

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)

「バイオ技術領域」

令和 4 年度成果

令和 5 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。
- (目標) • 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。
 - 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**：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；R1 101百万円, R2 152百万円, R3 132百万円, R4 119百万円）。
- **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

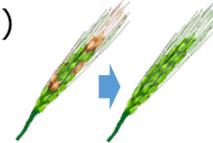
ゲノム編集技術を活用した**農林水産物品種開発**において、特許許諾に関するハードルが低下し、**社会実装の早期実現を加速化**。また、構築したデータ基盤を利用した**新規酵素技術の知財化により、農業分野のみならず、その他のバイオ産業にも幅広く貢献**。

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できるため、**少なくとも数百億円以上が期待**。
- 民間からの貢献額：3年で1億5千万円の提供見込み。

アドオン（農林水産省）：90,000千円
元施策名：農林水産省委託プロジェクト「ゲノム編集技術を活用した農作物品種・育種素材の開発」R4年度 119,000千円

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。

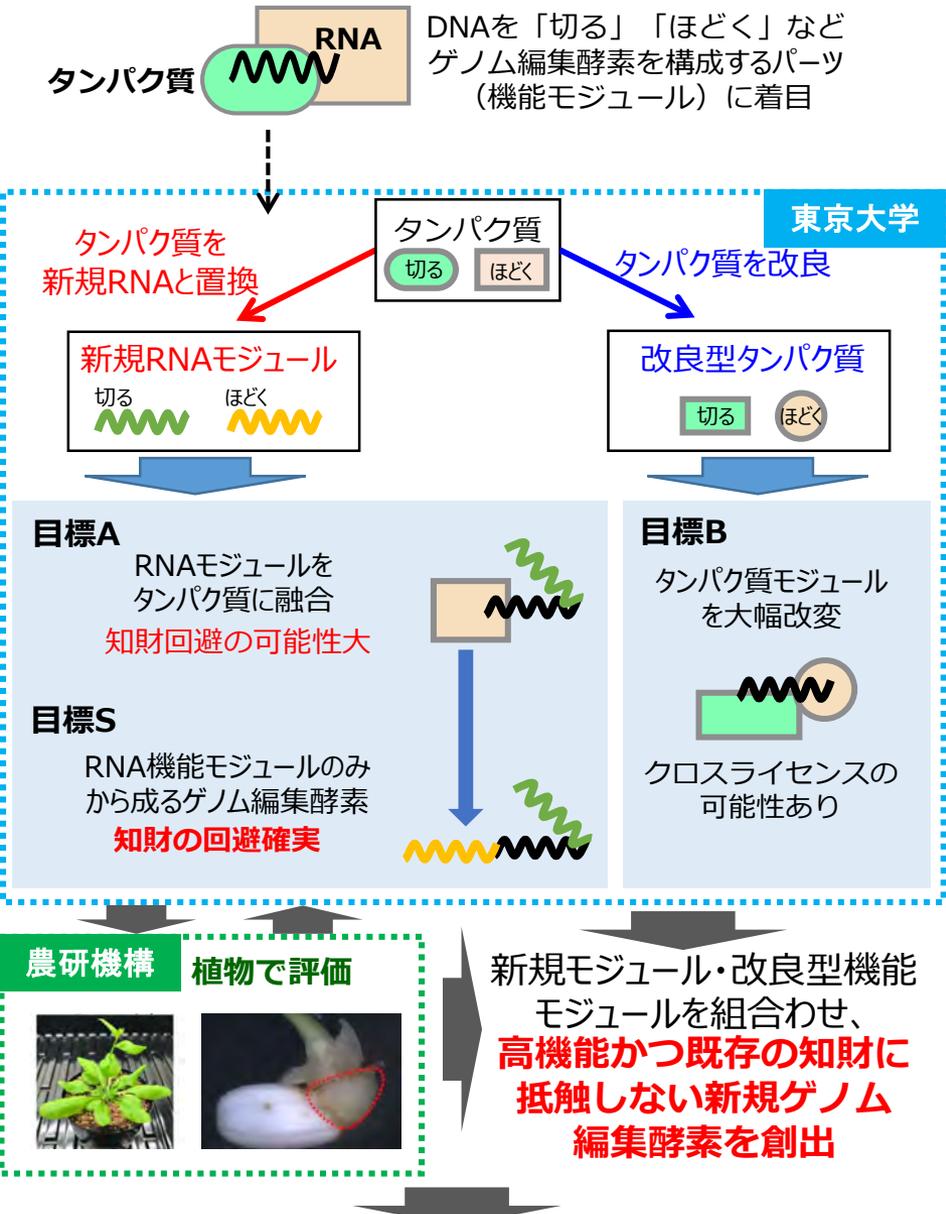
- ① 保存中に芽が出ず、加工に適したバレイショ (4倍体、栄養繁殖性) 
- ② 赤かび抵抗性コムギ (6倍体) 
- ③ 花持ちが良く省力栽培に適した花き (ゲノム編集前例なし) 
- ④ 晩抽性大根 (難形質転換) 

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

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。

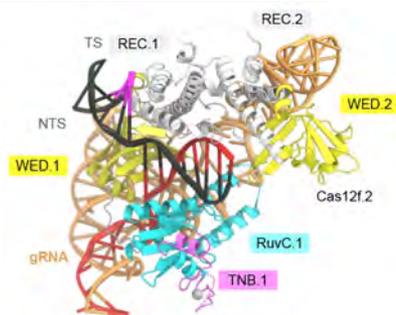
事業名等（※個別に目標を設定している場合）	当年度目標	目標の達成状況
<p>課題① ゲノム編集酵素タンパク質の立体構造解析</p>	<p>機能モジュールを大幅改変した、クロスライセンスが可能と期待されるCas（目標B）を開発する。</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 広範に使用されているSpCas9よりも1.2-2倍ゲノム編集活性が高く、サイズが1/3以下のAsCas12f改変体を創出した。この新規の高活性の小型Casツールが、哺乳類細胞やマウス個体におけるゲノム編集に利用できることを確認した。当年度目標は達成し、論文発表と特許申請の準備を進めている。 • TnpB、Cas12mの立体構造を決定し、Casの小型化に必要な情報やDNA切断モジュール等の機能モジュール情報を取得した。得られた情報に基づき、DNA切断活性が向上したTnpB改変体を創出することに成功した。TnpBの構造はNature誌に掲載され、Cas12mに関しては査読コメントを受けて改訂中である。
<p>課題② 機能モジュールの候補となるRNA情報の集積</p>	<p>新規RNA型機能モジュール（リボザイム）を用いた、新規ゲノム編集酵素プロトタイプ（目標Aのプロトタイプ）を開発する。</p>	<ul style="list-style-type: none"> • リボザイムの触媒活性部位配列をランダム化したRNAライブラリを作製し、スクリーニングを行なった。DNA切断活性の無いRNA配列を系から取り除く方法により目的リボザイムの取得を試みたが、偽陽性であった。 • DNA切断活性を有するリボザイムのみを回収する新規スクリーニング系の開発を試みた。予め切断したDNAを用いて切断活性リボザイムを濃縮するモデル実験を実施し、切断されたDNAの回収に成功した。新規スクリーニング系は切断反応が起こったもののみが回収される系であり、DNA切断活性を有するリボザイム取得に有効だと考えられる。進捗は目標の75%程度であり、今後はスクリーニングを繰り返して、より高活性の配列を濃縮し、次世代シーケンサーによる配列解析後に、得られた配列のリボザイム活性を確認する。
<p>課題③ ゲノム編集酵素の植物への適用</p>	<p>機能モジュールの植物細胞内でのDNA切断活性を評価するとともに、元施策に順次適用する。</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 標的配列の長さを変更することにより、イネにおいてSpCas12fによる変異導入効率を2~4倍改善した。 • 課題①で開発された改良型AsCas12f（目標B）がイネのゲノム編集にも利用できる、高効率で変異を導入できることを実証。また、目標Bの酵素を元施策に適用するために、ウイルスベクターを介した改良型AsCas12fによるゲノム編集実験を開始。タバコを用いた予備的な実験で編集を確認したことから、当年度目標は達成。

課題① ゲノム編集酵素タンパク質の立体構造解析

課題③ ゲノム編集酵素の植物への適用

SpCas9と比較してサイズが半分以下のAsCas12fについて、機能モジュールの改変により、SpCas9よりDNA切断活性が高い変異体を複数創出することに成功し、ヒトやイネの細胞でその有効性を確認

AsCas12fの立体構造



AsCas12fの機能モジュール情報を取得
→モジュールの改良により、DNA切断活性を高めることに成功

クロスライセンスが可能と期待される小型かつ高活性型Cas (目標B) の開発に成功

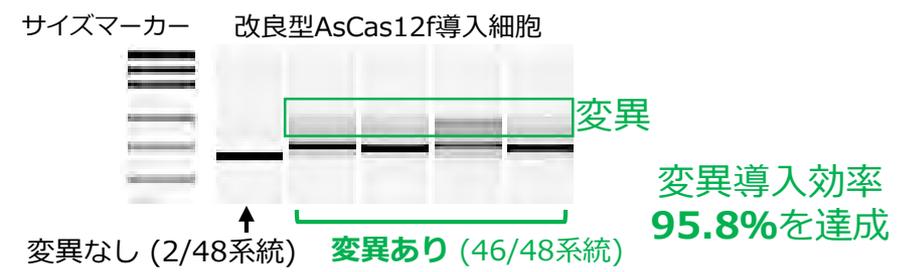
ヒト細胞での実証

改良型AsCas12fが、ヒト細胞のゲノム編集において、**ゲノム編集酵素として広範に利用されているSpCas9を凌ぐ活性を持つ**ことを確認

イネ細胞での実証

改良型AsCas12fが、イネ細胞のゲノム編集においても、**高効率で変異を導入**できることを確認

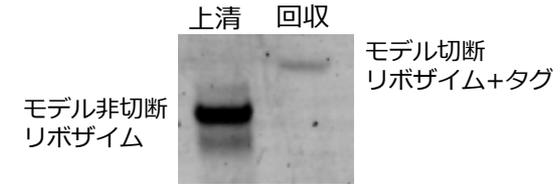
改良型AsCas12fによるイネのゲノム編集



課題② 機能モジュールの候補となるRNA情報の集積

リボザイムによって切断されたDNA切断に選択的にタグ付けできる系を開発した。切断反応が起こったもののみを回収する系により**切断活性リボザイムを濃縮するモデル実験に成功**した。本手法では切断不活性リボザイムは回収されないため取り除くことが可能。

モデル切断断片を用いたアッセイ



切断断片にのみタグ付けを行うことでリボザイム活性のある配列をビーズで回収可能

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1億5千万円相当見込み（R2年度38百万円、R3年度50百万円、R4年度65百万円）

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、試薬、機器等 65百万円 相当	民間企業2社 65百万円相当 （人件費 15百万円相当、試薬・機器等 50百万円相当） <ul style="list-style-type: none"> 国内大手企業や大学が本プロジェクトで開発される新規ゲノム編集酵素について強い関心を示しており、進捗について頻繁に情報交換を実施。 それらの企業・大学では、植物、動物細胞において改良型AsCas12f等開発した酵素の性能を評価するための予備実験を実施。また、ゲノム編集技術を活用した生物の将来的な活用に向けて、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"> 得られた成果を民間種苗会社を含むバイテク企業等にアピール。 4月29日 Keystone symposium で口頭発表。 5月18日 第63回日本精神神経学会学術大会で口頭発表。 6月13日 千葉県バイオ・ライフサイエンス・ネットワーク会議で口頭発表 3月7日 麦類オンラインセミナーにて講演 他、食品会社や農薬会社等、複数の企業と意見交換を実施。