

Наследственность у бактерий: от Ламарка к Дарвину и обратно

Мы публикуем расшифровку лекции доктора биологических наук, зав. лабораторией Института молекулярной генетики РАН, профессора Университета Ратгерса (США) Константина Северинова, прочитанной 25 марта 2010 года в Политехническом музее в рамках проекта «Публичные лекции Полит.ру».

Текст лекции



Константин Северинов
(фото Н. Четвериковой)

Я благодарен организаторам за приглашение, это большая честь для меня. Я чувствую себя смущенным, у меня нет никакого опыта презентаций и публичных лекций. Если я буду говорить что-то слишком специальное, меня можно прерывать прямо по ходу лекции. За минуту до того, как я вышел сюда из дома, я получил замечательный e-мейл, который, по-видимому, рассылается многим ученым, а также всяческому начальству. В этом послании предлагается срочно прекратить обучение теории эволюции в школах, как уче-

ния вредного, ну и так далее. Т.е., вопросы, связанные с теорией эволюции, продолжают волновать людей, особенно городских сумасшедших. Не вдаваясь в подробности “аргументации” автора послания, я хочу сразу сказать, что на самом деле совершенно не буду говорить про теорию эволюции как таковую, а расскажу о тех молекулярных механизмах, которые обеспечивают наследственные изме-

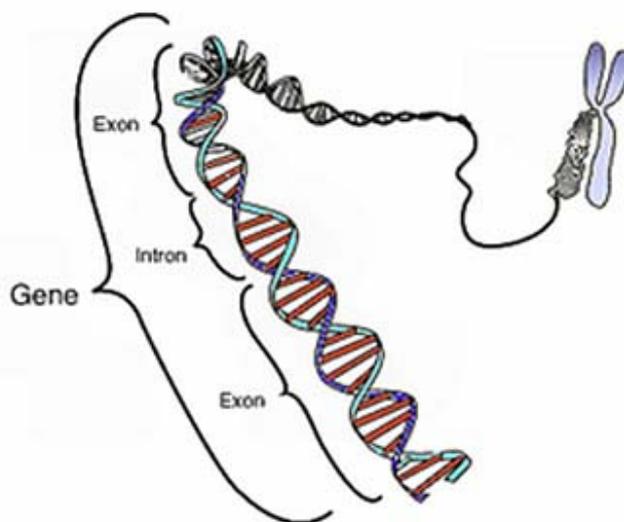
нения у бактерий. И я буду концентрироваться на методах, подходах и экспериментах, на том, как думали те ученые, которые ставили классические эксперименты на эту тему. Давайте определим концептуальное поле, в котором мы будем находиться. Эволюция по Ламарку построена на идее наследуемых адаптаций. Основной тезис заключается в том, что в ответ на изменения окружающей среды особи способны меняться или приспосабливаться, а затем каким-то образом передавать приобретенные изменения потомству. В принципе, у Ламарка была еще прогрессистская идея, заключающаяся в том, что приспособления приводят к постепенному усложнению организации организма, последовательной эволюции от простого к сложному, но, на самом деле, это требование не существенно для основной идеи. Теория Ламарка в принципе совершенно разумна, она объясняет существующее многообразие живых существ и те изменения, которые виды претерпевают при изменении окружающей среды. Но есть несколько вопросов. Те вопросы, которые мне, например, интересны, как молекулярному биологу, это, во-первых, каков механизм адаптации, и, во-вторых, какова природа наследования признаков, которые организм приобретает под действием окружающей среды. Если мы опишем такой механизм, то мы вынуждены будем признать, что эволюция по Ламарку имеет место быть. По Дарвину основными факторами эволюции являются изменчивость и отбор. Тезисы здесь такие: во-первых, постулируется, что между особями одного вида существует изменчивость. Во-вторых, особи, обладающие подходящими признаками, оставляют больше потомства. Третий тезис – это то, что признаки наследуются. Четвертым тезисом является утверждение, что ресурсы ограничены, и

поэтому размножение особей ограничено доступностью ресурсов. Приняв эти тезисы, можно задать следующие вопросы: во-первых, какова природа изменчивости? Очевидно, что без изменчивости не будет отбора. Вторым будет тот же самый проклятый вопрос, который у нас был в случае Ламарка, а именно – какова природа наследуемости подходящих признаков? Когда Дарвин предложил свою теорию, у него не было ответа на второй вопрос, и это создавало массу проблем.

Борис Долгин: Природа в смысле — механизм?

Константин Северинов: Природа — это механизм. Механизм — это какая-то машинка внутри, которая обеспечивает наследуемость. Каждый из предложенных механизмов эволюции имеют право на существование, остается только выяснить, какой из них существует в реальности. Если мы найдем механизмы, обеспечивающие как наследование приобретенных признаков, так и изменчивость и наследуемость предсуществующих признаков, оказавшихся подходящими для данных условий, то мы должны будем признать, что существуют оба механизма эволюции. Если мы покажем существование только одного механизма, мы сделаем выбор в пользу одной из двух теорий эволюции. Но мы будем сохранять “open mind”. Мы будем готовы а priori признать существование обеих возможностей. Каким способом можно изучать механизм эволюции? Самая общая методология, по-видимому, должна быть такой: мы возьмем популяцию какого-то организма, создадим условия контролируемого изменения окружающей среды и будем следить за происходящими в популяции изменениями, концентрируя наше внимание на определенных признаках. При этом, так, как и дарвиновская, и ламарковская

схемы предполагают очень медленные изменения, нам придется следить за популяцией в течение многих поколений. Кроме того, изменения, как правило, происходят редко, и нам нужно будет следить за большим количеством особей. Организовав такой исследовательский процесс, мы можем на основании анализа результатов выбрать ту теорию, которая лучше соответствует экспериментальным данным. То, чем мы будем заниматься, будет называться генетика. После того, как мы выбрали общую схему эксперимента, давайте решим, кого мы будем изучать. Можно изучать человека или популярные модельные организмы, например, мышь, муху, дрожжи, бактерии, вирусы. Выясняется, что различные модельные организмы неодинаково хорошо приспособлены для решения задачи, которую мы хотим решить. Проблема в том, что для опыта, который мы хотим поставить, очень важным является время генерации организма, размер популяции и количество признаков, за которыми можно следить. Человек для нас не будет являться хорошим объектом изучения, потому что мы не сможем проследить эволюцию человека в течение нашей собственной короткой жизни. До середины XX века классическим объектом генетики была плодовая мушка дрозофила. И с помощью этой мухи Томас Хант Морган, величайший ученый масштаба Дарвина и Ньютона, которого мы в основном знаем по классово чуждому морганизму и вейсманизму, разработал хромосомную теорию наследственности. Морган начинал свои исследования, не будучи поклонником Дарвина. Но поизучав эту муху, он пришел к выводу, что “эволюция, понимаемая как изменение частоты признаков в популяции, по-видимому, происходила за счет включения в расу (для нас это вид) случайных изменений, которые создают превосходство в жизни или воспроиз-



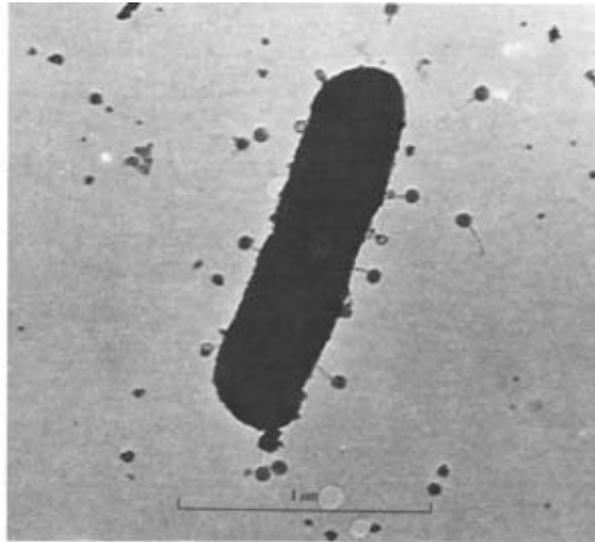
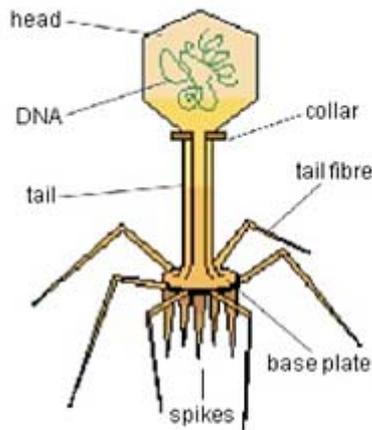
водстве индивидуального организма”. На самом деле, это дарвиновская концепция. Хромосомная теория наследственности, которая была сформулирована Морганом и его школой, постулировала, что гены, которые кодируют признаки, находятся на хромосомах, и распределяются в популяции, или в потомстве, по законам Менделя. Дальнейшее развитие хромосомной теории сдерживалось особенностями модельного организма (мухи). Например, хромосомная теория наследственности постулировала, что ген един и неделим. Свяжано это было с тем, что время генерации плодовой мушки, количество особей, которые реально можно проанализировать, и количество признаков, по которым можно мутантную муху отличить от нормальной мухи,

Так вот на хромосоме находятся тысячи разных генов. Если вы глядите на хромосому с разрешением светового микроскопа, то большинство генов для вас просто “солятся”, и вы, конечно, не увидите тонкую структуру гена, которая связана как раз с этой молекулой ДНК. Смена экспериментальной модели, переход к изучению бактерий, позволил приблизиться к молекулярному пониманию гена, и связано это с тем, что эти зверюшки быстро делятся, их можно получать в огромных количествах и, вообще, с ними очень легко работать. Осознание этого факта пришло группе физиков, которые решили в конце 30-х годов, расправившись с квантовой теорией, заняться биологией, потому что они увидели там достойный объект приложения своих недюжинных талантов. Однако при смене экспериментальной модели возник законный вопрос: а кто вообще сказал, что то, что мы знаем про эволюцию высших организмов, применимо к бактериям? Поэтому перед тем, как заняться изучением генетики бактерий, нужно было показать, что у них есть

ограничивали разрешение генетического анализа, не позволяли заглянуть внутрь гена. Между тем, ученым хотелось понять молекулярную природу наследственности. Существовало (правильное) мнение, что понимание наследственных изменений на молекулярном уровне позволит описать тот механизм, ту машину, которая обеспечивает эволюцию. Причина, почему Морган и его соавторы, изучая муху, пришли к пределу, показана на слайде. Здесь изображена хромосома – такой, какой она видна в световой микроскоп, а слева показан фрагмент молекулы ДНК, участок гена, содержащий 6 или 7 витков спирали.

гены в том смысле, в каком мы привыкли про них думать, изучая муху и других животных. И первый эксперимент, про который я расскажу, он как раз насчет этого. На самом деле, я в течении всей лекции буду вам рассказывать про один и тот же эксперимент, трижды проделанный на протяжении последних 70-ти лет. И все три раза были получены совершенно разные результаты, и все три раза результаты были правильные. Возможно, в будущем этот эксперимент будет сделан еще и в четвертый, и в пятый раз и опять будет получено что-то совершенно новое, и нетривиальное. Я очень люблю этот эксперимент; он поразительно простой. Сейчас есть много заявлений с высоких трибун по поводу реформирования российской науки, в частности, считается, что нужно срочно изменить и улучшить приборную базу, так вот – приборная база этих классических экспериментов такова, что их можно сделать дома на кухне. Тем не менее, ряд ученых получили нобелевские премии за эти “простенькие” эксперименты.

Экспериментальная система: возникновение мутантов бактерии *E. coli*, устойчивых к фагу



Electron micrograph of an *E. coli* cell to which T3 phages have attached themselves by their tail. [From T. F. Anderson, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 18, 197 (1953).]

Итак, каков механизм возникновения мутаций (наследственных изменений) у бактерий? Мы экспериментаторы, поэтому я все время буду уделять внимание конкретному эксперименту, как все реально делается. Мы будем изучать возникновение мутантных бактерий *E. coli* — кишечной палочки — устойчивых к вирусу, который называется фаг, в популяции исходных бактерий, которые к фагу чувствительны. Что это значит? На слайде показан бактериальный вирус, у него есть головка, в которой находится генетическая информация вируса, есть хвостик и есть фибриллы — вообще, он очень похож на шприц. На электронной микрофотографии в правой части слайда можно видеть, как такие вирусы своими фибриллами присоединяются к огромной, по сравнению с ними, черной штуке, это отдельная клетка кишечной палочки. После того, как вирусы присоединились к клетке, они впрыскивают свою генетическую информацию внутрь и через 20 минут этой бактерии больше не будет, она лизируется, разваливается, и из нее выходят 100-200 новых вирусных частиц, готовых к тому чтобы заразить следующую бактерию. На микрофотографии запечатлен акт так называемой продуктивной инфекции, вирусы очевидно смогли присоединиться к бактерии, т.е., оказались способны ее заразить. Но бактерии могут становиться устойчивыми к вирусу. Природа этой устойчивости для нас

не очень важна, но самый простой пример механизма устойчивости — это когда специальные рецепторные молекулы, находящиеся на поверхности чувствительной клетки, изменяются таким образом, что вирус больше не способен узнать, присоединиться к клетке. Такая клетка становится устойчивой к вирусу. Так вот, мы будем изучать, как клетки кишечной палочки становятся устойчивыми к вирусу, который называется бактериофаг T1. Клетки бактерий, устойчивых к вирусу, образуют колонии на чашках Петри, содержащих бактериофаг. Чувствительные клетки колоний не образуют, потому что они уничтожаются вирусом. Если мы на чашку, содержащую вирусные частицы, высадим очень большое количество чувствительных клеток (несколько миллиардов), то некоторое, очень небольшое количество колоний все-таки образуется. На следующем слайде показан результат такого опыта. Колонии, которые вы видите на этой чашке Петри, видны невооруженным глазом, их диаметр около миллиметра. Каждая из этих колоний является потомком одной клетки, которая начала делиться, попав на питательную среду. Она начала делиться, потому что она устойчива к вирусу, который в очень больших количествах присутствует на чашке. Там, где бактериального роста нет, там просто вирусы съели бактерий. Т.е., клетки чувствительных к вирусу бактерий колоний не образуют.

Клетки бактерий, устойчивых к фагу, образуют колонии на среде, содержащей фаг



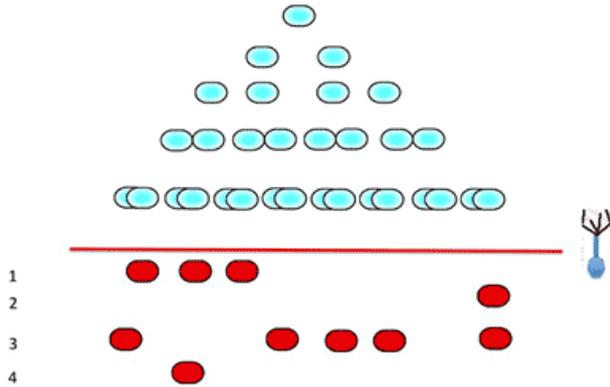
Клетки чувствительных бактерий колоний не образуют

Легко продемонстрировать, что клетки, находящиеся в составе выросших колоний, устойчивы к вирусу, и способны передавать это свойство своему потомству. Колонии устойчивых клеток очень легко и удобно пересчитывать. Все мы умеем считать. Можно взять и посчитать, сколько колоний выросло на этой или какой-то другой чашке. Мы, собственно, этим и займемся. И с помощью таких простых подсчетов, мы определим, как возникают мутации у бактерий: по ламарковскому или дарвиновскому механизму.

Итак, как же возникают устойчивые бактерии? Если мы придерживаемся ламарковской парадигмы, мы должны сказать, что в отсутствие вируса устойчивых бактерий быть не должно. Бактерии становятся устойчивыми к вирусу в ответ на изменение окружающей среды, в ответ на то, что мы добавили вирус. С другой стороны, если мы находимся в рамках дарвиновской парадигмы, то мы должны сказать, что за счет имманентной изменчивости в популяции бактерий всегда присутствуют спонтанно возникшие, устойчивые к вирусу бактерии. А вирус просто выступает в качестве агента отбора. Вирус — это карающая “длань господня”, которая пришла и отделила зерна от плевел. Как же нам выяснить, что происходит на самом деле? Давайте проведем мысленный эксперимент. Посмотрим, что должно происходить в случае

ламарковской ситуации, когда мутации устойчивости к бактериофагу возникают только после контакта с ним. На слайде схематически изображен голубенькая бактериальная клетка, которая размножается путем деления. После первого деления возникло две дочерние клетки. Произошло еще одно деление, дочерние клетки поделились, стало четыре клетки, затем восемь. После четырех делений у нас получилось 16 клеток. А теперь эти 16 клеток высеяли на питательную среду, которая плотно заселена вирусом. До того, как вирус был предложен этим клеткам, они знать про него не знали и были к нему чувствительны, как и исходная клетка. Пусть в ответ на появление вируса с какой-то частотой возникают устойчивые к нему клетки. Первый раз мы высеяли наши 16 клеток на чашку с вирусом, и так получилось, что у нас выросли три устойчивые колонии. Т.е., три из шестнадцати клеток приобрели устойчивость за счет какого-то адаптивного ответа на вирус. Проведем эксперимент еще раз, опять начав его с единичной (другой) чувствительной клетки. Во второй раз у нас выросла одна колония. В третий раз — сразу пять. А в четвертый раз ничего не выросло. Очевидно, что есть какой-то разброс, но в целом наши данные позволяют рассчитать некоторую среднюю вероятность адаптации каждой клетки к вирусу.

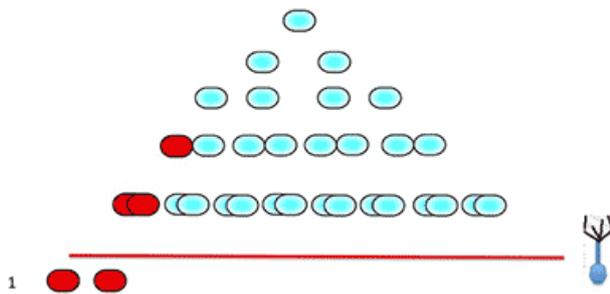
Сценарий 1 (ламарковский): мутации устойчивости к фагу возникают после контакта с ним



Теперь давайте посмотрим на дарвиновский сценарий, когда мутации возникают спонтанно и лишь отбираются при добавлении вируса. Вот опять пошла наша клетка делиться, после третьего деления у одной дочерней клетки спонтанно возникла устойчивость, но вируса еще нет. Устойчивая клетка, как и все

остальные, поделилась еще раз и дала две дочерние клетки, которые тоже устойчивы мы выселили наши 16 клеток на селективную среду с вирусом. И у нас выросли две колонии. В общем, никакой принципиальной разницы с тем, что было до этого, мы пока что не наблюдаем.

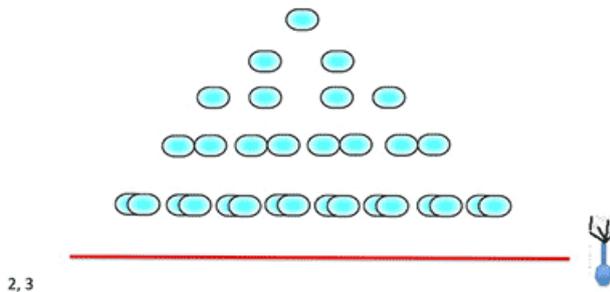
Сценарий 2 (дарвиновский): мутации предсуществуют, возникают спонтанно и отбираются при добавлении фага



Давайте повторим этот эксперимент еще раз. В этот раз у нас спонтанных мутаций устойчивости не возникло. Все клетки чувствительны, и при высева на среды с вирусом

не выжил никто, т.е., мы вообще не наблюдаем колоний. И в третьем эксперименте тоже так случилось. Пустая чашка!

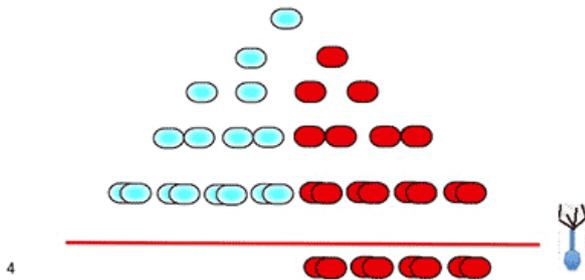
Сценарий 2 (дарвиновский): мутации предсуществуют и отбираются при добавлении фага



Мы делаем еще один эксперимент. И тут случилось так, случайно – ведь мутации возникают спонтанно, – что клетка возникла очень рано, после первого деления материнской клетки. И она давала потомство, так же, как и

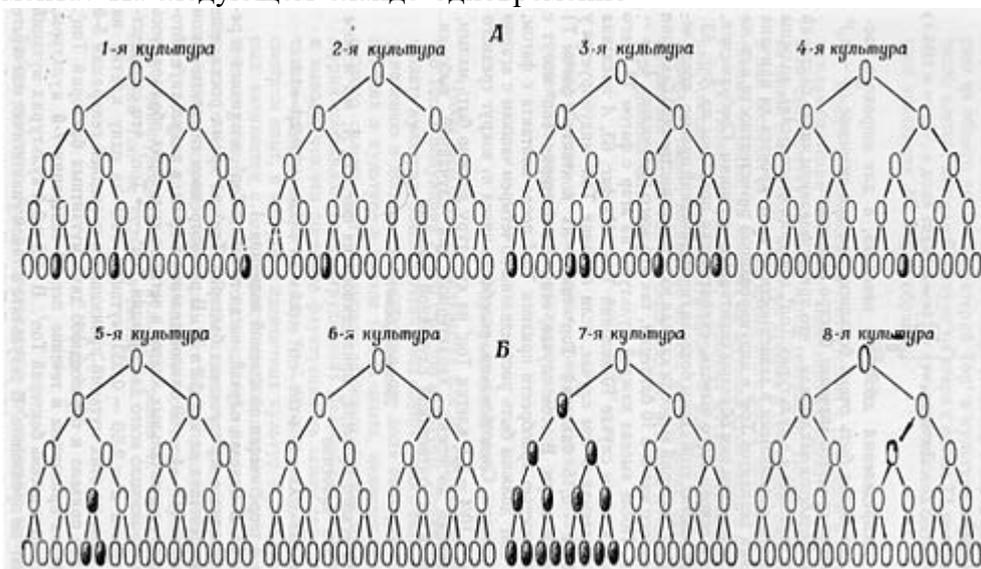
все остальные. К моменту, когда мы выселили всю эту культуру, состоящую из 16-ти клеток, на селективную среду, половина клеток оказались устойчивыми.

Сценарий 2 (дарвиновский)



Теперь вопрос: можем ли мы сказать, какой механизм более вероятен: дарвиновский или ламарковский, – просто глядя на количество устойчивых к вирусу колоний, наблюдаемых при повторении нашего простого эксперимента? На следующем слайде одновременно

представлены результаты четырех независимых повторений нашего мысленного эксперимента для ламарковского и дарвиновского механизмов. Черным отмечены клетки, которые дали колонии на селективной среде.



Всего бактерий 256 (4x64)
Устойчивых мутантов: 10

В целом, распределение устойчивых колоний в случае ламарковского механизма представляется довольно равномерным. А в случае дарвиновского механизма распределение очень неравное, у нас есть, где пусто, а есть, где густо. При этом общее количество устойчивых клеток у нас для обоих механизмов одинаковое, для обоих механизмов мы в четырех сериях экспериментов высевали на среды с вирусом 256 (4 по 64) клеток и получали 10 устойчивых колоний. Т.е., общая частота возникновения устойчивых колоний одинаковая, но распределение их разное. Можно применить математику и показать, что в случае ламарковского механизма имеет место хорошо известное пуассоновское распределение числа устойчивых колоний в разных сериях экспериментов, а в случае дарви-

новского механизма — специальное распределение Лурии и Дельбрюка, названное так в честь тех людей, которые решили загадку о том, как же возникают мутации у бактерий. Вы можете на это смотреть таким образом: если в случае ламарковского механизма мутации возникают как бы одномерно, в самый последний момент, то в случае дарвиновского механизма вы как бы добавляете еще одно измерение, вы должны учитывать время, историю. При раннем возникновении устойчивой клетки она вносит непропорционально большой вклад в общее количество устойчивых колоний, которые вы обнаруживаете в конце эксперимента. Итак, дарвиновское распределение будет гораздо менее равномерным, чем ламарковское, и есть математика, которая позволяет строго сказать, насколько именно большей должна быть эта неравномерность.

Вопрос из зала: Можно спросить, в чашке территориально — куча колоний будет, или они все перемешиваются?



Константин Северинов
(фото Н. Четвериковой)

Константин Северинов: Мы растим наши клетки в жидкой культуре, и они там все равномерно перемешаны. Представьте себе, что у вас есть пробирка, в которой есть жидкая среда, и бактерии там растут, делятся. Вообще, вы очень правильный вопрос задаете, мы сейчас собственно и переходим к анализу результатов настоящего, а не мысленного эксперимента.

Итак, имеется 8 пробирок с одинаковым объёмом жидкой среды, бульона, и мы посадили в каждую пробирку по 1 клетке. Мы умудрились, мы

взяли нанобиоманипулятор, поймали по одной клетке за хвост и посадили их туда. А потом разрешили им делиться. Дочерние

клетки, естественно, у нас в этой среде равномерно перемешались. После некоторого периода роста, все содержимое каждой пробирки мы высеяли на чашку, подобную той чашке, которую я вам показывал. При этом, так как чашка большая, а бактерий у нас немного, то каждая из бактерий окажется далеко от другой, но вокруг этих бактерий будет масса вирусов, фагов. Потому что у нас среда селективная, мы на эту чашку посадили вирусы. Все чувствительные клетки будут просто съедены вирусом. А устойчивые клетки начнут делиться, потому что им, что есть фаг, что нет — все равно, и образуют колонию. И мы будем считать просто колонии.

Вопрос из зала: То есть мы помещаем в каждой чашке понемногу, а здесь в каких-то ничего, а в каких-то есть?

Константин Северинов: Да, да, да. Это собственно то, что мы и увидим.

Эксперимент, который мы обсуждаем, был сделан двумя очень молодыми людьми, Максом Дельбрюком и Сальвадором Лурия. На этом слайде они сфотографированы в конце 40-х годов в американской лаборатории Колд Спринг Харбор, где проводились и сейчас проводятся замечательные курсы и конференции по разным биологическим темам. Дельбрюк — немец, который убежал из фашистской Германии, а Лурия — еврей, который убежал из Италии Муссолини. Они встретились в 1942 г. на конференции в Филадельфии.



Они работали в разных концах Соединенных Штатов, и оба интересовались проблемой природы гена и вопросами изменчивости и наследуемости признаков у бактерий. Дельбрюк был физик, биологии его в свое время якобы научил Тимофеев-Ресовский. А Лурия был очень хороший бактериолог, и он на протяжении довольно длительного времени пытался в реале делать тот опыт, который мы с вами сейчас проделывали мысленно. Но он никак не мог сделать какой-нибудь вывод из своих результатов. У него не было математического аппарата, который позволил бы ему интерпретировать данные. Он был готов к любому варианту механизма возникновения устойчивых к бактериофагу бактерий, но не мог их отличить. Ему Дельбрюк в этом помог. Их экспериментальные результаты, опубликованные в 1943 году, показаны на слайде.

Экспериментальная проверка (тест Лурии — Дельбрюка)

The number of phage T1 resistant *E. coli* mutants in a fluctuation test.

	Separate cultures		Large culture	
	Culture number	# T1 ^R mutants	Sample number	# T1 ^R mutants
	1	1	1	14
	2	0	2	15
	3	3	3	13
	4	0	4	21
	5	0	5	15
	6	5	6	14
	7	0	7	26
	8	5	8	16
	9	0	9	20
	10	6	10	13
	11	107		
	12	0		
	13	0		
	14	0		
	15	1		
	16	0		
	17	0		
	18	64		
	19	0		
	20	35		
mean		11.3		16.7
variance		694		15
variance/mean		60.8		0.9

Data from Luria, S. and M. Delbruck. 1943. *Genetics* 28: 491.

Здесь в таблице есть две колонки. В колонке слева показаны результаты, полученные с 20 отдельными культурами — 20 пробирками (culture number). В каждой пробирке был тот пресловутый 1 мл бульона, и туда было посажено небольшое количество бактерий. Бактерии росли, делились, а потом все содержимое каждой культуры высевалось на среду с фагом, и подсчитывались устойчивые колонии. И вот что вы здесь видите: есть 0 и 1 и 5 устойчивых колоний, но в некоторых культурах есть 107, 64 и 35. Наблюдаемое распределение числа устойчивых колоний характеризуется средним (оно около 11) а также дисперсией. Так вот — дисперсия здесь совершенно чудовищная, и то, что она действительно большая, показывают данные в правой части таблицы, про которые я вам не буду говорить, но в целом результат вполне строго доказывает, что ситуация соответствует дарвиновскому механизму, а не ламарковскому. Т.е. у бактерий есть изменчивость, которая наследуема, которая возникает спонтанно, и при отборе происходит выживание вариантов, приспособленных с измененным условием окружающей

среды. С другой стороны, результат также показывает, что, по-видимому, у бактерий нет способности адаптивно отвечать на изменения окружающей среды путем приобретения полезных для них признаков. Если бы это было, мы бы имели пуассоновское распределение числа устойчивых колоний между культурами.

Вопрос из зала: То есть в каждой пробирке что-то было бы?

Константин Северинов: Да, мы как раз это и видим в правой колонке таблицы. Там показано вот что: 10 раз высевалось по одному о тому количеству культуры из одной общей культуры. И в этом случае вы просто видите чисто статистическую разницу в количестве колоний на разных чашках.

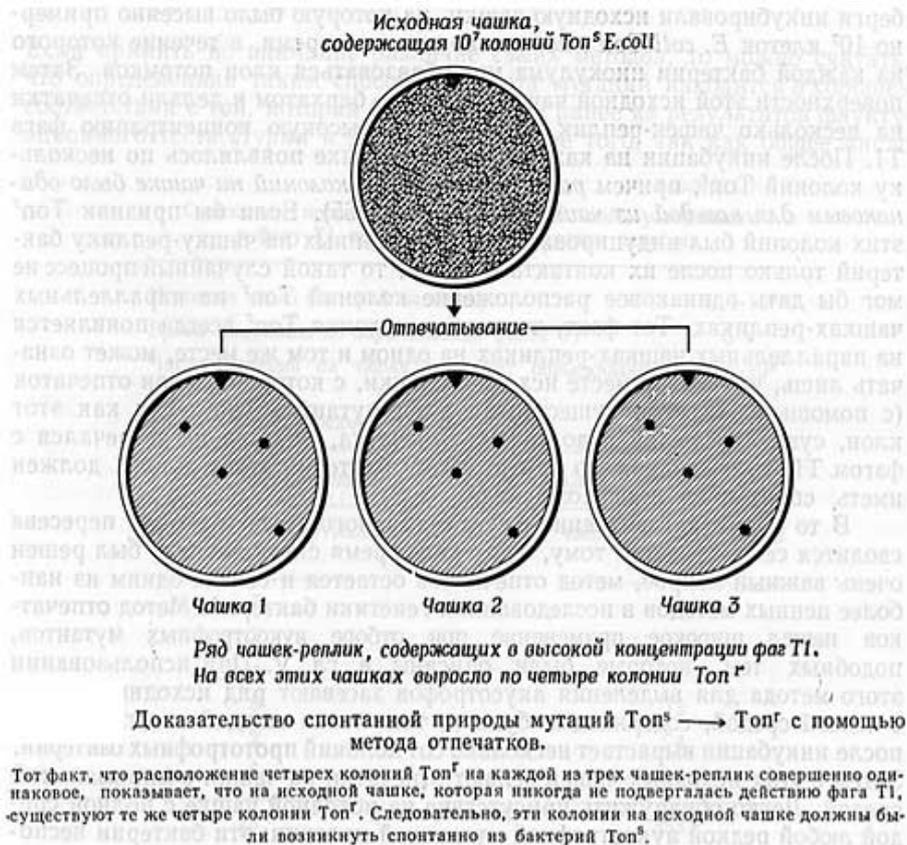
Вопрос из зала: Скажите, а здесь зафиксировано ожидаемое значение устойчивых — 11 или 16?

Константин Северинов: Это не ожидаемые, это определенные в эксперименте средние значения, т.е. мы взяли 20 чисел в левой колонке, сложили и поделили на 20. И то же самое проделали с 10 числами в правой колонке. Видно, что у вас значения средних в обеих колонках близкие, а значения дисперсии отличаются очень сильно.

В биологии есть одно интересное свойство: почти все ответы можно получить очень простыми методами, особенно, если знаешь, что ищешь. После того, как ответ был получен с привлечением математики, которая для большинства нормальных биологов не-

родная, они сказали: ну конечно же! – и сделали вот такой простейший опыт, который показывает то же самое, что и опыт Лурии-Дельбрюка. Представим, что у нас есть чашка Петри, показанная на слайде. Эта чашка Петри очень густо засеяна чувствительными к бактериофагу бактериями, мы даже не видим отдельных бактерий, они образуют сплошной газон. Допустим, что на этой чашке спонтанно, с определенной частотой, возникли устойчивые к вирусу клетки. Их потомство в этом бактериальном газоне присутствует, но мы, конечно, его не видим. Давайте найдем способ их увидеть. Возьмем такую специальную “высокотехнологическую” штуку, которая называется “перепечатка” — это такая кругляха, соответствующая по диаметру нашей чашке, и на нее натянут бархат, к которому хорошо прилипают бактерии. Вот мы этим штампом возьмем и коснемся нашего бактериального газона и перепечатаем бактерии, задержавшиеся на бархате, не на одну, а сразу на 3 чашки, засеянные вирусом. На всех трех чашках возникнут устойчивые колонии и относительное расположение этих устойчивых колоний на всех трех чашках будет одинаково.

Доказательство спонтанной природы мутаций методом перепечаток



О чем это говорит? Говорит ли результат о том, что у нас скорее дарвиновский механизм? Да, потому что идентичность паттерна устойчивых колоний означает, что устойчивые бактерии пресуществовали на исходной чашке. Мы их просто отобрали с помощью бактериофага. Т.е. наш бактериальный газон – это такой бактериальный “город” или “страна”, в которой есть масса мутантов или, если хотите, индивидуальностей. Мы о них ничего не знаем, но мы можем их отобрать. Если бы у нас ламарковский механизм, если бы бактерии отвечали на изменение условий путем приобретения устойчивости, в нашем случае – к вирусу, у нас паттерн устойчивых колоний на разных чашках был бы разный, а этого не происходит. И никакой математики не надо. Результатом этих экспериментов стало то, что люди навывдляли огромное количество разных мутаций в разных генах кишечной палочки, которая на сегодня является наиболее изученным и излюбленным модельным организмом для молекулярных биологов и микробиологов. Ученые смогли “разделить” ген, оказалось, что можно получать множественные мутации в одном и том же гене, изучать их отношение друг к другу. В конце концов, в результате этой работы было сформулирована “Центральная догма молекулярной биологии”, которая утверждает, что в последовательности ДНК закодирована генетическая информация, ДНК может реплицироваться с сохранением этой информации, но при этом возможны ошибки, однако происходят они не так часто, и ошибки эти – и есть мутации, частота встречаемости которых в популяции зависит от отбора. Информация, которая находится в ДНК, копируется в РНК специальными ферментами под названием РНК-полимеразы, а затем РНК транслируется машинной под названием рибосома в белок. Белок, его активность определяет признаки, которые мы с вами можем видеть: цвет глаз, цвет кожи, вьющиеся или невьющиеся волосы – в случае людей и т.д. В общем, центральная догма полностью соответствует дарвиновскому механизму наследования, эволюции.

У нас есть ДНК — депозитарий информации, которая копируется и передается от поколения к поколению, но копируется с какой-то небольшой вероятностью случайных ошибок. Эти ошибки, которые суть просто изменения в последовательности оснований ДНК, создают изменчивость. Изменчивость проявляется в измененной функции белков, что приводит к измененным свойствам организма, на который действует отбор. И никакого ламаркизма здесь нет. Ламаркизм предполагал бы, что есть обратный поток информации от внешней среды на белок, а затем на РНК к ДНК. На сегодняшний день такие механизмы не известны. Результатом развития всех этих представлений стал великий синтез, “неодарвинизм”, который сочетает в себе положения классической генетики, молекулярной биологии и генетики и, собственно, исходных дарвиновских постулатов. Давайте теперь повторим эксперимент. На слайде помещена фотография, сделанная в Колд Спринг Харборе в начале 70-х. Вы ведёте постаревшего Сальву Лурию и Джона Кернса. Джон Кернс — это один из крупнейших исследователей ранней молекулярной биологии, связанной с изучением бактерий и их вирусов. В Колд Спринг Харборе собирается масса народа, они выпивают и беседуют друг с другом на разные научные темы. Показанные на фотографии два крупных ученых не гнушаются поговорить с аспирантом, который, кстати, сейчас тоже очень известный исследователь. Это все часть атмосферы Колд Спринг Харбора, которая делает его Меккой современной науки о жизни. Джон Кернс находясь уже в почтенном возрасте (ему было далеко за 60), опубликовал в конце 80-х годов в журнале “Nature” статью, которая называлась “О природе мутаций”. На слайде приведен “Abstract” этой статьи, в котором написано, что “нуклеиновые кислоты реплицируются с очень большой точностью. Однако, иногда в их последовательности происходят изменения, которые мы называем “мутациями”, и эти изменения генерируют изменчивость, которая позволяет происходить эволюции.



Адаптивные мутации

ARTICLES

NATURE VOL. 335 8 SEPTEMBER 1988

The origin of mutants

John Cairns, Julie Overbaugh & Stephan Miller

Department of Cancer Biology, Harvard School of Public Health, 665 Huntington Avenue, Boston, Massachusetts 02115, USA

Nucleic acids are replicated with conspicuous fidelity. Infrequently, however, they undergo changes in sequence, and this process of change (mutation) generates the variability that allows evolution. As the result of studies of bacterial variation, it is now widely believed that mutations arise continuously and without any consideration for their utility. In this paper, we briefly review the source of this idea and then describe some experiments suggesting that cells may have mechanisms for choosing which mutations will occur.

Эта концепция была разработана в результате изучения вариаций у бактерий. На сегодняшний день (напомню, работа опубликована в 1988 году) считается, что мутации возникают постоянно и спонтанно, не в связи со своей полезностью. "В этой статье, — пишет Кернс, — мы, с одной стороны, обзреваем историю того, как возникла идея спонтанных мутаций у бактерий, а потом делаем эксперименты, которые показывают, что, возможно, клетки все-таки могут контролировать, где и как у них происходят мутации". Здесь сказано что-то очень важное: ведь как только вы начинаете контролировать, где у вас происходят мутации, вы переходите к ламарковскому механизму. Вы — сознательно или несознательно — выбираете, какие мутации у вас должны произойти, то есть они перестают быть спонтанными. От чтения этой статьи возникает ощущение, что Кернс решил попробовать сделать опыт, который был бы еще проще, чем у Лурии и Дельбрюка, но при этом был бы не менее, а более информативен. Цель его опыта — это попытка найти адаптивные мутации. Я сразу скажу, что опыт Кернса не удался, хотя в последней части лекции я постараюсь вас убедить, что адаптивные мутации у бактерий действительно существуют. Своей статьей Кернс вызвал большой переполох. На сегодняшний день эта статья цитировалась более чем ты-

сячу раз. Национальными институтами здоровья и Национальным научным фондом США было потрачено не менее десятка миллионов долларов в виде грантов очень хорошим ученым, чтобы разобраться, что же все-таки происходит на самом деле. Так как эволюция вызывает сильные чувства у людей не только в России, но и в Америке, было забавно наблюдать, как на экспертной панели одного из Национальных институтов здоровья один ученый обзывал другого коммунистом из-за того, что их мнения по поводу этого эксперимента не совпали. А ведь в Америке худшего оскорбления просто не бывает. Так в чем же, собственно говоря, суть этой статьи? Мы будем отбирать *lac*⁺ колонии из *lac*⁻ популяции все той же самой кишечной палочки. Что это значит на человеческом языке? Оказывается, что у бактерий существует фермент, который кодируется геном *lac* и этот фермент, продукт гена *lac*, необходим для того, чтобы клетка могла использовать сахар под названием лактоза как источник пищи. Нормальные клетки дикого типа называются *lac*⁺, и они образуют колонии на средах, содержащих лактозу как единственный источник пищи. Это и понятно — раз у них есть фермент, который позволяет использовать лактозу как пищу, то они, конечно, на среде, содержащей лактозу как единственный источник пищи, живут. С дру-

гой стороны, мутантные клетки, они называются *lac*⁻, не имеют такого фермента, не способны использовать лактозу как источник пищи и поэтому на средах, содержащих лактозу как единственный источник пищи, колоний не образуют. Среда, содержащая лактозу, будет в нашем эксперименте селективной

средой. Клетки обоих типов растут на специальных индикаторных средах и образуют колонии разного цвета, при этом клетки дикого типа образуют колонии синего цвета, а мутантные *lac*⁻ клетки образуют колонии белого цвета. Это все, что нам необходимо знать. Вот такая у нас будет экспериментальная система.

Экспериментальная система: отбор *lac*⁺ колоний из *lac*⁻ популяции

Фермент – продукт гена *lac* необходим для того, чтобы клетка могла использовать сахар лактозу, как источник пищи

Клетки дикого типа (*lac*⁺) образуют колонии на селективных средах, содержащих лактозу, как единственный источник пищи

Мутантные клетки (*lac*⁻) не образуют колонии на средах, содержащих лактозу, как единственный источник пищи

Клетки обоих типов растут на специальных индикаторных средах и образуют колонии разного цвета (клетки дикого типа образуют колонии синего цвета, мутантные клетки образуют колонии белого цвета)

Мы возьмем популяцию *lac*⁻ клеток и будем отбирать *lac*⁺ клетки. У нас не будет

20 культур, как в прошлом опыте. У нас будет только одна чашка — вот она, показана на слайде.

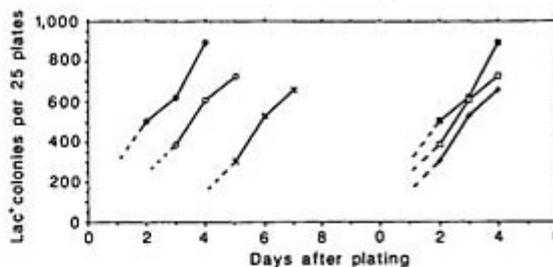
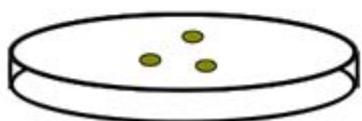


Fig. 3 The accumulation of *Lac*⁺ revertants of *E. coli* Δ *uvrB*-*bio* Δ *lac pro F' lacZ_{um}* after exposure to lactose on M9 plates. Six large cultures were grown overnight in M9 plus 0.1% glycerol. Fifteen 1-ml aliquots from each culture were plated with 2.5 ml top-layer agar on to M9-agar plates; the 90 plates were then overlaid with top-layer agar to ensure that all bacteria were buried in the agar; five plates from each culture were overlaid immediately with top-layer agar containing lactose, five were overlaid at 24 h, and five at 72 h. One of the six cultures proved to have a small jackpot of mutants, and so its plates were discarded; the plates from the remaining five cultures were counted each day, and the total counts are shown in real time on the left and in relation to time after the addition of lactose on the right.



На этой чашке помещена среда с лактозой как единственным источником пищи. Теперь мы на эту чашку высеем очень много *lac*⁻ клеток, которые здесь расти не должны, потому что они не могут использовать тот источник пищи, который мы им предложили. Для образования видимой глазом колонии из одной клетки-основательницы достаточно ночи, 8-10 часов. По истечении этого времени мы ожидаем увидеть некоторое количество колоний, и эти колонии по определению будут *lac*⁺. Это колонии произошли из клеток, кото-

рые “ревертировали”, т.е. перешли из исходного состояния *lac*⁻ в состояние *lac*⁺. Такой опыт до Кернса делали много-много раз. Вы вечером ставите чашку, на которую вы выселили бактерии, в термостат, а утром приходите и считаете колонии. Посчитали – и дальше что-нибудь еще делаете, а чашки выкидываете или ставите в холодильник, где бактерии больше не растут. А Кернс решил их посчитать не только на следующий день, но еще и через день, и через 2 дня, и через 3 дня. Вот и весь его опыт. В чем здесь суть? Если мы счи-

таем, что каждая из колоний, которая выросла на селективной среде, произошла из спонтанно возникших и ранее предрасположенных lac^+ клеток, то все lac^+ клетки, которые были посеяны на чашку вечером, должны были образовать колонии на следующий день. А дальше количество колоний должно оставаться постоянным. Но оказывается, что если подождать 2 дня, то возникают еще колонии, три дня — еще. И вот, собственно, в правой части слайда перед вами единственная экспериментальная картинка из статьи Кернса в “Nature”. Из графика видно, что с течением времени наблюдается линейный рост количества колоний: чем больше вы эту чашку держите в термостате, тем больше lac^+ колоний возникает. И так как

Реплика из зала: Одних съели, других — нет!



Константин Северинов
(фото Н. Четвериковой)

Константин Северинов: На самом деле замечательно, что вы это почувствовали.

Да, действительно, на чашках с фагом просто атомная война произошла. Все клетки, которые здесь не могли жить, их фаг убил — они просто исчезли. А в случае с лактозой ситуация другая — мы поместили клетки на среду без лактозы, у них нет еды, но отсутствие еды — это не смерть.

По крайней мере, не быстрая смерть. Т.е. у нас здесь голодающие клетки сидят, голодают, с завистью смотрят на тех, кто начал расти с са-

мого начала. А потом некоторые из них вдруг

все, что было на чашке с самого начала, должно было вырасти уже в течение первых суток инкубации, мы вынуждены признать, что каким-то образом клетки постепенно “приучаются” или “приучаются” использовать лактозу как источник пищи. Оказывается, что это изменения наследуемы. То есть те клетки, которые выросли во второй и третий день, действительно, lac^+ , они могут использовать лактозу, они и их потомки теперь все время будут на лактозе расти. Заметьте, что, если мы сделаем опыт по Дельбрюку, если мы посеём клетки на среду с фагом, такого не произойдет. Никаких дополнительных колоний, устойчивых к фагу, с течением времени не возникнет. Возникает вопрос: в чем разница?

получают какой-то стимул, вдохновение — и тоже начинают расти...

Вопрос из зала: Голодная клетка один раз делится или может 2 раза делиться?

Константин Северинов: Она делится какое-то количество раз, но небольшое. Происходит несколько актов деления, да. Это вы в правильном направлении думаете.

Вопрос из зала: Насколько доказано, что все те клетки, которые были посеяны, действительно, lac^- ? Каким образом они очищаются? Быть может, там затесался lac^+ ?

Константин Северинов: Ну, что значит “затесался”? Затесался — это все равно, что он спонтанно возник. Критерии чистоты микробиологической работы были разработаны еще Кохом в конце XIX века. Культура чистая, если она клональна, если она выделена из одной клетки. Всякая колония, выросшая на чашке, есть потомок единственной клетки. Перед высевом на чашку они у нас сразу и выросли. Те lac^+ колонии, которые выросли в первый день на лактозе, ничем в принципе не отличаются от тех, которые здесь выросли на чашках с фагом. Это одно и то же. Это то, что предсуществовало и тут же пустилось в рост на соответствующих селективных средах. Потому что одним из них все равно, есть фаг или нет, а другим все равно, является ли лактоза единственным источником пищи.

Вопрос из зала: Вы хотите сказать, что два механизма присутствуют одновременно?

Константин Северинов: Это не я хочу сказать, это данные говорят. Но это не отменяет вопроса о том, каков механизм возникновения “поздних” *lac*⁺ колоний. Возможно, что колонии, возникающие на второй и на третий день, не такие, как предыдущие, у них есть что-то особенное, и такое ощущение, что клетки, которые их образуют, как-то знают, куда им двигаться. Они каким-то образом решают, что они должны стать *lac*⁺. Т.е. изменения в этих клетках адаптивны, они не предсуществуют, и, следовательно, они обязаны

своим возникновением какому-то ламарковскому механизму. Статья Кернса как раз и была попыткой показать, что могут быть адаптивные мутации.

Вопрос из зала: А разве те несчастные голодающие клетки, которые делятся 2-3 раза, могут образовать в результате мутаций такие колонии?

Константин Северинов: Нет, но давайте посмотрим, что происходит.

В чем разница двух опытов? В том, что в опыте Кернса клетки выживают, а в опыте с фагом — нет.

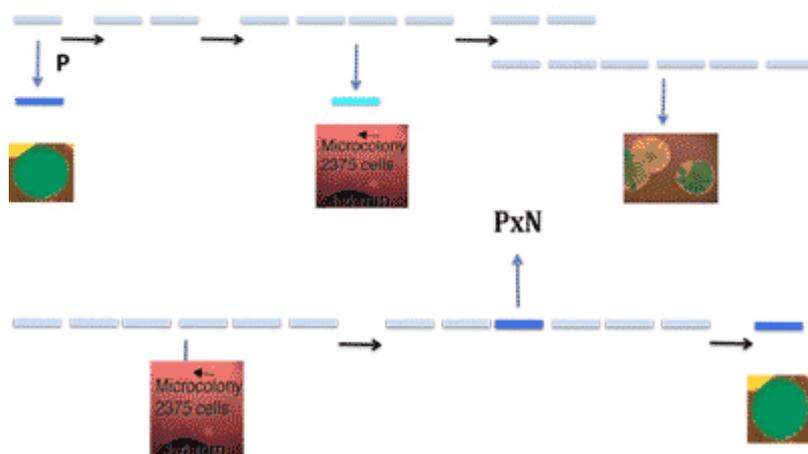
В чем разница опыта Кернса и Лурии- Дельбрюка?

Selection under stress.

Стресс вызывает гипермутабильность.



Аmplification partially functional mutant *lac* gene.



Селекция, которая производилась в опытах Кернса, по-научному называется селекцией в условиях стресса. Оказывается, что стресс, в нашем случае это голодание, вызывает гипермутабельность. Почему возникают мутации? Потому что ваша ДНК реплицируется не очень точно. Логично предположить, что если вам очень плохо, вы голодаете, но тем не менее реплицируете ДНК, то количество ошибок при репликации у вас возрастет, просто потому, что машина, которая реплицирует ДНК, начинает работать менее точно. В данной ситуации это оказывается полез-

ным. Почему? Потому что увеличение количества ошибок увеличивает изменчивость. А увеличенная изменчивость дает дополнительный материал для отбора. Т.е. даже если исходные *lac*⁻ клетки не содержали необходимых мутаций до высева на среду с лактозой, *lac*⁺ мутации могли возникнуть за счет пониженной точности репликации клеток, находящихся на разных стадиях голодания. Надо понимать, что это ненаправленный, т.е., дарвиновский процесс, в ходе которого увеличивается количество всех мутаций. Но из получающейся более разношерстной

популяции можно-таки будет выбрать несколько ребят, которые стали такими, как нужно. Это первый механизм возникновения “адаптивных” кернсовских мутаций. Второй механизм называется “амплификация частично функционального мутантного *lac* гена”. Он более сложный. Я попытаюсь его объяснить; если я буду путаться, то вы, пожалуйста, прерывайте, а я тогда попробую еще раз. Дело в том, что опыт Кернса вовсе не такой простой, как кажется на первый взгляд. Этот опыт был сделан так, чтобы он сработал как надо. Дело в том, что тот испорченный *lac* ген, с которым работал Кернс, не был испорчен полностью, окончательно и бесповоротно. Продукт мутантного гена работал, но с эффективностью лишь в 2% от активности продукта *lac*-гена дикого типа. Ситуация схематически показана на слайде. Светло-голубая палочка обозначает испорченный *lac* ген; этот ген может с вероятностью P перейти в полностью функциональное состояние и, в результате, у вас образуется колония синего цвета. Помните, *lac*⁺ колонии образуют колонии синего цвета? — вот такая колония и показана на слайде. Такой переход из *lac*⁻ в *lac*⁺ состояние приводит к образованию колоний, выросших в первый же день, а также колоний, образовавшихся позже за счет гипермутабельности при стрессе. Но существует и другой, более сложный процесс. Оказывается, в клетке вообще, а в особенности в конкретной экспериментальной системе, сознательно использованной Кернсом, с определенной частотой может происходить дупликация, т.е., удвоение числа копий *lac* гена.

Реплика из зала: настройка!

Константин Северинов: Ну, настройка — да. На самом деле, с какой-то вероятностью любой ген клетки может дублироваться, то есть его может временно стать две, а не одна копия. Если происходит дупликация, то может произойти и дупликация дупликации, т.е., учетверение копийности гена. А теперь смотрите, что происходит. В обычной ситуации это не плохо и не хорошо, и у клетки есть специальные механизмы, которые следят за тем, чтобы лишние копии генов не накапливались, а удалялись. Если у вас есть сильно, но не до конца испорченная копия гена, как в случае нашего *lac*⁻ гена, то если

у вас станет этих копий две, то, наверное, особой разницы бактерия не почувствует. Но если у вас будет четыре копии, то четыре вот таких испорченных “Запорожца” хоть и не сделают “Мерседес”, но клетка почувствует себя несколько лучше, ведь четыре копии обеспечат 8% ($2\% \times 4$) от нормальной активности. И такой уровень активности может позволить клетке делиться не один или два раза, как вот кто-то сказал, а больше, и с течением времени образовать крохотную маленькую колонию на селективной среде с лактозой. Вот на слайде показана такая микроколония, сфотографированная в микроскоп, в которой находится 2375 клеток. А рядом для сравнения показана нормальная колония, видимая невооруженным глазом. А микроколония еле-еле растет на среде с лактозой, потому что низкий уровень активности *lac*-фермента едва позволяет клеткам существовать. Дальше происходит вот что — когда у вас клетка микроколонии делится, то в каждой дочерней колонии должны быть, естественно, четыре копии мутантного гена. Однако, множественные повторы нестабильны, и при делении может происходить явление, называемое сегрегацией, в результате которой может возникнуть ситуация, когда у дочерней клетки стало две копии мутантного гена, а у другой — целых шесть! А шесть плохих копий гена — это уже почти хорошо, такие клетки начинают расти на селективной среде быстрее родительских. Процесс такой амплификации и селекции все более быстрорастущих бактерий может повторяться внутри растущей микроколонии несколько раз. В результате возникают вот такие, так называемые, секторные колонии. На индикаторной среде с лактозой они не белые, и не голубые, а какие-то пятнистые. Понятно, что сам по себе процесс амплификации с последующей селекцией быстрорастущих клеток внутри колонии полностью дарвиновский, но он занимает какое-то количество времени, так как он связан с этим муторным периодом медленного роста. В конце концов происходит еще одна вещь. Как мы помним, вероятность перехода из состояния *lac*⁻ в состояние *lac*⁺ равна P . Но если в результате амплификации у нас увеличилось количество копий *lac*⁻ гена на клетку, то общая вероятность по-

лучения нормальной копии гена увеличивается пропорционально степени амплификации.

Вопрос из зала: Хоть одной копии?

Константин Северинов: Хоть одной. А дальше идет дарвиновский же процесс селекции против лишних плохо функционирующих копий. Если у вас есть одна нормальная копия, которая обеспечивает вам безбедное существование, то весь этот лишний груз, возникший в результате более ранней амплификации, очень быстро выкидывается за счет действия специальных молекулярных машин клетки. И вы очень быстро переходите в обычное *lac*⁺ состояние с одной копией нормального гена и образуете большую сильную колонию, которая “не помнит” про все те ужасы, через которые ей пришлось пройти, когда она была еще маленькой. Потребовалось около 15 лет работы очень хороших ученых, чтобы все это исследовать, понять, как это происходит на молекулярном уровне, и разобраться, что именно происходит в опыте Кернса.

Вопрос из зала: Получается, что нет ламарковского механизма?

Константин Северинов: Ну подождите, у меня 3 части. Но здесь ламарковского механизма нет.

Вопрос из зала: Я именно про этот сегмент и говорил.

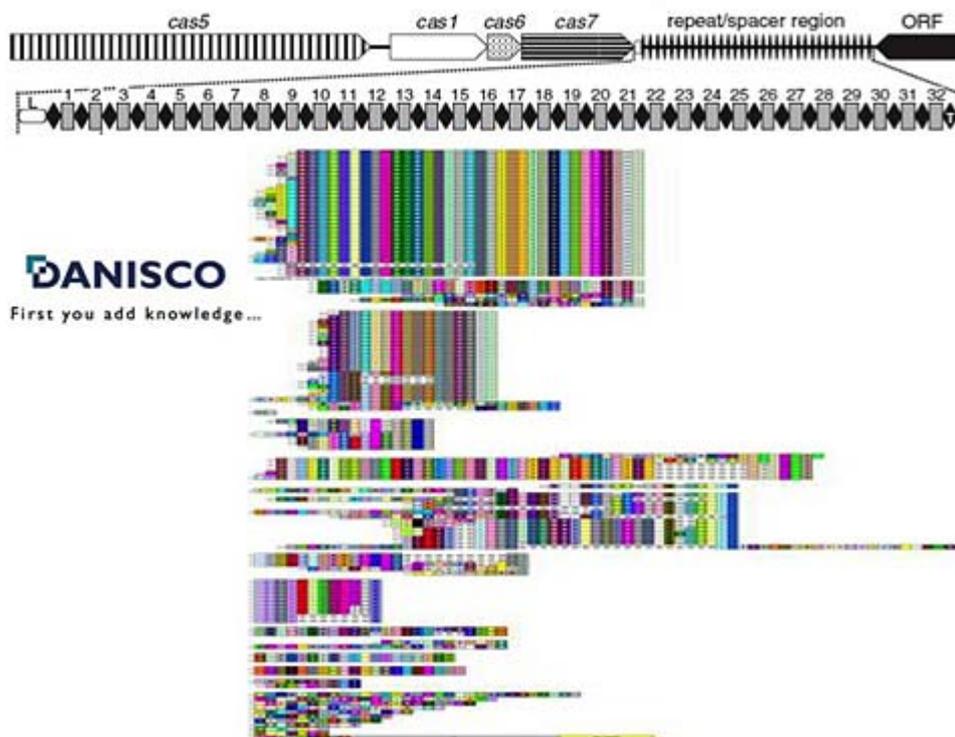
Константин Северинов: Ну да, здесь нет... Зачем я вам все это рассказываю? Почему мы это должны знать, и, вообще, зачем этим заниматься? Интересно, что исследования кернсовских мутаций активно поддерживал Национальный институт рака. Более того, Кернс сам работает в Гарварде в департаменте раковой биологии. Причем здесь рак? Оказывается, что вот эти два процесса, которые я вам описал, гипермутация и амплификация отдельных генов у бактерий, тождественны тем процессам, с которыми многие из нас, к сожалению, когда-нибудь в своей жизни столкнутся, а именно процессам роста злокачественных опухолей. Возникновение опухолей – это многоступенчатый процесс, в результате которого происходит амплификация определенных генов, а также накопление новых мутаций за счет гипермутабельности. Связано это с тем, что маленьким рако-

вым опухолям очень плохо: клетки в них голодают, специальные системы в организме с ними борются, иногда их еще лекарствами травят. Маленькая опухоль похожа на микроколонию, про которую мы только что говорили. А процесс происхождения крупной опухоли с развитием всего того, что доставляет нам массу неприятностей, происходит на молекулярном уровне по тем же принципам, что у *lac*- бактерий на среде с лактозой, только роль *lac*- клетки играет переродившаяся раковая клетка, а неблагоприятной средой является наш организм. В сущности, развитие опухоли — адаптивно. И увеличение злокачественности опухоли тоже адаптивно, с точки зрения опухоли, по крайней мере. Теперь я перехожу к заключительной стадии, в ходе которой я постараюсь показать, что дело Ламарка живет и побеждает. Дельбрюк и Лурия показали, что это не так. Потом у нас был момент, когда мы думали, что есть таки ламарковский механизм, но это была лишь видимость. Теперь мы займемся изучением специальной системы, которая называется CRISPR/Cas. Открыта эта система была лет 20 назад, и вплоть до 2005-го года никто знать не знал, зачем она нужна. Тем не менее, такая система есть почти у всех бактерий. CRISPR/Cas локус (локус – это у генетиков место на хромосоме) имеет следующую структуру. Он состоит из участка ДНК, называемого CRISPR-кассетой, устройство которого показано на слайде. Имеется набор идентичных по последовательности повторов — они показаны ромбиками. В кассете, показанной на слайде, есть 30 ромбиков-повторов, каждый из которых имеет длину 30 нуклеотидных пар или три витка спирали ДНК. Между повторами находятся спейсеры, они все одинаковой длины, но разные по последовательности и показаны квадратиками. Рядом с CRISPR-кассетой, как правило, находятся специальные гены, их очень успешно изучал наш соотечественник Женя Кунин в Национальных Институтах Здоровья, эти гены называются Cas. Все, что было известно про эти гены до недавних пор, – это то, что про них ничего не известно. Они ни на что не похожи, но они почти всегда есть рядом с CRISPR-кассетами. Незнание функции чего-либо совершенно не является препятствием для его практического использования,

часто даже наоборот. CRISPR/Cas является отличной иллюстрацией этого утверждения. Есть такая компания DANISCO — это крупная международная компания, которая занимается производством стартовых культур для молочной промышленности: сыр, йогурт, простокваша, очень много того, что мы едим, сделано с помощью стартовых культур, которые специалисты DANISCO разработали. Когда промышленник покупает у DANISCO бактерии и кладет их в большой чан с молоком, там начинается процесс брожения, в результате которого должен образоваться определенный молочный продукт. Понятно, что

нужно уметь различать бактерии друг от друга. Для того, чтобы вместо рокфора у вас не получился чеддер. Но есть проблема. Иногда, когда вы устраиваете ферментацию на фабрике, делаете какой-то сыр, вдруг откуда-то, буквально из воздуха прилетает бактериофаг и съедает всех ваших бактерий. И вы вынуждены все свое недобродившее молоко вылить, и понесете грандиозные убытки. На следующем слайде показана структура CRISPR-кассет различных промышленных штаммов бактерии *Streptococcus thermophilus*, с помощью которой делают различные молочные продукты.

Система CRISPR/Cas



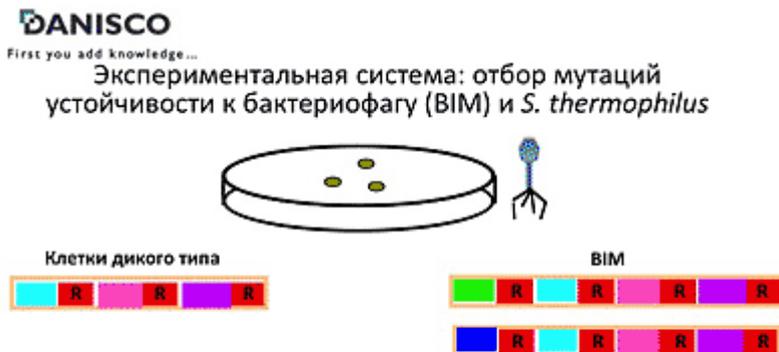
Видно, что у всех штаммов повторы одинаковые, а наборы спейсеров (индивидуальные спейсеры показаны разными цветами, при этом одинаковый цвет соответствует одинаковым спейсерам) очень разные, индивидуальные для каждого штамма. Иными словами, по данному локусу наблюдается грандиозная внутривидовая изменчивость: бактерия одна и та же, а CRISPR-кассеты у разных штаммов совсем разные. Это полезно, потому что это может быть использовано, чтобы надежно идентифицировать (иногда говорят “типировать”) бактерии и отличать тех, которые делают рокфор, от тех,

которые делают чеддер. Кроме того, если вы продали кому-то бактерию, которая делает рокфор, а потом узнали, что где-то в другой стране кто-то занялся своим производством рокфора, вы можете пойти туда, взять их бактерию и сказать: “Ага! А у вас набор спейсеров точно такой же, как у нас, мы считаем, что вы присвоили наш штамм!” Т.е., эта информация используется для патентования штаммов, что в принципе тоже очень полезная вещь. У нас в стране вариабельность CRISPR-спейсеров широко используется для типирования бактерий, вызывающих туберкулез.

Сейчас я расскажу в третий раз об эксперименте по селекции бактериальных мутантов. Этот эксперимент делали два ученых из DANISCO, Рудольф Барангу и Филипп Хорват. Они занимались скучнейшим делом,

которым в современной университетской лаборатории никто бы им заниматься не дал. Они отбирали мутации устойчивости к бактериофагу у разных штаммов *Streptococcus thermophilus*.

Роль CRISPR/Cas в устойчивости бактерий к фагам



Введение нового CRISPR спейсера, соответствующего геному фага, достаточно для возникновения BIM!

Понятно, что они это делали по причине острой производственной необходимости. Им нужно было найти такие бактерии, которые были бы устойчивы к фагам, но продолжали бы делать рокфор со всеми присущими ему вкусовыми качествами. Задачу эту они решили. По ходу дела они опубликовали несколько статей в самых лучших научных журналах мира и, кроме того, создали новый биотехнологический продукт, который сейчас уже выходит на рынок. Все это было сделано в течение трех лет. В сущности, они просто повторяли опыт Лурии-Дельбрюка, но только вариации их совсем не интересовали. Они просто брали бактерии, только *Streptococcus thermophilus*, а не кишечную палочку *E. coli*, и высевали их на чашку с фагами, а фаги были те, которые обнаруживались на “проблемных” молокозаводах и сыроварнях. Большинство бактерий, естественно, умирали, но выросло некоторое количество устойчивых клеток. Предполагалось, что стартовые культуры, полученные на основе этих устойчивых клеток, можно будет использовать в промышленности и решить проблемы заражения бактериофагами. Но ученые DANISCO также хотели определить природу устойчивости бактерий к фагам. Помните, когда мы говорили про *E. coli*, я сказал, что самый обычный механизм устойчивости – это когда вирус просто пере-

стает узнавать бактерию, потому что поверхностные рецепторы на бактерии изменились. В случае с фагоустойчивыми мутантами *Streptococcus thermophilus* с этим все было совершенно нормально, т.е. вирусы с устойчивыми клетками (их называют Vim) совершенно замечательно связывались. Но вирусного потомства не возникало, и клетки жили. В чем же дело? Оказалось, что в Vim клетках CRISPR-кассета была изменена. А именно, в их CRISPR-кассетах произошло добавление одного повтора и одного спейсера. Самое замечательное было то, что для каждого нового спейсера (напомню – это участок ДНК длиной 30 нуклеотидов, три поворота спирали) обнаруживался идентичный участок в геноме того вируса, к которому приобреталась устойчивость. Что это значит?

Реплика из зала: Что клетка уже заражена.

Константин Северинов: Смотрите – вирус, конечно, маленький, но не такой маленький. Генетическая информация этого фага состоит из линейной молекулы ДНК длиной 40 тысяч пар нуклеотидов. А нас в BIM-ах добавился участок длиной лишь 30 нуклеотидов, но зато полностью соответствующий какому-то участку вирусной ДНК.

Вопрос из зала: Для вируса он свой?

Константин Северинов: Кто свой?

Вопрос из зала: Вот этот мутант. Родной.

Константин Северинов: А что это значит? Вот опять же, если смотреть на данные и

не переинтерпретировать их, имеющееся наблюдение говорит о том, что у устойчивых клонов происходит экспансия CRISPR-кассеты за счет включения участка генома соответствующего вируса.

Вопрос из зала: То есть я вас правильно понимаю, что это для защиты?

Константин Северинов: Я не знаю. Пока что я вам просто рассказываю об экспериментальном факте.

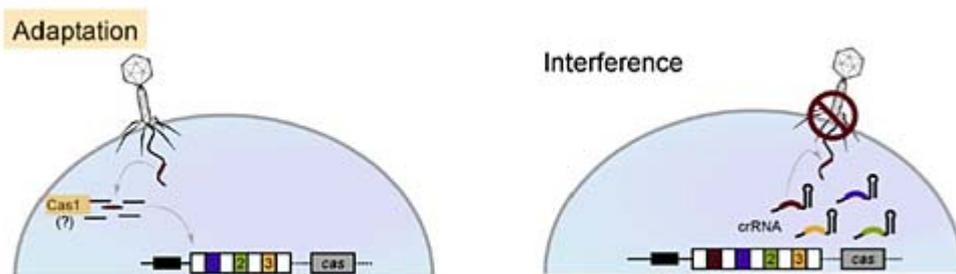
Вопрос из зала: Она заменяется там? Она удлиняется?

Константин Северинов: Нет, не заменяется, удлиняется. Вообще, отмеченная корреляция интересна, но не более того, пока вы не сделаете эксперимент, который сотрудники DANISCO сделали и опубликовали свои результаты в журнале “Science”. Эксперимент заключается вот в чем. Мы берем чувствительную к фагу клетку, генноинженерными способами направленно помещаем дополнительный участок ДНК, соответствующий геному вируса, в CRISPR-кассету – и смотрим, что произойдет. Стала ли клетка устойчивой к вирусу или нет. Оказывается, она действительно становится устойчивой!

Вопрос из зала: Любой участок вирусной ДНК или определенный?

Константин Северинов: Вообще говоря, не любой, но многие. Из всего из этого возникает возникают два интересных вопроса. Первый — как происходит добавление спейсера в CRISPR-кассету зараженной клетки, ведь клетка должна быть заражена, чтобы она могла захватить участок фаговой ДНК? И второй вопрос — каким образом новый спейсер придает устойчивость к вирусу? На эту тему пока что почти ничего не известно. Понятно, что фрагмент вирусной ДНК, который станет спейсером, должен как-то быть вырезан и каким-то образом встроен в кассету. Происходит это с помощью продуктов тех самых Cas-генов, про которые никто ничего не знает. Эта первичная стадия приобретения спейсера называется адаптацией, ее сейчас очень активно изучают, но кроме того, что я вам сказал, ничего не известно. После того, как спейсер адаптирован в кассету, происходит “интерференция”, процесс подавления размножения вируса. Называется это интерференцией не просто так, а по аналогии с процессом РНК-интерференции, который был открыт в 1999 году. Это исключительно важный процесс в клетках высших организмов, о существовании которого никто раньше не подозревал.

Роль CRISPR/Cas в устойчивости бактерий к фагам



Первооткрыватели РНК-интерференции уже получили нобелевскую премию. Суть РНК-интерференции в следующем: если в клетке появился маленький участок рибонуклеиновой кислоты, который точно соответствует какому-то гену, то активность этого гена подавляется. Как это происходит, нам сейчас не важно, в этой области активно ведутся исследования, разрабатываются новые лекарства и т.д. Оказалось, что с CRISPR-кассеты делается РНК-копия, которая нарезается на маленькие участки РНК, и каждая такая маленькая РНК состоит из полного спейсера

и обрамляющих фрагментов повторов. И вот – если спейсерный участок такой короткой РНК полностью соответствует ДНК вируса, то заражение не происходит. Происходит интерференция. Непонятно, какой механизм, но так происходит.

Вопрос из зала: Получается, что та ДНК, которая приходит из вируса, не встраивается в геном клетки?

Константин Северинов: Что происходит, непонятно. Все, что мы знаем, – что клетка выживает. Если у вас происходит обычный

процесс инфекции, то эта клетка обречена, она умрет.

Вопрос из зала: То есть он встраивает свой геном?

Константин Северинов: Он ничего не встраивает. Он просто вводит свой геном в клетку во время инфекции.

Вопрос из зала: Вирус начинает размножаться, а тут он блокирует все механизмы.

Константин Северинов: Это вы описываете то, что произошло, но как оно блокируется — непонятно. Инфекция блокируется непонятно, на какой стадии. Известно, что есть такие маленькие молекулы РНК из CRISPR-кассеты, и без них ничего не будет. Также известно, что если у вас есть полное соответствие между маленькой молекулой РНК и участком генома вируса, то заражения не будет. Все. Больше ничего не известно.

Вопрос из зала: А в каком смысле вы употребляете слово молекула — это действительно молекула или это образное выражение?

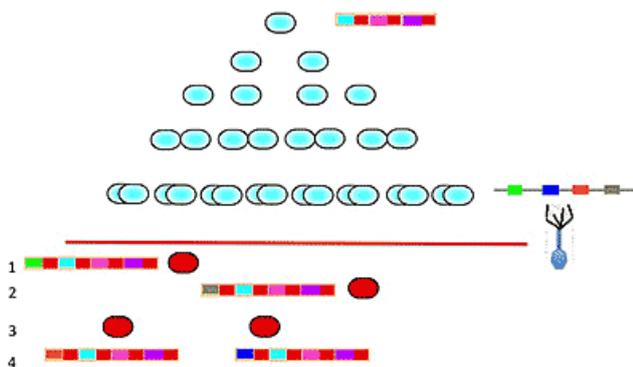
Константин Северинов: Это в том смысле, в котором фрагмент рибонуклеиновой кислоты (РНК) длиной 60 нуклеотидов является молекулой. Цепочка нуклеотидов РНК.

Вопрос из зала: Это похоже на механизм прививки?

Константин Северинов: Это называется адаптивной иммунностью. Это похоже на возникновение разнообразия лимфоцитов в нашей иммунной системе. CRISPR-иммунность не изучена, но понятно, что ее можно использовать самыми интересными способами, я об этом еще скажу. Для нас важно,

что этот механизм сугубо, полностью 100% ламарковский. Давайте опять проведем наш мысленный эксперимент. Вот у нас есть наша бактерия, вот у нее есть CRISPR-кассета. Наша клетка поделилась 4 раза, возникло 16 клеток, и мы к этой культуре добавили фаг, а у фага есть геном, содержащий участки, помеченные зеленым цветом, синим, рыжим и оливковым. А у бактерий таких участков в геноме нет. Они их могут взять только из этого вируса. В первом опыте у нас возникла одна устойчивая колония и оказывается, что в CRISPR-кассете клеток, ее образовавших, появился спейсер, соответствующий зеленому участку. Во втором опыте у нас возникла устойчивая колония из клеток с оливковым участком. В третьем бактерии с синим и рыжим участками появились, а в четвертом — устойчивых клеток не возникло. Мы можем провести тест Лурии-Дельбрюка, так же, как они делали в 43-м году. Все, что у нас сменилось, — это организм. До этого у нас была кишечная палочка, а теперь у нас *Streptococcus thermophilus*. Мы можем сделать отпечатки с бархатным штампом. Что бы мы ни делали, результат будет полностью обратным тому, о котором я вам рассказывал вначале. Т.е. механизм совершенно ламарковский: приобретение признаков при изменении условий окружающей среды. Он другим и не может быть, потому что изменяющаяся среда в виде вируса и является источником информации о том, как с этим изменением бороться.

Устойчивость, вызванная CRISPR/Cas, чисто адаптивна (приобретение признаков наследуемых признаков под действием окружающей среды)!



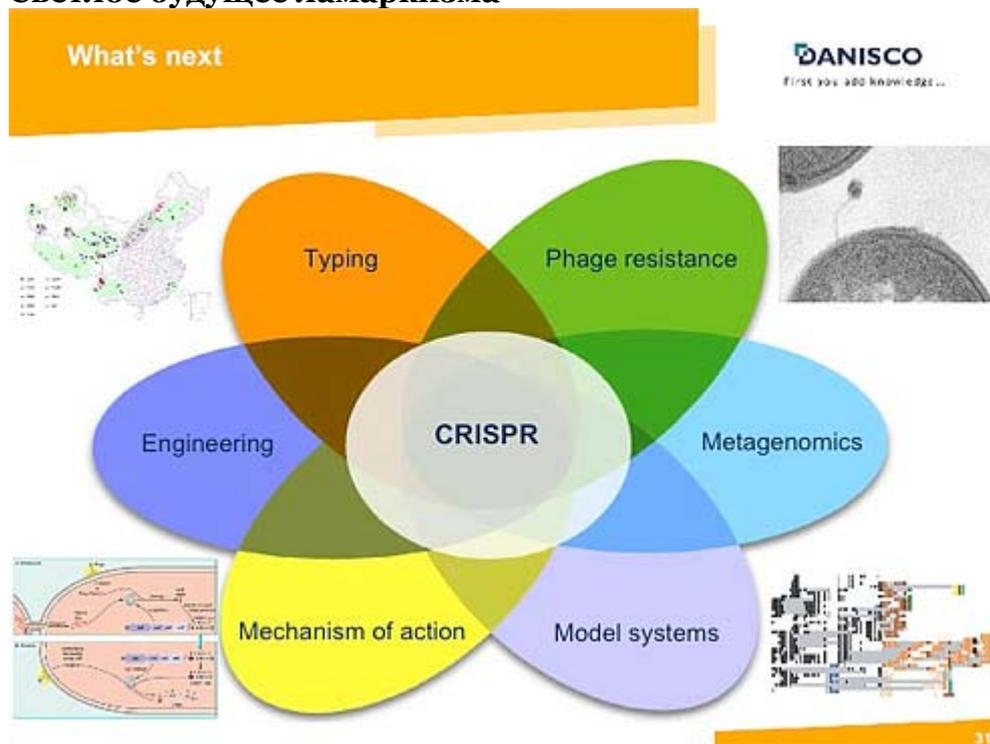
Вы можете мне сказать: ну подумаешь, люди 60 лет после Лурии и Дельбрюка знать

не знали про этот механизм, и ничего. Но это, наверное, неправильный взгляд на вещи.

Дело в том, что CRISPR-системы очень широко распространены. Они есть у 100% архей, такие есть удивительные бактерии, и более чем у 50% бактерий. У большинства бактерий CRISPR-локусы гипервариабельны, т.е. набор спейсеров у близкородственных штаммов одного и того же вида очень-очень разный. Хотя все остальные части генома этих бактерий одинаковы. CRISPR-локусы – самые быстро эволюционирующие, в эволюционном смысле – самые активные участки генома бактерий. И занимаются они этой своей эволюцией чисто по Ламарку.

В наши дни увлечение библиометрией привело к тому, что интерес к области измеряется количеством публикаций на эту тему. Рост количества публикаций по CRISPR-системам взрывообразен, и есть какие-то специальные критерии, которые показывают, что это одна из самых горячих тем, которые существуют в современной микробиологии. А светлое будущее CRISPR-систем (ламаркизма) показано на следующем слайде, где отражены направления будущих исследований.

Светлое будущее ламаркизма



Безусловно, очень интересен молекулярный механизм: как происходит накопление спейсеров, как происходит сама интерференция? За этим скрыта какая-то очень интересная молекулярная биология, которую мы сейчас совсем не понимаем. Это тот механизм, который обеспечивает ламарковское наследование в этом конкретном локусе. Другое направление – это типирование, это то, что я вам говорил, что с помощью разнообразия CRISPR-кассет можно разделять и идентифицировать штаммы. Отличать штаммы более патогенные от менее патогенных, тех, которые делают рокфор, от тех, которые делают чеддер, и так далее. Можно направленно создавать штаммы с фаговой устойчивостью,

отбирать или конструировать штаммы, в которых в CRISPR-кассету введен дополнительный спейсер, который обеспечивает устойчивость к тому или иному фагу. В частности, DANISCO уже вывела на европейский рынок продукт под названием Криспекс — это йогурты, полученные с помощью сконструированных штаммов, устойчивых ко всем известным вирусам *Streptococcus thermophilus*. CRISPR-кассета у этих штаммов содержит спейсеры, соответствующие всем известным фагам. Очень интересное направление, связанное с метагеномикой. Анализ CRISPR-кассет позволяет нам смотреть на историю бактерий. У бактерий нет па-

леонтологии, они не сохраняются, а информация, заключенная в CRISPR-кассетах, — это в некотором смысле взгляд в прошлое бактерий. Потому что все новые спейсеры приобретаются с одного конца кассеты, а старые

спейсеры — это то, что было приобретено раньше.

В качестве вывода на этом последнем слайде приведена цитата из "Фауста". Самое главное здесь — это фраза "что невозможно, то и вероятно".

Take home:

Да будет превознесена звезда,
Которую нам этот час дарован.
Да будет заклинаньем разум скован
И не теснит фантазии узда.
Старайтесь увидеть, что вам приятно.
Что невозможно, то и вероятно.

Работы по CRISPR-системам показали, что то, что считалось невероятным на протяжении последних 60 лет, на самом деле является очень распространенным способом, обеспечивающим изменчивость бактерий. Приведенная цитата взята мной из книги "Непостоянство генома", которую написал Р. В. Хесин. Хесин — выдающийся наш ученый, молекулярный биолог, который по складу своего характера и по методам исследования был похож на тех людей, про которых я вам сегодня говорил. Он работал в тяжелых условиях, и его работа зависела от того, как работает его голова. Очень важно уметь ставить чистые, красивые эксперименты и не бояться неожиданных результатов. Эксперименты, о которых я сегодня говорил, простые и не требуют специального оборудования, но требуют специальных людей и условий. Условий, когда математики могут говорить с биологами, когда можно свободно ездить на конференции, ну и так далее. Следующий, довольно странный вывод из того, что я вам рассказал, — это то, что повторение одного и того же эксперимента может приводить к диаметрально противоположным результатам и выводам. Это может означать, что в биологии общих принципов нет, и при смене системы можно получить новый результат.

Вопрос из зала: Общий смысл экспериментирования?

Константин Северинов: Общий принцип эксперимента как раз должен сохраняться.

Но результат, который вы получите при использовании разных организмов, может быть совершенно разным. Эксперимент по выявлению роли CRISPR-систем ничем не отличается от эксперимента Лурии-Дельбрюка. Все что изменилось, — это бактерии. На свете есть огромное количество разных бактерий. При этом в лаборатории удастся культивировать менее чем 0,1% всех существующих бактерий. Гигантское микробное разнообразие наверняка содержит в себе массу всяких механизмов — невозможных, невероятных, но существующих. А мы про них ничего не знаем и даже помыслить о них не можем. И такие простые дихотомии, типа ламарковской и дарвиновской, неправильные, они не отражают всего разнообразия сущего. Теперь мы знаем, что ламарковский механизм наследственности есть, но это никоим образом не привело к перечеркиванию данных о существовании дарвиновского механизма, в реальности которого нет никаких сомнений. Просто, наше понимание жизни стало более полным. Считается, что в политике дарвинизм исповедуется консерваторами, а ламаркизм якобы ближе либералам. На самом деле, тут происходит подмена понятий, политические пристрастия и решения, конечно, не имеют никакого отношения к механизму эволюции. Те этические или моральные принципы, которые постоянно примешиваются к обсуждению вопроса о механизме эволюции, как у того человека, с e-майла которого я начал лекцию, просто не имеют отношения к обсуждаемому вопросу. То, что в природе существует тот или другой механизм (а как мы теперь знаем, на самом деле сосуществуют оба), никак не влияет на то, как вы относитесь к своим ближним. Еще один интересный тезис, который я хотел бы упомянуть в качестве вывода, — это то, что, да, действительно, исследования в частных компаниях могут приводить к фундаментальным открытиям и совершенно замечательным работам. Причем, как ни странно, в истории, которую

я вам рассказал, речь шла не о какой-то супер-передовой компании, способной проводить исследования, которые невозможно делать в университете, а совсем наоборот. Ведь ученые DANISCO повторяли зады, делали опыты, которые были скучными и неинтерес-

ными с точки зрения фундаментальных ученых. Но не было счастья, да несчастье помогло. Изучая “неинтересную” и старомодную устойчивость бактерий к вирусам, они получили замечательные результаты, имеющие общенаучное значение. Я все сказал, спасибо большое.

Обсуждение лекции



Константин Северинов
(фото Н. Четвериковой)

Борис Долгин: Вы сказали, что “в биологии общих принципов нет”. Я правильно понял, что ваша интерпретация такова: есть разные механизмы, которые имеют свои области применения? Один вариант понимания, а можно сейчас придумать еще второй и третий, четвертый.

Константин Северинов: Знаете, я на это могу прикинуться интеллектуалом и в дополнение к уже приведенной цитате добавить, что на свете есть много того, “что и не снилось нашим мудрецам”. На самом деле, я хочу сказать, что принятие какого-то принципа подразумевает отречение от чего-то другого, и это ограничивает вас как ученого.

Борис Долгин: В каком смысле принципа? Вы о чем говорите, о способе интерпретации?

Константин Северинов: Нет, о парадигме. Например, ламарковская и дарвиновская парадигмы рассматриваются как взаимоисключающие. Это очень полезно. То есть тот факт, что будет доказано Лурией и Дельбрюком, что надо думать по Дарвину, а не по Ламарку, был очень полезен. И развитие молекулярной биологии во многом произошло благодаря этому опыту. Выбор кишечной палочки для опыта был случайный, если бы они взяли *Streptococcus thermophilus* не очень даже понятно, где бы мы сейчас были, потому что данные бы показывали явно не то, что авторы опыта хотели бы видеть, ведь они были внутренне готовы именно к дарвиновскому механизму. С другой стороны, разные механизмы существуют не то что в разных системах, они существуют параллельно, в одной и той же системе, и, безусловно, масса мутаций у *Streptococcus thermophilus* возникает “по Дарвину”, кроме устойчивости к фагам.

Борис Долгин: То есть вы говорите, что в общем, работают разные механизмы. В одних и тех же системах могут работать разные механизмы. Надо понять, каково место для каждого из механизмов?

Константин Северинов: Да. Биологическая вариабельность, то, что возникло в результате эволюции за то время, которое не нее было отведено, огромна, все, что мы можем придумать, скорее всего, реализовано на практике, нужно только найти такой пример, организм.

Михаил Гельфанд: Можно ли было найти обратную трансляцию?

Константин Северинов: Нет, пока что ее не нашли. Понимаете, в чем дело, если бы в 1998 году кто-то сказал, что есть процесс, подобный РНК интерференции, на него большинство ученых посмотрели бы как на человека из сумасшедшего дома.

Михаил Гельфанд: “Центральной догме” она не противоречит?

Константин Северинов: “Центральная догма” такая резиновая, в нее можно вместить многое. Но, я согласен, что примеров обратной трансляции на сегодняшний день нет.

Борис Долгин: На ваш взгляд, какова же роль в процессах эволюции механизмов дарвиновских, какова роль механизмов ламарковских, какова роль еще каких-то механизмов? То есть – как вы это для себя это синтезируете?

Константин Северинов: О роли механизмов, о которых мы ничего не знаем, мы ничего сказать не можем. Это как бы за видимой частью вселенной. В случае бактерий совершенно понятно, что они монофилетичны, то есть все существующие бактерии произошли от одного предка. Вся жизнь произошла от одного предка, его зовут LUCA. По крайней мере, та жизнь, которая дотянула до сегодняшнего дня. И процесс изменения и образования новых жизненных форм, безусловно, имел значительную дарвиновскую компоненту. То есть была изменчивость, и отбор наиболее соответствующих измененным условиям особей. Изменчивость получалась за счет наследуемых изменений в ДНК, которые могли возникать за счет самых разных механизмов. Часть этих механизмов активируется действием окружающей среды и ненаправлена, а в случае CRISPR представляет собой направленное изменение участка генома под действием среды. Отбор позволяет наиболее приспособленным особям оставлять больше потомства.

Вопрос из зала: Уменьшается ли длина спейсеров, или они как-то накапливаются по мере жизни?

Константин Северинов: Спасибо. Понятно, что если клеточная жизнь существует 3,5 млрд. лет, то все это время существуют и клеточные паразиты — вирусы. Это как розы и шипы в "Маленьком принце". И все это время клетки и вирусы должны друг с другом бороться. CRISPR-системы – это один из механизмов такой борьбы. Понятно, что этот рост CRISPR-кассеты не может продолжаться бесконечно. Тем не менее, имеется большая вариабельность по длине кассет. Есть организмы, у которых их нет вообще, есть у которых имеется лишь несколько спейсеров, а есть и такие, у которых их 200-300. Но, безусловно, есть клеточные механизмы, которые не позволяют происходить безудержному росту кассет. Это те же механизмы, которые обеспечивают выкидывание лишних генов при амплификации, я про это рассказывал. Наличие идентичных повторов позволяет за счет процесса, который называется рекомбинацией, “прореживать” скажем, так, популяцию спейсеров.

Дмитрий Иванов: Этот механизм адаптаций работает только для бактерий? Или у других организмов он тоже обнаружен?

Константин Северинов: Этот механизм описан только у прокариот, т.е., у клеток, у которых нет ядра. У эукариот, клеток с ядрами, такие механизмы не известны. С другой стороны, надо понимать, что если бактерии – это то, что я называл монофилетическая группа, связанная общностью происхождения, то прокариоты — это не монофилетическая группа. У них есть 2 царства: археи и бактерии. При этом археи по многим показателям ближе к высшим эукариотическим клеткам. Так вот, у всех архей есть CRISPR-системы. А у бактерий – не у всех. И если считать, что археи — это, по-видимому, самая старая форма жизни, то получается, что у первородного организма, возможно, такая система была, а эукариоты ее просто потеряли.

Вопрос из зала: А зачем вообще нужен механизм прореживания, то есть нарастил бы он большой геном, был бы у него иммунитет к большому количеству вирусов?

Константин Северинов: Я думаю, это вопрос цены. Казалось бы, действительно, имей набор спейсеров против всех вирусов, которые есть в природе, и живи счастливо. Проблема в том, что если бы CRISPR-система работала с абсолютной эффективностью, то вирусов бы уже не было. Но это не так. Ведь наша планета населена не нами, не жуками, не бактериями, а вирусами. Их больше, чем всех остальных. Они замечательно живут и в ус не дуют. Потому что достаточно вирусу изменить тот крохотный кусочек генома, который соответствует спейсеру, на одно основание ДНК – и все, он больше знать не знает про CRISPR-систему этой бактерии и замечательно ее заражает. В этом смысле оптимальная длина CRISPR-кассет определяются дарвиновским механизмом. Слишком короткие кассеты не обеспечивают достаточной защиты, и такие бактерии умирают, а слишком длинные кассеты не обязательно дают полную защиту, а их поддержание энергетически невыгодно бактерии, снижает приспособленность в отсутствии вирусов.

Вопрос из зала: Насколько я понимаю, таких генетических систем, как вы очень верно назвали, эволюция по Ламарку, чрезвычайно много, и чем больше механизмов, тем больше. Это был тезис для того, чтобы вы оценили, насколько он справедлив.

Константин Северинов: Имеющийся набор данных такого тезиса не подтверждает. Потому что та система CRISPR, про которую я вам рассказал в конце, она очень распространена, но она одна.

Лев Московкин. Много было показано Хесиним. Он сделал имя на опытах, которые тогда вызывали вопросы, а сейчас очевидны.

Константин Северинов: Хесин сделал себе имя классическими экспериментами по регуляции экспрессии генов 60-х годов, работа была опубликована в 1960 году в русском журнале “Биохимия”, в частности, потому что он считал, как и многие другие менее уважаемые люди, что русские люди должны публиковаться в русских журналах. И это очень плохо, потому что эти работы, в результате, оказались неизвестными на Западе. Да, в конце жизни очень много занимался вопросами изменчивости генома. И изучал вопросы горизонтального переноса, про которых вы сейчас по-видимому сказали.

Сергей Сахаров: Простите, я не специалист, зашел сюда, так сказать, на огонек, но с большим удовольствием и интересом прослушал то, что вы сообщили. У меня возникла вот такая мысль, и я бы хотел, чтобы вы ее прокомментировали. Вы говорите о противниках Ламарка и Дарвина. Мне кажется, что противопоставление их, во всяком случае, неправомерно, и мне кажется, что ламарковская парадигма является частным случаем дарвиновской. Что вы можете по этому поводу сказать? Это первый мой вопрос, а второй вот какой. Вы рассказывали об интересных экспериментах, на основании которых были сделаны, я полагаю, качественные выводы. А насколько статистически они представимы, вот вы упомянули, что исследовано только порядка 0,1% организмов, кажется. Из этого множества 0,1% процента – насколько широко они представлены в эксперименте? Это второй вопрос. Спасибо.

Константин Северинов: Я не думаю, что ламарковский механизм – это частный случай дарвиновского. Я считаю, что они принципиально различны. В реальности оказывается, что работает и так, и так.

Вопрос из зала: Механизм мутации кусочков гена вируса, так сказать, бактерии, о которых вы рассказываете интересно, он ведь тоже может случайно существовать у одних бактерий, а у других – нет.

Борис Долгин: А какая разница? Это очень принципиальный вопрос, и это очень связано с вашим вторым вопросом. Какой здесь имеет смысл говорить о результативности? Если из одного случая нам известно, что механизм работать может, из этого следует, что механизм работать может.

Константин Северинов: Там еще был вопрос по поводу количества. Вот анализ, проведенный Лурии и Дельбрюком, — он был количественным, в математическом смысле строгим. И он позволял по анализу средних и дисперсий выбрать между двумя механизмами. Это строго сделано, совершенно нормальная математика и статистика. Но с другой стороны, как показывает опыт, она не нужна. Возьмите просто и перепечатайте бактерии. Эти опыты проверены на массе других культивируемых бактерий, и в большинстве случаев все работает, так, как у Лурии и Дельбрюка. С другой стороны, так как известно, что культивируется меньше чем 0,1% процента бактерий, в этом смысле у нас есть выборка небольшая. Но теперь выясняется, что CRISPR тоже не у всех есть.

Сергей: Может ли быть так, что когда организм попадает в уже измененную среду, то в нем начинают целенаправленно происходить определенные виды мутаций, именно такие, которые позволяют приспособиться? Получается синтез Ламарка и Дарвина.

Константин Северинов: Нет, здесь никакого синтеза нет. Это не синтез. Чтоб нам объединиться, нам надо размежеваться, как кто-то говорил. Если такой механизм есть, который обеспечивает перенос адаптации в генетическую информацию и закреплению ее там, то он должен быть описан. Сегодня он неизвестен. Может, он есть, но мы про него не знаем. Если он есть,

то он должен быть другим, не таким, как те известные. С другой стороны, есть и обратное и более сильное утверждение — имеющийся механизм этого сделать не позволяет.

Андрей Летаров, Институт микробиологии: А не является ли это, вообще говоря, фундаментальной ошибкой – пытаться искать ламарковские механизмы среди частных случаев работ каких-то молекулярных систем? Если так покопаться по сусекам сознания, что-то похожее мы найдем, например, если мы возьмем вместо фага T1 фаг лямбду, мы получим совершенно феерическую картину. Но Ламарк был первым человеком, который утверждал, что единицей эволюции является не особь, а некоторая группа, современным языком — популяция. Скажите, вот такой механизм вы куда отнесете — к ламарковскому или дарвиновскому? Предположим, у нас есть некая популяция бактерий, живущих в пробирке. Соответственно, она может жить там, в суспензии, и может образовать пленку на стенках. Если мы добавим туда фаг, то это приведет к тому, что те, которые образуют пленку на стенках, получают некоторое преимущество, поскольку по физической организации этой системы они смогут расти, несмотря на фагов, которые будут проникать. Они получают ресурсы за счет тех, которые погибли в среде, но в этой пленке работает механизм гипермутации в ответ на стресс, и это приведет к накоплению стрессоустойчивых мутаций с частотой большей, чем если было бы, если бы в пробирку фага не добавляли. Это какой механизм?

Константин Северинов: Это дарвиновский, на мой взгляд. Вот есть механизм видообразования, связанный с географической изоляцией, это то, что вы сейчас сказали, — разделили вы особей, один живет на дереве, а другой в норке. В норке света мало, у него глаза перестали работать или еще что-нибудь такое. Это вполне наследуется, оно полностью описывается механизмом, связанным со случайным возникновением изменчивости, путем, опять же известных описанных молекулярных систем, а затем отбором. За счет того, что более приспособленная особь дает большее количество потомков. К CRISPR такая логика не применима. С другой стороны, если само возникновение CRISPR-устойчивости происходит за счет чисто ламарковского механизма, дальнейшее распространение по популяции безусловно дарвиновское, за счет действия отбора.

Вопрос из зала: Скажите, пожалуйста, если мы модифицируем немножко эксперимент Лурии и Дельбрюка и проконтролируем его на поколениях, которые возникают в этих CRISPR-системах, возможно ли, что работают оба механизма одновременно – и дарвиновский, и ламарковский?

Константин Северинов: Все зависит от точки зрения. Повезло или не повезло Лурии и Дельбрюку, что они работали с *E. Coli*? С точки зрения CRISPR, им не повезло, потому что CRISPR-системы почему-то в *E.coli* не работают. Но, с другой стороны, есть организмы, в которых работает и то и другое. Более того – там, где работает CRISPR, другие механизмы, обеспечивающие устойчивость к фагам, тоже работают. А вот у *S. thermophilus*, похоже, работает только CRISPR. В своей работе Кернс не только показал, что *lac*⁺ колонии возникают на первый день, на второй и на третий, он еще сделал математический анализ в духе Дельбрюка и показал, что на самом деле распределение мутаций, которые возникают в его системе отбора, промежуточное. Потому что, безусловно, есть нормальный компонент в духе Лурии-Дельбрюка, который вы видите в первый же день, а затем начинают работать остальные механизмы, про которые мы говорили, возникают новые колонии, которые воспринимаются нами как адаптивные, пока мы не знаем реальных причин.

Вопрос из зала: На основании каких механизмов появляются длинная шея у жирафа, полосатость зебры?

Константин Северинов: В высших организмах я не специалист. Безусловно, есть молекулярные механизмы, которые могут создавать кажимость ламарковской эволюции у высших. Вот, например, пусть вы селекционер, и занимаетесь отбором длиной шеи жирафа или холодоустойчивой пшеницы, чем, собственно, Лысенко и занимался. Если вы дарвинист, вы должны увеличить изменчивость, а потом отобрать более холодоустойчивую пшеницу. Изменчивость можно увеличить разными способами, например, просветить рентгеновским излучением зерна вашей пшеницы. Большинство из зерен не взойдет, а что-то вырастет, и вы среди полученных

растений проведете отбор за полярным кругом. С другой стороны, если вы ламаркист, как Лысенко, то вы должны “приучать” ваш организм, то есть пшеницу высаживать на все более низкие температуры, например. Оно у вас даже может и сработать, и оно, наверное, работало когда-то, и вы получите холодоустойчивый сорт. Но это ни о чем не говорит, потому что фактически вы просто устраиваете селекцию в условиях стресса. То есть вы повторяете опыт Кернса. Вы берете вашу несчастную пшеницу, сажаете ее черте куда – и ей становится очень плохо. Если ей очень плохо, то у нее изменчивость расшатается в любом случае. И вы получите тот же самый результат, но исходя из других принципов.

Сергей Капушин: Поскольку я тоже не специалист, возможно, не совсем понимаю. Мысль такая, что главное отличие, если я правильно понимаю, ламарковской концепции от дарвиновской в том, что при дарвиновской изменчивость происходит при делении, то есть при размножении, а в ламарковской изменчивость может происходить в самом организме до деления.

Константин Северинов: Спасибо. Не совсем так. Определение не такое. В случае Дарвина у вас изменчивость пресуществует, возникает спонтанно и является сырьем для отбора. Отбор — это внешние условия. Ламарковский механизм не отрицает изменчивость, но она для него не важна. Считается, что организм каким-то образом получает сигнал о том, что условия изменились, начинает делать что-то, что улучшает приспособленность к измененным условиям, и тем самым “улучшается” — с точки зрения новых условий. И может передавать эти изменения в поколения.

Сергей Капушин: Этот опыт с CRISPR – в нем нету принципиального противоречия дарвиновскому взгляду в том смысле, что возникло какое-то влияние, но если внутри организма произошла изменчивость, у нас нет 100% вероятности сказать, что произошла изменчивость ...

Константин Северинов: Это мы можем сказать точно. Можно с уверенностью сказать, что участок ДНК, новый спейсер, который приобрелся, который обеспечивает устойчивость, взялся только из того вируса, который клетку заразил. В клетке нет способов создать этот спейсер заново.

Вопрос из зала: А за счет случайных мутаций таких спейсеры не появляются?

Константин Северинов: Это невозможно, потому что мы говорим в данном случае не о точечных мутациях — каких-то крохотных изменениях, а о приобретении относительно большого куска ДНК, о котором мы точно знаем откуда он пришел.

Михаил Гельфанд: Я правильно понимаю из предыдущей дискуссии, что дарвиновская модель предполагает случайные изменения, а ламарковская — целенаправленные, ровно под это воздействие?

Константин Северинов: Правильно, да.

Михаил Гельфанд: А тогда вопрос: любой ли горизонтальный перенос можно примотать к ламарковскому механизму или нет?

Константин Северинов: Миша, я должен подумать, я подозреваю, что нет, но я не могу об этом сказать. Скорее всего – нет, иначе всего этого кипеша бы не было.

Вопрос из зала: Про горизонтальный перенос.

Константин Северинов: Дарвиновская эволюция предполагает, что гены передаются от деда к папе, от папы к дочке и т.д. и при этом происходит некоторая изменчивость. Когда это происходит очень долго, происходит раздвоение, и у нас из общего предка возникает с одной стороны слон, а с другой — мамонт. Но есть четкая вертикальная линия, которая связывает оба эти вида с последним общим предком. Горизонтальный перенос — это когда у вас вдруг оказался ген от какого-то существа, с которыми вы никаких родственных связей и общности происхождения не имеете. Например, ГМО — это случаи горизонтального переноса, сделанные человеком сознательно. До недавнего времени считалось, что горизонтальный перенос — это очень редкие случаи. Есть специальные так называемые мобильные генетические элементы, которые имеют способность “скакать” между разными клетками, перенося самое себя, то есть свою генетическую информацию. Такие элементы ответственно, например, за распростране-

ние антибиотикоустойчивости, которая произошла после того, как в 50-х годах стали применять антибиотики. Сейчас, какую бактерию ни возьми, даже в Антарктиде — она с высокой вероятностью будет устойчива к большинству антибиотиков. А еще 50 лет назад этого не было. Произошел горизонтальный перенос генов лекарственной устойчивости.

Вопрос из зала: Если смотреть чисто теоретически на эту схему, пригоден ли этот механизм для какой-либо другой адаптации, кроме защиты от повреждающего фактора, причем обязательно биологической природы?

Константин Северинов: Он, безусловно, основан на узнавании нуклеиновых кислот, и в этом смысле изменение должно сопровождаться входением в клетку какого-то чужеродного генетического элемента. Это может быть вирус, это может быть плаزمид, это может быть ДНК другого организма. Михаил спросил, является ли горизонтальный перенос случаем ламарковской эволюции. Переверну это с ног на голову, CRISPR можно рассматривать как способ борьбы с горизонтальным переносом.

Вопрос из зала: Если сформулировать немножко по-другому: чтобы информация из окружающей среды непосредственно вошла в геном, нужно, чтобы эта информация в этой среде была записана, причем на этом же языке?

Константин Северинов: Да, это правильно.

Вопрос из зала: У меня такой вопрос. Поскольку я тоже не специалист, учитывая, что эксперименты такие простые, почему большинство людей не ставит таких простых экспериментов, а ставят очень сложные, и только очень немногие ставят очень простые и более существенные?

Константин Северинов: В английском есть такая поговорка, она ни к кому здесь не относится: “если бы я был такой же умный до, как моя жена после того, как событие уже произошло...”. Эти эксперименты просто понять только после того, как они сделаны. Я уверен, что для Лурии и Дельбрюка эксперименты, о которых я рассказывал, были связаны с высоким интеллектуальным напряжением, бессонными ночами, а с другой стороны — определялись их историей, их образованием, обществом коллег, везением в очень большой степени. Нужно было правильно выбрать систему. Ведь выбор системы, как мы знаем, принципиально влияет на результат эксперимента. Вот тут Андрей упомянул другого фага, так называемого лямбда-фага. С ним бы все было по-другому. Т.е., даже при выборе “правильной” *E. coli* результат получился бы другой. Необходимо также уметь правильно интерпретировать эксперимент. Необходимо было, чтобы математик и биолог встретились и говорили на одном языке. Обычно они как-то не встречаются. Тот же Лурия позвал Дельбрюка не от хорошей жизни.

Борис Жуков: У меня два вопроса. Один, если мы вернемся к материалам по *lac*-мутациям, к той схеме, которые изучались, — это мутации точечные, не было бы таких же экспериментов при полной делеции?

Константин Северинов: Тогда бы не сработало. Кернсовский опыт очень тонкий, никто там рядом не стоял со свечой, но он, очевидно, был сделан так, чтобы он сработал. Там испорченный *lac*-ген стоял на плазмиде. И это увеличивало вероятность дупликации.

Борис Жуков: Второй вопрос более философский. Зачем вообще искать разницу между Дарвином и Ламарком?

Константин Северинов: Я считаю, что незачем. Я пытался сказать, что эта разница скорее в головах и связана с грузом, который не имеет отношения к проблеме. Центральная догма молекулярной биологии, которую я вам представил, объясняет, как работает эволюционный механизм у бактерий, и она полностью применима, без всяких изменений, к высшим организмам. То, что у высших организмов есть, чего нет у бактерий, — это разделение сомы и половых клеток. Но в принципе, я вот выкинул часть слайдов, был великий человек, который тоже ставил простые опыты, Франсуа Жакоб. Он вместе с Жаком Моно изучал регуляцию экспрессии генов, это тоже изменения, которые кажутся наследуемыми, а на самом деле зависят от внешней среды. Когда гены активируются и регулируются. Так вот, Жакоб заявил в конце пятидесятых: что справедливо для *E. coli*, верно и для слона.

Алексей: Вирус нападает на бактерию, и в том случае, если между ними находится что-то общее, они спариваются — и потомство их является устойчивым?

Константин Северинов: Нет, спариться они в нормальном смысле этого слова не могут. На вирусы тоже действует отбор, вирусы являются очень важным фактором эволюции бактерий, в частности, вот этим горизонтальным переносом они занимаются. Вирус может “спариться” в том смысле, что он может перенести вместе со своей генетической информацией какой-то другой участок генетической информации из ранее зараженной клетки в другую бактерию, которая эту информацию может как-то использовать. Вирус может весь свой геном встроить в геном бактерии, получится такой кентавр, он называется лизоген, только там свойства вируса теряются, просто остается клетка, но при правильных условиях вирус может из нее выйти.

Андрей Летаров: Хотелось бы к предыдущему разговору предъявить некий протест. На самом деле ситуаций с взаимодействием вирусного генома и бактериальной ДНК значительно больше, возможны разные рекомбинаты с образованием дефектных вирусов, которые сообщают устойчивость бактерии, но потом уже вырезаться из нее не могут, так что за уши можно притянуть всякий ламаркизм с полным удовольствием, но у меня есть другой вопрос. Почему вы считаете чисто дарвиновскими механизмами все те, которые связаны с увеличением частоты действительно ненаправленных мутаций, если это увеличение происходит не в результате встряски генома стрессом как таковым, а в результате действия специальных механизмов, которые рассчитаны на то, что при возникновении этого стресса, допустим, у бактерий это голодание, переход от стационарной фазы? Действительно, в результате работы вполне известных молекулярных механизмов включается синтез определенной альтернативной ДНК полимеразы, которая делает больше ошибок.

Константин Северинов: До некоторой степени это семантика. Вопрос специфического или неспецифического эффекта. Когда при голодании увеличивается частота мутаций, процесс происходит ненаправленно в том смысле, что все гены одинаково больше начинают мутировать. Грубо говоря, вы получаете дозу. Вы потом можете выбрать, конечно, но исходно вы просто увеличиваете изменчивость. С другой стороны, если вы хотите удлинить шею, то, конечно, ноги у вас потом тоже вырастут, но исходно-то именно шея растет. То есть подразумевается направленность, потому что вы тянетесь за листьями и т.д. Так вот, направленного механизма, связанного с ухудшением, со стрессом, по-видимому, не существует. Зато потом есть и интересные механизмы, которые создают кажущуюся направленность. Как в случае с амплификацией и т.д.

Александр: Я тоже не биолог. В мозге человека есть молчащие нейроны, и также насчет лимфоцитов. Есть лимфоциты, которые заранее уже существуют и готовы к будущей инфекции. Это целая теория, имеющая место, — иммунитет. Получается, что молчащие нейроны и лейкоциты имеют целеположение, то есть они заранее готовы, ждут только своего часа. А по дарвинизму мутации — это чисто случайные мутации, и получается, что по логике молчащие нейроны — это потенциально ламарковские нейроны, то есть ламарковский механизм уже сидит в неявной форме в потенции в дарвинизме.

Константин Северинов: Я ничего не знаю про нейроны. Здесь нужно понимать, что когда мы говорим о передаче в поколениях, нейроны и лимфоциты ни при чем. Наша брэнная оболочка кончится вместе с нами, а все, что мы передадим поколениям — это гены, которые с точки зрения эволюции только и важны. Это гены из наших половых клеток. Функционирующие или нефункционирующие соматические клетки не влияют на эволюционный процесс. Это не отрицает того, что внутри нашего организма вообще может происходить селекция клеток и какие-то интересные процессы, как в случае с раковыми клетками. То, что вы упомянули про иммунитет, — это совершенно правильно. Лимфоциты, специфичные к различным антигенам, возникли под действием специального процесса, который генерирует большое разнообразие вариантов лимфоцитов с последующим их отбором. Механизм, создающий разнообразие, чем-то похож на CRISPR с одной принципиальной разницей, что там разнообразие создается до того, как появляется инфекция, бактерия, антиген. В этом смысле он чисто дарвиновский.

Григорий Глазков: У меня действительно последний вопрос. Если про это уже было сказано, то вопрос снят. Вопрос про эволюцию как таковую, не про механизмы. Не про альтернативы Дарвину и Ламарку. А про то, что вообще считается эволюцией. Сама идея эволюции связана с идеей прогресса, как я понимаю, но из довольно молодой доктрины, без которой человек жил достаточно долго. Эволюция — это некое развитие, движение вперед. Именно на эволюцию биология и молекулярная генетика смотрят как-то иначе.

Константин Северинов: Хороший, глубокий вопрос. Сколько людей, столько пониманий. В моем понимании, эволюция — это механизм, который обеспечивает существующее разнообразие жизни на Земле. А о том, как это возникло, вы можете сказать, что Бог все создал, и оно потом оставалось неизменным — это одна точка зрения. Или вы можете сказать, что разнообразие возникло по какой-то естественной причине, за счет действия какого-то механизма. Если вы не верите в естественное стремление к прогрессу, то разнообразие должно возникать каким-то механистическим образом без изобретения дополнительных сущностей. И этот механизм и есть эволюция. Продуктом этого механизма и является видимое разнообразие. А прогресс... что это такое?

Вопрос из зала: Эволюция? Что лучше?

Константин Северинов: Нет, здесь вопрос не в том, что лучше. Эволюция – это не оценочная категория, просто она идет.

Вопрос из зала: То есть у вас нет критериев, отличающих эволюцию от деградации?

Борис Долгин: То есть для вас не антонимы эволюция и деградация?

Константин Северинов: Нет, более того, есть ряд случаев, когда эволюция идет по упрощению — это не плохо и не хорошо. Это такой способ существования белковых тел, увеличение приспособленности.

Вопрос из зала: То есть эволюция — это просто изменение? любое?

Константин Северинов: Да. Прогресс, понимаемый нами как усложнение организации с нами на вершине, – это есть побочный результат эволюции. Это не есть ее цель.

Спасибо большое.

В циклах “Публичные лекции “Полит.ру” и “Публичные лекции “Політ.іа” выступили:

Ссылки активные. Для перехода по ссылкам нажмите Ctrl и щелкните по ссылке левой кнопкой мыши.

- *Ефим Рачевский. Школа как социальный лифт*
- *Александра Гнатюк. Архитекторы польско-украинского взаимопонимания межвоенного периода (1918 – 1939)*
- *Владимир Захаров. Экстремальные волны в природе и в лаборатории*
- *Сергей Неклюдов. Литература как традиция*
- *Яков Гилинский. По ту сторону запрета: взгляд криминолога*
- *Даниил Александров. Средние слои в транзитных постсоветских обществах*
- *Татьяна Нефедова, Александр Никулин. Сельская Россия: пространственное сжатие и социальная поляризация*
- *Александр Зинченко. Пуговицы из Харькова. Все, что мы не помним про украинскую Катынь*
- *Александр Марков. Эволюционные корни добра и зла: бактерии, муравьи, человек*
- *Михаил Фаворов. Вакцины, вакцинация и их роль в общественном здравоохранении*
- *Василий Загнитко. Вулканическая и тектоническая активность Земли: причины, последствия, перспективы*
- *Константин Сонин. Экономика финансового кризиса. Два года спустя*
- *Константин Сигов. Кто ищет правду? “Европейский словарь философии”?*
- *Михаил Кацнельсон. Кванты, нано и графен*
- *Микола Рябчук. Украинская посткоммунистическая трансформация*
- *Михаил Гельфанд. Биоинформатика: молекулярная биология между пробиркой и компьютером*

- Дмитрий Тренин. Россия и новая Восточная Европа
- Константин Северинов. Наследственность у бактерий: от Ламарка к Дарвину и обратно
- Мирослав Попович. Проблема ментальности
- Михаил Черныш, Елена Данилова. Люди в Шанхае и Петербурге: эпоха больших перемен
- Евгений Сверстюк. Диссидентство – вечный феномен
- Мария Юдкевич. Где родился, там и пригодился: кадровая политика университетов
- Николай Андреев. Математические этюды – новая форма традиции
- Дмитрий Тренин. Модернизация внешней политики России
- Дмитрий Бак. "Современная" русская литература: смена канона
- Сергей Попов. Гипотезы в астрофизике: чем темное вещество лучше НЛО?
- Вадим Скуратовский. Киевская литературная среда 60-х – 70-х годов прошлого века
- Владимир Дворкин. Стратегические вооружения России и Америки: проблемы сокращения
- Павел Уваров. Реванш социальной истории
- Алексей Лидов. Византийский миф и европейская идентичность
- Наталья Яковенко. Концепция нового учебника украинской истории
- Андрей Ланьков. Модернизация в Восточной Азии, 1945 — 2010 гг.
- Роман Лейбов. Современная литература и Интернет
- Сергей Случ. Зачем Сталину был нужен пакт о ненападении с Гитлером
- Гузель Удумбекова. Уроки реформ российского здравоохранения
- Джошуа Райт. Антитраст: экономисты против политиков
- Рубен Мнацаканян. Высшее образование после перелома
- Андрей Рябов. Промежуточные итоги и некоторые особенности постсоветских трансформаций
- Владимир Четвернин. Современная юридическая теория либертаризма
- Николай Дронин. Изменение глобального климата и Киотский протокол: итоги десятилетия
- Юрий Пивоваров. Исторические корни русской политической культуры
- Александр Филиппов. Дискурсы о государстве
- Юрий Пивоваров. Эволюция русской политической культуры
- Павел Печенкин. Документальное кино как гуманитарная технология
- Вадим Радаев. Революция в торговле: влияние на жизнь и потребление
- Егор Гайдар. Смуты и институты
- Анатолий Вишневецкий. Конец североцентризма
- Алек Эпштейн. Почему не болит чужая боль? Память и забвение в Израиле и в России
- Татьяна Черниговская. Как мы мыслим? Разноязычие и кибернетика мозга
- Сергей Алексащенко. Год кризиса: что случилось? что сделано? чего ждать?
- Алексей Миллер. Историческая политика: update
- Владимир Пастухов. Сила взаимного отталкивания: Россия и Украина — две версии одной трансформации
- Александр Юрьев. Психология человеческого капитала в России
- Андрей Зорин. Гуманитарное образование в трех национальных образовательных системах
- Александр Аузан. Национальная формула модернизации
- Владимир Плунгян. Почему современная лингвистика должна быть лингвистикой корпусов
- Никита Петров. Преступный характер сталинского режима: юридические основания
- Сергей Чебанов. Рефренность мира
- Андрей Зубов. Восточноевропейский и постсоветский пути возвращения к плюралистической государственности
- Виктор Живов. Русский грех и русское спасение
- Виктор Вахитайн. Конец социологизма: перспективы социологии науки
- Теодор Шанин. О жизни и науке
- Яков Паппэ. Российский крупный бизнес в период кризиса
- Евгений Онищенко. Конкурсная поддержка науки: как это происходит в России
- Николай Петров. Российская политическая механика и кризис

- Александр Аузан. Общественный договор: взгляд из 2009 года
- Сергей Гурьев. Как изменит кризис мировую экономику и экономическую науку
- Александр Асеев. Академгородки как центры науки, образования и инноваций в современной России
- Олег Мудрак. Язык во времени. Классификация тюркских языков
- Тамара Морщакова. Правосудие: результаты и перспективы реформ
- Амитай Этциони. Новая глобальная архитектура: механизмы перехода
- Ростислав Капелюшников. Конец российской модели рынка труда
- Сергей Иванов. Второй Рим глазами Третьего: Эволюция образа Византии в российском общественном сознании
- Даниил Александров. Школа как место национальной сборки
- Евгений Гонтмахер. Социальная политика в контексте российского кризиса
- Вадим Волков. Трансформация российского государства после 2000 года
- Лев Лифшиц. Что и зачем мы охраняем? Ценностная структура объекта культурного наследия
- Максим Кронгауз. Язык и коммуникация: новые тенденции
- Павел Уваров. У истоков университетской корпорации
- Владимир Бобровников. Безбожники рисуют ислам: советская (анти)религиозная пропаганда в комментариях востоковеда
- Владислав Иноземцев. Сценарии посткризисного развития России
- Алексей Левинсон. Средний класс и кризис
- Марина Бутовская. Эволюционные основы агрессии и примирения у человека
- Николай Розов. Циклы истории России: порождающий механизм и контекст мировой динамики
- Алексей Миллер. Понятие “нация” и “народность” в России XIX века
- Леонид Ионин. Социокультурные последствия кризиса
- Елена Зубкова. Сталинский проект в Прибалтике
- Александр Долгин. Перепроизводство свободы как первопричина кризиса
- Публичное обсуждение. Климатический кризис: вызов России и миру
- Татьяна Черниговская. Язык и сознание: что делает нас людьми?
- Георгий Касьянов. “Национализация” истории в Украине
- Игорь Кон. Раздельное обучение: плюсы и минусы
- Константин Сонин. Экономика финансового кризиса
- Адам Михник. Польша, Россия, Европа
- Ольга Бессонова. Образ будущего России в контексте теории раздаточной экономики
- Александр Кынев. Результаты региональных выборов и тенденции политического процесса
- Александр Аузан. Национальные ценности и российская модернизация: пересчет маршрута
- Леонид Григорьев. Как нам жить с мировым финансовым кризисом
- Евсей Гурвич. Институциональные факторы экономического кризиса
- Дмитрий Тренин. Мир после Августа
- Анатолий Ремнев. Азиатские окраины Российской империи: география политическая и ментальная
- Светлана Бурлак. О неизбежности происхождения человеческого языка
- Лев Гудков. Проблема абортивной модернизации и морали
- Евгений Штейнер. Ориентальный миф и миф об ориентализме
- Михаил Цфасман. Судьбы математики в России
- Наталья Душкина. Понятие “подлинности” и архитектурное наследие
- Сергей Пашин. Какой могла бы быть судебная реформа в современной России
- Ольга Крыштановская. Российская элита на переходе
- Эмиль Паин. Традиции и квазитрадиции: о природе российской “исторической колеи”
- Григорий Ревзин. Современная московская архитектура

- Алексей Миллер. “Историческая политика” в Восточной Европе: плоды вовлеченного наблюдения
- Светлана Боринская. Молекулярно-генетическая эволюция человека
- Михаил Гельфанд. Геномы и эволюция
- Джонатан Андерсон. Экономический рост и государство в Китае
- Кирилл Еськов. Палеонтология и макроэволюция
- Элла Панеях. Экономика и государство: подходы социальных наук
- Сергей Неклюдов. Предмет и методы современной фольклористики
- Владимир Гельман. Трансформация российской партийной системы
- Леонид Вальдман. Американская экономика: 2008 год
- Сергей Зуев. Культуры регионального развития
- Публичное обсуждение. Как строить модернизационную стратегию России
- Григорий Померанц. Возникновение и становление личности
- Владимир Кантор. Российское государство: империя или национализм
- Евгений Штейнер. Азбука как культурный код: Россия и Япония
- Борис Дубин. Культуры современной России
- Андрей Илларионов. Девиация в общественном развитии
- Михаил Блинкин. Этиология и патогенез московских пробок
- Борис Родоман. Автомобильный тупик России и мира
- Виктор Каплун. Российский республиканизм как социо-культурная традиция
- Александр Аузан. Национальные ценности и конституционный строй
- Анатолий Вишневский. Россия в мировом демографическом контексте
- Татьяна Ворожейкина. Власть, собственность и тип политического режима
- Олег Хархордин. Что такое республиканская традиция
- Сергей Рыженков. Российский политический режим: модели и реальность
- Михаил Дмитриев. Россия-2020: долгосрочные вызовы развития
- Сергей Неклюдов. Гуманитарное знание и народная традиция
- Александр Янов. Николай Данилевский и исторические перспективы России
- Владимир Ядов. Современное состояние мировой социологии
- Дмитрий Фурман. Проблема 2008: общее и особенное в процессах перехода постсоветских государств
- Владимир Мартынов. Музыка и слово
- Игорь Ефимов. Как лечить разбитые сердца?
- Юхан Норберг. Могут ли глобальные угрозы остановить глобализацию?
- Иванов Вяч. Вс. Задачи и перспективы наук о человеке
- Сергей Сельянов. Кино 2000-х
- Мария Амелина. Лучше поздно чем никогда? Демократия, самоуправление и развитие в российской деревне
- Алексей Лидов. Иеротопия. Создание сакральных пространств как вид художественного творчества
- Александр Аузан. Договор-2008: новый взгляд
- Энн Эпплбаум. Покаяние как социальный институт
- Кристоф Агитон. Сетевые сообщества и будущее Интернет технологий. Web 2.0
- Георгий Гачев. Национальные образы мира
- Дмитрий Александрович Пригов. Культура: зоны выживания
- Владимир Каганский. Неизвестная Россия
- Алексей Миллер. Дебаты о нации в современной России
- Алексей Миллер. Триада графа Уварова
- Алексей Малашенко. Ислам в России
- Сергей Гуриев. Экономическая наука в формировании институтов современного общества
- Юрий Плюснин. Идеология провинциального человека: изменения в сознании, душе и поведении за последние 15 лет

- Дмитрий Бак. Университет XXI века: удовлетворение образовательных потребностей или подготовка специалистов
- Ярослав Кузьминов. Состояние и перспективы гражданского общества в России
- Андрей Ланьков. Естественная смерть северокорейского сталинизма
- Владимир Клименко. Климатическая сенсация. Что нас ожидает в ближайшем и отдаленном будущем?
- Михаил Юрьев. Новая Российская империя. Экономический раздел
- Игорь Кузнецов. Россия как контактная цивилизация
- Андрей Илларионов. Итоги пятнадцатилетия
- Михаил Давыдов. Столыпинская аграрная реформа: замысел и реализация
- Игорь Кон. Мужчина в меняющемся мире
- Александр Аузан. Договор-2008: повестка дня
- Сергей Васильев. Итоги и перспективы модернизации стран среднего уровня развития
- Андрей Зализняк. Новгородская Русь (по берестяным грамотам)
- Алексей Песков. Соревновательная парадигма русской истории
- Федор Богомолов. Новые перспективы науки
- Симон Шноль. История российской науки. На пороге краха
- Алла Язькова. Южный Кавказ и Россия
- Теодор Шанин, Ревекка Фрумкина и Александр Никулин. Государства благих намерений
- Нильс Кристи. Современное преступление
- Даниэль Дефер. Трансфер политических технологий
- Дмитрий Куликов. Россия без Украины, Украина без России
- Мартин ван Кревельд. Война и современное государство
- Леонид Сюкияйнен. Ислам и перспективы развития мусульманского мира
- Леонид Григорьев. Энергетика: каждому своя безопасность
- Дмитрий Тренин. Угрозы XXI века
- Модест Колеров. Что мы знаем о постсоветских странах?
- Сергей Шишкин. Можно ли реформировать российское здравоохранение?
- Виктор Полтерович. Искусство реформ
- Тимофей Сергейцев. Политическая позиция и политическая деятельность
- Алексей Миллер. Империя Романовых и евреи
- Григорий Томчин. Гражданское общество в России: о чем речь
- Александр Ослон. Общественное мнение в контексте социальной реальности
- Валерий Абрамкин. “Мента тюрьма корежит круче арестанта”
- Александр Аузан. Договор-2008: критерии справедливости
- Александр Галкин. Фашизм как болезнь
- Бринк Линдси. Глобализация: развитие, катастрофа и снова развитие...
- Игорь Клямкин. Приказ и закон. Проблема модернизации
- Мариэтта Чудакова. XX век и XX съезд
- Алексей Миллер. Почему все континентальные империи распались в результате I мировой войны
- Леонид Вальдман. Американская экономика: 2006 год
- Эдуард Лимонов. Русская литература и российская история
- Григорий Гольц. Происхождение российского менталитета
- Вадим Радаев. Легализация бизнеса: баланс принуждения и доверия
- Людмила Алексеева. История и мировоззрение правозащитного движения в СССР и России
- Александр Пятигорский. Мифология и сознание современного человека
- Александр Аузан. Новый цикл: Договор-2008
- Николай Петров. О регионализме и географическом кретинизме
- Александр Архангельский. Культура как фактор политики
- Виталий Найшуль. Букварь городской Руси. Семантический каркас русского общественно-политического языка

- Даниил Александров. Ученые без науки: институциональный анализ сферы
- Евгений Штейнер. Япония и японщина в России и на Западе
- Лев Якобсон. Социальная политика: консервативная перспектива
- Борис Салтыков. Наука и общество: кому нужна сфера науки
- Валерий Фадеев. Экономическая доктрина России, или Почему нам придется вернуть глобальное лидерство
- Том Палмер. Либерализм, Глобализация и проблема национального суверенитета
- Петр Мостовой. Есть ли будущее у общества потребления?
- Илья Пономарев, Карин Клеман, Алексей Цветков. Левые в России и левая повестка дня
- Александр Каменский. Реформы в России с точки зрения историка
- Олег Мудрак. История языков
- Григорий Померанц. История России в свете теории цивилизаций
- Владимир Клименко. Глобальный Климат: Вчера, сегодня, завтра
- Евгений Ясин. Приживется ли у нас демократия
- Татьяна Заславская. Человеческий фактор в трансформации российского общества
- Даниэль Кон-Бендит. Культурная революция. 1968 год и “Зеленые”
- Дмитрий Фурман. От Российской империи до распада СНГ
- Рифат Шайхутдинов. Проблема власти в России
- Александр Зиновьев. Постсоветизм
- Анатолий Вишневский. Демографические альтернативы для России
- Вячеслав Вс. Иванов. Дуальные структуры в обществах
- Яков Паппэ. Конец эры олигархов. Новое лицо российского крупного бизнеса
- Альфред Кох. К полемике о “европейскости” России
- Леонид Григорьев. “Глобус России”. Экономическое развитие российских регионов
- Григорий Явлинский. “Дорожная карта” российских реформ
- Леонид Косалс. Бизнес-активность работников правоохранительных органов в современной России
- Александр Аузан. Гражданское общество и гражданская политика
- Владислав Иноземцев. Россия и мировые центры силы
- Гарри Каспаров. Зачем быть гражданином (и участвовать в политике)
- Андрей Илларионов. Либералы и либерализм
- Ремо Боден. Политика и принцип нереальности
- Михаил Дмитриев. Перспективы реформ в России
- Антон Данилов-Данильян. Снижение административного давления как гражданская инициатива
- Алексей Миллер. Нация и империя с точки зрения русского национализма. Взгляд историка
- Валерий Подорога. Философия и литература
- Теодор Шанин. История поколений и поколенческая история России
- Валерий Абрамкин и Людмила Альперн. Гюрма и Россия
- Александр Неклесса. Новый интеллектуальный класс
- Сергей Кургинян. Логика политического кризиса в России
- Бруно Гроппо. Как быть с “темным” историческим прошлым
- Глеб Павловский. Оппозиция и власть в России: критерии эффективности
- Виталий Найшуль. Реформы в России. Часть вторая
- Михаил Тарусин. Средний класс и стратификация российского общества
- Жанна Зайончковская. Миграционная ситуация современной России
- Александр Аузан. Общественный договор и гражданское общество
- Юрий Левада. Что может и чего не может социология
- Георгий Сатаров. Социология коррупции (к сожалению, по техническим причинам большая часть записи лекции утеряна)
- Ольга Седакова. Посредственность как социальная опасность
- Александр Лившиц. Что ждет бизнес от власти

- Евсей Гурвич. Что тормозит российскую экономику
- Владимир Слипченко. К какой войне должна быть готова Россия
- Владмир Каганский. Россия и регионы — преодоление советского пространства
- Борис Родоман. Россия — административно-территориальный монстр
- Дмитрий Орешкин. Судьба выборов в России
- Даниил Дондурей. Террор: Война за смысл
- Алексей Ханютин, Андрей Зорин “Водка. Национальный продукт № 1”
- Сергей Хоружий. Духовная и культурная традиции России в их конфликтном взаимодействии
- Вячеслав Глазычев “Глубинная Россия наших дней”
- Михаил Блинкин и Александр Сарычев “Российские дороги и европейская цивилизация”
- Андрей Зорин “История эмоций”
- Алексей Левинсон “Биография и социография”
- Юрий Шмидт “Судебная реформа: успехи и неудачи”
- Александр Аузан “Экономические основания гражданских институтов”
- Симон Кордонский “Социальная реальность современной России”
- Сергей Сельянов “Сказки, сюжеты и сценарии современной России”
- Виталий Найшуль “История реформ 90-х и ее уроки”
- Юрий Левада “Человек советский”
- Олег Генисаретский “Проект и традиция в России”
- Махмут Гареев “Россия в войнах XX века”
- Виталий Найшуль “История реформ 90-х и ее уроки”
- Махмут Гареев “Россия в войнах XX века”