем пептидогликанов располагается трехслойная цитоплазматическая мембрана обычной структуры. Эта мембрана не позволяет крупным молекулам проникнуть в клетку *E. coli* и удерживает внутри микроорганизма его собственные молекулы. Сама жизнь бактерии зависит от этих молекул, постоянно взаимодействующих между собой. Благодаря тому, что 60 млн молекул *E. coli* плотно упакованы, химические реакции в ней могут протекать быстро. Если бы внешнего барьера не было, молекулы разбрелись бы кто куда - и *E. coli* перестала бы существовать.

В то же время жизнь нуждается в связи с внешним миром. Любому организму нужно, чтобы извне к нему поступали необходимые для роста вещества; кроме того, куда-то нужно выбрасывать ядовитые отходы. Если организм не сможет питаться и избавляться от отходов, он превратится в саркофаг. *E. coli* решает эту проблему при помощи сотен тысяч различных пор, канальцев и насосиков во внешней мембране. Каждое отверстие имеет специфическую форму и пропускает только определенные молекулы. Некоторые из них открываются перед нужными молекулами будто в ответ на пароль.

Однако проникнуть сквозь внешнюю мембрану недостаточно; это всего лишь половина пути. Пептидогликановый слой *E. coli* погружен в тонкую прослойку жидкости, отделяющую его внешнюю мембрану от внутренней, так называемую периплазму. Периплазма богата ферментами, способными обезвредить опасные молекулы, прежде чем те сумеют пройти сквозь внутреннюю мембрану. Эти ферменты также разрезают ценные молекулы на части, чтобы они прошли сквозь канальцы внутренней мембраны.

Одновременно с этим через другие канальцы *E. coli* выводит отходы своей жизнедеятельности. Таким образом, сквозь оболочку *E. coli* в обоих направлениях постоянно проходят различные вещества, но это не бурный и смертельно опасный поток, а упорядоченный ручеек тщательно отобранных веществ.

Несомненно, *E. coli* сумела изящно решить одну из универсальных проблем жизни. Но любые решения имеют тенденцию создавать новые проблемы. Из-за конструкции внешних барьеров этот микроорганизм постоянно находится на грани взрыва. Молекулы воды достаточно малы, чтобы свободно проскальзывать сквозь его мембрану внутрь и наружу. Внутри *E. coli* много белков и других крупных молекул, и для воды места остается немного. Это означает, что в любой момент молекул воды, стремящихся проникнуть внутрь *E. coli*, больше, чем тех, которые стремятся выйти из нее наружу. Поступившие внутрь молекулы создают в бактериальной клетке *E. coli* огромное давление, в несколько раз превышающее атмосферное. Даже небольшое отверстие в оболочке может привести к взрыву микроорганизма. Если уколоть человека, пойдет кровь, но *E. coli*, получив укол, просто взорвется.

Надо сказать, что у *E. coli* есть свои способы борьбы с повышенным внутренним давлением. Один из них - тот самый пептидогликановый слой, или, как его еще называют, муреиновый мешок из переплетающихся, как сеть, молекул между внешней и внутренней мембранами. Этот корсет достаточно прочен, чтобы противостоять силе поступающей воды. Кроме того, *E. coli* посылает к мембране целую армию ферментов, которые устраняют любые повреждения молекул, вызванные воздействием кислот, радиоактивного излучения или других факторов. Чтобы расти, бактерия должна непрерывно перестраивать свои мембраны и муреиновый мешок, осторожно встраивая дополнительные молекулы и ни на мгновение не оставляя отверстий.

Проблема, с которой сталкивается *E. coli*, существенна и для нас. Клетки человеческого организма тщательно регулируют потоки веществ, проходящие через их стенки внутрь и наружу. Наши тела используют как барьер кожу, в которой есть, разумеется, отверстия - поры потовых желез, слуховые проходы, ротовое отверстие и т. п. Поврежденные и старые клетки кожи постепенно отшелушиваются, а подстилающие их новые растут и делятся. То же самое происходит с клетками слизистой оболочки, выстилающей пищеварительный тракт: по существу, это просто внутренняя кожа. Быстрая естественная смена клеток позволяет покровной ткани эффективно залечивать небольшие повреждения и защищать организм от инфекции. Но эта же быстрая смена клеток создает новую серьезную опасность. Всякий раз при делении клетки существует небольшой риск мутации и перерождения ее в раковую. Так что не удивительно, что рак кожи и прямой кишки относятся к наиболее распространенным формам рака. И человек, и *E. coli* вынуждены расплачиваться за защиту и сохранение формы.

## Река, текущая вверх

Внешние барьеры и гены необходимы для жизни, но их одних далеко не достаточно. Поместите ДНК внутрь мембраны - и вы получите лишь пузырек, не имеющий ничего общего

с жизнью. Живые существа должны поглощать молекулы разных веществ и энергию и превращать их в живую материю. Им необходим обмен веществ, или метаболизм.

Метаболизм построен из сотен химических реакций. Каждая из них по отдельности может быть очень проста. К примеру, какой-нибудь фермент отнимает атом водорода у определенной молекулы. Но затем эту молекулу захватывает другой фермент, с помощью которого с ней происходят те или иные превращения, а дальше она включается в цепь все усложняющихся реакций: они могут пересекаться с другими цепями, ветвиться, замыкаться в кольцо. Первым живым существом, в чьем метаболизме ученым удалось разобраться до тонкостей, была *E. coli*.

На это у них ушла большая часть XX в. Они кормили бактерию радиоактивной пищей, чтобы затем отслеживать, какими путями в бактериальной клетке происходит движение атомов от молекулы к молекуле. Это была долгая и трудная работа. После того как Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик открыли структуру ДНК, их фотография появилась в журнале *Life*: двое ученых, а между ними возвышался скелет молекулы ДНК. Фотографии исследователей, общими усилиями создавших схему метаболизма *E. coli*, не существует. Кроме того, подобная фотография в любом случае получилась бы неудачной: несколько сотен человек вокруг одной диаграммы, исчерченной множеством стрелок и напоминающей спутанный клок кошачьей шерсти. Но тот, кто умеет читать подобные диаграммы, увидит в метаболизме *E. coli* скрытую элегантность.

Метаболические реакции в клетках *E. coli* протекают не спонтанно - точно так же, как яйцо не варит себя само. На соединение атомов, как и на их разделение, требуется энергия. *E. coli* получает ее двумя способами. Во - первых, она умеет использовать мембраны как своего рода аккумулятор, во - вторых, извлекает энергию из пищи.

Среди мембранных канальцев у *E. coli* есть такие, которые выкачивают из микроорганизма положительно заряженные ионы водорода - протоны. По мере снижения концентрации протонов бактерия приобретает отрицательный заряд, притягивая находящиеся поблизости положительно заряженные частицы, которые проникают внутрь клетки через специальные канальцы, способные извлекать энергию из движения частиц. В сущности, эти частицы работают, как вода, вращающая мельничное колесо, но их действие основано на электрическом принципе. *E. coli* запасает извлеченную энергию в химических связях молекулы аденозинтрифосфата, или сокращенно АТФ.

Молекулы АТФ, плавающие в клетках *E. coli*, работают как своеобразные батарейки. Когда ферментам *E. coli* требуется дополнительная энергия для проведения той или иной реакции, они извлекают ее из АТФ. Последняя запасает энергию в межатомных связях. *E. coli* использует энергию, полученную с помощью мембранного аккумулятора, чтобы выделить больше энергии из пищи. При помощи АТФ ферменты бактерии могут расщеплять сахара, разрушая связи между атомами; полученная энергия откладывается опять же в молекулах АТФ, число которых увеличивается. *E. coli* не высвобождает сразу всю энергию, содержащуюся в молекуле сахара, - ведь в этом случае большая часть ее ушла бы в тепло и пропала зря. Вместо того чтобы устраивать из сахаров энергетический фейерверк, *E. coli* точными хирургическими движениями "отрезает" кусочек за кусочком - так, чтобы высвободившуюся за один раз энергию можно было захватить и запасти в молекулах АТФ на будущее.

Часть получаемой энергии *E. coli* использует для строительства новых молекул. Помимо основного топлива - сахаров - ей требуются некоторые минералы. Каждого из них нужно чуть - чуть, но, чтобы добыть это ничтожное количество, бактерии приходится трудиться изо всех сил. Без железа, к примеру, *E. coli* жить не может, но железо - весьма дефицитный товар. Добыть его для *E. coli* очень непросто. В организме хозяина железо не валяется где попало - оно надежно спрятано внутри клеток, а то небольшое количество, что остается, обычно находится в связанном виде в молекулах, откуда его не так-то просто извлечь. Чтобы обеспечить себе достаточное для выживания количество железа, *E. coli* приходится сражаться за него, строить специальные молекулы для его ловли - сидерофоры[7] - и выпускать их в окружающую среду. Находясь в свободном плавании, сидерофор иногда натывается на железосодержащие молекулы. Он вытаскивает атом железа из молекулы и спешит вернуться в бактериальную клетку, воспользовавшись специальными канальцами. По такому канальцу в бактерию может пройти только сидерофор, причем с добычей - без атома железа обратный вход для него закрыт. Оказавшись внутри, сидерофор высвобождает свое сокровище.

Но железо, хотя и необходимо *E. coli* для жизни, одновременно может нести в себе опасность. Так, свободный атом железа, оказавшись внутри бактериальной клетки, может стать причиной образования перекиси водорода, а та, в свою очередь, атакует ДНК хозяйки. *E. coli* приходится защищать себя от такого варианта развития событий; для этого у нее есть белки, которые хватают железо сразу же по прибытии и прячут его в глубокие "карманы".

Одна - единственная молекула такого белка может нести на себе 5000 атомов железа - и выдавать их по одному по мере надобности.

Железо - не единственная опасность, которой подвергает *E. coli* ее обмен веществ. Даже белки, которые бактерия создает сама, могут приобрести свойства токсинов. Воздействие кислот, радиоактивного излучения и других повреждающих факторов легко деформирует белок, лишив его способности правильно работать. Поврежденные молекулы вносят хаос в работу прекрасно отлаженного конвейера химических процессов, от которых зависит выживание *E. coli*. Такие поврежденные белки могут даже нападать на другие, нормальные белки. Защищаясь от самой себя, *E. coli* создает команду убийц - белков, единственной задачей которых является уничтожение старых белков. Белковая молекула, разрезанная на аминокислоты, становится источником сырья для строительства новых белков. Жизнь и смерть, питательные вещества и отравляющие вещества - все в клетке *E. coli* балансирует в тонком равновесии.

Кишечная палочка *E. coli* жонглирует железом, добывает энергию, перерабатывает сахара и другое сырье в сложные молекулы и даже создает собственные копии - и тем самым попирает, на первый взгляд, законы Вселенной. Во Вселенной, как известно, существует мощное стремление от порядка к беспорядку, которое называется энтропией. Так, изящные снежинки тают и превращаются в капельку воды, а чайные чашки рано или поздно бьются. А вот *E. coli*, кажется, противостоит целой Вселенной - собирает атомы в сложные структуры белков и генов и умудряется к тому же сохранять обретенную упорядоченность от поколения к поколению. Выглядит все это как река, текущая вверх.

Однако все не так страшно, и *E. coli* совсем не такая бунтарка, как может показаться. Она ведь живет не в изоляции от остальной Вселенной. Да, *E. coli* действительно снижает свою энтропию, но только за счет получения энергии извне. Упорядочивая себя, она увеличивает энтропию Вселенной за счет выделяемого тепла и отходов. Если аккуратно все посчитать, получится, что *E. coli* повышает энтропию, но сама умудряется при этом всегда оставаться на плаву.

Можно сказать, что метаболизм *E. coli* в определенном смысле символизирует жизнь в целом. Если разобраться, большинство живых существ получает энергию от солнца. Растения и фотосинтезирующие микроорганизмы поглощают свет и используют его энергию для роста. Представители других видов поедают тех, чье питание основано на фотосинтезе, а третьи виды, в свою очередь, поедают вторых. *E. coli* в этой пищевой пирамиде располагается относительно высоко и расщепляет готовые сахара, которые производят другие организмы. Саму ее, в свою очередь, тоже съедают, и ее молекулы становятся частью организма хищной бактерии, которую тоже кто-нибудь съест. Потоки энергии порождают леса и другие экосистемы, и все они "сбрасывают" энтропию вовне, в остальную Вселенную. Солнечный свет попадает на планету, тепло излучается в пространство, и полная жизни планета - этакая Земля *E. coli* - поддерживает в этом потоке свое существование.

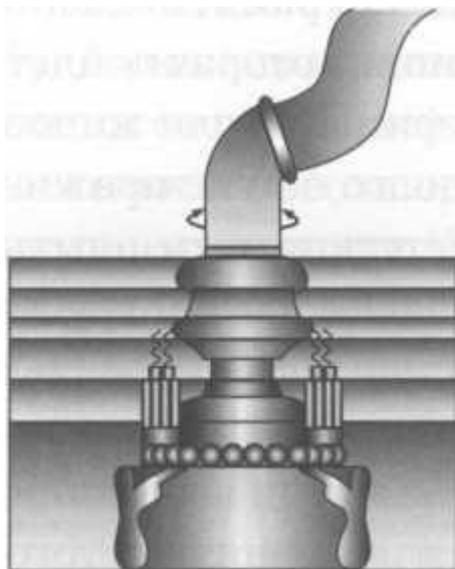
## Куда же плыть?

Список необходимых для жизни условий все удлиняется. Живое существо хранит информацию в генах. Оно нуждается в защитных барьерах, чтобы сохранять жизнь и запасать энергию для добывания пищи, которая пойдет на строительство новой живой материи. Но если живое существо не сможет добыть пищу, долго оно не проживет. Все живое должно двигаться - лететь, ползти, плыть по течению, пускать усики вверх по водосточной трубе. А чтобы быть уверенными, что движение идет в правильном направлении, большинство живых существ должно решить, куда двигаться.

Разумеется, человек использует для принятия этого решения те миллиарды нейронов, которые находятся в головном мозге. Чувства поставляют мозгу реки информации, а мозг отзывается на них управляющими сигналами, которые контролируют движение тела. С другой стороны, у *E. coli* нет мозга. У нее вообще нет нервной системы. Мало того, *E. coli* в несколько тысяч раз меньше по размеру, чем любая нервная клетка человеческого организма. Тем не менее крошечные размеры не мешают ей воспринимать окружающий мир. Она способна собирать информацию и вырабатывать решения: например, решать, куда двигаться.

*E. coli* плавает, как неуклюжая подводная лодка. По сторонам ее вытянутого тела имеется с полдюжины пропеллеров. По внешнему виду каждый из них напоминает не корабельный винт, а скорее, длинный кнут, тянущийся за бактерией. У основания каждого хвостика (или жгутика, как их называют микробиологи) располагается гибкий крюк, прикрепленный к мотору. Мотор представляет собой скопление белковых молекул в виде колеса; он способен

вращаться со скоростью 250 оборотов в секунду, а топливом ему служат протоны, попадающие внутрь бактериальной клетки через особые поры в этом механизме. Каждый жгутик состоит из одинаковых субъединиц - молекул белка флагеллина, уложенных по спирали вокруг полый сердцевины.



Жгутик *E. coli* вращается с помощью белкового мотора, вмонтированного в клеточную оболочку

Большую часть времени моторы *E. coli* вращаются против часовой стрелки; при этом все жгутики скручиваются в единый кабель - жгут, который тянется позади бактерии. Скручиваются они очень аккуратно, потому что каждый жгутик слегка закручен в нужном направлении; они складываются, как полосы на спирально окрашенном столбе. Вращаясь вместе, жгутики отталкиваются от окружающей жидкости и гонят бактерию вперед.

*E. coli* способна проплыть за секунду расстояние, в десять раз превышающее длину ее тела. Отметим, что самый быстрый пловец - человек проплывает за секунду всего лишь две своих длины. А ведь *E. coli* приходится преодолевать дополнительные трудности, потому что в микромире вода ведет себя совершенно иначе с точки зрения физических законов, чем в нашем привычном мире. *E. coli* вода представляется вязкой, как нефть. Прекратив усилия, она останавливается за миллионную долю секунды. Никакой инерции, никакого движения вперед. *E. coli* останавливается не то что на том же шаге, но буквально на том же атоме.

Примерно раз в секунду *E. coli* переводит свои моторы на реверсивный ход и совершает кульбит. Когда моторы вращаются по часовой стрелке, жгутики уже не могут удобно свернуться спиралью. Теперь спиральный изгиб, наоборот, заставляет их растопыриться и, образно говоря, встать дыбом. Такой кульбит длится около десятой доли секунды, затем *E. coli* вновь меняет направление вращения своего мотора на первоначальное - по часовой стрелке. Жгутики вновь удобно сворачиваются, и бактерия плывет дальше.

Первым ученым, кто как следует изучил механизм движения *E. coli*, стал Говард Берг, биофизик из Гарварда. В начале 1970-х гг. Берг построил микроскоп, способный отслеживать движение единичной *E. coli* в капле воды. После каждого кульбита ориентация тела и, соответственно, направление движения палочки менялись случайным образом. Берг зарисовал траекторию движения одного микроорганизма в течение нескольких минут и получил на листе каляку - маляку; наверное, так мог бы выглядеть клубок пряжи в невесомости. Непрерывно работая жгутиком, *E. coli* все это время оставалась в пределах крошечного пространства и никуда особенно не продвигалась.

Но стоит бактерии почувствовать что-то интересное, как она устремится в заданном направлении. Способность *E. coli* ориентироваться в пространстве достойна удивления - ведь у нее так мало возможностей. У нее нет ни колес, ни крыльев; все, что она способна делать, - это плыть прямо или кувыркаться. К тому же она получает так мало информации об окружающей среде! *E. coli* не может воспользоваться атласом, посмотреть или прислушаться; она способна лишь почувствовать молекулы, на которые случайно наткнулась в своих странствиях. Зато уж эти ограниченные возможности бактерия использует на полную катушку. Опираясь на несколько простых и элегантных правил, *E. coli* всегда попадает туда, куда ей нужно попасть.

У *E. coli* есть мембранные рецепторы, внешние концы которых торчат наружу, как перископы у подводной лодки. На переднем конце бактерии сосредоточено несколько тысяч таких рецепторов; они служат ей в качестве своеобразного "языка". Эти рецепторы делятся на

пять разных типов, каждый из которых связывает определенные молекулы. Некоторые молекулы привлекают *E. coli*, другие внушают отвращение. Привлекательная молекула (например, аминокислота серин) запускает внутри микроорганизма последовательность химических реакций с простым результатом: *E. coli* увеличивает промежуток направленного движения между кульбитами. До тех пор пока концентрация серина в окружающей жидкости растет, *E. coli* продолжает делать более длинные заплывы и реже менять направление. Если очередной кульбит направит бактерию прочь от источника серина, участки ее прямолинейного движения сразу же станут короче. Этого простого принципа достаточно, чтобы *E. coli* медленно, но верно продвигалась к точке максимальной концентрации серина. Добравшись до места, она там и остается, вновь вернувшись к бесцельному кувырканию.

Ученые начали разбираться в способе восприятия и движения *E. coli* в 1960-е гг. Этот микроорганизм был выбран из-за своей простоты: исследователям казалось, что и разобраться в нем будет несложно. В конце концов, работу белков в лабораториях мира уже 20 лет изучали на всевозможных мутантных штаммах *E. coli*. А разобравшись с обработкой информации у *E. coli*, можно будет переходить к более сложным системам обработки информации, включая и человеческий мозг. Сегодня, более 40 лет спустя, ученые понимают сигнальную систему *E. coli* лучше, чем любого другого биологического вида, но эта работа еще далеко не закончена. Некоторые части этой системы действительно оказались несложными. Так, *E. coli* не нужно рассчитывать фигуры высшего пилотажа, всякие бочки и штопоры. Ее простая стратегия (движение - кульбит) работает очень хорошо. Может быть, не каждая кишечная палочка попадет в точности туда, куда ей нужно, но многие попадут - и именно эти микроорганизмы выживут и оставят потомство (а значит, передадут отпрыскам стратегию движение - кульбит). Это все, что на самом деле нужно бактерии.

Тем не менее некоторые важные аспекты навигационной системы *E. coli* пока не поддаются расшифровке. "Язык" микроорганизма способен различать крохотную разницу в концентрации интересующих *E. coli* молекул - вплоть до одной тысячной. Бактерия умеет усиливать сигналы - каким образом, ученые до сих пор не поняли. Возможно, рецепторы *E. coli* работают согласованно: один из них, поворачиваясь, заставляет повернуться и соседние. Не исключено, что бактерия умеет анализировать одновременно различные потоки информации: ага, концентрация кислорода быстро растет, никеля - снижается, чуть потянуло глюкозой. Вообще, со временем может оказаться, что набор рецепторов у *E. coli* - не просто своеобразный бактериальный "язык"; может быть, лучше было бы назвать его мозгом.

## Миф о спутанных макаронах

Сложный чувствительный "язык" *E. coli* не слишком хорошо согласуется с традиционными представлениями о бактериях как примитивных и простых существах. Еще в середине XX в. бактерии сохраняли репутацию примитивных живых организмов, реликтов ранних этапов эволюции жизни. Считалось, что это всего лишь мешочки с ферментами и некоторым количеством ДНК, плавающей внутри подобно комку спутанных макарон. Их противопоставляли так называемым "высшим" организмам (животным, растениям, грибам), клетки которых удивительно организованы - ДНК в них аккуратно намотана на белковые катушки (каждая молекула ДНК намотана на множество маленьких катушек) и скомпонована в хромосомы, а хромосомы заключены в ядро. В этих клетках есть и другие отделы со своими функциями, такими как производство энергии или внесение последних штрихов при строительстве белковых молекул. Кроме того, эти клетки обладают собственным скелетом, состоящим из сети перекрещивающихся волокон.

Контраст между двумя видами клеток - неупорядоченными и хорошо организованными - был так силен, что в середине 1900-х гг. ученые именно по этому признаку разделили живые организмы на две большие группы. Все биологические виды, в клетках которых имеются ядра, стали называть эукариотами, что в переводе с греческого означает "истинное ядро". Все остальные виды, включая *E. coli*, назвали прокариотами. Подразумевалось, что до появления настоящего ядра существовали только прокариоты - примитивные и неорганизованные, а эукариот эволюция создала позже, привнеся тем самым порядок в окружающий нас мир.

Надо сказать, что такой подход несет в себе зерно истины. Общий предок всех живых организмов почти наверняка не имел клеточного ядра и, вероятно, выглядел примерно как сегодняшние прокариоты. Эукариоты отделились от прокариот более 3 млрд лет назад, но ядро и остальные отличительные признаки приобрели позже. Однако на самом деле разница между прокариотами и эукариотами не так велика, как представляется на первый взгляд. Просто организованность эукариот бросается в глаза. В человеческой клетке можно без труда

увидеть хромосомы, замысловатые изгибы аппарата Гольджи и похожие на сардельки митохондрии. География такой клетки очевидна. Но оказывается, у прокариот тоже есть своя география. Они содержат молекулы в строгом порядке, но ученые лишь недавно начали потихоньку узнавать этот тайный порядок.

И, как обычно, многие открытия связаны с *E. coli*. Кишечной палочке и другим микроорганизмам, чтобы выжить, необходимо решить множество сложнейших проблем, но самая серьезная из них - поддержание порядка в собственной ДНК. Дело в том, что хромосома *E. coli* в тысячу раз длиннее самой бактерии. Если просто засунуть ее внутрь бактерии, то двойная спираль молекулы ДНК скрутится в кошмарный клубок, как спутанная бечевка. Ферменты, считывающие гены, не смогут разобраться в такой путанице, не найдут там ни начала, ни конца. Они даже не смогут связаться с цепочкой ДНК для производства новых белков.

Существует и другая причина, по которой *E. coli* должна уделять своей ДНК особое внимание: эта молекула очень уязвима. Когда бактерия превращает пищу в энергию, среди отходов встречаются и заряженные атомы, которые вполне способны столкнуться с ДНК и выбить кусочек, оставив разрыв в одной из нитей. В образовавшийся разрыв притягиваются молекулы воды, которые, в свою очередь, могут разрушить связи между двумя нитями и разделить молекулу надвое, как застежку - молнию.

Лишь сравнительно недавно ученые начали понимать, как организована ДНК *E. coli*. Эксперименты показали, что ее хромосома свернута в сотни петель и скреплена при помощи особых белковых структур, которые работают наподобие "прищепок". Каждая петля закручена сама на себя, но "прищепки" не дают скрутиться остальной части хромосомы. Когда у *E. coli* возникает необходимость прочесть какой-то конкретный ген, к нужному участку направляется группа белковых молекул. Одни белки разделяют нити ДНК, позволяя другим пройти вдоль одной из нитей и синтезировать РНК - копию гена. Третьи при этом удерживают каждую из нитей и не дают им скрутиться и спутаться во время копирования. Как только молекула РНК синтезирована, нити ДНК вновь смыкаются.

При размножении *E. coli* сталкивается с куда более серьезными проблемами. При делении бактерия должна создать копию своей ДНК - реплицировать ее, после чего получившиеся хромосомы расходятся в разные концы клетки, - и разделиться на две дочерние клетки. *E. coli* способна проделать все перечисленное с идеальной точностью всего за 20 минут.

Первый шаг в создании новой *E. coli* - копирование более чем миллиона пар нуклеотидов, составляющих молекулу ДНК, - начинается, когда два десятка различных ферментов сходятся к одной точке хромосомы бактерии. Одни ферменты разделяют на небольшом участке нити ДНК, другие не дают им вновь соединиться, пока репликация этого участка не закончится. Две группы ферментов<sup>[8]</sup> начинают двигаться вдоль каждой нити, строя рядом со старой новую, с комплементарными нуклеотидами. Сзади них нити ДНК вновь смыкаются. Такая группа может достраивать к нити ДНК около 1500 новых нуклеотидов в секунду. Время от времени на пути группы встречаются "прищепки", которые удерживают нить и не дают ей скручиваться. Ученые подозревают, что каждая "прищепка" должна каким-то образом раскрыться, чтобы пропустить через себя группу реплицирующих ферментов, а затем сомкнуться вновь. Иногда ферменты, участвующие в репликации ДНК, встречаются с другой группой ферментов<sup>[9]</sup>, занятой синтезом РНК для производства белков, и вынуждены ждать, пока процесс будет закончен. Лишь после этого они возобновляют свою работу. Несмотря на все препятствия, группы ферментов, синтезирующие ДНК, работают не только быстро, но и необычайно точно. Допустимое для них число ошибок чрезвычайно мало.

Ферменты копируют ДНК, и постепенно на месте одной появляется две хромосомы. Формирующиеся молекулы все время остаются связанными, как звенья одной цепочки. Потом специальный фермент<sup>[10]</sup> разъединяет кольцевые хромосомы, которые сразу же начинают расходиться в разные концы клетки. Ученые сегодня много знают о том, как у *E. coli* происходит репликация ДНК, но по-прежнему не пришли к единому мнению по поводу того, каким образом двигаются ее хромосомы. В последнее время показано, что это активный процесс, в котором принимают участие несколько групп специальных белков. После расхождения хромосом *E. coli* может начать процесс деления клетки.

Следует заметить, что бактерия должна разделиться очень точно как в пространстве, так и во времени. Если начать процесс деления прежде, чем разойдутся хромосомы, ДНК тоже окажется разделена. Если деление произойдет слишком близко к какому-то из концов, то один потомок *E. coli* окажется обладателем пары хромосом, а второму хромосом вообще не достанется. Подобных катастроф практически не случается. *E. coli*, как правило, всегда делится

почти точно посередине - и почти всегда в тот момент, когда две только что сформированные хромосомы успели разойтись в разные концы.

Чтобы этот точно выверенный танец прошел без сбоев, нужна согласованная работа нескольких типов белков. Ключевой белок деления у большинства бактерий - белок FtsZ. Когда *E. coli* готова к делению, происходит полимеризация FtsZ, молекулы которого выстраиваются в кольцо вдоль внутренней цитоплазматической мембраны примерно посередине бактериальной клетки. Кольцо из полимеризовавшегося FtsZ - Z - кольцо - заякоривается на мембране при помощи "вспомогательных" белков и начинает постепенно сжиматься, образуя перетяжку; в результате формируются две дочерние клетки.

Выстраивая кольцо посередине клетки, белок FtsZ не пользуется картой бактерии и не измеряет ее линейкой. Полимеризоваться именно в середине бактериальной клетки FtsZ вынуждают белки системы Min - D, C и E. Они не дают FtsZ полимеризоваться там, где не надо.

Ингибитором полимеризации FtsZ служит белок MinC. Но активируется он, только связавшись с белком MinD. Белок MinD может прикрепляться к мембране на полюсах клетки, где он полимеризуется и связывается с MinC, что приводит к деполимеризации FtsZ вблизи полюсов клетки. Белок MinE тоже полимеризуется вблизи полюсов клетки в виде так называемого E - кольца и препятствует формированию комплекса MinD/C. Стоит комплексу MinD/C разрушиться, как MinC инактивируется и не может препятствовать полимеризации FtsZ. Таким образом, MinE препятствует формированию комплекса MinD/C в центральной части. Поэтому только в центральной части клетки у FtsZ есть шанс сформировать кольцо.

Но даже там формирование кольца большую часть времени блокируется хромосомой и сопутствующими ей белками. Только после того, как завершится репликация хромосомы и две ее копии разойдутся из середины клетки к краям, там образуется достаточно свободного места, чтобы молекулы FtsZ могли закрепиться и начать деление микроорганизма надвое.

Может быть, клетка *E. coli* и не обладает такой очевидной структурой, как клетки эукариот, но своя структура у нее имеется. Это география ритмов, карта течений.

## Прыжок с обрыва

*E. coli* привлекла к себе внимание Теодора Эшериха благодаря быстрому размножению - один - единственный микроорганизм может всего за несколько часов дать обильный, роскошный прирост. Если бы бактерии, открытые Эшерихом, продолжали размножаться такими стремительными темпами, они очень быстро заполнили бы все его колбы сплошной микробной массой. Да что там - за несколько дней они захватили бы всю Землю! Но *E. coli* поступает иначе. Она замедляет свой рост, а затем, всего через сутки, вообще прекращает размножаться.

Теоретически любой вид живых существ мог бы заполнить собой Землю. Но на практике нам не приходится пробираться через бескрайние леса дождевиков или океаны блох. Экспоненциальный рост численности вида быстро наталкивается на суровую реальность нашего конечного мира. По мере увеличения плотности популяции *E. coli* бактерии начинают расходовать кислород быстрее, чем он может поступать извне. Токсичные отходы скапливаются в окружающей колонию среде.

Такое столкновение с реальностью может оказаться фатальным. Когда у *E. coli* заканчиваются необходимые питательные вещества, ее метаболизм начинает сбоить. Рибосомы производят деформированные белки, способные напасть на другие молекулы бактерии. Катастрофические изменения могут охватить весь микроорганизм. Продолжать рост в условиях такого стресса было бы самоубийством - это как, не снижая скорости, гнать машину к обрыву.

Вместо этого *E. coli*, как разумный водитель, нажимает на тормоза. В течение нескольких секунд она прекращает считывать гены и уничтожает все белки, строительство которых уже началось. Микроорганизм входит в состояние зомби - так называемую стационарную фазу роста. Он начинает производить белки, необходимые для защиты от излишнего тепла, кислот и других поражающих факторов, и одновременно прекращает синтез ферментов, необходимых для питания. Чтобы не пропустить внутрь опасные молекулы, *E. coli* закрывает в своей мембране большую часть пор, а чтобы защитить ДНК, складывает ее в очень компактную структуру. Все эти приготовления требуют немало энергии, которую бактерия уже не может получить из пищи, поэтому *E. coli* приходится поедать саму себя, расщепляя богатые энергией молекулы. Она разбирает на части даже некоторое количество рибосом, теряя при этом способность производить новые белки.

Надо сказать, что *E. coli* при голодании ожидают примерно те же проблемы, с какими по мере старения организма сталкиваются наши собственные клетки. В стареющих человеческих клетках гены и рибосомы получают повреждения, похожие на те, которые встречаются у *E. coli*, когда у нее заканчиваются питательные вещества. У людей, страдающих болезнью Альцгеймера, в мозгу образуется множество белков, деформированных примерно так же, как у голодающей *E. coli*. Вообще, жизнь умеет не только расти и размножаться. Помимо этого она увядает и гибнет.

И человек, и бактерия сталкиваются с разрушительным действием времени, но только бактерия умеет выходить из этой схватки победительницей. Если взять единичную *E. coli* в стационарной фазе и поместить в бутылку со свежим бульоном, она распакует ДНК, синтезирует новые белки и с царственным достоинством возобновит прежнюю жизнь. Можно оставить колонию *E. coli* в стационарной фазе на пять лет и после этого обнаружить в ней жизнеспособные микроорганизмы. Это мы, люди, никогда не получаем второго шанса.

### Глава 3. Система включения гена

Однажды в июле 1958 г. Франсуа Жакоб сидел в парижском кинотеатре и изнывал от беспокойства. Его жена Лиз по опыту знала, что у мужа вот - вот родится какая-то неожиданная идея. Они вышли из зрительного зала и направились домой.

- Кажется, я только что придумал кое-что важное, - сказал Франсуа жене.

- Расскажи! - попросила она.

В тот момент Жакобу, как он позже писал, казалось, что ему удалось добраться "до самой сути вещей". Он вдруг понял, как гены взаимодействуют между собой и как они делают жизнь возможной.

Надо сказать, что Жакоб давно мечтал о подобном озарении. Хирург по образованию, он бежал из Парижа после прихода нацистов и следующие четыре года служил в медицинской роте союзников, участвовал в боях в Северной Африке. Ранение и контузия положили конец его планам стать хирургом, и после войны, вновь оказавшись в Париже, молодой человек просто не знал, как ему распорядиться своей жизнью. Он поступил на работу в лабораторию по разработке антибиотиков и неожиданно почувствовал интерес к научным исследованиям. Но Жакоб хотел не просто найти новое лекарство, он решил посвятить себя изучению "сути жизни". В 1950 г. Жакоб пришел на работу в Институт Пастера и присоединился к команде биологов, упорно работавших в мансарде института с *E. coli* и другими бактериями.

Жакоб пришел в науку, не имея собственного плана исследований, но в конце концов он занялся двумя кусочками глобальной биологической головоломки: вопросом о том, почему гены иногда активны, а иногда нет. Несколько лет Жакоб изучал умеренных бактериофагов - вирусы, которые умеют "растворяться" в клетке хозяина - бактерии, а потом, спустя несколько поколений, появляться вновь. Вместе с Эли Вольман Жакоб продемонстрировал, что такие бактериофаги на самом деле встраивают свои гены в ДНК *E. coli*. Ученые позволяли инфицированным бактериофагами бактериям вступить в конъюгацию с неинфицированными, а затем их разделяли. Если конъюгация прекращалась слишком быстро, передачи профага<sup>[11]</sup> не происходило. Эксперименты показали, что профаг стабильно встраивается в одно и то же место хромосомы *E. coli*. Гены вируса уютно встраивались между генами клетки - хозяина и "молчали" в течение нескольких поколений.

*E. coli* предоставила Жакобу еще одну возможность изучить гены, которые иногда работают, а иногда нет. Чтобы утилизировать определенный вид сахара, *E. coli* необходимо производить определенные ферменты. Так, чтобы расщеплять лактозу, бактерии необходим фермент бета - галактозидаза, способный разрезать молекулу лактозы на кусочки. Коллега Жакоба по Институту Пастера Жак Моно обнаружил, что, если давать *E. coli* глюкозу (а это гораздо более эффективный источник энергии для бактерии, чем лактоза), она производит бета - галактозидазу в очень малых количествах. Если добавить в питательную среду лактозу, производство фермента увеличится незначительно. Только после того, как глюкоза закончится, синтез бета - галактозидазы начнется всерьез.

Никто в то время не мог вразумительно объяснить, как гены *E. coli* или ее профагов могут то включаться, то выключаться. Прежде многие ученые считали, что синтез белков в клетке идет постоянно и непрерывно. Чтобы объяснить реакцию *E. coli* на лактозу, они выдвинули предположение, что на самом деле бактерия вырабатывает бета - галактозидазу постоянно, но только при реальном контакте с лактозой фермент меняет форму и приходит в то состояние, которое позволяет ему ее расщеплять.

Стремясь выяснить, что происходит на самом деле, Моно, Жакоб и их коллеги из Института Пастера начали серию экспериментов. Они выделили мутантные формы *E. coli*, которые по каким-то причинам не могли утилизировать лактозу. К примеру, один из мутантов не расщеплял лактозу, хотя у него присутствовал нормальный ген, отвечающий за производство бета - галактозидазы. Ученые поняли, что *E. coli* использует для утилизации лактозы несколько генов. Один из них кодирует образование белка пермеазы, который встраивается в мембрану микроба, соединяется с молекулой лактозы и переносит ее внутрь клетки.

Но самыми странными среди обнаруженных мутантных форм оказались бактерии, которые производили бета - галактозидазу и пермеазу непрерывно, вне зависимости от того, имелась ли в окружающей питательной среде лактоза. Стало ясно, что у *E. coli* есть еще какая-то молекула, которая в обычных условиях не допускает активации генов, отвечающих за производство бета - галактозидазы и пермеазы. Этот белок ученые назвали репрессором. Но Жакоб и его коллеги ничего не могли сказать о том, каким образом репрессор подавляет работу генов.

И вот в темном зале кинотеатра Жакоба осенило. Репрессор, решил он, - это белок, который связывается с ДНК *E. coli* и блокирует считывание соответствующих генов (в данном случае генов бета - галактозидазы и других, отвечающих за расщепление лактозы). По определенному сигналу, как по щелчку выключателя, репрессор прекращает блокировать гены.

Возможно, подумал Жакоб, профаги тоже блокируются каким-нибудь репрессором. Не исключено, что эта система универсальна и работает во всех живых организмах. "Я больше не чувствую себя посредственностью и даже смертным", - писал Жакоб.

Но попытка рассказать в общих чертах о новых идеях жене принесла одно только разочарование.

- Ты мне уже об этом рассказывал, - сказала Лиз. - Это же давно известно, разве не так?

Идея Жакоба была настолько проста и элегантна, что любому человеку, не связанному с биологией, казалась самоочевидной. Тем не менее она представляла новый подход к проблеме жизни. Гены работают не по одному, а блоками.

Следующие несколько недель Жакоб пытался обсудить свои новые идеи с коллегами - биологами, но особого интереса вызвать не сумел. Благодарный слушатель у него появился только осенью, когда в Париж вернулся Моно. Вдвоем они начали рисовать на доске блок - схемы генетического механизма, обозначать стрелками входы и выходы.

Осенью 1958 г. Моно и Жакоб запустили новую серию экспериментов для проверки гипотезы Жакоба. Эксперименты дали ожидаемый результат. Но для подробного изучения работы генов, отвечающих за утилизацию лактозы, потребовались годы труда множества ученых. Оказалось, что эти гены располагаются на хромосоме *E. coli* общим кластером, один за другим. Белок - репрессор связывается со специальным участком ДНК в начале группы генов и блокирует работу ферментов, считывающих их. Когда репрессор связан с этим участком, *E. coli* не может использовать лактозу в качестве источника питания.

Лучший способ удалить репрессор, блокирующий работу генов, отвечающих за расщепление лактозы, заключается в том, чтобы добавить ее в питательную среду, на которой растут колонии *E. coli*. Попав внутрь бактериальной клетки, молекулы лактозы взаимодействуют с закрепившимся на хромосоме белком - репрессором. Они изменяют его форму так, что он теряет сродство к соответствующему участку ДНК, открывая доступ ферментам РНК - полимеразам, считывающим гены, которые участвуют в метаболизме лактозы. В результате *E. coli* получает возможность синтезировать ферменты, необходимые для утилизации лактозы.

Но *E. coli* нужен второй сигнал, чтобы запустить производство бета - галактозидазы на полную мощность: бактерии необходимо знать, что запасы глюкозы исчерпались. Таким сигналом служит комплекс двух молекул - циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и белка под названием CAP. В бактериальной клетке происходит накопление цАМФ, когда сильно падает уровень глюкозы.

CAP связывается с цАМФ, и получившийся комплекс прикрепляется к ДНК перед генами, отвечающими за метаболизм лактозы. Этот комплекс изгибает ДНК и тем самым облегчает связывание с ней фермента РНК - полимеразы, осуществляющей считывание генов, - в результате начинается синтез РНК на матрице ДНК. Стоит комплексу цАМФ - CAP связаться с ДНК, как производство ферментов, участвующих в метаболизме лактозы, разворачивается полным ходом. Получается, что репрессор выключает, а комплекс цАМФ - CAP включает этот процесс.

Жакоб с коллегами окрестили гены, отвечающие за расщепление лактозы, опероном *lac*. Оперон - это группа функционально связанных генов, которые регулируются одними и теми

же факторами. Жакоб подозревал, что опероны олицетворяют общий принцип работы генов. Сотни генов *E. coli* объединены в опероны, каждым из которых управляют собственные переключатели. У некоторых оперонов переключателей несколько, и для запуска производства белков все они должны сработать. Иногда одного - единственного белка оказывается достаточно, чтобы запустить целый каскад реакций, включить гены, отвечающие за производство еще каких-нибудь переключателей, и в конечном итоге позволить *E. coli* изготовить сотни новых типов белков.

Вообще, включатели и выключатели встречаются в природе повсеместно. Профаги спят внутри бактерии благодаря репрессорам, которые не позволяют их генам активироваться. При воздействии стрессовых факторов репрессоры освобождают ДНК, и профаги начинают производство новых вирусов. Опероны можно обнаружить и в других бактериях. В клетках животных, таких как мы с вами, опероны, судя по всему, встречаются гораздо реже. Но даже гены, расположенные в нашем геноме не по соседству друг с другом, иногда включаются в результате действия одного и того же регуляторного белка.

Только за счет включения и выключения генов наши клетки могут вести себя по-разному - ведь геном во всех клетках организма одинаковый. Этот механизм дает им возможность стать клетками печени или частью кости, обрести чувствительность к свету или теплу. Выяснив, как *E. coli* пьет молоко, Жакоб и его коллеги открыли путь к пониманию того, почему мы с вами люди, а не просто амебы.

## Живые схемы

Для инженера схема - это совокупность проводов, резисторов и других электронных компонентов, организованных таким образом, чтобы получить из входного сигнала выходной. Счетчик Гейгера, зарегистрировав пролетающую через него радиоактивную частицу, производит щелчок. Нажатие на клавишу выключателя погружает комнату в темноту. Гены работают в соответствии с той же логикой. У генетической схемы тоже есть входы и выходы. Лас - оперон срабатывает лишь при получении на вход двух сигналов: сигнала о том, что у *E. coli* закончилась глюкоза, и сигнала о наличии лактозы. На выходе этой схемы - белки, необходимые *E. coli* для расщепления лактозы.

У *E. coli* нет проводов, которые ученые могли бы разомкнуть, чтобы посмотреть, как работают ее схемы. Вместо этого им приходится ставить эксперименты вроде тех, что проводили Моно и Жакоб. Экспериментаторы наблюдают, как быстро микроорганизмы откликаются на изменение окружающей среды, с какой скоростью они способны произвести тот или иной белок или, наоборот, избавиться от него. Они объединяют результаты множества экспериментов в модели и с их помощью предсказывают, как поведет себя *E. coli* в следующем эксперименте. Фундаментальные открытия, сделанные Моно, Жакобом и их коллегами на *E. coli*, позволили другим ученым разобраться в схемах разных видов, в том числе и нашего. Но в течение всех 50 лет, что прошли с того памятного вечера в кинотеатре, исследователи продолжали всерьез изучать *E. coli*. Им удалось обнаружить в генетическом аппарате бактерии интереснейшие структуры, а позже составить его карту - самую подробную из всех обитающих на Земле видов живых существ; попутно выяснилось, что генетические схемы во многом напоминают схемы электронные, которые сегодня можно обнаружить в цифровых камерах или спутниковых радиоприемниках.

Чтобы доказать, что это не пустое сравнение, я хочу разобрать работу всего лишь одной из множества схем *E. coli*. Эта схема управляет биосинтезом и сборкой жгутиков. Ученые потратили немало лет на то, чтобы выяснить, какие гены в нее входят. А в 2005 г. Ури Алон и его коллеги из Института Вейцмана определили наконец, что эта схема делает. Она работает как противопомеховый фильтр.

Инженеры используют подобные фильтры для блокирования атмосферных помех в телефонных линиях, борьбы с размыванием изображений и другими внешними воздействиями, затрудняющими прием сигнала. В случае *E. coli* в роли помех выступает лишняя, несущественная информация об окружающей среде, а противопомеховый фильтр позволяет бактерии обращать внимание только на те факторы, которые имеют принципиальное значение. Для *E. coli* при сборке жгутика крайне важно отсекаать помехи, потому что его сооружение во многом напоминает строительство собора.

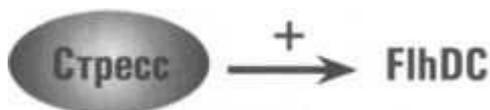
Бактерия должна включить около 50 генов, синтезирующих десятки тысяч белков, причем белки эти синтезируются и действуют в строго согласованном порядке. Сначала мотор встраивается в клеточную оболочку. Затем стержень с центральным каналом, работающий наподобие шприца, пройдя сквозь центр мотора, выталкивает наружу тысячи белковых

молекул. Белки проходят через полую трубочку и появляются с другой стороны, наращивая жгутик. Весь процесс занимает один - два часа, что для *E. coli* может означать несколько поколений. При делении клетки новая бактерия наследует частично выстроенный жгутик и передает его, по - прежнему в незавершенном виде, своим потомкам.

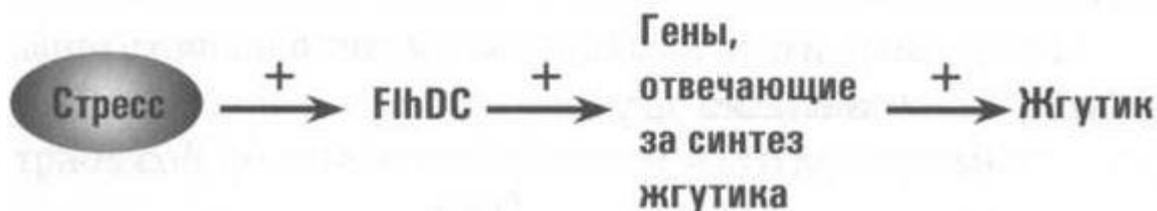
К моменту окончания синтеза жгутиков проблема, заставившая микроорганизм отращивать их, может разрешиться сама собой. Вся затраченная на эту работу энергия пропадает впустую. Поэтому *E. coli* внимательно следит за тем, что происходит вокруг, и как только дела начинают идти на лад, останавливает сборку жгутика. Единственная причина, из-за которой эта стратегия способна привести к неудаче, заключается в том, что наступление лучших времен может обернуться мимолетным миражом. Если *E. coli* прекратит сборку жгутика при первом проблеске надежды - скажем, случайно проплывающей мимо молекулы кислорода, - она может застрять там, где ее жизни грозит опасность. Такие сигналы играют для *E. coli* роль помех, которые она должна отсекать.

Чтобы объяснить, как *E. coli* отфильтровывает из сигнала помехи, я нарисую блок - схему соответствующей системы. Стрелка со знаком "плюс" означает, что данный сигнал или ген стимулирует активность другого гена.

Знак "минус" означает, что ген подавлен. Первая стрелка на этой схеме ведет из внешнего мира внутрь клетки *E. coli*. Почувствовав, что условия окружающей среды стали неблагоприятными, бактерия в некоторых случаях производит в ответ белки FlhD и FlhC, которые формируют тетрамерный комплекс, состоящий из двух молекул FlhD и двух молекул FlhC.

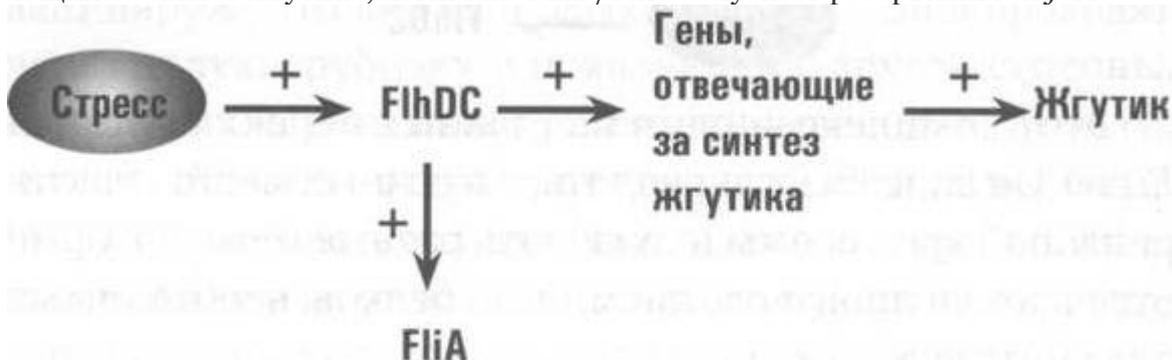


Этот комплекс - один из главных переключателей *E. coli*. Он способен закрепляться в разных местах бактериальной хромосомы и включать разные гены, которые отвечают за производство многих белков, необходимых для синтеза жгутика.



Именно здесь кроется основной недостаток механизма, отвечающего за синтез жгутика. В ответ на стрессовое воздействие этот механизм может включить соответствующие гены, но ему же придется их выключать, когда кризис завершится. Без воздействия стрессового фактора бактерия прекращает производить новые молекулы FlhD/FlhC. Старые молекулы постепенно исчезают, и контролируемые FlhD/FlhC гены теряют способность производить свои белки. В результате сложный процесс синтеза жгутика начинает давать сбой и вообще прекращается при малейшем, хотя и недолгом, улучшении ситуации. Когда же условия вновь ухудшатся, бактерии придется паскочегаяпить свою жгутикообразовательную машину практически с нуля. Понятно, что в критических обстоятельствах любая задержка может оказаться фатальной.

На самом деле *E. coli* не страдает и не гибнет от ложных сигналов тревоги, потому что в ее генетическом аппарате имеются дополнительные системы регуляции. При включении генов, отвечающих за синтез жгутика, комплекс FlhD/FlhC запускает резервный ген *fliA*.



Кодируемый им белок FliA тоже может включать гены, отвечающие за синтез жгутика.



Но *fliA*, помимо всего прочего, находится под контролем еще одного белка, получившего название FlgM. Этот белок захватывает молекулы белка FliA сразу же, как только *E. coli* их синтезирует, и не позволяет им включать гены синтеза жгутика. Вот как выглядит схема с участием FlgM:



Однако FlgM не способен долго подавлять работу *fliA*, потому что *E. coli* выбрасывает его наружу через ту же шприцеподобную структуру, через которую подается строительный материал для жгутика. По мере того как число молекул FlgM снижается, высвобождается все больше молекул белка FliA, которые начинают включать гены синтеза жгутика один за другим.

Вот, наконец, полная схема противопомехового фильтра *E. coli*, составленная Алоном и его коллегами:



Этот элегантный генетический механизм делает *E. coli* царицей в лучшем из миров. В начале процесса синтеза жгутика бактерия сохраняет высочайшую чувствительность к любым признакам улучшения ситуации, потому что за работу соответствующих генов в этот момент отвечает только FlhD/FlhC. Но когда "шприц" построен и *E. coli* начинает выкачивать FlgM наружу, в дело вступает противопомеховый фильтр. Если теперь стрессовые факторы ослабевают, снижается и уровень FlhD/FlhC. Но к этому моменту *E. coli* уже успевает выработать достаточное количество свободных молекул белка FliA, чтобы удерживать гены

синтеза жгутика в рабочем состоянии более часа. Затем, если улучшение ситуации окажется временным, *E. coli* возобновит производство FlhD/FlhC, и синтез жгутика продолжится без сбоев.

*E. coli* способна отфильтровывать помехи и шум, но она отнюдь не глуха. Если обстановка значительно улучшится, бактерия прекратит синтез жгутика. Дело в том, что запаса FlhA надолго не хватит. Молекулы белка одна за другой получают повреждения, и молекулярные мусорщики *E. coli* их уничтожают. Если стрессовое воздействие не возобновится в течение определенного времени, запасы белка FlhA закончатся и схема перестанет действовать. Видно, и правда вернулись сытые времена, и пора отказаться от строительства бесполезного жгутика.

Сейчас ученые пытаются разобраться в генетических схемах других биологических видов так же тщательно, как Алон и его коллеги разобрались в схемах *E. coli*. Но этот процесс займет немало времени. Знаний ученых о том, как работают в этих схемах гены и белки, пока недостаточно, чтобы строить хорошие, достоверные модели. Во многих случаях нам известно лишь, что ген А включает гены В и С; мы не представляем, что заставляет его "щелкать выключателем" и что происходит после этого.

Но Алон сумел извлечь замечательный урок даже из такого крохотного объема информации. Вместе с коллегами он тщательно исследовал гены *E. coli* и нескольких других хорошо изученных видов - дрожжей, уксусных нематод, плодовых мушек, мышей и человека. Соединение отдельных блоков этих схем стрелками происходит в соответствии с неким шаблоном намного чаще, чем можно было бы ожидать при их случайном формировании. Противопомеховый фильтр *E. coli*, к примеру, принадлежит к классу схем, которые инженеры называют схемами регулирования с прямой связью или схемами непосредственного регулирования. (Цепочка связей в противопомеховом фильтре идет от FlhDC к FlhA и далее к генам синтеза жгутика.) Как показали Алон и его коллеги, схемы непосредственного или прямого регулирования необычайно популярны в живых системах. Кроме того, природа демонстрирует склонность к использованию еще нескольких типов схем, которые, судя по всему, также дают жизни возможность извлекать выгоду из таких инженерных решений, как противопомеховые фильтры. *E. coli* и слон, похоже, не просто построены на базе одного и того же генетического кода. Вдобавок, они скомпонованы с использованием одних и тех же стандартных схемотехнических приемов.

## Жизнь на автопилоте

На землю опустились оранжевые зимние сумерки. За окном виднеется паутина голых кленовых ветвей. Поток фотонов струится через окно и попадает на фоторецепторы, выстилающие сетчатку моих глаз. Фоторецепторы вырабатывают электрические сигналы, которыми они сначала обмениваются между собой, а затем посылают по волокнам оптических нервов в затылочную часть мозга. Сигналы проходят сквозь мозг по сети из миллиардов нейронов, связанных между собой триллионами отростков. В мозгу формируется изображение. Я встаю из-за стола, чтобы включить свет. В первый момент заоконный мир погружается для меня в темноту, но через мгновение мои глаза приспособляются к новым условиям. Я снова вижу раскачивающиеся деревья с голыми сучьями.

Мне приходится напоминать себе, насколько это замечательно - то, что я по - прежнему их вижу. Мгновением раньше мое зрение было тончайшим образом настроено на восприятие мира в сумерках. Если бы после включения света в настройках моего зрения ничего не изменилось, я бы практически ослеп. К счастью, мои глаза и мозг умеют настраиваться и на полуденное солнце, и на слабый свет молодого месяца. Если свет усиливается, моя нервная система быстро сужает зрачки, чтобы в глаз проникало меньше света. Когда свет пропадает, мои зрачки расширяются, а нейроны сетчатки усиливают контраст между светлым и темным в поле моего зрения. Инженер назвал бы человеческое зрение робастным - устойчивым к изменению внешних условий. Иными словами, оно надежно работает в нашем нестабильном мире.

Человеческое тело устойчиво во многих отношениях. Человеческий мозг нуждается в постоянной подпитке глюкозой, но мы не теряем сознания, если случайно пропустим обед. Чтобы сохранить нужную концентрацию сахара, тело прибегает к резервным запасам глюкозы. Из небольшого скопления клеток, непрерывно обменивающихся целыми водопадами сигналов, координирующих деление, развивается зародыш. На эти сигналы воздействуют разнообразные помехи, но все же из большинства зародышей получаются совершенно здоровые младенцы.

Раз за разом жизнь умудряется избежать катастрофических неудач и не сбиться с курса.

До недавнего времени у ученых не было достоверных свидетельств о том, почему жизнь обладает такой устойчивостью. Чтобы определить источник устойчивости, необходимо изучить живые системы на глубочайшем уровне подробнейшим образом, сжиться с ними - примерно так же, наверное, как конструктор сживается с создаваемой им системой автопилотирования, используя ее схему для проведения экспериментов. Однако принципиальные схемы живых существ по большей части по-прежнему остаются для нас тайной за семью печатями. *E. coli* - одно из немногих исключений.

В борьбе за выживание *E. coli* постоянно сталкивается с серьезнейшими угрозами. Положите в солнечный день чашку Петри на подоконник, и вы поставите обитающих в ней бактерий на грань катастрофы. Жара оказывает на белки *E. coli* губительное действие. Чтобы работать правильно, каждому белку необходимо все время сохранять характерную только для него скрученную форму, по сложности напоминающую оригами. Перегретый белок разворачивается и становится похожим на спутанный клубок - он денатурируется. Такой белок уже не способен выполнять работу, от которой зависит выживание *E. coli*.

И все же кишечная палочка не умирает от повышения температуры на несколько градусов. Когда температура поднимается, бактерия начинает синтезировать так называемые белки теплового шока. Они выполняют двойную защитную функцию. Некоторые обхватывают начавшие денатурироваться белки *E. coli* и возвращают им надлежащую форму. Остальные распознают белки, пострадавшие от жары настолько, что их уже невозможно привести в порядок, и разрезают на части, пригодные для строительства новых белков.

Белки теплового шока вполне способны спасти хозяйке жизнь, но *E. coli* не в состоянии держать "под рукой" запас таких белков на случай будущих неприятностей. Надо сказать, что эти белки - одни из самых крупных в ее арсенале, а чтобы пережить тепловой удар, могут потребоваться десятки тысяч таких молекул. Производить их про запас - все равно что заставить двор своего дома пожарными машинами на случай, если дом вдруг загорится. С другой стороны, если пожарная машина нужна, то нужна она быстро. *E. coli*, затратив слишком много времени на производство белков теплового шока, может погибнуть, не дождавшись помощи.

Эта особенность привлекла внимание инженера Калифорнийского технологического института Джона Дойла и его коллег. В прошлом Дойл занимался теорией создания систем управления для самолетов и космических кораблей многоразового использования. Однако оказалось, что в клетке *E. coli* скрыты конструкторские решения, ничуть не уступающие тем механизмам, в создании которых ему довелось принимать участие. Вместе с коллегами Дойл начал изучать белки теплового шока и то, как бактерия с их помощью выживает.

Исследователи выяснили, что *E. coli* контролирует запас белков теплового шока с помощью механизма отрицательной обратной связи. С точки зрения инженера, обратная связь возникает тогда, когда выход какой-то схемы начинает влиять на ее же вход. Так, термостат поддерживает температуру в доме примерно на одном уровне при помощи одной из простейших форм обратной связи. Термостат измеряет температуру в доме и, если она оказывается слишком низкой, включает обогреватель. Если температура слишком высокая, он выключает обогреватель.

*E. coli* защищается от высокой температуры примерно так же. Ключевой белок ее "термостата" называется сигма-32, который регулирует, какие именно гены будет считывать РНК - полимеразы. Даже при невысокой температуре бактерия постоянно считывает ген, отвечающий за синтез сигма-32, и синтезирует его РНК - копии. Но при нормальной температуре молекулы РНК сигма-32 находятся в свернутом состоянии, и *E. coli* не может использовать их для синтеза белка. Поэтому при нормальной температуре в бактериальной клетке много РНК сигма-32, но совсем нет соответствующего белка.

Однако, когда температура окружающей среды повышается, РНК сигма-32 разворачивается. Теперь рибосомы могут прочесть эти молекулы и синтезировать по ним белок сигма-32, и *E. coli* за короткое время производит огромное количество этого белка. Молекулы сигма-32 быстро находят молекулы РНК - полимеразы и направляют их к генам, отвечающим за производство белков теплового шока. Таким образом, на синтез десятков тысяч молекул белка теплового шока уходит всего несколько минут.

Столь стремительный ответ может спасти *E. coli* от перегрева, но в нем же скрыт и большой риск. Внезапный и бесконтрольный синтез белка сигма-32 опасен - даже хорошей вещи может быть слишком много. Ведь описанным способом бактерия наверняка произведет намного больше белков теплового шока, чем нужно. Но мы знаем, что этих молекул в клетке *E. coli* появляется ровно столько, сколько необходимо для данной температуры: больше, если

температура высокая, и меньше, если не очень. Такое тонкое регулирование осуществляется при помощи целой системы петель обратных связей.

Белки теплового шока не просто защищают *E. coli* от перегрева, но и контролируют количество сигма-32. Одни из них хватают молекулы сигма-32 и прячут "в карман"; другие режут их на части. Когда температура поднимается, в первые несколько мгновений белки теплового шока слишком заняты, чтобы нападать на сигма-32, - ведь необходимо помочь множеству других молекул, подвергшихся губительному воздействию высокой температуры. Но как только им удается взять ситуацию под контроль, свободные белки теплового шока (а их становится все больше) переносят свое внимание на сигма-32. А по мере снижения числа молекул сигма-32 падает и производство новых белков теплового шока.

Этот механизм обратной связи не позволяет *E. coli* синтезировать слишком много белков теплового шока. Кроме того, она достаточно точно регулирует уровень этих белков. Если температура окружающей среды лишь слегка повысилась, но *E. coli* еще не умирает от жары, то белки теплового шока быстро снижают уровень сигма-32. Но если температура продолжает повышаться, то их внимание поглощено помощью развернувшимся молекулам и уровень сигма-32 - а значит, и производство белков теплового шока - остается высоким. Когда же окружающая среда остывает до комфортной температуры, "термостат" *E. coli* практически полностью прекращает производство белков теплового шока.

Устойчивость системы саморегуляции *E. coli* объясняется наличием в ее управляющих схемах встроенной системы петель обратных связей. Для инженера такая конструкция совершенно естественна. Автопилот в "Боинге-777" использует примерно такие же обратные связи, чтобы удерживать самолет на нужной высоте при любых порывах ветра и нисходящих течениях. Устойчивость и бактерии, и самолета обеспечивает не всезнающее сознание, а сама управляющая схема.

## Общая картина

Объедините гены в группы, и они смогут сделать намного больше, чем сделали бы по отдельности. Объедините группы в единую систему - и получите живой организм.

В 1940-е гг. Эдвард Тейтем и другие ученые получили первые сведения о том, для чего предназначены некоторые гены *E. coli*. К 2007 г. исследователи имели более или менее полное представление о том, чем занимаются примерно 85 % ее генов, что превратило обычную кишечную палочку в золотой стандарт расшифрованности генома. Сегодня по генам *E. coli*, ее оперонам и метаболическим путям созданы и работают онлайн-базы данных. Загадки, конечно, остаются. Так, у *E. coli* обнаружен 41 фермент, для которых ученым еще только предстоит найти кодирующие их гены. Тем не менее постепенно вырисовывается примерный портрет *E. coli*. Пока это максимум того, что удалось сделать биологам в плане полной расшифровки устройства живого организма.

Ученые под руководством Бернарда Палссона, профессора биоинженерии из Калифорнийского университета в Сан - Диего, попытались построить модель метаболизма клетки *E. coli*. По состоянию на 2007 г. они ввели в компьютер данные о 1260 генах и 2077 реакциях. На базе этой информации компьютер может вычислить, сколько углерода проходит по метаболическим путям *E. coli* в зависимости от характера поглощаемой ею пищи. Модель Палссона умеет делать то, что делают все хорошие модели, - предсказывать реальность. В частности, она очень неплохо предсказывает, как быстро *E. coli* будет расти на глюкозе и сколько углекислого газа она при этом выделит. Если Палссон условно отключит бактерии кислород, модель перенаправит углерод на другую, не связанную с кислородом метаболическую траекторию (точно так, как это делает *E. coli*). Если Палссон исключит из схемы один из белков, модель реорганизует свой метаболизм так же, как это делает реальная мутантная *E. coli*, у которой отсутствует этот белок. Модель надежно предсказывает поведение *E. coli* в тысячах самых разных ситуаций; она показывает, что *E. coli* действительно всегда выбирает наилучший путь и настраивает свой метаболизм так, чтобы размножаться как можно быстрее.

Каким образом обмен веществ *E. coli* остается таким гибким, если в него входят сотни химических реакций? Почему бактерия, имея перед собой тысячи возможных метаболических путей, всегда выбирает несколько самых лучших? Почему вся эта система попросту не рухнет? Оказывается, устойчивости системы способствует сама форма сети, география ее лабиринтов.

Когда ученые изобразили на бумаге метаболический маршрут атома углерода в клетке *E. coli*, получилась фигура, напоминающая галстук - бабочку. Одно его "крыло" образуют

химические реакции поступления в клетку и расщепления пищи. Они следуют одна за другой по простым маршрутам, которые можно изобразить веером стрелок, сходящихся в центре "галстука", на "узле". Здесь траектории становятся гораздо более сложными. Продукт, полученный в результате какой-то реакции, может быть вовлечен во множество других реакций в зависимости от текущих условий. Именно на "узле" - там, где скрещиваются маршруты - *E. coli* создает строительные кирпичики для всех своих молекул. Затем эти кирпичики поступают в другое "крыло", образуя веер расходящихся траекторий, на каждой из которых производится свой тип молекул: на одной - молекула мембраны, на другой - кусочек РНК, на третьей - какой-то белок. Расходящиеся траектории второго "крыла" никогда не пересекаются. Молекула, начавшая движение к тому, чтобы войти в белок, уже не станет частью молекулы ДНК.

Надо сказать, что архитектурное решение в виде "бабочки" с инженерной точки зрения имеет для *E. coli* глубокий смысл. Рукотворные сети - например, телефонные или электрические - нередко тоже прокладывают по схеме "бабочки". Такая архитектура позволяет сетям работать эффективно и устойчиво. В Интернете, к примеру, входящий веер составляют сигналы всевозможных программ: браузеров, почтовых программ и многих других, причем каждая из них обрабатывает информацию по - своему. Чтобы все эти данные попали в Интернет, их следует преобразовать в коды, соответствующие интернет - протоколам. Потoki данных движутся от персональных компьютеров к серверам, а затем на небольшую группу роутеров, установленных в Лос - Анджелесе, Нью-Йорке и других крупных городах. Роутеры, подобно узлу галстука - бабочки *E. coli*, прочно связаны между собой. После этого сигналы через веер расходящихся маршрутов направляются к другому персональному компьютеру, где стандартный поток данных будет преобразован в картинку, текстовый документ или другую конкретную форму.

И для работы Интернета, и для *E. coli* самое главное - центральный узел. Именно он позволяет той и другой сети работать даже при отказе каких-то частей. Мутация, исключившая из арсенала бактерии одну из метаболических реакций, не убьет *E. coli*, потому что в "узле" есть и другие траектории, на которые она сможет перевести углерод. Интернет способен продолжать передачу данных даже после того, как откажет один из серверов, так же потому, что сообщения можно направить по другой траектории.

Помимо всего прочего в обеих системах архитектура в виде "бабочки" помогает сберечь энергию. Если бы *E. coli* функционировала иначе, ей пришлось бы создавать особую цепочку ферментов для производства любой молекулы. Для каждого из этих ферментов потребовался бы собственный ген. Вместо этого у *E. coli* все входящие траектории сбрасывают свои продукты в одну и ту же сеть в центральном узле. Точно так же Интернету нет необходимости связывать компьютеры напрямую или использовать специальные коды для каждого типа файлов. В обоих случаях такая организация работы возможна только потому, что сеть подчиняется определенным правилам. В Интернете каждое сообщение обязательно переводится на общий язык. И в *E. coli* энергия всегда передается одним и тем же способом - с помощью АТФ.

Изобретатели Интернета не думали, что создают подобную сеть. Они всего лишь пытались сбалансировать затраты и скорости при объединении серверов. Но, сами того не подозревая, они создали модель *E. coli*, которая к настоящему моменту охватила всю Землю.

## Да здравствуют различия

У каждого из нас свои вкусы. Я, к примеру, не понимаю, почему некоторые любят улиток. Я не могу точно сказать, почему они мне не нравятся, но вполне могу выдвинуть несколько предположений. Может быть, у меня на языке есть особые клетки, в которых от вкуса улитки возникает спазм ужаса. А может, какая-то нейронная сеть в моем мозгу связывает вкус улиток с каким-то давним, но очень неприятным воспоминанием. Или, может быть, у меня просто не было возможности полюбить улиток, потому что я вырос на пицце, гамбургерах и арахисовом масле. Ясно одно: этот гастрономический путь для меня закрыт.

Я не знаю наверняка, справедливо ли хоть одно из этих предположений. Я не могу совершить путешествие во времени, переиграть свою жизнь с момента зачатия и посмотреть, как бы обернулось дело, если бы на завтрак в детском саду нас кормили съедобными улитками. Я не могу клонировать себя в сотне экземпляров и расселить своих искусственных близнецов по приемным семьям во Франции. Я просто ненавижу улиток.

Моя нелюбовь к улиткам - всего лишь небольшая иллюстрация к серьезному утверждению: жизнь полна различий. Мы, люди, отличаемся друг от друга бесчисленными особенностями. Мы скромны или самоуверенны, бледны или веснушчатые; мы можем быть водителями или

парикмахерами, буддистами или пресвитерианами. Кто-то из нас живет до ста лет, а у кого-то третья стадия рака. Наши отпечатки пальцев строго индивидуальны.

Ученые лишь приблизительно представляют, как возникают эти различия. Человек - не просто результат выполнения программы, записанной с помощью ДНК. Пока зародыш развивается в матке, на его гены влияют поступающие из организма матери сигналы. Окружающая среда и после рождения продолжает непредсказуемым образом воздействовать на гены человека. То, какие именно гены активируются и будут работать, зависит от множества вещей: от пищи, которую мы едим, от воздуха, которым дышим, от травм, от радостей и скуки, пережитых в детстве. Мало того, что различия между нами трудно объяснить; они - законный повод для гордости. Человек может стать великим бейсболистом, как Бейб Рут, или композитором, как Фредерик Шопен, актрисой, как Мэй Уэст, или ученым, как Мария Кюри. Все они - продукт сложности вида, каждый представитель которого несет в себе 18000 генов, способных управлять производством 100000 белков, дающих начало удивительным живым существам. Мы уникальны по своей способности воспринимать окружающий мир и формировать свою жизнь с помощью слов, ритуалов и образов. Безусловно, наше представление о *E. coli* окрашено нашей гордостью.

Конечно, кишечная палочка не умеет читать и не учится в школе, у нее есть только то, что дала мать - природа. Колония, развившаяся из одного - единственного организма, представляет собой всего лишь миллиард генетически идентичных родичей, и поведение каждого из них определяется одними и теми же генетическими схемами. *E. coli* состоит из одной - единственной клетки; у нее нет тела, построенного из триллиона клеток, развитие которого продолжается не один год. У *E. coli* не бывает детства, которое она проводила бы на занятиях в частной школе или за поиском объедков на городской свалке. Ей не приходится думать о том, любит ли она улиток на обед. *E. coli* - всего лишь мешочек с молекулами, изготовленный по стандартному рецепту. Если две бактерии генетически идентичны, то и жизнь они проживут совершенно одинаковую.

Может быть, все это звучит правдоподобно, но на самом деле сказанное далеко от истины. В реальности колония генетически идентичных *E. coli* - это множество отдельных индивидуальностей. В одинаковых условиях они будут вести себя по-разному. Можно сказать, что у этих бактерий есть собственные отпечатки пальцев.

К примеру, если понаблюдать за двумя плывущими бок о бок генетически идентичными кишечными палочками, то можно уловить момент, когда одна из них сдастся, тогда как вторая будет и дальше крутить своими жгутиками. Чтобы оценить их выносливость, ученый из Калифорнийского университета в Беркли Дэниел Кошланд поместил несколько генетически идентичных *E. coli* в каплю воды под покровное стекло, где они плавали, вращая своими жгутиками. В качестве стимула Кошланд предложил им капельку аспартата - аминокислоты, ради которой эти бактерии готовы плыть за тридевять земель. Здесь они были заперты под стеклом и могли только кружить на месте. Кошланд обнаружил, что некоторые клоны, пытаясь добраться до аспартата, кружили по капле вдвое дольше других.

*E. coli* умеет демонстрировать свою индивидуальность и другими способами. Так, в колонии генетически идентичных клонов одни бактерии образуют на поверхности клетки нитевидные выросты - фимбрии, а другие нет. В стремительно растущей колонии всегда найдется несколько бактерий, которые вдруг прекратят размножение и войдут в состояние анабиоза. Часть бактерий в колонии *E. coli* может расщеплять лактозу, а другие - нет.

Разное отношение отдельных микроорганизмов к лактозе впервые было выявлено в 1957 г., когда два биолога из Чикагского университета, Аарон Новик и Милтон Уэйнер, решили проверить, как отдельные особи *E. coli* реагируют на присутствие лактозы. Они добавили в питательную среду вещество с лактозоподобными молекулами, способными, как и лактоза, запустить в организме бактерии производство бета - галактозидазы. При низких концентрациях этого вещества лишь крошечная часть колонии отозвалась на его присутствие производством фермента, а большая часть микроорганизмов никак на него не отреагировала.

Новик и Уэйнер увеличили концентрацию имитатора лактозы. Те бактерии, которые сразу начали его расщеплять, продолжали производить фермент; остальные по-прежнему не реагировали. Их поведение изменилось только после того, как концентрация имитатора преодолела определенное пороговое значение. Внезапно те микроорганизмы, которые раньше не реагировали на присутствие "лактозы", начали вырабатывать бетагалактозидазу с той же скоростью, с какой это делали любители этого сахара.

Получалось, что бактерии, несмотря на генетическую идентичность, почему-то ведут себя двумя принципиально разными способами. Новик и Уэйнер отделили любителей "лактозы" от тех бактерий, которые не желали ее утилизировать, и поместили их в свежие чашки Петри, где

они смогли положить начало новым колониям. Их потомки вели себя точно так же. Любители производили на свет новых любителей, а потомки тех, кто не мог расщеплять лактозу, тоже не были способны это делать. Новик и Уэйнер обнаружили наследование признаков, не связанное с наследственностью!

Можно многое узнать о *E. coli*, если рассматривать ее как устройство, следующее фундаментальным принципам инженерного искусства. Это верно, но до определенного предела. Два "Боинга-777", находящиеся в одинаково хорошем техническом состоянии, должны вести себя абсолютно одинаково, но если бы они были похожи на *E. coli*, то в тот момент, когда один из них повернул бы налево, второй вполне мог бы повернуть направо.

Разница между *E. coli* и самолетом заключается в материале, из которого они сделаны. Если начинку самолета составляют провода и транзисторы, то внутри у *E. coli* - гибкие, подвижные и непредсказуемые молекулы. И работают они не равномерно, а "приступами". Электроны по схеме движутся равномерным потоком, а молекулы *E. coli* теснятся, толкаются и блуждают где попало. Когда какой-нибудь ген активируется, это не значит, что соответствующий белок теперь будет производиться равномерно во все возрастающих количествах. Ферменты не всегда вовремя появляются там, где они нужны. Отдельная *E. coli* иногда вдруг резко увеличивает производство тех или иных белков. Если у нее включается *lac*-оперон, он может за первый же час выдать шесть молекул фермента бета - галактозидазы, а может и ни одного.

Именно благодаря неравномерности синтеза белков колония генетически идентичных *E. coli* становится группой индивидуальностей. Майкл Еловиц, ученый из Калифорнийского технологического института, сумел продемонстрировать это при помощи остроумного эксперимента. Вместе с коллегами он добавил к *lac* - оперону дополнительный ген, отвечающий за производство светящегося белка. Когда экспериментаторы заставляли бактерию включить этот оперон, она начинала производить такой белок. Вот только бактерия при этом не светилась - она мерцала. Каждый раз, когда синтез флуоресцентных белков ускорялся, происходила вспышка света. Одни вспышки были сильными и продолжительными, другие - совсем слабыми. А когда Еловиц сфотографировал всю колонию разом, то оказалось, что бактерии светятся не одновременно. На любом снимке присутствовали и темные, и ярко светящиеся бактерии.

Подобная неравномерность может привести к индивидуальным различиям между генетически идентичными бактериями. Оказывается, именно благодаря им некоторые особи *E. coli* с готовностью расщепляют лактозу, а другие не способны этого делать. Если бы мы могли заглянуть внутрь бактерии, которая не может расщеплять лактозу, то обнаружили бы репрессор, плотно обхвативший *lac*-оперон. Когда лактозе удастся пройти сквозь мембрану бактерии, она изменяет форму молекулы репрессора, и тот отсоединяется от оператора. Как только *lac* - оперон высвобождается, РНК - полимеразы *E. coli* очень быстро приступают к работе. Они производят РНК - копию генов оперона, а рибосома синтезирует на ее матрице белки, в том числе и бета - галактозидазу.

При этом следует учитывать, что каждая *E. coli*, как правило, имеет лишь несколько молекул репрессора. Любой из них требуется всего несколько минут, чтобы найти *lac* - оперон и прекратить производство бета - галактозидазы. За короткие мгновения свободы оперон синтезирует лишь крохотное количество этого фермента, да и те немногие молекулы, которые все же успевают появиться, вскоре разрушаются специальными белками. Добавление небольшого количества лактозы не меняет положения вещей. Внутри микроорганизма попадает слишком мало лактозы, чтобы надолго удержать репрессоры от подавления *lac* - оперона. Бактерия, как и прежде, не расщепляет лактозу.

Однако, если содержание лактозы в растворе продолжает повышаться, поведение *E. coli* внезапно изменяется и она начинает проявлять к ней активный интерес. Существует пороговая концентрация, за которой этот микроорганизм приступает к производству больших количеств бета - галактозидазы. Секрет такого превращения таится в одном из генов *lac* - оперона. Одновременно с бета - галактозидазой *E. coli* синтезирует еще один белок - пермеазу; этот белок встраивается в мембрану микроорганизма и переносит внутрь клетки молекулы лактозы. Когда *lac* - оперон бактерии, не желающей расщеплять лактозу, ненадолго включается, он производит и некоторое количество молекул пермеазы, которые начинают транспортировать лактозу внутрь микроорганизма. Дополнительные молекулы лактозы связывают большее количество молекул репрессора; *lac* - оперон включается и работает более длительное время, пока репрессор вновь его не заблокирует. Он произведет больше белков - и бета - галактозидазы для расщепления лактозы, и пермеазы для переноса лактозы внутрь. Возникает положительная обратная связь: чем больше становится пермеазы, тем больше внутрь клетки транспортируется лактозы, которая увеличивает количество пермеазы, которая,

в свою очередь, транспортирует больше лактозы. Эта обратная связь переводит *E. coli* в новое состояние, в котором она производит бета - галактозидазу и расщепляет лактозу со всей доступной ей скоростью<sup>[12]</sup>.

Теперь *E. coli* трудно будет заставить вернуться к прежнему существованию. Если концентрация лактозы снизится, пермеазная система тем не менее будет активно переносить ее внутрь бактериальной клетки. *E. coli* сможет обеспечить себя достаточным количеством лактозы, чтобы удерживать репрессоры от блокирования оперона, так что производство бета - галактозидазы и пермеазы будет продолжаться. И только когда концентрация лактозы упадет ниже критического уровня, репрессоры вновь возьмут верх. Они заблокируют лактозный оперон, и синтез выключится.

Такой переключатель, работающий с задержкой по времени, поможет нам разобраться в странных результатах экспериментов Новика и Уэйнера. Разная реакция на лактозу у двух генетически одинаковых *E. coli* может объясняться разной историей этих бактерий. Не расщепляющая лактозу бактерия сопротивляется включению, тогда как вошедшая во вкус сопротивляется выключению. И оба типа бактерий способны передавать свое состояние последующим поколениям. При этом передачи разных генов не происходит. Просто одни бактерии передают потомкам много встроенных в мембрану молекул пермеазы и много плавающих внутри клетки молекул лактозы. Другие не передают ни того, ни другого.

А если к подобному переключателю добавить неравномерное производство белков, то это и будет рецепт индивидуальности *E. coli*. Когда колония *E. coli* получает немного лактозы, то у некоторых бактерий сразу же возникает гигантский всплеск производства белков, кодируемых генами лактозного оперона. Бактерии преодолевают порог, начинают расщеплять лактозу и остаются в таком состоянии, даже если ее концентрация падает. Другие *E. coli* в ответ на появление лактозы не производят никаких белков и по - прежнему не могут утилизировать лактозу. Так генетически идентичные клоны обретают индивидуальность в результате случайных событий.

В создании индивидуальности *E. coli* участвует также дополнительный механизм передачи наследственной информации. К части бактериальной ДНК присоединяются так называемые метильные группы<sup>[13]</sup>. ДНК как бы покрывается этими молекулами, состоящими из атомов водорода и углерода, - метилируется<sup>[14]</sup>. Метильные группы изменяют реакцию генов *E. coli* на внешние сигналы. Они способны заблокировать тот или иной ген, не повредив его, на все время жизни бактерии. При делении *E. coli* передает схему расположения метильных групп своим потомкам. Известно, однако, что при определенных условиях микроорганизм способен очистить свою ДНК от метильных групп и заменить их новыми в других местах; почему так происходит, ученые пока не знают.

Некоторые факторы, оказывающие влияние на *E. coli*, влияют и на человека. Наша ДНК тоже содержит метильные группы, и на протяжении жизни их расположение может меняться. Изменения могут быть чисто случайными, а могут определяться действием питательных веществ или токсинов. Так, даже если гены у однояйцевых близнецов изготовлены под копирку, то расположение метильных групп у них различается уже к моменту рождения и с годами разница лишь усиливается. Изменение схемы расположения метильных групп на хромосомах может сделать человека предрасположенным к раку и другим заболеваниям в большей или меньшей степени. Возможно, именно этим объясняется тот факт, что продолжительность жизни однояйцевых близнецов нередко сильно различается. Эти близнецы вовсе не одинаковы.

Кстати говоря, различное расположение метильных групп является одной из причин того, что клоны людей и животных не могут быть идеальными копиями оригинала. В 2002 г. техасские ученые сообщили о получении из генов трехцветной кошки по кличке Рейнбоу первого клонированного котенка - самочки, которую они назвали Сиси (точнее, Сс - условное обозначение поля "Копия" в электронной почте, где указываются дополнительные адреса). Однако Сиси оказалась совершенно не похожа на Рейнбоу. Если Рейнбоу отличалась белым окрасом с коричневыми, бежевыми и рыжими пятнами, то Сиси была белой в серую полоску. Рейнбоу робка, Сиси общительна. Рейнбоу склонна к полноте, Сиси худа и активна. Возможно, что эти различия объясняются иной схемой метилирования. И всплески производства тех или иных белков у них происходят по - разному. Сами молекулы, из которых они состоят, делают их не похожими друг на друга.

Индивидуальность *E. coli* должна послужить по меньшей мере предостережением для тех, кто готов свести природу человека к простому генетическому детерминизму. Живые организмы - не просто программы, задаваемые генами. Даже крошечным бактериям

одинаковые гены и абсолютно идентичная генетическая структура могут подарить разную судьбу.

## Глава 4. Путеводитель наблюдателя за *E. coli*

### Человеческий кракатау

26 АВГУСТА 1883 Г. родился новый маленький мир. Островной вулкан Кракатау, расположенный в Зондском проливе между Явой и Суматрой, выбросил в воздух на 20 миль в высоту столб дыма и пепла. Камни превратились в пар, который с ревом мчался по проливу со скоростью едва ли не 500 км/ч. После извержения на месте, где находился конус вулкана, осталась подводная впадина и несколько безжизненных островков. Натуралист, посетивший один из островов девять месяцев спустя, написал, что единственным живым существом, которое ему удалось обнаружить на острове, был крохотный паучок.

Новые острова Кракатау лежат в сорока с лишним километрах от ближайшей суши, и жизни потребовался не один год, чтобы перебраться через водную преграду и вновь освоить эти земли. Сначала поверхность вулканического пепла затащила пленка синевато-зеленых водорослей. Появились лишайники, мхи и папоротники. К концу XIX в. на островах образовалась саванна. Помимо пауков появились жуки, бабочки и даже вараны. Представители одних видов приплыли на острова, другие прилетели, а некоторых просто принесло ветром.

Биологические виды осваивались на островах вовсе не беспорядочно. Сначала появлялись выносливые первопроходцы, которые затем заменялись другими биологическими видами. Постепенно саванна уступила место лесам. Выросли кокосовые пальмы и фиговые деревья. После этого на острова уже могли переселяться орхидеи, инжирные наездники и другие привередливые виды. Первопоселенцы, такие как полосатая горлица, больше не находили себе места в пищевой цепи и в конце концов исчезли. Даже сегодня, 120 лет спустя после извержения, освоение Кракатау еще не закончилось. В будущем эта земля, возможно, будет готова принять бамбук, который произведет в ее экосистеме очередную революцию.

История Кракатау вполне соответствует общим экологическим правилам, которым жизнь следует везде, где появляются новые места обитания. Вулканические извержения опустошают острова. Оползни очищают от жизни горные склоны. Ледники тают, изменяя при этом береговую линию.

И рождаются дети. Для бактерий новорожденный ребенок - это настоящий Кракатау, ждущий своих колонизаторов. В момент рождения его тело почти полностью свободно от микроорганизмов, но в первые же несколько дней его заселяют *E. coli* и другие виды бактерий. Они образуют новую экосистему, которая будет жить и взрослеть вместе с ребенком, сопровождая человека на протяжении всей его жизни. Она также развивается во времени согласно собственным экологическим принципам.

Вообще, жизнь *E. coli* намного сложнее, чем то, что мы видим в чашке Петри. Беззаботное существование в лаборатории не предъявляет к бактерии почти никаких требований. По результатам исследований из 4288 генов, которые ученым удалось идентифицировать у *E. coli* K-12, лишь 303 действительно необходимы бактерии для жизни в лаборатории. Это не означает, однако, что остальные 3985 генов совершенно бесполезны. Все они помогают *E. coli* отстоять свои позиции в густонаселенной экосистеме человеческого кишечника, где за пищу конкурируют тысячи видов бактерий.

Исследователь, изучающий кишечную палочку в пробирке, может попросту не заметить некоторые главнейшие стратегии, при помощи которых этот микроорганизм выживает в реальном мире. Хотя *E. coli* изучают уже больше ста лет, только в последние годы ученые начали понимать, насколько это общественное существо. Чтобы выжить, *E. coli* нередко приходится работать коллективно. Бактерии общаются между собой и сотрудничают. Миллиарды их объединяют усилия на строительстве огромных микробных городов и вместе сражаются с врагами.

В реальном мире не существует одного универсального способа быть кишечной палочкой. *E. coli* K-12 - всего лишь один из множества штаммов, которые живут внутри теплокровных животных, и стратегий выживания у них множество. Одни всего лишь пасутся в кишечнике и совершенно безобидны. Другие защищают нас от инфекций. Третьи убивают в год не по одному миллиону человек. Знакомиться с *E. coli* через один только штамм K-12 - все равно что знакомиться с семейством *Canidae* (собачьи) исключительно на примере шпица, мирно

дремлющего на шелковой подушечке. Вне поля зрения при этом окажутся и динго, и большая лисица, и рыжий волк, и чепрачный шакал.

## В поисках дома

*E. coli* по природе своей первопроходец. Задолго до того, как большинство других бактерий устроилось в человеке - хозяине, *E. coli* уже основала там жизнеспособную колонию. *E. coli* способна инфицировать младенца уже в процессе родов, воспользовавшись пальцами врача, или перебраться на младенца с матери во время кормления. На волнах перистальтики она добирается до желудка, где ей приходится выдержать кислотную ванну. Ионы водорода (протоны) из соляной кислоты желудочного сока просачиваются внутрь бактерии, но *E. coli* встраивает в мембрану дополнительные насосы, которые успешно выбрасывают большую часть пришельцев наружу. Следует отметить, что в желудке *E. coli* не пытается вести себя как нормальная бактерия; вместо этого она входит в физиологическое состояние, которое один ученый определил как "состояние дзен". Бактерия полностью прекращает производство каких бы то ни было белков, за исключением тех, что нужны ей для защиты от кислоты.

После двух часов в состоянии этого кислотного дзена *E. coli* выводится из желудка и попадает в кишечник. Ее насосы при этом продолжают выводить наружу лишние протоны, пока внутренняя часть микроба вновь не обретет нормальный отрицательный заряд. Биологические аккумуляторы снова становятся работоспособными, и теперь бактерия может начать производство новых белков и исправить старые. Она возвращается к обычным повседневным делам - по существу, к жизни. Однако до нового дома бактерии еще далеко. Сначала кишечная палочка должна пройти по тонкому кишечнику и выйти в толстую кишку. Конечно, длина маршрута здесь составляет всего лишь около 10 м, но она примерно в 7 млн раз превосходит длину путешественника - *E. coli*. Если человек нырнет в волны в Лос - Анджелесе и проплывет 7 млн длин собственного тела, позади его останется весь Тихий океан.

Пока бактерия дрейфует по человеческому кишечнику, ее нитевидные выросты - фимбрии цепляются за стенки. Слабого движения пищи оказывается достаточно, чтобы отцепить фимбрию, и бактерия продолжает потихоньку продвигаться вперед. Но, если поток обретает силу, фимбрию начинают упрямо цепляться за стенку. Случайно или нет, но кишечная палочка останавливается точно в том месте толстой кишки, которое ей лучше всего подходит, - там, где поток пищи движется на полной скорости. Под действием тепла *E. coli* запускает производство белков, которые можно использовать для захвата железа, расщепления сахаров и синтеза других белков из аминокислот. Она начинает питаться и прекрасно себя чувствует, по крайней мере первые несколько дней.

Питаясь и размножаясь, бактерия готовит почву для собственного краха. Истратив значительную часть присутствующего в кишечнике кислорода и выделяя углекислый газ и другие продукты жизнедеятельности, она изменяет химический состав окружающей среды. Фактически она создает новую среду обитания, пригодную для других видов микроорганизмов, которые постепенно проникают туда и занимают доминирующее положение. Экосистема, в создании которой участвует *E. coli*, великолепна. Ее население может достигать ста триллионов особей, что в десять раз превосходит по числу клеток наше собственное тело. По оценкам ученых, в кишечнике одного человека может сосуществовать до тысячи видов микроорганизмов; это означает, что если составить полный список всех генов, которые можно обнаружить в организме человека, то большинство их окажется нечеловеческими.

По мере того как численность других видов микроорганизмов увеличивается, *E. coli* отстывает; в конечном итоге ее доля в бактериальном населении кишечника снижается примерно до одной десятой процента. *E. coli* становится законной добычей вирусов и хищных простейших, а за пищу ей приходится конкурировать с бактериями других видов. По мере того как человек - носитель взрослеет и переходит с молока на другую пищу, его кишечник наполняется крахмалами и другими сложными сахарами, которые *E. coli* просто не умеет расщеплять. Представьте, что вы приходите в ресторан и усаживаетесь за столик в ожидании вкусного обеда, а официант неожиданно заменяет ваш шоколадный мусс на миску сена. *E. coli* теперь приходится ждать, пока бактерии других видов расщепят молекулы сложных сахаров, и питаться отходами их жизнедеятельности.

Не исключено, что, питаясь отходами, *E. coli* оказывает ответную услугу тем, кто ее этими отходами обеспечивает. Данные некоторых исследований позволяют предположить, что утилизация простых сахаров, которой занимается кишечная палочка, позволяет другим микробам быстрее расщеплять молекулы сложных сахаров. Кроме того, *E. coli* продолжает

улавливать кислород - то небольшое его количество, которое время от времени накапливается в кишечнике. Удерживая содержание кислорода на стабильно низком уровне, *E. coli* обеспечивает большинству представителей нормальной микрофлоры комфортные условия. Именно эту экологическую нишу колонии *E. coli* занимают в организме хозяина в течение всей его дальнейшей жизни. В любой момент в кишечнике человека можно обнаружить до 30 штаммов этой бактерии. Люди, полностью свободные от *E. coli*, встречаются очень редко.

В этом, кстати говоря, мы тоже похожи на *E. coli*: человек, как и кишечная палочка, зависит от внутренних бактериальных джунглей. Нам необходимы бактерии, которые производят ферменты для расщепления многих углеводов, входящих в состав нашей пищи. Кроме того, наши жильцы - бактерии синтезируют некоторые необходимые нам витамины и аминокислоты и помогают контролировать количество поступающих из пищи калорий. Изменение бактериальной флоры кишечника может привести к изменению массы тела. Но этого мало. Обитатели кишечника охраняют человека от болезней, поэтому врачи дают недоношенным детям специальные штаммы *E. coli*. Бактерии защищают кишечник: выпускают в него химические вещества, отпугивающие патогенные микроорганизмы, а также создают в кишечнике устойчивую экосистему, в которую патогены просто не в состоянии внедриться.

На самом деле трудно сказать, где заканчивается работа кишечной микрофлоры и начинается наша собственная иммунная система. Ясно одно: бактерии помогают иммунной системе человека поддерживать тонкое равновесие, когда нужно убивать патогенные микроорганизмы, а ткани собственного организма трогать нельзя. Исследования показывают, что некоторые штаммы *E. coli* способны остудить боевую ярость иммунных клеток. Судя по всему, достаточная доза *E. coli* помогает справиться не только с патогенными микроорганизмами, но и с аутоиммунными заболеваниями, такими как колит. Некоторые ученые утверждают, что наша иммунная система в ответ стимулирует бактерии к размножению и формированию толстых защитных скоплений на внутренних стенках кишечника. Эти скопления не только препятствуют внешним агрессорам, но и не позволяют отдельным бактериям проникать в слизистую оболочку кишечника. С точки зрения здравого смысла все это биохимическое рвение вполне объяснимо: в конце концов, мы и *E. coli* - члены одного и того же коллектива.

## Совместная жизнь

В 2003 г. Джеффри Сток и его коллеги по Принстонскому университету поместили *E. coli* в лабиринт. В прямоугольном лабиринте со стороной меньше четверти миллиметра были пластиковые стены и стеклянная крыша. Ученые погрузили лабиринт в воду, а затем впрыснули во входное отверстие *E. coli*. Бактерии принялись вращать жгутиками и плавать. Предварительно команда Стока добавила каждой особи ген, отвечающий за светящийся белок, так что ученые имели возможность отслеживать скитания микроорганизмов по лабиринту.

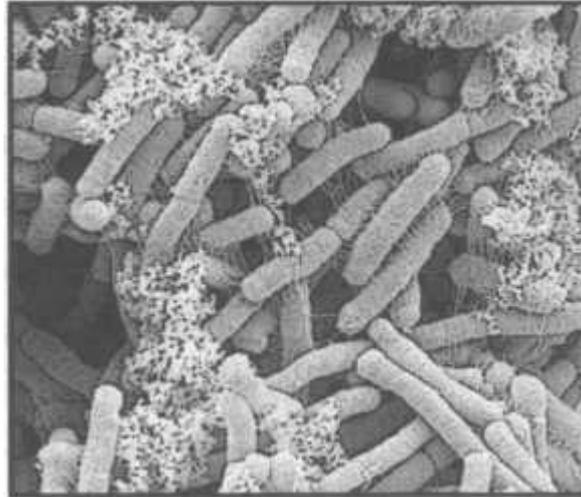
Поначалу бактерии, судя по всему, плавали случайным образом. Постепенно, однако, они собрались группами и начали плавать стайками. Одни стайки заплывали в тупик и оставались там; судя по всему, их эта ситуация устраивала. Другие бактерии плыли следом, и через два часа тупик целиком наполнился массой светящихся бактерий.

Чтобы определить, как бактерии находят друг друга, принстонские ученые запустили в лабиринт мутантов. Выяснилось, что *E. coli* способна собираться стаями до тех пор, пока действует ее бактериальный "язычок". Похоже, что ориентируется она по вкусу одной из аминокислот - серина. Дело в том, что при нормальном ходе обмена веществ *E. coli* вместе с другими отходами выбрасывает и серин. Ученые с 1960-х гг. знали о любви *E. coli* к серину, но списывали ее на поиск пищи. Теперь же объединение *E. coli* в группу в лабиринте подсказывает нам другую возможность. Что если "язычок" *E. coli* настроен на поиск других представителей ее собственного вида?

Не так давно *E. coli* и другие бактерии считались индивидуалистами. В конце концов, думали ученые, у кишечной палочки нет того, что лучше любого клея скрепляет сообщества, - средства общения. *E. coli* не способна написать соседке е - мейл, огласить на рассвете пустыню громким пением или распусть перед самочкой хвостовые перья. Оказалось, однако, что у *E. coli* тоже есть своего рода язык; мало того, у нее есть и своего рода общество.

Общественная жизнь *E. coli* долгие десятилетия оставалась за кадром, потому что биологов в основном интересовали более фундаментальные сведения о жизни *E. coli*: как она питается, растет и размножается. Методика, при помощи которой можно заставить *E. coli* делать и то, и другое, и третье как можно быстрее, была отработана и доведена до совершенства.

Комфортная жизнь в тепле, при достаточном количестве кислорода и избытке пищи стимулирует отдельных бактерий к быстрому размножению. Такая жизнь, однако, мало чем напоминает нормальный образ жизни *E. coli*. Хотя человек съедает за свою жизнь около 60 т пищи, *E. coli* нередко приходится голодать по несколько часов, а то и суток. Когда же появляется шанс поесть, нередко случается, что из еды вокруг только молекулы какого-нибудь низкоэнергетического сахара, которые и расщеплять-то почти бесполезно - энергии при этом извлекается ненамного больше, чем тратится. Вдобавок приходится конкурировать за каждую молекулу с другими микробами. Одновременно с этим *E. coli* должна противостоять атакам вирусов и хищников, а также новым, исходящим от человека опасностям, таким как антибиотики. Хозяин может заболеть, и тогда вся среда обитания бактерии подвергается разрушению. Один из лучших способов противостоять всевозможным катастрофам - объединить силы с другими *E. coli*



#### Биопленка *E. coli*

Собравшись вместе, бактерии могут сделать многое. Так, в некоторых условиях группа *E. coli* образует жгутики нового типа, гораздо более длинные, чем обычные. Новые жгутики соединяются между собой, связывая миллионы бактерий в единую бурлящую массу. Вместо того чтобы плыть куда-то, они толпятся на поверхности и выпускают наружу молекулы, которые покрывают воду и создают на ее поверхности слизистую пленку. Такое роение на поверхности позволяет скоплению *E. coli* скользить по чашке Петри или, как подозревают ученые, по стенке кишечника.

В других случаях *E. coli* предпочитает осесть на месте и строит себе бактериальный город. О том, что бактерии способны образовывать мутный налет на стенках сосудов - так называемую биопленку, было известно давно. Поначалу биопленки просто раздражали ученых, не давая рассмотреть отдельно плавающие бактерии, ради исследования которых, собственно, и ставились эксперименты. Но более подробное исследование показало, что биопленка имеет весьма сложную структуру. Все бактерии способны формировать биопленки, и ученые полагают, что подавляющее большинство бактерий значительную часть жизни проводит именно в них. Биопленки образуют слизистый налет на стенке нашего кишечника, на речном и океанском дне и даже на дне пропитанных кислотами шахт по добыче руды.

Конечно, биопленок вокруг сколько угодно, но изучать их непросто. Для этого ученым пришлось отставить в сторону любимые колбы и чашки Петри и придумать совершенно новые методики экспериментов. Например, сделали специальные камеры с теплой проточной водой, имитирующие условия человеческого кишечника. При определенных условиях *E. coli* готова осесть где-нибудь внутри камеры и начать сооружение биопленки. Дрейфуя по экспериментальной камере, часть бактерий оседает на дне. В обычных условиях они быстро отцепляются и плывут дальше, но иногда остаются на месте и устраиваются там жить. Некоторые эксперименты позволяют предположить, что решение об этом *E. coli* принимает в том случае, если поблизости обнаруживаются другие особи. *E. coli* чувствуют своих собратьев по испускаемым ими химическим сигналам, причем используют для этого не только серин и другие отходы, но и особые молекулы, которые выполняют именно сигнальную функцию и могут при случае изменить поведение других *E. coli*.

Когда группа *E. coli* приступает к формированию биопленки, бактерии начинают с того, что образуют выросты - фимбрии, которые связывают их между собой и стягивают в единый плотный кластер. К первопоселенцам присоединяются другие, ранее свободно плавающие бактерии, и кластер постепенно растет. Бактерии начинают выделять внеклеточные

полимерные вещества, заключая себя в так называемый матрикс. Сформировавшаяся биопленка вовсе не плоская. Она больше похожа на город с высокими башнями, широкими площадями и целой паутиной спутанных улиц. В процессе его строительства каждая бактерия должна включать и выключать сотни генов по сложной согласованной схеме. В некоторых отношениях биопленка *E. coli* напоминает человеческое тело. Конечно, биопленка не имеет обыкновения вставать на ноги и бродить по улицам, но, подобно человеческим клеткам, клетки биопленки тоже образуют клеточные коллективы, члены которых выполняют разные функции и вместе работают ради общего выживания.

Ученые до сих пор не разобрались, для чего, собственно, *E. coli* сооружает биопленки, прикладывая значительные усилия. Чтобы участвовать в общем деле, отдельной бактерии приходится многим жертвовать и тратить огромную часть драгоценной энергии на производство внеклеточного полимерного вещества, которое соединяет его с другими микроорганизмами. Бактериям, оказавшимся глубоко в толще биопленки, намного труднее добывать пищу, чем свободно плавающим особям. Не исключено, однако, что преимущества биопленки перевешивают все ее недостатки. Так, биопленка может обеспечивать своих обитателей защитой. Она выдерживает резкие изменения окружающей среды. Вирусам, вероятно, сложнее проникнуть в биопленку, чем инфицировать отдельно живущую клетку. Антибиотики действуют на биопленки в тысячи раз слабее, чем на отдельные бактерии.

Возможно, биопленка позволяет бактериям объединить усилия в добывании пищи. Не исключено, что питательные вещества, попадая в плотную слизь биопленки, направляются затем по внутренним каналам к бактериям, лишенным выхода на поверхность. Кроме того, бактерии в биопленке могут сотрудничать через разделение труда. Микробы, живущие на поверхности, получают больше пищи и кислорода, чем обитатели внутренней части. При этом, однако, на них действует большее количество стрессовых факторов. *E. coli*, обосновавшиеся в основании биопленки, могут погружаться в состояние анабиоза, образуя что-то вроде бактериального семенного фонда. Время от времени часть бактерий может отделиться от биопленки и уплыть прочь; какое-то время они ведут свободную жизнь, а потом вновь обосновываются на стенке кишечника и строят новую биопленку.

Человек - самый общественный из всех биологических видов - прибегает к сотрудничеству не только при строительстве городов и ради помощи другим людям. Война с соседями тоже требует от народа серьезных согласованных усилий. В этом опять же жизнь *E. coli* отражает нашу социальную жизнь. Мы строим боевые ракеты и бомбы. *E. coli* производит химическое оружие. Химические соединения под названием колицины смертоносны для микроорганизмов. Одни из них протыкают мембрану бактерии, как копьем, и выпускают наружу ее внутренности. Другие блокируют производство новых белков. Третьи разрушают ДНК.

Чтобы инициировать колициновую атаку, некоторые бактерии *E. coli* должны пожертвовать самым главным. Небольшая часть бактерий популяции за несколько секунд синтезирует и накапливает внутри себя сотни тысяч молекул колицина, превращаясь таким образом в настоящие склады оружия. У этих бактерий нет каналов, через которые они могли бы аккуратно выпустить подготовленные колицины наружу. Вместо этого они начинают производить особые самоубийственные ферменты, которые просто взрывают изнутри мембрану бактерии, вызывая взрыв. Колицины выплескиваются наружу, сталкиваясь с соседними бактериями. Однако близким родичам производителя колицины не страшны, потому что у них имеются гены, с помощью которых можно изготовить противоядие. Жертвуя собой, *E. coli* уничтожают конкурентов и расчищают пространство для жизни и успешного размножения своих клонов. Судя по всему, общественная жизнь *E. coli* простирается за пределы жизни как таковой.

## Прощай, хозяин

Если какой-то штамм *E. coli* обосновался в кишечнике человека, он может обитать там десятилетиями. Однако бактерии могут и покинуть своих хозяев путем настолько очевидным, что говорить о нем подробно нет никакой необходимости. Достаточно сказать, что каждый день человечество всего мира выпускает в окружающую среду более миллиарда триллионов особей *E. coli*. Кроме того, бесчисленное количество этих бактерий выпускают на волю другие млекопитающие и птицы. Микроорганизмы уносятся прочь по трубам канализации и руслам ручьев и рек, высеваются на поверхность земли и морей. Им предстоит противостоять зимней и летней погоде, засухам и наводнениям, влачить голодное существование без привычной роскошной диеты из полупереваренного сахара. Возможно, долгое время им придется

выживать вообще без пищи. В почве и воде множество хищников, которые только и ждут возможности съесть *E. coli*: среди них и черви - нематоды, и медленно перетекающие с места на место амебы. Некоторые хищники берут размером и массой. Другие, такие как бактерия *Bdellovibrio*, проникают в периплазму *E. coli* и разрушают бактерию изнутри. Еще один вид бактерий - *Mycococcus xanthus* - вырабатывает химическое вещество, которое *E. coli* воспринимает как аромат пищи. Почуввав его, бактерия- неудачник сама плывет навстречу гибели.

Вероятно, для большинства *E. coli* покинуть хозяина - значит найти быстрый путь к смерти. Но жизнь способна играть даже с очень слабыми шансами на победу. Дуб буквально усеивает землю под собой желудями, из которых редко кому удается выжить и прорасти. Человеческое тело состоит из триллионов клеток, из которых лишь несколько переживет смерть организма и даст начало потомкам. Если хотя бы крохотная часть *E. coli* в дикой природе выживет и сумеет отыскать себе нового хозяина, ее жизненный цикл продолжится. К тому же у *E. coli* есть несколько уловок, способных серьезно повысить шансы на выживание. Ее обмен веществ настолько гибок, что она способна извлекать углерод из самых разных источников, даже из тротила. Если ее пытается съесть какой-нибудь хищник, обитающий в почве, бактерия может избежать переваривания и вместо этого благоденствовать, превратившись в паразита. При чрезвычайно неблагоприятных обстоятельствах *E. coli* может сложить свою ДНК в очень компактную структуру, перейти в стационарную фазу и существовать в таком виде многие годы.

Иногда *E. coli* удается полностью отказаться от хозяина. Время от времени ученые обнаруживают в разных местах планеты популяции *E. coli*, процветающие в роли полноценных природных микроорганизмов. В Австралии, к примеру, исследователи обнаружили цветущие популяции *E. coli* в озерах, где никто не ожидал встретить ничего подобного. В эти озера не поступает фекальных масс, туда не сливают ни канализацию, ни отходы с ферм. Тем не менее в любой теплый день эти озера насыщены миллионами миллиардов *E. coli*. Эти бактерии несколько отличаются от более знакомых и привычных штаммов *E. coli*. В частности, они образуют необычайно прочную капсулу которая играет для микроба роль гидрокостюма и позволяет ему круглый год жить в озере. Этим бактериям, чтобы выжить, уже не нужен хозяин. Они освободились.

## День на ярмарке

В центральной части штата Коннектикут, где я живу, сельскохозяйственные ярмарки - дело чрезвычайно серьезное. Каждое лето небольшие городки штата - Гошен, Дарем, Хаддам Нек - один за другим строят на большой площади торговые палатки и воздвигают чертово колесо. Дребезжа на неровных местных дорогах, подъезжают трейлеры с быками, готовыми таскать за собой бетонные блоки. Мэры и члены городского управления собираются, чтобы посоревноваться в искусстве доения коров. Эти ярмарки намного пережили расцвет породивших их сельскохозяйственных сообществ. Тем не менее тысячи людей приходят туда, чтобы увидеть гордо вышагивающих петухов, призовых коз и пироги - настоящие произведения искусства.

Каждое лето я с женой и двумя дочерьми бываю на нескольких таких ярмарках и каждый раз, оказавшись там, теряю всякое ощущение времени. Я чувствую себя так, будто вернулся в прошлое, в то время, когда практически любой десятилетний ребенок знал, как стригут овец. Но в тот момент, когда я, находясь в загоне со скотом, почти совсем уже теряю связь с настоящим, я вдруг замечаю у входа в загон деревянный столб с умывальником и мыльницей. Вид этого столба мгновенно возвращает меня в XXI век, и, когда мы покидаем загон, я забочусь о том, чтобы девочки тщательно вымыли руки с мылом.

Подобные загоны - родной дом для некоторых особенно злобных бактерий. Они обитают в организме животных, завоевывающих на ярмарках ленты и призы, падают с пометом в соломенную подстилку, уплывают по воздуху на пылинках, удобно устраиваются на щетинках мух. Они наполняют загоны, прилипают к полу и ограде, шерсти и перьям. Чтобы серьезно заболеть, достаточно крохотной дозы - скажем, попадания в рот десятка - другого особей. У человека начинается кишечное кровотечение, отказывают почки. Антибиотики только ухудшают положение, и все, что могут сделать врачи, - это организовать внутривенное введение пациенту физиологического раствора и надеяться на лучшее. Большинство людей со временем поправляется, но некоторые продолжают болеть всю оставшуюся жизнь, а порой и умирают.

Проверяя бактерии, ставшие причиной гибели человека, патологоанатомы обнаруживают старого знакомого - *E. coli*.

*E. coli* представлена многочисленными штаммами. Одинаковые по своим основным видовым биологическим особенностям, эти штаммы разительно отличаются друг от друга по образу жизни. В большинстве своем штаммы *E. coli* безвредны, но в природе, за стенами лабораторий, *E. coli* иногда становится патогенной и может не только вызвать недуг, но и убить. Чтобы как следует познакомиться с *E. coli* и понять, что для нее означает жизнь, недостаточно изучить один какой-нибудь "прирученный" штамм вроде К-12. Смертельно опасные штаммы - точно такие же представители этого биологического вида.

Несколько десятилетий после открытия этой бактерии Теодором Эшерихом ученые не осознавали, насколько опасной может быть *E. coli*. Первое достоверное свидетельство того, что не все штаммы *E. coli* ведут себя как пассивные наблюдатели, было получено в 1945 г. Британский патологоанатом Джон Брей тогда занимался поисками причины так называемой "летней диареи" - смертельно опасной детской инфекции, эпидемия которой ежегодно прокатывалась по Британии и другим промышленным странам. Брей охотился за бактерией, которая присутствовала бы у всех больных детей, но отсутствовала у здоровых.

Лучший метод, которым располагал в то время Брей, состоял в получении антител к разным патогенным микроорганизмам. Антитела производятся клетками нашей иммунной системы при встрече с чужеродным белком. Впоследствии антитела атакуют возбудителя заболевания, распознав эти белки. Благодаря тому, что антитела обладают высокой специфичностью к своим мишеням, они будут игнорировать все другие белки, с которыми сталкиваются. Вводя соответствующие бактерии кроликам, Брей создавал антитела к некоторым известным болезнетворным микроорганизмам, таким как сальмонелла. Когда иммунная система кролика отражала атаку, Брей выделял из крови животных антитела. Затем он добавлял эти антитела к образцам, полученным из выделений больных детей. Он хотел посмотреть, не обнаружат ли они каких-нибудь болезнетворных микроорганизмов. Но антитела не узнавали противника.

Пока Брей размышлял о том, антитела к каким микроорганизмам опробовать следующими, один педиатр в разговоре с ним случайно упомянул, что от многих детей, страдающих летней диареей, исходит странный запах, напоминающий запах спермы. Брей знал, что некоторые штаммы *E. coli* испускают примерно такой запах. Поэтому он получил антитела к *E. coli* и добавил их в свои культуры. Антитела немедленно нашли свои мишени. Брей обнаружил, что среди больных детей тест на эти антитела был положительным у 95 %, а среди здоровых - лишь у 4 %.

Тогда Брею удалось распознать лишь один болезнетворный штамм *E. coli*, но позже ученые выделили их немало. Некоторые из этих штаммов были давно известны медикам, но под другими названиями. Так, в 1898 г. японский бактериолог Киёси Сига (Шига) выяснил причину одной из форм кровавого поноса - бактериальной дизентерии. Ею оказалась бактерия, палочкообразное строение которой вполне соответствовало строению *E. coli*, но Сига назвал ее иначе. В конце концов, палочковидных бактерий много. А микроорганизм, обнаруженный японцем, выделял убивавший клетки токсин; никто никогда не видел, чтобы *E. coli* выделяла что-нибудь подобное. Кроме того, было известно, что *E. coli* способна расщеплять молочный сахар - лактозу. Бактерия Сиги этого не умела. Эти и другие отличия позволили Сиге объявить свой микроорганизм отдельным видом, который позже ученые назвали в его честь - *Shigella* (шигелла). И только в 1990-е гг., когда ученые получили возможность прочесть геном шигеллы целиком, буква за буквой, стало наконец ясно, что это всего лишь штамм - и даже несколько штаммов - *E. coli*.

Шли годы. Ученые находили все новые штаммы *E. coli*, способные вызвать широкий спектр различных заболеваний. Обнаружились штаммы, поражающие толстый кишечник, и штаммы, поражающие тонкий кишечник. Одни из них жили в кишечнике, не причиняя хозяину никаких неудобств, но, попадая в мочевой пузырь, могли вызвать тяжелую инфекцию, которая иногда распространялась и на почки. Другие штаммы приводили к заражению крови с летальным исходом, третьи проникали в мозг и вызывали менингит. Масштаб ущерба от них трудно оценить. Одна только шигелла каждый год поражает 165 млн человек, убивая из них 1,1 млн. Умирают в основном дети. Можно только гадать, что подумал бы Теодор Эшерих, если бы вдруг узнал, что его юных пациентов убивает не какая-то таинственная бактерия, а его безобидная *Bacterium coli communis*.

Смертельно опасны многие штаммы *E. coli*, но одному из них в последние годы было посвящено больше новостных заголовков, чем всем остальным вместе взятым. Этот штамм именуют 0157: Н7 (обозначение относится к молекулам на поверхности бактериальной

клетки). *E. coli* 0157: H7 - тот самый штамм, который делает зоопарки, где можно гладить животных, зоной повышенной опасности, который может превратить шпинат или гамбургер в отраву и вызвать отказ какого-то органа со смертельным исходом. Несмотря на развернувшуюся вокруг него шумиху, штамм этот сравнительно плохо известен науке и нов для нее.

В феврале и марте 1982 г. у 25 человек в Медфорде (штат Орегон) появились судороги и кровавый понос. Врачи обнаружили у некоторых пациентов совершенно неизвестный штамм *E. coli*. Три месяца спустя тот же штамм вызвал новую вспышку заболевания - на этот раз в Траверс - Сити (штат Мичиган). Источником инфекции оказались не прошедшие достаточную тепловую обработку гамбургеры, которые все жертвы ели в McDonalds. Выявилась закономерность, и теперь ученые начали искать *E. coli* 0157: H7 в бактериальных образцах, взятых у пациентов в прошлые годы. Из 3000 штаммов *E. coli*, обнаруженных у американских пациентов за несколько предыдущих лет, один действительно оказался 0157: H7. Он был взят у женщины в Калифорнии в 1975 г. Поиски в Великобритании и Канаде выявили еще семь случаев, но все они были зарегистрированы после 1975 г.

После этого штамм 0157: H7 опять был забыт и канул в безвестность еще на десять лет. Он вновь проявил себя в середине 1990-х гг. целой серией вспышек, прокатившихся по миру. От одной вспышки в штате Вашингтон в 1993 г., причиной которой опять стали недостаточно тщательно приготовленные гамбургеры, пострадали 732 человека. Четверо из них умерли. Ученые выяснили, что 0157: H7 может жить в кишечнике коров, овец и других сельскохозяйственных животных, не причиняя им никакого вреда. По оценкам ученых, около 28 % коров в США являются носителями штамма 0157: H7. Причиной попадания бактерии из организма животного в организм человека может стать неправильный убой. Если при убое будет нарушена целостность прямой кишки коровы, бактерия может попасть в мясо. При современных технологиях производства мяса множества коров нередко смешивается, и *E. coli* 0157: H7 от одного животного может распространиться на несколько тонн говядины или говяжьего фарша. Большая часть этих бактерий гибнет при кулинарной обработке, но в одной - единственной крошке сырого мяса может уцелеть достаточно *E. coli* 0157: H7, чтобы вызвать опасную вспышку инфекции.

Вегетарианцы тоже не застрахованы от такой инфекции. Коровы выделяют *E. coli* 0157: H7 с пометом, а в почве эта бактерия способна жить месяцами. На фермах он может распространиться с помета на растения и попасть в урожай; вероятно, его переносят слизи и дождевые черви, а также вода при поливе. В 1997 г. из-за редьки, зараженной *E. coli* 0157: H7, в Японии заболели 12 000 человек, трое из них умерли. Сегодня бизнес по выращиванию овощей почти столь же механизирован и обезличен, как мясной бизнес, и на всей территории США овощную продукцию в магазины поставляют лишь несколько крупных компаний. Такой порядок вещей расширяет радиус действия *E. coli* 0157: H7 и увеличивает губительные возможности этой бактерии. В сентябре 2006 г. зараженный шпинат с одной - единственной фермы поразил людей в самых разных местах; всего заболело 205 человек в 26 штатах. Три месяца спустя из-за салата, поставленного в рестораны сети Taco Bell в пяти штатах, заболел 71 человек.

Попадая в рот будущей жертвы, *E. coli* 0157: H7 вроде бы ничем особенно не отличается от других, безвредных штаммов *E. coli*. Бактерии начинают показывать характер только после того, как совершат путешествие через желудок и доберутся до толстого кишечника. Оказывается, представители *E. coli* 0157: H7 обладают необычайной способностью прислушиваться к своему хозяину. Клетки человеческого кишечника вырабатывают гормоны, а у бактерий имеются рецепторы, способные эти гормоны улавливать. Эти гормоны сообщают *E. coli*, что пора готовиться к тому, чтобы вызывать у хозяина болезнь. Получив сигнал, бактерии отращивают жгутики и начинают плавать, проверяя все встречные молекулы в поисках сигналов, выпущенных их товарками, такими же бактериями *E. coli* 0157: H7. Следуя сигналам, они собираются вместе, а образовав достаточно крупную армию, начинают вооружаться.

Самое мощное оружие *E. coli* 0157: H7 - "шприц", которым бактерия протыкает клетку кишечника и вводит в нее настоящий коктейль из разных молекул. Эти молекулы по сути перепрограммируют клетку. Плотнo прикрепившись к ней, бактерия активирует преобразование цитоскелета клетки. Его волокна, придающие клетке форму, начинают перемещаться относительно друг друга. На верхушке клетки формируется "пьедестал" - впадина, похожая на чашу, - удобное убежище для *E. coli* 0157: H7. Клетка теряет цельность и начинает протекать, а бактерия питается проплывающими мимо обломками. В тот момент,

когда у больного вместе с поносом начинается кровотечение, бактерия, пользуясь моментом, захватывает атомы железа из крови с помощью сидерофоров.

Приблизительно через трое суток после попадания в организм *E. coli* 0157: Н7 у человека начинает ухудшаться самочувствие. Развивается сильный понос, который переходит в кровавый. Появляются резкие и очень болезненные судороги. Большинство людей, пораженных *E. coli* 0157: Н7, через несколько дней поправляется. Но одного-двух из каждых 20 заболевших впереди ждет нечто значительно худшее.

В организме этих людей *E. coli* 0157: Н7 начинает вырабатывать токсин нового типа. Этот токсин проникает в клетки и нападает на рибосомы - фабрики по производству белков. Клетки погибают и распадаются. Токсин попадает из кишечника в соседние кровеносные сосуды и разносится кровью по всему организму. Он вызывает образование тромбов в сосудах и инсульты. Блокирует кровоснабжение целых органов, в первую очередь почек. Для некоторых действие этого токсина оказывается смертельным. Тем, кому повезет выжить, на полное выздоровление может потребоваться не один год. Некоторым придется всю оставшуюся жизнь регулярно подключаться к аппарату искусственной почки и делать диализ крови. У детей эта бактерия может вызывать повреждение головного мозга, и им заново приходится учиться читать.

О бактерии *E. coli* 0157: Н7 часто пишут и говорят, что вполне понятно - ведь этот штамм способен привести к возникновению внезапных эпидемий в промышленно развитых странах. Но если разобраться, это всего лишь один из множества опасных штаммов *E. coli*, которая может вызывать у человека самые разные заболевания. Шигелла, например, не скрывается в удобном убежище, как *E. coli* 0157: Н7. Она странствует. Добравшись до кишечника, она выделяет химическое вещество, которое ослабляет связи между клетками, образующими стенку кишечника, а затем проскальзывает в одну из образовавшихся щелей. Нарушение целостности стенки кишечника привлекает внимание находящихся поблизости иммунных клеток, которые протискиваются в щель вслед за бактерией. Шигелла, однако, не прячется и никак не маскирует свое присутствие. Напротив, она специально выпускает наружу молекулы, провоцирующие мощную атаку.

Иммунные клетки догоняют шигеллу и пожирают ее, но гибнет при этом не добыча, а охотник. Оказавшись внутри иммунной клетки, шигелла выпускает химическое вещество, которое заставляет захватившую ее клетку покончить с собой и взорваться. Гибель иммунной клетки привлекает внимание ее живых товарок, но и они не в состоянии остановить злодейку - шигеллу. Более того, они облегчают новым бактериям шигеллы путь сквозь стенку кишечника, так как тоже протискиваются сквозь нее, расширяя щели.

Отбившись от атак иммунной системы, шигелла выбирает себе удобную цель - клетку в стенке кишечника. Она сооружает себе "шприц", очень напоминающий этот же инструмент у *E. coli* 0157: Н7, и протыкает оболочку клетки. Молекулы, которые она впрыскивает, вместо того чтобы вызвать образование чаши на верхушке клетки, помогают сформировать проход, по которому шигелла может проскользнуть внутрь. Оказавшись внутри клетки, бактерия берет под контроль ее "скелет". Она продвигается вперед, заставив одно из волокон расти с заднего конца; другие волокна, попадающиеся ей на пути, она просто разрезает. Закончив пир в одной клетке, шигелла протискивается сквозь мембрану и начинает работу над ее соседкой. Умиравшая клетка призывает к месту заражения дополнительную армию иммунных клеток, но они лишь открывают в стенке кишечника новые проходы, которыми может воспользоваться шигелла.

Как так получается, что *E. coli* может быть такой разной? Считается, что биологический вид состоит из особей, объединенных общими основными свойствами; нам кажется, что особи эти должны быть по существу одинаковыми. Если взглянуть на то, как ведут себя и действуют шигелла и *E. coli* 0157: Н7, можно подумать, что эти бактерии и безобидная *E. coli* К-12 принадлежат к совершенно разным видам. И все же анализ ДНК показывает, что все они, вне всякого сомнения, принадлежат к одному и тому же виду.

Если вам случится как-нибудь остановиться после посещения загона для скота, чтобы тщательно вымыть руки, оглядитесь вокруг. Посмотрите на выставочных кур, гордо распушивших курчавые перья. Обратите внимание на кроликов с неподъемными ушами и на громадных свиней, послушно топающих на привязи за хозяевами. Вспомните их диких сородичей, куда менее нелепых: кустарниковую дикую курицу, американского зайца, дикого кабана. Эти животные наглядно демонстрируют, что у жизни нет никаких неизменных сущностей. Один из важнейших законов жизни заключается в том, что жизнь меняется. Кабаны становятся свиньями, а безобидная *E. coli* - убийцей. По случайному совпадению *E. coli* также является одним из лучших инструментов для изучения эволюции жизни: наблюдая за

ней, можно понять, как развивается жизнь за дни, десятилетия или миллиарды лет. С одной стороны, она своим примером подтверждает основные положения теории Дарвина, с другой - показывает, насколько эволюция загадочнее и удивительнее, чем все, что Дарвин мог вообразить.

## Глава 5. Вечный поток

### Предки из морозильника

В УГЛУ ОДНОЙ ИЗ ЛАБОРАТОРИЙ Университета штата Мичиган в идеальном круге покачивается небольшой столик. Там на орбитальном шейкере (встряхивателе) установлен десяток колб с бульоном. Жидкость в них вращается по кругу идеальным конусом без единого всплеска или морщинки. В каждой колбе - миллиарды *E. coli*. За ними ухаживают биолог Ричард Ленски и команда лаборантов и студентов. Внешне эксперимент Ленски выглядит точно так же, как другие бесчисленные эксперименты, проходящие в разных уголках мира. Но есть одно очень важное отличие. Типичный эксперимент с *E. coli* может продолжаться всего несколько часов. За это время команда ученых может прогнать бактерии по лабиринту или вырастить их без кислорода, чтобы посмотреть, какие гены при этом включатся, а какие выключатся. Получив достаточно данных, чтобы разглядеть систему, ученые записывают результаты и избавляются от бактерий. А вот эксперимент в лаборатории Ричарда Ленски был начат в 1988 г. и продолжается до сих пор, хотя сменилось уже 40 000 поколений *E. coli*.

Ленски начал свой эксперимент с единичной бактерии *E. coli*. Он поместил ее в стерильную чашку Петри и позволил делиться до образования множества идентичных клонов. Эти клоны стали родоначальниками 12 отдельных - но генетически идентичных - линий. Ленски поместил каждую из этих линий в отдельную колбу. Отменив бесконечное сахарное пиршество, которым *E. coli*, как правило, наслаждаются в лабораториях, Ленски посадил своих микробов на голодную диету. Во второй половине дня у бактерий кончилась глюкоза. На следующее утро Ленски перенес 1 % уцелевших бактерий в новую колбу со свежим запасом сахара.

Периодически Ленски и его студенты извлекали из каждой колбы немного бактерий и закладывали их на хранение в морозильник, тогда как остальные бактерии в колбах продолжали спокойно размножаться. Время от времени Ленски размораживал какую-то часть старой культуры и давал бактериям возможность выйти из анабиоза, вновь начать питаться и размножаться. После этого он сравнивал предков и потомков. Довольно быстро Ленски выяснил важный факт: бактерии - потомки не похожи на своих предков. В частности, они в два раза крупнее и размножаются на 70 % быстрее. Кроме того, они становятся привередливы в еде. Если кормить их любым другим сахаром, кроме глюкозы, они растут медленнее, чем их предки в таких же условиях. И некоторые из них мутируют значительно быстрее, чем бактерии исходной линии. Эволюция сделала потомков непохожими на своих предков.

"Я признаю, - писал Чарльз Дарвин в "Происхождении видов", - что естественный отбор всегда будет работать чрезвычайно медленно"<sup>[15]</sup>. Ленски удалось при помощи *E. coli* сделать то, о чем Чарльз Дарвин не смел и мечтать: ему удалось наблюдать эволюцию в действии.

### Ламарк на пляже

Я живу неподалеку от пролива Лонг - Айленд, и время от времени мы с женой вывозим дочерей на побережье. Девочки кидают камни в воду и собирают водоросли. Иногда во время прогулки к нам присоединяются кулики - песочники, птички довольно нервные. Они носятся вдоль берега, останавливаются иногда, чтобы погрузить свои клювы в ил, и вновь уносятся на своих тоненьких ножках - соломинках.

Два века назад на таком же пляже на другой стороне Атлантики один французский натуралист тоже наблюдал за болотными птицами и думал о том, откуда они взялись. Вывод, сделанный Жаном - Батистом Ламарком, гласил, что птицы постепенно, от поколения к поколению, менялись, приспосабливаясь к среде обитания. Они эволюционировали. В 1801 г. Ламарк так описал эволюцию болотных птиц:

"Можно заметить, что береговая птица, которая вовсе не любит плавать, но которой тем не менее необходимо подбираться в поисках добычи к самой воде, постоянно будет подвергаться опасности завязнуть в грязи и иле. Желая избежать погружения в жидкий ил и воду, такая птица приобретает привычку постоянно вытягивать и удлинять свои ноги. В результате за

несколько поколений птицы, сохраняющие такой образ жизни, окажутся обладателями длинных, как ходули, голых ног".

"Желание" - это всего лишь очень приблизительное описание того, что имел в виду Ламарк. Он описывал "тонкие флюиды", циркулирующие в организме как птиц, так и всех прочих живых существ, оживляющие их и управляющие их ростом и движениями. Эти тонкие флюиды, как тогда считалось, подвержены влиянию привычек животных, приобретенных ими при взаимодействии с внешним миром. Когда жираф тянул шею к листьям высоко на дереве, тонкие флюиды активно перетекали в его шею, и, по мере того как больше и больше флюида проходило через шею, она удлинялась. Точно также и болотные птицы вытягивали ноги, чтобы приподняться над топью. Так они отрастили себе длинные ноги. И жирафы, и болотные птицы передавали телесные изменения своим потомкам.

Ламарк не считал, что его взгляды на этот предмет очень уж оригинальны. "Закон природы, согласно которому новые особи получают все, что было приобретено организмом за время жизни их родителей, так правдив, так поразителен и так явно подтверждается фактами, что не найдется наблюдателя, который не смог бы самостоятельно убедиться в его реальности", - писал он.

И все же, каким бы очевидным и всеобщим ни казалось такое мнение, сегодня с ним связывают имя одного лишь Ламарка. Дело в том, что он описал все эти перемены смелее, чем кто бы то ни был до него, сделав их частью амбициозной теории, которая должна была объяснить происхождение всего разнообразия жизни. Жизнь, утверждал Ламарк, меняется вынужденно - под действием изначально присущего ей внутреннего импульса, стремления от простого к сложному. Именно этот импульс превратил микробов в животных и растения. При этом на каждом этапе восходящего движения к сложности биологические виды приобретают, помимо всего прочего, черты, необходимые им для жизни в конкретных условиях среды, и передают эти черты своим потомкам.

Ламарк умер в 1829 г. бедным и слепым; его теория вызывала только насмешки. Но от вопросов, которые он ставил в своих книгах, натуралисты того времени не могли просто отмахнуться. Как, к примеру, можно объяснить существование палеонтологической летописи?<sup>[16]</sup> А распределение сходных видов по миру? Через 30 лет после смерти Ламарка свое объяснение предложил Чарльз Дарвин. Он выступил за эволюцию, но отверг изначально присущее всем живым существам внутреннее стремление от простого к сложному, о котором говорил Ламарк. Вместо этого Дарвин утверждал, что жизнь развивается, главным образом, с помощью естественного отбора.

В каждом поколении вида можно найти широкий спектр вариаций. Если говорить о болотных птицах, то у одних особей ноги длиннее, у других короче. Некоторые из этих индивидуальных черт позволяют своим обладателям выживать и размножаться более успешно, чем это удастся другим особям. Успешные особи передают свои признаки потомству, и от поколения к поколению эти признаки становятся в популяции все более обычными. За миллионы лет естественный отбор может породить самые разные тела. У птиц, к примеру, на ногах могут появиться страшные орлиные когти, утиные перепонки или те самые тонкие ходули, которые позволяют куликам спокойно разгуливать по топкому месту. Но естественный отбор действует только на те ноги, с которыми птицы уже появились на свет; ни о каких изменениях, которые могли произойти с птицами при жизни, речи не идет.

К концу XIX в. большинство биологов признали существование эволюции, но мнения о ее движущей силе разделились. Многие признали роль естественного отбора, но некоторые склонялись скорее к точке зрения Ламарка. Немецкий биолог Август Вейсман призывал вообще изгнать теорию Ламарка из биологии. В доказательство своей точки зрения он выращивал мышей и отрезал им хвосты. За много поколений, однако, хвосты у мышей не стали короче. Сторонники неоламаркизма отвергали эксперименты Вейсмана как бессмысленные. Самим животным не нужны более короткие хвосты, утверждали они, поэтому-то они и не укорачиваются. Неоламаркисты сомневались в возможностях естественного отбора. Они утверждали, что палеонтологическая летопись наглядно демонстрирует в истории жизни на Земле долгосрочные тенденции, которые сиюминутный естественный отбор никак не мог обеспечить.

Не одно десятилетие последователи Дарвина и Ламарка воевали, можно сказать, насмерть. Научной определенности все не было, а сомнения всегда подпитывают конфликты. Ученые не могли пока подступиться к законам наследственности и ее химическим механизмам. Нужен был организм, который можно было бы наблюдать в процессе размножения и адаптации, поколение за поколением. Организмом этим оказалась *E. coli*.

## Игровые автоматы и штампельные подушечки

Однажды вечером в 1942 г. в городке Блумингтоне (штат Индиана) в баре сидел беженец - итальянец и дразнил приятеля, мучившего игровой автомат.

Беженца звали Сальвадор Лурия. Еще на родине, в Турине, он начал учиться на врача, но после знакомства с вирусами и бактериями решил отказаться от медицинской карьеры в пользу научной. Во время Второй мировой войны он бежал из Италии в Париж, где поступил на работу в Институт Пастера и начал вместе с французскими коллегами изучать *E. coli* и ее вирусы. Когда германская армия подошла к Парижу, Лурия вновь бежал, на этот раз в Нью - Йорк. В США молодой человек встретился со своим научным кумиром Максом Дельбрюком, и они начали работать вместе. Ученые исследовали жизненный цикл вирусов - бактериофагов, паразитирующих на *E. coli*. Они сотрудничали с учеными, имевшими изобретенный незадолго до этого электронный микроскоп, при помощи которого можно было проследить, как именно эти существа проникают в будущего хозяина. В течение нескольких лет Лурия и Дельбрюк пытались разобраться в том, как *E. coli* умудряется выстоять в столкновениях с эпидемиями, которые насылают на нее ученые.

В типичном микробиологическом эксперименте исследователи добавляют в чашку с бактериями вирусы, и бактерии очень быстро пропадают из виду. Но вирусам не удается уничтожить все бактерии. Уже через несколько часов из уцелевших бактерий вновь возникают видимые колонии. Все *E. coli* в новых колониях оказываются резистентными к вирусу; если пересадить их в новую чашку Петри, а затем подвергнуть действию того же вируса, их потомки также проявят резистентность.

Глядя на такое поведение бактерий, многие микробиологи поневоле обратились к неоламаркизму. *E. coli* реагировала на вирусы точно так же, как в представлении Ламарка прибрежные птицы реагировали на болотистую почву. Угроза заражения заставляла их обзаводиться средствами защиты, которые они затем передавали потомству. Результаты других экспериментов на первый взгляд тоже укладывались в эту схему. Если ученые предлагали *E. coli* в качестве источника питания лактозу вместо глюкозы, бактерия начинала производить фермент, необходимый для расщепления лактозы, - и ее потомки тоже производили этот фермент. Был еще один фактор, заставлявший многих микробиологов обращаться к неоламаркизму: на тот момент практически ничего не говорило о том, что у бактерий есть гены. По мнению многих микробиологов, бактерии вроде *E. coli* представляли собой всего лишь мешочки с ферментами и другими химическими веществами, способные реагировать на изменения окружающей среды.

Но были микробиологи, которые думали иначе. Они утверждали, что у бактерий есть гены, которые, как и у животных, способны к спонтанным мутациям. В некоторых случаях мутация может по чистой случайности дать бактерии преимущество - к примеру, сделать ее резистентной к какому-нибудь вирусу. При таком подходе получалось, что *E. coli* подчиняется законам Дарвина, а не Ламарка.

Никто прежде не проверял истинность этих альтернативных вариантов. Лурия и Дельбрюк потратили не один месяц, пытаясь придумать надежный способ проверки. Им удалось сделать это лишь в 1942 г., когда Лурия принял предложение о работе в Университете Индианы, "в таком месте, о котором я никогда раньше не слышал", как он сам позже написал. Вскоре после этого Лурия и оказался в Блумингтонском баре рядом с другим таким же профессором, увлекшимся борьбой с игровым автоматом. Профессор проигрывал, а в ответ на подначки Лурии совсем бросил игру.

"Именно тогда я впервые задумался о цифровых закономерностях игровых автоматов", - писал позже Лурия в своей автобиографии.

Автомат, в который играл тот профессор, был запрограммирован на выдачу всего лишь нескольких крупных выигрышей. В принципе, его можно было настроить и иначе. Можно было сделать так, чтобы автомат с небольшой вероятностью показывал выигрыш при каждом повороте ручки. В этом случае вместо одного крупного игроки получали бы намного больше выигрышей, но каждый из выигрышей был бы намного меньше. Внезапно Лурия понял, как можно провести эксперимент с резистентностью *E. coli*, чтобы достоверно определить, кто прав: Дарвин или Ламарк.

На следующий день Лурия стал готовить колбы с бактериями. В каждой колбе содержалась популяция, начало которой дали всего лишь несколько сотен микроорганизмов. Поскольку резистентных бактерий чрезвычайно мало - примерно одна на миллион, можно было сделать вывод, что все родоначальники популяций во всех колбах почти наверняка беззащитны перед

вирусом. Резистентность к вирусу могла проявиться лишь после того, как популяция существенно выросла.

Популяции некоторое время росли, а потом Лурия взял из каждой колбы немного бактерий и рассадил их по чашкам Петри с заранее помещенными туда вирусами. Он ждал эпидемий, а затем возникновения резистентных колоний *E. coli*.

По Ламарку, живые существа, сталкиваясь с жизненными невзгодами, приобретали новые качества, а затем передавали их потомству. Если бы *E. coli* подчинялась законам Ламарка, бактерии должны были приобрести резистентность уже после того, как Лурия подверг их действию вирусов. Это означало бы, что после подсаживания в заселенную вирусами чашку у всех бактерий были равные, хотя и небольшие, шансы развить у себя резистентность. В этом случае Лурия через некоторое время должен был обнаружить в каждой чашке несколько резистентных колоний. Тогда эксперимент напоминал бы игровой автомат, достаточно часто выдающий небольшие выигрыши.

С другой стороны, если бы *E. coli* подчинялась законам Дарвина, то эксперимент напоминал бы игровой автомат с небольшим числом крупных выигрышей. Как утверждали последователи Дарвина, у *E. coli* при каждом делении был небольшой шанс мутировать вне зависимости от внешних обстоятельств. Иными словами, могло оказаться, что бактерии в эксперименте Лурии обрели резистентность еще во время размножения в колбах, задолго до реального столкновения с вирусами. В этом случае полученное бактериями преимущество привело бы к совершенно иному результату. Если бы такая мутация возникла в колонии на раннем этапе, то мутантная бактерия успела бы произвести на свет множество потомков. И когда Лурия взял бактериальный образец из такой колонии и поместил в чашку Петри с вирусами, должно было оказаться, что достаточное количество микробов обзавелись резистентностью заранее. В этой чашке выросло бы множество новых колоний.

В других колбах резистентные мутанты могли возникнуть намного позже. У них было бы существенно меньше времени на размножение до пересадки в чашки с вирусом, и в результате они породили бы куда меньше резистентных колоний. В третьих колбах не возникло бы вообще никаких подходящих мутантов. При пересадке такие бактерии вымерли бы целиком, оставив чашки пустыми. Таким образом, вместо нескольких схожих колоний в большинстве чашек - как следовало из предсказания по Ламарку - мутации по Дарвину породили бы несколько чашек с множеством колоний, в то время как в остальных резистентных колоний было бы мало или не было вообще.

Лурия раскрутил маховик своего "игрального автомата" - и начал считать точки колоний в чашках Петри. После окончания подсчета вердикт был ясен. В нескольких чашках колоний было множество, тогда как многие другие чашки оказались попросту пустыми. Игровой автомат жизни выдал всего несколько крупных выигрышей. Дарвин победил.

В 1943 г. Лурия и Дельбрюк опубликовали эти результаты, что обеспечило им обоим долю в Нобелевской премии 1969 г. Следующие поколения биологов воспринимали вышеописанное как один из величайших биологических экспериментов XX столетия. Он убедительно доказал, что бактерии, подобно растениям и животным, передают потомству свои признаки при помощи генов. И показал также, что эти гены способны спонтанно изменяться и распространяться в популяции с помощью естественного отбора. Этот эксперимент стал мощным инструментом науки. Теперь, просто посчитав колонии бактерий в чашке Петри, ученые могут определить, с какой частотой возникают мутации.

Однако в тот момент, когда Лурия и Дельбрюк впервые опубликовали описание и результаты своего эксперимента, на скептиков они особого впечатления не произвели и неоламаркистов ни в чем не убедили. Приверженцы неоламаркизма указывали, что авторам эксперимента приходилось в своих выводах опираться на множество косвенных свидетельств. Могло ведь оказаться, что колбы, задействованные в эксперименте, изначально были не совсем одинаковыми. В некоторых, например, могли остаться следы мыла или какого-то другого постороннего вещества, позже повлиявшего на бактерии. Споры о том, как именно адаптируются бактерии, продолжались среди микробиологов еще лет десять.

Скептиков никак не удавалось убедить, до тех пор пока Джошуа Ледерберг (тот самый, что открыл половое размножение *E. coli*) не проверил гипотезу игрального автомата в новом эксперименте. Ледерберг и его жена Эстер обернули конец деревянного цилиндра, примерно соответствующего по диаметру чашке Петри, куском бархата, а затем окунули его сначала в чашку с *E. coli*, а затем в чашку с вирусами. Процедура была проделана трижды - так что три чашки с вирусами получили отпечаток с эшерихиями из одной и той же первоначальной чашки.

Через несколько часов почти все бактерии, занесенные Ледербергами в чашки с вирусами, погибли от инфекции. Небольшое количество мутантов, однако, уцелело и дало начало новым видимым колониям. Ледерберги сфотографировали каждую чашку и сравнили получившиеся изображения. Созвездие мутантных колоний во всех трех чашках выглядело одинаково!

Ледерберги сделали логичный вывод о том, что мутации бактерий возникли еще в первоначальной чашке. Переноса бактерии из чашки в чашку при помощи бархатного штампа, они брали мутантов из одного и того же места в чашке и помещали в то же место чашки с вирусами. Если бы *E. coli* подчинялась Ламарку, то резистентность она приобрела бы только при столкновении с вирусами, не раньше. И странно было бы ожидать в таком случае одинакового расположения колоний резистентных бактерий во всех трех чашках.

Ледерберги понимали, что они могут выявить резистентные бактерии лишь после того, как те столкнулись с вирусами, поэтому продолжили эксперимент, чтобы доказать, что мутантные особи обладали резистентностью до этого события. Они взяли при помощи бархатного штампа бактерии из чашки с небольшим числом видимых колоний и перенесли в чашку, полную вирусов, а затем подождали, пока из резистентных бактерий в чашке с вирусами вырастут новые колонии. Каждая новая колония соответствовала одной из колоний в первоначальной чашке. После этого Ледерберги взяли из первоначальных колоний некоторое количество бактерий и поместили их в колбы, где те могли размножаться без ограничений. Затем ученые повторили свой эксперимент на новых бактериях - вырастили в новой чашке несколько колоний и перенесли их при помощи бархатного штампа. Теперь все колонии были резистентны. Ледерберги засеяли бактериями из чашки еще одну колбу и вновь повторили эксперимент.

Сколько бы раз ни повторялась описанная процедура, бактерии оставались резистентными к вирусу, хотя ни одна из них в ходе эксперимента теперь с вирусами не сталкивалась. В 1952 г. Ледерберги опубликовали результаты своего эксперимента, утверждая, что некоторое количество резистентных бактерий мутировали до его начала, а затем передали потомкам ген резистентности. Упрямо держаться за теорию Ламарка теперь было бы нелепо.

Вышеописанные эксперименты с *E. coli* помогли объединить теорию эволюции и генетику и выработать новую синтетическую теорию. Чем больше узнавали ученые о генах и белках, тем яснее становились механизмы естественного отбора. Случайная мутация изменяла последовательность нуклеотидов гена и, следовательно, структуру соответствующего белка. В некоторых случаях мутации оказывались летальными, так как блокировали производство необходимого белка. Другие мутации были для организма безразличными. Зато некоторые - очень редкие - мутации реально повышали репродуктивный успех особи. При этом преимущества или, наоборот, недостатки мутации зависели от окружающей среды. Так, мутация, придающая *E. coli* резистентность к вирусу, гарантирует ей репродуктивный успех лишь в том случае, когда колонии действительно угрожают вирусы. Если нет, такая мутация останется безразличной. Она может даже стать для организма обузой.

За следующие 50 лет биологи - эволюционисты накопили целые горы данных, доказывающих, что эволюция действительно происходит, причем именно таким образом. В большинстве случаев, однако, им приходится изучать эволюцию косвенно, сравнивая гены различных организмов, чтобы разобраться в том, как они произошли от общего предка с помощью естественного отбора. Но есть несколько видов, на которых ученые могут наблюдать эволюцию "в прямом эфире", поколение за поколением, мутация за мутацией. *E. coli* принадлежит к самым удобным и благодатным из них.

## Эволюция в действии

Сальвадор Лурия в своем эксперименте, вдохновленном игровым автоматом, сумел пронаблюдать один виток эволюции. Популяция *E. coli* столкнулась с проблемой - атакой вируса, и естественный отбор дал преимущество резистентным мутантам. Но естественный отбор формирует вид постоянно, в каждом поколении. Возникают новые мутации, гены, передаваемые от родителей потомству, складываются в новые комбинации, а переменчивая окружающая среда то и дело создает новые проблемы. На таком масштабном фоне наблюдать эволюцию намного сложнее. У жизни на изменения были миллионы лет, тогда как ученые живут на этой земле всего лишь по несколько десятилетий. Дарвин предпочел изучать эволюцию, условно говоря, на расстоянии, и сто лет спустя большинство биологов - эволюционистов продолжало поступать так же. Они исследовали гены разных видов, чтобы определить, как эти виды разошлись, или занимались поисками новых вариантов генов, возникших в ответ на новые вызовы. Они искали признаки действия естественного отбора в

прошлом. Но в 1980–е гг. нашлись ученые, которые решили пронаблюдать за ходом эволюции в реальном времени. Они начали отслеживать, как *E. coli* и другие бактерии подвергаются естественному отбору прямо в лаборатории, у них на глазах.

Одним из таких ученых был и Ричард Ленски. В начале своей научной карьеры он в поисках жуков исходил вдоль и поперек Голубой хребет в Аппалачских горах. Он хотел выяснить, как жуки вписываются в пищевые цепи Голубого хребта. Ленски сосредоточил свою работу на жуках рода *Carabus* из семейства жужелиц. Он надеялся установить, чем контролируется численность популяции этих жуков - может быть, резкими похолоданиями или аномальной жарой, а может, конкуренцией за добычу (мелкие насекомые). Вопрос этот, надо сказать, представлял далеко не академический интерес. Вполне могло оказаться, что жужелицы охраняют здоровье лесов, сдерживая численность вредителей, наносящих ущерб деревьям. Понимание экологии жужелиц могло помочь предсказывать вспышки численности вредителей, а возможно, и предотвращать их.

Каждую весну Ленски выходил на склоны гор и рыл ямки, ставил туда пластиковые стаканчики и накрывал их воронками. Жуки скатывались через воронки в стаканчики, а Ленски ежедневно приходил и считал их. Он помечал пойманных жужелиц и отпускал. Ленски отслеживал, какой вес они набирали за лето; сравнивал, сколько он поймал жужелиц вида *Carabus sylvosus* и сколько - *Carabus limbatus*; сравнивал численность жуков в густом лесу и на открытых местах.

Ленски искал закономерности. В науке выявлению закономерностей помогает многократное повторение эксперимента. Врачи при испытаниях нового лекарства задействуют тысячи людей. Физики, выясняя закономерности поведения фотона, производят миллионы лазерных импульсов. Экологи тоже стараются повторять свои эксперименты, но от них это требует гораздо больших усилий. Для своего исследования Ленски выгородил четыре отдельных участка - два в лесу, два на открытом месте - и установил на каждом из них по 16 ловушек. При таком небольшом числе испытаний Ленски мог уловить лишь слабые тени закономерностей, смутные образы сил, управляющих жуками.

В конце концов Ленски спустился с гор на землю. Придется, решил он, найти другой живой организм, изучение которого позволит отыскать хоть какие-то ответы на мучившие его серьезнейшие вопросы. Он нашел такой организм, и им оказалась *E. coli*. Заглянув в колбу с *E. coli*, Ленски увидел в ней целую гору. Это была экосистема с миллиардами особей. Подобно жужелицам, *E. coli* занималась поисками пищи и продолжением рода. Охотились на нее не саламандры, а вирусы. Возможно, экосистема *E. coli* была проще, чем экосистема Голубого хребта, но в науке простота зачастую является достоинством. Исследователь может четко контролировать в эксперименте все факторы и без труда отслеживать влияние каждого из них.

А самое приятное - то, что *E. coli*, по крайней мере в теории, способна эволюционировать очень быстро. Мутации, конечно, возникают очень редко, но если в одной колбе обитают миллиарды бактерий, хотя бы несколько мутантов найдется в каждом поколении. А поскольку *E. coli* способна делиться каждые 20 минут, благоприятная мутация достаточно быстро распространится по колонии.

Ричард Ленски придумал простой, но мощный эксперимент. Он ограничил снабжение своих бактерий глюкозой, из-за чего они испытывали сильное давление естественного отбора. Несколько десятилетий предки этих бактерий пировали в сахарной ванне и, естественно, успели приспособиться к такой диете. Большинство в популяции давно уже принадлежало тем бактериям, кто умел быстрее всего превращать пищу в потомство. Но в эксперименте Ленски гены, отвечающие за максимальную скорость размножения, оказались не такими уж полезными. Его бактерии росли медленно, а иногда и вообще останавливались в росте. Любая новая мутация, позволяющая микроорганизмам выжить в таких условиях, рассуждал Ленски, должна быть подхвачена естественным отбором.

По мере того как в лаборатории ученого сменялись тысячи поколений *E. coli*, у них начали проявляться эволюционные сдвиги. Когда Ленски сравнил бактерии, давшие начало "его" популяции, с их потомками, новые микробы в новых условиях опять-таки размножались быстрее. Чем больше проходило времени, тем лучше адаптировались бактерии. Через десятилетие скорость роста колоний значительно выросла. Ход эволюции не был гладким и равномерным - несколько сотен поколений бактерий могли смениться без всяких видимых изменений, но затем происходил стремительный эволюционный скачок. Пока *E. coli* эволюционировала и училась размножаться быстрее, Ленски заметил и другие изменения.

Студенты Ленски продолжали поддерживать созданную им династию *E. coli* поколение за поколением; другие ученые при помощи тех же методов проводили собственные эксперименты. Некоторые наблюдали, как *E. coli* адаптируется к жизни при температуре

+41 °С, характерной для лихорадочного состояния. Другие напускали на колонии бактерий вирусы и смотрели, как микробы обретают резистентность, - только затем, чтобы вирусы тоже эволюционировали и нашли способ обойти их защитные механизмы, после чего весь цикл начинался сначала. Эксперимент Ленски продолжался намного дольше прочих, но даже не слишком продолжительные эксперименты помогали ученым получить поразительные результаты. К примеру, Бернард Палссон и его сотрудники из Калифорнийского университета в Сан - Диего кормили пять популяций *E. coli* соединением углерода - глицерином - трехатомным спиртом, который используется в производстве мыла и косметики. Нормальная *E. coli* с трудом питается глицерином, но Палссон сумел подстегнуть эволюцию бактерий - гурманов, ценящих глицерин. Всего через 44 дня (660 поколений *E. coli*) бактерии у него росли вдвое быстрее, чем основатели популяций.

Чем бы ни занималась *E. coli* - сражалась ли с вирусами, адаптировалась ли к глицериновой диете или училась справляться с жарой, - она, без сомнения, эволюционировала. Возможно, быстрый ход эволюции в условиях эксперимента отражает ее стремительность в естественных условиях. В конце концов, всякий раз, когда бактерия оказывается в новых условиях, давление естественного отбора на нее резко и внезапно сдвигается. Гены, позволяющие *E. coli* прекрасно чувствовать себя в кишечнике человека, могут мутировать в гены, лучше приспособленные к жизни в почве.

Эти эксперименты позволили ученым проанализировать механизм естественного отбора во всех подробностях, хорошенько разобравшись в конкретных мутациях, которые дают *E. coli* адаптивные преимущества. Каждый раз, когда бактерия делится, у нее есть лишь один шанс из ста тысяч, что произойдет мутация, которая позволит ее потомкам размножаться быстрее. Преимущество часто бывает крошечным, но все же позволяет потомкам мутантов обогнать своих собратьев. У этих потомков, в свою очередь, есть маленький шанс получить вторую мутацию, которая еще заметнее ускорит их размножение. В эксперименте Палссона, где сменилось 660 поколений *E. coli*, он и его коллеги сумели зарегистрировать две - три мутации в каждой популяции. По оценке Ленски, за более чем 30000 поколений его линии бактерий приобрели не менее 100 благоприятных мутаций.

Благоприятные мутации могут принимать различные формы. Некоторые изменяют один - единственный нуклеотид в составе гена - это примерно то же, что заменить в слове одну букву (например, СТОЛ на СТУЛ). Такие мутации изменяют структуру белка, за производство которого отвечает ген, и, соответственно, механизм его работы. Он может получить возможность надежнее, чем прежде, разрезать нужную молекулу или реагировать на новый сигнал. При других мутациях случайно возникает дополнительная копия участка ДНК. В эксперименте Палссона такие дублированные сегменты насчитывали от 9 до 1,3 млн пар нуклеотидов. При случайной дубликации участка ДНК могут возникать дополнительные копии старых генов. Естественный отбор иногда подхватывает такие мутации, потому что они позволяют *E. coli* производить больше молекул тех или иных белков, необходимых для роста и размножения. Однако со временем в одном из двух одинаковых участков ДНК могут возникнуть собственные мутации, которые позволят ему взять на себя новую функцию. Наконец, иногда мутации отщипывают от ДНК кусочки, и в некоторых случаях бактерии, потерявшие часть генетического материала, получают преимущество. Возможно, дело в том, что белки, которые когда-то были полезны, со временем могут стать для микроорганизма обузой.

Эксперименты, подобные описанным, показывают, что мутации возникают случайно, а их результаты зависят от того, способствуют ли они процветанию организма в конкретных условиях. Но означает ли это, что ход эволюции совершенно случаен? Покойный палеонтолог Стивен Джей Гулд мечтал поставить эксперимент, способный, как он говорил, повторно воспроизвести запись, сделанную природой. "Вы нажимаете клавишу обратной перемотки и, убедившись, что все реально произошедшее надежно стерто, возвращаетесь назад в любую точку во времени и в любое место в прошлом..." - писал он в книге "Чудесная жизнь" (Wonderful Life, 1989). - Затем пускаете запись с начала и смотрите, будет ли второй прогон сколько-нибудь похож на оригинал".

Если не говорить о путешествиях во времени, то наилучшим способом получить ответ на этот вопрос, по мнению Гулда, является тщательное изучение палеонтологической летописи, регистрирующей момент появления и исчезновения видов. Но эксперименты на *E. coli* тоже могут оказаться небесполезными в этом плане - по крайней мере, там, где речь идет о годах, а не об эпохах. Эксперименты, такие как у Ленски, представляют собой особенно мощный инструмент, потому что обеспечивают повторяемость: в ходе подобных исследований можно наблюдать, как разворачиваются эволюционные процессы, не один раз, а многократно.

Так, сам Ленски получил от одного предка 12 отдельных линий, в каждой из которых процесс естественного отбора протекал независимо. Возможно, Ленски с коллегами и не сумели перемотать назад и повторно проиграть запись эволюции *E. coli*. Но им удалось получить 12 независимых копий одной и той же записи и посмотреть, что происходит, когда все они проигрываются одновременно.

Оказывается, такие записи не идентичны, но различаются не слишком сильно. В экспериментах Ленски средняя скорость роста колоний *E. coli* увеличивалась, но некоторые линии росли намного быстрее остальных. Во всех линиях размеры отдельной бактерии за время эксперимента увеличились, но некоторые стали круглыми, в то время как другие сохранили палочковидную форму. Внимательно рассмотрев геномы полученных бактерий, ученые обнаружили в их ДНК множество различий. Одна из причин, по которым эволюция может двигаться разными путями, заключается в том, что механизм мутаций вовсе не прост. Одна и та же мутация для одной бактерии может оказаться полезной, а для другой - вредной и даже смертельной. Дело в том, что действие мутантного гена отчасти зависит от того, как он взаимодействует с другими генами. В одних случаях гены могут успешно работать вместе, в других - мешать друг другу.

Несмотря на отличия, естественный отбор может перевесить многие причудливые зигзаги истории развития вида. Может быть, линии Ленски и не идентичны, но в целом все они эволюционировали в одном направлении. Кроме того, на молекулярном уровне пути их развития тоже двигались к одной точке. Ленски и его коллеги обнаружили несколько случаев, когда один и тот же ген мутировал во всех 12 линиях. Но даже гены, у которых последовательность нуклеотидов осталась прежней, изменились примерно одинаково. Одни из них стали производить больше белка, другие меньше. Ленски с коллегами внимательно проследили, как изменилась экспрессия<sup>[17]</sup> генов в двух линиях *E. coli*. Они выявили 59 генов, и направление изменений всех 59 генов обеих линий было одинаковым. Эволюция продолжала наигрывать одну и ту же мелодию.

## Густо заросший берег

"Любопытно созерцать густо заросший берег, - писал Чарльз Дарвин в "Происхождении видов", - покрытый многочисленными, разнообразными растениями с поющими в кустах птицами, порхающими вокруг насекомыми, ползающими в сырой земле червями, и думать, что все эти прекрасно построенные формы, столь отличающиеся одна от другой и так сложно одна от другой зависящие, были созданы благодаря законам, еще и теперь действующим вокруг нас"<sup>[18]</sup>.

Дарвин не верил, что можно реально наблюдать происходящее на заросшем берегу жизни. Он утверждал, что жизнь эволюционирует и создает новые виды в течение больших промежутков времени, меняясь столь же медленно, как медленно растут горы или опускаются на дно морское острова. Он мог только оглядеться вокруг и изучить результаты эволюции, такие как распределение по миру родственных видов; по существу, это было единственным на тот момент средством восстановить историю заросшего берега. И сегодня большинство ученых, исследующих растительный и животный мир, по - прежнему идут по стопам Дарвина. Собранные ими данные свидетельствуют, что на формирование новых видов, на их отделение от видов существующих уходят обычно тысячи лет. Сидеть на берегу в надежде увидеть, как появляется новый вид, чаще всего бесполезно.

Оказывается, однако, что действие некоторых из тех сил, что управляют происхождением видов, можно наблюдать в чашке с *E. coli*. В начале 1990-х гг. микробиолог из Мичиганского университета Джулиан Адамс использовал для своих опытов колонию *E. coli*, полученную из одной бактерии. Адамс и его коллеги держали бактерии на голодном пайке из глюкозы, но, в отличие от Ленски, старались не доводить их до настоящего голода. Бактерии у них начали эволюционировать, приспосабливаясь к новым условиям. К удивлению Адамса, естественный отбор вовсе не придерживался одной - единственной стратегии. Когда ученый поместил свои бактерии в чашки Петри, в них сформировались колонии двух типов: в виде больших пятен и в виде маленьких.

Адамс решил, что исходная колония оказалась загрязнена другим штаммом, поэтому прекратил эксперимент и начал все заново. После того как новая колония адаптировалась к диете с низким содержанием глюкозы, Адамс снова расселил бактерии по чашкам. И вновь увидел то же самое - большие и маленькие пятна колоний. Адамс повторил эксперимент еще несколько раз и обнаружил, что на формирование двух четко различимых типов бактерий

требуется примерно 200 поколений. Стало окончательно ясно, что из одного клона раз за разом развивается два разных типа *E. coli*.

Оказывается, эти два типа - экологические партнеры. В больших колониях обитают бактерии, которые лучше своих предков умеют питаться глюкозой. При этом один из отходов жизнедеятельности этих бактерий - ацетат. Известно, что *E. coli* может утилизировать ацетат, хотя растет при этом медленнее, чем при питании глюкозой. Адамс обнаружил, что часть его бактерий научилась использовать ацетат в качестве питательного вещества эффективнее, чем их предки. Бактерии, питавшиеся ацетатом, росли медленно, но никогда не вымирали, потому что использовали пищу, которую быстрорастущие бактерии утилизировать не могли. Так в лаборатории Адамса спонтанно возникла пищевая цепочка, в которой организмы зависели друг от друга.

Другие ученые подтвердили выводы Адамса собственными экспериментами и создали из единственного предка *E. coli* другие примеры экологического разнообразия. Майкл Дебели и его коллеги из Университета Британской Колумбии вместо чисто глюкозной диеты изначально выращивали *E. coli* на среде с глюкозой и ацетатом. После 1000 поколений Дебели обнаружил, что его бактерии тоже сформировали большие и маленькие колонии. Оказалось, однако, что эти колонии отличаются от больших и маленьких колоний Адамса. Бактерии в колониях обоих типов у Дебели утилизировали и глюкозу, и ацетат, а разница между ними заключалась в выборе временного режима. Бактерии крупных колоний питались глюкозой до тех пор, пока она не заканчивалась, и лишь затем переходили на ацетат, а бактерии мелких колоний начинали делать это раньше и, соответственно, имели в питании ацетатом некоторую фору.

После этого Дебели с коллегами внимательно присмотрелись к тому, как изменились гены обитателей тех и других колоний. Как правило, если *E. coli* питается глюкозой, то гены, отвечающие за расщепление ацетата, надежно подавлены. Дело в том, что, если бактерия производит одновременно оба набора ферментов (и для глюкозы, и для ацетата), они начинают мешать друг другу и устраивают своеобразную дорожную пробку. Когда наступает время переходить на другую пищу, бактерии приходится сначала уничтожить все готовые ферменты, утилизирующие глюкозу, и лишь потом приступить к синтезу ферментов для расщепления ацетата. Дебели обнаружил, что в мелких колониях естественный отбор благоприятствовал тем мутантам, которые не подавляли гены ацетатного оперона. Пока в наличии были и глюкоза, и ацетат, эти мутанты питались тем и другим, хотя делали это намного менее эффективно, чем специализирующиеся на глюкозе бактерии из крупных колоний. Жертвуя эффективностью, они получали преимущество в другом: поскольку все ферменты, участвующие в утилизации ацетата, у них были готовы заранее, они без труда опережали бактерии из крупных колоний и, пока те занимались небыстрым делом внутренней реорганизации, спокойно питались.

Возможно, эти эксперименты на *E. coli* помогут пролить свет на механизм формирования новых видов. В Никарагуа, к примеру, природа придумала собственные чашки Петри в виде потухших вулканов, постепенно наполнившихся дождевой водой. Озера в кратерах этих вулканов полностью изолированы от близлежащих озер и рек, но иногда - очень редко - ураган заносит в них мальков рыб. В озере Апойо, сформировавшемся около 23 000 лет назад, живет два вида рыб семейства цихлиды. Один из этих видов - цихлазома лимонная (*Cichlasoma citrinellum*) - крупная рыба, которая роется в иле и поедает улиток, раздавливая их раковины. Второй - амфилофус стройный (*Amphilophus zaliozus*) - тонкое стремительное существо, промысляющее личинками насекомых на открытой воде. Анализ ДНК показывает, что цихлазома лимонная была заброшена в озеро уже сформировавшимся видом, а амфилофус стройный отделился от него уже в озере в результате дальнейшей эволюции. Не исключено, что процесс занял всего несколько тысяч лет.

Какие бы виды ни исследовали ученые - *E. coli*, цихлид или еще кого-нибудь, им приходится сталкиваться с одним и тем же вопросом: зачем нужна специализация? Почему живые организмы не эволюционируют, наоборот, в сторону универсальности? Возможно, существуют объективные пределы того, насколько эффективно один организм может делать множество разных вещей. Рано или поздно приходится выбирать. Так, мутация, помогающая *E. coli* питаться ацетатом, может одновременно снизить ее способность питаться глюкозой. Пытаясь делать все сразу, универсалы, вполне возможно, проигрывают специализированным организмам, которые умеют делать что-то одно, зато гораздо лучше. Возможно, цихлиды в свое время столкнулись с подобным выбором. А гибридные цихлиды, скорее всего, не слишком хорошо приспособлены и к питанию улитками, и к охоте на личинок, и их ждет заведомо меньший репродуктивный успех, чем специализированных рыб на обоих концах

спектра. По мере того как в экосистеме возникают новые виды, они изобретают все новые способы добычи пропитания. И со временем Дарвинов берег зарастает все гуще

## Глава 6. Смерть и доброта

### Князь - анархист

В 1882 Г. Чарльз Дарвин был с большой помпой похоронен в Вестминстерском аббатстве. Но уже очень скоро его наследие стало вызывать среди биологов горячие споры. В 1886 г. британский зоолог Томас Гекели опубликовал шокирующий очерк под названием "Борьба за существование и ее влияние на человека". В нем автор нарисовал весьма непривлекательную картину природы как мира, где каждый сражается против каждого. "Животный мир представляет собой что-то вроде гладиаторского шоу, - писал Гекели. - Зверей в нем сравнительно неплохо содержат и выпускают драться. Самый сильный, быстрый и хитрый остается в живых, чтобы завтра вновь вступить в схватку. Зрителям нет нужды показывать обращенные вниз большие пальцы - снисхождения в этом мире не бывает". Гекели считал, что человеку, чтобы придерживаться принципов морали, необходимо идти против собственной природы.

На очерк Гекели последовал язвительный ответ от одного князя - анархиста. Петр Кропоткин родился в 1842 г. в семье богатого русского аристократа. При Александре II он окончил элитное военное учебное заведение - Пажеский корпус, но успел разочароваться в придворной жизни и попросился служить в Сибирь. Там он работал секретарем комиссии по тюремной реформе, и ужасы, свидетелем которых он стал в каторжных лагерях, превратили князя в радикального анархиста. В то же время он вырос до первоклассного ученого. В 1864 г. Кропоткин впервые принял участие в географической экспедиции и следующие восемь лет занимался исследованием сибирских ландшафтов.

После возвращения из Сибири Кропоткин очень быстро оказался в тюрьме за свои политические убеждения. Он бежал и перебрался в Европу, где начал писать политические памфлеты; это творчество принесло ему славу - и новые тюремные сроки. Очерк Гекели появился в печати в тот момент, когда Кропоткин, отсидев три года, вышел из французской тюрьмы. Он обосновался в Англии и немедленно приступил к написанию целой серии критических очерков, направленных против Гекели и его, как он считал, неправильных взглядов и на человека, и на природу. Позже его очерки были изданы в виде сборника "Взаимопомощь как фактор эволюции", который стал бестселлером.

Кропоткин утверждал, что мораль не искусственна и не связана с цивилизацией, а наоборот, изначально естественна для человека и определяется самой глубинной его природой. "Взаимная помощь - такой же закон природы, как и взаимная борьба", - писал он. Сотрудничество появилось и развилось благодаря тем преимуществам, которые оно обеспечивает по сравнению с эгоистичным поведением. Животные не бросают друг друга, а проявляют заботу и взаимопомощь. Кропоткин рассказывает один случай за другим, приводит бесконечные примеры деятельной доброты в животном царстве - от лошадей, которые помогали друг другу уйти от степного пожара, до мечехвостов, помогавших лежащим на спине товарищам перевернуться обратно.

Можно только гадать, что подумал бы Кропоткин о *E. coli*. Вероятно, ему было бы приятно наблюдать, как миллиарды микроорганизмов работают вместе на строительстве биопленки, и следить за путешествиями целых стай бактерий, где все особи переплелись жгутиками. Возможно, его поразило бы бескорыстное самопожертвование бактерий, превращающих себя в живую колициновую бомбу ради того, чтобы избавиться от представителей других штаммов. А возможно, Петр Алексеевич совсем не удивился бы этому. В конце XX в. дух сотрудничества, владеющий *E. coli*, стал для ученых неожиданным открытием, но Кропоткин еще сто лет назад написал пророческие слова: "Взаимная помощь встречается даже среди самых низших животных, и мы, вероятно, узнаем когда-нибудь от лиц, изучающих микроскопическую жизнь стоячих вод, о фактах бессознательной взаимной поддержки даже среди мельчайших микроорганизмов"<sup>[19]</sup>.

Кропоткин принадлежал к той же научной эпохе, что и Дарвин. Он был типичным для XIX в. наблюдательным натуралистом и ничего не понимал ни в ДНК, ни в мутациях. О том, как в клетках возникают мутации и как они помогают особи победить во внутривидовой конкурентной борьбе, ученые узнали только в середине XX в. Но и этот взгляд на эволюцию при своем появлении оттолкнул многих биологов точно так же, как картина гладиаторских боев внутри вида, которую рисовал Гекели, отталкивала Кропоткина.

Интеллектуальные внуки Кропоткина спрашивали, как конкуренция между особями может дать начало новой стратегии поведения, полезной не для особи, а для группы. Так, рыбы объединяются в гигантские косяки, которые движутся согласованно, почти как единый организм. Стерильные рабочие муравьи заботятся о потомстве своей матки. Сурикат готов стоять на страже, чтобы его сородичи могли спокойно заниматься поисками пищи. Но ведь мутация, заставляющая суриката стоять столбиком и охранять покой своих товарищей, делает его самого куда более уязвимым! Даже предполагая, что естественный отбор способен породить подобные самоотверженные стратегии поведения, биологи недоумевали, как он может сделать так, чтобы отдельные особи не пользовались беззастенчиво альтруизмом других.

Для *E. coli* это совсем не умогательный вопрос. Когда у колонии микроорганизмов заканчивается пища, ее члены, вступая в стационарную фазу, начинают сложный совместный танец. Микроорганизмы обмениваются сигналами, цель которых - синхронизировать действия по свертыванию ДНК и прекращению производства белков. Вступая в стационарную фазу одновременно, бактерии тем самым повышают свои шансы на то, что по крайней мере некоторые из них уцелеют до того момента, когда внешние условия вновь улучшатся, хотя многие, скорее всего, погибнут. Но Роберто Колтер из Гарварда и его бывший студент Марин Вулич обнаружили, что некоторые бактерии не принимают участия в этом танце смерти.

Вулич и Колтер обнаружили, что в такой колонии время от времени возникают мутанты, способные очнуться от своего "летаргического сна" - стационарной фазы - и вновь начать питаться. При этом в качестве источника питания они используют не сахара, а аминокислоты, которые выделяют их спящие товарищи. Затем бактерии, находящиеся в стационарной фазе, начинают понемногу умирать; при этом их оболочки разрушаются и содержимое выходит наружу. Мутанты утилизируют белки и ДНК погибших родичей. Рацион получается достаточно жалкий, но на размножение все же хватает. Через несколько недель потомки "нарушителей конвенции" уже играют в популяции ведущую роль.

Такое предательство наблюдалось в ходе эксперимента нередко. Стоило посадить популяцию *E. coli* на голодную диету, и в ней время от времени появлялись и процветали обманщики. Это происходит в соответствии с фундаментальными законами современной эволюционной биологии: благодаря случайным мутациям и конкуренции между особями в популяции в борьбе за репродуктивный успех. Остается лишь гадать, почему, если обманщики с такой легкостью добиваются успеха, сотрудничество вообще существует.

## Сила в численности

В 1950-е гг. некоторые ученые объясняли сотрудничество среди животных при помощи гипотезы группового отбора. Они утверждали, что большие группы неродственных животных конкурируют между собой точно так же, как конкурируют между собой отдельные особи. Приспособления, позволяющие одним группам размножаться быстрее, чем другим, должны со временем получать более широкое распространение в популяции. Согласно этой гипотезе, групповой отбор может создавать черты и поведенческие стратегии, которые идут на пользу многим, а не нескольким особям. К примеру, в некоторых птичьих колониях каждый год может завести потомство лишь треть взрослых птиц. Сторонники теории группового отбора утверждали, что птицы намеренно сдерживаются, чтобы колония не разрослась слишком сильно и не уничтожила все пищевые ресурсы. Они даже смерть рассматривали как результат группового отбора, который устраняет стариков и позволяет молодежи достаточно хорошо питаться, чтобы завести и вырастить потомство.

Некоторое время теория группового отбора была очень популярна. Начались даже разговоры о поведении, направленном "на благо вида". Однако к 1960-м гг. критики не оставили от этой теории камня на камне. Они указывали, что изменения, в том числе и полезные, при групповом отборе происходят очень медленно - гораздо медленнее, чем при действии естественного отбора на уровне отдельных особей (как, к примеру, при появлении обманщиков). Джордж Уильямс, эволюционный биолог из Университета штата Нью-Йорк в Стоуни-Брук, собрал и обобщил множество подобных аргументов. В своей вышедшей в 1966 г. книге "Адаптация и естественный отбор" (*Adaptation and Natural Selection*) Уильямс заявил, что аргументы сторонников группового отбора - всего лишь результат лени мысли. Если ученые не в состоянии понять, как может естественный отбор привести к появлению того или иного приспособления, то, скорее всего, они просто не дали себе труда как следует подумать над этим вопросом.

Уильямс заявил, что большинство фактов в биологии, какими бы загадочными они ни казались на первый взгляд, представляют собой результат действия жесткого естественного отбора на отдельные особи популяции. Возьмите, к примеру, косяк рыбы, который ведет себя в воде как единый сверхорганизм. Может показаться, что каждая особь здесь сотрудничает с остальными ради блага группы и делает все, чтобы косяк в целом смог уйти от хищников - даже если это означает, что особь, о которой идет речь, будет съедена. Уильямс же утверждал, что стайное поведение может возникнуть в результате стремления каждой отдельной рыбы увеличить свои шансы на выживание - забраться в центр косяка или пытаться угадать появление хищника по поведению остальных рыб.

Тем временем в Англии еще один молодой биолог по имени Уильям Гамильтон обратил внимание на то, что в спорах о естественном и групповом отборе ученые забывают еще об одной важной вещи: о семье. Естественный отбор подхватывает те мутации, которые помогают повысить частоту встречаемости генов в популяции. Один из способов сделать это - завести как можно больше здоровых детей. Но Гамильтон сумел показать, что особь может способствовать распространению своих генов и тем, что будет помогать размножаться своим родичам.

Гамильтон говорил в основном об общественных насекомых, таких как муравьи и пчелы. Хотя стерильная рабочая самка муравья сама завести потомство не может, это вовсе не означает, что ее гены не могут быть переданы следующему поколению. Все рабочие самки в муравейнике - дочери матки и, соответственно, сестры тем муравьям, которые вырастут из сегодняшних яиц. Это означает, что каждая рабочая самка помогает растить муравьев, которые имеют с ней частично общие гены. Более того, благодаря особенностям генетики насекомых у рабочей самки - муравья больше общих генов с потомками матки, чем было бы с собственным потомством. Гамильтон предложил математическую модель генов, переходящих от поколения к поколению. Получилось, что в том случае, если альтруизм помогает передать гены следующему поколению с большей вероятностью, чем непосредственное размножение, он вполне может быть подхвачен естественным отбором. Групповой отбор возможен, утверждал Гамильтон, но лишь в том случае, если в качестве группы рассматривать расширенную семью.

Уильямс и Гамильтон оказали на биологию сильнейшее влияние. Можно было подумать, что они изобрели и пустили в обращение универсальный ключ, при помощи которого ученые смогли расшифровать многие загадочные природные закономерности. К примеру, почему некоторые животные ухаживают за своими потомками, тогда как другие бросают их сразу после рождения? Появилась возможность с математической точностью предсказывать самые интимные подробности поведения видов. Как зоологи Уильямс и Гамильтон были далеки от проблем эволюции микроорганизмов, таких как *E. coli*. Оказалось, однако, что во многих отношениях эта бактерия тоже свидетельствует в пользу их взглядов.

В частности, в том, что обманщики до сих пор не захватили абсолютное лидерство в популяциях *E. coli*, нет ничего особенно загадочного. Конечно, эти особи могут поддерживать собственную жизнь за счет своих товарищей, находящихся в стационарной фазе, но, как говорится, за все надо платить. Превращение обычной бактерии *E. coli* в обманщицу и иждивенку происходит при мутации гена, получившего название *rpoS*. В обычных условиях этот ген работает как ген - регулятор: в ответ на стресс он включает сотни других генов. В случае голода и действия других неблагоприятных факторов *rpoS* включает гены, которые помогают ввести *E. coli* в стационарную фазу. Если какая-нибудь мутация заблокирует *rpoS*, то метаболизм бактерии не будет остановлен; вместо этого *E. coli* начнет питаться и расти.

Подобно многим другим генам, *rpoS* играет в жизни *E. coli* не одну, а множество ролей. Когда бактерия попадает в человеческий желудок и чувствует, что оказалась в кислотной ванне, *rpoS* в ответ на этот стресс включает гены, помогающие противостоять кислоте. Обманщики не в состоянии выставить такую защиту, так что к моменту выхода из желудка они, скорее всего, будут уже мертвы. Получается, что обманщики, выигрывая на одном этапе, проигрывают, если рассмотреть жизненный цикл *E. coli*, в целом.

Даже биопленка *E. coli* - чудесное предприятие, построенное на сотрудничестве и самопожертвовании, - может оказаться вовсе не таким образцом альтруизма, каким кажется на первый взгляд. Два гарвардских биолога, Жуан Шавьер и Кевин Фостер, обнаружили свидетельства того, что стимулом к возникновению биопленки может послужить конфликт. Шавьер и Фостер построили сложную математическую модель биопленки и попытались сравнить, какие бактерии окажутся успешнее: те, которые способны образовывать биопленку, выделяя полимеры (полисахариды, липополисахариды, гликопротеины) и формируя внеклеточный матрикс, или те, которые этого делать не могут. Шавьер и Фостер засеяли пустую питательную среду теми и другими бактериями и дали колониям разрастись.

Ученые выяснили, что поначалу бактерии, формирующие биопленку, проигрывают тем, которые на это не способны, потому что им приходится тратить энергию не только на рост. Но вскоре соотношение меняется. Размножаясь, бактерии поглощают весь окружающий кислород и уже не могут так быстро расти. А образующие биопленку бактерии не испытывают недостатка в кислороде, поскольку строят постоянно увеличивающийся холмик, на котором может расти их потомство. Концентрация кислорода вокруг них выше, поэтому растут они быстрее, а это позволяет им формировать еще более высокие холмы из биопленок. Под растущим холмом старые бактерии погибают, но их потомки - а значит, и их гены, - продолжают жить. Тем временем бактерии, не образующие внеклеточного матрикса, оказываются в ловушке растущей биопленки и ничего не могут сделать; конкуренты их попросту погребают в слизи. В некоторых отношениях биопленка напоминает не столько город, сколько лес, в котором деревья изо всех сил тянутся кверху, чтобы получить свою долю солнечного света и избежать густой тени соперников.

Конфликт и сотрудничество находятся в шатком равновесии всюду, где тесно соприкасается множество клеток, будь то бактериальные клетки *E. coli* или клетки нашего собственного организма. Мы с вами исходим от одноклеточных предков, которые, вероятно, сильно напоминали амёб. В какой-то момент они начали образовывать колонии, которые постепенно превратились в коллективы, составленные из множества особей, - в то, что мы называем животными. Они, как и прежде, общались между собой, но теперь поступающие сигналы заставляли их специализироваться, делиться на различные типы, формировать ткани и органы. Всякий раз при формировании нового животного большинству клеток его тела приходилось приносить последнюю, абсолютную эволюционную жертву. Они должны были стать частью тела животного и умереть вместе с ним. Только у сперматозоидов и яйцеклеток оставался малейший шанс передать свои гены потомству.

Надо сказать, что существовать в составе многоклеточного организма очень непросто. Чтобы правильно сформировать взрослый организм, большинство клеток должны сначала многократно делиться, а затем прекратить деление. Некоторые типы клеток не теряют способность к регенерации, но размножаться они должны только в той мере, в какой это необходимо для заживления раны или обновления слизистой оболочки кишечника. К несчастью, любая делящаяся клетка может мутировать, точно так же как делящаяся *E. coli*, и в некоторых случаях мутация превращает ее в бунтовщика. Такая клетка начинает неумеренно размножаться, игнорируя сигналы, которые приказывают ей остановиться. Она производит массу клеток - мятежников, и в этой массе возникают новые мутации - а значит, и еще более непокорные клетки. Эти клетки изобретают новые способы обойти защитные системы организма, обманом заставляют его подвести к себе новые кровеносные сосуды и безотказно снабжать кислородом и питательными веществами. Эти клетки становятся обманщиками - в точности как клетки - обманщики, умудряющиеся обернуть сотрудничество *E. coli* на пользу лично себе. Преуспевание таких клеток мы называем раком.

## Делайте ваши ставки

Когда голодающая колония *E. coli* получает порцию лактозы, каждый микроорганизм может принять лишь одно верное решение: начать производство бета - галактозидазы и расщепление с ее помощью лактозы. Одни бактерии делают правильный выбор, другие - нет. У неудачников гены, отвечающие за утилизацию лактозы, остаются заблокированными - и, соответственно, их может ожидать голодная смерть.

Все микроорганизмы в колонии генетически идентичны, и это означает, что одни и те же генетические структуры допускают оба решения. Но возникает вопрос: если естественный отбор всегда поддерживает гены, способные подхлестнуть размножение *E. coli*, то почему он допускает подобную неразбериху? Это сложный вопрос, и ученые только начинают всерьез его рассматривать и искать подходы к решению. Ответ, на котором они пока сошлись, таков: *E. coli* - расчетливый игрок.

Каждый игрок, приходя на ипподром, надеется сделать удачную ставку. Разумеется, чтобы выиграть, лучше всего было бы заглянуть в будущее и точно узнать, какая лошадь придет первой. Однако в реальном мире игроки могут лишь отсеять явных аутсайдеров и ограничить свой выбор несколькими сильными лошадьми. Но даже в этом случае риск потерять деньги достаточно велик. Некоторые игроки стараются уберечься от серьезных потерь при помощи "страхования" ставок, или хеджирования. Они ставят на несколько лошадей одновременно. Если победит хотя бы одна из этих лошадей, игрок останется в выигрыше. Конечно, денег он получит меньше, чем если бы поставил только на победителя, но остальные ставки в данном

случае выступают в качестве неплохой страховки. Если победит любая из сильных лошадей, на которую он ставил, игрок все же получит денег больше, чем потратит на ставки.

О хеджировании, или страховочных ставках, думают не только игроки. Математики и экономисты уже исследовали все мыслимые варианты подобных стратегий, многие из которых позаимствовали у них биржевые брокеры, банкиры и те, кому приходится принимать решения о поведении финансовых рынков при недостатке исходных данных. Брокер, покупая акции биотехнологической компании, может одновременно продать акции аналогичной компании, тогда прибыль он получит вне зависимости от того, как будет вести себя рынок. Теперь у биржевиков в свою очередь позаимствовали математический аппарат биологи - эволюционисты, которые пытаются с его помощью понять, почему клоны одной и той же *E. coli* действуют так по-разному.

Оказывается, игра *E. coli* заключается в выборе реакции на внешние обстоятельства в каждой конкретной ситуации. В некоторых случаях выбор очевиден, и все члены популяции ведут себя одинаково. Но в других ситуациях популяции выгоднее хеджировать свои ставки - иными словами, выгоднее, когда некоторые особи реагируют одним способом, а некоторые - другим.

На что поставит *E. coli*, зависит прежде всего от того, сколько и какую информацию ей удастся получить. В некоторых случаях надежной информации достаточно, и на ее основании можно выбрать верный курс. В подобных случаях имеет смысл идти ва-банк и ставить все деньги на фаворита. Но бывают ситуации, когда трудно определить в точности, как лучше всего действовать и какой путь в данном случае оптимален. Условия могут меняться быстро и непредсказуемо. В таких случаях *E. coli*, возможно, лучше подстраховаться и позволить отдельным особям реагировать на внешние условия по-разному.

Лактоза ставит *E. coli* как раз в такую ситуацию. Да, конечно, порция лактозы позволит бактериям выжить, когда других разновидностей сахара вокруг нет. Но чтобы использовать в качестве источника питания лактозу, *E. coli* должна избавиться от всех белков, которые прежде использовала для расщепления других сахаров, и начать производство белков, нужных для утилизации лактозы. На эту процедуру бактерии придется затратить массу энергии и времени. Возможно, усилия оправдаются, но могут оказаться и напрасными, если лактоза исчезнет так же быстро и внезапно, как появилась, или обнаружится другой, более энергонасыщенный сахар.

Для страхования рисков, то есть для разделения на любителей лактозы и тех, кто лактозу не расщепляет, *E. coli* использует неравномерность производства различных белков. Если колония получит порцию лактозы, любители этого продукта не замедлят воспользоваться моментом. Остальные, если и перейдут на питание лактозой, то сделают это гораздо медленнее. Если же лактоза так и не появится, то не способные утилизировать ее бактерии будут быстро расти, потому что не потратили энергию на ненужные приготовления. Так или иначе, но колония в целом обязательно выиграет.

Выясняется, что *E. coli* страхует многие ставки. Иногда мы из-за этого болеем. Некоторые штаммы *E. coli* инфицируют мочевой пузырь, где им необходимы нитевидные выросты - фимбрии для прикрепления к клеткам - хозяевам. Но фимбрии привлекают внимание иммунной системы. Чтобы уравновесить эти два требования, бактерии входят в режим случайного включения и выключения механизма формирования фимбрий. В результате в любой момент часть особей в колонии оказывается покрытой фимбриями, а часть остается гладкой.

Возможно, страхование рисков у *E. coli* играет важную роль и в механизме защиты от антибиотиков. Действие многих антибиотиков объясняется тем, что они разрушают белки, которые микроорганизмы используют для роста. Столкнувшись с популяцией чувствительных к нему бактерий, антибиотик очень быстро уничтожает их. По крайней мере большинство из них. Примерно 1 % особей *E. coli* в биопленке, как правило, выдерживает атаку антибиотиков на протяжении нескольких часов или дней. Оставшиеся в живых бактерии могут отстроить биопленку заново - и болезнь возобновится с прежней силой.

Устойчивое к действию антибиотиков меньшинство бактерий не несет никаких специальных генов, которые объясняли бы такую устойчивость. Генетически они совершенно идентичны своим погибшим от антибиотиков сородичам. Если выделить выжившие микроорганизмы и позволить им вновь размножиться и образовать большие колонии, а затем вновь подвергнуть их действию антибиотиков, картина будет та же самая: 99 % бактерий погибнет, а 1 % вновь уцелеет.

Так называемые резистентные бактерии были обнаружены в 1944 г., и шесть десятилетий после этого они оставались для ученых почти полной загадкой. Некоторые исследователи

предполагали, что из-за действия антибиотика отдельные микроорганизмы погружаются в загадочное состояние анабиоза, в котором они могут спокойно переждать опасность. В 2004 г. команда ученых под руководством Натальи Балабан из Еврейского университета в Иерусалиме проверила эту гипотезу, построив специальное устройство для наблюдения за резистентными клетками. Исследователи поместили *E. coli* в микроскопические канавки такой ширины, что бактерии могли уместиться там только в ряд по одному. При делении одной *E. coli* в такой канавке ее потомство выстраивалось в аккуратную линию. Балабан могла наблюдать, как удлиняются эти линии, и измерять скорость увеличения длины.

После смены нескольких поколений бактерий ученые заливали их сильнодействующим антибиотиком. Большинство *E. coli* при этом погибало, но резистентные клетки оставались в живых. Балабан и ее коллеги обнаружили, что такие клетки размножаются куда медленнее нормальных, хотя полностью размножение не прекращается. Вернувшись к более ранним измерениям, ученые выяснили, что эти бактерии стали резистентными и снизили скорость размножения *до того*, как были подвергнуты действию антибиотиков.

Балабан сделала вывод о том, что любая *E. coli* в любой момент с небольшой вероятностью может превратиться в резистентную бактерию. Если такое происходит, то вернуться к нормальному быстрорастущему состоянию шансов у нее немного. Все бактерии, которых исследовала Балабан, - и резистентные, и быстрорастущие - были генетически идентичны; это означало, что источник резистентности - не мутации. Тем не менее организмы, рожденные из резистентных путем деления, тоже оказывались резистентными, будто резистентность передавалась по наследству.

Вообще, резистентные бактерии рождаются из-за "случайного шума" в работе генов. Такова точка зрения Кима Льюиса, ведущего эксперта по резистентности в Северо-Восточном университете. Льюис с коллегами обнаружил способ сравнения белков, производимых резистентными бактериями, с теми, которые синтезируют нормальные клетки *E. coli*. Одно из основных различий между ними - то, что резистентные клетки производят много токсинов. Долгое время эти токсины ставили ученых в тупик: ведь они блокируют другие белки *E. coli* и не дают им делать обычную работу. Большинству бактерий токсины не причиняют никакого вреда, потому что *E. coli* одновременно с ними производит и противоядия к ним - антитоксины, которые связывают молекулы токсинов прежде, чем те успевают вмешаться в процессы метаболизма микроорганизма.

Именно эти токсины, утверждает Льюис, превращают обычные *E. coli* в резистентные. В норме *E. coli* непрерывно выпускает тоненькую струйку токсинов и одновременно точно такую же тоненькую струйку антитоксинов. Но работа генов подвержена случайным колебаниям, поэтому иногда микроорганизм "взбрыкивает", и производство токсинов в нем внезапно возрастает многократно. Небольшое количество антитоксинов, которые *E. coli* продолжает производить, уже не может нейтрализовать все молекулы токсина, и они, как им и положено, без помех нападают на белки. Они не причиняют бактерии никакого необратимого вреда, но ее размножение практически останавливается. После всплеска концентрация свободных токсинов в клетке *E. coli* постепенно снижается, потому что бактерия начинает производить больше антитоксинов. Как только нужные белки освободятся, микроорганизм возвращается в нормальное состояние.

"Случайный шум" в работе генетического аппарата, в данном случае исполняет роль игральных костей; в каждый отдельно взятый момент несколько случайно выбранных бактерий из общего числа полностью прекращают рост. Вообще-то микроорганизму невыгодно попадать в такую ситуацию, потому что за время всплеска производства токсинов он успевает серьезно отстать от прочих, быстроразмножающихся *E. coli*. Зато существует небольшой, но вполне реальный шанс оказаться в выигрыше - ведь именно в тот момент, когда данный микроорганизм будет находиться в резистентном состоянии, на колонию может обрушиться катастрофа. Это может быть лекарство - антибиотик или природный яд, выпущенный другим микроорганизмом. В обоих случаях резистентная бактерия оказывается в выигрыше. Для популяции в целом не имеет значения, какая именно особь выживет, - важно лишь, чтобы их общие гены продолжали передаваться новым поколениям.

## Самоубийство со злым умыслом

Резистентные клетки приносят своим товарищам немалую жертву - они отказываются от шанса быстро размножиться. Но когда *E. coli* производит колицины - химическое оружие для уничтожения бактерий соперничающих штаммов, они приносят значительно большую жертву. Ради процветания родичей они накачивают себя ядом и лопаются.

Химическая война в жизни *E. coli* - это оборотная сторона альтруизма. Первоначально Уильям Гамильтон утверждал, что естественный отбор способен подхватить и закрепить жертву одной особи ради того, чтобы ее родственники могли лучше размножаться. В 1970 г. Гамильтон признал, что естественный отбор способен также благоприятствовать жертвенному поведению особи ради того, чтобы пострадали чужаки; этот неприятный вид альтруизма Гамильтон назвал злым умыслом. Он всегда утверждал, что подобное явление - редкость и оказывает незначительное влияние, поскольку из его уравнений следовало, что злой умысел подхватывается естественным отбором только в очень маленьких популяциях. Однако в 2004 г. Энди Гарднер и Стюарт Уэст из Эдинбургского университета продемонстрировали, что, если неродственные особи яростно конкурируют со своими непосредственными соседями, эта местная конкуренция создает такие же условия для эволюции, какие существуют в маленьких популяциях.

Так, образ жизни *E. coli* способствует эволюции злоумышленников. Бактерии живут в тесном, перенаселенном пространстве кишечника и конкурируют между собой за один и тот же ограниченный ресурс сахаров. Отдельный микроорганизм приносит в жертву собственное репродуктивное будущее и становится бомбистом-самоубийцей, но его колицины уничтожают множество конкурентов, что обеспечивает благополучие его собственным близким родичам. Производителем колицина с равной вероятностью может стать любая бактерия. То, какие именно особи в ответ на голодание включают ответственные за производство колицина гены, определяется, как и в случае с резистентностью, случайными помехами, которым подвержен процесс производства белков. Иначе говоря, груз ответственности ложится на весь коллектив.

Злой умысел, как позволяют предположить сейчас некоторые эксперименты, может подтолкнуть *E. coli* к большему разнообразию. Биологу из Массачусетского университета в Амхерсте Маргарет Райли и ее коллегам удалось пронаблюдать ход этой гонки вооружений в экспериментах на *E. coli* - как в чашках Петри, так и в кишечнике лабораторной мыши. Иногда - достаточно редко - ген, кодирующий синтез противоядия, мутирует и начинает производить более мощный антитоксин. В этом случае он помимо защиты *E. coli* от собственного колицина начинает защищать ее и от "чужих" колицинов, произведенных бактериями других штаммов. Такая мутация, естественно, дает бактерии серьезное эволюционное преимущество - ведь теперь она может выдержать атаки неприятеля, убивающие других представителей того же штамма.

Мощное противоядие открывает дорогу еще в одном направлении. Вторая мутация, на этот раз в кодирующем колицин гене, изменяет формулу колицина. От мутантного токсина начинают гибнуть родичи бактерии, по-прежнему обладающие противоядием лишь от прежнего колицина. Но сам микроорганизм, синтезирующий новый колицин, выживает благодаря своему мощному противоядию. Так носители нового колицина и противоядия поголовно уничтожают своих родичей. Злой умысел действует уже не только на чужих, но и на своих.

Появление новых колицинов стимулирует появление у других штаммов новых противоядий. Точно так же новые противоядия стимулируют появление новых колицинов. Но за все это вооружение *E. coli* приходится платить немалую цену. На производство колицинов и противоядий - а их молекулы достаточно велики для бактерий - приходится тратить дополнительную энергию. Новый колицин может оказаться еще более смертоносным, чем его предшественник, но в то же время бактерия может потратить на его производство все силы. Если некая мутация лишает бактерию возможности производить колицины - но оставляет возможность им сопротивляться, - то избавленный от этой нагрузки микроорганизм сможет направить дополнительную энергию на продолжение рода. Такой безколициновый штамм быстро распространится, победив в конкурентной борьбе производителей токсина.

Когда производители колицинов полностью вытесняются из популяции, вдруг выясняется, что их яды больше не представляют опасности для других бактерий. Производство противоядий становится напрасной тратой энергии: ведь токсинов рядом нет, и защита *E. coli* не нужна. В этом случае естественный отбор начинает благоприятствовать пацифистам - микроорганизмам, которые не производят ни колицинов, ни противоядий.

Но как только в популяции начинают преобладать пацифисты, у производителей колицинов появляется реальный шанс на вторжение: они легко могут уничтожить беззащитные штаммы и захватить пищу. Круг замыкается.

Подобные циклы возникают в ходе эволюции спонтанно. Их можно сравнить с играми, в которых игроки используют разные стратегии. В случае *E. coli* такой стратегией может быть производство какого-то конкретного колицина или, наоборот, жизнь вообще без ядов и противоядий. А например, у самца морского слона в число стратегий могут входить как

сражения с другими самцами за право спариться с самкой, так и амурные встречи украдкой, пока не видит местный доминантный самец. В некоторых случаях одна из стратегий может оказаться эффективнее остальных. Иногда две стратегии мирно сосуществуют. К примеру, самцы, готовые сражаться за самку, и самцы - тихони могут присутствовать у одного и того же вида. Бывает также, что эффективность различных стратегий со временем меняется.

Ученые иногда сравнивают такую циклическую эволюцию с известной игрой "Камень, ножницы, бумага". В этой игре каждый участник может показать один из трех символов: сжатый кулак - камень, указательный и средний палец - ножницы, раскрытая ладонь - бумага. Игрок выигрывает или проигрывает в зависимости от того, что сделает его противник. Камень может затупить ножницы, ножницы режут бумагу, а бумага оборачивает камень. Когда в популяции преобладает одна стратегия (скажем, "бумага"), естественный отбор подхватывает "ножницы". Но стоит "ножницам" взять верх и захватить лидерство, как естественный отбор начинает благоприятствовать "камню", затем вновь "бумаге" и далее по кругу.

К примеру, пятнистобочая игуана, обычный обитатель калифорнийского побережья, очень наглядно демонстрирует эволюционный процесс такого типа. Игуаны - самцы отличаются ярко окрашенным горлом, которое может быть оранжевым, желтым или голубым. Крупные оранжевогорлые самцы - большие забияки; каждый из них захватывает значительную территорию и заводит себе целый гарем из самок. Игуаны с голубым горлом обычно бывают среднего размера; они защищают небольшую территорию и заводят несколько самок, которых при этом тщательно охраняют. Мелкие желтогорлые самцы шныряют всюду в поисках партнерши, пользуясь тем, что внешне они напоминают самок. Каждый тип самцов может взять верх в конкуренции с одним из двух остальных типов, но проигрывает другому. Самцы с желтым горлом вполне способны перехитрить оранжевогорлых самцов - ведь их территории очень велики, за всем не уследишь. Против голубогорлых самцов, однако, такая стратегия не работает, потому что они всегда держатся поблизости от самок и при этом крупнее желтогорлых. Но самцы с голубым горлом проигрывают оранжевогорлым, поскольку сильно уступают им в размерах.

За шесть лет каждый тип самцов пятнистобочкой игуаны проходит полный популяционный цикл. Когда преобладают крупные оранжевогорлые самцы, естественный отбор благоприятствует мелким желтогорлым, которые тайком спариваются с их самками. Но как только желтогорлые самцы получают распространение, включается режим наибольшего благоприятствования для голубогорлых середнячков, которые вполне способны разогнать мелюзгу и наплодить множество детенышей. А со временем естественный отбор вновь начинает поддерживать крупных оранжевогорлых особей.

Ученые из Стэнфорда и Йеля в 2003 г. открыли описанную выше версию циклической эволюции у *E. coli*. Они высказали предположение, что такой вариант игры "Камень, ножницы, бумага" особенно распространен. Дело в том, что химическое оружие в живой природе используется очень часто, особенно среди организмов, которые слишком малы или слишком малоподвижны, чтобы применять оружие другого сорта. Деревья травят непрошенных гостей - насекомых, кораллы отпугивают тех, кто любит на них попасть, люди и другие животные производят антитела для борьбы с патогенными микроорганизмами. И гонка вооружений, то есть создание все новых ядов и способов защиты от них, и возникновение дополнительных факторов в игре способствуют расширению разнообразия. Ученым давно известно, что в кишечнике долгое время может господствовать один - единственный штамм *E. coli*, который затем без видимых внешних причин исчезает, уступая место другому, более редкому штамму. Вполне может оказаться, что подобные случаи объясняются не чем иным, как колициновыми войнами.

Возможно, *E. coli* способна спонтанно создать гармоничную пищевую сеть. Но когда речь идет о формировании пресловутого дарвиновского заросшего берега, война может оказаться не худшим инструментом, чем мир.

## Смерть приходит к каждому

Не так давно *E. coli* считалась бессмертной. Речь не шла о том, что бактерия как таковая неуязвима и не может умереть. Бактерии, разумеется, умирают, причем по самым разным причинам - любую из них может съесть хищное простейшее, она может погибнуть от отсутствия пищи в голодную пору или лопнуть, как наполненный водой воздушный шарик, из-за колицина, повреждающего ее мембрану. Но десятки лет непрерывных наблюдений за *E. coli* убедили ученых в том, что смерть - вовсе не неизбежность. В благоприятных условиях *E. coli* способна вечно оставаться молодой. В этом заключалось по крайней мере одно

фундаментальное отличие *E. coli* от человека. Человеческое тело стареет по достаточно жесткому расписанию. Чем дальше, тем больше вирусов и бактерий проникает в наше тело в обход иммунной системы, которая откровенно теряет бдительность. Мозг съезживается, кости становятся хрупкими, кожа обвисает.

Джорджа Уильямса вопрос о том, почему мы так верно и одинаково соскальзываем в старость и дальше к смерти, захватил с головой. Ему было так интересно, что он решил документально зафиксировать собственное старение. Начиная с 52 лет, раз в год он приходил на стадион рядом с домом на Лонг - Айленде и проверял, за какое время он может пробежать 1700 м. Иногда ему удавалось сделать это чуть быстрее, чем в прошлом году, но в среднем за 12 лет его результаты заметно снизились. Почему, задавал себе вопрос Уильямс, спад происходит так неуклонно? Если смерть неизбежна, то почему нельзя оставаться молодым и сильным до самого конца? Почему конец этот не может быть внезапным? А если уж стареть обязательно, то почему процесс этот подчиняется именно таким закономерностям и следует именно такой кривой? Почему он не бегал так же медленно в двадцать, как в пятьдесят?

В конце концов, в природе Уильямс видел множество примеров обратного. Некоторые двустворчатые моллюски могут жить до 400 лет. На другом конце шкалы находится лосось, который в расцвете сил возвращается к месту своего рождения, находит себе пару, заводит потомство - затем стареет с катастрофической скоростью и умирает. За несколько недель лосось стареет сильнее, чем человек за несколько десятилетий.

В 1950-е гг., будучи студентом - старшекурсником, Уильямс слышал объяснения преподавателей о том, что смерть благотворна для вида. Старые должны уступать дорогу молодым, иначе вид вымрет. Уильямсу еще тогда казалось, что это полная чепуха. Вместо этого он пытался понять, как естественный отбор на индивидуальном уровне может благоприятствовать старению. Уильямс утверждал, что старость может быть побочным эффектом действия тех генов, которые в юности обеспечивают организму преимущества. До тех пор пока преимущества этих генов перевешивают наносимый ими вред, естественный отбор будет способствовать их распространению. По иронии судьбы рак, снижение зрения, слабость и другие старческие болезни тоже могут быть результатом естественного отбора.

Уильямс утверждал, что любой организм в течение жизни не раз оказывается перед эволюционным выбором: к примеру, сколько энергии затратить на взросление и созревание, прежде чем обрести способность завести детей, или сколько вложить в воспитание отпрысков, прежде чем заняться поисками нового партнера. По идее, естественный отбор должен достичь какого-то баланса интересов. Уильямс высказал предположение, что животные могут отслеживать изменение этих факторов на протяжении своей жизни и соответственно изменять свое поведение, подобно тому как инвестор решает, какие акции сохранить, а какие продать.

За последние 40 лет теория Уильямса развилась в настоящую науку о старении, причем науку экспериментальную. Сегодня ученые могут определить, какие виды стареют и почему. В 2005 г. ученые решили для примера (одного из сотен) исследовать нерку, которая ежегодно возвращается метать икру в речку Пик - Крик на Аляске. Эта лососевая рыба каждый год приплывает в родные края в июле и августе. После спаривания самка нерки сразу же выбирает место для откладывания икры и роет в галечном дне ямку для гнезда. Отложив в ямку икру, она прикрывает ее сверху и охраняет кладку от других самок, которые могли бы позариться на готовое гнездо и захватить его для собственных икринок.

Лосось из Пик - Крик напрямую сталкивается именно с тем выбором, о котором говорил Уильямс. Покидая океан, чтобы подняться по реке вверх к местам икрометания, рыбы полностью прекращают питаться. В результате имеющееся у них на тот момент ограниченное количество энергии они должны оптимально распределить и потратить на необходимые вещи, которые им предстоит сделать перед смертью. Самкам какое-то количество энергии придется пустить на развитие репродуктивной системы - ведь необходимо будет сформировать и отложить икру. Часть энергии уйдет на поддержание тела, чтобы можно было прожить достаточно долго и успеть защитить свою кладку от других лососей. Конец известен: кончится энергия, кончится и жизнь.

Исходя из эволюционной логики, ученые предсказали, что лососи, пришедшие в Пик - Крик в начале сезона, проживут дольше, чем те, кто придет позже. Самке, которая успеет отметать икру в июле, придется несколько недель сражаться за то, чтобы отложенные икринки остались целы и невредимы. Если такая рыба вложит всю энергию в икринки и погибнет рано, другие лососи захватят приготовленное ей гнездо, и ее генов не будет в следующем поколении лососей. С другой стороны, если приплывшая позже вложит всю энергию в долгую жизнь, такая трата окажется напрасной - рыба останется жить, когда остальные погибнут и

охранять кладку будет не от кого. Иными словами, опаздывающим следует вкладывать энергию в производство дополнительных икринок, а долгая жизнь им ни к чему.

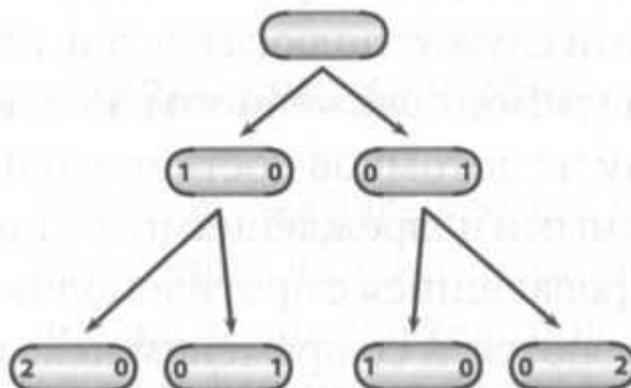
Когда исследователи сравнили продолжительность жизни лососей, прибывших в районы нереста в разное время, их предсказания вполне оправдались. Те, кто приплыл раньше, прожили в речке в среднем по 26 дней, тогда как припоздавшие - всего по двенадцать. Первые разделили энергию между икринками и собственным телом примерно поровну, а последние потратили на формирование икринок - яиц примерно вдвое больше энергии, чем на поддержание жизни собственного тела.

Предсказания Уильямса работают не только для лососей, но и для плодовых мушек, уксусных нематод, рыбок гуппи, лебедей, людей и многих других видов живых существ. Однако до недавнего времени специалисты по старению считали, что к *E. coli* все вышесказанное не относится. Казалось, что для нее выбора между долгой жизнью и продолжением рода попросту не существует. У *E. coli* нет детей и родителей. Отдельная *E. coli* просто копирует собственную ДНК и делится надвое; возникает две новые особи. Родитель превращается в собственных потомков. Голод может замедлить деление бактерии, а химическое оружие или другие поражающие факторы - попросту убить. Но, если бактерию оставить в покое и снабжать достаточным количеством пищи, она будет размножаться до бесконечности, и каждый новый микроб будет таким же здоровым, как его предки.

По крайней мере так думали ученые, пока Эрик Стюарт - микробиолог, работающий в настоящее время в Северо - Восточном университете, не решил повнимательнее присмотреться к давно знакомой *E. coli*. Вместе с коллегами он соорудил что-то вроде рая для *E. coli* - какой мог бы появиться в воспаленном воображении какой - ни - будь бактерии. Ученые поместили одиночный микроорганизм на покрытую агаром пластинку, прикрыли ее сверху стеклом и запечатали боковые швы силиконовым герметиком. Выбранная для эксперимента бактерия была носителем светоизлучающего гена, что делало наблюдение за ней через верхнее стекло простым и удобным. Пластинку установили под микроскопом, а весь аппарат поместили в бокс с температурой, соответствующей температуре кишечника здорового человека.

Счастливая *E. coli* питалась и делилась. Ее потомки распределились по пластинке слоем толщиной в одну бактерию. Через определенные временные интервалы камера, установленная на микроскопе, автоматически делала снимок светящейся колонии. Сравнивая последовательные изображения, Стюарт мог проследить судьбу любой веточки подопытной династии *E. coli*. Он мог определить, сколько времени потребовалось на деление каждой бактерии, а затем двум ее отпрыскам, а затем четырем внукам... Считая, что все бактерии генетически одинаковы и живут в одинаковых идеальных для роста условиях, можно было бы предположить, что и расти они будут с одинаковой скоростью. Однако экспериментальные данные этого не подтвердили. Некоторые особи росли заметно медленнее своих "братьев", а со временем их потомки все сильнее отставали в росте.

Некоторые бактерии, как обнаружил Стюарт, старели. Каждый раз при делении *E. coli* выстраивает себе кольцо на талии, и это кольцо постепенно стягивается и делит клетку пополам. Одновременно она производит две новые крышечки, назначение которых - прикрыть концы дочерних клеток. Те при делении тоже образуют новые крышечки. Через несколько поколений у одних бактерий оказываются старые кончики, а у других - новые. Числа на диаграмме показывают, сколько поколений назад была создана соответствующая крышечка.



Стюарт обнаружил, что, чем старее крышечки на бактерии, тем медленнее она растет. Он смог проследить за жизнью своих бактерий на протяжении всего лишь семи поколений, но, согласно его оценке, деление стареющих *E. coli* замедляется достаточно быстро, а через сто поколений вообще прекращается.

Для объяснения полученных данных вновь может пригодиться волшебное кольцо Уильямса - Гамильтона. Должно быть, старение дает *E. coli* какие-то эволюционные преимущества по сравнению с бессмертием. Возможно, все дело в том неизбежном ущербе, который со временем терпит любая бактерия. Белки изменяют форму, гены мутируют. При делении бактерия может либо передать все поврежденные белки и гены одному из потомков, либо поделить их на двоих. От поколения к поколению изменения накапливаются и ложатся на "плечи" новых бактерий тяжким грузом. Разумеется, *E. coli* способна исправить повреждения - и, кстати говоря, многое исправляет. Ремонтные работы, однако, тоже имеют свою цену. Бактерии приходится тратить на это много энергии и питательных веществ. Но если она потратит все ресурсы на ремонт, то непременно проиграет в конкурентной борьбе какой-нибудь другой, менее обремененной губительным наследием особи.

Существует и другой способ бороться с накоплением дефектов - их всех можно сбросить в одно место. У *E. coli* такими свалками служат полюса клетки. Бактерия почти не тратит сил на ремонт сложенного на полюсах, и при делении каждому из потомков достается один старый полюс с накопленными повреждениями и один новый, только что сформировавшийся с противоположной стороны. Поколения меняются, и со временем некоторые полюса становятся очень старыми и, как полагают ученые, накапливают в себе множество поврежденных белков. *E. coli*, утверждает Стюарт, вместо того чтобы стремиться к совершенству, делает из своих полюсов настоящие свалки. Весь этот мусор достается одному из ее потомков, зато другой рождается свободным от груза прошлого и может спокойно размножаться.

Так исчезло то, что прежде казалось серьезным нарушением правила Жака Моно. Мы вновь видим у *E. coli* такую же стратегию, какую используем сами. Когда из оплодотворенной человеческой яйцеклетки начинает развиваться зародыш, в нем очень скоро выделяются два типа клеток: клетки, которые в принципе способны дать начало новому человеку (яйцеклетки и сперматозоиды), и все остальные. Мы тратим огромное количество энергии на защиту яйцеклеток и сперматозоидов от разрушительного действия времени и гораздо меньше на защиту остальных клеток нашего тела. Этот бессознательный выбор позволяет нашим отпрыскам продолжать жить после нашей смерти. И человек, и *E. coli* за привилегию прожить жизнь должны расплатиться смертью.

## Глава 7. Дарвин в аптеке

### Жизнь против жизни

Бактерии, живущие в чашке на моем столе, оказались далеко от родного дома. Их предки покинули тело больного дифтерией калифорнийца 85 лет назад и никогда уже не возвращались в традиционное место обитания - человеческий кишечник. Их перенесли как бы в другое измерение - в мир колб и холодильников, центрифуг и рентгеновский лучей. Эти лабораторные существа наслаждались странным комфортом, пировали, насыщались аминокислотами и сахаром - и эволюционировали на протяжении тысяч поколений. Они научились быстро размножаться и потеряли способность длительное время жить в человеческом кишечнике. Бактериям удается избежать вымирания только потому, что они так дороги биологам, которые теперь заботливо переносят их из колбы в холодильник, а из холодильника в инкубатор.

Дикие родичи наших лабораторных любимцев все эти 85 лет жили своей жизнью. Они продолжали колонизацию кишечника и тоже эволюционировали. Бактерии, населяющие наши внутренности сегодня, не идентичны тем, что обитали в человеческом кишечнике в 1920 г. И причина значительной части происшедших с кишечной палочкой изменений - мы сами.

Самый очевидный способ, при помощи которого мы заставили *E. coli* измениться, заключается в том, что мы стали бороться с инфекциями при помощи лекарств. *E. coli*, как и другие бактерии, отозвалась на наши лекарства стремительным, почти взрывным развитием. Сегодня кишечная палочка способна сопротивляться лекарствам, которые в прежние времена без труда расправились бы с ней. Ученым приходится затрачивать кучу усилий в поисках новых лекарств взамен тех, что перестали действовать, и нет никаких оснований ожидать, что у *E. coli* и у других бактерий не появится резистентность и к ним.

Пока ученые наблюдают, как *E. coli* эволюционирует в лабораторных условиях, человечество в целом наблюдает за ходом грандиозного незапланированного эксперимента по эволюции *E. coli*, охватившего всю планету. Подобно лабораторным экспериментам,

появление любого резистентного штамма *E. coli* снабжает нас новой информацией о механизмах эволюции. Резистентность может развиваться обычным путем - через случайные мутации и естественный отбор. Но в некоторых отношениях *E. coli* не укладывается в традиционную схему. Ряд исследователей считает, что ход эволюции *E. coli* свидетельствует о том, что в зависимости от внешних условий микроорганизм может изменять направленность своих мутаций. И если теория Дарвина основана на представлении о том, что любые организмы наследуют свойства от своих непосредственных предков, то *E. coli* позаимствовала значительную часть резистентности к антибиотикам у других видов бактерий. Похоже, что бактерии способны запросто обмениваться генами, как визитными карточками. Значение этих открытий не ограничивается тем, что, изучая их, мы попытаемся понять, как бороться с резистентными патогенными микроорганизмами. Не исключено, что именно эти силы формировали жизнь на Земле на протяжении последних 4 млрд лет.

Эпоха антибиотиков началась внезапно, но перед ней была разыграна долгая медленная прелюдия. Традиционные целители давно знали, что плесень способна залечивать раны. В 1877 г. Луи Пастер обнаружил, что можно остановить распространение возбудителя сибирской язвы посредством введения "обычных бактерий". Никто не знал, что именно делают обычные бактерии с бактериями сибирской язвы и каким образом умудряются остановить их распространение, но название было дано: "антибиоз" - антагонистические отношения видов, при которых один организм негативно влияет на другой (или оба негативно влияют друг на друга).

В 1928 г. шотландский бактериолог Александер Флеминг открыл вещество, способное убивать бактерии. Как-то раз он обнаружил, что одна из чашек Петри в его лаборатории заражена плесенью. Флеминг обратил внимание на один любопытный факт: вблизи плесени бактерий не было. Он провел кое-какие эксперименты и выяснил, что плесень, хотя и способна остановить распространение бактерий, не действует на человеческие клетки. Флеминг выделил синтезируемый плесневыми грибами антибиотик и назвал его пенициллином.

Поначалу пенициллин не произвел на медиков особенного впечатления - да и действительно выглядел как лекарство не слишком многообещающее. С одной стороны, Флеминг мог извлекать его из плесени лишь в крохотных количествах. С другой - вещество оказалось довольно неустойчивым и не могло долго храниться. Понадобилось десять лет, чтобы пенициллин проявил все свои возможности. Говард Флори и Эрнст Чейн из Оксфордского университета придумали, как заставить грибок производить больше пеницилина, и получили его в достаточном для испытаний на мышах количестве. Они заразили мышей стрептококком и ввели некоторым из них пенициллин. Все мыши, которым были сделаны инъекции, выжили, остальные погибли. В 1941 г. Флори и Чейн убедили американские фармацевтические компании принять на вооружение их технологию получения пеницилина и начать его производство в промышленном масштабе. Всего через три года, в 1944 г., раненых солдат союзных войск лечили от инфекций, которые лишь годом раньше наверняка убили бы их. Следующие несколько лет были отмечены появлением множества других антибиотиков, в основном выделенных из грибов и бактерий.

Ученые выяснили, что антибиотики убивают бактерии по-разному. Некоторые действуют на ферменты, участвующие в репликации ДНК. Другие, такие как пенициллин, мешают строительству муреинового мешка, из которого формируется оболочка *E. coli* и других бактерий. Прорехи в мешке приводят к тому, что содержимое микроорганизма, находящееся под высоким давлением, вырывается наружу, и тот лопается. Разумеется, количество антибиотиков, выделяемых разными живыми организмами, ничтожно, но фармацевтические компании начали производить их в невероятных объемах. Они либо выращивали грибы и бактерии в огромных биореакторах, либо синтезировали лекарственные препараты искусственным путем. Чтобы произвести антибиотик, содержащийся в одной-единственной таблетке, потребовалась бы работа миллиардов микроорганизмов. В такой концентрированной форме антибиотики оказывали поразительное действие на болезнетворные бактерии. Они не просто ослабляли инфекции. Они помогали полностью от них избавиться, причем почти без клинически значимых побочных эффектов. Казалось, что война против инфекционных болезней внезапно превратилась в увеселительную прогулку.

Но даже в те дни, счастливые дни первых побед, видны были признаки будущих проблем. В какой-то момент Флори и Чейн обнаружили, что их плесневые культуры подверглись вторжению *E. coli*. Эти бактерии сумели выжить в пенициллиновом бульоне, потому что обзавелись ферментом, способным разрезать молекулу антибиотика на беспомощные фрагменты.

С началом широкого применения пенициллина микробиологи получили возможность наблюдать, как мутирует *E. coli*. В 1943 г. Дельбрюк и Лурия показали, что именно мутации спонтанно делают *E. coli* устойчивой к вирусам. В 1948 г. генетик югославского происхождения Милислав Демерец показал, что с антибиотиками происходит то же самое. Он разводил резистентные штаммы *E. coli* и патогенного микроорганизма *Staphylococcus aureus*. Оба вида по мере накопления мутаций становились все более резистентными. В том же году, когда Демерец опубликовал свои результаты, врачи сообщили, что при стафилококковой инфекции пенициллин уже не всегда помогает.

Эти тревожные открытия никак не повлияли на распространение антибиотиков, которые применялись все шире и шире. Сегодня человечество потребляет более 10 000 т антибиотиков в год. По некоторым оценкам, до 1/3 рецептов на антибиотики выписывается необоснованно - реально они не нужны. Так, врачи часто прописывают антибиотики при вирусных инфекциях, хотя в этом случае они попросту бессильны. Фермеры, стремясь увеличить привесы, кормят антибиотиками скот. Но стоимость антибиотиков зачастую выше, чем получаемая от продажи этого мяса прибыль.

Развивались антибиотики, развивалась и резистентность к ним. Многие лекарственные препараты, бывшие когда-то смертельно опасными для бактерий, сегодня бесполезны. История *E. coli* вполне типична. Ее резистентные штаммы впервые были зарегистрированы в 1950-е гг. Поначалу лишь небольшая часть *E. coli* могла противостоять действию какого-то конкретного антибиотика, но с течением времени резистентные бактерии попадались все чаще. Еще несколько лет - и уже большинство бактерий могло без труда противостоять действию этого лекарства. По мере того как одно лекарство переставало помогать, врачи меняли его на другое, более сильное, с более неприятными побочными эффектами, или на недавно открытый препарат. А еще через несколько лет и это лекарство начинало отказывать. Вскоре появились штаммы *E. coli*, способные противостоять сразу многим антибиотикам.

У *E. coli* много способов борьбы с антибиотиками. Так, Флори и Чейн обнаружили, что в ее арсенале имеются секретные ферменты, способные резать пенициллин на безвредные фрагменты. В других случаях белковые молекулы *E. coli* изменяют форму, так что антибиотикам становится трудно связываться с ними. Бывает и так, что *E. coli* при помощи особых насосов избавляется от антибиотиков, выбрасывает их из себя. Для каждого волшебного снаряда, который наука припасла для *E. coli*, бактерия придумала не менее волшебную броню.

## Лягушачья кожа

*E. coli* приобрела резистентность к антибиотикам практически полностью в "дикой природе", вне поля зрения ученых. Это происходило не в лабораторных колбах, где исследователи могут отслеживать каждую мутацию от поколения к поколению. Ее колбой был весь огромный мир.

Данных, которые ученым удалось собрать, достаточно, чтобы восстановить по крайней мере часть этой истории. Гены, которые сегодня обеспечивают *E. coli* резистентность к антибиотикам, вовсе не появились из ниоткуда в 1950-е гг. Они происходят от генов, у которых прежде были другие функции. Некоторые из насосов, предназначенных для удаления молекул антибиотика из *E. coli*, вероятно, развились из насосов, при помощи которых бактерии прежде выпускали наружу сигнальные молекулы. Другие насосы ранее выводили соли желчных кислот, с которыми *E. coli* встречается в человеческом кишечнике.

Когда бактерии впервые столкнулись с антибиотиками, их насосы, вероятно, плохо справлялись с задачей выведения этих новых странных молекул. Но иногда - очень редко, конечно - гены, отвечающие за строительство насосов, мутировали. Мутантная бактерия была способна выкачивать антибиотики чуть быстрее, чем остальные. До появления современной медицины такие мутанты, по существу, не имели никаких репродуктивных преимуществ по сравнению с остальными особями. Более того, эти мутации могли быть попросту вредными для их носителя. Но как только столкновения бактерий с антибиотиками стали регулярными, мутанты получили неоспоримое эволюционное преимущество.

Поначалу это преимущество было крохотным. После дозы антибиотика могли уцелеть лишь несколько резистентных особей - но это все же лучше, чем полная гибель. Со временем в популяциях *E. coli* такие мутанты стали встречаться чаще. Их потомки подвергались новым мутациям и становились еще более резистентными. В 1986 г. ученые обнаружили штаммы *E. coli*, синтезирующие фермент, способный разрушать молекулы целой группы антибиотиков - аминогликозидов. В 2003 г. другая группа ученых обнаружила *E. coli* с новым вариантом того

же гена. Две новые мутации гена обеспечили его носителю резистентность не только к аминогликозидам, но и к совершенно другому антибиотику - ципрофлоксацину.

Даже в организме одного и того же человека *E. coli* может эволюционировать, принимая опасные формы. В августе 1990 г. в больницу Атланты поступила 19-месячная девочка с лихорадкой. Врачи выяснили, что ее кровь заражена *E. coli*, которая проникла туда, вероятно, через изъязвление в желудочно - кишечном тракте. Анализы выявили, что бактерия уже устойчива к двум распространенным антибиотикам - ампициллину и цефалоспоринолу. Врачи начали давать маленькой пациентке другие антибиотики, все более мощные, но лечение не помогало: антибиотики не только не уничтожали *E. coli*, но, казалось, делали ее сильнее. Бактерия обзаводилась все новыми генами резистентности, а те, что у нее уже были, продолжали развиваться. После пяти месяцев борьбы за жизнь и десяти различных антибиотиков ребенок умер.

Ужасные неудачи, подобные описанной, заставляют ученых мечтать о создании новых антибиотиков, перед которыми эволюция резистентности окажется бессильна. Подобно Флемингу, они находят многообещающих кандидатов на эту роль в самых неожиданных местах. Одна особенно перспективная с этой точки зрения группа химических веществ была обнаружена в 1987 г. в коже лягушки.

Научный сотрудник Национального института здоровья США Майкл Заслофф обратил внимание на то, что лягушки, изучением которых он в то время занимался, удивительно устойчивы к инфекции. Вообще-то на материале лягушачьей икры Заслофф пытался разобраться, каким образом в клетках происходит передача генетической информации от гена к белку. Он вскрывал африканских шпорцевых лягушек, извлекал икру, а затем вновь зашивал. Иногда вода в аквариуме успевала помутнеть и испортиться, но лягушки - даже со свежими ранами - ничем не заражались.

Заслофф предположил, что лягушки выделяют какой-то антибиотик. Он несколько месяцев возился с лягушачьими шкурками, размалывал их и так, и этак, прежде чем сумел выделить необычное вещество, уничтожающее бактерии. Вещество оказалось короткой цепочкой аминокислот - так называемым пептидом. Вместе с другими исследователями Заслофф обнаружил, что работает это вещество на фундаментально иных принципах, чем все известные на тот момент антибиотики. Его молекула обладает отрицательным зарядом, что позволяет ей притягиваться к положительно заряженной мембране бактерии, но не к клеткам эукариот, в том числе человеческих. Вступив в контакт с бактерией, пептид проделывал в ее мембране отверстие, выпуская внутреннее содержимое микроорганизма наружу.

Заслофф понял, что наткнулся на огромную природную аптеку. Оказалось, что антимикробные пептиды синтезируются многими животными - от насекомых до акул и человека, и каждый вид может производить множество типов этих соединений. У нас, к примеру, антимикробные пептиды можно обнаружить на коже, а также на слизистой оболочке кишечника и легких. Стоит потерять способность к их производству, и человек становится опасно уязвимым. Такое заболевание, как муковисцидоз, возможно, возникает отчасти из-за мутаций, которые отключают гены, отвечающие за производство антимикробных пептидов в легких. В результате бактерии в легких активно размножаются, и там накапливается вязкая жидкость.

Открыв антимикробные пептиды, Заслофф попытался превратить их в новые лекарственные средства. Такие лекарства могли бы помочь в борьбе с бактериями, развившими резистентность к традиционным антибиотикам. Мало того, могло оказаться, что к антимикробным пептидам невозможно приобрести резистентность: ведь для того, чтобы приобрести к ним устойчивость, бактерии должны были бы изменить способ построения внешней мембраны. Трудно было представить, как бактерии смогут осуществить столь фундаментальное изменение. Эксперименты тоже вроде бы подтверждали эти предположения. Ученые исследовали ряд мутантных штаммов *E. coli*, чтобы выяснить, не появятся ли бактерии, способные выдержать дозу антимикробных пептидов. Но этого не произошло.

Однако биолог - эволюционист Грэм Белл из Университета Макгилла в Монреале подозревал, что эволюционный потенциал *E. coli* может оказаться куда более мощным, чем считали ученые. Майкл Заслофф, к примеру, был с ним не согласен. Но, как всякий хороший ученый, он готов был подвергнуть свою гипотезу экспериментальной проверке. Он объединился с Беллом и его студентом Габриэлем Перроном, чтобы провести эксперимент. Что характерно, гипотеза не подтвердилась.

Исследователи начали с того, что подвергли *E. coli* действию антимикробного пептида очень низкой концентрации. Несколько микробов сумели уцелеть, и на их основе ученые

получили новую колонию. Затем эту колонию подвергли действию того же пептида чуть более высокой концентрации. Опять же, большинство бактерий погибло, и все повторилось заново: концентрация антимикробного пептида была еще чуть - чуть повышена. *E. coli* продемонстрировала замечательную способность к эволюции. После всего лишь 600 поколений 30 из 32 колоний добились невозможного: развили у себя резистентность к полной дозе антимикробного пептида. Эти результаты породили серьезные опасения по поводу того, насколько эффективными могут оказаться антимикробные пептиды после появления на рынке. *E. coli* и другие бактерии, столкнувшиеся с низкими дозами антимикробных пептидов, получают возможность развить устойчивость к ним. Если это произойдет, они будут выдерживать все более и более высокие дозы, пока не станут полностью резистентными к этим лекарственным средствам.

Но если *E. coli* способна так быстро развить резистентность к антимикробным пептидам, то почему же они так эффективно защищали грязных лягушек Заслоффа? *E. coli*, как и другие бактерии, неразрывно связана в эволюционной гонке с животными, в которых она обычно обитает. Когда такое животное вырабатывает у себя новый антимикробный пептид, естественный отбор начинает благоприятствовать тем бактериям, которые смогут против него выстоять. Одна из распространенных стратегий бактерии - научиться производить фермент, способный разрезать новый пептид на кусочки прежде, чем тот успеет нанести вред.

После этого естественный отбор вновь начинает действовать на животное. Спасением от инфекций могут оказаться мутации, которые позволят животному блокировать новый фермент микроба. Эти мутации животное передаст своим потомкам. Животные защищаются от разрезающих пептиды ферментов тем, что делают пептиды более прочными. Их молекулы складываются в несколько раз и скрепляются дополнительными связями. Но бактерии изобрели контрстратегии и на этот случай. Некоторые виды выделяют белки, которые связывают антимикробные пептиды и не дают им внедриться в мембрану бактерии.

Для животного один из самых надежных способов преодолеть все эти стратегии состоит в том, чтобы производить множество различных видов антимикробных пептидов. Новые пептиды могут появиться в результате дубликации генов или в результате заимствования уже готовых пептидов, прежде выполнявших иные функции. Чем больше антимикробных пептидов производит животное, тем труднее бактериям вовремя их распознать. В результате гены антибактериальных пептидов претерпевают больше эволюционных изменений, чем любая другая группа генов в клетках млекопитающих.

В сравнении со сложными и постоянно меняющимися атаками на антимикробные пептиды эксперимент Белла и Заслоффа выглядит детской игрой. Ученые подвергли *E. coli* действию всего лишь одного антимикробного пептида и обеспечили серьезные преимущества мутантам, которые смогли при этом выжить. К несчастью, современная медицина работает скорее по схеме Белла и Заслоффа, чем по методикам естественной эволюции. Врачу для борьбы с инфекцией предлагается достаточно скромный выбор антибиотиков, да и пациенту, как правило, прописывают лишь один препарат. Всего за несколько лет такая практика приводит к возникновению резистентных бактерий. Возможно, нам удавалось бы более успешно бороться с бактериями, если бы новые лекарства быстрее проходили все этапы разработки и если бы врачи могли без опасений прописывать пациенту по нескольку препаратов сразу.

Способность *E. coli* к быстрому развитию резистентности должна преподать нам немало уроков. Возможно, самый поразительный урок заключается в том, что человеческое тело, как и тела наших предков, фактически работает как фармацевтическая лаборатория.

## Эволюция на заказ

Когда в 1942 г. Сальвадор Лурия открыл закономерности, согласно которым у *E. coli* развивается сопротивляемость к вирусам, он получил первые убедительные доказательства случайности и ненаправленности мутаций. С тех пор было проведено огромное число экспериментов как на *E. coli*, так и на многих других видах. Подтвердилось, что частота мутаций достаточно стабильна. Но результаты некоторых экспериментов на *E. coli* возбудили у ученых неожиданные сомнения. Что если мутации не так слепы, как принято считать?

Химик Флойд Ромесберг из Научно - исследовательского института Скрипса провел эксперимент и посмотрел, как *E. coli* приобретает резистентность к антибиотикам. В качестве действующего вещества он выбрал ципрофлоксацин (торговое название - ципро). Впервые этот антибиотик появился еще в 1980-е гг. как перспективная замена старым лекарственным средствам, которые начали терять эффективность. Однако уже через несколько лет после начала применения этого антибиотика появились первые сообщения о резистентных к нему

микроорганизмах. При этом в разных частях света устойчивые к ципрофлоксацину бактерии встречаются с разной частотой. В Германии, к примеру, в 2002 г. резистентными к ципро были примерно 15 % *E. coli*. В Китае в том же году в одном из исследований получились значительно более высокие показатели - 59 %.

Чтобы понять, как появляются у *E. coli* гены устойчивости к ципрофлоксацину, Ромесберг с коллегами вводили шестинедельным мышам болезнетворный штамм *E. coli*. После этого они вводили им ципрофлоксацин, и инфекция пропадала - по крайней мере на первый взгляд. Но через три дня она возобновлялась. Когда ученые проверили новые бактерии, выяснилось, что за это время *E. coli* стала в 50 раз более устойчивой к ципро, чем была в начале эксперимента.

Ципро убивает *E. coli*, обманом вынуждая ее совершить самоубийство. Известно, что он вмешивается в процесс производства фермента топоизомеразы, который умеет разрезать и вновь сшивать молекулы ДНК. Такое умение становится необходимым бактерии всякий раз, когда ее ДНК запутывается. Ципро не позволяет топоизомеразе завершить работу и сшить разрезанную ею ДНК. Свободные концы разрезанной молекулы привлекают другие ферменты, специализирующиеся на разрушении изолированных кусочков ДНК. Эти ферменты разрушают большую часть хромосомы *E. coli* и убивают бактерию.

Ромесбергу пришло в голову, что действие ципро может этим не ограничиваться; возможно, он, помимо всего прочего, заставляет *E. coli* мутировать быстрее. Известно, что *E. coli* исправляет поврежденную ДНК при помощи ферментов ДНК - полимераз. Бактерия синтезирует два вида ДНК - полимераз: один из них производит исправление (репарацию) молекулы с высокой точностью, а другой - с низкой. Как правило, необходимым исправлением молекул ДНК занимается высокоточная ДНК - полимераз; при этом гены, отвечающие за производство ДНК - полимеразы низкой точности, блокированы белком, получившим название LexA. Но когда *E. coli* попадает в критическую ситуацию, все меняется. Если выясняется, что бактерия перегружена большим количеством поврежденной ДНК, LexA освобождает гены ДНК- полимеразы низкой точности, и та тоже принимает участие в репарации ДНК *E. coli*. Однако работу она делает менее аккуратно и точно, оставляя после себя большее количество мутаций.

Ромесберг подумал: что если эти дополнительные мутации помогают *E. coli* быстрее развивать устойчивость к ципрофлоксацину? Конечно, в большинстве своем мутации могут оказаться вредными для бактерии, но некоторые могут привести к созданию такой топоизомеразы, которая способна делать свою работу и сшивать ДНК даже в присутствии антибиотика. Возможно также, что эти дополнительные мутации возникают только во время подобных кризисов. Как только *E. coli* вновь обретет способность резать и сшивать ДНК, количество ее бесхозных кусочков резко уменьшится. LexA вновь блокирует гены, кодирующие ДНК - полимеразу низкой точности, и подавляет их активность, а значит, *E. coli* возвращается к более аккуратной и точной репарации ДНК.

Ромесберг с коллегами проверил свою гипотезу при помощи весьма остроумного эксперимента. Исследователи создали штамм *E. coli*, в котором белок LexA постоянно блокировал гены, отвечающие за производство ДНК - полимеразы низкой точности. Столкнувшись с ципрофлоксацином, такие бактерии продолжали как ни в чем не бывало исправлять свою ДНК с высочайшей точностью. Ромесберг и его коллеги ввели полученный штамм мышам, а затем дали им антибиотик. В 2005 г. ученые опубликовали результаты своего эксперимента: *E. coli*, не способная мутировать чаще, вообще не сумела развить у себя устойчивость к ципрофлоксацину.

Эксперимент Ромесберга наглядно продемонстрировал, что мутации могут быть не настолько случайными и слепыми, как считалось раньше. Возможно, *E. coli*, вместо того чтобы пассивно коллекционировать мутации, изобрела способ управлять ими к собственной выгоде.

Первые намеки на существование не слишком случайных мутаций были получены в эксперименте 1988 г., который можно назвать "кругом вода, а с питьем беда". Джон Кейрнс, работавший тогда в Гарварде, вместе с коллегами получил мутантный штамм *E. coli*, почти совершенно не способный утилизировать лактозу. Его *lac* - оперон был в полном порядке, а вот последовательность нуклеотидов промотора<sup>[20]</sup>, задача которого - включать оперон, была слегка изменена. Затем Кейрнс и его коллеги перестали давать своим бактериям какую бы то ни было пищу, кроме лактозы. Бактерии перестали размножаться и начали голодать. Однако полностью они все же не вымерли.

Через шесть дней появилось около 100 новых колоний. Кейрнс проверил *lac* - оперон бактерий и обнаружил у них новую мутацию, которая вновь позволила им включать этот оперон. Но если бы бактерии мутировали спонтанно с обычной частотой, то за это время они, по оценке Кейрнса, успели бы образовать лишь одну колонию. Вывод ученого был прост:

подопытные бактерии обзавелись работающими генами в сто раз быстрее, чем можно было ожидать.

"Возможно, у клеток есть способы выбирать, какие именно мутации будут происходить", - констатировали Кейрнс и его соавторы.

"Направленные мутации" - именно под таким названием стало известно это явление - вызвали настоящую бурю. Мысль о том, что *E. coli* способна в кризисной ситуации заставить мутировать конкретный ограниченный участок ДНК, пахла ламаркизмом. Критики обвиняли Кейрнса практически в мистицизме: ведь согласно его гипотезе *E. coli* должна понимать, что мутации конкретного участка ДНК помогут ей справиться с конкретной критической ситуацией. Последовала целая волна новых исследований; ученые пытались понять, что все-таки происходит.

В конце концов научная общественность пришла к единому мнению: загадочные мутации не являются в строгом смысле слова направленными и не предназначены для достижения какой-то конкретной цели. У многих бактерий, переживших голод и вновь получивших способность использовать в качестве источника питания лактозу, обнаружились и другие мутации, на этот раз в генах, не имевших никакого отношения к лактозе. Вместо "направленных мутаций" ученые заговорили о "гипермутации". Добавляя к слову приставку "гипер", они подразумевали, что в критической ситуации частота мутаций у *E. coli* может подскочить в сто, а то и в тысячу раз. Исследования показали, что ДНК - полимеразы низкой точности и есть те ферменты, которые вызывают дополнительные мутации.

Некоторые ученые утверждают, что гипермутация - элегантная стратегия борьбы с вымиранием. В нормальных условиях естественный отбор благоприятствует низкой частоте мутаций, поскольку в большинстве своем мутации вредны. Но в критических, стрессовых ситуациях дополнительные мутации резко повышают шансы на то, что вид сумеет - и успеет - случайным перебором вариантов найти выход из кризисной ситуации. Чтобы избежать голода, *E. coli* не обязательно знать, что для этого хватит одной крохотной мутации в переключателе, который управляет работой генов, участвующих в метаболизме лактозы. Ей просто придется испытать разные варианты изменений ДНК и в конце концов добраться до нужного варианта.

В гипермутации заключается очевидный риск: вместе с необходимой благоприятной мутацией оно может породить множество мутаций вредных. Сьюзен Розенберг из Бейлоровского медицинского колледжа в Техасе и ее коллеги считают, что *E. coli* минимизирует этот риск, распределяя его на всю колонию. Когда у *E. coli* в критической ситуации происходят дополнительные мутации, у каждой отдельной бактерии изменяется литтть один крохотный участок ДНК. Естественно, у разных микроорганизмов эта область мутаций приходится на разные участки молекулы; в противном случае каждая особь получила бы множество неблагоприятных мутаций, рассредоточенных по всему геному. В то же время в многочисленной колонии могут быть одновременно опробованы новые версии едва ли не всех генов. Если хотя бы несколько бактерий наткнется на удачный вариант, эти особи тут же начнут стремительно размножаться.

Возможно, гипермутация для *E. coli* - хороший способ справиться со стрессом, но возник этот механизм по совершенно иным причинам. Оливье Тенайон из Национального института здоровья и медицинских исследований Франции указывает, что для синтеза высокоточных ДНК - полимераз требуется немало энергии и материалов.

Может быть, в моменты стресса *E. coli* просто не может позволить себе роскоши тщательной и точной репарации ДНК. Вместо этого она обращается к ДНК - полимеразам низкой точности. Работают они, конечно, весьма небрежно, но зато *E. coli* укладывается в энергетическую смету. На самом деле естественный отбор, предполагает Тенайон, благоприятствует вовсе не высокой частоте мутаций, а просто возможности энергетически менее затратного исправления ДНК.

Но даже если кардинальное изменение частоты мутаций у бактерий возникло как побочный эффект, в определенных обстоятельствах оно все же может быть полезным. Тенайон с коллегами продемонстрировал, что у *E. coli* частота мутаций различается чрезвычайно сильно. В стрессовой ситуации одна бактерия может мутировать в тысячу раз быстрее другой. Должно быть, такой огромной разницей микроорганизмы обязаны генам, отвечающим за гипермутацию, которые могут передаваться от поколения к поколению.

Вполне возможно, что в разных ситуациях естественный отбор подхватывает варианты с разной частотой мутаций. Тенайон и его коллеги отслеживали среднюю частоту мутаций у *E. coli* при колонизации ею мыши. В самом начале колонизации, когда бактерии испытывали сильный стресс, наибольшее распространение в популяции имели особи с высокой частотой

мутаций. Когда же бактериям удавалось основать в кишечнике мыши стабильные колонии, первенство переходило к редко мутирующим особям. Антибиотики, вероятно, также приводят к появлению множества часто мутирующих особей, потому что у них устойчивость к лекарству может появиться быстрее, чем среди бактерий, которые мутируют реже.

Некоторые критики скептически настроены по отношению к направленным мутациям, гипермутациям и их "идеологическим" следствиям. Так, Джон Рот из Калифорнийского университета в Дэвисе и Дан Андерссон из Уппсальского университета в Швеции полагают, что Кейрнс в своих первоначальных экспериментах не открыл ничего необычного. Просто у бактерий, которые он использовал, *lac* - оперон не был заблокирован полностью и мог все же производить нужные белки, хотя и в очень небольшом количестве; и это позволяло бактериям не погибнуть от голода. При этом вполне могло быть так, что обычная случайная мутация удвоила у одной из бактерий *lac* - оперон, позволивший ей утилизировать больше лактозы и размножаться быстрее. У кого-то из потомков этой бактерии могла столь же случайно возникнуть третья копия этого участка ДНК, и естественный отбор в условиях эксперимента подхватил и эту мутацию.

Таким образом, утверждают Рот и Андерссон, *E. coli* вполне может расширить свою коллекцию генов лактозного оперона посредством всего лишь обычных спонтанных мутаций и естественного отбора. Кстати, по мере роста числа копий *lac* - оперона вероятность того, что какая-нибудь случайная мутация восстановит одну из них до нормального рабочего состояния, также возрастает. Бактерии, которым так повезет, внезапно начнут размножаться намного быстрее, чем остальные. Позже новые мутации, возможно, избавят их от лишних дефектных копий, оставив одну нормально работающую. По мнению Рота и Андерссона, этот процесс может создавать иллюзию направленных мутаций при полном отсутствии таковых.

Дебаты на эту тему продолжаются с неослабевающей силой. Следует отметить, что вопрос этот важен как для реальной медицинской практики, так и в научном плане для понимания механизмов жизни. Если для выживания микроорганизмам действительно необходимо регулировать частоту мутаций, то мы, вмешавшись в механизм такого управления, возможно, научимся убивать бактерии более эффективно. Как мы помним, Флойд Ромесберг показал, что, если не дать *E. coli* повысить частоту мутаций, устойчивость у нее не разовьется. В настоящее время он и его коллеги пытаются разработать на основе своего открытия конкретные методы лечения. Они надеются, что когда-нибудь человек одновременно с антибиотиком будет принимать особое лекарство, которое не позволит микроорганизмам увеличить частоту мутаций.

Некоторые ученые полагают, что животные и растения способны манипулировать мутациями в любых стрессовых ситуациях. Сьюзен Линдквист с коллегами из Института Уайтхеда в Кембридже (штат Массачусетс) обнаружили, что у плодовых мушек имеется своеобразный буфер, который в какой-то степени защищает их от последствий вредных мутаций. Так, неблагоприятная мутация может привести к тому, что геометрическая форма, в которую сворачиваются молекулы определенного белка, будет неправильной. Но у плодовой мушки есть белки теплового шока, способные вернуть этим молекулам правильную форму. Линдквист утверждает, что генетическое разнообразие плодовых мушек намного шире, чем было бы возможно без помощи белков теплового шока.

Линдквист обнаружила, что стресс выявляет подобные мутации. Если в окружающей среде поднимается температура или появляются токсические вещества, даже нормальные белки в клетках мух утрачивают нормальную форму. Белки теплового шока работают на пределе возможностей и не успевают придать всем мутантным белкам правильную форму. Эти белки могут очень заметно влиять на внешний вид мушек, меняя цвет глаз, форму крыльев или другие части тела.

Линдквист предполагает, что белки теплового шока позволяют мушкам накопить запас мутаций, преимуществами которых мушки могут воспользоваться в моменты стресса, не испытывая при этом в более спокойные времена никаких отрицательных воздействий с их стороны. Проявившаяся в критический момент мутация может оказаться полезной для организма, а дальнейшие мутации, возможно, позволят ей работать и после исчезновения стресса. Линдквист с коллегами нашла аналогичный буфер мутаций у растений и грибов; это позволяет предположить, что такая стратегия обычна для живых организмов. Механизм, предложенный Линдквист, немного отличается от процесса гипермутирования у *E. coli*, но дает, по существу, те же фундаментальные преимущества: он позволяет обуздать творческий потенциал мутаций и одновременно минимизировать связанные с ними риски.

Но выясняется, что увеличение числа копий генов по Роту и Андерссону является механизмом, применяемым не только лишенной лактозы *E. coli*. Приобретение

дополнительных копий уже имеющегося гена может помочь множеству живых организмов адаптироваться к новым для них неблагоприятным условиям среды.

Представьте, что микроорганизм сталкивается с новым видом питательных веществ, с которым никогда не встречались его предки. Все ферменты, которые он использует при переработке пищи, в результате естественного отбора настроены на расщепление других молекул. Это, впрочем, не обязательно означает, что микроорганизм не способен утилизировать другие соединения; ферменты вообще настраиваются не слишком точно. Фермент, который очень эффективно разрезает на части молекулы одного типа, может расщеплять молекулы и другого типа, но медленнее и более неуклюже. Если в результате мутаций микроорганизм окажется обладателем нескольких копий гена, он сможет расщеплять новые для него молекулы питательных веществ в большем количестве.

Биолог Итиро Мацумура из Университета Эмори показал на примере *E. coli*, насколько неразборчивыми могут быть ферменты. Мацумура и его коллеги создали 104 штамма *E. coli*, у каждого из которых не хватало какого-нибудь абсолютно необходимого для жизни гена. Затем они создали тысячи плазмид, в которых содержалось по несколько экземпляров другого гена *E. coli*. Исследователи добавляли такие плазмиды к лишенному необходимого гена штамму и смотрели, не смогут ли эти гены заместить ген, удаленный Мацумурой. Ученым удалось "оживить" таким образом 21 из 104 штаммов.

Эксперимент Мацумуры помог обнаружить у *E. coli* скрытую пластичность, позволяющую ей приспосабливаться к новым условиям. Не исключено, что и другие виды используют подобные возможности своей ДНК. По мере того как в геноме возникают дополнительные копии генов, микроорганизмы получают возможность более эффективно расщеплять новый питательный субстрат, или обезвреживать какой-то яд, или справляться с беспрецедентно высокой температурой. Со временем одна из копий гена может измениться и обрести намного более эффективную форму; остальные копии после этого могут постепенно исчезнуть.

Умножение генов может играть творческую роль в эволюционном процессе, но оно же может подвергнуть человека смертельной опасности. Подобно *E. coli*, клетки нашего тела иногда мутируют и (в очень редких случаях) вступают на дорогу в конце которой их ждет превращение в раковые клетки. Они перестают подчиняться механизмам регулирования, сдерживающим рост нормальных клеток. Пока они продолжают делиться и мутировать, новые мутации делают их все более агрессивными и придают способность уходить из-под удара иммунной системы. Подобно *E. coli*, пытающейся приспособиться к питанию лактозой, эти клетки сталкиваются в процессе роста с множеством самых разных препятствий. Любая мутация, способная помочь им преодолеть эти препятствия, подхватывается естественным отбором. Мутации умеют создавать дополнительные копии генов, которые позволят клеткам опухоли размножаться быстрее или, к примеру, успешно сопротивляться химиотерапии. Некоторые из этих дополнительных генов могут принять на себя новые функции и сделать тем самым опухоль еще более опасной.

В общем, иногда *E. coli* слитком похожа на слона, чтобы слон мог чувствовать себя в безопасности.

## Гены в подарок

Вторая мировая война, как и любая другая, предоставила *E. coli* богатейшие возможности для убийства. Штаммы, вызывающие дизентерию и называвшиеся тогда *Shigella*, носились по полям сражений и оккупировали города один за другим, убивая без счета. В конце войны шигелла отступила с территории тех стран, которые сумели быстро восстановить канализацию и наладить снабжение чистой водой. Однако там, где с водой были проблемы, - в бедных странах Африки, Латинской Америки и значительной части Азии - шигелла продолжала благоденствовать. Единственным исключением из этого правила оказалась Япония. Эта потерпевшая поражение страна все-таки наладила очистку воды, и за первые два года случаев дизентерии стало гораздо меньше. Но затем, по какой-то необъяснимой причине, болезнь вернулась. Если в 1948 г. шигелла стала причиной менее чем 20000 случаев болезни, то в 1952 г. их было уже более 110 000.

Японские микробиологи были хорошо знакомы с бактерией *Shigella* еще с тех времен, когда в 1897 г. Киёси Сига впервые открыл его. Во время послевоенной вспышки шигеллеза они отбирали у пациентов тысячи бактериальных проб и неустанно искали источник новообретенной мощи зловредной бактерии. Выяснилось, что у микроорганизмов стремительно развивается резистентность к антибиотикам. Сначала микробиологи обнаружили штаммы бактерий, устойчивые к сульфамидным препаратам. Затем, всего через

несколько лет, появилась устойчивость к тетрациклину, а чуть позже - к стрептомицину и хлорамфениколу.

Поначалу распространение резистентных штаммов шигеллы шло по обычной для всех бактерий схеме: мутации создавали мощные новые гены, дававшие отдельным бактериям репродуктивное преимущество. Но затем случилось нечто поразительное. На сцене появились штаммы шигеллы, устойчивые к действию всех антибиотиков одновременно. Преображение происходило внезапно: если врачи давали пациенту, страдающему шигеллезом, антибиотик одного какого-нибудь типа, бактерии часто приобретали резистентность и к другим антибиотикам, которых данный пациент никогда не принимал.

Пытаясь хоть как-то объяснить обнаруженные странности, японские ученые вспомнили открытие Джошуа Ледерберга, сделанное за несколько лет до этого, - открытие полового размножения у *E. coli*. Ледерберг показал, что иногда - достаточно редко - эта бактерия может передавать часть своих генов другой, неродственной. В его экспериментах кольцевые молекулы ДНК - плазмиды, переходили от одной бактерии к другой, перенося часть бактериального генетического материала. Ледерберг и другие исследователи установили также, что профаги - тихие вирусы - нелегалы - способны тоже служить челноками и переносить гены туда и сюда. Пробудившийся к жизни вирус иногда случайно копирует несколько генов хозяина в собственную ДНК, а потом переносит эти гены в другие бактерии. За эти открытия Ледерберг и другие ученые были удостоены нескольких Нобелевских премий, но в течение многих лет большинство биологов рассматривало подобную "инфекционную наследственность" всего лишь как удобный лабораторный инструмент, а не как существенную часть природоустройства. Они ошибались, и послевоенные вспышки дизентерии в Японии стали тому первым доказательством.

Цутомо Ватанабэ из Университета Кэйо в Токио и другие японские ученые начали разбираться, действительно ли шигелла способна обмениваться генами. Они доказали, что *E. coli* K-12 и *Shigella* могут обмениваться генами резистентности. Эксперименты на людях, больных шигеллезом, подтвердили результат. Ватанабэ сделал заключение, что использование больших доз антибиотиков подталкивало эволюцию генов резистентности либо у шигеллы, либо у какого-то другого вида бактерий, обитающего в кишечнике. В редких случаях резистентная бактерия передавала свои гены кому-то из соседей. Более поздние исследования показали, что эти гены располагаются в плазмиде.

Стоило японским врачам начать лечить пациентов новым антибиотиком, как возникали новые гены, обеспечивающие резистентность к нему, а содержащие его плазмиды обнаруживались в популяциях бактерий по всей Японии. Иногда случалось так, что микроорганизм получал при передаче генетического материала две плазмиды одновременно, причем они несли гены резистентности к разным антибиотикам. Две плазмиды могли обмениваться участками ДНК, и в результате в некоторых случаях возникала плазида с двумя генами резистентности вместо одного. Естественный отбор благоприятствовал носителям новых плазмид еще в большей степени, потому что они обладали устойчивостью к обоим антибиотикам. Постепенно плазмиды собирали в себе все большее количество генов резистентности. В итоге шигелла приобрела устойчивость практически ко всем лекарственным средствам, с помощью которых врачи пытались от нее избавиться.

До 1963 г., когда Ватанабэ написал на английском языке длинный обзор для журнала *Bacteriological Review*, мало кто из ученых за пределами Японии знал об этих открытиях. Западные ученые были поражены. Они поставили собственные эксперименты и убедились, что Цутомо Ватанабэ совершил крупное открытие. Оказывается, гены способны курсировать между бактериями, причем не одним способом. Некоторые из них переносятся с места на место плазмидами; в перемещении других принимают участие вирусы. Вирусы случайно встраивают в свой геном гены хозяина, а затем переносят их в нового хозяина, которого инфицируют. Иногда бактерии попросту целиком "заглатывают" ДНК, высвободившуюся в момент гибели другой бактерии. Так получается, что гены резистентности могут передаваться не только между особями одного вида, но и между разными видами микроорганизмов.

Горизонтальный перенос генов, как теперь называется это явление, лучше всего работает в тех местах, где в небольшом объеме сосредоточено множество бактерий. Так, передача генов между бактериями нередко происходит в человеческом организме, а также в организме цыплят и других домашних животных, которых кормят антибиотиками. Даже комнатные мухи, зараженные *E. coli*, могут стать местом обмена генами. Горизонтальный перенос позволяет генам перепрыгивать из одного микроба в другой и перемещаться территориально на поразительно большие расстояния. В джунглях Французской Гвианы ученые обнаружили резистентную к антибиотикам *E. coli* в кишечнике индейцев - ваямпи, никогда этих лекарств

не принимавших. При исследовании *E. coli*, живущей в Великих Озерах, другая команда ученых обнаружила гены резистентности у 14 % бактерий.

Горизонтальный перенос не просто способствует распространению генов резистентности, но и подстегивает их эволюцию. Ген, обеспечивающий резистентность к антибиотику, может принести пользу не только своему первоначальному хозяину, но и другим бактериям, в чьем геноме он окажется. При этом в геноме новых хозяев ген продолжает подвергаться естественному отбору и вполне может стать еще более эффективным. Микроорганизм способен собрать в себе целый арсенал средств защиты от антибиотиков; при этом он не просто наследует эти средства от предков, а пользуется достижениями всего сообщества бактерий.

Биологи далеко не сразу поняли все значение японской вспышки шигеллеза. Горизонтальный перенос генов - причина настоящей медицинской катастрофы, которая продолжает разворачиваться в настоящее время. Но биологам долгое время не удавалось обнаружить какие бы то ни было свидетельства такого переноса в других ситуациях, помимо резистентности к антибиотикам. Тому были объективные причины. Только в 1990–е гг. ученые смогли сравнить полный геном *E. coli* с геномами других бактерий и как следует поискать в нем гены, полученные путем горизонтального обмена. Подобные исследования навсегда изменили наши представления об истории жизни на Земле. Сегодня мы знаем, что горизонтальный перенос генов - отнюдь не тоненький часто пересыхающий ручеек ДНК. Это настоящий поток. И сегодняшней облик *E. coli* - во многом его заслуга

## Глава 8. Открытый код

### Молодой вид

За судьбой *E. coli* внимательно следят тысячи персональных биографов. Они регистрируют рождение новых болезнетворных штаммов в Омахе и Осаке. В поисках микроорганизмов они тщательнейшим образом исследуют ручьи, озера и кишечник кенгуру. Они внимательно наблюдают, как ведут себя и какие трюки выделяют необычные мутантные штаммы. Поскольку мутантов передают из лаборатории в лабораторию, замораживают в хранилищах и вновь оттаивают для дальнейших экспериментов, ученые, как правило, в состоянии достаточно далеко проследить родословную своих *E. coli*. Ни один биологический вид - кроме, конечно, нас самих - не удостоился такого внимания со стороны человека.

На данный момент письменная история *E. coli* столь обширна, что ни один человек на протяжении своей жизни не сможет даже просто ознакомиться с ней. Но при всей обширности история эта достаточно поверхностна. Начинается она с 1885 г., с первых сделанных Теодором Эшерихом набросков увиденных под микроскопом групп палочковидных объектов. Несколько штрихов к истории *E. coli* до Эшериха могут, как ни удивительно, добавить археологи. В 1983 г. английские торфоразработчики обнаружили тело человека, пролежавшее в болоте недалеко от Манчестера 2200 лет. Человек этот стал жертвой ритуального убийства: ему нанесли удар по голове дубиной, перерезали горло, затащили на шее веревку и столкнули в трясины. Богатая кислотами болотная вода сохранила не только тело, но и содержимое его желудочно - кишечного тракта. В желудке древнего человека ученые обнаружили ячмень и омелу. А в кишечнике - ДНК *E. coli*.

Нет никаких оснований думать, что найденный в болоте человек был первым, в чьем кишечнике обитала *E. coli*. Напротив, есть все основания считать, что история нашей бактерии началась гораздо раньше. Надо сказать, что палеонтологическая летопись не обошлась без бактерий. Отдельные микроорганизмы оставили свой след на камнях по крайней мере 3,7 млрд лет назад. Рифы, выстроенные бактериями 3 млрд лет назад, до сих пор тянутся на многие километры по территории Африки и Канады. *E. coli* ведет достаточно незаметное в геологическом плане существование и практически не образует окаменелостей. Однако их недостаток она с избытком компенсирует при помощи подробных записей в своей ДНК. Эта генетическая летопись разворачивается перед нами, как ковровая дорожка, и уходит в прошлое на миллионы лет - к происхождению кишечной палочки как вида, а затем и дальше в прошлое, к тому времени, когда жизнь еще не вышла на сушу, и еще дальше, к возникновению клетки и самому началу жизни на Земле.

Чтобы прочесть эту богатую событиями летопись, нужно стать специалистом по генеалогии бактерий. Если у *E. coli* происходит мутация, она передается ее потомкам. Если собрать коллекцию *E. coli*, то у некоторых штаммов обнаружатся общие генные последовательности, которых у других не окажется. Эти мутации иногда могут служить генетическими маркерами,

показывая ученым, какие группы бактерий связаны между собой родственными отношениями. Во время вспышки заболеваний, вызываемых болезнетворной *E. coli*, эти маркеры позволяют работникам здравоохранения быстро отыскать источник инфекции. Другие ученые при помощи генетических маркеров восстанавливают генеалогическое древо *E. coli*. Впереди у них еще много работы, но они уже добавили к генеалогическому древу бактерии достаточное количество новых ветвей, чтобы узнать о ней чрезвычайно важные вещи.

Все ныне существующие штаммы кишечной палочки происходят от первых представителей этого вида. Ученые приблизительно представляют, когда появились первые *E. coli*. В 1998 г. Джеффри Лоуренс из Питтсбургского университета и Говард Охман из Аризонского университета примерно определили, когда отделились друг от друга предки *E. coli* и ее близкого родственника - бактерии *Salmonella enterica*. Лоуренс и Охман тщательно подсчитали все различия в ДНК этих бактерий. Считается, что после того, как два вида отделяются от некоего общего предка, они непрерывно мутируют с примерно постоянной (и одинаковой) частотой. Лоуренс и Охман определили, что общий предок этих бактерий жил около 140 млн лет назад. В 2006 г. Охман с несколькими коллегами пробовали определить происхождение *E. coli* с помощью другого источника информации: они провели исследование штаммов *E. coli* и попытались оценить, когда жил их общий предок. Ученые пришли к выводу, что от 10 до 30 млн лет назад этот вид был уже вполне сформирован. *E. coli* намного старше человека, найденного в английском болоте, но это не означает, что эта бактерия представляет собой живое ископаемое. По степени примитивности она вполне сравнима с каким-нибудь приматом.

Предки *E. coli* отделились от предков сальмонеллы в те времена, когда на Земле властвовали динозавры, а над головой летали птерозавры и птицы, которые по-прежнему могли похвастаться зубастыми клювами и когтями на крыльях. Из млекопитающих самыми типичными тогда были мелкие существа, напоминавшие белку. Около 65 млн лет назад эта картина начала резко меняться. Птерозавры и крупные динозавры вымерли - отчасти, вероятно, из-за астероида, упавшего в Мексиканский залив. Вскоре после этого млекопитающие разделились на летучих мышей, громадных слоноподобных травоядных, кошкоподобных и собакоподобных хищников, грызунов и прыгающих по деревьям приматов. Птицы тоже приобрели современный вид. Но млекопитающих и птиц объединяет не только успех в вопросе выживания. Их предки независимо друг от друга развили способность поддерживать постоянную температуру тела. Их кишечник стал подходящей средой обитания для бактерий, в том числе для предков *E. coli*. Активный метаболизм теплокровных животных требует обильной пищи, а богатый питательными веществами рацион способен прокормить, помимо хозяина, еще и целую уйму бактерий. Жизнь в кишечнике, где всегда тепло, позволяет ферментам микроорганизмов работать быстро и эффективно. Возможно, тот факт, что расцвет *E. coli* совпадает по времени с расцветом ее нынешних хозяев, - не просто совпадение.

От *E. coli*, которые жили в давние времена, произошло множество штаммов, населяющих наши внутренности; некоторые из них безвредны, а иные даже полезны, одни разрушают мозг или губят почки, а другие даже приспособились к жизни вне теплого уютного тела. Если условия позволяют, жизнь нередко отвечает вспышкой разнообразия. Но *E. coli* - особый случай. Ученые могут разобрать историю ее эволюции во всех подробностях, буквально ген за геном.

## Геномы венна

Чтобы получить представление о том, насколько *E. coli* разнообразна как вид, достаточно посмотреть на два штамма - K-12 и O157: H7. Бактерия штамма K-12 - домашняя собачка мира микроорганизмов. Она настолько безобидна, что ученые при работе с ней не принимают никаких мер предосторожности; напротив, им приходится защищать ее от грибов и других бактерий. А вот O157: H7 - настоящий волк. Она впрыскивает в наши клетки химические соединения, нарушающие их работу, разрушает кишечник и вызывает кровотечения, травит нас токсинами, а иногда отключает целые органы и даже убивает нас. Каждый из этих штаммов опирается на сеть вполне конкретных генов и белков, которые позволяют бактериям благоденствовать в определенной экологической нише, и сети эти сильно различаются между собой. Тем не менее, несмотря на все различия, K-12 и O157: H7 происходят от общего предка, жившего, по оценкам ученых, 4,5 млн лет назад - в те времена, когда наши предки были еще прямоходящими человекообразными обезьянами.

В 2001 г. исследователи впервые сумели получить представление о том, как один микроорганизм мог дать начало двум таким разным потомкам. Именно тогда две команды ученых - японская и американская - независимо друг от друга опубликовали полную расшифровку генома штамма 0157: Н7. Появилась возможность сравнить его, ген за геном, с геномом штамма К-12, расшифровка которого была опубликована четырьмя годами ранее. Никто не мог сказать наверняка, что даст такое сравнение.

Еще в 1970-е гг. ученые начали сравнивать небольшие фрагменты ДНК разных штаммов *E. coli*. Фрагменты оказались практически идентичными как по последовательности генов, так и по расположению в хромосоме. Ученым удалось даже найти соответствующие генные фрагменты в ДНК бактерии *Salmonella enterica*. На основании этих данных многие ученые полагали, что весь геном *E. coli* устроен по той же схеме. Им казалось, что эволюционная история *E. coli* была гладкой и последовательной. Бактерия - предок дала начало множеству линий, некоторые из них эволюционировали в сегодняшние штаммы. В каждой линии, естественно, возникали мутации, часть их подхватывалась естественным отбором; в этом случае мутанты вытесняли менее удачливых родичей. Горизонтальный перенос, возможно, добавил в геном несколько генов от других видов бактерий, но многие ученые, несмотря на работу Ледерберга и Ватанабэ, считали, что такой перенос всегда был редким явлением.

Когда же ученые получили наконец возможность сравнить два генома, удивлению их не было предела. В геноме каждого штамма обнаружилось обширные участки ДНК, не имевшие очевидных соответствий со вторым штаммом. Оказалось, что в ДНК штамма 0157: Н7 присутствует 5,5 млн пар нуклеотидов, тогда как у К-12 их всего 4,6 млн. Примерно 1,34 млн пар нуклеотидов штамма 0157: Н7 попросту отсутствуют у К-12, а более чем 0,5 млн пар нуклеотидов К-12 не имеют соответствия в ДНК 0157: Н7. Кроме того, ученые составили карту обоих геномов; картина получилась аналогичная. У штамма К-12 есть 4405 генов, из которых 528 не имеет аналога в геноме 0157: Н7; примерно 1387 генов штамма 0157: Н7 отсутствуют в геноме К-12.

Каждый из рассмотренных геномов напоминает круг на диаграмме Венна<sup>[21]</sup>. Пересечение кругов штаммов К-12 и 0157: Н7 представляет основу генома - гены, присутствующие в обоих штаммах и унаследованные бактериями от общего предка. После расхождения линий каждая из них приобрела немало новых генов. Речь, разумеется, не только о тех нескольких генах, которые обеспечивают бактерии резистентность к антибиотикам. Оба штамма приобрели сотни "собственных" генов, которые сегодня составляют до четверти их генома.

Через год после расшифровки генома штамма 0157: Н7 еще одна группа исследователей опубликовала расшифровку генома третьего штамма *E. coli* - СFT073. Он населяет кишечник, не причиняя никому вреда, но при попадании в мочевой пузырь может вызвать болезненную инфекцию. Ученые обнаружили, что геном этого штамма представляет собой третий круг диаграммы Венна для *E. coli*. У СFT073 есть некоторое количество генов, общих с К-12, которых нет у 0157: Н7. Некоторые его общие с 0157: Н7 гены отсутствуют у К-12. Но для 1623 генов этого штамма ученым не удалось обнаружить соответствия ни в одном из двух других штаммов. В центре новой диаграммы Венна образовалась новая сердцевина из генов, которыми обладают все исследованные штаммы *E. coli*. Вошло в нее всего 40 % генов. Сердцевина - основа, общая для всех штаммов вида, - сжимается.

К моменту написания этой книги уже секвенированы геномы примерно 30 штаммов *E. coli*, но гораздо большее число штаммов еще ждет своего исследователя. С каждым новым штаммом ученые открывают десятки и даже сотни новых генов, которых нет больше ни у одного другого штамма бактерии. У каждого есть гены, общие с несколькими другими штаммами. Список генов, общих для всех штаммов *E. coli*, все укорачивается, в то время как список обнаруженных хотя бы у одного штамма - расширяется. Ученые называют эту совокупность генов *E. coli* пангеномом. В нем в настоящий момент насчитывается около 11 000 генов, и, по некоторым оценкам, при подобных темпах вскоре их количество может превысить 18 000.

Открытие пангенома *E. coli* заставило ученых кардинально пересмотреть сложившиеся представления об эволюции этой бактерии. Такие характеристики, как последовательность и упорядоченность, меньше всего подходят для описания истории развития *E. coli* за последние 30 млн лет. С первых дней существования вида его геном получал стабильную подпитку новыми генами; часть их просто переходила от одного штамма *E. coli* к другому, а часть поступала извне, от других видов.

Чужеродная ДНК проникает в геном *E. coli* несколькими путями. Часть ее передается с плазмидами - крохотными кольцевыми ДНК. Часть приносят заражающие *E. coli* вирусы - иногда всего один - два гена, иногда десятки. Эти генные кассеты, как их иногда называют,

представляют собой отнюдь не случайную последовательность нуклеотидов. Как правило, они содержат всю генетическую информацию, необходимую для построения сложной структуры, такой, например, как "шприц" для впрыскивания токсинов. Чужеродные гены становятся частью генома одного из штаммов *E. coli* и в дальнейшем передаются по наследству от поколения к поколению. А с тонкой настройкой полученных извне генов под конкретный образ жизни бактерии справляется и обычный механизм естественного отбора. Бывает и так, что происходит горизонтальный перенос генов к новому хозяину.

Следует отметить, что вирусы быстро теряют прежнюю репутацию незначительных паразитов. Вирусы - самая многочисленная форма жизни на Земле; их численность в настоящее время оценивается приблизительно в 10 особей - миллиард миллиардов триллионов! Не исключено также, что большая часть разнообразия генетической информации заключена в геноме вирусов. Только в кишечнике человека обитает, по оценкам ученых, около 1000 видов вирусов. А поскольку вирусы способны переносить гены хозяина и встраивать их в ДНК других хозяев, они таким образом создают своеобразную эволюционную матрицу, посредством которой ДНК может передаваться от одного вида другому. Согласно одной из оценок, в океане вирусы передают гены новым хозяевам 2 квадриллиона раз в секунду.

По странному совпадению как раз в то время, когда ученые открывали для себя эволюционное значение вирусов, компьютерщики создали хороший аналог, наглядно демонстрирующий способ их действия. В конце 1990-х гг. в Америке сформировалась группа компьютерных программистов, которых откровенно не устраивали медленные темпы развития программного обеспечения. Корпорации, конечно, разрабатывали новые программы, но при этом тщательно следили за тем, чтобы никто посторонний не увидел их исходного текста. Развитие таких программ могло идти только в рамках корпорации - владельца - и шло медленно, а то и вовсе прекращалось. В 1998 г. эти несогласные компьютерщики выпустили манифест, в котором выступили за создание ПО на новых принципах, которое они назвали программным обеспечением с открытым исходным кодом. Они начали писать программы, полный текст которых был доступен всем желающим. Другие программисты могли переделывать их, как им вздумается, или объединять части разных программ в одну, совершенно новую. Представители движения за программы с открытым кодом предсказывали, что такой неконтролируемый обмен фрагментами текста позволит быстрее разрабатывать качественные и разнообразные программы. Исследования показали, что устранение недоработок и ошибок в программах с открытым кодом тоже идет быстрее, чем в закрытых корпоративных системах. В настоящее время программное обеспечение с открытым кодом - уже не манифест, а реальность. Даже крупные корпорации, такие как Microsoft, начинают открывать миру некоторые свои программные разработки.

В 2005 г. микробиолог из Университета Джорджии Энн Саммерс с коллегами пустила в оборот новый термин для эволюции, главной движущей силой которой служит горизонтальный перенос генов: она назвала это явление эволюцией с открытым кодом. Вертикальный перенос генов и естественный отбор работают примерно как корпоративная команда разработчиков программ; подробности их нововведений скрыты от общества. Горизонтальный перенос генов позволяет *E. coli* захватывать кусочки программного кода и тестировать их в своей операционной системе. В некоторых случаях новая комбинация означает катастрофу для организма. Программа отказывает, и организм погибает. Но в других случаях дальнейшая тонкая настройка, которую проводит естественный отбор, позволяет новому сочетанию генов работать - и не просто работать, а работать хорошо. Позже этот улучшенный кусочек может попасть в геном еще какого-нибудь организма и совершенствоваться дальше.

Если судить по *E. coli*, у движения за открытый код блестящее будущее.

## Откуда берутся убийцы

Наряду с множеством усовершенствований для человека эволюция с открытым кодом означает множество новых болезней. Когда Киёси Сига открыл шигеллу, он считал ее отдельным видом, и несколько поколений ученых после него также рассматривали эту бактерию как отдельный вид. Только в 1990-е гг., начав разбираться в геноме, исследователи поняли, что на самом деле шигелла - всего лишь особенно зловредная для человека форма *E. coli*. Детальное сравнение показало, что шигелла - это множество различных штаммов, причем многие из них ближе к безобидным штаммам *E. coli*, чем к своим собратьям, другим штаммам шигеллы. Иными словами, *Shigella* не является биологическим видом. Это даже не штамм. Это, скорее, форма существования, к которой пришли несколько отдельных линий *E. coli*.

Как правило, штаммы шигеллы стали результатом развития менее изоциренных паразитов. Их предки закреплялись на поверхности клеток кишечного эпителия и вводили внутрь клетки - хозяина химические вещества, которые заставляли ее выпустить наружу часть содержимого. (Многие штаммы *E. coli* и сегодня ведут примерно такой образ жизни.) Со временем предки шигеллы обзавелись новыми генами, которые позволили им внедряться в клетки и двигаться внутри них, избегая таким образом внимания иммунной системы и манипулируя ею. Все эти инновации появились не одновременно и не у одной линии *E. coli*. Это происходило много раз.

Следует заметить, что для шигеллы важны не только те гены, которые она приобрела в процессе эволюции, но и те, что потеряла. К примеру, жгутики, конечно, прекрасно подходят для путешествия по кишечнику, но бесполезны внутри клетки - хозяина. В результате ни один из штаммов шигеллы не умеет образовывать жгутики, хотя у них и сохранились заблокированные версии необходимых для этого генов. Кроме того, у шигеллы имеются заблокированные гены для расщепления лактозы и других сахаров, которыми она давно уже не питается. Отказалась она и от фермента под названием кадаверин, который другие штаммы *E. coli* производят для защиты от кислоты. (Другие бактерии производят эту отвратительно пахнущую субстанцию при питании тканями трупа - отсюда и название.) Для шигеллы кадаверин попросту вреден, потому что он замедляет миграцию иммунных клеток сквозь стенку кишечника. Шигелла же заинтересована в миграции этих клеток - ведь через проходы, открываемые иммунными клетками, она проникает в ткани кишечника, где и внедряется в клетки. В результате у всех штаммов шигеллы один из генов, необходимых для синтеза кадаверина, отключен.

Другие штаммы *E. coli* произвели на свет целый набор патогенных микроорганизмов, и их геномы до сих пор несут следы этой трансформации. Горизонтальный перенос, потеря генов и естественный отбор тоже сыграли свою роль в этих процессах. Ученые, изучающие *E. coli* O157:H7 - штамм, которым человек может заразиться, съев, к примеру, загрязненные шпинат или гамбургер, - восстановили эволюцию этой бактерии практически шаг за шагом. Ее предки были далеко не так патогенны, но около 55000 лет назад они были инфицированы целым набором вирусов, каждый из которых добавил новое оружие к арсеналу бактерии. К примеру, ген, кодирующий сильнодействующий токсин, который делает штамм *E. coli* O157:H7 столь опасным, располагается между генами вируса. Этот вирус встроился в геном *E. coli* совсем недавно, поэтому он все еще производит новые вирусы, которые способны покидать бактериальную клетку.

Однако ученые, исследующие *E. coli* O157:H7, столкнулись со странным парадоксом. Другие безвредные штаммы *E. coli*, такие как *Shigella*, очень хорошо адаптированы к жизни в организме человека и редко обнаруживаются в организме других видов. Но с *E. coli* O157:H7 все наоборот. В организме человека она появляется редко (за что мы определенно можем быть ей благодарны), зато прекрасно себя чувствует в кишечнике коров и других домашних животных. Для нас она может оказаться смертельной, им же не наносит никакого вреда. Иными словами, к этим животным она адаптирована как безвредный жилец - нахлебник. Тот факт, что токсины *E. coli* O157:H7 вызывают у человека смертельно опасную болезнь, - всего лишь эволюционная случайность, ведь мы не являемся для нее обычными хозяевами.

Но если *E. coli* O157:H7 производит токсины не для того, чтобы использовать нас, то зачем она вообще носит в себе эти гены? Исследователи предположили, что бактерия вырабатывает этот токсин, чтобы помочь животному-хозяину. Ученые из Университета Айдахо обнаружили, что овцы, инфицированные *E. coli* O157:H7, лучше противостоят вызывающим рак вирусам, чем овцы без этого штамма. Может быть, *E. coli* O157:H7 стимулирует иммунную систему овец, а может, даже вызывает самоубийство клеток, зараженных канцерогенным вирусом, прежде чем они успевают образовать опухоль. Но возможно, что этот токсин - средство защиты самой бактерии. Может быть, при атаке простейших на колонию *E. coli* именно тем, кто вырабатывает этот токсин, удается отбиться от хищников.

Хотя *E. coli* O157:H7, возможно, приспособилась в ходе эволюции не к человеческому телу свою роль в преуспевании этого штамма человек все же сыграл. Исследования генома *E. coli* O157:H7 показывают, что это очень молодая эволюционная ветвь: всем ее наиболее распространенным формам меньше тысячи лет. Ученые полагают, что человек, одомашнив животных, создал идеальные условия для процветания *E. coli* O157:H7. Хозяева этой бактерии большую часть года стали проводить в большой скученности на фермах; там у *E. coli*, которую они выделяли с экскрементами, были гораздо лучшие шансы найти себе нового хозяина, чем если бы те же коровы обитали в дикой природе. В последние несколько столетий с увеличением поголовья скота произошел резкий рост численности *E. coli* O157:H7: сначала при появлении коров в Новом Свете и позже, когда началось промышленное разведение скота

и в одном помещении стали содержать большое число животных. При этом бактерия благодаря нашим усилиям не просто размножилась и распространилась - не исключено, что она стала эволюционировать быстрее, потому что вирусы тоже получили возможность путешествовать от бактерии к бактерии, порождая все новые варианты штамма *E. coli* O157: H7.

Но эволюция *E. coli* - это не дорога в один конец, на которой безвредная бактерия неизбежно превращается в смертельно опасного паразита. Некоторые из самых смиренных штаммов *E. coli*, наоборот, произошли от ее патогенных разновидностей. Один из таких штаммов - AO 34/86 - защищает хозяина от бактерий, вызывающих диарею. Врачи иногда прописывают его недоношенным детям, чтобы защитить их недоразвитый кишечник. В 2005 г. ученые опубликовали расшифровку генома штамма AO 34/86. Они обнаружили гены, отвечающие за синтез убивающих клетку факторов, белков, вызывающих кровотечения, и других видов оружия, которые активно используют O157: H7 и прочие смертельно опасные штаммы. Судя по всему, AO 34/86 использует все свои темные возможности нам во благо: он основывает колонии в кишечнике младенца и таким образом лишает болезнетворные штаммы возможности найти место для поселения. Мы, конечно, можем попытаться разграничить природное разнообразие и четко разделить *E. coli* на убийц и защитников. Но эволюция не склонна к однозначности и всегда размывает границы.

### **Одна жизнь, множество хозяев**

Еще один пример размывания границ - тот рубеж, который пролегает между *E. coli* и инфицирующим ее вирусом. Эта граница кажется очевидной, когда видишь, как из лопнувшей оболочки *E. coli* выходят наружу сотни вирусов, чтобы заразить нового хозяина. В такой ситуации легко думать о них как о двух отдельных организмах. Но взаимоотношения *E. coli* с вирусами гораздо сложнее и многограннее. К примеру, умеренные бактериофаги могут, по крайней мере на время, встраиваться в хромосому микроорганизма. Но и здесь вирус еще держится за собственную идентичность. Он способен ощутить, когда хозяин начинает плохо себя чувствовать, и как раз в этот момент возвращается к привычной форме вируса-убийцы. А есть вирусы, которые тащат с собой груз генов, приносящих пользу хозяину, но бесполезных для них самих. Когда они встраиваются в геном *E. coli*, трудно определить, где кончается геном вируса и начинается геном хозяина. Некоторые вирусы оказываются пойманными в ловушку, навеки встроившись в геном *E. coli* благодаря мутациям, которые лишают их способности собирать новые вирусные частицы. Со временем мутационный процесс может привести к утрате большей части вирусной ДНК. Нетронутыми остаются лишь те гены, которые приносят хозяину пользу. Теперь с вирусами их связывает только происхождение.

Чтобы разобраться в непростых отношениях между *E. coli* и ее вирусами, полезно на время отказаться от обычной для человека позиции "я и все остальные" и подумать о жизни как о сложном и запутанном потоке генов. Гены, переносимые вирусом, в любой конкретный момент представляют собой сообщество эволюционных партнеров, чья совместная приспособленность выше, чем приспособленность любого из них в отдельности. Некоторые из этих сообществ благоденствуют лишь за счет того, что внедряются в хозяина и используют его для воспроизводства себе подобных. Но иногда случается, что интересы вируса и *E. coli* совпадают. К примеру, гены вируса будут тиражироваться успешнее, если вирус не станет убивать своего хозяина. Некоторые вирусы превращаются в своего рода странствующих добрых самаритян, приносящих с собой множество генов, полезных для хозяина, а в конечном итоге и для них самих. Путешествуя от одного биологического вида к другому, они испытывают все новые комбинации генов, и отбор подхватывает те из них, которые оказываются наиболее благоприятными для хозяина.

Отношения между вирусом и бактерией могут быть достаточно сложными; отношения вообще сложная штука. Так, вирус может быть одновременно полезным и вредным для своего хозяина - *E. coli*. К примеру, *E. coli* O157: H7 несет в себе гены вируса, в числе которых и ген, отвечающий за производство токсина. Возможно, бактерии получают пользу от производства токсина, поскольку он помогает защищаться от хищников; но для конкретных микроорганизмов, занимающихся его производством, ситуация выглядит далеко не так радужно. Вирус вынуждает микроорганизм производить одновременно и молекулы токсина, и новые копии самого вируса, и *E. coli* делает это, пока не лопнет.

Решение о производстве токсина принимает вирус, а не *E. coli*. Бактерия вырабатывает токсин в моменты стрессовых воздействий - именно поэтому врачи, как правило, при заболевании, вызванном *E. coli* O157: H7, не прописывают антибиотики. Лекарства стимулируют выход вирусов из клеток хозяина и тем самым превращают болезнь, которая

могла ограничиться приступом кровавого поноса, в потенциально смертельное заболевание с отказом некоторых органов. Тот факт, что вирус, размножаясь, убивает хозяина, пробуждает в нас едва ли не жалость к *E. coli* 0157: H7. Бактерия - точно такая же жертва вируса, как и человек. Даже после убийства первоначального хозяина вирусы продолжают наносить *E. coli* вред. Заражая обитающие в нашем кишечнике безвредные *E. coli*, они превращают их в фабрики по производству новых вирусов - и, разумеется, токсинов. Выработка токсинов после нападения вирусов на безвредные бактерии может возрасти тысячекратно.

Другие вирусы используют для выживания иные стратегии, не менее жестокие по отношению к *E. coli*. Вместо того чтобы убивать хозяина, они берут его в заложники. Один из таких вирусов - P1 - несет ген, отвечающий за производство рестрикционного фермента, или рестриктазы. Рестриктаза находит в молекуле ДНК определенный участок, прикрепляется к нему, а затем разрезает ДНК в этом месте. Тем не менее вирус P1 обычно не убивает *E. coli*. Для этого он синтезирует второй белок, который защищает бактерию от рестриктазы. Этот белок - ДНК - модифицирующий фермент метилаза - метилирует ДНК на тех же участках, где работает рестриктаза.

Почему вирус P1 производит одновременно токсин и антидот? Как и многие вирусы, он встроен в плазмиды *E. coli*. Всякий раз, когда инфицированный микроорганизм делится, он создает новые копии и собственной ДНК, и плазмид, несущих на себе P1; их наследуют оба потомка. Иногда, однако, происходит ошибка, и все плазмиды достаются только одному из них. Другая, свободная от вирусных плазмид бактерия, могла бы победить в соревновании за выживание, потому что ей не приходится тратить дополнительную энергию на копирование вирусной ДНК и производство его белков. Поэтому вирус P1 убивает ее, хотя в бактерии его и нет. Но линия *E. coli*, однажды инфицированная вирусом P1, уже не может без него жить и вот почему. Бактерия, которой не досталось плазмид, не получает вместе с ними и ДНК вируса, но какое-то количество готовых молекул рестрикционного и модифицирующего ферментов при делении родителя в него все же попадает. Молекулы рестриктазы прочны и долговечны, в то время как метилаза живет недолго. Когда *E. coli* утрачивает вирус, ее ДНК постепенно деметилируется. В результате ДНК бактерии становится уязвимой для рестриктазы, и та убивает микроорганизм. Иными словами, если вирус P1 инфицирует *E. coli*, жить без него она уже не способна.

Гены, отвечающие за производство рестриктазы и метилазы, имеются не только у P1. В хромосоме *E. coli* их множество. Генетик Итидзо Кобаяси из Токийского университета утверждает, что все они берут начало от генов, которые, по сути, держат своего носителя в заложниках. Кобаяси указывает также, что рестриктазы и метилазы, возможно, позволяют вирусам побеждать другие вирусы, которые пытаются захватить их хозяина. Новый вирус, только что проникший в клетку *E. coli*, не имеет пока защиты, которой давно обзавелись резидентные вирусы, и открыт для атак рестриктаз. Действительно, рестриктазы и метилазы могли возникнуть как средство обеспечить безбедную жизнь паразиту, но некоторые из них, очевидно, давно уже перешли под управление хозяина, то есть *E. coli*. Убивая проникающие извне вирусы, они превратились в своего рода примитивную иммунную систему бактерии.

Подобные конфликты между генами наблюдаются практически у всех видов. Так, многие насекомые инфицированы микроорганизмом *Wolbachia*, который способен жить только внутри их клеток. Его выживание полностью зависит от того, будет ли он унаследован следующим поколением. У такой стратегии один серьезный недостаток: вольбахия не умеет инфицировать сперму, а потому любой самец для нее - настоящий тупик. Иными словами, интересы генов вольбахии и хозяина - самца всегда противоречат друг другу.

Следует заметить, что вольбахия изобрела множество стратегий, нацеленных на победу в этой борьбе. У некоторых видов ос, к примеру, вольбахия каким-то образом заставляет инфицированных самок производить на свет только самок; мало того, она изменяет их потомков таким образом, что им для размножения уже не нужно спариваться с самцами. У других видов вольбахия попросту убивает у инфицированной самки все яйца, из которых должны вывестись самцы. При этом бактерии в них тоже погибают, зато в целом такая стратегия обеспечивает вольбахии репродуктивный успех. Инфицированные вольбахией яйца с зародышами женского пола продолжают развиваться, и выводящимся из них личинкам - самкам не приходится конкурировать за пищу с братьями. Более того, братья становятся для них пищей. Иными словами, вольбахия использует некоторые из стратегий, при помощи которых вирусы благоденствуют, поселившись в клетке *E. coli*.

И скрытая от глаз война между паразитом и хозяином, и размывание понятия биологического вида могут кому-то показаться явлениями чуждыми и нас совершенно не затрагивающими. Но дело в том, что человек вовсе не стоит над схваткой: мы и сами

подвержены мощному формирующему влиянию вирусов. Конечно, большинство вирусов просто внедряется в наши клетки и заставляет их производить собственные копии, которые затем покидают прежнего хозяина и отправляются искать себе нового. Но некоторые вирусы умеют встраивать свой генетический материал в геном клетки - хозяина. Если им удастся инфицировать сперматозоид или яйцеклетку, то эти вирусы передаются из поколения в поколение. Со временем вирусы мутируют и постепенно теряют способность покидать клетку - хозяина. А многие из них теряют и большинство своих генов. Остаются только инструкции по синтезу копий ДНК вируса и по встраиванию этой ДНК обратно в геном хозяина. В настоящий момент такие геномные паразиты составляют около 8 % человеческого генома. Недавние исследования позволяют предположить, что хозяину иногда удается обузывать геномных паразитов и заставлять их работать на себя. В геноме человека немало важных генов, которые, отвечая за столь разные процессы, как, например, производство антител и образование плаценты, вероятно, развились из генов, когда-то принадлежавших вирусам. Мы не выжили бы без вирусов - резидентов. Мы вновь и вновь убеждаемся: то, что верно для *E. coli*, верно и для слона. Где заканчиваются наши вирусы и начинаемся мы сами

## Глава 9. Палимпсест

### Послания из глубины веков

Когда в 1997 г. ученые опубликовали первую версию расшифровки генома *E. coli*, статья вышла под заголовком "Полная нуклеотидная последовательность генома *E. coli* штамма K-12". Строго говоря, это название можно считать примером ложной рекламы. Нигде в тексте статьи невозможно было найти перечисление всех 4 639 221 нуклеотидов упомянутого генома. Упущение это объясняется просто недостатком места: полный геном *E. coli* K-12 занял бы около тысячи журнальных полос! Тем, кому захотелось бы увидеть непосредственно генетический код бактерии, предлагалось заглянуть в Интернет.

Среди сайтов, на которых размещается этот код, можно назвать "Энциклопедию генов и метаболизма *E. coli* K-12", или коротко EсоСус. Этот сайт показывает геном *E. coli* в виде горизонтальной строки на экране, где каждый 50 000-ный нуклеотид помечен специальным значком. Если щелкнуть мышкой по значку, обозначенному 1 000 000, на экране появится увеличенное изображение 20 000 нуклеотидов с центром в указанной точке генома. Выше строки имеется линейка, показывающая расположение отдельных генов. Щелкнув на линейке ген *pyrD*, вы увидите составляющую его последовательность нуклеотидов. Если вам захочется увидеть что-нибудь более осмысленное, вы сможете почитать о функции, которую выполняет этот ген (создает некоторые "кирпичики", из которых строится РНК). EсоСус предоставит вам также информацию обо всех генах, которые управляют работой *pyrD*.

Вообще, если достаточно долгое время листать EсоСус, может возникнуть странное впечатление. Начинает казаться, что геном *E. coli* напоминает инструкцию по эксплуатации сложного наноустройства, придуманного и сделанного какой-то инопланетной цивилизацией. Ее геном содержит всю информацию, необходимую для сборки хитроумной машинки и управления ею. Эта машинка, подобно крохотному химическому заводу, легко расщепляет сахар; она способна плавать при помощи особых двигателей на протонах и умеет перепрограммировать свои системы, приспособляясь к чему угодно - от кислого желудочного сока до холодных сибирских зим.

Не стоит поддаваться этой иллюзии.

Изучив геном *E. coli* достаточно тщательно, вы найдете в нем сотни псевдогенов - инструкций с катастрофическими опечатками. Вы увидите гены вирусов, которые в стрессовой ситуации могут начать производить новые вирусные частицы, убивая тем самым своего хозяина. Другие инструкции почему-то оказываются неуклюжими, избыточными и излишне сложными. Третьи представляют собой откровенный плагиат и попросту скопированы где-то в другом месте.

Но там, где прекращает работать сравнение с инструкцией по эксплуатации, можно привлечь другие сравнения. Моя любимая метафора для генома - это старая зачитанная до дыр книга, хранящаяся в настоящий момент в Балтиморском музее искусств. Она была создана в X в. в Константинополе. Византийский переписчик скопировал на листы пергамента оригинальный греческий текст двух трактатов математика Архимеда. В 1229 г. священник по имени Иоганн Майронас разобрал книгу. Он смыл первоначальный греческий текст с пергамента при помощи сока или молока, убрал деревянные крышки и срезал корешок, а

затем переписал на эти листы пергамента христианский молитвенник. Такой пергамент, использованный вторично, ученые называют палимпсестом.

Несмотря на все усилия Майронаса, палимпсест Архимеда сохранил следы первоначального текста. После этого молитвенник много раз передавали из одной церкви в другую; он обгорел во время пожара, был закапан свечным воском; его не раз освежали при помощи новых рисунков; на нем успел поселиться фиолетовый грибок. В 1907 г. датский ученый по имени Йохан Людвиг Хейберг обнаружил, что потрепанный молитвенник - на самом деле единственная уцелевшая копия трактатов Архимеда на оригинальном греческом языке. Но при помощи одного только увеличительного стекла Хейберг смог различить лишь отдельные небольшие отрывки первоначального текста. Сегодня, столетие спустя, реставраторы способны на большее. Листы с трактатами Архимеда просвечивают рентгеновскими лучами, которые заставляют светиться атомы железа в оригинальных чернилах, и греческий текст становится виден. Успех реставраторов позволил современным ученым разглядеть новые грани гения Архимеда. Оказывается, он думал над исчислением бесконечно малых, рассматривал бесконечность и другие концепции, которые после него были вновь открыты лишь спустя несколько столетий.

Так вот, геном *E. coli* - не инструкция по эксплуатации, а живой палимпсест. *E. coli* K-12,0157: Н7 и остальные штаммы произошли от общего предка, жившего на Земле несколько миллионов лет назад. А сам этот общий предок произошел от еще более древних микроорганизмов, история которых тянется в прошлое на миллиарды лет. Генетическая история *E. coli* осложнена мутациями, дубликацией генов, вставками и потерями нуклеотидов; тем не менее в ее геноме уцелели следы более древних слоев текста, как следы трудов Архимеда в христианском молитвеннике.

До недавнего времени ученые располагали лишь грубыми орудиями для чтения этих скрытых слоев. Они мучились и корпели над геномом, как Хейберг с лупой над случайно обнаруженным сокровищем. Сегодня у них гораздо больше возможностей для изучения палимпсеста. Как и древний трактат Архимеда, геном *E. coli* - это книга мудрости, в которой содержится информация о том, как развивалась жизнь на Земле на протяжении миллиардов лет - как появлялись сложные генетические структуры, как эволюция, не обладая разумом, выполняла инженерную работу и конструировала живые существа. В геноме *E. coli* содержатся данные о ранних стадиях жизни на Земле, в том числе о том, каким был мир до возникновения ДНК. Не исключено, что когда-нибудь эта информация поможет ученым выяснить и происхождение самой жизни.

## Древо жизни

Чтобы прочесть палимпсест *E. coli*, ученым пришлось разобраться, какие части ее генома возникли недавно, а какие давно. Ответ можно найти в генеалогии микроорганизмов. Генеалогическое древо ныне живущих штаммов *E. coli* указывает на то, что все они произошли от одного общего предка, жившего, вероятно, 10–30 млн лет назад.

Если продвинуться еще дальше в прошлое, оказывается, что у *E. coli* есть общий предок и с другими видами бактерий. Если зайти в прошлое достаточно далеко, можно в конце концов обнаружить общего предка всех живых существ, включая и нас.

Реконструкция древа жизни - того, на котором есть место и для *E. coli*, и для человека, и для всех остальных живых существ на Земле, - стала одной из величайших задач современной биологии. В 1837 г. Чарльз Дарвин нарисовал первую версию эволюционного древа. На страничке своей записной книжки он набросал несколько соединенных у основания ветвей и подписал у кончика каждой из них букву, обозначающую вид. А на самом вершущу странички написал: "Я думаю".

Тот факт, что разные виды происходят от одного общего предка, объясняет, почему они во многом так похожи друг на друга. Скажем, при всех огромных различиях между летучими мышами и человеком и мы, и они - теплокровные пятипалые млекопитающие. Сам Дарвин не пытался определить, в каких конкретно родственных отношениях состоят все ныне живущие виды, но через несколько лет после публикации "Происхождения видов" за это взялись другие натуралисты. Немецкий биолог Эрнст Геккель рисовал великолепные раскидистые деревья с изящными, одетыми в кору ветвями. Позже ученые обнаружили, что во многих отношениях эти изображения были точны. Но все дело портил колоссальный антропоцентризм Геккеля. Для него история жизни на Земле была в первую очередь историей нашего собственного вида. Его деревья чем-то напоминали пластиковые новогодние елки: они представляли собой прямой вертикальный ствол, от которого во все стороны расходились ветки. Основание ствола

Геккель подписал словом Moneran (им он обозначал бактерии и другие одноклеточные организмы). Выше по стволу располагались ветви, представляющие более близкие нам виды - губки, миноги, мыши. А на самой верхушке размещался, естественно, человек.

Отказаться от такого взгляда на жизнь было нелегко. Вероятно, именно ему мы обязаны решением разбить все живое на прокариоты и эукариоты, предположительно примитивные бактерии и развившиеся из них "продвинутые" виды, такие как *Homo sapiens*. Это глубоко неверная точка зрения. Эволюция жизни - не только движение от простого к сложному. *E. coli*, к примеру, - вид, замечательно приспособленный к жизни в организме теплокровных существ, которые появились на Земле на несколько миллиардов лет позже, чем возникла жизнь. Эти бактерии столь же современны, как и мы сами.

Потребовалось немало времени, чтобы в науке возобладал более точный образ эволюционного древа. Одним из серьезнейших препятствий было отсутствие информации о том, в каких именно родственных отношениях состоит *E. coli* с другими бактериями или другие бактерии с нами. Чтобы сравнить человека с летучей мышью, нам достаточно воспользоваться глазами и внимательно изучить с их помощью волосяной покров, пальцы и другие подробности нашей общей анатомии. Однако под микроскопом многие бактерии выглядят как неопределенного вида палочки или шарики. Иногда микробиологам приходилось классифицировать виды бактерий исключительно по тому, способны ли представители вида питаться определенными сахарами или какой цвет они приобретают при окрашивании фуксином. Только с зарождением молекулярной биологии ученые получили, наконец, инструменты, которые позволили им начать построение истинного древа жизни. Эксперименты на *E. coli* помогли понять, что все живые существа базируются на одном и том же генетическом коде и одинаково передают генетическую информацию своим потомкам. Эти общие черты унаследованы ими от общих предков.

В 1970-е гг. биолог из Университета Иллинойса в Урбана - Шампейн Карл Вёзе придумал, как можно использовать единство биохимических механизмов для построения древа жизни. Вёзе и его коллеги разобрали рибосому (фабрику по производству белка) на составные части и исследовали 16S рРНК (одну из основных молекул рибосомы). Происходило это задолго до того, как биологи научились легко читать последовательности нуклеотидов в РНК и ДНК. Вёзе с коллегами обошелся более простыми средствами: он разрезал 16S рРНК *E. coli* при помощи вирусного фермента. После этого он разрезал тот же участок рРНК у других микроорганизмов и проверил, насколько они похожи между собой. Выяснилось, что многие участки 16S рРНК у всех видов совершенно идентичны. Значит, эти участки молекулы не менялись миллиарды лет. Измененные же участки показывали, какие из видов связаны более близким родством, а какие - более далеким.

Полученные результаты были, конечно, довольно грубыми и предварительными; тем не менее их хватило, чтобы существовавший несколько десятков лет в микробиологии консенсус рассыпался в прах. Стандартная классификация многих групп бактерий оказалась ошибочной. Но самое поразительное заключалось в том, что, по данным Вёзе и его коллег, некоторые бактерии генетически стояли ближе к эукариотам, нежели к другим бактериям. Иными словами, они вовсе не были бактериями. Вёзе с коллегами объявили, что биологические виды делятся не на два основных надцарства (или домена - термин, введенный Вёзе), а на три; третий домен получил название *Archaea*, или археи.

"Мы впервые начинаем различать общую филогенетическую структуру живого мира", - объявили ученые.

В течение следующих 30 лет ученые двигались по пути, указанному Вёзе, и изображение древа жизни становилось все подробнее. Исследователи обнаружили и изучили рибосомную ДНК у многих видов живых организмов; нашли другие гены, пригодные для сравнения; применили новые статистические методы, позволявшие получить более надежные результаты; обнаружили множество новых видов архей и подтвердили обоснованность выделения их в отдельный домен. На первый взгляд кажется, что археи похожи на бактерии, но на самом деле они обладают вполне конкретными отличительными свойствами: к примеру, клеточная стенка у них состоит из совершенно уникальных молекул.

Пытаясь измерить разнообразие жизни, Вёзе и его коллеги подсчитали число мутаций рибосомной РНК, накопившихся в различных ветвях эволюционного древа. Чем больше мутаций, тем длиннее ветвь - и дерево Вёзе оказалось совсем не похожим на дерево Геккеля. Все животное царство съежилось до небольшого пучка веточек, угнездившихся где-то в глубине домена эукариот. Нередко оказывалось, что две бактерии, которые выглядят под микроскопом совершенно одинаково, разделяет более глубокая эволюционная пропасть, чем та, что пролегает между нами и морскими звездами или, к примеру, губками. Одного взгляда

на дерево Вёзе было достаточно, чтобы ясно понять: эволюционная история любого вида бактерий - к примеру *E. coli* - вылилась бы в настоящий и весьма объемный роман.

## Дерево или паутина?

В 1980-е гг. у специалистов по древу жизни появились серьезные основания для беспокойства. Мало - помалу становилось ясно, что горизонтальный перенос генов - не просто забавная особенность лабораторной жизни бактерий и не следствие появления антибиотиков. Гены переходили от одного вида к другому задолго до того, как человек начал свои эксперименты с жизнью на Земле. Некоторые ученые опасались, что беспорядочные прыжки генов, если они происходят слишком часто, могут сделать построение эволюционного древа попросту невозможным.

При реконструкции древа жизни ученые сравнивают ДНК разных видов и получают наиболее вероятную схему взаимного расположения эволюционных ветвей, при котором могли возникнуть соответствующие различия. Генетический маркер, присутствующий у двух биологических видов и отсутствующий у всех остальных, может означать, что эти виды находятся в близком родстве. Но вся система генетических маркеров имеет смысл лишь в том случае, если гены живых организмов передаются ими только по наследству, от поколения к поколению. Ген, свободно переходящий от одного вида к другому, может создать иллюзию родства там, где на самом деле никакого родства нет.

Поначалу ученые в большинстве своем попросту отмахивались от подобных мыслей. Им по-прежнему казалось, что в течение миллиардов лет горизонтальный перенос генов не играл заметной роли. Восстанавливая структуру древа жизни, ученые предполагали, что редкими случайными прыжками генов можно пренебречь.

Позже ученые смогли лучше оценить частоту горизонтального переноса генов путем сравнения геномов.

В геномах человека и других животных свидетельств недавнего переноса генов обнаружить не удалось - и не удивительно, если принять во внимание наш способ размножения. В организме животного лишь несколько клеток - яйцеклетки и сперматозоиды - имеют шанс стать когда-нибудь новым организмом. А эти клетки практически не контактируют с другими видами, клетки которых могли бы в принципе передать им какие-то гены. (Главное исключение из этого правила - тысячи вирусов, обосновавшихся в нашем геноме.) Но в этом отношении животные - скорее исключение, чем правило. Оказалось, что бактерии, археи и одноклеточные эукариоты обмениваются генами с удивительной неразборчивостью. А передаваемые туда и сюда гены, по утверждению некоторых ученых, представляют серьезную угрозу мечтам о построении когда-нибудь полного и точного древа жизни.

В 2000 г. в журнале *Scientific American* вышла статья, в которой биолог Форд Дулиттл из Университета Далхаузи в Галифаксе проиллюстрировал серьезность этой угрозы. В статье были помещены две иллюстрации с изображением деревьев. На одной из них было древо жизни в том виде, в каком оно открывается при изучении рибосомной РНК: бактерии, археи и эукариоты аккуратно и упорядоченно расходились от общего предка. На втором рисунке автор попытался показать, как могло бы в действительности выглядеть древо жизни; там было изображено дерево, растущее, подобно мангровым зарослям, из множества корней и представляющее собой беспорядочный клубок побегов. Некоторые его части походили не столько на дерево, сколько на паутину.

Как большинство научных дискуссий в биологии, спор "Дерево или паутина?" не имеет однозначного, единственно верного решения. Сторонники паутиной теории, такие как Дулиттл, не отрицают, что организмы связывает друг с другом более или менее близкое общее происхождение. Они просто считают, что поиски истинного древа жизни путем сравнения генов ни к чему не приведут. Сторонники классической древесной версии, в свою очередь, не отрицают ни факта горизонтального переноса генов, ни его значения в истории жизни. Они просто утверждают, что исследование правильно выбранных генов поможет вскрыть истинные отношения между всеми живыми организмами на Земле.

Когда ученые впервые стали сравнивать полные геномы многих видов, некоторые из них решили, что эволюционная схема в виде дерева остается в силе. В частности, к этому выводу пришел Говард Охман с коллегами, которые исследовали *E. coli* и дюжину других бактерий. Ученые обнаружили ряд генов, которые, по всей видимости, переместились в их геномы с помощью горизонтального переноса. Но большинство этих генов переменили место жительства недавно, уже после того как исследованные виды отделились друг от друга.

Как выяснили ученые, горизонтальный перенос генов - вещь обычная, но немногим генам - иммигрантам удается удержаться на новом месте. Многие из них выводятся из строя мутациями, превращаясь в псевдогены. Время от времени другие мутации полностью вырезают их из генома, и бактерия не замечает потери. Но часть генов, перенесенных в геном предков *E. coli* и других бактерий, закрепляется в новых хозяевах надолго и обнаруживается там и в наши дни. Чтобы избежать забвения, они становятся домоседами и прекращают свои скитания. После того как вирус встраивает их в геном хозяина, они больше не покидают насиженного места. Охман и его коллеги сделали заключение, что даже с учетом генов, курсирующих между ветвями древа жизни, эти ветви остаются вполне обособленными.

## Дорога к эшерихии

Новейшая версия эволюционного древа совершенно не похожа на стройную зеленую колонну Геккеля. Сегодня ученые могут без труда сравнивать тысячи видов одновременно, и единственный способ нарисовать все выявленные при этом ветви - это расположить их по кругу, как спицы в колесе. В центре колеса находится последний общий предок всей современной земной жизни. От центра можно двигаться наружу, от ветки к ветке, по следам конкретной эволюционной линии. Чтобы добраться до нашего собственного побега на этом дереве, следует сначала подняться до общего предка архей и эукариот, а оттуда уже свернуть на ветвь эукариот и дальше двигаться по ней. Наши предки были одноклеточными простейшими еще примерно 700 млн лет назад. На этом участке находятся развилки, на которых наша ветвь разошлась с теми, что в дальнейшем дали начало многоклеточным растениям и грибам; нас же со временем выбранный путь приведет в царство животных. Держитесь верного пути и доберетесь вслед за нашими предками до момента, когда они стали позвоночными. По пути будут ответвляться боковые побеги, ведущие к другим позвоночным: рыбкам данио, курам, мышам, шимпанзе. В конце концов ветвь, по которой вы следуете, завершится видом *Homo sapiens*.

Но достаточно о нас. К *E. coli* от общего предка ведет совсем другая дорога. Если пойти по ней, то путешествие получится столь же длинным и нисколько не менее интересным.

Последний общий предок всех живых организмов на Земле был, вероятно, куда проще *E. coli*. Сегодня каждый биологический вид на планете несет в себе некоторое количество уникальных генов, но существуют и гены, которые можно обнаружить у всех без исключения современных видов. Вероятно, эти универсальные гены - наследие последнего общего предка. Простой поиск универсальных генов дает короткий список, где их содержится всего лишь около двухсот. Вероятно, геном общего предка был длиннее, ведь в процессе эволюции много генов было утрачено. По оценке Христоса Узуниса и его коллег из Европейского института биоинформатики в Кембридже, полный геном общего предка содержал от 1000 до 1500 генов. Но даже если Узунис прав, у последнего общего предка всех живых существ было втрое или вчетверо меньше генов, чем имеет сегодня типичный штамм *E. coli*.

Последний общий предок не был единственным властелином древней Земли. Он делил планету с бесчисленным количеством других микроорганизмов. Со временем, однако, все прочие ветви древа жизни высохли, и уцелела только одна - наша. Мир, где жили эти древние микроорганизмы, принципиально отличался от современного нам мира. Четыре миллиарда лет назад Землю то и дело сотрясали космические катастрофы - результаты ее столкновений с гигантскими астероидами и небольшими планетами. Во время некоторых из этих столкновений, возможно, на Земле выкипали даже океаны. Затем вода медленно возвращалась на поверхность планеты и вновь собиралась в моря; пока это происходило, жизнь пряталась в трещинах на океанском дне. Возможно, тот факт, что часть древнейших веточек на эволюционном дереве принадлежит теплолюбивым видам, обитающим в подводных гидротермальных источниках, - не просто совпадение.

Как только Земля стала более пригодной для жизни, потомки общего предка не замедлили по ней расселиться. Они распространились по морскому дну, образовали рифы и бактериальные маты<sup>[22]</sup>. Над морской гладью поднялись материки, и древние существа двинулись на сушу, формируя налеты и корки на камнях. Одновременно они брали на вооружение новые способы питания и роста. Некоторые бактерии и археи поглощали двуокись углерода и использовали в качестве источника энергии железо или другие химические вещества из глубоководных термальных источников. Именно они создали запас органического углерода, которым начали питаться другие микроорганизмы.

Не исключено, что от этих древних нахлебников и произошла *E. coli*. Ясно, что 3 млрд лет назад ее предки никак не могли жить внутри организма человека, да и никакого другого

животного тоже. Данные о некоторых ближайших современных родичах *E. coli* (группа, известная под названием гамма - протеобактерии) позволяют сделать некоторые предположения о том, чем могли заниматься предки *E. coli* 3 млрд лет назад. Одни из них питаются нефтью, которая просачивается сквозь океанское дно. Другие живут на склонах подводных вулканов и приклеиваются к проплывающим мимо кусочкам белка, которые потом расщепляют. Возможно, *E. coli* получила свой обмен веществ в наследство именно от таких иждивенцев - добытчиков углерода.

Сложную общественную жизнь - привычку к формированию биопленок, применение колицинов в качестве биологического оружия и тому подобное - *E. coli*, вполне возможно, тоже унаследовала от свободноживущих морских предков. По крайней мере современные водные бактерии ведут исключительно активную общественную жизнь и гораздо чаще обитают в биопленках, нежели свободно плавают сами по себе.

Около 2,5 млрд лет назад предки *E. coli* сильно пострадали от катастрофы планетарного масштаба: в атмосфере Земли начал накапливаться кислород. Для нас кислород - необходимое условие жизни, но на древней Земле это был настоящий яд. Первоначально атмосфера планеты представляла собой густой туман из смеси разных молекул, включая и такой парниковый газ, как метан; его вырабатывали бактерии и археи. Свободный кислород был редок - отчасти потому, что его молекулы очень быстро вступали в реакцию с железом и другими элементами и образовывали новые молекулы. Жизнь сумела изменить химию планеты, когда некоторые из бактерий развили способность поглощать и использовать солнечный свет. Кислород у них возникал как побочный продукт реакции, и спустя 200 млн лет он начал накапливаться в атмосфере. Но кислород может быть смертелен для живых существ, которые не умеют себя защитить. Его атомная структура такова, что кислород способен вырывать атомы из других молекул и вступать с ними в связь. Возникающие при этом кислородосодержащие соединения могут натворить в клетке немало дел: они разрушают ДНК и другие попавшиеся на пути молекулы.

Первые 1,5 млрд лет существования жизни планета, к счастью, была свободна от этой напасти. Но 2,5 млрд лет назад уровень содержания кислорода в воздухе вырос десятикратно. За это время многие виды, вероятно, вымерли, а другие укрылись в таких местах, где содержание кислорода по - прежнему оставалось низким, - в толще ила, к примеру, или на океанском дне. Но некоторые виды - включая и предков *E. coli* - приспособились. Они обзавелись генами, способными защитить их от токсичного действия кислорода, а защитившись, изменили свой метаболизм так, чтобы получать от кислорода пользу; при помощи кислорода они научились значительно более эффективно, чем прежде, извлекать энергию из пищи. Однако и до сего дня *E. coli* сохраняет способность пользоваться как древним бескислородным метаболизмом, так и более новой кислородной версией, а также переключаться между ними в зависимости от того, сколько кислорода микроорганизм обнаруживает в окружающей среде.

Еще одна серьезнейшая революция, которую пережили предки *E. coli*, была результатом деятельности наших собственных предков. Биологи считают, что в древности примитивные эукариоты были главными хищниками на Земле. Эти существа очень напоминали сегодняшних амёб и так же рыскали в толще земли и воды в поисках добычи, которую они в состоянии поглотить. Естественный отбор благоприятствовал тем бактериям, которые способны были защитить себя от этих хищников. Надо сказать, что сегодня бактерии располагают внушительным арсеналом средств защиты от амёб и других хищников - эукариот. Они умеют производить токсины и вводить их внутрь амёбы при помощи микроскопического "шприца". Хищникам не так-то легко проникнуть в созданные ими биопленки. Даже будучи съеденными, бактерии продолжают бороться и всячески пытаются избежать гибели.

В некоторых случаях бактериям, возможно, удалось поменяться с хищником местами. Сегодня амёба может заболеть от бактериальной инфекции, вызванной теми видами, которые научились проникать в клетки хищников - простейших и прекрасно там себя чувствуют. Другие бактерии выказывают больше благодарности и в обмен на жилище обеспечивают одноклеточных простейших необходимыми для жизни химическими веществами. Когда-то эукариоты таким образом обзавелись бактериями, дышащими кислородом<sup>[23]</sup>, и эти бактерии с тех пор стали частью наших с вами клеток. В свою очередь, предки водорослей обзавелись фотосинтезирующими бактериями, и среди их потомков - все растения, которые делают нашу Землю такой зеленой. Благодаря партнерам - бактериям на материках получили возможность развиваться крупные экосистемы с лесами, степями и болотами, ставшие домом для животных всех сортов - от насекомых до млекопитающих.

Потомки хищников - эукариот, гонявшихся несколько миллиардов лет назад за бактериями, теперь сами стали новой экосистемой, которую бактерии успешно освоили. Тысячи микроорганизмов сумели приспособиться к богатому пищевой царству - кишечнику животных; среди этих тысяч и предки нашей *E. coli*. Эти бактерии принесли с собой способность расщеплять органические вещества, обмениваться между собой информацией и сотрудничать. Они прошли долгий путь от общего предка всех живых организмов, но, выбрав в качестве среды обитания внутренности животных, они по - своему вновь соединили давно разошедшиеся ветви древа жизни.

## ***E. coli* в суде**

Здание федерального суда в городе Гаррисберг (штат Пенсильвания) представляет собой невыразительную коробку из темного стекла. Здешние судьи разбирают в основном скучные конфликты по поводу работы похоронных контор, лицензий на продажу алкоголя, парковок при аэропортах. Но в 2005 г. здание суда оказалось неожиданно наводнено толпами людей - репортеров, фотографов и просто зевак. Всех их привлекло одно и то же дело: Китцимиллер против управления образования округа Дувр. Одиннадцать родителей из небольшого городка Дувр подали иск против местного совета по образованию. Обвинение состояло в том, что совет ввел религию в программу занятий по естественнонаучным дисциплинам. Дело привлекло внимание мировой общественности, поскольку суду впервые предстояло рассмотреть креационизм в его самом свежем воплощении, известном как теория разумного замысла. Процесс стартовал 26 сентября 2005 г. В зале установили проекторы, чтобы адвокаты и эксперты, приглашенные в качестве свидетелей, могли демонстрировать на большом экране картинку, иллюстрирующую их точку зрения. На экране снова и снова появлялась одна и та же картинка: изображение жгутика *E. coli*.

За последние 25 лет этот самый жгутик стал буквально иконой креационизма - молекулярным оружием, при помощи которого сторонники креационизма рассчитывали поразить зло, олицетворением которого служили Дарвин и его последователи. Десятилетиями креационисты демонстрировали жгутик бактерий на лекциях и в книгах как явный пример мастерства божественного дизайнера. Но до судебного процесса в Дувре у них не было возможности представить жгутик миру.

Их стратегия потерпела полное поражение. По завершении процесса судья Джон Джонс вынес решение против школьного совета - отчасти потому, что доказательства разумного замысла при конструировании жгутика оказались такими слабыми. Более того, бактериальный жгутик - прекрасный пример того, как работает эволюция; из этого примера ясно видно, почему креационизм как наука терпит поражение.

Креационизм - вера в то, что разнообразие земной жизни возникло в результате целенаправленных действий божественного творца - впервые проявил себя как серьезная сила в американской истории в начале XX в. Но креационизм никогда не был единым комплексом непротиворечивых идей. Некоторые его сторонники утверждали в соответствии со Священным Писанием, что миру всего несколько тысяч лет, тогда как другие все же принимали геологические доказательства возраста нашей планеты. Одни твердили, что теория эволюции должна быть неверна, поскольку противоречит Библии. Другие пытались оспаривать конкретные доказательства эволюции, утверждая, что биологические виды слишком отличаются друг от друга и никак не могли произойти от одного общего предка. Они указывали на отсутствие среди окаменелостей переходных форм - таких, к примеру, которые могли бы связать китов с сухопутными млекопитающими; эти пробелы, говорили они, доказывают со всей очевидностью, что промежуточные формы просто не могли существовать. Когда же палеонтологи обнаружили окаменелости некоторых переходных форм - таких, например, как киты с ногами, - креационисты просто переметнулись на другие лакуны в знаниях.

Креационистам не удалось нарушить сложившийся в научном мире консенсус, но в средней школе им повезло больше. В 1920–е гг. законодатели штатов начали запрещать преподавание теории эволюции в школах, и многие из этих законов действовали более 30 лет. Только в 1968 г. Верховный суд США постановил, что запрет на преподавание теории эволюции в школах равноценен навязыванию учащимся религии. Поняв, что изолировать школу от теории эволюции не удастся, креационисты сменили тактику и решили ввести в школьную программу и креационизм. Они утверждали, что креационизм - это строгая научная дисциплина, которая, безусловно, заслуживает, чтобы ее преподавали в школах. Самозванные "ученые - креационисты" основали множество организаций со звучными названиями, таких

как Институт креационистских исследований, и стали работать над учебником, который затем рассчитывали ввести в школах. Для этого они начали искать в природе вещи, которые можно было бы объявить научными доказательствами теории разумного замысла.

Надо сказать, что со времени рождения креационизма биология очень изменилась. Молекулярные биологи научились погружаться в изысканную сложность клетки, где обнаружались целые комплексы белков, работающих по общему сценарию, как части единого механизма. Креационистам необходимы были структуры, которые можно было бы объявить результатом разумного акта творения, а не эволюции; они выбрали несколько объектов, в том числе и жгутик *E. coli*.

В 1981 г. Ричард Блисс, председатель отдела образования Института креационистских исследований, приехал в двухгодичный колледж на западе Арканзаса, чтобы прочитать лекцию о креационистской науке. Он рассказал своей аудитории о том, что в креационистской модели мира "нам следовало бы ожидать фантастической упорядоченности - и она реально существует, ребята. Существует упорядоченность на макрои микроуровне. Чем глубже мы проникаем на молекулярный уровень, тем чаще видим ее. Упорядоченность всюду; она буквально бросается в глаза". В качестве примера такой упорядоченности Блисс показал слушателям изображение *E. coli*.

Блисс подробно описал жгутик бактерии, назвал белки, задействованные в его сборке (а их немало), объяснил, как они, работая совместно, заставляют жгутик вращаться. "Мне нравится называть это двигателем автомобиля "мазда"", - сказал Блисс. Он выразил надежду на то, что школьникам, наряду с "эволюционной моделью" жгутика *E. coli*, будут преподавать и его "креационистскую модель", а затем учащиеся смогут сделать самостоятельный выбор. "Это интереснейшая наука и интереснейшее образование", - заметил Блисс.

Аргументы такого рода убедили законодательные органы некоторых штатов принять законы, требующие включения креационистской науки в школьную программу наряду с теорией эволюции. Однако в 1980-е гг. Верховный суд отменил эти законы. Суд постановил, что креационистская наука таковой не является.

Креационисты вновь провели перегруппировку. Они убрали из своей риторики всякие упоминания о креационизме, акте творения или творце. Вместо этого они выдвинули утверждение о том, что жизнь демонстрирует признаки того, что они назвали "разумным замыслом". ДНК, белки и молекулярные машины попросту слишком сложны, чтобы появиться в результате эволюции и естественного отбора, утверждали они. Эти молекулы были организованы таким образом путем сознательного усилия, и их упорядоченность говорит о том, что все это - работа разумного дизайнера. Кто такой - или что такое - этот разумный дизайнер, сторонники этой теории не говорили, по крайней мере публично.

Одно из самых поразительных свидетельств превращения креационизма в теорию разумного замысла - это трансформация учебника, который первоначально назывался "Креационистская биология", или "Биология творения" (Creation Biology). Одно из техасских издательств начало работу над рукописью этого учебника в начале 1980-х гг., но после постановлений Верховного суда редакторы начали потихоньку заменять слово "креационизм" в нем на "разумный замысел", слово "творец" - на "разумный дизайнер", а слово "креационист" - на "сторонник теории разумного замысла". В остальном текст практически не менялся. В 1989 г. учебник вышел наконец из печати, но вместо "Биологии творения" издатели назвали его "О пандах и людях" (Of Pandas and People).

Разумеется, все доказательства творения, в том числе и пресловутый жгутик, теперь стали свидетельствами разумного замысла. Ричард Ламсден из Института креационистских исследований в статье, опубликованной 1994 г. в журнале Общества креационистских исследований (организация, в которой заправляют сторонники "креационизма молодой Земли"), описывал его очень подробно и с восторгом: "В отношении биофизической сложности бактериальный мотор - жгутик не имеет аналогов в живой природе, - писал Ламсден. - Он стал источником вдохновения для конструкторов и промышленных микромехаников, хотя даже самые передовые достижения в области новейших технологий не позволяют реализовать подобный механизм на практике. Тем не менее потенциально в нем скрыты богатейшие практические возможности. Для эволюционистов эта система представляет полнейшую загадку; креационистам она предлагает ясное и убедительное свидетельство целенаправленного разумного замысла".

Пока одни сторонники разумного замысла продолжали называть себя креационистами, другие громогласно отрекались от этого термина. Они утверждали, что разумный замысел не имеет никакого отношения к религии, что это просто научный поиск доказательств разумного устройства природы. У них жгутик *E. coli* тоже служил любимым примером. Уильям Дембски,

философ из Юго- Западной баптистской теологической семинарии, даже поместил его на обложку своей книги "Бесплатных завтраков не бывает" (No Free Lunch). В книге же он представил расчет вероятности того, что жгутик *E. coli* мог образоваться случайным образом. Вероятность у него получилась исчезающе малой, и Дембски счел это доказательством того, что жгутик был сотворен разумным дизайнером. Правда, и биологи, и математики отвергают доводы Дембски, потому что они, в сущности, не имеют никакого отношения к делу. Мутация может быть случайной (по крайней мере в том смысле, что возникают при мутациях не только те варианты, которые действительно будут полезны организму), но естественный отбор подхватывает только вполне определенные мутации.

Дембски и другие пропагандисты теории разумного замысла утверждали, что реальным творцом, или дизайнером, мог быть какой-нибудь инопланетянин или путешественник во времени. Но сами они были уверены, что этот дизайнер - Господь Бог. Дембски писал, что теория разумного замысла - это, по существу, теология новозаветного Евангелия от Иоанна. И никакие разговоры о пришельцах и путешественниках во времени не отпугивали от этого учения консервативные религиозные организации. Напротив, эти организации приветствовали появление теории разумного замысла. Так, крупная американская евангелическая организация Focus on the Family призывала своих членов требовать, чтобы книгу "О пандах и людях" использовали в школах одновременно с изучением теории эволюции. В 2002 г. журнал этой организации опубликовал статью Марка Хартвига, в которой автор до небес превозносил теорию разумного замысла. Через двадцать с лишним лет после лекции Бласса в Арканзасе креационисты по - прежнему представляли *E. coli* в числе главных и лучших примеров.

"Дарвинисты не учитывают аргументов, выдвигаемых сторонниками разумного замысла, они лишь твердят, что живые организмы созданы этими безмозглыми процессами - случайными мутациями и естественным отбором, - писал Хартвиг. - Но достижения молекулярной биологии не оставляют камня на камне от этих утверждений. Представьте себе, к примеру, крошечный навесной моторчик, который такие бактерии, как *E. coli*, используют для передвижения. Это хитроумное устройство с водяным охлаждением, называемое жгутиком, снабжено также реверсивным двигателем, универсальным шарниром и длинным гибким пропеллером. Оно делает 17 000 оборотов в минуту". Хартвиг указывал, что для создания жгутика должны согласованно работать 50 генов. Если хотя бы один ген из этого комплекта окажется изменен в результате мутации, жгутик получится ущербным. Поэтому не существует промежуточных шагов, посредством которых жгутик мог развиваться постепенно в ходе эволюции. "Подобные системы попросту отвергают дарвиновские объяснения", - объявил Хартвиг.

Focus on the Family была не единственной организацией, пытавшейся протащить книгу "О пандах и людях" в государственные средние школы. В 2000 г. христианская юридическая организация "Правовой центр имени Томаса Мора" начала рассылать юристов по школьным советам Соединенных Штатов. Адвокаты убеждали советы ввести изучение этой книги и обещали защищать их в суде, если последуют иски. "Мы станем вашим щитом против подобных атак", - сказал Совету по образованию города Чарльстона Роберт Миз, один из таких адвокатов. (Правовой центр имени Томаса Мора называет себя "мечом и щитом людей веры".) Школьные советы Мичигана, Миннесоты, Западной Вирджинии и других штатов отвергли предложение организации.

Но в 2004 г. в сельском округе Дувр (штат Пенсильвания) адвокатам Центра имени Томаса Мора наконец повезло. Дуврский совет по образованию решил внедрить в своих школах изучение теории разумного замысла. Один из членов совета договорился о том, что в дар школьной библиотеке будет преподнесено 60 экземпляров книги. Местный школьный совет добавил новое положение к программе изучения естественных наук. "Учащимся, - говорилось в ней, в частности, - необходимо сообщить о пробелах/проблемах теории Дарвина и о других теориях эволюции, включая теорию разумного замысла, но не ограничиваясь ею".

Совет по образованию также потребовал, чтобы учителя зачитывали учащимся на уроках биологии еще одно заявление. Они должны были говорить, что эволюция - это лишь теория, а не факт (запутывая при этом природу и факта, и теории). "Разумный замысел - это объяснение происхождения жизни, отличающееся от взглядов Дарвина, - говорилось далее в заявлении. - Справочное издание "О пандах и людях" может помочь учащимся при желании изучить этот взгляд на происхождение жизни глубже и понять, что на самом деле представляет собой разумный замысел. Учащимся предлагается воспринимать эту теорию, как и любую другую, непредвзято".

Дуврские учителя - естественники отказались зачитывать этот текст. Они заявили, что сделать это означало бы нарушить данную ими клятву никогда не предоставлять своим ученикам ложной информации. Вместо них текст пришлось зачитывать представителям школьной администрации, специально для этого появившимся в классе. Когда любопытные школьники интересовались, что представляет собой разумный дизайнер, стоящий за этой теорией, администратор советовал им спросить у родителей и уходил.

Два месяца спустя одиннадцать родителей подали в суд. Их адвокаты попытались доказать, что текст заявления нарушает первую поправку к конституции, поскольку представляет собой запрещенную ею попытку навязывания определенной религии. И однажды осенним днем судебный процесс начался.

Родители и учителя, вызванные в суд по просьбе истцов, рассказывали, как совет по образованию давил на учителей, вынуждая их прекратить преподавание "эволюции от обезьяны к человеку", и обещал вернуть в школу Бога. Защита пригласила в суд двух экспертов - биологов - Скотта Миннича из Университета Айдахо и Майкла Бехе из Лехайского университета. Как и Дембски, Миннич и Бехе активно сотрудничают с организацией Discovery Institute, которая базируется в Сиэтле и является ведущей силой в продвижении теории разумного замысла.

Майклу Бехе, несмотря на неоднократные попытки, так и не удалось опубликовать статью с обоснованием теории разумного замысла по результатам оригинальных исследований в рецензируемом биологическом журнале. Вместо этого ему приходилось довольствоваться устными выступлениями и выражением своего мнения в книгах и специальных газетных колонках. Бехе заявляет, что некоторые биологические системы никак не могли развиваться в результате естественного отбора, поскольку они имеют, как он выражается, "не подлежащий упрощению уровень сложности". Он утверждает, что системой с не подлежащим упрощению уровнем сложности называется "единая система, состоящая из нескольких хорошо подогнанных, взаимодействующих между собой частей, которые участвуют в выполнении общей функции; при этом удаление хотя бы одной из частей приводит к нарушению функциональности". С его точки зрения естественный отбор не мог постепенно привести к возникновению подобной системы, потому что он должен был начать с чего-то, что не способно работать. "Если некая биологическая система не может быть получена путем постепенных изменений, значит, она должна была появиться вся разом, уже как сложное целое", - заключает он.

Бехе приводит несколько примеров не подлежащей упрощению сложности. Один из любимых примеров - уже знакомый нам бактериальный жгутик. Бехе утверждает, что эта система, очевидно, слишком сложна, чтобы развиваться из более простого предшественника. На фоне загадки и чуда жгутика, пишет Бехе, "Дарвин смотрится жалко".

На процессе в Дувре Бехе вывел на экран в зале суда иллюстрацию из учебника с изображением жгутика *E. coli* и принялся традиционно восхищаться его устройством. "Вероятно, мы могли бы назвать этот процесс Судом над бактериальным жгутиком", - сказал один из адвокатов школьного совета.

Бехе тщательно перечислил многочисленные составные части жгутика и сказал судье Джонсу, что эволюция по Дарвину никак не могла привести к возникновению такой не подлежащей упрощению сложности. "Когда видишь целенаправленное сочетание частей, сразу понимаешь, что без проекта не обошлось", - сказал он. Жгутик, объяснил Бехе, сконструирован специально как средство передвижения бактерий и построен из множества взаимодействующих частей, точно так же, как навесной мотор для лодки. "Это настоящая машина, подобный механизм вполне мог бы сконструировать человек", - сказал он.

Свидетели истцов тоже готовы были поговорить о бактериальном жгутике, чтобы на конкретном материале опровергнуть утверждения Бехе по поводу не подлежащей упрощению сложности. Биолог Кеннет Миллер из Университета Брауна указал, что заявления Бехе о не подлежащей упрощению сложности можно проверить. Бехе, напомнил Миллер суду, определил систему с не подлежащей упрощению сложностью как систему, которая не могла бы работать без любой из своих составных частей. После этого Миллер показал суду компьютерную анимацию работы жгутика. Он начал разбирать "механизм", снимая с него детали не по одной, а десятками. Пропала нить жгутика. Исчез универсальный шарнир. Пропал мотор. Когда Миллер закончил, остался только молекулярный "шприц", при помощи которого бактерия подает в жгутик новые формирующие нить молекулы.

Миллер удалил значительную часть системы с не подлежащей упрощению сложностью, о которой так много говорилось. Согласно определению Бехе, оставшееся никак не должно было бы функционировать отдельно. Однако остаток тоже работает. Те десять белков, из которых

состоит "шприц", почти идентичны как по последовательности, так и по расположению, известной молекулярной машине - так называемой секреторной системе III типа<sup>[24]</sup>. Это тот "шприц", при помощи которого *E. coli* 0157: H7 и другие болезнетворные штаммы вводят токсины в клетку - хозяина.

"Мы действительно разбираем этот механизм на составные части и - глядите-ка! - получаем целый набор разных полезных функций, одну из которых я только что вам указал; это секреторная система III типа, - свидетельствовал Миллер. - В обычных научных терминах это означает, что аргумент, представленный доктором Бехе, опровергнут, неверен; ему пора возвращаться к исходной точке".

Бехе попытался принизить значение показаний Миллера. Когда он говорил, что система, теряя часть, теряет и функциональность, пояснил он, что на самом деле имел в виду утрату *конкретной* функции. Удалив часть жгутика, заявил Бехе, Миллер получил некое устройство, которое никак не сможет приводить микроорганизм в движение. "Если убрать эти части, система уже не сможет работать как роторный двигатель", - сказал Бехе.

Затем он заявил, что из рассказа Миллера большинство слушателей сделало вывод о том, что жгутик развился именно из секреторной системы III типа, - утверждение, с которым согласны не все биологи - эволюционисты. Некоторые говорили об обратной возможности - о том, что жгутик эволюционировал в секреторную систему III типа; третьи считали, что обе структуры развились от общего предка независимо. Стоит заметить, что на самом деле Миллер ничего такого не говорил. Он просто проверил утверждения Бехе, тщательно следуя его собственным словам. И заявление Бехе проверки не выдержало.

В ходе судебного процесса стало ясно, что Бехе выдвигает перед учеными, которые взялись бы объяснить происхождение бактериального жгутика - или любой другой системы, предположительно обладающей не подлежащей упрощению сложностью, - довольно странные требования. "Чтобы меня убедить, потребуется не только пошаговый анализ, мутация за мутацией, - сказал он. - Я хотел бы также получить другую важную информацию: узнать, к примеру, размер популяции, в которой происходят эти мутации, какова их селективная ценность, нет ли у них какого-то негативного эффекта. Подобных вопросов множество".

Конкретно для жгутика Бехе предложил эволюционным биологам идею следующего эксперимента по опровержению принципа не подлежащей упрощению сложности. "Чтобы опровергнуть такое утверждение, ученому следовало бы отправиться в лабораторию, подвергнуть несколько видов бактерий, не обладающих жгутиками, давлению отбора в направлении приобретения подвижности, затем вырастить, скажем, 10000 поколений и посмотреть, появится ли у них жгутик или какая-нибудь другая, но столь же сложная система. Если это произойдет, мои утверждения действительно можно будет считать опровергнутыми".

Затем Бехе был подвергнут перекрестному допросу с участием Эрика Ротшильда, одного из адвокатов со стороны истцов, то есть дуврских родителей. Ротшильд указал на явные нестыковки в показаниях свидетеля. Предложение пронаблюдать процесс эволюции жгутика в лаборатории, к примеру, демонстрирует неуважение свидетеля к масштабу эволюции. Эксперимент на 10 000 поколений бактерии может продлиться около двух лет, тогда как в природе эти существа эволюционировали три с лишним миллиарда лет. Кроме того, в типичном микробиологическом эксперименте ученые изучают в лучшем случае несколько миллиардов бактерий, а мировая популяция микроорганизмов насчитывает их буквально бесчисленное количество. Так что отсутствие эволюционных изменений в лабораторной культуре микроорганизмов не докажет решительно ничего - и уж, конечно, не станет свидетельством разумного замысла.

Выдвигая биологам - эволюционистам абсурдные требования, Бехе практически ничего не требовал от себя. Он не считал нужным пояснить пошагово, как именно разумный дизайнер создавал бактериальный жгутик (а также когда, где и зачем). Разумный замысел, сообщил он суду, "не предлагает никакого механизма в смысле пошагового описания того, как возникли эти структуры". Чтобы назвать некую систему творением разумного замысла, Бехе достаточно было убедиться, что она похожа на результат разумной конструкторской деятельности. "Видя сложную структуру из нескольких согласованно работающих частей, мы всегда обнаруживаем, что это результат целенаправленного конструирования, - говорил он. - На что же еще можно опереться, кроме как на внешние проявления?"

Подобные аргументы убедили судью Джонса в том, что как научная теория разумный замысел ничего собой не представляет. В декабре 2005 г. суд постановил, что книге "О пандах и людях" нечего делать в школьных классах Дувра. "Прозвучавшие на процессе свидетельства продемонстрировали, что разумный замысел - не что иное, как дитя креационизма", - записал

Джонс в своем решении. На примере бактериального жгутика он показал, насколько близки и неразличимы две концепции.

"Креационисты утверждали, что сложность бактериального жгутика свидетельствует о его сотворенности; сегодня профессор Бехе и Миннич говорят то же самое о разумном замысле", - записал он.

Дуврский процесс стал катастрофой для креационистов. Члены школьного совета, поддержавшие введение "О пандах и людях" в школьную программу, еще до конца процесса потерпели поражение от противников такой политики. Члены советов по образованию Канзаса и Огайо, поддерживавшие преподавание разумного замысла, тоже потеряли свои места. Решение судьи Джонса было весьма тщательно проработано, и теперь оно, вероятно, станет прецедентом для всех будущих судебных дел о преподавании креационизма, под какой бы маской он ни прятался.

Примечательно, что креационисты несмотря ни на что по-прежнему обожают *E. coli*. Доступная научно-исследовательская сеть (Access Research Network) - еще одна организация, занятая пропагандой разумного замысла, - разместила изображение ее жгутика на футболках, фартуках, пивных и кофейных кружках, бейсбольной форме, календарях, открытках, пакетах и декоративных подушках. Все эти вещи с креационистской символикой можно приобрести в Интернете. На сайте сказано: "Этот механизм обеспечивает работу нескольких роторных реверсивных двигателей с постоянным крутящим моментом на протонной тяге; двигатели передают свою энергию через микроскопический редуктор, вращая спиралевидный жгутик со скоростью от 30000 до 100000 оборотов в минуту. Эта сложная система позволяет бактерии перемещаться со скоростью около десяти собственных длин в секунду. Не могли бы вы выяснить, кому принадлежит патент на эту штуку?"

На фартуке с рисунком жгутика вы увидите гораздо более короткое и простое послание. Над картинкой написано "Теория разумного замысла", а внизу - "Если что-то выглядит специально сконструированным, может быть, так оно и есть?"

## Жгутик после дуврского процесса

По случайному, но очень приятному совпадению дуврский процесс, в результате которого жгутик *E. coli* оказался в центре внимания мировой общественности, проходил примерно в то же время, когда ученые начали постепенно разбираться в происхождении и эволюции этого самого жгутика. Они стали проследить историю развития генов, отвечающих за синтез жгутика, отыскивая родственные гены у *E. coli* и других бактерий. Их совокупная генеалогия начинает складываться в цельную и логичную историю возникновения жгутика - наглядную иллюстрацию того, как жизнь в процессе эволюции порождает сложные признаки.

Важнейший урок этих новых исследований состоит в том, что говорить о жгутике вообще, как будто существует лишь одна его разновидность, абсурдно. У разных видов микроорганизмов можно обнаружить огромное количество вариантов его конструкции. Даже в пределах одного вида разные популяции бактерий могут использовать различные типы жгутиков.

Жгутики различаются между собой на самых разных уровнях; различия между ними могут быть и едва заметными, и принципиальными. Возьмите, к примеру, флагеллин - белок, который использует *E. coli* для строительства нити жгутика. Ученые насчитали 40 разновидностей флагеллина у разных штаммов *E. coli* и рассчитывают найти еще больше при расширении круга исследований. У разных видов бактерий флагеллин отличается еще сильнее. В 2003 г. микробиологи и генетики провели траление Саргассова моря и исследовали гены найденных микроорганизмов. Было обнаружено 300 генов, отвечающих за производство различных сортов флагеллина.

В свете теории эволюции такие находки закономерны. Единственный флагеллин, который был у предков современных бактерий, через дубликацию генов и мутации вполне мог дать начало множеству новых разновидностей. По мере того как различные виды микроорганизмов адаптировались к разным условиям - от обитания внутри человеческого кишечника до плавания в Саргассовом море, - их флагеллины тоже эволюционировали. И после того как несколько десятков миллионов лет назад сформировался вид *E. coli*, его флагеллины продолжали эволюционировать. Изменения флагеллина, вероятно, стимулировались необходимостью избегать излишнего внимания иммунной системы хозяина. Дело в том, что иммунная система распознает чужаков по белкам их поверхностного слоя (а это, в частности, флагеллин). Если какая-нибудь мутация сделает внешнюю поверхность флагеллина менее заметной для иммунной системы, то естественный отбор, возможно, подхватит такую

мутацию. И, как и следовало ожидать, большая часть вариаций в структуре флагеллина *E. coli* сосредоточена в частях, обращенных наружу. Части, обращенные внутрь, - а они должны аккуратно стыковаться с другими молекулами флагеллина - похожи друг на друга гораздо больше. Естественный отбор не слишком хорошо относится к мутациям, нарушающим плотно подогнанные соединения.

Жгутики могут различаться и еще по нескольким параметрам. У *E. coli* моторы вращаются за счет движения протонов, но у некоторых других видов для этой цели используются ионы натрия. *E. coli* вращает свой жгутик в жидкости. Другие виды формируют жгутики для скольжения по различным поверхностям. Ученым известны виды бактерий, способные строить жгутики того или другого вида в зависимости от того, в какой среде и как им предстоит плавать.

В 2005 г. Марк Паллен с коллегами из Бирмингемского университета в Англии обнаружили комплект генов для строительства скользящего жгутика в совершенно неожиданном месте: в геноме *E. coli*. На самом деле *E. coli* не умеет синтезировать такие жгутики, потому что ген-включатель, который должен их активировать, выведен из строя мутацией. У некоторых штаммов ученые обнаружили все 44 гена, необходимые для строительства всех без исключения частей жгутика. У других штаммов некоторые гены успели полностью исчезнуть. Так, у K-12 от этого комплекта осталось всего два гена, причем эти гены так деградировали, что ученые не сразу разобрались в их происхождении и природе.

Открытие Паллена вполне закономерно, если жгутик - продукт эволюции, и не имеет никакого смысла, если он - результат разумного замысла. Сложная система развивается и передается от родителей потомству. В некоторых линиях она теряет функциональность и распадается. Дарвин в свое время описал немало рудиментарных органов - от прикрытых плотью глаз пещерных рыб до коротких страусиных крыльев. Дарвин утверждал, что, если естественный отбор по каким-то причинам прекращает поддерживать функционирование тех или иных органов, это значит, что живые существа получили возможность выжить и без них. *E. coli* тоже несет в себе следы таких рудиментов - как обрывки древних текстов под свежими письменами палимпсеста.

*E. coli* несет в себе и свидетельства того, как первоначально сформировался ее жгутик. Как указал на дуврском судебном процессе Кеннет Миллер, "шприц", доставляющий флагеллин для формирования нити сквозь мембрану микроорганизма, полностью - до единого белка - соответствует секреторной системе III типа, при помощи которой микроорганизмы выводят наружу токсины и другие химические вещества. Это сходство говорит об общем предке. Секреторная система III типа - далеко не единственная структура, имеющая отношение к устройству жгутика. Белки его мотора, к примеру, родственны белкам других двигателей, при помощи которых *E. coli* и другие бактерии перекачивают различные молекулы изнутри наружу.

В настоящее время ученые, опираясь на эти сведения, разрабатывают гипотезы, объясняющие развитие жгутика. Одну гипотезу предложили в 2006 г. Паллен и Николас Матцке, выпускник Калифорнийского университета в Беркли. До появления жгутика, утверждают Паллен и Матцке, существовали более простые устройства, выполнявшие иные функции. При дупликации генов возникли дополнительные копии этих устройств, а мутации позволили им объединиться в единый развивающийся механизм - жгутик. Сегодня жгутик выполняет одну основную функцию: обеспечивает движение в жидкости. Но различные части этого механизма были предназначены совсем для другого.

Возможно, что "шприц" жгутика поначалу представлял собой просто пору, через которую молекулы химических веществ проникали сквозь внутреннюю мембрану. Затем к этому отверстию присоединился протонный мотор, при помощи которого наружу выталкивались даже крупные молекулы. Не исключено, что эта примитивная система позволяла древним бактериям обмениваться химическими сигналами и выпускать токсины. Из нее же со временем сформировались два различных вида структур: секреторная система III типа и "шприц", выталкивающий части будущего жгутика за пределы мембраны.

Следующий шаг к формированию жгутика, возможно, был сделан в тот момент, когда "шприц" начал выталкивать наружу специальные белки, обладающие способностью прикрепляться к мембранам. Вместо того чтобы уплыть прочь, молекулы этих белков скапливались вокруг поры. Бактерии могли, вероятно, использовать их так, как их используют и сегодня многие виды микроорганизмов, - для прикрепления к различным поверхностям. Более того, бактерии добавляли к этой структуре новые и новые молекулы белка так, что из них образовались нитевидные выросты - фимбрии, при помощи которых можно было прикрепиться к поверхности издалека.

На следующем этапе эти выросты начали двигаться. Появился второй тип мотора, способный заставить их дрожать. Теперь уже бактерия могла с их помощью перемещаться. Эта довольно-таки грубая конструкция позволяла микроорганизмам двигаться случайным образом и рассеиваться в случае опасности или стресса. В дальнейшем такой протожгутик не раз претерпевал модернизацию и настройку. Дубликация генов позволила белкам, из которых строились выросты, взять на себя разные функции - из одних сформировался гибкий крюк у основания, из других - жесткие изогнутые волокна вдоль оси. В конце концов бактерии научились даже рулить. Одна из химически чувствительных систем, связанная теперь со жгутиком, позволяет им изменять направление движения.

Эта гипотеза не является неоспоримой и не раскрывает абсолютной истины. Абсолютная истина вообще не во власти ученых. Ученые могут лишь создавать гипотезы, которые согласуются со всеми предыдущими наблюдениями - в данном случае это различные варианты жгутика, отдельные его компоненты, выполняющие в бактериальной клетке другие роли, и тот факт, что эволюция часто сводит вместе любые подходящие гены для выполнения новых функций. Гипотеза Паллена и Матцке вполне может оказаться ошибочной, но единственный способ выяснить это - отыскать в геноме *E. coli* и других микроорганизмов дополнительные указания на то, как был сформирован жгутик, разобраться, как на самом деле работают промежуточные структуры, возможно, даже воспроизвести при помощи генной инженерии некоторые промежуточные этапы, исчезнувшие в ходе эволюции. Не исключено, что в ходе этих экспериментов появится новая гипотеза. Но в любом случае эта гипотеза намного лучше, чем та, что основывается лишь на внешнем виде и личной вере - точнее, неверии.

## Как строятся сети

При сооружении жгутика *E. coli* не просто штампует все белки в произвольном порядке. Она управляет процессом синтеза и сборки при помощи целой сети генов, которые включаются только тогда, когда бактерия чувствует признаки опасности; при этом она старается избежать "ложных срабатываний", для чего использует противопомеховый фильтр. По ходу синтеза жгутика *E. coli* включает нужные гены в определенной последовательности, а затем снова выключает. И, подобно самому жгутику, эта управляющая сеть тоже имеет собственную длинную историю.

В 2006 г. биолог Мадан Бабу из Кембриджского университета с коллегами опубликовали серьезное исследование о происхождении управляющих схем *E. coli*. Ученые начали с поиска у бактерии генетических переключателей - белков, которые связываются с ДНК и занимаются тем, что включают и выключают гены или воздействуют на них иным образом. Они насчитали более 250 таких переключателей. Затем они изучили научную литературу и попытались разобраться, какие именно гены контролируются этими переключателями. В конце концов Бабу с коллегами составили схему плотной паутины из 755 генов и 1295 связей между ними.

Схема, составленная командой Бабу, очень напоминает схему структурной иерархии правительства или корпорации. На верхушке пирамиды находится несколько мощных генов, каждый из которых непосредственно контролирует несколько других генов. Эти гены среднего звена управления контролируют, в свою очередь, множество других генов и так далее. Такая организация позволяет *E. coli* справляться с изменениями окружающей среды при помощи очень быстрых и серьезных изменений собственной биологии. Схема Бабу позволила ему изучить управляющую сеть *E. coli* вплоть до мельчайших контуров.

Завершив построение управляющей схемы *E. coli*, Бабу получил возможность реконструировать и ее историю. Он сравнил схему *E. coli* со схемами 175 других видов микроорганизмов. Он обнаружил, что управляющая схема имеет своеобразное ядро, общее для всех этих видов. В нее входит 62 генетических переключателя, под управлением которых находится 376 генов; всего в этом ядре 492 связи. Бабу пришел к выводу, что оно имело уже у общего предка всех живых организмов.

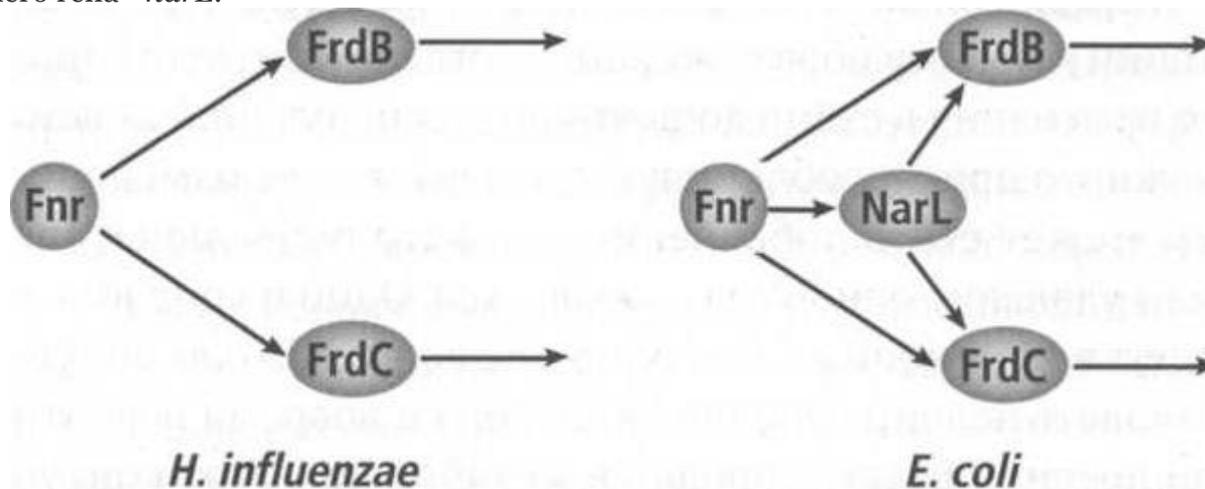
Ядро схемы позволяет сделать некоторые предположения о том, как выглядел наш общий предок. У него уже были сенсоры, позволявшие этому существу различать разные виды сахаров и следить за собственным энергетическим уровнем. Он мог регистрировать кислород, но не дышать им, поскольку в атмосфере кислорода почти не было; вероятно, кислородные сенсоры были нужны ему, чтобы защититься от собственных токсичных кислородосодержащих отходов. Этот микроорганизм уже использовал генетические переключатели; с их помощью он контролировал приток железа, а также создавал кирпичики

для строительства белков и ДНК. Иными словами, это было достаточно гибкое и легко адаптирующееся существо.

От этого общего предка путем эволюции произошли все присутствующие сегодня на планете живые организмы. Естественно, их управляющие схемы тоже эволюционировали. Эволюционная ветвь, в конце которой находится *E. coli*, обзавелась в процессе развития дополнительными системами регуляции: к примеру, теми, что позволяют микроорганизму ощущать и расщеплять новые сахара. Эксперименты на живых *E. coli* помогли пролить свет на то, как мутации и естественный отбор когда-то перестраивали управляющую схему бактерии. Один из самых распространенных типов мутаций - тот, при котором случайно дублируется тот или иной участок ДНК. В некоторых случаях *E. coli* может оказаться обладательницей двух переключателей, контролирующих один и тот же ген. Если ген, отвечающий за один из этих переключателей, мутирует, то переключатель может начать контролировать еще какой-то ген. В других случаях дополнительные копии генов, получившиеся при дубликации, контролируются переключателем, который включает и первоначальный ген.

Предки *E. coli* перестраивали свои схемы по мере адаптации к новому образу жизни. Иногда самого крохотного изменения в схеме достаточно для получения нового важного приспособления; к примеру, таким изменением может стать добавление лишнего переключателя или удаление одного из имеющихся. Один из подобных слегка измененных контуров позволяет *E. coli* почувствовать падение уровня кислорода и вовремя перейти на древний бескислородный метаболизм. Этот контур почти полностью - с точностью до гена - идентичен контуру, отвечающему за чувствительность к кислороду у *Haemophilus influenzae* - вида бактерий, обитающих в крови. У *Haemophilus* один переключатель активирует два гена, которые затем активируют все остальные гены, необходимые бактерии для перехода на бескислородный обмен. Это быстрый механизм, вполне соответствующий потребностям *Haemophilus influenzae*, поскольку обитает эта бактерия в крови и всякий раз при переходе из артерий в вены сталкивается с резким падением уровня кислорода в окружающей среде.

С другой стороны, *E. coli* не спешит переключаться, ощутив лишь легкое падение уровня кислорода. Поскольку обитает она в относительно стабильной обстановке - в кишечнике, ей, в отличие от гемофилюса, редко приходится испытывать его внезапное и долгосрочное падение. Легкая флуктуация уровня кислорода может оказаться ложной тревогой, и мгновенная реакция легко могла бы заставить *E. coli* потратить кучу энергии на производство ферментов, которые потом не пригодятся. Это жизненное обстоятельство отразилось в кислородном контуре *E. coli*. Он во всем идентичен контуру *Haemophilus influenzae*, за исключением одного лишнего гена - *narL*.



У гемофилюса переключатель /л г сразу же включает гены *frdB* и *frdC*. Но у *E. coli* для их активации требуется также сигнал от *narL*. Чтобы *fnr* сумел поднять уровень белка *NarL* до величины, нужной для получения двумя генами обоих необходимых сигналов, требуется определенное время. При небольшом падении уровня кислорода этот процесс просто не успеет завершиться.

В ходе эволюции управляющая схема *E. coli* стала весьма и весьма устойчивой. Развитие искусственных, созданных человеком сетей помогает представить себе, как это происходило. Интернет, способный донести ваши электронные письма в любой уголок земного шара, появился не сразу в готовом виде. Он возник в 1969 г. как примитивная связь между компьютерами Калифорнийского университета в Лос - Анджелесе и Стэнфордского исследовательского института в Пало- Альто (штат Калифорния). Постепенно, с годами, к системе подключались новые организации, между ними возникали новые связи. Интернет

стал устойчивым благодаря принципам своей архитектуры. Но ведь в 1969 г. никто не писал и не разрабатывал точных спецификаций на весь Интернет! Они появились сами по ходу развития. Компьютерщики, как правило, заботились в первую очередь о том, как работает каждый небольшой участок сети. Их беспокоила стоимость дальних соединений между серверами, поэтому они старались сделать все связи как можно более короткими.

Управляющая схема *E. coli* формировалась похожим образом. По мере того как происходила случайная дупликация генов, сеть усложнялась. Мутации соединяли заново некоторые новые гены, так чтобы они могли взаимодействовать с другими генами. Естественный отбор подхватывал благоприятные мутации и отвергал остальные. Создавая эффективные небольшие контуры, эволюция заодно формировала и устойчивую сеть.

На дуврском судебном процессе по поводу преподавания разумного замысла в школе креационисты с удовольствием сравнивали биологические системы с техническими устройствами. С их точки зрения, если что-то в устройстве *E. coli* или другого организма напоминает машину, значит, это что-то было сконструировано и создано неким разумом. И все же в конечном итоге все доказательства разумного замысла притянуты за уши. Тот факт, что *E. coli* и созданная человеком сеть в некоторых отношениях поразительно похожи, вовсе не означает, что микроорганизмы появились в результате разумного замысла. На самом деле факт сходства означает, что конструкторская мысль человека намного менее разумна, чем мы привыкли полагать. Наши лучшие изобретения возникают не в результате величественного полета к сияющим вершинам мысли, а в результате медленного близорукого перебора бесконечных вариантов.

## Первые слова

Уберите из генома *E. coli* новые гены - выскочек, обеспечивающих сопротивляемость к пенициллину и другим лекарствам. Уберите более старые гены, которые *E. coli* приобрела в течение миллионов лет после отделения от других бактерий. Удалите более глубокие слои - те, что отвечают за строительство жгутиков, и те, которые к настоящему моменту настолько разрушены, что ни на что не годны. Удалите гены, отвечающие за муреиновый мешок, за сенсоры, регистрирующие появление пищи и опасности, за фильтры и усилители. Избавьтесь от генов, кодирующих белки, которые присутствовали еще у последнего общего предка всех живых организмов около 4 млрд лет назад.

Что же у вас останется? Не подумайте, что чистый лист. По - прежнему останется целый ряд отдельных загадочных кусочков ДНК. Это не совсем обычные гены. *E. coli* использует их для синтеза РНК, но никогда не использует эту РНК для производства белков. Эти гены - аналог первого, самого древнего текста на нашем палимпсесте. Ученые подозревают, что многие из них - следы древнейших организмов, существовавших на Земле до появления ДНК.

Сырье, которое использует жизнь, ничем не отличается от обычной безжизненной материи. Углерод, фосфор и другие элементы, входящие в состав нашего тела, возникли в глубинах звезд. Многие необходимые для жизни химические вещества могут быть созданы без ее участия. Полетав немного по Солнечной системе, можно было бы собрать на метеоритах и кометах немало аминокислот, формальдегида и других соединений, найденных в организме живых существ. Многие из этих веществ вошли в состав нашей планеты при ее формировании 4,5 млрд лет назад; позже их доставляли на Землю и постоянно падающая комическая пыль, и - время от времени - более крупные куски камня или льда. Сама планета работала как огромный химический реактор: калила, смешивала, фильтровала эти вещества, производя, вероятно, из них новые соединения, тоже необходимые для жизни; они присутствовали на Земле задолго до того, как появилась сама жизнь. Но есть великая тайна, которая из века в век привлекает к себе внимание ученых: как именно в этом реакторе появилась жизнь такая, какой мы ее знаем, - вместе с закодированной в двойной спирали ДНК информацией, РНК и белками.

В 1960-е гг. ученые, разобравшись более или менее с основами молекулярной биологии, пришли к единому мнению о том, что все три типа молекул не могли возникнуть на безжизненной Земле одновременно. Но какие появились первыми? Пусть ДНК - прекрасное хранилище информации, но без участия белков и РНК это всего лишь необычная нитевидная молекула. С другой стороны, белки выполняют невероятное количество функций, они способны захватывать проплывающие мимо атомы, штамповать новые молекулы или делить уже существующие молекулы на части. Но они не слишком подходят для хранения информации о строительстве белков и для передачи этой информации следующим поколениям.

В середине 1960-х гг. Фрэнсис Крик и его кембриджский коллега химик Лесли Оргел провели немало часов в размышлениях о происхождении жизни. Оба ученых пришли к одному и тому же принципиальному выводу - тому же самому, к какому самостоятельно пришел и Карл Вёзе. Может быть, ДНК и белки появились на Земле намного позже, чем жизнь? Возможно, до ДНК и белков существовала жизнь, основанная только на РНК?

В то время предположение ученых звучало довольно дико. Считалось, что основная роль РНК в клетке сводится к роли посыльного и заключается в доставке информации от генов к рибосомам, где собираются молекулы белков. Но Крик, Оргел и Вёзе обратили внимание на то, что в экспериментах на *E. coli* молекулы РНК выполняют и другие функции. Рибосома, к примеру, и сама состояла из нескольких десятков белков и нескольких молекул РНК. Еще одна разновидность РНК, именуемая транспортной, помогала присоединять очередную аминокислоту к концу растущей молекулы белка. Возможно, предположили ученые, РНК обладает скрытой способностью к той химической акробатике, к которой так хорошо приспособлены белки? Может быть, именно РНК первой из трех молекул возникла на безжизненной Земле, причем одни ее разновидности играли роль ДНК, а другие - белков? Может быть, ДНК и белки появились позже и оказались более приспособленными для хранения информации и организации химических реакций соответственно?

Много лет спустя Крик и Оргел признались, что после публикации в 1968 г. идея первичной РНК не получила никакого развития. Не было никаких серьезных доказательств того, что РНК обладает достаточной гибкостью и может, подобно белкам, служить катализатором химических процессов. Прошло 15 лет, прежде чем ученые начали всерьез размышлять над этой гипотезой. Через год после того, как Крик предложил свою гипотезу жизни, основанной на РНК, в Кембридж приехал молодой канадский биохимик по имени Сидней Олтмен; вместе с Криком он начал исследовать транспортную РНК. Олтмен обнаружил, что при синтезе транспортной РНК *E. coli* приходится отрезать от нее кусочек, чтобы молекула работала правильно. Олтмен назвал участвующий в этом процессе фермент рибонуклеазой Р (сокращенно РНКаза Р). В Кембридже, а затем и в Йельском университете Олтмен медленно и терпеливо препарировал рибонуклеазу Р, выясняя ее структуру. Он с удивлением узнал, что на самом деле это химера: наполовину белок, наполовину РНК. Исследователи выяснили, что ферментное лезвие, которое непосредственно перерезает молекулу транспортной РНК, представляет собой тоже РНК - РНК без всякой примеси. Олтмен обнаружил молекулу РНК, которая ведет себя как фермент, - нечто, о чем прежде никто и никогда не сообщал.

В 1989 г. Олтмен разделил Нобелевскую премию с биохимиком Томасом Чехом, работающим в настоящее время в Колорадском университете. Чех обнаружил аналогичную странную РНК у одноклеточного эукариота *Tetrahymena thermophila*, обитающего в прудах. В отличие от прокариот, эукариотам приходится вырезать большие куски РНК из разных участков молекулы, прежде чем ее можно будет использовать для синтеза белков. Как правило, куски эти вырезают белки, которые строятся с помощью матричной РНК. Но Чех обнаружил, что некоторые молекулы РНК у *Tetrahymena* способны разрезать себя сами, без какой бы то ни было помощи со стороны белков. Они просто складываются точно в нужном месте и отрезают сами от себя бесполезные части.

Открытия Чеха и Олтмена наглядно продемонстрировали, что РНК может быть гораздо более гибкой и многофункциональной, чем предполагалось ранее. Многие биологи вновь обратились к провидческим идеям Крика, Оргела и Вёзе. Возможно, РНК действительно могла когда-то играть роли и генов, и ферментов? Может быть, еще до появления ДНК и белков на Земле существовало то, что Уолтер Гилберт из Гарварда назвал "миром РНК"?

Если когда-то давным - давно живые существа на базе РНК бороздили земные океаны, то у них молекулы РНК должны были обладать намного большим числом функций, чем те, которые обнаружили Олтмен и Чех. Некоторые из них должны были исполнять функции генов - хранить информацию и передавать ее следующим поколениям. Другие - извлекать информацию из этих генов и использовать ее для строительства других молекул РНК, которые, в свою очередь, должны были исполнять функции ферментов. Эти рибозимы, как их называли, должны были уметь поглощать энергию и питательные вещества, а также осуществлять репликацию генов.

Гипотеза о существовании мира, основанного на РНК, подтолкнула ученых к тщательному исследованию эволюционного потенциала этой загадочной молекулы. В 1990-е гг. биохимик Рональд Брейкер из Йельского университета предпринял попытку сконструировать основанные на РНК сенсоры. Он рассуждал так: эти сенсоры должны работать примерно как детекторы сигналов *E. coli* - уметь захватывать определенные молекулы или атомы, а затем

изменять свою форму таким образом, чтобы вступать в реакции с другими молекулами бактериальной клетки.

Брейкеру не пришлось самому придумывать такие сенсоры - вместо этого он воспользовался творческой силой эволюции. Он поместил смесь различных молекул РНК в колбу и добавил туда химическое вещество, которое его сенсор, по задумке, должен был регистрировать. Несколько РНК - молекул неуклюже присоединились к молекулам вещества, остальные никак на него не отреагировали. Брейкер выловил эти несколько молекул и растиражировал их во множестве экземпляров. Копировал он намеренно небрежно, так что иногда последовательность нуклеотидов в молекулах слегка менялась. Иными словами, его РНК мутировала. Когда Брейкер подверг эти мутировавшие молекулы РНК действию все того же химического вещества, некоторые из них смогли более эффективно связываться с его молекулами. Брейкер многократно повторил цикл мутирования и отбора, и в конце эксперимента молекулы РНК у него связывались с молекулами заданного химического вещества в мгновение ока.

В ходе дальнейших экспериментов ученому удалось получить молекулы РНК, способные не только связываться с нужными молекулами, но и изменять при этом свою форму. Они оказались способны играть роль фермента и резать пополам другие молекулы РНК. По сути дела, Брейкер создал молекулу РНК, способную ощущать некие изменения в окружающей среде и на базе полученной информации совершать те или иные действия с молекулами РНК. Он назвал ее РНК - переключателем, или рибо- переключателем.

В последующие годы Брейкер, продолжая свои исследования, собрал большую библиотеку рибопереключателей. Одни из них реагируют конкретно на кобальт, другие - на антибиотики, третьи - на ультрафиолет. Способность эволюционировать и превращаться в рибопереключатели самого разного назначения может служить косвенным подтверждением теории о существовании "мира РНК". Затем у Брейкера появилась новая идея. Если теория "мира РНК" верна, то позже многие функции были переданы от молекул РНК белкам и молекулам ДНК. Но, может быть, РНК отказалась не от всех своих прежних обязанностей? Может быть, рибопереключатели уцелели кое - где у основанных на ДНК организмах? В самом деле, в некоторых случаях РНК - сенсоры могут оказаться лучше белковых. Рибопереключатели синтезировать проще, отмечал Брейкер, потому что клетке для этого достаточно просто считать ген и изготовить его РНК - копию.

Брейкер и его студенты начали планомерные поиски природных рибопереключателей. Через несколько месяцев им удалось обнаружить один из них у *E. coli*. С его помощью бактерия определяет количество витамина В<sub>12</sub>. Дело в том, что *E. coli* производит собственный В<sub>12</sub>, который необходим ей для жизни. Но сверх определенной концентрации этот витамин становится бесполезным. Брейкер обнаружил, что рибопереключатель *E. coli* связывается с витамином В<sub>12</sub> и, когда это происходит, сворачивается таким образом, что может после этого заблокировать фермент, отвечающий за его производство. Более красивого рибопереключателя не придумал бы и сам Брейкер!

Позже Брейкер обнаружил немало других рибопереключателей в клетках *E. coli*, а затем и в клетках самых разных видов. Судя по всему, большинство из них поддерживают нужный уровень различных химических веществ, при необходимости мгновенно выключая гены. После того как Брейкер открыл рибопереключатели, другие ученые обнаружили, что молекулы РНК выполняют у *E. coli* и другие функции. Одни из них при необходимости блокируют определенные гены, другие, наоборот, включают. Некоторые не дают определенным молекулам РНК участвовать в процессе синтеза белков, в то время как другие поддерживают баланс железа. Ряд молекул РНК обеспечивают связь *E. coli* с другими микроорганизмами, помогают противостоять голоду. Молекулы РНК образуют скрытую управляющую сеть, контуры которой лишь теперь начинают проявляться. С обнаружением этой скрытой сети теория "мира РНК" стала казаться еще более убедительной.

И все же споры о том, как именно появилась на Земле жизнь, основанная на РНК, и каким образом из нее на следующем этапе развилась ДНК - жизнь, и не думают стихать. Некоторые ученые утверждают, что РНК могла появиться на Земле непосредственно из неживого. К примеру, ее рибозный "остов" в принципе мог сформироваться в пустынных озерах, где благодаря присутствию солей борной кислоты создаются условия, в которых неустойчивые молекулы рибозы способны сохранять стабильность десятилетиями. Другие исследователи склоняются к мысли, что еще до этого должны были возникнуть какие-то другие реплицирующиеся вещества и что "мир РНК" был всего лишь одним из этапов развития.

РНК - жизнь, как и вообще любые живые организмы, должна была как-то отграничивать себя от окружающего мира. Некоторые ученые считают, что РНК - организмы не формировали

собственных мембран, а просто жили в крохотных порах океанских скал. По мере репликации молекул РНК их новые копии могли распространяться на соседние полости, все дальше и дальше. Другие ученые полагают, что РНК - жизнь существовала в более привычных для нас формах - в виде клеток. Они даже пытаются создать подобные организмы в пузырьках с искусственными фосфолипидными оболочками, способными захватывать молекулы РНК. Их стратегия - изобрести практический способ зарождения жизни, доказав тем самым его возможность.

Вероятно, искусственное создание форм жизни, в основе которой лежит РНК, если оно окажется возможным, не должно быть предметом опасений. Большинство специалистов полагает, что такая жизнь сможет существовать только в замкнутом пространстве лаборатории, поскольку жизнь, базирующаяся на ДНК, намного превосходит ее в эволюционном плане. Но это не означает, что формы жизни, основанные на ДНК, полностью отказались от наследия своих предков. Для некоторых задач РНК и сегодня подходит лучше прочих химических веществ; именно поэтому она до сих пор сохранила управление *E. coli* и другими видами. В каком-то смысле можно сказать, что "мир РНК" никуда не исчез. Он и сегодня вокруг нас.

## Оревуар, мой слон!

Произнося знаменитую фразу про *E. coli* и слона, Жак Моно во многих отношениях был гораздо ближе к истине, чем можно было предположить. У нас и у *E. coli* один и тот же базовый генетический код. Многие важнейшие белки, при помощи которых мы извлекаем энергию из пищи, у нас такие же, как и у этой бактерии. *E. coli* нередко сталкивается с теми же проблемами, что и наши собственные клетки. Необходимо заботиться о том, чтобы граница с внешним миром была нерушимой, но не совсем непроницаемой. ДНК *E. coli* всегда должна быть аккуратно сложена, но доступна для быстрого считывания. Необходимо поддерживать в порядке внутреннюю структуру. Необходимо объединить тысячи генов в единую сеть, способную согласованно реагировать на изменения внешней среды. Эта сеть должна всегда оставаться надежной и устойчивой, несмотря на внешние помехи. *E. coli* поддерживает связь с другими представителями вида - с одними сотрудничает, с другими воюет, иногда жертвует жизнью. Подобно нам, она стареет.

Некоторые черты сходства между нами - результат общего происхождения и наследие самых ранних стадий развития жизни на Земле. В других случаях сходство - результат конвергенции<sup>[25]</sup> разных эволюционных путей, которые привели нас к одному и тому же решению проблемы. Но случаи конвергенции лишь подтверждают слова Моно. Они свидетельствуют о том, что несмотря на 4 млрд лет независимого развития и человек, и *E. coli* сформированы одними и теми же мощными эволюционными силами.

Однако мне доводилось встречать ученых, которые выходят из себя всякий раз при упоминании замечания Моно. Ничего удивительного - ведь оно игнорирует самые фундаментальные различия между слоном и *E. coli*. Геном слона - а также человека, лишайника и всех прочих эукариот - намного больше генома *E. coli*. В геноме человека, к примеру, генов примерно впятеро больше. Кроме того, наш геном разбавлен большим количеством ДНК, в которой не закодированы никакие белки. Еще одно серьезное различие заключается в белках, при помощи которых происходит репликация ДНК. Судя по всему, они никак не связаны с белками, которые используют *E. coli* и другие бактерии. Эукариоты иногда обмениваются генами, но происходит это намного реже, чем у *E. coli*. Невозможно через рукопожатие получить от приятеля гены голубых глаз. Да и способы размножения у нас и у *E. coli* совершенно разные. Лишь крохотная доля клеток человеческого тела способна успешно передать гены следующему поколению, и геном человека несет в себе достаточно информации для величественного развития нового тела с триллионом клеток, двумя сотнями клеточных типов и десятками органов.

Различия между нами велики и бесспорны, но ученые на удивление слабо представляют себе, как они могли возникнуть. Вопрос о том, почему мы в некоторых отношениях так мало похожи на *E. coli*, остается открытым. Должно быть, ответ на него кроется где-то в туманных глубинах прошлого, в тех временах, когда жизнь на Земле только начинала свое развитие. Ученые сходятся в том, что жизнь очень рано разделилась на три ветви, и различия между ними - особенно отделяющие эукариот от бактерий и архей - с самого начала были очень глубокими. Однако в данный момент среди специалистов распространено несколько принципиально разных теорий о том, как возникло такое деление. Одни утверждают, что эукариоты произошли от архей, заглотивших аэробные (кислорододышащие) бактерии.

Другие считают, что раскол произошел намного раньше, еще до того, как жизнь пересекла границу, разделяющую "мир РНК" от "мира ДНК".

Лично мне особенно интересным представляется другое объяснение, выдвинутое Патриком Фортером, биологом - эволюционистом из парижского Института Пастера. Он полагает, что принципиальный раскол между нами и *E. coli* - результат работы вирусов.

Действие в сценарии Фортера начинается в "мире РНК" еще до разделения всего живого на три ветви. РНК-содержащие организмы беспорядочно обменивались генами. Через какое-то время некоторые из этих генов "выбрали" для себя специализацию паразитов и начали развиваться в этом направлении. Они отказались от собственных устройств для репликации генов, но стали проникать в другие организмы и использовать их механизмы. Это были первые вирусы, и они до сих пор с нами; это РНК-содержащие вирусы, такие как вирусы гриппа и обычной простуды, а также ВИЧ.

Именно РНК-содержащие вирусы, утверждает Фортер, "изобрели" ДНК, ведь именно вирусы получили от нее немедленное и очень мощное преимущество. Вирус мог объединять комплементарные однонитевые молекулы РНК в двойные спирали, которые более защищены от атак ферментов хозяина. Это был как бы прообраз будущей ДНК - гораздо более устойчивой и стабильной молекулы. Для появления ДНК должны были образоваться ферменты, способные превращать субстраты для синтеза РНК (рибонуклеотиды) в субстраты для синтеза ДНК (дезоксирибонуклеотиды). Первые ДНК появились в результате синтеза на матрице РНК. Для этого тоже понадобились специальные ферменты. Наконец, появление еще одного нового класса ферментов, с помощью которых происходит репликация ДНК, ознаменовало закат "мира РНК" и возникновение "эпохи ДНК". Превращение клеток с РНК-геномом в клетки с привычным для нас ДНК-геномом произошло, по предположению Фортера, в результате заражения ДНК-содержащими вирусами.

Первые вирусы, вероятно, сформировали целый спектр различных вариантов взаимоотношений с хозяевами. Полезно вспомнить современные вирусы, паразитирующие на *E. coli*: смертельно опасные, от которых бактерия просто лопается, выпуская наружу сотни новых вирусов; тихие, которые вызывают у хозяина проблемы только в стрессовой ситуации; и полезные, которые навсегда встроились в организм хозяина и живут с ним в мирном сотрудничестве. Фортер утверждает, что и в те далекие времена некоторым ДНК-содержащим вирусам удалось прочно и навсегда обосноваться в РНК-содержащих хозяевах. Одомашнившись, они потеряли гены, нужные для выхода из хозяина наружу и для формирования белковой оболочки, и превратились в "голую" ДНК, хранящую гены, нужные для собственного воспроизводства.

Только так, считает Фортер, РНК-жизнь могла перейти к использованию ДНК. Время от времени возникали мутации, в результате которых гены из РНК-хромосомы встраивались в ДНК-хромосому вируса. Они оказывались более стабильными и менее склонными к губительным мутациям, чем прежние РНК-гены. Естественный отбор благоприятствовал организмам с большим количеством генов в ДНК-хромосоме, чем в РНК. Со временем РНК-хромосома съеживалась, а ДНК-хромосома, наоборот, росла, и в конце концов организм полностью перешел на хранение информации в двойной спирали. На язык ДНК оказались переведены даже гены рибопереключателей и других реликтов "мира РНК". Фортер предполагает, что подобный "вирусный захват" в истории жизни на Земле произошел трижды, и каждое из трех вторжений ДНК-содержащих вирусов привело к рождению одной из трех ветвей жизни.

Фортер утверждает, что его сценарий объясняет, в частности, принципиальную разницу между генами, общими для всех трех доменов (надцарств) живой природы, и генами, уникальными для каждого из них в отдельности. В начале своей научной карьеры Фортер занимался изучением ферментов, при помощи которых *E. coli* синтезирует ДНК. Подобные ферменты существуют и у других видов бактерий. Но у архей и эукариот вы ничего подобного не найдете. Разница, по мнению Фортера, состоит в том, что предки *E. coli* и других бактерий получили свои ферменты, участвующие в репликации ДНК, от какого-то одного штамма вирусов, архей - от другого, в то время как для появления эукариот потребовалось несколько разных вирусов - основателей.

После того как три ветви жизни разошлись, их развитие пошло разными путями. Наши собственные предки - первые эукариоты - возможно, получили ряд признаков также от вирусов. Эукариоты со временем стали крупнее, чем бактерии и архей, а их популяции, соответственно, малочисленнее. Надо сказать, что в небольших популяциях мутации с незначительным вредным эффектом распространяются легче просто благодаря случайным процессам, и, может быть, только в этот период геном эукариот начал расширяться. Вставки

некодирующей ДНК в геном, возможно, поначалу мешали их обладателю, но со временем они, вероятно, дали эукариотам способность осуществлять перестановки генных сегментов, чтобы кодировать разные белки. У человека насчитывается 18 000 генов, но с их помощью каждый из нас может синтезировать около 100000 различных белков.

Сегодня предположение Фортера радикально примерно настолько же, насколько радикальным было в 1968 г. предположение о том, что вся жизнь на Земле когда-то основывалась на РНК. И проверка этой гипотезы потребует не меньше усилий. Но размышлять о том, что означала бы правота Фортера, чрезвычайно интересно. В этом случае разница между слоном и *E. coli* означала бы на самом деле еще одно фундаментальное сходство. Мы - все живые существа - различаемся между собой только потому, что болеем от разных вирусов.

## Глава 10. Играющая природа

### Портрет в протоплазме

В лаборатории Кристофера Войта в Калифорнийском университете в Сан - Франциско *E. coli* может изготовить для вас портрет. Войт поместит вашу фотографию перед специально затененным хитроумным устройством. Отраженный от картинке свет попадает на пластинку покрытую тонким слоем *E. coli*. Этот штамм Войт и его коллеги создали в 2005 г. Они пересадили бактерии гены, часть из которых позволяет им чувствовать свет, а часть - продуцировать темный пигмент. Гены подключены таким образом, что если микроорганизм ощущает свет - к примеру, отраженный от фотографии, - то гены, отвечающие за синтез пигмента, блокируются. Бактерии, на которые попадают фотоны, отразившиеся от светлой части фотографии, остаются прозрачными. Те же, на которые свет не попадает, продолжают вырабатывать пигмент и постепенно темнеют. На пластинке проявляется изображение - мутноватое и нерезкое, но вполне узнаваемое.

Кристофер Войт - доцент с длинным списком научных публикацией. Но, помимо этого, он настоящий сын века биотехнологий. Он еще не родился, когда в 1970-е гг. ученым впервые удалось встроить чужеродные гены в геном *E. coli*. Этот успех стал одним из важнейших событий в истории биологии. При помощи генной инженерии ученым удалось разобраться в некоторых загадочнейших особенностях генома. *E. coli* превратили в рабочую лошадку. Возникла целая отрасль промышленности, в которой задействовано \$75 млрд. Освоив искусство встраивания генов в геном на *E. coli*, специалисты начали встраивать их в другие микроорганизмы, а затем в животных и растения. Сегодня козы вместе с молоком вырабатывают лекарства, а на 250 млн га сельскохозяйственных земель выращиваются растения с искусственно встроенными в них генами, обеспечивающими устойчивость к гербицидам и пестицидам.

Но это не значит, что *E. coli* как объект исследований отошла в тень. Ученые по - прежнему с удовольствием используют ее при разработке новых инструментов и методов управления жизнью. Работа Войта, к примеру, - часть новой разновидности генной инженерии, получившей название синтетической биологии. Вместо того чтобы переносить гены поштучно от одного вида к другому, специалисты по синтетической биологии стремятся создавать с нуля целые генетические схемы. Они соединяют гены разных видов в систему, а затем настраивают ее на выполнение новых функций. Пока им удается создавать лишь красивые и наглядные доказательства принципиальной осуществимости этой идеи - такие, к примеру, как бактериальная фотокамера Войта. Однако в будущем эти эксперименты могут привести к созданию микроорганизмов, вырабатывающих электроэнергию из солнечного света или лекарства, но только в заданных условиях (назовем их "умными" лекарствами). Специалисты по синтетической биологии пытаются даже разобрать *E. coli* на составные части и вновь использовать некоторые из них при создании жизни.

В новом направлении исследований полно противоречий. В настоящий момент идут горячие споры о рисках, связанных с синтетической биологией и другими достижениями биотехнологии. Эти риски разнообразны и многочисленны - это и случайное попадание в природу опасных искусственных организмов, и намеренное создание всевозможных типов биологического оружия. "Умные" лекарства несложно превратить в "умную" инфекцию. Кроме того, синтетическая биология дала новый толчок старым спорам о моральной допустимости биотехнологий как таковых. Сегодня мир столкнулся с массой самых разных научных исследований, разобраться в которых порой просто невозможно, - от мышей, выращивающих в своем мозгу человеческие нейроны, до созданных смертоносных вирусов. Чтобы прийти в

этих спорах хоть к какому-то результату, нам необходимо серьезно обдумать, что значить быть живым и как биотехнология меняет смысл этого понятия. *E. coli*, главный микроорганизм биотехнологического века, может многое нам рассказать. Лицо на пластинке смотрит на оригинал - это скорее зеркало, чем портрет.

## Неолитические биотехнологии

Биотехнологии рождались многократно, и каждый раз это происходило вслепую.

Человек начал манипулировать другими формами жизни по крайней мере 10 000 лет назад: его целью было получение полезных вещей, таких как пища и одежда. В Юго - Восточной Азии, Турции, Западной Африке и Мексике люди одомашнивали животных и растения. Вероятно, сначала это происходило неосознанно. Собирая растения, люди предпочитали определенные разновидности, и их семена случайно сыпались на землю возле стоянки. Дикие предки собак, бродившие вокруг костров и питавшиеся объедками, вероятно, передавали своим щенкам гены общительности. Эти виды адаптировались к жизни с человеком посредством естественного отбора. Как только человек начал возделывать землю и выращивать скот, естественный отбор уступил место отбору искусственному, поскольку человек уже сознательно отбирал для продолжения рода особей с нужными ему свойствами. Эволюция ускорила, и человек создал целую галерею гротескных тварей - от плоскомордых мопсов до тыкв размером с приличный валун.

Надо сказать, что неолитические биотехнологи манипулировали и микроорганизмами тоже. Они научились делать пиво и вино или, вернее, поняли, как заставить дрожжи сделать пиво и вино. Человеку достаточно было просто создать условия, при которых дрожжам удобнее всего будет превращать сахар в спирт. Дрожжи, выделяя углекислый газ, заставляли хлеб подниматься. Одомашненные микроорганизмы эволюционировали, точно так же как дикорастущий злак теосинте эволюционировал в кукурузу, а жилистая дикая курица - в упитанную домашнюю птицу. Дрожжи сегодняшних виноделов отличаются от своих диких родичей, покрывающих древесную кору.

К примеру, с появлением йогурта развилась целая бактериальная экосистема. Его изобрели пастухи - кочевники, жившие на Ближнем Востоке, около 5000 лет назад. Возможно, однажды они обратили внимание на то, что молоко загустело и приобрело характерный вкус, а протухать не торопилось. По всей видимости, бактерии, которые прежде питались растениями, случайно попали в молоко и, размножаясь в нем, изменили его химический состав. Пастухи обнаружили, что если положить немного такого загустевшего продукта в свежее молоко, то оно тоже изменится. Бактерии в этих культурах оказались в плену новых экосистем и адаптировались к подобным условиям, развивая умение все лучше утилизировать молоко и отбросив ненужные для этого гены.

Человек полуосознанно экспериментировал с животными, растениями и микроорганизмами тысячи лет. Но в XIX в., когда началось проникновение в микромир, у ученых появились новые способы управлять природными объектами. При первых попытках такого рода методы использовались простые, но мощные и наглядные. Луи Пастер продемонстрировал, что именно бактерии делают вино кислым, а молоко - опасным. Сильное нагревание убивает эти вредные бактерии, отчего дети становятся здоровее, а любители и знатоки вина - счастливее.

Обнаружив подобные алхимические свойства бактерий, микробиологи начали активно искать виды микроорганизмов, которые могли бы выполнять новые полезные химические задачи. Хаим Вейцман, первый президент Израиля, первоначально прославился именно в области биотехнологий. Во время Первой мировой войны, проживая в Британии, он открыл бактерии, способные производить ацетон - важный компонент взрывчатых веществ. Уинстон Черчилль быстро воспользовался этим открытием, построив целую сеть фабрик, на которых бактерии делали дешевый ацетон для военно - морского флота Великобритании. Следующее поколение микробиологов, пытаясь заставить бактерии работать эффективнее, занималось уже их генами. Подвергнув пенициллиновую плесень облучению, ученые получили мутантные экземпляры с дополнительными копиями генов, отвечающих за производство пенициллина, которые позволили увеличить производство ценного лекарства.

Научившись манипулировать живыми организмами, ученые задумались о том, что ожидает нас впереди. В 1923 г. британский биолог Джон Холдейн написал произведение в жанре научной фантастики. От лица воображаемого историка будущих времен он рассказывает о создании в 1940 г. нового штамма водорослей, способных извлекать азот из воздуха. Будучи рассыпанными над полем, они так эффективно удобряли почву, что удваивали урожай. Но

затем часть водорослей случайно попала в море, и поверхность Атлантики превратилась практически в желе. Это вызвало вспышку численности рыбы, которой после этого стало столько, что ею могло прокормиться все человечество.

"Разумеется, именно в результате вторжения *Porphyrococcus* море приобрело фиолетовый цвет, который сегодня кажется нам столь естественным, но который очень расстраивал эстетически настроенную часть наших прародителей, бывших свидетелями перемены, - писал Холдейн. - Нам, конечно, любопытно читать о том, что море когда-то было голубым или зеленым".

Следующие 50 лет ученые разрывались между надеждой и страхом. Некоторые надеялись, что биотехнологии помогут человечеству создать альтернативу загрязненному современному миру, работающему на ядерной энергии; они придумали для себя утопию, в которой бедные страны могли обеспечить себе пищу и здоровье, не разрушая собственных природных ресурсов. Тем не менее идея о том, что можно заново написать рецепт жизни, вызывала у некоторых не восторг, а отвращение. Да, возможно, ученым удастся создать съедобный штамм дрожжей, способных питаться нефтью. Но кто же захочет его есть?

Помимо ученых, мало кто принимал все эти рассуждения сколько-нибудь всерьез. Несмотря на все успехи биотехнологий, к 1970 г. не наблюдалось никаких признаков того, что жизнь в обозримое время может измениться. А затем, совершенно неожиданно, ученые осознали, что могут менять генетический код по своему желанию и создать химеру, совместив в одном организме гены разных видов. И они вместе с *E. coli* занялись преобразованием нашей жизни. Девиз Моно приобрел еще одно значение: если ученые могут конструировать штаммы *E. coli* методами геной инженерии, то есть все основания полагать, что когда-нибудь они доберутся и до слонов.

## Вырезать и вставить

До 1970 г. *E. coli* не играла в биотехнологиях никакой роли. В природе она не производила пенициллин или какое-нибудь другое ценное вещество. Она не превращала ячмень в пиво. Целью большинства ученых, исследовавших в те времена *E. coli*, была не прибыль, а знания о том, как устроены живые организмы. Они много узнали о том, как *E. coli* при помощи генов строит молекулы белков, как включаются и выключаются эти гены, как белки обеспечивают жизнь бактерии. Но, чтобы понять, как живет *E. coli*, им пришлось изготовить инструменты, при помощи которых с бактерией можно было работать. Со временем с помощью этих же инструментов ученые будут не только исследовать жизнь, но и зарабатывать состояния.

Возможности генетического конструирования застали специалистов по *E. coli* практически врасплох. В конце 1960-х гг. биолог Джонатан Беквит из Гарварда занимался исследованием *lac* - оперона - набора генов, которые включает *E. coli*, переходя на утилизацию лактозы. Чтобы разобраться в природе бактериального переключателя,

Беквит решил "вырезать" оперой из хромосомы *E. coli*. Он воспользовался тем фактом, что некоторые вирусы, инфицирующие эту бактерию, иногда случайно копируют *lac* - оперон вместе с собственными генами. Беквит с коллегами разделил двойные спирали ДНК двух разных вирусов и свел вместе по одной нити от каждого вируса. На участках, содержащих *lac* - оперон, нуклеотидные последовательности были комплементарными и смогли соединиться. Остальные части ДНК остались в виде одинарных нитей. Беквит с коллегами добавил к смеси вирусов вещества, разрушающие одинарные нити ДНК, и получил чистый оперон. Впервые в истории человеку удалось выделить определенные гены.

22 ноября 1969 г. Беквит встретился с прессой и объявил о своем открытии. И сообщил всему миру о том, что глубоко встревожен собственным достижением. Если он смог выделить гены из *E. coli*, то, возможно, в скором времени кто-то другой обернет его метод во зло - создаст с его помощью новую чуму или сконструирует новые разновидности человека. "Сегодня таких методов не существует, - сказал он, - но, скорее всего, пройдет не так уж много времени, и их можно будет использовать. Становится все страшнее и страшнее - особенно когда видишь, как наше правительство использует результаты биологических исследований во Вьетнаме, разрабатывает химическое и биологическое оружие".

Беквит мелькнул крупными заголовками на первых полосах *The New York Times* и других газет и пропал. Споры об опасностях геной инженерии смолкли. Ученые, не думая об опасности, вернулись к поискам новых способов работы с генами. Те, кто изучал человека, с завистью смотрели на инструменты, при помощи которых Беквит и его товарищи экспериментировали на *E. coli*.

Для исследования одного - единственного мышиноного гена ученому может потребоваться ДНК сотен тысяч мышей. В результате было очень мало известно о том, каким образом генетическая информация в клетках животных транслируется в белки. Еще меньше было известно о самих генах - к примеру, о том, сколько их у человека или какую функцию каждый из них выполняет.

Пол Берг из Стэнфордского университета много лет посвятил изучению того, как *E. coli* синтезирует молекулы, и в конце 1960-х гг. его всерьез заинтересовал вопрос о том, нельзя ли применить те же методы для исследования клеток животных. В то время ученые изучали новые типы вирусов, навсегда поселившихся в хромосомах животных. Эти вирусы имеют огромное значение для медицины, потому что способны заставить клетки хозяина бесконтрольно размножаться и порождать опухоли. Берг увидел сходство между этими вирусами животных и некоторыми из вирусов, инфицирующих *E. coli*. В 1950-е гг. ученые выяснили, как можно использовать вирусы бактерии *E. coli* для переноса генов от одного хозяина к другому. Берг хотел узнать, нельзя ли заставить вирусы животных служить переносчиками генов.

Берг начал экспериментировать с канцерогенным вирусом обезьян SV40. Для начала нужно было придумать, каким образом можно встроить дополнительный ген в вирусную ДНК. Берг решил, что для этого ему придется разрезать кольцевую хромосому SV40 в строго определенном месте. Однако молекулярного ножа, при помощи которого можно было бы осуществить эту операцию, у него не было.

По случайному совпадению именно в тот момент другие ученые обнаружили такой нож. В 1960-е гг. у *E. coli* были открыты ферменты рестрикции, которые связывались с определенной короткой последовательностью нуклеотидов и разрезали чужеродную ДНК. Среди исследователей, совершивших это открытие, был и Герберт Бойер, микробиолог из Калифорнийского университета в Сан - Франциско. Бойер предоставил Бергу недавно открытый фермент рестрикции, названный EcoRI.

Берг с коллегами сумели при помощи EcoRI расщепить хромосому вируса SV40. К одному из концов ДНК вируса SV40 ученые добавили ДНК бактериофага лямбда, паразитирующего на *E. coli*. Чтобы сшить два фрагмента ДНК воедино, Берг с коллегами добавил к концу каждого фрагмента некоторое количество нуклеотидов, азотистые основания которых могли образовывать с концом другого фрагмента комплементарные связи. В результате всех этих операций получился искусственный вирусный гибрид. Строго говоря, это был гибрид трех видов, потому что бактериофаг лямбда включил в свой геном и некоторые участки ДНК хозяина - *E. coli*.

Поскольку у гибрида присутствовали гены фага лямбда, отвечающие за внедрение в клетку *E. coli*, Берг решил проверить, сможет ли гибрид тоже проникнуть в бактерию. Он попросил одну из своих студенток, Дженет Мерц, разработать план эксперимента. Для Берга и Мерц тот эксперимент начался как попытка получить ответ на еще один интересный вопрос. Но остальные, узнав об их планах, пришли в ужас.

Одним из первых, кто поделился с Бергом своим беспокойством по этому поводу, стал специалист по биоэтике Леон Касс. Когда-то он, как и Берг, работал с *E. coli*, но затем разочаровался в науке, увидев, как стремительно расширяются ее достижения и как мало при этом внимания уделяется этической стороне дела. Касс предостерег Берга, сказав, что манипулирование генами может завести человечество в моральный тупик. Если биологи научатся встраивать гены в человеческий зародыш, родители получат возможность заранее выбирать характеристики своих детей. Они не ограничатся модификацией генов, которые, к примеру, ответственны за развитие таких болезней, как серповидноклеточная анемия или другие наследственные генетические заболевания. Они захотят улучшить даже совершенно здоровых детей.

"Достаточно ли мы разумны, чтобы ставить под угрозу равновесие генетического банка?" - задал вопрос Касс.

Берг отмахнулся от этого предупреждения, но, когда сомнения начали высказывать и другие специалисты по вирусам, он призадумался. Мерц объяснила остальным исследователям, как именно они с Бергом собирались создать своеобразную матрешку: SV40 в фаге лямбда, фаг лямбда в *E. coli*. Один из коллег ответил: "Ну да, а *E. coli* в человеке".

Некоторые ученые опасались, что если *E. coli* с вирусом SV40 внутри случайно вырвется из лаборатории Берга, то через какое-то время она сможет найти себе хозяина - человека. Устроившись там, она начнет размножаться, производя при этом в огромных количествах канцерогенные вирусы. Никто не мог предсказать, как все обернется в подобном случае: может, обойдется без последствий, а может, разразится невиданная эпидемия рака. Перед

лицом таких неопределенностей Берг и Мерц приняли решение отказаться от задуманного эксперимента.

"Я не хотела стать человеком, создавшим из-за собственного упрямства чудовище, которое убьет миллионы людей", - сказала позже Мерц.

В то время лаборатория Берга была единственной в мире, где активно проводились опыты по генной инженерии. В ней пользовались хитроумными, сложными и очень медленными методами. Закрыв эксперимент по созданию химеры, ученые могли быть уверены, что никто не сможет продолжить их исследования. Но прошло совсем немного времени, и генная инженерия стала намного проще технически - и, конечно, еще противоречивее.

Берг и Бойер продолжали изучать механизм, при помощи которого EcoRI разрезает молекулу ДНК. Они выяснили, что фермент оставляет после себя отнюдь не чистый ровный срез; наоборот, на каждом конце одна из нитей ДНК оказывается длиннее другой. Этот свисающий кончик может спонтанно соединиться с другим болтающимся кончиком, также отрезанным при помощи EcoRI. По существу, при разрезании получались так называемые "липкие" концы. И не нужно было ничего дополнительно делать с фрагментами ДНК разных видов, чтобы соединить их: они сами делали все необходимое.

Вскоре Бойер сумел реализовать возможности, которые давали ему "липкие" концы ДНК. Вместо вирусов он выбрал плазмиды - колечки ДНК, которыми бактерии обменивались друг с другом. Вместе со специалистом по плазмидам Стенли Коэном Бойер разрезал две плазмиды при помощи EcoRI. "Липкие" концы молекул соединились, объединив две плазмиды в одно кольцо. Каждая из плазмид несла в себе гены, отвечающие за устойчивость к какому-то одному антибиотику, и когда Бойер и Коэн ввели получившуюся плазмиду в клетку *E. coli*, бактерия получила резистентность к обоим лекарствам. После деления этой бактерии оба новых микроорганизма получили по одинаковой плазмиде, созданной методами генной инженерии. Впервые в истории живой микроб стал носителем генов, сознательно соединенных человеком.

Соединив между собой две плазмиды *E. coli*, Бойер и Коэн обратились к другому биологическому виду. В сотрудничестве с Джоном Морроу из Стэнфордского университета они вырезали фрагмент ДНК из клетки африканской шпорцевой лягушки и вставили его в плазмиду, которую затем ввели в клетку *E. coli*. Таким образом они создали химерный организм, который одновременно был и бактерией, и животным.

Когда Бойер описал результаты своих экспериментов на конференции в Нью-Гемпшире в 1973 г., его сообщение произвело эффект разорвавшейся бомбы. Никто не мог сказать, безопасны ли подобные эксперименты. Участники конференции направили в Национальную академию наук США письмо, в котором изложили свои опасения, и в научных кругах разгорелась дискуссия. Что практически полезного можно сделать с *E. coli*, полученной в результате подобных генетических экспериментов? Насколько серьезны риски?

Возможности на тот момент казались совершенно фантастическими - примерно настолько же, насколько фантастическими выглядели мечты Холдейна ровно за полвека до этого. *E. coli* могла бы производить ценнейшие органические вещества, такие как человеческий инсулин, необходимый при лечении диабета. *E. coli* можно было бы снабдить генами для расщепления целлюлозы - химически стойких растительных волокон. Тогда человек, проглотивший некоторое количество таких, способных расщеплять целлюлозу бактерий, смог бы извлекать питательные вещества из травы и других растений. С другой стороны, игры с геномом *E. coli* могли закончиться катастрофой. Так, при помощи целлюлозорасщепляющей *E. coli* человек, возможно, стал бы получать слишком много калорий и растолстел бы до невероятных размеров. А может быть, эти бактерии лишили бы человека той пользы, которую он получает от непереваренных растительных волокон, в том числе, к примеру, и защиты от рака.

Пол Берг и 30 других видных ученых написали в 1974 г. письмо в Национальную академию наук США, в котором призывали к мораторию на искусственный перенос генов до тех пор, пока ученые не договорятся о некоторых общих рекомендациях. Первым шагом к формулированию таких рекомендаций стала организованная Бергом в феврале 1975 г. встреча в конференц-центре государственного парка "Асиломар" на побережье Калифорнии (в Пасифик-Гроув). Вместо того чтобы полностью запрещать генную инженерию, ученые призывали к созданию системы контроля с несколькими уровнями жесткости. Чем выше вероятность того, что эксперимент может нанести вред, тем больше внимания ученые должны уделять предотвращению утечки экспериментального материала - организмов с искусственно измененным генотипом. Некоторые особенно опасные эксперименты, такие как интегрирование в геном живых организмов чужеродных генов, отвечающих за производство мощных токсинов, нельзя проводить вовсе. По следам Асиломарской конференции

Национальный институт здоровья США создал комитет, который должен был в том же году разработать официальные рекомендации.

С точки зрения таких ученых, как Берг, подобная стратегия, безусловно, представлялась разумной. Они не спеша поразмыслили над перспективами генной инженерии и решили, что связанные с ней риски не так уж велики и с ними можно работать. Так, генная инженерия вряд ли способна вызвать новую эпидемию рака, поскольку большинство людей сталкивается с подобными вирусами еще в детстве. Многие ученые пришли к выводу, что после десятилетий безбедной жизни в лабораториях штамм *E. coli* K-12 настолько ослабел, что не сможет выжить в жестких условиях человеческого кишечника. Биолог Уильям Смит объявил, что выпил раствор *E. coli* K-12, но не обнаружил следов бактерии в своем стуле. Но для пущей уверенности в том, что генная инженерия не будет представлять опасности, микробиолог из Алабамского университета Рой Кертисс создал сверхслабый штамм *E. coli*, в сотню миллионов раз более слабый, чем пресловутый K-12.

На других ученых, однако, эти успокоительные заверения не подействовали. Биохимик Либе Кавальери из Мемориального онкологического центра имени Слоана - Кеттеринга в Нью - Йорке опубликовал в *New York Times Magazine* очерк под названием "Новые штаммы жизни - или смерти" (*New Strains of Life - or Death*). Чуть ниже заголовка в журнале размещался гигантский групповой портрет *E. coli*, обнимающих друг друга своими тонкими инопланетными фимбриями. Познакомьтесь - новый Франкенштейн.

Очень скоро к критикам - ученым присоединились политики и общественные деятели. Конгресс США начал слушания по генной инженерии, и депутаты сразу же внесли в парламент десяток биллей, предусматривающих различные степени контроля. Не дремали и политики муниципального уровня. Так, мэр города Кембриджа (штат Массачусетс) Альфред Веллуччи провел бурные слушания по поводу начала в Гарварде исследований в области генной инженерии. Город полностью запретил генную инженерию на несколько месяцев. На научных конференциях протестующие вывешивали лозунги, экологические организации подавали в суд на Национальный институт здоровья за пренебрежение рисками генной инженерии.

Многие критически настроенные люди были возмущены тем, что ученые вроде бы собирались сами решить, как поступить с рисками, связанными с генной инженерией. "В намерения той части научного мира, которую можно было бы назвать молекулярно - биологической общественностью, никогда не входило выносить этот вопрос на обсуждение широкой публики", - откровенно написал в 1981 г. Джеймс Уотсон. Критики утверждали, что публика имеет право решать, как быть с рисками генной инженерии, потому что все беды и отрицательные последствия обрушатся, разумеется, на обычных людей. Сенатор от штата Массачусетс Эдвард Кеннеди жаловался, что "ученые сами решили наложить мораторий, а затем сами же решили его снять".

Некоторые критики также высказывали сомнения, что ученые могут быть объективны в вопросе генной инженерии. Они заинтересованы в том, чтобы законодательные ограничения были как можно менее строгими, потому что так им удастся за меньшее время провести больше экспериментов. "Путеводная звезда Нобелевской премии - мощный стимулятор, придающий исследователям силы и энергию", - предостерегал Кавальери. Вместе с научной славой приходят и сверкающие перспективы богатства. Корпорации и инвесторы уже начинали обхаживать специалистов по молекулярной биологии, надеясь найти генной инженерии коммерческое применение. Финансовые интересы многих могут заставить преувеличить грядущие выгоды новой науки и преуменьшить связанные с ней риски. Так, компания Cetus, активно привлекавшая в свои ряды молекулярных биологов, сделала поразительное предсказание: "Мы, работники Cetus, предрекаем, что к 2000 году буквально все основные человеческие болезни будут без труда излечиваться специальными, разработанными отдельно для каждой болезни искусственными белками, которые будут вырабатывать специализированные гибридные микроорганизмы".

Критики же видели в генной инженерии не чудо, а лишь иллюзию простого решения. В 1977 г. Национальная академия наук США организовала публичный форум по рискам и преимуществам новой технологии. Протестующие устраивали пикеты, пытаясь остановить мероприятие, и называли генных инженеров нацистами. Среди этого хаоса вице - президент по исследованиям компании Eli Lilly Ирвинг Джонсон рассказал о том, как можно использовать генную инженерию в лечении диабета. Eli Lilly, крупнейший в США производитель инсулина, получала этот гормон из поджелудочной железы свиней. При падении уровня потребления свинины или заметном увеличении числа диабетиков, сказал Джонсон, этого источника, возможно, окажется недостаточно. Создание методами генной инженерии бактерии, способной производить человеческий инсулин, может обеспечить его

неограниченное и дешевое производство. "Это настоящая "наука для народа"", - сказал Джонсон.

Рут Хаббард, биолог из Гарварда и ведущий критик генной инженерии, выступила с опровержением этой радужной картины. Она указала на то, что инсулин не предотвращает диабет и даже не лечит его. Он всего лишь нейтрализует некоторые симптомы болезни. "Прежде чем хвататься за технические фокусы и пытаться лечить с их помощью сложные болезни, - предостерегла она, - мы должны сначала понять, что вызывает эти болезни, как работает терапия, о которой нам прожужжали все уши; мы должны знать, какая доля больных действительно в ней нуждается... Но что нам сейчас совершенно точно не нужно, так это новая потенциально опасная технология производства инсулина, которая принесет выгоду только тем, кто его производит".

Мало того что генная инженерия отвлекает общество от реальных способов решения проблемы, предупреждали критики, она может поставить под угрозу само существование нашего мира. Особенно рискованной ее делает то, что технология эта полностью зависит от *E. coli*. "С точки зрения общественного здоровья, - заявил Кавальери, - эта бактерия представляет собой наихудший возможный вариант. Это обычный обитатель человеческого пищеварительного тракта, легко проникающий в организм через рот или нос. Оказавшись внутри, он способен размножаться и может остаться там навсегда. Таким образом, любая лаборатория, работающая с рекомбинантными штаммами *E. coli*, битком набита потенциальными носителями, способными при случае разнести опасный штамм по всему миру".

Даже если ученые будут использовать для генной инженерии только ослабленный штамм *E. coli*, эти микробы смогут прожить вне лаборатории достаточно долго, чтобы передать свои измененные гены более выносливым штаммам. Критики предсказывали эпидемии рака, вызванные небрежно вылитым в раковину раствором, содержащим клетки *E. coli*. Бактерия, производящая инсулин, может выработать такое его количество в организме человека, что тот от инсулинового шока впадет в кому. Генетически измененные организмы могут вызвать катастрофы посерьезнее, чем токсичные вещества, просто потому, что они живые и обладают репродуктивными способностями. Видный биолог из Колумбийского университета Эрвин Чаргафф назвал генную инженерию "необратимым вмешательством в биосферу".

"Этот мир дан нам взаймы, - предупреждал Чаргафф. - Мы приходим и уходим; через какое-то время мы оставляем землю, и воздух, и воду другим - тем, кто приходит после нас. Мое поколение или, может быть, предыдущее первым под руководством точных наук вступило в разрушительную колониальную войну с природой. Будущее проклянет нас за это".

Такие атаки буквально ошеломили сторонников генной инженерии. Как заявил в 1979 г. Берг, дебаты об этом новом направлении в науке стали "кошмарными и провальными". Стэнли Коэн назвал их "рассадником бесчисленных публицистов".

Джеймс Уотсон, как обычно, был откровеннее всех: "Мы были ослами, - сказал он, вспоминая о собственной поддержке моратория 1974 г. - Я сожалею об этом решении и осознанно стыжусь его". Из-за того давнего решения общественность отвлеклась от реальных угроз на иллюзию апокалипсиса.

"Я боюсь, что, пугая народ и себя опасностями, по поводу которых у нас не было причин тревожиться, мы уподобились двум моим маленьким сыновьям, - писал он. - Они обожают говорить о чудовищах, потому что уверены в том, что в реальной жизни никогда ни одного чудовища не встретят".

## **E. coli incorporated**

Герберт Бойер - тот самый ученый, чьи работы послужили поводом к дискуссии о генной инженерии, - в спорах не участвовал. У него были другие дела. Он искал компании и инвесторов, которые придумали бы способ сделать на его рестрикционных ферментах деньги. В 1976 г. он вступил в партнерство с молодым предпринимателем Робертом Свонсоном. Сложившись по \$500 каждый, они основали компанию под названием Genentech (сокращение от genetic engineering technology). Бойеру пришлось занять деньги, чтобы внести свою долю.

Бойер и Свонсон решили продавать ценные химические вещества, производимые полученными с помощью методов генной инженерии штаммами *E. coli*. В качестве первой цели они выбрали человеческий инсулин - в основном по тем же причинам, о которых говорил Ирвинг Джонсон на форуме Национальной академии наук. Бойер обратился за помощью к Артуру Риггсу и Кэйити Итакуре из больницы "Город Надежды" в Дуарте (штат Калифорния). Риггс и Итакура одними из первых научились конструировать гены. Когда Бойер начал с ними

сотрудничать, они занимались созданием своего первого человеческого гена, отвечающего за синтез гормона соматостатина[26]. Работая с Genentech, Риггс и Итакура придумали способ добавить к искусственному гену "липкие" концы и вставить его в плазмиду. Они ввели эту плазмиду в клетку *E. coli*, и бактерия начала выделять соматостатин. Так в молодой науке был достигнут очередной рубеж. В 1973 г. Бойер, Коэн и Морроу сумели вставить в геном *E. coli* фрагмент гена животного. Четыре года спустя у Genentech уже была *E. coli*, способная производить человеческий белок.

Но ученые не собирались почивать на лаврах. Опубликовав в 1977 г. предварительные результаты экспериментов, они обратились к инсулину. Бойер знал, что начинается гонка и следует спешить. Уолтер Гилберт, блестящий молекулярный биолог из Гарварда, тоже работал над получением инсулина. Но у Бойера перед Гилбертом было принципиальное преимущество: он работал с искусственной молекулой ДНК. Гилберт же пытался выделить гены, отвечающие за производство инсулина, из живых клеток, так что его исследования подпадали под жесткие правительственные ограничения. Его команда вынуждена была принимать чрезвычайные меры предосторожности, чтобы только иметь возможность продолжать эксперименты; они даже летали в Англию, чтобы работать в лаборатории, где создавалось биологическое оружие.

У Бойера дело продвигалась быстрее, потому что его ДНК не была "природной". Вместо того чтобы, подобно Гилберту, выделять ДНК из живых клеток, Риггс и Итакура начали с другого конца - они двигались от структуры белка инсулина к соответствующей последовательности нуклеотидов. В итоге Бойер, не связанный никакими ограничениями, выиграл гонку, 6 сентября 1978 г. фирма Genentech официально объявила, что ее ученым удалось получить от *E. coli* 20 миллиардных долей грамма человеческого инсулина.

Еще два года исследователи Genentech работали над увеличением производительности. Они внесли такие изменения в геном *E. coli*, что бактерия стала сама выводить произведенный инсулин наружу сквозь мембрану, и тем самым серьезно облегчили процесс сбора продукта. В 1980 г. Genentech была готова передать технологию производства инсулина компании Eli Lilly. В следующем году фармацевтический гигант построил у себя специальные баки емкостью по 40 000 л и начал разводить в них *E. coli*. Genentech акционировался, и бойеровы \$500 превратились в \$66 млн.

С началом шумихи вокруг Genentech споры о допустимости работы с *E. coli* затихли сами собой. Конгресс, отчасти благодаря яростному лоббированию со стороны ученых, так и не принял никакого закона о геной инженерии. Национальный институт здоровья ослабил свои ограничения. Ученым, работающим с *E. coli*, уже не надо было наряжаться в специальные скафандры. Корпорации расхватывали специалистов по работе с *E. coli*, как горячие пирожки. Все 14 ученых, подписавших в свое время вместе с Бергом письмо - мораторий, в конце концов связали свою карьеру с тем или иным коммерческим предприятием. Уолтер Гилберт стал одним из основателей компании Biogen, которая начала использовать методы геной инженерии на *E. coli*, чтобы наладить производство различных белков, казавшихся перспективными в плане борьбы с раком. На торжественной церемонии открытия штаб - квартиры Biogen в Кембридже ленточку перерезал бывший мэр города Альфред Веллуччи - когда-то непримиримый противник геной инженерии и лично Гилберта.

Компания Genentech стала лидером новой биотехнологической отрасли. Хумулин - произведенный бактериями инсулин - был выпущен на рынок в 1983 г., и сегодня это лекарство принимает 4 млн человек по всему миру. Другие компании начали выпуск собственных сортов инсулина, производимых *E. coli*, и сегодня их тоже принимают миллионы диабетиков. Биотехнологические компании разработали множество других лекарств, синтезируемых *E. coli*, - от человеческого гормона роста до средств для уменьшения вязкости крови. Сегодня *E. coli* послушно выдает на - гора витаминов и аминокислоты. Если традиционно при производстве сыра в молоко добавляли сычужный фермент - реннин, получаемый из коровьих желудков, то сегодня значительная доля сыров на прилавке супермаркета изготовлена с использованием реннина, произведенного *E. coli*. Ученые продолжают вводить в геном *E. coli* новые гены, пытаясь понять, какие еще полезные вещества может производить эта бактерия. Речь идет о самых разных соединениях - от биоразлагаемых пластмасс до этилового спирта.

Нельзя сказать, что все эти достижения дались ученым легко. *E. coli* - не завод и относиться к ней, как к машине, нельзя. Микроорганизм - живое существо, и на любое действие он может отреагировать совершенно неожиданным образом. Оказавшись в гигантском баке, бактерии могут задохнуться в собственных отходах. Вообще, бактерии, настроенные на производство больших количеств инсулина или другого чужеродного белка, испытывают сильнейший

стресс. Молекулы белка могут начать денатурироваться, и *E. coli*, чтобы вернуть им правильную форму, придется синтезировать белки теплового стресса. Энергию, которую бактерия тратит на борьбу со стрессом, уже невозможно использовать на питание и рост. Ученым, как поварам, занятым поисками идеального рецепта, пришлось искать решения и этих, и многих других проблем.

И сегодня, 30 лет спустя после превращения *E. coli* в чудовище и тягловую лошадку генной инженерии, эта бактерия по-прежнему остается любимым объектом биотехнологов. Ученые продолжают экспериментировать с ней в поисках новых способов работы с генами и белками. Ее ферменты рестрикции - любимый инструмент для разрезания ДНК, а ее плазмиды - любимое средство получения новых копий генов. Но сегодня ученые умеют встраивать эти гены в клетки многих других видов. В 1980-е гг. они, воспользовавшись полученными от *E. coli* уроками, начали переносить гены в другие бактерии и грибы. Кроме того, исследователи научились вводить гены в клетки животных и растений. Сбылась первоначальная мечта Берга: сегодня можно встроить ген в вирус, к примеру в SV40, и инфицировать этим вирусом клетку млекопитающего. (Ученые предпочитают использовать для этого клетки яичников китайского хомячка.) Модифицированная таким образом клетка может затем размножиться и образовать лабораторную колонию, которая станет вырабатывать какой-нибудь ценный белок.

Но этого мало. Сегодня можно вводить новые гены в клетки живых животных и растений. Генетически модифицированные культуры распространились во многих странах уже в большей части сельскохозяйственных угодий. Некоторые из них производят токсины, убивающие вредных насекомых; в обычных условиях такие токсины синтезировались бактериями. Другие способны противостоять пестицидам. Ученым удалось также создать растения, способные вырабатывать человеческие антитела и вакцины.

Даже в клетки животных теперь вводят чужеродные гены с помощью модифицированных вирусов. Некоторые исследователи надеются найти способ излечивать генетические заболевания, снабжая клетки работающими копиями ключевых генов. Другие вводят гены непосредственно в зародышевые клетки, чтобы получить животных с чужеродными генами во всех клетках тела. Некоторые ученые пытаются при помощи методов генной инженерии снизить загрязнение окружающей среды отходами сельского хозяйства. Основные загрязнения от сельскохозяйственной деятельности - соединения фосфора и кислорода, поступающие в почву с удобрениями. Когда дожди и вешние воды уносят фосфаты с полей в реки и в конечном итоге в океан, они вызывают вспышку размножения водорослей и другие экологические катастрофы, которые постепенно приводят к появлению обширных мертвых зон, где не может выжить ни один живой организм. Одна из причин, почему в удобрениях содержится так много фосфатов, заключается в том, что значительную часть удобрений получают из навоза домашних животных, к примеру свиней и кур. Дело в том, что эти животные лишены пищеварительных ферментов, необходимых для расщепления фосфатов, поэтому они проходят сквозь пищеварительную систему неизменными. *E. coli*, как и многие другие бактерии, вырабатывает ферменты для расщепления фосфатсодержащих молекул. И когда исследователи ввели свиньям гены *E. coli*, фосфатов в навозе модифицированных животных стало вчетверо меньше, чем у обычных.

В каком-то смысле все перевернулось с ног на голову: если 30 лет назад ученые вводили бактериям гены животных, то сегодня они, наоборот, вводят животным гены *E. coli*.

## Азбука жизни расширяется

В начале своего существования генная инженерия была всего лишь инструментом, который ученые смогли создать на базе своих знаний о *E. coli*. Однако в последние годы грань между генной инженерией и наукой постепенно стирается. Герберт Бойер использовал свои глубокие знания о *E. coli*, чтобы разработать методы генной инженерии. Сегодня генная инженерия использует методы Бойера, чтобы узнавать новое не только о *E. coli*, но и о фундаментальных законах жизни.

Ученые долгое время спорили о том, почему жизнь на Земле, практически без исключений, использует при строительстве белков всего лишь 20 аминокислот<sup>[27]</sup>. (*E. coli* и ряд других видов, в том числе человек производят и двадцать первую аминокислоту под названием селеноцистеин.) В природе существуют сотни замечательных аминокислот, из которых жизнь, кажется, могла бы свободно выбирать. Вообще, чтобы присоединиться к Клубу аминокислот, молекуле нужно всего лишь обладать подходящими концами. На одном конце у нее должна быть аминогруппа - атом азота, ковалентно связанный с двумя атомами водорода, а на другом - карбоксильная группа, состоящая из атома углерода, двух атомов кислорода и атома

водорода. Аминогруппа и карбоксильная группа легко стыкуются между собой, как кирпичики конструктора "Лего", и при этом почти не важно, что находится между ними. Любой химик может синтезировать в лаборатории сотни различных аминокислот; тот же процесс легко протекает в открытом космосе. В 1969 г. на Землю упал метеорит, покрытый слоем дегтеобразной слизи. Ученые насчитали в составе этой слизи 79 разновидностей аминокислот.

Так почему же у нас их всего двадцать? Один из способов разобраться в этом вопросе - попытаться искусственно получить организм, способный производить не двадцать аминокислот, а двадцать одну. В 2001 г. Питер Шульц из Научно - исследовательского института Скриппса в Ла- Хойя (Сан - Диего, Калифорния) с коллегами сделал именно это - естественно, на основе *E. coli*. Как и все остальные живые организмы, *E. coli* использует генетический код, в котором каждые три нуклеотида в составе ДНК кодируют одну аминокислоту. Существует 64 триплета, или, как их называют, кодона, большая часть которых у *E. coli* используется регулярно. Но Шульц с коллегами обнаружили один кодон, который используется очень редко. Они модифицировали *E. coli* таким образом, что этот редкий кодон теперь отдавал команду добавить в строящуюся молекулу белка необычную аминокислоту.

Журнал *Science* назвал это достижение "первой искусственной формой жизни, химия которой не похожа ни на что, встречающееся в природе". В дальнейшем ученые добавили в репертуар *E. coli* еще более 30 необычных аминокислот. Первоначально бактерия могла строить эти новые белки только при условии бесперебойного снабжения ее нестандартными аминокислотами, но затем ученые начали модифицировать *E. coli* так, чтобы она могла сама синтезировать их из обычной пищи.

Благодаря этим исследованиям споры о генетическом коде переместились на другую почву. Никто не может с уверенностью утверждать, что только те самые 20 аминокислот делают жизнь возможной. Некоторые даже считают, что генетический код - это всего лишь исторический артефакт. Первые живые организмы синтезировали свои белки из тех аминокислот, которых вокруг было больше всего, и этот случайный выбор закрепился навсегда. Некоторые ученые уверены, что у нас самый лучший генетический код из всех возможных - ведь он позволяет хранить информацию о максимальном количестве белков в минимальном числе генов. Другие возражают, что естественный отбор мог бы предпочесть генетический код и поустойчивее, с меньшей вероятностью возникновения летальных мутаций, при которых происходит синтез белков с полностью измененной структурой.

В наших руках, однако, правила генетического кодирования изменились. Шульц и другие исследователи теперь пытаются разобраться, какую практическую пользу можно извлечь из белков *E. coli*, которых нет в природе. Возможно, такие белки позволят *E. coli* исправить одну из крупнейших неудач геной инженерии. Дело в том, что, в отличие от бактерий, клетки эукариот модифицируют белки, присоединяя к ним углеводные компоненты. Они участвуют в процессе сборки белка и влияют на его функционирование. *E. coli* может синтезировать точные копии наших белков - все аминокислоты точно на местах, - но если она не в состоянии добавить в нужных местах эти углеводы, то получившиеся белки для нас бесполезны.

Шульц с коллегами нашел способ обойти эту проблему. Вместо того чтобы добавлять углеводы к готовому белку, они добавляют их к отдельным аминокислотам, а затем так модифицируют *E. coli*, чтобы она распознавала аминокислоты с углеводным компонентом. Таким образом, бактерия может собирать белки с уже присоединенными углеводами, готовые для употребления человеком. Оказывается, то, что неестественно для *E. coli*, совершенно естественно для нас.

## Сетевой взлом

Генная инженерия, которая на первый взгляд производит впечатление науки будущего, на самом деле достаточно примитивна и основана на биологических представлениях 1950-х гг. В мире геной инженерии *E. coli* и другие бактерии - всего лишь простые химические фабрики, выпускающие определенный набор белков. Достаточно изменить один ген, и один из производимых белков тоже изменится. Специалисты прекрасно понимают, что жизнь ни в коем случае не сводится к производству белков. Существуют еще, к примеру, репрессоры и промоторы, чья задача - включать и выключать гены. Но многие специалисты в области геной инженерии используют эту ценную информацию только для того, чтобы улучшить производительность *E. coli* и других организмов.

Возможен и другой взгляд на *E. coli*: бактерию можно рассматривать как управляющую схему или сетевую структуру. Ее белки и гены работают согласованно, позволяя микроорганизму получать и обрабатывать информацию, принимать решения, поддерживать

устойчивое существование в нашем неустойчивом мире. Мощь управляющей сети *E. coli* обеспечивается суммой ее частей, а не одним, каким-нибудь геном или белком. Заметим также, что искусственные, рукотворные устройства человек постоянно улучшает - инженеры перерабатывают старые схемы, добавляют новые части. И некоторые ученые уже задаются вопросом: если жизнь тоже придерживается инженерных принципов, то, может быть, и ее можно доработать?

Первые сообщения об усовершенствовании живых организмов появились в 2000 г., и в обоих случаях речь шла о *E. coli*. Физик Майкл Еловиц из Калифорнийского технологического института совместно со Станиславом Лейблером из Университета Рокфеллера в Нью - Йорке заставили этот микроорганизм мигать. Для своего нового управляющего контура они выбрали три гена, отвечающих за производство трех разных репрессоров. Они модифицировали первый ген так, чтобы репрессор, за синтез которого он отвечает, блокировал активность второго гена. Репрессор, кодируемый вторым геном, блокирует третий. Третий репрессор, в свою очередь, блокирует первый; кроме того, кодирующий его ген отвечает за строительство флуоресцентного белка, позаимствованного у медуз.

Еловиц и Лейблер обнаружили, что в некоторых модифицированных ими бактериях три репрессора образовали циклическую систему. Первый ген командует производством репрессоров до тех пор, пока они не блокируют второй ген; третий ген при этом освобождается и блокирует первый. Когда первый ген прекращает выработку своего репрессора, второй ген освобождается и блокирует третий и так далее. Еловиц и Лейблер объединили эти гены в одной плазмиде и ввели ее в клетку *E. coli*. В бактериальной клетке гены активизировались, и ученые смогли наблюдать этот процесс собственными глазами: в зависимости от степени подавления активности третьего гена *E. coli* вырабатывала больше или меньше флуоресцентного белка. Иными словами, бактерия мигала, как крошечный фонарик.

Второе сообщение поступило из лаборатории Джеймса Коллинза в Бостонском университете. Коллинз с коллегами снабдили *E. coli* триггерным переключателем. Они сконструировали и ввели в бактериальную клетку два гена, каждый из которых отвечал за производство репрессора, который блокировал активность другого гена. Каждый из двух репрессоров можно было оттащить от ДНК *E. coli* путем добавления в раствор определенного (в каждом случае своего) химического вещества. Чтобы увидеть, как работает эта система, ученые ввели в один из участвующих в ней генов инструкцию по производству флуоресцентного белка. Добавление одного из химических веществ заставляло бактерии светиться, причем свечение продолжалось даже после прекращения действия этого вещества. При добавлении второго вещества свечение прекращалось, и *E. coli* оставалась темной даже после того, как вещество заканчивалось.

На сегодняшний день эти эксперименты считаются вехами, отметившими рождение новой науки, которую многие называют синтетической биологией. Возможно, кому-то такая оценка покажется преувеличенной - ведь мигающую лампочку или переключатель может за несколько минут собрать любой сообразительный ребенок с электронным конструктором. Но биологи и инженеры понимают, что вслед за простыми схемами могут прийти и сложные. Из нескольких простейших логических элементов может получиться компьютерный чип.

Я пишу эту книгу всего через шесть лет после зарождения синтетической биологии, и ученые еще не построили на основе *E. coli* компьютерного чипа<sup>[28]</sup>. Но путь от мигалки и выключателя уже пройден немалый. Фотокамера из *E. coli*, о которой говорилось в начале этой главы, - хороший пример сегодняшних возможностей этой молодой науки. Каждый год Массачусетский технологический институт проводит турнир по синтетической биологии, в рамках которого студенты пытаются превратить *E. coli* в различные устройства. В 2004 г. студенты Техасского университета и Калифорнийского университета в Сан- Франциско вместе сконструировали бактерию, способную зафиксировать изображение. Они представили на конкурс пленку из модифицированной *E. coli*, которая вела себя как традиционная фотопленка, то есть темнела там, где на нее не падал свет. Чем больше на пленку попадало света, тем светлее она становилась. Обычная *E. coli* не ощущает свет и не может создавать цветовых пятен. Но студенты сконструировали штамм, способный и на то и на другое. Они позаимствовали ген, отвечающий за светочувствительный рецептор, у одного из видов сине - зеленой водоросли под названием *Synechocystis*<sup>[29]</sup>. А для окрашивания - гены того же *Synechocystis*, отвечающие за синтез пигмента.

Сложнее всего было соединить два набора генов в единую систему. Студенты модифицировали светочувствительные рецепторы так, чтобы они передавали сигнал на обычные молекулы, производимые самой *E. coli*. Получив сигнал, эти молекулы присоединялись к ДНК микроорганизма и блокировали синтез ферментов, необходимых для

производства пигмента *Synechocystis*. Время экспозиции для *E. coli* составляет 10–12 часов, да и изображение получается расплывчатым и каким-то призрачным. Но зато, поскольку каждый микроорганизм изменяет свой цвет независимо от других, разрешение "фотографии" получается очень высоким - примерно в десять раз выше, чем у самых качественных принтеров.

Подобные эксперименты внушают специалистам по синтетической биологии великие надежды на будущее. Вскоре они смогут синтезировать ДНК для получения совершенно новых генов, причем стоимость этого процесса будет невелика. В настоящее время никто не знает, как сконструировать ген, который выполнял бы заданную функцию, но исследователи научились вносить изменения в уже существующие гены и просчитывать, как эти изменения скажутся на белке, за синтез которого они отвечают. Уже разработаны новые гены, которые позволяют *E. coli* распознавать нервно - паралитический газ и тротил. Один из самых амбициозных проектов запущен в Калифорнийском университете в Беркли, где ученые пытаются создать генетически модифицированные штаммы *E. coli* и дрожжей, которые могли бы вырабатывать противомаларийное средство под название артемизинин. В природе этот препарат вырабатывает только полынь однолетняя. Если бы к производству артемизинина удалось приспособить микроорганизмы, его стоимость, возможно, упала бы в десять раз.

Тем временем Кристофер Войт с коллегами создает штаммы *E. coli*, которые когда-нибудь, возможно, смогут бороться с раком. Его бактерии разыскивают в организме опухоли по низкому содержанию кислорода, и затем "впрыскивают" токсины в раковые клетки. Войт надеется когда-нибудь превратить *E. coli* или какой-нибудь другой микроорганизм в "умное" лекарство, способное самостоятельно принимать решения о том, как и когда следует выделять лекарственное вещество для лечения болезни. Возможно, они смогут также считать собственные циклы деления и после определенного их числа заканчивать жизнь самоубийством. Другие ученые пытаются превратить *E. coli* в солнечную батарею, способную улавливать солнечный свет и превращать его в топливо. Специалисты по синтетической биологии надеются, что когда-нибудь им удастся продвинуться дальше *E. coli* и приступить к работе с другими организмами, как это в свое время произошло с геной инженерией. Не исключено, что когда-нибудь они смогут вмешаться и в программирование человеческих клеток: к примеру, заставить организм вырастить новый орган.

Все то, о чем говорилось выше, занимает мысли специалистов по синтетической биологии в хорошие дни. Когда же накатывает дурное настроение, они вспоминают обо всех трудностях и препятствиях, которые ждут их впереди.

Инженерам, к примеру, нужны стандартизованные детали. Конструируя токарный станок или газонокосилку, инженер не придумывает заново болты, которые должны скреплять детали машины. Он просто указывает, какие болты и гайки из стандартного набора следует использовать. Но это относительно недавнее достижение. До середины XIX в. резьба на болтах, сделанных на одном заводе, могла полностью отличаться от той, которая была на болтах другого завода. Стандартизация болтов ускорила технический прогресс и, возможно, сыграла очень существенную роль в промышленной революции.

Пока что синтетическая биология в некоторых отношениях находится еще на доиндустриальной стадии развития - это ремесло для умельцев и мастеров. Еловицу и его коллегам - специалистам мирового класса по *E. coli* и ее генам - на получение мигающей бактерии потребовалось больше года. Даже добившись успеха, они оказались в тупике - другим ученым было бы очень трудно каким-то образом улучшить их схемы или включить их в другие, более сложные. С одной стороны, сначала им пришлось бы воспроизвести схему, что само по себе очень непросто. К тому же эта схема может работать только в определенном штамме *E. coli*, а определить эти штаммы можно, лишь сверяясь с детально разработанным "генеалогическим древом", где за происхождением бактерий следят не менее тщательно, чем за происхождением коронованных особ. Любой инженер почувствовал бы отчаяние перед лицом таких трудностей.

Начиная с 2001 г. Дрю Энди и Том Найт из Массачусетского технологического института создают генетический банк для синтетической биологии. Если вам понадобится добавить к своей схеме переключатель, вы сможете поискать его на сайте BioBricks, загрузить на свой компьютер необходимую последовательность ДНК, заказать соответствующие фрагменты ДНК через биотехнологическую фирму и ввести их в клетку *E. coli*. На текущий момент в каталоге BioBricks содержится более 160 готовых схем; это не только упрощает исследования в области синтетической биологии, но и способствует развитию соответствующего профессионального сообщества. Энди и Найт организовали на базе BioBricks ежегодный конкурс по синтетической

биологии среди студентов. Студенты тоже добавляют в банк новые фрагменты генетического материала, открывая дорогу будущим изобретениям.

Но дальнейшие попытки специалистов построить более масштабные схемы могут встретить на своем пути новое препятствие: саму *E. coli*. Несмотря на все усилия ученых, многое в этом микроорганизме до сих пор непонятно. Шестьсот его генов остаются полнейшей загадкой. Особенно туманна структура его генетической сети. Ученые могут распознать большинство транскрипционных факторов[30]*E. coli*, то есть большинство белков, включающих и выключающих гены. Но о том, чем эти гены управляют, известно гораздо меньше. А то, что специалисты знают о *E. coli* наверняка, иногда очень их расстраивает.

Управляющие схемы *E. coli* перекрывают друг друга, образуя такую путаницу, какую не сконструировал бы ни один уважающий себя инженер. Очень трудно предсказать, как дополнительные цепи, введенные человеком, изменят общее поведение такой сложной и запутанной системы.

Некоторые специалисты по синтетической биологии считают, что преодолеть слабости *E. coli* можно, только если разобрать ее на части и собрать заново. В Гарвардском университете, к примеру, Джордж Чёрч с коллегами уже составил список из 151 гена, которых, по их мнению, было бы достаточно для живого организма. Механизм действия этих генов, которые в основном взяты у *E. coli* и ее вирусов, ученые понимают хорошо. Составленная из них система вроде бы не должна таить особых загадок. Чёрч надеется искусственно собрать из этих основополагающих генов полноценный геном и, совместив их с мембраной и рибосомами (их задача - строительство белков), создать живой организм. Назовем его *E. coli* 2,0.

Тем временем Альберт Либхабер из Университета Рокфеллера предпочел еще более простой подход. Вместе с коллегами он приготовил раствор, содержащий рибосомы и некоторые химические вещества, которые можно обнаружить в клетках *E. coli*. Вместо полного генома они создали всего лишь небольшие плазмиды. Затем они заключили гены и молекулы в искусственную двухслойную фосфолипидную оболочку, добавив необходимые для этого вещества. Команда Либхабера обнаружила, что эти пузырьки способны жить - по крайней мере несколько часов. В одном из генов, добавленных Либхабером в плазмиды, был закодирован белок, формирующий поры в мембране. Протоцитки считывали этот ген, строили молекулы соответствующего белка и встраивали их в мембрану. Образовавшиеся поры позволяли аминокислотам и другим небольшим молекулам проникать внутрь протоцитки, но не выпускали наружу плазмиды и другие крупные молекулы. Чтобы отследить производство новых молекул белка, ученые добавили в плазмиды ген, взятый у жука - светляка. Протоцитка светилась холодным зеленоватым светом. Либхабер не называет свое творение живым организмом. Он предпочитает термин "биореактор". Переход от биореактора к настоящей жизни потребует дополнительных усилий, и немалых. Либхаберу и его коллегам придется по крайней мере добавить некоторое количество генов, чтобы обеспечить биореакторам возможность деления на новые биореакторы.

Чёрч и Либхабер только начинают разбираться в том, как следует использовать *E. coli* при создании новых живых систем. Они не могут просто собрать в одном месте ДНК и другие необходимые молекулы и оставить их в покое, чтобы они ожили самостоятельно. Жизнь не похожа на компьютер, который загружается просто по нажатию кнопки. Каждая живущая сегодня *E. coli* происходит от предка, у которого, естественно, тоже есть предки. Все это вместе образует непрерывную биологическую реку, текущую уже не один миллиард лет. Жизнь - такая, какой мы ее знаем - всегда была частью этой реки. Но в будущем нам, возможно, удастся организовать собственную протоку.

## Возвращение бактерии Франкенштейна

В мае 2006 г. специалисты по синтетической биологии собрались в Беркли (штат Калифорния) на вторую между - народную встречу. Наряду с обычным обсуждением текущих исследований участники выделили время на то, чтобы набросать предварительный вариант профессионального кодекса. Накануне этого дня 35 организаций, включая защитников окружающей среды, общественных активистов и специалистов по биологическому оружию, выпустили открытое письмо, в котором призвали собравшихся воздержаться от резолюций. По мнению авторов письма, им следовало вместо этого присоединиться к публичным дебатам о синтетической биологии и быть готовыми подчиниться решениям своих правительств. "Биотехнологии уже дали повод для протестов по всему миру, но синтетическая биология - что-то вроде генной инженерии на стероидах", - сказала Дорин Стабински из организации Greenpeace International.

Биотехнологии в настоящее время переживают своеобразное дежавю. Вопросы, о которых сегодня спорят, поразительно похожи на те, что поставила перед ученым сообществом в 1970–е гг. первая генетически модифицированная *E. coli*. Оправдывают ли возможные выгоды риск? Есть ли что-то изначально неправильное во внесении генетических изменений в живые системы? Новые споры намного сложнее прежних, отчасти потому, что *E. coli* - не единственный объект манипуляций ученых. Мы не должны упускать из виду ни трансгенные сельскохозяйственные растения, ни модифицированные стволовые клетки, ни химеры, соединяющие в себе свойства человека и животных. Сегодня споры часто сосредоточены на тонких моментах, связанных с медициной, охраной природы, патентным правом или международной торговлей. Но, несмотря на все различия, между - тем и этим временем существуют сильные и поразительные параллели. Чтобы разобраться в потенциальных рисках и выгодах новой биотехнологии, полезно оглянуться на судьбу генетически модифицированной *E. coli* за последние три десятка лет.

Отчаянные предупреждения об эпидемиях онкологических заболеваний и инсулинового шока из-за *E. coli* сегодня кажутся нелепыми. За 30 лет генетически модифицированная *E. coli* не нанесла никакого документально подтвержденного вреда, несмотря на то что на фабриках эту бактерию разводят в биореакторах емкостью по 40 000 л, где каждый миллилитр раствора содержит порядка миллиарда особей. Никто, кроме Господа Бога, не в состоянии проследить судьбу каждой модифицированной *E. coli* за последние 30 лет, поэтому невозможно точно сказать, почему не произошли предсказанные катастрофы. Некоторые выводы, правда, можно сделать по результатам экспериментов. Ученые поместили *E. coli* K-12, несущую человеческие гены, в емкость с илом, в бак с водой и в кишечник животного. Выяснилось, что во всех трех средах бактерии очень быстро исчезли. Дело, вероятно, в том, что генетически модифицированные *E. coli* направляют много энергии и сырья на производство белков, кодируемых генами, введенными в их геном. Но эти белки, к примеру инсулин или средства для разжижения крови, вряд ли ускоряют рост бактерии или повышают ее шансы на выживание. В тщательно контролируемых условиях, созданных учеными в лабораториях, эти микроорганизмы чувствуют себя неплохо, но конкуренции с другими бактериями они не выдерживают.

Не генетики первыми начали вводить в клетки *E. coli* гены других биологических видов. В каком-то смысле эти бактерии подвергались генно - инженерным модификациям на протяжении миллиардов лет. В дикой природе, однако, большинство актов переноса генов заканчивается полной неудачей. Бактерии не в состоянии синтезировать белки, за которые отвечают многие гены, привнесенные в геном за счет горизонтального переноса, и естественный отбор подхватывает мутации, устраняющие большинство чужеродных генов.

К несчастью, отсутствие доказательств - совсем не то же самое, что доказательство отсутствия. Если какой-нибудь модифицированный штамм *E. coli* сумеет ускользнуть из лаборатории и прожить во внешнем мире хотя бы несколько дней, нельзя исключить, что он успеет за это время передать свои гены другим бактериям. Если почвенный микроорганизм подхватит ген, кодирующий синтез человеческого инсулина или другого чужеродного белка, он, вероятно, никаких преимуществ от этого не получит. Но вероятность такого события нельзя исключить. Исследования позволяют предположить, что, даже если чужеродный ген даст бактерии какое-то конкурентное преимущество, он долгое время будет встречаться слишком редко и вряд ли будет замечен; не исключено, что период его "невидимого" существования продлится несколько десятков, а то и сотен лет.

Пока мы ожидали появления генетически модифицированной чудовищной *E. coli*, штамм 0157: Н7 проявил себя как серьезная угроза общественному здоровью. Именно в 1975 г. - том самом, когда ученые собрались в Асиломаре, чтобы рассмотреть потенциальные опасности, исходящие от генетически модифицированной *E. coli*, - произошел первый зарегистрированный случай заболевания человека, вызванного *E. coli* 0157: Н7. Но этот патогенный микроорганизм - не создание рук человеческих и его разумного замысла. На протяжении столетий *E. coli* 0157: Н7 получила множество генов от смертельно опасных вирусов или разных штаммов *E. coli* и других видов бактерий. Она обзаводилась "шприцами", токсинами и химическими веществами, способными изменить поведение клеток хозяина. Такая генная инженерия работает и сегодня, продолжая производить один новый штамм за другим. Но введение группы генов в единственный микроорганизм - всего лишь первый шаг в подобной трансформации. Дальше наступает очередь естественного отбора: новый хозяин генов должен получить репродуктивное преимущество, а затем гены и хозяин должны как следует приспособиться друг к другу.

Для такой трансформации требуется целая экосистема, способная обеспечить условия для естественного отбора в нужном направлении. Мы создали такую экосистему. *E. coli* 0157: H7 свободно передавалась от человека к домашним животным и обратно через пахотные поля и бойни, через реки и канализацию, кишася патогенными вирусами. Нет никаких оснований считать, что для искусственно модифицированной *E. coli* тоже найдется подобный эволюционный маршрут. Пожалуй, незапланированное, случайное воздействие человека на *E. coli* должно вызывать у нас куда большие опасения, чем разведенные в лаборатории "монстры".

Тридцать лет назад сторонники генной инженерии обещали человечеству огромные выгоды от ее использования. Они оказались правы - до определенной степени. Генная инженерия уже принесла человеку большую пользу, и польза эта намного шире, чем производство тех лекарств, которые бактерии синтезируют в биореакторах. Генетически модифицированная *E. coli* и другие модифицированные клетки не только производят множество ценных веществ; помимо всего прочего, они многократно ускорили развитие науки. К примеру, *E. coli* сыграла огромную роль при секвенировании человеческого генома. Для того чтобы прочесть геном, ученые вводили его фрагменты в клетки *E. coli*, которая затем производила множество пригодных для анализа копий. Другие ученые использовали *E. coli*, чтобы наштамповать миллионы молекул белков и определить, для чего эти белки предназначены. Вводя гены человека в геном *E. coli*, ученые открыли, что ДНК человека состоит из участков двух типов. Некоторые сегменты ДНК под названием экзоны кодируют белки. Но они чередуются с другими сегментами, получившими название интронов, которые ничего не кодируют. Наши клетки удаляют интроны из РНК перед синтезом белков. Они способны использовать различные комбинации экзонов, чтобы производить несколько белков на основе одного гена.

Но как бы значительны ни были достижения, они ни в коем случае не дотягивают до самых смелых обещаний, сделанных 30 лет назад. Ученые из корпорации Cetus утверждали, что все основные болезни к 2000 г. будут побеждены при помощи генетически модифицированных белков. Я пишу этот текст в 2007 г.: рак, сердечно - сосудистые заболевания, малярия и другие болезни продолжают убивать людей миллионами. Может быть, ученые из Cetus просто ошиблись со сроками? Может быть, следующее тридцатилетие принесет новые прорывы в области генной инженерии, которые дадут возможность истребить все тяжелые заболевания? Но я бы не стал ставить на такую возможность. Большинство серьезных заболеваний чрезвычайно сложны, и один - единственный белок, полученный с помощью генно - инженерных методов, не способен решить эти проблемы. К примеру, диабет, в лечении которого на генную инженерию возлагались такие надежды, за прошедшие 30 лет никуда не исчез. Наоборот, количество заболевших этим недугом с каждым годом растет. Частота заболеваемости диабетом II типа в США удвоилось, а по всему миру увеличилась в 10 раз. Да, *E. coli* обеспечила инсулином миллионы больных диабетом, но, как и предупреждала Рут Хаббард, инсулин ничего не лечит. Генная инженерия не может повлиять на причины эпидемии диабета - к примеру, на обилие в пище дешевого сахара, причем все чаще этот сахар получают из богатого фруктозой кукурузного сиропа. Кстати говоря, и сам кукурузный сироп стал дешевой альтернативой тростниковому сахару в значительной степени благодаря достижениям генной инженерии.

Лекарства, полученные с помощью генно - инженерных методов, оказались в той же степени подвержены влиянию рыночных факторов, что и обычные. Фармацевтические компании пытаются повысить уровень продаж, расширяя определение болезни. Это касается и генно- инженерных препаратов. Так, первоначально Genentech получил разрешение FDA (Управление по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов США) на продажу своего гормона роста для лечения детей, у которых его синтез нарушен. Но в 1999 г. компании пришлось заплатить \$50 млн за улаживание дел по обвинениям в том, что лекарство предлагалось и продавалось детям, не испытывавшим дефицита гормона роста. Их рост просто был ниже среднего.

Оценивая новые биотехнологические методы, приходящие на смену генной инженерии, следует вспомнить и тридцатилетнюю историю генетического модифицирования *E. coli*. Не стоит, видимо, поддаваться ни пустым страхам, ни рекламным обещаниям. Мы должны быть реалистами, должны понимать, как работает и каким законам подчиняется не только природа, но и общество.

К примеру, одной из величайших целей биотехнологии всегда была победа над голодом. Джулиан Хаксли еще в 1923 г. рассуждал о том, что открытия ученых помогут создать безграничные запасы пищи (наряду с фиолетовыми океанами, конечно). В 1960-е гг. воплощением этой мечты казался дрожжевой грибок, питающийся нефтью. Когда ученым

удалось успешно встроить в геном *E. coli* чужеродные гены, сторонники генной инженерии опять надеялись, что новые технологии позволят обеспечить весь мир пищей. В 1970–е гг. Зеленая революция - переход на новые сорта растений и интенсивное использование удобрений - позволила резко увеличить продуктивность сельского хозяйства. Но население Земли, а значит, и его потребности в пище продолжали расти. Ученые делали попытки создать бактерии, способные производить удобрение, извлекая азот из воздуха. А недавно ученые обратились и к самим растениям. Сегодня трансгенные растения продвигаются на рынок не как средство получить большие барыши, а как способ борьбы с голодом и недоеданием. Растения, способные сопротивляться действию вирусов и насекомых, дадут более высокий урожай. Растения, устойчивые к гербицидам, позволят фермерам более эффективно бороться с сорняками, что еще больше увеличит урожай. Норман Борлоуг, получивший за участие в Зеленой революции Нобелевскую премию, утверждал, что генетически модифицированные культурные растения - следующий шаг на этом пути и что именно они в следующем столетии будут кормить мир.

Всякий, кто усомнится в этом предсказании, утверждал Борлоуг, обрекает бедняков всего мира на голод. "Богатые страны могут позволить считать себя избранными и платить больше за пищу, производимую так называемыми натуральными методами; миллиард хронически бедных и голодных людей в этом мире не может себе этого позволить, - писал он в 2000 г. - Новая технология станет для них спасением, освободит от устаревших, низкоурожайных и более дорогих технологий сельскохозяйственного производства".

Одной из самых перспективных культур, на которые указывал Борлоуг (и многие другие сторонники генной инженерии), был "золотой рис" - сорт генетически модифицированного риса, содержащего большое количество бета-каротина, биохимического предшественника витамина А. От дефицита этого витамина страдает около 200 млн человек по всему миру. Каждый год от его недостатка слепнет до полумиллиона детей, половина из которых в течение года после этого умирает. В конце 1990–х гг. швейцарские ученые начали вводить в геном риса гены нарциссов и бактерий, отвечающие за производство бета-каротина. Они вступили с корпорацией Syngenta в партнерство, целью которого была разработка нового сорта риса и бесплатная раздача его тем фермерам, доход которых не превышает \$10000 в год. В 2000 г. один из изобретателей нового сорта, Инго Поттрикус, появился на обложке журнала *Time* вместе с заголовком "ЭТОТ РИС МОГ БЫ СПАСАТЬ ПО МИЛЛИОНУ ДЕТЕЙ В ГОД"; ниже мелким шрифтом было напечатано продолжение: "...но противники генетически модифицированных продуктов считают, что они вредны для нас и нашей планеты. Читайте почему".

Поттрикус достаточно резко реагировал на протесты. "Сражаясь против того, чтобы "золотой рис" дошел до бедных в развивающихся странах, - заявил он в 2001 г., - противники ГМО берут на себя ответственность за прогнозируемую ежегодную чрезмерную смертность, а также слепоту миллионов бедных людей".

Сильные слова - особенно с учетом того зародышевого состояния, в котором находились исследования по "золотому рису", когда Поттрикус их произносил. Лишь в 2006 г. он и его коллеги опубликовали первые результаты по этой теме. Им удалось получить рис лишь с незначительным количеством бета-каротина в тканях - явно недостаточным для реальной борьбы с дефицитом витамина А. В 2005 г., через четыре года после того, как Поттрикус обвинил критиков в массовых убийствах, ученые компании Syngenta выяснили, что добавление еще одного гена (в данном случае от кукурузы) повышает содержание бета-каротина сразу в двадцать с лишним раз. Достижение громадное, но до сих пор нет веских доказательств, много ли пользы это принесет питающимся таким рисом людям. Некоторые диетологи предупреждали, что, возможно, пользы вообще не будет, поскольку для нормального усвоения бета-каротин нужно употреблять одновременно с какими-нибудь жирами. Можно страдать от дефицита витамина А - и даже ослепнуть - на диете, где этого витамина вполне достаточно. В нужной комбинации витамин А и жиры присутствуют в молоке, яйцах и многих овощах. В рисе этого нет. Тот факт, что "золотой рис" находится на передовом рубеже генной инженерии, вовсе не означает, что с его помощью удастся победить нехватку витамина А успешнее, чем это можно сделать традиционными методами.

Называть трансгенные растения спасительными так же бессмысленно, как и вешать на них ярлык "еда Франкенштейна"<sup>[31]</sup>. Нас бросает из крайности в крайность - от отчаянного ужаса до ожидания чуда с хлебами и рыбами.

Едва ли можно ожидать от трансгенных растений чуда. Это живые организмы; они подчиняются законам природы точно так же, как мы сами или, к примеру, *E. coli*. И точно так же, как *E. coli* в ходе эволюции сумела разработать защиту против некоторых из лучших наших

антибиотиков, так и популярнейшие трансгенные сорта под действием естественного отбора теряют свою ценность.

Около 80 % всех трансгенных культур, высевавшихся в 2006 г., были модифицированы примерно одинаково: целью была устойчивость к гербициду под названием глифосат. Глифосат убивает растения, блокируя синтез необходимых для их жизни аминокислот. Он действует на ферменты, которые встречаются только у растений, поэтому яд безвреден для человека, насекомых и других животных. И, в отличие от других гербицидов, глифосат не попадает в грунтовые воды, а остается на месте и распадается за несколько недель. Один ученый компании Monsanto открыл глифосат в 1970 г., и в 1974 г. компания начала продавать его под торговой маркой Roundup. В 1986 г. ученые путем генетической модификации получили растения, устойчивые к действию глифосата: в их геноме были добавлены гены бактерии, способной синтезировать аминокислоты даже после того, как растение было опрыскано гербицидом. В 1990-е г. Monsanto и другие компании начали продавать устойчивые к глифосату кукурузу, хлопок, сахарную свеклу и многие другие культуры. Они быстро приобрели популярность. Фермеры обнаружили, что вместо множества разных гербицидов можно опрыскивать поля лишь небольшим количеством глифосата, который успешно уничтожал сорняки, оставляя посевы нетронутыми. Исследования показывают, что фермеры, выращивавшие трансгенные культуры, применяли меньше гербицидов, чем те, кто выращивал обычные растения, - к примеру, в Мексике меньше на 77 %; при этом урожай трансгенных культур были значительно выше.

Какое-то время казалось, что глифосат избежит судьбы многих гербицидов и сорняки не разовьют к нему резистентность. Похоже было, что глифосат бьет по столь важному звену метаболизма растений, что они не могут "изобрести" защиту от него. Точно так же некоторое время казалось, что *E. coli* не сможет развить резистентность к антимикробным пептидам Майкла Заслоффа. Но через несколько лет после начала выращивания резистентных к глифосату сортов фермеры начали замечать, что мелколестник канадский, вьюнок пурпурный и другие сорные травы вновь потихоньку проникают на поля. Фермерам Джорджии даже приходилось скашивать, а не убирать хлопок из-за засоренности полей щирицей Палмера. Исследовав вернувшиеся сорняки, ученые обнаружили у них гены, обеспечивающие растениям устойчивость к глифосату.

Нет никаких доказательств того, что сорные растения получили гены резистентности от трансгенных культур. Скорее наоборот, ясно, что они заработали их традиционным - эволюционным - путем. Использование глифосата на посевах трансгенных растений оказалось настолько дешевым, что фермеры буквально затопили гигантские площади одним - единственным гербицидом. Они создали для растений, способных устоять перед глифосатом, идеальные условия и подстегнули их эволюцию в направлении все более сильной сопротивляемости. А гены устойчивости, лишь раз полученные, были, судя по всему, переданы всем прочим сорным видам.

Когда у *E. coli* развивается устойчивость к антибиотикам, до появления новых антибиотиков проходят иногда годы. Процесс производства трансгенных растений столь же неповоротлив. Только в 2007 г., через 20 лет после изобретения сортов, устойчивых к глифосату, ученые объявили о том, что им удалось создать растения, генетически устойчивые к другому гербициду - дикамбе. Компания Monsanto зарегистрировала технологию, но объявила, что до появления резистентных к дикамбе культур на рынке пройдет не менее трех - семи лет. А пока фермеры могут попытаться замедлить эволюцию резистентности традиционными методами: разумным севооборотом и применением комбинации из нескольких гербицидов.

Поскольку многое в сегодняшних биотехнологиях сильно напоминает события 30-40-летней давности, многие ученые тщательно изучают судьбу *E. coli* в 1970-е гг. и пытаются избежать ошибок, сделанных предшественниками. Специалисты по синтетической биологии стали отличными историками, изучая, как пионеры биотехнологий сражались с рисками, законами и представлением общественности об их работе. Сегодня, вместо того чтобы сделать синтетическую биологию исключительным достоянием избранных, Дрю Энди и его коллеги, напротив, приглашают всех желающих присоединиться к проекту. Добавлять новые коды в базу BioBricks может кто угодно. Сегодня фотокамера из *E. coli* появляется в научных музеях, а старшеклассникам предлагается принять участие в конкурсах по синтетической биологии. И вместо того чтобы сосредоточить усилия на чем-нибудь более выгодном вроде инсулина, ученые работают над получением дешевых лекарств от малярии, чтобы показать, какую пользу может принести синтетическая биология.

Специалисты по синтетической биологии стремятся сохранить этот дух открытости, несмотря на тот очевидный факт, что когда-нибудь разработанные ими инструменты и методы

могут быть обращены во зло. Без труда можно себе представить какое-нибудь правительство, которое захочет сконструировать живое оружие - специальный организм для ведения биологической войны. Ученые опасаются, что если правительство возьмет под контроль их исследования, то ручеек полезных инноваций пересохнет. Они утверждают, что лучший способ борьбы с будущим искусственным патогенным микроорганизмом - направить коллективные творческие силы открытого сообщества на благие цели. Ограждая синтетическую биологию от излишней зарегулированности и не допуская в эту отрасль патентов, ее основатели надеются получить искусственную версию эволюции с открытым кодом, которая на протяжении многих миллионов лет так хорошо служила *E. coli*.

## "Это гнусно"

Риски, связанные, как казалось в 1970-е гг., с генетически модифицированной *E. coli*, были не единственным источником страха перед генной инженерией. Новая наука затронула гораздо более глубокие пласты - убеждение в том, что человеку просто не полагается вмешиваться в наследственность и генетические механизмы. Многие критики видели в генной инженерии попытку нарушить естественный порядок вещей, изменить результат нескольких миллиардов лет эволюции. Перенос генов или иного биологического материала от одного вида к другому, казалось, размывал границы, установленные задолго до появления человека, и угрожал повалить само древо жизни.

"Мы теперь можем превратить пресловутое эволюционное древо в сеть, - заявил тогда Роберт Синшеймер, биолог из Калифорнийского университета в Санта - Крус. - Мы можем по собственному желанию смешивать гены самого разного происхождения - от растений до насекомых, от грибов до человека". Человечество, по мнению Синшеймера, не было готово к такой ответственности: "Мы становимся творцами - создателями новых форм жизни, существ, которые нельзя уже будет возвратить в небытие, которые будут жить после нас и эволюционировать в соответствии с собственной судьбой. Какую же ответственность должен нести творец и за собственные творения, и за весь живой мир, в который мы приносим наши изобретения?"

Одна газета в те годы назвала генетическую модификацию *E. coli* "проектом Франкенштейна". Игры с ДНК, заявил биолог из МТИ Джонатан Кинг, "святотатственны". Два политических активиста, Тед Говард и Джереми Рифкин, опубликовали в 1977 г. книгу "Кому дозволено играть роль Бога?" (Who Should Play God?), в которой осудили генную инженерию.

Тридцать лет спустя критики биотехнологий продолжают пользоваться все тем же "высоким штилем". Так, в 1999 г. Джереми Рифкин организовал в *The New York Times* занимающую целую полосу рекламу нескольких организаций, которые требовали взять биотехнологии под строгий контроль. В рекламе были размещены фотографии двух примеров новых ужасов, с которыми предстоит столкнуться человечеству: человеческого уха, растущего из спинки мыши, и первого клонированного животного - овечки Долли. Заголовок вверху страницы вопрошал: "Кто в XXI веке берет на себя роль Бога?"

"Генетические структуры живых существ - создания Природы, в которые менее всего стоит вторгаться человеку ради прибыли... Неужели никого не шокирует, что новорожденная биотехнологическая индустрия считает возможным брать под контроль эволюционный процесс и изменять жизнь на Земле ради своих бухгалтерских ведомостей?.. Брать на себя работу Природы?.. Кого бы вы ни считали творцом, Бога или Природу, именно граница между формами жизни придает каждой из них собственную цельность и идентичность".

"Бога или Природу" - загадочный выбор. Безусловно, не секрет, что христианство и иудаизм находятся с биотехнологиями в сложных отношениях. В конце концов, на первых же страницах Книги Бытия Библия ясно говорит:

"И сказал Бог: да произрастит земля зелень, траву, сеющую семя по роду [и по подобию] ее, и дерево плодovitое, приносящее по роду своему плод, в котором семя его по роду его [на земле]... И сотворил Бог рыб больших и всякую душу животных пресмыкающихся, которых произвела вода, по роду их и всякую птицу пернатую по роду ее... И сказал Бог: да произведет земля душу живую по роду ее, скотов, и гадов, и зверей земных по роду их. И стало так" (Быт. 1:11-24).

В книге Левит человечество получает инструкцию никогда не нарушать этих границ: "Скота твоего не своди с иною породою; поля твоего не засевай двумя родами семян" (Лев. 19:19).

Согласно Библии, важнейшее и главное живое существо - это, конечно же, человек. Созданный по образу и подобию Бога, он не должен даже мысли допускать о том, чтобы как-то сгладить свое отличие от животных: "И ни с каким скотом не ложись, чтоб излить [семя] и

оскверниться от него; и женщина не должна становиться пред скотом для совокупления с ним: это гнусно" (Лев. 18:23).

И сегодня для многих консервативно настроенных людей угроза биотехнологий - угроза скорее природе человека, нежели природе вообще; именно это их больше всего тревожит. "Вмешательство в процесс продолжения человеком рода ради того, чтобы смешать человека и животное, противоречит священности человеческой жизни и самому человеку, созданному по образу и подобию Божию", - пишет Нэнси Джонс из консервативного Центра биоэтики и человеческого достоинства.

Некоторые консерваторы не цитируют ни Библию, ни другие священные источники, но тоже уверены, что разрушение барьера между биологическими видами приведет к деградации человеческой природы. Виднейший из этих критиков - Леон Касс. После встречи с Полом Бергом в начале 1970-х гг. Касс продолжал писать и говорить о биоэтике, а с 2002 по 2005 г. он возглавлял Совет по биоэтике президента Джорджа Буша - младшего. В своих выступлениях против клонирования и создания химер он утверждает, что инстинктивное отвращение человека к подобным тварям - достаточное доказательство того, что создавать их нельзя. Касс называет такую путеводную неприязнь "мудрым отвращением". Мы просто знаем, что некоторые вещи делать нехорошо - к таким вещам относятся, например, инцест или осквернение трупа. Наша неспособность объяснить свои чувства с рациональной точки зрения нисколько не уменьшает их важности.

Более того, Касс утверждает, что это инстинктивное отвращение надежно указывает на то, что нам следует принимать, а что отвергать. Есть что-то ужасающее в армии одинаковых людей - клонов или в химерах - полулюдях - полуживотных. В век, когда технология может дать нам так много, писал Касс, "только отвращение еще, может быть, призывает нас защитить глубинную человеческую сущность. Мелки те души, что разучились содрогаться от ужаса".

Надо сказать, что подобные аргументы выдвигают не только теологи и философы. В январе 2006 г. президент Джордж Буш призвал к запрету "гибридов человека и животного" и добавил, что "человеческая жизнь - дар творца; от этого дара нельзя отказываться, его нельзя обесценивать или выставлять на продажу". Сенатор от Небраски Сэм Браунбек стал автором законопроекта о запрете химер, где говорилось, что "химеры могут поставить под угрозу уважение к человеческому достоинству и единство нашего биологического вида".

Игры с сутью человеческой природы - к примеру, введение мыши клеток человеческого мозга или модификация генов оплодотворенной яйцеклетки - означали бы унижение человеческой природы. Как говорит Роберт Джордж, политолог из Принстона и член бушевского Совета по биоэтике, "можно быть полноценным человеком или не быть им, третьего не дано".

Чтобы хоть как-то разобраться в этих спорах и противоречивых доводах, полезно еще раз оглянуться на историю генетически модифицированной *E. coli*. Тридцать лет назад изменение *E. coli* представлялось вызовом и даже оскорблением природе, если не Богу. Искусственное изменение гена отрицало миллиарды лет эволюции. Сегодня это никого это не волнует. Забытая *E. coli* с генами, позаимствованными у сотен других видов, включая и человека, сидит себе спокойно в биореакторах и лабораторных колбах. *E. coli* голодает и страдает, вырабатывая чуждые ей белки. Тем не менее она давно уже не вызывает "мудрого отвращения". В средствах массовой информации вы не увидите кампаний с призывами уважать целостность *E. coli* как биологического вида и бороться с унижением человеческой природы, проистекающим от того, что человеческие гены вводят в бактерию. Трудно представить, чтобы кто-нибудь сегодня отказался от предписанного врачом лекарства только потому, что оно является продуктом нечестивого союза человека и микроорганизма.

Как может наш страх перед разрушением границ между видами быть таким сильным и одновременно таким переменчивым? Дело в том, что его причина кроется вовсе не в каком-то глубоком и неопровержимом жизненном факте. Это всего лишь привычка. Каждый из нас с детства становится интуитивным биологом. Младенцы быстро учатся различать живое и неживое - и, соответственно, ожидать от них разного. Так, камни падают под действием силы тяготения, но муравей ползет, куда захочет. Взрослея, дети учатся различать типы живых существ - растения и животных, к примеру, или кошек и собак. Каждая разновидность живых организмов обладает собственной сущностью, невидимой силой, определяющей ее действия. Интуитивная биология приходит к детям сама собой, без специального обучения. И для взрослых отношение к жизни именно с этих позиций становится привычкой.

Возможно, интуитивная биология возникла как адаптация человеческого сознания - такая же, как язык или цветное зрение. Возможно, она помогала нашим предкам систематизировать знания об окружающем мире. Чем больше было у наших предков знаний о

животных и растениях, тем легче им было искать пищу и выживать. Они могли заранее предсказать, где в определенное время года можно встретить антилопу гну или когда лучше всего искать клубни в земле; могли определить, какие фрукты ядовиты, а какие вкусны. Наши предки были глубокими знатоками мельчайших различий между видами, таких как цвет и расположение пятен на шкуре. Подобные различия могли означать разницу между жизнью и смертью, между спасением от голода и отравлением.

Корни наших представлений о единстве вида - в интуитивной биологии. Одной мысли о нарушении барьера между видами достаточно, чтобы вызвать у человека сильные эмоции. Поразительно, но некоторые древнейшие произведения человеческого искусства изображают именно химер. К примеру, около 30000 лет назад неизвестный скульптор на территории нынешней Германии вырезал из куска слоновой кости женщину с львиной головой. Этот образ, увиденный, возможно, во сне или трансе, должно быть, был полон глубокого мистического смысла и для автора, и для всех, кто его видел. Он размывал суть биологического вида. Нарушая правила интуитивной биологии, он обретал магические свойства. В истории человечества магические химеры появлялись вновь и вновь, включая и собственно Химеру - чудовище из греческой мифологии, помесь козы, льва и змеи.

Но современная биология бросает вызов нашим интуитивным представлениям. Биологические виды сегодня - вовсе не неизменные сущности, а продукт эволюции. Дарвин объявил, что человек произошел от обезьяны, которая, в свою очередь, произошла от более древних млекопитающих... и так далее до слепых бесчелюстных рыб. За нарушение правил интуитивной биологии Дарвин был превращен в химеру: карикатуристы нередко рисовали его с бородатой человеческой головой и волосатым телом обезьяны.

В 1896 г. Герберт Уэллс использовал эти вечные опасения в романе "Остров доктора Моро" (The Island of Dr. Moreau). Его герой доктор Моро, погнавшийся за научными знаниями и потерявший при этом всякое представление о морали, хирургически соединял различных животных в чудовищные человекоподобные создания.

"Но ведь это ужасно!" - заявляет рассказчик доктору Моро. Злодей отвечает: "До сих пор меня никогда не беспокоила нравственная сторона дела... Изучение природы делает человека в конце концов таким же безжалостным, как и сама природа"<sup>[32]</sup>.

Уэллс наказал Моро за разрушение границ восстанием созданных им монстров. "Остров доктора Моро" - пророческая книга, особенно если учесть, что написана она была еще до открытия генов. После того как ученые разобрались в ДНК, именно она стала новой сущностью жизни. Сегодня подлинная суть человека - в его генах. Возникновение при зачатии конкретного генотипа становится началом новой жизни. ДНК сегодня определяет и сущность биологического вида; это то, что отличает вид от других. Так появился ужас от мысли о смешении генов разных видов - особенно таких непохожих, как человек и *E. coli*. Генная инженерия нарушает мощный закон, помогающий нам систематизировать окружающий мир. Разграничение видов - не дело человека. Человек, нарушающий эти незыблемые границы, создает чудовищ и выпускает в мир неопишуемые ужасы.

Но интуитивная биология появилась не потому, что она верна, а потому, что полезна. Она позволяла нашим предкам принимать верные решения на основе той информации, которую они могли собрать в окружающем мире; эти решения повышали шансы человека на выживание и продолжение рода. Но интуитивная биология не всегда может служить надежным проводником к истине, к глубоким тайнам жизни. К примеру, в чем суть *E. coli* как вида? Она не в том, что это безобидный микроорганизм, который питается сахаром и умеет образовывать жгутики. В пределах этого вида можно найти агрессивных защитников кишечника, охраняющих его от болезнетворных бактерий. Встречаются и патогенные штаммы, вооруженные такими приспособлениями, которых вы не увидите у штаммов безвредных. Некоторые штаммы ведут двойную игру - они относятся к разряду полезных, но тоже снабжены теми самыми генами, которые превращают остальных в убийц. А многие из этих штаммов эволюционировали благодаря тому, что их инфицировали вирусы, которые без всякого почтения относятся к столь любимым нами видовым границам. Вообще, не существует какой-то неизменной сущности, которая объединяла бы всех *E. coli*.

Интуитивная биология не в состоянии понять *E. coli*, но так же не в состоянии она понять и нас самих. Человек - такой же продукт эволюции, как и все остальные живые организмы. Если бы это было не так, никаких споров о биотехнологиях вообще бы не возникло. Если бы природа человека принципиально выделялась и была бы уникальна в царстве жизни, то ввести человеческие гены в клетки *E. coli*, вероятно, попросту не удалось бы или не удалось так легко. Невозможно было бы также вырастить клетки человеческого мозга в черепе мыши. Уникальная сущность человека - такая же выдумка нашего сознания, как и сущность *E. coli*.

Познакомившись с результатами одного из недавних исследований по эволюции человека, нельзя и дальше считать, что можно либо быть полноценным человеком, либо не быть им, как утверждает Роберт Джордж. В данном случае речь идет о гене под названием микроцефалии. В геноме нашего биологического вида встречается несколько разновидностей этого гена, но одна из разновидностей распространена намного больше остальных: ее можно обнаружить у 70 % обитающих на Земле людей. Исследователи из Чикагского университета решили разобраться в происхождении этой версии гена и получили убедительные доказательства, что на самом деле этот ген появился в геноме человека намного позже, чем сформировался вид *Homo sapiens*.

Около полумиллиона лет назад наши предки отделились от предков неандертальцев. Произошло это, вероятно, в Африке. После этого предки неандертальцев мигрировали в Европу, а предшественники нашего вида остались в Африке. Окончательно вид *Homo sapiens* сформировался примерно 200 000 лет назад, и только после этого у людей появился полноценный язык, абстрактное мышление, способность к искусству и остальные качества, лежащие в основе того, что мы сегодня называем природой человека.

Около 40000 лет назад вид *Homo sapiens* расширил свой ареал и проник в Европу, где встретился с неандертальцами. Неандертальцы вымерли около 28 000 лет назад, но, судя по всему, в промежутке они иногда скрещивались с людьми. Большая часть генов, унаследованных от предков - неандертальцев, с поколениями исчезла из человеческого генома, но по крайней мере один такой ген уцелел: это неандертальская версия микроцефалина. Мало того, он не просто уцелел, а распространился стремительно, как лесной пожар. Чем-то этот ген был очень хорош, и естественный отбор с готовностью подхватил его; в результате сегодня его можно обнаружить у значительного большинства современных людей. А микроцефалии - не просто какой-то малозначительный ген, от которого растут волосы в носу или меняют цвет ногти на ногах. Он играет центральную роль в развитии мозга. Благодаря этой естественной генетической модификации большинство людей сегодня несут в себе этот нечеловеческий ген, участвующий в строительстве самого человеческого, если так можно выразиться, органа тела - мозга. Если рассуждать с позиции Джорджа, большинство людей - не люди.

Гибридизация, или скрещивание, - не единственный путь, которым в наши клетки могла попасть чужеродная ДНК. Около 3 млрд лет назад наши одноклеточные предки поглотили аэробные бактерии; позже они превратились в митохондрии, без которых наша жизнь сегодня невозможна. И, подобно *E. coli*, наш геном принимал в себя вирус за вирусом. Ученые идентифицировали в человеческом геноме более 98 000 вирусов и 150 000 мутировавших фрагментов вирусного генома. Часть таких фрагментов, вероятно, внесла значительный вклад в биологию человека: к примеру, у гена, который каким-то образом влияет на развитие плаценты, есть некоторое сходство с вирусными генами. Если бы наши клетки вдруг избавились от всей трансгенной ДНК, человек бы попросту вымер. Некоторые вирусы встроились в геном человека уже после того, как пути человека и шимпанзе разошлись. Некоторые из них можно найти только у азиатов и европейцев, у африканцев их нет; это позволяет предположить, что человеческий геном был инфицирован ими уже после того, как часть людей около 50000 лет назад покинула Африку. Перестали ли эти люди быть людьми, обретя чужеродную ДНК?

Пытаясь думать о себе и о *E. coli* таким образом, человек чувствует себя неудобно. Подобные мысли кажутся неестественными, но их неестественность - результат работы человеческого сознания, а не природы. Вероятно, когда-нибудь мы к ним привыкнем точно так же, как привыкли думать об электронах и протонах как о строительных кирпичиках любого вещества. Отвращение человека к нарушению межвидовых барьеров и к генетическим модификациям меняется уже сегодня. Доказательство тому - тот факт, что разгневанные толпы не штурмуют инсулиновые фабрики, требуя восстановить естественный порядок вещей.

Конечно, перемены подобного рода тревожат таких критиков, как Леон Касс. В 1997 г. он, выступая перед Конгрессом в поддержку запрета клонирования человека, заявил: "Мне кажется, что в мире, где установленные раз и навсегда естественные границы размыты технологическими изменениями, а с моральными границами, похоже, можно делать что угодно, намного труднее, чем когда-то, убедительно выступить против по - прежнему недопустимого клонирования человека. Как сказал Раскольников: "Ко всему-то подлец - человек привыкает!"".

Здесь, конечно, кроется противоречие. С одной стороны, считается, что "мудрость отвращения" - это глубоко укоренившийся надежный ориентир, указывающий, что такое на самом деле фундаментальное добро и зло - фундаментальное, а не сиюминутное. С другой стороны, Касс недоволен тем, что подобное отвращение со временем может ослабнуть или

даже вовсе исчезнуть. Трудно понять, как может быть одновременно правильным и то и другое.

Бывает, что эмоциональная реакция на научные открытия буквально ошеломляет человека. В некоторых случаях мы со временем понимаем, что, проявив эти чувства, были, вероятно, правы или неправы. В других случаях наши представления о "сущностях" вызывают сильное чувство отвращения, когда нам кажется, что эти сущности разрушаются. Такое отвращение может возникнуть и в ответ на *E. coli* с человеческими генами, и на оплодотворение "в пробирке", и на пересадку человеку сердечного клапана свиньи. Но проходит время, и мы начинаем видеть реальные выгоды и опасности, которые несут эти достижения, понимать, что мир не превратился в ящик Пандоры и не погиб; вот тогда-то наше отвращение ослабевает и потихоньку растворяется.

При этом все мы не становимся, по Достоевскому, подлецами. С развитием трансплантологии мы не скатились в жуткий мир, где можно изъять печень у парализованного человека против его воли. Да, перед человеком встали новые серьезнейшие вопросы, и нужно сделать выбор (к примеру, разрешать или не разрешать продажу органов), но мы продолжаем воспринимать эти вопросы со всей серьезностью.

Химеры и разного рода генная инженерия получают, вероятно, более широкое распространение, но, я подозреваю, не приведут к полному краху морали. С одной стороны, главные страшилки, о которых мы сегодня слышим и читаем в газетах, имеют очень слабое отношение к науке. Мышь с человеческими нейронами не взмолится внезапно: "Помогите! Помогите!", ведь для того, чтобы стать человеком, недостаточно обзавестись комочком нейронов размером с горошину. С другой стороны, мы, возможно, решим, что модифицировать мышь жестоко по отношению к животному. (Надо сказать, что неприятие жестокости к животным - это отвращение нового рода, приобретенное, а не потерянное многими людьми за последние 200 лет.) А некоторые химеры, вероятно, будут запрещены потому, что вызовут слишком серьезные проблемы с человеческой моралью по отношению к людям и животным.

Я подозреваю - или по крайней мере надеюсь, - что по мере принятия подобных решений мы придем к более глубокому пониманию того, что значит быть человеком, и это будут не какие-то незыблемые признаки, а сложное сочетание генов, свойств, факторов среды и культурных влияний. И если нам действительно удастся обрести эту мудрость, она может оказаться самым важным даром, который человек получил от *E. coli*

## Глава 11. N равно единице?

**Я СТОЮ ВО ДВОРЕ ДОМА** зимней **НОЧЬЮ** и гляжу вверх на несколько ярких звезд, пытающихся заявить о себе в свете почти полной Луны. Я держу в руках чашку Петри с *E. coli*. Лунный свет просачивается сквозь путаницу голых кленовых ветвей и падает на агар - агар в чашке. В его лучах колонии бактерий испускают прохладное мутноватое свечение. Они выглядят как далекие миры и звезды, увеличенные каким-то расфокусированным телескопом. Вот я и добрался до последнего вопроса о *E. coli* - варианта старого афоризма Моно: правда ли то, что все, что верно для *E. coli*, верно и для инопланетянина?

Однажды октябрьской ночью 1957 г. Джошуа Ледерберг тоже глядел на звезды. Он находился в Австралии в творческом отпуске. Ледербергу тогда было 32 года, но за его плечами оставалось уже больше десяти лет исследований, за которые в следующем году ему предстояло получить Нобелевскую премию. Объектом для большей части его исследований служила *E. coli*. Он открыл, что у бактерий бывает половое размножение, и воспользовался этим, чтобы составить первые генетические карты. Он подтвердил, что гены мутируют спонтанно, приблизив тем самым теорию Дарвина к современности. Вместе с женой он открыл вирусы, способные полностью слиться с хозяином, - *E. coli*. В значительной степени именно благодаря Ледербергу *E. coli* становилась стандартным инструментом для изучения молекулярной основы жизни; другие ученые тоже начинали использовать ее для расшифровки генетических кодов.

Но Ледербергу не было покоя. Он приехал в Австралию, в Университет Мельбурна, чтобы изучать иммунную систему. Известно, что белые кровяные тельца - лейкоциты - учатся распознавать бактерии и других паразитов, но не пользуются обычными генами для кодирования и хранения информации об этом. Никто тогда еще не знал, каким языком они пользуются. Немного позже Ледерберг вернулся в США с новой энергией и страстью, но страстью этой стали не лейкоциты, а космос.

Той весенней австралийской ночью Ледерберг поймал взглядом крохотную светящуюся точку. Она двигалась. Это была не звезда и даже не метеорит, а металлический шар, заброшенный в космос человеком. Ледерберг был уверен, что запуск Советским Союзом искусственного спутника Земли изменит мир.

Ледерберг увидел в космических путешествиях новое поле деятельности для молекулярных биологов. В то время и он, и другие специалисты по молекулярной биологии только начинали понимать, насколько едина и единообразна жизнь на Земле. И *E. coli*, и слон одинаково кодируют свои гены при помощи ДНК, одинаково используют РНК для переноса этой информации к рибосомам, пользуются одним и тем же генетическим кодом для перевода ее в белки. Позже Ледерберг написал, что единообразие жизни стало поразительным открытием, "но ее владения ограничены тонкой оболочкой нашей планеты - тем, как одна - единственная искра жизни осветила одну - единственную пылинку космоса". Только попав в другие миры, ученые смогут выяснить, существует ли аналогичная нашей жизнь вне Земли.

Ледерберга очень беспокоило, что США и СССР в ходе яростной космической гонки могут погубить эту возможность. В своем безудержном стремлении установить флаг на Луне или Марсе они могут заразить иные миры земными микроорганизмами. Вернувшись в Соединенные Штаты, Ледерберг стал добиваться, чтобы только что созданное Национальное управление по авиации и исследованию космического пространства (NASA) относилось к космическим телам, как к чашке Петри, и тщательнейшим образом берегло их от заражения.

Он быстро организовал встречи, на которых ученые обсуждали потенциальные риски космических полетов. Все сошлись во мнении, что если не принять особых предосторожностей, то при любом посещении другой планеты человек оставит там земные бактерии. Любой астронавт неизбежно станет источником бактериального загрязнения, считал Ледерберг. Автоматические зонды тоже могут подхватить от своих создателей миллионы бактерий и перенести их в другие миры.

В 1959 г. собрание ученых попыталось представить, что произойдет, если одна - единственная *E. coli* попадет на планету, лишенную жизни, но богатую органическим углеродом. "Средняя бактерия *Escherichia coli* имеет массу 10 г. и минимальный интервал между циклами деления 30 мин, - писали они. - При такой скорости размножения одна бактерия за 66 часов может создать массу, равную массе Земли. Этот пример наглядно показывает, что вспышка размножения биологических объектов способна полностью уничтожить остатки добиологического синтеза".

Усилиями Ледерберга между США и СССР было заключено соглашение по стандартам стерилизации космических аппаратов. Но прославился Ледерберг не заботой о стерильности других планет, а тревогами по поводу обратного путешествия. Если жизнь в других мирах действительно существует, то космический аппарат при возвращении может случайно прихватить какие-то живые организмы на Землю. Чужие микроорганизмы могут устроить на нашей планете настоящий хаос - вызвать, к примеру, глобальную эпидемию или погубить посевы и спровоцировать голод.

"Ставкой в этом вопросе, может быть, является судьба человечества", - заявил Ледерберг, и вскоре уже репортеры описывали зловещие предостережения биолога и нобелевского лауреата громкими заголовками вроде: "Вторжение с Марса? Микробы!" Паническая версия Ледерберга нашла свое воплощение и в научной фантастике: к примеру, в фильме "Штамм Андромеды" (*The Andromeda Strain*), где бесстрашный биолог отчаянно пытается найти лекарство от инопланетного вируса<sup>[33]</sup>.

Несмотря на все тревоги, Ледерберг не хотел и не предлагал навсегда закрыть для человека небо. По приглашению NASA он организовал в Стэнфордском университете лабораторию, где предполагалось начать разработку устройства, способного обнаружить на чужой планете признаки жизни. В некоторых отношениях эта работа, конечно, носила вполне земной характер. Вместе с коллегами Ледерберг возился с конвейерными лентами и масс-спектрометрами. Но одновременно перед учеными встал и глубокий - скорее даже не научный, а философский - вопрос: как найти жизнь, которую никогда прежде не видел? При поиске ответа на этот вопрос, решил Ледерберг, не обойтись без нового, совершенно самостоятельного раздела биологии. Он назвал его экзобиологией - биологией внеземной жизни.

Целью экзобиологии было понять, возникла ли жизнь еще где-нибудь во Вселенной, помимо Земли, и какую форму она приняла. Всякая ли жизнь *обязана* использовать ДНК? *Должна* ли жизнь строить клетки из белка? Обладают ли эти молекулы какими-то свойствами, которые делают их незаменимыми для жизни? Неужели никакая другая комбинация атомов не может выполнять ту же роль? "На эти вопросы можно ответить двояко, - писал Ледерберг. - Самонадеянный человек мог бы подражать примитивной жизни, имитируя Природу и

подбирая заменители. Или он мог бы смиренно спросить Природу об исходе ее собственных экспериментов с жизнью, поставленных, возможно, на других планетах Солнечной системы".

Поиск внеземных форм жизни по определению должен быть непросто, потому что ученые не в состоянии предсказать, что именно они могут обнаружить. Ледерберг считал, что начать можно с традиционных вещей. "Можно отложить наши тревоги по поводу экзотических биосистем до момента, когда будут получены результаты полноценных поисков более знакомых видов жизни", - писал он.

NASA не возражало. Агентство готово было искать знакомые формы жизни, причем на Марсе. Марс в достаточной мере напоминал Землю, чтобы можно было надеяться обнаружить на нем жизнь. В 1965 г. американский космический зонд "Маринер-4" первым послал на Землю подробные изображения поверхности Марса. Земляне увидели скучный пейзаж, усеянный кратерами и полностью лишенный лесов и прочих признаков живого. Стало ясно: если на Марсе и есть жизнь, то, вероятно, она представлена только микроорганизмами. NASA воспользовалось фотографиями этой и последующих межпланетных станций при планировании новой экспедиции, предусматривавшей мягкую посадку аппарата на поверхность Марса. 4 июля 1976 г., через 18 лет после первого спутника, который в свое время наблюдал в Австралии Ледерберг, аппарат "Викинг-1" приземлился на поверхность этой планеты.

Как ни печально, из поисков жизни ничего не вышло. "Викинг-1" не обнаружил на поверхности признаков живых организмов, которые могли бы перерабатывать двуокись углерода (углекислый газ) в органический углерод. Некоторые разновидности земной жизни, такие как *E. coli*, напротив, поглощают органический углерод и выделяют углекислый газ в качестве отходов, но "Викинг" не обнаружил на планете признаков и такого метаболизма<sup>[34]</sup>. Оставался последний эксперимент. "Викинг" копнул грунт, нагрел его, чтобы высвободить летучие молекулы, и направил их в трубку для измерений. Этот прибор вообще не обнаружил в марсианском грунте органического углерода. Это был окончательный приговор, потому что на Земле жизнь накопила огромные запасы органического углерода - и не только в организмах живых существ, но и в отходах их жизнедеятельности.

"Конец игры, - сказал тогда Джеральд Соффен, научный руководитель проекта "Викинг". - На Марсе нет органики. На Марсе нет жизни".

Условия на поверхности Марса оказались намного суровее, чем предполагали ученые. Ультрафиолетовое излучение и агрессивные химические вещества, такие как перекись водорода, быстро уничтожали любой органический углерод. Шансы на возникновение жизни в таких условиях казались очень низкими, если не нулевыми. Ледерберг был оптимистичнее коллег, но не намного. Возможно, что жизнь на Марсе существует лишь в нескольких оазисах, может быть, вокруг горячих источников в местах их выхода на поверхность планеты. Но если жизнь на Марсе все же есть, она, безусловно, куда скромнее буйной всепоглощающей земной жизни.

"Мы больше не можем быть уверены, что везде, куда ни посмотри, имеется жизнь", - сказал Ледерберг репортерам.

Ледерберг и его коллеги считали, что неудача "Викинга" - недостаточная причина для того, чтобы прекратить поиски жизни. Ученые призывали NASA к созданию "сына "Викинга"" - новой межпланетной станции, которая отвезла бы на Марс новый набор инструментов и приборов. Но NASA тогда больше интересовали астронавты<sup>[35]</sup> - резервуары с *E. coli*, по определению Ледерберга. Интерес к экзобиологии упал, и Ледерберг вновь вернулся к животрепещущим вопросам биологии, таким как появление новых болезней и угроза биологической войны. Его звездные дни в профессии подошли к концу.

Двадцать лет спустя у NASA вновь пробудился интерес к поискам внеземной жизни. Внутри метеорита, прилетевшего на Землю с Марса, обнаружили странные следы, которые, по предположению ученых, могли представлять собой окаменелости микроорганизмов. Тем временем межпланетная станция "Галилео" пролетела мимо Европы, спутника Юпитера, и прислала на Землю детальные фотографии ледяного панциря, покрывающего ее поверхность. Может быть, подо льдом скрывается жизнь? Наука, занимающаяся поисками внеземной жизни, которую теперь называют астробиологией, вновь получила поддержку NASA, основавшего в 1998 г. Институт астробиологии NASA.

Сегодня многие астробиологии занимаются поиском таких мест на Земле, где, несмотря на экстремальные условия, существует жизнь. *E. coli* - выносливое существо, но ученым удалось обнаружить немало других организмов, способных выжить в местах, где *E. coli* погибла бы очень быстро. Это и залитые кислотой шахтные стволы, и лишенные кислорода трясины, и глубины ледников, и перегретые воды гидротермальных источников, и полости соляных

кристаллов. Планеты и луны с подобными условиями могли бы оказаться подходящим обиталищем для жизни.

Но какими бы странными ни были некоторые из обнаруженных видов, все они разделяют фундаментальные черты *E. coli*. Все они представляют собой мембраны, внутри которых собраны белки и ДНК. Для роста им необходимы источники углерода и энергии. И еще им необходима жидкая вода - среда, в которой могут протекать химические реакции. Если перенести некоторые из самых выносливых организмов Земли к какому-нибудь подземному гидротермальному источнику на Марсе - или, к примеру, под ледяную корку спутника Сатурна Энцелада, - они, возможно, смогли бы там выжить, хотя и с трудом.

Тем не менее ученые остро чувствуют, что жизнь на Земле может и не быть образцом для всей жизни во Вселенной. Это стало особенно очевидно после наших собственных экспериментов с жизнью. Расширение генетического кода *E. coli* не убивает бактерию, и нет оснований считать, что жизнь на других планетах не могла бы использовать для строительства белков другие аминокислоты. Вся жизнь на Земле для кодирования генетической информации пользуется четырехбуквенным языком. Но ученым уже удалось модифицировать *E. coli* с использованием искусственных оснований - иными словами, удалось расширить алфавит жизни, добавив к нему новые буквы. Чем дальше, тем больше синтетическая биология сливается с астробиологией.

Можно допустить даже, что жизнь способна вообще обойтись без ДНК. Некоторые эксперименты позволяют предположить, что та же структура - прочная основа и последовательность соединений, несущих информацию, - может быть реализована на основе других молекул. Не исключено даже, что эти молекулы будут способны точно себя копировать. Некоторые ученые рассуждают даже о том, что жизнь в принципе может существовать без жидкой воды. Вместо нее соответствующую роль может выполнять другая жидкость, к примеру жидкий метан.

Но из чего бы ни состояла внеземная жизнь, ее открытие, безусловно, сильно изменило бы наши представления о жизни вообще. Это событие дало бы наконец нам возможность искать закономерности жизни на примере больше чем одной планеты. Ученые, вероятно, начали бы исследование внеземной жизни с самых низких ее уровней и попытались бы определить, как она хранит генетическую информацию. Но черед самых интересных сравнений пришел бы позже. Всю без исключения жизнь на Земле объединяет не только ДНК. И *E. coli*, и слон выживают в меняющемся мире благодаря устойчивости своих генетических схем. Естественный отбор определяет срок их существования и управляет сложной социальной жизнью, полной самопожертвования и обмана. Барьеры делят живые системы на отдельные организмы, но вирусы объединяют их все в единую генетическую матрицу. Внеземная жизнь показала бы, насколько универсальны эти свойства.

Если бы внеземная жизнь оказалась во всем похожей на земную, ученым пришлось бы выбирать из двух возможных вариантов. Может быть, одна и та же биология возникла независимо в разных мирах, а может, она путешествует по Вселенной от мира к миру.

Греческий философ Анаксагор, живший в V в. до н. э., объявил, что жизнь на Земле возникла из семян, распространяющихся по всему космосу. Процесс переноса жизни он назвал панспермией. В XX в. Фрэнсис Крик и некоторые другие видные ученые вновь, и не единожды, выдвигали теорию панспермии в различных формах. Они предположили, что начало всей жизни на Земле дали некие споры жизни, упавшие на Землю несколько миллиардов лет назад. Теория панспермии была встречена с большими сомнениями, поскольку ее сторонники не могли предъявить никаких доказательств того, что жизнь существует на других планетах или что она способна пережить межпланетное путешествие. Более того, сама концепция панспермии совершенно неудовлетворительна, потому что никак не объясняет происхождение жизни. Она просто отодвигает границы проблемы.

Панспермия и теперь вызывает серьезный скептицизм, но сегодня ученые по крайней мере могут говорить о ней на конференциях и не бояться быть осмеянными. На ранних этапах существования Солнечной системы большие метеориты очень часто падали на планеты, выбрасывая их вещество в космос. В некоторых случаях это вещество могло со временем достигнуть других планет. Путь с Марса на Землю особенно удобен, потому что эти планеты расположены достаточно близко друг к другу и поле тяготения у Марса намного слабее. Даже в наше время, по оценкам ученых, на Землю каждый год падает около 15 метеоритов с Марса. Планеты могут обмениваться кусочками своего вещества и на куда более далеких расстояниях. Куски скальной породы с Земли вполне могли добраться до лун Юпитера и Сатурна. Более того, по одной из оценок, камень с Земли, возможно, падает на спутник Юпитера Европу

каждые 50 000 лет. Конечно, для нас 50000 лет - невообразимо долгий срок, но в масштабах истории Солнечной системы это не более чем дождь с градом.

Если эти исследования верны, возможно, что какая-нибудь группа *E. coli* унеслась когда-то, тысячи лет назад, на метеорите в межпланетное пространство. Для большинства микроорганизмов подобное путешествие не могло не закончиться фатально. Одни погибли бы от жесткого космического излучения, от которого обитателей Земли защищает плотная атмосфера. Другие умерли во время огненного спуска на другую планету. Но несколько микроорганизмов все же могло уцелеть. А для заселения плодородной планеты их и нужно-то, согласно выводам Ледерберга и его коллег, всего несколько. Некоторые ученые даже считают, что подобные путешествия могли сыграть положительную роль и сохранить жизнь в Солнечной системе. Дело в том, что столкновение с достаточно крупным объектом могло вскипятить и полностью испарить все океаны Земли - и уничтожить жизнь на планете, практически стерилизовав ее. Потребовались бы миллионы лет, чтобы испарившаяся вода собралась в тучи и вновь выпала дождем на землю, сделав ее пригодной для жизни. В этой ситуации жизнь на время тяжелых испытаний могла найти себе убежище на Марсе или где-то в другом месте.

Крайнюю форму панспермии предложил в 2004 г. ирландский астроном Уильям Нэйпир. Он утверждал, что камни, выбитые с одной из планет нашей Солнечной системы, могли вообще улететь за ее пределы. Там, далеко, на безопасном расстоянии от Солнца, улетевшие вместе с камнем микроорганизмы не будут страдать от его ультрафиолетового излучения. Некоторые из этих камней могут закончить свой путь на планетах, обращающихся вокруг иных звезд, где микроорганизмы могут найти новый гостеприимный дом. Конечно, эти планеты тоже содрогнутся от ударов небесных тел и посылают собственную жизнь в другие солнечные системы. По оценкам Нэйпира, при помощи такой межзвездной инфекции всего за несколько миллиардов лет вся Галактика оказалась бы заражена жизнью.

Это возвращает меня к мысли о чашке с *E. coli*, которую я поднял к усеянному звездами небу. В некоторые ночи в некоторых местах Земли можно разглядеть в космосе Международную космическую станцию. *E. coli* тоже там, наверху. Она плавает в телах астронавтов, в питьевой воде, в водяных капельках на стенах орбитальной станции. Удалось ли ей проникнуть дальше? Беспокойство Ледерберга по поводу заражения других планет никуда не делось. Какие бы меры ни принимали создатели автоматических межпланетных станций, судя по всему, кое - какие особенно стойкие существа умудряются устроиться на их поверхности и отправиться в далекий путь.

"Специалисты в страшных снах видят, как они обнаруживают жизнь на Марсе, а оказывается, что это *E. coli* из Пасадены", - сказал в 2001 г. Кеннет Нилсон, геобиолог из Южно - Калифорнийского университета.

Сегодня я вижу, как восходит Марс - красновато - желтая точка на темном бархате неба. На мгновение я забываю о теории вероятности и представляю, как *E. coli* летит сквозь пространство на спине одного из первых марсианских зондов - возможно, русского орбитального аппарата<sup>[36]</sup>, который потерял управление и рухнул на поверхность. Я понимаю, что *E. coli* не смогла бы овладеть этой планетой - она погибла бы в холодной радиоактивной ночи без атмосферы, которая создала бы вокруг достаточное давление. И сейчас, глядя на красновато - желтую точку, я представляю себе Марс как крохотную погибшую колонию *E. coli* на фоне громадной черной чашки Петри. *Escherichia coli* помогла нам здесь, на Земле, прийти к пониманию жизни, а сейчас отправилась на разведку в бескрайнюю живую Вселенную.

## Благодарности

Я благодарен всем ученым, которые открыли для меня свои лаборатории, отвечали на мои телефонные звонки и электронные письма, - все ради того, чтобы рассказать мне об *Escherichia coli*. В их числе Адам Аркин, Марк Ахтман, Мадан Бабу, Стивен Беннер, Говард Берг, Мэри Берлин, Сэм Браун, Рональд Брейкер, Дэниел Вайнрайх, Александер ван Оденарден, Барри Баннер, Джон Деннехи, Майкл Дебели, Джон Доил, Питер Карп, Фрэнк Киль, Джей Кислинг, Кэрол Клиланд, Джеймс Коллинз, Майкл Кравинкель, Ян - Ульрих Крефт, Ричард Ленски, Хиратада Мори, Кааре Нилсен, Эндрю Нолл, Марк Паллен, Бернард Палссон, Артур Парди, Роберт Пеннок, Марк Пташне, Маргарет Райли, Джон Рот, Дин Роув - Магнус, Филипп Тарр, Джеффри Таунсенд, Фред Теновер, Пол Тернер, Пол Томас, Христос Узунис, Джордж Уильямс, Дэвид Уссери, Томас Ференси, Финбарр Хейес, Джордж Чёрч, Джек Шостак, Майкл Эллисон, Тьерри Эмоне и Дрю Энди.

Я хотел бы также поблагодарить ученых и писателей, просмотревших и подкорректировавших рукопись или часть ее. Среди них Ури Алон, Марк Ахтман, Майкл Балтер, Мадан Бабу, Лес Детлефсен, Джон Ингрэм, Ричард Ленски, Ник Матцке, Фредерик Нидхардт, Моника Райли, Эрик Стюарт, Майкл Фельдгарден, Кевин Фостер и Джеймс Ху. Особенно много времени уделил рукописи Мозелио Шехтер. В любых ошибках, избежавших их пристального внимания, виноват я и только я. Хочу поблагодарить Дорона Вебера из фонда Alfred P. Sloan Foundation, помогавшего мне с финансированием исследований в процессе подготовки книги. Также приношу благодарность редакторам журналов и газет, в которых я публиковал статьи на некоторые из тем, рассмотренных в книге. Это Джеймс Горман и Эрика Гуд из *The New York Times*, Тим Аппенцеллер из *National Geographic*, Дэвид Гроган, Сьюзен Круглински и Кори Пауэлл из *Discover*, Лора Хельмут из *Smithsonian*, Брюс Феллман и Катрин Лассила из *Yale Alumni Magazine*, Лесли Робертс из *Science* и Рики Рустинг из *Scientific American*.

Мой агент Эрик Симонофф никогда не теряет чутья, позволяющего ему отличать хорошие идеи от дурных. Увидев, как он поднимает брови при коротком рассказе о том, как плавают *E. coli*, я понял, что идея книги, пожалуй, неплоха. Я благодарен также Мартину Эшеру, моему редактору в издательстве Pantheon, и Тадеушу Маевски, моему иллюстратору.

Наконец, нельзя не сказать и о семье. Я благодарен своим дочерям Шарлотте и Веронике за терпение, ведь папа так много времени тратил на работу над книгой о "хорошем микробе". А моя жена Грейс обеспечивала мне одновременно и моральную поддержку, и здравую редакторскую критику. Без нее никакой книги точно не было бы

## notes

### Примечания

#### 1

У бактерий этот процесс называется конъюгацией. При этом две клетки вступают в контакт и часть генетического материала из одной клетки ("мужской") переносится в другую ("женскую"), - *Прим. ред.*

#### 2

Умеренные бактериофаги инфицируют бактериальную клетку, но не вызывают ее гибели. - *Прим. ред.*

#### 3

РНК, в отличие от ДНК, вместо дезоксирибозы содержит рибозу. - *Прим. ред.*

#### 4

Этот фермент называется РНК - полимераза. - *Прим. ред.*

#### 5

В ДНК вместо урацила содержится тимин. - *Прим. ред.*

#### 6

У - обозначение урацила. - *Прим. ред.*

#### 7

Сидерофоры (греч. sideros - железо и phoros - несущий) - синтезируемые многими микроорганизмами низкомолекулярные вещества разной химической структуры, которые эффективно связывают железо. - *Прим. ред.*

#### 8

ДНК - полимеразы. - *Прим. ред.*

РНК - полимеразы. - *Прим. ред.*

Топоизомераза. - *Прим. ред.*

Профаг - геном умеренного бактериофага, встроенный в бактериальную хромосому. Это латентная (скрытая) неинфекционная форма бактериофага. Он реплицируется одновременно с репликацией бактериальной хромосомы. - *Прим. ред.*

Включение этих процессов на полную мощность возможно только при условии отсутствия глюкозы. - *Прим. ред.*

Метильная группа - соединение одного атома углерода с тремя атомами водорода (CH<sub>3</sub>). - *Прим. ред.*

Метилирование ДНК - присоединение метальной группы к цитозину - модификация молекулы ДНК без изменения нуклеотидной последовательности. - *Прим. ред.*

Charles Darwin. On the Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life.

Палеонтологическая летопись - расположение остатков животных и растений, населявших Землю в прежние геологические эпохи, в осадочных пластах земной коры. Их последовательность позволяет вывести точный порядок филогенетического развития животных и растений. - *Прим. ред.*

Экспрессия генов - процесс передачи генетической информации, закодированной в ДНК, через РНК к белкам. - *Прим. ред.*

Дарвин Ч. Происхождение видов путем естественного отбора, или Сохранение избранных пород в борьбе за существование. Пер. К. А. Тимирязева. - М: Терра - Книжный клуб, 2009. - *Прим. ред.*

Кропоткин П. А. Взаимная помощь среди животных и людей как двигатель прогресса. - М: Либроком, 2011. - *Прим. ред.*

Промотор - участок оперона, расположенный между оператором (регуляторным участком, с которым связывается репрессор, препятствуя началу считывания гена) и структурными генами; отвечает за инициацию считывания гена. - *Прим. ред.*

Диаграмма Венна - схематичное изображение всех возможных пересечений нескольких (часто трех) множеств. - *Прим. ред.*

## 22

Бактериальные маты - сложные многовидовые и многослойные сообщества микроорганизмов. Играют большую роль в экстремальных экосистемах. Часто встречаются на дне водоемов или в прибрежной зоне.

## 23

Аэробные бактерии. - *Прим. ред.*

## 24

Системы секреции белков во внешнюю среду у бактерий отличаются механизмом доставки белковых молекул наружу. Секреторная система III типа доставляет их прямо в клетку - мишень через шприцеподобную структуру, состоящую из различных белков. - *Прим. ред.*

## 25

Конвергенция - эволюционный процесс, при котором возникает сходство между организмами различных систематических групп, обитающих в похожих условиях. - *Прим. ред.*

## 26

Соматостатин - гормон, синтезируемый поджелудочной железой и гипоталамусом. Подавляет секрецию ряда гормонов (в том числе и гормона роста), а также различных гормонально активных пептидов (в частности, инсулина). - *Прим. ред.*

## 27

Существуют так называемые нестандартные аминокислоты, обнаруженные в составе белков, которые не входят в список встречающихся у всех живых организмов 20 аминокислот; к примеру, к ним относятся 21-я и 22-я аминокислоты - селе- ноцистеин и пирролизин. - *Прим. ред.*

## 28

В декабре 2010 г. группа Кристофера Войта объявила о создании *E. coli*, способной "выполнить" на генетическом уровне логическую функцию NOR ("не - или"), и о возможности соединения колоний *E. coli* в различные пространственные конфигурации, выполняющие другие стандартные логические операции. В октябре 2012 г. они получили клетку *E. coli*, способную не только выполнить логическую операцию AND ("и"), но и "обработать" четыре разных химических входных сигнала и "выдать сообщение" в том и только в том случае, если на все четыре входа подана "логическая единица". - *Прим. пер.*

## 29

Группа, которую раньше относили к растениям и называли сине - зелеными водорослями, теперь переименована в цианобактерии и относится к классу *Oxyphotobacteria*, так как они имеют типичные прокариотические клетки. - *Прим. ред.*

## 30

Белки, контролирующие процесс синтеза мРНК (транскрипцию) путем связывания с определенными участками ДНК. - *Прим. ред.*

## 31

Американцы давно окрестили пищу, приготовленную из генно-модифицированных продуктов, едой Франкенштейна - Frankenfood. - *Прим. ред.*

## 32

Герберт Уэллс. Остров доктора Моро. Пер. Н. Морозова. - М: Молодая гвардия, 1956. - Прим. ред.

### 33

Экранизация (1971) одноименного научно-фантастического романа американского писателя Майкла Крайтона, опубликованного в США в 1969 г.

### 34

Результаты эксперимента Labeled Release, предусматривавшего "подкормку" марсианского грунта питательными веществами, помеченными радиоактивным углеродом, и регистрацию углекислого газа, содержащего изотоп  $^{14}\text{C}$ , были неоднозначными. Его постановщик Джилберт Левин до сих пор убежден в том, что их следует считать положительными и что бактериальная жизнь в районах посадки "Викингов" была найдена. - Прим. пер.

### 35

Это был период резкого сокращения финансирования космической программы, а из оставшихся средств значительная доля пошла на создание системы Space Shuttle. К исследованиям Марса США вернулись лишь в конце 1980-х гг., и сейчас реализуется этап поиска материальных свидетельств когда-то существовавшей на этой планете жизни. - Прим. пер.

### 36

Стерилизация космического аппарата - сложная и дорогая процедура. Посадочные зонды проходят обеззараживание до различного уровня, в зависимости от того, насколько запланированный район приземления считается пригодным для жизни. Орбитальные аппараты, не предназначенные для спуска на планету, подвергаются стерилизации в меньшей степени: считается, что нахождение на орбите в течение десятилетий надежно уничтожит привезенные с Земли микроорганизмы. Сказанное относится и ко всем советским орбитальным аппаратам, ни один из которых не рухнул на Марс раньше ожидаемого срока. - Прим. пер.

[www.profilib.com](http://www.profilib.com)

## Библиография

- Ackermann, M., L. Chao, C. T. Bergstrom, and M. Doebeli. 2007. On the evolutionary origin of aging. *Aging Cell* 6 (2):235~44.
- Adams, J. 2004. Microbial evolution in laboratory environments. *Res Microbiol* 155(5):311-18.
- Adrio, J. L., and A. L. Demain. 2006. Genetic improvement of processes yielding microbial products. *FEMS Microbiol Rev* 30 (2):187-214.
- Alon, U. 2007. Network motifs: Theory and experimental approaches. *Nat Rev Genet* 8 (6):450-61.
- Andrews, S. C., A. K. Robinson, and F. Rodriguez-Quinones. 2003. Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol Rev* 27 (2-3):215-37.
- Avery, O. T., C. M. MacLeod, and M. McCarty. 1979. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J Exp Med* 149 (2):297-326.
- Avise, John C. 2004. *The hope, hype, and reality of genetic engineering: Remarkable stories from agriculture, industry, medicine, and the environment*. New York: Oxford University Press.
- Babili, S. al-, and P. Beyer. 2005. Golden rice - five years on the road - five years to go? *Trends Plant Sei* 10 (12):565-73.
- Babu, M. M., and L. Aravind. 2006. Adaptive evolution by optimizing expression levels in different environments. *Trends Microbiol* 14 (1):11-14.
- Backhed, F., R. E. Ley, J. L. Sonnenburg, D. A. Peterson, and J. I. Gordon. 2005. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 307 (5717):1915-20.
- Baker, D., G. Church, J. Collins, D. Endy, J. Jacobson, J. Keasling, P. Modrich, C. Smolke, and R. Weiss. 2006. Engineering life: Building a fab for biology. *Sei Am* 294 (6):44-51.

- Baker, M. D., P. M. Wolanin, and J. B. Stock. 2006. Signal transduction in bacterial chemotaxis. *Bioessays* 28 (1):9-22.
- Balaban, N. Q., J. Merrin, R. Chait, L. Kowalik, and S. Leibler. 2004. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science* 305 (5690):1622-25.
- Barluenga, M., K. N. Stolting, W. Salzburger, M. Muschick, and A. Meyer. 2006. Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish. *Nature* 439 (7077):719-23.
- Barrick, J. E., and R. R. Breaker. 2007. The power of riboswitches. *Sci Am* 296 (1):50-57.
- Bartoloni, A., L. Pallecchi, M. Benedetti, C. Fernandez, Y. Vallejos, E. Guzman, A. L. Villagran, A. Mantella, C. Lucchetti, F. Bartalesi, M. Strohmeyer, A. Bechini, H. Gamboa, H. Rodriguez, T. Falkenberg, G. Kronvall, E. Gotuzzo, F. Paradisi, and G. M. Rossolini. 2006. Multidrug-resistant commensal *Escherichia coli* in children, Peru and Bolivia. *Emerg Infect Dis* 12 (6):507-13.
- Battistuzzi, F. U., A. Feijao, and S. B. Hedges. 2004. A genomic timescale of prokaryote evolution: Insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land. *BMC Evol Biol* 4:44.
- Behe, Michael. 1996. *Darwin's black box*. New York: Free Press.
- Behrens, Mark R., Nedim Mutlu, Sarbani Chakraborty, Razvan Dumitru, Wen Zhi Jiang, Bradley J. LaVallee, Patricia L. Herman, Thomas E. Clemente, and Donald P. Weeks. 2007. Dicamba resistance: Enlarging and preserving biotechnology-based weed management strategies. *Science* 316 (5828):1185-88.
- Beloin, C., J. Valle, P. Latour-Lambert, P. Faure, M. Kzreminski, D. Balestrino, J. A. Hagensen, S. Molin, G. Prensier, B. Arbeille, and J. M. Ghigo. 2004. Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol Microbiol* 51 (3):659-74.
- Benner, S. A., A. Ricardo, and M. A. Carrigan. 2004. Is there a common chemical model for life in the universe? *Curr Opin Chem Biol* 8 (6):672-89.
- Ben-Shahar, Y., K. Nannapaneni, T. L. Casavant, T. E. Scheetz, and M. J. Welsh. 2006. Eukaryotic operon-like transcription of functionally related genes in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 (1):222-27.
- Berg, Howard C. 2004. *E. coli in motion*. Biological and Medical Physics Series. New York: Springer.
- Bernhardt, T. G., and P. A. de Boer. 2005. SlmA, a nucleoid-associated, FtsZ binding protein required for blocking septal ring assembly over chromosomes in *E. coli*. *Mol Cell* 18 (5):555-64.
- Binnewies, T. T., Y. Motro, P. F. Hallin, O. Lund, D. Dunn, T. La, D. J. Hampson, M. Bellgard, T. M. Wassenaar, and D. W. Ussery. 2006. Ten years of bacterial genome sequencing: Comparative-genomics-based discoveries. *Funct Integr Genomics* 6 (3):165-85.
- Bird, C. P., B. E. Stranger, and E. T. Dermitzakis. 2006. Functional variation and evolution of non-coding DNA. *Curr Opin Genet Dev* 16 (6):559-64.
- Blattner, F. R., G. Plunkett III, C. A. Bloch, N. T. Perna, V. Burland, M. Riley, J. Collado-Vides, J. D. Glasner, C. K. Rode, G. F. Mayhew, J. Gregor, N. W. Davis, H. A. Kirkpatrick, M. A. Goeden, D. J. Rose, B. Mau, and Y. Shao. 1997. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* 277 (5331):1453-74.
- Bliss, Richard. 1981. Creation science papers. Series 1, subseries 1, box 4, folder 5. Special collections, University of Arkansas Libraries, Fayetteville.
- Bogosian, G., and J. F. Kane. 1991. Fate of recombinant *Escherichia coli* K-12 strains in the environment. *Adv Appl Microbiol* 36:87-131.
- Bollinger, R. R., A. S. Barbas, E. L. Bush, S. S. Lin, and W. Parker. 2007. Biofilms in the normal human large bowel: Fact rather than fiction. *Gut* 56:1481-12.
- Borlaug, N. E. 2000. Ending world hunger: The promise of biotechnology and the threat of antiscience zealotry. *Plant Physiol* 124 (2):487-90.
- Bray, D., M. D. Levin, and K. Lipkow. 2007. The chemotactic behavior of computer-based surrogate bacteria. *Curr Biol* 17 (1):12-19.
- Bray, J. 1945. Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli neapolitanum* from summer diarrhea of infants. *J Pathol Bacteriol* 57:239-47.
- Brock, Thomas D. 1990. *The emergence of bacterial genetics*. Cold Spring Harbor, N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Bud, Robert. 1993. *The uses of life: A history of biotechnology*. New York: Cambridge University Press.
- Bush, George. 2006. State of the Union Address. White House. <http://www.whitehouse.gov/stateoftheunion/2006/>.
- Cairns, J., J. Overbaugh, and S. Miller. 1988. The origin of mutants. *Nature* 335(6186):142-45.

- Casalino, M., M. C. Latella, G. Prosseda, P. Ceccarini, F. Grimont, and B. Colonna. 2005. Molecular evolution of the lysine decarboxylase- defective phenotype in *Shigella sonnei*. *Int J Med Microbiol* 294 (8):503-12.
- Cascales, E., S. K. Buchanan, D. Duchň, C. Kleanthous, R. Lloubes, K. Postle, M. Riley, S. Slatin, and D. Cavard. 2007. Colicin biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 71 (1):158–229. Cavalieri, L. F. 1976. New strains of life - or death. *New York Times Magazine*, August 22, 1976.
- Chang, D. E., D. J. Smalley, and T. Conway. 2002. Gene expression profiling of *Escherichia coli* growth transitions: An expanded stringent response model. *Mol Microbiol* 45 (2):289–306.
- Chang, M. C., and J. D. Keasling. 2006. Production of isoprenoid pharmaceuticals by engineered microbes. *Nat Chem Biol* 2 (12):674-81.
- Chargaff, E., and F. R. Simring. 1976. On the dangers of genetic meddling. *Science* 192(4243):938.
- Chen, S. L., C. S. Hung, J. Xu, C. S. Reigstad, V. Magrini, A. Sabo, D. Blasiar, T. Bieri, R. R. Meyer, P. Ozersky, J. R. Armstrong, R. S. Fulton, J. P. Latreille, J. Spieth, T. M. Hooton, E. R. Mardis, S. J. Hultgren, and J. I. Gordon. 2006. Identification of genes subject to positive selection in uropathogenic strains of *Escherichia coli*: A comparative genomics approach. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (15):5977-82.
- Chong, Jia-Rui. 2006. 13th century text hides words of Archimedes. *Los Angeles Times*, December 26, 2006.
- Chou, C. P. 2007. Engineering cell physiology to enhance recombinant protein production in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol*, in press.
- Ciccarelli, Francesca D., Tobias Doerks, Christian von Mering, Christopher J. Creevey, Berend Snel, and Peer Bork. 2006. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science* 311 (5765):1283-87.
- Cirz, R. T., J. K. Chin, D. R. Andes, V. de Crňcy-Lagard, W. A. Craig, and F. E. Romesberg. 2005. Inhibition of mutation and combating the evolution of antibiotic resistance. *PLoS Biol* 3 (6):el76.
- Clarke, T. 2001. The stowaways. *Nature* 413 (6853):247-48.
- Clinton, W. J. 2000. Speech by President on Completion of First Survey of Entire Human Genome, <http://www.clintonpresidentialcenter.org>; accessed October 24, 2007.
- Cosentino Lagomarsino, M., P. Jona, B. Bassetti, and H. Isambert. 2007. Hierarchy and feedback in the evolution of the *Escherichia coli* transcription network. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 (13):5516-20.
- Crabb, W. D., and J. K. Shetty. 1999. Commodity scale production of sugars from starches. *Curr Opin Microbiol* 2 (3):252-56.
- Crozat, E., N. Philippe, R. E. Lenski, J. Geiselmann, and D. Schneider. 2005. Long-term experimental evolution in *Escherichia coli*. XII. DNA topology as a key target of selection. *Genetics* 169 (2):523-32.
- Csete, M., and J. Doyle. 2004. Bow ties, metabolism and disease. *Trends Biotechnol* 22 (9):446-50.
- Davis, Rowland H. 2003. *The microbial models of molecular biology: From genes to genomes*. New York: Oxford University Press.
- Delbrück, M. 1954. On the replication of desoxyribonucleic acid (DNA). *Proc Natl Acad Sci USA* 40:783-88.
- . 1969. Nobel lecture, [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1969/delbruck-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1969/delbruck-lecture.html).
- Demerec, M. 1948. Origin of bacterial resistance to antibiotics. *Bacteriol* 56 (1):63–74.
- Denamur, E., O. Tenaillon, C. Deschamps, D. Skurnik, E. Ronco, J. L. Gaillard, B. Picard, C. Branger, and I. Matic. 2005. Intermediate mutation frequencies favor evolution of multidrug resistance in *Escherichia coli*. *Genetics* 171 (2):825-27.
- Dethlefsen, L., P. B. Eckburg, E. M. Bik, and D. A. Relman. 2006. Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol Evol* 21 (9):517-23.
- Dick, Steven J. 1998. *Life on other worlds: The twentieth-century extraterrestrial life debate*. New York: Cambridge University Press.
- Dick, Steven J., and James Edgar Strick. 2004. *The living universe: NASA and the development of astrobiology*. New Brunswick, N. J.: Rutgers University Press.
- Dolman, Claude E. 1970. Theodor Escherich. In *Dictionary of scientific biography*; ed. C. C. Gillispie. New York: Scribner.
- Domka, J., J. Lee, T. Bansal, and T. K. Wood. 2007. Temporal gene expression in *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Environ Microbiol* 9 (2):332-46.

- Doolittle, W. F. 2000. Uprooting the tree of life. *Sci Am* 282 (2):90–95.
- Doyle, J., D. L. Alderson, L. Li, S. Low, M. Roughan, S. Shalunov, R. Tanaka, and W. Willinger. 2005. The “robust yet fragile” nature of the Internet. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 (41):14497–502.
- Doyle, J., and M. Csete. 2005. Motifs, control, and stability. *PLoS Bi'0/3* (11):e392.
- Dutton, Diana Barbara, Thomas A. Preston, and Nancy E. Pfund. 1988. *Worse than the disease: Pitfalls of medical progress*. New York: Cambridge University Press.
- Echols, Harrison. 2001. *Operators and promoters: The story of molecular biology and its creators*. Ed. Carol Gross. Berkeley: University of California Press.
- Elena, S. F., and R. E. Lenski. 2003. Evolution experiments with microorganisms: The dynamics and genetic bases of adaptation. *Nat Rev Genet* 4 (6):457–69.
- Elf, J., G. W. Li, and X. S. Xie. 2007. Probing transcription factor dynamics at the single- molecule level in a living cell. *Science* 316 (5828):1191–94.
- Elliott, E. J., and R. M. Robins-Browne. 2005. Hemolytic uremic syndrome. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 35 (8):310–30.
- Elowitz, M. B., and S. Leibler. 2000. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature* 403 (6767):335–38.
- Elowitz, M. B., A. J. Levine, E. D. Siggia, and P. S. Swain. 2002. Stochastic gene expres- sion in a single cell. *Science* 297 (5584):1183–86.
- Endy, D. 2005. Foundations for engineering biology. *Nature* 438 (7067):449–53.
- Escherich, T. 1989. The intestinal bacteria of the neonate and breast-fed infant. 1885. *Rev Infect Dis* 11 (2):352–56.
- ETC Group. 2006. Global coalition sounds the alarm on synthetic biology, demands oversight and societal debate. Press release. [http://www.etcgroup.org/upload/publication/8/Ol / nr\\_synthetic\\_ bio\\_19th\\_may\\_2006.pdf](http://www.etcgroup.org/upload/publication/8/Ol / nr_synthetic_ bio_19th_may_2006.pdf).
- Evans, P. D., N. Mekel-Bobrov, E. J. Vallender, R. R. Hudson, and B. T. Lahn. 2006.
- Evidence that the adaptive allele of the brain size gene microcephalin introgressed into *Homo sapiens* from an archaic *Homo* lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (48):18178–83.
- Favier, C. F., E. E. Vaughan, W. M. De Vos, and A. D. Akkermans. 2002. Molecular mon- itoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl Environ Microbiol* 68 (1):219–26.
- Feist, Adam M., Christopher S. Henry, Jennifer L. Reed, Markus Krummenacker, Andrew R Joyce, Peter D. Karp, Linda J. Broadbelt, Vassily Hatzimanikatis, and Bernhard O. Palsson 2007. A genome-scale metabolic reconstruction for *Escher- ichtia coli* K-12 MG1655 that accounts for 1260 ORFs and thermodynamic informa- tion. *Mol SystBiol* 3:121.
- Ferens, W. A., R. Cobbold, and C. J. Hovde. 2006. Intestinal Shiga toxin - producing *Escherichia coli* bacteria mitigate bovine leukemia virus infection in experimentally infected sheep. *Infect Immun* 74 (5):2906–16.
- Forster, A. C., and G. M. Church. 2006. Towards synthesis of a minimal cell. *Mol SystBiol* 2:45.
- Foster, J. W. 2004. *Escherichia coli* acid resistance: Tales of an amateur acidophile. *NatRev Microbiol* 2 (11):898–907.
- Foster, K. R., K. Parkinson, and C. R. Thompson. 2007. What can microbial genetics teach sociobiology? *Trends Genet* 23 (2):74–80.
- Francino, M. P. 2005. An adaptive radiation model for the origin of new gene func- tions. *Nat Genet* 37 (6):573–77.
- Fricker, E. J., M. Spigelman, and C. R. Fricker. 1997. The detection of *Escherichia coli* DNA in the ancient remains of Lindow Man using the polymerase chain reaction. *Lett Appl Microbiol* 24 (5):351–54.
- Friedmann, H. C. 2004. From *Butyribacterium* to *E. coli*: An essay on unity in biochemistry. *PerspectBiol Med* 47 (1):47–66.
- Frost, L. S., R. Leplae, A. O. Summers, and A. Toussaint. 2005. Mobile genetic elements: The agents of open source evolution. *Nat Rev Microbiol* 3 (9):722–32.
- Gamage, S. D., A.K. Patton, J. F. Hanson, and A. A. Weiss. 2004. Diversity and host range of Shiga toxin - encoding phage. *Infect Immun* 72 (12):7131–39.
- Gamag e, S. D., A. K. Patton, J. E. Str asser, C. L. Chalk, and A. A. Weiss.
2006. Commensal bacteria influence *Escherichia eoli* 0157: H7 persistence and Shiga toxin produc- tion in the mouse intestine. *Infect Immun* 74 (3):1977–83.
- Gamage, S. D., J. E. Strasser, C. L. Chalk, and A. A. Weiss. 2003. Nonpathogenic *Escherichia eoli* can contribute to the production of Shiga toxin. *Infect Immun* 71 (6):3107–15.
- Gardner, A., S. A. West, and A. Buckling. 2004. Bacteriocins, spite and virulence. *ProcBiol Sei* 271 (1547):1529–35.

- Gardner, T. S., C. R. Cantor, and J. J. Collins. 2000. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature* 403 (6767):339-42.
- Ge, F., L. S. Wang, and J. Kim. 2005. The cobweb of life revealed by genome-scale estimates of horizontal gene transfer. *PLoS Biol* 3 (10):e316.
- Gelman, S. A. 2004. Psychological essentialism in children. *Trends Cogn Sei* 8 (9):404-9.
- George, R. P., and A. Gomez-Lobo. 2005. The moral status of the human embryo. *Perspect Biol Med* 48 (2):201-10.
- Gesteland, Raymond F., Thomas Cech, and John F. Atkins. 2006. *The RNA world: The nature of modern RNA suggests a prebiotic RNA*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Monograph Series 43. Cold Spring Harbor, N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Ghannoum, Mahmoud A., and George A. O'Toole. 2004. *Microbial biofilms*. Washington, D. C.: ASM Press.
- Gladman, B., L. Dones, H. F. Levison, and J. A. Burns. 2005. Impact seeding and reseed- ing in the inner solar system. *Astrobiology* 5 (4):483-96.
- Goehring, N. W., and J. Beckwith. 2005. Diverse paths to midcell: Assembly of the bacterial cell division machinery. *Curr Biol* 15 (13):R514-26.
- Gorvel, J. P. 2006. Microbiology: Bacterial bushwacking through a microtubule jungle. *Science* 314 (5801):931-32.
- Gould, Stephen Jay. 1989. *Wonderful life: The Burgess Shale and the nature of history*. New York: W. W. Norton.
- Graham, J. P., J. J. Boland, and E. Silbergeld. 2007. Growth-promoting antibiotics in food animal production: An economic analysis. *Public Health Reports* 122 (1):79-87.
- Gray, C. H., and E. L. Tatum. 1944. X-ray induced growth factor requirements in bacteria. *Proc Natl Acad Sei USA* 30 (12):404-10.
- Haldane, J. B. S. 1923. *Daedalus; or, Science and the future: A paper read to the Heretics, Cambridge, on February 4 th, 1 9 23*. <http://www.cscs.umich.edu/~crshalizi/Daedalus.html>; accessed October 24, 2007.
- Hall, Stephen S. 2002. *Invisible frontiers: The race to synthesize a human gene*. New York: Oxford University Press.
- Harold, F. M. 2005. Molecules into cells: Specifying spatial architecture. *Microbiol Mol Biol Rev* 69 (4):544-64.
- Hartwig, Mark. 2002. Whose comfortable myth? *Focus on the Family*, June 2002.
- Heitkamp, M. A., J. F. Kane, P. J. Morris, M. Bianchini, M. D. Hale, and G. Bogosian. 1993. Fate in sewage of a recombinant *Escherichia coli* K-12 strain used in the commercial production of bovine somatotropin. *Ind Microbiol* 11 (4):243-52.
- Hejnova, J., U. Dobrindt, R. Nemcova, C. Rusniok, A. Bomba, L. Frangeul, J. Hacker, P. Glaser, P. Sebo, and C. Buchrieser. 2005. Characterization of the flexible genome complement of the commensal *Escherichia coli* strain Ao 34/86 (083: K24: H31). *Microbiology* 151 (pt. 2):385-98.
- Herring, C. D., A. Raghunathan, C. Hrnisch, T. Patel, M. K. Applebee, A. R. Joyce, T. J. Albert, F. R. Blattner, D. van den Boom, C. R. Cantor, and B. O. Palsson. 2006. Comparative genome sequencing of *Escherichia coli* allows observation of bacterial evo- lution on a laboratory timescale. *Nat Genet* 38 (12):1406-12.
- Hershey, A. D., and M. Chase. 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J Gen Physiol* 36 (1):39-56.
- Higgins, Norman Patrick. 2005. *The bacterial chromosome*. Washington, D. C.: ASM Press.
- Holmes, Frederick Lawrence. 2001. *Meselson, Stahl, and the replication of DNA: A history of the "most beautiful experiment in biology"*. New Haven: Yale University Press.
- Hou, Shaobin, Jimmy H. Saw, Kit Shan Lee, Tracey A. Freitas, Claude Belisle, Yutaka Kawarabayasi, Stuart P. Donachie, Alla Pikina, Michael Y. Galperin, Eugene V. Koonin, Kira S. Makarova, Marina V. Omelchenko, Alexander Sorokin, Yuri I. Wolf, Qing X. Li, Young Soo Keum, Sonia Campbell, Judith Denery, Shin-Ichi Aizawa, Satoshi Shibata, Alexander Malahoff, and Maqsudul Alam. 2004. Genome sequence of the deep-seaproteobacterium *Idiomarina loihiensis* reveals amino acid fermen- tation as a source of carbon and energy. *Proc Natl Acad Sei USA* 101 (52):18036-41.
- Humes, Edward. 2007. *Monkey girl: Evolution, education, religion, and the battle for America's soul*. New York: Ecco.
- Inoue, T., R. Shingaki, S. Hirose, K. Waki, H. Mori, and K. Fukui. 2007. Genome-wide screening of genes required for swarming motility in *Escherichia coli* K-12. *JBacte- riol* 189 (3):950-57.
- Jackson, David Archer, and Stephen P. Stich. 1979. *The recombinant DNA debate*. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice-Hall.

- Jacob, Francois. 1995. *The statue within: An autobiography*. Cold Spring Harbor, N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Jennison, A. V., and N. K. Verma. 2004. *Shigella flexneri* infection: Pathogenesis and vaccine development. *FEMS Microbiol Rev* 28 (1):43–58.
- Jones, Nancy. 2006. Round three - “mixing and matching” biological building blocks: Mouse-human chimeras are here! Center for Bioethics and Human Dignity, [http://www.cbhd.org/resources/b\\_iotech/jones\\_2006-01-20.htm](http://www.cbhd.org/resources/b_iotech/jones_2006-01-20.htm).
- Jones, Shari A., F. A. Chowdhury, et al. 2007. Respiration of *Escherichia coli* in the mouse intestine. *Infect Immun* 75:4891-99.
- Judson, Horace Freeland. 1996. *The eighth day of creation: Makers of the revolution in biology*. Expanded ed. Cold Spring Harbor, N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Jun, S., and B. Mulder. 2006. Entropy-driven spatial organization of highly confined polymers: Lessons for the bacterial chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (33):12388-93.
- Kalir, S., S. Mangan, and U. Alon. 2005. A coherent feed-forward loop with a SUM input function prolongs flagella expression in *Escherichia coli*. *Mol Syst Biol* 1:2005.0006.
- Kaper, J. B. 2005. Pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol* 295 (6–7):355-56.
- Karch, H., P. I. Tarr, and M. Bielaszewska. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol* 295 (6–7):405-18.
- Karp, P. D., I. M. Kessler, A. Shearer, et al. 2007. Multidimensional annotation of the *Escherichia coli*. K-12 genome. *Nucleic Acids Res* 35:7577-90.
- Kass, Leon. 1997. National Bioethics Advisory Commission. Testimony of March 14. CyberCemetery. University of North Texas Libraries. <http://govinfo.library.unt.edu/nbac/transcript§/1997/3-14-97.pdf>.
- Kass, Leon, and James Q. Wilson. 1998. *The ethics of human cloning*. Washington, D. C.: AEI Press.
- Kerr, B., M. A. Riley, M. W. Feldman, and B. J. Bohannan. 2002. Local dispersal promotes biodiversity in a real-life game of rock-paper-scissors. *Nature* 418 (6894):171-74.
- Kirkup, B. C., and M. A. Riley. 2004. Antibiotic-mediated antagonism leads to a bacterial game of rock-paper-scissors in vivo. *Nature* 428 (6981):412-14.
- Kobayashi, I. 2001. Behavior of restriction-modification systems as selfish mobile elements and their impact on genome evolution. *Nucleic Acids Res* 29 (18):3742-56.
- Krawinkel, M. B. 2007. What we know and don't know about Golden Rice. *Nat Biotechnol* 25 (6):623.
- Krimsky, Sheldon. 1982. *Genetic alchemy: The social history of the recombinant DNA controversy*. Cambridge, Mass.: MIT Press.
- Kropotkin, Petr Alekseevich. 1919. *Mutual aid: A factor of evolution*. New York: Alfred A. Knopf.
- Kurata, H., H. El-Samad, R. Iwasaki, H. Ohtake, J. C. Doyle, I. Grigoroza, C. A. Gross, and M. Khammash. 2006. Module-based analysis of robustness tradeoffs in the heat shock response system. *PLoS Comput Biol* 2 (7):e59.
- Kusseil, E., R. Kishony, N. Q. Balaban, and S. Leibler. 2005. Bacterial persistence: A model of survival in changing environments. *Genetics* 169 (4):1807-14.
- La Duc, M. T., K. Venkateswaran, R. Sumner, and D. Pierson. 2004. Characterization and monitoring of microbes in the international space station drinking water. Beacon eSpace. Jet Propulsion Laboratory, <http://hdl.handle.net/2014/37245>.
- Lamarck, Jean Baptiste Pierre Antoine de Monet de. 1984. *Zoological philosophy: An exposition with regard to the natural history of animals*. Chicago: University of Chicago Press.
- Lambert, C., K. J. Evans, R. Till, L. Hopley, M. Capeness, S. Rendulic, S. C. Schuster, S. Aizawa, and R. E. Sockett. 2006. Characterizing the flagellar filament and the role of motility in bacterial prey-penetration by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Mol Microbiol* 60 (2):274-86.
- Lawrence, J. G., and H. Ochman. 1998. Molecular archaeology of the *Escherichia coli* genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (16):9413-17.
- Lawrence, S. 2007a. Agbiotech booms in emerging nations. *Nat Biotechnol* 25 (3):271.
- 2007b. State of the biotech sector - 2006. *Nat Biotechnol* 25:706.
- Lederberg, J. 1946. Bacterial genetics. Joshua Lederberg: Biomedical Science and the Public Interest. National Library of Medicine, <http://profiles.nlm.nih.gov/hmd/lederberg/bacterial/html>.
1960. Exobiology: Approaches to life beyond the earth. *Science* 132 (3424):393–400.
1963. Life beyond Earth. *Stanford Today*, Winter.
1987. Genetic recombination in bacteria: A discovery

- account. *Annu Rev Genet* 21:23–46.
- Lederberg, J., and E. M. Lederberg. 1952. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *JBacteriol* 63 (3):399–406.
- Lenski, R. 2003. The ecology, genetics and evolution of bacteria in an experimental setting. *Curr Biol* 13 (12):R466-67.
- Lerat, E., V. Daubin, H. Ochman, and N. A. Moran. 2005. Evolutionary origins of genomic repertoires in bacteria. *PLoS Biol* 3 (5):e130.
- Levskaya, A., A. A. Chevalier, J. J. Tabor, Z. B. Simpson, L. A. Lavery, M. Levy, E. A. Davidson, A. Scouras, A. D. Ellington, E. M. Marcotte, and C. A. Voigt. 2005. Synthetic biology: Engineering *Escherichia coli* to see light. *Nature* 438 (7067):441-42.
- Levy, Stuart B. 2002. *The antibiotic paradox: How the misuse of antibiotics destroys their curative powers*. 2nd ed. Cambridge, Mass.: Perseus.
- Lewis, K. 2005. Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Mosc)* 70 (2):267-74.
2007. Persister cells, dormancy, and infectious disease. *Nat Rev Microbiol* 5 (1):48–56.
- Lim, H. N., and A. van Oudenaarden. 2007. A multistep epigenetic switch enables the stable inheritance of DNA methylation states. *Nat Genet* 39 (2):269-75.
- Lumsden, Richard D. 1994. Not so blind a watchmaker. *Creation Research Society Quarterly journal* 31 (1).
- Luria, S. E. 1984. *A slot machine, a broken test tube: An autobiography*. Alfred P. Sloan Foundation Series. New York: Harper & Row.
- Luria, S. E., and M. Delbrück. 1943. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics* 28 (6):491–511.
- Luria, S. E., M. Delbrück, and T. F. Anderson. 1943. Electron microscope studies of bacterial viruses. *JBacteriol* 46 (1):57–77.
- Ma, H. W., and A. P. Zeng. 2003. The connectivity structure, giant strong component and centrality of metabolic networks. *Bioinformatics* 19 (11):1423-30.
- Margolin, W. 2005. FtsZ and the division of prokaryotic cells and organelles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6 (11):862-71.
- Marshall, R. E., C. T. Caskey, and M. Nirenberg. 1967. Fine structure of RNA codewords recognized by bacterial, amphibian, and mammalian transfer RNA. *Science* 155 (764):820-26.
- Matz, C., and S. Kjelleberg. 2005. Off the hook - how bacteria survive protozoan grazing. *Trends Microbiol* 13 (7):302-7.
- Matz, C., D. McDougald, A. M. Moreno, P. Y. Yung, F. H. Yildiz, and S. Kjelleberg. 2005. Biofilm formation and phenotypic variation enhance predation-driven persistence of *Vibrio cholerae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 (46):16819-24.
- McElheny, Victor. 1976. Hunt for evidence of life on Mars is still a puzzle. *New York Times*, August 11, 1976.
- Meltz Steinberg, K., and B. R. Levin. 2007. Grazing protozoa and the evolution of the *Escherichia coli* O157: H7 Shiga toxin - encoding prophage. *Proc Biol Sci* 274 (1621):1924-29.
- Meselson, M., and F. W. Stahl. 1958. The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proc Nat Acad Sci USA* 44:671-82.
- Mettetal, J. T., D. Muzzey, J. M. Pedraza, E. M. Ozbudak, and A. van Oudenaarden. 2006. Predicting stochastic gene expression dynamics in single cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (19):7304-9.
- Michaelian, K. 2005. Thermodynamic stability of ecosystems. *Theor Biol* 237 (3):323-35.
- Michod, R. E. 2007. Evolution of individuality during the transition from unicellular to multicellular life. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 (1):S8613-18.
- Milo, R., S. Shen-Orr, S. Itzkovitz, N. Kashtan, D. Chklovskii, and U. Alon. 2002. Network motifs: Simple building blocks of complex networks. *Science* 298 (5594):824-27.
- Mira, A., R. Pushker, and F. Rodriguez-Valera. 2006. The Neolithic revolution of bacterial genomes. *Trends Microbiol* 14 (5):200–206.
- Morbey, Y. E., Brassil, and A. P. Hendry. 2005. Rapid senescence in Pacific salmon. *Am Nat* 166 (5):556-68.
- Mrak, P., Z. Podlesek, J. P. van Putten, and D. Zgur-Bertok. 2007. Heterogeneity in expression of the *Escherichia coli* colicin K activity gene *cka* is controlled by the SOS system and stochastic factors. *Mol Genet Genomics* 277 (4):391–401.

- Mulec, J., Z. Podlesek, P. Mrak, A. Kopitar, A. Ihan, and D. Zgur-Bertok. 2003. A cka-gfp transcriptional fusion reveals that the colicin K activity gene is induced in only 3 percent of the population. *Bacteriol* 185 (2):654-59.
- Müller-Hill, Benno. 1996. *The lac operon: A short history of a genetic paradigm*. New York: Walter de Gruyter.
- Myllykangas, S., J. Himberg, T. Bühling, B. Nagy, J. Hollmänn, and S. Knuutila. 2006. DNA copy number amplification profiling of human neoplasms. *Oncogene* 25 (55):7324-32.
- Napier, W. M. 2004. A mechanism for interstellar panspermia. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society* 348 (1):46-51.
- Nash, J. M. 2000. Grains of hope. *Time*, July 31, 2000, 38-46.
- National Academy of Sciences. 1977. *Research with recombinant DNA: An Academy Forum, March 7-9, 1977*. Washington, D. C.: National Academy of Sciences.
- Naylor, S. W., D. L. Gaily, and J. C. Low. 2005. Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine. *IntJMed Microbiol* 295 (6-7):419-41.
- Neidhardt, Frederick C. 1996. *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and molecular biology*. 2nd ed. Washington, D. C.: ASM Press.
- Nicholson, J. K., E. Holmes, and I. D. Wilson. 2005. Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. *Nat Rev Microbiol* 3 (5):431-38.
- Nielsen, K. M., and J. P. Townsend. 2004. Monitoring and modeling horizontal gene transfer. *Nat Biotechnol* 22 (9):1110-14.
- Noireaux, V., R. Bar-Ziv, J. Godefroy, H. Salman, and A. Libchaber. 2005. Toward an artificial cell based on gene expression in vesicles. *PhysBiol* 2(3):P1-8.
- Nordenberg, T. 1999. Maker of growth hormone feels long arm of law. *FDA Consum* 33 (5):33.
- Norris, V., T. den Blaauwen, A. Cabin-Flaman, R. H. Doi, R. Harshey, L. Janniere, A. Jimenez-Sanchez, D. J. Jin, P. A. Levin, E. Mileykovskaya, A. Minsky, M. Saier Jr., and K. Skarstad. 2007. Functional taxonomy of bacterial hyperstructures. *Microbiol Mol Biol Rev* 71 (1):230-53.
- Novick, A., and M. Weiner. 1957. Enzyme induction as an all-or-none phenomenon. *Proc Natl Acad Sci USA* 43 (7):553-66.
- Nystrom, T. 2004. Stationary-phase physiology. *Annu Rev Microbiol* 58:161-81.
- O'Donnell, M. 2006. Replisome architecture and dynamics in *Escherichia coli*. *JBiolChem* 281 (16):10653-56.
- Ostrowski, E. A., D. E. Rozen, and R. E. Lenski. 2005. Pleiotropic effects of beneficial mutations in *Escherichia coli*. *Evolution IntJOrg Evolution* 59 (11):2343-52.
- Ouzounis, C. A., V. Kunin, N. Darzentas, and L. Goldovsky. 2006. A minimal estimate for the gene content of the last universal common ancestor - exobiology from a terrestrial perspective. *Res Microbiol* 157 (1):57-68.
- Owen, M. D., and I. A. Zelaya. 2005. Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Manag Sci* 61 (3):301-11.
- Ozbudak, E. M., M. Thattai, H. N. Lim, B. I. Shraiman, and A. Van Oudenaarden. 2004. Multistability in the lactose utilization network of *Escherichia coli*. *Nature* 427 (6976):737-40.
- Pallen, M. J., and N. J. Matzke. 2006. From *The Origin of Species* to the origin of bacterial flagella. *Nat Rev Microbiol* 4 (10):784-90.
- Park, H. K., S. S. Shim, S. Y. Kim, J. H. Park, S. E. Park, H. J. Kim, B. C. Kang, and C. M. Kim. 2005. Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant gut. *Microbiol* 43 (4):345-53.
- Park, S., P. M. Wolanin, E. A. Yuzbashyan, P. Silberzan, J. B. Stock, and R. H. Austin. 2003. Motion to form a quorum. *Science* 301 (5630):188.
- Patrick, W. M., E. M. Quandt, D. V. Swartzlander, and I. Matsumura. 2007. Multicopy suppression underpins metabolic evolvability. *Mol Bio Evo* 24 (12):2716-22.
- Pelosi, L., L. Kuhn, D. Guetta, J. Garin, J. Geiselmann, R. E. Lenski, and D. Schneider. 2006. Parallel changes in global protein profiles during long-term experimental evolution in *Escherichia coli*. *Genetics* 173 (4):1851-69.
- Pennington, T. H. 2003. *When food kills: BSE, E. coli, and disaster science*. New York: Oxford University Press.
- Perfeito, L., L. Fernandes, C. Mota, and I. Gordo. 2007. Adaptive mutations in bacteria: High rate and small effects. *Science* 317:813-15.
- Perna, N. T., G. Plunkett III, V. Burland, B. Mau, J. D. Glasner, D. J. Rose, G. F. Mayhew, P. S. Evans, J. Gregor, H. A. Kirkpatrick, G. Posfai, J. Hackett, S. Klink, A. Boutin, Y. Shao, L. Miller, E. J.

- Grotbeck, N. W. Davis, A. Lim, E. T. Dimalanta, K. D. Pota- mousis, J. Apodaca, T. S. Anantharaman, J. Lin, G. Yen, D. C. Schwartz, R. A. Welch, and F. R. Blattner. 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Nature* 409 (6819):529-33.
- Perron, G. G., M. Zaslhoff, and G. Bell. 2006. Experimental evolution of resistance to an antimicrobial peptide. *Proc Biol Sci* 273 (1583):251-56.
- Peschel, A., and H. G. Sahl. 2006. The co-evolution of host cationic antimicrobial pep- tides and microbial resistance. *Nat Rev Microbiol* 4 (7):529-36.
- Ponder, R. G., N. C. Fonville, and S. M. Rosenberg. 2005. A switch from high-fidelity to error-prone DNA double-strand break repair underlies stress-induced mutation. *Mol Cell* 19 (6):791–804.
- Potrykus, I. 2001. Golden Rice and beyond. *Plant Physiol* 125 (3):1157-61.
- Power, M. L., J. Littlefield-Wyer, D. M. Gordon, D. A. Veal, and M. B. Slade. 2005. Phe- notypic and genotypic characterization of encapsulated *Escherichia eoli* isolated from blooms in two Australian lakes. *Environ Microbiol* 7 (5):631-40.
- Queitsch, C., T. A. Sangster, and S. Lindquist. 2002. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature* 417 (6889):618-24.
- Raney, T. 2006. Economic impact of transgenic crops in developing countries. *Curr Opin Biotechnol* 17 (2):174-78.
- Rangel, J. M., P. H. Sparling, C. Crowe, P. M. Griffin, and D. L. Swerdlow. 2005. Epi- demiology of *Escherichia eoli* O157: H7 outbreaks, United States, 1982–2002. *Emerg Infect Dis* 11 (4):603-9.
- Raser, J. M., and E. K. O'Shea. 2005. Noise in gene expression: Origins, consequences, and control. *Science* 309 (5743):2010-13.
- Rasheed, J. K., C. Jay, B. Metchock, F. Berkowitz, L. Weigel, J. Crellin, C. Steward, B. Hill, A. A. Medeiros, and F. C. Tenover. 1997. Evolution of extended-spectrum beta- lactam resistance (SHV-8) in a strain of *Escherichia eoli* during multiple episodes of bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 41 (3):647-53.
- Raymond, J., and D. Segre. 2006. The effect of oxygen on biochemical networks and the evolution of complex life. *Science* 311 (5768):1764-67.
- Reinhold, Robert. 1969. Scientists isolate a gene: Steps in heredity control. *New York Times*, November 22,1969.
- Reisner, A., K. A. Krogfelt, B. M. Klein, E. L. Zechner, and S. Molin. 2006. In vitro biofilm formation of commensal and pathogenic *Escherichia eoli* strains: Impact of environmental and genetic factors. *fBacteriol* 188 (10):3572-81.
- Remold, S. K., and R. E. Lenski. 2004. Pervasive joint influence of epistasis and plastic- ity on mutational effects in *Escherichia eoli*. *Nat Genet* 36 (4):423-26.
- Ren, C. R, S. A. Beatson, J. Parkhill, and M. J. Pallen. 2005. The Flag-2 locus, an ancestral gene cluster, is potentially associated with a novel flagellar system from *Escherichia coli*. *JBacteriol* 187 (4):1430-40.
- Roberts, Richard B. 1955. *Studies of biosynthesis in Escherichia coli*. Washington, D. C.: Carnegie Institution.
- Robicsek, A., J. Strahilevitz, G. A. Jacoby, M. Macielag, D. Abbanat, C. H. Park, K. Bush, and D. C. Hooper. 2006. Fluoroquinolone- modifying enzyme: A new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med* 12 (1):83–88.
- Rogers, Michael. 1977. *Biohazard*. New York: Alfred A. Knopf.
- Roth, J. R., E. Kugelberg, A. B. Reams, E. Kofoid, and D. I. Andersson. 2006. Origin of mutations under selection: The adaptive mutation controversy. *Annu Rev Microbiol* 60:477–501.
- Rozen, D. E., D. Schneider, and R. E. Lenski. 2005. Long-term experimental evolution in *Escherichia coli*. XIII. Phylogenetic history of a balanced polymorphism./*Mol Evol* 61 (2):171-80.
- Salyers, Abigail A., and Dixie D. Whitt. 2005. *Revenge of the microbes: How bacterial resistance is undermining the antibiotic miracle*. Washington, D. C.: ASM Press.
- Sandermann, H. 2006. Plant biotechnology: Ecological case studies on herbicide resistance. *Trends Plant Sei* 11 (7):324-28.
- Sansonetti, P. J. 2006. Shigellosis: An old disease in new clothes? *PLoS Med* 3(9):e354.
- Sapp, J. 1994. *Evolution by association: A history of symbiosis*. New York: Oxford University Press.

2005. The prokaryote-eukaryote dichotomy: Meanings and mythology. *Microbiol Mol Biol Rev* 69 (2):292–305.
- Sauer, U. 2006. Metabolic networks in motion:  $^{13}\text{C}$ -based flux analysis. *Mol Syst Biol* 2:62.
- Sauer, U., M. Heinemann, and N. Zamboni. 2007. Genetics: Getting closer to the whole picture. *Science* 316 (5824):550-51.
- Schaechter, Moselio, John L. Ingraham, and Frederick C. Neidhardt. 2006. *Microbe*. Washington, D. C.: ASM Press.
- Schnapp, N., and Q. Schiermeier. 2001. Critics claim “sight-saving” rice is over-rated. *Nature* 410 (6828):503.
- Schneider, D., and R. E. Lenski. 2004. Dynamics of insertion sequence elements during experimental evolution of bacteria. *Res Microbiol* 155 (5):319-27.
- Scott, C. T. 2006. Chimeras in the crosshairs. *Nat Biotechnol* 24 (5):487-90.
- Seegerstrale, Ullica. In press. *Nature’s oracle: A life of W. D. Hamilton*. Oxford: Oxford University Press.
- Service, Robert F. 2003. Researchers create first autonomous synthetic life form. *Science* 299 (5607):640.
2007. A growing threat down on the farm. *Science* 316 (5828):1114-17.
- Shaikh, N., and P. I. Tarr. 2003. *Escherichia coli* O157: H7 Shiga toxin - encoding bacteriophages: Integrations, excisions, truncations, and evolutionary implications. *JBacteriol* 185 (12):3596-605.
- Shapiro, J., L. Machattie, L. Eron, G. Ihler, K. Ippen, and J. Beckwith. 1969. Isolation of pure *lac* operon DNA. *Nature* 224 (5221):768-74.
- Shi, W., and D. R. Zusman. 1993. Fatal attraction. *Nature* 366 (6454):414-15.
- Shin, T., D. Kraemer, J. Pryor, L. Liu, J. Rugila, L. Howe, S. Buck, K. Murphy, L. Lyons, and M. Westhusin. 2002. A cat cloned by nuclear transplantation. *Nature* 415 (6874):859.
- Shnayerson, Michael, and Mark J. Plotkin. 2002. *The killers within: The deadly rise of drug - resistant bacteria*. Boston: Little, Brown.
- Silver, Lee M. 2006. *Challenging nature: The clash of science and spirituality at the frontiers of life*. New York: Ecco.
- Sinervo, B. 2001. Runaway social games, genetic cycles driven by alternative male and female strategies, and the origin of morphs. *Genetica* 112-13:417-34.
- Singer, M. 2001. What did the Asilomar exercise accomplish, what did it leave undone? *Perspect Biol Med* 44 (2):186-91.
- Spencer, C. C., M. Bertrand, M. Travisano, and M. Doebeli. 2007. Adaptive diversification in genes that regulate resource use in *Escherichia coli*. *PLoS Genet* 3 (1):e15.
- Spudich, J. L., and D. E. Koshland Jr. 1976. Non-genetic individuality: Chance in the single cell. *Nature* 262 (5568):467-71.
- Stahl, Franklin W. 2001. Alfred Day Hershey. Biographical Memoirs 80. Washington, D. C.: National Academy Press.
- Stein, A. J., H. P. Sachdev, and M. Qaim. 2006. Potential impact and cost-effectiveness of Golden Rice. *Nat Biotechnol* 24 (10):1200–1201.
- Stenuit, B., L. Eyers, R. Rozenberg, J. L. Habib-Jiwan, and S. N. Agathos. 2006. Aerobic growth of *Escherichia coli* with 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) as the sole nitrogen source and evidence of TNT denitration by whole cells and cell-free extracts. *Appl Environ Microbiol* 72 (12):7945-48.
- Stewart, E. J., R. Madden, G. Paul, and F. Taddei. 2005. Aging and death in an organism that reproduces by morphologically symmetric division. *PLoS Biol* 3 (2):e45.
- Sullivan, Woodruff T., and John Baross, eds. 2007. *Planets and life: The emerging science of astrobiology*. New York: Cambridge University Press.
- Talbot, M. 2005. Darwin in the dock. *New Yorker*, December 5, 2005.
- TalkOrigins Archive. 2006. *Kitzmiller v. Dover Area School District*, Dover, Pennsylvania Intelligent Design Case, [http://talkorigins.org/faqs/dover/kitzmiller\\_jv\\_dover.html](http://talkorigins.org/faqs/dover/kitzmiller_jv_dover.html).
- Tanaka, R., M. Csete, and J. Doyle. 2005. Highly optimised global organisation of metabolic networks. *Syst Biol (Stevenage)* 152 (4):179-84.
- Tarr, P. I., C. A. Gordon, and W. L. Chandler. 2005. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 365 (9464):1073-86.
- Tatum, E. L., and J. Lederberg. 1947. Gene recombination in the bacterium *Escherichia coli*. *JBacteriol* 53 (6):673-84.

- Tenaillon, O., E. Denamur, and I. Matic. 2004. Evolutionary significance of stress- induced mutagenesis in bacteria. *Trends Microbiol* 12 (6):264-70.
- Tenover, F. C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med* 119 (6 Suppl. 1):S3-10, discussion S62-70.
- Thanbichler, M., and L. Shapiro. 2006. Chromosome organization and segregation in bacteria. *Struct Biol* 156 (2):292–303.
- Thiem, S., D. Kentner, and V. Sourjik. 2007. Positioning of chemosensory clusters in *E. coli* and its relation to cell division. *Embo J* 26 (6):1615-23.
- Thomas, W. E., L. M. Nilsson, M. Forero, E. V. Sokurenko, and V. Vogel. 2004. Shear- dependent “stick-and-roll” adhesion of type 1 fimbriated *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 53 (5):1545-57.
- Thornton, I. W. B. 1996. *Krakatau: The destruction and reassembly of an island ecosystem*. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Tomitani, A., A. H. Knoll, C. M. Cavanaugh, and T. Ohno. 2006. The evolutionary diversification of cyanobacteria: Molecular- phylogenetic and paleontological perspectives. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (14):5442-47.
- Travisano, M., J. A. Mongold, A. F. Bennett, and R. E. Lenski. 1995. Experimental tests of the roles of adaptation, chance, and history in evolution. *Science* 267 (5194):87–90.
- Trinh, C. T., R. Carlson, A. Wlaschin, and F. Srienc. 2006. Design, construction and performance of the most efficient biomass- producing *E. coli* bacterium. *Metab Eng* 8 (6):628-38.
- U. S. Congress. Senate. 2005. *Human Chimera Prohibition Act of 2005*. S 659.109th Cong., 1st sess.
- U. S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. 2006. Multi-state outbreak of *E. coli* O157: H7 infections from spinach. September - October. <http://www.cdc.gov/ecoli2006/September/>.
- Van Till, Howard J. 2002. *E. coli* at the *No Free Lunchroom*: Bacterial flagella and Dembski’s case for intelligent design. American Association for the Advancement of Science. [http://www.aaas.org/spp/dser/03\\_Areas/evolution/perspectives/vantillecoli\\_2002.pdf](http://www.aaas.org/spp/dser/03_Areas/evolution/perspectives/vantillecoli_2002.pdf).
- Varma, J. K., K. D. Greene, M. E. Relier, S. M. DeLong, J. Trottier, S. F. Nowicki, M. DiOrio, E. M. Koch, T. L. Bannerman, S. T. York, M. A. Lambert-Fair, J. G. Wells, and P. S. Mead. 2003. An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building. *AMA* 290 (20):2709-12.
- Vulic', M., and R. Kolter. 2001. Evolutionary cheating in *Escherichia coli* stationary phase cultures. *Genetics* 158 (2):519-26.
- Wade, Nicholas. 1977. *The ultimate experiment: Man-made evolution*. New York: Walker.
- Walters, M., and V. Sperandio. 2006. Quorum sensing in *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Int J Med Microbiol* 296 (2–3):125-31.
- Wandersman, C., and P. Delepelaire. 2004. Bacterial iron sources: From siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol* 58:611-47.
- Wang, L., J. Xie, and P. G. Schultz. 2006. Expanding the genetic code. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 35:225-49.
- Warmflash, D., and B. Weiss. 2005. Did life come from another world? *Sci Am* 293(5):64–71.
- Watanabe, T. 1963. Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol Rev* 27:87-115.
- Watson, James D. 1969. *The double helix: A personal account of the discovery of the structure of DNA*. New York: New American Library.
- Watson, James D., and John Tooze. 1981. *The DNA story: A documentary history of genecloning*. San Francisco: W. H. Freeman.
- Welch, R. A., V. Burland, G. Plunkett III, P. Redford, P. Roesch, D. Rasko, E. L. Buckles, S. R. Liou, A. Boutin, J. Hackett, D. Stroud, G. F. Mayhew, D. J. Rose, S. Zhou, D. C. Schwartz, N. T. Perna, H. L. Mobley, M. S. Sonnenberg, and F. R. Blattner. 2002. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropath-ogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 (26):17020-24.
- Wells, H. G. 1896. *The island of Dr. Moreau*. Garden City, N. Y.: Garden City Publishing.
- West, S. A., A. S. Griffin, A. Gardner, and S. P. Diggle. 2006. Social evolution theory for microorganisms. *Nat Rev Microbiol* 4 (8):597–607.
- White-Ziegler, C. A., A. J. Malhowski, and S. Young. 2007. Human body temperature (37 C) increases the expression of iron, carbohydrate, and amino acid utilization genes in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol* 189:5429-40.

- Wick, L. M., W. Qi, D. W. Lacher, and T. S. Whittam. 2005. Evolution of genomic content in the stepwise emergence of *Escherichia coli* O157: W. *JBacteriol* 187 (5):1783-91.
- Willenbrock, H., and D. W. Ussery. 2004. Chromatin architecture and gene expression in *Escherichia coli*. *Genome Biol* 5 (12):252.
- Williams, G. C. 1966. *Adaptation and natural selection*. Princeton: Princeton University Press.
1999. The 1999 Crafoord Prize lectures. The Tithonus error in modern gerontology. *Q Rev Biol* 74 (4):405-15.
- Wirth, T., D. Falush, R. Lan, F. Colles, P. Mensa, L. H. Wieler, H. Karch, P. R. Reeves, M. C. Maiden, H. Ochman, and M. Achtman. 2006. Sex and virulence in *Escherichia coli*: An evolutionary perspective. *Mol Microbiol* 60 (5):1136-51.
- Wise, R., and E. J. Soulsby. 2002. Antibiotic resistance - an evolving problem. *Vet Rec* 151 (13):371-72.
- Woese, C. R., and G. E. Fox. 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA* 74 (11):5088-90.
- Woldringh, C. L., and N. Nanninga. 2006. Structural and physical aspects of bacterial chromosome segregation. *J Struct Biol* 156 (2):273-83.
- Wolf, D. M., V. V. Vazirani, and A. P. Arkin. 2005. Diversity in times of adversity: Probabilistic strategies in microbial survival games. *Theor Biol* 234 (2):227-53.
- Wolfe, A. J. 2005. The acetate switch. *Microbiol Mol Biol Rev* 69 (1):12-50.
- Woods, R., D. Schneider, C. L. Winkworth, M. A. Riley, and R. E. Lenski. 2006. Tests of parallel molecular evolution in a longterm experiment with *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (24):9107-12.
- Wright, Susan. 1994. *Molecular politics: Developing American and British regulatory policy for genetic engineering, 1972-1982*. Chicago: University of Chicago Press.
- Xavier, J. B., and K. R. Foster. 2007. Cooperation and conflict in microbial biofilms. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 (3):876-81.
- Zelaya, Ian A., Michael D. K. Owen, and Mark J. VanGessel. 2007. Transfer of glyphosate resistance: Evidence of hybridization in *Conyza* (Asteraceae). *Am fBot* 94 (4):660-73.
- Zhang, W., W. Qi, T. J. Albert, A. S. Motiwala, D. Alland, E. K. Hyytiäinen, E. M. Ribot, P. I. Fields, T. S. Whittam, and B. Swaminathan. 2006. Probing genomic diversity and evolution of *Escherichia coli* O157 by single nucleotide polymorphisms. *Genome Res* 16 (6):757-67.
- Zhou, T. J.M. Carlson, and J. Doyle. 2005. Evolutionary dynamics and highly optimized tolerance. *Theor Biol* 236 (4):438-47.
- Zilinskas, Raymond A., and Burke K. Zimmerman. 1986. *The gene-splicing wars: Reflections on the recombinant DNA controversy*. New York: Macmillan.
- Zimmer, C. 2004. George C. Williams profile: Stretching the limits of evolutionary biology. *Science* 304 (5675):1235-36.
- . 2006. Did DNA come from viruses? *Science* 312 (5775):870-72.
- 2007a. Evolved for cancer? *Sci Am* 296 (1):68-74,75A.
- 2007b. Fast-reproducing microbes provide a window on natural selection. *New York Times*, June 26, 2007.
- Zinser, E. R, and R. Kolter. 2004. *Escherichia coli* evolution during stationary phase. *ResMicrobiol* 155 (5):328-36.
- Zorzano, M. P., D. Hochberg, M. T. Cuevas, and J. M. Gomez-Gomez. Reaction-diffusion model for pattern formation in *E. coli* swarming colonies with slime. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 71 (3 pt. 1):031908