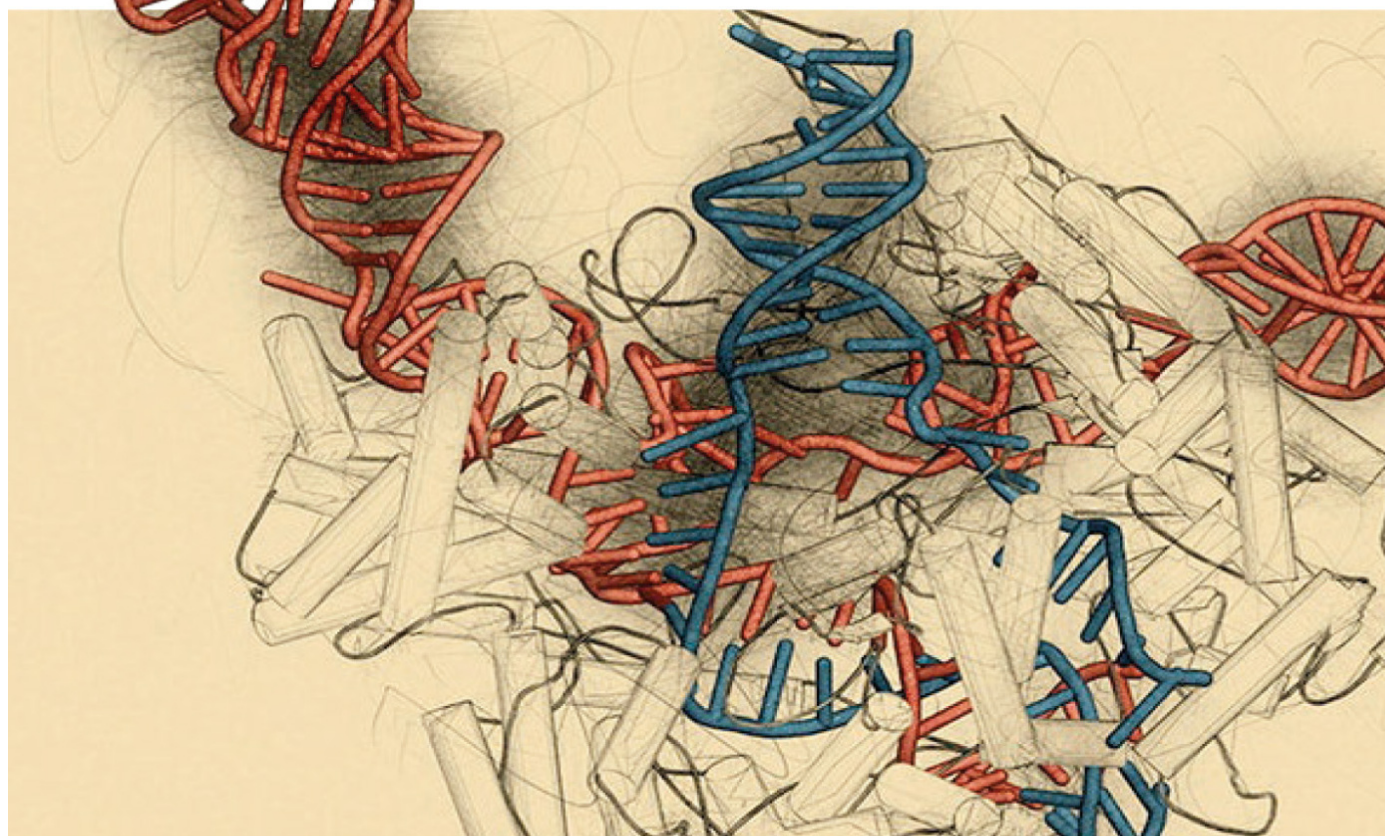


ПРОСТО

ГЕНОМ



Просто... (Страта)

Светлана Волкова

Просто геном

«Страта»

2020

УДК 575
ББК 28.04

Волкова С.

Просто геном / С. Волкова — «Страта», 2020 — (Просто...
(Страта))

ISBN 978-5-907314-03-0

Стоит ли нам манипулировать геномом нерожденных и менять генофонд *homo sapiens*, который нельзя будет перезапустить так, чтобы он развивался в обратную сторону? Готовы ли мы, как вид, взять на себя ответственность за собственную эволюцию и целенаправленно редактировать наши геномы? Как только мы полностью поймем генетические факторы, которые определяют здоровье и работоспособность человека, мы сможем выбрать или, возможно, даже спроектировать эмбрионов с генетическим составом, отличным от такового у их родителей. Или даже лучше, чем у родителей. Книга знакомит со множеством возможностей, открытым человечеству благодаря новейшим достижениям генетиков, описывает захватывающие перспективы и ставит серьезные проблемы, связанные с геной инженерией. В формате PDF А4 сохранен издательский макет.

УДК 575
ББК 28.04

ISBN 978-5-907314-03-0

© Волкова С., 2020
© Страта, 2020

Содержание

Генетика. Краткая история открытий	6
Введение	9
Генный код взломан	11
Генные редакторы: в поисках чудодейственного средства	16
Конец ознакомительного фрагмента.	27

Просто геном

© ООО «Страта», 2020

Генетика. Краткая история открытий

1865 год – австрийский биолог Грегор Мендель открыл факторы наследственности и разработал гибридологический метод, т. е. правила скрещивания организмов и учета признаков у их потомства

1868 год – швейцарский биохимик Фридрих Мишер выделил из спермы лосося фосфор-содержащее вещество, происходящее из клеточных ядер, которое назвал нуклеином (теперь его называют дезоксирибонуклеиновой кислотой)

1875 год – впервые продемонстрирована возможность использования близнецов для изучения относительного влияния на организм наследственности и окружающей среды

1900 год – опубликованы три независимые работы с изложением основных законов наследования. Год считается формальным рождением генетики как науки

1902 год – впервые появилась хромосомная теория наследственности

1905 год – английский биолог Уильям Бэтсон предложил слово «генетика» (от греч. γένεσις – *порождать*) для нового направления науки

1909 год – датский биолог Вильгельм Иогансен предложил термин «генотип»

1910 год – американский биолог Томас Морган установил, что гены расположены в хромосомах в линейном порядке, образуя группы сцепления, и закономерности наследования по половому признаку

1920 год – немецкий генетик Ганс Винклер предложил термин «геном»

1922 год – русский генетик Николай Вавилов сформулировал «закон гомологических рядов» о параллелизме в изменчивости родственных групп растений, то есть о генетической близости этих групп

1926 год – русский генетик Сергей Четвериков опубликовал статью, заложившую основы популяционной генетики и синтеза генетики и теории эволюции

1927 год – американский генетик Герман Мёллер доказал мутационный эффект рентгеновских лучей

1929-1930 годы – впервые продемонстрирована сложная природа организации гена, сделаны первые реальные шаги на пути создания современного представления о тонкой структуре гена

1935 год – осуществлено экспериментальное определение размеров гена. Получена трактовка гена с позиций квантовой механики, тем самым создан фундамент для открытия структуры ДНК

1944 год – начало эры ДНК

1944 год – советский вирусолог Лев Зильбер сформулировал вирусно-генетическую теорию рака

1951 год – получена первая рентгенограмма молекулы ДНК

1953 год – Френсис Крик и Джеймс Уотсон, британский и американский биологи, создали структурную модель ДНК в форме двойной спирали

1956 год – установлено число диплоидного набора хромосом у человека: 46

1961 год – начата расшифровка «языка жизни» – кода, которым в ДНК записана информация о структуре белковых молекул

1962 год – осуществлено первое клонирование животного организма, лягушки

1970 год – выделена первая рестриктаза – фермент, разрезающий ДНК в строго определенных местах

1972 год – заложены основы генной инженерии

1973 год – разработана стратегия переноса генов в бактериальную клетку

1978 год – осуществлен перенос гена инсулина в бактериальную клетку, где на нем синтезирован белок проинсулин

1980 год – получена первая трансгенная мышь **1984 год** – открыты регуляторные гены, ответственные за построение общего плана тела животных **1984 год** – создан метод геномной дактилоскопии, в котором последовательности ДНК используются для идентификации личности

1987 год – созданы первые дрожжевые искусственные хромосомы YAC, сыгравшие серьезную роль как векторы для клонирования больших фрагментов геномов

1988 год – создан проект «Геном человека» Национального института здоровья США. Инициатором и руководителем проекта стал знаменитый учёный Джеймс Уотсон

1988 год – предложен метод «нокаута» генов

1990 год – в СССР и в США, а затем в Англии, Франции, Германии, Японии, Китае начали работать научные программы по расшифровке генома человека

1990 год – идентифицирован первый ген человека, ответственный за наследственное заболевание

1990 год – проведено первое успешное лечение наследственного иммунодефицита с помощью генной терапии

1994 год – представлено первое коммерчески выращенное ГМО-растение, одобренное для потребления человеком: медленно созревающий томат Flavr Savr

1995 год – геномика становится самостоятельным разделом генетики

1997 год – впервые клонировано млекопитающее: овца Долли

1998 год – расшифровано около 3 % генома человека

1999 год – клонированы мышь и корова

2001 год – опубликован первый вариант генома

2002 год – полностью расшифрован геном мыши

2003 год – 99 % генома человека секвенировано с точностью 99,9 %

2005 год – реализован проект «Геногеография», исследующий изменчивость ДНК и Y-хромосом населения Земли с целью составления детального генетического атласа народов мира

2007 год – обнаружен ген роста у человека

2008 год – стартовал международный проект по расшифровке геномов тысячи человек

2009 год – завершена расшифровка генома неандертальца

2012 год – американский биохимик Дженнифер Дудна и французский микробиолог Эммануэль Шарпентье опубликовали работу о механизме CRISPR/Cas9 и возможностях его использования в качестве технологии геномного редактирования

2015 год – впервые применен генный дрейф к плодовой мухе

2015 год – четыре независимые лаборатории внедрились CRISPR мышам, страдающим мышечной дистрофией, и доказали, что разрушительное действие болезни можно обратить вспять

2015 год – впервые ввели CRISPR в 86 человеческих эмбрионов

К 2016 году – проведено более 2 тысяч испытаний генной терапии различных заболеваний; появились первые протесты по поводу технологии CRISPR

2017 год – впервые отредактирован геном живого человека

2017 год – впервые на ДНК записан музыкальный файл

2018 год – впервые проведен транскрипционный анализ единичных клеток в развивающемся эмбрионе, позволяющий по-новому оценить ранние механизмы эмбрионального развития и устранить генетические поломки

2019 год – стартовали испытания антираковой CRISPR-терапии на людях. Предварительные данные свидетельствуют о ее безопасности и отсутствии побочных эффектов

2019 год – технология CRISPR модифицирована для одновременного редактирования нескольких генов

2019 год – разработан метод праймированного редактирования. Его создатели добавили к ферменту Cas9 два новых компонента – позаимствованный у вируса белок обратную транскриптазу и специальную гидовую РНК (pegRNA). Получившийся в результате инструмент разрезает только одну нить ДНК, что снижает риск ошибок. Успешность данной методики составляет 20-50 % по сравнению с 10 % у обычной CRISPR

Введение

Эта книга расскажет о поразительном революционном открытии, благодаря которому появилась возможность менять многие процессы, касающиеся науки и жизни людей. Речь пойдёт о сравнительно недавней сенсации в мире науки: геномном редактировании при помощи технологии CRISPR/Cas9. Что это такое и для чего она может быть полезна?

Геном представляет собой целый набор наследственного материала, заключённого в наших клетках. В геноме человека содержатся тысячи кодирующих белки генов, манипулируя которыми учёные смогли открыть дверь невероятным возможностям: от лечения генетических, онкологических заболеваний и даже ВИЧ до выбора наследственности и внешности будущего ребёнка. Технологии геномного редактирования с течением времени появлялись одна за другой и увенчались генно-инженерным прорывом – появлением метода CRISPR/Cas9.

Генное редактирование при помощи инструмента CRISPR/Cas9 обещает изменить наш мир намного быстрее, чем мы думаем, – эта волшебная палочка в руках учёных позволяет осуществлять направленное действие в определённых участках генома высших живых организмов, в результате чего стало возможным создавать генную терапию для лечения заболеваний, изобретать новые лекарства, исправлять врождённые генетические нарушения и даже осуществлять фантастическую, казалось бы, пересадку органов. Более того, при помощи этого мощного инструмента появилась возможность создавать животных-мутантов и даже уничтожать целые популяции вредных существ – от переносящих болезни moskitov до грызунов. С помощью геномного редактирования можно менять даже вкус и цвет привычных нам овощей и фруктов. Генное программирование представляет собой очень внушительный, полезный и в то же время опасный инструмент, в чём у читателей будет возможность убедиться далее.



Дженнифер Дудна – американский учёный, профессор химии, молекулярной и клеточной биологии. Одна из первопроходцев в области изучения и исследований редактирования генов

Дженнифер Дудна провела фундаментальные исследования в области революционной CRISPR/Cas9 – технологии редактирования генома, основанной на инструментах иммунной

системы бактерий. При помощи технологии CRISPR/Cas9 стало возможным легко и быстро перемещать гены – любые гены в любых живых существах – от бактерий до человека. Труды Дженнифер Дудны посвящены структурной биологии и биохимии. Благодаря фундаментальной работе и лидерству в развитии редактирования генома с помощью CRISPR/Cas9 она является ведущей фигурой в революции CRISPR.

За изобретение технологии CRISPR/Cas9 Дудна была удостоена многих самых выдающихся наград, в том числе «Премии прорыва» в области медицины. Также она вошла в число сотни самых влиятельных людей в мире. В 2016 году Дудна имела честь быть избранной иностранным членом Королевского общества. Дженнифер Дудна представила всему миру метод CRISPR/Cas9 и показала его значение для нашего будущего.

По словам известного американского учёного и профессора генетики Гарвардской медицинской школы Джорджа Чёрча, Дженнифер Дудна – истинный пионер в области исследований редактирования генома, построивший мост между фундаментальной технологией CRISPR/Cas9 и разнообразными возможностями её применения для пользы науки в целом и людей в частности.

Коллега и сподвижник Дженнифер Дудны Самуэль Штернберг – исследователь-биохимик и автор многочисленных известных научных публикаций на тему технологии CRISPR/Cas9. Он руководит исследовательской лабораторией в Колумбийском университете; где занимает пост доцента кафедры биохимии и молекулярной биофизики. Самуэль – биохимик, работающий в области исследования РНК и эксперт в области технологии CRISPR/Cas9.

Революционная биотехнология, которая была создана Дудной и Штернбергом не так давно, развивается очень быстро, и ее значение огромно не только для наук о жизни, но и для самой жизни на Земле. Всё, о чём написано далее, имеет прямое отношение к читателям, поскольку совсем скоро последствия развития этой технологии постучатся в наши двери.

Полагаю, через 20 лет все мы будем обладать геномной последовательностью, записанной на маленький чип, и в случае болезни эта информация поможет назначить лечение, нацеленное на нас.

Для целого ряда генетических заболеваний, имеющих специфическую известную причину, за 20 лет будут найдены способы терапии, основанные на технологии CRISPR/Cas9. Таким образом, генная терапия – это то, что будет востребовано для лечения определенных типов генетических заболеваний.

И в других областях и науках – одновременно в сельском хозяйстве и синтетической биологии – произойдут значительные изменения, которые позволят растениям лучше адаптироваться к изменениям климата, а таким организмам, как грибы, гораздо проще производить экологически чистые химические вещества и биотопливо.

Таким образом, я считаю, все эти явления мы непременно увидим через 20 лет.

Дженнифер Дудна

Генный код взломан

Люди на протяжении тысячелетий меняли физический мир, но результаты перемен никогда не были такими драматичными, как сегодняшние. Индустриализация повлекла за собой изменение климата, угрожающее экосистемам во всем мире. Деятельность человека послужила причиной многих других явлений, которые сложно переоценить – например, вымирание целых городов и сокращение популяций живых существ, с которыми мы разделяем планету. Эти преобразования побудили геологов предложить переименовать эпоху в антропоцен – эпоху человека, играющего важнейшую роль в экосистеме Земли. Биологический мир также претерпевает глубокие антропогенные изменения, обусловленные различными формами влияния деятельности человека на природу.

Миллиарды лет жизнь протекала в соответствии с теорией эволюции Дарвина: организмы развивались путём прохождения через ряд генетических изменений, которые включали в себя выживание и репродукцию (до недавнего времени и наш вид формировался подобным образом: действительно, до некоторых пор люди были полностью подвластны данному процессу). Но 10 тысяч лет назад появилось сельское хозяйство, человек грубо вмешался в процесс эволюции, пустив в ход селекцию растений и животных. Основной материал, случайные мутации ДНК, всё же генерировался спонтанно. В результате усилия человека по преобразованию того, что дала природа, имели всё же ограниченный успех.

Сегодня учёным удалось полностью взять этот естественный процесс под свой контроль. Применяя мощные биотехнологические инструменты для работы с ДНК внутри живых клеток, учёные теперь могут манипулировать и рационально модифицировать генетический код, который определяет каждый вид на планете, включая наш собственный. А благодаря новейшему и, пожалуй, наиболее эффективному инструменту генной инженерии, CRISPR-Cas9 (для краткости будем называть его просто CRISPR), геном – состав ДНК организма, включая все его гены, – стал почти таким же легко редактируемым, как и простой текстовый документ на компьютере.

Например, если известен генетический код определенного признака, присущего конкретному живому организму, той или иной черты, характеризующей именно его, учёные могут использовать CRISPR-технологию для вставки, редактирования или удаления соответствующего гена в геноме практически любого растения или животного. Этот процесс намного проще и эффективнее, чем любая другая существующая на сегодняшний день технология манипуляции генами. Практически в одночасье мы оказались на пороге новой эры генной инженерии и биологического мастерства – революционной эры, в которой возможности ограничены только нашим коллективным воображением.

Царство животных было первым и в ту пору самым большим испытательным полигоном для нового инструмента редактирования генов. Например, учёные использовали CRISPR для создания генетически улучшенной версии гончих, создавая собак с чрезвычайно развитым мышечным телосложением путем внесения буквенных изменений ДНК в ген, который контролирует формирование мышечной массы. В другом случае, путем инактивации гена, который реагирует на гормон роста в геноме свиньи, исследователи создали микросвиней, – поросят размером не больше обычных кошек, что сделало возможным заводить их как забавных домашних питомцев. Учёные проделали нечто подобное и с кашемировыми горными козами, отредактировав геном животных с помощью CRISPR так, что козы вырастали, обладая большей мышечной массой (что позволяет получать от животных больше мяса), и более длинной шерстью (то есть с большим количеством кашемировых волокон). Генетики используют CRISPR даже для того, чтобы преобразовать ДНК азиатских слонов в нечто такое, что больше будет напоминать ДНК мамонта, с надеждой когда-нибудь возродить этого вымершего зверя.

Между тем, в растительном мире CRISPR широко используется для редактирования геномов сельскохозяйственных культур – учёные прокладывают путь к таким достижениям в сельском хозяйстве, которые могли бы значительно улучшить рацион питания людей и укрепить продовольственную безопасность в мире. Эксперименты по редактированию генов растений позволили получить устойчивый к болезням и поражениям рис; томаты, которые портятся медленнее, чем обычные; соевые бобы с более высоким содержанием полиненасыщенных жиров и картофель с пониженным содержанием потенциального нейротоксина. Специалисты в области пищевых продуктов достигают этих улучшений не с помощью трансгенных методов – введения ДНК одного вида в геном другого вида, – но путем точной генетической модернизации, включающей изменения только нескольких букв собственной ДНК организма.

Именно влияние редактирования генов на виды живых существ открывает как величайшую перспективу, так и, возможно, величайшую опасность для будущего человечества. Как это ни парадоксально, некоторые из преимуществ для здоровья человека могут быть достигнуты путём применения CRISPR к животным или даже насекомым. В недавних экспериментах CRISPR использовался для «очеловечивания» ДНК свиней, что давало исследователям надежду на то, что эти животные когда-нибудь станут донорами органов для людей. CRISPR также применяется к геномам новых штаммов комаров, что является частью плана по быстрому внедрению новых генетических особенностей в популяции диких комаров. Учёные надеются в конечном итоге искоренить болезни, переносимые комарами, такие как малярия и вирус Зика, известный своими неврологическими осложнениями, а возможно, и вовсе уничтожить самих переносящих болезни комаров, как вид.

Для лечения многих заболеваний, поражающих людей, CRISPR предлагает возможность редактировать и восстанавливать мутантные гены непосредственно в организмах пациентов, страдающих тем или иным заболеванием. Пока учёные видят лишь проблеск возможностей CRISPR, но то, что исследователям уже удалось обнаружить за последние несколько лет, поистине впечатляет. В клетках человека, выращенных в лабораторных условиях, эта новая технология редактирования генов использовалась для исправления мутаций, вызывающих такие заболевания, как муковисцидоз, серповидноклеточная анемия, некоторые формы слепоты, тяжёлый комбинированный иммунодефицит, а также многих других расстройств. CRISPR позволяет учёным совершать открытия и огромные скачки в науке путём поиска, отслеживания и исправления неправильных составляющих ДНК.

Также на сегодняшний день стало возможным проведение различных манипуляций и перестановок составляющих человеческого генома. Исследователям уже удалось исправить ошибки в ДНК, которые являются причиной мышечной дистрофии Дюшенна, – серьёзного генетического заболевания, которое вызвано мутацией в гене дистрофина, путём удаления только поврежденной области мутированного гена, оставляя остальную его часть нетронутой. В случае с гемофилией исследователи применили CRISPR для точной перестройки букв ДНК, которые инвертированы в геномах пациентов. CRISPR может использоваться даже для лечения ВИЧ-инфекции и СПИДа, – этого можно достичь либо путем вырезания ДНК вируса из инфицированных клеток либо путем редактирования ДНК пациента таким образом, чтобы все его клетки полностью избежали заражения инфекцией.

Список возможностей редактирования генов с целью терапии и профилактики различных заболеваний можно продолжать долго. Поскольку CRISPR позволяет осуществлять точное и относительно простое редактирование ДНК, данная технология превратила каждую генетическую болезнь – по крайней мере, каждую болезнь, в основе которой лежит та или иная генетическая мутация, – в потенциально поддающуюся лечению мишень. Врачи уже начали лечить некоторые виды такой зловещей болезни, как раковая опухоль, иммунными клетками, в геномы которых добавлены отредактированные гены таким образом, чтобы они стали способны выследить раковые клетки. Несмотря на то что нам предстоит пройти ещё длинный

путь, прежде чем использование технологии CRISPR станет панацеей для подавляющего большинства людей с различными заболеваниями и будет использоваться в терапевтических целях повсеместно, её потенциал очевиден. Редактирование генов обещает изменить наше будущее и даже даст возможность спасать человеческие жизни.

Но у технологии CRISPR есть и другие важные особенности: её можно использовать не только для лечения заболеваний у живых людей, но и для предотвращения болезней у малышей, которые пока в материнском чреве. Технология CRISPR настолько проста и эффективна, что учёные могут использовать её для изменения зародыша человека – того объёма генетической информации, который соединяет одно поколение с другим. И, несомненно, эта технология когда-нибудь будет использоваться для изменения генома нашего собственного вида наследственными способами, навсегда изменяя генетический состав человечества.

Если редактирование генов у людей предположительно является безопасным и эффективным методом коррекции различных патологических состояний, то вполне логично и даже предпочтительно пытаться исправить вызывающие болезни мутации на самой ранней стадии зарождения жизни, то есть до того, как вредные гены начнут сеять вокруг себя хаос. Но нужно учитывать и то, что как только станет возможным преобразовывать мутантные гены эмбриона в «нормальные», у экспериментаторов непременно возникнет соблазн отредактировать и нормальные, обычные гены, до возможных улучшенных их версий.

Только представьте, что случится, если мы начнем редактировать гены у нерожденных детей для того, чтобы снизить у них риск сердечно-сосудистых заболеваний на протяжении всей будущей жизни? Или для того, чтобы снизить риск возникновения болезни Альцгеймера, диабета или рака? Если человечество будет способно достичь таких высот, то почему бы заодно не наделить нерожденных детей ещё парочкой полезных качеств, таких, например, как мышечная сверхсила и повышенные когнитивные способности, или же вовсе изменить физические качества будущих детей, наделив их цветом глаз и волос по своему желанию? Стремление к совершенству присуще человеческой природе, но если мы ступим на эту дорогу и начнем спускаться по такому скользкому склону, нам может не понравиться итог.

Итак, на сегодняшний день сложилась следующая ситуация: в течение примерно ста тысяч лет существования современных людей геном вида *homo sapiens*, человека разумного, был сформирован путём случайных мутаций и естественного отбора. Теперь, впервые в истории, мы обладаем способностью редактировать не только ДНК каждого живого человека, но и ДНК будущих поколений – по сути, мы можем управлять эволюцией нашего собственного вида. Это беспрецедентный случай в истории жизни на Земле. Это за пределами нашего понимания. И это заставляет нас задаться важным и сложным вопросом: что же мы, люди, противоречивые во многом существа, будем делать с такой удивительной силой, с этой потрясающей возможностью?

В 2012 году Дженнифер Дудна и её коллеги опубликовали исследовательскую работу, которая легла в основу редактирования генов с помощью использования CRISPR-технологии. Данная работа изначально была мотивирована любопытством по поводу совершенно острого от данной темы предмета, – учёных интересовало, как бактерии защищаются от вирусной инфекции. Тем не менее, в ходе исследования бактериальной иммунной системы, называемой CRISPR/Cas9, учёные раскрыли работу невероятной молекулярной машины, которая могла бы с исключительной точностью разрезать вирусную ДНК. Польза этой же машины для выполнения ДНК-манипуляций в других типах клеток, включая клетки человека, исследователям стала очевидна сразу. Вскоре данная технология получила широкое распространение и стала быстро развиваться, вовлекаясь во всё большее количество научных экспериментов.

К тому времени, когда учёные применили CRISPR-технологии к эмбрионам приматов для создания первых обезьян с отредактированными генами, они задались вопросом: сколько

времени пройдет, прежде чем кто-нибудь из исследователей рискнёт повторить подобное на людях?

Как биохимик, Дженнифер Дудна всего лишь внедрила технологию CRISPR в науку открыв учёным простор для экспериментов. Дженнифер никогда не работала с моделями животных, человеческими тканями или пациентами, её рабочая зона ограничивалась краями чашки Петри и пробирками в лаборатории. И все же Дудна не переставала наблюдать за тем, как технология, которую она помогла создать, использовалась для того, чтобы радикально изменить как человеческий вид, так и мир, в котором мы живем. Будет ли это непреднамеренно расширять социальное или генетическое неравенство или ознаменует новое научное движение? К каким последствиям мы должны подготовиться после такого важного открытия в генной инженерии?

Группа учёных, приложившая усилия к открытию CRISPR, вернулась к захватывающим биохимическим исследованиям, и в то же время дискутировала о том, как технологию можно и нужно использовать. В частности, учёные предпочитали, чтобы в обсуждении участвовали не только исследователи и биоэтики, но также и широкий круг заинтересованных сторон, включая социологов, политиков, религиозных лидеров и представителей общественности. Учитывая, что это научное развитие затронуло всё человечество, казалось необходимым привлечь к разговору о CRISPR как можно больше слоев общества.

Редактирование генов заставило людей решать сложную проблему: где провести черту при манипулировании генетикой человека. Некоторые люди считают любую форму генетических манипуляций отвратительным нарушением священных законов природы и осквернением достоинства жизни. Другие видят геном просто как программное обеспечение – что-то, что мы можем исправить, очистить, обновить и модернизировать – и утверждают, что оставлять людей во власти неисправной генетики не только иррационально, но и аморально. Подобные соображения заставляют некоторых призывать к прямому запрету редактирования геномов нерожденных людей.

Взгляды самой Дженнифер Дудны на эту тему постоянно менялись под влиянием различных факторов, но однажды она была поражена комментарием на встрече, призванной обсудить редактирование зародышевой линии человека в эмбрионах: «Когда-нибудь мы будем считать неэтичным избегать редактирования зародышевой линии для облегчения человеческих страданий». Это замечание перевернуло дискуссию с ног на голову, и оно, безусловно, способно взбудоражить сознание большинства родителей, особенно тех, которым довелось столкнуться с катастрофическими последствиями генетических нарушений.

В 1015 году китайские учёные опубликовали результаты эксперимента, в ходе которого они применяли CRISPR к эмбрионам человека. Исследователи использовали нежизнеспособные эмбрионы, но их исследование, тем не менее, стало важной вехой в истории генной инженерии: это была первая удачная попытка точно отредактировать ДНК зародышевой линии человека.

Безусловно, такие эксперименты совершенно оправданно вызывают беспокойство. Но тем не менее мы не можем упускать из виду совершенно фантастический потенциал, который дает нам возможность редактирования генов: мы можем использовать её, чтобы помочь людям, страдающим от тяжелых генетических заболеваний. Представьте себе ситуацию, когда человек, зная, что он является носителем мутантного гена НТТ, гена, который фактически гарантирует возникновение болезни Гентингтона и, как следствие, раннего слабоумия, получил бы доступ к препарату на основе CRISPR, который смог устранить мутации ДНК до появления каких-либо симптомов у пациента! Никогда прежде новые лечебные методы не были нам так доступны, и здесь важно, что при обсуждении редактирования генов человека в зародышевой стадии стоит разумно оценивать критику относительно CRISPR и не допускать того,

чтобы общественное мнение препятствовало клиническим исследованиям и редактированию генов для пользы людей.

Эта книга призвана пролить свет на технологию CRISPR широкой аудитории. Книга повествует о захватывающей предыстории технологии CRISPR, в том числе о том, как начинались исследования – с бактериальной иммунной системы – и о многолетнем пути разработки методов переписывания ДНК внутри клеток. Также мы познакомимся со множеством возможностей, как настоящих, так и будущих, которые открываются человечеству благодаря CRISPR. Мы рассмотрим применение технологии к животным, растениям и людям, а также обсудим захватывающие перспективы и серьезные проблемы, связанные с новой технологией. В этой книге будут часто упоминаться имена первопроходцев в данной области науки, таких как Дженнифер Дудна и Самуэль Штернберг, а также других учёных, для того, чтобы сделать повествование более ясным и охватить всю широту и детали истории данного уникального открытия.

Мы постарались выделить некоторые из наиболее важных достижений и дать читателям представление о том, как начинались и развивались исследования в области генной инженерии среди учёных и как они сочетались между собой. Очевидно, что бесчисленное количество экспериментов сыграло важную и неоценимую роль в изучении CRISPR и редактировании генов. Глобальная дискуссия о редактировании генов уже началась, эта дискуссия – не просто научный спор в узких кругах, эта дискуссия – будущее нашего мира.

Генные редакторы: в поисках чудодейственного средства

Всю мощь открытия возможности редактирования генов будет любопытно рассмотреть на интересном примере. В США был зафиксирован случай неожиданного выздоровления пациентки: женщина, страдавшая от редкого генетического заболевания, неожиданно избавилась от всех его симптомов. Тогда, в 2013 году, учёные из Национального института здравоохранения США пытались разгадать медицинскую загадку: исследователи изучали редкое наследственное заболевание, известное как WHIM-синдром, когда им довелось столкнуться с пациенткой, состояние которой они не смогли объяснить. В начале жизни ей был поставлен данный диагноз, но когда пациентка попала к учёным из Национального института здравоохранения, все симптомы словно испарились! Эта болезнь не угрожает жизни, но чревата большим количеством снижающих качество жизни проявлений: рубцы в легких, потеря слуха, частые инфекции. Корень болезни лежит в крошечной мутации одной из 6 миллиардов составляющих ДНК человека. Эта маленькая трансформация делает жертв WHIM-синдрома глубоко восприимчивыми к заражению вирусом папилломы человека (ВПЧ), что приводит к образованию бородавок, которые иногда превращаются в злокачественные опухоли. Для лечения применяется иммуноглобулин, который снижает частоту возникновения бактериальных инфекций.

Итак, пациентка, которая была неоднократно госпитализирована в течение всей своей жизни, в медицинской литературе известна как WHIM-09, назовём её просто Ким. В 2013 году Ким, когда ей было пятьдесят восемь лет, решила показать двух своих дочерей сотрудникам Национального института здравоохранения США. Дочерям Ким было немного за двадцать и у обеих генетический анализ определил наличие мутации в гене CXCR4. Присутствовали у них и внешние проявления WHIM-синдрома. Однако врачи с удивлением заметили, что никаких признаков болезни у их матери нет. Без какого-либо медицинского вмешательства Ким оказалась здорова!

Учёные провели ряд экспериментов, чтобы понять, как Ким удалось избавиться от этой неприятной болезни, и в ходе исследований наткнулись на некоторые подсказки. Мутантный ген, ответственный за состояние Ким, все ещё присутствовал в клетках, взятых из её кожи, но в клетках крови мутация по необъяснимым причинам отсутствовала. Более детально проанализировав ДНК, взятую из клеток крови Ким, учёные обнаружили нечто ещё более необычное: исследование показало, что лейкоциты женщины уже не содержат дефектный ген, хотя в других типах клеток он по-прежнему присутствует. Рассмотрев хромосомы из лейкоцитов, медики обнаружили аномалию: одна из хромосом отличалась от другой. Полное исследование генома показало, что в хромосоме произошла перестановка ряда участков, а та часть, которая включала неисправный ген и ещё 163 других, была и вовсе утрачена.

После проведения ряда исследований и тестов учёным Национального института здравоохранения США удалось получить объяснение счастливой случайности в деле Ким. Они пришли к выводу, что в одной клетке ее тела произошло необычное явление, называемое хромотрипсис, при котором хромосома внезапно разрушается и затем снова восстанавливается, что приводит к массивной перестройке генов внутри неё. Эффекты в организме обычно бывают либо тривиальными (если поврежденная клетка немедленно умирает), либо катастрофическими (если перестроенная ДНК активирует гены, вызывающие рак). В организме Ким хромотрипсис оказал другой эффект. При сборке хромосомы были утрачены некоторые гены, в данном случае – дефектные. Мутировавшая клетка не только росла нормально, но – поскольку теперь она была избавлена от больной копии CXCR4 – она освободилась от гена, вызывающего синдром WHIM. При хромотрипсисе в небольшой области генома одномоментно происходит

множество перестроек. Хромосома фрагментируется, затем ее участки собираются вновь, но порядок их следования меняется, а некоторые из них и вовсе разрушаются. Если нарушений оказывается слишком много, клетка гибнет, а в более редких случаях выживает. Хромотрипсис наблюдается при раке или врожденных заболеваниях.

У женщины с WHIM-синдромом хромотрипсис произошел в стволовых клетках, из которых при дифференциации образуются лейкоциты. Затем здоровые клетки вытеснили клетки с прежним дефектным вариантом генома и обеспечили нормальную работу всей иммунной системы.

Чтобы подтвердить свою догадку, сотрудники Национального института аллергии и инфекционных заболеваний начали проводить эксперименты – они подсаживали мышам стволовые клетки трех типов. В одних клетках было две нормальных копии гена CXCR4, в других – одна нормальная, а вторая дефектная, в клетках третьего типа содержалась нормальная копия, а вторая отсутствовала вовсе.

Позже исследователи, изучавшие состояние Ким, отметили: «В своем случае Ким была бенефициаром беспрецедентного эксперимента природы, в котором одна стволовая клетка подверглась спонтанному изменению, которое избавило клетку и все её потомственные клетки от больного гена. Проще говоря, это была благословенная случайность, которая, если бы она развернулась иначе, могла убить Ким, но вместо этого спасла ей жизнь».

Чтобы лучше понять, насколько удачным был случай с вышеуказанной пациенткой, представьте, что человеческий геном – это программное обеспечение или компьютер. В случае с Ким программное обеспечение содержало одну неисправность среди примерно 6 миллиардов, которые составляли всё ПО. Чтобы устранить проблему в программе, не нужно слепо удалять большие куски кодов или заново шифровать другие части всей программы. Помимо того что данные действия почти наверняка не помогут исправить положения, скорее всего в попытках скорректировать ошибку таким способом будет внесено ещё больше новых ошибок, чреватых серьёзными последствиями. И может лишь несказанно повезти в случае, если удастся случайно удалить именно ту крошечную составляющую, которая содержит ошибку, так, чтобы не нарушить полностью всю функцию программного обеспечения.

Именно это и произошло в геноме Ким – но в роли слепого программиста в данном случае выступила сама природа. Но как бы ни был удивителен случай Ким, ещё чудеснее то, что она в истории не одна. В научной литературе есть примеры и других пациентов, которые были частично или полностью излечены от генетического заболевания в результате случайного, спонтанного «редактирования» генома.

Например, в 1990-х годах в Нью-Йорке у двух пациентов был диагностирован генетический синдром, называемый тяжелым комбинированным иммунодефицитом (ТКИД), также известный как алимфоцитоз, синдром Гланцмана – Риникера. Тяжёлый комбинированный иммунодефицит – крайне тяжёлая форма наследственного иммунодефицита, при котором в результате дефекта одного из генов нарушается работа иммунной системы. Болезнь известна также как «синдром мальчика в пузыре», потому что страдающие от этого заболевания дети крайне уязвимы перед инфекционными болезнями и вынуждены постоянно находиться в стерильной среде. Больным необходима строгая изоляция, лечение и успешная трансплантация стволовых клеток, в противном случае дети с таким иммунодефицитом обычно умирают в течение первого года жизни от тяжёлых рецидивирующих инфекций.

Тем не менее, в Нью-Йорке два пациента с данным синдромом стали исключением из этого ужасного правила: они оставались здоровыми и в подростковом, и во взрослом возрасте. Причиной в обоих случаях, как удалось выяснить учёным, стало спонтанное исправление клетками пациентов вызывающей болезнь мутации в гене под названием ADA, – гене аденозиндезамидазы, и происходило это каким-то чудесным образом, не нарушая оставшейся части гена или хромосомы.

Подобные случаи самопроизвольного естественного редактирования генов способствовали исцелению нескольких пациентов и с другими тяжелыми генетическими заболеваниями, такими, как синдром Вискотта, – Олдрича, – редкого наследственного расстройства. У больных синдромом Вискотта – Олдрича значительно повышен риск развития злокачественных опухолей и аутоиммунных нарушений. Оказалось, что в случае с данным заболеванием около 20 процентов пациентов спасаются путем спонтанной генетической коррекции. Также встречались случаи спонтанного излечения тирозинемии, – заболевания, при котором мутации гена приводят к нарушению метаболизма тирозина с повреждением печени, почек и периферических нервов. Также при некоторых кожных заболеваниях присутствие клеток с самопроизвольно изменёнными генами видно невооруженным глазом, – например, при неприятнейшем состоянии – ихтиозе, который оставляет на коже красные шелушащиеся пятна. Клетки в этих областях несут генетическую мутацию, но клетки в окружающих здоровых участках кожи, сумевших исправить мутацию, выглядят нормально.

В целом, однако, шансы спонтанно излечиться от генетического заболевания ничтожны. Большинство пациентов никогда не испытают естественного чуда, когда их геномы неожиданно сами изменятся в лучшую сторону совершенно неожиданным образом и станут правильными клетками, находящимися в нормальных тканях. Естественное редактирование генов остается аномалией – лишь интересными медицинскими случаями с участием небольшого количества пациентов, выигравших генетическую лотерею, и не более того.

Но что, если редактирование генов можно было бы превратить из спонтанного события в управляемое? Что, если бы у врачей был способ собственноручно устранить вредные мутации, которые вызывают тяжёлый комбинированный иммунодефицит, синдром Вискотта – Олдрича, WHIM или любое другое генетическое заболевание? Многих учёных такие случаи, как с Ким, наталкивали на размышления, – не только потому что раскрывали целительную силу естественного редактирования генов, но и потому, что проливали свет на потенциальный путь медицинского вмешательства в геном: способ обратить последствия генетических заболеваний путем рационального и преднамеренного исправления ошибок.

Счастливые истории чудом излечившихся пациентов показали, что преднамеренное редактирование генов было бы возможно, если бы учёные имели генетическое ноу-хау и биотехнологические инструменты для его воплощения в жизнь. В течение десятилетий, задолго до того как пионеры, открывшие технологию CRISPR, представили миру свои фундаментальные работы, большое количество специалистов трудились над тем, чтобы получить это ноу-хау и разработать эти инструменты.

Конечно же, на самом деле учёные мечтали о редактировании генов, которое будет иметь значение для медицины, ещё задолго до того как узнали, что природа предоставит им ключи для его создания. Однако, чтобы сделать такую технологию возможной, исследователям необходимо было понять сам геном: из чего он состоит, как именно он построен и, что наиболее важно, – каким образом его можно модифицировать и манипулировать им в дальнейшем. Только обладая этими базовыми знаниями стало можно сделать первые небольшие шаги к тому, чтобы обрести возможность помогать людям, которые, в отличие от Ким, были бессильны излечить себя сами.

Геном – термин, введенный в 1920 году немецким биологом Гансом Винклером, относится ко всему набору генетических инструкций, найденных внутри клетки. Проще говоря, геном – это совокупность всего наследственного материала, заключённого в клетке любого живого организма. Геном содержит биологическую информацию, необходимую для построения и поддержания организма. Большинство геномов, в том числе геном человека и всех остальных клеточных форм жизни, состоят из 23 пар хромосом и митохондриальной ДНК. В основном идентичный от клетки к клетке, за исключением случайной мутации, геном сообщает организмам всех живых существ, как расти, как поддерживать себя и передавать гены

потомству. Геном одного организма направляет его на рост плавников и жабров, которые позволяют ему двигаться и дышать под водой; геном другого инструктирует его производить листья и хлорофилл, которые позволяют собирать энергию от солнечного света. Наши внутренние физические особенности – зрение, рост, цвет кожи, предрасположенность к болезням и т. д. – тоже являются результатом информации, закодированной в геноме. Генетический код – это чередование четырёх молекулярных букв, четырёх азотистых оснований в нуклеиновых кислотах, ДНК и РНК.

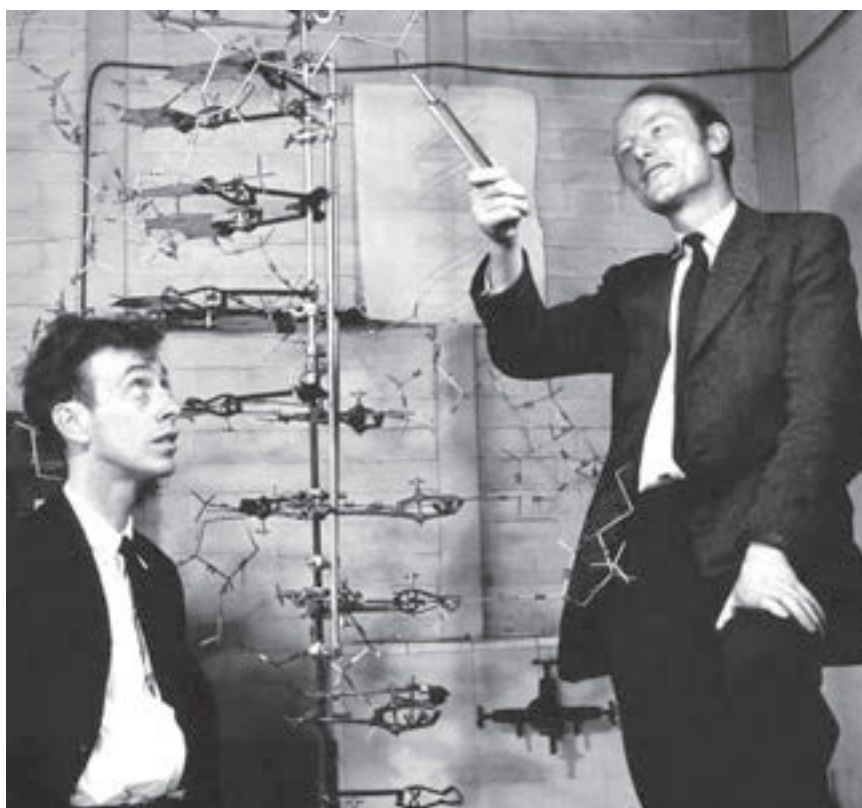


Геном состоит из молекулы, называемой дезоксирибонуклеиновой кислотой, или ДНК, которая построена из четырех различных блоков. ДНК – это макромолекула, которая обеспечивает хранение и передачу из поколения в поколение генетической информации для функционирования живых организмов. Молекула ДНК хранит биологическую информацию в виде генетического кода, состоящего из последовательности нуклеотидов. Нуклеотиды – это буквы ДНК: А, G, С и Т, – сокращения от химических групп (также называемых основаниями) аденина, гуанина, цитозина и тимина, которые различают четыре соединения. Азотистые основания одной из цепей соединены с азотистыми основаниями другой цепи водородными связями: аденин (А) соединяется только с тимином (Т), гуанин (G) – только с цитозином (С). Буквы этих молекул связаны длинными прямыми нитями. Нити объединяются, формируя известную структуру ДНК в форме двойной спирали. Двойная спираль напоминает скрученную лестницу. Две нити ДНК сплетаются друг с другом вдоль центральной оси, вместе они образуют два боковых рельса лестницы. Такое расположение размещает четыре различных основания внутри спирали – ступеньки лестницы. Изящной особенностью структуры является набор химических взаимодействий, которые удерживают две нити вместе на каждой ступени, что-то вроде молекулярного клея: буква А одной нити всегда соединяется с Т на другой нити, а G всегда соединяется с С. Они известны как спаренные основания ДНК.

ДНК была открыта двумя учёными: англичанином Фрэнсисом Криком и американцем Джеймсом Уотсоном. Это открытие произошло в Великобритании. Уотсон в то время работал в лаборатории Кембриджа и был чрезвычайно увлечён идеей открытия структуры молекулы ДНК. К тому времени уже имелись данные о том, что ДНК является носителем генетической информации, но нельзя сказать, что они были достаточно достоверными для учёных. Уотсон

повстречался с Криком, увлеченным той же идеей; разделяя научные интересы, исследователи быстро нашли общий язык в поисках раскрытия структуры ДНК.

В то время молекула ДНК не была чем-то новым. О попытках вывести её уже было известно. ДНК интересовался швейцарский врач Фридрих Мишер ещё в 1869 году. Крик и Уотсон были твёрдо убеждены, что ключ к разгадке тайны генома находится именно выяснении структуры молекулы ДНК. Уотсон и Крик обобщили все имеющиеся у них данные и создали трёхмерную модель молекулы ДНК из куска картона, проволоки и шариков. Учёные выяснили, каким образом происходит репликация, т. е. удвоение ДНК в клетках: ДНК разделялась пополам, открепляясь в местах водородных связей, и новая ДНК синтезировалась из половины основной. Другими словами, из половины прежней молекулы образовывалась новая целая молекула ДНК. Это открытие стало одним из самых выдающихся научных событий века.



Фрэнсис Крик и Джеймс Уотсон, открывшие существование дублированной спирали ДНК

Как уже упоминалось выше, роль ДНК состоит в обеспечении и воспроизведении жизни, – в нуклеотидах ДНК хранится и передаётся наследственная информация.

В годы, последовавшие за открытием Уотсона и Крика, учёные пытались понять, как структура этой молекулы и довольно простые химические ингредиенты могут кодировать информацию и объяснять явления биологической жизни. Оказывается, ДНК очень похожа на секретный язык, каждая конкретная последовательность букв содержит инструкции для производства определенного белка внутри клетки. Затем эти белки выполняют большинство решающих функций в организме, таких как расщепление пищи, распознавание и уничтожение патогенных микроорганизмов и восприятие света.

Чтобы преобразовать инструкции, содержащиеся в ДНК, в белки, клетки используют важную промежуточную молекулу, называемую рибонуклеиновая кислота, или РНК. РНК – одна из трёх основных макромолекул, содержащихся в клетках всех живых организмов (две

другие макромолекулы – это ДНК и белки). Так же, как ДНК, РНК состоит из длинной цепи, в которой каждое звено называется нуклеотидом. Последовательность нуклеотидов позволяет РНК кодировать генетическую информацию. Все клеточные организмы используют РНК для программирования синтеза белков. Клеточные РНК образуются в ходе процесса, называемого транскрипцией, то есть синтеза РНК на матрице ДНК.

Гены и 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 – является языком, используемым для сообщения и выражения жизни.

Размер генома и количество содержащихся в нём генов широко варьируется в разных царствах живых существ. Например, у большинства вирусов всего несколько тысяч букв ДНК (или РНК, поскольку некоторые вирусные геномы не содержат ДНК) и небольшое количество генов. Бактериальные геномы, напротив, состоят из миллионов букв и содержат около 4000 генов. Другие же геномы имеют около 14000 генов, распределённых по сотням миллионов пар оснований ДНК. Геном человека – это целая энциклопедия, содержащая 21 000 кодирующих белок генов, написанная четырьмя буквами. Интересно, что размер генома не является показателем сложности организма: человеческий геном примерно такой же длины, что и геном мыши или лягушки, примерно в десять раз меньше генома саламандры и более чем в сто раз меньше генома некоторых растений.

Геномы различных живых существ выстроены совершенно по-разному. В то время как геномы большинства бактерий находятся внутри клетки и представляют собой одну продолжающуюся часть ДНК, геном человека состоит из 23 отдельных частей, называемых хромосомами, длиной от 50 до 250 миллионов букв. Как и клетки почти всех млекопитающих, человеческие обычно содержат две копии каждой хромосомы, одну от отца, одну от матери. Каждый родитель вносит 23 хромосомы, что даёт потомку в общей сложности 46. Есть и исключения из этого правила, – например, у людей с синдромом Дауна есть третья копия хромосомы 21. Полный набор ядерных хромосом можно найти почти в каждой клетке организма (эритроциты являются важным исключением, поскольку у них нет ядра), но ядро – не единственное место в клетке, где обнаружена ДНК. Геном человека также включает в себя отдельную мини-хромосому – всего 16 тысяч букв ДНК, расположенных в митохондриях, – энергетических батареях клетки. В отличие от генетического кода, обнаруженного в других хромосомах, митохондриальная ДНК наследуется исключительно от матери.

Мутации в любой из 23 ядерных хромосомных пар или в хромосоме митохондрии могут вызывать генетические заболевания. Самая простая мутация – это замена. Замена одного нуклеотида другим может нарушить состав гена и вызвать образование дефектного белка. Например, при серповидноклеточной анемии, генетическом заболевании крови, 17-я буква гена, известного как бета-глобин, видоизменяется, или мутирует из А в Т. Эта мутация приводит к изменениям в транспорте кислорода в эритроцитах. Последствия этого крошечного изменения в белке – разница всего в 10 атомов – ужасны. Молекулы мутированного гемоглобина слипаются и образуют аномальные нити, которые изменяют форму эритроцитов, что приводит к анемии, повышенному риску инсульта и развития инфекций, а также сильным болям в костях. Серповидноклеточная анемия связана с мутацией гена HBB, стимулирующего производство аномального гемоглобина S, в молекуле которого вместо глутаминовой кислоты в шестом положении β -цепи находится валин. В условиях гипоксии гемоглобин S полимеризуется, и эритроциты приобретают серповидную форму. Спектр симптомов серповидноклеточной анемии чрезвычайно широк, от повышенной утомляемости и отёчности до образования язв на ногах, закупорки сосудов в печени и селезёнке и слепоты, подверженности инфекциям, задержек в развитии. Серповидноклеточная анемия является примером рецессивного генетического заболевания. Это означает, что обе копии гена HBB человека должны нести мутацию, чтобы человек страдал от серповидноклеточной анемии; если мутация же только в одной копии гена, то

немутировавший ген может продуцировать достаточно нормального гемоглобина, чтобы преодолеть негативные эффекты мутировавшего. Однако люди с одной мутантной копией гена HBB по-прежнему останутся носителями признаков серповидноклеточной анемии, и несмотря на то, что болеть они не будут, они всё же сохраняют способность передавать мутировавший ген потомству.

Другие генетические заболевания предполагают доминантное наследование, а это означает, что для того, чтобы вызвать заболевание, достаточно лишь одной копии мутировавшего гена. Одним из примеров является упомянутый ранее WHIM-синдром, при котором одна тысячная буква гена CXCR4 видоизменяется из С в Т; мутантный ген создает гиперактивный белок, который доминирует в функционировании здорового гена.

Серповидноклеточная анемия и WHIM-синдром являются примерами генетических заболеваний, вызванных простыми мутациями замещения (ошибочная замена одной буквы ДНК на другую). Но генетические заболевания также могут быть и результатом вставок в ДНК и удаления компонентов из ДНК. Например, нейродегенеративное расстройство, известное как хорea Гентингтона, развивается вследствие мутации гена HTT на 4-й хромосоме, вызывающей патологическое увеличение в молекуле ДНК числа копий, кодирующих аминокислоту глутамин. В результате этого на основе гена синтезируется крупный белок гентингтин, имеющий в своем составе удлиненную цепочку из глутаминовых остатков, накапливающихся внутри нейронов и приводящих к развитию заболевания, патогенез которого окончательно не известен. Чем больше содержится копий, тем раньше дебютирует заболевание и сильнее выражены его симптомы. Количество этих копий может увеличиваться в последующих поколениях и тем самым приводить к более тяжелым фенотипам заболевания в семье.

И наоборот, удаления являются виновниками наиболее распространенного типа муковисцидоза – опасного для жизни генетического заболевания, которое поражает в первую очередь легкие. Муковисцидоз является системным наследственным заболеванием, обусловленным мутацией гена, вследствие которой поражаются железы внешней секреции и возникают тяжёлые нарушения работы органов дыхания. В основе заболевания лежит мутация в гене CFTR, который локализован в середине 7-й хромосомы. Удаление трех букв генетического кода в гене CFTR приводит к тому, что белок лишается важной аминокислоты и поэтому не функционирует должным образом.

Другие заболевания возникают, когда сегменты гена инвертированы (то есть расположены в обратном порядке) или когда сегменты или даже целые хромосомы ошибочно дублируются или удаляются.

Мы знаем генетические причины многих заболеваний благодаря относительно недавнему появлению секвенирования ДНК, – процесса, который позволяет учёным читать и записывать содержание человеческого генома буква за буквой. Секвенирование – это общее название методов, которые позволяют установить последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК. После того как первые методы секвенирования были разработаны (в 1970-х годах), учёные начали кропотливо искать коренные генетические причины самых известных наследственных заболеваний.

Огромный скачок был сделан в этой области после завершения международного проекта «Геном человека» в 1990 году. Его целью было определить полную последовательность нуклеотидов в человеческом геноме. Основной объём работ выполнялся в университетах и исследовательских центрах США, Канады и Великобритании. Этому масштабному начинанию способствовали новая технология, которая позволила клонировать большие куски человеческой ДНК, а также значительные улучшения в лабораторных исследованиях и разработка сложных вычислительных алгоритмов, которые помогли проанализировать данные секвенирования. В 2001 году был опубликован первый вариант генома.

С момента завершения проекта «Геном человека» процесс секвенирования ДНК и целого генома стал быстрым, дешевым и эффективным. Учёные точно определили более четырех тысяч различных видов мутаций ДНК, которые могли вызвать генетические заболевания. Секвенирование ДНК может сообщить людям о том, имеют ли они повышенный риск развития определенных видов рака, а это в свою очередь может помочь адаптировать специфические методы лечения так, чтобы они наилучшим образом соответствовали генетическим особенностям разных пациентов. Кроме того, теперь, когда коммерческий анализ последовательности ДНК стал общепринятым и стоит не слишком дорого, миллионы людей решили проанализировать свои собственные геномы, что легко можно сделать просто отправив образец слюны в лабораторию по почте. Полученный в результате усилий учёных объём данных помог выявить важные связи между тысячами вариантов генов и рядом физических и поведенческих особенностей.

Тем не менее, хотя секвенирование генома представляет собой огромный прогресс в изучении генетических заболеваний, оно в конечном итоге является диагностическим инструментом, а не формой лечения. Секвенирование позволило учёным увидеть, как генетические заболевания пишутся на языке ДНК, но не дало возможности вторгаться в этот язык и менять его для пользы человечества; научиться читать на новом языке и научиться писать на нём – совершенно разные вещи. Учёным был необходим новый набор инструментов.

Исследователи мечтали о лечении болезней, связанных с мутациями в ДНК, с тех пор, как узнали о существовании этих генетических заболеваний. Несмотря на то что одни учёные начали определять первопричины генетических нарушений, другие настойчиво искали новые методы лечения этих заболеваний – не просто предоставляя пациентам лекарства для временного смягчения неблагоприятных воздействий мутировавшего гена, но и для восстановления самих генов, чтобы навсегда переломить течение болезни. Возьмём лишь один, к сожалению, общий пример: серповидноклеточную анемию часто лечат переливанием крови, медикаментами и трансплантацией костного мозга. Не лучшим ли решением было бы нацелиться на мутацию самой причинной ДНК так, чтобы исправить её?

Учёные в ту пору исследований ДНК знали, что лучшим решением для лечения генетических заболеваний стало бы исправление самого гена с дефектом, иными словами, мечтали научиться преднамеренно делать то, что природа сделала случайно, когда вылечила упомянутую Ким и других счастливиц. Однако же для ученых того времени сама идея излечения генетических заболеваний путем переписывания мутировавшего генетического кода казалась просто невозможной к воплощению в реальность. Исправление дефектного гена было бы похоже на поиск иголки в стоге сена и последующее извлечение этой иголки, причём не нарушая целостности всего стога. Тем не менее исследователи подозревали, что могут сотворить нечто подобное путём добавления генов-заместителей в поврежденные клетки. Вопрос был в том, каким же путём внедрить этот драгоценный материал в поражённый участок.

Вдохновлённые удивительной способностью вирусов встраивать новую генетическую информацию в ДНК бактериальных клеток, пионеры этой ранней геномной эпохи поняли, что, возможно, таким путём они могут использовать вирусы для доставки нужных генов в организм человека.

Первые зарегистрированные попытки сделать это были предприняты в конце 1960-х годов Стэнфилдом Роджерсом, американским врачом, который изучал вирус, вызывающий образование бородавок у кроликов, – вирус папилломы Шоупа. Роджерс особенно интересовался одним аспектом вируса Шоупа: вирус заставлял кроликов производить в избыточном количестве аргиназу, фермент, который организм кроликов использовал для нейтрализации аргинина, вредной аминокислоты. В организмах больных кроликов было намного больше аргиназы и намного меньше аргинина, чем у здоровых кроликов. Более того, Роджерс обнаружил,

что у исследователей, которые работали с вирусом, уровень аргинина в крови был ниже нормы. По-видимому, эти учёные заразились вирусом от кроликов.

Роджерс подозревал, что вирус Шоупа отправляет ген в клетку, чтобы повысить продукцию аргиназы. Он был поражён способности вируса передавать генетическую информацию настолько эффективно, и задался вопросом, может ли сгенерированная копия передавать другие, полезные гены для получения интересующих исследователей результатов. Через много лет Роджерс вспоминал: «Тогда стало ясно, что в процессе изучения болезни открыт новый терапевтический метод».

Роджерсу не пришлось долго ждать появления болезни, которая дала бы возможность проверить его теорию. Всего несколько лет спустя у двух немецких девушек было диагностировано генетическое заболевание, характеризующееся недостаточностью аргиназы. Подобно кроликам, инфицированным вирусом папилломы Шоупа, в организмах этих двух пациенток уровень аргинина был ненормальным, но не низким, а наоборот, чрезвычайно повышенным. Ген, который вызывал продукцию аргиназы, – тот самый ген, который, как подозревал Роджерс, передавался с вирусом Шоупа, вовсе отсутствовал либо мутировал.

Роджерс знал, что раннее вмешательство в болезнь, особенно в случае младшей из двух немецких пациенток, может предотвратить худшие из последствий болезни. Также Роджерс знал, что многие вирусы при инфицировании клетки не вредят ей, именно таким был вирус папилломы Шоупа. Это обстоятельство позволило использовать его для попытки лечения девушек. Тогда Роджерс вместе со своими немецкими коллегами решил ввести огромные дозы очищенного вируса Шоупа прямо в кровоток пациенток.

К сожалению, экспериментальная генная терапия не увенчалась успехом. Инъекции оказали небольшое влияние на девушек, а самого Роджерса широко осуждали за процедуру использования данных инъекций, которую многие учёные считали безрассудной и преждевременной.

Возможность использования собственной информации вирусов были показана Роджерсом на примере вируса папилломы Шоупа, который несет в своем геноме информацию для синтеза специфического фермента – аргиназы и, несмотря на то, что Роджерс никогда больше не пытался проводить генную терапию снова, его попытка использования вирусов в качестве переносчиков генов произвела революцию в области биологии. Эксперимент не удался, но сам его факт оказался полезным для науки, и на сегодняшний день использование вирусов является одним из наиболее эффективных способов введения генов в геном клетки и, таким образом, даёт возможность изменить генетический код живых организмов.

Несколько специфических признаков делают вирусы эффективными в качестве переносчиков генетического материала в клетки. Они обладают исключительной способностью проникать в клетки любого типа. Пока существует жизнь, организмам всех царств – бактерий, растений, животных – приходится бороться с вирусами-паразитами, единственная цель которых захватить клетки, вставить в них свою собственную ДНК и обмануть клетки путём создания всё большего количества своих копий внутри. Вирусы научились использовать практически каждое уязвимое место в защитной системе клетки, чтобы внедриться и захватить её. Вирусы усовершенствовали стратегии вброса своей генетической информации внутрь клетки. В качестве инструмента для внедрения новой информации в клетку вирусные частицы поразительно надежны; исследователи, работающие с вирусами, могут вводить гены в клетки-мишени с эффективностью почти 100 процентов. Таким образом, для первопроходцев, использовавших вирусы в терапевтических целях, они были палочкой-выручалочкой, своеобразными троянскими конями.

Вирусы настолько умны и хитры, что знают не только как внедрить свою ДНК внутрь клетки чужеродного организма, но также как заставить новый генетический код удерживаться в этой клетке. В 1920-1930-х годах, в первые годы генетических исследований, сфокусиро-

ванных на бактериях, учёные были озадачены уникальной способностью вирусов появляться, казалось бы, ниоткуда и вызывать инфекции. Последующие исследования продемонстрировали, что эти вирусы способны расщеплять свой геном в бактериальную хромосому и оставаться необнаруженными до тех пор, пока условия не станут подходящими, чтобы они могли начать развитие активной агрессивной инфекции.

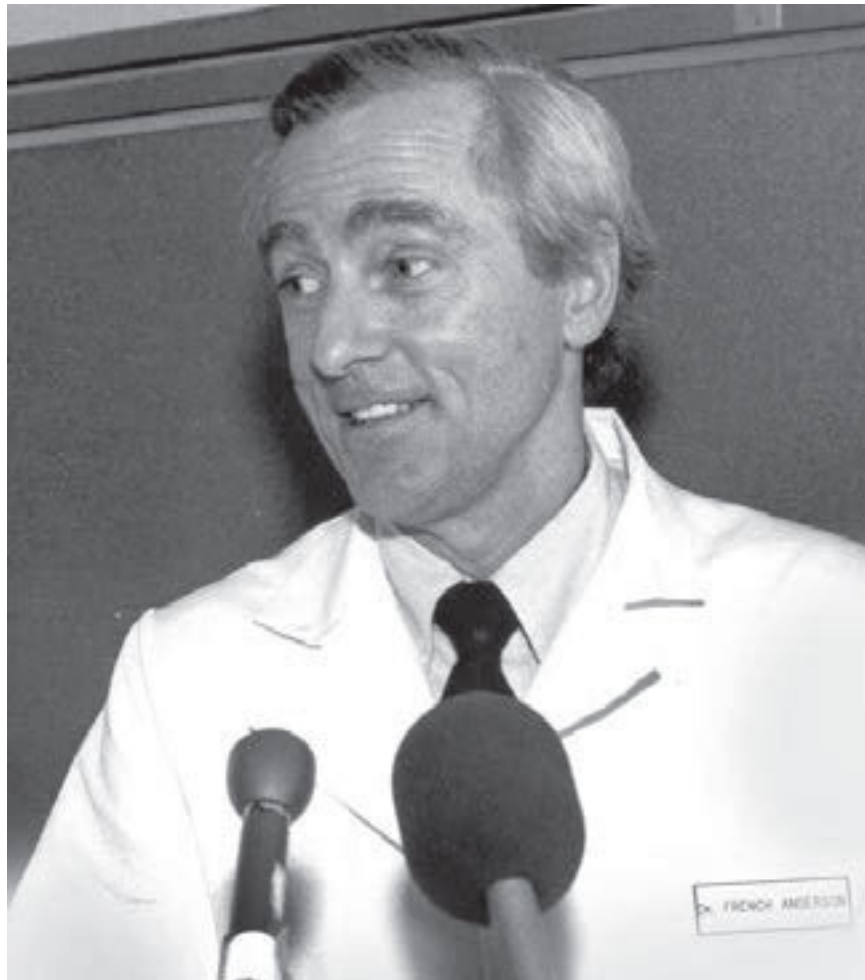
Ретровирусы, большой класс, который включает вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), делают то же самое с людьми, встраивая свой генетический материал в геном инфицированных клеток, поэтому уничтожить ретровирусы очень сложно.

Генная терапия представляет собой лечение наследственных и приобретенных заболеваний путем введения в соматические клетки пациента генетических элементов для восстановления или подавления функций генов и придания клеткам заданных свойств. После первых попыток генной терапии в 1960-х годах эта область совершила скачок вперёд благодаря революции с использованием рекомбинантной ДНК – универсального термина для генетического кода, созданного в лаборатории, а не природой. Используя новые инструменты биотехнологии и новые биохимические методы, учёные в 1970-1980-х годах разработали способы вырезки и вставки сегментов ДНК в геном и научились изолировать определенные последовательности генов. Это позволило вставлять т. н. терапевтические гены в вирусы, а также удалять опасные гены для того, чтобы вирусы, внедряясь в клетки, больше не наносили им вред. Иными словами, исследователи превратили эти вирусы в своеобразные полезные лифты для доставки полезной генетической информации к желаемой цели.

К концу 1980-х годов, после того как переоснащённые ретровирусы были успешно использованы для введения лабораторно созданных генов мышам, началось тестирование генной терапии в клинических условиях. Френч Андерсон и его коллеги из Национального института здоровья первыми дошли до финиша. Они разработали многообещающий переносчик информации, дополненный здоровой копией гена аденозиндеаминазы, гена, который мутирует у пациентов, страдающих от тяжелого комбинированного иммунодефицита, – алимфоцитоза, при котором в результате дефекта одного из генов нарушается работа компонентов адаптивной иммунной системы. Их целью было использовать генную терапию для постоянной интеграции немутантного гена ADA в клетки крови пациентов с иммунодефицитом, что позволило бы производить недостающий белок – шаг, который, как надеялся Андерсон и его коллеги, излечит болезнь. К сожалению, результаты этого новаторского клинического испытания оказались неутешительными; переоснащённый вирус не нанес вреда реципиентам, но оценить его эффективность не представлялось возможным.

Однако с того раннего эксперимента, проведённого десятилетия назад, в генной терапии были достигнуты феноменальные успехи. Улучшения в конструкции вирусных переносчиков информации и в методах, используемых для их внедрения, привели к чрезвычайно обнадеживающим результатам генной терапии тяжёлого иммунодефицита у десятков пациентов, страдающих данным заболеванием. Более того, Европейская комиссия одобрила препарат Strimvelis, который представляет собой первую генную терапию для детей, предназначенную для лечения тяжелого комбинированного иммунодефицита.

Strimvelis – это генная терапия, которая создается для каждого конкретного пациента на основе его собственных клеток. Принцип такой терапии заключается в том, что в ДНК предварительно удаленных пораженных стволовых клеток костного мозга пациента внедряют нормальную копию гена аденозиндеаминазы. Затем исправленные клетки вводят обратно в организм. Чтобы генетически модифицированные клетки лучше прижились, перед процедурой пациент проходит низкодозовую химиотерапию.



Френч Андерсон – американский врач, генетик и молекулярный биолог. Известен как отец генной терапии.

Помимо этого, к 2016 году было проведено более 2 тысяч испытаний генной терапии различных болезней. В результате удалось расширить диапазон заболеваний, которые стало возможно лечить данным способом. С этого времени генная терапия позволяет корректировать такие наследственные заболевания, как муковисцидоз, мышечная дистрофия Дюшенна, гемофилия, некоторые формы слепоты и растущее число сердечно-сосудистых и неврологических заболеваний.

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.