

DOI: 10.13376/j.cblls/2018121

文章编号: 1004-0374(2018)09-1010-09



于建荣, 研究员, 中国科学院上海生命科学信息中心主任、上海市科技情报学会副理事长、上海市图书馆行业协会副会长等, 主要从事生命科学及相关学科领域的战略情报和学科情报研究。近三年来, 作为项目负责人和课题负责人承担科技部、中国科协、中国科学院、上海市科委等相关部委的项目/课题十余项, 作为主要研究人员参与项目/课题十余项。

国内外CRISPR/Cas9基因编辑专利技术发展分析

范月蕾, 王慧媛, 王恒哲, 于建荣*

(中国科学院上海生命科学信息中心, 上海 200031)

摘要: CRISPR/Cas9 是一种近年来备受瞩目的基因编辑工具, 在医疗、农业、环境等领域呈现出广阔的应用前景。该领域的专利作为技术信息的重要载体, 对于 CRISPR/Cas9 基因编辑工具的情报研究具有重要的意义。现通过分析德温特创新平台 DI 收录的 2005—2017 年的 CRISPR/Cas9 基因编辑技术相关专利, 对国内外 CRISPR/Cas9 基因编辑技术研究领域的专利发展情况与技术布局进行对比, 以了解国内外该领域的技术发展状况。

关键词: CRISPR; CRISPR/Cas9; 基因编辑; 专利; 技术布局

中图分类号: G353.11; Q789 **文献标志码:** A

Patent analysis on the development of domestic and foreign gene editing technologies

FAN Yue-Lei, WANG Hui-Yuan, WANG Heng-Zhe, YU Jian-Rong*

(Shanghai Information Center for Life Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: CRISPR/Cas9 is a kind of high-profile gene editing tool, which has a broad application prospect in medical treatment, agriculture, environment and so on. As an important carrier of technical information, patents in this field is of great significance for intelligence research of CRISPR/Cas9. This paper analyzes domestic and foreign patents of CRISPR/Cas9 gene editing technologies during priority years 2005-2017 from Derwent Innovation (DI), and compares the development trend and technical allocation at home and abroad in order to investigate the development status of CRISPR/Cas9 technologies.

Key words: CRISPR; CRISPR/Cas9; gene editing; patent; technical allocation

收稿日期: 2018-05-14

基金项目: 中国科学院学部研究项目“基因编辑伦理问题研究”(Y719I2A001)

*通信作者: E-mail: jryu@sibs.ac.cn

成簇的规律间隔的短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR) 发现于 1987 年, 是一种细菌和古细菌用于对抗入侵病毒和外源 RNA 的天然免疫系统^[1]。2012 年, 加州大学伯克利分校的 Jennifer Doudna 和维也纳大学的 Emmanuelle Charpentier 在 *Science* 杂志上发表论文首次揭示了 CRISPR/Cas9 系统用于基因编辑的巨大潜力, 证实了 CRISPR/Cas9 系统中 tracrRNA 与成熟的 crRNA 可通过碱基互补配对形成双链 RNA, 引导 Cas9 到达目标 DNA 进行定点剪切的作用机制, 并通过改造后的 CRISPR/Cas9 系统完成了 DNA 的精确切割, 为之后该技术在动植物细胞和人体细胞上的应用奠定了基础^[2] (相关专利申请于 2013 年, 申请号为 US201313842859A)。2013 年, Broad 研究所的张锋在 *Science* 杂志发文, 将 CRISPR/Cas9 技术用于人类细胞, 首次实现了该技术在哺乳动物细胞中的基因编辑, 极大地提升了该技术的适用范围^[3] (相关专利申请于 2013 年, 申请号为 US201314054414A)。随着 CRISPR/Cas9 基因编辑技术在全球实验室中的使用, 其廉价、便捷、通用性强的特点得到了学术界和产业界的广泛关注, 成为继锌指核酸酶 (zinc-finger nucleases, ZFN) 和转录激活因子样效应因子核酸酶 (transcription activator-like effector nucleases, TALEN) 后的第三代基因编辑技术, 并引发了持续至今的研究热潮^[4], 这一技术也于 2013 年和 2015 年两次入选 *Science* 评选的十大科学突破。

CRISPR/Cas9 基因编辑技术在基础研究、医药、农业、工业等领域表现出极大的应用潜力, 拥有其核心专利意味着巨大的商业价值^[5-6]。虽然 Broad 研究所的张锋与加州大学伯克利分校的 Jennifer Doudna 在该领域的专利之争以美国专利局不存在冲突 (no interference in fact) 的裁定暂时落下帷幕^[7], 但专利作为新技术知识产权最重要的保护手段, 对于快速发展的 CRISPR/Cas9 基因编辑技术尤为重要, 也是 CRISPR/Cas9 基因编辑技术研究的重要信息源。该技术领域的专利分析不仅有助于阐明技术的发展趋势和竞争格局, 还能帮助我国企业和机构规避潜在的知识产权纠纷以及可能带来的巨大损失。

因此, 本文基于科睿唯安公司 (Clarivate Analytics) 德温特创新平台 DI (Derwent Innovation) 为分析研究的基础数据源, 鉴于最具代表性的基因编辑技术 ZFN、TALEN 以及 CRISPR/Cas9 的应用研究均处

于或晚于 2005 年^[8-9], 因此, 检索时间范围为 2005 年 1 月 1 日—2017 年 12 月 31 日, 在标题/摘要 (TAB) 字段中以 “((clustered ADJ regularly ADJ interspaced ADJ short ADJ palindromic ADJ repeat*) or CRISPR) and Cas?” 作为检索式进行检索, 检索日期为 2018 年 5 月 7 日。借助 DDA 专利分析软件 (Derwent Data Analyzer)、Excel 等工具, 对全球与我国 CRISPR/Cas9 领域专利的发展情况进行调研, 并对重点机构与企业的专利技术进行个案分析, 以期为我国 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的发展与企业的技术布局提供参考。

1 CRISPR基因编辑技术专利总体态势分析

ZFN、TALEN 与 CRISPR/Cas9 相对于传统的同源重组与基因打靶技术实现了重大突破, 称为基因编辑领域的三大技术。因为相比于 ZFN 和 TALEN, CRISPR/Cas9 系统有着可用位置多、应用潜力大、操作方便等许多无可比拟的优点, 在 2013 年 CRISPR/Cas9 系统的作用机制与使用方法得以明确后, ZFN 和 TALEN 的技术应用呈现缓慢下降的趋势, 而 CRISPR/Cas9 系统则呈现爆发性增长。图 1 显示了三种基因编辑技术 2006—2017 年专利申请数量的逐年变化, 虽然基因编辑技术专利总量呈现持续增长 (因为数据库数据收录的延迟与专利申请至公开的审查时间, 2017 年专利数量下降的参考意义较小), 但近几年专利数量增长的主要贡献来源于 CRISPR/Cas9。2006—2017 年, 全球 CRISPR/Cas9 领域的专利申请量达到 3 727 件。CRISPR/Cas9 的专利申请最早出现于 2006 年, 2006—2012 年间共有 27 件与 CRISPR/Cas9 相关的专利申请, 但这些专利均未涉及 CRISPR/Cas9 在基因编辑领域的应用。2013 年, CRISPR/Cas9 的专利申请量暴增至 320 件, 2016 年达到 1 172 件, 超过了该年 ZFN 与 TALEN 技术领域专利申请量的总和, 2013—2016 年的年均增长率达到了 89%, 可见 CRISPR 基因编辑技术领域已成为机构与企业争抢的科学高地。

对通过数据库检索到的 CRISPR/Cas9 专利进行阅读, 发现 2013 年后 CRISPR/Cas9 的专利申请才涉及其在基因编辑领域的应用, 因此, 以下针对 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的专利分析起始年份定为 2013 年。

图 2 显示了全球与我国基因编辑技术 2013—2017 年专利申请数量的逐年变化。近年来, 我国在基因编辑科研领域表现突出, 包括使用 CRISPR/

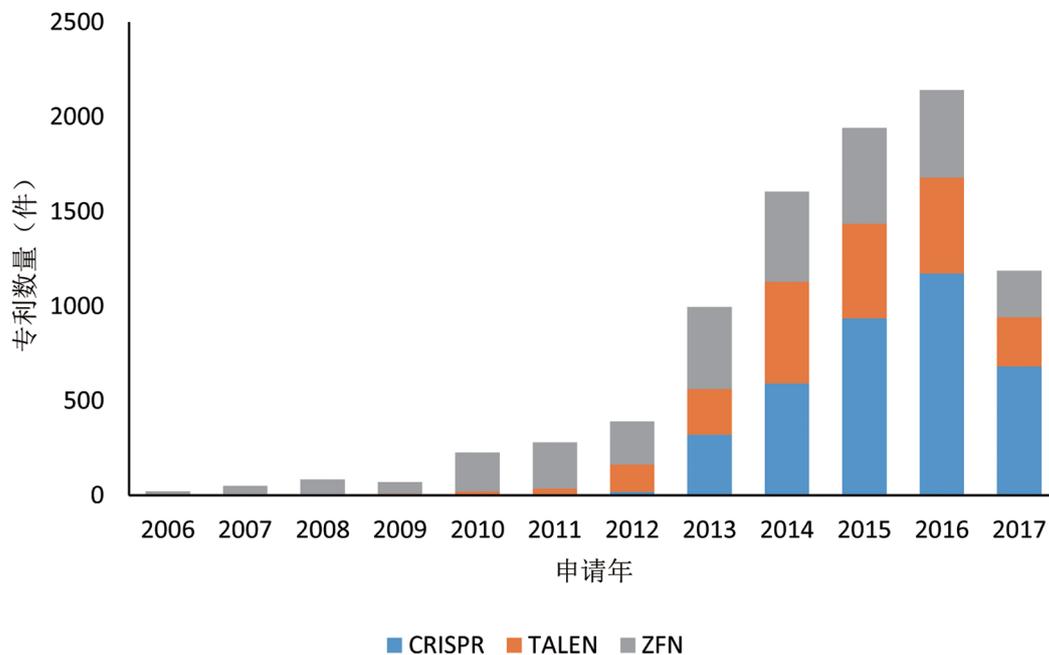


图1 三种基因编辑技术专利申请年度趋势

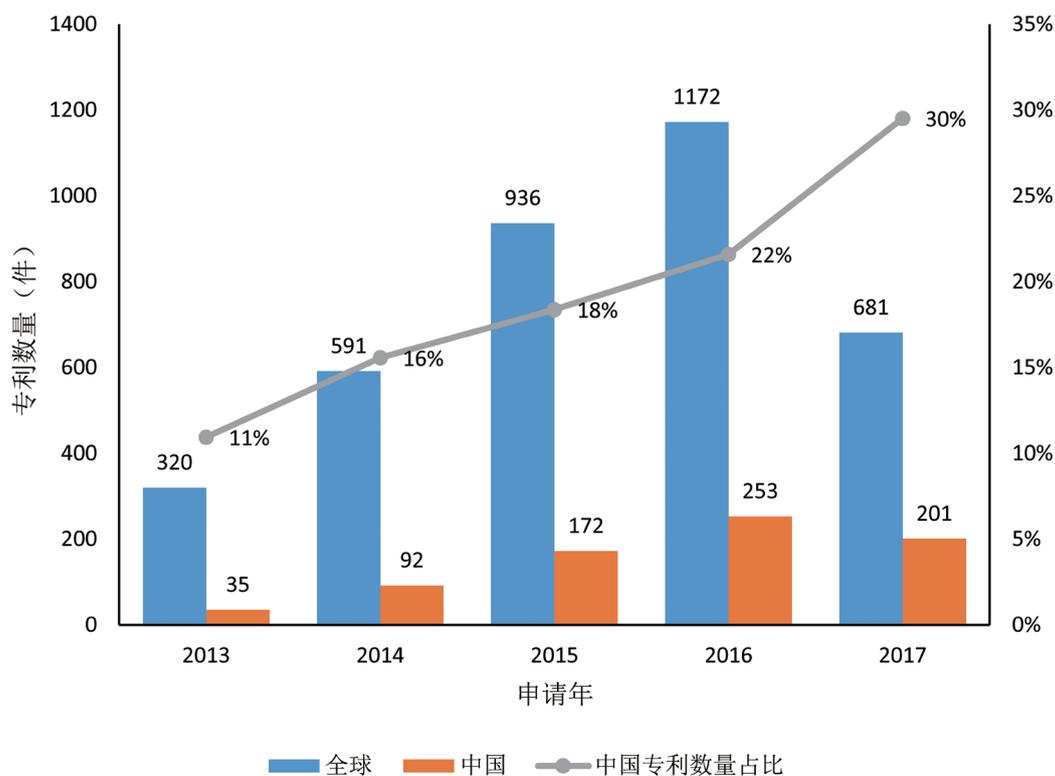


图2 三种基因编辑技术专利申请年度趋势

Cas9 系统首次成功实现对人类胚胎 DNA 修改的中山大学黄军就团队^[10]；在 CRISPR/Cas9 蛋白结构领域有重大成果，在国际顶尖期刊多次发表论文 (1 篇 *Nature*、3 篇 *Cell*) 的中国科学院生物物理研究所王艳丽团队等^[11]。在专利布局领域，我国与全

球在基因编辑领域的专利申请均呈现持续增长的趋势，且我国在全球该领域专利数量中的占比越来越大，2017 年达到了 30%。分析其中的原因，一方面源于我国在基因编辑领域的科研实力与知识产权保护意识不断增强，国内专利申请数量快速增长；

另一方面在于我国是全球该领域最重要的专利布局国家之一, 在医疗、农业、工业等应用领域, 我国均拥有着巨大的市场, 如 2013 年我国在 CRISPR/Cas9 基因编辑领域的 35 件专利申请中, 有 23 件专利是国外机构与企业申请的专利。

2 CRISPR基因编辑技术专利国家(地区)分布情况

表 1 显示了 CRISPR/Cas9 基因编辑技术 2013—2017 年 TOP10 申请国家(或地区)与优先权国家(或地区)。从申请国家来看, 我国与美国在专利数量上有较大优势, 是最主要的专利布局地区, 且我国超越美国成为全球最大的 CRISPR/Cas9 基因编辑技术专利申请国, 欧洲、澳大利亚、加拿大等国紧随其后。

然而, 从优先权国家来看, 美国拔得头筹, 且在专利数量上远远领先于其他国家(大约是排在第 2 位中国专利数量的 4 倍)。一般科研机构与企业会在其原创国家(或地区)优先申请专利, 因此优先权国家很多时候是技术的原创国, 结合 CRISPR/Cas9 基因编辑工具先驱研究机构均来自于美国的事实, 可见美国 CRISPR/Cas9 基因编辑技术领域的研发实力与创新能力在全球范围内具有绝对的优势。

3 CRISPR基因编辑技术专利权人分布情况

作为全球 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的领导者, 美国的机构与企业在基因编辑技术领域有着众多的核心专利。在图 3 显示的 2013—2017 年全球 CRISPR/Cas9 基因编辑领域 TOP20 专利权人中, 除

表1 CRISPR基因编辑技术TOP10申请国家/地区与优先权国家/地区

排名	申请国家/地区	专利数量(件)	优先权国家/地区	专利数量(件)
1	WIPO	944	美国	2 634
2	中国	707	中国	643
3	美国	621	英国	90
4	EPO	339	丹麦	74
5	澳大利亚	203	EPO	62
6	加拿大	190	WIPO	54
7	日本	151	日本	52
8	韩国	139	韩国	51
9	印度	77	芬兰	7
10	新加坡	65	印度	7

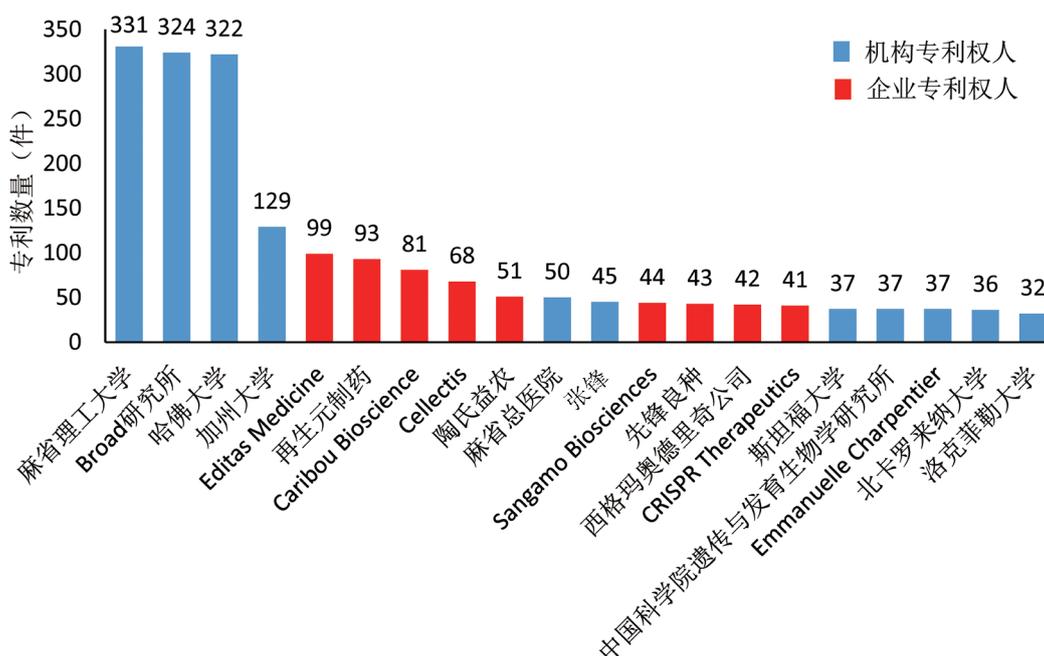


图3 2013—2017年全球CRISPR/Cas9基因编辑领域TOP20专利权人

了中国科学院遗传与发育生物学研究所外，全部是美国的高校、研究机构、企业以及科学家。值得注意的是，CRISPR/Cas9 基因编辑技术领域的先驱机构与个人在该领域拥有绝对的影响力。美国的加州大学(第4位)和 Broad 研究所(第2位)，以及 Broad 研究所首次实现 CRISPR/Cas9 基因编辑技术在哺乳动物细胞中应用的华人科学家张锋(第11位)，均在专利数量上具有优势。其中，Broad 研究所隶属于麻省理工大学(第1位)和哈佛大学(第3位)，张锋是 Editas Medicine 公司(第5位)的创办人，首位发现 CRISPR/Cas9 系统在基因编辑技术中应用潜力的加州大学科学家 Jennifer Doudna 和维也纳大学科学家 Emmanuelle Charpentier 是 Caribou Biosciences 公司(第7位)的创始人。

在前 20 名的专利权人中，共有 10 家高校与研究机构、1 位科学家以及 9 家企业，企业与机构的比例几乎达到了 1:1，可见企业在 CRISPR/Cas9 基因编辑技术布局上的积极性，其中包括生物医药企业 Editas Medicine、再生元制药、Cellestis 和 CRISPR Therapeutic，致力于基因编辑工具优化的 Caribou Bioscience、Sangamo Biosciences 和西格玛奥德里奇公司，以及农业科技企业陶氏益农和先锋良种。

对全球在 CRISPR/Cas9 基因编辑技术领域的主要专利权人(申请专利数量大于 30)绘制机构间

研究合作网络(图4)，发现专利权人间合作紧密，主要形成了两个主要的合作团体。第一个是以哈佛大学、麻省理工大学、Broad 研究所为首的合作团体，其合作者包括麻省总医院、洛克菲勒大学、Editas Medicine 等；第二个是加州大学为首的合作团体，其合作者包括维也纳大学、斯坦福大学等。可以鲜明看出两大团体在该领域的竞争。从合作网络图中可以看出，CRISPR/Cas9 基因编辑领域的产学研联动还未展开，合作主要存在于机构与机构间以及少量的企业与企业间(如 Sangamo Biosciences 与陶氏益农间的技术合作)。再生元制药、Caribou Bioscience、Cellestis 等该领域的重量级机构仍处于独立研发状态。

相比之下，我国在 CRISPR/Cas9 基因编辑技术领域的申请则以高校与研究机构为主，且很少申请国际专利。图 5 显示的 2013—2017 年我国 CRISPR/Cas9 基因编辑领域 TOP20 专利权人，除了麻省理工大学、Broad 研究所、哈佛大学等国外的研究机构与企业在中国的专利布局外，我国在该领域排名前 5 位的专利权人分别为中国农业大学、中国科学院遗传与发育生物学研究所、上海交通大学、北京大学和深圳市第二人民医院。值得注意的是，农业在我国基因编辑领域有较大的侧重。在我国的前 20 位专利权人中，中国农业大学(第1位)、西北

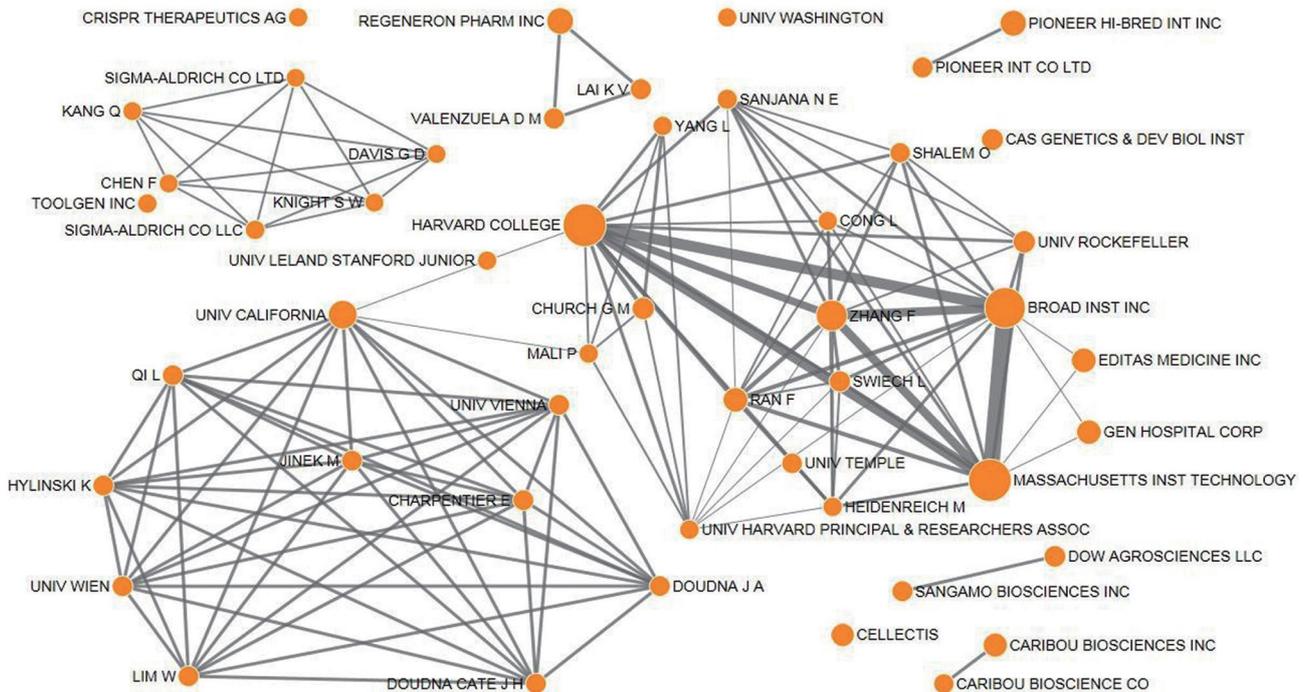


图4 全球CRISPR/Cas9基因编辑领域专利权人合作情况

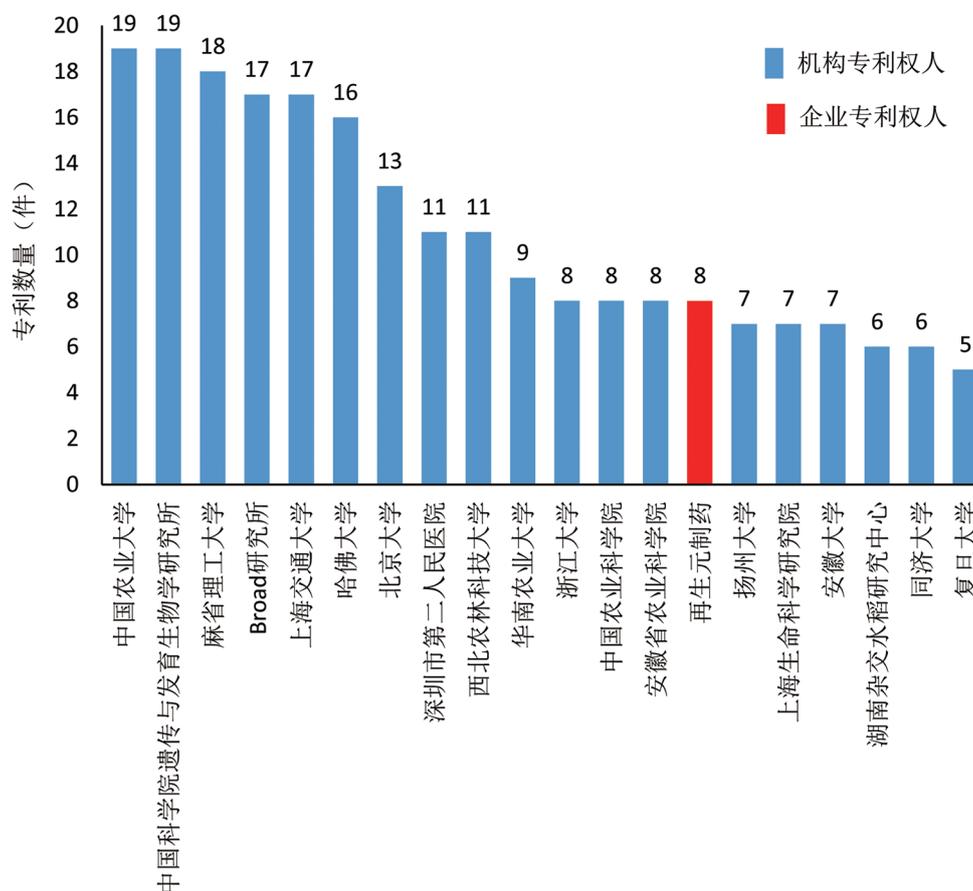


图5 2013—2017年我国CRISPR/Cas9基因编辑领域TOP20专利权人

农林科技大学(第9位)、华南农业大学(第10位)、中国农业科学院(第12位)、安徽省农业科学院(第13位)、湖南杂交水稻研究中心(第18位)在我国该领域的专利申请中占有重要的位置,可见基因编辑技术已成为我国作物育种和农业生物技术研发过程中的重要工具。

而从我国主要专利权人(申请专利数量大于3)之间的研发合作来看,我国在基因编辑领域的专利权人大多独立研究,高校与研究机构间鲜有合作(如图6)。一方面,我国在该领域尚处于起步阶段,机构与机构间、机构与企业间尚未形成相互作用、相互支撑、资源共享的机制;另一方面,我国的高校与研究机构的科学家创新创业的意识较淡薄,而张锋创立了Editas Medicine、Jennifer Doudna创立了Caribou Biosciences,科学家在基因编辑这类新兴技术领域创业是基础研究成果转向产业化流程的有效渠道。

4 CRISPR基因编辑专利权人技术布局分析

对全球CRISPR/Cas9基因编辑领域TOP10专

利权人共1308条专利进行研读,发现该领域的专利申请主要集中在三个方面,包括CRISPR/Cas9基因编辑工具的优化,该工具在细胞编辑领域的应用拓展,以及其在药物研发、疾病治疗、农业、工业等产业化领域的应用(图7)。

各专利权人在CRISPR/Cas9基因编辑领域有不同的研发侧重。因为CRISPR/Cas9工具仍需完善与优化才可放心地应用于产业,因此,工具优化与应用拓展是各专利人布局的重点。工具优化方面主要包括CRISPR/Cas9系统的优化、系统中核酸酶的优化、gRNA的设计、系统的递送系统即载体等领域。例如,加州大学采用一种嵌合Cas9蛋白、DNA靶向RNA以及蛋白结合片段组成的工具进行靶向DNA的修饰(申请号为GB1601071);再生元制药利用一种包含各种内源性或外源性核酸序列的大靶载体(LTVEC)结合CRISPR-Cas系统进行基因编辑(申请号为US14578291);麻省总医院通过工程化CRISPR/Cas9核酸酶改变和提升PAM特异性(申请号为US15060424)。应用拓展方面主要包括CRISPR/Cas9文库和筛选平台的建立,以及该工具

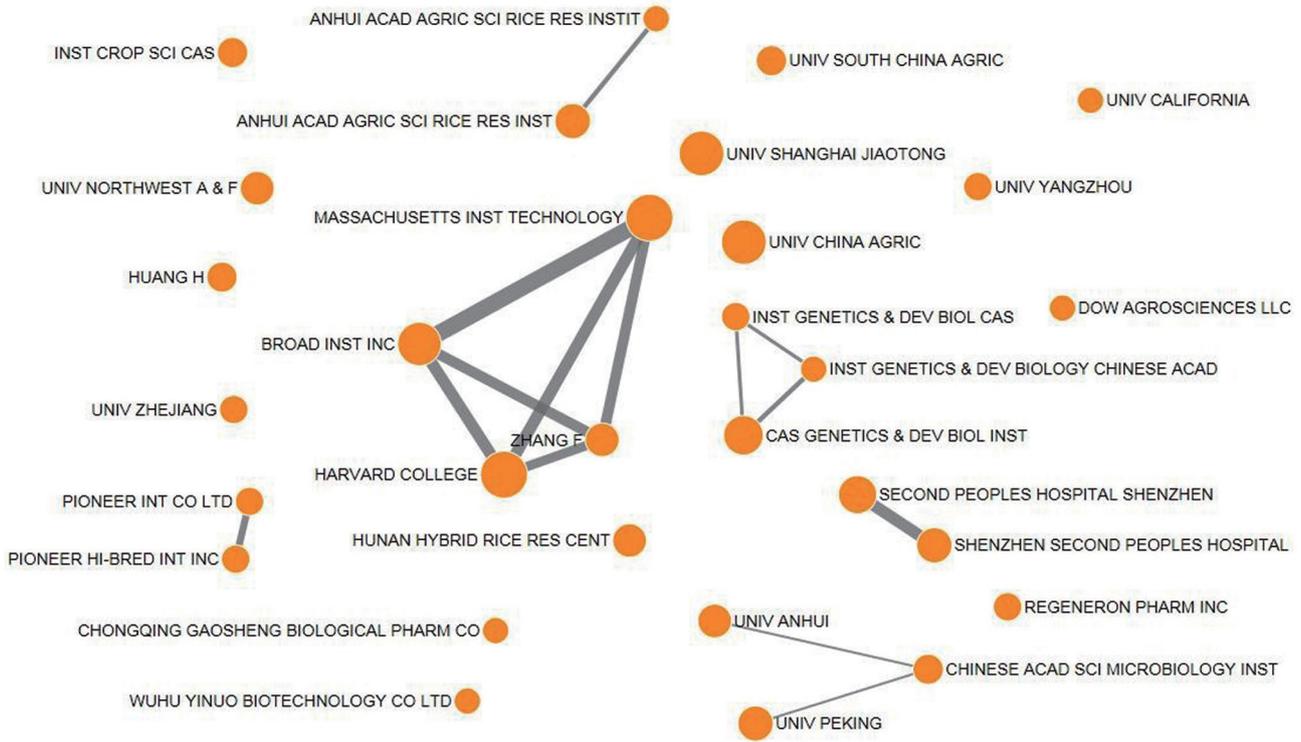


图6 我国CRISPR/Cas9基因编辑领域专利权人合作情况

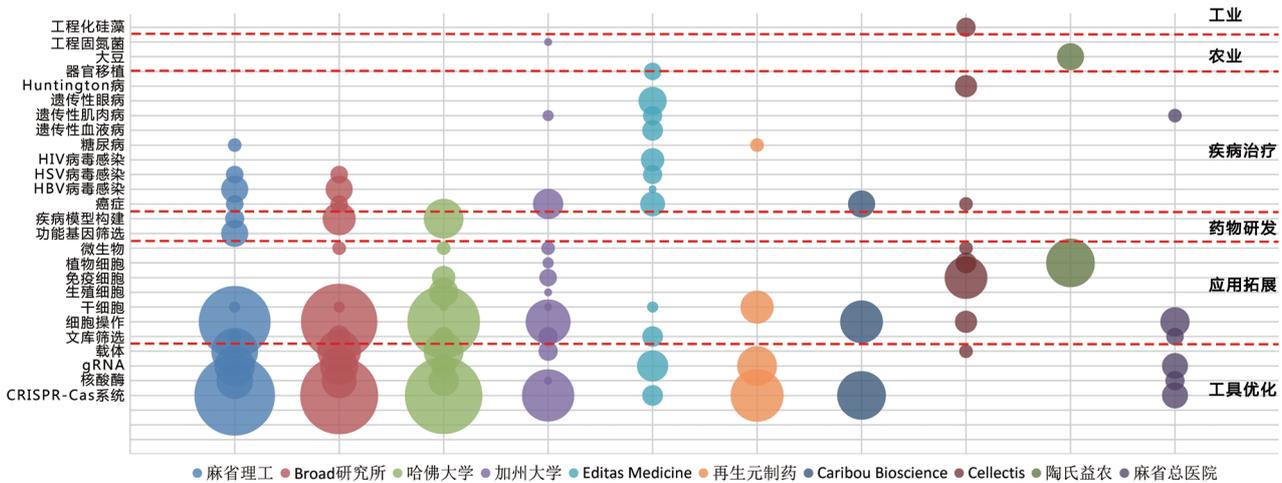


图7 全球CRISPR/Cas9基因编辑领域TOP10专利权人技术布局分析

在动物细胞层面，特别是在干细胞、生殖细胞、免疫细胞等领域的应用，在植物细胞以及微生物细胞层面应用潜能的挖掘。例如，Editas Medicine 将优化后的 CRISPR/Cas9 系统用于干细胞的基因编辑 (申请号为 EP16723617)；Celletis 采用 RNA 引导的 Cas 核酸酶系统工程化 T 细胞，从而将 CRISPR 基因编辑工具与 CAR-T 免疫治疗技术相结合 (申请号为 US14892934)。在产业化上的应用，各机构的研发侧重区分度最高，而疾病治疗是专利权人最

热衷于布局的领域。麻省理工大学、Broad 研究所、哈佛大学、Editas Medicine、再生元制药、Caibou Bioscience、Celletis 和麻省总医院在疾病治疗领域均有广泛的布局，其中 Editas Medicine 在该领域拥有的专利数量最多 (57 件专利)，涉足的疾病种类最广，包括癌症、乙肝病毒 (HBV) 感染、单纯疱疹病毒 (HSV) 感染、人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染、遗传性血液病 (镰状细胞病、β-地中海贫血等)、遗传性眼病 (先天性黑蒙、视网膜色素变性、原发

性开角型青光眼等)、Huntington 病、器官移植中的免疫排斥等多种目前缺乏特效药物及疗法的疾病。专利权人在应用拓展方面的专利与其产业化应用方面的专利紧密相连, 如 Celletis 在产业化应用领域专注于基因编辑工具与肿瘤免疫疗法的结合, 其在 T 细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞基因编辑的应用拓展方面相对于其他专利权人有更多的专利; 而作物育种领域的应用是陶氏益农对该工具主要的定位, 因此, 其应用拓展在植物细胞基因编辑领域更为侧重。

相比于全球的领跑机构, 我国各机构的研究侧重非常明晰(不重复考虑麻省理工大学、Broad 研究所和哈佛大学的技术布局, 只考虑我国高校与研究机构的技术布局情况)。我国的 CRISPR/Cas9 基因编辑技术研究更着重于其产业化领域的应用, 特别是该工具在农业领域的应用, 而对工具本身的研究较少(图 8)。其中, 中国农业大学着重于动物育种相关的基因编辑技术; 中国科学院遗传与发育生物学研究所、西北农林科技大学、华南农业大学、浙江大学、中国农业科学院以及安徽省农业科学院等 6 家机构均在植物育种方面重点布局, 如中国农业大学先后申请了 MC3R 基因敲除猪(申请号为 CN201610614586.X)、MC4R 基因敲除猪(申请号为 CN201610587597.3)、Fbxo40 基因敲除猪(申请号为 CN201610285534.2) 等 11 件与动物育种相关的专利; 中国科学院遗传与发育生物学研究所高彩霞团队申请了通过核苷酸定点替换获得抗草甘膦水稻(申请号为 CN201610670630.9) 等 19 件与作物育种相关的专利; 上海交通大学与北京大学在工具研究与应用领域均有涉猎, 尤其是上海交通大学吴强

团队专注于通过工程化核酸酶提升 CRISPR/Cas9 系统基因编辑的精准性, 相关专利达到 7 件; 深圳市第二人民医院则重点关注 CRISPR/Cas9 系统在动物模型构建中的价值, 拥有专利数量 10 件。可见, 我国在 CRISPR/Cas9 基因编辑技术领域已进行了广泛的布局。然而, 我国的研究侧重虽然有助于该技术的产业化应用, 却意味着我国在工具本身以及应用拓展方面的专利较少, 在未来的商业化过程中, 可能要依赖国外专利权人的专利进行实施, 从而产生相关技术许可与转让费用。

5 结语

从对国内外 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的专利分析可以看出, 自 CRISPR/Cas9 系统用于基因编辑的潜力得到揭示后, 从 2013 年开始, 全球 CRISPR/Cas9 基因编辑技术专利数量呈现爆发性的增长, 并且在未来一段时间内, 呈现持续走高的趋势。CRISPR/Cas9 编辑技术比较活跃的国家包括中国、美国、欧盟、日本等相关国家和地区, 其中美国作为该项技术发源地在该技术领域具有绝对的优势和影响力。中国虽然在专利申请数量上超过美国, 但有一部分专利来源于其他国家在该领域的技术布局, 而非我国自身的科技创新成果。基因编辑作为生命科学领域的重大突破, 也是我国希望积极争取的科研高地, 我国的《“十三五”国家战略性新兴产业发展规划》、《“十三五”国家科技创新规划》都将基因编辑列为重点发展的领域, 可以看到, 我国在该领域的专利数量水涨船高, 越来越多的机构与企业加入到 CRISPR/Cas9 基因编辑的技术研发中。然而, 与其他国家, 尤其是美国对比后发现,

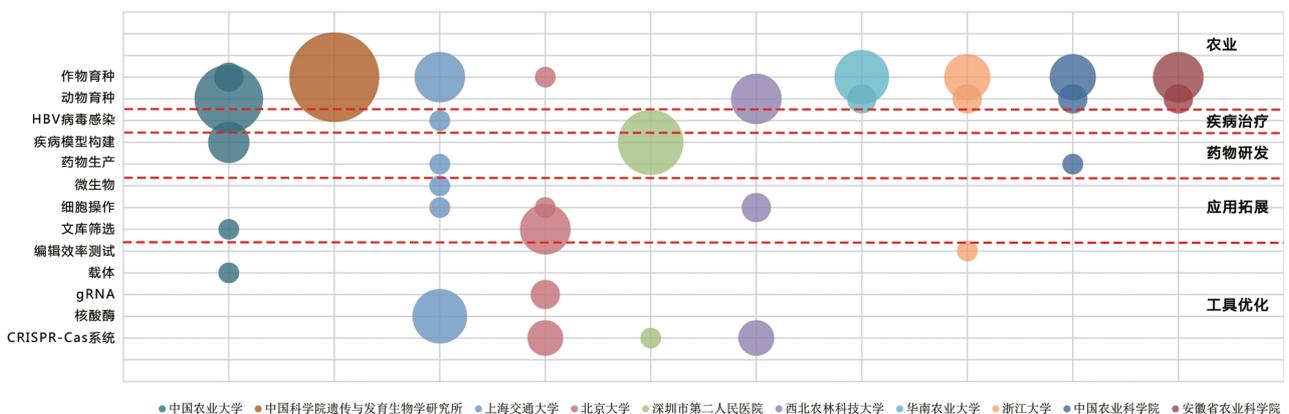


图8 我国CRISPR/Cas9基因编辑领域TOP10专利权人技术布局分析 (不考虑麻省理工大学、Broad研究所和哈佛大学)

我国本土专利数量上具有优势的专利权人清一色是高校与研究机构，且几乎只在中国国内申请专利，因此在知识产权的保护程度上，中国本土机构与国外领先机构之间仍存在差距。此外，我国与美国在技术布局上也有明显区别。美国在 CRISPR/Cas9 基因编辑工具及细胞应用领域有着较多的基础专利，在产业化领域的研究中，疾病治疗是美国最关心的领域；而我国的 CRISPR/Cas9 基因编辑专利更侧重于该工具在作物育种与动物育种中的应用，虽然在 CRISPR/Cas9 工具的优化、系统中核酸酶和载体的改造与模式动物的构建等研究领域也有涉猎，但整体来看，专利数量并不占优势。从我国发表的期刊论文来看，我国对于基因编辑工具已有较多的基础研究成果，也不乏基因编辑在疾病研究领域的文章，因此，我国机构与企业仍需进一步加强知识产权保护意识，在论文发表之前，先在相关领域进行专利布局，占得先机，切实研发该领域的核心技术，减少对国外技术的依赖程度，同时积极推动企业的技术研发与产品的临床研究，为该技术未来在我国的产业化应用打下基础。

[参 考 文 献]

- [1] Ishino Y, Shinagawa H, Makino K, et al. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol*, 1987, 169: 5429-33
- [2] Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 2012, 337: 816-21
- [3] Cong L, Ran FA, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 2013, 339: 819-23
- [4] Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*, 2014, 157: 1262-78
- [5] Sovova T, Kerins G, Demnerova K, et al. Genome editing with engineered nucleases in economically important animals and plants: state of the art in the research pipeline. *Curr Issues Mol Biol*, 2017, 21: 41-61
- [6] Brinegar K, Yetisen AK, Choi S, et al. The commercialization of genome-editing technologies. *Crit Rev Biotechnol*, 2017, 37: 924-32
- [7] Wojtala JW, Briggs J. The importance of CRISPR-9 due diligence. *Biotechnol Law Rep*, 2017, 36: 167-74
- [8] Lloyd A, Plaisier CL, Carroll D, et al. Targeted mutagenesis using zinc-finger nucleases in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 2232-7
- [9] Boch J, Scholze H, Schornack S, et al. Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science*, 2009, 326: 1509-12
- [10] Liang PP, Ding CH, Sun HW, et al. Correction of β -thalassemia mutant by base editor in human embryos. *Protein Cell*, 2017, 8: 811-22