

Дженнифер Даудна
Сэмюел Стернберг

ТРЕЩИНА В МИРОЗДАНИИ

Редактирование генома:
невероятная технология,
способная управлять эволюцией

CoRpus



ЭВОЛЮЦИЯ

Библиотека фонда «Эволюция»

Дженнифер Даудна

Трещина в мироздании

«Corpus (ACT)»

2016

УДК 575
ББК 28.04

Даудна Д.

Трещина в мироздании / Д. Даудна — «Corpus (АСТ)»,
2016 — (Библиотека фонда «Эволюция»)

ISBN 978-5-17-109309-9

Дженнифер Даудна – одна из ведущих современных генетиков, под ее руководством была разработана технология редактирования генома CRISPR – самый дешевый, но при этом самый точный и мощный способ манипуляций с ДНК. Но довольно быстро стало понятно, что этот метод, позволяющий прицельно изменять ДНК живого организма, – очень рискованная технология, которую уже называют “самым опасным изобретением со времен атомной бомбы”. Генетические манипуляции – это настоящая “трещина в мироздании”, из которой могут вырваться темные силы, способные уничтожить человечество...

УДК 575
ББК 28.04

ISBN 978-5-17-109309-9

© Даудна Д., 2016
© Corpus (АСТ), 2016

Содержание

Пролог	8
Часть I	15
Глава 1	15
Конец ознакомительного фрагмента.	28

**Дженнифер Даудна, Сэмюел
Стернберг; Пер. С Англ. С.
Трещина в мироздании**

***Редактирование генома: невероятная
технология, способная управлять эволюцией***

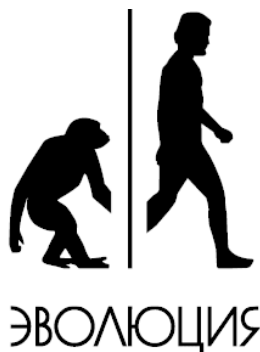
© Jennifer A. Daudna, Samuel H. Sternberg, 2016

© С. Ястребова, перевод на русский язык, 2019

© А. Бондаренко, художественное оформление, макет, 2019

© ООО «Издательство Аст», 2019

* * *



Просветительский фонд “Эволюция”

основан в 2015 году сообществом
российских просветителей.

Цель фонда — популяризация научного мировоззрения, продвижение здравомыслия и гуманистических ценностей, развитие науки и образования.

Одно из направлений работы фонда — поддержка издания научно-популярных книг. Каждая книга, выпущенная при содействии фонда “Эволюция”, тщательно отбирается серьезными учеными.

Критерии отбора — научность содержания, увлекательность формы и значимость для общества.

Фонд сопровождает весь процесс создания книги — от выбора до выхода из печати.

Поэтому каждое издание библиотеки фонда — праздник для любителей научно-популярной литературы.

*Нашим родителям, Дороти и Мартину Даудна (Дж. Д.)
и Сюзанне Ниммрихтер и Роберту Стернбергу (С. С.)*

Наука не представляет себе глубины собственного воображения.
Ральф Уолдо Эмерсон

Пролог Волна

Мне снится, что я стою на берегу моря.

По обе стороны от меня длинная полоса светлого песка с вкраплениями темных песчинок простирается вдоль воды, очерчивая большую бухту. Я осознаю, что это берег гавайского острова, на котором я выросла, – край бухты Хило, где я когда-то проводила выходные с друзьями, наблюдая за соревнованиями по гребле на каноэ или разыскивая ракушки и стеклянные шары, упавшие за борт с японских рыболовецких судов и иногда выносившиеся на берег волнами¹.

Но сегодня тут не видно ни друзей, ни каноэ, ни рыболовецких суденышек. Берег пуст, песок и вода неестественно спокойны. За волнорезом лучи света нежно играют на поверхности океана, будто хотят унять мой страх, зародившийся еще в детстве, – страх, преследующий каждого жителя города Хило независимо от его возраста. Пока я была ребенком, на остров ни разу не приходили волны цунами, но все мы видели фотографии. Мы знаем, что город находится в зоне затопления.

Как по заказу, вдалеке появляется она. Волна.

Сначала она совсем небольшая, но с каждой секундой растет, возвышается передо мной стеной, ее пенистые гребни заслоняют небо. За ней – другие волны, и все они катятся по направлению к берегу.

Я скована страхом – но, когда цунами подходит ближе, ужас уступает место решимости. Позади себя я замечаю небольшую деревянную хибарку. Она принадлежит моей подруге Пуа, и перед ней валяется множество досок для серфинга. Я хватаю одну из них и плюхаюсь в воду, выгребая в бухту, огибаю волнорез и направляюсь прямо в набегающие волны. Я успеваю поднырнуть под первую из них до того, как она настигнет меня, и, оказавшись по другую сторону от нее, скатываюсь по второй волне. В эти мгновения я наслаждаюсь открывшимся видом. Он прекрасен: гора Мауна-Кеа, а за ней – Мауна-Лоа, устремляются ввысь, в небо, защитными стенами возвышаясь над бухтой.

Я зажмуриваюсь – и открываю глаза в своей спальне в Беркли, штат Калифорния, за тысячи миль от дома, в котором выросла.

Сейчас июль 2015-го, и это самый захватывающий, самый ошеломительный год моей жизни. Я уже давно вижу подобные сны, но теперь мне легко распознать их глубинный смысл: берег – это мираж, но волны и клубок эмоций, которые они вызывают – страх, надежда, трепет, – чрезвычайно реалистичны.

Меня зовут Дженнифер Даудна. Я биохимик, и большую часть своей карьеры я провела в лаборатории, исследуя вещи, о которых большинство неспециалистов ничего не слышали. Однако в последние лет пять я оказалась вовлечена в работу, которую можно считать подлинным прорывом в науках о жизни, и теперь их развитие невозможно удержать в стенах какого бы то ни было исследовательского центра. Меня и моих коллег захватила непреодолимая сила, мало чем отличающаяся от цунами моих снов – с той лишь разницей, что в реальности эти волны помогла вызвать я сама.

К лету 2015-го года биотехнологический метод, который я помогла разработать всего за несколько лет до этого, набрал в своем развитии такую скорость, какую я и представить себе не могла. И возможные последствия его применения обретают подлинно сейсмический масштаб – не только для медико-биологических наук, но и для жизни на Земле в целом.

¹ Имеются в виду кухтыли – поплавки для сетей. В наши дни они обычно пластиковые, но раньше выдувались из стекла в виде больших полых шаров (*примеч. науч. ред.*).

Эта книга – история развития этого метода и моя собственная история. И ваша тоже. Пройдет не так много времени, прежде чем плоды, которые принесет новая технология, окажутся и у вас на пороге.

Люди тысячелетиями изменяли окружающий мир ради своих целей, но результаты их деятельности никогда не были настолько масштабными, как сейчас. Промышленная революция вызвала изменения климата, угрожающие экосистемам по всему земному шару, и она же вместе с другими формами человеческой деятельности стала предпосылкой резкого ускорения вымирания видов, в ходе которого исчезает множество популяций самых различных существ – наших соседей по планете. Эти перемены побудили геологов предложить новое название для эпохи, в которую мы живем, – антропоцен, эра человека.

В биологическом мире тоже происходят кардинальные перемены, вызванные человеческой деятельностью. В течение миллиардов лет жизненные формы усложнялись согласно закономерностям, которые выявил Дарвин: организмы совершенствовались благодаря череде случайных генетических изменений, часть которых обеспечивала преимущества для выживания, конкуренции и размножения. До сих пор и наш собственный вид формировался под действием аналогичного процесса; несомненно, вплоть до недавнего времени мы во многом зависели от его милости. Десять тысяч лет назад, когда возникло сельское хозяйство, люди начали сами влиять на эволюцию путем селекции растений и животных, однако исходный материал – случайные мутации в ДНК, лежащие в основе доступных генетических вариаций, – все еще появлялся самопроизвольно и бессистемно. Поэтому попытки нашего вида преобразовать природу были трудными и имели ограниченный успех.

Теперь все кардинально переменялось. Ученые сумели полностью взять этот древний процесс под контроль человека. Используя мощные биотехнологические инструменты для экспериментов с ДНК внутри живых клеток, они теперь могут манипулировать составом этой молекулы и рационально изменять гены, определяющие облик любого биологического вида на планете, включая и наш с вами. А с появлением новейшего и, вероятно, самого эффективного инструмента генной инженерии, CRISPR-Cas9 (коротко – CRISPR), геном – всю ДНК организма, включающую каждый его ген, – стало почти так же просто редактировать, как обычный текст.

Зная, чем именно кодируется в геноме тот или иной конкретный признак, ученые могут использовать CRISPR, чтобы вставить, отредактировать или удалить связанный с ним ген у фактически любого растения или животного. Этот способ гораздо проще и эффективнее, чем любая другая существующая технология манипуляции генами. Буквально в одночасье мы оказались на пороге новой эпохи генной инженерии и нового уровня владения биологией – революционной эры, в которой возможности ограничены только коллективным воображением человечества.

Царство животных было первой экспериментальной площадкой для испытаний этого нового средства редактирования генов – и до сих пор остается самой большой из таких площадок. К примеру, ученые использовали CRISPR для создания генетически “усиленной” версии биглей, в результате чего получились собаки с мускулатурой, которой позавидует сам Шварцнеггер, – и для этого понадобилось всего лишь поменять одну “букву” ДНК в гене, контролирующем развитие мышц. В другом случае, “выключив” у свиней ген, отвечающий на сигналы гормона роста, исследователи создали микропиггов – свиней размером не больше упитанной кошки, ставших популярными домашними животными. Ученые из китайской провинции Шэньси проделали нечто подобное и с мясо-шерстными кашемировыми козами, отредактировав геном этих животных таким образом, чтобы у них вырастали и более крупные мышцы (и за счет этого они давали больше мяса), и более длинная шерсть (что означает получение большего количества кашемировых волокон). Генетики даже используют CRISPR для

превращения ДНК азиатского слона в максимальное подобие ДНК шерстистого мамонта, надеясь когда-нибудь воскресить этого вымершего доисторического зверя².

Параллельно с этим в экспериментах с растениями CRISPR широко используется для редактирования геномов сельскохозяйственных культур; это открывает перспективы для кардинального улучшения питания людей во всем мире и повышает уровень мировой продовольственной безопасности. Эксперименты по редактированию генома дали устойчивый к различным болезням рис, томаты, которые теперь портятся гораздо медленнее, соевые бобы с более полезным для здоровья содержанием полиненасыщенных жиров и картофель с меньшим количеством сильного нейротоксина. Причем специалисты в области пищевой промышленности достигают подобных улучшений не с помощью трансгенных технологий – то есть вставки участка ДНК одного вида в геном представителя другого вида, – но благодаря точно подобранным улучшениям генов, затрагивающим всего несколько “букв” собственной ДНК организма.

Но хотя потенциальные возможности применения CRISPR в растительном и животном мире весьма впечатляют, все же наибольшие перспективы сулит редактирование генов нашего собственного вида – и оно же, по мнению многих, представляет наибольшую угрозу для будущего всего человечества.

При этом, как ни парадоксально, ряд преимуществ в области здравоохранения, скорее всего, будет получен в результате CRISPR-экспериментов с позвоночными или даже насекомыми. В проведенных недавно экспериментах технологию CRISPR использовали, чтобы “гуманизировать” ДНК свиней, что дает надежду на то, что эти животные однажды послужат донорами органов для людей. CRISPR также удалось запрятать в геномы новых линий комаров: ученые надеются, что внедрение новых признаков в дикие популяции комаров поможет в конечном счете уничтожить заболевания, передаваемые ими – такие как малярия и лихорадка Зика, – или даже полностью истребить самих комаров – переносчиков болезней.

Впрочем, при лечении многих болезней CRISPR потенциально можно будет применять для редактирования и “ремонта” генов самих пациентов. Пока что мы наблюдали лишь малую часть возможностей технологии, но и то, что мы увидели в последние несколько лет, кажется головокружительным. В человеческих клетках, выращенных в лаборатории, эта новая технология редактирования генома уже была использована, чтобы исправить мутации, ответственные за муковисцидоз, серповидноклеточную анемию, некоторые формы слепоты, тяжелый комбинированный иммунодефицит и многие другие недуги. CRISPR дает ученым возможность решать такие задачи, находя и исправляя отдельные “опечатки” в молекулах, составляющих геном длиной 3,2 миллиарда “букв” ДНК, но эту же технологию можно использовать и для значительно более сложных модификаций. Исследователи поправили ошибки в ДНК, вызывающие мышечную дистрофию Дюшенна, вырезав только поврежденный участок мутировавшего гена и не затронув остальную его часть. В случае гемофилии А биологи применили CRISPR, чтобы точно переставить более полумиллиона “букв” ДНК, которые в геномах больных инвертированы – то есть расположены в порядке, обратном нормальному. CRISPR можно использовать даже для лечения ВИЧ-инфекции и СПИДа – либо путем вырезания ДНК вируса из инфицированных клеток пациента, либо путем редактирования ДНК самого пациента таким образом, чтобы его клетки невозможно было заразить ВИЧ.

Список потенциальных терапевтических применений редактирования генома можно продолжать бесконечно. Поскольку CRISPR обеспечивает точное и сравнительно простое

² Стоит отметить, что это вряд ли возможно. Дело не только в том, что для этого нет достаточно сохранных клеток мамонтов, но и в том, что современные слоны не скрещиваются даже с самыми близкородственными видами. Причины такой избирательности пока неизвестны, но есть вероятность, что виной тому некие генетические барьеры. См. Eleftheria Palkopoulou et al. Genomic history of extinct and living elephantids, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Mar 2018, 115 (11), E2566 – E2574; DOI:10.1073/pnas.1720554115. – Здесь и далее постраничные сноски, обозначенные астериском (*), если не указано иное, принадлежат переводчику. Сноски, обозначенные цифрами, ведут в конец книги и принадлежат автору.

редактирование ДНК, он превратил все генетические заболевания – по крайней мере, те из них, для которых известны вызывающие их мутации, – в потенциально излечимые. Медики уже начали бороться с некоторыми видами рака с помощью усовершенствованных иммунных клеток, чьи геномы “усилены” отредактированными генами, помогающими клеткам-хозяевам отлавливать раковые клетки. Хотя пройдет еще немало времени, прежде чем основанные на CRISPR варианты терапии станут общедоступны для пациентов, их потенциал четко виден уже сейчас. Редактирование генома дает надежду на то, что у нас появятся новые методы лечения, меняющие жизнь пациента, а в ряде случаев способные даже спасти ее.

Существуют и другие перспективы применения технологии CRISPR: ее можно использовать не только для лечения заболеваний, но и для их профилактики в будущих поколениях. Метод CRISPR настолько прост и эффективен, что ученые смогут использовать его для модификации человеческих клеток зародышевого пути – потока генетической информации, соединяющего одно поколение с другим. И, несомненно, эта технология – когда-нибудь, где-нибудь – будет использована для наследуемых изменений генома нашего вида, и это навсегда изменит генетическую картину человечества.

Если предположить, что безопасность и эффективность технологии редактирования генов человека будут доказаны, кажется логичным и даже предпочтительным исправлять болезнетворные мутации на самых ранних стадиях развития – *до того*, как опасные гены причинят вред своему обладателю. Но как только мы научимся превращать мутировавшие гены эмбриона в нормальные, появится искушение улучшить нормальные гены до предположительно более “продвинутых” версий. Должны ли мы начать редактировать геном еще не рожденного ребенка, чтобы снизить риск того, что у него когда-нибудь разовьются болезни сердца, болезнь Альцгеймера, диабет или рак? А можно ли наделять этих детей полезными признаками, такими как повышенная сила мышц или улучшенные умственные способности? Можно ли менять их внешний вид – скажем, цвет глаз и волос? Стремление к совершенству кажется едва ли не вшитым в природу человека, но, если мы все же пойдем по этой скользкой дорожке, нам может не понравиться то, куда она нас приведет.

Проблема вот в чем. В течение примерно сотни тысяч лет³ существования людей современного типа геном *Homo sapiens* формировался под одновременным действием двух сил – случайных мутаций и естественного отбора. А теперь – впервые в истории – мы получили возможность редактировать не только ДНК ныне живущих людей, но и ДНК будущих поколений – по сути, направлять эволюцию собственного вида. Это беспрецедентный случай в истории жизни на Земле. Он лежит за пределами нашего понимания. И это ставит перед нами невероятный, но жизненно важный вопрос: как мы, представители капризного вида, неспособные договориться друг с другом столь о многих вещах, посчитаем возможным распорядиться этой грандиозной силой?

Контроль над эволюцией человеческого вида – это было последнее, что могло бы прийти мне в голову в 2012 году, когда мы с коллегами опубликовали статью об основах технологии редактирования генома CRISPR. Начать это исследование нас побудил интерес к совершенно другой области биологии – к механизмам, с помощью которых бактерии защищаются от заражения вирусами. Однако в ходе нашего исследования иммунной системы бактерий, названной CRISPR-Cas, мы раскрыли механизмы работы невероятной молекулярной машины, способной с непревзойденной точностью разрезать на части вирусную ДНК. Возможность применения той же машины для проведения манипуляций над ДНК в клетках других организмов, включая

³ Исследования последних лет говорят о том, что возраст человека разумного как вида больше. Работа 2017 года, в ходе которой изучались остатки *Homo sapiens* из марокканской пещеры Джебель-Ирхунд, показывает, что нашему виду как минимум 200 тысяч лет. См. Jean-Jacques Hublin et al. New fossils from Jebel Irhoud, Morocco and the pan-African origin of *Homo sapiens*, *Nature*, volume 546, pages 289–292 (08 June 2017), DOI: 10.1038/nature22336.

человека, сразу стала нам очевидна. И когда эта технология получила широкую известность и стала распространяться, я не могла не погрузиться в детали многочисленных исследований, основанных на результатах той нашей работы.

Когда ученые использовали CRISPR в экспериментах с эмбрионами приматов для создания первых обезьян с отредактированными генами, я задавалась вопросом, сколько времени пройдет, прежде чем какие-нибудь ученые-бунтари попытаются проделать то же самое с людьми. Поскольку я биохимик, мне никогда до этого не приходилось работать с модельными животными⁴, с человеческими тканями и уж тем более с пациентами-людьми; привычная мне экспериментальная обстановка была ограничена чашками Петри и пробирками, которые использовали сотрудники моей лаборатории. Но теперь я своими глазами видела, как технологию, которую я помогла создать, применяют в исследованиях, способных радикально изменить и наш вид, и мир, в котором мы живем. А вдруг мы, сами того не желая, усугубим социальное или генетическое неравенство или запустим новую волну евгеники? К каким последствиям применения CRISPR нам готовиться?

Меня подмывало оставить эти рассуждения тем, кто специализируется на проблемах биоэтики, и вернуться к воодушевляющим биохимическим исследованиям, которые и вывели меня на CRISPR. Но в то же время как первопроходец в этой области я чувствовала, что обязана принять участие в дискуссии о том, каким образом могут и должны быть использованы технологии, основанные на CRISPR. В частности, мне хотелось убедиться, что в обсуждениях участвуют не только исследователи и специалисты по биоэтике, но и самые различные группы заинтересованных лиц, в том числе социологи, политические деятели, представители духовенства, законодатели и рядовые граждане. Учитывая, что научный прогресс оказывает влияние на все человечество, я считала своим долгом привлечь к дискуссии как можно больше участников из самых разных частей общества. Более того, мне казалось, что разговор следует начать немедленно, до того как новые случаи применения технологии сведут на нет любые попытки управлять ее развитием.

Поэтому в 2015 году, когда я руководила собственной лабораторией в Беркли и ездила по миру, представляя на семинарах и конференциях результаты своих исследований, я начала посвящать все больше времени вещам, до тех пор для меня совершенно несвойственным. Я отвечала на десятки вопросов репортеров обо всем – начиная с “дизайнерских детей” и гибридов свиньи и человека и заканчивая генетически модифицированными “сверхлюдьми”. Я разговаривала о CRISPR с губернатором штата Калифорния, с членами Управления по научно-технической политике Белого дома, с ЦРУ и даже выступала в Конгрессе США. Я организовала первую встречу для обсуждения этических вопросов, которые ставит техника редактирования генома, в особенности CRISPR, в самых разных областях – от репродуктивной биологии и генетики человека до сельского хозяйства, защиты окружающей среды и общественного здравоохранения. И, вдохновившись этой первой встречей, я помогла организовать гораздо более крупный Международный саммит по вопросам редактирования генома человека, собравший ученых и представителей других профессий из Соединенных Штатов, Великобритании, Китая и всего мира.

Во всех обсуждениях мы вновь и вновь возвращались к вопросу о том, каким образом нам следует управлять всей мощью новой технологии редактирования генома. Мы пока не нашли ответ, но шаг за шагом подбираемся к нему.

Редактирование генома вынуждает нас разобраться в непростой задаче: где провести этические границы при манипуляциях человеческими генами. Некоторые люди считают любое

⁴ Модельные животные – это организмы, строение которых в достаточной степени похоже на строение человека; в ходе экспериментов на модельных животных можно уточнять механизмы развития и протекания болезней человека и определять эффективность лекарств против этих болезней.

воздействие на гены мерзким и извращенным попранием священных законов природы и величия жизни. Другие воспринимают геном просто как программное обеспечение – нечто такое, что мы вполне можем исправить, почистить, обновить и улучшить; сторонники этой точки зрения полагают, что оставлять людей, которым можно помочь, заложниками ошибок в их генах – не только иррационально, но и аморально. Рассуждения такого толка побудили одних участников дискуссии требовать полного запрета редактирования генома еще не рожденных детей, в то время как их оппоненты призывают разрешить ученым проводить любые манипуляции с генами без всяких ограничений.

Мои собственные взгляды на проблему меняются (в том числе и в настоящее время), но меня поразила комментарий, сделанный в январе 2015 года на конференции, которую я организовала для обсуждения проблем редактирования генов в человеческих клетках зародышевого пути. Семнадцать человек, включая соавтора этой книги (и по совместительству моего бывшего аспиранта) Сэма Стернберга, сидели за столом для совещаний в калифорнийской долине Напа и вели жаркий спор о том, будет ли разрешено редактировать клетки зародышевого пути, и если да, то когда это случится. Внезапно кто-то придвинулся ближе к столу и очень тихо сказал: “Наступит время, когда неэтичным будет *не воспользоваться* редактированием генов эмбриональных клеток ради того, чтобы облегчить страдания человека”. Эта реплика кардинально поменяла ход нашей дискуссии, и она каждый раз всплывает у меня в памяти, когда я встречаюсь с родителями или будущими родителями, столкнувшимися с разрушительными последствиями генетических заболеваний.

Пока мы рассуждаем, исследования CRISPR продвигаются вперед. В середине 2015 года китайские ученые опубликовали результаты эксперимента, в котором они вводили CRISPR в человеческие эмбрионы. Исследователи использовали отбракованные, нежизнеспособные эмбрионы, но их исследование тем не менее стало важной вехой: впервые была сделана попытка прицельно отредактировать ДНК эмбриональных клеток человека.

Достижения подобного рода вызывают вполне оправданную тревогу. Однако мы не можем не заметить и фантастических возможностей, которые редактирование генома открывает для помощи людям, страдающим от инвалидизирующих наследственных заболеваний. Представьте себе, что человек, узнавший, что несет в себе мутантную копию гена *HTT*⁵ (а это почти наверняка означает раннее наступление деменции), получит доступ к основанному на CRISPR лекарству, способному устранить мутацию еще до проявления каких-либо симптомов заболевания. Никогда раньше мы не были так близки к созданию методов *излечения* наследственных заболеваний, и важно, чтобы, пока идут споры по поводу редактирования геномов человеческих клеток зародышевого пути, мы не настроили общественность против CRISPR и не затруднили внедрение технологии в клиническую работу для лечения недугов, не передающихся по наследству.

У меня вызывают невероятный энтузиазм возможности, которые сулит нам редактирование генома. Исследования CRISPR – и те, что ведутся в научных лабораториях, и те, что проходят в биотехнологических стартапах (а последние уже получили более миллиарда долларов от венчурных инвесторов), – быстро приносят новые данные. Подстегивая развитие отрасли, научные работники и некоммерческие организации предлагают недорогие инструменты, основанные на CRISPR, ученым со всего мира, и таким образом исследования можно вести непрерывно и беспрепятственно.

Однако научный прогресс нуждается не только в исследованиях, инвестициях и инновациях: не менее важно участие общественности. До нынешнего времени революция CRISPR проходила по большей части за закрытыми дверями лабораторий и биотехнологических стар-

⁵ Этот ген кодирует белок гентингтин. Варианты этой молекулы, которые образуются в клетках с мутациями в гене НТТ, вызывают хорею Гентингтона – нарушение умственной деятельности и движений.

тапов. Изданием этой книги и рядом других действий мы надеемся вытащить эту революцию на всеобщее обозрение.

В первой части этой книги, которая называется “Инструмент”, мы с Сэмом рассказываем захватывающую предысторию технологии CRISPR: как она начиналась с исследований иммунной системы бактерий и какие преимущества получила в результате десятилетних разработок методов переписывания ДНК внутри клеток. Во второй части – “Задача” – мы исследуем бесчисленные возможности практического применения CRISPR на животных, растениях и человеке – как будущие, так и уже реализованные, – и обсуждаем невероятные перспективы и заметные трудности, ждущие на этом пути. Вы заметите, что книга рассказана от моего лица. Но ее писали мы оба, и мы оба разделяем большую часть выраженных в ней мнений. Мы выбрали такой способ изложения ради большей ясности и для того, чтобы наиболее полно раскрыть детали неповторимых впечатлений, полученных мной в течение многих лет.

Эта книга не задумывалась как строгое изложение истории CRISPR или как исчерпывающая хронология ранних этапов технологии редактирования генома. Мы скорее хотели подчеркнуть некоторые наиболее важные достижения в этой области и дать представление о том, как наша собственная работа сочеталась с результатами исследований других научных коллективов. Мы дали ссылки на источники там, где это было уместно, и призываем заинтересовавшихся читателей обращаться к дополнительным публикациям, чтобы получить больше информации о предмете, о котором мы пишем. Наконец, мы с огромным уважением отдаем должное бесчисленному множеству ученых, сыгравших ключевые и бесценные роли в изучении CRISPR и редактирования генома, и извиняемся перед теми коллегами, работы которых мы не смогли упомянуть из-за ограниченного объема книги.

Мы надеемся, что данная книга развеет мифы об этой восхитительной области науки и вдохновит вас разобраться в ней. Глобальная дискуссия по поводу редактирования генома уже началась; это исторический спор о будущем нашего мира – не больше и не меньше. Волна приближается. Давайте подплывем к ней и оседлаем ее вместе.

Часть I

Инструмент

Глава 1

В поисках исцеления

Недавно я услышала необыкновенную историю, которая хорошо показывает мощь и возможности технологии редактирования генома.

В 2013 году ученые из Национальных институтов здравоохранения США⁶ столкнулись с медицинской загадкой. Изучая редкое наследственное заболевание, известное как синдром WHIM⁷, они встретили пациентку, чье состояние казалось необъяснимым. В раннем возрасте у женщины (я буду называть ее Ким) была диагностирована эта болезнь, однако через много лет, когда специалисты НИЗ обследовали Ким, заболевание будто бы чудесным образом исчезло.

Синдром WHIM выявлен лишь у нескольких десятков человек в мире, и этот потенциально смертельный иммунодефицит приносит большие страдания тем, кому не повезло услышать такой диагноз. Причиной болезни является крошечная мутация – всего одна неправильная “буква” из 6 миллиардов “букв” ДНК: иными словами, заменены лишь около дюжины атомов. Но это крохотное изменение делает носителя синдрома WHIM чрезвычайно восприимчивым к заражению вирусом папилломы человека (ВПЧ), который вызывает образование неконтролируемо распространяющихся по всему телу бородавок. А они, в свою очередь, могут перерасти в рак.

О редкости заболевания наглядно говорит тот факт, что первой пациенткой, у которой сотрудники НИЗ диагностировали этот синдром еще в 1960-х годах, была Ким, ее же они и обследовали годы спустя (в научной литературе она известна как пациент WHIM-09). Ким страдала от болезни с рождения, и в течение жизни ее несколько раз госпитализировали из-за инфекций, связанных с синдромом.

В 2013 году Ким, которой к тому времени было уже 58 лет, пришла на обследование в НИЗ с двумя своими дочерьми, каждой из которых было по 20 с небольшим. У более молодой из двух женщин были классические симптомы заболевания, однако ученые очень удивились, когда обнаружили, что сама Ким казалась совершенно здоровой. Собственно, она это и подтвердила, заявив, что у нее нет никаких симптомов уже больше 20 лет. Поразительным образом Ким излечилась сама, без всякого медицинского вмешательства.

Ученые провели ряд экспериментов, чтобы понять, как произошло это спонтанное исцеление от потенциально смертельной болезни, и обнаружили некоторые важные зацепки. В клетках, взятых из щеки и с кожи Ким, все еще присутствовал мутантный ген, однако он необъяснимым образом исчез из клеток ее крови. Подвергнув ДНК кровяных клеток женщины более обстоятельному анализу, ученые обнаружили нечто еще более удивительное: у одной копии 2-й хромосомы отсутствовали целых 35 миллионов “букв” ДНК – и этот фрагмент целиком включал мутировавший ген под названием *CXCR4*. (Названия генов пишутся курсивом, а названия белков, которые кодируют эти гены, – прямым шрифтом. К примеру, ген *HTT* кодирует белок

⁶ D. H. McDermott et al., “Chromothriptic Cure of WHIM Syndrome”, *Cell* 160 (2015): 686–699.

⁷ WHIM назван по его четырем основным проявлениям: *warts* (бородавки), *hypogammaglobulinemia* (гипогаммаглобулинемия, нехватка определенного типа иммуноглобулина), *infections* (инфекции) и *myelokathexis* (миелокатексис, дефицит определенных типов белых кровяных телец).

гентингтин; болезнь Гентингтона вызвана мутацией в гене *HTT*.) Остальные двести миллионов “букв” ДНК 2-й хромосомы были перемешаны – словно сквозь хромосому пронеслось торнадо и оставило ее составляющие в полном беспорядке.

Эти первоначальные открытия породили ряд новых вопросов. Как ДНК в клетках крови Ким стала такой “неорганизованной”, в то время как в других клетках организма она была в норме (не считая мутации в гене *CXCR4*)? Более того, почему, несмотря на то что хромосома, содержащая ген *CXCR4*, так сильно повреждена – на ней не хватает 164 генов! – клетки крови не просто выжили, но и нормально функционируют? Геном человека – полный набор всей генетической информации в наших клетках – содержит тысячи генов, необходимых для поддержания жизненно важных функций, таких как репликация ДНК и деление клеток, и казалось практически невероятным, что такое количество генов могут просто исчезнуть без вредных последствий для организма.

Проведя ряд опытов, ученые НИЗ понемногу приблизились к объяснению чудесного исцеления Ким. Они заключили, что в одной из клеток ее организма, должно быть, произошло редкое событие, обычно приводящее к катастрофическим последствиям, – хромотрипсис. Это явление было открыто недавно⁸; в результате хромотрипсиса хромосома внезапно разрушается, а затем восстанавливается, и это приводит к массовой перестановке генов в ней. Последствия такой трансформации для организма обычно либо незначительны (если поврежденная клетка немедленно умирает), либо очень серьезные (если перестановка в ДНК случайно активирует гены, вызывающие рак).

Однако в теле Ким хромотрипсис вызвал другие изменения. Мутировавшая клетка не просто нормально развивалась, но избавилась от гена, вызывающего синдром WHIM, так как в ней больше не было копии гена *CXCR4*, несущего болезнь.

Однако Ким повезло не только в этом. Ученые НИЗ определили, что “счастливая” клетка была, должно быть, гемопоэтической (кроветворной) стволовой клеткой. Из такой стволовой клетки происходят все виды кровяных клеток в теле, у нее есть практически неограниченный потенциал размножения и самообновления. Эта клетка передала свою измененную хромосому каждой дочерней клетке, что в итоге привело к обновлению всей иммунной системы Ким. Теперь в ней были только новые здоровые лейкоциты (белые кровяные тельца), в которых отсутствовала мутация гена *CXCR4*. Эта цепочка событий – настолько маловероятная, что я с трудом могла допустить мысль о реальности произошедшего, пока слушала доклад ученых, – фактически вывела из тела Ким неизлечимую болезнь, от которой она страдала с рождения.

Ученые, исследовавшие здоровье Ким, пришли к выводу, что природа будто бы провела над удачливой женщиной “беспрецедентный эксперимент”, в ходе которого всего одна стволовая клетка прошла через ряд спонтанных изменений, которые избавили как ее саму, так и все дочерние клетки от гена, несущего болезнь. Это была случайность – и, если бы события развивались немного иначе, эта случайность, попросту говоря, могла бы убить Ким, а не спасти ей жизнь.

Чтобы понять, насколько неожиданно благоприятным был такой исход, представьте, что геном человека – это большая компьютерная программа. В случае Ким в программе среди шести миллиардов “букв” содержалась всего одна “буква” некорректного кода. Чтобы найти эту неверную “букву”, вы вряд ли бы стали случайным образом, наугад удалять большие куски кода и перемешивать другие его части: это не только не исправило бы изначальную ошибку, но и привело бы к другим, гораздо более опасным. Только в случае чрезвычайного везения – вероятность такого везения была бы один к миллиону или даже к миллиарду – вы бы умудри-

⁸ P. J. Stephens et al., “Massive Genomic Rearrangement Acquired in a Single Catastrophic Event During Cancer Development”, *Cell* 144 (2011): 27–40.

лись не только удалить именно тот кусок кода, что содержал ошибку, но и не нарушить при этом ключевые функции программы. Коротко говоря, это и случилось в геноме Ким – только работавшим наугад программистом была сама природа.

Однако как бы удивителен ни был случай Ким, еще больше поражает то, что он не уникален. Хотя это и единственный описанный случай исцеления пациента в результате спонтанного разрушения и последующего восстановления хромосомы, в научной литературе есть и другие примеры⁹ пациентов, которые частично или полностью излечились после случайных, спонтанных исправлений мутаций. Например, в 1990-х у двух пациентов из Нью-Йорка выявили тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД) – наследственное заболевание, которое также называют синдромом “мальчика в пузыре” (из-за стерильных условий, в которых приходилось держать некоторых детей, чтобы минимизировать возможный контакт с болезнетворными микроорганизмами). Без строжайшей изоляции или интенсивных форм терапии маленькие пациенты с диагнозом ТКИД обычно умирают, не дожив и до двух лет. Однако двое пациентов из Нью-Йорка оказались исключением из этого ужасного правила: они на удивление хорошо себя чувствовали и в подростковом, и во взрослом возрасте. В обоих случаях, как определили ученые, клетки пациентов спонтанно скорректировали мутацию в гене *ADA*, несущую болезнь, причем эта коррекция не потревожила остальные гены хромосомы¹⁰.

Известны и другие похожие случаи, когда сама природа редактировала геном, избавляя людей от наследственных заболеваний, таких как синдром Вискотта – Олдрича¹¹ (от этого недуга целых 10–20 % процентов больных спасает именно спонтанная коррекция генома) или болезнь печени под названием тирозинемия¹². В случае некоторых кожных заболеваний присутствие клеток с отредактированным геномом можно увидеть невооруженным взглядом: при одном из видов ихтиоза, имеющем выразительное название “ихтиоз с конфетти”¹³, у больных на коже появляются участки красной, шелушащейся кожи. Клетки в этих местах несут генетическую мутацию, однако клетки окружающих, здоровых участков кожи смогли ее исправить.

Однако в общем и целом шансы на спонтанное излечение от наследственного заболевания минимальны. С большинством пациентов никогда не произойдет такого чуда природы – чтобы гены сами изменились абсолютно правильным образом, именно в нужных клетках и в нужных тканях. Редактирование генома самой природой – это аномалия, интересный медицинский курьез, затронувший небольшое количество пациентов, выигравших в “генетическую лотерею”.

Но что, если бы редактирование генома было не только спонтанным явлением? Что, если бы врачам был доступен какой-нибудь способ корректировать вредоносные мутации, которые вызывают синдромы WHIM, ТКИД, тирозинемия – и, если уж на то пошло, любое наследственное заболевание?

У многих ученых, включая и меня, случаи, подобные истории болезни Ким, вызвали повышенный интерес – не только потому, что они обнаруживали целительную мощь природы, редактирующей геном, но также потому, что они наталкивали на мысль о возможности нового вида медицинского вмешательства: рационального и точно рассчитанного исправления оши-

⁹ R. Hirschhorn, “In Vivo Reversion to Normal of Inherited Mutations in Humans”, *Journal of Medical Genetics* 40 (2003): 721–728.

¹⁰ R. Hirschhorn et al., “Somatic Mosaicism for a Newly Identified Splice-Site Mutation in a Patient with Adenosine Deaminase-Deficient Immunodeficiency and Spontaneous Clinical Recovery”, *American Journal of Human Genetics* 55 (1994): 59–68.

¹¹ B. R. Davis and F. Candotti, “Revertant Somatic Mosaicism in the Wiskott-Aldrich Syndrome”, *Immunologic Research* 44 (2009): 127–131.

¹² E. A. Kvittingen et al., “Self-Induced Correction of the Genetic Defect in Tyrosinemia Type I”, *Journal of Clinical Investigation* 94 (1994): 1657–1661.

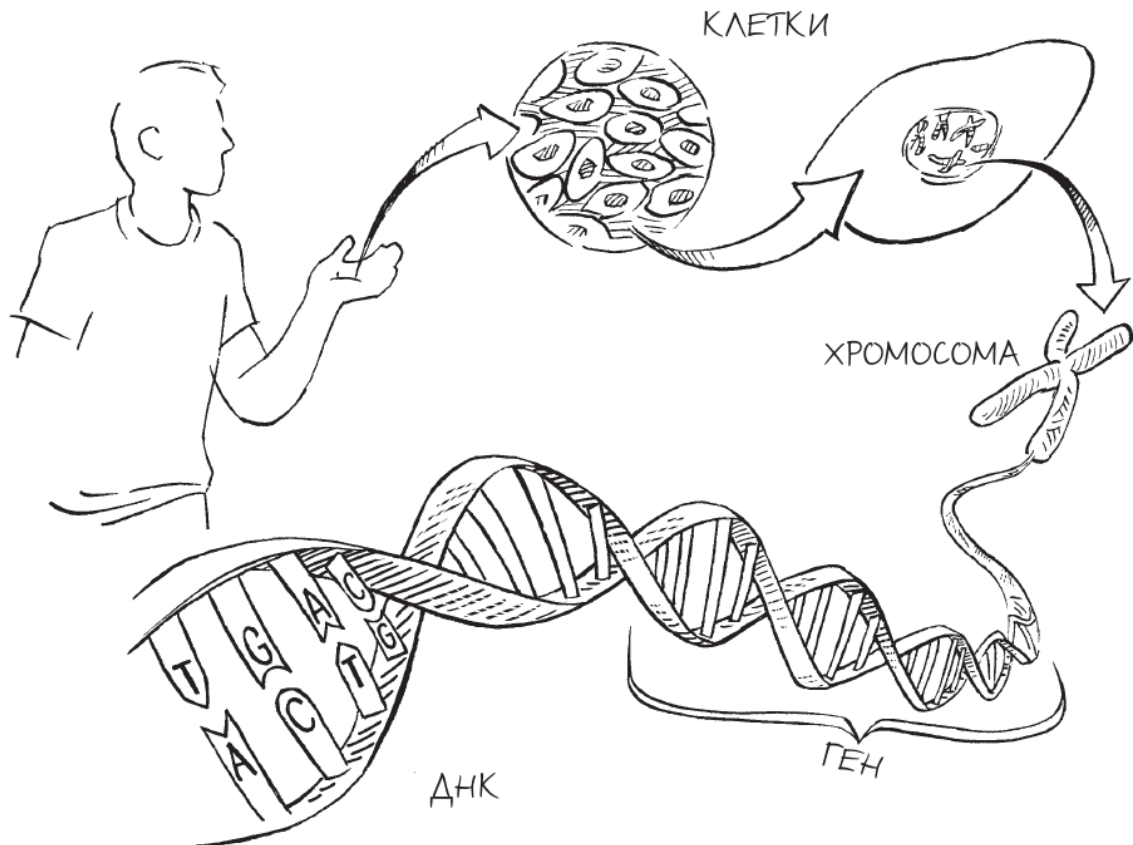
¹³ K. A. Choate et al., “Mitotic Recombination in Patients with Ichthyosis Causes Reversion of Dominant Mutations in KRT10”, *Science* 330 (2010): 94–97.

бок в геноме. Исправления, которое могло бы устранить неприятные симптомы наследственных заболеваний. Истории этих везучих людей продемонстрировали, что намеренное редактирование генома стало бы возможно, если бы у ученых были нужные генетические данные и необходимые биотехнологические инструменты.

В течение десятилетий, задолго до того, как я посвятила себя этой области знаний, специалисты по медико-биологическим наукам бились над тем, чтобы получить эти данные и разработать такие инструменты. Более того, ученые мечтали о терапевтическом редактировании генома еще до того, как было обнаружено, что сама природа подсказывает, как это можно сделать. Но чтобы сделать такую технологию реальной, исследователям необходимо было понять сам геном: из чего он сделан, как он строится и – что наиболее важно – каким образом можно вносить в него изменения и “настраивать” его. Только обладая подобной базовой информацией, первопроходцы этой научной области и их последователи могли предпринять первые неуверенные шаги по направлению к лечению людей – людей не настолько везучих, как Ким, которой посчастливилось исцелиться самой.

Термин “геном”, предложенный в 1920 году немецким ботаником Гансом Винклером и, возможно, образованный слиянием слов “ген” и “хромосома”, описывает всю совокупность наследственного материала в клетке организма¹⁴. В большинстве случаев он идентичен в каждой клетке любого организма (за исключением отдельных клеток с мутациями). В геноме содержится информация – инструкции, согласно которым организм любого живого существа растет, поддерживает себя и передает гены потомкам. У одного организма геном вызывает развитие плавников и жабр для движения и дыхания под водой; у другого – рост листьев и выработку хлорофилла для получения энергии из солнечного света. Присущие нам физические черты: зрение, рост, цвет кожи, предрасположенность к недугам и т. д. – соответствуют информации, закодированной в наших геномах.

¹⁴ J. Lederberg, “‘Ome Sweet ‘Omics – A Genealogical Treasury of Words”, *Scientist*, April 2, 2001.

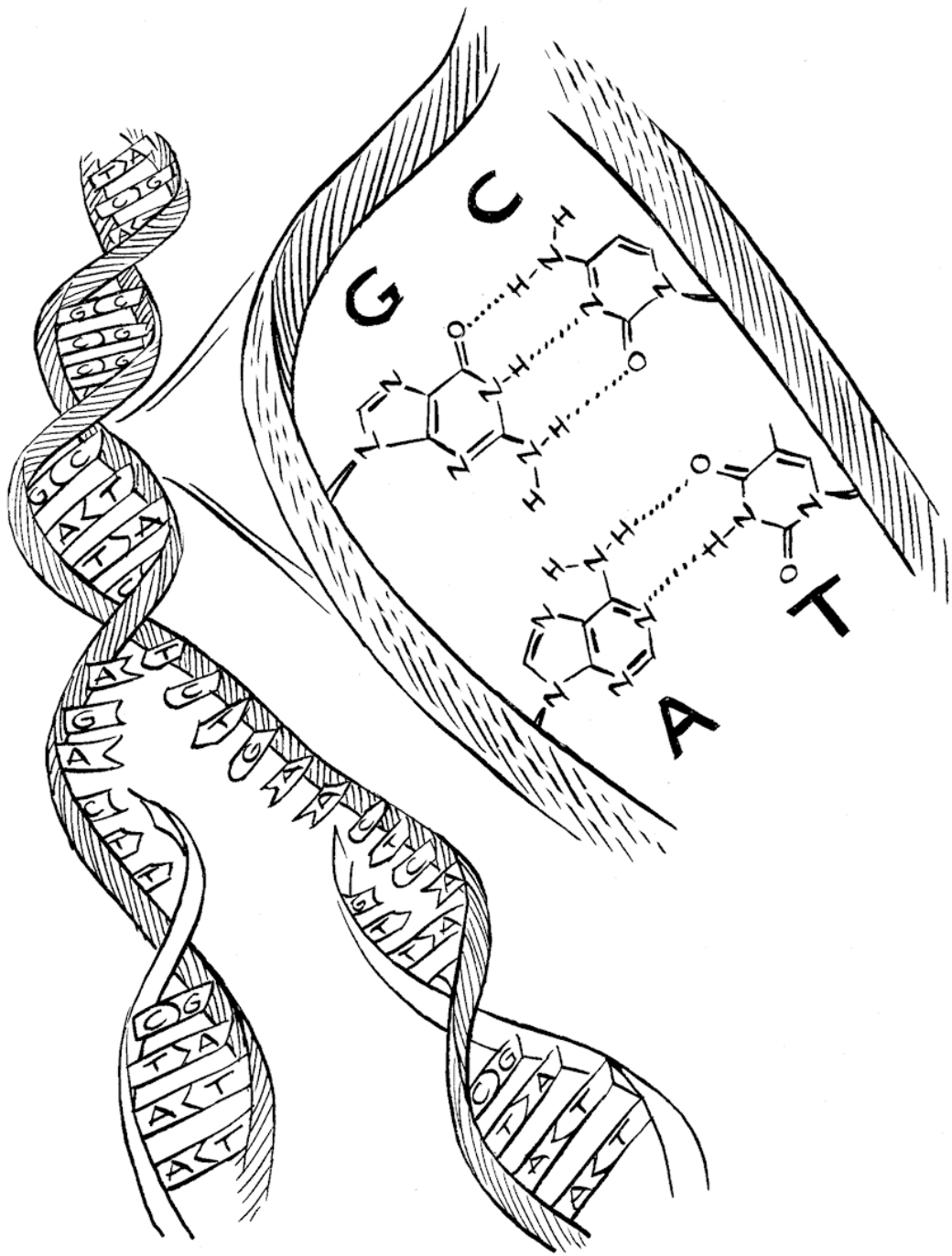


Геном образуют молекулы, которые называются дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) и состоят всего лишь из четырех различных видов структурных элементов – нуклеотидов, тех самых “букв” ДНК: А, Г, Ц и Т. Эти буквы – сокращения названий химических групп, азотистых оснований, которыми нуклеотиды отличаются друг от друга: аденин, гуанин, цитозин и тимин. “Буквы” молекул связаны в длинные одинарные цепочки. Две такие цепочки образуют знакомую нам всем спиральную структуру.

Эта структура чем-то напоминает лесенку, скрученную в длинную двойную спираль. Две цепочки ДНК оборачиваются друг вокруг друга вдоль центральной оси, а сахарофосфатный остов каждой цепи остается на внешней стороне спирали; если продолжить сравнение, можно сказать, что эти элементы как бы образуют перила лестницы. При таком расположении элементов азотистые основания четырех типов оказываются в центре спирали и находятся ближе всего к оси, встречаясь в середине молекулы; это “ступеньки” лестницы. Элегантная черта этой структуры – набор химических взаимодействий, благодаря которым цепочки связаны в каждой ступеньке. Это своего рода “молекулярный клей”: “буква” А с одной цепочки всегда образует пару с “буквой” Т на другой цепочке, а Г – с Ц. Эти пары “букв” называют парами оснований.

Двойная спираль прекрасно демонстрирует молекулярные основы наследственности; именно с помощью этой структуры относительно простое химическое соединение ДНК может при делении клетки передавать генетическую информацию двум дочерним клеткам; таким же образом информация может в дальнейшем распространяться в каждую клетку целого растения или животного. Благодаря тому, что молекула состоит из двух цепочек, и тому, что существуют правила, согласно которым эти цепочки соединяются (А – только с Т, Г – только с Ц), каждая из них представляет собой точный шаблон для соответствующей пары¹⁵.

¹⁵ Такое соответствие называется комплементарностью, а правило, по которым одно азотистое основание становится напротив другого, называют правилом (или принципом) комплементарности.



Структура двойной спирали ДНК

Незадолго до деления клетки две цепочки разделяются ферментом, который “расстигает” двойную спираль прямо по центру, будто застежку-“молнию”. После этого другие ферменты подбирают новую пару для каждой цепочки, используя те же самые правила для формирования пар оснований, в результате чего образуются две точные копии оригинальной двойной спирали.

Мое собственное знакомство с двойной спиралью ДНК совпало с другим моим открытием: оказывается, ученые способны изучать молекулы, слишком маленькие для того, чтобы их можно было разглядеть даже в самый мощный оптический микроскоп. Мне было около двенадцати, когда я, вернувшись однажды домой из школы, обнаружила на своей постели потре-

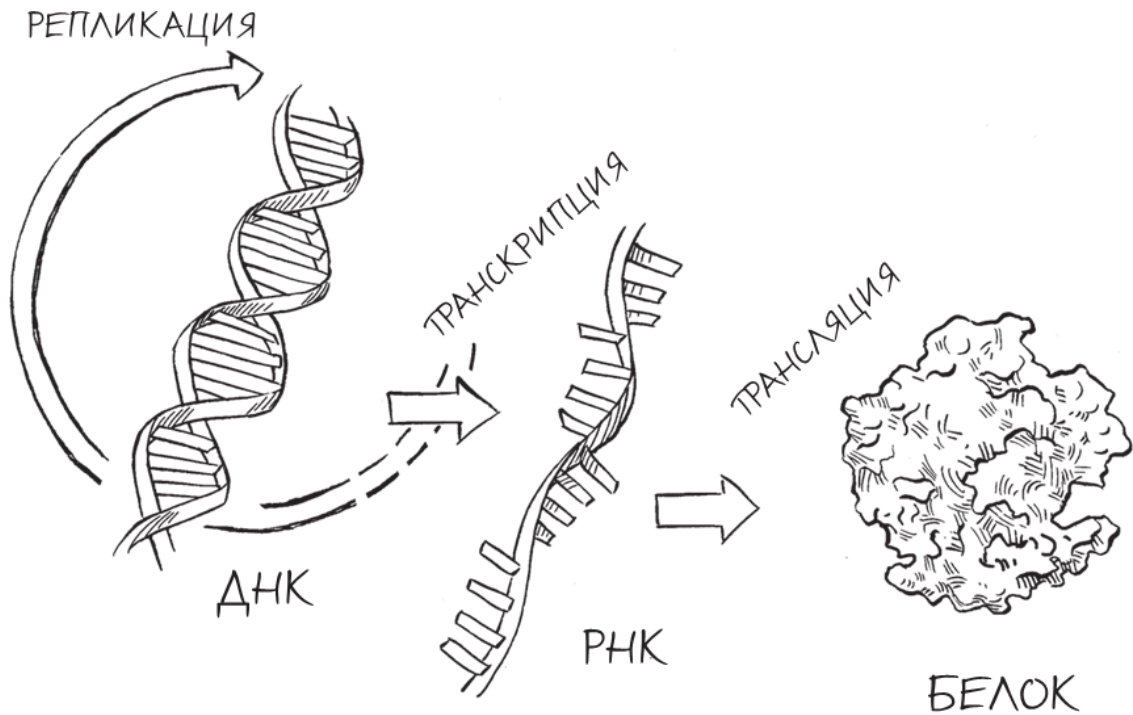
панную книгу Джеймса Уотсона “Двойная спираль” (мой отец иногда выбирал для меня ту или другую подержанную книгу в букинистическом магазине, чтобы посмотреть, не заинтересует ли она меня). Я подумала, что это какой-то детектив (и так ведь оно и было!), и отложила книгу на несколько недель, прежде чем погрузиться в чтение одним дождливым субботним днем.

Уотсон рассказывал о том, как научное сотрудничество с Фрэнсисом Криком позволило им обоим – используя критически важную информацию, собранную их коллегой Розалинд Франклин, – расшифровать эту простую и красивую молекулярную структуру. Именно тогда я ощутила первую искру интереса, который в конце концов и заставил меня выбрать похожий путь в жизни. (Много лет спустя я смогла резко ускорить собственную научную карьеру, расшифровав некоторые из первых трехмерных структур РНК – куда более сложных!)

В годы, которые последовали за открытием Уотсона и Крика, другие ученые пытались понять, каким образом структура этой молекулы и ее достаточно простые химические составляющие могут кодировать информацию и объяснять многочисленные биологические явления. ДНК похожа на какой-то тайный, зашифрованный язык: каждая последовательность “букв” предоставляет собой инструкцию для образования определенного белка внутри клетки. Затем эти белки выполняют большинство жизненно важных функций в организме, например расщепляют пищу, распознают и уничтожают болезнетворные микроорганизмы, чувствуют свет.

Чтобы превратить инструкции, содержащиеся в ДНК, в белки, клетки используют важнейшую (и близкородственную ДНК) молекулу рибонуклеиновой кислоты (РНК), которая образуется по шаблону ДНК в ходе процесса, который называется транскрипцией. Три “буквы” в РНК совпадают с “буквами” ДНК, однако “буква” Т (тимин) заменена на У (урацил). Кроме того, сахар, образующий остов РНК, содержит на один атом кислорода больше, чем атом сахара в ДНК (потому-то последнюю и называют *дезоксирибонуклеиновой кислотой*). РНК выступает в качестве передатчика информации от клеточного ядра, в котором находится ДНК, во внешнюю часть клетки, где образуются белки. В этом процессе (он называется трансляцией) клетки используют для создания отдельных молекул белков длинные цепочки РНК, которые образуются с использованием информации с определенных фрагментов ДНК – участков кода, называемых генами. Каждые три “буквы” РНК, поставленные рядом, соответствуют одной аминокислоте (аминокислоты – это “строительные блоки” белков). Гены и соответствующие им белковые продукты отличаются друг от друга последовательностью нуклеотидов (в генах) и аминокислот (в белках). Этот общий поток генетической информации – от ДНК к РНК к белку – известен как центральная догма молекулярной биологии, и именно на этом языке “общается” и выражает себя жизнь.

Размер генома и число генов, содержащихся в нем, сильно различаются у представителей различных царств живого мира. У большинства вирусов, например, всего несколько тысяч “букв” ДНК (или РНК, так как в некоторых вирусных геномах нет ДНК) и небольшое количество генов. Геномы бактерий, с другой стороны, содержат миллионы “букв” и около 4000 генов. В геноме мух около 14 000 генов, распределенных среди сотен миллионов пар оснований ДНК. В человеческом геноме около 3,2 миллиарда “букв” ДНК и около 21 000 генов, кодирующих белки. Любопытно, что размер генома не всегда соответствует сложности организма; геном человека приблизительно такой же длины, как геном мыши или лягушки, где-то в десять раз короче, чем геном саламандры, и более чем в сто раз меньше, чем геномы некоторых растений.



*Центральная догма молекулярной биологии*¹⁶

Геномы различных видов живых существ могут иметь совершенно различную структуру. В то время как большинство бактериальных геномов существуют внутри клетки в виде одной непрерывной последовательности ДНК, человеческий геном состоит из 23 отдельных частей, которые называются хромосомами и имеют длину от 50 до 250 миллионов “букв”. Как и клетки большинства млекопитающих, клетки человека обычно содержат две копии каждой хромосомы, одну от отца, другую от матери. Каждый родитель передает ребенку 23 хромосомы, так что всего их получается 46. (Существуют исключения из этого правила; например, у людей с синдромом Дауна есть третья копия 21-й хромосомы.) Полный набор ядерных хромосом может быть найден практически в любой клетке тела (важное исключение – красные кровяные тельца, так как у них нет ядра¹⁷), однако ДНК хранится не только в ядре. В геноме человека также входит отдельная мини-хромосома – она содержит всего 16 000 “букв” ДНК и расположена в митохондриях, “батареях” клетки, производящих энергию. В отличие от генетического кода других хромосом, митохондриальная ДНК наследуется исключительно по материнской линии¹⁸.

Мутации в любой из 23 пар хромосом или в митохондриальной хромосоме могут вызывать наследственные заболевания. Простейшая мутация называется точечной заменой – в этом случае один нуклеотид заменен на другой, и в результате соответствующий ген будет кодировать дефектный белок. К примеру, серповидноклеточная анемия, наследственное заболевание крови, случается при замене семнадцатой “буквы” гена под названием бета-глобин (с А на Т). При переходе от нуклеотидов к аминокислотам, то есть в ходе трансляции, эта мутация приво-

¹⁶ Здесь не указан еще один процесс – обратная транскрипция. В ходе этого процесса по информации с молекулы РНК с помощью фермента обратной транскриптазы (ревертазы) строится молекула ДНК. Самый известный объект, использующий обратную транскрипцию, – вирус иммунодефицита человека. Он входит в довольно крупную группу ретровирусов. В ретровирусах есть только РНК, а ДНК нет. Последняя и образуется в ходе обратной транскрипции, когда эти вирусы попадают в клетки-жертвы.

¹⁷ Только в зрелом состоянии; у молодых клеток оно есть, затем утрачивается.

¹⁸ Исследование 2018 года опровергает этот тезис: Shiyu Luo et al. Biparental Inheritance of Mitochondrial DNA in Humans, *PNAS*, December 18, 2018, 115 (51), 13039–13044; published ahead of print November 26, 2018. DOI: 10.1073/pnas.1810946115.

дит к тому, что глутамат заменяется на валин, причем происходит это в критической области белка гемоглобина – компонента эритроцитов (красных кровяных телец), транспортирующего кислород. Последствия этого крошечного изменения в белке – меняются лишь десять атомов из более чем восьми тысяч – очень серьезны. Мутировавшие молекулы гемоглобина слипаются и образуют аномальные волокна, меняющие форму эритроцитов, что ведет к анемии, повышенному риску инсульта и инфекций, а также к сильной боли в костях.

Серповидноклеточная анемия – пример генетического заболевания, наследуемого по рецессивному типу. Это означает, что болезнь возникает тогда, когда обе копии гена *HBB* в организме несут мутацию; если изменения есть только в одной копии, то немутировавший ген может произвести достаточно нормального гемоглобина, чтобы нивелировать негативное воздействие мутантного гемоглобина. Люди, у которых лишь одна копия гена *HBB* мутантная, все равно являются носителями серповидноклеточной анемии, и хотя обычно это не влияет на их здоровье, они все же могут передать дефектный ген потомству.

Другие генетические заболевания наследуются по доминантному типу, что означает, что всего одной мутантной копии гена достаточно, чтобы вызвать болезнь. Один из примеров этого – синдром WHIM, при котором тысячная “буква” гена *CXCR4* меняется с Ц на Т; мутировавший ген кодирует гиперактивный белок, который нивелирует работу здорового гена.

И серповидноклеточная анемия, и синдром WHIM – примеры генетических заболеваний, вызываемых простыми точечными заменами (ошибочной подменой одной “буквы” ДНК на другую). Однако генетические заболевания могут быть и результатом вставки (инсерции) или утраты (делеции) фрагментов ДНК. К примеру, нейродегенеративное расстройство, известное как хорея Гентингтона, происходит из-за мутации в гене *HTT*, в котором одни и те же три “буквы” ДНК повторяются слишком много раз. Это заставляет клетки мозга производить аномальные белки, постепенно разрушающие эти клетки. А вот муковисцидоз (опасное для жизни наследственное заболевание, которое поражает главным образом легкие), напротив, возникает из-за удаления трех “букв” генетического кода в гене *CFTR*, что приводит к тому, что белок лишается важной аминокислоты и его функционирование нарушается. Другие заболевания возникают, когда участки гена инвертированы (расположены в обратном порядке) или когда фрагменты хромосом или даже целые хромосомы по ошибке удвоены или отсутствуют.

О генетических причинах многих болезней стало известно благодаря относительно недавнему изобретению секвенирования ДНК – процесса, который позволяет ученым прочитывать и записывать содержимое генома человека “буква за буквой”. После того как в 1970-х годах появились первые методы секвенирования, ученые начали кропотливо искать и идентифицировать генетические причины наиболее известных на тот момент наследственных заболеваний. “Квантовый скачок” в этой области произошел, когда был осуществлен проект “Геном человека”, начавшийся в 1990-х годах, когда ученые со всего мира объединились, чтобы секвенировать весь геном человека. При выполнении этой амбициозной задачи была использована новая технология, которая позволяла клонировать большие фрагменты ДНК человека в дрожжах. Реализации проекта также способствовали значительный прогресс в автоматизации лабораторных процессов и разработка сложных вычислительных алгоритмов для облегчения анализа данных, полученных при секвенировании. Проект стоил огромных усилий и средств (около 3 миллиардов долларов), и в 2001 году был опубликован первый “черновой вариант” генома.

С момента завершения проекта “Геном человека” процесс секвенирования ДНК и секвенирования целых геномов стал удивительно быстрым, дешевым и эффективным. Ученые точно идентифицировали более четырех тысяч различных мутаций, способных вызывать генетические заболевания. Секвенирование ДНК помогает выявить повышенный риск развития некоторых видов рака, подбирать индивидуальные методики лечения для пациентов с различной наследственностью. Сегодня коммерческий анализ ДНК стал общедоступным: он стоит лишь

несколько сотен долларов за каждый тест, и миллионы людей решили сделать анализ собственных геномов, для чего им нужно было лишь предоставить образец слюны. Последовало значительное увеличение объема данных о человеческом геноме, что помогло исследователям выявить важные связи между тысячами вариантов генов и рядом физических и поведенческих черт.

И все же, несмотря на то что секвенирование генома отражает огромный прогресс в изучении наследственных недугов, это в конечном счете лишь диагностический инструмент, но не средство для их лечения. Оно помогло нам увидеть, как наследственные заболевания записываются на языке ДНК, однако секвенирование не дает нам никаких возможностей для изменения этого языка. В конце концов, научиться читать – далеко не то же самое, что научиться писать. Для этого ученым нужен совершенно другой набор инструментов.

Исследователи мечтали о связанных с ДНК методах лечения с тех пор, как было открыто существование генетических заболеваний. Когда некоторые ученые только начинали определять основополагающие причины наследственных заболеваний, другие уже находились в напряженном поиске новых методов лечения этих недугов – методов, которые позволили бы не только давать пациентам препараты, временно смягчающие нежелательные эффекты генной мутации, но и исправлять сам мутировавший ген, чтобы навсегда остановить болезнь. Приведу пример: серповидноклеточная анемия лечится сегодня при помощи частых переливаний крови, использования препарата гидроксикарбамида и пересадки костного мозга. Разве не лучше было бы атаковать саму мутацию ДНК, вызвавшую заболевание?

Пионеры исследований в этой области знали, что лучшим решением для лечения наследственных заболеваний было бы исправление дефектного гена – то есть целенаправленно проделать то же самое, что природа сделала случайно, исцелив Ким и других везучих пациентов вроде нее. Однако идея лечения наследственных недугов посредством переписывания мутантного генетического кода казалась фантастической – нечто поиска иголки в стоге сена, а потом вытаскивания ее из этого стога, причем нельзя было задеть при этом ни одной соломинки. Но вместе с тем ученые подозревали, что похожих изменений можно было бы добиться, добавляя целые замещающие гены в поврежденные клетки. Вопрос состоял в том, каким образом доставить этот ценный груз в нездоровый геном.

Зная о том, что вирусы обладают необычной способностью “вклеивать” новую генетическую информацию в ДНК бактериальных клеток, пионеры исследований генной терапии поняли, что вирусы можно использовать для доставки “лечебных генов” людям. Первые опыты подобного рода были проведены в конце 1960-х годов американским врачом Стэнфилдом Роджерсом – он изучал папилломавирус Шоупа, вызывающий выростания на коже у кроликов. Роджерса особенно заинтересовала одна особенность этого вируса: в телах зараженных кроликов вырабатывалось слишком много аргиназы – фермента, нейтрализующего вредную аминокислоту аргинин¹⁹. В организмах больных кроликов было гораздо больше аргиназы и меньше аргинина, чем у здоровых животных. Кроме того, Роджерс обнаружил, что у исследователей, работавших с вирусом, уровень аргинина в крови также был ниже нормы. Видимо, эти ученые подхватили вирус от кроликов, и эта инфекция вызвала долгосрочные изменения также и в их телах.

Роджерс начал подозревать, что вирус Шоупа доставлял в клетки ген, ответственный за повышенную выработку аргиназы. Он удивился, что вирус способен переносить генетическую информацию столь эффективно, и задался вопросом: а смогла бы специально сконструировать

¹⁹ Следует уточнить, что хотя избыток аргинина (как и других веществ), безусловно, вредит организму, но без этой аминокислоты нельзя построить белки, так что ее полное отсутствие еще более вредно.

рованная версия вируса доставлять в клетки другие, полезные гены? Много лет спустя Роджерс вспоминал: “Было ясно, что в поисках болезни мы открыли средство лечения!”²⁰

Ему не пришлось долго ждать случая, чтобы протестировать свою теорию на реальных пациентах. Спустя всего несколько лет у двух девочек из Германии было диагностировано наследственное расстройство под названием гипераргининемия. Как и у кроликов, инфицированных папилломавирусом Шоупа, у пациенток были аномальные уровни аргинина в крови – однако на этот раз не пониженные, а слишком высокие. Ген, ответственный за производство аргиназы (как подозревал Роджерс, именно этот ген переносился вирусом Шоупа), в организмах девочек либо отсутствовал, либо мутировал.

Симптомы гипераргининемии ужасны: в их числе постепенно усиливающиеся спазмы, эпилепсия и серьезная умственная отсталость. Однако был шанс, что вмешательство на ранней стадии, особенно в случае младшей пациентки, могло предотвратить наиболее тяжелые последствия заболевания. Роджерс и его немецкие коллеги ввели девочкам вирус Шоупа в терапевтических целях, сделав инъекцию больших доз очищенного вируса кроликов прямо в кровоток.

К сожалению, экспериментальная генная терапия Роджерса обернулась разочарованием – и не только для него, но и, что более печально, для его пациентов и их семьи. Инъекции не оказали почти никакого воздействия ни на одну из девочек, а Роджерса массово порицали за процедуру, которую многие его коллеги сочли безрассудной и непродуманной²¹. Дальнейшее исследование показало, что вопреки предположениям Роджерса в вирусе Шоупа даже не содержалось гена аргиназы²², поэтому он не мог никак быть полезен для лечения гипераргининемии.

Хотя Роджерс больше никогда не предпринимал попыток провести генную терапию, его идея об использовании вирусов в качестве средства доставки генов в клетки – ученые называют такие средства векторами – произвела революцию в биологии. Эксперимент не удался, однако общий принцип Роджерса оказался верным, и перенос генов при помощи вирусов до сих пор является одним из наиболее эффективных известных способов вставки генов в геном клетки – и, следовательно, изменения генетического кода живых организмов.

Вирусы эффективны в качестве векторов благодаря нескольким своим характерным особенностям. Начать с того, что в результате своей эволюции вирусы научились невероятно эффективно проникать в клетки любого типа. С тех пор как на Земле существует жизнь, организмам всех царств – бактериям, растениям, животным и т. д. – приходилось бороться с паразитическими вирусами, единственной целью которых является “взлом” клетки и вставка в нее собственной ДНК, чтобы эта клетка вырабатывала множество новых копий вирусных частиц. На протяжении тысячелетий эволюции вирусы выработали способность использовать практически любое слабое место в клеточной защитной системе и усовершенствовали стратегии “доставки” своего генетического груза внутрь клетки. Вирусные векторы поразительно надежны в качестве инструмента; работающие с ними исследователи могут доставить гены в необходимые клетки с практически стопроцентной эффективностью. Для ученых, которые первыми использовали этот вид терапии, вирусные векторы были чем-то вроде троянского коня.

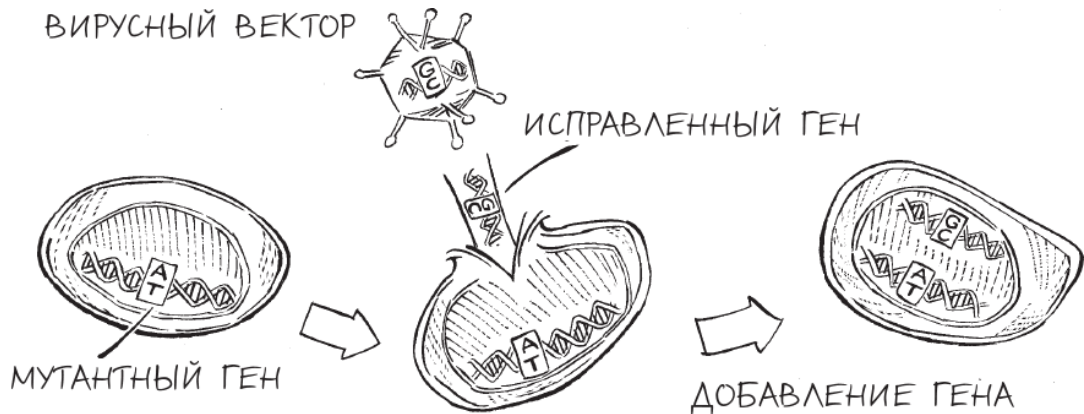
Вирусы способны не только переносить свою ДНК внутрь клетки, но и обеспечивать ее сохранение там. В 1920–1930-е годы, на заре генетических экспериментов на бактериях, ученые недоумевали по поводу способности бактериальных вирусов возникать словно из ниоткуда и вызывать инфекции. Дальнейшие исследования показали, что эти вирусы могут вносить свой геном в бактериальную хромосому и таиться там до тех пор, пока условия не станут под-

²⁰ S. Rogers, “Reflections on Issues Posed by Recombinant DNA Molecule Technology. II”, *Annals of the New York Academy of Sciences* 265 (1976): 66–70.

²¹ T. Friedmann and R. Roblin, “Gene Therapy for Human Genetic Disease?”, *Science* 175 (1972): 949–955.

²² T. Friedmann, “Stanfield Rogers: Insights into Virus Vectors and Failure of an Early Gene Therapy Model”, *Molecular Therapy* 4 (2001): 285–288.

ходящими для интенсивного инфицирования. Ретровирусы – большой класс вирусов, к которым относится, например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), – проделывают то же самое в организме человека, внося свой генетический материал в геном инфицированных клеток. Из-за этого вредоносного свойства уничтожить ретровирусы чрезвычайно сложно, и они сумели оставить огромный след в наследственности нашего вида. Целых 8 % генома человека – около 250 миллионов “букв” ДНК – это наследие древних ретровирусов, которые поражали наших предков много тысячелетий назад.



Генная терапия с использованием вирусных векторов

За первыми попытками генной терапии в 1960-х последовало быстрое развитие этой научной области, которое происходило благодаря революционной разработке, известной как рекомбинантная ДНК, – это собирательный термин для генетического кода, искусственно созданного в лаборатории. Используя новые биотехнологические инструменты и новые биохимические методы, ученые в 1970-х и 1980-х годах научились вырезать и вставлять фрагменты ДНК в геномы и выделять заданные последовательности генов. Это позволило им вставлять “лечебные” гены в вирусы и удалять опасные гены таким образом, что вирусы больше не вредили инфицированным клеткам. Ученые фактически превратили эти вирусы в нечто вроде тихих снарядов, предназначенных для того, чтобы доставить свой генетический заряд точно в нужную цель – и никуда более.

К концу 1980-х были проведены эксперименты на мышах, и в ходе этих экспериментов перенастроенные ретровирусы успешно вставляли произведенные в лаборатории гены в ДНК животных; теперь предстояло испытать генную терапию в клинических условиях. В это время я работала в Гарварде, проводила там исследования для своей докторской диссертации по биохимии; я помню, как мы с коллегами по лаборатории обсуждали новость о том, что Френч Андерсон и его коллеги из Национальных институтов здравоохранения первыми смогли провести клинические испытания. Они разработали многообещающий вектор, снабженный здоровой копией гена *ADA* (аденозиндезаминазы). Из-за мутации этого гена возникает недостаточность аденозиндезаминазы – формы ТКИД (тяжелого комбинированного иммунодефицита). Команда Андерсона хотела использовать генную терапию для того, чтобы навсегда включить здоровый ген *ADA* в состав кровяных телец пациентов, страдающих от ТКИД, – таким образом, чтобы эти клетки смогли вырабатывать недостающий белок. Андерсон и его коллеги надеялись, что это приведет к излечению от болезни.

К сожалению, результаты этого первого клинического испытания оказались не вполне ясными; перестроенный вирус вроде бы не причинил вреда ни одному из двух пациентов, которые его получили, однако и эффективность метода было трудно определить. К примеру, после проведения этой процедуры у обоих пациентов увеличилось количество жизнеспособ-

ных иммунных клеток – однако это улучшение могло быть вызвано и другими средствами, которые больные принимали параллельно с проведением генной терапии. Более того, в реальности лишь очень небольшое число клеток получило здоровый ген *ADA*, а это означало, что вирус, вероятно, не настолько эффективен в качестве средства доставки генов, как надеялись ученые.

Однако за три десятилетия, прошедших со времени этого первого и не слишком убедительного опыта, в области генной терапии происходил феноменальный прогресс. Усовершенствования в конструировании вирусных векторов и методов их доставки в клетки привело к чрезвычайно воодушевляющим результатам генной терапии *ADA* у десятков больных ТКИД, и коммерческий препарат под названием стримвेलис, скорее всего, скоро будет одобрен экспертами²³.

По состоянию на 2016 год было проведено около 2000 испытаний различных видов генной терапии, и список недугов, поддающихся лечению этим методом, значительно расширился: теперь он включает такие моногенные наследственные заболевания, как муковисцидоз, миодистрофия Дюшенна, гемофилия, некоторые виды слепоты, а также все большее число различных сердечно-сосудистых и неврологических недугов. А перспективный метод иммунотерапии рака – при котором клетки, сражающиеся с опухолью, “заряжаются” генами, нацеленными на специфичные для опухолей молекулы, – был назван одним из самых многообещающих прорывов в онкологии и подтверждением того, что генная терапия еще много чего может предложить медицине.

Но, несмотря на шумиху, генная терапия пока не стала панацеей, как надеялись ученые и медики; напротив, в некоторых случаях она, кажется, принесла больше вреда, чем пользы. Тяжелый удар по этой области нанес 1999 год, когда один пациент умер после мощного иммунного ответа его организма на большую дозу вирусного вектора. В то время я преподавала в Йельском университете и была полностью погружена в исследования способа, которым вирусные молекулы РНК “взламывают” белоксинтезирующие системы в клетках. Хотя область моих исследований не слишком пересекалась с генной терапией, новости об этом катастрофическом исходе расстроили меня и одновременно заставили более целеустремленно работать над тем, чтобы лучше понимать устройство вирусов и клеток.

Позже, уже в начале 2000-х, у пяти пациентов, которым проводили генную терапию сцепленного с X-хромосомой ТКИД, развилась лейкемия – рак красного костного мозга. Это произошло из-за того, что ретровирус ошибочно активировал некий онкоген (один из генов, вызывающих рак), и это привело к неконтролируемому размножению клеток. Этот инцидент подчеркнул неотъемлемый риск, присущий методу, при котором пациентам вводятся большие количества чужеродного агента, а в их геномы случайно встраиваются несколько тысяч “букв” ДНК. Я помню, как тогда подумала, что эта область клинических исследований, в принципе столь многообещающая, может оказаться неприемлемо рискованной.

²³ В мае 2016-го Европейская комиссия дала разрешение на производство и использование стримвेलиса, однако к марту 2018-го было продано всего пять курсов препарата, что и неудивительно: за год в ЕС выявляется лишь 15 случаев ТКИД с недостаточностью аденозиндезаминазы, при этом стоимость препарата – 594 тысячи евро.

Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «ЛитРес».

Прочитайте эту книгу целиком, [купив полную легальную версию](#) на ЛитРес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.