

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号  
特許第5852969号  
(P5852969)

(45) 発行日 平成28年2月3日(2016.2.3)

(24) 登録日 平成27年12月11日(2015.12.11)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 F 9/007 (2006.01)

A 6 1 F 9/007 1 9 〇 Z

A 6 1 F 9/007 1 9 〇 A

請求項の数 15 (全 69 頁)

(21) 出願番号	特願2012-555211 (P2012-555211)	(73) 特許権者	508298488
(86) (22) 出願日	平成23年2月28日 (2011.2.28)		コーネル ユニヴァーシティー
(65) 公表番号	特表2013-521017 (P2013-521017A)		アメリカ合衆国ニューヨーク州14850
(43) 公表日	平成25年6月10日 (2013.6.10)		, イサカ, パイン ツリー ロード
(86) 国際出願番号	PCT/US2011/026526		395, スイート 310, センター
(87) 国際公開番号	W02011/106783		フォー テクノロジー ライセンシング
(87) 国際公開日	平成23年9月1日 (2011.9.1)		, アット コーネル ユニヴァーシティー
審査請求日	平成26年1月21日 (2014.1.21)		ー
(31) 優先権主張番号	61/308,681	(74) 代理人	100092093
(32) 優先日	平成22年2月26日 (2010.2.26)		弁理士 辻居 幸一
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100082005
(31) 優先権主張番号	61/359,188		弁理士 熊倉 禎男
(32) 優先日	平成22年6月28日 (2010.6.28)	(74) 代理人	100067013
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 大塚 文昭

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 人工網膜

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

エンコーダで、一連の画像に相当する画像データを受け取る段階と、  
前記エンコーダによって、前記画像データを処理して、エンコードされたデータを生成する段階と

を含み、

前記エンコーダは、自然情景刺激に応答して、網膜の1以上の網膜細胞の入出力変換を実質的に模倣する入出力変換を行い、

試験入力刺激と、該試験入力刺激に応答して前記エンコーダによって生成された前記エンコードされたデータから再構成された対応する刺激との間のピアソンの相関係数が、少なくとも0.35である、

ことを特徴とする方法。

【請求項2】

前記画像データを処理して、エンコードされたデータを生成する段階は、

前記画像データを処理して、複数の値Xを生成する段階と、

前記複数の値Xを、前記網膜内の網膜細胞mの対応する応答を示す複数の応答値<sub>m</sub>に変換する段階と、

前記応答値に基づいて前記エンコードされたデータを生成する段階であって、

前記応答値を修正し、スパイクバーストを防ぐことを含み、段階と

を含む、

ことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記応答値は、網膜細胞発火率に対応し、

前記方法は、前記網膜細胞発火率に基づいて、スパイク列信号を生成する段階を更に含む、

ことを特徴とする請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記応答値は、前記網膜細胞発火率の関数に対応する、

ことを特徴とする請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記応答値は、網膜細胞出力パルス及び網膜細胞起動電位のうち少なくとも 1 つに対応する、

ことを特徴とする請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

前記画像データを処理して、エンコードされたデータを生成する段階は、

前記画像データから画像を受け取り、各画像に対して、輝度又はコントラストを再スケールリングして、再スケールリングされた画像ストリームを生成する段階と、

前記再スケールリングされた画像ストリームから N 個の再スケールリングされた画像の集合を受け取り、時空間変形を前記 N 個の再スケールリングされた画像の集合に適用して、網膜応答値の集合を生成する段階であって、前記集合における網膜応答値の各々は、前記網膜細胞の各々に対応する、段階と、

前記網膜応答値に基づいて前記エンコードされたデータを生成する段階とを含むことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記応答値は網膜細胞発火率を含み、N は少なくとも 5 である、

ことを特徴とする請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記時空間変形を前記 N 個の再スケールリングされた画像の集合に適用することは、

前記 N 個の再スケールリングされた画像を時空的カーネルで畳み込んで、N 個の時空間変形画像を生成する段階と、

非線形関数を前記時空間変形画像に適用して、前記応答値の集合を生成する、

ことを特徴とする請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

前記時空間変形を前記 N 個の再スケールリングされた画像の集合に適用することは、

前記 N 個の再スケールリングされた画像を空間カーネルで畳み込んで、N 個の空間変形画像を生成する段階と、

前記 N 個の空間変形画像を時間カーネルで畳み込んで、N 個の時間変形画像を生成する段階と、

非線形関数を前記時間変形画像に適用して、前記応答値の集合を生成する、

ことを特徴とする請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記エンコードは、パラメータの集合により特徴付けられ、前記パラメータの集合は、哺乳類動物の網膜が白色ノイズや自然情景刺激に曝されている間に、前記網膜から実験的に得られる応答データを使用して判断される、

ことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記エンコードは、試験入力刺激と、該試験入力刺激に応答して前記エンコードによって生成された前記エンコードされたデータから再構成された対応する刺激との間の前記ピアソンの相関係数は、少なくとも約 0.65 である、

ことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1 2】

前記エンコーダは、試験入力刺激と、該試験入力刺激に応答して前記エンコーダによって生成された前記エンコードされたデータから再構成された対応する刺激との間の前記ピアソンの相関係数は、少なくとも約 0.95 である、

ことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 1 3】

前記試験入力刺激は一連の自然情景を含む、

ことを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

## 【請求項 1 4】

視力を、それを必要とする被検者において回復又は改善するためのシステムにおいて、  
刺激を受け取るためのデバイスと、

処理デバイスであって、

個々の網膜細胞の各々の入出力変換を模倣するように構成された 1 組のコードを前記刺激から生成するための 1 組のエンコーダを記憶する記憶媒体と、

少なくとも 1 つのプロセッサと、

前記コードを記憶する記憶媒体と、

を含む処理デバイスと、

前記コードを出力に変換するためのインタフェースと、

各々の網膜細胞を個別に活性化するための高解像度光応答トランスデューサと、

を含み、

前記高解像度光応答トランスデューサは、前記出力に基づいて前記各々の網膜細胞を活性化するために、前記インタフェースに接続され、

前記各々の網膜細胞を個別に活性化することは、白色ノイズ刺激を含む広範囲の刺激に対する網膜神経節細胞反応をもたらす、該網膜神経節細胞反応は、同じ刺激に対する正常な網膜からの網膜神経節細胞の応答と実質的に類似である、

ことを特徴とするシステム。

## 【請求項 1 5】

コンピュータ実行可能命令持続性コンピュータ可読媒体において、

網膜内の少なくとも 1 つの細胞を活性化するために、刺激に対応する信号に従って少なくとも 1 つのトランスデューサを制御し、正常な網膜の前記刺激に対する応答と実質的に類似する応答を生成するための命令を含み、

前記信号は 1 組のコードを含み、

前記 1 組のコードを使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率が、正常な網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率の少なくとも 35 パーセントである、

ことを特徴とする持続性コンピュータ可読媒体。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

〔関連出願への相互参照〕

本出願は、米国特許仮出願第 61/308,681/号(2010年2月26日出願)、第 61/359,188 号(2010年6月28日出願)、第 61/378,793 号(2010年8月31日出願)、及び第 61/382,280 号(2010年9月13日出願)の「35 U.S.C. § 119(e)」の下での恩典を請求するものである。

## 【0002】

〔連邦政府委託研究又は開発に関する陳述〕

本発明は、国立衛生研究所(NIH)により付与された GM0779 及び国立眼学研究所により付与された FEY019454A の下で米国政府の支援で行われたものである。米国政府は、本発明においてある一定の権利を有する。

## 【0003】

10

20

30

40

50

本発明は、視力を回復又は改善し、かつ盲目又は視覚障害を治療する方法及びデバイスに関する。特に、本発明は、網膜細胞にターゲットを定めた高解像度トランスデューサと共に、正常又は正常に近い網膜出力を生成する１組のエンコーダを使用して視力を回復又は改善する方法及びデバイスに関する。

#### 【背景技術】

##### 【０００４】

人工網膜は、米国で合わせて２百万人（Friedman他、２００４年、Chader他、２００９年）、及び世界中で２千５百万人（Chopdar他、２００３年）に影響を与えている年齢に関連する黄斑変性（AMD）及び網膜色素変性症（RP）のような網膜変性疾患の患者をターゲットにしている。両方の疾患において、変性するのはAMDでは錐状体及びRPでは桿状体である網膜の入力側である。

10

##### 【０００５】

この人工器官がターゲットとするのは、視覚化情報が脳にもう一度到達することができるように変性組織をバイパスして生存細胞を刺激することである。人工器官の主なターゲットは、網膜神経節細胞及び網膜双極細胞である（Loewenstein他、２００４年、Gerdning他、２００７年、Winter他、２００７年、Lagali他、２００８年、Chader他、２００９年、Zrenner他、２００９年、Thyagarajan他、２０１０年）。

##### 【０００６】

現在では、人工網膜の主要な方策は、双極細胞又は神経節細胞のいずれかのすぐ近くにある患者の網膜内への電極アレイの移植を伴っている（Gerdning他、２００７年、Winter他、２００７年、Chader他、２００９年、Zrenner他、２００９年）。患者には、次に、画像を撮像して電子信号に変形するカメラ／信号処理デバイスを装着させ、信号は、その後電極に伝えられ、電極は、細胞を刺激する（Chader他、２００９年）におけるレビュー）。患者は、何らかの光を見ることができるが、デバイスの性能は依然としてかなり限られたものであり、患者は、例えば、点及び縁部を見ることができ（Nanduri他、２００８年、Chader他、２００９年）、これは、ナビゲーション及び大雑把な特徴の検出に向けて何らかの機能を提供するが、正常な視力に近いものは可能になっていない。ナビゲーションに関して、患者は、出入口、窓、及び灯火のような光源を検出することができる。形状の検出に関して、患者は、物体又は文字をそれらが～７°の視角に及ぶ場合に識別することができ（Zrenner他、２００９年）、これは、約２０／１４００の視力に対応する（２０／２００が、殆どの地域で法的盲の視力定義である）。

20

30

##### 【０００７】

電極ベースの人工網膜を改善する努力は、主としてそれらの解像力の増大のためのものであり、電極のサイズの低減及びアレイにおけるその密度の増大に着目されており（Chader他、２００９年）、現時点では、電極は、直径が５０～４５０ミクロンの範囲であり（Kelly他、２００９年、Zrenner他、２００９年、Ahuja他、２０１０年）、これは、網膜細胞のサイズの１０～１００倍である。解像力の何らかの増加があるが、現在の技術では、正常な網膜の解像力は達成されておらず、その理由は、電極で個々の細胞を刺激することがまだ实际的ではなく、かつ技術的な問題点が厳しいからであり、すなわち、電極の微小化には、より多くの電流が必要であり、それによって組織焼損が発生する（人工網膜に関する最近の会議の表題及び議題を参照されたい：「眼及びチップ２０１０：２０１０年、特に神経人工器官デバイスに関する網膜刺激安全性に関して」）。

40

##### 【０００８】

電極による細胞の刺激の代替として、光遺伝学が利用される。光遺伝学による手法は、神経節細胞又は双極細胞におけるチャンネルロドプシン-２（ChR2）又はその派生物の１つのような蛋白質の発現が伴っている。ChR2は、光感受性であり、それを発現する細胞は、光活性化の下で電圧が変化し、それによって細胞は、電気信号を送ることがで

50

きる (Bi 他、2006 年、Lagali 他、2008 年、Zhang 他、2009 年、Tomita 他、2010 年)。この手法は、遥かに高い解像力の可能性を提供し、細胞は、原理上は個別に刺激することができる。動物実験では高解像度の可能性が実在することが明らかにされているが、正常に近い視力又は部分的に正常な視力さえも、その達成は、当業技術のいくつかの論文に示すように為されていない (Bi 他、2006 年、Lagali 他、2008 年、Zhang 他、2009 年、Thyagarajan 他、2010 年、Tomita 他、2010 年)。

#### 【0009】

先行する手法のいずれも、網膜から脳への内因性信号送信に酷似する方法による刺激物 (電極又はチャンネルロドプシンのいずれか) の駆動には殆ど注目していない。内因性網膜信号送信は複雑である。正常な網膜が画像を受像した時に、それは、画像に一連の作業を実施し、すなわち、それは、画像から情報を抽出し、脳が読むことができるコードに情報を変換する。

#### 【0010】

現在の電極ベースのデバイスに使用される信号処理は、網膜よりも遥かに簡単であり、例えば、それらは、画像内の各点での光の強度を線形スケールでパルス繰返し数に変換するだけである (Loewenstein 他、2004 年、Fried 他、2006 年、Zhang 他、2009 年、Ahuja 他、2010 年)。このために、これらのデバイスによって生成された網膜出力は、正常な網膜出力と非常に異なり、脳は、1つのコードで信号を予想し、別のコードで信号を取得している。

#### 【0011】

現在の光遺伝子学による手法も同様に限られたものである。それらを改善する努力は、主としてチャンネルロドプシンの特性を開発する (例えば、光に対するその感度を増大させてその動力学特性を変える) ことに着目しており、内因性網膜信号処理の模倣には有意な努力が払われていない (Bi 他、2006 年、Lagali 他、2008 年、Zhang 他、2009 年、Thyagarajan 他、2010 年、Tomita 他、2010 年)。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0012】

【特許文献 1】欧州特許出願第 19891976 号明細書

【特許文献 2】米国特許公開第 20070261127 号明細書

【特許文献 3】米国特許第 5,856,152 号明細書

【特許文献 4】米国特許第 5,871,982 号明細書

【特許文献 5】米国特許公開第 20100272688 号明細書

【特許文献 6】米国特許公開第 20090088399 号明細書

【特許文献 7】米国特許公開第 20100272688 号明細書

【特許文献 8】米国特許第 6533798 号明細書

【特許文献 9】米国特許第 7149586 号明細書

【特許文献 10】米国特許公開第 20080249588 号明細書

【特許文献 11】米国特許公開第 20090326623 号明細書

【特許文献 12】米国特許公開第 20080221653 号明細書

【特許文献 13】WO2000/015822 号

【特許文献 14】WO1996/013598 号

【特許文献 15】WO1998/048027 号

【特許文献 16】WO2002/082904 号

【特許文献 17】WO2001/094605 号

【特許文献 18】WO2002/082904 号

【特許文献 19】WO2003/047525 号

【特許文献 20】WO2003/080648 号

10

20

30

40

50

【特許文献 2 1】WO 2 0 0 3 / 0 9 3 4 7 9 号

【特許文献 2 2】WO 2 0 0 3 / 1 0 4 4 1 3 号

【特許文献 2 3】WO 2 0 0 5 / 0 8 0 5 7 3 号

【特許文献 2 4】WO 2 0 0 7 / 1 2 7 4 2 8 号

【特許文献 2 5】WO 2 0 1 0 / 0 1 1 4 0 4 号

【非特許文献】

【0 0 1 3】

【非特許文献 1】Ahuja A, Dorn J, Caspi A, McMahon M, Dagnelie G, Dacruz L, Stanga P, Humayun M, Greenberg R (2010) Blind subjects implanted with the Argus II retinal prosthesis are able to improve performance in a spatial-motor task. *Br J Ophthalmol*. 10

【非特許文献 2】Arenkiel et al., In vivo light-induced activation of neural circuitry in transgenic mice expressing channelrhodopsin-2. *Neuron* (2007) 54(2): 205-18.

【非特許文献 3】Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, 1989

【非特許文献 4】Bach, M et al (2008) Visual evoked potential-based acuity assessment in normal vision, artificially degraded vision, and in patients. *Br J Ophthalmol* 92:396-403

【非特許文献 5】Barnstable et al., Thy-1 antigen: a ganglion cell specific marker in rodent retina. *Neuroscience* (1984) 11(4): 847-55. 20

【非特許文献 6】Bi A, Cui J, Ma Y-P, Olshevskaya E, Pu M, Dizhoor AM, Pan Z-H (2006) Ectopic expression of a microbial-type rhodopsin restores visual responses in mice with photoreceptor degeneration. *Neuron* 50:23-33.

【非特許文献 7】Bomash I, Roudi Y, Nirenberg S. (2010) A virtual retina that works on a broad array of stimuli including natural scenes: A tool to simplify the problem of population coding. *Society for Neuroscience. Program No. 891.5.*

【非特許文献 8】Bookstein R et al (1990) Promoter deletion and loss of retinoblastoma gene expression in human prostate carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (19):7762-7766 30

【非特許文献 9】Busskamp V, et al (2010) Genetic reactivation of cone photoreceptors restores visual responses in retinitis pigmentosa. *Science* 329:413-417.

【非特許文献 1 0】Cai et al. (2010) Gene delivery to mitotic and postmitotic photoreceptors via compacted DNA nanoparticles results in improved phenotype in a mouse model of retinitis pigmentosa. *FASEB J*. 24: 1178-1191.

【非特許文献 1 1】Campagnola L, Wang H, Zylka MJ. (2008) Fiber-coupled light-emitting diode for localized photostimulation of neurons expressing channelrhodopsin-2. *Journal of Neuroscience Methods*. 169:27-33.

【非特許文献 1 2】Cardin JA, et al (2010) Targeted optogenetic stimulation and recording of neurons in vivo using cell-type-specific expression of Channelrhodopsin-2. *Nat Protoc* 5(2): 247-54. 40

【非特許文献 1 3】Chader GJ, Weiland J, Humayun MS (2009) Artificial vision: needs, functioning, and testing of a retinal electronic prosthesis. *Prog Brain Res* 175:317-332.

【非特許文献 1 4】Chiappa, K. (1997) *Evoked Responses in Clinical Medicine*, Third Edition, Lippincott-Raven

【非特許文献 1 5】Chichilnisky EJ. (2001) A simple white noise analysis of neuronal light responses. *Network* 12(2): 199-213

【非特許文献 1 6】Chopdar A, Chakravarthy U, Verma D (2003) Age related macular degeneration. *BMJ* 326:485-488. 50

- 【非特許文献 1 7】Cover T and Thomas J. (2006) Elements of Information Theory, 2nd Edition. Hoboken, NJ: Wiley
- 【非特許文献 1 8】Dann JF, Buhl EH. (1987) Retinal ganglion cells projecting to the accessory optic system in the rat. *J Comp Neurol* 262(1): 141-58.
- 【非特許文献 1 9】Dedek K, et al (2008) Ganglion cell adaptability: does the coupling of horizontal cells play a role? *PLoS One*. 3(3):e1714.
- 【非特許文献 2 0】Douglas RM et al (2005) Independent visual threshold measurements in the two eyes of freely moving rats and mice using a virtual-reality optokinetic system. *Vis Neurosci*. 22(5):677-84.
- 【非特許文献 2 1】Duda RO, Hart PE (2001) Pattern Classification (2nd Edition) 10  
Wiley, NY,
- 【非特許文献 2 2】Enroth-Cugell et al., (1966) The contrast sensitivity of retinal ganglion cells of the cat. *J Physiol* 187(3): 517--52.
- 【非特許文献 2 3】Famulare M, Fairhall A. (2010) Feature selection in simple neurons: how coding depends on spiking dynamics. *Neural Comput* 22(3): 581-98
- 【非特許文献 2 4】Field et al., (2007) Information processing in the primate retina: circuitry and coding. *Annu Rev Neurosci* 30: 1--30.
- 【非特許文献 2 5】Fitzgerald et al. (1994) Retinal signal transmission in Duchenne muscular dystrophy. *J Clin Invest* 93: 2425-30.
- 【非特許文献 2 6】Foley JM, Legge GE (1981) Contrast detection and near-threshold discrimination in human vision. *Vision Res*. 21(7):1041-53. 20
- 【非特許文献 2 7】Fried S, Werblin F, McMahon MJ (2006) US Pat. 2006/0129207 Mimicking neural coding in retinal ganglion cells with short pulse electrical stimulation. In: (US, ed).
- 【非特許文献 2 8】Friedman DS, O'Colmain BJ, Munoz B, Tomany SC, McCarty C, de Jong PTVM, Nemesure B, Mitchell P, Kempen J, Eye Diseases Prevalence Research Group (2004) Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol* 122:564-572.
- 【非特許文献 2 9】Gerding H, Benner FP, Taneri S (2007) Experimental implantation of epiretinal retina implants (EPI-RET) with an IOL-type receiver unit. *J Neural Eng* 4:S38-49. 30
- 【非特許文献 3 0】Giolli RA, Blanks RHI, Lui F. (2005) The accessory optic system: basic organization with an update on connectivity, neurochemistry, and function. *Prog Brain Res* 151: 407-40.
- 【非特許文献 3 1】Golan L, Reutsky I, Farah N & Shoham S. (2009) Design and characteristics of holographic neural photo-stimulation systems, *Journal of Neural Engineering* 6 066004, (2009)
- 【非特許文献 3 2】Graham-Rowe D (2009) A Brighter Future for Retinal Implants. In: Technology Review, <http://www.technologyreview.com/biomedicine/23539/>. Boston, MA: MIT. 40
- 【非特許文献 3 3】Grinstead CM and Snell JL (1997) Introduction to Probability. American Mathematical Society; 2nd Revised edition
- 【非特許文献 3 4】Grossman N, Poher V, Grubb MS, Kennedy GT, Nikolic K, McGovern B, Palmini RB, Gong Z, Drakakis EM, Neil, MAA, Dawson MD, Burrone J, Degenaar P. (2010) Multi-site optical excitation using ChR2 and micro-LED array. *J. Neural Eng*, 7(1):1-13.
- 【非特許文献 3 5】Han et al, (2009), Millisecond-Timescale Optical Control of Neural Dynamics in the Nonhuman Primate Brain, *Neuron* 62, 191-198.
- 【非特許文献 3 6】Hand DJ. (1981) Discrimination and classification. Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics. 50

【非特許文献 3 7】Huberman AD, Manu M, Koch SM, Susman MW, Lutz AB, Ullian EM, Barres BA (2008) Architecture and activity-mediated refinement of axonal projections from a mosaic of genetically identified retinal ganglion cells. *Neuron*. 2008 Aug 14;59(3):425-38.

【非特許文献 3 8】Huberman AD, Wei W, Elstrott J, Stafford BK, Feller MB, Barres BA (2009) Genetic Identification of an On-Off Direction-Selective Retinal Ganglion Cell Subtype Reveals a Layer-Specific Subcortical Map of Posterior Motion. *Neuron*. 62(3):327-334.

【非特許文献 3 9】Izhikevich EM (2007) Dynamical systems in neuroscience: the geometry of excitability and bursting. Cambridge, MA: MIT Press

【非特許文献 4 0】Izhikevich EM (2010) Hybrid spiking models. Review. *Phil. Trans. R. Soc. A* (2010) 368, 5061-5070

【非特許文献 4 1】Jacobs AL et al (2009) Ruling out and ruling in neural codes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106(14):5936-41.

【非特許文献 4 2】Jeffreys, Harold (1961). The Theory of Probability. The Oxford University Press.

【非特許文献 4 3】Kass RE, Ventura V, Brown EN. (2005) Statistical issues in the analysis of neuronal data. *J Neurophysiol* 94(1): 8-25.

【非特許文献 4 4】Kawasaki et al., Variability of the relative afferent pupillary defect. *Am J Ophthalmol* (1995). 120: 622-633.

【非特許文献 4 5】Kay MA, Glorioso JC, Naldini L. (2001) Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nat Med*. 7(1):33-40. Review.

【非特許文献 4 6】Kelly S, Shire D, Chen J, Doyle P, Gingerich M, Drohan W, Theogarajan L, Cogan S, Wyatt J, Rizzo JI (2009) Realization of a 15-channel, hermetically-encased wireless subretinal prosthesis for the blind. In, pp 200--203.

【非特許文献 4 7】Kibbel S, Harscher A, Wrobel W-G, Zrenner E, Rothermel A (2009) Design and Performance of an improved active subretinal chip. In: World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, September 7 - 12, 2009, Munich, Germany (Kim SI, Suh TS, Dossel O, Schlegel WC, eds), pp 192-195: Springer Berlin Heidelberg.

【非特許文献 4 8】Koilkonda RD, Hauswirth WW, Guy J. (2009) Efficient expression of self-complementary AAV in ganglion cells of the ex vivo primate retina. *Mol Vis*. 15:2796-802.

【非特許文献 4 9】Kuffler SW. (1953) Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *J Neurophysiol* 16(1): 37-68.

【非特許文献 5 0】Lagali PS, Balya D, Awatramani GB, Munch TA, Kim DS, Busskamp V, Cepko CL, Roska B (2008) Light-activated channels targeted to ON bipolar cells restore visual function in retinal degeneration. *Nat Neurosci* 11:667-675.

【非特許文献 5 1】Lesica NA et al. (2007) Adaptation to stimulus contrast and correlations during natural visual stimulation. *Neuron* 55(3): 479-491.

【非特許文献 5 2】Lettvin et al., (1959) What the frog's eye tells the frog's brain. *Proceedings of the Institute of Radio Engineers* 47(11): 1940-51.

【非特許文献 5 3】Liao et al. (2007) In vivo gene delivery in the retina using polyethylenimine. *BioTechniques* 2007, 42:285-288.

【非特許文献 5 4】Loewenstein JI, Montezuma SR, Rizzo JF, III (2004) Outer Retinal Degeneration: An Electronic Retinal Prosthesis as a Treatment Strategy. *Arch Ophthalmol* 122:587-596.

【非特許文献 5 5】Maguire et al. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* (2008) 358: 2240-2248.

10

20

30

40

50



【非特許文献 5 6】Mancuso et al., (2009) Gene therapy for red-green colour blindness in adult primates. *Nature* 461(7265): 784-7.

【非特許文献 5 7】Martin et al. 2002. Gene delivery to the eye using adeno-associated viral vectors. *Methods* 28:267-275.

【非特許文献 5 8】McGowan MH et al (1998) Characterization of the Mouse Aldose Reductase Gene and Promoter in a Lens Epithelial Cell Line. *Mol Vis* 1998; 4:2

【非特許文献 5 9】McLaughlin SK, Collis P, Hermonat PL, Muzyczka N. (1988) Adeno-associated virus general transduction vectors: analysis of proviral structures. *J Virol.* 62(6):1963-73.

【非特許文献 6 0】Meytlis M, Bomash I, Pillow JW, Nirenberg S. (2009) Assessing the importance of correlated firing using large populations of neurons. *Society for Neuroscience. Program No. 165.3.*

【非特許文献 6 1】Morgans CW, et al (2009) TRPM1 is required for the depolarizing light response in retinal ON-bipolar cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(45): 19174-8.

【非特許文献 6 2】Nanduri D, Humayun M, Greenberg R, McMahon M, Weiland J (2008) Retinal prosthesis phosphene shape analysis. In: 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, pp 1785--1788. Vancouver, BC.

【非特許文献 6 3】Nichols Z, Meytlis M, Nirenberg S. (2010) Correlations play a negligible role in coding white noise and natural scene stimuli in complete retinal populations. Submitted.

【非特許文献 6 4】Nirenberg S (2000) Photoablation of cells expressing beta-galactosidase. *Methods Mol Biol.* 135:475-80

【非特許文献 6 5】Nirenberg S and Cepko, C (1993). Targeted ablation of diverse cell classes in the nervous system in vivo. *J Neurosci.* 13(8):3238-51.

【非特許文献 6 6】Nirenberg S and Latham PE. (1998) Population coding in the retina. *Curr. Opin. Neurobiol.* 8(4):488-493

【非特許文献 6 7】Nirenberg S and Meister M. (1997). The light response of retinal ganglion cells is truncated by a displaced amacrine circuit. *Neuron* 18:637-650

【非特許文献 6 8】Nirenberg S et al (2001) Retinal ganglion cells act largely as independent encoders. *Nature* 411(6838):698-701.

【非特許文献 6 9】Nirenberg S et al. (2010) Heterogeneous response dynamics in retinal ganglion cells: the interplay of predictive coding and adaptation. *J Neurophysiol* 103(6): 3184-94

【非特許文献 7 0】Norcia, AM, and Tyler, CW (1985) Spatial frequency sweep VEP: visual acuity during the first year of life. *Vision Res.* 25(10):1399-408

【非特許文献 7 1】Norcia, AM, et al (1989). Measurement of spatial contrast sensitivity with the swept contrast VEP. *Vision Res.* 1989;29(5):627-37.

【非特許文献 7 2】Pandarinath et al (2010a) A novel mechanism for switching a neural system from one state to another. *Front Comput Neurosci.* 31;4:2.

【非特許文献 7 3】Pandarinath et al (2010b) Symmetry breakdown in the ON and OFF pathways of the retina at night: functional implications. *J Neurosci* 30(30): 10006-14.

【非特許文献 7 4】Paninski L, Pillow J, Lewi J. (2007) Statistical models for neural encoding, decoding, and optimal stimulus design. *Prog Brain Res.* 165:493-507.

【非特許文献 7 5】Paninski L. (2004) Maximum likelihood estimation of cascade point-process neural encoding models. *Network* 15(4): 243-62

10

20

30

40

50

【非特許文献 7 6】Panzeri S, et al (2007) Correcting for the sampling bias problem in spike train information measures. J Neurophysiol. 98(3):1064-72. Review.

【非特許文献 7 7】Pelli DG, Robson JG, & Wilkins AJ (1988) The design of a new letter chart for measuring contrast sensitivity. Clinical Vision Sciences 2, 187-199

【非特許文献 7 8】Perry VH, Silveira LC. (1988) Functional lamination in the ganglion cell layer of the macaque's retina. Neuroscience. 25(1):217-23.

【非特許文献 7 9】Petrus-Silva et al., (2009) High-efficiency transduction of the mouse retina by tyrosine-mutant AAV serotype vectors. Mol Ther 17(3): 463-71.

【非特許文献 8 0】Petersen-Jones et al., (2009) AAV retinal transduction in a large animal model species: comparison of a self-complementary AAV2/5 with a single-stranded AAV2/5 vector. Mol Vis 15: 1835-42.

【非特許文献 8 1】Pillow JW, Shlens J, Paninski L, Sher A, Litke AM, Chichilnisky EJ, Simoncelli EP. (2008) Spatio-temporal correlations and visual signalling in a complete neuronal population. Nature 454(7207): 995-9

【非特許文献 8 2】Prusky GT, et al (2004) Rapid quantification of adult and developing mouse spatial vision using a virtual optomotor system. Invest Ophthalmol Vis Sci. 45(12):4611-6.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

すなわち、視覚入力を脳が容易に解釈することができる正常な網膜出力に変形する人工網膜を開発する必要性が存在する。人工網膜はまた、理想的には網膜神経節細胞のような個々の網膜細胞をターゲットにした高解像度信号送信を提供する必要がある。本発明は、このような人工器官を示すものであり、それは、盲人に正常又は正常に近い視力を提供するために、高解像度トランスデューサと共に正常又は正常に近い網膜出力を生成するコード化段階を含む。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明の方法及びシステムは、視力を回復又は改善することを提供する。視力は、刺激を受け取り、1組のエンコーダで刺激を1組のコードに変形し、インタフェースを用いてコードを信号に変形し、これが、次にインタフェースからの信号により駆動された高解像度トランスデューサを用いて複数の網膜細胞を活性化する方法を用いて回復又は改善される。複数の網膜細胞の活性化は、同じ刺激に対する正常な網膜からの網膜神経節細胞の応答と実質的に類似のものである広範囲の刺激に対する網膜神経節細胞応答をもたらす。

【0016】

視力を回復又は改善する方法の性能は、以下の特性、すなわち、(i)コードを使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率は、少なくとも、正常な網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率の少なくとも約95パーセント、65パーセント、又は35パーセントであり、又は(ii)試験刺激と試験刺激が呈示された時にコードから再構成された刺激との間のピアソンの相関係数は、少なくとも約0.95、0.65、又は0.35であるという特性を有することができる。

【0017】

代替的に、視力を回復又は改善する方法の性能は、以下の特性、すなわち、(i)活性化された網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率は、少なくとも、正常な網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率の少なくとも約95パーセント、65パーセント、又は35パーセントであり、又は(ii)試験刺激と試験刺激が呈示された時に活性化された網膜からの網膜神経節細胞応答から再構成された刺激との間のピアソンの相関係数は

、少なくとも約0.95、0.65、又は0.35であるという特性を有することができる。

【0018】

コード化段階は、以下の段階、すなわち、(i)刺激を前処理して複数の値Xにする段階と、(ii)網膜内の網膜神経節細胞mに対して複数のX値を複数の発火率mに変形する段階と、(iii)発火率からスパイクを表すコードを発生させる段階とを含むことができる。コード化段階は、バースト排除段階を用いてコードを修正する段階を含むことができる。コードは、バースト排除段階中に持続的に格納することができる。バースト排除段階は、以下の段階、すなわち、(i)調べるべきセグメントの持続時間とこの持続時間のセグメントに対するパルスの基準数とを定義する段階と、(ii)セグメント内のパルスを数える段階と、(iii)パルスの数が基準数を越えた場合にセグメントをパルス間の時間がほぼ最大である代替物で置換する段階とを含むことができる。

10

【0019】

エンコーダは、パラメータを有することができる。これらのパラメータの値は、上述の網膜が白色ノイズと自然情景刺激とに露出される間に網膜から得られる応答データを使用して判断される。

【0020】

コードは、インタフェースを使用して出力に変形することができ、出力は、複数の可視光パルスである。トランスデューサは、例えば、蛋白質のような可視光応答要素とすることができる。蛋白質は、チャンネルロドプシン-1、チャンネルロドプシン-2、LiGluR、ChETA、SFO(ステップ関数オプシン)、OptoXR(光感受性GPCR)、ボルボックスチャンネルロドプシン-1、ボルボックスチャンネルロドプシン-2、ChIEF、NpHR、eNpHR、及びそれらのいずれかの組合せとすることができる。

20

【0021】

蛋白質をコード化する遺伝子は、ウイルスベクターを使用して細胞内に導入することができる。ウイルスベクターは、組み換えアデノ随伴ウイルスとすることができる。遺伝子は、少なくとも1つの網膜神経節細胞型に選択的に発現させることができる。一実施形態では、遺伝子は、2つのベクターcre-lox系を使用して選択的に発現させることができ、2つのベクターの発現パターンは、選択された細胞型内のみで重なる。この実施形態では、2つのベクターは、(a)逆方向の向きに配置されたloxP部位が側面に配置され、かつ少なくとも選択された細胞型に発現する第2の遺伝子に対するプロモーターの制御下にある光感受性蛋白質を発現する反転遺伝子を有する第1のベクター、及び(b)少なくとも選択された細胞型及び重複なしの他の細胞部類の組に発現する第3の遺伝子に対するプロモーターの制御下にあるCreリコンビナーゼを含む第2のベクターである。

30

【0022】

視力を回復又は改善する方法を実施するデバイスを使用して、黄斑変性又は網膜色素変性症のような網膜変性疾患の被検者を治療することができる。治療された時に、被検者は、EVA又はETDRSプロトコルで測定した時に少なくとも約95%、65%、又は35%の正常な視力を達成することができる。代替的に、治療された時に、被検者は、パターンVEP検査又はスイープVEP検査を使用して2倍又はそれよりも大きい変化を体験する。

40

【0023】

本発明の方法はまた、関わっている複数の網膜細胞を活性化し、刺激を受け取り、1組のエンコーダで刺激を1組のコードに変形し、インタフェースを用いてコードを信号に変形し、インタフェースからの信号により駆動される高解像度トランスデューサを用いて複数の網膜細胞を活性化する方法を提供する。複数の網膜細胞の活性化は、広範囲の刺激に対する応答をもたらし、刺激は、人工的な刺激及び自然な刺激を含み、応答は、同じ刺激に対する正常な網膜細胞の応答と実質的に類似のものである。

【0024】

50

代替的に、複数の網膜細胞を活性化する方法の性能は、以下の特性、すなわち、(i) コードを使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率が、正常な網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率の少なくとも約95パーセント、65パーセント、又は35パーセントであり、又は試験刺激と試験刺激が呈示された時にコードから再構成された刺激との間のピアソンの相関係数が、少なくとも約0.95、0.65、又は0.35であるという特性を示すことができる。

【0025】

本発明の方法及びシステムはまた、視力をそれを必要とする被検者において回復又は改善する装置を提供し、装置は、(i) 刺激を受け取るためのデバイスと、(ii) (a) 刺激から1組のコードを発生させる1組のエンコーダを格納する持続性コンピュータ可読媒体、(b) 少なくとも1つのプロセッサ、及び(c) コードを格納する持続性コンピュータ可読媒体を含む処理デバイスと、(iii) コードを出力に変形するためのインタフェースと、(iv) 複数の網膜細胞を活性化するための高解像度トランスデューサとを有する。視力を回復又は改善する装置の性能は、複数の網膜細胞の活性化が、同じ刺激に対する正常な網膜の網膜神経節細胞の応答と実質的に類似である広範囲の刺激に対する網膜神経節細胞応答をもたらすようなものである。代替的に、装置の性能は、以下の特性、すなわち、(i) コードを使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率が、正常な網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率の少なくとも約95パーセント、65パーセント、又は35パーセントであり、又は(ii) 試験刺激と試験刺激が呈示された時にコードから再構成された刺激との間のピアソンの相関係数が、少なくとも約0.95、0.65、又は0.35であるような特性を示す。視力を回復又は改善する装置で治療された時に、被検者は、EVA又はETDRSプロトコルで測定した時に少なくとも約35%の正常な視力を達成することができる。代替的に、治療された被検者は、パターンVEP検査又はスイープVEP検査を使用して2倍又はそれよりも大きい変化を体験する。視力を回復又は改善する装置を使用して、黄斑変性又は網膜色素変性症のような網膜変性疾患の被検者を治療することができる。

【0026】

本発明の方法及びシステムはまた、コンピュータ実行可能命令を有する持続性コンピュータ可読媒体を提供する。コンピュータ実行可能命令は、少なくとも1つの刺激を持続性コードに変形する1組の命令であり、コードは、高解像度トランスデューサを用いて複数の網膜細胞を活性化することができる。システムの性能は、測定された時に、コードを使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率が、正常な網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率の少なくとも約35パーセントであり、又は試験刺激と試験刺激が呈示された時にコードから再構成された刺激との間のピアソンの相関係数が、少なくとも約0.35であるようなものである。命令の組は、パラメータを有し、これらのパラメータの値は、網膜が白色ノイズと自然情景刺激とに露出される間に網膜から得られる応答データを使用して判断することができる。

【0027】

本発明の方法及びシステムはまた、正常な網膜の対応する神経節細胞の刺激に対する応答と実質的に類似である応答を生成するために障害のある網膜内の少なくとも1つの細胞を活性化することができる少なくとも1つのトランスデューサを制御するための刺激に対応する信号を有するコンピュータ実行可能命令を有する持続性コンピュータ可読媒体を提供する。信号は、1組のコードとすることができ、性能が測定された時に、コードを使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率は、正常な網膜からの網膜神経節細胞応答を使用して実行した強制選択視覚弁別タスクに対する適中率の少なくとも約35パーセントであり、又は試験刺激と試験刺激が呈示された時にコードから再構成された刺激との間のピアソンの相関係数は、少なくとも約0.35である。

【0028】

本発明の方法及びシステムはまた、網膜に対してエンコーダを使用して刺激の表現を発生させる方法を提供する。本方法は、以下の段階、すなわち、(i) 刺激を前処理して複

10

20

30

40

50

数の値  $X$  にする段階と、( i i ) 複数の  $X$  値を複数の発火率 に変形する段階と、( i i i ) 発火率  $m$  をコードに変換する段階とを含む。この場合に、本方法の性能は、以下のように、すなわち、( i ) エンコーダの出力による弁別タスクに対する適中率性能が、正常な網膜による弁別タスクに対する適中率性能の 35 パーセント以内であり、( i i ) エンコーダの出力から再構成された刺激と最初の刺激との間のピアソンの相関係数が、少なくとも約 . 35 になり、又は誤差パターン検査に関するエンコーダの出力の性能が、高々約 0 . 04 であるとして測定することができる。変形段階は、複数の  $X$  値を時空的に複数の発火率  $m$  に変形する段階を伴う場合があり、ここで、 $m$  は、網膜  $m$  内の各網膜神経節細胞に対して、 $m$  番目の網膜神経節細胞からの時空的カーネルに対応する線形フィルタである  $L_m$  の関数であり、 $N_m$  は、 $m$  番目の網膜神経節細胞の非線形性を説明する関数である。複数のエンコーダ  $e_m$  がある場合があり、ここで、 $e_m$  は、 $m$  番目の神経節細胞に対するエンコーダである。コードは、ビットストリームを形成する個別の複数のビットを有することができる。代替的に、コードは、連続波である。

#### 【 0 0 2 9 】

刺激は、電磁波放射とすることができる。例えば、電磁波放射は、可視光とすることができる。コードは、インタフェースを使用して、複数の可視光パルスとすることができる出力に変形することができる。複数の可視光パルスによる網膜内の複数の細胞の活性化は、少なくとも 1 つの第 1 の組のスパイク列を発生させることができ、網膜内の細胞の少なくとも一部分は、可視光応答要素である少なくとも 1 つのトランスデューサを有する。

#### 【 0 0 3 0 】

網膜に対してエンコーダを使用して刺激の表現を発生させる方法は、更に、少なくとも 1 つの第 1 の組のスパイク列を発生させるために複数の可視光パルスで網膜内の複数の細胞の活性化を駆動する段階を伴うことができ、網膜内の細胞の少なくとも一部分は、少なくとも 1 つの可視光応答要素を含む少なくとも 1 つのトランスデューサを有する。細胞は、網膜神経節細胞とすることができる。可視光応答要素は、合成光異性化アゾベンゼン制御  $K^+$  ( S P A R K )、脱分極性 S P A R K ( D - S P A R K )、又は以上のいずれかのものの組合せとすることができる。可視光応答要素は、チャンネルロドプシン - 1、チャンネルロドプシン - 2、L i G l u R、C h E T A、S F O (ステップ関数オプシン)、O p t o X R (光感受性 G P C R)、ボルボックスチャンネルロドプシン - 1、ボルボックスチャンネルロドプシン - 2、C h I E F、N p H r、e N p H R、及び以上のいずれかのものの組合せのような蛋白質とすることができる。蛋白質、それらのコード化のための遺伝子、及びウイルスベクターは、全て上述のようである。刺激は、時空的に変わることができ、又は静的である場合がある。本発明はまた、エンコーダに対して 1 組のパラメータを判断する方法を提供し、これは、( a ) 網膜が白色ノイズと自然情景刺激とに露出される間に網膜の網膜神経節細胞からの活動電位時間を含む電気信号データを記録してデータを格納する段階と、( b ) 線形フィルタ  $L_m$  に対して開始セットの値を判断するために神経節細胞活動電位時間と計算された刺激強度間の逆相関を計算する段階と、( c ) 空間関数が、重みのグリッドとしてパラメータ化され、時間関数が、重み付け時間基底関数の合計としてパラメータ化され、 $N_m$  が、極大値がないことを保証する指数関数であると仮定される場合に、 $L_m$  を空間関数及び時間関数の積として処理する段階と、( d ) 所定の刺激及び記録された神経節細胞の応答に対してこのパラメータの組の尤度を計算する段階と、( e ) これらのパラメータの尤度を最大にすることによって空間的関数、時間関数、及び指数型非線形性の初期最適パラメータを識別する段階と、( f ) 指数型非線形性を 3 次スプラインで置換する段階と、( g ) スプラインのパラメータを最適化して尤度を最大にする段階と、( h ) 時間関数及び空間関数のパラメータを最適化し、段階 ( g ) の結果を一定に保持しながら尤度を最大にする段階とを有し、( i ) 段階 ( g ) は、段階 ( h ) の結果を一定に保持しながら繰り返され、かつ段階 ( h ) は、繰り返され、( j ) 段階 ( i ) は、この 2 つの段階からの尤度の変化が任意に選択された小さな数よりも小さくなるまで繰り返される。上述の方法は、少なくとも 1 つの第 1 の刺激を持続性コードに変換するのに使用される複数のパラメータ、すなわち、線形フィルタ  $L_m$ 、空間関数、及び時

間関数のパラメータの値を判断するためのコンピュータ実行可能命令を有する持続性コンピュータ可読媒体に具現化することができ、パラメータは、(a) 網膜が白色ノイズと自然情景刺激とに露出される間に網膜の網膜神経節細胞からの活動電位時間を含む電気信号データを記録してデータを格納する段階と、(b) 線形フィルタ  $L_m$  に対して開始セットの値を判断するために網膜神経節細胞活動電位時間と各刺激の強度間の逆相関を計算する段階と、(c) 空間関数に対して1組のパラメータを確立する段階と、(d) 時間関数に対して1組のパラメータを確立する段階と、(e) 所定の刺激に対して空間関数及び時間関数のこのパラメータの組に対する尤度を計算し、網膜神経節細胞からの応答を記録する段階と、(f) パラメータの尤度を最大にすることによって空間関数、時間関数、及び非線形性に対する最適なパラメータの組を見出す段階とによって判断される。

10

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】刺激が、左に示され、次に、画像、すなわち、捕捉された刺激が示され、捕捉された刺激が、次に、1組のエンコードを通じて処理され、1組のエンコードは、次に、インタフェースデバイスを駆動し、インタフェースデバイスが、次に、光感受性要素、すなわち、チャンネルロドプシン-2 (ChR2) で核酸導入された網膜神経節細胞で光パルスを発火し、網膜が、健康な網膜によって生成されたものと類似のスパイクパターンを生成する人工器官方法の一実施形態の概略図である。

【図2】1対の接眼鏡内の各レンズ領域の外向き面上にカメラがあり、カメラからの信号が、この実施形態ではガラスのアーム上に位置する処理デバイスに誘導され、処理デバイスが、各レンズ領域の内面上にある光アレイを制御するデバイスの実施形態の概略図である。

20

【図3】エンコード(モデル細胞)により担持された情報量が現実の細胞エンコードにより担持されたものと密接に適合することを示す図であり、この解析に対して、3つの刺激セット、すなわち、時間周波数において変動したドリフト格子、空間周波数において変動したドリフト格子、及び自然の情景を用い、各細胞に対して、モデル細胞の応答と刺激間の相互情報量を計算して実際の細胞の応答と刺激間の相互情報量に対してプロットし( $n$  = それぞれ3組の刺激に対して106、118、及び103)、各々の刺激エントロピーが、5ビットであり、ピンサイズが、250 ~ 31msの範囲である図である。

【図4-1】図4-1は、エンコード(モデル細胞)のポステリア刺激分布が実際の細胞のそれと密接に適合することを示す図であり、A. 各細胞に対して、1対の行列をプロットし、左の行列が、モデル細胞の応答(全ての応答にわたって平均化)に対するポステリアを示し、右の行列が、実際の細胞の応答に対するポステリアを示し、この対の隣のヒストグラムは、行列間の距離の尺度を示し、簡潔にいうと、各行に対して、モデルのポステリアと実際の細胞のポステリア間の平均自乗誤差(MSE)を計算し、次に、実際の細胞のポステリアとランダムにシャッフルしたポステリア間のMSEで割ることによって正規化し、0という値が、2つの列が同一であることを示し、1という値が、2つの列が2つのランダムにシャッフルした列と同じ程度異なることを示し(データの制限のために、予備の細胞は、1つよりも多い値を示す)、垂直の薄い濃淡の線は、ヒストグラムの中心値を示し、B. データセット内の全ての細胞の中心値のヒストグラム、及びデータセット内の全ての細胞( $n$  = それぞれ、刺激のための106個、118個、及び103個の細胞)のK-L発散のヒストグラムである図である。

30

【図4-2】図4-2は、エンコード(モデル細胞)のポステリア刺激分布が実際の細胞のそれと密接に適合することを示す図であり、A. 各細胞に対して、1対の行列をプロットし、左の行列が、モデル細胞の応答(全ての応答にわたって平均化)に対するポステリアを示し、右の行列が、実際の細胞の応答に対するポステリアを示し、この対の隣のヒストグラムは、行列間の距離の尺度を示し、簡潔にいうと、各行に対して、モデルのポステリアと実際の細胞のポステリア間の平均自乗誤差(MSE)を計算し、次に、実際の細胞のポステリアとランダムにシャッフルしたポステリア間のMSEで割ることによって正規化し、0という値が、2つの列が同一であることを示し、1という値が、2つの列が2つ

40

50

のランダムにシャッフルした列と同じ程度異なることを示し（データの制限のために、予備の細胞は、1つよりも多い値を示す）、垂直の薄い濃淡の線は、ヒストグラムの中心値を示し、B．データセット内の全ての細胞の中心値のヒストグラム、及びデータセット内の全ての細胞（ $n$  = それぞれ、刺激のための106個、118個、及び103個の細胞）のK～L発散のヒストグラムである図である。

【図4-3】図4-3は、エンコーダ（モデル細胞）のポステリア刺激分布が実際の細胞のそれと密接に適合することを示す図であり、A．各細胞に対して、1対の行列をプロットし、左の行列が、モデル細胞の応答（全ての応答にわたって平均化）に対するポステリアを示し、右の行列が、実際の細胞の応答に対するポステリアを示し、この対の隣のヒストグラムは、行列間の距離の尺度を示し、簡潔にいうと、各行に対して、モデルのポステリアと実際の細胞のポステリア間の平均自乗誤差（MSE）を計算し、次に、実際の細胞のポステリアとランダムにシャッフルしたポステリア間のMSEで割ることによって正規化し、0という値が、2つの列が同一であることを示し、1という値が、2つの列が2つのランダムにシャッフルした列と同じ程度異なることを示し（データの制限のために、予備の細胞は、1つよりも多い値を示す）、垂直の薄い濃淡の線は、ヒストグラムの中心値を示し、B．データセット内の全ての細胞の中心値のヒストグラム、及びデータセット内の全ての細胞（ $n$  = それぞれ、刺激のための106個、118個、及び103個の細胞）のK～L発散のヒストグラムである図である。

【図5】エンコーダ（モデル細胞）が実際の細胞と同じ予想をすることを示す図であり、左上は、モデルが、ON細胞が暗順応条件下でOFF細胞よりも良好に低い時間周波数を区別することができ、一方、OFF細胞がON細胞よりも良好に高い時間周波数を区別することができることを示し、左下は、実際の細胞が同じことを示し、上では、暗順応条件及び明順応条件にわたって見ると、モデルが、挙動のこれらの差異が暗順応条件下でのみ発生することを示し、2つの細胞部類が、明順応条件下ではほぼ等しく良好に機能し、下では、暗順応条件及び明順応条件にわたって見ると、実際の細胞も同じことを示し、上では、再び2つの条件を見ると、ON細胞及びOFF細胞が良好に機能するのが暗順応条件下では周波数の狭い範囲でのみだが、明順応条件下では周波数の広範囲にわたっており、下では、再び2つの条件を見ると、実際の細胞に対して予想が同様であり、予想が、性能飽和の兆候があるまで細胞の数を増大して行われ、誤差バーがSEMである図である。

【図6】エンコーダ（モデル細胞）が視運動性能のシフトを予想することを示す図であり、左は、モデルが、動物が暗順応条件から明順応条件に移動した時に、より高い時間周波数の方向のシフトを予想し、右は、動物の挙動性能が、予想されるようにより高い時間周波数にシフトし（ $n$  = 5匹の動物）、予想が、1個の細胞から飽和（20個の細胞）までおおむね正しかったことを示す図である。

【図7】人工網膜によって生成された神経節細胞応答が正常な網膜によって生成されたものと密接に適合し、一方、標準的な光遺伝子的手法により（すなわち、トランスデューサとしてのChR2を使用して）生成された神経節細胞応答が正常な網膜によって生成されたものとは適合しないことを示す図であり、自然情景の動画をマウス網膜の3つの群、すなわち、正常なマウスの網膜、人工網膜（すなわち、盲目の網膜が、神経節細胞内でChR2を発現し、エンコーダにより処理された動画で刺激される）で治療した盲目のマウスの網膜、及び標準的な光遺伝子的手法で治療した盲目のマウスの網膜（すなわち、盲目の網膜が、神経節細胞内でChR2を発現していたがエンコーダにより処理されなかった動画で刺激される）に示し、次に、スパイク列を各群の神経節細胞から記録した図である。

【図8】視覚弁別タスクに対する人工網膜の性能が正常な網膜の性能と密接に適合し、一方、標準的な光遺伝子的手法の性能が適合しないことを示す図であり、A．試験セットが正常なWT網膜から得られた時に生成された混同行列であり、左に、個々の神経節細胞の行列があり、右に細胞の母集団（20個の細胞）の行列があり、母集団の適中率が80%であり、B．試験セットがエンコーダから得られた時に生成された混同行列であり（尚、これらのエンコーダは、パネルAに使用されたWT網膜の入出力関係から構成されたもの）、適中率が79%であり、C．試験セットが盲目の網膜から生成された時に生成され

10

20

30

40

50

た混同行列であり、神経節細胞をエンコーダ+トランスデューサで駆動したものであり（C h R 2）、適中率が64%であり、D．試験セットが盲目の網膜から生成された時に生成された混同行列であり、神経節細胞を標準的な光遺伝子的方法（すなわち、エンコーダなしでC h R 2のみ）で駆動したものであり、適中率が7%である図である。

【図9】人工網膜の応答から再構成された画像が本来の画像と密接に適合し、一方、標準的な光遺伝子的方法の応答から再構成された画像が適合しないことを示す図であり、脳は画像を必ずしも再構成するわけではないが、再構成が、方法を比較して各手法で可能な視力の回復のレベルの近似値が得られる有利な方法として機能し、Aが本来の画像であり、Bが、エンコーダの応答から再構成された画像であり、Cが、エンコーダ+トランスデューサ（C h R 2）の応答から再構成された画像であり、Dが、標準的な光遺伝子的手法（上図の場合と同様にC h R 2のみ）の応答から再構成された画像であり、尚、パネルBが、極めて重要なパネルであり、その理由は、異なる種類のトランスデューサと結びつけることができるエンコーダの出力を示すからであり、再構成が、10×10又は7×7の格子模様のブロック単位で処理クラスターで行ったものであり、本文で言及するように、最大尤度を利用しており、すなわち、各ブロックに対して、観測された応答の確率を最大化した濃淡値のアレイが見出された（高次元検索に対してはP a n i n s k i 他、2007年に従う）図である。

10

【図10】追跡が人工網膜に対して行われていることを示す図であり、Aが、基線ドリフト（存在する刺激なし）であり、本文で言及するように、盲目の動物が、盲人に関して観測されたドリフトと同様の眼の位置を示し、Bが、標準的な光遺伝子的な方法（すなわち、そのまま画面上で呈示）を使用して示したドリフト格子に対する応答であり、Cが、人工網膜（すなわち、コード化された形で画面上で呈示）を使用して示したドリフト格子に対する応答であり、画像が神経節細胞によって使用されるコードに変換された時に、動物が、コードを追跡することができ、一番上の行が、未処理眼位置追跡、代表的な例であり、真中の行が、滑らかな成分（サッカード及び動きアーチファクトを除去、上の未処理追跡を参照されたい）であり、一番下の行が、全ての試行にわたる平均的な軌跡（n = それぞれ15回、14回及び15回の試行）である図である。

20

【図11】デバイスの概略図を示す図であり、カメラ（上部）が、視野から刺激を捕捉し、カメラからの信号が、エンコーダを実行する処理デバイスに供給され、エンコーダの実行が、モジュールとしての図中に示す一連の段階、すなわち、前処理、時空間変形、及びスパイク発生で進行し、スパイク発生段階の出力が、バースト排除段階を含むトランスデューサに適するフォーマットへの変換のために持続的に格納され、出力が、次に、インタフェース内でトランスデューサに適するフォーマットに変換され、インタフェースが、次に、変換された信号をトランスデューサに送り、矢印が、エンコーダのモジュールを通り、インタフェースデバイスを通り、網膜細胞内にあるトランスデューサに至る視野の特定の領域からの信号の流れを示し、重なり合う円が、エンコーダが正常な網膜と同様に画像を表す視野の重なり合う領域からの情報を担持することを示す図である。

30

【図12】例示的なエンコーダのための画像から光パルスへの変換を示す図であり、Aが、例示的な動画を呈示し、Bが、予め処理した動画を呈示し、かつC E内の出力を生成する例示的なエンコーダの位置を示し、Cが、時空間変形段階の出力を示し、Dが、スパイク発生段階の出力を示し、Eが、スパイク発生段階によって生成された出力に対応する光パルスを示す図である。

40

【図13】自然な動画に対する猿網膜から生成されたエンコーダによって生成された応答が正常な猿網膜によって生成されたものと密接に適合することを示す図であり、自然情景の動画を正常な猿網膜及び仮想網膜に示し、一番上の行が、正常な猿神経節細胞からのスパイク列を示し、一番下の行が、対応するモデル細胞（すなわち、エンコーダ）からのスパイク列を示す図である。

【図14】視覚弁別タスク（図8の場合と同じタスク）に関する猿エンコーダの性能が正常な猿神経節細胞の性能に密接に適合することを示す図であり、Aが、試験セットが正常な網膜から得られた時に生成された混同行列であり、左に個々の神経節細胞の行列があり

50



、右に細胞の母集団（１０個の細胞）の行列があり、母集団の適中率が８３％であり、Ｂが、試験セットが猿神経節細胞から生成されたエンコーダから得られた時に生成された混同行列であり、適中率が７７％であり、全ての解析を例８、すなわち、図８として行い、エンコーダ応答を使用した適中率が、従って、正常な猿神経節細胞応答を使用して適中率の９２．８％である図である。

【図１５】エンコーダ＋トランスデューサによって生成された神経節細胞応答が高忠実度でコード化された出力に追従することを示す図であり、エンコーダの出力が、光パルスの流れに変換され、光パルスの流れが、盲目であり、かつ神経節細胞内でＣｈＲ２を発現する二重遺伝子組み換えマウスから抽出される網膜に示し、Ａが、光パルス及び対応する神経節細胞出力であり、行の各１対に対して、一番上の行が、光パルスの時間を示し、一方、一番下の行が、Ｃｈ２を発現する神経節細胞によって生成された活動電位の時間を示し、各点が、光パルス又は神経節細胞活動電位の発生を表し、Ｂが、光パルスと活動電位の１対１の対応を示す（Ａ）からの丸で囲った領域の拡大であり、活動電位が、高忠実度で光パルス及び従ってエンコーダに追従する図である。

【発明を実施するための形態】

【００３２】

本発明は、視力を回復又は改善し、視力を増大し、又は盲目又は視覚障害を治療し、又は網膜細胞を活性化する方法及びデバイスを提供する。本方法は、刺激を捕捉する段階と、刺激をコード化する段階と、インタフェースを用いてトランスデューサ命令にコードを変換する段階と、網膜細胞に命令を変換する段階とを含む。デバイスは、刺激を捕捉する方法と、１組のエンコーダを実行する処理デバイスと、インタフェースと、１組のトランスデューサとを含み、各トランスデューサは、単一の細胞又は少数の細胞をターゲットにする。トランスデューサの組は、高解像度トランスデューサと呼ばれる。一実施形態では、各エンコーダは、前処理段階、時空間変形段階、並びに出力発生段階を実行する。本方法を人工網膜に使用して、人工刺激及び自然刺激を含む広範囲の刺激に対して表現を発生させることができる。

【００３３】

本方法及びデバイスは、あらゆるタイプの刺激を処理することができる。例えば、刺激は、可視光を含むことができるが、赤外線、紫外線、又は電磁スペクトルにわたる他の波長のような他のタイプの電磁波放射を含むことができる。刺激は、単一の画像又は複数の画像とすることができ、更に、画像は、静止画像とすることができ、又は時空的に変動することができる。図のような単一の形状又は自然情景のような比較的複雑な刺激を使用することができる。更に、画像は、グレースケール又は色付き又は濃淡及び色の組合せとすることができる。一実施形態では、刺激は白色ノイズ（Ｗ）及び／又は自然情景の動画のような自然な刺激（ＮＳ）、又は両方の組合せを含むことができる。

【００３４】

刺激は、正常な網膜出力のプロキシ、すなわち、脳が容易に解釈して画像の図として使用することができる出力の形態に変換又は変形される。変換は、正常又は正常に近い網膜によって実施されたのと同じ時間スケールで行われ、すなわち、刺激に対する初期網膜神経節細胞応答は、約５～３００ｍｓの範囲の時間間隔で行われる。本発明の方法及びデバイスは、常に近い視力を正常な視力に回復するのを補助することができ、又は患者又はあらゆるタイプの網膜変性疾患の罹患した哺乳類においてグレースケール視力及び色視力を含め視力を改善することができ、網膜神経節細胞（「神経節細胞」とも本明細書で呼ぶ場合がある）は、無傷のままである。網膜変性疾患の非限定的な例には、網膜色素変性症、年齢に関連する黄斑変性、アッシャー症候群、シュタルガルト黄斑ジストロフィ、レーバー先天性黒内障、及びバルデー・ビードル症候群（網膜剥離及び網膜血管閉塞）がある。

【００３５】

網膜変性が合併症として発生する疾患には、白点硝子体網膜変性、成人発症黄斑ジストロフィにより引き起こされた脈絡膜血管新生、ピエッティ結晶状角膜網膜ジストロフィ、及び糖尿病網膜症がある。網膜変性が症状として発生する疾患の部分的なリストには、無

10

20

30

40

50

セルロプラスミン血症、副腎白質萎縮症、アルストレム病、アルストレム症候群、窒息性胸郭ジストロフィ、ボルネマン - マイネッヒ - レイヒ症候群、ボルネマン - マイネッヒ - レイヒ症候群、C D G 症候群タイプ 1 A、網脈絡膜症優性型 - 小頭症、先天性脈絡膜欠如 - 下垂体機能不全症、糖鎖形成先天性疾患タイプ 1 A、糖鎖形成先天性疾患タイプ 1 a、シスチン蓄積症、乏毛症、合指症及び網膜変性、ジューン症候群、ムコリピドーシス I V、ムコリピドーシスタイプ 4、ムコ多糖症、筋眼脳症候群、新生児 A L D、オリーブ橋小脳萎縮型 3、大理石骨病、常染色体劣性形質 4、色素性網膜症、擬似代謝性脳症、網膜分離症 (X 連鎖)、網膜分離症 1、X 連鎖、青年期、サンタヴォリ病、痙性対麻痺 1 5、常染色体劣性形質、及びウェルナー症候群が含まれる。

【 0 0 3 6 】

10

本方法及びデバイスを使用して、無処置のままになっている網膜神経節細胞の一部、そこから始まる視神経の一部、並びに他の機能的な中心視覚系処理機能の何らかの部分の有するあらゆる哺乳類の被験者を治療することができる。逆に、本発明の方法及びデバイスで治療可能である網膜神経節細胞の損失の範囲は、網膜神経節細胞の総数の一部だけを含む場合があり、又は網膜に存在する網膜神経節細胞の総数を包含する場合がある。

【 0 0 3 7 】

人工網膜は、正常な網膜と同様に、画像処理プロセッサであり、受け取る刺激から必須情報を抽出して、脳が理解することができる活動電位のパターンに情報を再フォーマット設定する。正常な網膜によって生成された活動電位のパターンは、網膜コード又は神経節細胞コードと呼ばれるものである。人工網膜は、損傷又は変性した網膜が正常又は正常に近い出力を発生させることができるように視覚刺激をこの同じコード又はその近いプロキシに変換する。人工網膜は正常な網膜又はその近いプロキシと同じコードを使用するので、損傷又は変性した網膜内の神経節細胞の発火パターン、すなわち、活動電位のパターン正常な神経節細胞によって生成されたものと同じか又は実質的に類似のものである。本発明のデバイスで治療された被験者は、正常又は正常に近い被験者の機能と密接に適合する視覚認識機能を有することになる。

20

【 0 0 3 8 】

以下に説明する様々な異なる基準により測られるように、本発明の方法及びデバイスは、人工の刺激及び自然の刺激を含む広範囲の刺激に向けて正常又は正常に近い神経節細胞出力を再生する。人工網膜法において、本発明の方法は、コード化段階、インタフェース段階、及び変換段階を使用する。本発明の方法及びデバイスは、網膜神経節細胞及び網膜双極細胞を含むがこれらに限定されない異なる網膜細胞部類の活性化を駆動することができる。

30

【 0 0 3 9 】

一実施形態では、人工器官は、網膜神経節細胞をターゲットにする。この実施形態では、コード化段階は、神経節細胞によって使用される視覚刺激をコード又はコードの近いプロキシに変換し、トランスデューサは、インタフェースを通じて、コードが指定するように発火すべき神経節細胞を駆動する。従って、損傷又は変性した網膜は、正常又は正常に近い出力、すなわち、正常又は正常に近い発火パターンを生成する。別の実施形態では、人工器官は、網膜双極細胞をターゲットにする (すなわち、トランスデューサは、「双極細胞」とも本明細書で呼ぶ場合がある網膜双極細胞にターゲットが定められる)。この場合に、コード化段階は、1 段階早く行われ、すなわち、コード化段階では、正常な出力を生成するように神経節細胞を駆動するために双極細胞を駆動するコードに視覚刺激を変換する。他のコードの使用も可能である。両方の場合に、人工器官は、相互作用する 1 組のエンコーダ及び 1 組のトランスデューサを含み、すなわち、エンコーダは、トランスデューサを駆動する。以下に説明するように、エンコーダは、インタフェースを通じてトランスデューサを駆動する。その結果は、網膜出力細胞に正常又は正常に近い発火パターンを生成させて脳に正常又は正常に近い目視による信号を供給させる方法である。

40

【 0 0 4 0 】

異なるタイプの網膜細胞があるので異なるエンコーダを使用することができる。その差

50

は、細胞型又は網膜上の特定の細胞位置に対応することができる。人工網膜が1つよりも多いエンコーダを有する時に、エンコーダは、独立して又は少なくとも1つ又はそれよりも多くの結合機構を通じて並列に作動させることができる。

#### 【0041】

上述のように、一実施形態では、人工網膜は、網膜神経節細胞をターゲットにする。この実施形態では、被験者（例えば、盲目の患者）の網膜神経節細胞は、最初に、トランスデューサ（例えば、光感受性蛋白質（例えば、ChR2））を発現するために遺伝子治療を通じて巧みに処理される。被験者は、次に、カメラと、1組のエンコーダ（1つ又はそれよりも多く）を実行する処理デバイスと、光パルスを生成するためのインタフェースとを担持する眼鏡を着用する。カメラは、画像（刺激）を捕捉して1組のエンコーダを通じてそれを伝える。エンコーダは、刺激に一連の作業を行って、それらをコード化された出力、すなわち、正常な神経節細胞であれば同じ刺激を生成する活動電位のパターン（又は流れ）に対応する電気パルスのパターン（流れとも呼ばれる）に変換する。電気パルスの流れは、次に、被験者の網膜内のChR2を発現する細胞を駆動する光パルスの流れに変換される。図1は、刺激（画像）を電気パルスの流れに変換する段階を概略的に示しており、電気パルスの流れは、次に、網膜細胞内のトランスデューサを駆動する光パルスの流れに変換される。図2は、患者らに供給された時のデバイス（インビトロで作動するトランスデューサと相互作用する外部デバイス）の実施形態を示している。

10

#### 【0042】

代替的に、患者がトランスデューサChR2をもたらしために遺伝子治療を受ける代わりに、電極が、神経節細胞又は双極細胞に近い患者の網膜内に埋め込まれる。この場合に、患者は、次に、1組のエンコーダを実行するカメラと処理デバイスとを担持する眼鏡を着用し、電気パルス又はビットストリームが、メモリに格納され、発火すべき神経節細胞を最終的に駆動する電気パルスを放出するように電極を指示する信号に変換される。

20

#### 【0043】

本方法及びデバイスは、人間のような哺乳類に使用することができる。哺乳類には、齧歯動物（例えば、モルモット、ハムスター、ネズミ、マウス）、霊長類、有袋類（例えば、カンガルー、ウォンバット）、単孔類（例えば、カモノハシ）、鼠科（例えば、マウス）、兎目（例えば、ウサギ）、イヌ科（例えば、犬）、ネコ科（例えば、猫）、ウマ科（例えば、馬）、ブタ（例えば、豚）、ヒツジ（例えば、羊）、ウシ属（例えば、牛）、類人猿（例えば、猿又は霊長類）、サル（例えば、マーモセット、ヒヒ）、霊長類（サル目）（例えば、ゴリラ、チンパンジ、オランウータン、テナガザル）があるがこれらに限定されない。

30

#### 【0044】

本発明の方法及びデバイスは、視覚化情報又は光パターンの処理が必要であるロボット又は他のタイプの機械的デバイスと共に使用することができる。

#### 【0045】

エンコーダのアルゴリズム及び/又はパラメータは、患者間に変動する可能性があり、かつ加齢又は疾患の進行に関して時間と共に調節することができる。更に、単一の患者に単一の人工器官において複数のエンコーダを装備することができ、エンコーダは、本明細書に説明するように、網膜上の空間位置、又は細胞型のような他のファクタにより変化する。本発明は、患者の体の外側からアルゴリズムを都合よくかつ安全に変えることができることを可能にする。アルゴリズムの調節は、当業者により行うことができる。

40

#### 【0046】

エンコーダ（又はコード化段階）及びトランスデューサ（又は変換段階）に対して以下に説明する。

#### 【0047】

##### エンコーダ

エンコーダは、網膜内の細胞（例えば、神経節細胞又は双極細胞）の入出力モデルである。それは、刺激/応答の関係をもたらし、エンコーダは、アルゴリズムとして作動し、

50

アルゴリズムは、本明細書に説明するように、専用回路による処理デバイスにより及び／又はコンピュータ可読媒体を使用して実行することができる。

#### 【0048】

一実施形態では、エンコーダは、神経節細胞の入出力モデルである。これらのエンコーダは、同じ刺激に正常な神経節細胞によって生成されたものと同じか又は実質的に類似のものである電氣的信号のパターンに刺激を変換するアルゴリズムを含む。人工網膜では、例えば、図11に示すように並列に組み込むことができる複数のエンコーダを使用することができ、刺激の異なるセグメント（すなわち、別の言い方をすれば、視野の異なる領域）は、別々のエンコーダを通じて実行され、エンコーダは、異なる指定のトランスデューサを制御する。この実施形態では、各エンコーダは、ターゲットとされたトランスデューサに適するパラメータを有することができ、ターゲットとされたトランスデューサは、例えば、エンコーダにより代行され、又はエンコーダの出力により駆動された網膜細胞又は細胞群の位置及び／又はタイプを考慮することができる。「コード」という用語は、網膜が刺激に応答して生成する活動電位（スパイク列とも呼ばれる）のパターンに対応する電気パルスのパターンを指すことができる。「コード」という用語は、スパイク列のパターンに対応するビットストリームを指すことができる。各ビットは、1つのニューロンの活動に対応することができる（例えば、1は、ニューロンが発火することを意味し、0は、ニューロンが発火しないことを意味する）。コードは、連続波とすることができる。正弦波形、正方形波形、三角形波形、又は鋸歯波形を含むがこれらに限定されない非周期的波形及び周期的波形を含めあらゆるタイプの波形を本発明により包含することができる。

#### 【0049】

エンコーダの一実施形態によって実行される作業の総括を以下の流れ図に示している。

画像→ 前処理 → 時空間変形 → スパイク発生 → 電気パルスのパターン。

#### 【0050】

##### 前処理段階

これは、再スケーリング段階であり、再スケーリング段階は、処理デバイスの前処理モジュール内で実行することができ、前処理モジュールは、時空間変形の作動範囲である数量 $X$ に実際の世界画像 $I$ をマップする。尚、 $I$ 及び $X$ は、時変数量であり、すなわち、 $I(j, t)$ は、各位置 $j$ 及び時間 $t$ での実像の強度を表し、 $X(j, t)$ は、前処理段階の対応する出力を表している。前処理段階は、以下のようにマップすることができ、すなわち、 $I(j, t)$ は、 $X(j, t) = a + b I(j, t)$ により $X(j, t)$ にマップされ、ここで、 $a$ 及び $b$ は、時空間変形の作動範囲に実際の世界像強度の範囲をマップするように選択された定数である。

#### 【0051】

可変的な履歴を使用して再スケーリングを行って、数量 $a$ 及び $b$ を判断することができ、ユーザにより操作されるスイッチを使用して、異なる状況（例えば、異なる照明又は異なるコントラスト）下でのこれらの数量の値を設定することができる。

#### 【0052】

グレースケール画像に対して、 $I(j, t)$ 及び $X(j, t)$ は、各位置 $j$ 及び時間 $t$ に対して1つの値を有する。

#### 【0053】

色画像に対して、同じ方策が使用されるが、各色チャンネル、赤、緑、及び青に別々に適用される。一実施形態では、強度 $I(j, t)$ は、各位置 $j$ 及び時間 $t$ に対して3つの値（ $I_1, I_2, I_3$ ）を有し、ここで、3つの値 $I_1, I_2, I_3$ は、それぞれ、赤、緑、及び青の強度を表している。各強度値は、次に、上述の変形により対応する $X$ 値（ $X_1, X_2, X_3$ ）に再スケーリングされる。

#### 【0054】

##### 時空間変形段階

一実施形態では、変形は、線形、非線形カスケードを使用して実施され（Chichi

10

20

30

40

50

l n i s k y E J、2001年、S i m o n c s a e l l i 他、2004年においてレビュー)、ここで、各神経節細胞 $m$ の発火率 $\lambda_m$ は、以下の数1の式によって示され、

【数1】

$$\lambda_m(t;X) = N_m((X * L_m)(j,t))$$

ここで、 $*$ は、時空間畳み込みを示し、 $L_m$ は、 $m$ 番目の細胞の時空的カーネルに対応する線形フィルタであり、 $N_m$ は、 $m$ 番目の網膜神経節細胞の非線形性を説明する関数であり、前の節の場合と同様に、 $X$ は、前処理段階の出力であり、 $j$ は、ピクセル位置であり、 $t$ は、時間である。発火率 $\lambda_m$ は、インタフェース（その後に説明する）を駆動するのに使用されるコードに変換される。この時空間変形段階は、処理デバイスの時空間変形モジュールによって実行することができる。

【0055】

$L_m$ は、空間関数及び時間関数の積としてパラメータ化される。例えば、一実施形態では、空間関数は、グリッド上の各ピクセル（例えば、カメラ内のデジタル画像）での重みから構成されるが、グリッド上の直交基底関数の合計のような他の代替を用いることができる。この実施形態では、グリッドは、合計 $26 \times 26^\circ$ の視空間を補助するピクセルの $10 \times 10$ のアレイから構成されるが（各ピクセルは、視空間内で $2.6 \times 2.6^\circ$ である）、他の代替を用いることができる。例えば、網膜神経節細胞に対応する視空間の領域は、網膜上の空間位置で及び種間で変化するので、総アレイサイズは、変わる可能性がある（例えば、 $0.1 \times 0.1$ 辺りから $30 \times 30^\circ$ まで、これはピクセルの $10 \times 10$ のアレイ内の各ピクセルに対して視空間において $0.01 \times 0.01^\circ$ 辺りから $3 \times 3^\circ$ に対応する）。ピクセルアレイの角度範囲及びサイズは、1つの特定の形態の例示のためにのみ示されており、ピクセルアレイの角度の他の範囲又はサイズも本発明により包含されることが認められる。あらゆる選択されたアレイサイズに対して、アレイ内のピクセル数は、細胞が発現する視空間内の領域の形状によって変わる可能性もある（例えば、 $1 \times 1$ から $25 \times 25$ ピクセルの又はその近辺のアレイ）。同様に、時間関数は、いくつかのピンでの重みの合計から構成され、対数時間内の二乗余弦関数は、他のピンでの重みの合計から構成される（N i r e n b e r g 他、2010年、P i l l o w J W 他、2008年）。直交基底関数の合計のような他の代替を用いることができる。

【0056】

この実施形態では、時間サンプルは、 $1.2$ 秒の総持続時間に対して各々 $67\text{ms}$ の18個のピンに及ぶが、他の代替を用いることができる。例えば、神経節細胞が異なれば時間特性も異なるので、時間ピンが及ぶ持続時間及び細胞の動特性を表すのに必要な時間ピンの数は、変わる可能性がある（例えば、 $0.5$ 秒辺りから $2.0$ 秒までの持続時間及び5個辺りから20個までのいくつかのピン）。時間特性は、種にわたって変わる可能性もあるが、この変動は、上述の範囲により包含されることとする。

【0057】

数1の式は、履歴（すなわち、細胞 $m$ によって生成されたスパイク列）及び他の神経節細胞の出力の履歴によってエンコード出力を修正する項を含むように修正することができる（N i r e n b e r g 他、2010年、P i l l o w J W 他、2008年）。

【0058】

$L$ の両方の組のパラメータに対して（時間及び空間）、解像力（ピクセルサイズ、ピンサイズ）及びスパン（ピクセル数、時間ピン数）の選択は、2つのファクタ、すなわち、網膜のコードに対して適切に近いプロキシを取得する必要性、及び現実的最適化手順（以下を参照されたい）により判断することができるようにパラメータの数を十分に小さく保つ必要性により判断される。例えば、パラメータの数が小さすぎるか又は解像力が低すぎる場合に、プロキシは、十分な精度ではないものなる。パラメータの数が大き過ぎる場合に、最適化手続きに過剰適合が生じ、得られる変形（数1の式）は一般化されないことになる。適切な1組の基底関数の使用は、パラメータの数を低減し、従って、過剰適合を回避する方策である（すなわち、「次元縮退」方策）。例えば、時間関数（18個のピン、各々が $67\text{ms}$ を対象）は、10個の重み及び基底関数の合計によりパラメータ化するこ

10

20

30

40

50

とができ、節「実施例 1、エンコーダを構築する方法」及び (N i r e n b e r g 他、2010 年、P i l l o w J W 他、2008 年) を参照されたい。

【0059】

非線形性  $N_m$  は、3 次スプラインとしてパラメータ化されるが、区分線形関数、高次スプライン、テイラー級数、及びテイラー級数の指数のような他のパラメータ化を用いることができる。一実施形態では、非線形性  $N_m$  は、7 個のノットを有する 3 次スプライン関数としてパラメータ化される。ノット数は非線形性の形状が正確に捕捉され、一方、過剰適合が回避されるように選択される (過剰適合に対して上述の内容を参照されたい)。最低 2 つのノットが、終点を制御するのに必要とされ、従って、ノットの数、約 2 ~ 少なくとも約 12 の範囲とすることができる。ノットは、モデルの線形フィルタ出力によって示される値の範囲をターゲットにするように離間している。

10

【0060】

時空間変形段階に対して、上述の線形非線形 (L N) カスケードに加えて、代替マッピングも本発明の範囲である。代替マッピングは、人工神経回路網、及び線形 / 非線形 / 線形 (L N L) カスケードのような他のフィルタの組合せを含むがこれらに限定されない。更に、時空間変形は、(P i l l o w J W 他、2008 年、N i c h o l s 他、2010 年) にあるように履歴依存性をもたらすスパイク発生段階 (以下を参照されたい) からのフィードバックを組み込み、かつニューロン間の相関を含むことができる。例えば、これは、スパイク発生器の出力と付加的なフィルタ関数を畳み込んで、これらの畳み込みの結果を数 1 の式内の非線形性の増強に対して追加することによって実行することができる。

20

【0061】

他のモデルも時空間変形段階に使用することができる。モデルの非限定的な例は、P i l l o w J W 他、2008 年に説明されたモデルを含み、動的利得制御、神経回路網、形式及び係数が実験データで判断される離散的時間段階において近似される積分、微分、及び通常の代数方程式の系の解として表されるモデル、形式及び係数が実験データで判断される線形投影 (時空的カーネルによる入力の畳み込み) 及び非線歪み (パラメータ化された非線形関数による得られるスカラー信号の変形) から構成された一連の段階の結果として表されるモデル、時空的なカーネルが少数の項の合計であり、その各々が実験データで判断される空間変数の関数と空間変数関数及び時間変数との積であるモデル、重みの実験データで判断されるこれらの空間関数及び / 又は時間関数が空間又は時間サンプルの数よりも小さい 1 組の基底関数のサイズとの 1 組の基本機能の線形結合として表されるモデル、カットポイント及び / 又は係数が実験データで判断される非線形関数が 1 つ又はセグメントで構成され、その各々は多項式であるモデル、及び加算、減算、乗算、割算、ルート、累乗、及び超越関数 (例えば、指数、正弦、及び余弦) のような計算段階) を通じて一部の場合に再帰的に上述のモデルの出力を結合するモデルがある。

30

【0062】

#### スパイク発生段階

スパイク発生段階において、神経節細胞発火率は、神経節細胞スパイク列に対応するパルスのパターン (流れとも呼ばれる) に変換される。この段階は、処理デバイスの時空間変形モジュールによって実行することができる。

40

【0063】

一実施形態では、各細胞  $m$  に対して、瞬間的発火率  $\lambda_m$  を用いる不均質なポアソン過程が作成される。一実施形態では、長さ  $t$  の時間間隔 (時間ビン) が使用される。各ニューロンに対して、時空間変形の出力、すなわち、上述の数 1 の式に示す  $\lambda_m(t, X)$  に  $t$  を掛けると、発火確率が得られる。0 と 1 の間の一様分布から選択される乱数を選択する。この数が発火確率よりも小さい場合に、この時間間隔の開始時のスパイクが生成される。一実施形態では、 $t$  は、0.67 ms であるが、他のビン幅を使用することができる。 $t$  のこの数は、ポアソン過程を生成する標準的方法で選択され、すなわち、ビン幅は、ビン幅と最大発火率の積が 1 を遥かに下回る数であるように選択される。ビンサイズの選択は、計算上の効率と高い時間解像力及び広いダイナミックレンジの可能性との妥

50

協点である。この選択は、不相応な実験なく当業者により行うことができる。すなわち、ピンサイズが小さいほど、計算時間が増大し、一方、ピンサイズが大きいと、スパイクパターンの解像力がばやけたものになる。

#### 【 0 0 6 4 】

スパイク発生段階に対して、不均一ガンマ過程、及び積分及び発火過程、及びホジキン-ハクスレスパイク発生器を含むがこれらに限定されない代替手法を用いることができる (I z h i k e v i c h E M、2007年、I z h i k e v i c h E M、2010年)。

#### 【 0 0 6 5 】

エンコーダの出力、すなわち、パルスの流れは、最終的に、トランスデューサ、例えば、電極、C h R 2 蛋白質又は他の光感受性要素を駆動するのに適するフォーマットに変換される。潜在的な問題は、特定のエンコーダの出力がいくつかのパルスが迅速に連続して発生する (スパイクの「バースト」又はスパイクバースト、又はパルスのバースト又はパルスバースト) パルスシーケンスを含む場合があることである。特定の種類のトランスデューサ (例えば、C h R 2) がバーストに追従することができない場合に、人工器官の性能は僅かに劣化する可能性がある。

#### 【 0 0 6 6 】

本発明の方法は、この問題の排除をもたらすものであり、本方法は、バースト排除段階又は補正又は修正段階と呼ばれる。エンコーダの出力がバーストシーケンスを含む場合に、スパイク (又はパルス) 間の非常に短い間隔の発生が最小にされる代替物で置換される。これに対処するために、コードのポアソン変動を発生させることができる。人工器官のリアルタイム要件に従ってこれを実行するために、以下の作業を使用することができ、すなわち、スパイク発生器の出力の各短いセグメントが生成される時に検査される (すなわち、再スケーリング、時空間変形、及びスパイク発生段階の出力)。定義された基準番号  $N_{seg}$  を超えるか又はそれに等しいいくつかのパルスを含むセグメントは、パルスの数が  $N_{seg}$  に等しいものにされかつほぼ等間隔であるセグメントで置換される。C h R 2 を有する一実施形態では、セグメントは、持続時間  $T_{seg} = 33 \text{ ms}$  であり、置換のためのパルスの基準数  $N_{seg}$  は、3 である。  $T_{seg}$  は、  $3 \text{ ms}$  辺り ~  $66 \text{ ms}$  の間で選択することができ、  $N_{seg}$  は、2 辺り ~ 20 間で選択することができる。この手順の代替として、バースト排除段階では、前のパルスの窓  $T_{win}$  内に発生するあらゆるパルスを削除して、この窓内に発生するパルスの基準番号  $N_{win}$  が確実にそれ以上ないようにすることができる。ここでは、  $T_{win}$  は、上述の  $T_{seg}$  と同様に選択することができ、  $N_{win}$  は、上述の  $N_{seg}$  と同様に選択することができる。  $T_{seg}$ 、  $N_{seg}$ 、  $T_{win}$ 、及び  $N_{win}$  の値は、使用された特定のトランスデューサの動特性に適合するように選択される。

#### 【 0 0 6 7 】

上述のように、スパイクバーストの問題は、エンコーダの性能の劣化を引き起こす可能性がある。この問題は、めったに発生しないように思われ、例えば、図 9 に示す赤ん坊の顔を生成するのに使用される 12,000 個の 1 秒長のスパイク列のうちの修正段階が必要とされたのは、パルス系列の 1% に対してであった。

#### 【 0 0 6 8 】

尚、本出願人のエンコーダは、一般的にノイズ低減のために正常な網膜より少ない変動でスパイクを発生させることができる。従って、このエンコーダは、刺激に関して、実際の細胞よりも多い詳細な情報を担持することができる。

#### 【 0 0 6 9 】

##### 時空間変形のためのパラメータの値の判断

前の節に示した通り、一実施形態では、時空間変形は、数 1 の式に示すように、線形 / 非線形 (L N) カスケードを通じて実施される。本節では、その式の  $L_m$  及び  $N_m$  のパラメータを判断する 1 つの方法に対して説明する。最初に、正常な生物学的網膜が、2 種類の刺激、すなわち、白色ノイズ (W N) 及び自然情景動画 (N S) を用いて示される。図 3 ~ 図 9、図 12、図 13 及び図 14 に示すデータに使用されるエンコーダを生成するた

10

20

30

40

50

めに、刺激を各々10minにわたって示し、神経節細胞応答を両方を通じて連続的に記録したが、データセットは、両方の刺激に対する応答を含むものである。呈示は、少なくとも各5分、少なくとも各約10分、少なくとも各約15分、又は少なくとも各約20分続くことができるが、他の時間間隔を用いることができる。測定値時間の長さの判断は、不相応な実験なしに当業者により行うことができる。パラメータ、 $L_m$ 及び $N_m$ の値は、次に、数1の式の数値関数の下での観測されたスパイク列の対数尤度を最大にするように選択され、ここで、対数尤度 $Z$ は、以下によって示される(数2の式)。

【数2】

$$Z = \left\langle \sum_m \left( \sum_i \log [\lambda_m(\tau_m(i); X)] - \int_{t=0}^{\text{end}} \lambda_m(t; X) dt \right) \right\rangle_X \quad 10$$

ここで、全ての項は、先に定義した通りであり、更に、 $m(i)$ は、刺激 $X$ に応答する $m$ 番目の細胞内の $i$ 番目のスパイクの時間に存在する。尚、数2の式において、 $Z$ は、暗に $L_m$ 及び $N_m$ に依存し、その理由は、これらの数量が、数1の式を通じた $m$ の計算に関わっているからである。対数尤度を最大にするために、以下の手順に従うことができる。非線形性 $N_m$ は、最初に、指数であると仮定するが、その理由は、この場合に、対数尤度 $Z$ は極大値を持たないからである(Paninski他、2007年)。線形フィルタ及び指数型非線形性を最適化した後に(例えば、座標上昇により)、非線形性は、スプラインで置換される。次に、最大値に到達するまで( $i$ )スプラインパラメータ及び( $i$ )フィルタパラメータに関して対数尤度を最大にする交互の段階により最終モデルパラメータを判断する。 20

【0070】

この手法は、数1の式の拡張にも用いることができ、拡張は、(Pillow JW他、2008年、Nichols他、2010年)にあるように履歴依存性及び神経節細胞間の相関を含むことができる。

【0071】

代替的に、最大尤度を使用する代わりに、他の適切な最適化手法を用いてパラメータを判断することができる。非限定的な例には、各刺激 $X$ に対して計算された速度関数 $m$ と刺激 $X$ に応答する $m$ 番目の細胞の測定された発火率間の平均二乗誤差のような費用関数の最適化がある。更に、パラメータ推定手順では、ラインサーチ又はシンプレックス法のような他の最適化手法を使用することができる(勾配上昇の代替として)。他の最適化手法も使用することができる(例えば、Pun L、1969年を参照されたい)。 30

【0072】

時空間変形に対してパラメータを見出すために、又はより一般的にエンコーダ(細胞の入出力モデルとも呼ばれる)に対してパラメータを見出すための $WN$ 及び $NS$ 刺激の使用は、単一のタイプの刺激(例えば、 $WN$ 又は $NS$ だけ)の使用と比較するとパラメータの固有の組をもたらしものである。

【0073】

網膜神経節細胞又は他の網膜細胞の入出力モデルの開発は、長年の困難な問題であり、その理由は、一種類の刺激に向けて良好に機能するモデルは、他の種類の刺激に対しては良好に機能しないからである。例えば、 $WN$ 刺激に対して最適化されたモデルは、 $NS$ 刺激に対しては最適には機能せず、また、 $NS$ 刺激に対して最適化されたモデルは、 $WN$ 刺激に対しては最適には機能しない。 40

【0074】

この問題に対処する方策は、モデルが異なる画像統計値に適応することを可能にするようにモデルに適合の機構が組み込まれている生物学的手法の使用が中心である。この手法には、明示的に適合させる成分(例えば、入力統計値に依存するパラメータ)を有する準線形モデル(フィルタの時定数が明示的に入力コントラストに依存するように行われたVictor(1987年)を参照されたい)、又は適合が非線形動特性の創発特性である非線形モデル(Famulare及びFairhall(2010年)を参照されたい) 50



がある。しかし、これらの方策は、本発明に必要とされるような広範囲の刺激に対してデータによる方法で実行するには実際的ではなく、準線形モデルに対して、パラメータの数が、実験的な網膜内に示すことができるデータ量には多すぎて潜在的にその使用を排除され、非線形モデルに対して、順調に開始することさえ困難であり、その理由は、どの関数タイプの動特性を使用すべきかが明らかではないからである（例えば、WN及びNSに対する応答を正確に捕捉するように得るために）。

#### 【0075】

本明細書を通じて実施例に示すように、ここで取られる手法は、非常に有効であり、すなわち、人工の刺激及び自然の刺激を含め広範囲の刺激に対して入出力関係の非常に確実なマッピングを発生させることができる。主としてWN及びNSが相補的であるので有効である。具体的には、時間領域、空間領域の両方において、NS刺激は、低周波数の方向にWN刺激より非常に重く重み付けされる（WN刺激は、高周波数の方向にNS刺激より非常に重く重み付けされる）。相補的性格には、主要な利点がある。複合刺激セットは、単独であらゆる刺激セットにより見出されると思われるものと異なるパラメータ空間内の位置への最適化を駆動する入力空間をサンプリングする。パラメータは、NS及びWNだけを使用して見出されるものの平均ではなく、同様に、刺激セット及び他の刺激に対する応答を説明する異なる1組のモデルパラメータである（格子のような）。後者は、モデルの一般化を可能にするものであり、すなわち、後者は、エンコーダが広範囲な刺激（人工の刺激及び自然の刺激を含む）で良好に機能し、すなわち、同じ刺激に露出された時に正常な網膜細胞によって生成されたものと同じか又は実質的に類似のものである応答を生成するものである。

#### 【0076】

本出願人は、エンコーダを説明すると共に、特定の組のアルゴリズムック段階でモジュール的に構成したが、実質的に類似の入出力関係を有するアルゴリズム又はデバイスは、例えば、段階のうちのいずれか2つ又は3つを人工神経回路網のような単一の計算ユニットに結合することにより、異なる段階で又は非モジュール的に構成することができることが明らかである。

#### 【0077】

本発明のエンコーダを前提として、生理的データの収集がなくても、例えば、代替時空間変形に向けてパラメータを開発するか、又は当業技術で公知の方法を使用して同一又は類似の出力を生成するように神経網をトレーニングするのに使用することができるデータセットを発生させることができる。エンコーダの明示的説明により、人工器官、並びにバイオニクス（例えば、過剰な機能をもたらすデバイス）及びロボティクス（例えば、人工視認システム）に限定されないような他のデバイスの開発が可能である。

#### 【0078】

例えば、このような人工神経回路網では、各ノードが画像の1ピクセルから入力を受け取る入力層、次に、ノードが入力層のノードから及びノ又は互いから入力を受け取る1つ又はそれよりも多くの隠れ層、次に、ノードが隠れ層のノードから入力を受け取る出力層を使用することができる。出力ノードの活動は、エンコーダの出力に対応する。このようなネットワークをトレーニングするために、本発明のエンコーダを構成するのに使用した刺激から構成されるトレーニングのための入力（すなわち、白色ノイズ及び自然情景動画）、及び本発明のエンコーダの出力から構成されるトレーニングのための出力により、逆伝播のようなあらゆる標準的なトレーニングアルゴリズムを使用することができる。これは、更に別の生理的データを収集せずに代替方法を開発することができることを例証するものである（Duda及びHart、2001年）。

#### 【0079】

パラメータは、神経細胞間の関係の様々なモデルを使用して開発することができる。パラメータは、ニューロンが独立したものとするか、又は結合又は相関する神経細胞モデルに対して開発することができる。結合されたモデルに対して、他のニューロンにおける今後のスパイクの確率に影響を与えるように1つのニューロン内で発生するスパイクを可

能にする条件が追加される (Nirenberg 他、2010 年、Pillow JW 他、2008 年)。

【0080】

神経節細胞を駆動して正常又は正常に近い網膜出力を生成するために双極細胞を駆動する信号送信パターンの判断

上述のように、トランスデューサは、神経節細胞をターゲットにする。ここでは、双極細胞をターゲットにするトランスデューサに対して説明する。特に、ChR2 は、一例として使用している。

【0081】

ここで、通常の神経節細胞発火パターンを生成するように ChR2 を発現する双極細胞に与えるべき光の刺激のパターンを判断する方法を提供する。上述のように入出力関係に向けて神経節細胞を又は神経節細胞にエンコーダを使用して、双極細胞を駆動する光パターンをリバースエンジニアリングを通じて導出することができる。簡潔にいうと、公知の変形、すなわち、画像から神経節細胞出力への変形を用いて、その同じ神経節細胞出力を生成するために ChR2 を発現する双極細胞に示すことができる光パターンを見つける。

【0082】

本方法は、以下の通りである。多電極記録の実験において、あらゆる光パターンを ChR2 を発現する双極細胞に示し、神経節細胞応答を記録し、これらのデータを使用して ChR2 を発現する双極細胞と神経節細胞の間の変形を判断する。次に、この変形を逆転させる。逆変換は、あらゆる望ましい神経節細胞出力から、ChR2 を表す双極細胞に示すべき光のパターンに戻る。

【0083】

これを実行するために、以下の式に従って双極細胞から神経節細胞への時空間変形を判断する (数 3 の式)。

【数 3】

$$\lambda_m(t) = N_m((S * L_m)(t))$$

ここで、S は、ChR2 を発現する双極細胞への入力であり、L 及び N は、双極細胞から神経節細胞への変換のための線形フィルタ及び非線形フィルタであり、 $\lambda_m$  は神経節細胞の発火率である。パラメータ L 及び N を取得するために、光パターンで ChR2 を発現する双極細胞を駆動し、神経節細胞応答を記録し、上述の節で説明したようにモデルパラメータを最適化する。モデルパラメータを準備して、望ましい神経節細胞出力を生成するのに必要な ChR2 への入力を判断することができる。形式的には、これは、数 3 の式により表された変換を逆転することを伴っている。例えば、以下の式を使用することができる。

【数 4】

$$S(t) = \frac{1}{L(0) \Delta t} \left( N^{-1}(\lambda(t)) - \sum_{a=1}^A S(t - a\Delta t) L(a\Delta t) \right)$$

この式で得られるものは、望ましい出力の関数  $\lambda_m(t)$  として次の入力  $S(t)$ 、及び以前の時間入力  $S(t - a \Delta t)$  で供給された入力である。a にわたる合計は、フィルタ関数 L がゼロ以外である範囲に及ぶ。逆転アルゴリズムは、個別の合計として畳み込みを表して簡単な代数を実施することによって以下から続く。

【数 5】

$$\lambda_m(t) = N_m((S * L_m)(t))$$

上述の式は形式的な逆転を表し、それを実際的にするために、時間段階  $\Delta t$  及び遅延の数 A の選択は、不相应な実験なしで経験的にすることができる。尚、非線形性 N は固有の

10

20

30

40

50

逆転を有することができないが、これは問題でなく、その理由は、これらの目的に対して、解が必要であるだけであり、固有の解が必要であるのではないからであり、すなわち、正しい出力を生成するために双極を駆動するために何らかのパターン、すなわち、正常又は正常に近い出力を必要とするだけである。従って、機能するようにあらゆる逆転を選択することができる。神経節細胞エンコーダがこの手法の基礎として機能することに注意することが重要である。神経節細胞エンコーダによって供給される神経節細胞の入出力（刺激／応答）関係が分ると、通常の神経節細胞発火パターンを生成するために双極細胞を駆動するのに必要な光パターン、すなわち、同じ刺激に露出された時に正常な網膜細胞によって生成されたものと同じか又は実質的に類似のものである発火パターンを見つけることができる。

10

#### 【0084】

##### トランスデューサ

トランスデューサは、入力信号を受信し、この信号を受け取ると瞬時に発火又は電圧変化するようにニューロンを駆動することができる。好ましい実施形態では、トランスデューサは、単一の細胞をターゲットにし、例えばかつ以下に限定されないが、感光性蛋白質又は1つの細胞をターゲットにする電極である。他の実施形態では、トランスデューサは、小規模群の細胞をターゲットとし、小規模群の細胞は、1つの細胞、1群の細胞、又はほぼ100の細胞から構成される場合がある。好ましい実施形態では、1組のトランスデューサが使用され、各トランスデューサは、上述のように単一の細胞又は小規模群細胞をターゲットにする。この1組のトランスデューサは、高解像度トランスデューサと呼ばれる。1つよりも多いトランスデューサは、特定の細胞又は小規模群の細胞にターゲットを定めることができ、例えば、チャンネルロドプシン - 2 及びハロロドプシンは、単一の細胞にターゲットが定めることができる。

20

#### 【0085】

トランスデューサは、発火するか又は電圧変化するように、網膜神経節細胞及び網膜双極細胞を含むがこれらに限定されないあらゆる網膜細胞を駆動することができる。インタフェースデバイスを使用してエンコーダ及びトランスデューサを接続することができる。

#### 【0086】

トランスデューサは、あらゆる適切な機構を使用することができ、かつ電極、光遺伝子刺激物、熱刺激物、放射熱刺激物などを含むことができる（Weills 他、2005年）。一実施形態では、電極のようなトランスデューサは、網膜神経節細胞又は網膜双極細胞を刺激するように患者の目に埋め込まれる。別の実施形態では、吸光体ベースのシステムのような直接光活性化が、トランスデューサに使用される。

30

#### 【0087】

他のトランスデューサ、並びにトランスデューサの組合せ又はトランスデューサの多重化は、これらの教示の範囲である。トランスデューサは、蛋白質、例えば、光感受性蛋白質又は光反応化学物質を含むがこれらに限定されない光応答要素とすることができる。

#### 【0088】

トランスデューサとして機能することができる光感受性蛋白質は、光にตอบสนองして膜内外イオン移動を発生させることができる光ゲート式イオンチャンネルである（Zhang 他、2009、Lagali 他、2008年）。光感受性蛋白質は、可視光、紫外線、又は赤外線にตอบสนองすることができる。光感受性蛋白質の例には、チャンネルロドプシン - 1、チャンネルロドプシン - 2、LiGluR、ChETA、SFO（ステップ関数オプシン）、OptoXR（光感受性GPCR）、ボルボックスチャンネルロドプシン - 1、ボルボックスチャンネルロドプシン - 2、ChIEF、NpHR、eNpHR、及びその組合せがある。光感受性蛋白質又はその活性断片は、トランスデューサとして使用することができる（欧州特許出願第19891976号明細書）。

40

#### 【0089】

トランスデューサとして使用することができる光感受性化学物質の例には、合成光異性化アゾベンゼン制御K<sup>+</sup>（SPARK）、脱分極性SPARK（D-SPARK）、光切

50

り換え型アフィニティラベル ( P A L )、C N B - グルタミン酸塩、M N I - グルタミン酸塩、B H C - グルタミン酸塩、及びその組合せがある。

【 0 0 9 0 】

一実施形態では、トランスデューサは、網膜神経節細胞内の光応答要素である。エンコードによって生成されるコードは、ビットストリーム (例えば、ゼロ及び1つのストリーム、ここで0 = スパイクなし、1 = スパイクあり) により表すことができる。ビットストリームは、次に、光パルスの流れ (例えば、0 = 光なし、1 = 光あり) に変換される。神経節細胞は、光パルスを膜内の電圧変化に変換する光応答要素 (光感受性蛋白質 (例えば、C h R 2) のような) を含むので、かつ神経節細胞がスパイクニューロンであるので、光パルスは活動電位生成、すなわち、スパイク発生を引き起こす。パルス光源が適切な強度、例えば、0.4 ~ 32 mW / mmの範囲である場合に、活動電位は、ほぼ1対1の適合で光パルスに追従することができる (実施例13に示すように)。従って、神経節細胞発火パターンは、非常に密接にエンコードからの信号に追従する。

10

【 0 0 9 1 】

別の実施形態では、トランスデューサは、網膜神経節細胞内の光応答要素である。この場合に、神経節細胞は、間接的に駆動され、双極細胞は、光で刺激されると、神経節細胞に直接、間接に関わらず信号を送り (例えば、無軸索細胞を通じて)、神経節細胞が発火する。この場合に、双極細胞に与えられた刺激は、個別のパルス又は連続波とすることができる。C h R 2 のような光感受性要素は、受け取った時に、双極細胞に電圧変化させ、下流ニューロンに神経伝達物質を放出させて最終的に神経節細胞は発火する。

20

【 0 0 9 2 】

一部の細胞内の背景発火は、エンコードの出力に追従する光感受性蛋白質 (例えば、C h R 2) の機能を妨げる可能性がある。一実施形態では、網膜神経節細胞内の背景発火を補正するために、C h 2 及びハロロドプシン (又はその均等物) をまず各細胞内に発現させることができる。黄色光により活性化された時に、ハロロドプシンは細胞を過分極し、発火が抑止される。細胞が発火するように意図された時に、黄色光が消されて青色光が示される。青色光は、チャンネルロドプシン - 2 (C h R 2) を活性化し、チャンネルロドプシン - 2 は、細胞を脱分極させて、細胞は、活動電位を発火させる。従って、細胞を黄色光で照射して背景発火を抑止することができ、光を黄色から青色に切り換えて発火を発生させることができる。別の実施形態では、双方向制御の同じ方策を非スパイク細胞にも適用することができ、黄色光は、細胞を過分極させ、青色光は、細胞は減極する。

30

【 0 0 9 3 】

更に、上述のように、エンコードは、時に、C h R 2 のようなトランスデューサが良好には追従することができない迅速な連続で (すなわち、バーストして) 一連のスパイクを生成する。これに対処するために、コードのポアソン変動を発生させることができる。コードのこのバージョンは、脳には通常のコードと同じ程度意義深いものであるが、トランスデューサの動特性に適應される。例えば、得られるコードに迅速な連続がなく、C h R 2 の動特性により適合するようにエンコードを適合させることができる。代替的に、より緊密にスパイクに追従するC h R 2 の変動を使用することができる。明示的方策に対しては上述のスパイク発生に関する節を参照されたい。

40

【 0 0 9 4 】

光感受性要素との使用のためのベクター

遺伝子コード化、例えば、光感受性の蛋白質は、ウイルスベクター及び非ウイルスベクター及び方法を通じて網膜細胞内に導入することができる。ウイルスベクターには、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス、ワクシニアウイルス、ポックスウイルス、バキュロウイルス及び牛乳頭種ウイルス、及び組み換え型アデノ随伴ウイルス (A A V)、組み換え型アデノウイルス、組み換え型レトロウイルス、組み換え型ポックスウイルスのような組み換え型ウイルス、及び当業技術での他の公知のウイルスがあるがこれらに限定されない (A u s u b e l 他、1989年、K a y 他、2001年、W a l t h e r 及びS t e i n、2000年、M a r t i n 他

50

、2002年、van Adel他、2003年、Han他、2009年、米国特許公開第20070261127号明細書)。組み換え型ベクター組み付け方法は、公知である(例えば、公開PCT出願WO2000015822及び本明細書で引用の他の参考文献を参照されたい)。

#### 【0095】

アデノ随伴ウイルスは、1つの実施形態である。AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、及びAAV6を含む複数の異なる血清型が報告されている。本発明に使用するベクター及びキャプシド、及び他の構成物を生成する際に使用されるAAV配列は、様々な供給源から取得することができる。例えば、この配列は、AAVタイプ5、2つのAAVタイプ、AAVタイプ1、AAVタイプ3、AAVタイプ4、AAVタイプ6、又は現在識別されているヒトAAVタイプ及びまだ識別されていないAAV血清型を含め他のAAV血清型又は他のアデノウイルスによって達成することができる。様々なこれらのウイルス血清型及び株は、バージニア州マナッサスのATCCから入手可能であり、又は様々な学術的又は市販の供給元から入手可能である。代替的に、公知の技術で本発明のベクター及びウイルスを調製する際に使用される配列を合成することが望ましいと考えられる。これらの技術では、公開されかつ様々なデータベースから入手可能であるAAV配列を利用することができる。本発明の構成物の準備に利用される配列の供給源は、本発明を限定しない。同様に、これらの配列をもたらしAAVの種及び血清型の選択は、当業者の技能内にあり、かつ以下の本発明を限定するものではない。AAVは、自己相補的とすることができる(Koilkonda他、2009年)。

#### 【0096】

本発明のベクターは、本明細書に説明する材料及び方法、並びに当業者に公知のものを使用して構成及び発生させることができる。本発明のいずれかの実施形態を構成するのに使用されるこのような工学方法は、分子生物学において当業者に公知であり、遺伝子工学、組換えウイルス工学、及び生成及び合成生物学技術がある。例えば、先に引用したSambrook他及びAusubel他、及び公開PCT出願WO1996013598を参照されたい。更に、アデノウイルスキャプシドにおいてrAAVカセットを生成するのに適する方法は、米国特許第5,856,152号明細書及び米国特許第5,871,982号明細書に説明されている。眼細胞に遺伝子を供給する方法も同様に当業技術で公知である。例えば、Koilkonda他、2009年、及び米国特許公開第20100272688号明細書を参照されたい。

#### 【0097】

遺伝子は、プラスミド、コスミド及びファージ、ナノ粒子、ポリマー(例えば、ポリエチレンイミン)、エレクトロポレーション、リボソーム、トランジットTKOトランスフェクション試薬(Minis Bio、マディソン、米国)を含むがこれらに限定されない当業技術で公知の他の非ウイルス方法を通じて供給することができる(Cai他、2010年、Liao他、2007年、Turchinovich他、2010年)。眼の望ましい細胞に遺伝子を変換する可能な技術の詳細なレビューは、Wrightにより教示されている(Wright、1997年)。Neurotech(米国ロードアイランド州リンカーン)により開発された封入細胞技術を使用することも可能であると考えられる。

#### 【0098】

##### 制御シーケンス

ベクターは、転写開始、終了、プロモーター及びエンハンサアレイ、スプライシング及びポリアデニル化信号のような効率的なRNAプロセッシング信号、細胞質のmRNAを安定化するシーケンス、転換効率を高めるシーケンス(すなわち、Kozakコンセンサスアレイ)、蛋白質安定性を高めるシーケンス、及び必要な時には蛋白質処理及び/又は分泌を高めるシーケンスを含むがこれらに限定されない適切な発現制御シーケンスを含むことができる。例えば、固有、構成的、誘導性及び/又は組織特異の多くの異なる発現制御シーケンスは、当業技術で公知であり、望ましい発現のタイプにより、遺伝子の発現を駆

動するのに利用することができる。不相応な実験なしに適切な発現シーケンスの選択を当業者によって達成することができる。

【0099】

真核細胞に対して、発現制御シーケンスは、プロモーター、免疫グロブリン遺伝子、SV40、サイトメガロウイルスなどから導出されたもののようなエンハンサー及びスプライス供与及びアクセプター部位を含むことができるポリアデニル化シーケンスを一般的に含む。ポリアデニル化シーケンスは、導入遺伝子シーケンス後に、及び3・ITRシーケンス前に一般的に挿入される。一実施形態では、ウシ成長ホルモンp o l y Aが使用される。

【0100】

本発明の方法において有用なベクターの別の制御成分は、内部リボソーム進入部位(IRES)である。IRESシーケンス又は他の適切なシステムは、単一の遺伝子コピーから1つよりも多いポリペプチドを生成するのに使用することができる。IRES(代替的に他の適切なシーケンス)は、1つよりも多いポリペプチド鎖を含む蛋白質を生成するか、又は同じ細胞から又は同じ細胞内で2つの異なる蛋白質を発現させるために使用される。IRESの例は、網膜細胞において導入遺伝子発現を補助するポリオウイルス内部リボソーム進入シーケンスである。

【0101】

ベクターに使用されるプロモーターの選択は、眼細胞において選択される導入遺伝子を発現させることができる多くの構成的プロモーター又は誘導性プロモーターの中から製造することができる。一実施形態では、プロモーターは、細胞特異のものである。「細胞特異」という用語は、組み換えベクターに向けて選択された特定のプロモーターが、特定の眼の細胞型での選択された導入遺伝子の発現を誘導することができることを意味する。実施形態では、プロモーターは、網膜神経節細胞における導入遺伝子の発現に向けて特異のものである。実施形態では、プロモーターは、双極細胞における導入遺伝子の発現に向けて特異のものである。

【0102】

上述のように、網膜神経節細胞又は網膜双極細胞の各細胞部類では、固有のコードを使用する。本発明の一実施形態では、神経節細胞の1つの部類のみがターゲットとされる。光感受性蛋白質の発現は、細胞特異のプロモーターにより制御することができる。例えば、mGluR6プロモーターは、ON双極細胞における発現を制御するために使用することができる(Ueda他、1997年)。例えば、光感受性蛋白質は、神経節細胞特異の遺伝子プロモーター、例えば、Thy-1を通じて網膜神経節細胞内で発現させることができる(Arenkie1他、2007年、Barnstable他、1984年)。

【0103】

一実施形態では、トランスデューサは、ここに説明する特定の2つのベクターcre-lox系を使用して網膜細胞の特定細胞部類にターゲットを定める(一般的なcre-lox法の説明に対して、Sauer(1987)を参照されたい)。例えば、ChR2は、以下のようにOFF神経節細胞の部分集合にターゲットを定めることができる。1つのウイルスベクターにおいて、反転ChR2遺伝子は、カルレチニンプロモーターの制御下で逆方向な向きに配置されるloxP部位が側に位置することができ、カルレチニンは、OFF網膜神経節細胞の部分集合内にかつ一部の無軸索細胞内で発現する(Huberman他、2008年)。次に、Thy-1(プロモーター、網膜神経節細胞内に発現するプロモーター)の制御下でCreリコンビナーゼを発現させる第2のウイルスベクターを導入することができる(Barnstable他、1984年)。Thy-1プロモーターは、神経節細胞においてのみCreリコンビナーゼを発現させるものであるから、反転ChR2は、無軸索細胞ではなくこれらの細胞においてのみ反転されて発現する。正しく配向されたChR2の発現は、カルレチニンプロモーター及びThy1プロモーターが活性、すなわち、OFF網膜神経節細胞の部分集合である細胞においてのみ行われる。(尚、Thy-1プロモーター及びカルレチニンプロモーターは、網膜の外側の領域において

10

20

30

40

50

活性とすることができるが、ベクターにおける遺伝子の発現を引き起こさず、その理由は、ベクターは眼、特に網膜にのみ適用されるからである。) )

この考え方は、逆に実施することができ(本出願人が有するプロモーターに基づいて有用)、例えば、Thy1を使用して神経節細胞内でChR2を駆動することができる。それを正しい向きに置きにおいて、loxシーケンスをその側に位置させる。次に、別のプロモーター、例えば、GABA A受容体プロモーターを使用して神経節細胞の何らかの部分集合内のCreリコンビナーゼを活性化する。Creは、それらの細胞内のChR2を逆転し、ChR2は遮断され、従って、ChR2は、Thy-1を発現させ、かつ他方のプロモーターを確かに発現させる細胞においてのみ活性になる。Creが他の細胞部類内でも活性化されるか否かは重要ではなく、その理由は、ChR2が他の細胞部類内にはないので、OFFになるChR2はないからである。

10

#### 【0104】

これらの同一の手法は、網膜神経節細胞の他の細胞部類にも適用される。それらのターゲティングは、カルレチニンプロモーターの代わりに、SPIG1-プロモーター(Yonehara他、2008年、Yonehara他、2009年)、DRD4-プロモーター(Huberman他、2009年)、神経フィラメント蛋白質プロモーター(Nirenberg及びCepko、1993年、及びSiegerth他、2009年)において識別されたもののような神経節細胞の部分集合内で発現を駆動する他のプロモーターのような代替プロモーターを使用して達成することができる。ここに説明する2つのベクターcre-lox系は、他の細胞部類のターゲティングまで容易に拡張される。プロモーター解析を使用してプロモーター機能的断片及び派生物を識別することができる(McGowen他、1998年4:2、Bookstein他、1990年)。

20

#### 【0105】

一実施形態では、複数のクラスの網膜ニューロンをターゲットとし、異なるChR2派生物のような異なるトランスデュースを異なる細胞部類内で発現させることができる。異なるトランスデュース、例えば、異なるChR2派生物は、励起波長を含め特性が異なる可能性がある。従って、コードは、異なる波長でコードを示すことによって特定の細胞部類に供給することができる。例えば、OFF細胞内に青色感応性のトランスデュースを置いた場合に、OFF細胞コードによって生成された光パルス青色で供給することによってOFF細胞を選択的に駆動することができる。他の細胞部類は、青色光には応答せず、従って、OFF細胞コードにより駆動されない。

30

#### 【0106】

1次網膜の神経節細胞層(GCL)のアーキテクチャも、特定の細胞型のターゲティングを可能にするものである。神経節細胞体は、GCL内にある。中心窩の近くで、GCLは、最大厚みであり、細胞人体のいくつかの層を含む。異なる細胞型の細胞体は、GCL内の異なる位置にある。例えば、ON細胞体は、OFF細胞体よりも網膜面(ガラス質に向けて近い)に近い(Perry及びSilveira、1988年)。従って、ON細胞体を優先してターゲットにすることができる。これは、例えば、ウイルスベクター(例えば、ChR2を担持するAAV)との低線量感染により行うことができ、低用量感染により、表面に向けて近い細胞が優先してターゲットとされる。この手法は、中心窩に限定されず、GCLが複数の副層を含む網膜のあらゆる領域に適用することができる。

40

#### 【0107】

別の実施形態では、光応答要素を双極細胞内に発現させることができる。例えば、mGluR6 ChR2プラスミド(Ueda他、1997年、米国特許公開第20090088399号明細書)又は他の高効率アデノ随伴ウイルスを使用して、光応答要素、例えば、遺伝子をコード化するチャンネルロドプシン-2のターゲットを双極細胞に定めることができる。(Morgans CW他、2009年、Cardin JA他、2010年、Petrus-Silva他、2009年、Petersen-Jones他、2009年、Mancuso他、2009年)。ON双極細胞内に発現するグルタミン酸受容体遺伝子に対するプロモーター、又はジストロフィンのプロモーター(Fitzgerald

50

d 他、1994年)のような双極細胞特異のプロモーターを使用することができる(Lagali 他、2008を参照されたい)。プロモーター解析を使用して、プロモーター機能的断片及び派生物を識別することができる(McGowen 他、1998年、4:2、Bookstein 他、1990年)。

#### 【0108】

本発明のベクター内に含めることができる構成的プロモーターの例には、CMV即時型エンハンサノチキン・アクチン(C・A)プロモーター-エクソン1-イントロン1要素、RSV LTRプロモーター/エンハンサ、SV40プロモーター、CMVプロモーター、381bp CMV即時型遺伝子エンハンサ、ジヒドロ葉酸還元酵素プロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ(PGK)プロモーター、及び578bp CBAプロモーター-エクソン1-イントロン1がある(Koilkonda 他、2009年)。プロモーター解析を使用して、プロモーター機能的断片及び派生物を識別することができる(McGowen 他、1998年、4:2、Bookstein 他、1990年)。

#### 【0109】

代替的に、誘導型プロモーターは、眼細胞生成の量及びタイミングを制御するように導入遺伝子産物を発現させるために使用される。このようなプロモーターは、遺伝子産物が過剰な蓄積で細胞に有毒であることが見出された場合に有用とすることができる。誘導型プロモーターには、亜鉛誘導性羊メタロチオネイン(MT)プロモーター、デキサメタゾン(Dex)誘導型マウス乳癌ウイルス(MMTV)プロモーター、T7プロモーター、エクジソン昆虫プロモーター、テトラサイクリン抑制型系、テトラサイクリン誘導型系、U486誘導型系、及びラパマイシン-誘導型を制限なく含む当業技術で公知のもの及び上述したものがある。緊密に制御されるあらゆるタイプの誘導型プロモーターを使用することができる。この状況で有用であると考えられる他のタイプの誘導型プロモーターは、細胞の特定の生理的状態、例えば、温度、急性期、特に分化状態により、又は細胞だけを再構成する際に制御されるものである。

#### 【0110】

上記及び他の一般的なベクター及び制御要素の選択は従来のものであり、多くのこのようなシーケンスが市販されている。例えば、Sambrook 他、1989年及びAusubel 他、1989年を参照されたい。言うまでもなく、全てのベクター及び発現制御シーケンスが、本発明の導入遺伝子の全てを発現させるように等しく良好に機能するというわけではない。しかし、当業者は、本発明の範囲から逸脱することなくこれらの発現制御シーケンスの中から選択を行うことができる。適切なプロモーター/エンハンサシーケンスは、本出願によって示す指針を使用して当業者により選択することができる。このような選択は、決まりきった事項であり、分子又は構成物を制限しない。例えば、1つ又はそれよりも多くの発現制御シーケンスを選択し、このような導入遺伝子にシーケンスを作動可能にリンクさせて、ベクターに発現制御シーケンス及び導入遺伝子を挿入することができる。ベクターは、当業技術に教示されるベクターをパッケージ化する方法のうちの以下の1つに従って感染性粒子又はウイルス粒子にパッケージ化することができる。

#### 【0111】

先に詳細したようにターゲット眼細胞に使用される望ましい光感受性要素及び細胞特異のプロモーターを含むベクターは、従来の方法による汚染がないか評価され、次に、網膜注入のためのターゲットとする医薬品組成物に調製されることが好ましい。このような調製は、薬学的及び/又は生理的に満足できる賦形剤又は担体、適切な生理的レベルにpHを維持するための緩衝食塩水又は他の緩衝剤、例えば、HEPESのような特に硝子体内、網膜、又は網膜下の注入に適するもの使用を伴っている。様々なこのような公知の担体は、引用により本明細書に組み込まれている公開PCT出願WO2002082904に示されている。ウイルスを長期間貯蔵すべきである場合に、それをグリセリンの存在下で凍結させることができる。

#### 【0112】

網膜変性により特徴付けられた眼の疾患を治療する本発明の本方法により、上述の医薬



組成物は、硝子体内、網膜、又は網膜下の注入により、このような失明病を有する被験者に投与される。ベクターの眼への投与の方法は、当業技術で公知である。例えば、K o i l k o n d a 他、2009年、及び米国特許公開第20100272688号明細書を参照されたい。

#### 【0113】

細胞特異のプロモーターシーケンスの制御下の望ましい光感受性要素をコード化する核酸アレイを担持するベクターの有効量は、約150～約800マイクロリットル間の容積において約 $1 \times 10^9 \sim 2 \times 10^{12}$ 感染単位間の範囲とすることができる。感染単位は、M c L a u g h l i n 他(1988)に説明する要領で測定されるものである。更に望ましくは、有効量は、約250～約500マイクロリットル間の容量において約 $1 \times 10^{10} \sim 2 \times 10^{11}$ 感染単位間に存在する。更に、治療中の被験者、好ましくはヒトの肉体的状態、被験者の年齢、特定の眼の疾患、及び進行性である場合は疾患が進行した程度を考慮して、これらの範囲の他の投与量を主治医により選択することができる。

#### 【0114】

本発明の医薬組成物のその後の投与量を投与することも望ましいであろう。例えば、眼のターゲット細胞内の導入遺伝子の持続時間により、6ヵ月間隔で又は初回投与後は年1回ブースタ投与量を供給することができる。

#### 【0115】

このようなブースタ投与量及び必要性は、従って、本明細書に説明するように、例えば、網膜及び視覚機能試験及び視覚挙動試験を用いて主治医によりモニタすることができる。他の類似の試験を用いて、治療した被験者のステータスを時間と共に判断することができる。適切な試験の選択は、主治医により行うことができる。更に代替的に、本発明の方法は、通常の網膜に見られるものに近い視覚機能のレベルが可能にするために、単一又は複数の注入でのより大きな容量のウイルス含有溶液の注入を伴う場合がある。

#### 【0116】

コードは、適切な光源を有するLEDアレイ、DLPチップ、スキャニングレーザビーム又はLCDなどであるがこれに限定されない光源によって光パルスに変換することができる。光感受性要素のインタフェースに対して以下でより詳細に説明する。

#### 【0117】

別の実施形態では、トランスデューサは、電極である。電極を通じて、エンコードによって生成された電気パルスは、コード化されたパルスに従って発火するように直接に又は双極細胞又はその組合せを通じて神経節細胞を駆動する。埋め込まれる電極は、米国特許第6533798号明細書及び米国特許第7149586号明細書、米国特許公開第20080249588号明細書、米国特許公開第20090326623号明細書、及び米国特許公開第20080221653号明細書に説明されているような電極とすることができるがこれらに制限されない。

#### 【0118】

AAVを使用してベクター及びこの人工器官に使用することができる光感応蛋白質の例は、s c - m G l u R 6 - h C h R 2 - G F P ( m G l u R 6 ) - h C h R 2 - G F P、s c - s m C B A - C H R 2 - G F P、s c - s m C B A - C H R 2 - G F P、F l e x - C B A - C h i e f - G F Pであるがこれらに限定されない(B i l l H a u s w i r t h、個人的通信)。双極細胞内で活性であるL7プロモーターを使用するごく最近のベクターは、例えば、AAV2又はAAV2-Y444F又はAAV2-Y444,500,730Fに使用することができる。(例えば、S h e r i d a n C、2011年、公開PCT出願WO1998048027、WO2001094605、WO2002082904、WO2003047525、WO2003080648、WO2003093479、WO2003104413、WO2005080573、WO2007127428、WO2010011404を参照されたい。)

#### 【0119】

#### デバイス

本明細書に説明する方法を実施する人工器官デバイスは、以下の要素を含み、要素は、物理的に、無線で、光学的に、又は当業技術で公知の他の手段により相互接続することができる。

【0120】

(1) カメラ

カメラは、高忠実度で画像を取得する。一実施形態では、カメラは、Point Grey Firefly MV (60コマ/秒で752×480ピクセル、8ビット/ピクセルが可能)のような電荷結合デバイス(CCD)ベースである(Point Grey Research、カナダ国ブリティッシュコロンビア州リッチモンド44)。リアルタイムでカメラから処理デバイスまで画像を送信するには、広帯域接続が必要である。例えば、20MB/秒を超えるデータ転送は、カメラと処理デバイスの間のUSB 2.0インタフェースを使用して達成することができる。

10

【0121】

カメラは、高い時空間解像力で視覚映像を捕捉し、次に、処理デバイスにこれらの画像を転送することができるあらゆるデバイスで置換することができる。これらの装置には、電荷結合デバイス(CCD)に基づくデバイス、相補型金属酸化膜半導体(CMOS)センサのような活性ピクセルセンサ(APS)、薄膜トランジスタ(TFT)、光ダイオードのアレイ、及びその組合せがあるがこれらに限定されない。

【0122】

カメラは、IEEE 1394又はUSB 2.0のようなシリアルインタフェース、パラレルインタフェース、NTSC又はPALのようなアナログインタフェース、無線インタフェースを含むがこれらに限定されない高速データ転送が可能なあらゆる接続を用いて処理デバイスとインタフェースを用いて接続することができる。カメラは、処理デバイスと同じ基板上に一体化することができる。

20

【0123】

(2) 処理デバイス

処理デバイスは、リアルタイムで画像からコードへの変換を実行するエンコーダを実行する。

【0124】

処理デバイス、例えば、手持ち式コンピュータは、画像の流れを受け取ってリアルタイムで出力に変形することができるあらゆるデバイスを使用して実行することができる。これには、組合せ汎用プロセッサ(GPP)/デジタル信号プロセッサ(DSP)、標準的なパーソナルコンピュータ又はラップトップのような携帯型コンピュータ、グラフィックプロセッシングユニット(GPU)、フィールドプログラマブルゲートアレイ(FPGA)(又は入力信号がアナログである場合はフィールドプログラマブルアナログアレイ(FPAA))、特定用途向け集積回路(ASIC)(更新が必要な場合に、ASICチップを交換する必要がある)、特定用途向け標準製品(ASSP)、独立型DSP、独立型GPP、及びその組合せがあるがこれらに限定されない。

30

【0125】

一実施形態では、処理デバイスは、単一のチップ上へ汎用プロセッサ(GPP)及びデジタル信号プロセッサ(DSP)を一体化するデュアルコアプロセッサに基づく手持ち式コンピュータ(Beagleboard、テキサスインスツルメンツ、テキサス州ダラス)である。このプラットフォームは、高度並列計算が可能であり、所要電力が一般的な携帯型コンピュータよりも小さい(～2ワット又はそれ未満、標準的なラップトップコンピュータの26ワットに比較して)。それによって携帯型かつ長期間にわたって単一のバッテリーで電源を供給することができるデバイスの上でリアルタイムで変換を計算することができる。例えば、充電機能が40～60ワットの範囲である一般的なラップトップは、約20～30時間にわたって連続的にプロセッサを実行させることができる。別の実施形態では、処理デバイスは、患者が着用する眼鏡に装着することができるように小型である。

40

【0126】

50

空間内の所定の位置に対して、エンコーダにより指定された変換は、一連の入力画像に適用され、空間内の望ましい位置でターゲットとされた細胞を駆動するコード化された出力が生成される。一実施形態では、ターゲットとされた細胞が網膜神経節細胞である場合に、エンコーダの出力は、網膜神経節細胞が発火すべきである時間を指定する一連の電子パルスである。各パルスの時間は、ミリ秒以下の解像力で計算される。計算の大半は、DSP上で行われ、一方、GPPは、カメラからプロセッサのメモリに画像データを誘導し、かつカメラ及びDSPを同期化するのに使用される。

#### 【0127】

一実施形態では、ターゲットとされた細胞が網膜神経節細胞である場合に、処理デバイスの出力は、以下のようにフォーマット設定され、特定の時間 $t$ に対して、出力は、位置 $(x, y)$ の要素が位置 $(x, y)$ の神経節細胞の状態に対応するビットの行列であり、細胞が時間 $t$ でスパイクを発火すべきである場合は1であり、細胞が時間 $t$ でスパイクを発火すべきでない場合は0である。この行列の寸法は、寸法が刺激することができる神経節細胞の数に適合するようにサイズ設定される。エンコーダの出力は、次に、メモリに記憶されていて出力インタフェースを通じてトランスデューサを駆動する信号に変換される（以下の小見出し(4)「出力インタフェース」の場所の説明を参照されたい）。変換は、ブロック単位で行われる。一実施形態では、エンコーダの出力は、16.66ms間記憶され、次に、ブロックとして変換される。5ms~66.66msの範囲のブロックを使用することができ、時間的な最小ブロック長は、刺激開始と神経節細胞の第1のスパイク間の時間遅延により判断される。

#### 【0128】

##### (3) トランスデューサ

トランスデューサは、出力インタフェースを通じてデバイスから信号を受け取って、エンコーダにより指定されたようにターゲットとされた細胞を活性化する。トランスデューサは、節「トランスデューサ」において先に詳細している。

#### 【0129】

出力インタフェースは、コード化された出力（処理デバイスから）をトランスデューサを駆動することができる形に変換する。選択されたトランスデューサに基づいて、いくつかの出力インタフェースが可能である。例えば、網膜神経節細胞エンコーダが網膜内に発現する光感受性トランスデューサ（Ch2のような）と対である場合に、出力インタフェースは、デジタル光処理（DLP）デバイスとすることができる。このDLPデバイスは、DLPデバイスがエンコーダデバイスから受け取るコード化された神経節細胞出力に対応する光のパルスを出力する。光のパルスは、次に、神経節細胞内のトランスデューサを駆動し、神経節細胞は、エンコーダが指定するように発火する。この例において、出力インタフェースは、以下のように機能する。すなわち、エンコーダの出力は、処理デバイスから出力インタフェース（DLP）に送られる。出力インタフェースは、次に、高強度発光ダイオード（LED）と対であるデジタルマイクロミラーデバイス（DMD）を使用して活動電位時間を表す二進データを光パルスに変換する。DMDは、その位置を高い時間解像力で切り換えることができるミラーのグリッドである。エンコーダが、位置 $(x, y)$ の神経節細胞が活動電位を発火するように指図する時に、デバイス上の位置 $(x, y)$ でミラーは、短い期間にわたって（例えば、ミリ秒の時間尺度で）「オン」位置に切り換えられ、次に、「オフ」位置に切り換えられる。それによって短い期間にわたって光がLEDから網膜上へ反射され、位置 $(x, y)$ で光パルスが発生する。この光パルスは、発火するように位置 $(x, y)$ の網膜神経節細胞を駆動する。

#### 【0130】

一実施形態では、デバイスは、網膜神経節細胞内に発現する光感受性トランスデューサChR2と対にされ、出力インタフェースは、上述のようにデジタル光処理（DLP）デバイスである（TI DLPピコプロジェクトv2.0、テキサスインスツルメンツ、テキサス州ダラス）。DLPデバイス上の標準的な光源は、ChR2を活性化するのに十分な強度の高強度LEDで置換することができる（Cree XP-E青色LED

、Cree、ノースカロライナ州ダラム)。上述のように、DLPは、デジタルマイクロミラーデバイス(DMD)(DLP1700A、テキサスインスツルメンツ、テキサス州ダラス)を含み、デジタルマイクロミラーデバイス(DMD)は、ミラーのグリッドから構成され、その各々は、その位置の網膜神経節細胞が発火すべきである時に網膜上へLEDから光を反射するように切り換えることができる。データは、高解像度マルチメディアインタフェース(HDMI、22MB/秒)でコード化デバイスから出力インタフェースに送られる。DMD上の各ミラーの位置は、高い時間解像力で制御され、エンコーダが神経節細胞が活動電位を発火するように指図した時に、対応する位置のミラーが、短い期間(1.4ms)にわたって「オン」位置に切り換えられる。ミラーの切り換え状態により、デバイスは、対応する位置に光のパルスを出し、光のパルスは、活動電位を発火するようにターゲットとされた網膜神経節細胞を駆動する。ミラー切り換え時間は、細胞を活性化するのに必要とされる光量に基づいて、例えば、0.1ms~10msで長さを加減することができる。この実施形態では、DMD上のミラーのアレイは、480×320のミラーであり、従って、独立して150,000ヵ所を超える位置(例えば、細胞)をターゲットにすることができる。DLPは、DLP5500A(テキサスインスツルメンツ、テキサス州ダラス)の場合のように、より多くのミラー(例えば、1024×768のミラー)を有することができ、従って、独立してより多くの位置を刺激することができる。コード化デバイスとインタフェース間のデータ転送は、テキサスインスツルメンツアプリケーションレポートDLP0A021-2010年1月「構造化光アプリケーションのためのDLPピコ2.0キットの使い方」に説明されているような標準仕様に準ずるものである。

#### 【0131】

DLPは、電位出力インタフェースの一例である。出力インタフェースは、出力インタフェースと対となっているトランスデューサを活性化することができるあらゆるデバイスを使用して実行することができる。光で活性化されるトランスデューサに向けて、これには、デジタルマイクロミラーデバイス、LEDアレイ、光空間変調器、光ファイバ、レーザー、キセノンランプ、走査ミラー、液晶表示装置(LCD)、及びその組合せが含まれるがこれらに限定されない(Golan 他、2009年、Grossman N他、2010年)。

#### 【0132】

電極に基づくトランスデューサに向けて、出力インタフェースは、当業技術で公知の電極への駆動電流が可能であるあらゆるデバイスから構成することができる。

#### 【0133】

(5)エンコーダ(前処理段階、時空間変形段階、スパイク発生段階、及びバースト排除段階を含むことができる)及びエンコーダのパラメータの最適化を含む本明細書に説明する技術の1つ又はそれよりも多く又はそのいずれかの部分は、コンピュータハードウェア又はソフトウェア、又は両方の組合せに実施することができる。方法は、本明細書に説明する方法及び図に従う標準的なプログラミング技術を使用してコンピュータプログラムに実施することができる。プログラムコードは、本明細書に説明する関数を実行して出力情報を生成するために入力データに適用される。出力情報は、表示モニタのような1つ又はそれよりも多くの出力デバイスに適用される。各プログラムは、コンピュータシステムと通信するために高水準手続き型又はオブジェクト指向プログラミング言語に実施することができる。しかし、プログラムは、必要に応じてアセンブリ言語又はマシン言語で達成することができる。いずれにしても、言語は、コンパイル又は解釈された言語とすることができる。更に、プログラムは、その目的に対して予めプログラムされた専用集積回路上で実行することができる。

#### 【0134】

各このようなコンピュータプログラムは、記憶媒体又はデバイスが本明細書に説明する手順を実行するためにコンピュータにより読み取られる時にコンピュータを構成及び動作させる汎用又は専用プログラマブルコンピュータにより可読な記憶媒体又はデバイス(例

えば、ROM又は磁気ディスク)上に記憶されることが好ましい。コンピュータプログラムは、プログラムの実行中にキャッシュ又は主メモリ内に常駐することができる。本明細書に説明する解析、前処理、及び他の方法は、コンピュータプログラムで構成されたコンピュータ可読記憶媒体として実施することができ、そのように構成された記憶媒体により、コンピュータは、本明細書に説明する機能を実行するために特殊かつ予め定義された方法で作動する。一部の実施形態では、コンピュータ可読媒体は、有形であり、かつ例えば記録情報が単に伝播信号だけ以外の形態で記録されるように本来は実質的に持続性のものである。

#### 【0135】

一部の実施形態では、プログラム製品は、信号担持媒体を含むことができる。信号担持媒体は、例えば、プロセッサによって実行された時に、上述の機能性を提供することができる1つ又はそれよりも多くの命令を含むことができる。一部の実施では、信号担持媒体は、ハードディスクドライブ、コンパクトディスク(CD)、デジタルビデオディスク(DVD)、デジタルテープ、メモリなどであるがこれに限定されないコンピュータ可読媒体を包含することができる。一部の実施では、信号担持媒体は、メモリ、読取書込(RW)CD、R/W DVDなどであるがこれに限定されない記録可能媒体を包含することができる。一部の実施では、信号担持媒体は、デジタル及び/又はアナログ通信媒体(例えば、光ファイバケーブル、導波管、有線通信リンク、無線通信リンクのような)などであるがこれらに限定されない通信媒体を包含することができる。従って、例えば、プログラム製品は、RF信号担持媒体により伝達することができ、信号担持媒体は、無線通信媒体(例えば、IEEE 802.11規格に準拠する無線通信媒体)により伝達される。

#### 【0136】

信号及び信号処理技術のいずれも、本来、光又はデジタル又はアナログ、又はその組合せとすることができることは理解されるものとする。

#### 【0137】

上述のように、エンコーダの出力は、トランスデューサを駆動する(出力インタフェースを通じて)信号への変換に向けてブロック単位で記憶される。例えば、一実施形態では、出力インタフェースがDLPを使用して光パルスを生成する場合に、エンコーダの出力は、DLPミラーの状態(網膜に向けて反射するか、又は網膜から離れるように反射する)を制御する信号に変換される。変換は、ブロック単位で行われる。一実施形態では、エンコーダの出力は、16.66ms間記憶され、次に、ブロックとして変換される。5ms~66.66msの範囲のブロックを使用することができ、時間的な最小ブロック長は、刺激開始と神経節細胞の第1の応答(通常のWT網膜内)間の最小値時間遅延に対応するように選択される。ブロック記憶の付加的な利点は、「エンコーダ」という名称の節の場所の「スパイク発生段階」という名称の節に説明しているバースト排除段階を可能にするという点である。

#### 【0138】

##### エンコーダ及び人工器官の性能を測定する方法

以下では、エンコーダ及び人工器官の性能を測定する手順に対して説明する。性能は、少なくとも3つの異なる方法、すなわち、強制選択視覚弁別タスクに関する性能、又はベイズ的刺激再構成試験に関する精度、又は誤差パターン試験に関する性能により測定することができる。「試験刺激」という本明細書で使用する用語は、エンコーダ又はエンコーダ+トランスデューサ(すなわち、人工網膜)の性能の評価に向けて動物に呈示された刺激又は刺激を指すものである。「再構成された刺激」という本明細書で使用する用語は、本明細書に説明する方法を使用した刺激の再構成を指すものである。「活性化された網膜」という用語は、エンコーダ+トランスデューサで治療した網膜を指し、これは、神経節細胞又は双極細胞にターゲットが定められたトランスデューサを含む。

#### 【0139】

人工器官性能を測定するのに用いられるタスクは、実施例8に使用されるタスクが示すように意義がある情報を取得することを可能にする困難の範囲に該当することが重要であ

る。簡潔にいうと、タスクは、正常な網膜応答が、刺激に関する情報は得られるが、タスク上では完全には機能しないほど困難でなければならない(すなわち、十分に豊かな刺激セットを使用すべきである)。例えば、実施例に示すタスクにおいて、通常の網膜からの応答を使用する適中率は80%であり、この基準を満たすものであった。正常な網膜の性能がほぼ偶然であるような用いられるタスクが困難であり過ぎる場合に、その適合性は、性能解析への有用性には限られたものである。逆に、選択されたタスクが簡単過ぎる場合(例えば、黒対白色のような大雑把な弁別のみを必要とし、かつ正常な網膜からの応答の適中率が100%に近い)、網膜の自然のコードを近似するのではなく、正常な視力に近いものは何も得られない人工器官方法が確実にいくように思われる可能性がある。従って、付随する実施例に使用されたように、適度に困難である試験を使用することが極めて重要である。困難である試験の使用により、人工器官が網膜よりも良好に機能している(すなわち、「生物工学的な視力」のドメインに入っている)か否かを判断することができる。

10

#### 【0140】

当業技術で公知の試験である強制選択視覚弁別タスクに関する性能を評価するために、混同行列を使用する(Hand DJ, 1981年)。混同行列は、呈示された刺激に対する応答がその刺激として復号される確率を示している。行列の縦軸は、呈示された刺激( $i$ )を示し、横軸は、復号された刺激( $j$ )を示している。位置( $i, j$ )の行列要素は、刺激 $i$ が刺激 $j$ として復号される確率を示している。 $j = i$ 場合に、刺激は正しく復号され、そうでなければ、刺激は、誤って復号される。簡単には、斜線上の要素は、正しい復号を示し、斜線を離れた要素は、混同を示している。

20

#### 【0141】

このタスクにおいて、刺激のアレイが示されており、具体的には、自然情景(このタスクの刺激の要件に対しては以下を参照されたい)を含む刺激及び神経節細胞及び/又はエンコーダの応答に基づいて刺激を互いから区別することができる範囲を測定する。ここに説明する弁別タスクに関する性能の基準を設定するのに使用される図8で生成されたデータに対して、神経節細胞の応答は、Pandarinath他、2010年の場合と同様に多電極アレイで記録され、刺激は、コンピュータモニタ上に示されている。

#### 【0142】

応答分布を構成するためにトレーニングセットを取得し(トレーニングセット)、混同行列を計算するために復号される別のセットを取得した(試験セット)。

30

#### 【0143】

試験セットにおける応答を復号するために、刺激 $s_j$ のどれが応答を生成するために最も可能性があったかに対して判断される。すなわち、どの $p(r | s_j)$ が最大であったかに対して刺激 $s_j$ を判断する。 $p(s_j | r) = p(r | s_j) p(s_j) / p(r)$ と説明するベイズの定理を用い、ここで、 $p(s_j | r)$ は、特定の応答 $r$ を前提として刺激 $s_j$ が存在した確率であり、 $p(r | s_j)$ は、刺激 $s_j$ を前提として特定の応答 $r$ を取得する確率であり、 $p(r | s_j)$ は、刺激 $s_j$ が存在した確率である。 $p(s_j)$ は、この実験の全ての刺激に対して等しく設定し、次に、ベイズの定理により、 $p(s | r_j)$ を最大にする。 $p(s_j)$ が均一な時に、個々の状態で、応答を前提として最も見込みのある刺激を見つける方法を最大尤度復号という(Kass他、2005年、Pandarinath他、2010年、Jacobs他、2009年)。刺激 $s_j$ として復号された応答 $r$ をもたらす刺激 $s_j$ の各呈示に対して、混同行列内の位置( $i, j$ )のエントリが増分される。

40

#### 【0144】

混同行列を作るために、すなわち、あらゆる応答 $r$ に向けて $p(r | s_j)$ を指定するのに使用される復号計算に必要とされる応答分布を構成するための手順は、以下の通りである。応答 $r$ は、混同行列が生成された本明細書の実施例の場合と同様に、刺激開始後1.33秒及び66.7msのピンが割り当てたスパイク列であるとして取られた。スパイク発生過程は不均質ポアソン過程であると仮定して、1.33sの応答全体の確率 $p(r$

50

$|s_j|$  は、各  $66.7 \text{ ms}$  のビンの確率の積として計算する。各時間ビンに割り当てる確率は、刺激  $s_j$  に対するこのビン内の平均的なトレーニングセット応答に基づいてポアソン統計値により判断する。具体的には、このビン内の応答  $r$  のスパイクの数が  $n$  であり、このビン内のトレーニングセット応答内のスパイクの平均的な数が  $h$  である場合に、このビンに割り当てる確率は、 $(h^n / n!) \exp(-h)$  である。各時間ビンに 1 つのこれらの確率の積により、混同行列を作るために使用される復号計算に向けて応答分布が指定される。

#### 【0145】

混同行列が計算された状態で、強制選択視覚弁別タスク内の全体的な性能が「適中率」により定量化され、「適中率」は、復号された応答が正しく刺激を識別したタスクにわたる時間の分率である。適中率は、混同行列の斜線の平均値である。

10

#### 【0146】

この手順を前提として、4 セットの解析を提供する。各セットに対して、WT 網膜からの応答をトレーニングセットに使用し、以下で概説するように、異なるセットの応答を試験セットに使用する。

#### 【0147】

(1) 第 1 のセットは、WT 網膜からの応答から構成すべきである。これは、通常の神経節細胞応答によって生成された適中率を取得するために行う。

#### 【0148】

(2) 第 2 のセットは、エンコーダから応答から構成すべきである (エンコーダからの応答は、本明細書を通じて示すように、この場合に、刺激呈示の後  $1.33 \text{ 秒}$  及び WT 神経節細胞応答と同様に  $66.7 \text{ ms}$  が割り当てられた電気パルスの流れである)。この試験セットからの応答により、通常の WT 網膜の応答分布を前提として、エンコーダがいかに良好に機能するかは尺度が得られる。この理由は、脳が通常の WT 網膜の応答 (すなわち、本来コード化された応答) を解釈するように構成されることである。エンコーダからの応答を試験セットとして使用した時に、通常の網膜応答の本出願人のプロキシ (網膜のコードの本出願人のプロキシ) で脳であればいかに良好に機能するかは尺度が得られる。

20

#### 【0149】

(3) 第 3 のセットは、エンコーダ + トランスデューサ (CHR2) により駆動された盲目の動物の網膜からの応答から構成すべきであり、応答は、持続時間及び時間ビンが上記と同じである。このセットにより、エンコーダの出力が実際の組織内のトランスデューサを通過した後にエンコーダがいかに良好に機能するかは尺度が得られる。

30

#### 【0150】

(4) 最後に、最終セットは、上記と同じ持続時間及び時間ビンサイズ設定の応答により、トランスデューサ (CHR2) だけにより駆動された盲目の動物の網膜からの応答から構成される。それによって標準的な光遺伝子の方法がいかに良好に機能するかは尺度が得られる。これは、試験の適切な難しさに関して以前の段落で上述したように、本質的に、弁別タスクにより適切な試験が行われることを示す制御実験である。

#### 【0151】

実施例 8 に示すように、強制選択視覚弁別タスクにおけるエンコーダの性能は、正常な網膜の性能の  $98.75\%$  であり、完全な系の性能、すなわち、エンコーダ + トランスデューサのこの実施形態の性能は、正常な網膜の性能の  $80\%$  であり、標準的な方法 (単にトランスデューサだけ) の性能は、正常な網膜の性能 ( $8.75\%$ ) の  $10\%$  未満であった。従って、インビトロで又は動物モデルにおいて試験した時に、強制選択視覚弁別タスク内の人工器官の性能は、「適中率」により測定した時に、上述のように測定して正常な網膜の性能の少なくとも約  $35\%$ 、 $50\%$ 、 $60\%$ 、 $70\%$ 、 $80\%$ 、 $90\%$ 、 $95\%$ 、 $99\%$ 、又は  $100\%$ 、又は正常な網膜よりも良好になる。尚、 $35\%$  は、実施例 8 の光遺伝子の手法の性能より約 4 倍良好である。同様に、エンコーダ自体の性能は、他のトランスデューサに関連して、又はロボットビジョンなどであるがこれらに限定されない他の目的に使用することができるので、上述のように測定して、正常な網膜の性能の少なくと

40

50

も約35%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、又は100%、又は正常な網膜よりも良好になる。

#### 【0152】

エンコードの性能はまた、刺激再構成を用いて測定することができる。刺激再構成では、1組のスパイク列を前提として呈示される最も見込みのある刺激を判断するために標準的な最大尤度手法を使用する(Paninski、Pillow、及びLewi、2007年のレビュー)。脳では刺激は再構成されないが、再構成は、方法を比較して各手法で可能な視力の回復のレベルの近似値が得られる有利な方法として機能する。

#### 【0153】

刺激は、1秒間にわたって均一な灰色の画面、次に、1秒間にわたって特定の画像、好ましくはヒトの顔であるべきである。刺激の各ピクセルは、画像の特徴、この場合に、顔を見分けることができるように視空間の適切な領域に跨がなければならない。この基準は、図9に示すように、顔につき $35 \times 35$ のピクセルの選択により満たされる。これは、顔の認識では、少なくとも面当たりの8サイクルもの高さの空間周波数を利用し、これには、適切なサンプリングに向けて各寸法内で少なくとも32ピクセルが必要であることと合致している(Rollis他、1985)。マウスを使用する図9に示す実施例では、各ピクセルは、 $2.6^\circ \times 2.6^\circ$ の視空間に対応する。これは、マウス網膜上でほぼ12~20個の神経節細胞に対応する。

#### 【0154】

刺激を再構成することは、測定された母集団応答 $r$ を前提として最も可能性のある刺激を見つけるために全ての可能な刺激の空間にわたる検索から構成される。 $r$ を前提として最も見込みのある刺激を見つけるために、ベイズの定理、 $p(s|r) = p(r|s) \cdot p(s) / p(r)$ を用いる。演繹的な刺激確率 $p$ が全ての $s$ に対して一定であるように意図されているので、 $p(s|r)$ を最大にすることは、 $p(r|s)$ を最大にすることに同等である。

#### 【0155】

$p(r|s)$ を判断するために、細胞の応答が条件つきで独立していると仮定され、すなわち、 $p(r|s)$ が確率 $p(r_j|s)$ の積であると仮定され、ここで、 $p(r_j|s)$ は、刺激 $s$ を前提として $j$ 番目の細胞の応答が $r_j$ である確率である。この仮定条件のための理論的根拠は、条件付き独立性から片寄りが小さく、担持される情報に(Nirenberg他、2001年、Jacobson他、2009年)かつ刺激復号の忠実度に関連するものが単に僅かであることが既知であることである。

#### 【0156】

特定の細胞 $m$ に対して $p(r_m|s)$ を計算するために、応答 $r_m$ は、刺激開始後1秒間かつ0.67msのビンが割り当てられた $m$ 番目の細胞のスパイク列であるとして取られる。スパイク発生過程は不均質ポアソン過程であると仮定するので、1秒の応答全体の確率 $p(r_m|s)$ は、各時間ビンに割り当てられた確率の積として計算する。各時間ビンに割り当てられた確率は、刺激 $s$ に対するこのビン内の細胞の予想発火率に基づいてポアソン統計値で判断される。細胞の予想発火率は、数量 $\lambda_m(t, X)$ として、数1の式(「時空間変形段階」の場所の節「エンコード」を参照されたい)から計算し、数1の式の $X$ は、刺激 $s$ であると取り、 $t$ は、時間ビンの時間に存在する。最後に、細胞の母集団の応答の確率 $p(r|s)$ を個々の細胞 $p(r_j|s)$ の応答の確率を掛けることによって計算する。

#### 【0157】

母集団応答 $r$ に対して最も見込みのある刺激 $s_j$ を見つけるために、標準的な勾配上昇法を用いる。ターゲットは、確率分布 $p(r|s)$ を最大にする刺激 $s_j$ を見つけることである。刺激値空間が高次元であるので、高次元空間を検索する効率的な方法を提供するために勾配上昇法を用いる。手順は、以下の通りである。検索は、刺激値空間 $s_k$ 内の無作為な点で開始する。この刺激の確率分布 $p(r|s_k)$ を評価して、刺激の各寸法に関するこの確率分布の勾配を計算する。次に、増大する確率方向に(確率分布の勾配から判



断した時に) 刺激  $s_k$  を変えることによって新しい刺激  $s_{k+1}$  を作成する。刺激の確率が増大し始めるのが僅かな量に過ぎないものになるまで、すなわち、 $p(r | s)$  のピークに到達するまで、この過程を反復的に続ける。尚、確率分布が厳密には対数凹ではないので、極大値で動けなくなる可能性が存在する。これが発生していないことを確認するために、複数の無作為な開始点を使用する再構成を行って開始点が同じピークに収束することを確認すべきである。

#### 【0158】

人工器官方法の性能を比較するために、3つの組の応答、すなわち、1) エンコーダからの応答、2) 神経節細胞がエンコーダ+トランスデューサ(CHR2)により駆動される盲目の網膜からの応答、及び3) 神経節細胞がトランスデューサのみ(すなわち、CHR2のみ)により駆動されている盲目の網膜からの応答から再構成を行わなければならない。再構成は、実施例(具体的には図9)の結果と比較するために  $10 \times 10$  又は  $7 \times 7$  のピクセルのブロック単位で処理クラスター上で行うべきである。

10

#### 【0159】

完全な再構成に向けて十分に大きなデータセットを取得するために、画像の全ての部分に対する応答が単一の網膜又は少数の網膜に対して取得することができるよう、記録中である網膜の領域にわたって系統的に画像を移動することが必要である場合がある。ほぼ、12,000個の神経節細胞応答が、図9の各画像に対して記録された。性能は、図9Bに示すものと同じか又は実質的に類似のものであるべきである。画像が赤ん坊の顔であると分ることが可能であるのみならず、この特定の赤ん坊の顔であることも見出され、特に困難であるタスクである。

20

#### 【0160】

方法の性能の差異を定量化するために、各方法で再構成されたものを最初の画像と比較すべきである。これは、各ピクセルでの再構成した像の値と実像のものとの標準的なピアソンの相関係数を計算することによって行う。この尺度に対して、1の相関係数は、最初の画像の情報の全てが完全に保持されていたことを示し、一方、0の相関係数は、実像に対する再構成の類似が偶然に過ぎなかったことを示している。

#### 【0161】

図9に示すように、結果は、以下の通りであった。エンコーダ単独に対して、相関係数は、0.897であり、エンコーダ+トランスデューサに対して、相関係数は、0.762であり、トランスデューサ単独(現在の技術に対応)に対して、相関係数は、0.159であった。従って、弁別タスクに対して本出願人がまさに見出したように、エンコーダ+トランスデューサの性能は、現在の技術の性能よりも数倍良好であった。

30

#### 【0162】

すなわち、インピトロで又は動物モデルにおいて試験した時に、人工器官の性能は、再構成精度により測定した時に以下の通りであると考えられる。エンコーダ+トランスデューサ(人工網膜)の応答からの再構成と最初の画像との間のピアソンの相関係数は、少なくとも約.35、.50、.60、.70、.80、.90、.95、又は1.0になる。同様に、エンコーダの応答からの再構成と最初の画像との間のピアソンの相関係数は、上述のように測定して少なくとも約.35、.50、.60、.70、.80、.90、.95、又は1.0になるか、又は正常な網膜よりも良好に機能する。尚、.35は、実施例8の光遺伝子の手法の性能よりも2倍を上回って良好である。

40

#### 【0163】

混同行列データに実行することができる付加的な試験は、当業技術の標準的な尺度、すなわち、平均自乗誤差(MSE)を使用して測定する誤差のパターンを重点的に処理する試験、すなわち、「誤差パターン試験」である。エンコーダ及びエンコーダ+トランスデューサ(すなわち、人工器官方法)の効果を試験するために、上述のセット(2)、(3)、及び(4)に対して誤差パターンを評価するが、その理由は、セット(1)を参照してこの数量を計算するからである。各セット((2)、(3)、又は(4))の誤差パターンがWTの誤差パターンに適合する範囲(すなわち、正常)(セット(1))は、平均

50

二乗誤差 (MSE) により定量化し、平均二乗誤差 (MSE) は、試験セット ( (2)、(3)、又は (4) ) の 1 つに対して判断した混同行列と WT (セット (1) ) の要素間の差異の平方の平均と定義される。この試験の理論的根拠は、復号誤り指示のパターンが、網膜出力を受け取った時にどの刺激が脳により混同されそうか、すなわち、どの刺激が互いと区別することができないかを示すことである。実施例 8 で分るように、正常な (WT) 網膜は様々な性能を有し、実際の細胞の応答により容易に区別することができる刺激もあれば、そうではない刺激もある。例えば、実施例 8 の図 8 の右上の混同行列に示すように、WT 神経節細胞の母集団の応答は、図示の 15 個の刺激のうち 10 個 (行列の斜線に沿って 10 個の明るい正方形により表示) を区別することが明確であり、これとは対照的に、WT 神経節細胞の母集団の応答は、残りの 5 個の刺激 (斜線から離れた正方形の存在により表示されるように) に対して混同を示している。誤差パターン試験は、エンコーダ、エンコーダ + トランスデューサ、及びトランスデューサ単独の応答が同じ刺激を区別又は混同する範囲を定量化する方法となっている。セット (2)、(3)、及び (4) の混同行列は、組 (1) の混同行列に適合する範囲を測定するものであり、具体的には、試験混同行列セット ( (2)、(3)、及び (4) ) 及び WT (セット (1) ) の要素の間の差異の平方の平均を計算する。正常又は正常に近い視力を提供する人工網膜を開発するために、脳に送られている神経信号 (すなわち、神経節細胞発火パターン) が、正常な細胞が供給するのと同じ情報を提供し、すなわち、通常区別される刺激が区別され、通常は類似のものと察知される刺激がそのままであることが必要である (人工器官が使用された時に、類似のものと察知される)。

#### 【0164】

実施例 8 からのデータを用いて誤差パターンを測定した時に、結果は、以下であった。すなわち、エンコーダの性能により、0.005 の MSE が得られ、すなわち、正常な網膜の誤差パターンとの適合は、非常に近いものであった。完全系の性能 (エンコーダ + トランスデューサ) により、0.013 の MSE が得られ、これも非常に近いものであった。トランスデューサ単独では、0.083 の MSE が得られ、これは、非常に高い値であり、正常な誤差パターンとの整合が不良であったことを示すものであった。従って、インピットロで又は動物モデルにおいて試験した時に、実際の網膜の誤差パターンとの適合は、MSE により測定した時に、高々、0.04、0.03、0.02、0.01、又は 0.005 である可能性がある。尚、0.04 は、実施例 8 の光遺伝子の手法の少なくとも 2 倍良好である適合を示し (0.04 は、0.083 の半分足らず)、エンコーダ + トランスデューサでは、0.013 の適合が得られ、これは、トランスデューサ単独よりも大幅に良好である。

#### 【0165】

本明細書に説明する方法を使用して人工器官を試験するために、同じ種の野生型網膜と同様に、同じ網膜細胞部類に適用されたトランスデューサによる哺乳類の網膜を取得する。次に、上述の試験を実行する。上述の全ての解析に対して、結果は、例えば、同じ型の網膜、少なくとも 5 個の網膜にわたって一貫したものであるべきである。

#### 【0166】

##### 臨床的有用性の尺度

##### 視力

世界保健機構 (WHO) は、低視力を 20 / 60 未満、ただし 20 / 400 又はそれよりも大きい良好な方の眼の最高矯正遠見視力、又は 20° 未満、ただし 10° を超える角度に内在する視野の最も広い直径、また、盲目を 20 / 400 又はそれ未満の良好な方の眼の最高矯正遠見視力、又は 10° 未満の角度に内在する視野の最も広い直径として定義している。米国において、法的盲は、良好な方の眼で 20 / 200 又はそれ未満の最高矯正遠見視力、又は代替的に 20° 未満に内在する視野の最も広い直径と定義され、殆どの北米の州では、制限なしの運転免許証には 20 / 40 の両眼での最高矯正視力が必要である (Riordan-Eva, 2010 年)。

#### 【0167】

1980年代初期から、臨床試験のための視力の標準的な尺度は、文字サイズの幾何数列を有する各行上の5つの文字、文字間の間隔、及び文字サイズに等しい行を有する糖尿病網膜症早期治療研究(ETDRS)視力表である(Knietedt及びStampfer、2003年、Ferris FL他、1982年、ETDRS報告書番号7)。電子的同等試験が開発されて適切性が確認され、現在普及しており、電子視力検査(EVA)として公知である(Beck RW他、2003年、Cotter SA他、2003年)。

【0168】

視力を試験するプロトコルは、当業技術で公知である。ETDRS視力表を使用する標準的なプロトコルは、以下の通りである。

10

【0169】

A. 視力表：修正ベイリー - ラビー

ETDRS視力表1及び2を視力測定の標準化に使用する。全ての被験者の視力試験は、視力と無関係に4メートルで始まる。各々、文字順序が異なる2つのETDRS視力表を視力測定に使用する。常に、右眼を視力表1で、左眼を視力表2で試験することになる。

【0170】

B. 視力表及び部屋の照明

各診療所では、EVAが機能しない場合に、あらゆる研究視力試験中にETDRS視力表のためのETDRSライトボックスを有する/使用するべきである。ライトボックスは、3列目の文字(0, 8 LogMA)の上部が床から49+2インチ(124.5+5.1cm)になるような高さに壁に吊り下げるか又はスタンド(ニューヨークのLight house for the Blindから購入することができる)上に配置すべきである。部屋の照明は、ほぼ50フィートカンデラであるべきであり、かつ被験者とライトボックス間は均一であるべきである。試験のための椅子の中心部から視力表までの距離は、4.0メートルであるべきである。

20

【0171】

C. 最高矯正視力の測定

まず右眼、次に、左眼を試験する。試験椅子の中心部からETDRS視力表まで距離が4.0メートルになるように被験者を着座させる。たとえ被験者の屈折力を測定することができなくても、常に最初にこの試験距離を取る。検眼のためのフレーム内のオクルージョンに加えて、眼帯又はアイパッドが検眼のためのフレームの下に置かれた状態で左眼を塞ぐ。レンズ修正を検眼のためのフレーム内の自覚的屈折検査により行った状態で、被験者に右眼で一番上からETDRS視力表1を読むように求める。各々の答えが採点されるので最良の識別をもたらすために各々の文字に適切な時間を掛けるように被験者に念を押す。読まなければならない形状の全ては文字であり番号がないことを被験者に伝える。

30

【0172】

検眼担当者は、得点表の対応する文字を丸で取り囲むことにより、被験者が視力表を読んだ時に被検者が正しく識別した各々の文字を記録する。読み間違えたが、又は見当が付かない文字にはこのための紙ではマーク付けしない。正しく読まれる各々の文字を1点として採点する。各行の得点(その行で正しく読まれた文字がなかった場合の0を含む)及び眼の総得点を4メートルでの試験が完了したら直ちに紙に記録する。

40

【0173】

4メートルで正しく読まれる文字の数が20よりも小さい場合に、試験を1メートルで繰り返すべきであり、4メートル時の合計と1メートル時の合計をETDRS得点表(又は研究フォーム)に記録すべきである。被験者を1メートルの試験距離まで移動する前に両眼を4メートルで試験すべきである。1メートルでの試験を必要とする被験者を識別するために、4メートルでの試験が終了したら直ちに4メートルで正しく読まれた文字の総数が計算することを強く進言する。1メートルでの実際の試験の前に、新しい距離を補正するために+0.75D球面レンズを検眼のためのフレーム内にある矯正部に追加すべき

50

である。被験者は、1メートルの距離で試験を受けなければならない。

【0174】

E T D R S 視力表2を使用することを除き、右眼の視力を取得する同じ手順を左眼に用いる。視力表及び使用するオクルージョンを切り換える時でさえも、視力表1を決して左眼に露出するべきではなく、視力表2を決して右眼に露出するべきではない。

【0175】

視力不良時の試験（光覚試験）

被験者が眼の視力試験で文字を識別することができなかった場合（すなわち、文字得点 = 0）、倒像検眼鏡を光源として眼の光覚を試験する。試験手順は、光覚検査担当者の通常のルーチンに従って実行することができる。以下の手順が示されている。

10

【0176】

部屋の照明は、正常な視力試験のレベルのままであるべきである。検眼のためのフレームを外すべきであり、被験者は、反対の眼を閉じ、それを眼球孔及び鼻柱の周囲を掌で間隙なく覆い隠すことによって塞ぐべきである。倒像検眼鏡光は、3フィート点で焦点が合い、可変抵抗器は、6ボルトに設定すべきである。3フィートの距離から、ビームを少なくとも4回眼を出入りするように誘導すべきであり、被験者に、光が見えた時に応答するように求めるべきである。検眼担当者が被験者が光を察知したと確信した場合に、光覚あり、そうでなければ、光覚なしと視力を記録すべきである。

【0177】

視力得点を計算すること

20

各視力測定後に、その診察に対する視力得点を計算する。以下のように、正しく読まれる文字の数により視力得点を定義する。

【0178】

・4メートルでの試験距離で正しく読まれた文字が20個又はそれよりも多い場合に、視力得点は、4メートルで正しく読まれた文字の数(N) + 30に等しい。4メートルの距離で正しく読まれた文字が1つ又はそれよりも多く、ただし20個未満であった場合に、視力得点は、4メートルで正しく読まれる文字の数 + 最初の6行の1メートルで正しく読まれた文字の数に等しい。

【0179】

・4メートルの距離又は1メートルの距離で正しく読まれた文字がなかった場合に、視力得点は0であり、光覚の試験を以下に説明するように行うべきである。

30

【0180】

E T D R S 視力表を使用した視力は、各々の眼に対して別々に4メートルでの試験で以下のように採点される。

【表 1】

行	視力	正解した文字数
1 (一番上)	20 / 200	
2	20 / 160	
3	20 / 125	
4	20 / 100	
5	20 / 80	
6	20 / 63	
7	20 / 50	
8	20 / 40	
9	20 / 32	
10	20 / 25	
11	20 / 20	
12	20 / 16	
13	20 / 12.5	
14	20 / 10	
	文字総数	

10

【0181】

20

正解の総数が20又はそれよりも多い場合に、得点は、正解総数 + 30である。正解の総数が20未満であった場合に、患者を1メートルで同じ視力表で試験して得点を記録する。

【表 2】

行	視力	正解した文字数
1 (一番上)	20 / 800	
2	20 / 640	
3	20 / 500	
4	20 / 400	
5	20 / 320	
6	20 / 250	
	正解の総数	

30

【0182】

視力の文字得点は、次に、4.0メートルで正しく読まれた文字の総数 + 最初の6行の1.0メートルで正しく読まれた文字の総数に等しい。

【0183】

視力の尺度（例えば、「20 / 20」）は、下表に従って20 / 20を正常な視力とした場合の正常な視力の百分率として表すことができる。

40

【表 3】

視力	効率の百分率
20/20	100%
20/25	96%
20/30	91%
20/35	87%
20/40	84%
20/45	80%
20/50	76%
20/60	70%
20/70	64%
20/80	58%
20/90	53%
20/100	49%
20/110	45%
20/120	41%
20/140	34%
20/160	29%
20/200	20%
20/240	13%
20/320	7%
20/400	5%
20/480	2%
20/800	1%
<20/800	0%

10

20

30

## 【0184】

従って、治療の効果は、読まれる文字数の増加として表すことができ、読まれた文字数は、EVA試験において又はTDRS視力表上で得られた行数に簡単に変換され、又は効果は、正常な視力の特定の百分率の達成として表すことができる。

## 【0185】

例えば、このデバイスによる治療により、ETDRS視力表又はEVA試験で少なくとも15文字分視力が増すことになる。15文字は、ETDRS視力表上の3行を表している。患者が20/100の低視力を示す場合に、本方法による治療で患者の視力が20/50の視力に改善し、20/50の視力は、正常な視力又は正常に近い視力の76%である。

40

## 【0186】

このデバイスによる治療により、視力は、患者が開始する場所及び治療の特定のコースの有効性に基づいて、ETDRS視力表又はEVA試験で少なくとも18文字分、少なくとも21文字分、少なくとも24文字分、少なくとも27文字分、少なくとも30文字分、少なくとも33文字分上がる。

## 【0187】

上述のかつ強制選択視覚弁別タスクに関する性能、ベイズ的刺激再構成試験に関する精度、及び誤差パターン試験の性能に関する実施例に説明するインピトロ結果に基づいて、及び実施例に説明のインピトロ結果に基づいて、本発明の方法による治療により、視力は、正常な視力の34%、41%、45%、49%、53%、58%、64%、70%、76

50

%、80%、84%、87%、91%、96%、及び100%に改善する。

【0188】

ヒトの客観的電気生理試験は、以下のいずれかから構成することができる。1つの試験は、改善点が不在応答から存在応答への変化から構成された閃光刺激視覚誘発応答（VEP）である。応答の出現は、視覚信号が脳に到達する客観的指標である（Chiappa 1997年）。この試験により、視覚機能の大雑把な尺度が得られ、信号が脳に到達したことを示している。解像力に関する情報は得られない。

【0189】

上述のかつ強制選択視覚弁別タスクに関する性能、ベイズ的刺激再構成試験に関する精度、及び誤差パターン試験の性能に関する実施例に説明するインビトロ結果に基づいて、及び実施例に説明のインビトロ結果に基づいて、デバイスによる治療により、閃光刺激視覚誘発応答に関する肯定的結果が得られる。

10

【0190】

第2の試験、すなわち、パターン信号に対処する試験は、一過性又は定常的刺激により引き出されるパターンVEPであり、改善点は、(a) 不在応答から存在応答への変化、又は(b) 検出可能な応答を引き起こす最も小さい検査サイズの2倍又はそれよりも大きい減少、又は(c) 検出可能な応答を引き起こす空間周波数の2倍又はそれよりも大きい増加から構成される。(a)は、上述の閃光VEP試験の場合と同様に、視覚信号が脳に到達した客観指標であり、(b)及び(c)は、視力（鋭敏さ）が2倍改善したという客観指標であり、従って、視覚機能及び感知に関連する改善を示している。VEPは、標準的な臨床試験であるが、本出願人のその使用法は、待ち時間が主な測定項目である臨床ルーチン（Chiappa、1997年）と異なっている。本出願人のターゲットは、伝導遅延ではなく鋭敏さを検出することである。検査サイズ又は格子空間周波数の関数としてVEPを測定することにより、視力を判断することができる（Bach、M他、2008年）。

20

【0191】

上述のかつ強制選択視覚弁別タスクに関する性能、ベイズ的刺激再構成試験に関する精度、及び誤差パターン試験性能に関する実施例に説明したインビトロ結果に基づいて、及び実施例に説明のインビトロ結果に基づいて、デバイスによる治療により、以下のようにパターンVEP検査からの試験結果が得られる。すなわち、(a) 不在応答から存在応答への変化、又は(b) 検出可能な応答を引き起こす最も小さい検査サイズの2倍又はそれよりも大きい減少、及び(c) 検出可能な応答を引き起こす空間周波数の2倍又はそれよりも大きい増加である。

30

【0192】

スweep VEPの改善点は、(a) 検出可能な応答を引き起こす空間周波数の2倍又はそれよりも大きい増加、又は(b) 検出可能な応答を引き起こす最小コントラストの2倍又はそれよりも大きい減少から構成される。(a)は、以前のパターンVEPにより測定される視力と類似のものであり、(b)は、視覚機能にも関連するコントラスト感度（グレーレベル弁別）の客観的尺度である。Sweep-VEPは、視力（Norcia及びTyler、1985年）及びコントラスト感度を評価する確実な客観的手段として確立されたものである（Norcia AM他、1989年）。

40

【0193】

上述のかつ強制選択視覚弁別タスクに関する性能、ベイズ的刺激再構成試験に関する精度、及び誤差パターン試験の性能に関する実施例に説明したインビトロ結果に基づいて、及び実施例に説明のインビトロ結果に基づいて、デバイスによる治療により、以下のようにSweep VEP試験からの試験結果が得られる。すなわち、(a) 検出可能な応答を引き起こす空間周波数の2倍又はそれよりも大きい増加、及び(b) 検出可能な応答を引き起こす最小コントラストの2倍又はそれよりも大きい減少である。

【0194】

上述の試験に対して、視力に関する「2倍」の基準を選んでいるのは、これが標準的な

50

スネレン又はETDRS視力表（例えば、20/400～20/200）での3行分の改善、すなわち、一般的に統計学的及び機能的に著しいと認められている変化だからである。同様に、「2倍」の基準をコントラスト感度に対して選んでいるのは、これが、同じく一般的に統計学的及び機能的に著しいと認められている標準的なペリ-ロブソンコントラスト感度視力表上で2段階の改善に対応するからである（Pelli DG他、1988年）。

#### 【0195】

臨床有効性を測定する他の方法も当業技術で公知である（Maguire他、2008年）。客観的尺度には、対光反射（PLR）の評価、全界磁電図記録法（ERG）（相互的全界磁ERGを含む）、及び眼振試験があるがこれらに限定されない。解析に向けて国際臨床視覚電気生理学学会標準指針に従うことができる。瞳孔応答は、同時に両眼で記録することができる（Kawasaki他、1995年）。眼振は、基線で撮られたビデオ、及び様々な治療後の望ましい時点での走行軌跡の解析により、定性的かつ定量的に特徴付けることができる。眼幅は、ビデオフレームから直接に測定することができる。主観的な尺度には、視力（VA）、動的視野の標準的な試験、障害物コースを通る被験者の機能を評価する運動性試験があるがこれらに限定されない。運動性試験に対して、試験を行う度に異なる迷路を使用することができ、次に、回避したか又は当たった障害物の数、識別された目印の数、及び迷路内で掛かった時間を評価することができる（Simoneelli他、2010年）。

#### 【0196】

実施例を提供して例示するが、特許請求する本発明を限定しないものである。

#### 【実施例1】

#### 【0197】

実施例1：エンコーダを構築する方法

線形-非線形ポアソン（LNP）カスケードを使用するエンコーダの構成

エンコーダのためのパラメータは、2組の刺激、すなわち、バイナリ時空白色ノイズ（WN）及びニューヨーク市のセントラルパークで録画したグレースケールの自然情景動画（NS）に対する応答から作成した。両方の刺激を15Hzのフレーム率で呈示し、同じ平均輝度（網膜上で $0.24 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ）及びコントラストであった（二乗平均平方根値根（RMS）コントラストは、 $0.087 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ であった）。前処理段階に対して、視覚刺激が数値範囲0～255にマップされるように、「エンコーダ」という名称の節で上述したように $a=0$ 及び $b=255/0.48 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ を選択した。

#### 【0198】

時空間変形を判断するために、同じ節で上述したように線形非線形モデルを使用した（Victor及びShapley、1979年、Paninski他、2007年、Pillow他、2008年、Nirenberg他、2010年も参照されたい）。モデルのパラメータは、Nirenberg他、2010年の場合と同様にモデルが刺激により引き出された実験的に観測されたスパイク列を発生させるとされる尤度を最大にすることによって判断した。類似の方法は、Paninski他、2007年、Pillow他、2008年にあり、最大尤度最適化は当業技術で公知である。

#### 【0199】

以下の実施例のデータに対して、ニューロンを独立してモデル化した。各ニューロン $m$ に対して、数1の式の場合と同様に発火率 $r_m$ を判断した。各ニューロンの線形フィルタは、空間関数（ $10 \times 10$ アレイのピクセル上、受容野が中心）と時間関数（18個のビン、各々67ms、総持続時間1.2秒）の積であると仮定した。次元の数は、Pillow他、2008年に従って、Nirenberg他、2010年の場合と同様に10個のインパルス及び基底関数（対数時間内の二乗余弦）の合計であると時間関数を仮定することによって低減された。

#### 【0200】

7つのノットを有する3次スプライン関数として非線形性をパラメータ化した。ノット



は、エンコーダの線形フィルタ出力によって示される値の範囲をターゲットにするように離間している。

#### 【0201】

上述のように、Pillow他、2008年、Paninski、2007年に従って、Nirenberg他、2010年の場合と同様に、標準的な最適化手順を用いてパラメータを適合させた。最大化した数量は、数2の式の場合と同様に、モデル下の観測されたスパイク列の対数尤度である。各ニューロンが独立しているので、各ニューロンのパラメータの最適化を独立して実施することができた。対数尤度を最大にするために、以前の数2の式に従って本文で上述した同じ手順を使用した。これを、簡潔にここで繰り返す。最初に、非線形性Nが指数であったと仮定したが、その理由は、この場合に、対数尤度Zは極大値を持たないからである(Paninski他、2007年)。線形フィルタ及び指数型非線形性を最適化した後に(例えば、座標上昇により)、非線形性をスプラインで置換した。次に、この手法の正当性の理由も説明している(Nirenberg他、2010年)に説明されているように、(i)スプラインパラメータ及び(ii)フィルタパラメータに関して対数尤度を最大にする交互の段階により最終モデルパラメータを判断した。

10

#### 【0202】

履歴依存性及び相関を考慮するモデルも構成した。(Pillow他、2008年)の方法に従って結合カーネルを使用してニューロン間の相関をモデル化した。

#### 【0203】

20

スパイク発生段階に対して、各細胞mに対して瞬間発火率 $\mu_m$ による不均質ポアソン過程を作成した。長さ $t = 0.67 \text{ ms}$ の時間間隔(ビン)を考慮している。

#### 【0204】

尚、図3-6、図13及び図14では、エンコーダ及び実際の細胞の性能を比較している。図7-9では、トランスデューサと組み合わせた時のエンコーダの性能も比較している。これらの実験に対して、エンコーダの出力は、神経節細胞内のChR2を駆動するために光パルスを生成するためのインタフェースを通過させる。2つの方法を用いて、エンコーダから出力を取ってChR2を駆動する光パルスを生成した。第1の方法において、エンコーダの出力を使用してLCDパネルを制御した(パナソニックPT-L104、パナソニック、ニュージャージー州セコーカス)。LCDパネルを7つで1組の高強度青色LEDの前において設けた(Cree XP-E Blue、Cree、ノースカロライナ州ダラム)。LCDパネル上の正方形により、特定の位置の神経節細胞に向けてエンコーダの出力が伝達される。各フレームに対して、エンコーダが神経節細胞がそのフレーム内でスパイクを発火するように指図していた場合は最高強度(255)、又は神経節細胞がそのフレーム内でスパイクを発火すべきでない場合は最低強度(0)に正方形を設定した。LCDパネルの強度が1つの位置で高かった(255)場合に、青色LEDからの光は通過させ、そうでなければ、光は遮断した。LCDパネルの出力は、網膜上を中心とした。網膜での255位置の光の強度は、 $0.5 \text{ mW/mm}^2$ であった。各フレームは、 $16.7 \text{ ms}$ 続いた。正確なスパイクタイミングを必要とする第2の方法を用いた。本方法に対して、LED(Cree XP-E Blue、Cree、ノースカロライナ州ダラム)で直接に神経節細胞を駆動した。LEDの出力状態は、Campagnola他、2008年により説明されているように制御/増幅回路を通じて送られたコンピュータで生成された5V TTLパルスにより制御した。LEDは、TTLパルスが高い(5V)時に点灯し、パルスが低い(0V)時には消灯した。特注ソフトウェアを使用してコンピュータの平行ポートを通じてTTLパルスを駆動するためにエンコーダの出力を使用した。エンコーダがスパイクが発生するように指定していた時に、TTLパルスは1ms間高(5V)で駆動し、その後再び消灯した。網膜でのLEDパルスの強度は、オン状態中に $1 \text{ mW/mm}^2$ であった。

30

40

#### 【0205】

2つの方法を用いて視覚刺激(図8C、9D)に対するトランスデューサ単独の応答を

50

記録した。自然の動画（図 8 C）に対して、同じく TTL パルスにより制御された LED を使用して神経節細胞を駆動した。LED の出力は、パルスコード変調方式を用いて神経節細胞の受容野の位置で自然の動画の強度に適合するように設定した。TTL パルスは、1 ms 幅であった。フレーム内のパルスが多いほど、明るい強度が表現され、一方、パルス数が少ないほど、薄暗い強度が表され、これは、輝度とパルス繰返し数間の線形スケールリングによるものであった。LED のパルス繰返し数は、そのフレームでの自然の動画の強度に適合するように 66.7 ms 毎に更新した。特定の神経節細胞に対して、動画の最高強度をエンコーダのピーク発火率にマップし、これは、一般的に 66.7 ms フレーム当たり 8 パルスと 12 のパルスの間にあった。赤ん坊の顔応答（図 9 D）に対して、LCD パネルを使用して神経節細胞を駆動した。LCD パネル（0 ~ 255）の輝度は、特定の神経節細胞の受容野の位置で赤ん坊の顔動画（0 ~ 255）の強度に適合するように設定した。LED の強度は、網膜で 1 mW / mm<sup>2</sup> であり、前の節で上述したように、最大輝度での LCD の強度は、0.5 mW / mm<sup>2</sup> であった。

#### 【実施例 2】

##### 【0206】

実施例 2：時空間変形に向けたパラメータの判断

時空間変形に向けてパラメータを判断する手順を説明する。説明するパラメータは、上述の節「エンコーダ」の場合と同様にある。

##### 【0207】

この実施例では、最初に実験を行ない、WN 及び NS 刺激に対する神経節細胞応答を収集する（刺激の実施例に対しては「実施例 1 - エンコーダを構築する方法」を参照されたい）。次に、線形フィルタ  $L_m$  に対して開始セットの値を判断するために神経節細胞活動電位時間と刺激強度間の逆相関を計算する。次に、線形フィルタを空間関数及び時間関数の積に分離可能であると仮定する。空間関数を重みの  $10 \times 10$  のグリッドとしてパラメータ化し、時間関数を重み付け時間基底関数の合計としてパラメータ化する。この段階で、非線形性  $N_m$  は極大値がないように保証する指数関数であると仮定する。次に、所定の刺激及び記録された神経節細胞の応答に対してこのパラメータの組の尤度を計算する。次の段階は、勾配上昇を使用してこれらのパラメータの尤度を最大にすることにより（良く説明されているように、Paninski 他、2007 年、Pillow 他、2008 年、Nirenberg 他、2010 年を参照されたい）、空間関数、時間関数、及び指数型非線形性に対して最適パラメータを見つけることである。これらのパラメータを最適化した後に、指数型非線形性をより正確に細胞の応答を説明する 7 ノットの 3 次スプラインにより置換する。次に、尤度を最大にするようにスプラインのパラメータを最適化する。次に、新しいスプラインパラメータを前提として尤度を最大にするように時間関数及び空間関数のパラメータを最適化する。これらの 2 つの段階（時間関数及び空間関数を一定に保持しながらスプラインパラメータを最適化し、次に、スプラインパラメータを一定に保持しながら時間関数及び空間関数を最適化する）は、2 つの段階からの尤度の変化が任意に選択された小さな数よりも小さくなるまで繰り返される。

#### 【実施例 3】

##### 【0208】

実施例 3：仮想網膜細胞及び実際の網膜細胞により担持される情報量の比較

データセットを構成するために、この実験に向けてチェッカー盤、自然の情景、及びドリフト格子であった自然の刺激及び人工の刺激を含む広範囲の刺激に対する数百個のマウス網膜神経節細胞（515 の細胞）の応答を記録した。各細胞に対して、エンコーダ（仮想網膜細胞又はモデル細胞とも呼ばれる）を構成した。これは、以下のように達成された。網膜に WN（白色ノイズ）及び NS（自然の又は自然のままの刺激）刺激を呈示して、神経節細胞の応答を記録し、上述のように、各細胞に対して刺激 / 応答関係をパラメータ化した。次に、付加的な自然情景及びドリフト格子応答を使用してエンコーダを試験した。このようにして、新しい刺激を使用して全ての試験が行われた。

##### 【0209】

図 3 は、情報解析の結果を示している。数百個の神経節細胞から記録して応答をモデル化した。次に、モデル細胞及び実際の細胞に刺激の大きなアレイ、すなわち、エンコーダを構成するのに使用されていない刺激を示した。各仮想細胞が刺激に対して担持した情報量を計算して、実際の細胞とモデル細胞により担持される情報の量と比較した。図に示すように、仮想細胞は、実際の細胞により担持されるほぼ全ての情報を担持していた。各解析に向けて実質的なデータを有するように各刺激セットを少なくとも 100 の実際の細胞に呈示した。次に、複数回計算を実施することにより、結果の健全さを評価した。予想通り、実際の細胞により担持された情報は、時間解像力の増大と共に増大し、図示のように、仮想細胞により担持される情報も同様であった。

#### 【実施例 4】

10

#### 【0210】

実施例 4：仮想網膜細胞及び真の網膜細胞により担持された情報の質の比較

図 4 は、仮想細胞及び実際の細胞により担持された情報の質も同じであることを示している。図 4 内の各細胞に対して、仮想細胞の応答によって生成されたポステリアを実際の細胞の応答によって生成されたポステリアと比較した。図 4 (4 - 1, 4 - 2, 4 - 3) の A は一部の実施例を示し、図 4 (4 - 1, 4 - 2, 4 - 3) の B はデータセット内の全ての細胞に関する結果のヒストグラムを示している。

#### 【0211】

行列が何を示すかに関して理解するために、詳細に行列、すなわち、図 4 - 1 のパネル A のパネルの左上コーナの行列を考察する。縦軸は、呈示された刺激を示し、横軸は、「復号された」刺激（すなわち、刺激のポステリア分布）を示している。一番上の行において、単一の明るい輝正方形があり、かつ一番左の位置に位置する。これが意味することは、呈示された刺激が最低時間周波数を有する格子である時に、復号された刺激は正しいものになることである。すなわち、ポステリアは、鋭いピークを有し（単一の明るい正方形によって示すように）、ピークは、正しい位置（最低時間周波数に対応する位置）にある。これとは対照的に、行列の一番下の行において、単一の明るい点がない（すぐ横の右の区域上の赤色正方形の広がり）。これが意味することは、呈示された刺激が最高時間周波数格子である時に、復号が一部の場合に不足することになることである。すなわち、ポステリアは広くて、刺激が何であるかに関する限られた情報だけを供給している。刺激は、一部の場合に高周波数格子であることを示しているが、特にどの高い周波数かは示していない。

20

30

#### 【0212】

この図の重要性は、2重に存在する。第 1 に、多くの異なる種類のポステリアが実際の細胞の間に存在し（例えば、刺激に対する視覚応答及び感度に関して多くのタイプの神経節細胞がある）、第 2 に、仮想細胞は正確にポステリアを再生成し、例えば、低周波数に対して情報を提供する細胞もあれば、高周波数に対して情報を提供する細胞もあることを示し、又は複合パターンなどを示している。しかし、ほぼ全ての場合に、調べた数百個の細胞に関して、実際の細胞の挙動は、エンコーダにより捕捉される。各仮想細胞によって生成されたポステリアは、実際の細胞によって生成されたポステリアと密接に適合する。それによって仮想細胞が実際の細胞のプロキシとして機能することができるという強い証拠が得られる。

40

#### 【実施例 5】

#### 【0213】

実施例 5：エンコーダによる網膜神経節細胞応答予想

本出願人のエンコーダを使用して、神経節細胞部類の挙動に対して 1 組の予想を提供し、次に、予想を検証した。この場合の予想では、ON 細胞及び OFF 細胞の動き情報の取り出し方、特に、スローモーションの差異が中心であった。

#### 【0214】

これは、以下のように達成された。最初に細胞のエンコーダを構成した。本出願人は、wt（野生型）網膜に WN 及び NS 刺激を呈示し、神経節細胞の応答を記録し、上述のよ

50

うに刺激／応答関係をパラメータ化した。神経節細胞母集団には、ON細胞及びOFF細胞が含まれた。ON細胞及びOFF細胞に対して別々にパラメータを生成し、パラメータを使用してONエンコーダ及びOFFエンコーダを生成した。予想を行うために、視覚弁別タスクを設定した。時間周波数が変動するドリフト格子を有する異なるエンコーダの異なるバージョンを呈示して応答を取得した。本出願人は、次に、応答を復号した（本明細書に説明するベイジアン解析（すなわち、最大尤度）を使用して）。タスクの各試行に対して、応答を前提として、格子の最も見込みのある周波数は何であったかを求めた。次に、全ての試験に対して、正解が得られた時間の分率を計算した。ON細胞及びOFF細胞に対して特定の予想を行うために、専らON細胞で又は専らOFF細胞で構成された母集団でこのタスクを実行した。パラメータが暗順応（常夜灯）及び明順応（日光）の光レベルを使用して判断されたエンコーダでタスクを実行したが、その理由は、神経節細胞は、これらの状況の下で違って挙動することが公知であるからである（Purpura他、1990年、Troy他、2005年、Troy他、1999年）。

10

#### 【0215】

いくつかの結果がすぐに出現した。第1の結果は、ON細胞は、暗順応条件下では、OFF細胞よりも良好に低時間周波数（スローモーション）間で識別することができることであった。第2の結果は、OFF細胞は、暗順応条件下でもON細胞よりも良好に高時間周波数間で識別することができることであった。第3の結果は、これらの差異は、暗順応条件下でのみ存在し、2つの細胞部類は、明順応条件下ではほぼ等しく良好に機能することであった。最後に、最後の結果は、ON細胞及びOFF細胞が良好に機能するのは、暗順応条件下では周波数の狭い範囲でのみだが、明順応条件下では周波数の広範囲にわたっていることであった。

20

#### 【0216】

本出願人は、次に、予想を試験した。本出願人は、電気生理学的測定値から開始した。多電極アレイ上で網膜に同じ刺激を示して神経節細胞応答を記録した。次に、仮想細胞応答を復号したように神経節細胞応答復号した（すなわち、最大尤度を使用して）。図5に示すように、実際の細胞は、仮想細胞と同じ予想を行っており、従って、基線試験において、仮想細胞が実際の細胞のプロキシとして機能することができることを示している。

#### 【実施例6】

#### 【0217】

実施例6：エンコーダによる動物の挙動予想

最後に、挙動に関する予想に移った。これに対して、視運動タスクを用い、その理由は、a) 簡単であり、b) 容易に定量化可能であり、かつc) 視運動タスクにより、単一の細胞部類自体、すなわち、この挙動を駆動するON細胞（ON細胞のみが副視索系（AOS）に投影する）を徹底調査することができるからである（Dann及びBbuhl 1987年、Giollil他、2005年）。このタスクにおいて、動物（wtマウス）にドリフト格子を呈示すると、動物は、ドリフト格子を追跡するか、又はドリフト格子を追跡することができない。従って、挙動に関する予想を行うために、エンコーダに動物にするのと同じ質問をした。格子は存在するのか、又は不在か？本出願人は電気生理学的実験において予想を検証するのに使用される手法と平行した手法を使用した。すなわち、最大尤度を使用して応答を復号した。唯一の差異は、挙動との比較に向けて、エンコーダの応答をちょうど2つの代替物（格子存在/ウイルスペア不在格子）に復号したという点である。その理由は、これは、挙動的タスクの代替に対応するからである。最後に、動物及びエンコーダに対して、明順応（日光）又は暗順応（常夜灯）の状況を表す刺激を呈示して、2つの代替強制選択心理物理学に対して標準的であるように、刺激の75パーセントが正しく復号されたコントラストと定義されたコントラスト感度を測定した。図6に示すように、エンコーダは、視運動性能のシフトを正しく予想している。

30

40

#### 【実施例7】

#### 【0218】

実施例7：エンコーダによって生成された網膜神経節細胞発火パターン

50

本出願人は、自然情景の動画を呈示して、動物の3つの群から切り取った網膜から神経節細胞応答を記録した。すなわち、a) 正常動物（簡潔にいうと、網膜を野生型（WT）マウスから抽出し、次に、網膜に自然情景の動画を呈示し、神経節細胞の発火パターンを記録した）（図7上）、b) 人工網膜で治療した盲目の動物（簡潔にいうと、網膜は、網膜変性を有し、かつ網膜神経節細胞内でチャンネルロドプシン-2も発現する研究室で育てた商業的供給元から購入した二重遺伝子組み換えマウスから抽出し、網膜にコード化された自然情景の動画を呈示して、神経節細胞の発火パターンを記録した）（図7中）、及びc) 現在の光遺伝子人工器官の手法で治療した盲目の動物（簡潔にいうと、網膜を上述のように同じ二重遺伝子組み換えマウスから抽出し、次に、網膜に自然情景の動画（コード化なし）を呈示して神経節細胞発火パターンを記録した）（図7下）である。

10

#### 【0219】

正常な網膜において、動画は、網膜回路により活動電位（スパイク列とも呼ばれる）のパターンに変換される。正常な網膜からスパイク列を図7上に示している。エンコーダ/トランスデューサ法で治療した盲目の動物からの網膜において、動画は、エンコーダ/トランスデューサ（図7中）によりスパイク列に変換される。図に示すように、本方法によって生成されたスパイク列は、正常な神経節細胞によって生成されたスパイク列と密接に適合する。これは、エンコーダが非常に確実に神経節細胞スパイク列を再生成するために、かつChR2がエンコーダの出力に追従するのに十分に迅速に動特性を有するために起こる。従って、正常な網膜入出力関係を模倣することができた。比較のために、（図7下）を参照されたい。これは、標準的な光遺伝子の方法の出力を示す（トランスデューサのみ、すなわち、Lagali他、2008年の場合と同様にChR2のみ、Tomita他、2010年、Bi-A他、2006年、Zhang他、2009年、Thyagarajan他、2010年）。この場合に、刺激（自然情景動画）は、直接にChR2を活性化している。この手法が神経節細胞を発火させるが、この手法が生成する発火パターンは正常な発火パターンでない。

20

#### 【実施例8】

#### 【0220】

実施例8：エンコーダ及び人工網膜の性能

3通りの方法で、すなわち、弁別タスク法（図8）、画像再構成（図9）、挙動的タスク（視運動）、及びに関する性能（図10）を用いてエンコーダ及び人工器官の性能を評価した。尺度及び結果を以下に示す。

30

#### 【0221】

##### 視覚弁別タスクに関する性能

弁別タスクから開始した。簡潔にいうと、刺激のアレイを呈示し、神経節細胞（又はエンコーダ）の応答に基づいて、互いから区別することができる範囲を測定した。神経節細胞の記録に対して、刺激をコンピュータモニタ上に示して、Pandarinath他、2010年の場合と同様に神経節細胞応答を多電極アレイで記録した。

#### 【0222】

試験セットにおける応答を復号するために、刺激 $s_j$ のどれが応答を生成するために最も可能性があったかに対して判断した。すなわち、どの $p(r | s_j)$ が最大であったかに対して刺激 $s_j$ を判断した。これをベイズの定理を通じて行ったが、ベイズの定理では、 $p(s_j | r) = p(r | s_j) p(s_j) / p(r)$ となっており、ここで、 $(s_j | r)$ は、特定の応答 $r$ を前提として刺激 $s$ が存在した確率であり、 $p(r | s_j)$ は、刺激 $s_j$ を前提として特定の応答 $r$ を取得する確率であり、 $p(s_j)$ は、刺激 $s_j$ が存在した確率である。 $p(s_j)$ は、この実験の全ての刺激に対して等しい設定した。ベイズの定理は、 $p(r | s_j)$ が最大化された時に、 $p(s | r_j)$ は最大化されることを意味する。 $p(s_j)$ がこの場合と同様に均一な時に、応答を前提として最も見込みのある刺激を見つける方法を最大尤度復号という（Kass他、2005年、Pandarinath他、2010年、Jacobs他、2009年）。刺激 $s_j$ として復号された応答 $r$ をもたらず刺激 $s_j$ の各呈示に対して、混同行列内の位置 $(i, j)$ でのエントリが増分され

40

50

る。

#### 【 0 2 2 3 】

混同行列を作るために使用される復号計算に必要とされる応答分布を構成するために（すなわち、いずれかの応答  $r$  に対して  $p(r | s_j)$  を指定するために）、以下のように進めだ。応答  $r$  は、刺激開始後 1 . 3 3 秒間かつ 6 6 . 7 m s のビンが割り当てたスパイク列であるとして取られた。スパイク発生過程は不均質ポアソン過程であると仮定されるので、1 . 3 3 s の応答全体の確率  $p(r | s_j)$  は、各 6 6 . 7 m s のビンの確率の積として計算した。各時間ビンに割り当てる確率は、刺激  $s_j$  に対するこのビン内の平均的なトレーニングセット応答に基づいてポアソン統計値により判断した。具体的には、このビン内の応答  $r$  のスパイクの数が  $n$  であり、このビン内のトレーニングセット応答内のスパイクの平均的な数が  $h$  である場合に、このビンに割り当てる確率は、 $(h^n / n!) e^{-h}$  である。各時間ビンに 1 つのこれらの確率の積により、混同行列を作るために使用される復号計算に向けて応答分布が指定される。図 8 に示すものと類似の結果は、トレーニングセット及び試験セットに様々な時間ビンサイズ (5 0 ~ 1 0 0 m s) 及び無作為な割当てで取得した。

10

#### 【 0 2 2 4 】

混同行列を計算した状態で、全体的な性能は、「適中率」により定量化されたが、「適中率」は、復号された応答が正しく刺激を識別したタスクにわたる時間の分率である。適中率は、混同行列の斜線の平均値である。この手順を前提として、4 セットの解析を実行した。各セットに対して、トレーニングセットに対しては W T 網膜からの応答を、試験セ

20

#### 【 0 2 2 5 】

( 1 ) 第 1 のセットは、W T 網膜からの応答から構成されたものであった。これは、通常の神経節細胞応答によって生成された適中率を取得するために行う。

#### 【 0 2 2 6 】

( 2 ) 第 2 のセットは、エンコーダから応答から構成されたものであった (エンコーダからの応答は、本明細書を通じて示すように、この場合には刺激呈示の後 1 . 3 3 秒間かつ W T 神経節細胞応答と同様に、6 6 . 7 m s が割り当てられた電気パルスの流れである)。エンコーダからの応答を試験セットとして使用した時に、通常の W T 網膜の応答分布を前提として、エンコーダがいかに良好に機能するかの尺度が得られる。換言すれば、脳が通常の W T 網膜の応答 (すなわち、本来コード化された応答) を解釈するように構成されたという仮定で始める。エンコーダからの応答を試験セットとして使用した時に、通常の網膜応答の本出願人のプロキシ (網膜のコードの本出願人のプロキシ) で脳であればいかに良好に機能するかの尺度が得られる。

30

#### 【 0 2 2 7 】

( 3 ) 第 3 のセットは、エンコーダ及びトランスデューサ (神経節細胞内の C h R 2 ) により駆動された盲目の動物からの応答から構成されたものであり、応答は、上記と同じ持続時間及び時間ビンであった。このセットにより、エンコーダの出力が実際の組織内のトランスデューサを通過した後にエンコーダがいかに良好に機能するかの尺度が得られる。トランスデューサは非常に密接にエンコーダに追従するが、それは完全なものではなく、それによって完全系 (エンコーダ + トランスデューサ) がいかに良好に機能するかの尺度が得られる。

40

#### 【 0 2 2 8 】

( 4 ) 最後に、最後のセットは、上記と同じ持続時間及び時間ビンサイズ設定の応答で、トランスデューサ (C h R 2) だけにより駆動された盲目の動物の網膜からの応答から構成される。それによって標準的な光遺伝子の方法がいかに良好に機能するかの尺度が得られる。

#### 【 0 2 2 9 】

結果を図 8 に示している。図 8 A は、試験セットが正常行われる網膜から得られた時に生成された混同行列示している。左に、個々の神経節細胞の行列があり、右に、細胞の母

50

集団（20個の細胞）の行列がある。図示のように、個々の細胞は、有意な量の情報を各々担持し、母集団として併せると、セット内にほぼ全ての刺激を識別することができる。適中率は、80%であった。図8Bは、試験セットがエンコーダから得られた時に生成された混同行列を示している。（尚、これらのエンコーダは、図8Aに使用されたWT網膜の入出力関係から構成されたものである。）適中率は、WT網膜によって生成されたものに極めて近く、79%であった。図8Cは、完全系（エンコーダ+トランスデューサ）の結果を示している。個々の細胞は、同一量の情報を担持するのではなく、母集団として併せて、非常に良好に機能する。適中率は、64%であった。最後に、図8Dは、標準的な光遺伝子の方法での結果を示している。個々の細胞は、殆ど情報を担持せず、母集団としてさえも、依然として全く限られたものである。適中率は、偶然の近くに、7%であった。従って、エンコーダの組込み、すなわち、網膜の神経コードの本出願人のプロキシの組込みは、20個の細胞の小さい母集団に向けてさえも、非常に大きな効果を有し、かつ人工器官性能を飛躍的に増大させることができる。

10

#### 【0230】

最後に、これらのデータを要約すると、エンコーダ単独（図8B）、エンコーダ+トランスデューサ（図8C）、及び標準的な光遺伝子の方法（図8D）のパーセントによる性能を正常な網膜（図8A）の性能と比較した。結果は、以下の通りである。エンコーダの性能は、正常な網膜の性能、すなわち、完全系の性能の98.75%であり、すなわち、エンコーダ+トランスデューサのこの実施形態の性能は、正常な網膜の性能の80%であり、標準的な方法（単にトランスデューサだけ）の性能は、正常な網膜の性能（8.75%）の10%未満であった。

20

#### 【0231】

##### 神経節細胞（又はエンコーダ）応答からの刺激の再構成

次に、刺激再構成が行われた。刺激再構成では、1組のスパイク列を前提として呈示される最も見込みのある刺激を判断するために標準的な最大尤度手法を使用する（Paninski, Pillow, 及びLewi、2007年にレビュー）。脳では刺激は再構成されないが、再構成は、人工器官方法を比較して各手法で可能な視力の回復のレベルの近似値が得られる有利な方法として機能する。

#### 【0232】

刺激は、1秒間にわたって均一な灰色の画面、次に、1秒間にわたって特定の画像、好ましくはヒトの顔から構成されたものであった。尚、刺激の各ピクセルは、画像の特徴、この場合に、顔を見分けることができるように視空間の適切な領域に跨がらなければならない。この基準は、図9に示すように、顔につき35x35のピクセルの選択により満たされている。これは、顔の認識では、少なくとも顔面当たりの8サイクルもの高さの空間周波数を利用し、これには、適切なサンプリングに向けて各寸法内で少なくとも32ピクセルが必要であることと合致している（Rolls他、1985年）。マウスを使用する図9に示す実施例では、各ピクセルは、2.6°x2.6°の視空間に対応するものであった。これは、マウス網膜上でほぼ12~20個の神経節細胞に対応する。

30

#### 【0233】

刺激を再構成することは、測定された母集団応答 $r$ を前提として最も可能性のある刺激を見つけるために全ての可能な刺激の空間にわたる検索から構成される。 $r$ を前提として最も見込みのある刺激を見つけるために、ベイズの定理、 $p(s|r) = p(r|s) \cdot p(s) / p(r)$ を用いた。演繹的な刺激確率 $p$ が全ての $s$ に対して一定であるように意図されたので、 $p(s|r)$ を最大にすることは、 $p(r|s)$ を最大にすることに同等である。

40

#### 【0234】

$p(r|s)$ を判断するために、細胞の応答が条件つきで独立していると仮定され、すなわち、 $p(r|s)$ が確率 $p(r_j|s)$ の積であると仮定され、ここで、 $p(r_j|s)$ は、刺激 $s$ を前提として $j$ 番目の細胞の応答が $r_j$ である確率である。この仮定条件のための理論的根拠は、条件付き独立性から片寄りが小さく、担持される情報（Niren

50

berg 他、2001年、Jacobs 他、2009年) にかつ刺激復号の忠実度に関連するのは単に僅かであることが既知であることである。

#### 【0235】

特定の細胞  $m$  に対して  $p(r_m | s)$  を計算するために、応答  $r_m$  は、刺激開始後 1 秒間かつ  $0.67 \text{ ms}$  のビンが割り当てられた  $m$  番目の細胞のスパイク列であるとして取った。スパイク発生過程は不均質ポアソン過程であると仮定するので、1 秒の応答全体の確率  $p(r_m | s)$  を各時間ビンに割り当てられた確率の積として計算した。各時間ビンに割り当てられた確率は、刺激  $s$  に対するこのビン内の細胞の予想発火率に基づいてポアソン統計値により判断した。細胞の予想発火率は、数量  $\lambda_m(t, X)$  として、数 1 の式(「時空間変形段階」の場所の節「エンコード」を参照されたい)から計算し、数 1 の式の  $X$  は、刺激  $s$  であるとして取り、 $t$  は、時間ビンの時間に存在する。最後に、細胞の母集団の応答の確率  $p(r | s)$  を個々の細胞  $p(r_j | s)$  の応答の確率を掛けることによって計算する。

#### 【0236】

母集団応答  $r$  に対して最も見込みのある刺激  $s_j$  をを見つけるために、標準的な勾配上昇法を用いた。確率分布  $p(r | s)$  を最大にする刺激  $s_j$  を見つけたくかつ刺激値空間は高次元であるので、勾配上昇法は、この高次元空間を通じて検索する効率的な方法を提供する。簡潔にいうと、最初に、刺激値空間  $s_k$  内の無作為な点で開始した。この刺激の確率分布  $p(r | s_k)$  を評価して、刺激の各寸法に関するこの確率分布の勾配を計算した。次に、増大する確率方向に(確率分布の勾配から判断した時に)刺激  $s_k$  を変えることによって新しい刺激  $s_{k+1}$  を作成した。この過程は、刺激の確率が増大し始めるのが僅かな量に過ぎなくなるまで、すなわち、 $p(r | s)$  のピークに到達するまで反復的に続行した。尚、確率分布が厳密には対数凹ではないので、極大値で動けなくなる可能性が存在する。これが発生していなかったことを確認するために、複数の無作為な開始点を使用して再構成を実行して再構成が同じピークに収束することを確認した。

#### 【0237】

人工器官方法の性能を比較するために、3 つの組の応答を使用して再構成が行われた。すなわち、1) エンコードの応答、2) 神経節細胞がエンコード+トランスデューサ(CHR2)により駆動される盲目の網膜からの応答、及び 3) 神経節細胞がトランスデューサのみ(すなわち、CHR2のみ)により駆動される盲目の動物からの応答である。再構成は、 $10 \times 10$  又は  $7 \times 7$  の格子模様のブロック単位で処理クラスター上で行った。

#### 【0238】

結果を図 9 に示している。完全な再構成に向けて十分に大きなデータセットを取得するために、画像の全ての部分に対する応答が単一の網膜又は少数の網膜に対して取得できるように、記録中である網膜の領域にわたって系統的に画像を移動した。ほぼ 12,000 個の神経節細胞応答を各画像に対して記録した。図 9 A は、最初の画像を示している。図 9 B は、エンコードのみの応答によって生成された画像を示している。画像が赤ん坊の顔であると分ることが可能であるのみならず、この特定の赤ん坊の顔であることも求められ、特に困難であるタスクである。図 9 C は、エンコード/トランスデューサから応答によって生成された画像を示している。これは、あまり良好ではないが、依然として近いものである。最後に、図 9 D は、標準的な方法(すなわち、CHR2のみ)からの応答によって生成された画像を示している。この画像は、遥かに限りあるものである。この図の結果は、ここでもまた、網膜のコードの組込みは性能の質に大きな影響を与えることを示している。

#### 【0239】

方法の性能の差異を定量化するために、各方法で再構成されたものを最初の画像と比較した。これを行うために、各ピクセルでの再構成した像の値と実像のものとの標準的なポアソン相関係数を計算した。従って、1 の相関係数は、最初の画像の情報の全てが完全に保持されていたことを示し、一方、0 の相関係数は、実像に対する再構成の類似が偶然に過ぎなかったことを示している。



## 【0240】

結果は、以下の通りであった。エンコーダ単独に対して、相関係数は、0.897であり、エンコーダ+トランスデューサに対して、相関係数は、0.762であり、トランスデューサ単独（現在の技術に対応）に対して、相関係数は、0.159であった。従って、弁別タスクに対して本出願人がまさに見出したように、エンコーダ+トランスデューサの性能は、現在の技術の性能より数倍良好であった。

## 【0241】

視運動タスクに関する性能

最後に、視運動タスクを使用して1組の挙動実験が行われた。結果を図10に示している。簡潔にいうと、動物にモニタ上で運動正弦波格子を呈示し、動物の眼の位置は、ISCAN PCI瞳孔/角膜反射追跡システム（ISCAN Corp.、マサチューセツ州ウォーバーン）で記録した。後で記録を解析し、運動を刺激の運動と相関させた。図10Aの左のパネルは、基線ドリフト（刺激なし）を示している。盲目の動物は、盲人に対して観測されたものと類似の眼の位置のドリフトを示している。図10B（中心の欄）は、網膜変性を有し、かつ網膜神経節細胞内でチャンネルロドプシン-2も発現する本出願人の研究室で育てた商業的供給元の二重遺伝子組み換えマウスの結果を示している。これらのマウスには生刺激を示している。それによって標準的な光遺伝子の方法がモデル化される。図10C（右の欄）は、本出願人の人工器官のモデルの結果を示している。網膜変性を有し、かつ網膜神経節細胞内でチャンネルロドプシン-2も発現する研究室で育てた商業的供給元から購入した二重遺伝子組み換えには、生刺激の代わりに本出願人のエンコーダの出力を示している。図に示すように、追跡は、標準的な光遺伝子の方法をモデル化するマウスによって生成されはしなかったが、本出願人の人工器官をモデル化するマウスによって生成されている。画像が神経節細胞によって使用されるコードに変換された時に、動物は、コードを追跡することができるようになる。

## 【実施例9】

## 【0242】

## 実施例9：画像から光パルスへの変換

図12の概略図は、例示的なエンコーダのための画像から光パルスへの変換を示している。図12Aは、例示的な動画（セントラルパークからの情景）を示している。図12Bは、予め処理した動画を示している。平均値強度及びコントラストをスケールリングして時空間変形の作動範囲と適合させる。この例示的な動画において、平均値又はコントラストの再スケールリングは不要であった。図12Bは、図12C～図12Eの出力を生成する例示的なエンコーダの位置も示している。図12Cは、時空間変形段階の出力を示している。予め処理した動画を実施例細胞の時空間的なカーネルに畳み込んでその非線形性を通過させて発火率を生成する。図12Dは、スパイク発生段階の出力を示している。時空間変形によって生成された発火率をスパイク発生器に通して一連の電子パルスを生成する。図12Eは、スパイク発生段階によって生成された出力に対応する光パルスを示している。

## 【実施例10】

## 【0243】

## 実施例10：マウス及びサル網膜神経節細胞エンコーダのパラメータセットの例

この実施例では、本出願人は、2つのサンプルエンコーダ、すなわち、マウスエンコーダ及びサルエンコーダに対するパラメータセットを提供する。パラメータセットは、空間パラメータ、時間パラメータ、及び非線形性（スプライン）パラメータから構成される。更に、時間関数を構成するのに使用される基底関数を提供する（見出し「時空間変形段階」の場所の節「エンコーダ」に詳述）。

## 【0244】

マウス神経節細胞のための例示的なエンコーダパラメータセット

空間パラメータ - 各々の数字は、 $10 \times 10$ グリッド上の空間内の位置での重みである。グリッド上の各位置は、 $2.6^\circ$ の視界の隔たりで離間している。以下のサンプル重みは、読み易いように $10^3$ で拡大したものである。

行 <sub>1</sub> =	[0.33002	0.04921	0.35215	-0.50472	-0.31662	
	0.48097	1.59118	0.25387	-0.29734	-0.32160]	
行 <sub>2</sub> =	[0.72320	-0.79947	1.11129	-0.42650	-0.10557	
	-0.83933	1.09369	-0.06499	-0.22048	0.93292]	
行 <sub>3</sub> =	[0.06408	0.11642	0.04056	-1.00307	0.76165	
	0.40809	-0.92745	0.80737	0.92201	-0.12520]	
行 <sub>4</sub> =	[0.48629	0.70789	0.15863	0.28964	-0.12602	
	-0.31769	0.29873	-0.05653	-0.13206	0.65947]	
行 <sub>5</sub> =	[1.38570	-0.92340	-0.37912	1.43493	-0.56229	
	0.33423	0.17084	-0.21360	1.19797	2.19499]	10
行 <sub>6</sub> =	[0.06191	-0.92478	0.56671	0.30621	-0.52551	
	0.75282	-1.19834	0.99852	1.59545	2.82842]	
行 <sub>7</sub> =	[-0.20276	-1.03567	0.74796	-0.59916	0.48170	
	0.31746	1.22590	1.52443	2.79257	1.82781]	
行 <sub>8</sub> =	[0.31473	0.46495	0.51243	0.19654	0.91553	
	0.05541	-0.80165	2.12634	1.46123	1.49243]	
行 <sub>9</sub> =	[-0.12374	-1.08114	0.69296	0.03668	-0.16194	
	-0.02616	0.22097	0.79908	-0.05111	0.54044]	
行 <sub>10</sub> =	[0.06479	-0.00645	-0.83147	0.10406	0.60743	
	-0.87956	1.53526	0.02914	0.23768	-0.13274]	20

## 【 0 2 4 5 】

時間パラメータ - 10個の時間パラメータがある。各々の数字は、10個の時間基底関数（次に示す）に対する重みである。

[11.84496	-5.03720	-42.79105	-173.22514	-172.80439
4.02598	186.79332	6.04702	50.69707	-67.50911]

## 【 0 2 4 6 】

時間基底関数 - 10個の時間基底関数  $\{F_1, F_2, \dots, F_{10}\}$  がある。各関数は、18の値を有し、各値は、特定の時間ステップに対して基底関数を定義する。時間ステップは、66.7msの隔たりで離間している。第1の値は、66.7msの遅延での数を表し、最終値は、1.2sの遅延での関数を表している。

F <sub>1</sub> =	[1	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0]							
F <sub>2</sub> =	[0	1	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0]							
F <sub>3</sub> =	[0	0	1	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0]							
F <sub>4</sub> =	[0	0	0	1	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0]							
F <sub>5</sub> =	[0	0	0	0	1	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0]							
F <sub>6</sub> =	[0	0	0	0	0	0.8958	0.4425	0.0418	
	0	0	0	0	0	0	0	0	
	0	0]							
F <sub>7</sub> =	[0	0	0	0	0	0.3685	0.7370	0.5240	
	0.2130	0.0325	0	0	0	0	0	0	50

$$F_8 = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.3038 & 0.5724 \\ 0.5724 & 0.4236 & 0.2469 & 0.1069 & 0.0250 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.0000 & 0.1420 \\ 0.3493 & 0.4696 & 0.4874 & 0.4336 & 0.3439 & 0.2457 & 0.1563 & 0.0852 \\ 0.0358 & 0.0081 \end{bmatrix}$$

$$F_9 = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.0000 & 0.1420 \\ 0.3493 & 0.4696 & 0.4874 & 0.4336 & 0.3439 & 0.2457 & 0.1563 & 0.0852 \\ 0.0358 & 0.0081 \end{bmatrix}$$

$$F_{10} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0.0195 & 0.1233 & 0.2465 & 0.3441 & 0.4012 & 0.4187 & 0.4043 & 0.3678 \\ 0.3181 & 0.2626 \end{bmatrix}$$

10

【 0 2 4 7 】

尚、上述の数字は、モデルパラメータでなく、すなわち、データに適合されていないが、推測的に選択される。 $F_1 - F_5$ はインパルスであり、 $F_6 - F_{10}$ は、対数時間の二乗余弦であり、その値は、読者の便宜を図ってここに示されている。

【 0 2 4 8 】

スプラインパラメータ - 非線形性は、標準的 3 次スプライン、すなわち、区分的 3 次多項式である。標準的であるように、スプラインは、成分多項式  $\{P_1, P_2, \dots, P_6\}$  及びノット  $\{b_1, b_2, \dots, b_7\}$  に関して定義される。各  $P_n$  は、1 対のノット  $b_n$  と  $b_{n+1}$  間の非線形性を計算するのに使用される。ここでは多項式の数  $p_{tot} = 6$  であるので、 $p_{tot} + 1 = 7$  つのノットがある。各多項式  $P_n$  は、4 つの係数  $[A_n, B_n, C_n, D_n]$  により定義される。所定の点  $x$  に対して、

20

$$b_n \leq x \leq b_{n+1}$$

である場合に、非線形  $y$  の値は、以下により求められる。

【数 6】

$$y = ((A_n(x - b_n) + B_n)(x - b_n) + C_n)(x - b_n) + D_n$$

$b_1$  よりも小さい  $x$  の値に対して、上述の式は、 $n = 1$  と共に使用される。 $b_7$  より大きい  $x$  の値に対して、上述の式は、 $n = 7$  と共に使用される。

【 0 2 4 9 】

ノット (Knots):  $[-4.2105 \ -2.6916 \ -1.1727 \ 0.3461 \ 1.8650 \ 3.3839 \ 4.9027]$

30

$P_1 = [0.2853 \ -0.1110 \ -2.9797 \ 4.8119]$   
 $P_2 = [-0.2420 \ 1.1890 \ -1.3423 \ 1.0298]$   
 $P_3 = [-0.2063 \ 0.0863 \ 0.5947 \ 0.8860]$   
 $P_4 = [3.3258 \ -0.8538 \ -0.5712 \ 1.2653]$   
 $P_5 = [-6.3887 \ 14.3006 \ 19.8527 \ 10.0815]$   
 $P_6 = [3.2260 \ -14.8100 \ 19.0790 \ 50.8402]$

【 0 2 5 0 】

サル神経節細胞のための例示的なエンコードパラメータセット

空間パラメータ - 各々の数字は、 $10 \times 10$  グリッド上の空間内の位置での重みである。グリッド上の各位置は、 $0.3^\circ$  の視角の隔たりで離間している。以下のサンプル重みは、読み易いように  $10^3$  で拡大したものである。

40

$$\begin{array}{l} \text{行}_1 = [0.55195 \quad -0.84156 \quad 0.84613 \quad -0.57117 \quad -0.19474 \\ \quad -0.11197 \quad -1.00783 \quad -0.03454 \quad 1.28868 \quad -0.22166] \\ \text{行}_2 = [-1.04227 \quad 0.23179 \quad 0.25551 \quad -0.45285 \quad -0.41161 \\ \quad -0.15036 \quad 0.83755 \quad -1.57133 \quad -0.88564 \quad 2.05603] \\ \text{行}_3 = [0.60746 \quad 0.53720 \quad 0.60018 \quad -2.29069 \quad -1.81365 \\ \quad -0.50460 \quad -1.29800 \quad -1.45387 \quad 1.58825 \quad -1.17287] \\ \text{行}_4 = [-0.22411 \quad -0.77299 \quad -1.00706 \quad -1.94835 \quad -2.92171 \\ \quad -2.98774 \quad -1.23428 \quad -0.54277 \quad 0.68372 \quad -0.70579] \\ \text{行}_5 = [0.06135 \quad 0.22591 \quad -3.75132 \quad -3.01549 \quad -2.58498 \end{array}$$

50

	-2.18981	0.13431	-0.82007	-1.10427	-0.10170]
行 <sub>6</sub> =	[0.99720	-0.02322	0.43823	-0.52735	-2.14156
	-2.89650	-0.57703	-0.87173	0.83669	1.35836]
行 <sub>7</sub> =	[0.13385	0.76995	-0.80099	-0.11574	-1.70100
	-0.51437	0.29501	-2.02754	-0.22178	-1.26073]
行 <sub>8</sub> =	[-0.69551	1.30671	-0.91948	0.15329	0.30121
	0.20764	-1.69209	-0.09721	-0.09431	0.36469]
行 <sub>9</sub> =	[0.26733	-0.01433	0.57732	0.13921	-0.18279
	0.36743	-0.59386	0.71287	-1.03279	0.09482]
行 <sub>10</sub> =	[1.17775	-0.90456	-1.58663	-1.14128	0.00673
	0.20418	0.98834	-0.78054	0.43434	0.52536]

10

## 【 0 2 5 1 】

時間パラメータ - 10個の時間パラメータがある。各々の数字は、10個の時間基底関数（次に示す）に対する重みである。

[25.67952	-43.25612	15.94787	-84.80078	-88.11922
-4.70471				
-45.63036	73.07752	34.14097	-0.95146]	

## 【 0 2 5 2 】

時間基底関数 - 10個の時間基底関数  $\{F_1, F_2, \dots, F_{10}\}$  がある。各関数は、30の値を有し、各値は、所定の時間ステップに対して基底関数を定義する。時間ステップは、16.7msの隔たりで離間している。第1の値は、16.7msの遅延での数を表し、最終値は、0.5sの遅延での関数を表している。

20

F <sub>1</sub> =	[1	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0]		
F <sub>2</sub> =	[0	1	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0]		
F <sub>3</sub> =	[0	0	1	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0]		
F <sub>4</sub> =	[0	0	0	1	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0]		
F <sub>5</sub> =	[0	0	0	0	1	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0]		
F <sub>6</sub> =	[0	0	0	0	0	0.8625	0.4952	0.1045
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0]			
F <sub>7</sub> =	[0	0	0	0	0	0.3396	0.6754	0.5612
	0.3153	0.1180	0.0172	0	0	0	0	0

30

40

50

$$\begin{array}{cccccccc}
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0] & & \\
 F_8 = [0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.2309 & 0.4765 \\
 0.5415 & 0.4765 & 0.3562 & 0.2309 & 0.1266 & 0.0535 & 0.0125 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0] & & \\
 F_9 = [0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.0753 \\
 0.2323 & 0.3583 & 0.4226 & 0.4312 & 0.4002 & 0.3461 & 0.2819 & 0.2168 \\
 0.1567 & 0.1052 & 0.0639 & 0.0333 & 0.0131 & 0.0024 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0] & & \\
 F_{10} = [0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
 0.0004 & 0.0420 & 0.1189 & 0.1990 & 0.2656 & 0.3124 & 0.3386 & 0.3466 \\
 0.3398 & 0.3219 & 0.2962 & 0.2656 & 0.2326 & 0.1990 & 0.1662 & 0.1354 \\
 0.1071 & 0.0820 & 0.0603 & 0.0420 & 0.0272 & 0.0158] & & 
 \end{array}$$

【 0 2 5 3 】

スプラインパラメータ - 非線形性は、標準的 3 次スプライン、すなわち、区分的 3 次多項式である。標準的であるように、スプラインは、成分多項式  $\{P_1, P_2, \dots, P_6\}$  及びノット  $\{b_1, b_2, \dots, b_7\}$  に関して定義される。各  $P_n$  は、1 対のノット  $b_n$  と  $b_{n+1}$  間の非線形性を計算するのに使用される。ここでは多項式の数  $p_{tot} = 6$  であるので、 $p_{tot} + 1 = 7$  つのノットがある。各多項式  $P_n$  は、4 つの係数  $[A_n, B_n, C_n, D_n]$  により定義される。所定の点  $x$  に対して、

【数 7】

$$b_n \leq x \leq b_{n+1}$$

である場合に、非線形  $y$  の値は、以下により求められる。

【数 8】

$$y = ((A_n(x - b_n) + B_n)(x - b_n) + C_n)(x - b_n) + D_n$$

【 0 2 5 4 】

ノット:  $[-7.9291 \quad -5.9389 \quad -3.9486 \quad -1.9584 \quad 0.0318 \quad 2.0221 \quad 4.0123]$

$$P_1 = [-1.0067 \quad 3.4136 \quad 4.5376 \quad -25.8942]$$

$$P_2 = [-0.2910 \quad -2.5970 \quad 6.1628 \quad -11.2780]$$

$$P_3 = [2.4072 \quad -4.3345 \quad -7.6326 \quad -11.5935]$$

$$P_4 = [-2.7537 \quad 10.0384 \quad 3.7195 \quad -24.9763]$$

$$P_5 = [1.6687 \quad -6.4032 \quad 10.9543 \quad 0.4804]$$

$$P_6 = [-1.0485 \quad 3.5605 \quad 5.2966 \quad 10.0743]$$

【実施例 1 1】

【 0 2 5 5 】

実施例 1 1 : エンコーダによって生成されたサル網膜神経節細胞発火パターン

自然情景の動画を呈示して、マカクザルから切り取った網膜から神経節細胞応答を記録した (簡潔にいうと、網膜をサルから抽出し、網膜に自然情景の動画を呈示して、神経節細胞応答を記録した) (図 1 3 上)。更に、これらのサル神経節細胞に向けて生成されるエンコーダに動画を呈示した (節「エンコーダ」で概説した手順に従って) (図 1 3 中央)。

【 0 2 5 6 】

正常な網膜において、動画は、網膜回路により活動電位 (スパイク列とも呼ばれる) のパターンに変換される。正常な網膜からスパイク列を図 1 3 上に示している。エンコーダによって生成された応答は、これらの応答 (図 1 3 中) と密接に適合する。従って、正常な網膜入出力関係を模倣することができた。

【実施例 1 2】

【 0 2 5 7 】

10

20

30

40

50

### 実施例 12：視覚弁別タスクでのサルエンコーダの性能

弁別タスク法（図 14）を使用して 1 組のサルエンコーダの性能を評価した。このタスクでは、実施例 8（「弁別タスク内の性能」のセクションを参照されたい）内に概説した方法に従った。

#### 【0258】

実施例 8 で概説した手順を使用して 2 セットの解析が行われた。各セットに対して、トレーニングセットにサル網膜から応答を使用した。試験セットに対して、2 セットの応答を使用した。

#### 【0259】

（1）第 1 のセットは、サル網膜からの応答から構成されたものであった。これは、通常の神経節細胞応答によって生成された適中率を取得するために行う。

10

#### 【0260】

（2）第 2 のセットは、エンコーダから応答から構成されたものであった（エンコーダからの応答は、本明細書を通じて示すように、この場合に、刺激呈示の後 1.33 秒間及び WT 神経節細胞応答と同様に 66.7 ms が割り当てられた電気パルスの流れである）。

#### 【0261】

エンコーダからの応答を試験セットとして使用した時に、サル網膜の応答分布を前提としてエンコーダがいかに良好に機能するかの尺度が得られる。換言すれば、脳が通常の WT 網膜の応答（すなわち、本来コード化された応答）を解釈するように構成されたという仮定で始める。エンコーダからの応答を試験セットとして使用した時に、通常の網膜応答の本出願人のプロキシ（網膜のコードの本出願人のプロキシ）で脳であればいかに良好に機能するかの尺度が得られる。結果を図 14 に示している。図 14 A は、試験セットがサル網膜から得られた時に生成された混同行列を示している。左に、個々の神経節細胞の行列があり、右に、細胞の母集団（10 個の細胞）の行列がある。図示のように、個々の細胞は、有意な量の情報を各々担持し、母集団として併せると、セット内にほぼ全ての刺激を識別することができる。適中率は、83%であった。図 14 B は、試験セットがエンコーダ（例えば、図 14 A に示すように、サル網膜の入出力関係から構成されたエンコーダ）から得られた時に生成された混同行列を示している。エンコーダの応答によって生成された適中率 77% は、正常なサル神経節細胞の応答によって生成された適中率 83% に極めて近いものであった。すなわち、正常なサル神経節細胞によって生成された適中率の  $77/83 = 92.7\%$  であった。従って、エンコーダの出力、すなわち、サル網膜の神経コードの本出願人のプロキシは、サル網膜の性能とほぼ適合する。

20

30

#### 【実施例 13】

#### 【0262】

実施例 13：エンコーダの出力に対するトランスデューサの出力の忠実度

図 15 は、エンコーダ+トランスデューサによって生成された神経節細胞応答が高忠実度でコード化された出力に追従することを示している。エンコーダを上述のように作成した。刺激、すなわち、赤ちゃんの顔面の画像をエンコーダを実行する処理デバイスに入力してコードを発生させる。コードをインタフェースに通して、盲目でありかつ ChR2 を発現させる二重遺伝子組み換えマウスから切り取った網膜より上方に位置決めされた LED を駆動する。電極により、網膜応答が記録される。図 15 A は、光パルス及び対応する神経節細胞出力を示している。各対の列に対して、一番上の行は、光パルスの時間を示し、一方、一番下の行は、ChR2 を表す神経節細胞によって生成された活動電位の時間を示している。次に、図 15 B は、光パルスと活動電位間の 1 対 1 の対応を示す図 15 A からの丸で囲った領域の拡大を示している。図が示すように、活動電位は、光パルスに、従って、高忠実度でエンコーダに追従した。

40

#### 【実施例 14】

#### 【0263】

実施例 14：人工器官による治療

50

53才の男性患者は、黄斑変性を示している。EVA試験を行うと、得点は48点であり、視力は20/200で、低視力と診断される。視力は、着実に悪化しており、彼は完全に失明するのではないかと心配している。内科医は、網膜人工器官を使用する治療を患者と話し合い、本発明の網膜人工器官で患者を治療することを判断する。

【0264】

上述のような遺伝子治療薬物によるキットと、カメラ、プロセッサ、及びインタフェースを有するデバイスとを使用する。

【0265】

治療に対する目の免疫応答の危険性を軽減するために、患者に糖質コルチコイドの短期治療を施し、治療終了時に外来受診が予定される。外来受診中に、網膜神経節細胞を望ましいプロモーターシーケンスによるチャンネルロドプシン2つのcDNAを担持するrAAVベクターでの遺伝子治療を局所麻酔薬下で硝子体内注入を通じて患者に施す。

10

【0266】

患者は、回復し、家に帰される。目が確実に回復することを保証し、かつウイルスベクターのまん延がないかをモニタするために週1回の追跡通院がある。眼は、正常に回復し、まん延は見つからない。

【0267】

第4週目に、患者は、初めて治療のためのハードウェア構成要素を装着するが、治療のためのハードウェア構成要素は、プロセッサ及びバッテリーを含む眼鏡を含む。眼鏡の各レンズは、画像を記録するカメラであり、各レンズの内向き面は、光アレイである。

20

【0268】

初期視力検査を眼鏡デバイス着用あり及びなしで行う。眼鏡なしの患者の視力は、20/200のままであり、治療のためのデバイスで、視力は、EVAで測定時に20/80まで改善していた。毎週、患者は、来院すると再び検査を受け、完全な装置の使い方の練習に時間を費やし、眼鏡を使用した視力で第6週目までに視力は、20/50まで上がった。患者は、正常に近い視力である。

【実施例15】

【0269】

実施例15：人工器官による治療

60才の女性患者は、黄斑変性を示している。EVA試験を行うと、得点は3文字であり、視力は20/800であり、法的に盲目であると判断される。内科医は、網膜人工器官を使用する治療を患者と話し合い、本発明の網膜人工器官で患者を治療することを判断する。

30

【0270】

遺伝子治療薬物によるキットと、カメラ、プロセッサ、及びインタフェースを有するデバイスとを使用する。

【0271】

治療に対する目の免疫応答の危険性を軽減するために、患者に糖質コルチコイドの短期治療を施し、治療終了時に外来受診が予定される。外来受診中に、局所麻酔薬下で硝子体内注入を通じて遺伝子治療を患者に施す。

40

【0272】

患者は、回復し、家に帰される。目が確実に回復することを保証し、かつウイルスベクターのまん延がないかをモニタするために週1回の追跡通院がある。眼は、正常に回復し、まん延は見つからない。

【0273】

第4週目に、患者は、初めて治療のためのハードウェア構成要素を装着するが、治療のためのハードウェア構成要素は、プロセッサ及びバッテリーを含む眼鏡を含む。眼鏡の各レンズは、画像を記録するカメラであり、各レンズの内向き面は、光アレイである。

【0274】

初期視力検査を眼鏡デバイス着用あり及びなしで行う。眼鏡なしの患者の視力は、20

50

/ 800 のままであり、治療のためのデバイスで眼鏡なしの患者の視力は、標準的な視力検査により測定時に 20 / 100 まで改善していた。毎週、患者は、来院すると再び検査を受け、完全な装置の使い方の練習に時間を費やし、眼鏡を使用した視力による視力は、第 6 週目までに 20 / 40 まで上がった。

#### 【 0 2 7 5 】

本発明の範囲は、以上具体的に示して説明したことに制限されない。当業者は、材料、構成、構造、及び寸法の示された例に対する適切な代替があることを認識するであろう。特許及び様々な文献を含む多くの参考文献が引用され、かつ本発明の説明に考慮されている。このような文献の出典及び説明した内容は、単に本発明の説明を明確にするために示されており、いずれの参考文献も本明細書に説明する発明の先行技術であることを承認するものではない。本明細書において引用して説明した全ての参考文献は、本明細書においてその全内容が引用により組み込まれている。本明細書に説明するものの变形、修正、及び他の実施は、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく当業者には想起されるところである。本発明のある一定の実施形態を示して説明したが、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく变形及び修正を行うことができることは当業者には明らかであろう。上記説明及び添付図面に定めた事柄は、単に例示として提供しており、制限として提供したものではない。

10

【 図 1 】

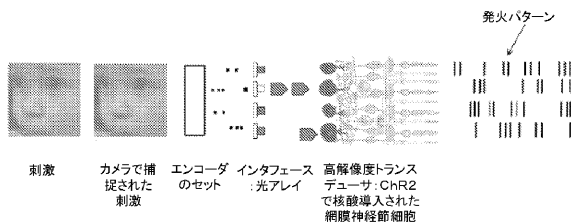


Figure 1

【 図 2 】

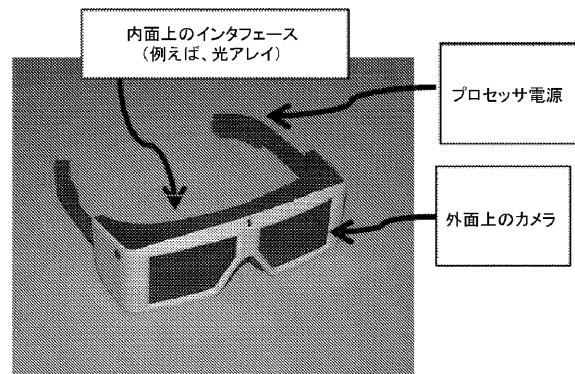


Figure 2



【図 3】

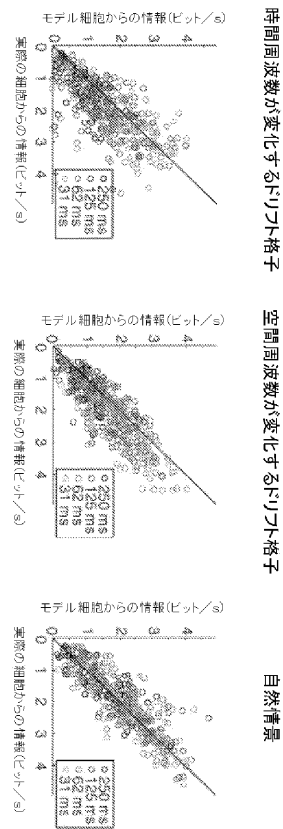


Figure 3

【図 4 - 2】

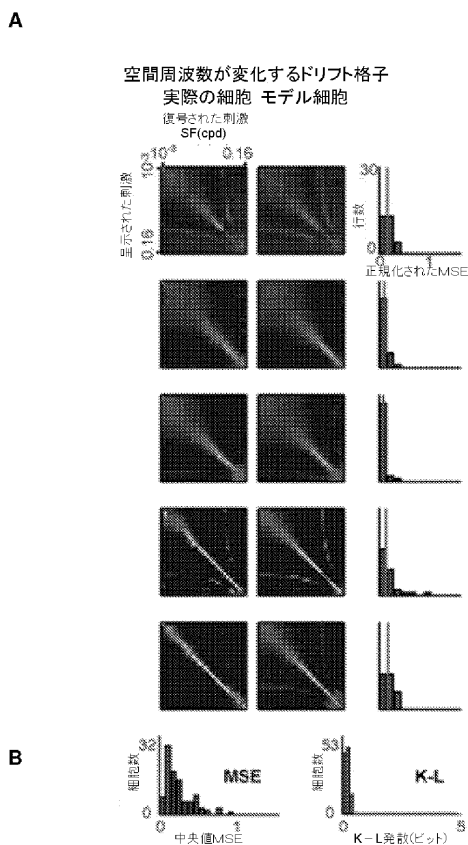


Figure 4-2

【図 4 - 1】

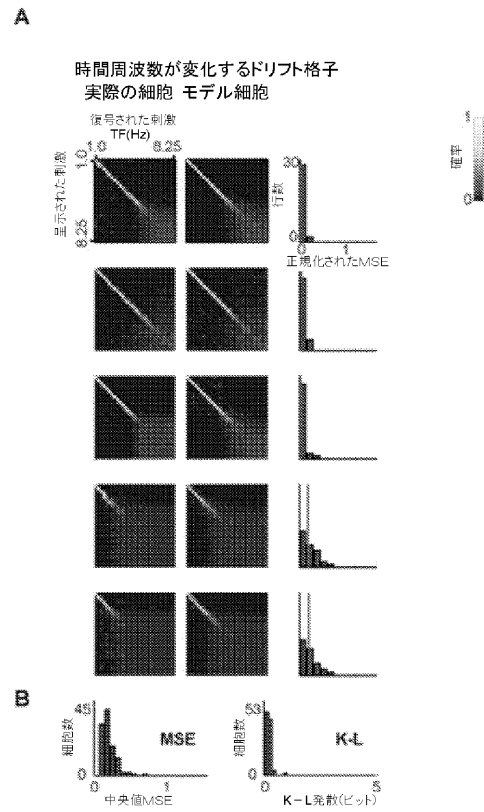


Figure 4-1

【図 4 - 3】

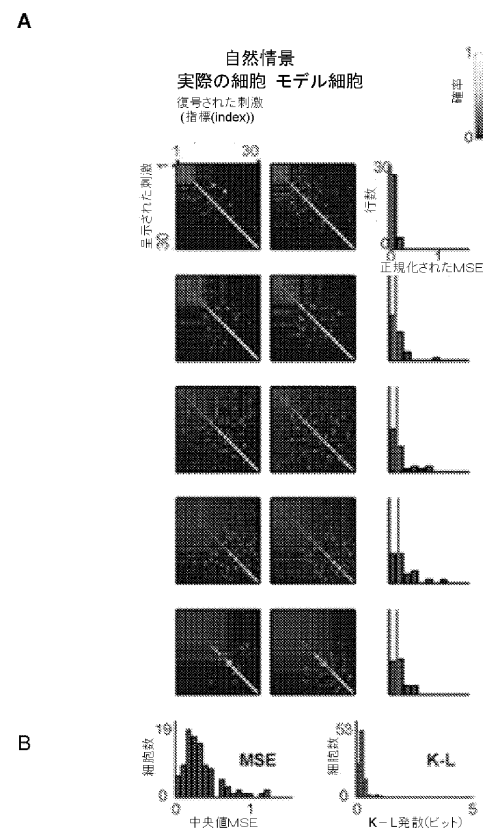


Figure 4-3

【図 5】

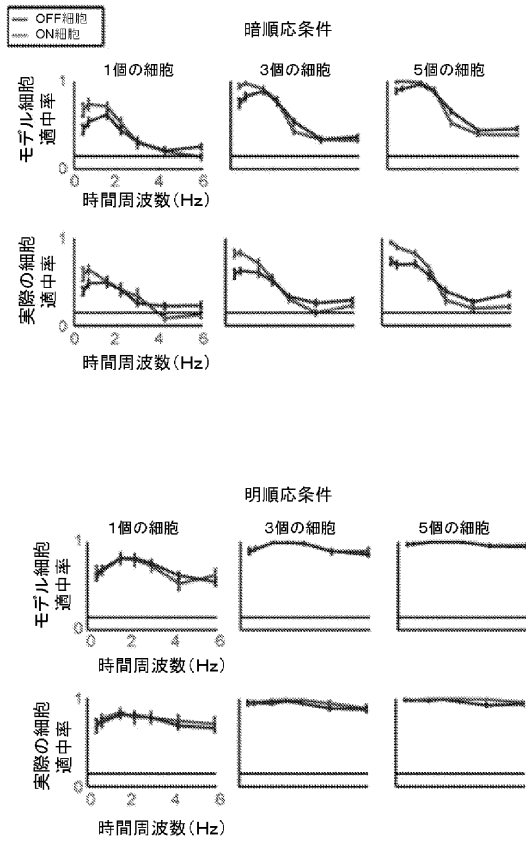


Figure 5

【図 7】

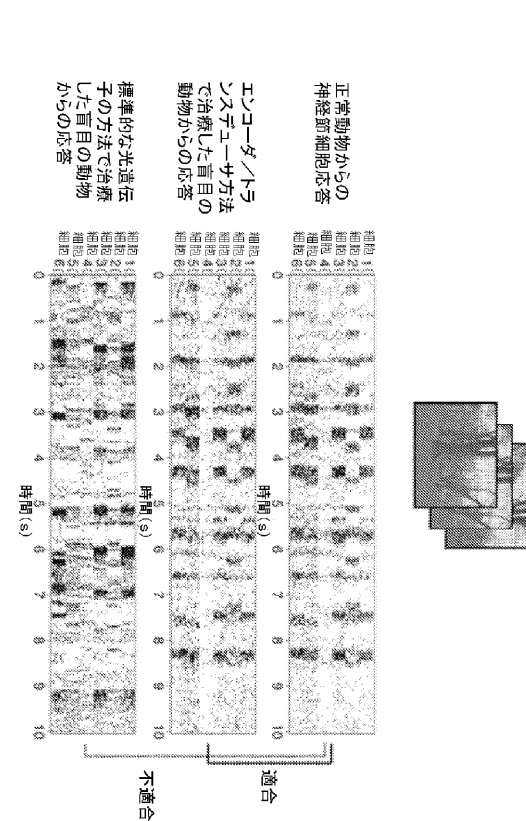


Figure 7

【図 6】

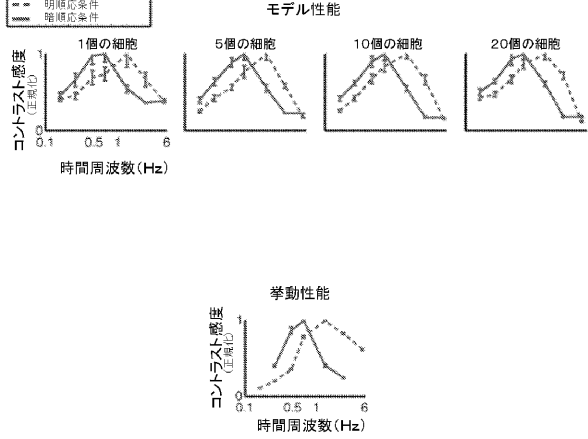


Figure 6

【図 8】

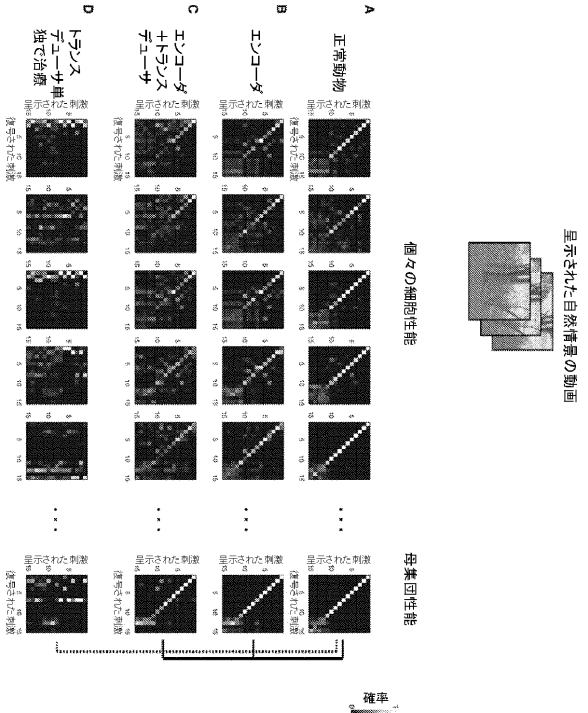
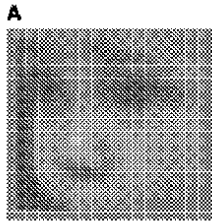
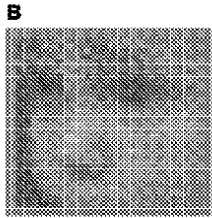


Figure 8

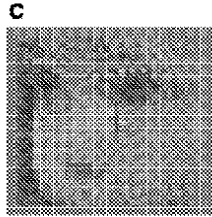
【図 9 A】



【図 9 B】



【図 9 C】



【図 11】

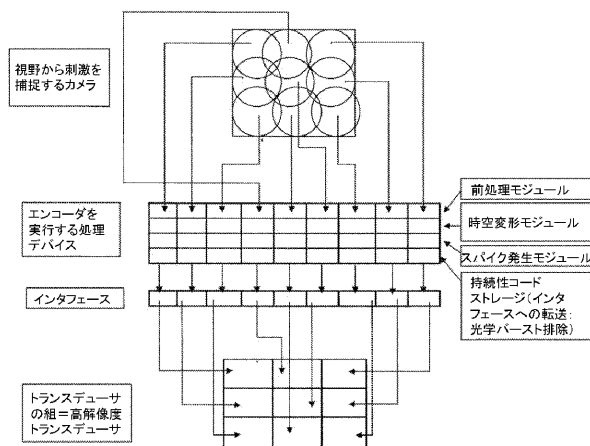
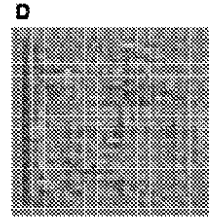


Figure 11

【図 9 D】



【図 10】

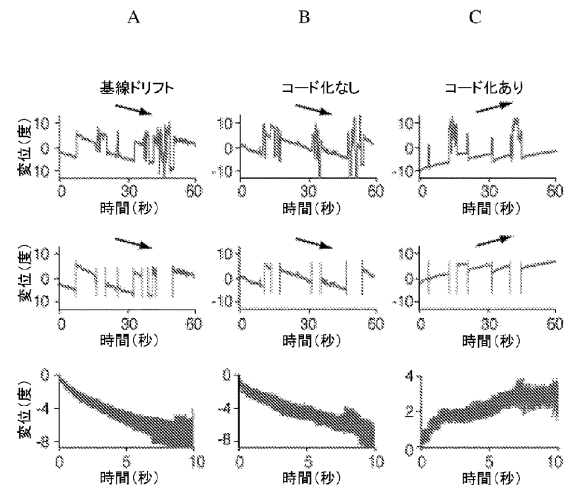


Figure 10

【図 12】

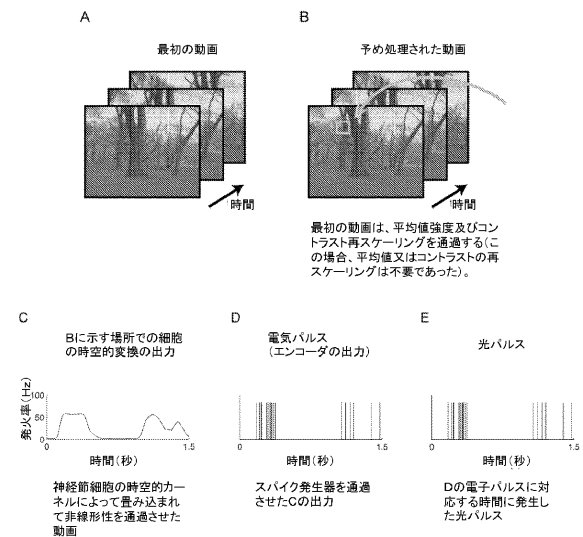


Figure 12

【図 13】

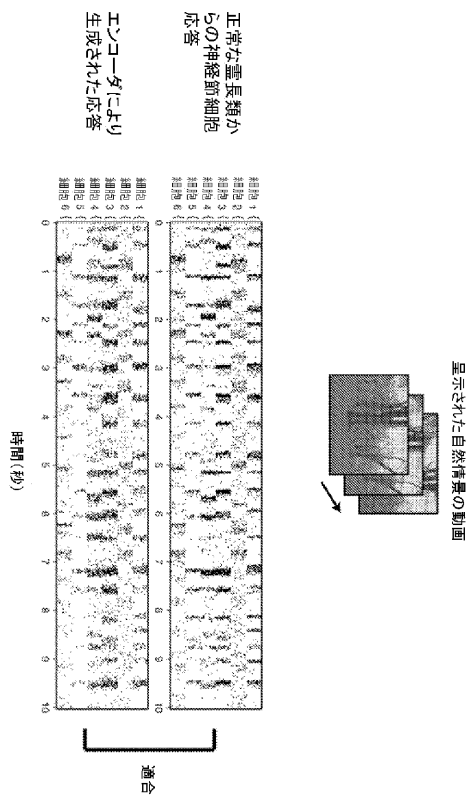


Figure 13

【図 15】

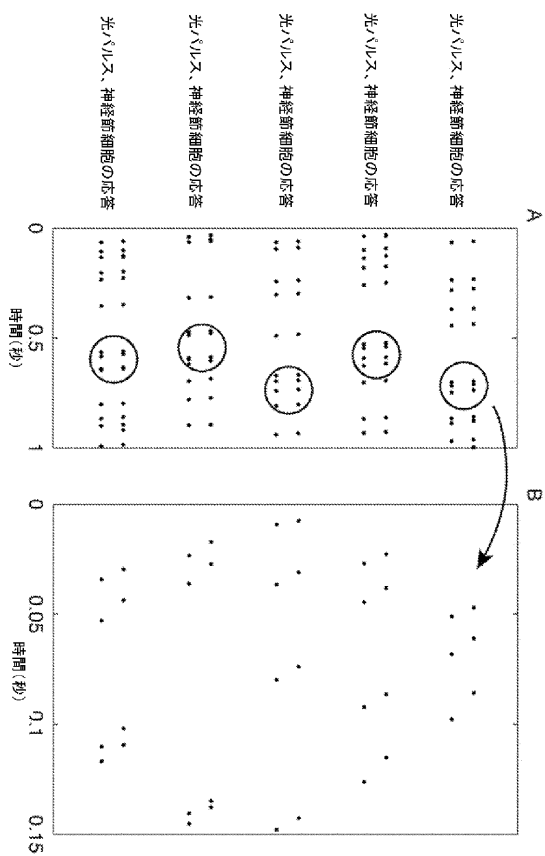


Figure 15

【図 14】

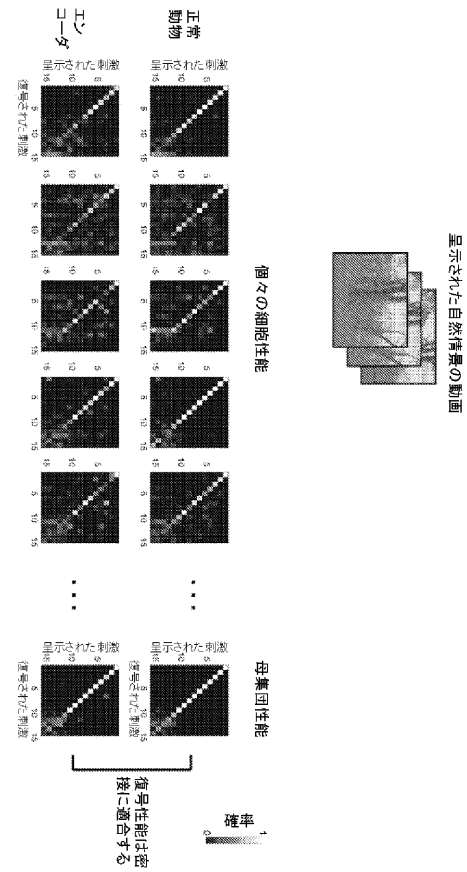


Figure 14

## フロントページの続き

(31)優先権主張番号 61/382,280

(32)優先日 平成22年9月13日(2010.9.13)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 61/378,793

(32)優先日 平成22年8月31日(2010.8.31)

(33)優先権主張国 米国(US)

(74)代理人 100086771

弁理士 西島 孝喜

(74)代理人 100109070

弁理士 須田 洋之

(74)代理人 100109335

弁理士 上杉 浩

(74)代理人 100176418

弁理士 工藤 嘉晃

(72)発明者 ニーレンバーグ シェイラ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10065 ニューヨーク イースト シックスティースード  
ストリート 430 アpartment 2 - ジー

(72)発明者 パンダリナート チェタン

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10044 ニューヨーク メイン ストリート 465 ア  
partment 6 ディー

(72)発明者 オヒオヘヌアン イフィジェ

アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10065 ニューヨーク ヨーク アヴェニュー 1230  
ボックス 42

審査官 胡谷 佳津志

(56)参考文献 特表2009-540900(JP,A)

特表2009-536219(JP,A)

米国特許出願公開第2009/0118794(US,A1)

Yan Huang, et al., An optoelectronic platform for retinal prosthesis, 2006 IEEE Biomed  
ical Circuits and Systems Conference, 2006年, p. 110-113

Eckmiller, R., Dialog concepts for learning retina encoders, Neural Networks, 1997., In  
ternational Conference on, 1997年, Vol. 4, p. 2315-2320

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61F 9/007