



基于专利数据的植物基因编辑技术发展动态与竞争态势分析

邹婉侬 宋敏*

中国农业科学院 农业资源与农业区划研究所,北京 100081

* 通讯作者, songmin@caas.cn

摘要 基因编辑是对生物体基因组特定的目标基因进行修饰的一种新型基因工程技术,目前已成为作物育种、生物农业和医药等新兴领域研究的热点。本文通过对全球植物基因编辑技术领域相关专利数据挖掘与分析,在梳理基因编辑技术的发展路径的基础上,重点从主要专利布局区域、权利人角度,以及主要的研发和产业化领域,分析发展动态与竞争态势。分析发现,我国植物基因编辑技术专利缺乏全球专利部署,专利整体质量和经济价值相对偏低,最终成果仍停留在模式作物创制,缺乏以知识产权协作为纽带的产业化机制。最后提出了加强编辑系统等原始创新、强化知识产权全球和全产业链布局、促进知识产权协作弥补短板等对策建议。

关键词 专利;基因编辑;植物;发展动态;竞争态势

图书分类号 S336 文献标识码 A

Analysis on the Development Trend and Competitive Situation of Plant Gene Editing Technology Based on Patent Information

ZOU Wan-Nong SONG Min*

Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; China

* Corresponding author, songmin@caas.cn

Abstract Gene editing is a new genetic engineering technology that modify the specific target genes of organism genomes. It has been widely used to edit plant genomes accurately at present to obtain excellent crop varieties. This paper attempts to mine and analyze patent data related to the global plant gene editing technology. On the basis of sorting out the development path of gene editing technology, the focus was on analyzing the development trend and competition situation from the perspective of the main patent layout areas and rights holders, R&D (Research & Development) and industrialization. The analysis found that China's plant gene editing technology patent lacked global patent deployment, and the overall quality and economic value of the patent were relatively low. The final achievements still remained in model crop creation, lack of industrialization mechanism based on intellectual property cooperation. Finally, countermeasures and suggestions were proposed such as strengthening the original innovation of editing system, strengthening the intellectual property layout of the global and whole industrial chain, and promoting intellectual property cooperation to make up for shortcomings.

Keywords Patents; Gene editing; Plant; Development trend; Competition situation

基因编辑技术作为一种基因工程技术,可对生
入、基因替换,实现基因修复以及调控基因的表达
物体特定的基因进行修饰,包括基因敲除、基因插
等目标。目前以CRISPR为代表的基因编辑技术

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08010005);国家自然科学基金(71673276)

收稿日期:2019-10-31 接受日期:2020-03-04

已经广泛运用在动植物基因功能调控以及人类(*Homo sapiens*)基因修复治疗等方面。鉴于此,关于基因编辑技术的发展动态、创新能力比较和产业化运用等分析也成为国内外学者研究的焦点。范月蕾等(2018)通过2005~2017年国内外的CRISPR/Cas基因编辑技术专利进行统计分析与比较发现,美国拥有较多的基础专利,同时在产业化领域上更重视其疾病治疗上的应用;中国则更侧重CRISPR/Cas在动植物育种上的应用。Zhang等(2018)系统分析了基因编辑技术在作物改良上的应用及新的技术突破,并对已经实现的基因编辑作物进行了汇总,阐明了基因编辑作物在基础研究阶段的进展情况。王福军和赵开军(2018)则针对基因编辑技术自身的优势和劣势分析,认为基因编辑技术在作物改良和分子育种的应用上有着巨大的优势和机遇,但还面临管理制度和技术优化两方面的挑战。综观现有研究成果,尚缺乏从研发主体、产权布局以及技术生态系统等角度分析植物基因编辑竞争态势的成果。对此,本文拟在系统梳理基因编辑技术的发展路径的基础上,重点分析全球植物基因编辑领域知识产权创造动态与竞争态势,为我国植物基因编辑技术研发和产业化提供决策依据。

1 基因编辑技术及其发展

传统的遗传工程方法更多的是依赖于生物体的自发突变,借助细胞内自然发生的DNA双链断裂实现靶向整合,达到基因敲除、替换等目的。但在真核细胞中要想通过自发双链断链来实现目的基因编辑的概率通常低至百万分之一(Capecchi, 1989)。利用化学诱导剂或辐射处理方法也可人为实现基因突变,但这些基因突变仍是随机的,要获得所需的基因型,后续仍需要进行大量的筛选工作。Scherer和Davis(1979)在酵母(*Saccharomyces*)中实现了第一个靶向基因组突变。Thomas等(1986)第一次介绍了对基因进行编辑的方法,并成功将新霉素抗性基因引入小鼠(*Mus musculus*)细胞中,完成了靶向基因组改变,实现了细胞的抗药性。从此,基因编辑技术得到了快速发展与广泛应用。如今不再依赖细胞自然发生的同源重组,基因编辑技术已经几乎可在任意位点进行靶向切割,成为基因功能研究和物种定点改造的最优选择。目前被广泛研究和运用的基因编辑技术主要包括

由重组核酸酶介导的锌指核酸酶(zinc finger nucleases, ZFNs)技术、转录激活子样效应物核酸酶(transcription activator-like effector nuclease, TALEN)技术和由RNA引导的CRISPR/Cas核酸酶(clustered regularly interspaced short palindromic repeats-Cas, CRISPR/Cas)技术(图1)。三者都能特异性地识别靶位点,对其单链或双链进行精准切割后,并由细胞内源性的修复机制来完成对靶标基因的敲除和替换。图1概括了三大基因编辑技术的发展路径和最初的核心专利布局。

本研究围绕三大基因编辑技术,采用专利分类号与关键词相结合的检索方式,对截至2018年12月31号全球已经公布的专利数据进行检索,并对检索结果下载去杂清洗,最终提取得到全球公开的在植物基因编辑技术领域中的专利共1119件。其中ZFN技术相关专利共72件,同族专利平均规模为11.25件;TALEN技术共157件,同族专利的平均规模为9.80件;CRISPR技术专利共561件,同族专利平均规模为15.89件。庞大的专利申请总量表明CRISPR技术是目前研发创新的重点和热点,较大规模的同族专利布局和立体保护,表明CRISPR技术广泛的全球市场价值。

1.1 锌指核酸酶技术

锌指核酸酶是由锌指蛋白(zinc finger protein, ZFP)和限制性内切酶(*Fok I*)结构域两部分组成,前者负责特异性识别DNA序列,后者负责切割DNA双链。锌指蛋白是真核生物中普遍存在的基因转录调控因子,1983年首次在非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)转录因子TFIIIA中被发现,可以识别特异性DNA序列,在细胞分化、胚胎发育方面起重要作用(Lee et al., 1989)。Kim等(1996)研究发现由锌指基序和*Fok I*核酸酶构成的修饰酶可以在预设的位点成功对DNA双链进行切割。ZFN技术被称为第一代基因编辑技术,其发明是基因编辑技术的重大突破。该技术从2001年开始陆续被应用于不同物种的基因编辑中。ZFN技术最核心的专利为美国桑格摩生物科学股份有限公司于2007年5月23日申请的US11805707("Methods and compositions for gene inactivation"),包含了使用ZFN灭活细胞表面趋化因子受体5(C-C chemokine receptor 5, CCR-5)基因的方法和组合物的方法,该专利的被引次数达到216次,扩展同族专利30件,该公司已经在该领域研究

20余年,拥有包括锌指蛋白设计、筛选、优化等一系列关键专利。另一件代表专利为2007年8月9日陶氏杜邦、桑格摩公司及研发人员联合申请的专利WOUS07017748(“Zinc Finger Nuclease-mediated homologous recombination”),公开了由锌指核酸酶介导的在植物细胞中靶向切割某区域中的细胞染色质或在某预定区域处同源重组的方法。该项专利被引次数达到73次,共有扩展同族专利37件。

1.2 TALEN技术

1989年,科学家们在植物病原菌黄单胞菌属(*Xanthomonas*)中分离出了类转录激活因子样效应蛋白(transcription activator like effector, TALE)(Bonas et al., 1989),并于2009年揭示了TALE蛋白核酸结合域的氨基酸序列与其靶位点的核酸序列有较恒定的对应关系(Wood et al., 2011)。基序的发现很快促使了第二代基因编辑技术的产生,TAL-

EN的构造与ZFN类似,由TALE基序串联成决定靶向性的DNA识别模块,与Fok I结构域链接而成。Christian等(2010)首次发表了人工构建的TALEN技术。随着技术方法的改进,TALEN技术迅速发展并在多个物种中应用。2012年4月5日,由Cellectis植物科学公司申请的专利WOUS12032426(“Method for the generation of compact TALE-nucleases and uses thereof”)是TALEN技术最核心的专利,对利用TALEN技术靶向加工双链DNA的方法进行了说明。该项专利被引次数达到73次,共涉及23项扩展同族专利。

1.3 CRISPR技术

CRISPR是一种RNA诱导的获得性免疫系统,用来抵抗外来病毒或质粒的入侵。该系统由成簇间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeat sequences)和Cas基

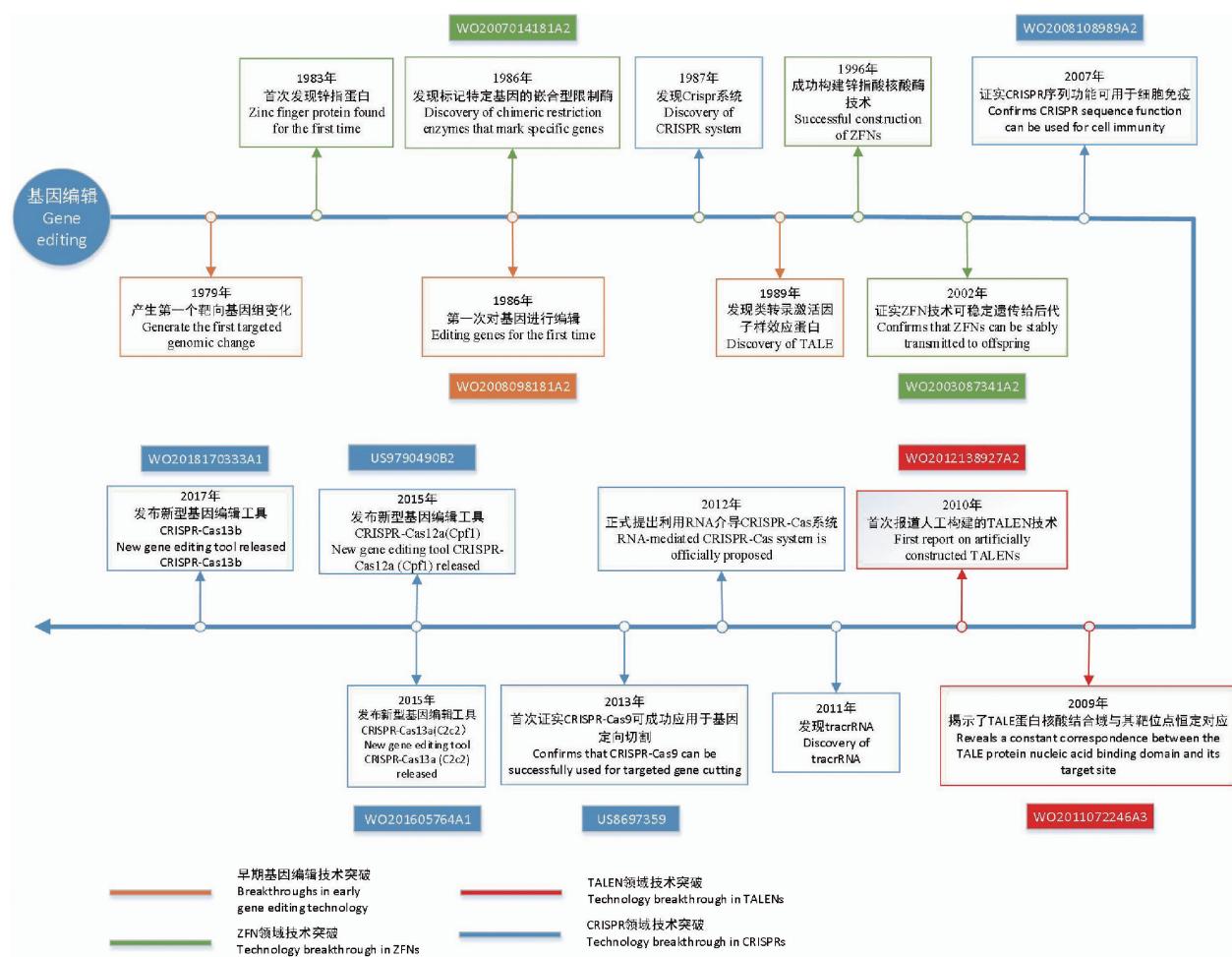


图1 基因编辑技术发展路线及技术突破

Figure 1 Development route and technological breakthrough of editing technology

因(CRISPR-associated genes)组成。CRISPR 最初在 1987 年发现于细菌和古细菌中,研究人员根据其特性进行改造后,使其在哺乳动物等生物体的活体细胞内可实现基因编辑,具有可同时编辑多个位点、编辑效率高、涉及过程简单易操作的优势。最早与 CRISPR 相关的专利为 2008 年 9 月由美国西北大学的 Lucian O. Marraffini 申请的专利“用 crRNA 靶向干扰 DNA(TARGET DNA INTERFERENCE WITH crRNA)”,但该项专利仅将 CRISPR 系统作为进行基因表达干扰的工具。2012 年,加州大学伯克利分校等首次证实 sgRNA (single guide RNA)引导 Cas9 进行靶向切割,从而正式提出利用 RNA 介导 CRISPR/Cas 系统(Jinek et al., 2012)。与 ZFNs 技术和 TALENs 技术相比,该技术靶向效率高、设计简单且成本低。2013 年,张锋团队首次利用 CRISPR/Cas9 系统成功定向切割人类内源基因(Cong et al., 2013)。2014 年 4 月 15 日,美国专利与商标局(United States Patent and Trademark Office, USPTO)批准了布朗德研究所张锋团队申请的专利 US8697359(“CRISPR-Cas systems and methods for altering expression of gene products”),该专利成为世界第一例获得专利保护的基于 CRISPR/Cas9 系统的基因编辑技术,专利权限包括在真核细胞或者任何细胞核中使用 CRISPR/Cas9,共被引证了 363 次,扩展同族专利数量多达 259 件。之后在短短几年内,以 CRISPR/Cas9 为代表的基因编辑技术迅速成为分子生物学领域的研发热点,该研究对象囊括了大肠杆菌(*Escherichia coli*)、酵母、水稻(*Oryza sativa*)、大豆(*Glycine max*)、小鼠和猪(*Sus scrofa*)等生物体,应用领域涵盖了疾病治疗、动植物育种、生物能源等方面,由此还衍生出了如 Cas9 切刻酶(Cas9 nickase, Cas9n)、全失活的 Cas9(dead Cas9, dCas9)以及 Cas12a(cfp1)、C2c2(现称 Cas13a)、CasX 等不同的核酸酶,进一步扩展了 CRISPR 基因编辑技术的应用范围。

为了进一步梳理 CRISPR 基因编辑技术发展脉络,图 2 利用 Citespace 软件对植物 CRISPR 技术领域的相关专利进行了引证分析。由于受专利公开时间限制,将时间设置为 2011~2016 年,时间切片为 1。相同时间点内(专利首次被引用的时间)的节点集合在了相同的时区中,通过时区图(Time-zone View)呈现共引网络图谱。从时间维度上可以看出,尽管 CRISPR 技术发展时间并不长,但发展

态势十分迅猛,每年均有一定代表性的核心专利产生,研究内容也逐渐具体化。从聚类分析结果可以看出,2012 年之前,主要研究重点集中在核酸分子层面,展开了大量与 CRISPR 相关的基础研究,随着 CRISPR 系统的正式提出之后,研发重心逐渐转向宿主细胞、微生物细胞以及真核细胞层面,在 2014 年首例可应用于真核细胞的 CRISPR 技术专利被正式批准之后,加速了 CRISPR 系统在植物体上的应用探索。

2 农业基因编辑技术专利布局与竞争态势

2.1 区域布局分析

通过对农业基因编辑领域主要国家专利申请量进行统计分析表明,截止到 2018 年底,美国和中国是该技术的主要专利申请国家,其中美国共申请 566 件,占专利总数量的 51%;其次为中国共申请专利共 350 件,占专利申请总量的 31.3%;日本、法国和韩国分别以 28 件、27 件和 21 件专利申请量位居第三、第四和第五名。国家专利申请量反映了各国在该领域的研发实力。

另外,从申请变动趋势来看,从 1987 年至 2018 年期间,美国一直处在领跑地位,尤其是 2012 年 CRISPR/Cas 系统的问世,极大地激发了美国在农业基因编辑领域淘金热潮,仅 2013 年的年度专利申请数量就达到了 111 件。中国在农业基因编辑领域的研发起步较晚,但是跟进速度较快。专利申请量从 2011 年的 6 件飙升到了 2018 年的 84 件(专利申请公开有 18 个月的滞后期,2018 年的实际专利申请量会更大)增长了 14 倍,年度申请量已经超过美国成为世界第一。但是,由于我国的专利申请大都是在现有的三大基因编辑技术体系上,尤其是 CRISPR/Cas 系统内的延伸创新,与美国持有的专利相比较,从属专利较多,质量和价值有限。

同时,专利受理审查机构受理的专利申请量一般代表了技术发明人对技术运用市场预期。从专利申请的受理审查机构来看,全球公开的 1 119 件农业基因编辑专利来源于 39 个国家、地区和组织的专利受理机构(图 3、图 4)。其中,中国专利局共受理 370 件,位居首位,占全球申请总量的 33.07%,其中受理来自其他国家专利 60 件,占比 16.22%,表明中国巨大的农产品和种子市场规模吸引着来自全球的创新成果;其次为世界知识产权组织共受理

专利180件,占比18%。美国共受理169件涉农基因编辑领域专利,其中受理本国以外专利27件,占本国受理专利总数量的15.97%。欧专局、日本、韩国三个国家分别以72件、60件和57件专利受理量位居第四、第五和第六名。

通过统计国际专利分类号(International Patent Classification, IPC)对我国涉农基因编辑领域的研

发重点进行分析(表1),该领域在分类号C12N15以287件的专利量位居各分类号之首,占到总申请量的82.00%。其次,C12N916件,占比4.57%位居第二,两项合计占近87%,表明我国农业基因编辑技术仍主要停留在技术本身的基础研究领域。与之相对比,国外农业基因编辑技术在C12N15和C12N9领域所占比例,分别55.01%和8.71%,但同

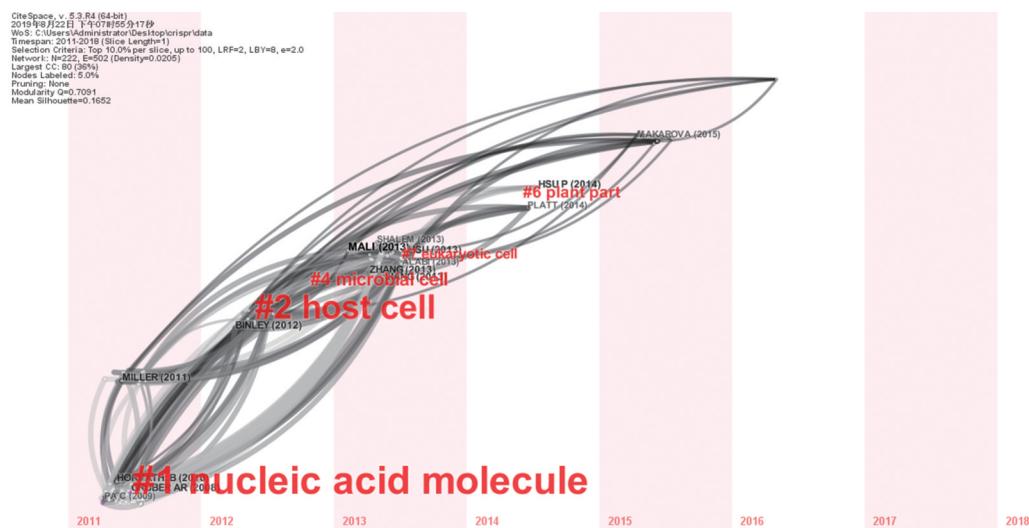


图2 植物CRISPR技术领域被引网络时区图

Figure 2 Cited network time zone diagram for plant CRISPR technology

共现图谱中的关键节点连接两个以上不同聚类,且为重心度和被引频次相对较高的节点,节点之间的连线情况表明研究的传承情况,连线的粗细表示专利被引强度。数据源自德温特专利引文索引数据库

Key nodes in a co-occurrence map connect more than two different clusters, and are the nodes with relatively high centrality and cited frequency, the connection between the nodes indicates the inheritance of the research, and the thickness of the connection indicates the strength of patent citation. Data from Derwent World Patents Index.

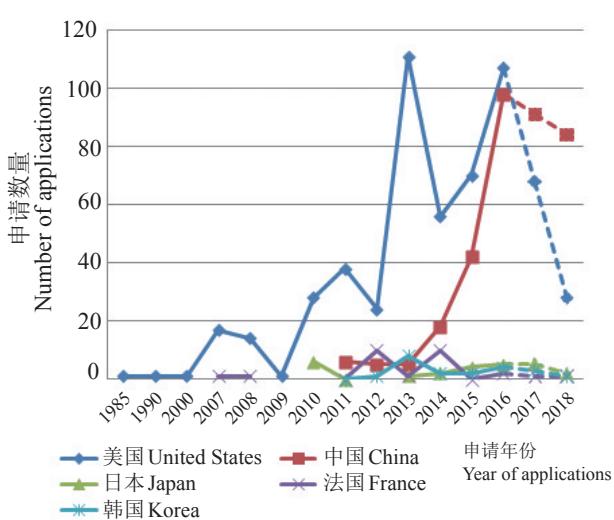


图3 主要国家专利申请趋势

Figure 3 Patent application trends in major countries

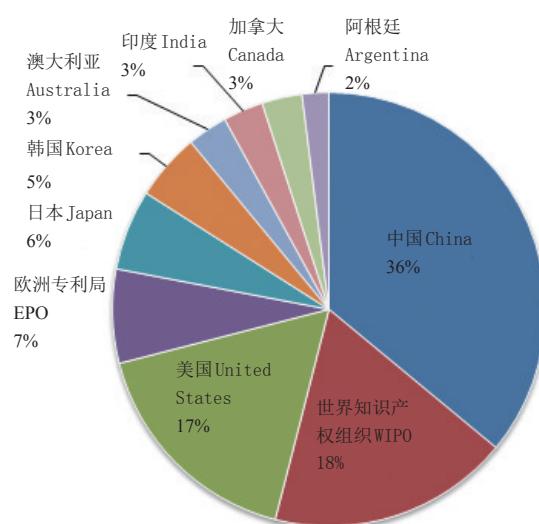


图4 主要国家专利受理比例

Figure 4 Patent acceptance ratio in major countries

表1 中国专利 IPC 分类情况

Table 1 Classification of IPC in Chinese patents

排序 Serial No.	主分类号 Major classification No.	所涉内容 Content involved	申请量/件 Application volume	百分比/% Percentage volume
1	C12N15	突变或遗传工程,及其涉及的DNA或RNA,载体(如质粒)或其分理、制备或纯化;所使用的宿主 Mutation or genetic engineering; DNA or RNA concerning genetic engineering, vectors, e.g. plasmids, or their isolation, preparation or purification; Use of hosts therefor	287	82.00
2	C12N9	酶;酶原;其组合物、制备、活化、抑制、分离或纯化酶的方法 Enzymes, e.g. ligases; Proenzymes; Compositions thereof; Processes for preparing, activating, inhibiting, separating, or purifying enzymes	16	4.57
3	C12N1	微生物本身,如原生动物;及其组合物;繁殖、维持或保藏微生物或其组合物的方法;及其培养基 Microorganisms, e.g. protozoa; Compositions thereof; Processes of propagating, maintaining or preserving microorganisms or compositions thereof; Processes of preparing or isolating a composition containing a microorganism; Culture media therefor	9	2.57
4	C07K14	具有多于20个氨基酸的肽;促胃液素;生长激素释放抑制因子;促黑激素;其衍生物 Peptides having more than 20 amino acids; Gastrins; Somatostatins; Melanotropins; Derivatives thereof	7	2.00
5	A01K67	饲养或养殖其他类不包含的动物;动物新品种 Rearing or breeding animals, not otherwise provided for; New breeds of animals	6	1.71
6	C12Q1	包含酶、核酸或微生物的测定或检验方法;其组合物;这种组合物的测定方法 Measuring or testing processes involving enzymes, nucleic acids or microorganisms; Compositions thereof; Processes of preparing such compositions	6	1.71

IPC: 国际专利分类,下同

IPC: International Patent Classification, the same below

时在A01H5等其他应用领域的专利数量已经接近四成,表明国外的农业基因编辑技术已经逐渐深入到细化应用阶段,形成了从上游到下游相结合配套的技术生态体系(表2)。

2.2 主要专利权人分析

在全球涉农领域基因编辑技术专利数量排名前十名的申请人中,美国申请机构有7家,中国占3家(表3)。排名第一的陶氏杜邦公司,申请量达到243件,占比21.72%。位列第二的为1995年成立的Sangamo治疗公司,共申请专利86件,占比7.69%。该公司以第一代基因编辑技术ZFN为主要开发对象,在基因编辑技术基础研发的同时也致力于医药临床阶段核心研发。2017年11月,Sangmo公司实施了全球首例人体内基因编辑治疗。布朗德研究所为美国麻省理工学院和哈佛大学联合建立的研

究所,专利申请量为66件,占比5.90%,位列第三。作为CRISPR基因编辑技术的开拓者之一,布朗德研究所始终处于世界基因编辑技术领跑地位。

中国科学院遗传与发育生物学研究所、中国农业科学院作物科学研究所及中国农业大学分别以26件、20件和20件跻身世界前十名。但是我国没有一家公司进入。而且从专利布局来看,美国申请人均在欧洲、美国、中国、日本、澳大利亚等多个国家进行了专利布局,而我国申请人,除了中国科学院遗传与发育生物学研究所在国外进行专利布局外,大多数仅在国内进行申请与获得授权,同族专利申请少,缺乏有效的专利国际化布局。

另外,对主要申请人的相对专利密度进行统计分析发现(图5),中国农业科学院作物科学研究所和中国农业大学由于以农业作物研究方向为主,其专利针对性较强,相对专利密度较高,技术关联性

表2 其他国家专利IPC分类情况

Table 2 Classification of patent IPC in other countries

排序 Serial No.	主分类号 Major classification No.	所涉内容 Content involved	申请量/件 Application volume	百分比/% Percentage
1	C12N15	突变或遗传工程,及其涉及的DNA或RNA,载体(如质粒)或其分离、制备或纯化;所使用的宿主 Mutation or genetic engineering; DNA or RNA concerning genetic engineering, vectors, e.g. plasmids, or their isolation, preparation or purification; Use of hosts therefor	423	55.01
2	C12N9	酶;酶原;其组合物、制备、活化、抑制、分离或纯化酶的方法 Enzymes, e.g. ligases; Proenzymes; Compositions thereof; Processes for preparing, activating, inhibiting, separating, or purifying enzymes	67	8.71
3	A01H5	有花植物,即被子植物 Angiosperms, i.e. flowering plants, characterised by their plant parts; Angiosperms characterised otherwise than by their botanic taxonomy	60	7.80
4	A01K67	饲养或养殖其他类不包含的动物;动物新品种 Rearing or breeding animals, not otherwise provided for; New breeds of animals	51	6.63
5	C12N5	未分化的人类、动物或植物细胞,如细胞系;组织;它们的培养或维持;其培养基 Undifferentiated human, animal or plant cells, e.g. cell lines; Tissues; Cultivation or maintenance thereof; Culture media therefor	24	3.12

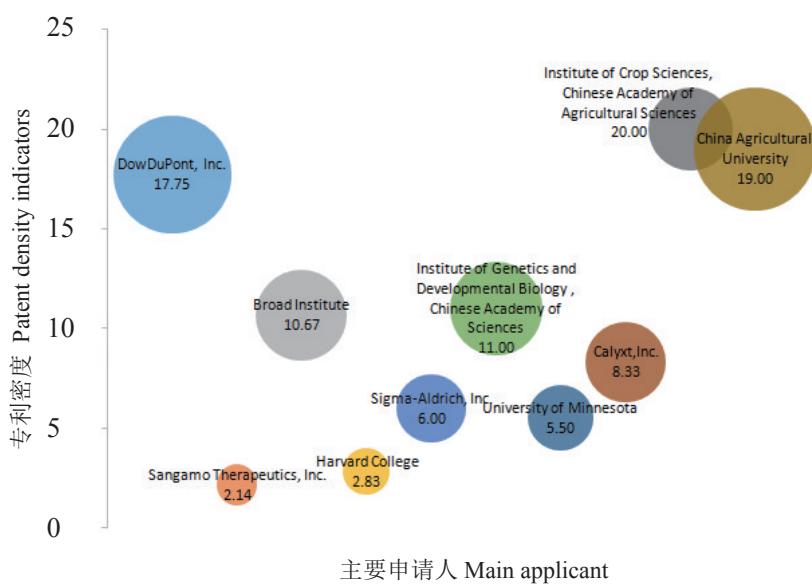


图5 主要申请人相对专利密度指标对比

Figure 5 Comparison of main applicants' relative patent density indicators

相对专利密度=申请人在某领域的专利申请总量/该申请人涉及的该领域的技术分支项数;相对专利密度测算中申请人按第一申请人进行统计,技术分支按IPC主分类号进行统计

Relative patent density = Total number of applicants' patent applications in a certain field/ Number of technical branches in this field involved by the applicant. In the calculation of relative patent density, applicants are counted according to the first applicant, technical branch statistics by main IPC classification number

相对较强,在擅长的技术分支专利布局较为密集。年底,占据了全球商品化专利种子市场份额的陶氏杜邦公司作为大型跨国种业企业,截止至2017 22.7%,有着雄厚的科研实力(任静等,2019)。目前

表3 主要申请人专利布局情况
Table 3 Patent layout of major applicants

序号 Serial number	申请人 Applicant	所属国家 Country	专利申请数量 Number of patent applications										总计 Total	占总专利数 量百分比/% Percentage of total patents	
			世界知识产权组织 WIPO	中国	加拿大	印度	日本	欧洲专利局	澳大利亚	美国	阿根廷	韩国	其他		
1	陶氏杜邦公司 DowDuPont, Inc.	美国 USA	29	24	15	15	11	20	15	36	12	13	53	243	21.72
2	桑格摩治疗公司 Sangamo Therapeutics, Inc.	美国 USA	5	9	4	4	3	14	4	14	5	8	16	86	7.69
3	布罗德研究所 Broad Institute	美国 USA	18	4	0	2	4	13	0	19	0	6	0	66	5.90
4	哈佛大学 Harvard College	美国 USA	20	3	0	2	3	10	0	16	0	2	0	56	5.00
5	西格马-奥尔德里奇公司 Sigma-Aldrich, Inc.	美国 USA	0	2	1	0	3	9	0	33	0	3	0	51	4.56
6	中国科学院遗传与发育生物学研究所 Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences	中国 China	6	7	2	2	3	1	2	1	1	1	0	26	2.32
7	明尼苏达大学 University of Minnesota	美国 USA	5	1	1	2	1	4	1	6	0	2	2	25	2.23
8	塞尔克蒂斯公司 Calyxt, Inc.	美国 USA	6	0	2	1	2	3	1	8	0	1	1	25	2.23
9	中国农业科学院作物科学研究所 Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Sciences	中国 China	2	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	1.79
10	中国农业大学 China Agricultural University	中国 China	3	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	1.79

申请人统计包括第一申请人与共同申请人
Applicant statistics include first and co-applicants

已经获得美国加州大学伯克利分校CRISPR技术专利在主要作物中的独家授权,在抗旱玉米(*Zea mays*)、小麦(*Triticum aestivum*)等作物育种领域开展研发。布朗德研究所隶属于美国麻省理工大学和哈佛大学,他们在基因编辑领域部分重点技术分支中处于全球领先地位,2016年9月,孟山都公司宣布与布朗德研究所签署CRISPR-Cas编辑技术在现代农业科技领域应用的全球许可协议,也加大了布朗德研究所在农业基因编辑领域的专利密度。Sangamo、Sigma和Calyxt等研发单位,由于植物基因编辑的相关专利更多的注重在基础研究上,同时可以覆盖多个技术领域,致使专利密度较小。

3 基因编辑作物的产业化和市场竞争优势分析

3.1 基因编辑作物产业化现状

美国农业部对转基因作物的监管原则是以产品为导向的,只要DNA片段的来源不是病毒、细菌等植物有害物就不在其监管范围内,作物通过基因编辑技术转入的载体最终会被删除,因此可以免予监管。在这种宽松的制度环境下,美国迅速将其研发优势转化成产业优势,目前已成为世界上基因编辑作物品种产业化最领先的国家。由Cibus公司开发的SU Canola抗磺酰脲除草剂油菜是全球第一个商品化基因编辑作物,该产品利用独特的性状快速开发系统(Rapid Trait Development System, RTD-STM)专利基因编辑技术,于2015年在美国4 000 hm²的土地上进行了商业化种植,目前已经推向市场(国际农业生物技术服务组织, 2016)。2016年,美国科研人员使用基因组编辑技术删除了引起香菇变褐色的DNA片段,并种植了这种基因组编辑的香菇(康国章等, 2017)。目前美国农业部已经受理调查并公开了23件基因编辑作物(表4)。

与美国比较,我国虽然是基因编辑技术专利的申请大国,目前我国已经开发的基因编辑模式植物品种包括烟草(*Nicotiana tabacum*)、水稻、玉米、高粱(*Sorghum bicolor*)、大豆、西瓜(*Citrullus lanatus*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、香蕉(*Musa nana*)、杨树(*Populus*)等,但尚未有产业化的作物品种。瑞士作为对转基因生物保持及其严苛的管理制度的欧盟国家,该国农业部也已经作明确表明:利用CRISPR-Cas9技术进行基因组编辑得到

的某些植物不属于欧洲对转基因的定义范围。英国已经批准以试验方式种植经过基因编辑的亚麻籽用于生产备受欢迎的Omega-3多不饱和脂肪酸,在全欧洲率先播种基因编辑作物(秦瑞英等,2019)。

3.2 产业化基因编辑产品

从美国已经公开的23件基因编辑作物品种来看,除了由跨国公司陶氏益农和杜邦先锋公司(现陶氏杜邦公司)研发的三种作物以外,其余均是Calyxt、Yield10、Benson Hill Biosystems等一些初创公司研发培育。其中开发产品数量最多的Cellcritis植物科学公司(现Calyxt公司)是以TALEN技术为主导的研发公司,公司成立于2010年1月,同年7月,Calyxt公司通过IPO成功登陆纳斯达克。该公司运用Talen技术已经成功在大豆、小麦、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、苜蓿(*Medicago*)、油菜(*Brassica napus*)上进行了广泛应用。由于基因编辑技术大大地降低了生物育种的门槛,让初创的小公司可以在一定程度上突破了跨国种业公司形成市场竞争格局。

另一方面,由于一些初创企业抢占基因编辑技术先机和超前专利部署,大型跨国种业公司与中小企业科技公司间的知识产权许可与转让成为基因编辑技术产业化的重要策略(表5)。2014年,拜耳公司从Yield10生物科技公司获得了其开发的高产性状的使用许可,用于开发新的高产大豆。同年拜耳公司又与Calyxt公司达成新的合作协议,利用Calyxt公司的基因编辑新技术,共同开发油菜种子的商业性状,并通过拜耳公司的相关技术改进了性状的表达。通过知识产权许可合作,一方面避免了产业化中上游知识产权制约,另一方面借助跨国公司的产业化和市场拓展能力,最大化挖掘了知识产权价值,实现了合作共赢。

3.3 基因编辑产品的知识产权分析

随着生物技术发展将品种变为复杂的技术综合体,也使得基因编辑品种可能成为错综复杂的知识产权综合体,同一个品种甚至可能涉及多个知识产权主体。本研究以FAD2KO大豆为例分析品种内部的知识产权构成。

2015年5月5日,Calyxt公司开发的FAD2KO高油酸基因编辑大豆利用TALEN技术对大豆内源的两个黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucle-

表4 美国农业部受理调查的基因编辑作物(数据来源:美国农业部)

Table 4 Genetically engineered crops accept by USDA for investigation (Data source: USDA)

官方答复日期 Official reply date	产品 Product	研发单位 R&D unit	编辑手段 Editing method	靶标基因 Target gene
2011-01-16	抗稻瘟病水稻和抗除草剂水稻 Rice blast resistant and Herbicide resistant rice	Cellectis S. A./Cellectis Sciences	Plant Meganuclease	<i>Pi21, ALS</i>
2012-03-08	低植酸玉米 Low phytic acid corn	Dow AgroScience	ZFN	<i>IPK1</i>
2015-05-05	高油酸大豆 High oleic soybean	Cellectis Plant Sciences	TALEN	<i>FAD2</i>
2015-05-18	高产玉米 High yield corn	Benson Hill Biosystems, Inc.	Meganuclease	-
2015-05-20	高油酸大豆 High oleic soybean	Cellectis Plant Sciences	TALEN	<i>FAD3</i>
2015-05-22	抗白叶枯病水稻 Bacterial blight resistant rice	Iowa State University	TALEN	<i>OsSWEET14</i>
2015-11-30	提高玉米淀粉含量 Increase corn starch content	Agrivida, Inc.	Meganuclease	-
2016-02-11	抗白粉病小麦 Powdery mildew resistant wheat	Calyxt, Inc.	TALEN	<i>MLO</i>
2016-04-13	防褐变蘑菇 Anti-browning mushrooms	Penn State	CRISPR-Cas	<i>PPO</i>
2016-04-18	糯玉米 Waxy corn	DuPont Pioneer	CRISPR-Cas	<i>Wx1</i>
2016-09-15	防褐变马铃薯 Anti-brown potato	Calyxt, Inc.	TALEN	<i>PPO</i>
2016-12-02	防褐变马铃薯 Anti-brown potato	Simplot Plant Sciences	TALEN	<i>PPO</i>
2017-04-07	延迟狗尾草开花 Delayed flowering of dogtail grass	Donald Danforth Plant Science Center	CRISPR-Cas	<i>ID1</i>
2017-08-29	油分改良亚麻籽 Improved flaxseed oil content	Yield10 Bioscience	CRISPR-Cas	-
2017-09-25	低木质素苜蓿 Low Lignin Alfalfa	Calyxt, Inc.	TALEN	-
2017-10-16	耐旱盐胁迫大豆 Drought-tolerant soybean	USDA ARS	CRISPR-Cas	<i>Drb2a, Drb2b</i>
2017-12-29	低尼古丁烟草 Low nicotine tobacco	North Carolina State University	Meganuclease	-
2018-01-16	抗大斑病玉米 Corn against blight	DuPont Pioneer	CRISPR-Cas	-
2018-03-19	高产玉米 High yield corn	Benson Hill Biosystems, Inc.	CRISPR-Cas	-
2018-03-20	营养改良小麦 Nutritionally improved wheat	Calyxt, Inc.	TALEN	-
2018-05-14	防落果番茄 Prevent fruit drop tomato	University of Florida	CRISPR-Cas	<i>J2</i>
2018-08-06	油分改良薪葵 Improved pennycress oil content	Illinois State University	CRISPR-Cas	-
2018-09-27	油分改良亚麻籽 Improved flaxseed oil content	Yield10 Bioscience	CRISPR-Cas	3个靶标基因组 3 target genomes

表5 主要跨国公司在基因编辑育种领域的产业化运用情况

Table 5 Industrialization of major multinational companies in the field of gene editing and breeding

公司 company	主要技术 Main technology	主要项目 Main project	核心知识产权 Core intellectual property
Monsanto	CRISPR	玉米、大豆和棉花以及果菜品种 Corn, soybean, cotton, fruit and vegetable varieties	获得布郎德研究所CRISPR技术专利在农业领域的全球非独占授权 Obtained global non-exclusive license for CRISPR technology patents from the Broad Institute
DuPont Pioneer	CRISPR	生产酸奶和奶酪的细菌；抗旱玉米、小麦等作物 Bacteria for yogurt and cheese; drought-resistant corn, wheat and other crops	获得美国加州大学伯克利分校CRISPR技术专利在主要作物中的独家授权 Obtained the exclusive license to UC Berkeley's CRISPR technology patent in major crops
DOW	ZNF; CRISPR	精准基因组修饰技术平台EXZACT Exact Genome Modification Technology Platform	与孟山都达成全球非独占许可协议 Global non-exclusive license agreement with Monsanto
Collectis	TALEN; CRISPR	马铃薯、小麦、大豆等 Potatoes, wheat, soybeans, etc	TALEN 基因编辑技术专利 Core patents of TALEN
Recombinetic	TALEN; ZNF; CRISPR	家畜 Livestock	拥有完全排他的针对动物的Talen等方法专利及使用权 Have exclusive patent and right to use TALEN and other methods for animals
Cibus	TALEN; CRISPR	除草剂油菜、亚麻 Herbicide rape, flax	具有著名的快速特性研发系统(RTD-STM)专有的基因转化技术 Proprietary gene transformation technology with Rapid trait development system (RTD-STM)

otide, FAD)编码基因 *FAD2-1A* 和 *FAD2-1B* 进行诱导突变,以降低或消除其基因功能,最终通过在大豆子叶中顺时表达获得了 GM026-018 转化体,该转化体可将所有突变遗传给后代。其目标形状评价结果表明,FAD2KO 大豆中的油酸含量高达 80%,而受体对照大豆品种中的油酸含量仅为 20%。公司在 2013 年 10 月在美国临时申请优先权后,于 2014 年 3 月通过 PCT 途径先后向加拿大、中国、欧盟、日本、巴西等 7 个国家进行了专利布局,该专利 WO2014141147A1(“Materials and methods are provided for making soybean varieties that have altered oil composition as a result of mutations in the *FAD2-1A* and *FAD2-1B* genes”)是 FAD2KO 高油酸基因编辑大豆的核心专利,有 39 项权利要求,8 件有效的同族专利。这一专利涉及了用于制备 FAD2KO 大豆植物的材料和方法,以及品种本身。中国国家知识产权局于 2018 年 8 月授权了该项专利(CN105246324)。除此之外,该项 FAD2KO 大豆的核心专利还涉及到其他 4 项专利,分别为对 Tal

效应子、黄杆菌限制性核酸内切酶(*Fok I*)、Talens 技术、及 *FAD-1* 和 *FAD-2* 编码基因突变进行了保护,其中 *Fok I* 专利由于保护期限已过,处于失效状态外,其他专利还处于有效状态(表 6)。

其中针对特异性识别 DNA 碱基对的专利 WO2011072246A2 对由 TAL 效应子介导基因靶向的材料和方法进行了保护。在对靶标位置处的大豆基因组进行切割方面,所涉及的 US5436150A 完成对 *Fok I* 限制性内切酶的识别域和切割域进行鉴定,并对与另一种酶的识别结构域连接而成的杂交限制酶进行保护。而专利 WO2012138927A2 保护了利用传统大豆育种技术培育高油酸大豆的方法,既选择编码 *FAD2-1A* 基因 SEQ ID NO:5 的第一多核苷酸序列中具有一个或多个突变的第一大豆植株与在编码 *FAD2-1B* 基因 SEQ ID NO:6 的第二多核苷酸序列中具有一个或多个突变的第二大豆植株杂交。因此,FAD2KO 大豆品种并非 Calyxt 公司的完全自主知识产权品种,要产业化运用还需要获得其他知识产权人的许可。

表6 FAD2KO 高油酸基因编辑大豆研发涉及专利

Table 6 Patents related to FAD2KO high oleic acid genetically edited soybean

技术要素	主要对象	公开号	专利名称	申请人	申请日	公开日	同族专利数量
Technical elements	Main object	Publication number	Patent name	Applicant	Application date	Publication date	Number of patent family
DNA 碱基对特异性识别	TAL 效应子	WO2011072	The effector-mediated DNA modification	University of Minnesota	2010-12-10	2011-06-16	36
Specific recognition of base pairs	TAL effector	246A2	TAL				
靶向切割	Fok I 限制性核酸内切酶	US5436150	Functional domains in flavobacterium okeanokoites (FokI) restriction endonuclease	Johns Hopkins University	1993-09-27	1995-07-25	14
Targeted cutting	Fok I restriction endonuclease						
高油酸大豆培育	FAD-1 和 FAD-2 突变	WO2011005	Method to develop high oleic acid soybeans using conventional soybean breeding techniques	The curators of the University of Missouri; United States department of agriculture; Bilyeu Krisin et al.	2010-07-08	2013-03-27	9
High oleic soybean cultivation	FAD-1 and FAD-2 mutations	998A1					
基因编辑技术	Talen 技术	WO2012138	The effector-mediated DNA modification	Collectis, Inc.	2012-04-05	2012-10-11	37
Gene editing technology		927A2	TAL				

4 结论与建议

4.1 结论

近年来,基因编辑技术,尤其是CRISPR技术在植物育种领域的应用成为研发的热点,专利申请量快速增加。其中美国共申请566件,占专利总数量的51%;中国350件,占31.3%。但是,三大基因编辑技术体系的原始专利均在美国,近年来中国的专利申请增长速度超过美国,但是大多属于技术体系中间层的从属专利申请,居于顶层的原始创新和落地的应用发明专利均相对较少,而且申请主体多为科研单位,缺乏全球专利部署,专利整体质量和经济价值相对较低。

在产业化方面,美国等发达国家由于建立了对基因编辑技术产业化相对宽松的监管模式,再加之,通过交叉许可、转让等知识产权合作模式,将初创基因编辑公司的灵活高效创新活力和跨国公司的全球市场体系结合,突破了画地为狱的产权障

碍,加速了基于上游技术的应用技术配套研究和产业技术生态系统的形成,产业化运用迅速,目前美国已有23个基因编辑植物品种推向市场。相比之下,我国研发主要集中在科研单位,最终成果还停留在模式作物创制,尚没有可以商业化的最终品种,也没有形成以知识产权协作为纽带的产业化机制,独自为政,单打独斗地创造了大量碎片化的技术部件,但是没有有机整合形成完整化的产业技术体系。

4.2 建议

4.2.1 加强原始创新

加强立项知识产权诊断,集中力量加强在基因编辑技术系统创建等领域的原始创新,尽量避免在国外公司已经掌握核心专利的技术领域尾随从属性研发,增加原始创新成果,克服盲目低水平重复导致的专利申请量大不优和科技资源浪费。开展基于他人上游专利技术的应用型研究,要以获得授权为前提。

4.2.2 强化知识产权布局

完善科研单位科技成果考评机制,建立市场化导向的知识产权创造、保护和运用机制,支持按照市场化需求开展知识产权全球布局,提高知识产权对全球市场的掌控能力,切实将技术优势转化为产业优势和市场竞争优势。

4.2.3 促进产权协作

基因编辑品种是一个复杂的技术体系,个人团队往往很难形成具有知识产权保障的完整技术体系,需要以知识产权转让和实施许可为纽带,形成面向市场的产业化技术开发协作体系。尤其是在我国以科研单位为主体的研究体制下,尤其需要建立以知识产权流转为纽带的科企合作体系,通过知识产权授权许可和转让,全世界整合科技资源,才有可能突破知识产权壁垒,迅速开发出具有知识产权保障的产业化品种。

参考文献

- 范月蕾,王慧媛,王恒哲,等.2018.国内外CRISPR/Cas9基因编辑专利技术发展分析[J].生命科学,30(09): 1010-1018. (Fan Y L, Wang H Y, Wang H Z, et al. 2018. Patent analysis on the development of domestic and foreign gene editing technologies[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 30(09): 1010-1018.)
- 国际农业生物技术应用服务组织.2016.2015年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J].中国生物工程杂志,36(04):1-11. (ISAAA. 2016. Global biotechnology/GM crop commercialization development trend in 2015 [J]. China Biotechnology, 36(04): 1-11.)
- 康国章,李鸽子,许海霞.2017.我国作物转基因技术的发展与现状[J].现代农业科技,(22): 27-29. (Kang G Z, Li G Z, Xu H X. 2017. Development and status of transgenic technology in China[J]. Modern Agricultural Science and Technology, (22): 27-29).
- 秦瑞英,殷三,李娟,等.2019.基因组编辑技术在作物育种中的应用及监管现状[J].中国农学通报,35 (06): 96-100. (Qin R Y, Yin S, Li J, et al. 2019. Application and regulatory status of genome editing technology in crop breeding[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 35 (06): 96-100.)
- 任静,邹婉依,宋敏.2019.跨国种业公司并购形成的国际种业竞争新格局变化趋势研究——以知识产权为例[J].中国生物工程杂志,39(07): 108-117. (Ren J, Zou W N,
- Song M. 2019. Study on the change trend of the new international seed industry competition pattern formed by M&A of multinational seed industry companies—Taking intellectual property as an example[J]. 2019. China Biotechnology, 39(07): 108-117.)
- 王福军,赵开军.2018.基因组编辑技术应用于作物遗传改良的进展与挑战[J].中国农业科学,51(01): 1-16. (Wang F J, Zhao K J. 2018. Progress and challenge of crop genetic improvement via genome editing[J]. Scientia Agricultura Sinica. 51(01): 1-16.)
- Bonas U, Stall R E, Staskawicz B. 1989. Genetic and structural characterization of the avirulence gene *avr Bs3* from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*[J]. Molecular Genetics and Genomics, 218(1): 127-136.
- Capecchi M R. 1989. Altering the genome by homologous recombination[J]. Science, 244(4910): 1288-1292.
- Christian M, Cermak T, Doyle E L, et al. 2010. Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nuclease [J]. Genetics, 186(2): 757-761.
- Cong L, Ran F A, Cox D, et al. 2013. Multiplex genome engineering using Crispr/Cas systems[J]. Science, 339 (6121): 819-823.
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I. 2012. A programmable dual-RNA - guided dna endonuclease in adaptive bacteriophagogenetics[J]. Science, 337(6096): 816-821.
- Kim Y G, Cha J, Chandrasegarans S. 1996. Hybrid restriction enzymes: Zinc finger fusions to Fok1 cleavage domain [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 93: 1156-1160.
- Lee M S, Gippert G P, Soman K V, et al. 1989. Three-dimensional solution structure of a single zinc finger DNA-binding domain[J]. Science, 245(4918): 635-637.
- Scherer S, Davis R W. 1979. Replacement of chromosome segments with altered DNA sequences constructed in vitro[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 76(10): 4951-4955.
- Thomas K R, Folger K R, Capecchi M R. 1986. High frequency targeting of genes to specific sites in the mammalian genome [J]. Cell, 44(3): 419-428.
- Wood A J, Lo T W, Zeitler B, et al. 2011. Targeted genome editing across species using ZFNs and TALENs[J]. Science, 333(6040): 307.
- Zhang Y, Karen M, Godwin I D, et al. 2018. Applications and potential of genome editing in crop improvement. [J]. Genome Biology, 19(1): 210.

(责任编辑 任立刚)