(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2020 年 6 月 18 日 (18.06.2020)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2020/118760 A1

(51) 国际专利分类号:
C12N 7/01 (2006.01) *A61K 49/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/122938

(22) 国际申请日: 2018 年 12 月 22 日 (22.12.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201811524050.4 2018年12月13日 (13.12.2018) CN

(71) 申请人: 中国科学院深圳先进技术研究院 (**SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES**) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518000 (CN)。

(72) 发明人: 贾香连 (**JIA, Xianglian**); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518000 (CN)。 王立平 (**WANG, Liping**); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518000 (CN)。

(74) 代理人: 深圳中一联合知识产权代理有限公司 (**SHENZHEN ZHONGYI UNION INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.**); 中国广东省深圳市福田区园岭街道深南中路1014号报春大厦9楼（5号信箱）, Guangdong 518028 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:
— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

(54) **Title:** TERTIARY NEURAL CIRCUIT MANIPULATION COMPOSITION AND ANIMAL TERTIARY NEURAL CIRCUIT MANIPULATION METHOD

(54) 发明名称: 三级神经环路操纵组合物及动物三级神经环路操纵方法

(57) **Abstract:** The tertiary neural circuit manipulation composition comprises a AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP virus, a AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D(Gi)-mCherry virus, and a CAV-FLEx ^{loxP}-FLP virus. The tertiary neural circuit manipulation composition is based on the issue of manipulating a tertiary neural circuit by means of optogenetics, pharmacogenetics, etc., and utilizes retrograde transport of the CAV virus after being absorbed by nerve endings, the anterograde transport characteristics of the AAV virus, and a synergistic effect of the three viruses to achieve the goal of simultaneously manipulating tertiary neurons, i.e., A-B-C.

(57) 摘要: 所述三级神经环路操纵组合物包括AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒、AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D（Gi）-mCherry病毒、以及CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒。所述三级神经环路操纵组合物基于光遗传学、药物遗传学等操纵三级神经环路的问题，利用CAV病毒被神经末梢吸收后逆行、AAV病毒顺行特性，将三种病毒联合使用，实现同时操纵三级神经元即A-B-C的目的。

WO 2020/118760 A1

三级神经环路操纵组合物及动物三级神经环路操纵方法

技术领域

[0001] 本发明涉及神经元活动操纵技术领域，尤其涉及一种三级神经环路操纵组合物及动物三级神经环路操纵方法。

背景技术

[0002] 神经科学领域最难解决的问题是人为实时操纵神经元活动。在光遗传学被发明之后，才开始实现可以用光实时操纵神经元活动；后来逐渐药物遗传学、磁遗传学等也陆续被发明用来操纵神经元活动。采用以上技术操纵神经元的时候，先用携带特异性启动子、光敏感基因和报告基因的AAV等载体病毒注射入模式动物的特定脑区。AAV病毒在有启动子的细胞中表达，最远扩散至轴突末端。目前通过这种方法，最多可以实现两个脑区之间，即两级神经元A-B之间的操纵。

[0003] 而大脑中的神经元相互连接成错综复杂的网络，信息自上而下传输，控制多级神经环路才能解析信息流向；以上操纵其中的两级神经元，只能解析A-B投射对于模式动物行为、生理等的影响，无法实现对A-B的投射的信息流下游进行解析。

发明概述

技术问题

[0004] 本发明的主要目的在于提供一种三级神经环路操纵组合物及三级神经环路操纵方法，旨在用光遗传学、药物遗传学等实现操纵三级神经环路的目的。

问题的解决方案

技术解决方案

[0005] 为实现上述目的，本发明提供的三级神经环路操纵组合物，包括AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒、AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D（Gi）-mCherry病毒、以及CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒。

[0006] 优选地，所述组合物还包括N-氧化氯氮平。

[0007] 本发明进一步提出将以上三级神经环路操纵组合物施用于动物进行动物三级神经环路操纵方法。

[0008] 优选地，向所述动物对象施用所述三级神经环路操纵组合物的步骤包括：

[0009] 将所述AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒注射在动物对象的A脑区；

[0010] 将所述AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D(Gi)-mCherry病毒注射在动物对象的B脑区；

[0011] 将所述CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒注射在动物对象的C脑区。

[0012] 进一步优选地，将所述CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒注射在动物对象的C脑区步骤之后，还包括：

[0013] 向所述动物对象注射CNO。

[0014] 优选地，所述动物对象为Cre-line动物。

发明的有益效果

有益效果

[0015] 本发明的以上三级神经环路操纵组合物，基于光遗传学、药物遗传学等操纵三级神经环路的问题，利用CAV病毒被神经末梢吸收后逆行、AAV病毒顺行特性，将三种病毒联合使用，实现同时操纵三级神经元即A-B-C的目的。

对附图的简要说明

附图说明

[0016] 图1为本发明三级神经环路操纵组合物三种病毒操纵三级神经环路的架构图；

[0017] 图2是本发明三级神经环路操纵组合物三种病毒操纵三级神经环路的病毒注射方案；

[0018] 图3是发明实施例以Cre转基因工具小鼠注射病毒后操作神经环路实验的目的蛋白表达的检测结果图。

发明实施例

本发明的实施方式

[0019] 本发明目的的实现、功能特点及优点将结合实施例，参照附图做进一步说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

[0020] 本发明提供一种三级神经环路操纵组合物，包括AAV-FLEX loxP-ChR2-eYFP病毒、AAV-FLEx FRT-hM4D（Gi）-mCherry病毒、以及CAV-FLEx loxP-FLP病毒。

[0021] 其中，AAV-FLEX loxP-ChR2-eYFP病毒和AAV-FLEx FRT-hM4D（Gi）-mCherry病毒均是以AAV腺相关病毒为病毒载体与目的基因重组后的重组病毒，分别可以在AAV-FLEX loxP和AAV-FLEx FRT
重组表达系统中表达目的光敏蛋白ChR2-eYFP和hM4D（Gi）-mCherry。

[0022] CAV-FLEx loxP-FLP病毒同样也是以CAV病毒（犬腺状病毒）为载体表达FLP蛋白的重组病毒。

[0023] 以上三种病毒作为神经元活动操纵使用时，AAV-FLEX loxP-ChR2-eYFP病毒用作注射在A脑区，可以标记A脑区的神经元，在B脑区埋置光纤可以操纵A-B神经环路；CAV-FLEx loxP-FLP病毒用作注射在C脑区，CAV病毒被神经元末端吸收，顺着轴突到C脑区上游的脑区中，在C脑区上游的脑区的Cre细胞中表达，同时细胞中FLP蛋白也被达；AAV-FLEx FRT-hM4D(Gi)-mCherry病毒注射在B脑区，在B脑区中有FLP蛋白的细胞中表达。hM4D（Gi）表达后，在CNO（N-氧化氯氮平，一种具有很多细胞靶标的代谢物，可以结合到所设定的定制受体上）药物作用下，操纵B-C特异性神经环路。从而三者共同结合使用时，通过CAV病毒、AAV病毒联合，实现操纵三级神经元功能活动的目的。

[0024] 其中，所述AAV-FLEX loxP-ChR2-eYFP病毒注射A脑区的剂量按照每只实验小鼠500nl的剂量比例注射；所述AAV-FLEx FRT-hM4D（Gi）-mCherry注射B脑区的剂量按照每只实验小鼠200nl的剂量比例注射；所述CAV-FLEx loxP
-FLP病毒注射C脑区的剂量按照每只实验小鼠100nl的剂量比例注射；各病毒，也即是AAV-FLEX loxP-ChR2-eYFP病毒、AAV-FLEx FRT
-hM4D（Gi）-mCherry、CAV-FLEx loxP-FLP病毒的浓度可以为10^{12} vg/mL。当然，当采用其他动物模型（也即是非小鼠动物模型）时，注射剂量可以根据其他动物脑容积与实验小鼠的脑容积比例，并按照上述实验小鼠各脑区注射剂量按比例进行调整注射剂量。

[0025] 另外，大脑根据功能、结构可以区分成很多大大小小的区域，并且根据它的位置进行定义，比如下丘脑，纹状体床核，孤束核等。为了执行具体的功能比如

，跑，吃等，这些脑区之间相互通过神经纤维连接，我们称之为神经环路。在本专利中，为了进一步清楚的阐明我们的系统在神经环路功能研究中的应用方法，我们举例说明，上述各实施例中的所述A脑区在为纹状体床核，所述B脑区为下丘脑，所述C脑区为孤束核。

[0026] 其中，以上重组病毒中分别具有的重组表达系统Flp／FRT系统和Cre／loxP系统是位点特异性重组酶系统，已发展成为在体内、外进行遗传操作的有力工具。其都是由一个重组酶和一段特殊的DNA序列组成，属于在真核细胞内的同源系统。其中，重组酶Flp是酵母细胞内的一个由423个氨基酸组成的单体蛋白；与Cre相似，Flp发挥作用也不需要任何辅助因子，同时在不同的条件下具有良好的稳定性。

[0027] 具体，其神经环路架构图和注射方案可以参见图1和图2所示，图1 是三种病毒操纵三级神经环路的架构图，图2是操纵三级神经环路的病毒注射方案示意图。实施中分别将AAV-FLEX ^{loxP} -ChR2-eYFP注射在Cre-line动物（现在研究中常用的Cre 动物，是Cre转基因工具鼠，商业化很广泛。可以从Jackson lab公司直接采购，或者从具有Cre小鼠资源库的相关机构或国家单位申请获取）的A脑区，AAV-FLEx ^{FRT} -hM4D(Gi)-mCherry注射在B脑区，CAV-FLEx ^{loxP}-FLP在注射C脑区。其中，

[0028] 在Cre-line动物的A脑区注射AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒，ChR2光敏蛋白表达在A脑区细胞膜上，将光纤埋在A脑区的下游B脑区中，可以利用光操纵A-B神经环路功能。

[0029] 在Cre-line动物的C脑区注射CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒，CAV病毒携带Loxp和FLP基因被C脑区中神经末梢吸收，CAV病毒顺着神经末梢逆行到C脑区上级神经元胞体中；CAV在C脑区上级表达Cre蛋白的神经元中，表达FLP蛋白。

[0030] 在Cre-line动物的B脑区注射AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D(Gi)-mCherry病毒，在B脑区中表达FLP蛋白的细胞中，FLP和FRT结合，启动hM4D(Gi)表达。

[0031] 因此结合使用时具有CAV病毒被神经末梢吸收后逆行、AAV病毒顺行的特性；并且进一步将CNO注射入动物体内后，hM4D(Gi)发挥功能抑制神经细胞活动。同时，在B脑区用光激活A-B神经环路。

[0032] 综上，用以上结合的方式即可以实现同时操纵三级神经环路A-B-C的功能。

[0033] 本发明的以上三级神经环路操纵组合物，基于光遗传学、药物遗传学等操纵三级神经环路的问题，利用CAV病毒被神经末梢吸收后逆行、AAV病毒顺行特性，将三种病毒联合使用，实现同时操纵三级神经元即A-B-C的目的。

[0034] 上述各实施例中的三级神经环路操纵组合物及利用所述三级神经环路操纵组合物实施的动物三级神经环路操纵方法均限于动物实验中，实现对动物三级神经环路操纵的实验研究，不能用于具体人体临床应用。

[0035] 为使以上方法实施细节能被从事神经学技术的人员所能理解，以下通过具体的实验过程进行举例说明。

[0036] 实施例1

[0037] S10，以Jackson lab公司直接采购的Cre转基因工具小鼠（具有Cre／loxP和Flp／FRT重组酶表达系统）作为受体动物；

[0038] S20，获取AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒、AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D（Gi）-mCherry病毒、以及CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒；其中，AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒、AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D（Gi）-mCherry病毒直接采购至武汉枢密脑科学技术有限公司（http://www.brainvta.com/index.php?option=com_content&view=article&id=36&Itemid=248），以及CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒采购自法国Plateforme de Vectorologie de Montpellier (PVM)公司（https://www.pvm.cnrs.fr/plateau-igmm/?vector=recombinase）。本实验步骤实施中，以上资源直接采用购买获得，在资源充分和设备条件充足时，技术人员也可以用各自的目的基因、表达载体系统与病毒宿主自行重组合成，筛选能正常在所描述的重组表达系统下表达目的蛋白的重组病毒。

[0039] S30，向A脑区纹状体床核注射AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒500nl；B脑区下丘脑（ARC）注射AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D（Gi）-mCherry病毒200nl；

[0040] C脑区孤束核注射CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒注射100nl，各病毒的浓度为10^{12} vg/mL；

[0041] S40，基于光实时操纵神经元的目的，在6周后，向受体动物A-B脑区埋置光纤

；

[0042] S50，再1周后，CNO腹腔注射，进行实验；

[0043] S60，用免疫组化和原位杂交的方式进行（操作步骤按照购买的试剂盒的操作说明进行即可），验证病毒表达。结果参见附图3。

[0044] 图3中验证的结果可知，将病毒AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP打在Gad-cre老鼠的A脑区之后，病毒在A脑区的神经元中表达，A脑区的神经元可以投射到B脑区，所以如果在B脑区纤维中看到绿色荧光蛋白的表达，说明此病毒有效。即可以用光遗传学技术操纵A-B神经环路。

[0045] 将CAV-FLEx ^{loxP}-FLP注射在C脑区，CAV病毒被神经末梢吸收后顺着神经纤维达到B脑区。

[0046] 将AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D（Gi）-mCherry病毒注射在B脑区中，借助CAV病毒带过来的FLEx ^{loxP}和FLP组件，病毒才会表达。因此看到B脑区中黄色荧光证明，B和C脑区的病毒有效。

[0047] 在B脑区中用原位杂交的方式，用Gad2探针标记红色荧光的细胞，共标记信号表明我们的确在B脑区Gad2神经元中的特异投射至C脑区中成功转染药物遗传学操纵组件hM4D（Gi）。

[0048] 以上仅为本发明的优选实施例，并非因此限制本发明的专利范围，凡是利用本发明说明书及附图内容所作的等效结构或等效流程变换，或直接或间接运用在其他相关的技术领域，均同理包括在本发明的专利保护范围内。

权利要求书

[权利要求 1] 一种三级神经环路操纵组合物，其特征在于，包括AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒、AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D（Gi）-mCherry病毒、以及CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒。

[权利要求 2] 如权利要求1所述的三级神经环路操纵组合物，其特征在于，所述组合物还包括N-氧化氯氮平。

[权利要求 3] 一种动物三级神经环路操纵方法，其特征在于，包括：

向动物对象施用权利要求1或2所述的三级神经环路操纵组合物。

[权利要求 4] 如权利要求3所述的动物三级神经环路操纵方法，其特征在于，向所述动物对象施用所述三级神经环路操纵组合物的步骤包括：

将所述AAV-FLEX ^{loxP}-ChR2-eYFP病毒注射在动物对象的A脑区；

将所述AAV-FLEx ^{FRT}-hM4D(Gi)-mCherry病毒注射在动物对象的B脑区；

将所述CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒注射在动物对象的C脑区。

[权利要求 5] 如权利要求4所述的动物三级神经环路操纵方法，其特征在于，将所述CAV-FLEx ^{loxP}-FLP病毒注射在动物对象的C脑区步骤之后，还包括：

向所述动物对象注射CNO。

[权利要求 6] 如权利要求3至5任一项所述的动物三级神经环路操纵方法，其特征在于，所述动物对象为Cre-line动物。

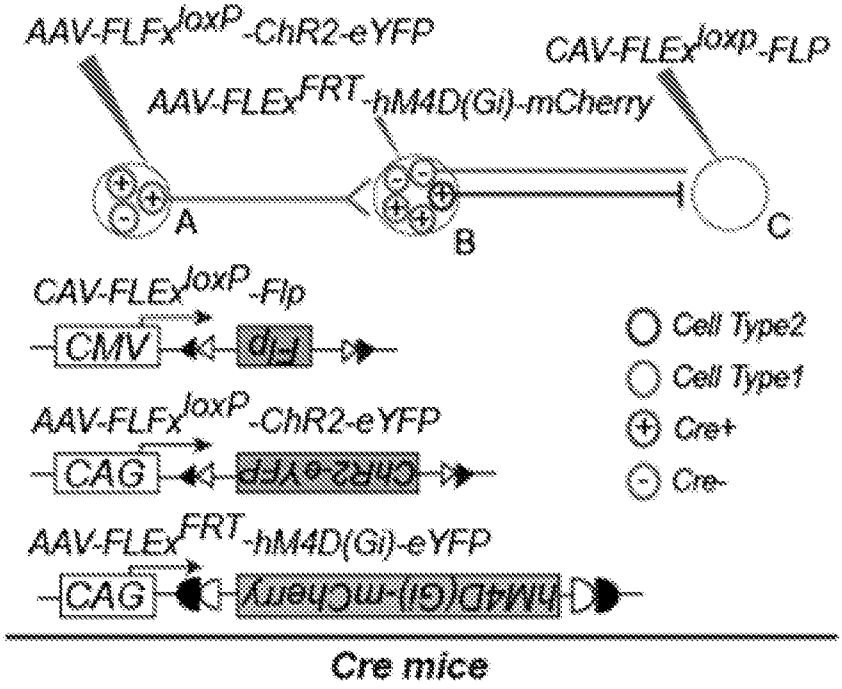

AAV-FLEx loxP -ChR2-eYFP
CAV-FLEx loxP -FLP
AAV-FLEx FRT -hM4D(Gi)-mCherry
A
B
C
CAV-FLEx loxP -Flp
CMV
AAV-FLEx loxP -ChR2-eYFP
CAG
AAV-FLEx FRT -hM4D(Gi)-eYFP
CAG
Cell Type2
Cell Type1
Cre+
Cre-
Cre mice

图 1

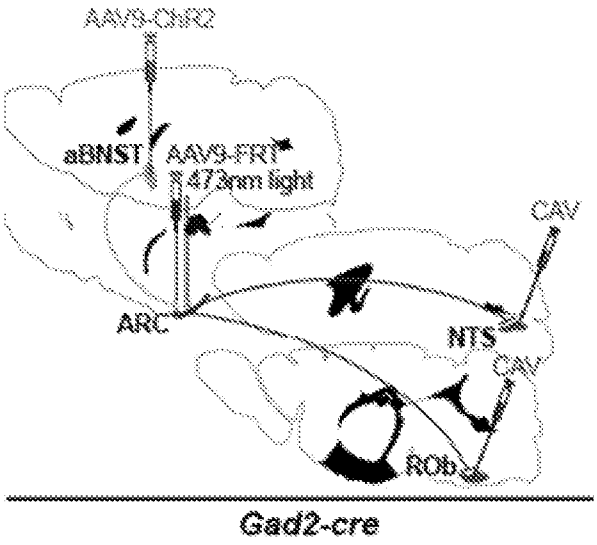

AAV9-ChR2
aBNST
AAV9-FRT
473nm light
CAV
ARC
NTS
CAV
ROb
Gad2-cre

图 2

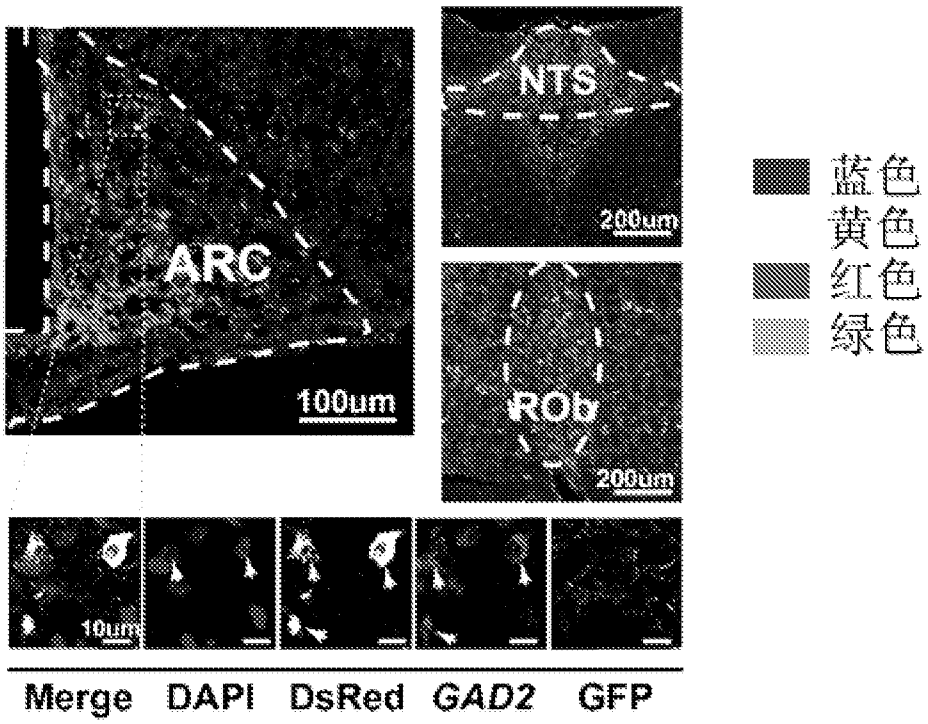

ARC
100um
NTS
200um
ROb
200um
10um
蓝色
黄色
红色
绿色
Merge
DAPI
DsRed
GAD2
GFP

图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/122938

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 7/01(2006.01)i; A61K 49/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N; A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

VEN, CNABS, PubMed, ISI Web of Knowledge, CNKI: 申请人/发明人, AAV, FLEX, loxP, ChR2, eYFP, FRT, hM4D, mCherry, CAV, FLP, 神经, neuron, CNO

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHUNG S. et al. "Identification of Preoptic Sleep Neurons Using Retrograde Labelling and Gene Profiling" *Nature,* Vol. vol. 545, 25 May 2017 (2017-05-25), article 22350, pages 477-481, on line content	1-6
A	CN 106995824 A (WUHAN INSTITUTE OF PHYSICS AND MATHEMATICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 01 August 2017 (2017-08-01) entire document	1-6
A	CN 107699589 A (WUHAN INSTITUTE OF PHYSICS AND MATHEMATICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 16 February 2018 (2018-02-16) entire document	1-6
A	WO 2009140510 A1 (NOVADAQ TECHNOLOGIES INC.) 19 November 2009 (2009-11-19) entire document	1-6
A	ZHOU, Rui et al. "光遗传技术在神经系统疾病动物模型中的应用 (Optogenetics and Research Progress in Animal Models of Brain Diseases)" *中国比较医学杂志 (Chinese Journal of Comparative Medicine),* Vol. 27, No. (2), 28 February 2017 (2017-02-28), pp. 74-80	1-6

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 August 2019	**11 September 2019**
Name and mailing address of the ISA/CN **State Intellectual Property Office of the P. R. China** **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088** **China** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/122938

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BEIER K.T. et al. "Rabies Screen Reveals Gpe Control of Cocaine-Triggered Plasticity" *Nature,* Vol. vol. 549, 21 September 2017 (2017-09-21), article 23888, pages 345-349, on line content	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2018/122938

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	106995824	A	01 August 2017	None			
CN	107699589	A	16 February 2018	None			
WO	2009140510	A1	19 November 2009	US	2018369426	A1	27 December 2018
				CN	104800863	A	29 July 2015
				US	2016199515	A1	14 July 2016
				EP	2285417	B1	10 August 2016
				KR	101406506	B1	19 June 2014
				RU	2475537	C2	20 February 2013
				RU	2011111077	A	27 September 2012
				US	2009285762	A1	19 November 2009
				CN	102026668	A	20 April 2011
				HK	1212921	A1	24 June 2016
				EP	3124051	A1	01 February 2017
				KR	20140007976	A	20 January 2014
				KR	20110011655	A	08 February 2011
				JP	2011520907	A	21 July 2011
				MX	2010012035	A	23 February 2011
				US	8361775	B2	29 January 2013
				EP	2285417	A1	23 February 2011
				JP	5806342	B2	10 November 2015
				JP	2014111614	A	19 June 2014
				US	2012078093	A1	29 March 2012

国际检索报告

国际申请号 PCT/CN2018/122938

A. 主题的分类

C12N 7/01(2006.01)i; A61K 49/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C12N; A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

VEN, CNABS, PubMed, ISI Web of Knowledge, CNKI：申请人/发明人,AAV,FLEX,loxP,ChR2,eYFP,FRT,hM4D,mCherry,CAV,FLP,神经，neuron，CNO

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	CHUNG S.等. "Identification of preoptic sleep neurons using retrograde labelling and gene profiling" NATURE, 第545卷，2017年 5月 25日 (2017-05-25)，第22350篇，第477-481页，on line content	1-6
A	CN 106995824 A (中国科学院武汉物理与数学研究所) 2017年 8月 1日 (2017-08-01) 全文	1-6
A	CN 107699589 A (中国科学院武汉物理与数学研究所) 2018年 2月 16日 (2018-02-16) 全文	1-6
A	WO 2009140510 A1 (NOVADAQ TECHNOLOGIES INC.) 2009年 11月 19日 (2009-11-19) 全文	1-6
A	周瑞等. "光遗传技术在神经系统疾病动物模型中的应用" 中国比较医学杂志，第27卷，第2期，2017年 2月 28日 (2017-02-28)，第74-80页	1-6

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2019年 8月 21日	2019年 9月 11日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 奚静 电话号码 86-(10)-53961974

表 PCT/ISA/210 (第2页) (2015年1月)

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2018/122938

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	BEIER K.T.等. "Rabies screen reveals GPe control of cocaine-triggered plasticity" NATURE, 第549卷，2017年 9月 21日 (2017-09-21)， 第23888篇，第345-349页，on line content	1-6

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2018/122938

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	106995824	A	2017年 8月 1日	无			
CN	107699589	A	2018年 2月 16日	无			
WO	2009140510	A1	2009年 11月 19日	US	2018369426	A1	2018年 12月 27日
				CN	104800863	A	2015年 7月 29日
				US	2016199515	A1	2016年 7月 14日
				EP	2285417	B1	2016年 8月 10日
				KR	101406506	B1	2014年 6月 19日
				RU	2475537	C2	2013年 2月 20日
				RU	2011111077	A	2012年 9月 27日
				US	2009285762	A1	2009年 11月 19日
				CN	102026668	A	2011年 4月 20日
				HK	1212921	A1	2016年 6月 24日
				EP	3124051	A1	2017年 2月 1日
				KR	20140007976	A	2014年 1月 20日
				KR	20110011655	A	2011年 2月 8日
				JP	2011520907	A	2011年 7月 21日
				MX	2010012035	A	2011年 2月 23日
				US	8361775	B2	2013年 1月 29日
				EP	2285417	A1	2011年 2月 23日
				JP	5806342	B2	2015年 11月 10日
				JP	2014111614	A	2014年 6月 19日
				US	2012078093	A1	2012年 3月 29日