



РЕДАКТИРУЯ ЧЕЛОВЕЧЕСТВО

Революция
CRISPR
и новая эра
изменения
генома

Кевин
Дейвис

Кевин Дейвис

**Редактируя человечество:
Революция CRISPR и новая
эра изменения генома**

«Альпина Диджитал»

2020

УДК 575.113
ББК 28.704

Дейвис К.

Редактируя человечество: Революция CRISPR и новая эра
изменения генома / К. Дейвис — «Альпина Диджитал», 2020

ISBN 978-5-00-223194-2

Кевин Дейвис, редактор-основатель журнала Nature Genetics, посвятил свою книгу истории появления и развития технологии редактирования генома, получившей звонкое название CRISPR. В 2012 г. биохимик Дженнифер Дудна и микробиолог Эмманюэль Шарпантье разработали этот метод, за что позднее были удостоены Нобелевской премии. Другие ученые усовершенствовали процедуру, которая теперь позволяет быстро и просто изменять последовательности ДНК. Эти научные открытия повлекли за собой юридические войны за патенты, продолжающиеся до сих пор. CRISPR может создать устойчивые к болезням и вредителям сорта сельскохозяйственных культур и породы домашнего скота. У людей появилась перспектива избавиться от неизлечимых недугов. Ученые способны уже на стадии эмбриона изменить многие признаки человека – например, его рост или умственные способности. Но все это сопряжено с морально-этическими проблемами, которые в разных странах оцениваются и решаются по-разному. Проводя аналогию с физиками, которые расщепили атом и разработали атомную бомбу, Лурия был уверен, что генетики вскоре получат возможность продумать «прямую атаку на зародышевую плазму человека». Разворачивая широкое полотно событий, дискуссий, юридических коллизий, связанных с проникновением в нашу жизнь генной инженерии, автор задается вопросами: «Насколько человек вправе вмешиваться в законы природы? Существуют ли границы такого вмешательства? И если нет, должен ли кто-то их устанавливать?» Ведь на сегодняшний день эта технология излечила ту самую серповидноклеточную анемию и не только. На горизонте реальном, а не научно-фантастическом – лекарства от рака, слепоты и заболеваний сердечно-сосудистой системы.

УДК 575.113

ББК 28.704

ISBN 978-5-00-223194-2

© Дейвис К., 2020

© Альпина Диджитал, 2020

Содержание

Часть I	18
Глава 1	18
Глава 2	28
Глава 3	39
Конец ознакомительного фрагмента.	44

Кевин Дейвис

Редактируя человечество: Революция CRISPR и новая эра изменения генома

Переводчик: *Мария Смирнова*

Научный редактор: *Сергей Киселев, д-р биол. наук*

Редактор: *Ольга Нижельская*

Издатель: *Павел Подкосов*

Руководитель проекта: *Александра Казакова*

Ассистент редакции: *Мария Короченская*

Художественное оформление и макет: *Юрий Буга*

Корректоры: *Елена Воеводина, Елена Рудницкая*

Верстка: *Максим Поташкин*

Все права защищены. Данная электронная книга предназначена исключительно для частного использования в личных (некоммерческих) целях. Электронная книга, ее части, фрагменты и элементы, включая текст, изображения и иное, не подлежат копированию и любому другому использованию без разрешения правообладателя. В частности, запрещено такое использование, в результате которого электронная книга, ее часть, фрагмент или элемент станут доступными ограниченному или неопределенному кругу лиц, в том числе посредством сети интернет, независимо от того, будет предоставляться доступ за плату или безвозмездно.

Копирование, воспроизведение и иное использование электронной книги, ее частей, фрагментов и элементов, выходящее за пределы частного использования в личных (некоммерческих) целях, без согласия правообладателя является незаконным и влечет уголовную, административную и гражданскую ответственность.

© Kevin Davies, 2020

© Издание на русском языке, перевод, оформление. ООО «Альпина нон-фикшн», 2024

* * *

Кевин Дейвис

РЕДАКТИРУЯ ЧЕЛОВЕЧЕСТВО

Революция CRISPR
и новая эра изменения генома

Перевод с английского



Москва, 2024

Посвящается моим родителям

*В память о Майкле Уайте (1959–2018), писателе, музыканте,
друге*

Не гни папин ген.

В. И. ИВАНОВ

Уважаемый читатель! Вы держите в руках книгу, которую невозможно написать, и вот почему: ее предмет, редактирование генома, меняется и развивается почти ежедневно. Пока напишешь и сдашь в печать – уйма нового произойдет! Кевин Дейвис за эту нерешаемую задачу все-таки взялся и написал прекрасное, увлекательное «введение в геномное редактирование». Самых последних результатов в этой необычайной области вы здесь не найдете, зато овладеете всем аппаратом, который позволит за ними грамотно следить.

Человеку вообще свойственно браться за нерешаемые задачи. Это хорошо описано в знаменитом эпизоде из книги «Понедельник начинается в субботу», в котором Саша Привалов и Кристоаль Хунта упрямо берутся за не имеющую решения задачу. Прекрасный пример – алхимия. Люди 5000 лет пытались разные металлы превратить в золото, искали философский камень. Я об этом часто думаю, так как моя дорога на работу лежит мимо лаборатории, где Лоуренс в 1931 г. создал циклотрон – действующий философский камень, создать который ни древнеегипетским, ни древнегреческим алхимикам было невозможно: структура атома стала ясна лишь в 1911 г., а без этого циклотрон не построишь!

Мечте о геномном редактировании – полвека. Надо честно признаться, что когда эту мечту высказали Фридман и Роблин в знаменитой статье 1972 г. в журнале *Science*, то было в этом нечто от алхимии. На тот момент никто в мире не знал, как за это браться! Понятно было только, что взяться за нее надо, и вот почему. Гены были открыты Менделем в 1866 г., а то, что у людей тоже есть гены, открыл Гэррод в 1902 г. Скоро стало понятно, что бессмертное пушкинское «Но вижу твой жребий на светлом челе» можно понимать с точки зрения генетики, то есть заболевания бывают наследственные. На историю России оказало влияние одно такое заболевание – гемофилия, ею страдал царевич Алексей, сын Николая II. Как ген устроен, биологам стало понятно в 1953 г., и почти одновременно Инграм открыл, что серповидноклеточная анемия – заболевание генетическое. Из этого вывод был простой: если исправить опечатку в ДНК, мы эту анемию вылечим!

Путь к решению этой проблемы прекрасно описывает Дейвис в своей книге. Мне посчастливилось быть непосредственным участником поиска этого решения и одним из тех, кто это решение нашел. Могу тут только опять процитировать Пушкина, гениально осознавшего, какую роль в научных открытиях играет «случай, бог изобретатель». Без всякой ложной скромности скажу, что мне повезло: я за эту проблему взялся, когда в руках уже были предпосылки решения, в значительной степени созданные моей однокурсницей по биологическому факультету МГУ – Мариной Бибиковой (см.: Bibikova and Carroll Science 2003). Кроме того, мне необычайно повезло с командой: мои соратники в этой работе, Майкл Холмс и Филип Грегори, – ученые выдающиеся. Мы себя в шутку называли «три мушкетера», так как работали по принципу «один за всех, и все за одного». Да и термин «редактирование генома» в мою голову не пришел, а уже в ней был. Мой дед, Урнов Михаил Васильевич, и отец, Урнов Дмитрий Михайлович, всю профессиональную жизнь редактировали – но не гены, конечно же, а прозу. Отец был главным редактором журнала «Вопросы литературы». Термины «верстка», «гранки» и «макет» я освоил уже в первом классе и с детства привык отвечать на вопросы типа «а вот Урнов Д. М., который редактировал собрания сочинений Вальтера Скотта, Джозефа Конрада, Вильяма Шекспира (и проч. и проч.), кем тебе приходится?».

Если бы мне тогда, в конце 2000-х, сказали, каких успехов достигнет геномное редактирование, я бы засмеялся. Ведь на сегодняшний день эта технология излечила ту самую серповидноклеточную анемию и не только. На горизонте реальном, а не научно-фантастическом – лекарства от рака, слепоты и заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Прогресса без отрицательных последствий не бывает. Остроумный палиндром в эпиграфе, придуманный замечательным советским биофизиком Валерием Ивановичем Ивановым (у которого мне посчастливилось школьником стажироваться), явно был незнаком «ученому», имя которому – Герострат (а в реальности – Джункуэй Хе). Этот человек, ничего, кроме ненормативной лексики не заслуживающий, нарушил элементарные нормы и этики, и медицины, и науки. О нем Дейвис пишет подробно, а мне, честно признаться, тошно это описание читать. «Благодаря» этому фанатику и шарлатану каждый профессиональный геноморедактор вынужден отвечать на вопросы типа «ну как там – новорожденных на заказ редактируете?». Краткий ответ: нет и никогда не будем.

Надежда тут у меня одна. Геномное редактирование – область относительно молодая. Открытие, которое ускорило его развитие на три порядка, было сделано моей выдающейся коллегой по факультету Дженнифер Дудной всего 10 лет назад. Теперь наша основная задача – разрабатывать и вводить в клинические испытания новые геноморедакторы-лекарства от тяжелых наследственных заболеваний как детей, так и взрослых (а заболеваний таких – более 5000!). Этим все больше и больше занимаются не только биотехнологические фирмы, но и вузы. Тут мне опять повезло, так как я именно такие разработки и веду в университете Беркли в сотрудничестве с самой Дженнифер Дудной. Дженнифер мне однажды сказала, что «генолекарства должны быть доступны всем». Именно этим мы круглые сутки и занимаемся.

Закончу цитатой из «Авиамарша» Германа и Хайта, с которым вырос, как и все советские дети: «Мы рождены, чтоб сказку сделать былью». Книга Кевина Дейвиса прекрасно описывает, как сказочные мечты полувековой давности об исправлении ошибок в ДНК именно такой былью и становятся.

*Федор Урнов,
профессор кафедры молекулярной и клеточной биологии Калифорнийского
университета в Беркли*

День благодарения, ноябрь 2018 г. Я приготовился к пятнадцатичасовому перелету из Нью-Йорка в Гонконг, где должен был принять участие в научной конференции. В конце этого длинного пути меня ожидало лишь трехдневное собрание специалистов по биоэтике и не предвиделось ничего особенного. Даже Альта Чаро, член оргкомитета, опасалась, что это может оказаться «скучным саммитом»¹.

Когда мы подлетали к полярному кругу, я закрыл свой ноутбук, заказал порцию лапши и стал листать меню полетных развлечений. Мой выбор пал на боевик «Рэмпейдж» (Rampage, 2018). После взрыва на борту международной космической станции на Землю попадают контейнеры с таинственным химическим веществом. Естественно, один из них угодил на территорию зоопарка Сан-Диего. Происходит заражение гориллы-альбиноса Джорджа – любимца героя Дуэйна Скалы Джонсона, работающего там приматологом. Два других животных, крокодил Лиззи и волк Ральф, мутируют накануне транспортировки в Чикаго. Все это выглядит смешно и глупо, хотя и было несколько занимательно, но мутации, наносившие в кино вред животным, были причиной того, что я отправился в такое продолжительное путешествие. «Вы слышали о CRISPR²?» – спрашивает Наоми Харрис нашего мускулистого героя.

¹ Jon Cohen, "What now for human genome editing?," *Science* 362, (2018): 1090–1092. <http://science.sciencemag.org/content/362/6419/1090>.

² CRISPR (от англ. clustered regularly interspaced short palindromic repeats – «короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами») – особые локусы бактерий и архей, состоящие из прямых повторяющихся последовательностей,

Он не слышал. Я и сам узнал о CRISPR лишь несколько лет назад. Саммит в Гонконге должен был стать продолжением встречи по этическим аспектам редактирования генома человека, проведенной в 2015 г. в Вашингтоне, округ Колумбия. Дебаты начались, как только появилась революционная технология устранения дефектов ДНК и регуляции работы генов со звучной аббревиатурой CRISPR. Ранее в том же году ученые из Китая впервые внесли изменения в структуру генов эмбриона человека в чашке Петри. Это был предварительный эксперимент, проведенный на нежизнеспособных эмбрионах (женщины от них не забеременеют), но это вызвало опасения, что кто-то где-то может попытаться переписать генетический код человека. Одна из бесспорных основоположников технологии редактирования генома Дженнифер Дудна призвала начать обсуждение этого метода на международном уровне: следует ли ограничить его использование, а может быть, и запретить? Председатель конференции в Вашингтоне лауреат Нобелевской премии Дэвид Балтимор обратил внимание участников на сюжет книги «О дивный новый мир» [Олдос Хаксли] и предупредил, что мы сталкиваемся с «перспективой обладания новыми и мощными средствами контроля над природой человеческой популяции». Я предположил, что на этот раз, спустя три года, те же лица будут высказывать похожие абстрактные опасения.

В понедельник, 26 ноября, после полудня, я приземлился в Гонконге и включил телефон. Пока я, уставший, просматривал свой Twitter, до меня не сразу дошло, что именно я читаю. Научный репортер Антонио Регаладо опубликовал сенсационную новость: ученый из Китая наблюдает, как проходит беременность, а также развитие плода с отредактированным геномом. Это дало основания предполагать, что где-то уже могли родиться дети, гены которых были изменены с помощью CRISPR³. В течение нескольких часов эти слухи подтвердились, в том числе агентством Associated Press. В опубликованной ими истории рассказывалось о рождении генетически отредактированных близнецов⁴. Хештег #CRISPRbabies (рус. #CRISPRдети) стал популярным.

Более того, 34-летний ученый из Китая Хэ Цзянькуй описал свой исторический подвиг в серии видеороликов на YouTube. «Две красивые маленькие китайки, названные Лулу и Нана, крича, появились на этот свет несколько недель назад, – сказал он на ломаном английском. – Сейчас девочки находятся дома со своей мамой Грейс и папой Марком». Имя Хэ Цзянькуй мне ни о чем не говорило, но этот человек должен был выступать на конференции. Появится ли он в итоге на ней? Разрешат ли ему организаторы участвовать?

Через два дня Хэ Цзянькуй действительно попытался объяснить, что именно он сделал и, самое главное, почему. Это был один из самых шумевших научных докладов: ученый выступал перед сотнями журналистов и фотокорреспондентов, в прямой интернет-трансляции это выступление увидели еще почти два миллиона зрителей. Мне довелось быть непосредственным участником этого события. Когда Хэ Цзянькуй появился в битком набитом зале и прошел по сцене, были слышны лишь щелчки затворов двух сотен фотоаппаратов. Возмущенный ученый из Америки посылал посты о том, что это пародия на коронавание научной знаменитости. Я же понимал, что мы наблюдаем за тем, как идет обреченный на казнь человек. Действительно, к тому времени, как Хэ Цзянькуй покинул сцену и вернулся домой в Шэньчжэнь, рухнули все его мечты об известности и национальной славе. Вместо этого его ждали домашний арест, позор и через год – тюрьма⁵.

которые разделены уникальными последовательностями (спейсерами). Спейсеры заимствуются из чужеродных генетических элементов, с которыми сталкивалась клетка (бактериофагов, плазмид). – *Прим. ред.*

³ Antonio Regalado, "Exclusive: Chinese scientists are creating CRISPR babies," *MIT Technology Review*, November 25, 2018, <https://www.technologyreview.com/s/612458/exclusive-chinese-scientists-are-creating-crispr-babies/>.

⁴ Marilyn Marchione, "Chinese researcher claims first gene-edited babies," Associated Press, November 26, 2018, <https://www.apnews.com/4997bb7aa36c45449b488e19ac83e86d>.

⁵ Sui-Lee Wee, "Chinese Scientist Who Genetically Edited Babies Gets 3 Years in Prison," *The New York Times* December 31,

Случай с #CRISPRbabies знаменует собой поворотный момент в истории человечества. Недаром документальный фильм Кена Бёрнса «Ген» (The Gene), основанный на великолепной одноименной книге Сиддхартхи Мукерджи, начинается с того, что коллега Хэ Цзянькуа осторожно вводит CRISPR в эмбрион человека. «Крисператор детей», как окрестил его журнал *The Economist*⁶, вырвал из рук природы контроль над наследственностью, по крайней мере в отношении одного из 20 000 генов, составляющих геном человека.

Всего за пятнадцать лет до этого международный коллектив ученых завершил проект «Геном человека» (Human Genome Project, HGP), воссоздав почти все страницы книги жизни – сценарий из 3,2 млрд букв, составленных из четырехбуквенного алфавита. Группа ученых из Лестерского университета опубликовала данные о полной последовательности в виде энциклопедии, состоящей более чем из сотни томов, где каждой хромосоме соответствовал свой цвет переплета. Этот объем информации чудесным образом упакован в двадцать три пары хромосом, находящихся в триллионах клеток вашего организма. Имея под рукой последовательность генома человека, ученые теперь могут приступить к выявлению генов, повреждение которых приводит к развитию тысяч редких наследственных заболеваний. Кроме того, появилась возможность определять генетические варианты и буквенные ошибки, которые формируют нашу предрасположенность к распространенным болезням, таким как сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания и психические расстройства. Еще до этой генетической революции ученые мечтали использовать определенные последовательности ДНК в рамках генной терапии, вводя в клетки пациентов здоровые гены с целью заменить ими дефектные. Однако идея о ДНК-хирургии – устранении повреждений в генах путем вырезания и вставки участка ДНК непосредственно в геном пациента – была лишь фантазией.

Все изменилось, когда летом 2012 г. разгорелся ажиотаж вокруг CRISPR. Двое ученых – женщина-микробиолог из Франции Эмманюэль Шарпантье и женщина-биохимик из США Дженнифер Дудна – сообщили о революционном открытии. Они воспользовались знаниями многих исследователей со всего мира, которые трудились, не привлекая внимания общественности, стараясь понять биологическое предназначение CRISPR. Эти короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами (от англ. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), были известны как важнейший компонент естественной иммунной системы бактерий, микробного щита противоракетной обороны, призванной нейтрализовать атаки определенных вирусов. Ученые из лабораторий Дудны и Шарпантье изменили конфигурацию молекулярного механизма, создав инновационный метод точного определения и вырезания генов и других ДНК-мишеней. Спустя полгода несколько групп, возглавляемых Фэн Чжаном из Института Броуда и Джорджем Чёрчем из Медицинской школы Гарвардского университета, показали, что с помощью CRISPR можно редактировать ДНК клеток млекопитающих. Возможность точного редактирования практически любой последовательности ДНК, будь то геном человека, бактерии или любого другого организма, была невероятной. По простоте использования метод CRISPR был не сравним ни с одним из известных на тот момент методов. Концептуальный, а не технический прорыв, который изменит науку и медицину, а возможно, и саму природу человечества.

Благодаря этим исследователям и многим другим ученым по всем миру теперь мы можем с беспрецедентной легкостью и точностью управлять наследственностью. Мы можем стирать или переписывать варианты генов, вызывающих болезни у человека или эмбриона. Можем изменять геномы домашних животных, растений и паразитов, чтобы улучшить жизни миллионов людей, особенно в развивающихся странах, страдающих от изменения климата. Можем

2019, <https://www.nytimes.com/2019/12/30/business/china-scientist-genetic-baby-prison.html>.

⁶ "The era of human gene-editing may have begun. Why that is worrying," *The Economist*, December 1, 2018, <https://www.economist.com/leaders/2018/12/01/the-era-of-human-gene-editing-may-have-begun-why-that-is-worrying>.

спасать исчезающие виды и даже воссоздавать те, что уже давно погибли. И хотя мы еще недостаточно знаем о сложности генетических взаимодействий, лежащих в основе нашей предрасположенности к сахарному диабету, сердечно-сосудистым заболеваниям и психическим расстройствам, не говоря уже о формировании нашего поведения, личности и интеллекта, мы можем представить день, когда нам удастся улучшить или изменить некоторые из этих характеристик.

Преимущество CRISPR заключается в том, что эта методика проще, быстрее и гораздо дешевле, чем более ранние разработки по редактированию генома. Ученые и специалисты отредактировали целый Ноев ковчег растений и животных: фрукты и овощи, насекомых и паразитов, сельскохозяйственные культуры и домашний скот, кошек и собак, плодовых мушек и рыбок данио-рерио, мышей и человека. Биохакеры-любители начали экспериментировать на себе и своих питомцах. Самые престижные научные журналы захлестнуло цунами статей, поскольку ученые применяли CRISPR ко всему, до чего могли дотянуться. CRISPR-сумасшествие, как назвал это журнал *Science*, охватило все средства массовой информации⁷. *The Economist* на своей обложке изобразил невинного ползающего младенца, а рядом – список того, чего можно для ребенка этой технологией добиться, включая абсолютный слух, стопроцентное зрение и отсутствие вероятности облысеть⁸. *The Spectator* шутливо заметил, что «евгеника возвращается», добавив к этому карикатуру с изображением ребенка, сидящего в чашке Петри (предпочтительным цветом волос был указан «не рыжий»)⁹. Журнал *MIT Technology Review* назвал CRISPR «величайшим биотехнологическим открытием»¹⁰. А заглавная статья Эми Максмен в *Wired* гласила: «Больше никакого голода, загрязнений, болезней... И жизни, которую мы знаем»¹¹.

Когда я учился на генетика в 1980-х гг., то входил в группу ученых, отчаянно занимавшихся поиском дефектных генов в геноме человека, вызывающих мышечную дистрофию Дюшенна (МДД) и муковисцидоз (кистозный фиброз). Мы были буквально генетическими детективами, которые охотятся за генами и мутациями, угрожающими жизни человека или сокращающими ее продолжительность¹². В нашей лаборатории в больнице Святой Марии в Лондоне мы знакомились с пациентами, среди них были подростки с муковисцидозом, которым повезет, если они доживут до 20 лет. Обнаружение мутировавших генов у больных кистозным фиброзом, мышечной дистрофией Дюшенна и другими заболеваниями дало нам надежду на то, что открытие метода излечения этих недугов уже не за горами. В то время были популярны лозунги «От гена к лекарству» и «От лаборатории к больничной койке», предвещавшие революцию в молекулярной медицине. Каждые несколько лет медицина будущего получала новое название – персонализированная медицина, прецизионная, геномная или индивидуализированная, как если бы смена названия могла победить судьбу.

В 1990 г. – с началом проекта «Геном человека» – я навсегда снял свой лабораторный халат. Мой момент озарения наступил, когда я наткнулся на объявление о приеме на работу в журнал *Nature*. Что ж, подумал я, это один из способов, чтобы мое имя попало на страницы самого известного в мире научного издания. Меня принял на работу главный редактор, сэр Джон Мэддокс. Через два года он предоставил мне возможность возглавить первый

⁷ Elizabeth Pennisi, "The CRISPR Craze," *Science* 341, (2013): 833–836, <https://science.sciencemag.org/content/341/6148/833>.

⁸ "Editing Humanity," *The Economist*, August 22, 2015, <https://www.economist.com/leaders/2015/08/22/editing-humanity>.

⁹ Fraser Nelson, "The return of eugenics," *The Spectator*, April 2016, <https://www.spectator.co.uk/article/the-return-of-eugenics>.

¹⁰ Antonio Regalado, "Who Owns the Biggest Biotech Discovery of the Century?," *MIT Technology Review*, December 4, 2014, <https://www.technologyreview.com/s/532796/who-owns-the-biggest-biotech-discovery-of-the-century/>.

¹¹ Amy Maxmen, "The Genesis Engine," *Wired*, August 2015, <https://www.wired.com/2015/07/crispr-dna-editing-2/>.

¹² Однажды в середине 1980-х Фрэнсис Коллинз позировал фотокорреспонденту в лабораторном халате с иголкой в руках перед огромным снопом сена – точная метафора о ДНК-детективах, выискивающих в геноме единственную орфографическую ошибку среди трех миллиардов букв. – *Здесь и далее примечания автора, если не указано иное.*

дочерний журнал из серии *Nature – Nature Genetics*¹³. На конференции в 1993 г., посвященной первому году выпуска, я влился в тщательно подобранную команду звезд, включая Фрэнсиса Коллинза, Крейга Вентера и Мэри-Клэр Кинг, которая за ужином вдохновила меня на работу над первой книгой.

Написанная вместе с моим покойным другом Майклом Уайтом книга «Прорыв» (Breakthrough) повествовала о блестящем генетике из Калифорнийского университета в Беркли, который в 1990 г. картировал на хромосоме ген, связанный с раком молочной железы, *BRCA1*. В 1994 г., через несколько недель после того, как компания Myriad Genetics обогнала Кинг в гонке на выделение этого гена, организаторы крупной генетической конференции в Монреале созвали пленарное заседание, чтобы отметить широко разрекламированный успех Myriad. Кинг удалось перетянуть все внимание на себя: она предоставила данные по целым семьям, у которых ее команда обнаружила специфические мутации *BRCA1*, способные вызвать то, что британский журналист Джон Даймонд назвал «цитологической анархией рака и смерти».

Кинг убеждала всех, что для нее не имело значения, кто выиграл гонку по обнаружению гена *BRCA1*: победив или проиграв, ее команда будет работать в лаборатории, изучая случаи мутаций в семьях. По ее словам, важно отличать реальность от безумия СМИ. «Домыслы в статьях *The New York Times*, в "60 минутах", выдумки парней на мотоциклах из журнала *Time*» – таковы были выпады в адрес Фрэнсиса Коллинза, ее бывшего партнера по исследованиям. По словам Кинг, реальность заключается в следующем:

У нас есть ген, а мы не знаем его предназначения и отлично понимаем, что за двадцать лет нашей работы над этим проектом более миллиона женщин уже умерли от рака молочной железы. Мы очень надеемся, что сделанное нами в течение следующих двадцати лет предотвратит смерть от этой болезни другого миллиона женщин¹⁴.

Мэри-Клэр Кинг аплодировали стоя. Два десятилетия спустя в результате судебного процесса, проведенного на основании спора о генетическом тестировании на мутации гена *BRCA1*, Верховный суд США единогласным решением запретил выдачу патентов на гены¹⁵.

Моя следующая книга «Расшифровка генома» (Cracking the Genome) была посвящена биологическому эквиваленту высадки человека на Луну – проекту «Геном человека», который привел к ожесточенной вражде между консорциумом под руководством Коллинза и захватившей власть группой с частным финансированием, возглавляемой Крейгом Вентером¹⁶. Командный центр его компании Celera Genomics с двумя огромными видеоекранами больше походил на капитанский мостик звездолета «Энтерпрайз», вот только транслировали здесь не фотонные торпеды, а последовательности ДНК. Благодаря черновому варианту последовательности у нас появилась некоторая информация о человеческом организме, и мы могли приступить к систематическому поиску мутаций, которые лежат в основе доминантных и рецессивных (менделевских) заболеваний, а также начать понимать генетические причины более распространенных болезней, таких как астма и депрессия.

Едва лишь завершился проект «Геном человека», как я услышал, что Вентер призывает к использованию новой технологии секвенирования для быстрого чтения последовательности

¹³ Kevin Davies, "Nature, genetics and the Niven factor," *Nature Genetics* 39, (2007): 805–806, <https://www.nature.com/articles/ng0707-805>.

¹⁴ Kevin Davies and Michael White, *Breakthrough: The Race to Find the Breast Cancer Gene* (New York: John Wiley & Sons, 1995).

¹⁵ Adam Liptak, "Justices, 9–0, Bar Patenting Human Genes," *The New York Times*, June 13, 2013, <https://www.nytimes.com/2013/06/14/us/supreme-court-rules-human-genes-may-not-be-patented.html>.

¹⁶ Kevin Davies, *Cracking the Genome* (New York: Free Press, 2001).

ДНК, которая могла бы дать информацию о всем геноме человека всего за \$1000. Поскольку составление первого черновика генома человека стоило \$2 млрд, это было похоже на научную фантастику. Но началось это в один воскресный день в феврале 2005 г., когда Клайв Браун написал своим коллегам из британской биотехнологической компании Solexa письмо с заголовком «МЫ СДЕЛАЛИ ЭТО!!!!». Используя новую технологию, изобретенную двумя профессорами химии из Кембриджского университета¹⁷, команда Брауна секвенировала геном самого маленького известного вируса ФХ174. В следующем году другая компания, Illumina, приобрела Solexa и двинулась к достижению мифического порога в \$1000, что заняло десять лет¹⁸. К тому времени мы уже знали о первых случаях, когда секвенирование генома спасло жизни, положив конец диагностическим одиссеям таких пациентов с загадочными генетическими заболеваниями, как Николас Волкер. Резкое снижение стоимости чтения последовательности ДНК сопровождалось значительным увеличением его скорости. Например, Стивен Кингсмор из детской больницы Рэди в Сан-Диего недавно установил мировой рекорд и был занесен в Книгу рекордов Гиннеса, секвенировав и обработав полный геном новорожденного всего за двадцать часов¹⁹.

Каждая из этих историй рассказывает об огромном скачке в генетике, которому способствовали успехи в области чтения последовательности ДНК. С новыми технологиями секвенирования, предлагающими новые невероятные возможности для скоростного считывания ДНК²⁰, мы находимся на пути к получению данных о геноме за \$100. Особого внимания заслуживает нанопоровое секвенирование, осуществляемое с помощью портативного устройства не больше смартфона, которое использовалось на Международной космической станции.

Наряду с успехами в *чтении* ДНК мы также наблюдаем существенный прогресс в *написании* ДНК. Чёрч и другие исследователи закодировали книги и фильмы в последовательность ДНК в цифровом формате²¹ и создали дрожжевую клетку, объединив естественный набор из шестнадцати хромосом в единую мозаичную хромосому²². Синтетическую биологию ждет впечатляющее будущее: проектирование цепей ДНК и настройка организмов для множества применений – от биоинженерного парфюма и нефтехимии до нового поколения антибиотиков и противомаларийных препаратов. Ученые даже расширили генетический алфавит, изначально состоящий из четырех букв, создав новые химические строительные блоки, которые могут заменить те, что уже входят в состав двойной спирали. Это закладывает основу для разработки синтетических белков, содержащих новые структурные элементы²⁴.

Успехи в «чтении» и «написании» очень важны. Но если бы я мог только читать или писать эту книгу, не имея возможности редактировать, искать и заменять, то она бы никогда не была опубликована. Это справедливо и для геномной инженерии, или редактирования генома: оно позволяет ученым и даже людям, не имеющим отношения к науке, переписывать

¹⁷ Оба профессора, Шанкар Баласубраманиан и Дэвид Кленерман, были посвящены в рыцари.

¹⁸ Kevin Davies, *The \$1,000 Genome* (New York: Free Press, 2010).

¹⁹ Fastest genetic diagnosis, Guinness World Records, February 3, 2018, <https://www.guinnessworldrecords.com/world-records/413563-fastest-genome-sequencing/>.

²⁰ При нанопоровом секвенировании двойная спираль ДНК «расстегивается», что позволяет пропустить одну из ее цепей через нанопору – бактериальный белок в форме пончика. Измеряя электрический ток при прохождении ДНК через пору подобно поезду метро, устройство Oxford Nanopore может преобразовывать эту электрическую кривую в соответствующую последовательность ДНК.

²¹ Julianna LeMieux, "MGI Delivers the \$100 Genome at AGBT Conference," Genetic Engineering and Biotechnology News, February 26, 2020, <https://www.genengnews.com/news/mgi-delivers-the-100-genome-at-agbt-conference/>.

²² Gina Kolata, "Who Needs Hard Drives? Scientists Store Film Clip in DNA," *The New York Times*, July 12, 2017, <https://www.nytimes.com/2017/07/12/science/film-clip-stored-in-dna.html>.

²³ Y. Shao et al., "Creating a functional single-chromosome yeast," *Nature* 560, (2018): 331–335.

²⁴ Matthew Warren, "Four new DNA letters double life's alphabet," *Nature*, February 21, 2019, <https://www.nature.com/articles/d41586-019-00650-8>.

генетический код так же легко, как я меняю слово «мед» на «лед» или «гном» на «геном» на компьютере.

В 2014 г. лауреат Нобелевской премии Джим Уотсон пригласил меня помочь ему в переиздании научно-популярной книги с простым названием «ДНК», которую десятью годами ранее он написал вместе с Эндрю Берри²⁵. Когда я размышлял о главных достижениях в области генетики, я понимал, что нам не избежать упоминания о CRISPR. В ноябре 2014 г. я смотрел прямую трансляцию ежегодной церемонии вручения премии за прорыв в науке (Breakthrough Prize), которую вели из ангара NASA в Калифорнии: в тот день Кэмерон Диас вручала Дудне и Шарпантье самую дорогую научную премию в мире, по \$3 млн каждой²⁶. Не прошло и 2,5 года после их знаменательного открытия, как научное сообщество и титаны Кремниевой долины причислили этих женщин к членам научной элиты.

Ни Дудна, ни Шарпантье не были врачами, но технология CRISPR открывает возможности вывести генную терапию на новый уровень. Обе женщины основали биотехнологические компании, предлагающие методы лечения на основе CRISPR, предназначенные для исправления мутаций, вызывающих развитие серповидноклеточной анемии, слепоты, миопатии Дюшенна и многих других болезней. «В течение последнего десятилетия я создавал ГМО-людей», – говорит Федор Урнов, коллега Дудны, который участвовал в разработке метода геномного редактирования в компании Sangamo Therapeutics в Калифорнии. В 2019 г., через 70 лет после того, как Лайнус Полинг назвал серповидноклеточную анемию первым «молекулярным заболеванием», Виктория Грей, афроамериканка из Миссисипи, стала первой пациенткой в США, прошедшей курс лечения серповидноклеточной анемии с помощью редактирования генома²⁷. Через год она была здорова, к счастью, осложнений не выявилось, а ее клетки крови обновились. В настоящее время проводится все больше испытаний геномного редактирования, в основном с использованием CRISPR. Мы действительно находимся на пороге новой эры в медицине.

Однако применение редактирования генома зашло гораздо дальше. Своими действиями Хэ Цзянькуй перешел красную черту, научный Рубикон, который практически все ученые считали священным. Редактирование наследуемого генома (или клеток зародышевой линии) больше не служит сюжетом фантастических фильмов-антиутопий и страшных историй о детях на заказ. Этот джинн окончательно выпущен из бутылки, и вернуть его уже нельзя. Найдет ли редактирование клеток зародышевой линии применение для лечения генетических заболеваний? Захотят ли пары использовать CRISPR для генетического усовершенствования своих детей? Почему мы должны остановиться на устранении генетических заболеваний? Разве мы не можем допустить мысль о применении технологии CRISPR для расширения возможностей? Например, для включения в работу гена, который сокращает необходимую длительность сна, или обеспечивает защиту от развития деменции, или защищает космонавтов от последствий радиационного облучения. Или прав Урнов, утверждая, что редактирование зародышевой линии – это «решение, которое создает проблемы»?

По словам директора Института Броуда Эрика Ландера, CRISPR – это «удивительная технология, которая находит широкое применение. Однако, если вы будете делать нечто столь же судьбоносное, как переписывание наследуемой генетической информации, я хотел бы

²⁵ James D. Watson, Andrew Berry, and Kevin Davies, *DNA: The Story of the Genetic Revolution* (New York: Knopf, 2017).

²⁶ Ежегодная премия за прорыв в науке в размере \$3 млн для каждого лауреата примерно в десять раз превышает третью долю Нобелевской премии, общая сумма которой составляет \$900 000.

²⁷ Rob Stein, "In a 1st, Doctors in U. S. Use CRISPR Tool To Treat Patient With Genetic Disorder," NPR, July 29, 2019, <https://www.npr.org/sections/health-shots/2019/07/29/744826505/sickle-cell-patient-reveals-why-she-is-volunteering-for-landmark-gene-editing-st>.

услышать для этого веские основания. Вы должны сказать, что само общество приняло такое решение, а без общего согласия этого не произойдет»²⁸.

«Редактируя человечество» – это история об одном из наиболее выдающихся научных открытий, которое совершило человечество, – открытии технологии CRISPR. Изначально моим намерением, получившим поддержку в виде стипендии Фонда Гуггенхайма, было сосредоточиться на теме CRISPR с точки зрения науки и ученых. В 2017 г. я решил начать издание нового журнала под названием *The CRISPR Journal* и стал встречаться с учеными, которые занимаются наиболее интересными исследованиями в этой области. Наше путешествие начинается с истории о группе неизвестных микробиологов и биохимиков – настоящих «героев CRISPR», пытающихся понять функцию неясных последовательностей бактериальной ДНК. CRISPR убедительно демонстрирует огромную ценность финансирования фундаментальных академических исследований и исследований, проводимых отдельными учеными. Крупные научные консорциумы, такие как объединение вокруг проекта «Геном человека», могут делать великие открытия, но давайте не будем забывать, что при небольшой финансовой поддержке на это способны и скромные ученые. Мало кто мог предположить, что исследования того, как бактерии побеждают своих вирусных врагов, дадут толчок к развитию многомиллиардной индустрии, которая сможет лечить болезни и помогать в решении проблем мирового голода.

Во второй части книги я обсуждаю взлеты и падения генной терапии, которая переживает возрождение после долгих лет упадка. Одна из больших надежд, возлагаемых на редактирование генома, связана с возможностью лечения пациентов с широким спектром тяжелых заболеваний, таких как мышечная дистрофия, гемофилия, слепота и серповидноклеточная анемия. В науке часто злоупотребляют термином «святой Грааль», но, если исправление одной буквы в генетическом коде человека не является желанной чашей спасения, я не знаю, как еще это назвать.

Во второй половине книги я обращаю внимание на CRISPR-младенцев и необычную историю этого безрассудного эксперимента. Я приоткрываю завесу над тайными амбициями Хэ Цзянькуя. Сомневаюсь, что Хэ Цзянькуй был ученым-мошенником, каким его изображали, и пытаюсь оценить последствия его действий. В заключительных главах я представляю вашему вниманию некоторые из новых интересных направлений, по которым нас может привести CRISPR, – от перемещения генов до избавления от малярии и возрождения вымерших видов, а также отделяю правду от вымысла в спорах о детях на заказ.

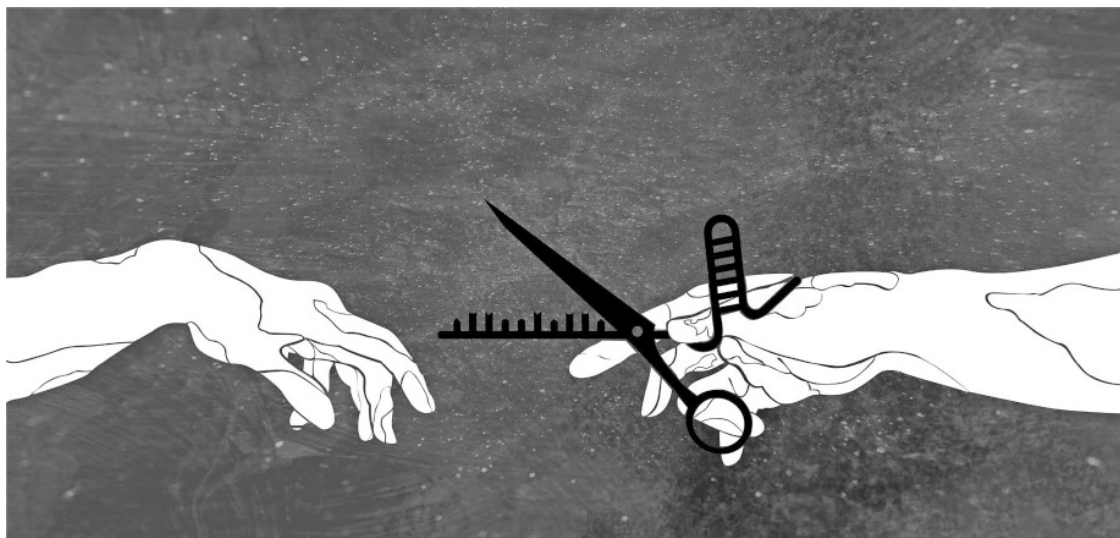
Мы живем в век биологии. Как отмечает Федор Урнов, между гениальной идеей и ее практической реализацией лежит огромная пропасть. В 1505 г. Леонардо да Винчи разработал модель орнитоптера – летательного аппарата. И только через четыре столетия, в декабре 1903 г., Орвилл Райт бросил вызов гравитации: он преодолел по воздуху за двенадцать секунд расстояние, равное длине бейсбольной площадки (36,5 м). Потребовалось несколько десятилетий, прежде чем этот знаменательный полет положил начало коммерческим воздушным перевозкам, не говоря уже о первом полете человека на околоземную орбиту и за ее пределы.

Сиддхартха Мукерджи хорошо написал об этом в своей книге «Ген»: «Проблема всех этих технологий в том, что ДНК – это не только генетический код, в некотором смысле это и моральный кодекс. Перед нами встает вопрос не только о том, кем мы станем. Теперь, когда у нас есть все эти инструменты, мы получили возможность задать вопрос, кем мы можем стать».

Эта книга о происхождении, развитии, использовании и неправильном применении CRISPR – технологии, созданной на основе жизнедеятельности некоторых самых древних

²⁸ Michael Specter, "How the DNA Revolution Is Changing Us," *National Geographic*, August 2016, <https://www.nationalgeographic.com/magazine/2016/08/dna-crispr-gene-editing-science-ethics/>.

организмов планеты, благодаря которой мы находимся на пороге новых возможностей – редактирования человечества.



Часть I

*О чудо! Какое множество прекрасных лиц!
Как род людской красив! И как хороши
Тот новый мир, где есть такие люди!*
УИЛЬЯМ ШЕКСПИР. БУРЯ²⁹

*– Ты же не можешь вот так командовать бактериями, –
возразила миссис Хэмпсток. – Они этого не любят.
– Суций вздор, – отмахнулась старушка. – Дай им только волю,
и они совсем распояшутся. А покажешь, кто тут главный, они все
сделают, только б тебя умаслить. Ты же пробовала мой сыр.*
НИЛ ГЕЙМАН. ОКЕАН В КОНЦЕ ДОРОГИ³⁰

*Прогресс в науке зависит от новых методов, новых открытий
и новых идей – пожалуй, именно в таком порядке.*
СИДНЕЙ БРЕННЕР

Глава 1

Ажиотаж вокруг CRISPR

«Это и есть CRISPR?» – озадаченно спрашивает ведущий телевизионного шоу «60 минут» Билл Уитакер, указывая на небольшую пластиковую пробирку, содержащую несколько капель бесцветной жидкости, которая с тем же успехом может быть просто водой. Но это и впрямь преимущественно вода.

Под ярким светом телевизионных софитов пробирку держит Фэн Чжан, тридцатилетний ученый, который помог разжечь пламя биологической революции.

«CRISPR – это то, что входит в состав раствора», – подсказывает Чжан³¹.

Интервью снимают в лаборатории Чжана в Институте Броуда в Кембридже, штат Массачусетс, – одном из самых престижных центров биомедицинских исследований в стране. Свое название Институт получил в честь филантропа Эли Броуда и его жены Эдит. Здание стоит вплотную к другим башням из слоновой кости, построенным бизнесменами-миллиардерами, такими как братья Кох (изучение рака), издатель Пэт Макговерн (исследования мозга) и разработчик медицинского оборудования Джэк Уайтхед (клеточная биология). Когда я только переехал в Соединенные Штаты в конце 1980-х гг. и работал в Институте Уайтхеда, расположенном на окраине кампуса Массачусетского технологического института, единственным островком цивилизации, кроме него, был сетевой рыбный ресторан. Сегодня Кендалл-сквер – это центр биотехнологической вселенной и такая же достопримечательность Бостона, как и Фенуэй-парк. На расположенной поблизости памятной доске написано, что здесь находится «самая инновационная квадратная миля планеты». Мало кто с этим спорит.

Чжан – с коротко стриженными черными волосами и лишенным растительности лицом херувима – выглядит моложе своих тридцати четырех лет. На групповой фотографии с двумя десятками студентов и научных сотрудников лаборатории его легко принять за аспиранта.

²⁹ Пер. М. Донского.

³⁰ Пер. В. Нуриева.

³¹ Bill Whitaker, "CRISPR: The gene-editing tool revolutionizing biomedical research," 60 Minutes, April 29, 2018, <https://www.cbsnews.com/news/crispr-the-gene-editing-tool-revolutionizing-biomedical-research/>.

Однако с 2013 г. Чжан уже привык к запросам СМИ и вторжениям съемочных групп. Это выглядит как дежавю: несколько месяцев назад он отвечал на эти же вопросы перед телекамерами того же самого канала, CBS. Но интервьюер, беседовавший с ним в прошлый раз, Чарли Роуз, был уволен по веским причинам³², поэтому продюсер программы «60 минут» Николь Маркс решила переснять весь сюжет.

Уитакер недоверчиво смотрит на крошечную пробирку. «Так вот что стоит за переворотом в науке и биомедицине? С ума сойти!»

Даже если бы камеры программы «60 минут» могли углубиться в содержимое крошечной пробирки, находящейся между указательным и большим пальцами Чжана, подобно тому как это происходит в фильме «Фантастическое путешествие», было бы сложно понять, из-за чего поднялась вся шумиха. Тем не менее CRISPR – это нечто очень важное, настоящая буря в пробирке. У термина CRISPR есть точное научное определение (подробнее об этом позже), но всего за несколько лет эта малопонятная аббревиатура вошла в наш повседневный обиход как существительное или иногда как глагол, олицетворяя собой революцию в редактировании генома, а именно способность точно находить и изменять ту или иную последовательность ДНК любого организма.

Однако Уитакер не сдается.

– Итак, CRISPR – это не жидкость, CRISPR там внутри?

– Он растворен в жидкости, – терпеливо объясняет Чжан. – Здесь около нескольких миллиардов молекул CRISPR.

– Миллиардов?

Маркс обдумывала сюжет о CRISPR в течение нескольких лет, ездила в Институт Броуда, чтобы познакомиться с Чжаном и директором-основателем института Эриком Ландером, а также посетила главную конференцию по этике редактирования генома, прошедшую в 2015 г. в Вашингтоне, округ Колумбия. В СМИ наперебой говорили о CRISPR как о новейшем чуде биотехнологии. Но при всем своем медицинском потенциале CRISPR еще не взят врачами на вооружение и тем более никого еще не вылечил.

Для Маркс переломный момент наступил летом 2017 г., когда ученые из Орегона во главе с Шухратом Миталиповым стали первыми американцами, кто успешно отредактировал геном эмбриона человека с применением CRISPR. Миталипов настаивал на том, что в его планы не входит использование этого метода для создания новых людей. Однако было трудно игнорировать тот факт, что мы значительно приблизились к тревожной перспективе проектирования младенцев по заказу, что явилось бы биологическим эквивалентом Часов Судного дня – символа приближения человечества к самоуничтожению.

Сейчас кажется, что научные возможности CRISPR не знают границ. Используя компоненты иммунной системы древнейших бактерий, ученые разработали удивительный молекулярный инструмент, который может просканировать 3 млрд букв человеческого генома, найти там конкретную последовательность букв генетического текста, вырезать ее, а затем восстановить или заменить. Целью проекта «Геном человека» (Human Genome Project, HGP) была расшифровка генетического кода человека. Мы нашли более 20 000 генов, которые определяют работу разных частей человеческого организма. Мы описали мутации более чем в трети тех генов, которые вызывают бесчисленные генетические заболевания. За 13 лет мы потратили около \$2 млрд, чтобы прочесть эту беспорядочную последовательность букв А (A), Ц (C), Т (T) и Г (G)³³. Все эти усилия по-прежнему приносят плоды, способствуя развитию точных методов лечения рака и многих других заболеваний.

³² #MeToo.

³³ К сожалению, проект «Геном человека» показал, что наши знания о последовательности ДНК человека не являются полными. Даже последние технологии секвенирования ДНК пока не позволяют прочесть некоторые части генома человека.

Однако сейчас, имея в руках CRISPR, ученые обладают мощным, простым и доступным инструментом, который позволяет исследователям хирургическим путем переписать генетический код в случае сбоя. Иными словами, выступить в роли Бога. Они могут разрабатывать и создавать последовательности ДНК больших и малых организмов, от вирусов и бактерий до растений (зерновые культуры, цветы, деревья), червей, рыб, грызунов, собак, обезьян и человека. До появления CRISPR существовали и другие технологии редактирования генома, и они применялись в клинике для лечения ВИЧ и редких генетических заболеваний. Да и сама методика CRISPR уже усовершенствована: появились более точные варианты ее выполнения, а именно редактирование нуклеотидных оснований и праймированное редактирование, что приближает нас к тому, чтобы найти тот самый святой Грааль – безопасное и точное управление последовательностью ДНК.

За последние несколько столетий в медицине произошел серьезный прорыв: повышение уровня санитарии и чистоты воды, использование анестезии, открытие вакцин и антибиотиков, разработка низкомолекулярных препаратов, биопрепаратов, создание метода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и развитие пренатальной диагностики. Новые методы и технологии поднимают на новый уровень фундаментальные науки. Появляются инструменты для управления работой нейронов, методы картирования архитектуры клеточного ядра и проведения жидкой биопсии фрагментов ДНК, циркулирующих в кровотоке. Но CRISPR кардинально изменил науку: распространяясь как лесной пожар, со всей простотой, гибкостью и доступностью эта технология захватила воображение ученых всего мира благодаря своей потрясающей демократичности. Открытие CRISPR не было результатом целенаправленных усилий по созданию метода. Напротив, это кульминация десятилетних вложений в фундаментальные биомедицинские исследования, поддержку десятков преданных своему делу ученых, работающих в непопулярных областях науки, проводящих исследования ради острых ощущений открытий, совершаемых ради лучшего понимания окружающего нас мира и природы. Как отметил лауреат Нобелевской премии Билл Келин в статье в *The Washington Post*, выступая в поддержку фундаментальных исследований рака, а не показных амбициозных проектов, «технология редактирования генов при помощи CRISPR, которая произведет революцию в медицине и сельском хозяйстве, берет свое начало из исследований бактерий и их устойчивости к вирусам»³⁴. Трудно представить себе менее популярную область исследований. По крайней мере, так было до открытия CRISPR.

Что можно делать с помощью CRISPR? Лечить рак и тысячи генетических заболеваний. Это простые, дешевые, мобильные инструменты для обнаружения вспышек смертельных инфекционных заболеваний, включая вирус COVID-19. Создавать более полезные и питательные сорта сельскохозяйственных культур, чтобы накормить человечество. Создавать новые, устойчивые к болезням породы скота и выводить животных для трансплантации органов. Ввести понятие «обратимое вымирание» как способ воскресить вымершие виды, такие как шерстистый мамонт, и наряду с этим предоставить экологами новый инструмент для спасения исчезающих видов. Влиять на процесс эволюции для контроля над инфекционными заболеваниями и даже их устранения. А также, к счастью или к сожалению, изменять генофонд человека за счет редактирования ДНК эмбриона человека, как это показывают в научно-фантастических фильмах.

CRISPR действительно очень быстро увлек сценаристов и писателей. В финале десятого сезона сериала «Секретные материалы», вернувшегося на экраны в 2016 г., Малдер и Скалли ищут противоядие от биологического оружия, созданного на основе CRISPR, которое выби-

³⁴ William Kaelin, "Why we can't cure cancer with a moonshot," *The Washington Post*, February 11, 2020, https://www.washingtonpost.com/opinions/the-problem-with-trying-to-cure-cancer-with-a-moonshot/2020/02/11/87632bba-2d84-11ea-9b60-817cc18cf173_story.html.

важный ген в иммунной системе, подвергая опасности человечество. Сообщается, что Дженнифер Лопес работала над пилотным выпуском телевизионного шоу с рабочим названием C.R.I.S.P.R.³⁵ Сериал, действие которого происходит в ближайшем будущем, будет представлять собой полицейский триллер, в котором «наставники и протеже, играя в кошки-мышки, борются за контроль над геномом человека и от исхода этой игры зависит будущее нашего вида». К сожалению, Джей Ло еще только предстоит воплотить в жизнь свое видение нашего завтрашнего дня, находящегося во власти CRISPR. Сценарист Нил Баэр включил пандемию биологического оружия CRISPR в сюжетную линию третьего сезона телесериала «Последний кандидат», главную роль в котором играет Кифер Сазерленд³⁶.

Вернемся к реальности. Ландер называет CRISPR «самым удивительным и, возможно, наиболее важным открытием этого века». Надо признать, он несколько предвзят: Чжан – один из ведущих исследователей Института Броуда, он первым показал возможность редактирования генов в клетках человека с использованием CRISPR и за пять лет стал соучредителем пяти компаний. На кону престиж, патенты и награды. Кроме того, возможно, и научное бессмертие – шанс быть увековеченным как автор одного из великих открытий в науке и медицине и попасть в пантеон науки наряду с Пастером, Эйнштейном, Флемингом, Криком, Франклином и Хокингом.

Тем не менее международное признание и первые награды за открытие CRISPR в значительной степени принадлежат двум ученым-женщинам, которые вместе опубликовали в 2012 г. статью, названную в научной среде «бессмертной». Подобно недолговечной супергруппе, Эмманюэль Шарпантье и Дженнифер Дудна объединились для того, чтобы запрограммировать бактериальный фермент на нахождение и вырезание любой последовательности ДНК в соответствии с прихотью исследователей, заложив тем самым основу для кардинально нового метода редактирования генома с безграничными возможностями применения.

По словам непререкаемого авторитета в области изучения ДНК Джима Уотсона, то, что сделали Дудна и Шарпантье, было «величайшим достижением в науке с момента открытия двойной спирали». Однако важно пользоваться им беспристрастно. «Если его применить лишь для решения проблем и осуществления желаний 10 % самых богатых людей планеты, это будет ужасно, – предупредил Уотсон. – В течение последних нескольких десятилетий мы все больше превращаемся в несправедливое общество, и это только усугубит ситуацию»³⁷.

Составляя досье о сладкой парочке для списка Time 100, Мэри-Клэр Кинг назвала их работу «феноменальным примером элегантной дедукции и эксперимента», который дает ученым «возможность удалять или добавлять генетический материал по своему усмотрению». Кинг назвала CRISPR «настоящим прорывом, последствия которого мы только начинаем осознавать»³⁸.

В последние годы я наблюдал за тем, как стремительно распространилось по всему миру влияние CRISPR, приковывая к себе внимание не только ученых и представителей СМИ, но также и членов королевских семей, политиков и даже папы римского.

Каждые два года в столице Норвегии проводится вручение премии Кавли, которую присуждает некоммерческий фонд, основанный ныне покойным Фредом Кавли, норвежским изоб-

³⁵ Lesley Goldberg, "Jennifer Lopez Sets Futuristic Bio-Terror Drama at NBC (Exclusive)," *The Hollywood Reporter*, October 18, 2016, <https://www.hollywoodreporter.com/live-feed/jennifer-lopez-sets-futuristic-bio-939509>.

³⁶ Neal Baer, "Covid-19 is scary. Could a rogue scientist use CRISPR to conjure another pandemic?," *STAT*, March 26, 2020, <https://www.statnews.com/2020/03/26/could-rogue-scientist-use-crispr-create-pandemic/>.

³⁷ Walter Isaacson, "Should the rich be allowed to buy the best genes?," *Air Mail*, July 27, 2019, <https://airmail.news/issues/2019-7-27/should-the-rich-be-allowed-to-buy-the-best-genes>.

³⁸ Mary-Claire King, "Emmanuelle Charpentier and Jennifer Doudna: Creators of Gene-Editing Technology," *Time*, April 16, 2015, <https://time.com/collection-post/3822554/emmanuelle-charpentier-jennifer-doudna-2015-time-100/>.

ретателем, сколотившим небольшое состояние в Южной Калифорнии. Совместно с Норвежской академией наук фонд Кавли присуждает три награды в \$1 млн за выдающиеся научные достижения в трех областях наук: одна изучает самое большое (астрофизика), вторая – самое маленькое (нанотехнологии), а третья – самое сложное (нейробиология). Эти награды, возможно, несколько скромнее, чем Нобелевская премия или денежная составляющая премии Кремниевой долины за научный прорыв, но считаются одними из самых престижных в науке.

В сентябре 2018 г. фонд Кавли присудил премию за достижения в области нанотехнологий трем пионерам CRISPR – к Шарпантье и Дудне присоединился биохимик из Литвы Виргиниус Шикшнис. Первые два имени не стали неожиданностью. Включение литовского ученого было запоздалым признанием его собственной новаторской работы, несмотря на то что летом 2012 г. команда Шарпантье – Дудны включила его в свои ряды. Мои попытки заглянуть в протокол обсуждений членами жюри были зарублены на корню сотрудником программы Кавли, который, к моему удивлению, заявил, что мне придется ждать пятьдесят лет, пока не обнаружат эти документы.

Улицы Осло украшены транспарантами, посвященными празднованию вручения премии Кавли. По дороге в кампус Университета Осло я спрашиваю своего водителя Uber, слышал ли он о ней. Он качает головой, но затем вспоминает: «Ой, я читал об одном из них – он мой земляк! Наш человек! Передайте ему, чтобы заказал поездку на такси с Раймондиасом». Невероятным образом в Осло меня вез водитель Uber, который слышал о Виргиниусе Шикшнисе.

В тот же вечер лауреаты общаются с гостями на приеме, устроенном Норвежской академией наук и литературы. Молодой атташе американского посольства просит меня представить его Дудне, которая с опозданием приехала вместе с мужем, профессором из Беркли, Джеймсом Кейтом, и их сыном-подростком, Эндрю. «Как произносится ее фамилия? Дуд-на?» (Не так.) Дудна любезно улыбается, но похоже, что ей нужно немного поспать. В очереди к шведскому столу меня ловит норвежский профессор философии, который говорит, что на следующий день на официальном вечернем банкете мне предстоит выслушать много речей. При этом он рассказывает скандинавский анекдот: «Датчанин, швед и норвежец оказываются в камере смертников. Каждому дают право на последнее желание. Датчанин говорит: "Я хочу попировать, получить ужин с жареной свиной и всем, что к ней положено". Норвежец говорит: "Я хочу произнести большую речь". А что швед? Он просит расстрелять его до выступления норвежца». (Если бы вы там были, вы бы поняли.)

На следующий день сотни гостей собираются в Норвежском городском театре на официальную церемонию награждения. Болтовня публики резко прекращается, когда на сцену выходит король Харальд V. Нас ждет необыкновенный эклектичный подбор музыкальных развлечений, чем-то напоминающих одновременно вручение «Оскара» и выступления на Евровидении. Шоу открывает Матиас Ругсвеен, пятнадцатилетний «чародей аккордеона», искрометно исполняющий отрывок из «Севильского цирюльника». Перед присуждением награды за достижения в области нейробиологии норвежская исполнительница во все горло поет песню Crazy в стиле Адель. В какой-то момент соведущий Алан Алда не может найти свои слова на телесуфлере, но без труда справляется с ситуацией: «Погодите, мое выступление где-то здесь!» Наконец, подошло время королю Харальду вручать приз за достижения в области нанотехнологий Шарпантье, Дудне и Шикшнису. Лишь в конце церемонии, когда Дудна позвала семью и друзей к себе на сцену, лауреаты заметно расслабляются и начинают обнимать друг друга.

Вечером того же дня они проходят по длинной мраморной лестнице великолепной ратуши Осло под мелодичный перезвон 49 колоколов. Король Харальд присоединяется к лауреатам за VIP-столом. Нас угощают сашими из лосося и палтуса, а затем филе оленя. По достоверной информации от президента Норвежского студенческого союза, у этого оленя совершенно другой вкус, чем у северного оленя, на которого он охотился в детстве.

Как и было обещано, далее следуют не менее шести речей. Первой выступает Марсия Макнатт, океанолог и президент Национальной академии наук США. Она одобительно высказывается в отношении того, что премия Кавли в большей мере досталась женщинам, чем мужчинам. «Каждой маленькой девочке, которая мечтает подняться на вершину научных достижений, я скажу: "Твое будущее ждет тебя"»³⁹. Генеральный директор Европейской комиссии по научным исследованиям и инновациям Жан-Эрик Паке хвалит победителей за любознательность, упорство и готовность идти на риск. «Фортуна выбирает смелых», – говорит он, цитируя другого известного любителя рисковать, полярного исследователя Эрнеста Шеклтона. Перед своей первой экспедицией в Антарктиду Шеклтон опубликовал в газете объявление: «Требуется люди для участия в опасном путешествии. Низкая заработная плата. Мороз. Длительное время в полной темноте. Благополучное возвращение под вопросом».

Как и для Шеклтона, мгновенный успех – это редкость для лауреатов Кавли. «Сегодня мы видим лишь результат, исключительное достижение, – отмечает Паке. – То, что скрыто от нас сегодня, – это годы тяжелого труда, препятствия, неудачи и те моменты, когда каждый должен был взять себя в руки и продолжить. В итоге эти мужчины и женщины достигли столь многого не потому, что избегали рисков, но потому, что позволяли своему любопытству направлять их, несмотря ни на что, как это делал Шеклтон»⁴⁰.

Вечеринка продолжается до самого рассвета – с коньяком и живым джазом, но семье Дудны, уже успевшей на церемонии награждения насладиться общением с императором Японии и королем Испании, утром рано вставать. Сын Дудны должен вернуться в Калифорнию для учебы. Для лауреатов Кавли запланированы другие мероприятия: они направляются на север, в Тронхейм, чтобы выступить с докладами в ведущем университете страны. По мере того как место действия перемещается на несколько сотен километров ближе к Стокгольму, растут слухи, что за CRISPR скоро дадут Нобелевскую премию. Даже если это вопрос лишь времени, в тот год этого не произошло.

Спустя две недели после визита в Норвегию Дудна вернулась домой на большой гавайский остров. Когда она вышла на сцену в традиционном гавайском ожерелье, или леи, с красными цветами охиа лехуа, растущими на этом острове, ее ждал радушный прием. За этой скромной встречей последовал праздничный ужин в Ken's House of Pancakes⁴¹. Это было очередное мероприятие для женщины-ученого, которая, пожалуй, больше, чем кто-либо, олицетворяет собой CRISPR – ведь ее имя буквально содержит ДНК (англ. DoudNA).

Летом 2017 г. сенатор США Ламар Александер наслаждался отпуском на рыбалке в Канаде без связи и интернета, он только слушал прогноз погоды по радио. Но однажды случайно он услышал репортаж о CRISPR. «Нам нужно провести слушания на эту тему», – подумал он про себя. К счастью, как председатель Комитета сената по здравоохранению, образованию, труду и пенсиям, он обладал такими полномочиями⁴².

Морозным ноябрьским днем я бегал между зданиями сената США, чтобы получить свою аккредитацию. Наконец, добравшись до зала заседаний, я успел услышать, как сенатор Александер провозглашает CRISPR «одним из удивительных открытий, сделанных в рамках фун-

³⁹ В 2020 г. подобной речи уже не будет: все семь лауреатов премии Кавли окажутся мужчинами.

⁴⁰ Jean-Eric Paquet, Kavli banquet speech, September 4, 2018, <http://kavliprize.org/events-and-features/video-2018-kavli-prize-banquet>.

⁴¹ Leah Sherwood, "Genome editing pioneer and Hilo High graduate Jennifer Doudna speaks at UH Hilo about her discovery: CRISPR technology," UH Hilo Stories, September 19, 2018, <https://hilo.hawaii.edu/news/stories/2018/09/19/genome-editing-pioneer-and-hilo-high-graduate-jennifer-doudna-speaks-at-uh-hilo-about-her-discovery-crispr-technology/>.

⁴² Katie Hasson, "Senate HELP Committee holds hearing on gene editing technology," Center for Genetics and Society, November 15, 2017, <https://www.geneticsandsociety.org/biopolitical-times/senate-help-committee-holds-hearing-gene-editing-technology>.

даментальных исследований, профинансированных частично федеральной властью»⁴³. Однако его беспокоили заголовки о «детях на заказ», а также доклад Джеймса Клэппера, бывшего главы национальной безопасности США, о том, что редактирование генома было классифицировано как потенциальное оружие массового уничтожения.

Перед комитетом сената выступили три эксперта по CRISPR – генеральный директор компании, врач и специалист по биоэтике. «В нашей жизни нечасто происходит так, что наука нас удивляет, и это один из таких моментов», – сказала Кэтрин Босли, в то время генеральный директор Editas Medicine, первой публичной компании биотехнологий CRISPR. По свидетельству Босли, существует около 6000 известных генетических заболеваний. «Что, если бы мы могли восстановить эти поврежденные гены? – спросила она. – Мы несем ответственность перед пациентами и их семьями». Но Босли предупредила, что впереди у нас долгий путь. «Исцеление» – громкое слово, и, говоря от лица биотехнологической индустрии, Босли не хотела давать напрасных обещаний.

Большинство сенаторов остались лишь для того, чтобы задать вопросы, прежде чем уйти по своим неотложным делам. Сьюзан Коллинз, сенатор от штата Мэн, накинулась на сенат с опасениями: «У нас появится возможность редактировать гены, чтобы влиять на интеллект или физические возможности. Мы живем в глобальном мире. Похоже, научные достижения опередили политику в этой области. Как мы можем гарантировать, что в таких странах, как Китай или Россия, а также в нашей собственной стране ошеломляющий прорыв в редактировании генов будет использоваться учеными во благо людей?»

Я закатил глаза и подмигнул научной писательнице Эмили Маллин. Мы едва перешли к вопросам, как уже прозвучал ожидаемый стереотип о «ребенке на заказ». Однако Джеффри Кан, специалист по биоэтике из Университета Джонса Хопкинса, согласился, что научные достижения обычно опережают политику. «Мы обладаем надежными методами контроля над тем, чтобы эти технологии использовались в заранее заданных целях. Между странами ведется диалог, – добавил он, успокаивая слушателей. – Гораздо более разумный подход – это не применять контроль сейчас и позволить науке осторожно и ответственно идти вперед в рамках установленных границ».

Афроамериканский сенатор Тим Скотт из Южной Каролины попросил рассказать о перспективах лечения серповидноклеточной анемии. Третий специалист, врач-ученый Стэнфордского университета Мэттью Портеус, заявил, что он готовится привлечь несколько «очень смелых» добровольцев для участия в прорывном клиническом исследовании. Его команда возьмет стволовые клетки пациента, воспользуется CRISPR, чтобы отредактировать ген, который несет в себе мутацию серповидных клеток, и изменит всего одну из трех миллиардов букв человеческого генома. Затем они введут пациенту около миллиарда измененных стволовых клеток через капельницу. Эти здоровые клетки вернутся обратно в костный мозг и восстановят кровь пациента. Если повезет, пациент излечится от этой болезни. «Это круто», – сказал Скотт. После чего ушел.

Сенатор штата Вирджиния Тим Кейн спросил, возможно ли применение CRISPR для лечения болезни Альцгеймера, но в этом вопросе Босли не была оптимистична. Она ответила, что новые методы лечения еще предстоит разработать, поскольку генетика этого заболевания сложнее, чем, скажем, серповидноклеточной анемии. Кейн также спросил о надзоре со стороны регулирующих органов. Кан указал на пример Великобритании, где установлены строгие рамки контроля, позволяющие стране лицензировать новые биотехнологии. «Люди не хотят садиться в тюрьму на десять лет за нарушения, – сказал Кан. – Мы проигрываем

⁴³ U. S. Senate Committee on Health, Education, Labor & Pensions, "Gene Editing Technology: Innovation and Impact," November 14, 2017, <https://www.help.senate.gov/hearings/gene-editing-technology-innovation-and-impact>.

во многих аспектах, когда загоняем науку в подполье». Кроме того, США не хотели уступать свое лидерство и конкурентоспособность в области редактирования генов кому-то другому.

Никто не мог предположить, что год спустя гипотетические предостережения Кана станут реальностью.

Спустя полгода, в апреле 2018 г., CRISPR оказался на гастролях в самом неожиданном месте – Ватикане. Конференция «Объединимся, чтобы вылечить» (Unite to Cure) – это детище Робина Смита, президента фонда Curing. Она проводится в сотрудничестве с Папским советом по культуре. Список гостей Смита был довольно экстравагантным: среди них были телеведущие доктор Мехмет Оз и Санджай Гупта с канала CNN, кроме того, были запланированы эпизодические выступления знаменитостей, в частности Кэти Перри (о силе медитации) и Джека Никлауса (о стволовых клетках). Временами эта встреча вызывала те же неприятные чувства, что и вечерние рекламные ролики. Миллиардер Эд Босардж купил клинику на Багамах, и ему делали экспериментальные инъекции: препараты проникали через гематоэнцефалический барьер и должны были бороться с ухудшением памяти и старением. «Моя цель – быть здоровым и играть в теннис в 120 лет», – сказал он со всей серьезностью.

Был там и Питер Габриэль, первый рок-вокалист, которого я когда-либо слышал (альбом *Selling England by the Pound* группы Genesis). Габриэль побаловал нас акустическим концертом, хотя и немного растерял свои навыки, судя по тому, что не вовремя вступил в композиции *Solsbury Hill*. Он эмоционально объявил, что посвящает выступление своей жене Миб, которая вылечилась от агрессивной формы неходжкинской лимфомы после CAR-T-терапии. Позже он сказал: «Богатые люди будут жить вечно, а бедные будут умирать миллиардами. Модель просачивания благ сверху вниз не изменит этого».

Из-за такого количества приехавших на конференцию знаменитостей дискуссия рабочей группы с руководителями трех государственных компаний по биотехнологии CRISPR казалась чем-то второстепенным. Все три компании были созданы учеными, непосредственно участвовавшими в драме вокруг CRISPR: Чжан и Дудна стали соучредителями Editas Medicine, но Дудна покинула компанию из-за патентного спора и позже присоединилась к основателям Intellia Therapeutics. Тем временем Шарпантье основала собственную компанию CRISPR Therapeutics. Кэтрин Босли заявила, что открытие CRISPR – «величайшее событие в биологии целого поколения», выходящее за рамки фантастики в лечении генетических заболеваний. Генеральный директор CRISPR Therapeutics Сэм Кулкарни сказал, что этот метод захватил воображение миллионов людей из-за простоты использования. «Он совершенно демократизировал технологию [редактирования генов]». Руководитель компании Intellia Джон Леонард объявил, что клинические исследования CRISPR неизбежны, и предположил, что CRISPR «в короткие сроки станет стандартом лечения серповидноклеточной анемии».

Босли признала, что у CRISPR есть и темная сторона. Технологии не бывают хорошими или плохими, все зависит от того, как мы их применяем. Об этом же говорил и папа Франциск, лично обращаясь к нескольким сотням участников конференции в потрясающем зале аудиенций, интерьер которого напоминает голову змеи. Понтифик напомнил о необходимости защиты окружающей среды и осторожности в применении метода редактирования генов. Он отметил «большие успехи ученых в создании новых лекарств», особенно тех, что используются при лечении редких аутоиммунных и нейродегенеративных заболеваний. Однако наука, по его словам, открыла новые методы

столь глубокого и точного вмешательства, что для нас стало возможным изменять нашу ДНК. Здесь мы видим необходимость повышать осведомленность об этической ответственности по отношению к человечеству и окружающей среде, в которой мы живем. Хотя Церковь одобряет все меры, применяемые в исследованиях и направленные на заботу о наших страдающих

братьях и сестрах, она также помнит об основном принципе, что «не все технически выполнимое этически приемлемо»⁴⁴.

Это было заявление, грамотно составленное при участии Босли и руководителей других CRISPR-компаний. О нем быстро забыли, когда Кэти Перри и другие VIP-персоны выстроились в очередь, чтобы приложиться к папскому перстню. Никто, даже сам папа римский, не знал о том, что на другом конце света китайка находилась на первых неделях беременности. Она вынашивала близнецов, чья ДНК была создана не Богом, но обычными руками амбициозного специалиста по генной инженерии при содействии знакомого эмбриолога.

Это было в высшей степени порочное зачатие.

Опасения, что какой-то ненадежный ученый осмелится переписать священный текст генома, существовали десятки лет, хотя отражалось это в большей мере в фантастических сценариях. Однако исследование 2015 г., проведенное группой китайских ученых, впервые показало, что люди науки были готовы исправлять ген болезни у эмбриона человека уже через несколько часов после экстракорпорального оплодотворения. С точки зрения этики это был гигантский скачок за мифическую красную линию, когда люди начинают играть в Бога в вопросах своей генетической судьбы. В течение следующих трех лет многие авторитетные медицинские сообщества опубликовали десятки научных докладов об этических плюсах и минусах редактирования генома⁴⁵. Пока ученые и специалисты по этике дискутировали, генетик из Австралии Дэниел Макартур написал в Twitter: «Мои внуки будут обследованы на стадии эмбриона и отредактированы. Это не повлияет на то, что означает быть человеком. Это подобие вакцинации».

Несколько научных групп, преимущественно из Китая, сообщили о проведении экспериментов на эмбрионах человека без последующей имплантации этих модифицированных эмбрионов. Но молодой китайский ученый, который пять лет проходил стажировку в США, осмелился сделать следующий злосчастный шаг. Хэ Цзянькуй предположил, что его новаторская работа будет по достоинству оценена на родине и за рубежом, результаты будут опубликованы в ведущем мировом журнале, что поставит его в один ряд с его героем – лауреатом Нобелевской премии Робертом Эдвардсом, соавтором изобретения метода ЭКО.

Однако не последовало ни признания, ни одобрения, ни статьи в *Nature*. Вместо этого были возмущение и яростное, почти всеобщее осуждение. Работа была небрежной, безответственной, опрометчивой, неэтичной и, пожалуй, преступной, поставившей серьезные вопросы о здоровье двух детей. Карьера Хэ Цзянькуя рухнула в одно мгновение: он был помещен под домашний арест, уволен из университета и в конечном итоге приговорен к трем годам тюрьмы. Эта история не напугала генетика из России, и он объявил о своем намерении взять дело в свои руки и использовать редактирование генов методом CRISPR, чтобы помочь парам с наследственной глухотой. «Мы продолжаем приближаться к крайней черте, и, по сути, ее не существует», – заявил научный журналист Регаладо⁴⁶.

Директор Национального института здравоохранения Фрэнсис Коллинз выступает категорически против любых попыток вмешательства в ДНК эмбрионов человека. «Эволюция работала над оптимизацией генома человека на протяжении почти четырех миллиардов лет. Неужели мы действительно думаем, что небольшая группа умельцев в области генома человека

⁴⁴ Pope Francis, "Address of His Holiness Pope Francis to participants at the International Conference organized by the Pontifical Council for Culture on Regenerative Medicine," April 28, 2018, http://w2.vatican.va/content/francesco/en/speeches/2018/april/documents/papa-francesco_20180428_conferenza-pcc.html.

⁴⁵ C. Brokowski, "Do CRISPR Germline Ethics Statements Cut It?," *The CRISPR Journal* 1, (2018): 115–125, <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/crispr.2017.0024>.

⁴⁶ April Glaser and Will Oremus, "Tomorrow's Children, Edited," *Slate*, November 28, 2018, <https://slate.com/technology/2018/11/if-then-podcast-antonio-regalado-crispr-human-gene-editing-china.html>.

может добиться лучших результатов без всяких непредвиденных последствий?» – говорит он⁴⁷. Многие ведущие ученые призвали ввести временный мораторий, чтобы дать специалистам и другим заинтересованным сторонам время обдумать основания и обстоятельства, при которых может быть одобрено редактирование зародышевой линии⁴⁸. Однако другие исследователи не видят никакой опасности в перспективе наследуемого редактирования генома. Джордж Чёрч из Гарвардского университета, ветеран геномной инженерии, сохраняет непредвзятое отношение к этому вопросу. «Я не думаю, что голубые глаза и [дополнительные] 15 баллов IQ действительно представляют угрозу здоровью населения, – сказал он в интервью британской газете. – И не считаю это опасным для нашей морали»⁴⁹.

Великий физик Стивен Хокинг в своей последней книге предсказал наше приближение к эре того, что он назвал самостоятельной эволюцией. «Мы сможем изменять и улучшать нашу ДНК, – писал Хокинг. – Мы расшифровали ДНК, и это означает, что мы прочитали "книгу жизни" и теперь можем приступать к внесению исправлений»⁵⁰. Тем не менее для Хокинга опасный путь не ограничивался лечением разрушительных заболеваний, таких как его собственная болезнь – медленно прогрессирующая форма бокового амиотрофического склероза. Хокинг верил в то, что ученые будут использовать технологии, подобные CRISPR, для изменения и улучшения таких качеств, как интеллект, память и долголетие, – даже нарушая закон, если это понадобится. Такой способ создания «сверхлюдей» будет доступен лишь для богатой элиты, что приведет к конфликту с обычными людьми. Хокинг продолжает:

Как только появятся эти сверхлюди, возникнут серьезные политические проблемы с неулучшенными людьми, которые не выдержат конкуренции. Можно предположить, что они вымрут или потеряют всякое значение. Вместо этого будет раса саморазработанных существ, которые будут улучшать себя со все возрастающей скоростью.

Сразу возникло опасение, что гнусные действия одного ученого могут помешать существенному прогрессу в использовании CRISPR и других методов редактирования в генной терапии у детей и взрослых. Когда я разговаривал с друзьями и учеными в аудитории, я слышал, как один из выдающихся специалистов редактирования генома высказывал многочисленные опасения по поводу CRISPR-младенцев, считая их «угрозой» будущего терапевтического редактирования генома.

К счастью, эти страхи пока не подтвердились. Несмотря на то что эта область науки только начинает развиваться, она подает надежды клинического применения для пациентов с онкологией, заболеваниями крови, наследственными формами слепоты и многими другими болезнями. По словам Федора Урнова, мы снимаем страховочные колесики с велосипеда. «Мир увидит, что CRISPR способен действительно принести пользу»⁵¹.

⁴⁷ Francis Collins, "Experts debate: Are we playing with fire when we edit human genes?," STAT, November 17, 2015, <https://www.statnews.com/2015/11/17/gene-editing-embryo-crispr/#Collins>.

⁴⁸ E. S. Lander et al., "Adopt a moratorium on heritable genome editing," *Nature*, March 13, 2019, <https://www.nature.com/articles/d41586-019-00726-5>.

⁴⁹ Rachel Cocker, "This Harvard scientist wants your DNA to wipe out inherited diseases – should you hand it over?," *Telegraph*, March 16, 2019, <https://www.telegraph.co.uk/global-health/science-and-disease/harvard-scientist-wants-dna-wipe-inherited-diseases-should/>.

⁵⁰ Sarah Marsh, "Essays Reveal Stephen Hawking Predicted Race of 'Superhumans'," *The Guardian*, October 14, 2018, <https://www.theguardian.com/science/2018/oct/14/stephen-hawking-predicted-new-race-of-superhumans-essays-reveal>.

⁵¹ Rob Stein, "First U. S. Patients Treated With CRISPR As Human Gene-Editing Trials Get Underway," *NPR*, April 16, 2019, <https://www.npr.org/sections/health-shots/2019/04/16/712402435/first-u-s-patients-treated-with-crispr-as-gene-editing-human-trials-get-underway>.

Глава 2

На голову выше

26 июня 2000 г. президент Билл Клинтон вошел в Восточную комнату Белого дома в сопровождении двух известных ученых, Фрэнсиса Коллинза и Крейга Вентера. Клинтон объявил о важной вехе проекта «Геном человека» – получении чернового наброска последовательности генома человека, «книги жизни». Спутниковая трансляция с Даунинг-стрит, 10 показывала сияющее лицо премьер-министра Великобритании Тони Блэра, размахивавшего флагом в честь британских членов научной группы, внесших свою лепту в расшифровку около трети генома.

В течение двух лет две команды ученых, напоминавшие по численности небольшие армии, работали, соревнуясь друг с другом, для достижения этой грандиозной цели. В одном углу ринга был Коллинз, фельдмаршал финансируемого государством международного альянса по расшифровке ДНК человека. Приз представлял собой карту сокровищ человеческого генома с последовательностью из 3 млрд букв ДНК-алфавита (четырёхбуквенный код химических соединений, сокращенно А (A), Ц (C), Т (T), Г (G)), объединенных в двадцать три пары хромосом.

В противоположном углу ринга находился Вентер, ученый и предприниматель, который нагло начал враждебный захват проекта «Геном человека». Он поделился своими планами с Коллинзом в зале ожидания United Airlines в вашингтонском аэропорту имени Даллеса, а затем со всем миром на обложке *The New York Times*. Его новая компания Celera Genomics пообещала пробиться через многолетнюю правительственную неэффективность и бюрократию, чтобы сформировать последовательность быстрее и дешевле, используя целый ряд новейших секвенаторов, названных в честь научно-фантастических персонажей, а также мощный суперкомпьютер Compaq для обработки данных. В качестве утешительного приза Вентер предложил Коллинзу провести секвенирование генома мыши. Почти в мгновение ока ситуация изменилась: «Дарт Вейдер» из компании Вентера получил арсенал и преимущество, в то время как Коллинз и его союзники превратились в отважных повстанцев, загнанных в угол.

Когда публичные споры между группами переросли в явную вражду, возникла угроза запятнать репутацию руководителей проекта, не говоря уже о цели миссии. Белый дом поспособствовал временному перемирию, чтобы провести историческое празднование⁵². Клинтон назвал достижение генетиков «самой важной и самой удивительной картой, когда-либо созданной человечеством... Это язык, на котором Бог создал жизнь». Фраза «ученые расшифровали генетический код человечества» стала заголовком на первой полосе *The New York Times*⁵³.

Однако кто же был обладателем этого взломанного кода? Представители Национального института здравоохранения собрали образцы ДНК у десятков анонимных добровольцев, которые вызвались участвовать в проекте в ответ на объявление, опубликованное в марте 1997 г. в газете *The Buffalo News* молекулярным генетиком Питером де Йонгом (в проекте возглавлял направление по созданию библиотек ДНК). Спустя годы генетический анализ показал, что участник с кодовым названием RP11, внесший наибольший вклад, скорее всего, был афроамериканцем⁵⁴. Как и любой другой человек, RP11 и другие доноры ДНК были мутантами,

⁵² White House, "Announcing the Completion of the First Survey of the Entire Human Genome at the White House," YouTube video, 40:32, last viewed June 26, 2020, https://www.youtube.com/watch?v=Y_8XRkb-wbY.

⁵³ Nicholas Wade, "Genetic Code of Human Life Is Cracked by Scientists," *The New York Times*, June 27, 2000, <http://movies2.nytimes.com/library/national/science/062700sci-genome.html>.

⁵⁴ Kevin Davies, "Deanna Church on the Reference Genome Past, Present and Future," *Bio-IT World*, April 22, 2013, <http://www.bio-itworld.com/2013/4/22/church-on-reference-genomes-past-present-future.html>.

геном которых содержал сотни или тысячи вариантов ДНК, предрасположенных к развитию редких и распространенных заболеваний, включая сахарный диабет первого типа и гипертонию⁵⁵. Celera взяла образцы ДНК у пяти добровольцев разного этнического происхождения. Позже Вентер признался, что одним из них был он сам.

Прочесть книгу жизни – даже если еще многих страниц в ней не хватало, они были вырваны или располагались не в том порядке – было грандиозным достижением. Для биологии это означало почти то же самое, что и полет на Луну, то есть крупнейшее событие после того, как Крик и Уотсон открыли двойную спираль в 1953 г. Мы стали первым видом, который перевел свою инструкцию по эксплуатации на язык, понятный человечеству, несмотря на то что мы еще плохо знаем, как этой инструкцией пользоваться. Главы учебников, в которых заявлялось, что организм человека содержит более 100 000 генов, были признаны устаревшими, поскольку нам пришлось скромно признать, что геном состоит лишь из 20 000 генов.

Одним из самых влиятельных защитников проекта «Геном человека» выступил сэр Джон Мэддокс, почетный редактор журнала *Nature*. В 1999 г. Мэддокс взял на себя смелость опубликовать книгу под названием «Что нам предстоит открыть» (What Remains to Be Discovered). Он писал:

Вполне вероятно, что глубокие знания о работе генома человека, которые сейчас удалось получить, укажут на способ, которым можно значительно улучшить с помощью генетических манипуляций дизайн *Homo sapiens*, разработанный за 4,5 млн лет путем естественного отбора. В конце концов, сегодня люди воздействуют на структуру генов, чтобы сделать растения устойчивыми к инфекциям. Почему бы не поступать так же с геномом человека с той же целью? Разумно предположить, что когда-нибудь *Homo sapiens* воспользуются этими возможностями⁵⁶.

Когда он это писал, группа ученых вдали от телекамер и торжественных президентских мероприятий предпринимала первые шаги к разработке новой технологии: с ее помощью можно будет изменять код, на расшифровку которого за десятилетие мы уже потратили \$2 млрд. Это было начало эры редактирования генома.

Редактирование – важный этап создания произведений литературы, музыки или искусства. Судьба многих блокбастеров могла бы стать совсем другой, если бы продюсеры использовали их первоначальные названия. Фильм «Чужой» собирались назвать «Звездный зверь», «Назад в будущее» уже почти выпустили под названием «Космический пришелец с Плутона», а рабочим названием фильма «Красотка» было «3000». Книга Джейн Остин «Первые впечатления» стала романом «Гордость и предубеждение». Маргарет Митчелл изначально назвала свою героиню Скарлетт совсем иначе – Панси. «Редактирование литературного или генетического текста (практически) всегда делает его лучше», – пишет Федор Урнов⁵⁷.

Пока я наблюдал за быстрым развитием в области высокопроизводительного секвенирования ДНК в 2000-х гг., ученые корпели над созданием молекулярной системы обработки текстов, чтобы редактировать книгу жизни – искать, вырезать и вставлять слова и буквы, выявлять опечатки, удалять орфографические ошибки и вносить исправления. Через десять лет после провозглашения себя первым видом, расшифровавшим свой генетический текст, мы уже проверяли наши возможности вносить изменения в любой организм по своему желанию. Если

⁵⁵ R. Chen and A. J. Butte, "The reference human genome demonstrates high risk of type 1 diabetes and other disorders," Pacific Symposium on Biocomputing, 2011 (2010): 231–242, https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789814335058_0025.

⁵⁶ John Maddox, *What Remains To Be Discovered* (New York: Free Press, 1999).

⁵⁷ Fyodor D. Urnov, "Genome Editing B. C. (Before CRISPR): Lessons from the 'Old Testament,'" *The CRISPR Journal* 1, (2018): 115–125, <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/crispr.2018.29007.fyu>.

довести это до логического завершения, мы сможем изменить направление и ускорить нашу собственную эволюцию и эволюцию почти каждого организма на Земле.

«Такова природа открытия», – говорит генетик Ширли Тилман, бывший президент Принстонского университета. Результаты каждого крупного научного открытия могут быть использованы как во благо, так и во вред. «От общества потребуются мудрость, чтобы направить эти открытия по верному пути»⁵⁸. Быстрое развитие редактирования генома – это серьезная, беспрецедентная и в некотором смысле пугающая ответственность. И мы уже не справились с ней.

Прежде чем идти дальше, давайте рассмотрим, что особенного в этой революционной технологии со смешной аббревиатурой, которая звучит как нечто среднее между названием шоколадного батончика и ящиком холодильника. Пытаясь описать CRISPR, авторы прибегали то к одной метафоре, то к другой: десница Божья, команда по обезвреживанию бомб, ластик, скальпель хирурга, сканер сетчатки глаза и часто «молекулярные ножницы»⁵⁹. STAT составил список из десяти понятий, с которыми можно сравнить CRISPR, который завершился так: «Швейцарский армейский нож молекулярной биологии». Подобно ему, CRISPR – это больше, чем просто острое лезвие для разрезания ДНК. Это постоянно расширяющийся набор молекулярных инструментов для редактирования и управления ДНК с еще большей точностью и универсальностью.

CRISPR – одно из тех достижений, которые случаются раз в 20 лет и практически мгновенно меняют процессы проведения научных исследований. По иронии судьбы технология бактериальной противовирусной иммунной системы распространилась, подобно вирусу. Однако это не было первой технологией редактирования генома. Более ранние методы редактирования генов были разработаны (в начале 2000-х), затем усовершенствованы и даже вошли в клиническую практику еще до появления CRISPR. Урнов с коллегами из компании Sangamo придумали термин «редактирование генома» в 2005 г., когда занимались усовершенствованием технологии ZFNs (нуклеаза типа цинковых пальцев), которая до сих пор используется в клинической практике. В 2011 г., за год до того, как CRISPR ворвался в науку, журнал *Nature Methods* объявил редактирование генома «методом года». У ZFNs и другой технологии редактирования генов, TALENs, есть свои поклонники, но это слишком хлопотные и дорогостоящие методы, чтобы превзойти CRISPR по скорости внедрения.

CRISPR использует основу других форм редактирования генома и (говоря языком группы Spinal Tap) поднимает их на новую высоту. От Австралии до Заира исследователи во всем мире используют CRISPR для редактирования генов практически любых организмов планеты Земля. Быстрота распространения связана с тем, что CRISPR, по сути – технология, доведенная за сотни лет эволюцией до совершенства. CRISPR не требует дорогого оборудования, такого, например, как современные секвенаторы по цене в \$1 млн, – большинство реагентов можно заказать через интернет и использовать в лаборатории без каких-либо специальных мер безопасности, как это и продемонстрировал Чжан в программе «60 минут». Старшеклассники могут изучить основы CRISPR на уроках биологии⁶⁰. Некоммерческая организация по коллекционированию генетических конструкций Addgene в Бостоне служит клиринговым центром реагентов для CRISPR. По словам директора Джоанн Каменс, к началу 2020 г. Addgene распространила более 180 000 генетических конструкций, содержащих CRISPR, в более чем 4000 лабораторий по всей миру⁶¹.

⁵⁸ Shirley Tilghman, in *The Gene*, PBS, 2020, <https://www.pbs.org/kenburns/the-gene/>.

⁵⁹ Rebecca Robbins, "The best and worst analogies for CRISPR, ranked," STAT, December 8, 2017, <https://www.statnews.com/2017/12/08/crispr-analogies-ranked/>.

⁶⁰ Lina Dahlberg and Anna Groat Carmona, "CRISPR-Cas Technology In and Out of the Classroom," *The CRISPR Journal* 1, (2018): 107–114, <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/crispr.2018.0007>.

⁶¹ C. LaManna and R. Barrangou, "Enabling the Rise of a CRISPR World," *The CRISPR Journal* 1, (2018): 205–208, <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/crispr.2018.0022>.

Летом 2012 г. группы Шарпантье и Дудны продемонстрировали, что они могут взять бактериальную систему CRISPR и с некоторыми изящными молекулярными доработками превратить ее в точно настраиваемый генетический «курсор», который можно использовать для отрезания конкретного участка ДНК большей или меньшей длины. Родольф Баррангу, главный редактор *The CRISPR Journal*, называет это исследование переломным моментом, который показал, что «эту крутую, своеобразную революционную иммунную систему бактерий можно перепрофилировать и превратить в инструмент, который люди будут легко использовать в лаборатории для разрезания ДНК»⁶². Через полгода группа Чжана в сотрудничестве с Лучано Марраффини из Университета Рокфеллера и независимой группой Джорджа Чёрча продемонстрировала, что инструмент CRISPR-Cas9 может успешно редактировать ДНК в клетках млекопитающих. «Это изменило мир», – говорит Баррангу.

Действительно, исследователи всего мира воспользовались этим простым программируемым инструментом редактирования генов и сделали новые открытия, которые попали на страницы ведущих научных и медицинских журналов. Профессор права Стэнфордского университета Хэнк Грили проводит удачную аналогию: «Модель Т⁶³ была дешевой и надежной, и вскоре уже у всех появилась машина, и мир изменился. CRISPR сделал редактирование генов недорогим, простым и доступным... Думаю, это также изменит мир, – говорит он. – И это меня поражает»⁶⁴.

Между двумя футбольными клубами Буэнос-Айреса – «Ривер Плейтом» и «Бока Хуниорсом» – идет, как известно, вечное непримиримое соперничество. Однако существует противоборство, которое формировало жизнь на Земле с самого начала, и оно продолжается по сей день. Основная гонка вооружений на планете происходит между двумя непримиримыми врагами, ядерными сверхдержавами микробиологического мира – бактериями и вирусами (или бактериофагами), стремящимися уничтожить друг друга. Эта война длится вечность, по крайней мере не меньше миллиарда лет.

Еще до пандемии COVID-19 мы знали, что вирусы – это невидимая опасность, предвестники болезней и смертей. В своем известном высказывании лауреат Нобелевской премии Джошуа Ледерберг утверждал, что «самая серьезная угроза дальнейшему господству человека на планете – это вирусы». Помимо социального дистанцирования и некоторого естественного иммунитета, у человечества в арсенале мер противодействия имеются также вакцинация и множество специализированных или перепрофилированных методов лечения, а кроме того – препаратов. Угроза никогда не исчезнет, поскольку вирусы способны мутировать, развиваться, захватывать генетический материал своих хозяев и постоянно перерождаться.

Бактерии хорошо нас понимают. Они постоянно сталкиваются с атаками со стороны бактериофагов – вирусов, которые заражают исключительно бактерии. На планете Земля существует непостижимое количество бактериофагов (10 нониллионов (10^{-10})!), то есть по одному триллиону на каждую песчинку⁶⁵. «Не спрашивайте меня, как люди получают это число, но я им верю», – говорит Марраффини⁶⁶. Если расположить эти субмикроскопические фаги вплот-

⁶² K. Davies and R. Barrangou, "MasterChef at Work: An Interview with Rodolphe Barrangou," *The CRISPR Journal* 1, (2018): 219–222, https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/crispr.2018.29015.int?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed.

⁶³ Речь идет о первом доступном автомобиле, выпускавшемся на заводах компании Ford Motor миллионными сериями. Считается, что таким образом Генри Форд «посадил Америку на колеса». – *Прим. ред.*

⁶⁴ Hank Greely, quoted in Mark Schwartz, "Target, Delete, Repair," *Stanford Medicine*, Winter 2018, <https://stanmed.stanford.edu/2018winter/CRISPR-for-gene-editing-is-revolutionary-but-it-comes-with-risks.html>.

⁶⁵ Покойный Роджер Хендрикс, знаменитый микробиолог, предложил оценить количество фагов на планете в 10^{-10} (10 000 000 000 000 000 000 000 000 000 000), что делает их наиболее многочисленным биологическим объектом.

⁶⁶ Luciano Marraffini, "CRISPR Frontiers" (discussion, New York Academy of Sciences, February 24, 2020).

ную друг к другу, эта цепочка растянется на 200 млн световых лет⁶⁷. Под электронным микроскопом многие из них выглядят довольно угрожающе, напоминая нечто среднее между лунным посадочным модулем и пауком, лапы которого растопырены, чтобы зацепиться за поверхность клетки. Другие обладают невинным очарованием круглого леденца на палочке с длинным хвостом. После присоединения вирус вводит в бактериальную клетку свой собственный генетический материал, короткую цепочку ДНК или ее двоюродную химическую сестру, РНК, используя механизмы синтеза белка бактериальной клетки. За 20–30 минут десятки и сотни заново скомпонованных вирусных потомков вырываются из уже погибшей клетки, подобно полчищу Чужих, вырвавшихся из живота Джона Хёрта. «Клетки взрываются, они лопаются, как воздушные шары», – говорит Марраффини.

Окруженные потенциальными фаговыми захватчиками, бактерии развили множество защитных систем, чтобы отслеживать и уничтожать эту угрозу. Когда я изучал биохимию в 1980-х гг., нам рассказывали, что бактерии обладают целой армией нуклеаз – высокоактивных ферментов, которые распознают и атакуют определенные мотивы чужеродной ДНК. (Последовательности ДНК самих бактерий защищены от этих нуклеаз химическими метками, подобно тому как розетки закрыты от детей специальными крышками). Ученые использовали эти ферменты ограничения как средство для разрезания, обмена или «сшивания» (лигирования) фрагментов ДНК, например помещая гены человека в ДНК бактерии, что положило начало развитию отрасли биотехнологии. Но, как мы убедимся далее, теперь мы знаем, что бактерии обладают еще и другой иммунной системой. CRISPR – это небольшой участок бактериального генома, который содержит фрагменты захваченного вирусного генома для дальнейшего использования, причем каждый такой фрагмент (или спейсер) отделен от другого одинаковыми повторяющимися палиндромными последовательностями ДНК. Представьте себе это как картотеку ФБР, в которой хранятся данные о разыскиваемых преступниках.

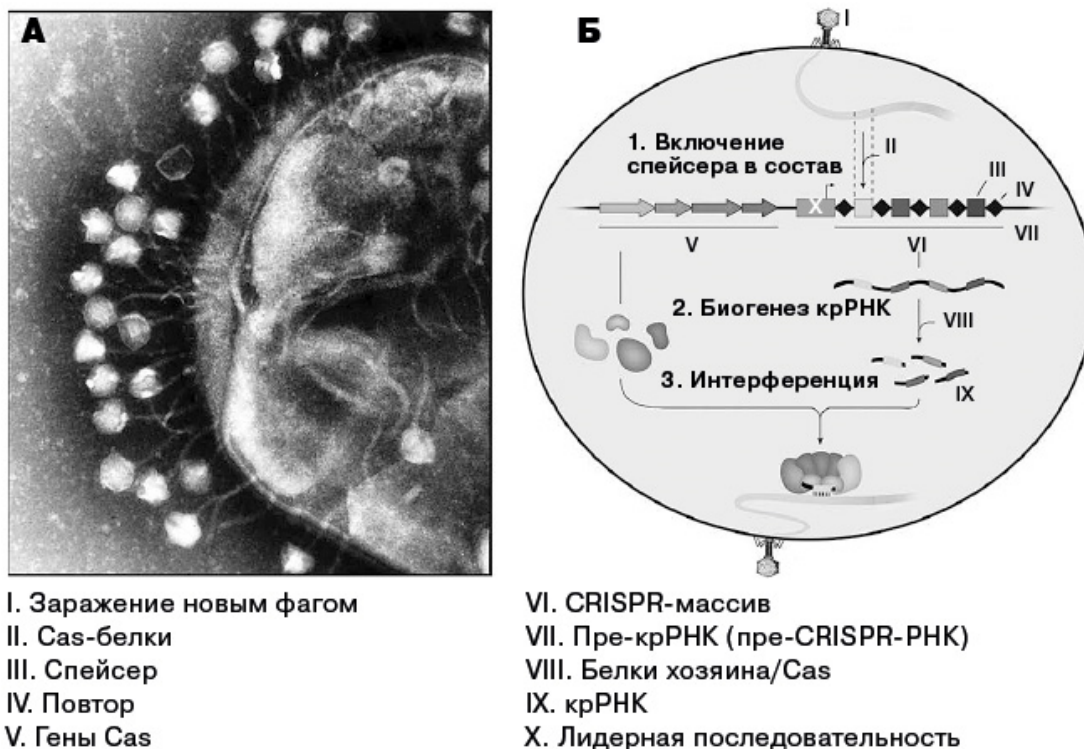
CRISPR – это больше, чем просто хранилище вирусных злодеяний. Совсем рядом находится арсенал мощной системы противоракетной обороны «земля – воздух». Когда клетка обнаруживает вторгшийся вирус, первым делом активируется система CRISPR, производящая копии РНК заархивированных вирусных последовательностей. Эта цепочка РНК затем разрезается на отдельные фрагменты, каждый из которых соответствует тому или иному вирусу и служит в качестве наброска внешности возможного преступника, сделанного полицейским художником. Сама по себе РНК не может причинить никакого вреда, поэтому она превращается в оружие путем связывания с ферментом, расщепляющим ДНК, называемым Cas (от англ. *CRISPR-associated sequence* – «последовательность, связанная с CRISPR»), образуя рибонуклеопротеиновый комплекс, оснащенный сигналом GPS и готовый к бою.

В микроскопической вселенной существует полдюжины разновидностей или типов систем CRISPR, которые делятся на два класса в зависимости от их строения и свойств⁶⁸. Одна из простейших структур – тип II – содержит фермент Cas9. Эта нуклеаза, подобно кусачкам для проводов, добивается полноценного разрыва обеих цепей ДНК, но делает это избирательно. Она захватывает крРНК и держит ее как фотоснимок преступника – и ищет совпадения в вирусной ДНК. При обнаружении необходимого участка Cas9 и крРНК «защелкиваются» на ДНК и разрезают ее, нейтрализуя угрозу. «Cas9 поистине творит чудеса, – объясняет Урнов. – Когда она охраняет внутриклеточное пространство от вторжений, она буквально носит с собой копию объявления о разыскиваемом преступнике, спрашивая каждого:

⁶⁷ S. Wiles, "Monday micro-200 million light years of viruses?!", Infectious Thoughts August 5, 2014, <https://sciblogs.co.nz/infectious-thoughts/2014/08/05/monday-micro-200-million-light-years-of-viruses/>.

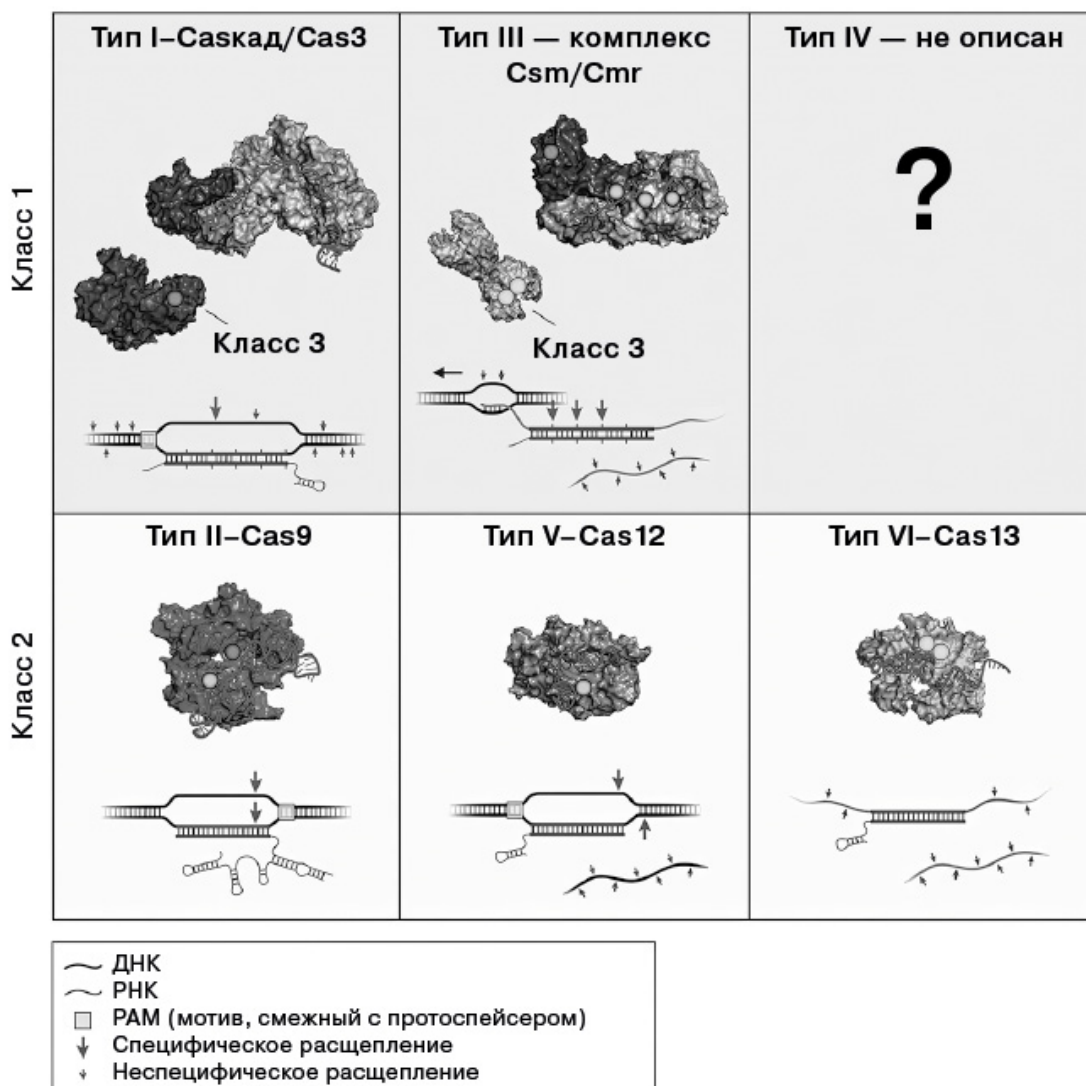
⁶⁸ S. Klompe and S. H. Sternberg, "Harnessing A Billion Years of Experimentation: The Ongoing Exploration and Exploitation of CRISPR-Cas Immune Systems," *The CRISPR Journal* 1, (2018): 141–158.

"Извините, ведь вы – точная копия разыскиваемого преступника, не правда ли? Тогда я вас порежу"»⁶⁹.



Фаги и каскад реакций CRISPR. (А) Замечен в момент совершения преступления: фаги садятся на поверхность клетки *E. coli* (кишечной палочки), чтобы совершить нападение. (Б) CRISPR-Cas-иммунитет. 1. Бактерия захватывает фрагменты вирусной ДНК и включает эти фрагменты как спейсеры в расширяющийся блок последовательностей CRISPR. 2. Для борьбы с фаговой инфекцией массив CRISPR транскрибируется в РНК, которая называется (пре-крРНК), а затем преобразуется в зрелые крРНК. 3. На стадии противодействия крРНК и Cas белок(и) образуют комплекс, который разрушает распознанные фаговые последовательности. Некоторые системы CRISPR (класс 1) содержат несколько белков Cas (как показано на рисунке), в то время как более простой системе класса 2 требуется одна нуклеаза – Cas9 (по материалам пункта 15 примечаний)

⁶⁹ Fyodor Urnov in Human Nature (2019), <https://wondercollaborative.org/human-nature-documentary-film/>.



Описанные системы CRISPR. Существует несколько разновидностей систем CRISPR, которые делятся на два класса – класс 1 и класс 2. В классе 1 расщепление ДНК осуществляется комплексом белков, иногда называемых каскадом от слова Cas. В классе 2 системы CRISPR содержат одну нуклеазу Cas, такую как Cas9, Cas12 или Cas13. (Подробнее см. пункт 15 примечаний.)

Марраффини показывает, как две бактериальные системы защиты дополняют друг друга. Рестриктазы создают первый барьер защиты от вирусной угрозы, дробя вирусную ДНК на части, которые могут быть включены в массив CRISPR. Однако, если фаги, когда-либо эволюционировавшие, уклоняются от первой линии защиты, срабатывает иммунизация CRISPR. «Это аналогично вакцинации, – говорит Марраффини. – Когда ДНК фагов мертва, CRISPR может собрать спейсеры для формирования иммунитета у бактерии». Лишь немногие инфицированные вирусом бактерии действительно приобретают спейсеры – примерно 1 на 1 млн, но это дает одной клетке возможность устранить вирусную угрозу и восстановить популяцию⁷⁰.

В документальном фильме Адама Болта «Природа человека» (Human Nature, 2019) мы знакомимся с Дэвидом Санчесом, очаровательным мальчиком, страдающим от серповидно-

⁷⁰ В 2020 г. группа Ротема Сорека из Научного института Вейцмана в Израиле сообщила о новой дополнительной бактериальной антифаговой системе защиты, называемой ретронами.

клеточной анемии. Узнав о возможностях CRISPR в лечении его болезни, он проникательно спрашивает: «Как эта штука работает и откуда она знает, как воздействовать на нужный ген, а не на тот, что отвечает за рост волос?»

Гениальность революции CRISPR заключалась в том, чтобы привязать Cas9 не к вирусной РНК, как в природе, а к синтетически разработанной РНК, запрограммированной исследователями, которая позволяет им воздействовать практически на любую последовательность ДНК любого гена любого организма. В результате у нас в руках оказался бактериальный фермент, существующий миллиард лет, и мы перепрофилировали его в молекулярный скальпель точной геномной хирургии XXI в. Независимо от того, чей геном мы хотим отредактировать: хомяка или человека, комара или мыши, красной смородины или красного дерева, – процесс остается по сути одним и тем же. Это связано с тем, что все организмы в природе используют один и тот же универсальный код ДНК, состоящий из одного и того же четырехбуквенного алфавита.

В своем естественном состоянии Cas9 не интересуется ДНК, в основном случайно сталкиваясь и отскакивая от нее. Но как только Cas9, имеющая форму ладони, захватывает направляющую РНК, точная реконфигурация структуры белка заставляет ее взаимодействовать с ДНК в поисках подходящей мишени. По словам Блейка Виденхейфта, профессора Университета штата Монтана, белковые комплексы Cas «патрулируют все внутриклеточное пространство, находят чужеродную [вирусную] ДНК, связываются с ней и приговаривают ее к уничтожению в считанные минуты... это довольно впечатляющий процесс»⁷¹.

Поиск и связывание с целевой последовательностью происходят в два этапа. Прежде всего Cas9 ищет короткий мотив ДНК, называемый последовательностью РАМ⁷², – маяк, который дает ферменту сигнал для кратковременного связывания с ДНК, и взаимодействует с ним. «Это мимолетное взаимодействие приводит к искривлению ДНК», – объясняет Виденхейфт. Изгибая ДНК, Cas9 расцепляет нити двойной спирали, чтобы направляющая РНК могла проскользнуть в образовавшуюся щель (создавая так называемую R-петлю)⁷³. Направляющая РНК быстро сверяет последовательность с текстом целевой ДНК. Если будет найдено идеальное совпадение среди всех двадцати оснований (букв текста), то ДНК-последовательность будет уничтожена. Cas9 рассекает⁷⁴ обе нити ДНК так же ровно, как кухонный нож, создавая двухцепочечный разрыв (DSB, double-strand break) всего в нескольких основаниях от последовательности РАМ⁷⁵.

Этот удивительный процесс был потрясающе снят на видео исследователями Токийского университета Хироси Нисимасу и Осаму Нуреки в 2017 г. Используя метод, называемый высокоскоростной атомно-силовой микроскопией, они смогли увеличить изображение в тот самый момент, когда Cas9 захватывала молекулу ДНК. В фильме Cas9 выглядит как позолоченный камень, когда она останавливается на несколько секунд на нити ДНК, прежде чем разрубить ее пополам⁷⁶. После того как Нисимасу выложил это видео в своем аккаунте Twitter, оно стало вирусным и было показано по японскому телевидению.

⁷¹ CSHL Leading Strand, "CSHL Keynote, Dr Blake Wiedenheft, Montana State University," YouTube video, 21:21, last viewed June 26, 2020, https://www.youtube.com/watch?v=2x5VoReHV_4&t=.

⁷² Аббревиатура РАМ расшифровывается как «мотив, смежный с протоспейсером» (от англ. Protospacer Adjacent Motif). Различные ферменты Cas распознают разные РАМ, от трех до шести оснований. Наиболее часто используемая Cas9 из *Streptococcus pyogenes* распознает триплетную последовательность NGG, где N может быть любым из четырех оснований.

⁷³ F. Jiang and J. A. Doudna, "CRISPR-Cas9 Structures and Mechanisms," *Annual Review of Biophysics* 46, (2017): 505–529, <https://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev-biophys-062215-010822>.

⁷⁴ Cas9 фактически имеет два активных сайта, обеспечивающих два отдельных процесса расщепления – по одному для каждой цепи двойной спирали.

⁷⁵ HHMI BioInteractive, "CRISPR-Cas9 Mechanism & Applications," <https://www.biointeractive.org/classroom-resources/crispr-cas-9-mechanism-applications>.

⁷⁶ M. Shibata et al., "Real-space and real-time dynamics of CRISPR-Cas9 visualized by highspeed atomic force microscopy,"

Однако сориентировать Cas9, чтобы она искала конкретную уникальную последовательность в геноме человека, – это в миллионы раз сложнее, чем разрезать вирусную ДНК. Когда комплекс Cas9 входит в чужеродное пространство клеточного ядра, она сталкивается с лабиринтом ДНК – двадцатью тремя парами хромосом, шестью миллиардами букв ДНК (сравним со стандартным геномом фага, состоящим всего из нескольких тысяч оснований). Попадая в ядро, каждая молекула Cas9 обыскивает плотно упакованные спирали ДНК, чтобы найти последовательности PAM, которые встречаются в среднем один раз за каждый полный оборот двойной спирали на 360 градусов, то есть на 10 нуклеотидов. В целом фермент должен «опросить» 300–400 млн оснований, чтобы определить точную мишень для направляющей РНК, которая сама состоит почти из 20 нуклеотидов.

Йохан Эльф, биофизик из Уппсальского университета в Швеции, подсчитал, что Cas9 обычно требуется около шести часов для обнаружения каждой последовательности PAM в бактериальном геноме с остановками на двадцать миллисекунд на каждом предполагаемом участке, чтобы заглянуть в двойную спираль и проверить, действительно ли он нашел правильную мишень⁷⁷. Но упаковка ДНК в ядре эукариотической клетки намного сложнее, чем у бактерий. Во время лекций, проводимых для студентов в Эдинбургском университете, Эндрю Вуд показывает схему строения бактериальной клетки рядом с извилистым петляющим волокном ДНК млекопитающих. «Cas9 не создана для того, чтобы работать в той среде, в которую мы сейчас ее поместили, – говорит он. – Поразительно, что она способна рассмотреть сотни миллионов нуклеотидов за считанные часы»⁷⁸.

После того как Cas9 разрезал ДНК, репаративные ферменты ДНК клетки «зашивают» разрыв. Эксперты удивляются тому, как успешно это работает⁷⁹. Cas9 превосходит даже ранее разработанные технологии редактирования генов ZFN и TALEN⁸⁰. «Они были созданы, чтобы работать с эукариотической ДНК, но тем не менее, по всей видимости, Cas9 превосходит их», – говорит Вуд.

Давайте сделаем паузу и отметим решающую роль, которую играет в этом процессе последовательность PAM: поиск коротких фрагментов PAM вместо распаковки и проверки практически всего генома значительно упрощает задачу для Cas9 по фиксации целевой последовательности. Наличие PAM также объясняет то, что Cas9 не разрезает случайным образом повторы в последовательности CRISPR бактериальной ДНК. Это связано с тем, что, когда последовательности ДНК изначально добавляются к участку CRISPR в геноме бактерий, последовательности PAM отсекаются. Генные инженеры не хотят ограничиваться природным набором последовательностей PAM, поэтому модифицируют исходные ферменты Cas9 и Cas других видов бактерий, чтобы расширить их предпочтения в распознавании короткой последовательности PAM.

Если у бактерий настолько эффективна система безопасности, было бы резонно задаться вопросом: почему вирусы не вымерли? Вирусы незаметно развили множество обходных механизмов – группу белков, которые способны нейтрализовать нуклеазы Cas, известные как белки анти-CRISPR. Вирусы и бактерии подобны хищникам и их жертвам, вовлеченным в бесконечную борьбу, которая продолжается сотни миллионов лет⁸¹. CRISPR обнаружен в 46 % бакте-

Nature Communications 8, (2017): 1430, <https://www.nature.com/articles/s41467-017-01466-8>.

⁷⁷ D. Lawson Jones et al., "Kinetics of dCas9 target search in *Escherichia coli*," *Science* 357, (2017): 1420–1424, <https://science.sciencemag.org/content/357/6358/1420>.

⁷⁸ Andrew Wood, phone interview, August 28, 2019.

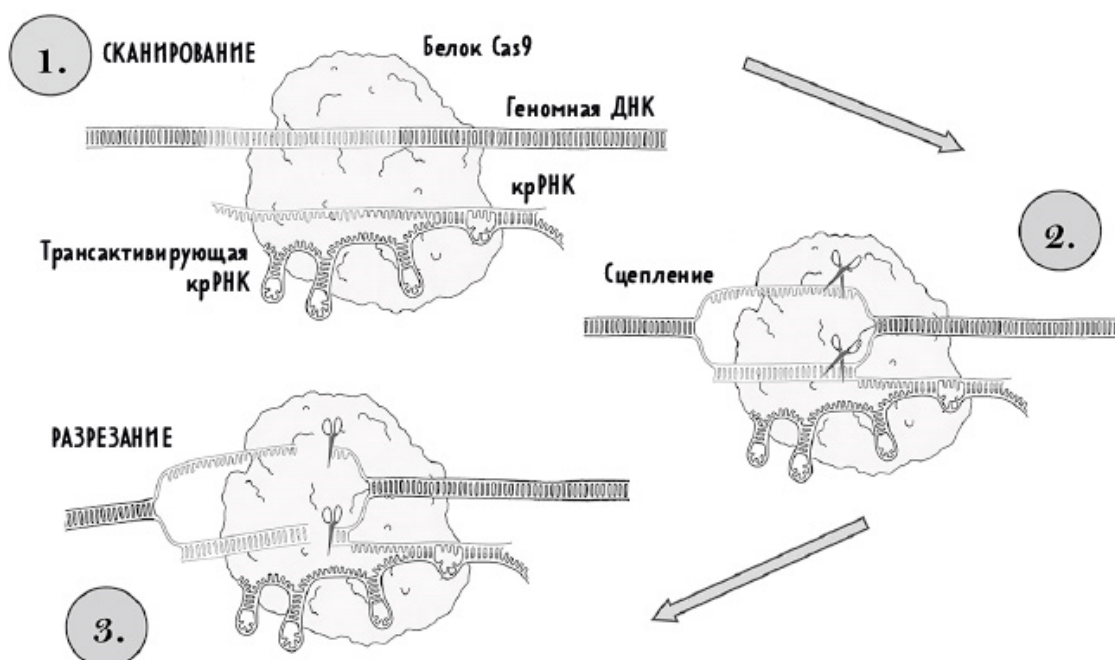
⁷⁹ Rodolphe Barrangou, "CRISPR-Cas: From Bacterial Adaptive Immunity to a Genome Editing Revolution," *XBio*, September 2019, <https://explorebiology.org/summary/genetics/crispr-cas:-from-bacterial-adaptive-immunity-to-a-genome-editing-revolution>

⁸⁰ ZNF (zinc finger nuclease) – цинк-пальцевая нуклеаза; TALEN (transcription activator-like effector nuclease) – эффекторная нуклеаза, подобная активатору транскрипции (см. главу 8).

⁸¹ S. Hwang and K. L. Maxwell, "Meet the Anti-CRISPRs: Widespread Protein Inhibitors of CRISPR-Cas Systems," *The CRISPR*

риальных геномов и почти во всех геномах архей, но, что удивительно, совсем не встречается в геномах высших организмов. Хотя на сегодняшний день Cas9 чаще всего используется совместно с CRISPR, являясь предметом ожесточенных патентных споров, о которых я расскажу позже, этот фермент представляет собой лишь каплю в море разнообразных систем CRISPR, встречающихся в природе. Ученые прикладывают массу усилий, чтобы изучить биологическое разнообразие на Земле, открыть новые белки семейства Cas с новыми функциями и расширить набор инструментов CRISPR⁸².

После того как исследователь определил последовательность гена, на которую он хочет воздействовать, он может перейти на любое количество веб-сайтов, ввести желаемый генетический текст и заказать индивидуально подобранную короткую последовательность направляющей РНК. Если CRISPR – это молекулярная система работы с текстами, то направляющая РНК действует как функция CTRL + F, выявляющая интересующие последовательности генов. Работа Cas9 подобна нажатию клавиш CTRL + X. Однако редактирование генома – это не просто наведение курсора для выделения и удаления опечатки. Речь идет о том, чтобы решить, что будет дальше и как этим управлять, как исправить опечатку.



Разрезание ДНК при помощи CRISPR. 1. Сканирование: нуклеаза Cas9 связывается с направляющей РНК, образуя рибонуклеопротеидный комплекс. Направляющая состоит из крРНК и трансактивирующей крРНК. Комплекс Cas9 сканирует ДНК в поисках последовательности PAM, которая служит первичным сигналом для проверки совпадения последовательностей. 2. Сцепление: Cas9 связывается с ДНК и расщепляет двойную спираль, позволяя крРНК комплементарно (взаимодополняюще) присоединиться к одной нити ДНК. 3. Разрезание: если ДНК и РНК полностью совпадают, Cas9 претерпевает конформационное изменение, в результате чего обе нити ДНК разрезаются в одном и том же месте. (По материалам пункта 23 примечаний.)

Клетки обладают множеством молекулярных механизмов восстановления разрывов и других мутаций в ДНК. Если бы их не было, нас бы не было в живых. Два наиболее извест-

Journal 2, (2019): 23–30, <https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/crispr.2018.0052>.

⁸² M. Adli, "The CRISPR tool kit for genome editing and beyond." *Nature Communications* 9, (2018): 1911, <https://www.nature.com/articles/s41467-018-04252-2>.

ных механизма называются негомологичным соединением концов (NHEJ) и гомологически направленной репарацией (HDR). NHEJ небрежно сшивает вместе разорванные концы ДНК, что часто приводит к небольшим вставкам или делециям генетического текста в месте восстановления. Это идеально подходит для исследователей, использующих CRISPR для преднамеренного нарушения функции гена путем его нарушения с помощью добавления случайных вставок и делеций. Другой механизм, HDR, при наличии подходящей матрицы производит надежное восстановление. В нормальных условиях матрицей является соответствующий ген на сестринской хромосоме. Прелесть редактирования генома при помощи CRISPR заключается в том, что исследователь может предоставить подходящую матрицу, содержащую желаемую последовательность для восстановления разрыва, вызванного Cas9, что приводит к нужному изменению в определенном месте молекулы ДНК^{83,84}.

В январе 2020 г. около пятисот ученых собрались в Банфе, горнолыжном курорте на юге канадских Скалистых гор, чтобы провести первую большую конференцию года, посвященную CRISPR. (Она также оказалась и последней, поскольку пандемия COVID-19 лишила желающих возможности ездить на подобные мероприятия.) Организаторы пригласили Дудну выступить с речью на открытии, состоявшемся воскресным утром, — к этой роли она уже привыкла. Она начала с искренних извинений за то, что не сможет остаться и пообщаться с участниками в течение следующих нескольких дней, поскольку ей было необходимо вернуться в Беркли, чтобы в понедельник утром прочитать лекцию для шестисот студентов.

Лекция Дудны, прочитанная с той же скромностью и почтением перед наукой, что были ей свойственны в начале карьеры более трех десятилетий назад, служила биотехнологическим эквивалентом обращения президента США к конгрессу о положении в стране. Основная мысль ее вступительной речи — дани уважения не только ее собственной работе, но и труду множества исследователей за предыдущую четверть века — была простой:

«Прецизионное редактирование генома осуществимо»⁸⁵.

⁸³ Это никогда не станет популярным, но Патрик Харрисон, генетик из Тринити-колледжа в Дублине, предложил по-другому расшифровать CRISPR — как мнемонический код, объясняющий процесс редактирования/восстановления: Cut-Resect-Invasi-Synthesis-Proofread-Repair (Разрез-удаление-вставка-синтез-проверка-восстановление). На передаче Last week Tonight комик Джон Оливер предложил свое собственное, более дерзкое определение: Crunchy-Rectums-In-Sassy-Pink-Ray-Bans (Хрустящая-прямая кишка-в-стильных-розовых-солнцезащитных-очках).

⁸⁴ P. T. Harrison and S. Hart, "A beginner's guide to gene editing," *Experimental Physiology* 103, (2018): 439–448, <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/EP086047>.

⁸⁵ Jennifer Doudna, Keystone Symposium, Banff, Canada, February 9, 2020.

Глава 3

Мы можем быть героями

У великих моментов в истории науки и технологий может быть самая неожиданная завязка. В 1966 г. Playtex, компания, создавшая культовый бюстгальтер Cross Your Heart, приняла участие в конкурсе NASA по разработке скафандра для первой высадки «Аполлона» на Луну. Костюмы должны были выдерживать давление и резкие перепады температур. Кроме того, они должны были обладать гибкостью – свойством, которое Playtex продемонстрировала, засняв, как один из технических специалистов компании часами играет в американский футбол в скафандре. В результате четыре швеи Playtex сшили двадцатислойный скафандр A7L, в котором Нил Армстронг прошелся по лунному подиуму⁸⁶.

Перенесемся от Моря Спокойствия на Луне к солончакам Санта-Полы у Средиземного моря. Я нахожусь в Аликанте, популярном туристическом курорте на побережье Коста-Бланка на юго-востоке Испании. Вряд ли можно сказать, что здесь самая экстремальная среда обитания на Земле. Однако, проехав примерно двадцать километров на юг, вы доберетесь до Салинас-де-Санта-Пола. Соляные озера, или солончаки, как следует из названия, представляют собой сеть прямоугольных лагун с экстремально высокой концентрацией соли, получившейся в результате сильного воздействия солнца и ветра. По периметру, где вода встречается с сушей, соль кристаллизуется, образуя твердую белую полосу, похожую на идеальный край бокала с коктейлем «Маргарита».

Это место имеет экологическое, историческое и коммерческое значение. Здесь живут фламинго и другие виды животных. Сторожевая башня, построенная в XVI в., служила подданным короля Филиппе II: отсюда они вели наблюдение за маврами. Это место похоже на заповедник, но на самом деле – это промышленная соляная шахта. В каждом озере размером с футбольное поле постоянно концентрируется соль. Сегодня Bras del Port добывает ежедневно из Средиземного моря в среднем около 4000 тонн соли. Горы соли готовы для отправки: около 60 % пойдет на очистку воды, остальное – в пищу.

Для Франсиско Мохики, микробиолога из Университета Аликанте, изучение галофильных организмов, которые процветают в этой своеобразной среде обитания, составляет особую страсть. Там, где он когда-то трудился в неизвестности, сегодня изо всех сил стараются избежать внимания СМИ. В 2017 г. ведущая испанская газета *El País* высказала предположение, что однажды Мохики переберется из солончаков в нобелевские спа-курорты.

Мохики любезно согласился довезти меня на своем неброском Volkswagen Passat до Салинас. Этот путь он проделывает довольно часто, обычно в компании фотографов или съемочных групп, которые просят его изобразить, как он осматривает чистые розовые воды или смотрит сквозь стеклянную емкость с соленой водой на солнце, как в первый раз, будто любуясь бокалом риохи. По счастливому стечению обстоятельств Мохики никогда не собирал образцы для своих собственных исследований, поскольку во времена, когда он был молодым аспирантом, в лаборатории уже имелась груда материалов, собранных его руководителем за предыдущие десять лет.

Впервые Мохики попал на солончаки после того, как закончил военную службу в 1989 г. Он искал работу в качестве научного сотрудника, и вскоре ему предложили должность на кафедре микробиологии местного университета в лаборатории, изучающей микроорганизм под названием «галоферакс». «Меня не особенно интересовали эти организмы. Мой руково-

⁸⁶ Fyodor Urnov, "Genome Engineering," Keystone Symposium, Victoria Island, Canada, February 21, 2019.

дитель сам решил вопрос с моей диссертацией», – сообщил он, пока мы гуляли по соляным озерам⁸⁷.

Галоферакс – это не бактерией (хотя раньше его ошибочно называли *Halobacterium*), но принадлежит к особой группе одноклеточных организмов – археям. Невооруженным глазом эти два таксона трудно отличить друг от друга. Но это не согласуется с эволюционной пропастью продолжительностью около трех миллиардов лет. Признание того, что археи – это не просто ответвление от прокариот, но совершенно отдельный «третий домен» живых существ, является результатом плодотворной работы биолога-эволюциониста Карла Вёзе. Секвенирование ДНК выявило поразительные генетические различия между археями и бактериями, подобно тому как операционная система Windows отличается от macOS. Об этом удачно сказал Эд Йонг: «Это все равно, что мы смотрим на карту мира, а Вёзе вежливо объясняет, что треть ее еще не развернули»⁸⁸.

Вода выглядит розовой, а соленые корки лагун усыпаны розовато-красными полосами, где кишит микроскопическая жизнь. Красноватый оттенок связан с выработкой каротиноидов – это часть механизма защиты микробов от соли и солнечного света. «Как будто солнцезащитный крем», – смеется Мохика. Цвет меняется в зависимости от степени солености: красный становится розовым при повышении концентрации соли от 10 до 30 %. Те же химические соединения придают оперению фламинго их фирменный розовый оттенок, поскольку они питаются крошечными солоноводными креветками, которые, как и *Haloferax*, обитают в этих соленых водах в огромном количестве.

Любящие соль археи Аликанте по определению являются экстремофилами – формами жизни, приспособленными для жизни в необычайно суровых условиях, будь то подводные вулканические источники, выжженные пустыни или замерзшая тундра. Для галоферакса концентрации соли в обычной морской воде просто недостаточно. Чтобы жить и развиваться, ему требуется соли в десять раз больше. Воспроизвести подобные условия в лаборатории чрезвычайно трудно, поэтому эти организмы остаются малоизученными по сравнению со своими дальними бактериальными родственниками. Два основных вида галоферакса – это *H. mediterranei* и *H. volcanii* (вторые названы так не потому, что они перепутали соляное озеро с кратером вулкана, а в честь открывшего их израильского ученого Бенджамина Вулкани). Я также чувствую присутствие анаэробных бактерий, благодаря сильному сернистому запаху, распространяющемуся над водой.

Одержимость Мохики солелюбивыми микроорганизмами Санта-Полы привела к впечатляющим результатам в его фундаментальных исследованиях. «Это получение знаний через познание, чтобы расширить знания», – говорит он⁸⁹. По мнению Мохики, ключ к загадке любви галофераксов к соли должен заключаться в их кольцевой молекуле ДНК. Это стало ясно не сразу: первая полная последовательность генома микроорганизма была получена только в 1995 г. группой Клэр Фрейзер и Крейга Вентера, которые также первыми расшифровали полный геном архей двумя годами позже. Лаборатория Мохики не была богатым центром геномных исследований с новейшим оборудованием для секвенирования ДНК. В начале 1990-х для многих ученых секвенирование оставалось обременительным ручным процессом, включавшим в себя заливку большого пласта геля между двумя стеклянными пластинами и последующее разделение радиоактивных фрагментов ДНК по размеру с помощью электрического тока. По полученному изображению лэддера (от англ. *ladder* – «лестница») на чувствительной рентгеновской пленке Мохика мог «читать» последовательность ДНК.

⁸⁷ Francisco Mojica, interview, Santa Pola, Spain, May 1, 2018.

⁸⁸ Ed Yong, "The Unique Merger That Made You (and Ewe, and Yew)," Nautilus, February 6, 2014, <http://nautil.us/issue/10/mergers-acquisitions/the-unique-merger-that-made-you-and-ewe-and-yew>.

⁸⁹ Manuel Ansedé, "Francis Mojica, de las salinas a la quiniela del Nobel," El País, May 18, 2017, https://elpais.com/elpais/2017/05/18/eps/1495058731_149505.html.

Во время одной из своих первых попыток секвенирования в августе 1992 г. Мохика увидел нечто настолько удивительное, что решил, что все сделал неправильно. Он получил странные повторяющиеся последовательности, каждую длиной около 30 оснований, что он, как и положено, указал в своей первой статье⁹⁰. «Нам просто повезло, – заметил он после секвенирования менее 1 % генома галоферакса. – Это была первая статья, где к CRISPR отнеслись серьезно»⁹¹. Мохика также обнаружил, что эти повторы, к удивлению, транскрибируются в РНК, что позволяет предположить наличие у них какой-то функции.

«Когда вы видите что-то необычное, у вас нет другого выхода, кроме как исследовать это. Я подумал, что над этим хорошо было бы продолжить работу», – говорит он, пока мы продолжаем прогулку по солончакам. Он догадывался, что загадочные повторы могут быть как-то связаны с адаптацией к концентрации соли, возможно за счет изменения их конфигурации, а следовательно, активности генов, при регистрации колебаний осмотического давления клетки. «В то время суперспирализация [ДНК] была ответом на все вопросы, связанные с регуляцией экспрессии генов!» Это была хорошая гипотеза, но неверная⁹².

Работая в университетской библиотеке в неурочное время, Мохика в конце концов обнаружил статью японских ученых за 1987 г. В ней Ацуо Наката и Йосизуми Исино⁹³ из Университета Осаки описали аналогичный повторяющийся мотив в геноме *E. coli*. Секвенируя исследуемый ген, японская группа заметила необычную соседнюю последовательность с характерными повторами, похожими на круги на полях, вырезанные на поверхности ДНК. Этот участок состоял из серии (кластера) коротких повторов палиндромной последовательности (читающихся одинаково в прямом и обратном направлении). Повторы, состоящие из двадцати девяти букв, были отделены друг от друга отрезком уникальной последовательности из тридцати двух оснований (спейсерами). Однако, поскольку никто до этого не видел ничего подобного и ничто не говорило об их биологической функции, исследователи не придали этому значения. Команда, как положено, описала и опубликовала свои наблюдения, которые в то время не привлекли к себе внимания⁹⁴.

Два года спустя⁹⁵ Мохика описал короткую последовательность, повторяющуюся сотни раз в tandemном повторе, охватывающем более 1000 оснований. Между каждой парой таких повторов была уникальная последовательность ДНК с неизвестной функцией. Руководитель Мохики предложил назвать эти повторы, которые также наблюдались у другого экстремофила – архей, любящих вулканы, TREP (от англ. *tandem repeats* – «тандемные повторы»). Несомненно, должна быть причина, по которой до 2 % драгоценной, компактной ДНК прокариот выделено под эти странные повторы. «Микроорганизмы не могут позволить себе такую роскошь, – думал Мохика. – Они должны выполнять важную функцию»⁹⁶.

⁹⁰ F. J. M. Mojica et al., Transcription at different salinities of *Haloferax mediterranei* sequences adjacent to partially modified PstI sites. *Molecular Microbiology* 9, (1993): 613–621.

⁹¹ Термин CRISPR был введен только в 2001 г. Хотя истинного значения открытия Мохики, сделанного в 1993 г., в то время еще не понимали, через 25 лет эта дата будет увековечена на киноэкранах IMAX по всему миру в качестве вступительных титров фильма «Рэмпейдж».

⁹² Повторы CRISPR не имеют ничего общего с адаптацией к солености. «Это все еще загадка!» – говорит Мохика. Пока он не получил финансирования для дальнейшего изучения вопроса.

⁹³ Йосизуми Исино – профессор Университета Кюсю. Он изучает репарацию ДНК у термофильных архей и ищет новые CRISPR.

⁹⁴ Y. Ishino et al., "Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product," *Journal of Bacteriology* 169, (1987): 5429–5433, <https://jb.asm.org/content/jb/169/12/5429.full.pdf>.

⁹⁵ F. J. M. Mojica et al., "Long stretches of short tandem repeats are present in the largest replicons of the Archaea *Haloferax mediterranei* and *Haloferax volcanii* and could be involved in replicon partitioning," *Molecular Microbiology* 17, (1995): 85–93, DOI: 10.1111/j.1365-2958.1995.mmi_17010085.x.

⁹⁶ Clara Rodríguez Fernández, "Interview with Francis Mojica, the Spanish scientist that [sic] discovered CRISPR," Labiotech, November 13, 2017, <https://labiotech.eu/francis-mojica-crispr-interview/>.

Другие ученые тоже сталкивались с такими повторами. Немецкий микробиолог Бернд Мазеполь ломал голову над фрагментом ДНК с тринадцатью повторами, найденным в цианобактериях, который он назвал LTRR, что означает «длинное тандемно повторяющееся повторение» (от англ. *long tandemly repeated repetitive*). Однако, сосредоточившись на этих участках ДНК, Мазеполь не обратил внимания на уникальные последовательности, расположенные между ними⁹⁷. Другая команда также была близка к разгадке тайны повторов ДНК. В 2002 г. Евгений Кунин, российский специалист по вычислительной биологии из Национального центра биотехнологической информации при Национальном институте здравоохранения США, и его коллега Кира Макарова описали серию бактериальных генов, которые, как они подозревали, входят в систему репарации ДНК⁹⁸. Вот только они не понимали, что эти гены располагались рядом с участком CRISPR и, как мы вскоре увидим, играли важную роль в работе CRISPR и в редактировании генов.

После нескольких лет работы в Оксфордском университете Мохика вернулся в Аликанте в 1997 г., чтобы собрать собственную научную группу. Получив небольшое финансирование, Мохика попытался провести несколько недорогих экспериментов, «хотя и понятия не имел о биоинформатике». Вопрос, который не давал покоя, касался происхождения спейсерной ДНК – последовательностей, вкрапленных между повторами. «Искать по базам данных и ждать, когда хоть что-нибудь найдется, несложно, но мы ничего не получали – до 2003 г.». К тому времени базы данных последовательностей ДНК были переполнены геномами бактерий и архей, многие из которых содержали версии этих повторов.

В 2000 г. Мохика переименовал объект своей одержимости в SRSR (от англ. *short regularly spaced repeats* – «короткие регулярно расположенные повторы»). Это название существовало недолго. Позже он обменялся электронными письмами с Руудом Янсенем из Нидерландов, который изучал семейство генов, примыкающих к загадочным повторам. Янсен чувствовал необходимость обозначить открытие как-то иначе, поэтому Мохика предложил CRISPR. 21 ноября 2001 г. Янсен ответил ему, восторженно выразив свое одобрение:

Дорогой Франсис,
Какая замечательная аббревиатура – CRISPR! Я считаю, что каждая буква, которой не хватало в других версиях, делала их менее «хрустящими», поэтому я предпочитаю более энергичный CRISPR, а не SRSR и SPIDR⁹⁹.

У CRISPR наконец-то появилось название, как и у группы необычных генов, которые, казалось, были связаны с элементами CRISPR. Янсен разумно, хотя и без всякого воображения, назвал их Cas (от англ. *CRISPR-associated* – «связанные с CRISPR»). В то время Мохика был все еще сосредоточен на изучении любопытных спейсеров CRISPR.

В конце концов прорыв был совершен красивым вечером в августе 2003 г. Мохика проводил со своей женой отпуск недалеко от дома, около соляных озер. Из-за жары Мохика нашел повод вернуться в лабораторию, оборудованную кондиционером, где он мог провести еще несколько компьютерных поисков. Это было обычным делом, почти как в видеоигре: Мохика копировал последовательность одного из загадочных спейсеров и вводил ее в компьютерную программу BLAST, которая искала совпадения в огромной базе данных ДНК – GenBank. Мохика запускал этот поиск сотни раз, но безрезультатно. Коллеги говорили, что это пустая

⁹⁷ B. Masepohl et al., "Long tandemly repeated repetitive (LTRR) sequences in the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120," *Biochimica et Biophysica Acta* 1307, (1996): 26–30, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0167478196000401>.

⁹⁸ K. S. Makarova et al., "A DNA repair system specific for thermophilic Archaea and bacteria predicted by genomic context analysis," *Nucleic Acids Research* 30, (2002): 482–496, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99818/>.

⁹⁹ K. Davies and F. Mojica, "Crazy About CRISPR: An Interview with Francisco Mojica," *The CRISPR Journal* 1, (2018): 29–33, <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/crispr.2017.28999.int.12>.

трата времени. Но в тот день, к его удивлению, компьютер зафиксировал совпадение. Один конкретный спейсер из *E. coli* соответствовал участку вирусной ДНК под названием P1, который, что важно, инфицирует эту же бактерию. В течение последующих недель Мохика каталогизировал десятки других совпадений между спейсерами CRISPR и различными вирусами.

В октябре Мохика отправил самую важную статью в своей жизни в ведущий журнал – *Nature*. «Я помню, что заголовок звучал так: "Повторы прокариот участвуют в работе иммунной системы". Чтобы убедить редактора и рецензентов, мы написали, что открытие приобретенной иммунной системы прокариот будет иметь огромное значение для биологии и клинических наук. И каков был результат? Нашу работу даже не рассмотрели!»¹⁰⁰

Возможно, что-то неверно перевели, но редакторы журнала *Nature* не нашли эту идею концептуальным достижением, «представляющим достаточный общий интерес», которого заслуживают публикации на его престижных страницах. Мохика подал апелляцию, утверждая, что это первое описание бактериальной иммунной системы с функцией памяти. Сотрудники *Nature* указали, что они готовы пересмотреть свое решение, если им будет предоставлено описание механизма, лежащего в основе этого свойства иммунитета. Однако группа Мохики не смогла найти экспериментального подтверждения гипотезе. Все, что у них было, – это бесспорное доказательство в виде последовательностей. Одна из причин, как оказалось, заключается в том, что CRISPR не работала в наиболее популярном лабораторном материале, *E. coli*¹⁰¹. Как если бы у Мохики были уличающие вещественные доказательства, но не было видеозаписи с камер наблюдения.

Мохика зализал раны и подал статью на рассмотрение в другой журнал... и еще в другой. Три журнала, включая *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, отказались от CRISPR. Каждая задержка публикации увеличивала вероятность, что Мохику обойдут конкуренты. Наконец в октябре 2004 г. он отправил рукопись в малоизвестный журнал, специализирующийся на эволюции. Прошло целых полгода, прежде чем он получил одобрение от редактора. Три месяца спустя его статья была принята в печать. «Эти два года были для меня кошмаром, – рассказывает он. – Когда у вас в руках есть что-то настолько сенсационное и вы отправляете это в очень хорошие журналы – и все они решают, что это недостаточно интересно для публикации, – вы думаете, я что, сумасшедший? или здесь что-то не так?»¹⁰²

¹⁰⁰ Из того же источника.

¹⁰¹ Molly Campbell, "Francisco Mojica: The Modest Microbiologist Who Discovered and Named CRISPR," *Technology Networks*, October 14, 2019, <https://www.technologynetworks.com/genomics/articles/francis-mojica-the-modest-microbiologist-who-discovered-and-named-crispr-325093>.

¹⁰² K. Davies and F. Mojica, "Crazy About CRISPR: An Interview with Francisco Mojica," *The CRISPR Journal* 1, (2018): 29–33, <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/crispr.2017.28999.int>.

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.