

ゲノム編集酵素の機能モジュール データ基盤構築

官民研究開発投資拡大プログラム (PRISM)

「バイオ領域」

令和2年度成果

令和3年3月

農林水産省

課題と目標

- (課題) ・ 国内外でゲノム編集技術を活用した農林水産物の開発が進み、特に、米国ではゲノム編集ダイズ油が商品化される等、ゲノム編集技術を利用したバイオ産業の国際的な競争が進む中、国内企業が利用しやすいゲノム編集技術が強く求められている。
 - ・ 国内の民間企業等がゲノム編集技術を活用した農林水産物やバイオマテリアル、医薬品等を開発するうえで、**海外の基本特許に係る不透明な特許料や許諾条件が実用化への懸念**となっている。
- (目標) ・ PRISMを活用して、**海外の基本特許を回避し、国内企業等が利用しやすい新規のゲノム編集酵素の開発を目指す**。そのためには、ゲノム編集酵素を構成するパーツ(機能モジュール)の情報が必要である。まず、ゲノム編集酵素を構成する機能モジュールの構造や機能に関する情報をデータ基盤として整備する。**構造と機能を明らかにした機能モジュールを組み合わせて新規ゲノム編集酵素として開発**する。

「ゲノム編集酵素の機能モジュールデータ基盤構築」の概要

- **元施策** 「ゲノム編集技術を活用した農作物品種・育種素材の開発」では、従来育種が困難な作物に有用形質を付与し、農業の競争力強化や生産者の収益向上に資する農作物の育種素材をゲノム編集技術を用いて開発(農林水産省・R1-5年度;R2年度:152百万円)。
- **PRISMで実施する理由** **農林水産物の開発のみならず、ゲノム編集医療の開発等、他のバイオ産業にも貢献する新規ゲノム編集酵素を開発**するため、PRISMで実施する。
- **テーマの全体像** ・ ゲノム編集技術は、農業分野のみならず、バイオマテリアルや医薬品の開発、医療分野への利用等、その他のバイオ産業にも広範な応用可能性があるため国際的な技術開発競争が激化しており、海外の特許に匹敵する強い技術を創出することが必要。
 - ・ 特に、海外の基本特許を回避し、国内企業等が利用しやすい新規のゲノム編集酵素を開発するには、ゲノム編集酵素を構成する機能モジュールに関する情報が必要。

出口戦略

ゲノム編集技術を活用した**農林水産物品種開発**において、特許許諾に関するハードルが低下し、**社会実装の早期実現を加速化**。また、構築したデータ基盤を利用した**新規酵素技術の知財化**により、**農業分野のみならず、その他のバイオ産業にも幅広く貢献**。

民間研究開発投資誘発効果等

- 後年度の更なる民間投資誘発効果として、
 - ・ 民間種苗会社等における農作物開発が促進、品種開発力が強化され、主要品種の市場投入により、年間60億円程度の見込み。
 - ・ 医療分野においても大手企業では1社あたりイニシャルフィーだけで数百億円以上といわれるCRISPR/Cas9等の基本特許の実施許諾が回避出来るため、**少なくとも数百億円以上が期待**。
- 研究コンソーシアムに参画する民間企業から、令和2年度は約38百万円相当(人件費1.5百万円相当、及び試薬や施設準備・備品費用36.5百万円相当)の提供。

アドオン（農林水産省）：100,000千円
 元施策名：（ゲノム編集技術を活用した農作物品種・育種素材の開発）152,000千円

内容：ゲノム編集技術を用いて、従来育種技術では作出が困難な新たな有用形質を付与し、農業の競争力強化や生産者の収益向上に資する農作物の育種素材を開発。

- ①保存中に芽が出ず、加工に適したバレイショ (4倍体、栄養繁殖性)
- ②赤カビ抵抗性コムギ (6倍体)
- ③花持ちが良く省力栽培に適した花き (ゲノム編集前例なし)
- ④晩抽性大根 (難形質転換)

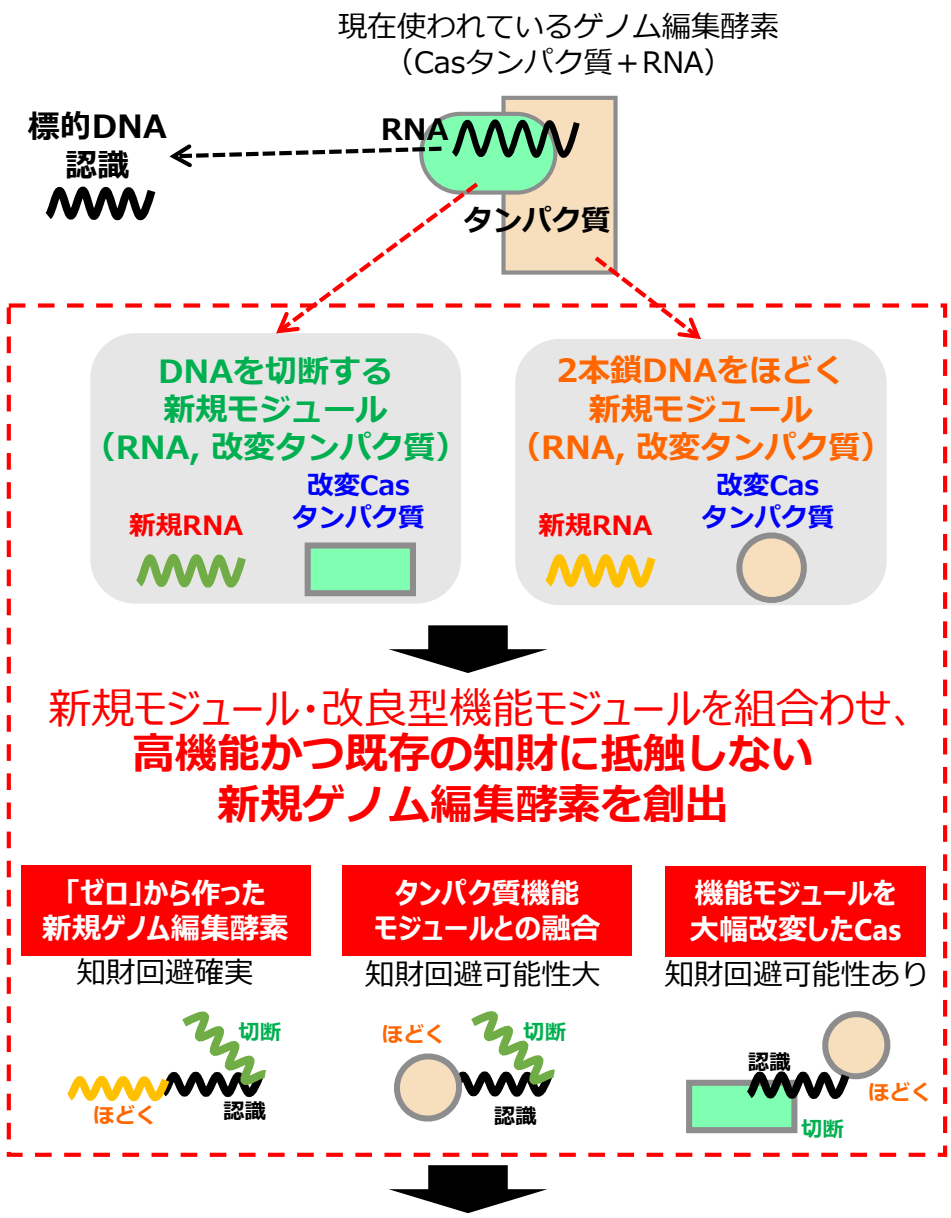
国内の民間企業等がゲノム編集技術を活用した農林水産物を開発するうえで、海外の基本特許に係る不透明な特許料や許諾条件が実用化への懸念となっているため、国内企業が利用しやすいゲノム編集技術の開発が重要。



【PRISM】

- ・ゲノム編集酵素を構成する機能モジュール（ゲノム編集酵素を構成するパーツ）の構造や機能に関する情報をデータ基盤として整備する。
- ・構造と機能を明らかにした機能モジュールを組み合わせて新規ゲノム編集酵素として開発する。

【開発のイメージ】



ゲノム編集農作物開発を加速化

資料3 「ゲノム編集酵素の機能モジュールデータ基盤構築」の目標達成状況

○施策全体の目標

(令和2年度目標) ゲノム編集酵素を構成する機能モジュールライブラリーに関するデータ基盤を作成する。

(最終目標) ゲノム編集酵素を構成する機能モジュールを組み合わせた新規ゲノム編集酵素のプロトタイプを作出する。

事業名等 (※個別に目標を設定している場合)	当年度目標	目標の達成状況
① ゲノム編集酵素タンパク質の立体構造解析	新規ゲノム編集酵素を開発するために必要な情報を得るため、既存特許の回避が可能なDNA切断酵素Cas12f、RNA編集酵素Cas13b、Cas12gの立体構造を機能単位毎に詳細に解析する。	当初目標である3種類のCasに加え、既存の基本特許を回避することが可能かつ小型でPAM配列が単純なDNA切断酵素Cas12cの立体構造を、クライオ電顕によって2.6-3.3 Å分解能で決定し、各酵素の機能モジュールに関する立体構造情報を獲得した。特に、立体構造解析の結果、Cas12fは、既知のCasと異なり二量体を形成して二本鎖DNAを切断するという、新しい切断機構を有していることが判明した。また、Cas12fは、従来のCasと比較して半分以下のサイズであることから、小型化が可能な有益な機能モジュールとなり得ると期待される。 成果をトップジャーナルであるMolecular Cell誌 (IF=15.6) に論文発表する等、目標以上の成果 が得られた。
② 機能モジュールの候補となるRNA情報の集積	ゲノム編集酵素に必要な機能モジュールの情報を蓄積するために、ランダムな配列をもつRNA分子のライブラリーを作製する。機能モジュール候補となるRNAを、作製したライブラリーからスクリーニングする。	ゲノム編集酵素に必要な、DNAを切断するための機能モジュール候補をライブラリーからスクリーニングする方法を決定。機能モジュールスクリーニングの材料となる、RNAライブラリーとDNA切断活性を欠損したCas9複合体を準備した。現在、購入したDNAのラベリングを徹底させる等、スクリーニング条件を綿密に検討しており、 2021年6月には既存の基本特許を確実に回避することが可能な全く新規のDNA切断モジュールのスクリーニングを開始できる見込み。
③ ゲノム編集酵素の植物への適用	ゲノム編集酵素の機能モジュールについて植物細胞内におけるDNA切断活性情報を蓄積するために、評価システムを構築する。また、①や②で扱うゲノム編集酵素やRNA分子の植物細胞内におけるDNA切断活性を調べる。	①, ②で扱うゲノム編集酵素やRNA分子について、植物培養細胞を用いた細胞内におけるDNA切断活性を評価するシステムを構築中。植物細胞内におけるCas12fのDNA切断活性を高感度で測定・評価するため、DNA切断頻度が相対的に高い遺伝子領域を選定した。これまでのところ、 植物細胞ではCas12fによる切断活性は確認できていない。

資料4 「ゲノム編集酵素の機能モジュールデータ基盤構築」の成果

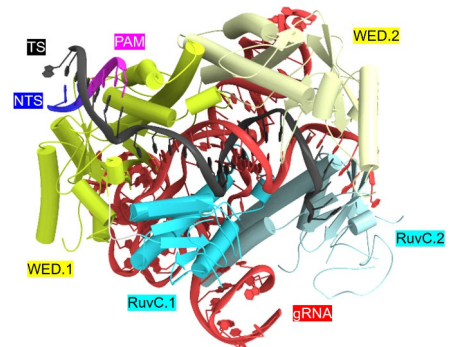
①ゲノム編集酵素タンパク質の立体構造解析

令和2年度の目標：3種類のCasタンパクの立体構造解析

成果：4種類のCasの立体構造を決定。その構造から、Cas12fが二量体で働き、既知のCasとは全く異なる機序でDNAを切断することを解明。→新しいゲノム編集酵素の開発に利用できる有用知見。

達成度：計画以上。DNA切断モジュールの作用機序に関する重要な知見を獲得。

令和3年度計画：Casや課題2で得られた機能モジュールの立体構造を解析し、その分子機能を解明。Cas12fのDNA切断活性を改良。



二量体でDNAを切断する小型のCas12fの立体構造

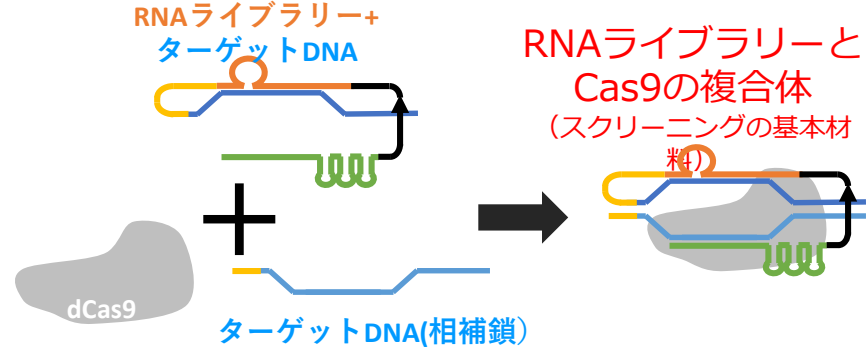
②機能モジュールの候補となるRNA情報の集積

令和2年度の目標：ゲノム編集酵素に必要な、DNAを切断するためのRNA機能モジュール候補のスクリーニング法の確立と実施。

成果：肝となるスクリーニング方法を決定。機能モジュールスクリーニングの材料の準備が完了し、現在スクリーニング条件を検討中。

達成度：購入したDNAのラベリング割合が低く、これを改善させる手立てを行っており、やや遅れている。2021年6月までに条件を決定し、既存の基本特許を確実に回避することが可能な全く新規のDNA切断モジュールのスクリーニングを開始できる見込み。

令和3年度計画：DNA切断モジュールや2本鎖DNAをほどくモジュールをスクリーニング。



機能モジュールスクリーニング実験の準備として、RNAライブラリーとDNA切断活性を欠損したCas9が複合体を形成し、機能することを確認。

③ゲノム編集酵素の植物への適用

令和2年度の目標：植物細胞におけるDNA切断活性を評価するシステムの構築。

成果：DNA切断頻度が相対的に高い遺伝子領域を選定し、培養細胞を用いた細胞内におけるDNA切断活性を評価するシステムを構築した。

達成度：計画通り。これまでのところ植物細胞ではCas12fによる切断活性は確認できていない。

令和3年度計画：機能モジュールの植物細胞における活性を評価。

資料5 「ゲノム編集酵素の機能モジュールデータ基盤構築」の民間からの貢献及び出口の実績

○民間からの貢献額：3年で1億5百万円相当（15,000千円相当（人件費5人／年）、20,000千円相当（分子合成試薬・機器））

ゲノム編集技術を活用した農林水産物や医薬品等の開発に向け、技術開発研究等を実施するための実験機器・施設等を整備。

当年度当初見込み	当年度実績
バイテク企業 >人件費、機器、試薬等 35百万円 相当 （R3, 4年度見込>人件費、機器、試薬等 70百万円相当）	民間企業2社 38百万 相当 人件費 1.5百万円 相当 試薬・機器等 36.5百万円 相当 （ゲノム編集技術を活用した生物の将来的な活用に向け、その開発に必要な機器や施設等を整備）

○出口戦略

ゲノム編集技術を活用した農林水産物品種開発において、特許許諾に関するハードルが低下し、社会実装の早期実現を加速化。また、構築したデータ基盤を利用した新規酵素技術の開発により、農業分野のみならず、その他のバイオ産業にも幅広く貢献。

当年度当初見込み	当年度実績
<ul style="list-style-type: none"> 海外の基本特許を回避し、国内企業等が利用しやすい新規のゲノム編集酵素を開発することにより、ゲノム編集品種の開発とその社会実装を促進し、民間種苗会社等による参入と投資を誘発。 機能モジュール候補を活用した新規のゲノム編集酵素を開発することにより、医療分野を含めその他のバイオ産業にも幅広く貢献でき、投資を誘発。 	<ul style="list-style-type: none"> 農薬会社や民間種苗会社、食品会社 8社と意見交換を行い、新規のゲノム編集酵素の開発に向けた方向性を確認。新規ゲノム編集酵素は魅力的であり、開発されれば利用を希望する旨のコメント有。 得られた成果を民間企業等にアピール。 （2020年） 7月3日 「第6回新宿血液懇話会」 製薬企業主催の勉強会での講演 10月9日 第二期バイオインベストメントギルドでの講演 10月30日 （一社）日本バイオインダストリー協会（JBA）と農芸化学会の要請を受け、オンラインシンポジウム「ゲノム編集技術の社会実装に伴う諸問題にどう対処すべきか」を開催 11月5日 千里ライフサイエンスセミナーでの招待講演 12月1日 「Cardiovascular Expert Virtual Meeting」で招待講演 （2021年） 2月28日 長浜バイオ大学ゲノム編集研究所開所記念講演会で招待講演 3月10日 Keystone Symposiaで招待講演