

Как човекът прочете своя геном?

Иван Иванов

Двамата мъже имаха моралното право да сторят това, тъй като именно американските и британските учени дешифрираха повече от 90 % от генома, а само на САЩ това струваше повече от 3 млрд. долара. Какво точно бе извършено и какво е неговото значение за науката и човечеството, това двамата политици не знаеха, но те бяха убедени, че е постигнато

нещо значимо и че парите, които са вложени, не са отишли напразно.

Материята, свързана със секвенирането на генома, е твърде сложна, за да бъде разбрана от неспециалистите, поради което си поставихме нелеката задача да представим това велико научно постижение в достъпна и разбираема форма.

Мегaproектът „Човешки геном“: предпоставки за планиране и стартиране

Идеята да се разчете човешкият геном принадлежи на видния американски молекулярен биолог Робърт Съншиймър (Sinsheimer). Като ректор на Калифорнийския университет в Санта Круз в края на 80-те години той решава, че е дошло време за значим национален проект в областта на медико-

На 26 юни 2000 г. американският президент Бил Клинтън и британският премиер Тони Блеър, чрез телемост Вашингтон–Лондон, обявиха пред света триумфа на човечеството в областта на медико-биологичните науки за XX в. – секвенирането на човешкия геном, т.е. прочитането на всичките негови 3 млрд. азотни бази, чрез които е кодирана нашата същност, а донякъде и нашата съдба.

биологичните науки, подобен на тези, разработвани в областта на физическите и космическите науки. Проект, който не само да обедини знанията и уменията на многобройните американски учени, но и да донесе на човечеството научни резултати, които поотделно (разпокъсано) не биха могли да се получат. Според него за медико-биологията няма нищо по-значимо

от самия човек и в частност неговия геном. След обсъждане на идеята с водещи молекулярни биолози, между които и Джеймс Уотсън (Watson) (един от авторите на двойноспиралния модел на ДНК), той срещнал пълна подкрепа. Освен учените Съншиймър успява да заинтригува и директора на Департамента по енергетика Чарлз де Лиси (De Lisi), който освен че е негов личен приятел, по това време управлява и огромни финансови средства. Като начало министърът се съгласява да осигури финансиране за един подготвителен проект, свързан с картирането на човешките хромозоми. Проектът започва с „летящ старт“, което е стимул за официалното внасяне на основния проект „Човешки геном“ в Националните институти за здравето (NIH) и



Иван Иванов е молекулярен биолог, чл.-кореспондент на БАН (2004), професор (1990), доктор на биологичните науки (1989), зам.-директор на Института по молекулярна биология (1999 – 2003) и негов директор (2003 – 2005). Притежател на 22 патента (от тях 3 европейски). Научните му интереси са в областта на молекулярната биология, биохимията, биотехнологиите, биоинформатиката, геномиката. Разработва технология за производство на човешки гама-интерферон, на чиято база са създадени два оригинални лекарствени препарата (Gammapheron и Vrofgel) за лечение на очни и кожни вирусни инфекции.

Сената на САЩ. Проектът е одобрен като 15-годишен и за него е гласувана баснословната субсидия от 3 млрд. щатски долара. Как е изчислена сумата? Много просто. Цената на една „прочетена“ база в ДНК съгласно прилагания по това време метод за секвениране на ДНК е 1 долар, а предполагаемият размер на човешкия геном е около 3 млрд. азотни бази.

Във връзка с реализацията на проекта NIH взема решение да създаде специализиран институт в Колд Спринг Харбър, чийто пръв директор през 1988 г. става Джеймс Уотсън. Към проекта проявява интерес и самият автор на метода за секвенционен анализ на ДНК Фредерик Сангър (Sanger) – двукратен Нобелов лауреат за наука, и Сигни Бренър (Brenner), директор на Медицинския изследователски център (MRC) в Кеймбридж, Великобритания. За присъединяване на Обединеното кралство към проекта „Чо-

вешки геном“ през 1989 г. Маргарет Тачър (Thatcher) отпуска на MRC субсидия от 11 млн. лири стерлинги, а по-късно финансирането е поето от фармацевтичния гигант „Уелкъм Тръст“ (Wellcome Trust), който през 1996 г. построява и голям Център за изследване на генома в Кеймбридж, наречен на името на Фредерик Сангър (Sanger Center). До 2000 г. „Уелкъм Тръст“ субсидира проекта с 210 млн. английски лири.

През 90-те години към проекта „Човешки геном“ последователно се присъединяват (със собствено финансиране) и изследователски звена от Канада, Германия, Франция, Япония и Китай. Делът на последните като субсидия и научен принос се изчислява на около 10 %, а на САЩ и Великобритания – съответно на 60 и 30 %. Така проектът, започнал първоначално като национален (американски), скоро се превърна в най-крупния международен проект в историята на медико-биологичните науки. За неговото ръководство е създаден Международен консорциум с представителството на всички партньори. Създаден е също така и голям компютърен център към Университета „Джон Хопкинс“ в Балтимор, преместен впоследствие в Университета на Торонто (Канада). Общият брой на организациите (университети и институти), участващи в проекта, е 20, а броят на преките изпълнители – над 3000 високкоквалифицирани специалисти с различни специалности и научни звания.

При стартирането на проекта Международният консорциум взе важно решение – всички резултати да станат достояние и безвъзмездно достъпни (чрез Интернет) за цялата научна общност. Те решиха също, че никакви ДНК-последователности, изолирани и идентифицирани в рамките на проекта, няма да бъдат патентовани или защитавани по друг начин.

Оценявайки ретроспективно фактите и анализирайки историята на проекта „Човешки геном“, стигаме до извода, че той можеше да стартира по-късно, но не и по-рано. Причината е, че за да се пристъпи към секвенирането на такъв гигантски геном, трябваше да се натрупа достатъч-



Робърт Съншиймър



Крейг Винтър – основател на Celera Genomics и ръководител на алтернативния проект „Човешки геном“



Фредерик Сангър – автор на „дидезокси“ метода за секвенционен анализ на ДНК и двукратен носител на Нобелова награда за наука (1958 и 1980 г.)



Джеймс Уотсън е съавтор (заедно с Франсис Крик) на двойноспиралния модел на ДНК, носител на Нобелова награда за 1963 г. и първи директор на Човешкия геномен център в Колд Спринг Харбър (1988)

но експериментален опит по изучаване на първичната структура на ДНК, да се създават бързи и надеждни секвениращи машини, да се появят суперкомпютрите и да се разработят програми за тях. Проектът стана възможен и благодарение на това, че учените превъзможнаха своя индивидуализъм и осъзнаха, че големи научни открития вече могат да се правят само чрез обединените усилия на много изследователи от цял свят. Така на практика бе потвърдена великата мисъл на А. П. Чехов, че „не може да има национална наука, както не може да има национални таблици за умножение“. За мегапроекта „Човешки геном“ допринесе и фактът, че след 1990 г. „желязната завеса“ вече я нямаше, а с това бе освободен огромен финансов ресурс от сферата на отбраната, който в САЩ разумно беше насочен към науката.

Фази на проекта „Човешки геном“

Международният проект бе одобрен като 15-годишен със следните три работни фази:

Първа фаза, планирана да завърши до края на 2000 г., предвиждаше секвениране на повече от 90 % от генома, от който 1/3 в краен (завършен) вариант и 2/3 в работен. Какво означава „завършен“ и „работен“ вариант в ДНК-секвенирането? Съгласно проекта пълната нуклеотидна последователност на човешкия геном трябваше да бъде „сглобена“ от нуклеотидните последователности на множество ДНК-фрагменти (клонове) с различна дължина. Тъй като при тяхното секвениране са възможни грешки, една нуклеотидна последователност се приема за достоверна само след **многократно** секвениране. Смята се, че 8 – 10-кратното прочитане на една и съща ДНК-последователност гарантира 99,99 % достоверност, а 3 – 5-кратното – 98 – 99 %. В последния случай нуклеотидната последователност се смята за „работна“ (draft).

Втора фаза, включваща окончателното завършване на секвенирането на човешкия геном, трябваше да завърши през 2003 г.

Третата фаза, с краен срок 2005 г., включваше идентифициране на функци-

ите на поне 90 % от човешките гени. За успешната реализация на тази фаза обаче са необходими нови методи и технически средства, които са извън сферата на **геномиката** и са в предмета на дейност на **протеомиката** (наука за изучаване на **протеома**, т.е. пълния набор от белтъци, характерен за дадената клетка или организъм).

Стратегия за секвенирането на човешкия геном

Международният консорциум възприе стратегията „клон по клон секвениране“, която се състои в следното:

- Ензимно накъсване на геномната ДНК до фрагменти с дължина 150 000 – 200 000 нг.

- Клониране на фрагментите във вектори, наречени бактериални изкуствени хромозоми (BAC).

- Физическо картиране на BAC-клоновете с помощта на ендонуклеази.

- Определяне принадлежността на BAC-клоновете към съответните човешки хромозоми (чрез *in situ* хибридизация).

- Допълнително накъсване на BAC-клоновете до фрагменти с дължина 1500 нг и повторно клониране в плазмидни или фагови вектори.

- Секвениране на случайни (1500 нг) клонове.

- Компютърно „сглобяване“ на нуклеотидната последователност на BAC-клоновете въз основа на тази на съставлящите ги по-малки клонове.

- Компютърно възстановяване на нуклеотидната последователност на всяка от 24-те човешки хромозоми чрез „снаждане“ на нуклеотидните последователности на съответните BAC-клонове.

- Определяне на пълната нуклеотидна последователност на генома като сума от геномите на отделните хромозоми.

Изпълнението на проекта „Човешки геном“

Както вече беше казано, през 2000 г. президентът на САЩ и премиерът на Великобритания тържествено обявиха дешифрирането на човешкия геном, а научните ре-

зултати бяха публикувани под заглавието „Initial sequencing and analysis of the human genome“ в престижното научно списание *Nature* половин година по-късно (*Nature* **409**, 2001, р. 860). Възторгът беше голям и макар че научното постижение бе отразено като водеща новина от всички световни медии под заглавия като „Човешкият геном е дешифриран“, само специалистите знаеха, че всъщност Международният консорциум отчита Фаза I на мегапроекта „Човешки геном“. Съгласно работната програма това означаваше, че едва около 30 % от генома са окончателно секвенирани, а останалата част е или неясна, или се намира в работна фаза. Пълното секвениране беше задача на Фаза II. Тук ще отбележим, че за разлика от Фаза I, която завърши в срок, резултатите от окончателното секвениране бяха публикувани през 2007 г., т.е. 4 години по-късно от първоначално определения срок. А какво става с Фаза III? Както вече казахме, нейната задача бе да хвърли светлина върху функциите на човешките гени и тя бе наивно планирана да завърши през 2005 г. Свързването на гените с техните функции се оказва трудна задача и днес никой сериозен учен не би се ангажирал да предвиди кога ще стане това. Към днешна дата са доказани функциите на по-малко от 10 % от човешките гени, макар че благодарение на биоинформатиката за повечето от тях вече са определени някакви хипотетични функции.

По-важни резултати от дешифрирането на човешкия геном

Първият въпрос, който интересуваше специалистите, работещи в областта на човешката генетика, беше: Какъв е размерът на човешкия геном? Благодарение на старите (класически) методи за изучаване на генома се знаеше, че той се състои от около 3 млрд. нуклеотидни двойки, но точният им брой можеше да се определи само чрез пълно секвениране. Международният консорциум докладва, че човешкият геном се състои от 3,2 млрд. нуклеотидни двойки (3,2 гигабази).

С не по-малък интерес се очакваше и броят на гените в генома. Според по-стари

изследвания той варира между 50 000 и 150 000. След секвенирането на генома стана ясно, че човешките гени са около 31 000, но дори и този брой не е окончателен.

Как в океан от нуклеотиди (азотни бази) могат да се идентифицират структурните гени на човека? За целта бяха използвани 3 различни, на взаимно допълващи се подхода: а) Определяне на местоположението на т.нар. CpG-острови, за които се знае, че се съдържат в промоторните области на белтък-кодиращите гени; б) Анализ на отворените рамки на четене, т.е. идентифициране на нуклеотидни последователности, в които инициаторният ATG кодон се намира в рамка на четене с един от трите стоп-кодона TAA, TAG или TGA; в) Сравняване на нуклеотидните последователности на предполагаемите гени с тези на вече известните човешки и животински гени.

Освен белтък-кодиращите гени човешкият геном съдържа и 200 гени за рибозомните РНК (рРНК), 497 гени за транспортните РНК (тРНК), както и такива за множество малки рибонуклеинови киселини. Интересно е да отбележим, че общият обем на всички гени в човешкия геном е едва 1 – 1,5 % от генома. Тогава възниква въпросът: Какво представлява останалата част от генома?

Отдавна (от 70-те години на миналия век) се знаеше, че човешката ДНК съдържа повторени ДНК-последователности с неясни функции. Тогава повторената ДНК се деляше на високо, средно и ниско повторена, а общото ѝ съдържание се оценяваше на 30 – 40 %. Знаеше се също, че повторите биват разпръснати и сгрупирани. Със секвенирането на човешкия геном стана възможно тези последователности да бъдат преброени и локализирани върху картите на човешките хромозоми.

Днес повторените ДНК-последователности имат друга класификация и се делят на: **транспозони** и **транспозон-подобни елементи**, **прости повтори** и **повтори, получени чрез сегментна дупликация**. Общото съдържание на повторени ДНК-последователности в човешкия геном е 53 %. За сравнение ще кажем, че съдържанието на повтори в генома на хлебните дрожди *S. cerevisiae* е по-малко от 1 %, на винената мушица *D. melanogaster* –

3,1 %, на червейчето *C. elegans* – 6,5 %, а на цветното растение *A. thaliana* – 10,5 %. Това показва, че нарастването на човешкия геном в еволюцията е станало главно за сметка на увеличаването на повторената ДНК в него.

Наличието на 31 000 гена в човешкия геном обаче съвсем не означава, че човешките протеом се състои от същия брой белтъци. А възможно ли е той да бъде различен, щом дълго време се смяташе, че един ген кодира един белтък? Тук е мястото да кажем, че това е стара концепция, която бе опровергана след откриването на явлението алтернативен сплайсинг. Както вече беше отбелязано, човешките гени се състоят от множество екзони и интрони, като последните се изрязват след преписване на генетичната информация от ДНК в РНК. Именно тук е възможен различен начин на снаждане на екзоните, при което от един ген могат да се получат няколко информационни РНКи, кодиращи различни белтъци. С други думи, един ген може да кодира повече от един белтък. Анализът на човешките гени показва, че за повече от 60 % от тях е възможен алтернативен сплайсинг. Това дава основание да се допусне, че броят на човешките белтъци е от порядъка на 80 000 – 120 000. Броят на гените с потенциален алтернативен сплайсинг при нисшите многоклетъчни организми (насекоми, червеи, растения и др.) е значително по-малък (около 20 %) и следователно при тях броят на белтъците е по-близък до този на белтък-кодиращи гени. Навярно във връзка с ползата от алтернативен сплайсинг еволюцията на човешкия геном е довела до намаляване дължината на екзоните и увеличаване на тази на интроните.

Кои от човешките гени са наши и кои са унаследени от нашите предци?

До интересни резултати доведе търсенето на хомология между човешките гени с тези на други прокариотни и еукариотни организми. То показва, че делът на чисто човешките гени в нашия геном е едва 1 %. Такаъв е и делът на откритите бактериални гени (главно гени на ензими, участващи в де-

токсикацията на ксенобиотици), които не са намерени в други еукариотни организми. Най-голям е процентът (22 %) на ДНК-последователностите, които ние споделяме с другите гръбначни.

Дешифрирането на човешкия геном позволи да се отговори и на въпроса, каква е разликата между геномите на отделните човешки индивиди. Отпреди знаехме, че всеки индивид има своя специфична генетична карта, което се дължи на специфичното разпределение на мини- и микросателитните повтори в генома (факт, широко използван в криминалистиката и съдебната медицина). В допълнение на това секвенционният анализ разкри, че за много (а вероятно за всички) човешки гени съществуват алелни варианти, изразяващи се в наличието на точкови мутации, наречени „еднонуклеотидни полиморфизми“ (single nucleotide polymorphisms), или съкратено SNPs. Много често тези полиморфизми са свързани с едни или други патологични отклонения и стоят в основата на наследствените болести. С оглед на тяхното голямо значение за медицината и генетиката през последните години беше създаден Международен консорциум за изследване и картиране на SNPs. В резултат от изследването на SNPs бе направен изводът, че генетичната разлика между два случайни човешки индивида, които нямат роднинска връзка помежду си, е 0,1 %, което съответства на около 3 млн. нуклеотидни замени. Благодарение на тази разлика ние сме индивиди, а не клонове.

Интересни резултати бяха получени след секвенирането на генома на нашия „първи братовчед“ – шимпанзето.

Сравнителният анализ на геномите на двата най-високопоставени животински вида *Homo sapiens* и *Pan troglodytes* показва, че генетичната разлика между тях е едва 1,3 %, т.е. около 13 пъти по-голяма в сравнение с тази, наблюдавана за два случайни неродствени човешки индивида.

В допълнение на това бе намерено, че 50 човешки гена (включително 3 инфламаторни) липсват при шимпанзето, което обяснява разликите в имунния и инфламаторния отговор под действие на еднакви стимули. Установе-

но беше също, че 6 области от човешкия геном, кодиращи транскрипционни фактори, са възникнали през последните 250 000 години.

Геном и хромозоми

Разчитането на човешкия геном даде възможност да се определи точният размер на човешките хромозоми, точният брой на гените в тях и да се съставят подробни генетични карти за всяка хромозома. Изследването показва, че размерът на ДНК е обратно пропорционален на номера на хромозомата, т.е. хромозомите с по-високи номера съдържат по-малко ДНК, а най-малко е тя в хромозоми № 22 и Y. Липсва обаче корелация между размера на хромозомите и броя на съдържащите се в тях гени. Прави впечатление извънредно високата генна плътност в някои средноголеми хромозоми като № 17, 19 и 20. Така например хромозома № 17 (съдържаща 70 Mb ДНК) носи толкова гени (1454), колкото и хромозома № 7, въпреки че тя е 2 пъти по-голяма от нея (168 Mb). Най-ниско е съдържанието на гени в Y хромозомата. Със секвенирането на човешкия геном се отговори окончателно на въпроса, дали хромозомите се състоят от една или множество молекули ДНК. Отговорът е една хромозома – една молекула ДНК. Изяснена беше и молекулната организация на центромерните и теломерните области на хромозомите. И двете са изградени от последователно подредени (но различни) ДНК-последователности.

Чрез изследване на генния полиморфизъм в хромозомите бяха открити както „горещи точки“ на рекомбинация, така и „рекомбинационни пустини“. Като правило по-активно рекомбинират късите рамена на хромозомите. Средната честота на рекомбинация при тях е 2 cM (сантиморгана) на 1 милион азотни бази, за разлика от дългите рамена, където честотата на рекомбинация е 1 cM на 1 Mb.

Интересни резултати са получени при изследването на Y хромозомата. Тя е уникална, без хомолог в генома и не може да рекомбинира, поради което е най-бедна на полиморфизми. Невъзможността да обменя генетична информация е причина за нейната дегенерация, довела до намаляване на обема и загуба на

голяма част от гените, които се предполага, че някога е притежавала. След екстраполация песимистично настроени изследователи на Y хромозомата достигнаха до извода, че ако нейната дегенерация продължи със същото темпо, тя ще изчезне след 160 000 години. Надеяща, че това може да не се случи, дава обстоятелството, че в нея е открита област, разположена до теломерата, която би могла да рекомбинира с определени участъци от X хромозомата. В Y хромозомата е открит и един интересен повторен блок, наречен „ампликон“, с дължина 3,5 Mb, получен чрез сегментна дупликация, който при различните мъжки индивиди се среща в различна ориентация (права или обратна). Смята се, че е възможно ориентацията на ампликона да има модулиращ ефект върху мъжкия фенотип.

Каква е ползата от секвенирането на човешкия геном?

Един от най-заинтересованите потребители на резултатите от изследването на човешкия геном и протеом е медицината. Както вече казахме, при човешките гени съществува значителен генен полиморфизъм, който много често е свързан с патологични отклонения в генните функции, проявяващи се фенотипно като болестни състояния. Засега са известни генетичните основи на сравнително малък брой (главно моногенни) наследствени заболявания, а се предполага, че те са повече от 12 000. Не е изключено и всички болести (дори инфекциозните) да имат своята наследствена предиспозиция. Ако това е така, от изключително важно значение е да се знае кои именно гени са отговорни за съответните болести.

Гените стоят в основата не само на човешките болести, но и на начина, по който действат лекарствените средства. В зависимост от структурата на гените, свързани с метаболизма и действието на лекарствата, те могат да имат по-силно или по-слабо действие, а това означава, че дозата трябва да бъде съобразена с генния статус на пациента. Какъв е той, може да каже само геномният анализ. Индивидуалният геномен анализ в комбинация с лекарствената терапия стои

в основата на персонализираната медицина, началото на която вече е поставено.

Познаването на човешкия протеом пък ще разшири възможностите за разработване на нови лекарствени средства. За сведение ще кажем, че наличните днес лекарства са насочени към около 500 човешки белтъка (ензими, рецептори, хормони и др.), а това представлява по-малко от 1 % от всички очаквани белтъци в човешкия протеом.

Засега се смята, че с раковите заболявания са свързани около 200 – 700 гена. Във връзка с тяхното идентифициране наскоро след секвенирането на човешкия геном стартира нов международен проект – **„Раков геном“**, финансиран също от „Уелкъм тръст“. Целта на проекта е да се разчетат частично или напълно геномите на голям брой раково болни и да се сравнят с

тези на здрави хора. Идентифицирането на „раковите гени“ ще позволи да се разработят по-ефективни методи за повлияване на тяхната активност или за поправяне на дефектите им чрез методите на геномтерапията.

В заключение можем да кажем, че дешифрирането на човешкия геном отвори нова страница в историята на науката и даде нова насока на изследванията в областта на биологията и медицината. Със секвенирането на човешкия геном се родиха и редица нови научни направления (някои вече самостоятелни науки) като геномика, протеомика, транскриптомика, метаболомика, биоинформатика и др. Неслучайно в историята на природните науки вече се различават две ери – предгеномна и следгеномна (постгеномна) с водораздел 2000 г. ■



Чий геном е секвениран?

Международният консорциум съставя колекция от ДНК-проби на анонимни доброволци. От тях на случаен принцип приготвя средна проба чрез смесване на 12 ДНК-проби, която е използвана за създаване на геномна библиотека от ВАС-клонове. По договореност между партньорите библиотеката е разпределена за секвениране.

Методи за разчитане на ДНК

Първите надеждни методи за секвенционен анализ на ДНК са публикувани през 1977 г. от Уолтър Джилбърт (Gilbert) (химичен метод) и Фредерик Сангър (ензимен метод, известен още като „дигезокси метод“). За своето голямо постижение и двамата са удостоени с Нобелова награда, но към днешна дата методът на Джилбърт има само историческо значение. Революцията в геномното секвениране се дължи на Сангър и неговия метод. Причината за това е, че той можа да бъде автоматизиран. В методично отношение двата метода са принципно различни. Единственото, по което си приличат, е това, че и двата използват високоразрешителна полиакриламидна гелна електрофореза за разделяне на ДНК-фрагменти.

Машины за разчитане на ДНК

Първите генни секвенатори са конструирани в началото на 80-те години, т.е. само няколко години след публикуването на „дигезокси метода“. Те почистваха на капилярната електрофореза, която позволява разделяне на ДНК-фрагменти с разлика в дължината от 1 нуклеотид, и можеха да анализират само по 1 ДНК проба на работен цикъл, продължаващ 5 – 8 часа. Максималната дължина на ДНК-секвенцията, която можеше да бъде прочетена, е 400 – 500 нуклеотида. Следващата генерация генни секвенатори са основани на електрофорезата в ултратънки полиакриламидни гелове и могат да анализират паралелно по 96 проби ДНК. Като се има предвид, че за всяка една от пробите могат да бъдат разчетени по 500 – 700



Капилярен ДНК-секвенатор ABI Prism 3730, работещ с 48 капиляра

нуклеотида, то за един производствен цикъл от 5 – 6 часа една машина може да определи нуклеотидната последователност на ДНК-проба със сумарна дължина от 60 000 нуклеотида. Специализираните центрове за секвениране на човешкия геном бяха оборудвани с десетки такива апарати и приличаха на истински фабрики. Автоматизирането на секвенционния процес понижи чувствително и неговата себестойност. Така например докато в началото на проекта цената на една определена база възлизаше на около \$1, то през 2000-та година тя беше спаднала на 1 цент. Въвеждането на секвенаторите от второ поколение значително ускори секвенционния процес. Международният консорциум отчита, че в най-натоварените периоди от изпълнението на проекта скоростта на секвенционния анализ е достигала до 1000 нуклеотида за секунда. Така, докато за периода 1990 – 1998 г. са секвенирани само 6 % от човешкия геном, то до юни 2000 г. са определени 98 – 99 % от неговата секвенция.

Секвенаторите от трето поколение, базирани на „дигезокси метода“, са отново капиларни, но вече работещи с ултратънки (50 μm) капилари с дължина 30 см. Тяхната разделителна способност е такава, че с едно зареждане могат да разчитат до 1000 нуклеотида на капилара. Познати са различни модели в зависимост от броя на капиларите (от 4 до 360 капилара).

След 2005 г. на пазара се появиха алтернативни генни секвенатори, работещи на съвършено нов принцип – пирофосфатното секвениране. Те използват върховите постижения на микротехнологиите и фиброоптичната техника и са несравними по скорост, капацитет и цена със секвенаторите, работещи по „дигезокси метода“. За сведение ще кажем, че през 2008 г. по пирофосфатния метод беше секвениран геномът на Джеймс Уотсън само за 2 месеца на цена 1,2 млн. долара, т.е около 100 пъти по-бързо и 3000 пъти по-евтино в сравнение със секвенирането на човешкия геном от Международния консорциум.

След 2010 г. IBM обяви че създава нов генен секвенатор, базиран на нанотехнологиите и най-новите постижения на микроелектрониката, който ще понижи себестойността на ДНК секвенирането до около 1000 щатски долара за геном.

Алтернативният проект „Човешки геном“

През май 1998 г. в САЩ стартира алтернативен проект за секвениране на човешкия геном под ръководството на „дясната ръка“ на Уотсън – Крейг Винтър (Venter). Преди края на Фаза I на проекта „Човешки геном“ той напуска колектива

на Уотсън и основава частната фирма „Селера Дженомикс“ (Celera Genomics) в Роквил, недалече от Вашингтон. Тя започна дейността си с 1,2 млрд. долара частен капитал с основен предмет на дейност – геномни изследвания. За разлика от Международния консорциум „Селера Дженомикс“ обяви, че нейната база данни не е безвъзмездна и че възнамерява да патентова откритите от нея ДНК-последователности. Нейната стратегия за секвениране е различна от тази на Международния консорциум. Вместо клон по клон секвениране Винтър решава да заложи на компютрите и да работи по системата shotgun, т.е. безразборно секвениране на случайни клонове. Така той заобиколи дългия път на хромозомното картиране и успя да осъществи пълно геномно секвениране само за 18 месеца. По този начин, на конкурентна основа, от 1998 г. вече вървят два проекта за секвениране на човешкия геном – един частен и един обществен. Първата фаза и за двата завърши едновременно през юни 2000 г. и резултатите бяха публикувани едновременно през януари 2001 г. в големите научни списания Nature (за Международния консорциум) и Science (за „Селера Дженомикс“). Има и още една разлика в стратегиите на двата проекта – докато първият работеше върху сборна проба ДНК, Винтър секвенираше индивидуален геном, за който по-късно се разбра, че е неговият собствен.

ЛЮБОПИТНО

Намерено е органичното съединение с най-късата химична връзка въглерод–хлор

Дължината на химичната връзка между два елемента в органичните съединения зависи от много фактори, включително и от характера на заместителите при свързаните атоми. Например връзката между атомите на въглерода и хлора в органичните съединения обикновено варира между 1,71 и 1,91 ангстрьома (един ангстрьом е равен на една десетомилионна част от милиметъра). Наскоро химици от работната група на проф. Томас Клапъотке (Thomas Klaoetke) от университета „Лудвиг-Максимилиан“ в Мюнхен откриха съединение с най-късата позната досега химична връзка въглерод–хлор в едно органично съединение. Това е хлоротринитрометанът. Връзката въглерод-хлор в него е едва 1,69 ангстрьома. Същевременно те показват, че заместителите при единия от двата свързани атома (в случая – атомът на въглерода, респ. свързаните с него нитрогрупи) оказват съществено влияние върху характе-

ристиките на химичната връзка – тази между въглерода и хлора.

Молекулата на хлоротринитрометана може да се разглежда като изградена от един атом хлор и от „псевдохалогена“ тринитрометил. От своя страна тринитрометилът се състои от един атом въглерод и три нитрогрупи и може да се разглежда като представител на групата на „псевдохалогените“. По редица свойства те действително напомнят отнасянията на халогенните елементи. Естествено, „псевдохалогените“ не са елементи, а молекули, изградени от различни химични елементи.

Първа предстоят разнородни изследвания върху строежа, свойствата и евентуалното биологично действие на хлоротринитрометана и неговите аналози.

По *scinexx.de*