

Нобелевская премия за расшифровку генома неандертальца

Г.Г. ГОНЧАРЕНКО

Рассмотрены этапы научной деятельности молекулярного генетика лауреата Нобелевской премии за 2022 г. шведского профессора Сванте Пэабо. Охарактеризованы разработанные им подходы и технологии секвенирования ДНК и расшифровки геномов в ходе исследования ископаемых останков животных, мумий и древних людей.

Ключевые слова: древняя ДНК, неандерталец, секвенирование, генный поток, палеогенетика.

The stages of the scientific activity of the molecular geneticist of the Nobel Prize laureate for 2022, Swedish professor Svante Pääbo, are considered. The approaches and technologies developed by him for DNA sequencing and genome decoding during the study of animal fossils, mummies and ancient people are characterized.

Keywords: ancient DNA, neanderthal, sequencing, gene flow, paleogenetics.



Присуждение **Нобелевских премий** традиционно проходит в первой декаде октября каждого года.

Лауреатом престижной премии в области **физиологии и медицины** в 2022 г. стал шведский **молекулярный генетик профессор Сванте Пэабо (Svante Pääbo)**. По решению Нобелевского комитета премия присуждена ему за исследования вымерших гоминид и эволюции человека, а также решающий вклад в разработку методов анализа и восстановления древней ДНК. Сванте Пэабо секвенировал геном неандертальца, а затем денисовского человека и доказал передачу неандертальских

генов от вымерших гоминид к человеку в ходе контактов между ними около 70 тыс. лет назад. Исследования Пэабо явились базовым фундаментом для формирования новой научной дисциплины – **Палеогеномики** [1].

Сванте Пэабо родился 1955-м в Стокгольме. Мать – Карин Пэабо ((Karen Pääbo) лаборант-химик, отец – известный биохимик Бергстрём (Bergstrom).

Студент, аспирант. В 1975-м Сванте поступил в Упсальский университет, где до 1977-го изучал египтологию и историю науки. Затем после окончания медицинской школы Упсальского университета в 1980-м работал врачом. С 1981-го Сванте Пэабо аспирант Упсальского университета, где под руководством профессора Петерсона (Peterson) успешно занимается молекулярной иммунологией и публикуется в ведущих журналах. При этом сохраняет привязанность к Древнему Египту. Друзьям и коллегам признается, что обожает египтологию и молекулярную биологию одновременно. Идея проанализировать ДНК египетских мумий и установить, в каком родстве фараоны друг с другом и с современными людьми, позволяет объединить интересы двух дисциплин. Однако еще никому не удавалось выделить ДНК из мертвых тканей, поскольку в них она стремительно деградирует. Бесплодные попытки найти ДНК в образцах мумий приводили Пэабо в отчаяние [1]. И все же в ушной раковине одной мумии возраста 2400 лет он обнаружил остатки клеток со следами ДНК. В статье, опубликованной в 1985-м, Пэабо подчеркнул, что ДНК в мумиях есть и по ним можно изучать отдельные гены [2]. Но статья осталась незамеченной.

В конце 1984-го в *Nature* появилась публикация сотрудников Уилсона (Wilson), ведущего эволюционного биолога из Беркли. Им удалось выделить ДНК из столетней шкуры квагги, вымершего родственника зебры. Это вдохновило Пэабо. Если уж Уилсон взялся за древнюю ДНК, то молекулярно-генетические исследования мумий будут тем более актуальными. И он отправил свою статью по ДНК мумий также в *Nature* [3].

После публикации статьи Пэабо приглашается с докладом в 1986-м на симпозиум в Колд-Спринг-Харбор – Мекку молекулярных биологов. Здесь он знакомится с Уилсоном и Мюллисом (Mullis), который представил свое открытие полимеразной цепной реакции, ПЦР [4]. Стало ясно, что для изучения древних ДНК можно использовать метод ПЦР, так как он позволяет выделять и размножать фрагменты ДНК, даже если их сохранилось очень мало. На симпозиуме Пэабо принял предложение ехать к Уилсону в постдокторантуру Университета Беркли в 1987-м для исследования ДНК вымерших животных [1].

Стажер-исследователь. В 1986-м он недолго работал в центре молекулярной биологии Цюрихского университета и в Институте изучения рака в Лондоне, где осваивал методы работы с ДНК и пытался выделить ее из материала вымершего сумчатого волка.

Постдокторантура. Весной 1987-го Пэабо переезжает в Беркли и быстро осознает, что оказался в нужном месте в нужное время. Мюллис после открытия ПЦР работал рядом в корпорации «Цэтис». Они существенно модернизировали метод и сконструировали ПЦР-машину – **амплификатор**. Поэтому Пэабо с Уилсоном сразу взяли материал вымершей квагги, запустили процесс ПЦР в амплификаторе и быстро получили отличные фрагменты мтДНК [5]. На амплификаторе можно было повторять процесс и проверять результаты снова.

За три года постдокторантуры Пэабо с коллегами удалось выделить и проанализировать древние мтДНК квагги, кенгуровой крысы, сумчатого волка тилацина и его родственников, образцы индейцев возраста 7000 лет [5], [6], [7]. Им впервые удалось установить эволюционные связи между древними и нынешними популяциями и видами. Были сделаны также важные методические выводы: не в каждом древнем остатке есть ДНК; из-за разложения удается выделять ДНК длиной только 100–200 нуклеотидов [8].

Постдокторантура подходила к концу, и перед Пэабо стал вопрос поиска работы. В Кембридже предлагали доцента, в родной Упсале исследователя-лаборанта. А из Мюнхена декан Дэвид (David) предложил должность профессора в Институте зоологии Мюнхенского университета. Это означало признание научного авторитета Пэабо и огромный карьерный рост. В январе 1990-го он приступил к новой для него работе.

Профессор зоологии. В течение трех лет, пройдя через невероятные трудности и разочарования, Пэабо консолидировал сотрудников и создал *всемирно признанную эталонную лабораторию ДНК-анализа древних и вымерших животных*. Работая с костными останками плейстоценовой лошади, Пэабо и Хёсс (Höss) в 1993-м получили последовательность ее мтДНК и доказали, что можно надежно реконструировать ДНК из костей возрастом 25 тыс. лет. Это была первая полученная последовательность ДНК доледниковых времен [9]. Разработанные ими *методы анализа древней ДНК используют до сих пор практически во всех лабораториях мира*. В 1994-м Хёсс выделил первую последовательность мтДНК сибирского мамонта из образцов четырех особей возрастом от 10 до 50 тыс. лет [10]. Полученные данные позволили не только прояснить родственные связи между мамонтами и индийским и африканским слоном, но и дали возможность проследить историю мамонтов до их вымирания около 4000 лет назад. ***У древней ДНК появилось, наконец, что отпраздновать.***

Технологии анализа древней ДНК оказались приложимы к «охранной генетике», когда в популяции остается ограниченное количество особей исчезающего вида и биоматериалом является только помет. Используя метод «кремниевого» выделения в сочетании с ПЦР Пэабо с учениками показали, что для получения ДНК дикого животного не нужно его убивать или усыплять [11]. С тех пор выделение ДНК из помета стало повсеместной практикой в области генетики редких животных.

И все же несмотря на успехи Пэабо, его не покидало желание заняться человеком. Хотя приходилось все время помнить, что он ***профессорствует на кафедре зоологии***. Поэтому все сконцентрировались на вымерших животных и их ныне живущих родственниках.

В Южной Америке обитают дву- и трехпалые ленивцы, которые живут на деревьях. В Лондонском музее хранится гигантский ленивец милодон, вымерший 10 тыс. лет назад. Используя костный фрагмент милодона, Хёсс собрал цепочку мтДНК длиной более 1000 нуклеотидов и после сравнения с аналогичными фрагментами современных ленивцев доказал, что наземные гиганты ближе к трехпалым, чем дву- и трехпалые между собой. Это однозначно говорило о том, что среди ленивцев дважды возникали древесные формы [12].

Примеры с ленивцами и сумчатыми волками – яркие случаи конвергентной эволюции, они показывают насколько ненадежно судить о родстве по морфологическому сходству [7], [12]. Об этом более точно говорит ДНК, поскольку в ней накапливаются случайные мутации, которые не влияют на морфологические признаки.

К середине 1990-х стало понятно, что можно извлечь древнюю ДНК из коллекционных образцов кожи. Это было показано на кенгуровых крысах, а также летягах, кроликах и многих других видах. В результате в ведущих музеях появились лаборатории по исследованию древней ДНК, где использовали коллекционные образцы. Криминалисты теперь могли анализировать ДНК из образцов с мест преступлений многолетней давности. На основе новых генетических данных были освобождены из тюрем невиновные, генетические улики способствовали быстрой идентификации останков и успешному обнаружению преступников. Зародилась новая область знаний – *молекулярная палеогенетика* [1], [13].

В 1991-м в Альпах нашли мумифицированные останки человека, который жил 5300 лет назад. Заняться анализом ДНК Эци, так назвали ледяного человека, предложили Пэабо. На основе выделенных фрагментов мтДНК они собрали участок в 300 нуклеотидов и установили, что он отличается от такового у европейцев двумя нуклеотидами [14].

В своей монографии «Неандерталец» Пэабо, подводя итоги, отмечает, что к 1996-му он смог предложить новые методы, которые превратили зоологические музеи в генетические банки; началось изучение генетики мамонтов, гигантских ленивцев, примитивных лошадей и других животных ледникового периода. Но не к этому стремилась его душа, он чувствовал, что *неволью превращается в зоолога*. А он хотел по ДНК изучать историю человека, но древняя человеческая ДНК не отличается от современной. И у него *зарождалась идея*, что нужно обратиться к тем, которые жили раньше Эци – *к неандертальцам* [13].

Неандерталец. В этой идее его привлекало то, что неандертальская ДНК должна отличаться от человеческой. К тому же он работал в Германии, где в долине Неандерталь впервые нашли неандертальцев вместе с типовым образцом. В Бонском музее удалось получить кусочек кости эталонного неандертальца. Пэабо доставил образец аспиранту Крингсу (Kriings) для анализа. В октябре 1996-го он получил фрагмент митохондриальной ДНК. К тому времени уже были изучены мтДНК тысяч людей со всего мира, но фрагмент из неандертальской кости не был похож ни на одну из них. Такой еще никто не видел! Они открыли шампанское. Все понимали, что открываются огромные перспективы [1], [13].

Крингс провел ПЦР-амплификацию, используя специальные праймеры, для получения отрезка мтДНК длиной в 61 нуклеотид. После ПЦР всю полученную ДНК из фрагментов в 61 нуклеотид они клонировали в бактериях. Затем, отсеквенировав ДНК из выросших бактериальных колоний, получили 17 с идентичными фрагментами, которые отличались от всех известных. Они повторили ПЦР и клонирование, взяв другой костный образец неандертальца. Получилось 10 колоний с уникальным фрагментом мтДНК. Таким образом, они могли повторять все операции и получать каждый раз ту самую последовательность мтДНК [13].

Следующим шагом была «проходка» вдоль ДНК. Для этого они использовали другие праймеры и получили 123 последовательности мтДНК разной длины. Прикладывая один фрагмент к другому, сложили мозаику в участок длиной в 379 нуклеотидов. При сравнении этого участка неандертальской мтДНК с аналогичными участками современного человека было установлено, что неандертальская мтДНК отличается от каждой из современных в среднем по 28 нуклеотидам. А фрагмент мтДНК современных людей отличается друг от друга в среднем по 7 нуклеотидам. Следовательно, неандертальские различия вчетверо больше современных [15].

Поскольку скорость мутаций в мтДНК у близких видов постоянна, то число различий в нуклеотидах можно пересчитать на количество поколений и установить время дивергенции.

Исходя из полученных данных, определили, что мт-предок всех современных людей жил 100–200 тыс. лет назад. А общий предок, давший начало и неандертальцам, и всем современным людям, существовал около 500 тыс. лет назад [15].

В рождество Пэабо отправился в Альпы на лыжные склоны. Но даже там он в мыслях сочинял статью, где *впервые* будет представлена последовательность мтДНК неандертальца. То, что предстояло описать, кружило голову сильнее, чем крутые склоны. Статью послали в журнал *Cell*, который в отличие от *Nature* и *Science* брал длинные статьи. А им хотелось описать все детально и познакомить научное сообщество со скрупулезными методами получения и анализа древней ДНК. Статья была опубликована летом 1997-го [15]. Затем была пресс-конференция. Ее цитировали на первых полосах газет, новость передавали по радио и телевидению. Пэабо до сих пор считает эту статью одной из своих лучших [1], [13].

Директор-соучредитель института. После первого триумфа осенью 1997-го Пенсильванский университет предлагает Пэабо должность профессора с соблазнительным окладом. В это же время Общество научных исследований Макса Планка (MPG) предлагает ему пост директора-соучредителя и большую свободу при организации нового института для исследования в области антропологии. Пэабо настоял на организации его в Лейпциге, где был хороший университет и куда могли приехать ведущие ученые. Базовой парадигмой для всех работ в институте должна быть эволюция, а его название – Институт эволюционной антропологии. В эту концепцию хорошо укладывались неандертальцы и человекообразные обезьяны. Упор будет сделан на изучение древней ДНК, особенно неандертальской, и реконструкцию человеческой истории на базе генетики [13].

В 1998-м его группа переместилась из Мюнхена в Лейпциг. MPG как и обещало, выделило им внушительные *средства, позволившие устроить лабораторию мечты* [1], [13]. Следующая задача просилась сама собой – определить мтДНК еще у двух неандертальцев, найденных в Хорватии и на Кавказе. Они установили, что у трех неандертальцев различались 3,7 % нуклеотидных позиций. Тот же фрагмент мтДНК у 5530 людей со всего мира различался на 3,4 %. По аналогичному фрагменту мтДНК для 359 шимпанзе разница составила 14,8 %, а для 28 горилл – 18,6 %. Таким образом, было установлено, что генетическая изменчивость неандертальцев ниже, чем у обезьян и они, как и люди, произошли от небольших популяций [16].

Данные Пэабо о существенных различиях между неандертальцами и людьми по мтДНК, опубликованные в *Cell*, подтверждали модель происхождения человека ‘из Африки’ в противовес мультирегиональной [15]. Но оставался вопрос о возможной передаче ядерных генов от неандертальцев к людям. Это стимулировало исследование ядерной ДНК.

Ядерная ДНК. Исследования по ней было поручено аспиранту Кесманну (Kaessmann). Они взяли для анализа не кодирующий участок *X-хромосомы* в 10 тыс. нуклеотидов у 60 человек со всего света и показали, что среднее число различающихся нуклеотидов составило 3,7. В том же участке у 30 особей шимпанзе различия составили 13,4 нуклеотида, а у горилл и орангутанов были даже выше. Результаты опубликовали в *Nature Genetics* и *Science*. Где подчеркнули, что изменчивость ядерной ДНК на выбранном участке у человека и обезьян сходна с установленной для мтДНК [17]–[19].

В работу по ядерной ДНК подключили Гринвуда (Greenwood), с которым безуспешно попытались выделить ее из пещерных медведей. И они переключились на замороженных мамонтов. Замораживание замедляет развитие бактерий и процессов, разрушающих ДНК. Кроме того, еще в 1994 г. Хёсс и Пэабо показали, что в мамонтах сохраняется большое количество мтДНК [10]. Они взяли ген 28SрДНК, который кодирует рибосомную РНК, и начали выделять его из зуба мамонта. В каждой клетке после смерти животного остается столько копий этого гена, сколько и мтДНК. Ген удалось амплифицировать, отсеквенировать и установить его нуклеотидную последовательность. Затем они сравнили полученную последовательность 28S с соответствующей у африканских и индийских слонов и установили, что только фрагмент африканских отличался по двум нуклеотидам. Когда датировка зуба показала 14 тыс. лет стало ясно, что *впервые получена ядерная ДНК позднего плейстоцена* [20].

После этого Гринвуд сконструировал праймеры для амплификации фрагмента гена фактора Виллебранда (vWF), кодирующего специализированный белок. Было сюрпризом, когда на семинаре он показал слайды с полосками в геле, амплифицированных фрагментов

гена мамонта. В одной из позиций он обнаружил однонуклеотидный полиморфизм (SNP). В секвенированных 30 клонх у 15 в этой позиции стояло Ц, а у 14 – Т. Таким образом, им впервые удалось обнаружить гетерозиготный ген ледникового периода [13], [20].

Несколько дней царил праздник. Затем они вернулись к пещерным медведям, и в кости возраста 33 тыс. лет после амплификации из нее генов рДНК удалось получить их небольшое количество. Они секвенировали последовательность их нуклеотидов и установили, что у пещерных медведей она идентична таковой у современных. В 1999-м все открытия Гринвуда и Пэабо были опубликованы в добротной статье в *Molecular Biology and Evolution* [20].

В целом они показали, что ядерная ДНК выдерживает более 10 тыс. лет в вечной мерзлоте, но только следы даже самого многочисленного ядерного гена сохраняется в пещерных медведях. Разница между замораживанием и хранением в пещерах была огромной.

Более 30 лет для секвенирования ДНК использовали метод, нобелевского лауреата Фреда Сэнгера (Fred Sanger) [21], [22]. Открытие **пиросеквенирования** положило начало революции, известной как **секвенирование второго поколения**, которая радикально изменила многие направления в биологии. В 2003-м компания 454 Life Sciences, основанная Ротбергом (Roche), начала автоматизировать методы пиросеквенирования.

Прелюдия к геному. В 2005-м отдел в Лейпциге посетил директор Объединенного института генома Рубин (Rubin). Он считал, что будущее за клонированием ДНК в бактериях. Пэабо отправил ему в Беркли экстракты костей пещерных медведей. Команда Рубина провела секвенирование по Сэнгеру для 14 тыс. случайно выбранных клонов и нашла, что 389 (2,7 %) содержали ДНК, принадлежавшие медведям. Суммарно они определили последовательность 26 861 нуклеотида в геноме медведя, используя одну десятую грамма костной ткани. Учитывая, что в геноме 3 млрд. нуклеотидов, исследуемую ткань при анализе придется увеличить в сотню тысяч раз [23].

В это время Ротберг вместе с 454 запустил установку, способную секвенировать сотни тысяч нуклеотидов в день. Пэабо договорился с Ротбергом начать секвенировать на их установках геномы медведей и мамонтов. Грин (Green) сравнил отсеквенированные ими сотни тысяч последовательностей ДНК с геномами собаки и слона и определил, что 73 172 разных фрагментов ДНК от мамонта и 61 667 фрагментов от пещерного медведя. То есть, один эксперимент по новой методике 454, в котором использовали только часть экстракта, дал в десять раз больше информации, чем получили в Беркли. Стало ясно, что пиросеквенирование в десять раз эффективнее, чем бактериальное клонирование. И Пэабо решил провести эксперименты по двум разным методикам *на материале реальной неандертальской ДНК* [13].

Тогда же дипломник Бриггс (Briggs), который мыслил быстрее всех, посчитал, что для секвенирования 3 млрд. нуклеотидов из медвежьего или неандертальского генома понадобится секвенировать 600 млн. бактериальных клонов. После чего сомнения отпали – клонирование по эффективности не отвечало задаче составления неандертальского генома.

В это же время исследованием палео-ДНК занимались и американцы Пойнар (Poinar) и Шустер (Schuster). Они, как и Пэабо, использовали пиросеквенирование и в начале 2006-го из вытяжек мамонтов определили последовательность 28 млн. нуклеотидов [24].

К конференции в Колд-Спринг 2006-го Пэабо получил результаты секвенирования от Ротберга и Рубина. В докладе он представил сравнение двух методик по секвенированию древней ДНК и обрисовал пути по составлению генома неандертальцев методами пиросеквенирования. Он вел доклад от мамонтов и пещерных медведей к неандертальцам и чувствовал безраздельное внимание в зале. Когда он показал последний слайд, где стрелочки указывали расположение тысяч фрагментов неандертальской ДНК, которые они прочитали, зал ахнул. Они составили всего 0,0003 % неандертальского генома, но мировой генетической элите стало ясно, что *теперь возможно прочитать геном целиком* [13].

После доклада он вернулся в номер и бросился на кровать. Да, он сделал неплохую карьеру, у него прекрасная должность, увлекательные проекты, его приглашают читать лекции со всего мира. Что же он так себя подставил? Зачем пообещал прочитать геном неандертальца? Конечно, если получится, это станет величайшим достижением. А если нет? Позор, конец карьеры без вариантов. Ведь он то знал, сколько чудовищных трудностей лежит на пути к реальным результатам. Потребуется большое количество секвенаторов, очень много денег и хорошие образцы костной ткани неандертальцев. Ничего этого не было [13].

Прежде всего Пэабо едет к Ротбергу в Брэнфорд, где обсуждают, что нужно для прочтения неандертальского генома. Они решили применить метод «шотган», который Вентер (Venter) использовал для прочтения генома человека [25]. При этом секвенируются случайные фрагменты генома, затем с помощью программ составляют длинные фрагменты. Стоимость работы – пять миллионов долларов. Но весь годовой бюджет отдела Пэабо был намного меньше. На помощь вновь пришел профессор Йекль (Jeckl). Он обсудил проект с президентом общества Макса Планка, и они согласились выделить эту сумму.

Тем временем команда Рубина составила бактериальную библиотеку из всего неандертальского экстракта и отсековировала ДНК. Результат насчитывал 65 тыс. нуклеотидов. У Ротберга было использовано 7 % экстракта и прочитано около миллиона нуклеотидов. Методики прямого секвенирования оказались в двести раз эффективнее. Они пришли к очевидным разногласиям. Методы у них были разные, результаты значительно отличались. Поэтому решили, что одну статью напишет команда Рубина и пошлет ее в *Science*, а другую – команды Пэабо и Ротберга и пошлют в *Nature*. Так они с Рубиным стали соперниками [13].

Неандертальский геном. В июле 2006-го при подписании контракта с 454 в Лейпциге была организована пресс-конференция. Подчеркивалось, что удалось соединить методы анализа древней ДНК, разработанные за много лет группой Пэабо с новейшими технологиями, предоставленными компанией 454, и в результате *начато секвенирование неандертальского генома*. Все прошло эффектно! Трансляция по всему миру. Они объявили, что берутся за два года прочитать 3 млрд. нуклеотидов неандертальца [13].

Две статьи, посвященные первым результатам секвенирования неандертальского генома, вышли в *Nature* и *Science* 16 и 17 ноября [26], [27]. Пресса подняла ажиотаж. Но Пэабо было не до того. Они же обещали отсековировать 3 миллиарда нуклеотидов за два года. И в статье было подчеркнуто, что для этого необходимо 20 гр. костного материала, 6 тыс. запусков аппаратуры 454 и прогресс в скорости секвенирования [27].

У Пэабо не было 20 гр. хорошего костного материала. Поэтому он предпринимает все усилия для получения неандертальских костей из находок в Испании, Германии и России. Однако их анализ показал, что в большинстве костей ДНК не было и даже в лучших содержалось от 0,06 до 0,2 % ядерной ДНК. Особенно трудно достался материал из Хорватии, где затем в трёх костях обнаружили 1, а в знаменитой Vi-80 из Виндии 3 % ядерной ДНК. Но ее было абсолютно недостаточно для секвенирования полного генома.

Это заставило команду Пэабо направить все усилия на разработку более эффективных методов выделения ДНК. Замена щелочного метода разделения нитей на температурный позволило на 90 % уменьшить потери выделенной ДНК. Кроме того они установили, что в некоторых участках кости ДНК было в десять раз больше, чем в других. В костных экстрактах остается более 90 % бактериальной ДНК, и использование ими 8 рестриктаз, которые ее расщепляют, позволило получать 20 % неандертальской ДНК вместо четырех [28]. Теперь стало возможным получить из костей 3 млрд. нуклеотидов.

К 2008-му команда 454 проделала 147 запусков из образцов Vi-80 и получила 39 млн. отсековированных фрагментов. Поэтому решили реконструировать только митохондриальный геном неандертальца. Грин из 39 млн. идентифицировал 8341 мт-фрагмент неандертальца и получил полную последовательность мтДНК в 16 565 нуклеотидов. Они также выявили отличия мт-ДНК неандертальца от человека по 133 позициям [29].

Шел второй год проекта, а до результатов с 3 млрд. нуклеотидов было далеко. В 2007-м компанию 454 поглотил гигант Roche и Пэабо обратился к Solexa. У них амплификация производилась на стеклянных шариках, к которым прикреплялись фрагменты ДНК, где каждая образовывала кластер с миллионом копий. Кластеры секвенировались с помощью праймеров, ДНК-полимеразы и флуоресцентных нуклеотидов. В Solexa обещали чтение не тысяч нитей, как в 454, а нескольких миллионов. Затем компания *Illumina перекупила Solexa* и Пэабо договорился протестировать работу Illumina на неандертальской ДНК.

К лету 2008-го у них были и кости и экстракты для получения 3 млрд. нуклеотидов, но нужно было перевести программы на Illumina. Сильной стороной 454 было считывание длинных фрагментов, а им нужно было читать много коротких и как можно быстрее. И тогда в добавок к своему Пэабо купил еще четырех секвенатора Illumina, с которыми планировал доделать геном к концу года. Поэтому сотрудничество с 454 пришлось завершить.

В это время отдел Пэабо посетил директор Института Брода Лэндер (Lander) и предложил помощь в секвенировании на Illumina. Пэабо отсеквенировал часть материала на своей Illumina и определил миллиард фрагментов, достаточных для прочтения всего генома. Затем образцы послали в Институт Брода для секвенирования. При анализе их данных оказалось, что последовательности были такими как и на Illumina Пэабо. Это вдохновляло [13].

В июне к ним приехал редактор Science для обсуждения итоговой статьи. Журнал издается Американским обществом научных достижений (AAAS) в Чикаго, и Пэабо пригласили для доклада в феврале 2009-го. В нем он сосредоточился на трудностях при выделении ДНК. Отразил сложности в разработке программ для построения генома. Затронул и самого неандертальца. Например, мутация в гене на 8-й хромосоме у людей уменьшает размер мозга. Считалось, что мутантный вариант попал к нам от неандертальцев. Но в неандертальском геноме его не было. Что указывало на отсутствие неандертальского вклада в геном европейцев и соответствовало данным, полученным ими ранее по мтДНК [15].

Возвратившись из Чикаго, он подвел итоги. Они получили всю последовательность ДНК, но нужно было перестроить программы для Illumina. И тогда можно будет установить, насколько люди и неандертальцы отличаются, когда они разделились, скрещивались ли они?

Консорциум. Чтобы найти ответы, им понадобилось гораздо больше людей. Назрела необходимость организовать *нечто вроде консорциума*. Прежде всего *нужны были популяционные генетики*. Они изучают вариации ДНК в популяциях и могут сказать, когда те разошлись и существовал ли между ними обмен генами. Особенно ему были нужны Рейх (Reich), профессор из Гарварда, популяционный генетик с неординарным мышлением. С ним и Паттерсон (Patterson), знаменитый криптограф. Он хотел пригласить и Слаткина (Slatkin) профессора из Беркли, который сделал прекрасную карьеру в математической биологии.

Главный вопрос, интересный всем участникам консорциума – *имеется ли неандертальский вклад в геноме европейца*. В их статье 1997-го про мтДНК неандертальца подчеркнуто, что свидетельств их наследия у современных людей нет. И только анализ ядерного генома может дать более точный ответ [15].

Еще в конце 2006-го Малликин (Mullekin) отсеквенировал геномы нескольких европейцев и африканцев. Он выделил в геномах те позиции, в которых у них стоят разные нуклеотиды. Это называется однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) или СНИПом. Задача стояла узнать, есть ли в геноме человека неандертальские СНИПы. Они сравнили по СНИПам различия между геномами европейцев и африканцев и установили, что среди европейцев 62 % общих СНИПов, а у европейца с африканцем – 38. При *сравнении* 269 СНИПов неандертальцев с таковыми европейцев и африканцев оказалось, что с европейцами у них 134 общих СНИПа, а с африканцами – 135. Это означало, что геном неандертальца одинаково (50 на 50) близок и европейцам и африканцам [13].

Затем Рэйх сравнил все СНИПы современного человека с соответствующими у шимпанзе. Отсюда он мог определить, какие из них *предковые*, а какие получены уже у людей. Чем раньше разошлась неандертальская и человеческая линии, тем меньше должно быть у неандертальцев СНИПов, выявленных у людей. Рэйх, используя 951 африканский СНИП, высчитал, что у европейцев таковых присутствует 31,9 %, а у неандертальцев – 17,1. Это дало оценки времени отделения неандертальцев от африканцев в 300 тыс. лет, а африканцев от европейцев 100–200 тыс. лет. Все сходилось, и результат радовал [13].

В феврале 2009-го пришел имейл от Рэйха. Он установил, что неандертальская последовательность схожа с европейской на 51,3 %. От 50 на 50 почти не отличается, но при их большой выборке данных даже четверть процента являлась бы достоверным различием. По видимому, все же неандертальцы скрещивались с предками европейцев. Но вдруг ошибка? Решили на конференции AAAS в Чикаго эту тему не затрагивать.

После Чикаго в Хорватии состоялась встреча участников консорциума, где им предстояло оценить успехи и утвердить план дальнейшей работы. Ответить на главный вопрос, насколько неандертальский геном отличается от человеческого, мешали ошибки, которых при секвенировании в неандертальских ДНК получалось в пять раз больше, чем в человеческих. Нашли элегантное решение не включать в *базовый* подсчет те СНИПы, по которым не-

андертальцы отличались от обезьян, а люди нет, а учитывать только те, где человеческие отличались от обезьяньих. Для этого проверили все СНИПы, по которым люди отличались от обезьян, и, если у неандертальцев в них присутствовал человеческий СНИП, значит, мутация старая и произошла до того, как неандерталец и человек разделились, а если у неандертальцев СНИП как у обезьян, значит мутация у людей новая и произошла после разделения линии человек-неандерталец. В результате установленная доля обезьяньих мутаций у неандертальцев, отнесенная к общему их числу, составила 12,8 % [13].

Все понимали, что пришла пора самим секвенировать геномы. Только так можно быть уверенным, что все нуклеотидные последовательности проанализированы одинаковым образом. Решили секвенировать по одному геному представителей из Европы, Новой Гвинеи, Китая, а также Западной и Южной Африки. Анализ пяти геномов провели за несколько недель. Теперь, с Illumina, отсеквенировать несколько геномов оказалась под силу даже небольшой группе. Не то, что два года назад.

Генный поток. В июле Пэабо получил сообщения от Рэйха и Патерсона. Те просчитали все 10 возможных попарных сравнений для пяти геномов. По их расчетам у неандертальцев с африканскими бушменами оказалось 49,9 % общих СНИПов, а с йоруба – 50,1. Поскольку неандертальцы никогда не заходили в Африку, то сходство с ними и должно быть одинаковым. При проведении попарных сравнений между французом, китайцем и папуасом различия получились на 49,8–50,6 %. Иными словами сходство между современными представителями разных рас, кроме африканцев, составило около 50 %. В то же время у неандертальцев с французом оказалось 52,4 % общих СНИПов, с китайцем – 52,6, а с папуасом – 52,1. Следовательно, в неафриканских геномах имеется небольшой 2-х процентный неандертальский вклад. Пэабо перечитал имейл. Ошибки вроде нет [13].

Обсуждения открытий Рэйха и Патерсона продолжались всю неделю. Одни согласились, что неандертальцы скрещивались с людьми. Другие нет. Все помнили их статью 1997-го, где говорилось об отсутствии неандертальского вклада в мтДНК людей [15]. Чтобы убедить мир, нужно было провести независимое от СНИПов исследование.

Ранее профессор Нильсен (Nilsen) из Беркли обнаружил 17 участков генома, где изменчивость у неафриканского населения была выше, чем у африканского. Пэабо переслал ему неандертальские последовательности ДНК, соответствующие этим участкам, и тот установил, что в 13 из 15 участков неандертальцы имели последовательности ДНК, которые встречались у европейцев, но не у африканцев. Более тщательный анализ с использованием 12 участков длиной около 100 тыс. нуклеотидов выявил неандертальские варианты в 10 из них. Это можно объяснить только неандертальской добавкой в геном европейцев [1], [13].

Следующий вопрос был очевидным: *как неандертальская ДНК оказалась не только у европейцев, но и у китайцев и папуасов?* Ведь их никогда не находили на территории Китая и Новой Гвинеи. Отсюда следует, что предки китайцев и папуасов встречались с неандертальцами западнее их нынешнего обитания.

Пэабо и члены консорциума, анализируя совокупность полученных генетических и палеонтологических данных, пришли к *ближневосточному сценарию*. По которому неандертальские предки произошли в Африке, затем 300–400 тыс. лет назад двинулись в Евразию. Также в Африке через 200 тыс. лет появились и ранние люди, сапиенсы. В популяциях неандертальцев и сапиенсов за время тысяч лет раздельного существования накопилось много генетических различий. Мигрируя из Африки на север, волна сапиенсов в результате долгого совместно проживания и неизбежных контактов с неандертальцами в районе Ближнего Востока частично *приобрела их генетическую изменчивость*. Затем гибридные популяции сапиенсов за 50 тыс. лет заняли каждый уголок планеты, *включая Китай и Новую Гвинею*, изобрели новые технологии и отправились в космос. И если у этого прорыва есть генетическая основа, то ее можно найти, сравнив геномы неандертальцев и людей [13].

Эта мечта не давала Пэабо покоя. К лету 2009-го они откартировали все фрагменты неандертальского генома. Затем начали составлять каталог генетических изменений, которые произошли в геноме людей после разделения с неандертальцами. При сравнении с неандертальским геномом число модифицированных позиций у людей составило около 100 тыс. Это

и есть *ответ на вопрос: что делает человека человеком?* Если вернуть обратно 100 тыс. нуклеотидов, то получится общий предок неандертальца и человека. Пэабо надеялся, что с изучения каталога начнется поиск генов, определяющих человеческие разум и поведение.

Триумф. Научный результат редко бывает окончательным. Однако необходимо уметь остановиться, подвести итоги и предъявить миру результаты. В феврале 2010-го они, наконец, завершили итоговую статью и отправили ее в Science. Статья и 174 страницы приложения вышли в свет 7 мая 2010-го [30].

С публикацией начался ажиотаж в печати. Но Пэабо уехал на конференцию в Колд-Спринг. Он испытал огромное удовлетворение, делая доклад о достижениях в том зале, где четыре года назад объявлял о намерении открыть проект. После него выступил Маклин (MacLin), дипломник из Стэнфорда. Он выявил 583 участка ДНК, присутствующих у обезьян, но утерянных у человека, и определил, какие гены там располагались. Один кодировал белок, расположенный в *шипообразных* выростах на пенисе обезьян, обеспечивающих быструю эякуляцию. У человека их нет, что, возможно, позволяет получать удовольствие от длительного соития. Он обнаружил, что и у неандертальцев этого гена нет. Еще один утерянный ген кодирует белок, связанный с ростом мозга у людей. После публикации прошла неделя, а Маклин уже проверил, какие из потерянных генов есть у неандертальцев, а каких нет. Именно так Пэабо и представлял себе использование их работы [13].

Из всех публикаций Пэабо неандертальский геном вызвал самую сильную реакцию в научной среде. Положительно отзывались почти все, но лучше всех написал авторитетный палеонтолог Хоукс из Висконсина: «Эта группа ученых сделала царский подарок человечеству. Теперь мы видим ключевые генетические изменения, сделавшие из нас людей». Геном заинтересовал многих читателей и даже христиан-фундаменталистов [1], [13]. Были сделаны и интересные открытия. Главный комплекс гистосовместимости, ГКГС, кодирует трансплантационные белки. Питер Парэм взял участки неандертальской ДНК, которые соответствовали генам ГКГС. Один из них был обнаружен у европейцев, азиатов и неандертальцев, но отсутствовал у африканцев! Как было показано, неандертальцы передали европейцам половину вариантов этого гена, а китайцам – 72 %. Такое увеличение разнообразия в гене свидетельствует о том, что он помог переселенцам выжить. По-видимому, неандертальцы, прожив на евразийских территориях тысячи лет, выработали в генах ГКГС адаптации к местным болезням, отсутствовавшим в Африке и древние сапиенсы, скрещиваясь с неандертальцами, получили эти адаптации в готовом виде [31].

В декабре 2010-го пришло сообщение, что их работа получила премию AAAS в 25 тыс. долларов за лучший научный труд в Science. Деньги решили направить на организацию встречи консорциума в 2011-м, где планировали наметить новые направления исследований.

Сибирская загадка. Еще в 2007-м Пэабо с сибирским палеонтологом Деревянко (Derevienko) опубликовали статью в *Nature*, где расширили ареал неандертальцев на 2000 км восточнее. Это было сделано на основе анализа неандертальской мтДНК, выделенной из косточек, найденных на Алтае в пещере Окладникова [32].

В начале 2010-го они провели сиквенс мтДНК еще одной косточки, но из Денисовой пещеры на Алтае. Результаты сравнения показали, что неандертальцы отличались от людей по 202 нуклеотидам, а *денисовец* по 385. Откалибровав скорость накопления мутаций, получили время отделения денисовца около миллиона лет. Значит, косточка не принадлежала ни неандертальцу, ни человеку. Но у них был только ее кусочек, недостаточный для анализа ядерной ДНК, а в Новосибирске была ее большая часть.

Пэабо срочно организовал визит в Сибирь и узнал, что бесценную косточку отдали конкуренту Рубину в Беркли. Вернувшись в Лейпциг, они стремительно оформили свои результаты в статью для *Nature* с названием «Полный митохондриальный геном неизвестного гоминида из Южной Сибири». В ней *впервые новая форма* вымерших людей была описана на основании *последовательности ДНК*. Первоначально новую форму называли *Homo altaiensis*, однако по рекомендации рецензента название исключили. Статья вышла в *Nature* в апреле 2010-го [33]. В последствии Пэабо не раз мысленно благодарил рецензента.

При анализе ядерной ДНК из остатков косточки не нашли фрагментов У-хромосом так, что «Мисс Икс», как они ее называли, оказалась девочкой. По СНИПам мисс икс и неандерталец были более близки между собой, чем с сапиенсом. Встал вопрос, почему денисовская

мтДНК сильно отличается от неандертальской, а ядерный геном нет. Может быть, у мисс икс в предках были неандертальцы и архаичная человеческая форма. В любом случае, стало ясно, что популяция, к которой принадлежала мисс икс, отделилась от неандертальцев до того, как те повстречали сапиенсов. Эту популяцию Пэабо предложил назвать «денисовцы».

Кроме того у мисс икс оказалось больше одинаковых СНИПов с папуасами, чем с китайцами, европейцами и африканцами. Затем с помощью генетических карт неандертальцев и денисовцев они установили, что примерно 2,5 % генофонда неафриканцев унаследовано от неандертальцев, а более поздний вклад денисовцев привнес в генофонд папуасов 4,8 %. В их ДНК присутствует небольшой и неандертальский компонент. Следовательно, для сапиенсов, осваивающих новые пространства, скрещивание с архаичными формами было нередким явлением. Статью с результатами в августе отправили в *Nature* и после всех этапов рецензирования она вышла 23 декабря 2010-го [34].

В те декабрьские дни Пэабо чувствовал полное удовлетворение, какое не испытывал за всю свою научную жизнь. Увлечение в студенческие годы, переросшее в проект из области научной фантастики, *триумфально завершено*. Он и не мечтал о таких достижениях [1], [13].

Палеогеномная революция. С разработанными методами выделения ДНК и секвенаторами нового поколения статьи по палеогеномике публикуются одна за другой. В своем обзоре «Древняя ДНК и история человека», опубликованном в PNAS в 2016-м, профессор Слаткин привел сотни статей по реконструкции геномов ископаемых людей со всех континентов и назвал этот период «палеогеномной революцией» [35]. Несколько самых важных открытий показывают, какой огромный научный потенциал имеет палеогеномика в целом.

На основе анализа ДНК из косточки возраста 45 тыс. лет, найденной в Сибирском Ишиме, группа Пэабо в 2014-м установила, что он принадлежит сапиенсу. В его геноме 2 % неандертальской ДНК, но нет денисовской и он такой же, как у европейских охотников и азиатов. Значит, популяция сапиенсов, обитавшая в Сибири 45 тыс. лет назад, сформировалась раньше, чем разделились предки азиатов и европейцев. Так как неандертальские фрагменты в геноме ишимца оказались длиннее чем, чем у современных сапиенсов из-за большего количества рекомбинаций, установили число поколений и время 50–60 тыс. лет назад, когда сапиенсы, покинувшие Африку, скрещивались на Ближнем Востоке с неандертальцами. Затем одни популяции сапиенсов мигрировали в Азию, а другие в Европу. И эта картина древних миграций установлена благодаря молекулам ДНК из косточки [36].

В ходе анализа распределения неандертальских фрагментов в хромосомах современных людей с разных континентов установлено, что неандертальские вставки реже встречаются в функциональных участках генома и в генах, работающих в семенниках, чем в нейтральных участках. Значит, отбор *выбраковывал вредные неандертальские примеси у человека* [37].

Используя современные базы данных по медицинской генетике, исследователи установили *связь между 1500 неандертальскими СНИПами и риском развития пятидесяти патологий*. Наиболее значимые результаты получились по депрессии, аффективным расстройствам и заболеваниям кожи [38].

Другой пример – древний ген EPAS1, кодирующий транскрипционный фактор, который регулирует давление и работу сердечной мышцы. У жителей Тибета, испытывающих недостаток кислорода, работают особые аллели этого гена. Очевидно, что увеличенная их частота в популяции является адаптацией к высокогорным условиям. За пределами Тибета эти аллели крайне редки, но они найдены у денисовца. Значит, тибетцы сохранили наследие денисовских людей, доставшееся им от древних потомков денисовцев и сапиенсов [39].

Эти примеры наглядно показывают, что палеогеномная революция, инициированная благодаря исследованиям Пэабо, открывает новые горизонты. Только вдохновенный и самоотверженный человек мог совершить такой колоссальный научный прорыв. Создать научное направление, вызывающее интерес всех мыслящих людей. ***Нобелевская премия молекулярному генетику Пэабо*** закономерна и несомненно ***укрепила авторитет науки***.

Обзорная работа частично проводилась в рамках задания «Оценка состояния генофондов ценных видов шмелей Юго-Востока Беларуси на основе методов ДНК-анализа» ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда» на 2021–2025 гг.

Литература

1. Гончаренко, Г. Г. Триумф молекулярной палеогенетики и профессора Пääбо / Г. Г. Гончаренко // Кто зажигает звезды на небосклоне науки. – Гомель, 2023. – 136 с.
2. Pääbo, S. Preservation of DNA in ancient Egyptian mummies / S. Pääbo // Journal of Archaeological Sciences. – 1985. – V. 12. – P. 411–417.
3. Pääbo, S. Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA / S. Pääbo // Nature. – 1985. – V. 314. – P. 644–645.
4. Mullis, K. B. Specific synthesis of DNA in vitro a Polymerase Catalysed Chain Reaction / K. B. Mullis, F. A. Falloona // Methods in Enzymology. – 1987. – V. 155. – P. 335–349.
5. Pääbo, S. Polymerase chain reaction reveals cloning artifacts / S. Pääbo, A. Wilson // Nature. – 1988. – V. 334. – P. 387–388.
6. Pääbo, S. Mitochondrial-DNA sequences from a 7,000-year-old brain / S. Pääbo, J. Gifford, A. Wilson // Nucleic Acids Research. – 1988. – V. 16. – P. 9775–9787.
7. Thomas, R. DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf / R. Thomas, W. Schaffner, A. Wilson, S. Pääbo // Nature. – 1989. – V. 340. – P. 465–467.
8. Pääbo, S. Ancient DNA – Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification / S. Pääbo // PNAS. – 1989. – V. 86. – P. 1939–1943.
9. Höss, M. DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method / M. Höss, S. Pääbo // Nucleic Acids Research. – 1993. – V. 21 (16). – P. 3913–3914.
10. Höss, M. Mammoth DNA sequences / M. Höss, S. Pääbo // Nature. – 1994. – V. 370. – P. 333.
11. Höss, M. Excrement analysis by PCR / M. Höss, M. Kohn, S. Pääbo, F. Knauer, W. Schröder // Nature. – 1992. – V. 359. – P. 199.
12. Höss, M. Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Mylodon darwini* / M. Höss, A. Dilling, A. Currant, S. Pääbo // PNAS. – 1996. – V. 93. – P. 181–185.
13. Pääbo, S. Neanderthal Men. In Search of Lost Genomes / S. Pääbo // Basic Books, A Member of the Perseus Books Group. – New York, 2014. – 296 p.
14. Handt, O. Molecular genetic analyses of the Tyrolean Ice Man / O. Handt, M. Richards, M. Trommsdorff, C. Kilger, J. Simanainen [et al.] // Science. – 1994. – V. 264. – P. 1775–1778.
15. Krings, M. Neanderthal DNA sequences and the origin of modern humans / M. Krings, A. Stone, R. Schmitz [et al.] // Cell. – 1997. – V. 90. – P. 19–30.
16. Krings, M. A view of Neanderthal genetic diversity / M. Krings, C. Capelli, F. Tschentscher [et al.] // Nature genetics. – 2000. – V. 26. – P. 144–146.
17. Kaessmann, H. DNA sequence variation in non-coding region of low recombination on the human chromosome / H. Kaessmann, F. Heisig, F. Haeseler S. Pääbo / Nature genetics. – 1999. – V. 22. – P. 78–81.
18. Kaessmann, H. Extensive nuclear DNA sequence diversity among chimpanzees / H. Kaessmann, V. Wiebe, S. Paabo // Science. – 1999. – V. 286. – P. 1159–1162.
19. Kaessmann, H. Great ape DNA sequences reveal a reduced diversity and an expansion in humans / H. Kaessmann, V. Wiebe, G. Weiss, S. Pääbo // Nature genetics. – 2001. – V. 27. – P. 155–156.
20. Greenwood, A. Nuclear DNA sequences from late Pleistocene megafauna / A. Greenwood, C. Capelli, G. Possnert, S. Pääbo // Nuclear Molecular Biology and Evolution. – 1999. – V. 16. – P. 1466–1473.
21. Sanger, F. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors / F. Sanger, S. Nicklen, A. Coulson // PNAS. – 1977. – V. 74. – P. 5463–5467.
22. Гончаренко, Г. Г. Сэнгеровская эпоха ДНК-секвенирования / Г. Г. Гончаренко // Известия ГГУ им Ф. Скорины. – 2022. – № 3 (132). – С. 128–130.
23. Noonan, J. Genomic sequencing of Pleistocene cave bears / J. Noonan, M. Hofreiter, D. Smith, J. Priest, [et al.] // Science. – 2005. – V. 309. – P. 597–599.
24. Poinar, H. Metagenomics to paleogenomics : large-scale sequencing of mammoth DNA / H. Poinar, C. Schwarz, J. Qi [et al.] // Science. – 2006. – V. 311. – P. 392–394.
25. Venter, J. The sequence of the human genome / J. Venter, M. Adams, E. Myers, R. Ural [et al.] // Science. – 2001. – V. 291. – P. 1304–1351.
26. Noonan, J. Sequencing and analysis of Neanderthal genomic DNA / J. Noonan, G. Coop, S. Kudaravalli [et al.] // Science. – 2006. – V. 314. – P. 1113–1118.
27. Green, R. Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA / R. Green, J. Krause, S. Ptak [et al.] // Nature. – 2006. – V. 444. – P. 330–336.
28. Maricic, T. Optimization of 454 sequencing library preparation from small amounts of DNA permits sequence determination of both DNA strands / T. Maricic, S. Paabo // Biotechniques. – 2009. – V. 46. – P. 51–57.

29. Green, R. A complete Neandertal mitochondrial genome sequence determined by high-throughput sequencing / R. Green, A. Malaspina, J. Krause [et al.] // *Cell*. – 2008. – V. 134. – P. 416–426.
30. Green, R. A draft sequence of the Neandertal genome / R. Green, J. Krause, A. Briggs [et al.] // *Science*. – 2010. – V. 328. – P. 710–722.
31. Abi-Rached, L. The shaping of modern human immune systems by multiregional admixture with archaic humans / L. Abi-Rached, M. Jobin, S. Kulkarni [et al.] // *Science*. – 2011. – V. 334. – P. 89–94.
32. Krause, J. Neanderthals in central Asia and Siberia / J. Krause, L. Orlando, D. Serre [et al.] // *Nature*. – 2007. – V. 449. – P. 902–904.
33. Krause, J. The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia / J. Krause, J. Good, B. Viola [et al.] // *Nature*. – 2010. – V. 464. – P. 894–897.
34. Reich, D. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia / D. Reich, R. Green, M. Kircher [et al.] // *Nature*. – 2010. – V. 468. – P. 1053–1060.
35. Slatkin, M. Ancient DNA and human history / M. Slatkin, F. Rasimo // *PNAS*. – 2016. – V. 113. – P. 6380–6387.
36. Fu, Q. Genome sequence of a 45,000-year-old modern human from western Siberia / Q. Fu, H. Li, P. Moorjani [et al.] // *Nature*. – 2014. – V. 514. – P. 445–449.
37. Sankararaman, S. Genomic landscape of Neanderthal ancestry in present-day humans / S. Sankararaman, S. Mallick, M. Dannemann [et al.] // *Nature*. – 2014. – V. 507. – P. 354–357.
38. Simonti, C. The phenotypic legacy of admixture between modern humans and Neanderthals / C. Simonti, B. Vernot, L. Bastarache [et al.] // *Science*. – 2016. – V. 351. – P. 737–741.
39. Huerta-Sánchez, E. Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA / E. Sánchez, X. Jin, Asan, Z. Bianba [et al.] // *Nature*. – 2014. – V. 512. – P. 194–197.