(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-552003
(P2022-552003A)
(43)公表日　令和4年12月14日(2022.12.14)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*38/17 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/17	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｐ	*25/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00	ＺＮＡ　４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	４Ｃ０８７
Ａ６１Ｋ	*35/761 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/761	
Ａ６１Ｋ	*47/46 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/46	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全119頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-522966(P2022-522966)
(86)(22)出願日　令和2年10月16日(2020.10.16)
(85)翻訳文提出日　令和4年6月14日(2022.6.14)
(86)国際出願番号　PCT/US2020/056108
(87)国際公開番号　WO2021/076983
(87)国際公開日　令和3年4月22日(2021.4.22)
(31)優先権主張番号　62/916,713
(32)優先日　令和1年10月17日(2019.10.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/040,989
(32)優先日　令和2年6月18日(2020.6.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　398071440
ザ・ペン・ステイト・リサーチ・ファウンデイション
Ｔｈｅ Ｐｅｎｎ Ｓｔａｔｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ
アメリカ合衆国１６８０２ペンシルベニア州ユニバーシティ・パーク、オールド・メイン３０４
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷 道子
(74)代理人　100138911
弁理士　櫻井 陽子
(74)代理人　100218268
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　脊髄損傷およびＡＬＳの治療のための機能的ニューロンの再生

(57)【要約】
本明細書は、脊髄損傷（ＳＣＩ）を有する哺乳動物の治療に関与する方法および材料を提供する。例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）を単独で、またはＤｌｘ２ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）と組み合わせてコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＳＣＩを有する哺乳動物に投与するための方法および材料が提供される。本明細書はまた、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物の治療に関与する方法および材料を提供する。例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）を単独で、またはＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）と組み合わせてコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料が提供される。
【選択図】図１Ａ

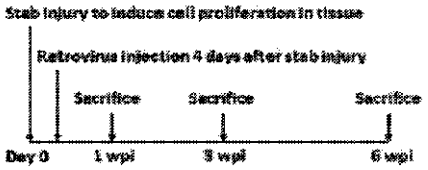


FIG. 1A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
脊髄損傷（ＳＣＩ）を有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記方法が、ニューロン分化１（ＮｅｕｒｏＤ１）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物に投与することを含む、方法。
【請求項２】
脊髄損傷を有する哺乳動物を治療する方法であって、前記方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルス粒子を含有する薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物を、前記哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。
【請求項３】
脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記方法が、ｍｉｒ１２４をコードする外因性核酸、ＩＳＬ　ＬＩＭホメオボックス１（Ｉｓｌ１）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、およびＬＩＭホメオボックス３（Ｌｈｘ３）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。
【請求項４】
筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む、方法。
【請求項５】
ＡＬＳを有する哺乳動物を治療する方法であって、前記方法が、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルス粒子を含有する薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物を、前記哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む、方法。
【請求項６】
筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む、方法。
【請求項７】
ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、前記（１）、（２）、または（３）を行うための方法であって、前記方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物に投与することを含み、（ａ）前記脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する、方法。
【請求項８】
ＡＬＳ疾患を有し、かつ（１）運動ニューロンを生成すること、（２）ミクログリアの数を低減させること、または（３）反応性星状細胞の数を低減させることを必要とする哺乳動物内で、前記（１）、（２）、または（３）を行うための方法であって、前記方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物に投与することを含み、（ａ）前記運動ニューロンが生成されるか、（ｂ）ミクログリアの数が低減するか、または（ｃ）反応性星状細胞の数が低減する、方法。
【請求項９】
ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、前記（１）、（２）、または（３）を行うための方法であっ

て、前記方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、またはＬｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物に投与することを含み、（ａ）前記脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する、方法。

【請求項１０】

脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記方法が、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）ディスタルレスホメオボックス２（Ｄｌｘ２）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。

【請求項１１】

ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、前記（１）、（２）、または（３）を行うための方法であって、前記方法が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を投与することを含み、（ａ）前記脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する、方法。

【請求項１２】

ＡＬＳを有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記方法が、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物に投与することを含む、方法。

【請求項１３】

脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法であって、前記方法が、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、前記哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本出願は、２０１９年１０月１７日に出願された米国特許出願第６２／９１６，７１３号、および２０２０年６月１８日に出願された米国特許出願第６３／０４０，９８９号の利益を主張する。先行出願の開示は、本出願の開示の一部と見なされる（かつ、参照によりそれに組み込まれる）。

【０００２】

政府の支援

本発明は、Ｕｎｉｔｅｄ　Ｓｔａｔｅｓ　Ａｒｍｙ／ＭＲＭＣによって授与された助成金番号Ｗ８１ＸＷＨ－１６－１－０１６３の下で政府の支援を受けて行われた。政府は、本発明において一定の権利を有する。

【背景技術】

【０００３】

１．技術分野

本明細書は、脊髄損傷（ＳＣＩ）を有する哺乳動物の治療に関与する方法および材料に関する。例えば、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸を単独で、またはＤｌｘ２ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸と組み合わせて含有する組成物を、ＳＣＩ

を有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。本明細書はまた、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物の治療に関与する方法および材料に関する。例えば、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。別の例として、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸を単独で、またはＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸と組み合わせて含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。

【０００４】

２．背景情報

脊髄損傷（ＳＣＩ）は、破壊的な中枢神経系（ＣＮＳ）障害であり、多くの場合、損傷部位の下の運動機能および感覚機能の喪失、さらに損傷の重症度によっては麻痺さえももたらす（Ａｄａｍｓ ａｎｄ Ｈｉｃｋｓ，Ｓｐｉｎａｌ Ｃｏｒｄ，４３：５７７－５８６（２００５））。ＳＣＩ後の病態生理学的プロセスはかなり複雑であり、ニューロンの喪失、神経炎症、脱髄、および軸索のウォラー変性をもたらす（Ｎｏｒｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｔｒａｕｍａ，２１：４２９－４４０（２００４））。反応性アストログリオーシスは、ＣＮＳ損傷に共通であり、特にＳＣＩ後に重度である。常在星状細胞は、損傷誘導性サイトカインに反応し、星状細胞マーカーのＧＦＡＰならびに神経前駆細胞マーカーのネスチンおよびビメンチンなどの多数のタンパク質の発現を劇的に上方調節する（Ｓｏｆｒｏｎｉｅｗ，Ｔｒｅｎｄｓ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，３２：６３８－６４７（２００９））。これらの反応性星状細胞はまた、細胞形態において増殖性および肥大性となる。ＳＣＩの急性期において、反応性星状細胞は、血液脊髄関門の修復および原発性損傷のサイズの制限において重要な役割を果たす（Ｈｅｒｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，２８：７２３１－７２４３（２００８）、およびＯｋａｄａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄ．，１２：８２９－８３４（２００６））。しかしながら、亜急性期または慢性期において、反応性星状細胞は、軸索再生を阻害する密集した組織構造であるグリア瘢痕の主要構成要素を構成する（Ｓｉｌｖｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒ，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，５：１４６－１５６（２００４））。したがって、何十年もの間、グリア瘢痕を克服し、損傷部位を介して断たれた軸索の再増殖を促進するために実質的な努力がなされている（Ｆｉｌｏｕｓ ａｎｄ Ｓｃｈｗａｂ，Ａｍ．Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．，１８８（１）：５３－６２（２０１７））。一方、損傷中および損傷後に失われる脊髄ニューロンは、局所的なニューロン回路を再構築するために交換する必要がある。この点で、幹細胞移植は、一定の成功を達成することが報告されている（Ｌｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖ．，１２７：３２８７－３２９９（２０１７）、およびＴｕｓｚｙｎｓｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ，１５６：３８８－３８９（２０１４））が、損傷部位における移植細胞の長期的な生存は、未解決の問題のままである（Ｇｏｌｄｍａｎ，Ｃｅｌｌ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ，１８：１７４－１８８（２０１６））。したがって、脊髄損傷の治療に対する実質的に満たされていない必要性が残っている。

【０００５】

筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）は、約１／１００，０００の発症率で運動ニューロンに影響を及ぼす遅発性の致命的な神経変性疾患である。ほとんどのＡＬＳ症例は散発的であるが、５～１０％の症例は家族性ＡＬＳである。散発的および家族性ＡＬＳ（ＦＡＬＳ）の両方は、皮質および脊髄運動ニューロンの変性に関連する。ＡＬＳの病因は不明のままである。しかしながら、スーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）の変異は、ＦＡＬＳの最も一般的な原因として知られている。疾患の病理を引き起こす根底にある機序を研究することに集中した努力がなされているにもかかわらず、ＡＬＳの治療に対する実質的に満たされていない必要性が残っている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００６】
【非特許文献１】Ａｄａｍｓ ａｎｄ Ｈｉｃｋｓ，Ｓｐｉｎａｌ Ｃｏｒｄ，４３：５７７－５８６（２００５）
【非特許文献２】Ｎｏｒｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｔｒａｕｍａ，２１：４２９－４４０（２００４）
【非特許文献３】Ｓｏｆｒｏｎｉｅｗ，Ｔｒｅｎｄｓ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，３２：６３８－６４７（２００９）
【非特許文献４】Ｈｅｒｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，２８：７２３１－７２４３（２００８）
【非特許文献５】Ｏｋａｄａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄ．，１２：８２９－８３４（２００６）
【非特許文献６】Ｓｉｌｖｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒ，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，５：１４６－１５６（２００４）
【非特許文献７】Ｆｉｌｏｕｓ ａｎｄ Ｓｃｈｗａｂ，Ａｍ．Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．，１８８（１）：５３－６２（２０１７）
【非特許文献８】Ｌｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖ．，１２７：３２８７－３２９９（２０１７）
【非特許文献９】Ｔｕｓｚｙｎｓｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ，１５６：３８８－３８９（２０１４）
【非特許文献１０】Ｇｏｌｄｍａｎ，Ｃｅｌｌ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ，１８：１７４－１８８（２０１６）

【発明の概要】
【０００７】
本明細書は、脊髄損傷（ＳＣＩ）を有する哺乳動物の治療に関与する方法および材料を提供する。例えば、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸を単独で、またはＤｌｘ２ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸と組み合わせて含有する組成物を、ＳＣＩを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。本明細書はまた、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物の治療に関与する方法および材料に関する。例えば、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。本明細書はまた、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸を単独で、またはＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸と組み合わせて含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。
【０００８】
概して、本文書の一態様は、脊髄損傷（ＳＣＩ）を有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、ニューロン分化１（ＮｅｕｒｏＤ１）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）組成物を、哺乳動物に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。哺乳動物はヒトであり得る。脊髄損傷は、虚血性脳卒中；出血性脳卒中；身体的損傷；震盪；挫傷；爆発；浸潤；腫瘍；炎症；感染症；外傷性脊髄損傷；虚血性もしくは出血性脊髄症（脊髄梗塞）；心停止もしくは重度の低血圧（ショック）によって引き起こされる全身性虚血；低酸素症、低血糖症もしくは貧血によって引き起こされる低酸素性虚血性脳症；感染性心内膜炎もしくは心房粘液腫によって引き起こされるＣＮＳ塞栓症；線維軟骨性塞栓性脊髄症；小児白血病によって引き起こされるＣＮＳ血栓症；ネフローゼ症候群（腎臓病）、慢性炎症性疾患、妊娠、エストロゲンベースの避妊薬の使用、髄膜炎、脱水症によって引き起こされる脳静脈洞血栓症；またはそれらの任意の２つ以上の組み合わせからなる群から選択される状態に起因し得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする

核酸を含む発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。投与する工程は、脊髄への定位注射を含み得る。投与する工程は、静脈内注射または静脈内注入を含み得る。

【０００９】

別の態様では、本明細書は、脊髄損傷を有する哺乳動物を治療する方法を特徴とする。本方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルス粒子を含有する薬学的に許容される担体を含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）薬学的組成物を、哺乳動物の脊髄に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。薬学的組成物は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む、10^{10}～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬの担体の濃度でアデノ随伴ウイルスを含有する約１μＬ～約５００μＬの薬学的に許容される担体を含み得る。薬学的組成物は、約０．１μＬ／分～約５μＬ／分の制御された流速で哺乳動物の脊髄に注射され得る。

【００１０】

別の態様では、本明細書は、脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、ｍｉｒ１２４をコードする外因性核酸、ＩＳＬ　ＬＩＭホメオボックス１（Ｉｓｌ１）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、およびＬＩＭホメオボックス３（Ｌｈｘ３）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれらからなるか、もしくはそれらからなる）組成物を、哺乳動物の脊髄に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、（ｉ）ｍｉｒ１２４をコードする核酸を含む発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、および（ｉｉｉ）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片Ｌｈｘ３をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ｍｉｒ１２４をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ｍｉｒ１２４をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の脊

髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ニューロゲニン２（Ｎｇｎ２）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、ｍｉｒ２１８、およびＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸のうちの１つ以上の治療有効な用量を、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片、またはＬｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片の任意の組み合わせと組み合わせて、哺乳動物の脊髄に投与することをさらに含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。

【００１１】

別の態様では、本明細書は、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）組成物を、哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを脳に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを脳に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを脳に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。投与する工程は、定位頭蓋内注射を含み得る。投与する工程は、２回以上の定位頭蓋内注射を含み得る。投与する工程は、後眼窩注射を含み得る。

【００１２】

別の態様では、本明細書は、ＡＬＳを有する哺乳動物を治療する方法を特徴とする。本方法は、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルス粒子を含有する薬学的に許容される担体を含む（または本質的にそれからなるか、またはそれからなる）薬学的組成物を、哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、またはそれからなる）。薬学的組成物は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む、10^{10}～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍｌの担体の濃度でアデノ随伴ウイルスを含有する約１μＬ～約５００μＬの薬学的に許容される担体を含み得る。薬学的組成物は、約０．１μＬ／分～約５μＬ／分の制御された流速で哺乳動物の中枢神経系に注射され得る。

【００１３】

別の態様では、本明細書は、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性

な断片をコードする外因性核酸、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれらからなるか、もしくはそれらからなる）組成物を、哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む（もしくは本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、Ｎｇｎ２をコードする外因性核酸、ｍｉｒ２１８、およびｍｉｒ１２４のうちの１つ以上の治療有効な用量を、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片の任意の組み合わせと組み合わせて、哺乳動物の中枢神経系に投与することをさらに含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。

【００１４】

別の態様では、本明細書は、ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、（１）、（２）、または（３）を行うための方法を特徴とする。本方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）組成物を、哺乳動物に投与することを含み（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなり）、（ａ）脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。アデノ

随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。投与する工程は、脊髄への定位注射を含み得る。投与する工程は、静脈内注射または静脈内注入を含み得る。

【００１５】

別の態様では、本明細書は、ＡＬＳ疾患を有し、かつ（１）運動ニューロンを生成すること、（２）ミクログリアの数を低減させること、または（３）反応性星状細胞の数を低減させることを必要とする哺乳動物内で、（１）、（２）、または（３）を行うための方法を特徴とする。本方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）組成物を、哺乳動物に投与することを含み（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなり）、（ａ）運動ニューロンが生成されるか、（ｂ）ミクログリアの数が低減するか、または（ｃ）反応性星状細胞の数が低減する。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを脊髄に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。投与する工程は、脊髄への定位注射を含み得る。投与する工程は、静脈内注射または静脈内注入を含み得る。

【００１６】

別の態様では、本明細書は、ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、（１）、（２）、または（３）を行うための方法を特徴とする。本方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、またはＬｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれらからなるか、もしくはそれらからなる）組成物を、哺乳動物に投与することを含み（もしくは本質的にそれからなるか、もしくはそれからなり）、（ａ）脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１

ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、または（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、または（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、または（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、脊髄への定位注射を含み得る。投与する工程は、静脈内注射または静脈内注入を含み得る。

【００１７】

別の態様では、本明細書は、脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）ディスタルレスホメオボックス２（Ｄｌｘ２）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれらからなるか、もしくはそれらからなる）組成物を、哺乳動物に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、（ｉ）核酸ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドを含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択さ

れる核酸配列を含む。投与する工程は、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号１１またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１３またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１０またはその機能的断片、配列番号１２またはその機能的断片、および配列番号１１もしくは配列番号１３またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。投与する工程は、脊髄への定位注射を含み得る。投与する工程は、静脈内注射または静脈内注入を含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ血清型５であり得る。

【００１８】

別の態様では、本明細書は、ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、（１）、（２）、または（３）を行うための方法を特徴とする。本方法は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む（または本質的にそれらからなるか、もしくはそれらからなる）組成物を、投与することを含み（もしくは本質的にそれからなるか、もしくはそれからなり）、（ａ）脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の中枢神経系に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、脊髄への定位注射を含み得る。投与する工程は、静脈内注射または静脈内注入を含み得る。新たなニューロンは、グルタミン酸作動性ニューロンおよびＧＡＢＡ作動性ニューロンからなる群から選択され得る。新たなニューロンは、グルタミン酸作動性ニューロンであり得る。新たなニューロンは、ＧＡＢＡ作動性ニューロンであり得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ血清型５であり得る。

【００１９】

別の態様では、本明細書は、ＡＬＳを有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコ

ードする外因性核酸、および（ｂ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、哺乳動物に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、（ｉ）核酸ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドを含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。投与する工程は、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号１５またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１７またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１４またはその機能的断片、配列番号１６またはその機能的断片、および配列番号１５もしくは配列番号１７またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。

【００２０】

別の態様では、本明細書は、脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法を特徴とする。本方法は、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、哺乳動物の脊髄に投与することを含む（または本質的にそれからなるか、もしくはそれからなる）。哺乳動物はヒトであり得る。投与する工程は、（ｉ）核酸ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドを含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換

えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、哺乳動物の脊髄に送達することを含み得る。アデノ随伴ウイルスは、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢであり得る。投与する工程は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。投与する工程は、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み得、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号１５またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１７またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１４またはその機能的断片、配列番号１６またはその機能的断片、および配列番号１５もしくは配列番号１７またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む。

【００２１】

別途定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本発明が関連する当業者によって通常理解されているものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと同様または同等の方法および材料を使用して本発明を実施または試験することはできるが、好適な方法および材料を以下に記載する。本明細書で言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、参照によりそれらの全体が組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含め、本明細書が優先される。加えて、材料、方法、および実施例は、単に例示であり、限定することを意図するものではない。

【００２２】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

【図面の簡単な説明】

【００２３】

【図１】脊髄の後角における刺損傷後のＮｅｕｒｏＤ１発現レトロウイルスを使用するニューロン変換。（図１Ａ）実験パラダイム。（図１Ｂ）後角損傷および注射の概略図。座標は、中心動脈の外側０．４ｍｍおよび組織表面の下方０．４ｍｍである。３２ゲージの針を用いて刺損傷を実施し、続いて、損傷部位で定位注射を実施した。スケールバー５００μｍ。（図１Ｃ）レトロＧＦＰ注射の１週間後（ｐｏｓｔ　ｖｉｒａｌ　ｉｎｊｅｃｔ

ｉｏｎ、ｗｐｉ）の増殖細胞の３つの主要な型：星状細胞、ＯＰＣ、およびミクログリア。ＧＦＡＰ、Ｏｌｉｇ２、およびＩｂａ１染色は、これらの細胞型のマーカーを示す。矢印は各々の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図１Ｄ）レトロＧＦＰの１ｗｐｉの試料に対する染色に基づく定量化。バーは、３つの複製の平均値および標準偏差を示す。（図１Ｅ）レトロＮＤ１－ＧＦＰ注射後の１ｗｐｉ、３ｗｐｉ、および６ｗｐｉでの後角おける細胞の変換。成熟している細胞は、徐々にＮｅｕＮを上方制御し、ニューロンの形態を適応させ、再編成する。矢印は、ＮｅｕＮ＋細胞の例を示す。スケールバー５００μｍ。（図１Ｆ）レトロＮＤ１－ＧＦＰの１Ｗの試料に対する染色に基づく定量化。バーは、３つの複製の平均値および標準偏差を示す。

【図２】脊髄の後角における刺損傷（例えば、脊髄の部分的損傷）後のＮｅｕｒｏＤ１発現ＡＡＶ９を使用するニューロン変換。（図２Ａ）実験パラダイム。（図２Ｂ）ＡＡＶ９ＦＬＥＸ－ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙ／ＡＡＶ９　ＧＦＡＰ：：Ｃｒｅ系（他の箇所ではＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈと略記される）。ＧＦＡＰプロモーターは、感染した細胞を星状細胞に制限する。対照ウイルスは、ＮＤ１導入遺伝子を追加のｍＣｈで置き換える。（図２Ｃ）ＡＡＶ９　ｍＣｈ注射後の４ｗｐｉでの後角における感染した星状細胞。矢印および挿入図（２×倍率）は、ＧＦＡＰ＋細胞の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図２Ｄ）ＡＡＶ９－ＮＤ１－ｍＣｈｙ注射後の４ｗｐｉでの後角における変換されたニューロン。矢印および挿入図（２×倍率）は、ＮｅｕＮ＋細胞の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図２Ｅ）ＡＡＶ９－ＮＤ１－ｍＣｈｙ注射後の２ｗｐｉでの後角における変換している細胞。矢印および挿入図（４×倍率）は、ＮｅｕＮ＋／ＧＦＡＰ＋細胞の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図２Ｆ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈの２ｗｐｉおよび４ｗｐｉ、ならびにＡＡＶ９　ＮＤ１－ＧＦＰまたはＡＡＶ９　ＧＦＰ（対照）の８ｗｐｉでの試料に対する染色に基づく定量化。バーは、３つの複製の平均値および標準偏差を示す。２ｗｐｉでの感染した細胞は、大部分が移行性で、ＮｅｕＮおよびＧＦＡＰに対して染色が陽性であり、４ｗｐｉではほとんどが変換され、ＮｅｕＮのみに対して染色が陽性である。

【図３】脊髄の後角におけるＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの亜型。（図３Ａ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ＧＦＰ注射後の８ｗｐｉでの後角における変換されたニューロンに対するＴｌｘ３（グルタミン酸作動性）およびＰａｘ２（ＧＡＢＡ作動性）亜型染色。Ｚ投影は、Ｔｌｘ３＋ニューロンの例を標的とする。スケールバー５０μｍ。（図３Ｂ）レトロＮＤ１－ＧＦＰ注射後の６ｗｐｉでの後角における変換されたニューロンのＴｌｘ３およびＰａｘ２亜型染色。Ｚ投影は、Ｐａｘ２＋ニューロンの例を標的とする。スケールバー５０μｍ。（図３Ｃ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ＧＦＰの８ｗｐｉおよびレトロＮＤ１－ＧＦＰの６ｗｐｉでの試料の亜型染色に基づく２４定量化。対照データは、未損傷、未処置組織におけるＮｅｕＮ＋細胞に基づく。バーは、３つの複製の平均値および標準偏差を示す。（図３Ｄ）転換されたＴｌｘ３＋細胞に対するＣａＭＫ２の強力な（８９．５±５．２％）共標識を伴う４ｗｐｉでのＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｙおよびＣａＭＫ２－ＧＦＰの共注射。Ｚ投影は、Ｔｌｘ３＋、ＣａＭＫ２＋ニューロンの例を標的とする。スケールバー５０μｍ。

【図４】脳対脊髄におけるＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの領域特異的亜型。（図４Ａ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈ注射後の４ｗｐｉでの皮質における変換されたニューロンに対する亜型染色。矢印は、各亜型に対して陽性の細胞の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図４Ｂ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈの４ｗｐｉでの試料についての皮質における亜型染色に基づく２５定量化。バーは、３つの複製の平均値および標準偏差を示す。（図４Ｃ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈｙ注射後の４ｗｐｉでの脊髄の後角における変換されたニューロンに対する亜型染色。矢印は、各亜型に対して陽性の細胞の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図４Ｄ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈの４ｗｐｉの試料についての脊髄における亜型染色に基づく定量化。バーは、３つの複製の平均値および標準偏差を示す。

【図５】脊髄の後角におけるＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの成熟および機能性。（図５Ａ）パッチクランプされた変換されたニューロンの蛍光／透過光画像。（図５Ｂ）

変換されたニューロンの試料の活動電位。（図５Ｃ）変換されたニューロンの試料のＮａ＋およびＫ＋電流。（図５Ｄ）変換されたニューロンの試料のＥＰＳＣ。（図５Ｅ）変換されたニューロンおよび天然ニューロンについてのＮａ＋電流振幅。（図５Ｆ）変換されたニューロンおよび天然ニューロンのＥＰＳＣ振幅および周波数。（図５Ｇ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ＧＦＰ注射後の８ｗｐｉでの後角における変換されたニューロンについてのシナプスＳＶ２点およびＶＧｌｕＴ１点。矢印および挿入図（４×倍率）は、その細胞体および突起上の目に見える点を有する細胞の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図５Ｈ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ＧＦＰ注射後の８ｗｐｉでの後角における変換されたニューロンについてのシナプスＳＶ２点およびＶＧｌｕＴ２点。矢印および挿入図（４×倍率）は、その細胞体および突起上の目に見える点を有する細胞の例を示す。スケールバー５０μｍ。（図５Ｉ）ＡＡＶ９　ＮＤ１－ＧＦＰ注射後の８ｗｐｉでの後角における変換されたニューロンの局所ネットワークへの統合。ｃＦｏｓ染色によって示される活性化ニューロンは、すべてのニューロンのサブセットである。

【図６】ＮｅｕｒｏＤ１は、挫傷性ＳＣＩの後、ウイルス注射の短い遅延で、損傷コアの周囲で反応性星状細胞をニューロンに変換する。（図６Ａ）挫傷性ＳＣＩ（３０Ｋｄｙｎ力）の１０日後にＧＦＰレポーター単独またはＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰのいずれかを発現するＡＡＶ９　ＦＬＥＸを、ＡＡＶ９　ＧＦＡＰ：：Ｃｒｅとともに注射して、反応性星状細胞を標的化した。６ｗｐｉに脊髄を分析した。（図６Ｂ）２８実験パラダイム。（図６Ｃ）多くの感染した細胞は、損傷コアの周囲で生存し（＊によって示される）、２つの群の間で明確な細胞形態を示した。ニューロンマーカーのＧＦＡＰおよびＮｅｕＮの免疫染色は、ＮＤ１－ＧＦＰによる反応性星状細胞からのニューロン変換の成功を示す。スケールバーは低倍率で５０μｍ、高倍率で２０μｍ。（図６Ｄ）感染当たりの変換されたニューロンの推定数（１個の背側、１個の中央、および１個の腹側切片から計算され、試料当たりの水平切片の総数を掛けた、水平切片当たりのＮｅｕＮ＋の感染した細胞の平均数（各群についてｎ＝３、＊、ｐ＜０．０１））。（図６Ｅ）６ｗｐｉでのＮｅｕＮ取得（各群についてｎ＝３、＊、ｐ＜０．０１）。（図６Ｆ）６ｗｐｉでのＧＦＡＰ損失（各群についてｎ＝３、＊、ｐ＜０．０１）。

【図７】挫傷性ＳＣＩ後のウイルス注射の長い遅延でのＮｅｕｒｏＤ１媒介のニューロン変換。（図７Ａ）挫傷性ＳＣＩ（３０Ｋｄｙｎ力）の１６週間後にＧＦＰレポーター単独またはＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰのいずれかを発現するＡＡＶ９　ＦＬＥＸを、ＡＡＶ９　ＧＦＡＰ：：Ｃｒｅとともに注射して、反応性星状細胞を標的化した。１０ｗｐｉに脊髄を分析した。（図７Ｂ）感染した細胞は、損傷コアの周囲で生存し（＊によって示される）、３０の２つの群の間で明確な細胞形態を示した。（図７Ｃ）対照ＧＦＰ＋細胞における星状細胞マーカーのＳ１００ｂの共発現。スケールバー５０μｍ。（図７Ｄ）ニューロンマーカーのＮｅｕＮの免疫染色は、高効率でのＮＤ１－ＧＦＰによる反応性星状細胞からのニューロン変換の成功を示す。スケールバー５０μｍ。（図７Ｅ）１０ｗｐｉでのＮｅｕＮ取得（各群についてｎ＝４、＊＊＊、ｐ＜０．００５）。（図７Ｆ）典型的なニューロン形態を有するＮＤ１－ＧＦＰ＋細胞におけるＮＤ１タンパク質の共発現。スケールバー２０μｍ。（図７Ｇ）ＮＤ１－ＧＦＰ＋細胞における成熟ニューロンマーカーのＳＶ２の共発現。（図７Ｈ）ＮＤ１－ＧＦＰ＋細胞におけるニューロン活性マーカーのｃＦｏｓの共発現。スケールバー２０μｍ。（図７Ｉ）脊髄の後角におけるＮＤ１－ＧＦＰ＋ニューロンにおけるグルタミン酸作動性亜型マーカーのＴｌｘ３の共発現。矢印はＴｌｘ３＋細胞の例を示す。スケールバー２０μｍ。

【図８】ＡＡＶ９－ＮＤ１－ｍＣｈｙによって感染した細胞は、損傷した脊髄においてＮＤ１タンパク質を過剰発現する。（図８Ａ）免疫染色分析により、ＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈによって感染した細胞が、４ｗｐｉに損傷した脊髄の後角において、ニューロン変換を示すニューロンマーカーのＮｅｕＮを発現したことが確認された。スケールバー２００μｍ。（図８Ｂ）感染した細胞は、４ｗｐｉにＮＤ１タンパク質を過剰発現した。スケールバー５０μｍ。

【図９】ＮｅｕｒｏＤ１媒介のニューロン変換は、アポトーシスを伴わない。ＴＵＮＥＬ

アッセイを実施して、損傷した脊髄において、ＡＡＶ９　ＮＤ１－ｍＣｈによるニューロン変換の種々の段階でのアポトーシス細胞を検出した。矢印は、ＮｅｕＮ＋であるが、ＴＵＮＥＬ－である感染した細胞を示す。

【図１０】ＣａＭＫ２－ＧＦＰウイルスおよびＧＡＤ－ＧＦＰマウスを使用して、ニューロン亜型を確認することができる。（図１０Ａ）ＣａＭＫ２－ＧＦＰ（共注射されたＡＡＶ９ウイルス由来）は、Ｔｌｘ３と共染色し、（図１０Ｂ）ＧＡＤ－ＧＦＰ（ＧＡＤ－ＧＦＰトランスジェニックマウス由来）は、Ｐａｘ２と共染色し、これらのマーカーを使用して、後角におけるグルタミン酸作動性およびＧＡＢＡ作動性亜型を確認し得ることを示す。スケールバー２００μｍ。下に点線の四角の４×倍率。

【図１１】（図１１Ａ）刺損傷およびウイルス感染部位の概略図。（図１１Ｂ）感染における構築物の概略図。（図１１Ｃ）感染後の染色は、ＲＦＰ、ＮｅｕＮおよびＧＦＡＰに対する共染色を示す。（図１１Ｄ）種々組み合わせの感染後のマーカーのパネル。

【図１２】（図１２Ａ）感染の１週後（ｗｅｅｋｓ　ｐｏｓｔ　ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ、ｗｐｉ）および感染の３週後（ｗｐｉ）の対照（ｍＣｈｅｒｒｙ）またはＭＩＬ（ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１、およびＬｈｘ３）での感染後のマーカーのパネル。（図１２Ｂ）１ｗｐｉでのｍＣｈｅｒｒｙおよびＭＩＬについてのＮｅｕＮ$^{+}$ＲＦＰ$^{+}$／ＲＦＰ$^{+}$のヒストグラム。（図１２Ｃ）３ｗｐｉでのｍＣｈｅｒｒｙおよびＭＩＬについてのＮｅｕＮ$^{+}$ＲＦＰ$^{+}$／ＲＦＰ$^{+}$のヒストグラム。（図１２Ｄ）１ｗｐｉでのｍＣｈｅｒｒｙおよびＭＩＬについてのＧＦＡＰ$^{+}$ＲＦＰ$^{+}$／ＲＦＰ$^{+}$のヒストグラム。（図１２Ｅ）３ｗｐｉでのｍＣｈｅｒｒｙおよびＭＩＬについてのＧＦＡＰ$^{+}$ＲＦＰ$^{+}$／ＲＦＰ$^{+}$のヒストグラム。

【図１３】ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１、およびＬｈｘ３についてのＮｅｕＮ免疫染色。Ｉｓｌ１およびＬｈｘ３の両方は、星状細胞を効率的にニューロンに変換することができる。＊は、ｐ＜０．０５を示す。

【図１４】運動ニューロンマーカーであるＣｈＡＴでの免疫染色は、Ｉｓｌ１が星状細胞を運動ニューロンに変換できることを見出した。

【図１５】ＣｈＡＴ染色はまた、Ｌｈｘ３が星状細胞を運動ニューロンに変換することができることを示している。＊＊Ｐ＜０．０１。

【図１６】これらの結果により、星状細胞においてはＣｒｅのＧＦＡＰ：：Ｃｒｅ発現、変換されたニューロンにおいては発現しないことが確認された。

【図１７】これらの結果は、ＧＦＡＰ：：Ｃｒｅトランスジェニックマウスにおいて、ＮｅｕｒｏＤ１はまた、星状細胞をニューロンに変換することができることを示す。

【図１８】ＮＤ１発現は、２０週でのキャットウォークアッセイにおけるＳＯＤ１－Ｇ９３Ａマウスの足跡面積を増加させる。未処理ｎ＝５、ＥＦ１ａ－ＧＦＰ　ｎ＝７、およびＥＦ１ａ－ＮＤ１－ＧＦＰ　ｎ＝８。＊は、ｐ＜０．０５を示す。

【図１９】２０週でのキャットウォークアッセイによるＳＯＤ１－Ｇ９３Ａマウス歩行分析。未処理ｎ＝５、ＥＦ１ａ－ＧＦＰ　ｎ＝７、およびＥＦ１ａ－ＮＤ１－ＧＦＰ　ｎ＝８。

【図２０】ＮＤ１発現は、キャットウォークアッセイによって評価されるように、２０週でＳＯＤ１－Ｇ９３Ａマウスにおける足振り速度を増加させる。＊＊＊は、ｐ＜０．００１を示す。

【図２１】ＮＤ１発現は、キャットウォークアッセイによって評価されるように、２０週でＳＯＤ１－Ｇ９３Ａマウスにおけるステップサイクルの足振り速度を短縮する。ＥＦ１ａ－ＧＦＰ　ｎ＝８、ＥＦ１ａ－ＮＤ１－ＧＦＰ　ｎ＝９。＊＊はｐ＜０．０１を示す。

【図２２】ＮＤ１発現は、２４週でＳＯＤ１－Ｇ９３Ａマウスにおける移動性および脚の動作を増加させる。ＥＦ１ａ－ＧＦＰ　ｎ＝４、ＥＦ１ａ－ＮＤ１－ＧＦＰ　ｎ＝７。＊は、ｐ＜０．０５を示す。

【図２３】示されるウイルスに感染したマウスの脊髄（図２３Ａ）、後角（図２３Ｂ）、または前角（図２３Ｃ）におけるＧＦＰ、ＮｅｕｒｏＤ１、およびＳＯＤ１の発現。

【図２４】示されるウイルスに感染したマウスの脊髄（図２４Ａ～図２４Ｃ）、前角（図２４Ｄ～図２４Ｅ）、または大脳、小脳、および前角（図２４Ｆ）におけるＧＦＰ、ＣＨ

ＡＴ（運動ニューロンマーカー）、Ｉｂａ１、ｉＮＯＳ、および／またはＧＦＡＰの発現。

【図２５】後眼窩注射を介してＮＤ１／Ｉｓｌ１／Ｌｈｘ発現ウイルス（ＤＩＬ群）または対照ウイルス（Ｃｏｎ群）を注射したＳＯＤ１マウスの発現解析。ＤＩＬ群は、以下のウイルスを受けた。ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢ－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ（１．６ｘ１０^{10}ゲノムコピー）プラスＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－ＮＤ１－ＧＦＰ（１．９ｘ１０^{10}ゲノムコピー）プラスＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－Ｉｓｌ１－ｍＣｈｅｒｒｙ（１．３ｘ１０^{10}ゲノムコピー）プラスＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－Ｌｈｘ３１－ｍＣｈｅｒｒｙ（１．５ｘ１０^{10}ゲノムコピー）。Ｃｏｎ群は、以下のウイルスを受けた。ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢ－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ（１．８ｘ１０^{10}ゲノムコピー）プラスＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－ＧＦＰ（０．８ｘ１０^{10}ゲノムコピー）プラスＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－ｍＣｈｅｒｒｙ（３．４ｘ１０^{10}ゲノムコピー）。９．４週齢でウイルス注射し、２２．１週齢のマウスを　　殺した。雄は、Ｃｏｎ群については１匹のマウス、ＤＩＬ群については２匹のマウスであり、雌は、Ｃｏｎ群については１匹のマウス、ＤＩＬ群については２匹のマウスである。ＤＩＬ群および対照群由来のマウスの皮質、脳幹、および視床におけるＧＦＰ（左パネル）およびＲＦＰ（右パネル）の発現。対照群およびＤＩＬ群の両方が、広い感染を示した（図２５Ａ）。対照群は皮質および脳幹において約３０～４０％の漏出を示し、視床においては９０％以上の漏出を示した。ｍＣｈｅｒｒｙはＧＦＰよりも少し多くの漏出を示した。ＤＩＬ群は、すべてのニューロンがＧＦＰおよびＲＦＰシグナルを発現することを実証した。感染した細胞は、脊髄の前角により多く位置していた（図２５Ｂ）。Ｃｒｅシグナルは、星状細胞において位置し、Ｃｏｎ群が大幅に多くのＣｒｅシグナルを示した（図２５Ｃ）。ＤＩＬ群においては、ＧＦＰ$^{+}$細胞がＮＤ１シグナルを発現し、ＲＦＰ$^{+}$細胞がＩｓｌ１シグナルを発現した（図２５Ｄ）。Ｉｓｌ１発現の強度は、脳における種々の領域において変化した（図２５Ｅ）。Ｔｂｒ１シグナルの分布は、対照（ＣＯＮ）群とＤＩＬ群との間でほとんど差異を示さなかった（図２５Ｆ）。Ｉｂａ１シグナルは、脳（図２５Ｇ）および脊髄（図２５Ｈ）における対照（ＣＯＮ）群において、より高い密度および明るさを有した。ＤＩＬ群の運動ニューロンは、頸髄、前角に多く存在した（図２５Ｉ）。運動柱のニューロン損失は、腰部のＣＯＮ群およびＤＩＬ群の両方において深刻であった（図２５Ｊ）。運動ニューロンは腰髄においては検出するのが困難であり、末期（２２．１週）では腰髄において神経変性が重度すぎた。血管は、高倍率画像においては大きな違いを示さなかった（図２５Ｋ）。血管は、ＤＩＬ群においてより高い密度および厚さを有した（図２５Ｌ）。

【図２６】（図Ａ）ＡＡＶ５－ＮＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙ（ＡＡＶ５－ＮＤ１－ｍＣｈ）およびＡＡＶ５－Ｄｌｘ２－ｍＣｈｅｒｒｙ（ＡＡＶ５－Ｄｌｘ２－ｍＣｈ）での感染後、４ｗｐｉでのＮｅｕｒｏＤ１（ＮＤ１）およびＤｌｘ２に対する染色。（図Ｂ）ＡＡＶ５－ＮＤ１－ｍＣｈおよびＡＡＶ５－Ｄｌｘ２－ｍＣｈでの共感染後、４ｗｐｉでのマーカー（Ｔｌｘ３およびＰａｘ２）のパネル。（図Ｃ）４ｗｐｉでのＡＡＶ５－ＮＤ１単独およびＡＡＶ５－ＮＤ１－ｍＣｈ＋ＡＡＶ５－Ｄｌｘ２－ｍＣｈについてのＴｌｘ３$^{+}$細胞およびＰａｘ２$^{+}$細胞のヒストグラム。（図Ｄ）ＡＡＶ５－ＮＤ１－ｍＣｈ＋ＡＡＶ５－Ｄｌｘ２－ｍＣｈを用いた４ｗｐｉでのＧＡＤ－ＧＦＰマウスの感染後のＰａｘ２の染色。

【図２７】ＡＬＳマウスにおけるＮｅｕｒｏＤ１媒介の星状細胞からニューロンへの変換。（図２７Ａ）ｍＣｈｅｒｒｙを発現する対照ＡＡＶ（ＲＦＰ染色）の脊髄内への注射は、ＡＬＳマウスの前角におけるＧＦＡＰ陽性反応性星状細胞の感染を明らかにした。（図２７Ｂ）ＡＡＶ　ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙ感染した細胞は、ＮｅｕｒｏＤ１（ＮＤ１）、ＮｅｕＮ（ニューロンマーカー）、およびＣｈＡＴ（運動ニューロンマーカー）に対して免疫陽性であった。いくつかのＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンは、脊髄の前角におけるＣｈＡＴ陽性運動ニューロンであった。スケールバー５０μｍ。

【図２８】ＮＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスおよびＮＤ１＋Ｌｈｘ３を発現するように設計されたウイルスの髄腔内注射は、ＡＬＳマウスの前角において星

状細胞をニューロンに変換する。（図２８Ａ）髄腔内注射後、左列のＧＦＰ対照群によって示されるように、ＡＡＶ　ＰＨＰ．ｅＢ－ＧＦＡＰ：：ＣｒｅプラスＡＡＶ　ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－ＧＦＰは、前角における星状細胞を特異的に標的化とした。しかしながら、ＮＤ１－ＧＦＰ＋Ｉｓｌ１－ｍＣｈｅｒｒｙ群（中央列）およびＮＤ１－ＧＦＰ＋Ｌｈｘ３－ｍＣｈｅｒｒｙ群（右列）の両方において、ＡＬＳマウスの前角において、ＧＦＰ陽性細胞はニューロンに変換された。ＮＤ１＋Ｉｓｌ１群において、変換されたニューロンがより多かった。スケールバー：２００μｍ。ウイルス注射は９週齢のＡＬＳマウスであり、免疫染色は２１週齢のマウスであった。（図２８Ｂ）ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１群におけるＮｅｕＮ、ＮＤ１、Ｉｓｌ１、ＧＦＰ、およびＲＦＰの免疫染色。スケールバー：４０μｍ。

【図２９】ＡＬＳマウスにおける脊髄の種々のセグメントにおける遺伝子療法処置後の運動ニューロンの定量化。（図２９Ａ）運動ニューロン特異的マーカーであるＣｈＡＴでの免疫染色は、野生型（ＷＴ）マウスならびにＮＤ１＋Ｉｓｌ１、ＮＤ１＋Ｌｈｘ３、およびＧＦＰ対照群由来のマウスにおける運動ニューロン数を明らかにした。ＧＦＰ対照群において、運動ニューロンの実質的な低減が観察された。スケールバー：１００μｍ。（図２９Ｂ）ＷＴ、ＮＤ１＋Ｉｓｌ１、ＮＤ１＋Ｌｈｘ３、およびＧＦＰ対照群の脊髄の種々のセグメントにおける運動ニューロンの定量分析。

【図３０】ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１のウイルス送達は、ＡＬＳマウスにおけるミクログリア媒介の炎症を低減する。（図３０Ａ）ＧＦＡＰの免疫染色は、ＮＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスによって処置された頸髄における抑制されたアストログリア活性化を明らかにした。スケールバー：４０μｍ。（図３０Ｂ）ＡＬＳマウスにおけるＮＤ１＋Ｉｓｌ１群におけるＩｂａ１およびＣＤ１１ｂ免疫染色の減少によって、ミクログリア活性化の抑制が観察された。スケールバー：１００μｍ。

【図３１】ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスの送達後の体重および可動性の部分的な救出。（図３１Ａ）ＮＤ１＋Ｉｓｌ１処置は、ＡＬＳマウスにおける体重を部分的に救出した。（図３１Ｂ）ＮＤ１＋Ｌｈｘ３で処置されたＡＬＳマウスは、運動ニューロンの数が増加したものの、髄腔内ＡＡＶ注射後により高い死亡率を示した。（図３１Ｃ）２２週目の脚の伸張測定。（図３１Ｄ～３１Ｆ）脚の伸張実験の定量化された結果：脚の伸張の平均距離（図３１Ｄ）、脚の伸張の数（図３１Ｅ）、および総移動時間（図３１Ｆ）。ＮＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスで処置されたＡＬＳマウスは、より良好な運動機能を示した。（図３１Ｇ）ＮＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスで処置されたＡＬＳマウスは、吊り下げワイヤ試験においてより長い持続時間を示した。

【図３２】オープンフィールド試験は、遺伝子療法処置後に中程度の改善を示す。（ＡおよびＢ）オープンフィールド試験において、ＮＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスで処置されたＡＬＳマウスは、未処置のＡＬＳマウスおよびＮＤ１＋Ｌｈｘ３を発現するように設計されたウイルスで処置されたＡＬＳマウスと比較して、オープンフィールドボックス内を移動する総距離の増加（図３２Ａ）および移動時間の増加（図３２Ｂ）を示した。（図３２Ｃ）オープンフィールドボックス内のマウスの動作の典型的な痕跡。

【図３３】キャットウォーク歩行分析は、ＮＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスで処置されたＡＬＳマウスにおける運動機能の改善を示した。（図３３Ａ）種々の群間のＡＬＳマウスのキャットウォーク足跡の図。（図３３Ｂおよび３３Ｃ）ＮＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するように設計されたウイルスで処置されたＡＬＳマウスが、対側（図３３Ｂ）または同側（図３３Ｃ）のいずれかの比較において足跡面積の増加を示したことを示す定量化されたデータ。

【発明を実施するための形態】

【００２４】

本文書は、ＳＣＩを有する哺乳動物を治療するための方法および材料を提供する。例えば、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする外因性核酸を含有する組成物

を、ＳＣＩを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。別の例では、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドおよびＤｌｘ２ポリペプチドをコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＳＣＩを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。別の例では、本明細書は、ｍｉｒ１２４マイクロＲＮＡをコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする外因性核酸、および／またはＬｈｘ３ポリペプチドをコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＳＣＩを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。別の例では、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする外因性核酸、ｍｉｒ１２４マイクロＲＮＡをコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする外因性核酸、および／またはＬｈｘ３ポリペプチドをコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＳＣＩを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。

【００２５】

本明細書はまた、ＡＬＳを有する哺乳動物の治療に関与する方法および材料を提供する。例えば、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。別の例では、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする外因性核酸、およびＬｈｘ３ポリペプチドをコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。別の例では、本明細書は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする外因性核酸およびＩｓｌ１ポリペプチドをコードする外因性核酸を含有する組成物を、ＡＬＳを有する哺乳動物に投与するための方法および材料を提供する。

【００２６】

任意の適切な哺乳動物は、脳および／または中枢神経系において神経学的障害（例えば、ＡＬＳ）を有すると同定され得る。例えば、ヒトおよびサルなどの他の霊長類は、ＡＬＳを有していると同定され得る。したがって、脳および／または中枢神経系において神経学的障害（例えば、ＡＬＳ）を有するヒト、非ヒト霊長類、ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ、ブタ、およびげっ歯類（例えば、マウスおよびラット）は、本明細書に記載されるように治療され得る。任意の適切な哺乳動物は、脊髄損傷を有すると同定され得る。例えば、ヒトおよびサルなどの他の霊長類は、脊髄損傷を有すると同定され得る。したがって、脊髄損傷を有するヒト、非ヒト霊長類、ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ、ブタおよびげっ歯類（例えば、マウスおよびラット）は、本明細書に記載されるように治療され得る。

【００２７】

いくつかの場合では、治療有効量の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、またはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を、脳における神経学的障害（例えば、ＡＬＳ）によって影響を受けた対象に投与することは、反応性星状細胞のグルタミン酸作動性ニューロンへの変換による新たなグルタミン酸作動性ニューロンの生成、反応性星状細胞の数の低減、ＧＡＢＡ作動性およびグルタミン酸作動性ニューロンを含む損傷したニューロンの生存、新たな非反応性星状細胞の生成、変換されていない反応性星状細胞の反応性の低減、損傷した領域内への血管の再統合、運動ニューロンの生成、ミクログリアの数の低減、ならびに反応性星状細胞の数の低減を媒介する。

【００２８】

いくつかの場合では、治療有効量の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を、脊髄損傷によって影響を受けた対象に投与することは、反応性星状細胞のグルタミン酸作動性ニューロンへの変換による新たなグルタミン酸作動性ニューロンの生成、反応性星状細胞の数の低減、ＧＡ

ＢＡ作動性およびグルタミン酸作動性ニューロンを含む損傷したニューロンの生存、新たな非反応性星状細胞の生成、変換されていない反応性星状細胞の反応性の低減、損傷した領域内への血管の再統合、ならびに背側脊髄ニューロンの再生を媒介する。

【００２９】

いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、背側脊髄ニューロンを再生し、本明細書で提供される組成物の投与後に、背側脊髄ニューロンの数をベースラインレベルから約１％～１００％増加させる。いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、背側脊髄ニューロンを再生し、背側脊髄ニューロンの数をベースラインレベルから約１％～約１０％、１％～約２０％、１％～約３０％、１０％～約２０％、１０％～約３０％、約１０％～約４０％、約２０％～約３０％、約２０％～約４０％、約２０％～約５０％、約３０％～約４０％、約３０％～約５０％、約３０％～約６０％、約４０％～約５０％、約４０％～約６０％、約４０％～約７０％、約５０％～約６０％、約５０％～約７０％、約５０％～約８０％、約６０％～約７０％、約６０％～約８０％、約６０％～約９０％、約７０％～約８０％、約７０％～約９０％、約７０％～約１００％、約８０％～約９０％、約８０％～約１００％、または約９０％～約１００％増加させる。

【００３０】

いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成し、本明細書で提供される組成物の投与後に、グルタミン酸作動性ニューロンの数をベースラインレベルから約１％～５００％増加させる。いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成し、本明細書で提供される組成物の投与後に、グルタミン酸作動性ニューロンの数をベースラインレベルから約１％～５０％、約１％～１００％、約１％～１５０％、約５０％～１００％、約５０％～１５０％、約５０％～２００％、約１００％～１５０％、約１００％～２００％、１００％～２５０％、約１５０％～２００％、約１５０％～２５０％、約１５０％～３００％、２００％～２５０％、２００％～３００％、２００％～３５０％、２５０％～３００％、２５０％～３５０％、約２５０％～４００％、約３００％～３５０％、約３００％～４００％、約３００％～４５０％、約３５０％～４００％、約３５０％～４５０％、約３５０％～５００％、約４００％～４５０％、約４００％～５００％、または約４５０％～５００％増加させる。

【００３１】

いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、本明細書で提供される組成物の投与後に、脊髄における循環を約１％～１００％増加させる。いくつかの場合では、本発明で提供する方法または組成物は、本明細書で提供される組成物の投与後に、脊髄における循環を約１％～約１０％、１％～約２０％、１％～約３０％、１０％～約２０％、１０％～約３０％、約１０％～約４０％、約２０％～約３０％、約２０％～約４０％、約２０％～約５０％、約３０％～約４０％、約３０％～約５０％、約３０％～約６０％、約４０％～約５０％、約４０％～約６０％、約４０％～約７０％、約５０％～約６０％、約５０％～約７０％、約５０％～約８０％、約６０％～約７０％、約６０％～約８０％、約６０％～約９０％、約７０％～約８０％、約７０％～約９０％、約７０％～約１００％、約８０％～約９０％、約８０％～約１００％、または約９０％～約１００％増加させる。

【００３２】

いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、運動ニューロンを生成し、本明細書で提供される組成物の投与後に、運動ニューロンの数をベースラインレベルから約１％～５００％増加させる。いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、運動ニューロンを生成し、本明細書で提供される組成物の投与後に、運動ニューロンの数をベースラインレベルから約１％～５０％、約１％～１００％、約１％～１５０％、約５０％～１００％、約５０％～１５０％、約５０％～２００％、約１００％～１５０％、約１００％～２００％、１００％～２５０％、約１５０％～２００％、約１

５０％～２５０％、約１５０％～３００％、２００％～２５０％、２００％～３００％、２００％～３５０％、２５０％～３００％、２５０％～３５０％、約２５０％～４００％、約３００％～３５０％、約３００％～４００％、約３００％～４５０％、約３５０％～４００％、約３５０％～４５０％、約３５０％～５００％、約４００％～４５０％、約４００％～５００％、または約４５０％～５００％増加させる。

【００３３】

いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、ミクログリアを低減させ、本明細書で提供される組成物の投与後に、ミクログリアの数をベースラインレベルから約１％～１００％低減させる。いくつかの場合では、本発明で提供する方法または組成物は、ミクログリアを低減させ、本明細書で提供される組成物の投与後に、ミクログリアの数をベースラインレベルから約１％～約１０％、１％～約２０％、１％～約３０％、１０％～約２０％、１０％～約３０％、約１０％～約４０％、約２０％～約３０％、約２０％～約４０％、約２０％～約５０％、約３０％～約４０％、約３０％～約５０％、約３０％～約６０％、約４０％～約５０％、約４０％～約６０％、約４０％～約７０％、約５０％～約６０％、約５０％～約７０％、約５０％～約８０％、約６０％～約７０％、約６０％～約８０％、約６０％～約９０％、約７０％～約８０％、約７０％～約９０％、約７０％～約１００％、約８０％～約９０％、約８０％～約１００％、または約９０％～約１００％の間まで低減させる。

【００３４】

いくつかの場合では、本明細書で提供される方法または組成物は、本明細書で提供される組成物の投与後に、反応性星状細胞の数を約１％～１００％低減させる。いくつかの場合では、本発明で提供する方法または組成物は、本明細書で提供される組成物の投与後に、反応性星状細胞の数を約１％～約１０％、１％～約２０％、１％～約３０％、１０％～約２０％、１０％～約３０％、約１０％～約４０％、約２０％～約３０％、約２０％～約４０％、約２０％～約５０％、約３０％～約４０％、約３０％～約５０％、約３０％～約６０％、約４０％～約５０％、約４０％～約６０％、約４０％～約７０％、約５０％～約６０％、約５０％～約７０％、約５０％～約８０％、約６０％～約７０％、約６０％～約８０％、約６０％～約９０％、約７０％～約８０％、約７０％～約９０％、約７０％～約１００％、約８０％～約９０％、約８０％～約１００％、または約９０％～約１００％低減させる。

【００３５】

いくつかの場合では、治療有効量の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を、脳における神経学的障害（例えば、ＡＬＳ）によって影響を受けた、もしくは脊髄損傷を有する対象に投与することは、損傷部位での炎症の低減、損傷部位での神経阻害の低減、損傷部位での正常なミクログリア形態の再建、損傷部位での神経回路の再建、損傷部位での血管の増加、損傷部位での血液脳関門の再建、損傷部位での正常な組織構造の再建、および正常な血流の途絶による運動欠乏の改善を媒介する。

【００３６】

いくつかの場合では、治療有効量の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８、もしくはそれらのいずれかの組み合わせをコードする外因性核酸を投与して、それを必要とする個々の対象における脳における神経学的障害（例えば、ＡＬＳ）の影響を改善することは、静止状態の星状細胞へ投与するよりも、反応性星状細胞へ投与した場合に、より大きな有益な効果を有する。いくつかの場合では、治療有効量の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの

任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を投与して、それを必要とする個々の対象における脊髄損傷の影響を改善することは、静止状態の星状細胞へ投与するよりも、反応性星状細胞へ投与した場合に、より大きな有益な効果を有する。

【００３７】

いくつかの場合では、脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＤｌｘ２ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列を含む、治療有効量の組成物、発現ベクター、またはアデノ随伴発現ベクターを投与することを含み得る。いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＤｌｘ２ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列は、１つの発現ベクターにサブクローニングされる。いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＤｌｘ２ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列は、別個の発現ベクターにサブクローニングされる。

【００３８】

ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなニューロンを生成すること、および／または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、上述の（１）、（２）、または（３）を行うための方法は、（ａ）脊髄ニューロンが再生される、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成される、および／または（ｃ）脊髄循環が増加する条件下で、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸、およびＤｌｘ２ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする外因性核酸を含む組成物を投与することを含み得る。いくつかの場合では、新たなニューロンは、グルタミン酸作動性ニューロンおよびＧＡＢＡ作動性ニューロンからなる群から選択される。いくつかの場合では、新たなニューロンは、グルタミン酸作動性ニューロンである。いくつかの場合では、新たなニューロンは、ＧＡＢＡ作動性ニューロンである。

【００３９】

いくつかの場合では、脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列を含む、治療有効量の組成物、発現ベクター、またはアデノ随伴発現ベクターを投与することを含み得る。いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列は、１つの発現ベクターにサブクローニングされる。いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列は、別個の発現ベクターにサブクローニングされる。

【００４０】

いくつかの場合では、脊髄損傷は、虚血性脳卒中、出血性脳卒中、身体的損傷、震盪、挫傷、爆発、浸潤、腫瘍、炎症、感染症、外傷性脊髄損傷、虚血性または出血性骨髄症（脊髄梗塞）、全身性虚血、低酸素性虚血性脳症、よって引き起こされるＣＮＳ塞栓症、線維軟骨性塞栓性骨髄症、ＣＮＳ血栓症、および脳静脈洞血栓症からなる群から選択される状態に起因し得る。

【００４１】

いくつかの場合では、全身性虚血は、心停止または重度の低血圧（ショック）によって引き起こされる。いくつかの場合では、低酸素性虚血性脳症は、低酸素症、低血糖症、または貧血によって引き起こされる。いくつかの場合では、ＣＮＳ塞栓症は、感染性心内膜炎または心房粘液腫によって引き起こされる。いくつかの場合では、ＣＮＳ血栓症は、小児白血病によって引き起こされる。いくつかの場合では、脳静脈洞血栓症は、ネフローゼ

症候群（腎臓病）、慢性炎症性疾患、妊娠、エストロゲンベースの避妊薬の使用、髄膜炎、または脱水によって引き起こされる。

【００４２】

いくつかの場合では、脊髄損傷は、虚血性脳卒中に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、出血性脳卒中に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、身体的損傷に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、震盪に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、挫傷に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、爆発に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、浸潤に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、腫瘍に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、炎症に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、感染症に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、外傷性脊髄損傷に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、虚血性または出血性骨髄症（脊髄梗塞）に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、全身性虚血に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、低酸素性虚血性脳症に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、ＣＮＳ塞栓症に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、線維軟骨性塞栓性骨髄症に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、ＣＮＳ血栓症に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、脳静脈洞に起因する。いくつかの場合では、脊髄損傷は、血栓症に起因する。

【００４３】

いくつかの場合では、ＡＬＳを有する哺乳動物を治療するための方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列を含む、治療有効量の組成物、発現ベクター、またはアデノ随伴発現ベクターを投与することを含み得る。いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列は、１つの発現ベクターにサブクローニングされる。いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列およびＩｓｌ１ポリペプチド（またはその生物学的に活性な断片）をコードする核酸配列は、別個の発現ベクターにサブクローニングされる。

【００４４】

（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸での治療は、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）によって診断される損傷の領域に投与され得る。電気生理学は、神経細胞死または損傷によって引き起こされる神経発火の機能的変化を評価することができる。神経損傷をアッセイするための非侵襲的な方法には、ＥＥＧが含まれる。損傷の点への血流の途絶は、近赤外線分光法および機能的磁気共鳴法（ｆＭＲＩ）を介して非侵襲的にアッセイされ得る。領域内の血流は、動脈瘤に見られるように増加するか、または虚血に見られるように減少するかのいずれかであり得る。血流の途絶によって引き起こされるＣＮＳへの損傷は、さらに、損傷の点の診断に使用され得る組織構造の短期および長期的な変化を引き起こす。短期的には、損傷は局所的な腫れを引き起こす。長期的には、細胞死は組織損失の点を引き起こす。組織死によって引き起こされる構造変化をアッセイするための非侵襲的な方法には、ＭＲＩ、位置放射断層撮影（ＰＥＴ）スキャン、コンピュータ軸断層撮影（ＣＡＴ）スキャン、または超音波検査が含まれる。これらの方法を単独で、または任意の組み合わせで使用して、損傷の病巣の位置を正確に示すことができる。

【００４５】

上述のように、組織死によって引き起こされる構造変化をアッセイするための非侵襲的方法には、ＭＲＩ、ＣＡＴスキャン、または超音波が含まれる。機能的アッセイは、ＥＥＧ記録を含み得る。

【００４６】

本明細書に記載の神経学的障害を治療するための方法のいくつかの実施形態では、（ｉ

）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸は、本明細書に記載のポリペプチドまたはｍｉｒ２１８および／もしくはｍｉｒ２１４のうちのいずれかをコードする核酸配列を含有する発現ベクターとして投与される。

【００４７】

本明細書に記載の神経学的障害を治療するための方法のいくつかの実施形態では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むウイルスベクター（例えば、ＡＡＶ）は、定位性頭蓋内注射または後眼窩注射などの対象の脳内への注射によって送達される。いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むアデノ随伴ウイルスを含有する組成物は、脳における同じ位置での２回多い頭蓋内注射を使用して脳に投与される。いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むアデノ随伴ウイルスを含有する組成物は、脳における２つ以上の異なる位置での２回以上の頭蓋内注射を使用して脳に投与される。

【００４８】

本明細書に記載の脊髄損傷を治療するための方法のいくつかの実施形態では、ウイルスベクター（例えば、ＡＡＶ）（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸は、定位注射などの対象の脊髄内への注射によって、または静脈内注入もしくは静脈内注射によって送達される。

【００４９】

いくつかの実施形態では、遺伝子送達ベクターは、ＡＡＶベクターであり得る。例えば、ＡＡＶベクターは、ＡＡＶ２ベクター、ＡＡＶ５ベクター、およびＡＡＶ８ベクター、ＡＡＶ１ベクター、ＡＡＶ７ベクター、ＡＡＶ９ベクター、ＡＡＶ３ベクター、ＡＡＶ６ベクター、ＡＡＶ１０ベクター、およびＡＡＶ１１ベクターの群から選択され得る。

【００５０】

「発現ベクター」という用語は、本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を、インビトロまたはインビボで、核酸が発現して本明細書に記載のポリペプチドを産生する宿主細胞に導入するための組換えビヒクルを指す。

【００５１】

特定の実施形態では、配列番号１もしくは３、または実質的に同一の核酸配列を含む発現ベクターを発現して、発現ベクターを含有する細胞においてＮｅｕｒｏＤ１を産生する。特定の実施形態では、配列番号１０もしくは１２、または実質的に同一の核酸配列を含む発現ベクターを発現して、発現ベクターを含有する細胞においてＤｌｘ２を産生する。「組換え」という用語は、２つ以上の核酸が連結されており、かつ自然界では連結して見出されない核酸構築物を示すために使用される。発現ベクターには、プラスミド、ウイルス、ＢＡＣおよびＹＡＣが含まれるが、これらに限定されない。特定のウイルス発現ベク

ターとしては、例示的に、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、およびレンチウイルスに由来するものが挙げられる。

【００５２】

本明細書は、記載の方法による、神経学的障害（例えば、ＡＬＳ）または脊髄損傷の治療を必要とする対象における神経学的障害（例えば、ＡＬＳ）または脊髄損傷を治療するための材料および方法を記載し、それは、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むウイルスベクターを提供すること、ならびにウイルスベクターを対象の脳または脊髄に送達し、それによって、ウイルスベクターは、それぞれ中枢神経系のグリア細胞に感染し、感染したグリア細胞を産生し、それによって、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸が、感染したグリア細胞において、治療有効なレベルで発現されることを含み、感染した細胞におけるポリペプチドもしくはｍｉＲＮＡ、またはポリペプチドおよびｍｉＲＮＡの組み合わせの発現が、同じ神経学的状態を有する未治療の対象と比較して、対象においてより多くのニューロンをもたらし、それによって、神経学的障害または脊髄損傷が治療される。新たなニューロンの生成に加えて、反応性グリア細胞の数も低減し、放出される神経阻害因子の減少、神経炎症の減少、均一に分布するより多くの血管がもたらされ、それによって局所環境がニューロン成長または軸索浸透に対してより寛容になり、したがって、神経学的状態を緩和する。

【００５３】

いくつかの場合では、アデノ随伴ベクターは、本明細書に記載の方法において使用され得、注射部位で分裂細胞および非分裂細胞の両方に感染する。アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）は、パルボウイルス科ファミリーのｓｓＤＮＡ動物ウイルスの遍在的で、非細胞障害性で、複製能のないメンバーである。いくつかの場合では、血清型１～１１などの様々な組換えアデノ随伴ウイルスのうちのいずれかを、本明細書に記載されるように使用することができる。いくつかの場合では、ＡＡＶ－ＰＨＰ．ｅｂを使用して、外因性ＮｅｕｒｏＤ１を投与する。いくつかの場合では、ＡＡＶ－ＰＨＰ．ｅｂを使用して、外因性Ｄｌｘ２を投与する。いくつかの場合では、ＡＡＶ－ＰＨＰ．ｅｂを使用して、外因性Ｉｓｌ１を投与する。いくつかの場合では、ＡＡＶ血清型５を使用して、外因性ＮｅｕｒｏＤ１を投与する。いくつかの場合では、ＡＡＶ血清型５を使用して、外因性Ｄｌｘ２を投与する。いくつかの場合では、ＡＡＶ血清型５を使用して、外因性Ｉｓｌ１を投与する。

【００５４】

「ＦＬＥＸ」スイッチアプローチは、本明細書に記載のいくつかの態様による感染した細胞において、例えば、ＮｅｕｒｏＤ１を発現するために使用される。「ＦＬＥＸ」および「フリップ切除（Ｆｌｉｐ－ｅｘｃｉｓｉｏｎ）」という用語は、２対の異型で反平行ｌｏｘＰ型の組換え部位が、逆向きＮｅｕｒｏＤ１コード配列のいずれかの側に配置され、それは最初にコード配列の反転を受け、続いて２つの部位の切除を受け、各直交組換え部位のうちの１つが反対方向に向けられ、さらなる組換えを行うことができず、安定した反転を達成する方法を示すために互換的に使用され、例えば、Ｓｃｈｎｕｔｇｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２１：５６２－５６５（２００３）、およびＡｔａｓｏｙ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，２８：７０２５－７０３０（２００８）を参照されたい。グリア細胞特異的プロモーターの制御下にある部位特異的組換え酵素は、反応性星状細胞を含むグリア細胞において強力に発現されるため、ＮｅｕｒｏＤ１は、反応性星状細胞を含むグリア細胞においても発現される。次いで、ＮｅｕｒｏＤ１の前の終止コドンが組換えから除去されるとき、構成的またはニューロン特異的プロモーターは、ＮｅｕｒｏＤ１の高発現を駆動し、反応性星状細胞を機能的ニューロンに変換できるようにする。

【００５５】
特定の態様によれば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸は、それを必要とする対象に、１）ＧＦＡＰまたはＳ１００ｂまたはＡｌｄｈ１Ｌ１などの星状細胞特異的プロモーターの転写制御下で、部位特異的組換え酵素をコードするＤＮＡ配列を含むアデノ随伴ウイルス発現ベクター、ならびに２）遍在的（構成的）プロモーターまたはニューロン特異的プロモーターの転写制御下にある（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むアデノ随伴ウイルス発現ベクターの投与によって投与され、部位特異的組換え酵素がポリペプチドおよび／またはｍｉＲＮＡをコードする逆向き核酸配列を逆向きにすることによってポリペプチドおよび／またはｍｉＲＮＡの発現が可能になるまで、外因性核酸配列をコードする核酸配列は、逆向きであり、ポリペプチドおよびｍｉＲＮＡの発現に対して誤った方向である。

【００５６】
部位特異的組換え酵素およびそれらの認識部位は、例えば、認識部位ｌｏｘＰおよびｌｏｘ２２７２部位、もしくはＦＬＰ－ＦＲＴ組換え、またはそれらの組み合わせとともに、Ｃｒｅ組換え酵素が挙げられる。

【００５７】
（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含む組成物（例えば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むＡＡＶを、哺乳動物への投与のための薬学的組成物に製剤化し得る。例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする外因性核酸（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードするＡＡＶ）を含む治療有効量の組成物を、１つ以上の薬学的に許容される担体（添加剤）および／または希釈剤とともに製剤化し得る。いくつかの場合では、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードする外因性核酸（例えば、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードするＡＡＶ）を含む治療有効量の組成物を、１つ以上の薬学的に許容される担体（添加剤）および／または希釈剤とともに製剤化し得る。ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする外因性核酸（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードするＡＡＶ）を含む薬学的組成物を、様々な投与経路、例えば、カプセル、液体などとしての経口投与のために製剤化し得る。いくつかの場合では、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードする外因性核酸（例えば、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードするＡＡＶ）を含む薬学的組成物を、様々な投与経路、例えば、カプセル、液体などとしての経口投与のために製剤化し得る。いくつかの場合では、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする外因性核酸（例えば、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードするＡＡＶ）を含む薬学的組成物を、様々な投与経路、例えば、カプセル、液体などとしての経口投与のために製剤化し得る。いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むウイルスベクター（例えば、ＡＡＶ）は、非経口的に、好ましくは静脈内注射または静脈内注入によって投与される。投与は、例えば、静脈内注入によって、例えば、６０分間、３０分間、または１５分間であり得る。いくつかの場合では、投与は、１分～６０分であり得る。いくつかの場合では、投与は、１分～５分、１分～１０分、１分～１５分、５分～１０分、５分

～１５分、５分～２０分、１０分～１５分、１０分～２０分、１０分～２５分、１５分～２０分、１５分～２５分、１５分～３０分、２０分～２５分、２０分～３０分、２０分～３５分、２５分～３０分、２５分～３５分、２５分～４０分、３０分～３５分、３０分～４０分、３０分～４５分、３５分～４０分、３５分～４５分、３５分～５０分、４０分～４５分、４０分～５０分、４０分～５５分、４５分～５０分、４５分～５５分、４５分～６０分、５０分～５５分、５０分～６０分、または５５分～６０分であり得る。いくつかの場合では、ウイルスベクター｛例えば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むＡＡＶ｝は、手術中に脳への注射によって局所的に投与される。注射および／または注入による投与に好適な組成物には、溶液および分散液、ならびに対応する溶液および分散液を調製することができる粉末が含まれる。かかる組成物は、ウイルスベクターおよび少なくとも１つの好適な薬学的に許容される担体を含む。静脈内投与のための好適な薬学的に許容される担体には、バクテリア静止水、リンガー溶液、生理学的生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）、およびＣｒｅｍｏｐｈｏｒ　ＥＬ（商標）が含まれるが、これらに限定されない。注射および／または注入のための滅菌組成物は、必要な量のウイルスベクター｛例えば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むＡＡＶ｝を適切な担体内に導入し、次いで濾過によって滅菌することによって調製され得る。注射または注入による投与のための組成物は、それらの調製後、長期間にわたって保管条件下で安定した状態を維持する必要がある。組成物は、この目的のための防腐剤を含有し得る。好適な保存剤には、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸およびチメロサールが含まれるが、これらに限定されない。

【００５８】

薬学的組成物は、滅菌溶液、懸濁液、徐放性製剤、錠剤、カプセル剤、丸剤、粉剤、および顆粒剤を非限定的に含む、固体または液体形態での投与のために製剤化され得る。製剤は、単位用量または複数回用量の容器、例えば、密封アンプルおよびバイアルで提示することができ、使用の直前に、滅菌液体担体、例えば、注射用水の添加のみを必要とする凍結乾燥された（ｆｒｅｅｚｅ　ｄｒｉｅｄ）（凍結乾燥された（ｌｙｏｐｈｉｌｉｚｅｄ））状態で保管され得る。即時注射液および懸濁液は、滅菌粉末、顆粒および錠剤から調製され得る。

【００５９】

本明細書に記載の医薬組成物に使用され得る薬学的に追加の許容される担体、充填剤、およびビヒクルとしては、非限定的に、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質、リン酸塩、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウムなどの緩衝物質、飽和植物性脂肪酸、水、塩、または電解質の部分グリセリド混合物、例えば、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイドシリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロース系物質、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン－ポリオキシプロピレンブロックポリマー、ポリエチレングリコール、および羊毛脂が挙げられる。

【００６０】

本明細書で使用される場合、「アデノ随伴ウイルス粒子」という用語は、その核酸ゲノムを細胞に伝達するＡＡＶウイルスのパッケージ化されたキャプシド形態を指す。

【００６１】

（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１

８をコードする外因性核酸を含有する組成物の有効量は、哺乳動物（例えば、ヒト）内の神経学的障害の症状を改善し、哺乳動物に対して重度の毒性の産生を伴わない任意の量であり得る。例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードするアデノ随伴ウイルスの有効量は、約10^{10}～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬの濃度であり得る。いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードするアデノ随伴ウイルスの有効量は、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、または10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬであり得る。いくつかの場合では、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードするアデノ随伴ウイルスの有効量は、約10^{10}～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬの濃度であり得る。いくつかの場合では、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードするアデノ随伴ウイルスの有効量は、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、または10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬであり得る。いくつかの場合では、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードするアデノ随伴ウイルスの有効量は、約10^{10}～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬの濃度であり得る。いくつかの場合では、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードするアデノ随伴ウイルスの有効量は、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{10}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{11}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、10^{12}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ、または10^{13}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬ～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬであり得る。特定の哺乳動物が特定の量に応答しない場合、次いでＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードするＡＡＶの量を増加させ得る。特定の哺乳動物が特定の量に応答しない場合、次いでポリペプチドをコードするＡＡＶの量を増加させ得る。投与されるウイルスベクター（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードするＡＡＶ）の量に関連する因子は、例えば、ウイルスベクターの投与経路、疾患の性質および重症度、治療される患者の疾患歴、ならびに治療される患者の年齢、体重、身長および健康である。いくつかの場合では、治療効果、患者の免疫応答、および遺伝子産物の安定性を達成するために必要とされる本明細書に記載のポリペプチドまたはｍｉＲＮＡの発現レベルは、投与される量に関連する。いくつかの場合では、ウイルスベクター（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードするＡＡＶ）の投与は、脳の機能障害もしくは疾患の完全または実質的に完全な治癒をもたらす量で生じ

る。

【００６２】

いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含有する組成物の有効量は、約０．１μＬ／分～約５μＬ／分の制御された流速で任意に投与され得る。

【００６３】

いくつかの場合では、制御された流量は、０．１μＬ／分～０．２μＬ／分、０．１μＬ／分～０．３μＬ／分、０．１μＬ／分～０．４μＬ／分、０．２μＬ／分～０．３μＬ／分、０．２μＬ／分～０．４μＬ／分、０．２μＬ／分～０．５μＬ／分、０．３μＬ／分～０．４μＬ／分、０．３μＬ／分～０．５μＬ／分、０．３μＬ／分～０．６μＬ／分、０．４μＬ／分～０．５μＬ／分、０．４μＬ／分～０．６μＬ／分、０．４μＬ／分～０．７μＬ／分、０．５μＬ／分～０．６μＬ／分、０．５μＬ／分～０．７μＬ／分、０．５μＬ／分～０．８μＬ／分、０．６μＬ／分～０．７μＬ／分、０．６μＬ／分～０．８μＬ／分、０．６μＬ／分～０．９μＬ／分、０．７μＬ／分～０．８μＬ／分、０．７μＬ／分～０．９μＬ／分、０．７μＬ／分～１．０μＬ／分、０．８μＬ／分～０．９μＬ／分、０．８μＬ／分～１．０μＬ／分、０．８μＬ／分～１．１μＬ／分、０．９μＬ／分～１．０μＬ／分、０．９μＬ／分～１．１μＬ／分、０．９μＬ／分～１．２μＬ／分、１．０μＬ／分～１．１μＬ／分、１．０μＬ／分～１．２μＬ／分、１．０μＬ／分～１．３μＬ／分、１．１μＬ／分～１．２μＬ／分、１．１μＬ／分～１．３μＬ／分、１．１μＬ／分～１．４μＬ／分、１．２μＬ／分～１．３μＬ／分、１．２μＬ／分～１．４μＬ／分、１．２μＬ／分～１．５μＬ／分、１．３μＬ／分～１．４μＬ／分、１．３μＬ／分～１．５μＬ／分、１．３μＬ／分～１．６μＬ／分、１．４μＬ／分～１．５μＬ／分、１．４μＬ／分～１．６μＬ／分、１．４μＬ／分～１．７μＬ／分、１．５μＬ／分～１．６μＬ／分、１．５μＬ／分～１．７μＬ／分、１．５μＬ／分～１．８μＬ／分、１．６μＬ／分～１．７μＬ／分、１．６μＬ／分～１．８μＬ／分、１．６μＬ／分～１．９μＬ／分、１．７μＬ／分～１．８μＬ／分、１．７μＬ／分～１．９μＬ／分、１．７μＬ／分～２．０μＬ／分、１．８μＬ／分～１．９μＬ／分、１．８μＬ／分～２．０μＬ／分、１．８μＬ／分～２．１μＬ／分、１．９μＬ／分～２．０μＬ／分、１．９μＬ／分～２．１μＬ／分、１．９μＬ／分～２．２μＬ／分、２．０μＬ／分～２．１μＬ／分、２．０μＬ／分～２．２μＬ／分、２．０μＬ／分～２．３μＬ／分、２．１μＬ／分～２．２μＬ／分、２．１μＬ／分～２．３μＬ／分、２．１μＬ／分～２．４μＬ／分、２．２μＬ／分～２．３μＬ／分、２．２μＬ／分～２．４μＬ／分、２．２μＬ／分～２．５μＬ／分、２．３μＬ／分～２．４μＬ／分、２．３μＬ／分～２．５μＬ／分、２．３μＬ／分～２．６μＬ／分、２．４μＬ／分～２．５μＬ／分、２．４μＬ／分～２．６μＬ／分、２．４μＬ／分～２．７μＬ／分、２．５μＬ／分～２．６μＬ／分、２．５μＬ／分～２．７μＬ／分、２．５μＬ／分～２．８μＬ／分、２．６μＬ／分～２．７μＬ／分、２．６μＬ／分～２．８μＬ／分、２．６μＬ／分～２．９μＬ／分、２．７μＬ／分～２．８μＬ／分、２．７μＬ／分～２．９μＬ／分、２．７μＬ／分～３．０μＬ／分、２．８μＬ／分～２．９μＬ／分、２．８μＬ／分～３．０μＬ／分、２．８μＬ／分～３．１μＬ／分、２．９μＬ／分～３．０μＬ／分、２．９μＬ／分～３．１μＬ／分、２．９μＬ／分～３．２μＬ／分、３．０μＬ／分～３．１μＬ／分、３．０μＬ／分～３．２μＬ／分、３．０μＬ／分～３．３μＬ／分、３．１μＬ／分～３．２μＬ／分、３．１μＬ／分～３．３μＬ／分、３．１μＬ／分～３．４μＬ／分、３．２μＬ／分～３．３μＬ／分、３．２μＬ／分～３．４μＬ／分、３．２μＬ／分～３．５μＬ／分、３．３μＬ／分～３．４μＬ／分、３．３μＬ／分～３．５μＬ／分、３．３μＬ／分～３．６μＬ／分、３．４μＬ／分～３．５μＬ／分、３．４μＬ／分～３．６μＬ／分、３．４μＬ／分～３．７μＬ／分、３．５μＬ／分～３．６μＬ／分、３．５μＬ／分～３．７μ

Ｌ／分、３．５μＬ／分～３．８μＬ／分、３．６μＬ／分～３．７μＬ／分、３．６μＬ／分～３．８μＬ／分、３．６μＬ／分～３．９μＬ／分、３．７μＬ／分～３．８μＬ／分、３．７μＬ／分～３．９μＬ／分、３．７μＬ／分～４．０μＬ／分、３．８μＬ／分～３．９μＬ／分、３．８μＬ／分～４．０μＬ／分、３．８μＬ／分～４．１μＬ／分、３．９μＬ／分～４．０μＬ／分、３．９μＬ／分～４．１μＬ／分、３．９μＬ／分～４．２μＬ／分、４．０μＬ／分～４．１μＬ／分、４．０μＬ／分～４．２μＬ／分、４．０μＬ／分～４．３μＬ／分、４．１μＬ／分～４．２μＬ／分、４．１μＬ／分～４．３μＬ／分、４．１μＬ／分～４．４μＬ／分、４．２μＬ／分～４．３μＬ／分、４．２μＬ／分～４．４μＬ／分、４．２μＬ／分～４．５μＬ／分、４．３μＬ／分～４．４μＬ／分、４．３μＬ／分～４．５μＬ／分、４．３μＬ／分～４．６μＬ／分、４．４μＬ／分～４．５μＬ／分、４．４μＬ／分～４．６μＬ／分、４．４μＬ／分～４．７μＬ／分、４．５μＬ／分～４．６μＬ／分、４．５μＬ／分～４．７μＬ／分、４．５μＬ／分～４．８μＬ／分、４．６μＬ／分～４．７μＬ／分、４．６μＬ／分～４．８μＬ／分、４．６μＬ／分～４．９μＬ／分、４．７μＬ／分～４．８μＬ／分、４．７μＬ／分～４．９μＬ／分、４．７μＬ／分～５．０μＬ／分、４．８μＬ／分～４．９μＬ／分、４．８μＬ／分～５．０μＬ／分、または４．９μＬ／分～５．０μＬ／分である。

【００６４】

ウイルスベクター｛例えば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むＡＡＶは、約１．０×１０^{10}ｖｇ／ｋｇ～約１．０×１０^{14}ｖｇ／ｋｇ（ｋｇ体重当たりのウイルスゲノム）の範囲のウイルスの用量に対応する量で投与され得る。いくつかの場合では、ウイルスベクター（例えば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含有するＡＡＶ）は、約１．０×１０^{11}～約１．０×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの範囲、約５．０×１０^{11}～約５．０×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの範囲のウイルス用量に対応する量で投与され得るか、または約１．０×１０^{12}～約５．０×１０^{11}の範囲がさらに好ましい。いくつかの場合では、ウイルスベクターは、約２．５×１０^{12}ｖｇ／ｋｇの用量に対応する量で投与される。いくつかの場合では、ウイルスベクター｛例えば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むＡＡＶ｝の有効量は、本明細書に記載のｖｇ／ｋｇ（ｋｇ体重当たりのウイルスゲノム）用量の体積に対応する約１μＬ～約５００μＬの体積であり得る。いくつかの場合では、投与されるウイルスベクター｛例えば、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むＡＡＶ｝の量は、１つ以上の導入遺伝子（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１）の発現の強度に従って調整される。

【００６５】

いくつかの場合では、ウイルスベクターの有効投与体積は、１μＬ～２５μＬ、１μＬ～５０μＬ、１μＬ～７５μＬ、２５μＬ～５０μＬ、２５μＬ～７５μＬ、２５μＬ～１００μＬ、５０μＬ～７５μＬ、５０μＬ～１００μＬ、５０μＬ～１２５μＬ、７５μＬ～１００μＬ、７５μＬ～１２５μＬ、７５μＬ～１５０μＬ、１００μＬ～１２５μＬ、１００μＬ～１５０μＬ、１００μＬ～１７５μＬ、１２５μＬ～１５０μＬ、１２５μＬ～１７５μＬ、１２５μＬ～２００μＬ、１５０μＬ～１７５μＬ、１５０μＬ

～２００μＬ、１５０μＬ～２２５μＬ、１７５μＬ～２００μＬ、１７５μＬ～２２５μＬ、１７５μＬ～２５０μＬ、２００μＬ～２２５μＬ、２００μＬ～２５０μＬ、２００μＬ～２７５μＬ、２２５μＬ～２５０μＬ、２２５μＬ～２７５μＬ、２２５μＬ～３００μＬ、２５０μＬ～２７５μＬ、２５０μＬ～３００μＬ、２５０μＬ～３２５μＬ、２７５μＬ～３００μＬ、２７５μＬ～３２５μＬ、２７５μＬ～３５０μＬ、３００μＬ～３２５μＬ、３００μＬ～３５０μＬ、３００μＬ～３７５μＬ、３２５μＬ～３５０μＬ、３２５μＬ～３７５μＬ、３２５μＬ～４００μＬ、３５０μＬ～３７５μＬ、３５０μＬ～４００μＬ、３５０μＬ～４２５μＬ、３７５μＬ～４００μＬ、３７５μＬ～４２５μＬ、３７５μＬ～４５０μＬ、４００μＬ～４２５μＬ、４００μＬ～４５０μＬ、４００μＬ～４７５μＬ、４２５μＬ～４５０μＬ、４２５μＬ～４７５μＬ、４２５μＬ～５００μＬ、４５０μＬ～４７５μＬ、４５０μＬ～５００μＬ、または４７５μＬ～５００μＬである。

【００６６】

いくつかの場合では、遍在的（構成的）プロモーターまたはニューロン特異的プロモーターの転写制御下にある（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むアデノ随伴ウイルスベクターは、部位特異的組換え酵素が導入遺伝子をコードする逆向き核酸配列を逆向きにすることによって導入遺伝子の発現が可能になるまで、ポリペプチドおよびｍｉＲＮＡ（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、ｍｉｒ１２４、Ｎｇｎ２、およびｍｉｒ２１８｝をコードする核酸配列は、逆向きであり、導入遺伝子の発現に対して誤った方向であり、さらに部位特異的組換え酵素による組換え酵素活性のための部位を含み、部位特異的組換え酵素をコードするアデノ随伴ウイルスとともに、対象の脳内へ定位注射によって、または対称の脊髄損傷への局所送達を介して送達される。

【００６７】

いくつかの場合では、遍在的（構成的）プロモーターまたはニューロン特異的プロモーターの転写制御下にある（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含むアデノ随伴ウイルスベクターは、部位特異的組換え酵素が導入遺伝子をコードする逆向き核酸配列を逆向きにすることによって導入遺伝子の発現が可能になるまで、導入遺伝子をコードする核酸配列は、逆向きであり、導入遺伝子の発現に対して誤った方向であり、さらに部位特異的組換え酵素による組換え酵素活性のための部位を含み、本明細書に記載の方法に従って、部位特異的組換え酵素をコードするアデノ随伴ウイルスとともに、対象の脳内へ定位注射によって、または対称の脊髄への局所送達によって送達される。

【００６８】

いくつかの場合では、部位特異的組換え酵素は、Ｃｒｅ組換え酵素であり、組換え酵素活性のための部位は、認識部位ｌｏｘＰおよびｌｏｘ２２７２部位である。

【００６９】

いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を用いて対象の治療は、治療の進行および／または最終転帰を監視するために治療中または治療後に監視される。ニューロン細胞の統合および組織微小環境の回復の成功についての治療後アッセイは、正常な電気生理学、血流、組織構造、および機能の回復またはほぼ回復によって診断され得る。神経機能をアッセイするための非侵襲的な方法には、ＥＥＧが含まれる。血流は、近赤外線分光法およびｆＭＲＩを介して非侵襲的にアッセイされ得る。組織構造をアッセイするための非侵

襲的方法には、ＭＲＩ、ＣＡＴスキャン、ＰＥＴスキャン、または超音波が含まれる。行動アッセイは、脳機能の回復のための非侵襲的アッセイに使用され得る。行動アッセイは、元の脳損傷によって引き起こされる機能の喪失と一致する必要がある。例えば、損傷が麻痺を引き起こした場合、患者の可動性および四肢の器用さをテストする必要がある。損傷が発話の喪失または遅延を引き起こした場合、話し言葉を介した患者のコミュニケーション能力をアッセイする必要がある。ＮｅｕｒｏＤ１治療単独またはＤｌｘ２との組み合わせの後の正常な行動の回復は、効果的なニューロン回路の作製および統合に成功したことを示す。神経機能および組織の健康についてアッセイするために、これらの方法を単独で、または任意の組み合わせで使用し得る。治療を評価するためのアッセイは、ＮｅｕｒｏＤ１治療単独またはＤｌｘ２との組み合わせの１日後、２日後、３日後、１週間後、２週間後、３週間後、１ヶ月後、２ヶ月後、３ヶ月後、６ヶ月後、１年後、またはそれ以降などの任意の時点で実施され得る。かかるアッセイは、必要に応じてベースライン比較を確立するために、ＮｅｕｒｏＤ１治療単独またはＤｌｘ２との組み合わせの前に実施され得る。

【００７０】

本明細書で使用される科学用語および技術用語は、当業者によって一般に理解される意味を有することを意図している。かかる用語は、例示的に、Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｄ．Ｗ．Ｒｕｓｓｅｌｌ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；３ｒｄ Ｅｄ．，２００１、Ｆ．Ｍ．Ａｓｕｂｅｌ，Ｅｄ．，Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ；５ｔｈ Ｅｄ．，２００２、Ｂ．Ａｌｂｅｒｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ ｔｈｅ Ｃｅｌｌ，４ｔｈ Ｅｄ．，Ｇａｒｌａｎｄ，２００２、Ｄ．Ｌ．Ｎｅｌｓｏｎ ａｎｄ Ｍ．Ｍ．Ｃｏｘ，Ｌｅｈｎｉｎｇｅｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，４ｔｈ Ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ＆Ｃｏｍｐａｎｙ，２００４、Ｅｎｇｅｌｋｅ，Ｄ．Ｒ．，ＲＮＡ Ｉｎｔｅｒｆｅｒｅｎｃｅ（ＲＮＡｉ）：Ｎｕｔｓ ａｎｄ Ｂｏｌｔｓ ｏｆ ＲＮＡｉ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，ＤＮＡ Ｐｒｅｓｓ ＬＬＣ，Ｅａｇｌｅｖｉｌｌｅ，ＰＡ，２００３、Ｈｅｒｄｅｗｉｊｎ，ｐ．（Ｅｄ．），Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ：Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，２００４、Ａ．Ｎａｇｙ，Ｍ．Ｇｅｒｔｓｅｎｓｔｅｉｎ，Ｋ．Ｖｉｎｔｅｒｓｔｅｎ，Ｒ．Ｂｅｈｒｉｎｇｅｒ，Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｍｏｕｓｅ Ｅｍｂｒｙｏ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，３ｒｄ Ｅｄ．；Ｄｅｃｅｍｂｅｒ １５，２００２，ＩＳＢＮ－１０：０８７９６９５９１９、Ｋｕｒｓａｄ Ｔｕｒｋｓｅｎ（Ｅｄ．），Ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ：Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，２００２、１８５，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ：Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ，ＩＳＢＮ：９７８０４７０１５１８０８を含む様々な標準的な参考文献の文脈で定義され使用されていることが見出される。

【００７１】

本明細書で使用される場合、単数形の「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」という用語は、明確に別途示されない限り、または文脈が明確に別途示さない限り、限定することを意図せず、複数の指示対象を含む。

【００７２】

本明細書で使用される場合、「ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質」という用語は、胎児の脳発達および成人の神経新生に関与するｂＨＬＨ前神経転写因子を指し、Ｃｈｏ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ．，３０：３５－４７（２００４）、Ｋｕｗａｂａｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，１２：１０９７－１１０５（２００

９）、およびＧａｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，１２：１０９０－１０９２（２００９）を参照されたい。ＮｅｕｒｏＤ１は、主に神経系において発生の後期に発現し、ニューロンの分化、成熟、および生存に関与する。

【００７３】

本明細書で使用される場合、「Ｄｌｘ２タンパク質」という用語は、前脳および頭蓋顔面の発達に役割を有するディスタルレスホメオボックス２転写因子を指す。ヒトＤｌｘ２ポリペプチドの例としては、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００４３９６．１またはその生物学的に活性な断片が挙げられるが、これに限定されない。

【００７４】

いくつかの実施形態では、Ｄｌｘ２ポリペプチドは、野生型Ｄｌｘ２ポリペプチド（例えば、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００４３９６．１）と比較して、変異したＤｌｘ２の活性の増加をもたらすアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む。

【００７５】

本明細書で使用される場合、「Ｉｓｌ１」という用語は、インスリン遺伝子発現の調節に関与し、運動ニューロン生成に必要とされるＩＳＬ　ＬＩＭホメオボックス１転写因子を指す。ヒトＩｓｌ１ポリペプチドの例としては、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００２１９３．２またはその生物学的に活性な断片が挙げられるが、これに限定されない。いくつかの実施形態では、Ｉｓｌ１ポリペプチドは、野生型Ｉｓｌ１ポリペプチド（例えば、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００２１９３．２）と比較して、変異したＩｓｌ１の活性の増加をもたらすアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む。

【００７６】

「ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質」または「外因性ＮｅｕｒｏＤ１」という用語は、配列番号２としてここで同定されるヒトＮｅｕｒｏＤ１タンパク質および配列番号４としてここで同定されるマウスＮｅｕｒｏＤ１タンパク質を包含する。配列番号２および配列番号４のＮｅｕｒｏＤ１タンパク質に加えて、「ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質」という用語は、本明細書に記載の方法に含まれ得る配列番号２および配列番号４のバリアントなどのＮｅｕｒｏＤ１タンパク質のバリアントを包含する。

【００７７】

「Ｄｌｘ２タンパク質」または「外因性Ｄｌｘ２」という用語は、配列番号１１としてここで同定されるヒトＤｌｘ２タンパク質および配列番号１３としてここで同定されるマウスＤｌｘ２タンパク質を包含する。配列番号１１および配列番号１３のＤｌｘ２タンパク質に加えて、「Ｄｌｘ２タンパク質」という用語は、本明細書に記載の方法に含まれ得る配列番号１１および配列番号１３のバリアントなどのＤｌｘ２タンパク質のバリアントを包含する。

【００７８】

「Ｉｓｌ１タンパク質」または「外因性Ｉｓｌ１」という用語は、配列番号１５としてここで同定されるヒトＩｓｌ１タンパク質および配列番号１７としてここで同定されるマウスＩｓｌ１タンパク質を包含する。配列番号１５および配列番号１７のＩｓｌ１タンパク質に加えて、「Ｉｓｌ１タンパク質」という用語は、本明細書に記載の方法に含まれ得る配列番号１５および配列番号１７のバリアントなどのＩｓｌ１タンパク質のバリアントを包含する。いくつかの場合、Ｉｓｌ１タンパク質は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＥＡＷ５４８６１、ＮＰ＿００２１９３．２、またはＡＡＨ３１２１３．１に記載される配列を含み得る。

【００７９】

本明細書で使用する場合、「バリアント」という用語は、天然に生じる遺伝的バリエーションおよび組換え調製されたバリエーションを指し、その各々は、配列番号２または配列番号４などの参照ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質と比較して、そのアミノ酸配列の１つ以上の変化を含む。いくつかの場合、「バリアント」という用語は、天然に生じる遺伝的バリエーションおよび組換え調製されたバリエーションを指し、その各々は、配列番号１１または配列番号１３などの参照Ｄｌｘ２タンパク質と比較して、そのアミノ酸配列の１つ以

上の変化を含む。いくつかの場合、「バリアント」という用語は、天然に生じる遺伝的バリエーションおよび組換え調製されたバリエーションを指し、その各々は、配列番号１５または配列番号１７などの参照Ｉｓｌ１タンパク質と比較して、そのアミノ酸配列の１つ以上の変化を含む。かかる変化には、１つ以上のアミノ酸残基がアミノ酸置換、付加または欠失によって修飾されているものが含まれる。「バリアント」という用語は、例えば、これらに限定されないが非ヒト霊長類、ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ、ブタ、トリ、家禽、ならびにマウスおよびラットを含むがこれらに限定されないげっ歯類由来のＮｅｕｒｏＤ１オーソログなど、哺乳動物およびトリＮｅｕｒｏＤ１を含むヒトＮｅｕｒｏＤ１オーソログを包含する。非限定的な例では、アミノ酸配列番号４として本明細書に例示されるマウスＮｅｕｒｏＤ１は、ヒトＮｅｕｒｏＤ１のオーソログである。いくつかの場合では、好ましいバリアントは、配列番号２または配列番号４と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する。

【００８０】

いくつかの場合では、「バリアント」という用語は、例えば、これらに限定されないが非ヒト霊長類、ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ、ブタ、トリ、家禽、ならびにマウスおよびラットを含むがこれらに限定されないげっ歯類由来のＤｌｘ２オーソログなど、哺乳動物およびトリＤｌｘ２を含むヒトＤｌｘ２オーソログを包含する。非限定的な例では、アミノ酸配列番号１３として本明細書に例示されるマウスＤｌｘ２は、ヒトＤｌｘ２のオーソログである。いくつかの場合では、好ましいバリアントは、配列番号１１または配列番号１３と少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する。

【００８１】

変異は、部位特異的変異誘発およびＰＣＲ媒介変異誘発などの標準の分子生物学の技法を使用して導入され得る。当業者は、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質、Ｄｌｘ２タンパク質、またはＩｓｌ１タンパク質の機能的特性を変化させることなく、１つ以上のアミノ酸変異が導入され得ることを認識するであろう。例えば、配列番号２または４のＮｅｕｒｏＤ１タンパク質の機能的特性を変化させることなく、１つ以上のアミノ酸置換、付加、または欠失を行うことができる。いくつかの場合では、配列番号１１または１３のＤｌｘ２タンパク質の機能的特性を変化させることなく、１つ以上のアミノ酸置換、付加、または欠失を行うことができる。いくつかの場合では、配列番号１５または１７のＩｓｌ１タンパク質の機能的特性を変化させることなく、１つ以上のアミノ酸置換、付加、または欠失を行うことができる。

【００８２】

ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質バリアントを産生するために保存的アミノ酸置換がＮｅｕｒｏＤ１タンパク質において行われ得る。いくつかの場合では、Ｄｌｘ２タンパク質バリアントを産生するために保存的アミノ酸置換がＤｌｘ２タンパク質において行われ得る。いくつかの場合では、Ｉｓｌ１タンパク質バリアントを産生するために保存的アミノ酸置換がＩｓｌ１タンパク質において行われ得る。保存的アミノ酸置換は、類似の特徴を有する別のアミノ酸に対する１つのアミノ酸の技術分野で認められた置換である。例えば、各アミノ酸は、正電荷、負電荷、脂肪族、芳香族、極性、疎水性、および親水性のうちの１つ以上の特徴を有すると説明され得る。保存的置換は、同じ特徴を有する別のアミノ酸に対する特定の構造的または機能的特徴を有する１つのアミノ酸の置換である。酸性アミノ酸には、アスパラギン酸、グルタミン酸が含まれ、塩基性アミノ酸には、ヒスチジン、リジン、アルギニンが含まれ、脂肪族アミノ酸には、イソロイシン、ロイシン、およびバリンが含まれ、芳香族アミノ酸には、フェニルアラニン、グリシン、チロシン、およびトリプトファンが含まれ、極性アミノ酸には、アスパラギン酸、グルタミン酸、ヒスチジン、リジン、アスパラギン、グルタミン、アルギニン、セリン、スレオニン、およびチロシンが含まれ、疎水性アミノ酸には、アラニン、システイン、フェニルアラニン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、プロリン、バリン、およびトリプトファンが含まれ

、保存的置換には、各群内のアミノ酸間の置換が含まれる。アミノ酸はまた、相対サイズの観点から記載されてもよく、アラニン、システイン、アスパラギン酸塩、グリシン、アスパラギン、プロリン、スレオニン、セリン、バリンはすべて、通常は小さいと考えられる。

【００８３】

ＮｅｕｒｏＤ１バリアントは、合成アミノ酸類似体、アミノ酸誘導体、および／または非標準アミノ酸を含み得、例示的に、α－アミノ酪酸、シトルリン、カナバニン、シアノアラニン、ジアミノ酪酸、ジアミノピメリン酸、ジヒドロキシ－フェニルアラニン、ジエンコル酸、ホモアルギニン、ヒドロキシプロリン、ノルロイシン、ノルバリン、３－ホスホセリン、ホモセリン、５－ヒドロキシトリプトファン、１－メチルヒスチジン、３－メチルヒスチジン、およびオルニチンが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、Ｄｌｘ２バリアントは、合成アミノ酸類似体、アミノ酸誘導体、および／または非標準アミノ酸を含み得、例示的に、α－アミノ酪酸、シトルリン、カナバニン、シアノアラニン、ジアミノ酪酸、ジアミノピメリン酸、ジヒドロキシ－フェニルアラニン、ジエンコル酸、ホモアルギニン、ヒドロキシプロリン、ノルロイシン、ノルバリン、３－ホスホセリン、ホモセリン、５－ヒドロキシトリプトファン、１－メチルヒスチジン、３－メチルヒスチジン、およびオルニチンが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、Ｉｓｌ１バリアントは、合成アミノ酸類似体、アミノ酸誘導体、および／または非標準アミノ酸を含み得、例示的に、α－アミノ酪酸、シトルリン、カナバニン、シアノアラニン、ジアミノ酪酸、ジアミノピメリン酸、ジヒドロキシ－フェニルアラニン、ジエンコル酸、ホモアルギニン、ヒドロキシプロリン、ノルロイシン、ノルバリン、３－ホスホセリン、ホモセリン、５－ヒドロキシトリプトファン、１－メチルヒスチジン、３－メチルヒスチジン、およびオルニチンが挙げられるが、これらに限定されない。

【００８４】

２つのアミノ酸配列または２つの核酸配列の同一性のパーセントを決定するために、配列が最適な比較の目的のためにアライメントされる（例えば、第２のアミノ酸または核酸配列との最適アライメントのために第１のアミノ酸または核酸配列の配列にギャップが導入され得る）。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置でアミノ酸残基またはヌクレオチドが比較される。第１の配列における位置が第２の配列における対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占有されている場合、分子はその位置で同一である。２つの配列間の同一性のパーセントは、配列によって共有される同一の位置の数の関数である（すなわち、同一性％＝同一の重複した位置の数／位置の総数Ｘ１００％）。一実施形態では、２つの配列は、同じ長さである。

【００８５】

２つの配列間の同一性のパーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成され得る。２つの配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの好ましい非限定的な例は、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ＰＮＡＳ，９０：５８７３－５８７７（１９９３）のように修正されたＫａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ＰＮＡＳ，８７：２２６４－２２６８（１９９０）のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２１５：４０３（１９９０）のＮＢＬＡＳＴおよびＸＢＬＡＳＴプログラムに組み込まれている。本明細書に記載の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得るために、例えば、スコア＝１００、ワード長＝１２にセットされたＮＢＬＡＳＴヌクレオチドプログラムパラメータを用いて、ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索が実施される。

【００８６】

本発明のタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得るために、例えば、スコア＝５０、ワード長＝３にセットされたＸＢＬＡＳＴプログラムパラメータを用いて、ＢＬＡＳＴタンパク質検索が実施される。比較の目的のためのギャップ付きのアライメントを得るために、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２５：３３８９－３４０２（１９９７））に記載のギャップ付きＢＬＡＳＴを利用する。あるいは

、ＰＳＩ　ＢＬＡＳＴを使用して、分子間の距離関係を検出する反復検索を実施する。ＢＬＡＳＴ、ギャップ付きＢＬＡＳＴ、およびＰＳＩ　ＢＬＡＳＴプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、ＸＢＬＡＳＴおよびＮＢＬＡＳＴの）の既定値パラメータが使用される（例えば、ＮＣＢＩウェブサイトを参照されたい）。

【００８７】

配列の比較に利用される数学的アルゴリズムの別の好ましい非限定的な例は、Ｍｙｅｒｓ　ａｎｄ　Ｍｉｌｌｅｒ，ＣＡＢＩＯＳ，４：１１－１７（１９８８）のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、ＧＣＧ配列アライメントソフトウェアパッケージの一部であるＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためにＡＬＩＧＮプログラムを利用する場合、ＰＡＭ１２０重量残基表、１２のギャップ長ペナルティ、および４のギャップペナルティが使用される。

【００８８】

２つの配列間の同一性のパーセントは、ギャップを許容してまたはギャップを許容することなく、上述の技法と同様の技法を使用して決定される。同一性のパーセントを計算する際、典型的には、正確な一致のみが計数される。

【００８９】

「ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質」という用語は、本明細書に記載の方法または組成物で作動可能な、配列番号２および４の断片などのＮｅｕｒｏＤ１タンパク質の断片、ならびにそれらのバリアントを包含する。

【００９０】

「Ｄｌｘ２タンパク質」という用語は、本明細書に記載の方法または組成物で作動可能な、配列番号１１および１３の断片などのＤｌｘ２タンパク質の断片、ならびにそれらのバリアントを包含する。

【００９１】

「Ｉｓｌ１タンパク質」という用語は、本明細書に記載の方法または組成物で作動可能な、配列番号１５および１７の断片などのＩｓｌ１タンパク質の断片、ならびにそれらのバリアントを包含する。

【００９２】

ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質および核酸は、ＮｅｕｒｏＤ１を発現する生物の脳または細胞株の細胞などの天然供給源から単離され得る。あるいは、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質または核酸は、発現構築物を使用した発現などによって、インビトロまたはインビボで組み換えて生成され得る。ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質および核酸はまた、周知の方法によって合成され得る。いくつかの場合では、Ｄｌｘ２タンパク質および核酸は、Ｄｌｘ２を発現する生物の脳または細胞株の細胞などの天然供給源から単離され得る。あるいは、Ｄｌｘ２タンパク質または核酸は、発現構築物を使用した発現などによって、インビトロまたはインビボで組み換えて生成され得る。Ｄｌｘ２タンパク質および核酸はまた、周知の方法によって合成され得る。いくつかの場合では、Ｉｓｌ１タンパク質および核酸は、Ｉｓｌ１を発現する生物の脳または細胞株の細胞などの天然供給源から単離され得る。あるいは、Ｉｓｌ１タンパク質または核酸は、発現構築物を使用した発現などによって、インビトロまたはインビボで組み換えて生成され得る。Ｉｓｌ１タンパク質および核酸はまた、周知の方法によって合成され得る。

【００９３】

本明細書に記載の方法または組成物に含まれるＮｅｕｒｏＤ１は、組換え核酸技術を使用して産生され得る。組換えＮｅｕｒｏＤ１の産生は、ＮｅｕｒｏＤ１をコードするＤＮＡ配列を包含する組換え発現ベクターを宿主細胞内に導入することを含む。いくつかの場合では、本明細書に記載の方法または組成物に含まれるＤｌｘ２は、組換え核酸技術を使用して産生され得る。組換えＤｌｘ２の産生は、Ｄｌｘ２をコードするＤＮＡ配列を包含する組換え発現ベクターを宿主細胞内に導入することを含む。いくつかの場合では、本明細書に記載の方法または組成物に含まれるＩｓｌ１は、組換え核酸技術を使用して産生され得る。組換えＩｓｌ１の産生は、Ｉｓｌ１をコードするＤＮＡ配列を包含する組換え発

現ベクターを宿主細胞内に導入することを含む。

【００９４】

いくつかの場合では、ＮｅｕｒｏＤ１を産生するために宿主細胞内に導入されるＮｅｕｒｏＤ１をコードする核酸配列は、配列番号２、配列番号４、またはそれらのバリアントをコードし得る。

【００９５】

いくつかの場合では、Ｄｌｘ２を産生するために宿主細胞内に導入されるＤｌｘ２をコードする核酸配列は、配列番号１１、配列番号１３、またはそれらのバリアントをコードし得る。

【００９６】

いくつかの場合では、Ｉｓｌ１を産生するために宿主細胞内に導入されるＩｓｌ１をコードする核酸配列は、配列番号１５、配列番号１７、またはそれらのバリアントをコードし得る。

【００９７】

いくつかの場合では、配列番号１として本明細書で同定される核酸配列は、配列番号２をコードし、発現ベクターに含まれ、発現してＮｅｕｒｏＤ１を産生する。いくつかの場合では、配列番号１０として本明細書で同定される核酸配列は、配列番号１１をコードし、発現ベクターに含まれ、発現してＤｌｘ２を産生する。いくつかの場合では、配列番号１４として本明細書で同定される核酸配列は、配列番号１５をコードし、発現ベクターに含まれ、発現してＩｓｌ１を産生する。いくつかの場合では、配列番号３として本明細書で同定される核酸配列は、配列番号４をコードし、発現ベクターに含まれ、発現してＮｅｕｒｏＤ１を産生する。いくつかの場合では、配列番号１２として本明細書で同定される核酸配列は、配列番号１３をコードし、発現ベクターに含まれ、発現してＤｌｘ２を産生する。いくつかの場合では、配列番号１６として本明細書で同定される核酸配列は、配列番号１７をコードし、発現ベクターに含まれ、発現してＩｓｌ１を産生する。

【００９８】

遺伝子コードの縮重性質により、配列番号１および３と実質的に同一の核酸配列は、ＮｅｕｒｏＤ１およびＮｅｕｒｏＤ１のバリアントをコードし、かかる代替の核酸は、発現ベクターに含まれ得、発現してＮｅｕｒｏＤ１およびＮｅｕｒｏＤ１のバリアントを産生し得ることが理解される。いくつかの場合では、配列番号１０および１２と実質的に同一の核酸配列は、Ｄｌｘ２およびＤｌｘ２のバリアントをコードし、かかる代替の核酸は、発現ベクターに含まれ得、発現してＤｌｘ２およびＤｌｘ２のバリアントを産生し得る。いくつかの場合では、配列番号１４および１６と実質的に同一の核酸配列は、Ｉｓｌ１およびＩｓｌ１のバリアントをコードし、かかる代替の核酸は、発現ベクターに含まれ得、発現してＩｓｌ１およびＩｓｌ１のバリアントを産生し得る。当業者は、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードする核酸の断片を使用して、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質の断片を産生し得ることを理解するであろう。いくつかの場合では、当業者は、Ｄｌｘ２タンパク質をコードする核酸の断片を使用して、Ｄｌｘ２タンパク質の断片を産生し得ることを理解するであろう。いくつかの場合では、当業者は、Ｉｓｌ１タンパク質をコードする核酸の断片を使用して、Ｉｓｌ１タンパク質の断片を産生し得ることを理解するであろう。

【００９９】

本明細書で使用される場合、「Ｌｈｘ３」という用語は、下垂体発達および運動ニューロン仕様に関与するＬＩＭホメオボックス３転写因子を指す。ヒトＬｈｘ３ポリペプチドの例としては、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００１３５０６７５．１またはその生物学的に活性な断片が挙げられるが、これに限定されない。いくつかの実施形態では、Ｌｈｘ３ポリペプチドは、野生型Ｌｈｘ３ポリペプチド（例えば、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿００１３５０６７５．１）と比較して、変異したＬｈｘ３の活性の増加をもたらすアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む。

【０１００】

本明細書で使用される場合、「ｍｉｒ１２４」という用語は、マイクロＲＮＡ１２４を

指す。マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）は、ｍＲＮＡの安定性および翻訳の両方に影響を与えることによって、多細胞生物における遺伝子発現の転写後調節に関与する短い（２０～２４ｎｔ）非コードＲＮＡである。

【０１０１】

本明細書で使用される場合、「ｍｉｒ２１８」という用語は、マイクロＲＮＡ２１８を指す。マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）は、ｍＲＮＡの安定性および翻訳の両方に影響を与えることによって、多細胞生物における遺伝子発現の転写後調節に関与する短い（２０～２４ｎｔ）非コードＲＮＡである。

【０１０２】

本明細書で使用される場合、「Ｎｇｎ２」という用語は、外胚葉細胞上のニューロン運命を指定することができ、発達中の中枢および末梢神経系内の神経前駆細胞において発現される神経特異的塩基性ヘリックスループヘリックス（ｂＨＬＨ）転写因子を指す。ヒトＮｇｎ２ポリペプチドの例としては、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿０７６９２４．１またはその生物学的に活性な断片が挙げられるが、これに限定されない。いくつかの実施形態では、Ｎｇｎ２ポリペプチドは、野生型Ｎｇｎ２ポリペプチド（例えば、ＮＣＢＩ参照配列：ＮＰ＿０７６９２４．１）と比較して、変異したＮｇｎ２の活性の増加をもたらすアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む。

【０１０３】

発現ベクターは、目的のポリペプチドをコードするセグメントの転写を提供する１つ以上の調節要素に作動可能に連結された目的のポリペプチドをコードするセグメントを含む核酸を含有する。本明細書で使用される場合、「作動可能に連結された」という用語は、第２の核酸との機能的関係にある核酸を指す。「作動可能に連結された」という用語は、転写される核酸および調節要素などの２つ以上の核酸分子の機能的連結を包含する。本明細書で使用される場合、「調節要素」という用語は、作動可能に連結された核酸の発現のいくつかの態様を制御するヌクレオチド配列を指す。例示的な調節要素としては、ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節要素（ＷＰＲＥ）、内部リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）または２Ａドメインなどであるがこれらに限定されないエンハンサー、イントロン、複製起点、ポリアデニル化シグナル（ｐＡ）、プロモーター、転写終結配列、および上流調節ドメインが挙げられ、これらは、作動可能に連結された核酸配列の複製、転写、転写後プロセシングに寄与する。当業者であれば、日常的な実験のみで発現ベクターにおいて、これらおよび他の調節要素を選択および使用することができる。

【０１０４】

本明細書で使用される場合、「プロモーター」という用語は、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする核酸配列などの転写される核酸配列に作動可能に連結されたＤＮＡ配列を指す。プロモーターは、概して、転写される核酸配列の上流に位置付けられ、ＲＮＡポリメラーゼおよび他の転写因子による特異的結合のための部位を提供する。具体的な実施形態では、プロモーターは、概して、所望の分子を産生するために転写される核酸配列の上流に配置され、ＲＮＡポリメラーゼおよび他の転写因子による特異的結合のための部位を提供する。

【０１０５】

当業者によって認識されるように、遺伝子の５’非コード領域を単離し、作動可能に連結された核酸の発現を駆動するために、その全体をプロモーターとして使用することができる。あるいは、５’非コード領域の一部分を単離し、作動可能に連結された核酸の発現を駆動するために使用することができる。概して、作動可能に連結された核酸の発現を駆動するために、遺伝子の５’非コード領域の約５００～６０００ｂｐを使用する。任意選択で、作動可能に連結された核酸の発現を駆動するのに必要な最小量の５’非コード領域を含有する遺伝子の５’非コード領域の一部分を使用する。遺伝子の５’非コード領域の指定された部分の作動可能に連結された核酸の発現を駆動する能力を決定するためのアッセイは、当技術分野で周知である。

【０１０６】

本明細書に記載の方法に従って（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓ

ｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現を駆動するために使用される特定のプロモーターは、発現ベクターが移入される生物の多くの、ほとんどの、またはすべての細胞型における発現を駆動する「遍在的」または「構成的」プロモーターである。（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現に使用され得る遍在的プロモーターの非限定的な例としては、サイトメガロウイルスプロモーター、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、アデノウイルス主要後期プロモーター、ベータアクチンプロモーター、グリセルアルデヒド３－リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコース調節タンパク質７８プロモーター、グルコース調節タンパク質９４プロモーター、熱ショックタンパク質７０プロモーター、ベータキネシンプロモーター、ＲＯＳＡプロモーター、ユビキチンＢプロモーター、真核生物開始因子４Ａ１プロモーター、および伸長因子Ｉプロモーターであり、これらはすべて当技術分野で周知であり、日常的な方法論を使用して一次供給源から単離することができるか、または商業的供給源から得られる。プロモーターは、単一の遺伝子に完全に由来し得るか、または１つより多い遺伝子に由来する部分を有するキメラであり得る。

【０１０７】

調節配列の組み合わせは、発現ベクターに含まれ得、ＮｅｕｒｏＤ１の発現を駆動するために使用され得る。ＮｅｕｒｏＤ１の発現を駆動するための発現ベクターに含まれる非限定的な例は、サイトメガロウイルスＣＭＶ初期エンハンサー要素およびニワトリベータアクチンプロモーターを組み合わせたＣＡＧプロモーターである。

【０１０８】

本明細書に記載の方法に従って、ＮｅｕｒｏＤ１（または任意の他の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）本明細書に記載のｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現を駆動するために使用される特定のプロモーターは、グリア細胞、特に星状細胞および／またはＮＧ２細胞において優先的に発現を駆動するものである。かかるプロモーターは、「星状細胞特異的」および／または「ＮＧ２細胞特異的」プロモーターと称される。

【０１０９】

星状細胞特異的プロモーターの非限定的な例は、グリア線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）プロモーターおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼ１ファミリー、メンバーＬ１（Ａｌｄｈ１Ｌ１）プロモーターである。ヒトＧＦＡＰプロモーターは、配列番号６として本明細書に示されている。マウスＡｌｄｈ１Ｌ１プロモーターは、配列番号７として本明細書に示されている。

【０１１０】

ＮＧ２細胞特異的プロモーターの非限定的な例は、ニューロングリア抗原２（ＮＧ２）としても知られているコンドロイチン硫酸プロテオグリカン４遺伝子のプロモーターである。ヒトＮＧ２プロモーターは、配列番号８として本明細書に示されている。

【０１１１】

本明細書に記載の方法によるＮｅｕｒｏＤ１の発現を駆動するために使用される特定のプロモーターは、反応性グリア細胞、特に反応性星状細胞および／または反応性ＮＧ２細胞において優先的に発現を駆動するものである。かかるプロモーターは、「反応性星状細胞特異的」および／または「反応性ＮＧ２細胞特異的」プロモーターと称される。

【０１１２】

本明細書に記載の方法によるＤｌｘ２の発現を駆動するために使用される特定のプロモ

ーターは、反応性グリア細胞、特に反応性星状細胞および／または反応性ＮＧ２細胞において優先的に発現を駆動するものである。かかるプロモーターは、「反応性星状細胞特異的」および／または「反応性ＮＧ２細胞特異的」プロモーターと称される。

【０１１３】

「反応性星状細胞特異的」プロモーターの非限定的な例は、リポカリン２（ｌｃｎ２）遺伝子のプロモーターである。マウスｌｃｎ２プロモーターは、配列番号５として本明細書に示されている。

【０１１４】

遍在的および細胞型特異的プロモーターの相同体およびバリアントを、ＮｅｕｒｏＤ１の発現に使用し得る。

【０１１５】

いくつかの場合では、プロモーター相同体およびプロモーターバリアントは、ＮｅｕｒｏＤ１を発現するための発現ベクターに含まれ得る。いくつかの場合では、プロモーター相同体およびプロモーターバリアントは、Ｄｌｘ２を発現するための発現ベクターに含まれ得る。いくつかの場合では、プロモーター相同体およびプロモーターバリアントは、Ｉｓｌ１を発現するための発現ベクターに含まれ得る。「プロモーター相同体」および「プロモーターバリアント」という用語は、本明細書に開示されるものと比較して、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする作動可能に連結した核酸上でＮｅｕｒｏＤ１の細胞型特異的発現、またはＮｅｕｒｏＤ１の遍在的発現など、所望の型の発現を付与するために実質的に類似した機能的特性を有するプロモーターを指す。例えば、プロモーター相同体またはバリアントは、ＧＦＡＰ、Ｓ１００ｂ、Ａｌｄｈ１Ｌ１、ＮＧ２、ｌｃｎ２およびＣＡＧプロモーターと比較して、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする作動可能に連結した核酸に対して細胞型特異的発現を付与するための実質的に類似した機能的特性を有する。

【０１１６】

当業者は、所与のプロモーターの機能的特性を変更することなく、１つ以上の核酸変異を導入することができることを認識するであろう。変異は、部位特異的変異誘発およびＰＣＲ媒介変異誘発などの標準の分子生物学の技法を使用して導入され、プロモーターバリアントを産生し得る。本明細書で使用される場合、「プロモーターバリアント」という用語は、単離された天然に生じるか、またはＧＦＡＰ、Ｓ１００ｂ、Ａｌｄｈ１Ｌ１、ＮＧ２、ｌｃｎ２およびｐＣＡＧプロモーターなどであるがこれらに限定されない、参照プロモーターの組換え調製されたバリアントのいずれかを指す。

【０１１７】

他の種由来のプロモーターが機能的であることが当技術分野で既知であり、例えば、マウスＡｌｄｈ１Ｌ１プロモーターは、ヒト細胞において機能的である。他の種由来の相同体および相同プロモーターは、当技術分野で既知のバイオインフォマティクスツールを使用して同定することができ、例えば、Ｘｕａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｅ Ｂｉｏｌ．，６：Ｒ７２（２００５）、Ｚｈａｏ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．，３３：Ｄ１０３－１０７（２００５）、およびＨａｌｅｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ．Ｒｅｓ．，３１：３５５４－３５５９（２００３）を参照されたい。

【０１１８】

構造的に、ＮｅｕｒｏＤ１の細胞型特異的プロモーターまたはおよび／または遍在的プロモーターの相同体およびバリアントは、参照の発達的に調節された、および／または遍在的プロモーターと少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上の核酸配列同一性を有し、ＲＮＡポリメラーゼの結合部位、および任意選択で、転写因子のための１つ以上の結合部位を含む。

【０１１９】

配列番号１または配列番号３と実質的に同一である核酸配列は、高ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で配列番号１または配列番号３にハイブリダイゼーション可能な相補的な核酸配列を有するとして特徴付けられる。

【０１２０】
ＮｅｕｒｏＤ１をコードする１つ以上の核酸に加えて、追加のタンパク質をコードする１つ以上の核酸配列が、発現ベクターに含まれ得る。例えば、かかる追加のタンパク質には、ベータガラクトシダーゼ、緑色蛍光タンパク質および抗生物質耐性レポーターを含むが、これらに限定されない、レポーターなどの非ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質が含まれる。
【０１２１】
特定の実施形態では、組換え発現ベクターは、少なくとも配列番号２のＮｅｕｒｏＤ１、配列番号２と少なくとも９５％の同一性を有するタンパク質、または配列番号１と実質的に同一の核酸配列によってコードされるタンパク質をコードする。
【０１２２】
特定の実施形態では、組換え発現ベクターは、少なくとも配列番号４のＮｅｕｒｏＤ１、配列番号４と少なくとも９５％の同一性を有するタンパク質、または配列番号２と実質的に同一の核酸配列によってコードされるタンパク質をコードする。
【０１２３】
配列番号９は、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする核酸に作動可能に連結されたＣＡＧプロモーターを含む核酸の例であり、ＥＧＦＰをコードする核酸配列およびエンハンサーＷＰＲＥをさらに含む。ＩＲＥＳは、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする核酸およびＥＧＦＰをコードする核酸を分離する。配列番号９は、ＮｅｕｒｏＤ１およびレポーター遺伝子ＥＧＦＰの発現のための発現ベクター内に挿入される。任意選択で、ＩＲＥＳおよびＥＧＦＰをコードする核酸を除去し、残りのＣＡＧプロモーターおよびＮｅｕｒｏＤ１をコードする作動可能に連結した核酸を、ＮｅｕｒｏＤ１の発現のための発現ベクター内に挿入する。ＷＰＲＥまたは別のエンハンサーは、任意選択で含まれる。
【０１２４】
任意選択で、レポーター遺伝子は、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする組換え発現ベクターに含まれる。レポーター遺伝子は、組換え発現ベクターからのＮｅｕｒｏＤ１の発現のための代理マーカーとして機能するペプチドまたはタンパク質を産生するために含まれ得る。いくつかの場合では、レポーター遺伝子は、Ｄｌｘ２をコードする組換え発現ベクターに含まれる。いくつかの場合では、レポーター遺伝子は、Ｉｓｌ１をコードする組換え発現ベクターに含まれる。レポーター遺伝子は、組換え発現ベクターからのＤｌｘ２の発現のための代理マーカーとして機能するペプチドまたはタンパク質を産生するために含まれ得る。本明細書で使用される場合、「レポーター遺伝子」という用語は、発現した場合、例えば、化学発光、蛍光、比色反応、抗体結合、誘導性マーカーおよび／またはリガンド結合アッセイによって容易に検出可能な遺伝子を指す。例示的なレポーター遺伝子としては、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）、黄色蛍光タンパク質（ＹＦＰ）、増強黄色蛍光タンパク質（ｅＹＦＰ）、シアン蛍光タンパク質（ＣＦＰ）、増強シアン蛍光タンパク質（ｅＣＦＰ）、青色蛍光タンパク質（ＢＦＰ）、増強青色蛍光タンパク質（ｅＢＦＰ）、ＭｍＧＦＰ（Ｚｅｒｎｉｃｋａ－Ｇｏｅｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ，１２４：１１３３－１１３７（１９９７））、ｄｓＲｅｄ、ルシフェラーゼおよびベータガラクトシダーゼ（ｌａｃＺ）が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１２５】
宿主細胞における遺伝物質によってコードされる所望のタンパク質の一過性または安定的な発現などの遺伝物質をレシピエント宿主細胞内に導入するプロセスは、「トランスフェクション」と称される。トランスフェクション技法は、当技術分野で周知であり、エレクトロポレーション、「遺伝子銃」技術としても知られる粒子加速形質転換、リポソーム媒介トランスフェクション、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈殿媒介トランスフェクション、ＤＥＡＥ－デキストラン媒介トランスフェクション、マイクロインジェクション、ポリエチレングリコール媒介トランスフェクション、熱ショック媒介トランスフェクションおよびウイルス媒介トランスフェクションが含まれるが、これらに限定されない。本明細書に記載されるように、ウイルス媒介トランスフェクションは、アデノウイル

ス、アデノ随伴ウイルス、およびレンチウイルスに由来するものなどのウイルスベクターを使用して達成され得る。

【０１２６】

任意選択で、宿主細胞は、エクスビボでトランスフェクションされ、次いで宿主生物内に再導入される。例えば、細胞または組織を対象から取り出し、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする発現ベクターでトランスフェクションし、次いで対象に戻すことができる。いくつかの場合では、細胞または組織を対象から取り出し、ＮｅｕｒｏＤ１およびＤｌｘ２をコードする発現ベクターでトランスフェクションし、次いで対象に戻すことができる。いくつかの場合では、細胞または組織を対象から取り出し、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする発現ベクターおよびＤｌｘ２をコードする発現ベクターでトランスフェクションし、次いで対象に戻すことができる。いくつかの場合では、細胞または組織を対象から取り出し、ＮｅｕｒｏＤ１およびＩｓｌ１をコードする発現ベクターでトランスフェクションし、次いで対象に戻すことができる。いくつかの場合では、細胞または組織を対象から取り出し、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする発現ベクターおよびＩｓｌ１をコードする発現ベクターでトランスフェクションし、次いで対象に戻すことができる。

【０１２７】

宿主グリア細胞において外因性ＮｅｕｒｏＤ１を発現してグリア細胞をニューロンに変換するための、ＮｅｕｒｏＤ１またはその機能的断片をコードする核酸を含む組換え発現ベクターのインビトロまたはインビボでの宿主グリア細胞内への導入は、様々なトランスフェクション方法論のうちのいずれかによって達成される。いくつかの場合では、宿主グリア細胞において外因性Ｄｌｘ２を発現してグリア細胞をニューロンに変換するための、Ｄｌｘ２またはその機能的断片をコードする核酸を含む組換え発現ベクターのインビトロまたはインビボでの宿主グリア細胞内への導入は、様々なトランスフェクション方法論のうちのいずれかによって達成される。いくつかの場合では、宿主グリア細胞において外因性Ｉｓｌ１を発現してグリア細胞をニューロンに変換するための、Ｉｓｌ１またはその機能的断片をコードする核酸を含む組換え発現ベクターのインビトロまたはインビボでの宿主グリア細胞内への導入は、様々なトランスフェクション方法論のうちのいずれかによって達成される。

【０１２８】

グリア細胞をニューロンに変換するための、宿主グリア細胞における（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現は、任意選択で、インビトロまたはインビボで、ＮｅｕｒｏＤ１（または本明細書に記載の任意の他のポリペプチド）またはその機能的断片をコードするｍＲＮＡを宿主グリア細胞に導入することによって達成される。

【０１２９】

グリア細胞をニューロンに変換するための、宿主グリア細胞における（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現は、任意選択で、インビトロまたはインビボで、ポリペプチドを宿主グリア細胞に導入することによって達成される。これらおよび他の技法の詳細は、例えば、Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｄ．Ｗ．Ｒｕｓｓｅｌｌ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；３ｒｄ Ｅｄ．，２００１、Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ，Ｅｄ．，Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ；５ｔｈ Ｅｄ．，２００２、およびＥｎｇｅｌｋｅ，Ｄ．Ｒ．，ＲＮＡ Ｉｎｔｅｒｆｅｒｅｎｃｅ（ＲＮＡｉ）：Ｎｕｔｓ ａｎｄ Ｂｏｌｔｓ ｏｆ ＲＮＡｉ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，ＤＮＡ Ｐｒｅｓｓ Ｌ

ＬＣ，Ｅａｇｌｅｖｉｌｌｅ，ＰＡ，２００３に記載されているように、当技術分野で既知である。

【０１３０】

（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８もしくはその機能的断片をコードする外因性核酸、ポリペプチドもしくはその機能的断片をコードするｍＲＮＡ、全長もしくはその機能的断片を含む発現ベクターは、任意選択で、インビトロまたはインビボで宿主細胞内に導入するための担体と会合する。

【０１３１】

特定の態様では、担体は、リポソーム、ミセル、単層、もしくは多層小胞を含む脂質粒子、ヒドロゲル粒子、ポリグリコール酸粒子、もしくはポリ乳酸粒子などのポリマー粒子、例えば、米国特許第５，６４８，０９７号に記載されるようなリン酸カルシウム粒子などの無機粒子、および例えば、米国特許第６，６３０，４８６号に記載されるような無機／有機粒子状担体などの粒子状担体である。

【０１３２】

粒子状担体は、脂質粒子、ポリマー粒子、無機粒子、および無機／有機粒子の中から選択され得る。粒子の種類の混合物はまた、粒子状の薬学的に許容可能な担体として含まれ得る。

【０１３３】

粒子状担体は、典型的には、粒子が約１ｎｍ～１０ミクロンの範囲の平均粒径を有するように製剤化される。特定の態様では、粒子状担体は、粒子が約１ｎｍ～１００ｎｍの範囲の平均粒径を有するように製剤化される。

【０１３４】

リポソームのさらなる説明およびそれらの調製および使用に関連する方法は、Ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｔｈｅ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ Ｓｅｒｉｅｓ，２６４），Ｖ．Ｐ．Ｔｏｒｃｈｉｌｉｎ ａｎｄ Ｖ．Ｗｅｉｓｓｉｇ（Ｅｄｓ．），Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ；２ｎｄ ｅｄ．，２００３に見出され得る。ナノ粒子のさらなる態様は、Ｓ．Ｍ．Ｍｏｇｈｉｍｉ ｅｔ ａｌ．，ＦＡＳＥＢ Ｊ．２００５，１９，３１１－３０に記載されている。

【０１３５】

組換え発現ベクターを使用した（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現は、昆虫細胞、哺乳動物細胞、酵母細胞、細菌細胞、または当技術分野で認識される任意の他の単一もしくは多細胞生物などの真核または原核宿主細胞発現系に発現ベクターを導入することによって達成される。宿主細胞は、任意選択で、初代細胞または不死化誘導体細胞である。不死化細胞は、少なくとも５回の複製継代の間、インビトロで維持することができるものである。

【０１３６】

組換え発現ベクターを含有する宿主細胞は、ＮｅｕｒｏＤ１が産生される条件下で維持される。いくつかの場合では、組換え発現ベクターを含有する宿主細胞は、Ｄｌｘ２が産生される条件下で維持される。宿主細胞は、Ｃｅｌｉｓ，Ｊｕｌｉｏ，ｅｄ．，１９９４，Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｈａｎｄｂｏｏｋ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．に記載されているような既知の細胞培養技法を使用して培養および維持され得る。特定の栄養素、酸素、張力、二酸化炭素および低減した血清レベルに関する培地製剤を含む、これらの細胞の様々な培養条件を、当業者によって選択および最適化することができる。

【０１３７】

いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌ

ｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含む組換え発現ベクターを、対象のグリア細胞内に導入する。グリア細胞における（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現は、グリア細胞をニューロンに「変換する」。

【０１３８】

いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含む組換え発現ベクターを、対象の星状細胞内に導入する。グリア細胞における（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現は、星状細胞をニューロンに「変換する」。

【０１３９】

いくつかの場合では、組換え発現ベクター（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を、対象の反応性星状細胞内に導入する。反応性星状細胞における（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現は、反応性星状細胞をニューロンに「変換する」。

【０１４０】

いくつかの場合では、（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を含む組換え発現ベクターを、対象のＮＧ２細胞内に導入する。ＮＧ２細胞における外因性（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現は、ＮＧ２細胞をニューロンに「変換する」。

【０１４１】

（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸をコードする核酸を含む組換え発現ベクターの導入後の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸の発現の検出は、免疫アッセイ、核酸検出アッセイ、および外因性核酸と共発現するレポーター遺伝子の検出を含むが、これらに限定されない、様々な標準的な方法論のうちのいずれかを使用して達成される。

【０１４２】

「変換する」および「変換された」という用語は、本明細書では、グリア細胞、星状細胞または反応性星状細胞の表現型のニューロン表現型への変化をもたらす、ＮｅｕｒｏＤ１もしくはその機能的断片単独での、またはＤｌｘ２もしくはその機能的断片と組み合わせた発現の効果を説明するために使用される。同様に、「ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロン」、「ＮｅｕｒｏＤ１およびＤｌｘ２変換されたニューロン」、ならびに「変換されたニューロン」という語句は、本明細書では、結果として生じるニューロン表現型を有する、外因性ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質またはその機能的断片を単独で、または外因性Ｄｌｘ２タンパク質もしくはその機能的断片と組み合わせて含む細胞を指定するために使用される。

【０１４３】

「表現型」という用語は、本明細書で言及される細胞の周知の検出可能な特徴を指す。ニューロン表現型は、ニューロンの形態、１つ以上のニューロンマーカーの発現、ニューロンの電気生理学的特徴、シナプス形成、および神経伝達物質の放出のうちの１つ以上であり得るが、これらに限定されない。例えば、ニューロン表現型は、樹状突起、軸索および樹状突起棘の存在などのニューロンの特徴的な形態学的態様、シナプス点におけるシナプスタンパク質の存在、樹状突起におけるＭＡＰ２の存在などの特徴的なニューロンタンパク質の発現および分布、ならびに自発的および誘発されるシナプス事象などの特徴的な電気生理学的徴候を包含するが、これらに限定されない。

【０１４４】

さらなる例では、星状細胞表現型および反応性星状細胞表現型などのグリア表現型は、概して「星の形状」の形態などの星状細胞および反応性星状細胞の特徴的な形態学的態様、ならびにグリア線維性酸性タンパク質（ＧＦＡＰ）の存在などの特徴的な星状細胞および反応性星状細胞のタンパク質発現を包含するが、これらに限定されない。

【０１４５】

「核酸」という用語は、一本鎖、二本鎖、オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドを含む任意の形態で１つを超えるのヌクレオチドを有するＲＮＡまたはＤＮＡ分子を指す。「ヌクレオチド配列」という用語は、核酸の一本鎖形態におけるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド中のヌクレオチドの順序を指す。

【０１４６】

「ＮｅｕｒｏＤ１核酸」という用語は、単離されたＮｅｕｒｏＤ１核酸分子を指し、配列番号１もしくは配列番号３に記載のＤＮＡ配列、もしくはその相補体、もしくはその断片と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する単離されたＮｅｕｒｏＤ１核酸、または高ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号１もしくは配列番号３に記載の核酸、もしくはその相補体、もしくはその断片とハイブリダイゼーションする配列を有する単離されたＤＮＡ分子を包含する。

【０１４７】

配列番号３の核酸は、高ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で配列番号１に記載の核酸にハイブリダイゼーションする配列を有する単離されたＤＮＡ分子の例である。ＮｅｕｒｏＤ１核酸の断片は、ＮｅｕｒｏＤ１核酸を含む、本明細書に記載の態様において作動可能なＮｅｕｒｏＤ１核酸の任意の断片である。

【０１４８】

標的ＮｅｕｒｏＤ１　ｍＲＮＡまたはｃＤＮＡにハイブリダイゼーションすることができる核酸プローブまたはプライマーは、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードするｍＲＮＡまたはｃＤＮＡの検出および／または定量化に使用され得る。核酸プローブは、少なくとも１０、１５、３０、５０、または１００ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであり、ストリンジェントな条件下で、ＮｅｕｒｏＤ１　ｍＲＮＡもしくはｃＤＮＡまたはその相補配列に特異的にハイブリダイゼーションするのに十分であり得る。核酸プローブは、少なくとも、１０、１５または２０ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであり、ストリンジェントな条件下で、ｍＲＮＡもしくはｃＤＮＡまたはその相補配列に特異的にハイブリ

ダイゼーションするのに十分であり得る。

【０１４９】

「相補体」および「相補的」という用語は、ヌクレオチド間のワトソン－クリック塩基対合を指し、具体的には、２つの水素結合によるアデニン残基に連結されたチミンまたはウラシル残基、ならびに３つの水素結合によって連結されたシトシンおよびグアニン残基での互いに水素結合されたヌクレオチドを指す。概して、核酸は、特定の第２のヌクレオチド配列に対して、ある「パーセントの相補性」を有すると記載されるヌクレオチド配列を含む。例えば、ヌクレオチド配列は、特定の第２のヌクレオチド配列に対して８０％、９０％、または１００％の相補性を有し得、これは、配列の１０個のヌクレオチドのうち８個、１０個のヌクレオチドのうち９個、または１０個のヌクレオチドのうち１０個が、特定の第２のヌクレオチド配列に対して相補的であることを示す。例えば、ヌクレオチド配列３’－ＴＣＧＡ－５’は、ヌクレオチド配列５’－ＡＧＣＴ－３’に１００％相補的である。さらに、ヌクレオチド配列３’－ＴＣＧＡ－は、ヌクレオチド配列５’－ＴＴＡＧＣＴＧＧ－３’の領域に１００％相補的である。

【０１５０】

「ハイブリダイゼーション」および「ハイブリダイゼーションする」という用語は、相補的核酸の対合および結合を指す。ハイブリダイゼーションは、当技術分野で周知であるように、核酸の相補性の程度、核酸の融解温度、Ｔｍ、およびハイブリダイゼーション条件のストリンジェントさなどの要因に応じて、２つの核酸間で様々な程度に生じる。「ハイブリダイゼーション条件のストリンジェントさ」という用語は、ホルムアミドおよびデンハルト溶液などの特定の一般的な添加剤に関する、ハイブリダイゼーション媒体の温度、イオン強度、および組成の条件を指す。

【０１５１】

特定の核酸に関する特定のハイブリダイゼーション条件の決定は、日常的であり、例えば、Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｄ．Ｗ．Ｒｕｓｓｅｌｌ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；３ｒｄ Ｅｄ．，２００１、およびＦ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ，Ｅｄ．，Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ；５ｔｈ Ｅｄ．，２００２に記載されているように、当技術分野で周知である。高ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、実質的に相補的な核酸のハイブリダイゼーションのみを可能にする条件である。典型的には、約８５～１００％の相補性を有する核酸は、高度に相補的であると考えられ、高ストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする。中間ストリンジェントな条件は、中間の相補性である、約５０～８４％の相補性、および高い相補性を有する核酸がハイブリダイゼーションする条件によって例示される。対照的に、低ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、相補性の程度が低い核酸がハイブリダイゼーションする条件である。

【０１５２】

「特異的ハイブリダイゼーション」および「特異的にハイブリダイゼーションする」という用語は、試料中の標的核酸以外の核酸への実質的なハイブリダイゼーションを伴わない、特定の核酸の標的核酸へのハイブリダイゼーションを指す。

【０１５３】

ハイブリダイゼーションおよび洗浄条件のストリンジェントさは、当業者に周知のように、プローブおよび標的のＴｍならびにハイブリダイゼーションおよび洗浄条件のイオン強度を含むいくつかの要因に依存する。所望のハイブリダイゼーションのストリンジェントさを達成するためのハイブリダイゼーションおよび条件は、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２００１、およびＡｕｓｕｂｅｌ，Ｆ．ｅｔ ａｌ．，（Ｅｄｓ．），Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｗｉｌｅｙ，２００２

に記載されている。

【０１５４】

高ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の例は、３７℃で、６×ＳＳＣ、５×デンハルト溶液、３０％ホルムアミド、および１００マイクログラム／ｍｌの変性サーモン精子を含有する溶液中での約１００ヌクレオチド長にわたる核酸のハイブリダイゼーション、それに続く６０℃で１５分間、０．１×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳの溶液中の洗浄である。ＳＳＣは、０．１５ＭのＮａＣｌ／０．０１５Ｍのクエン酸ナトリウムである。デンハルト溶液は、０．０２％のウシ血清アルブミン／０．０２％のフィコール／０．０２％のポリビニルピロリドンである。高ストリンジェントな条件下で、配列番号１および配列番号３は、実質的に同一の標的の相補体にハイブリダイゼーションし、無関係な配列にはハイブリダイゼーションしない。

【０１５５】

神経学的状態の治療を必要とする対象において神経学的状態を治療する方法は、本開示の態様に従って提供され、それは、治療有効な（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸を対象の中枢神経系または末梢神経系のグリア細胞に送達することを含み、グリア細胞における治療有効量の（ｉ）本明細書に記載（例えば、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｄｌｘ２、およびＮｇｎ２）のポリペプチドのうちのいずれか、もしくはポリペプチドの任意の組み合わせをコードする外因性核酸、ならびに／または（ｉｉ）ｍｉｒ１２４およびｍｉｒ２１８をコードする外因性核酸は、同じ神経学的状態を有する未治療の対象と比較して、対象においてより多くのニューロンをもたらし、それによって神経学的状態が治療される。

【０１５６】

また、反応性グリア細胞のニューロンへの変換は、反応性グリア細胞に関連する神経炎症および神経阻害因子を低減し、それによって、神経学的状態が緩和されるように、グリア瘢痕組織をニューロン成長に対してより寛容にする。

【０１５７】

本明細書で使用される場合、「神経学的状態」または「神経学的障害」という用語は、追加のニューロンによって緩和、改善または予防される対象の中枢神経系の任意の状態を指す。ニューロンの喪失もしくは阻害、および／またはニューロン機能の喪失もしくは阻害をもたらす損傷または疾患は、本明細書に記載の方法による治療のための神経学的状態である。

【０１５８】

グルタミン酸作動性ニューロンの損失もしくは阻害、および／またはグルタミン酸作動性ニューロン機能の損失もしくは阻害をもたらす損傷または疾患は、本明細書に記載されるように治療され得る神経学的状態である。ＧＡＢＡ作動性、コリン作動性、ドーパミン作動性、ノルエピネフリン作動性、またはセロトニン作動性ニューロンなどの他の型のニューロンの喪失または阻害は、同様の方法で治療され得る。

【０１５９】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」という用語は、治療される神経学的状態の症状または徴候を緩和、改善、または予防するのに有効な本発明の組成物の量を意味することを意図している。特定の実施形態では、治療有効量は、神経学的状態の徴候および／または症状を有する対象において有益な効果を有する量である。

【０１６０】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療」、「治療すること」、「ＮｅｕｒｏＤ１治療」、ならびに「ＮｅｕｒｏＤ１およびＤｌｘ２治療」という用語、または文法的同等物は、神経学的状態、神経学的状態の症状または徴候を緩和、阻害または改善すること、および神経学的状態の症状または徴候を予防することを指し、治療的処置および／または予防的処置を含むが、これらに限定されない。

【０１６１】
神経学的状態の徴候および症状は、かかる徴候および症状の検出および評価方法とともに当技術分野で周知である。
【０１６２】
いくつかの場合では、対象の神経学的状態のための療法の組み合わせを施すことができる。
【０１６３】
特定の態様によれば、それを必要とする個々の対象におけるＣＮＳにおける正常な血流の途絶の影響を治療するために、対象に投与される追加の薬剤または治療的処置には、血栓の除去、血流の促進、１つ以上の抗炎症剤の投与、１つ以上の抗酸化剤の投与、および興奮毒性を低減するのに有効な１つ以上の薬剤の投与などの治療が含まれるが、これらに限定されない。
【０１６４】
「対象」という用語は、ヒトを指し、非ヒト霊長類、ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ、ブタならびにマウスおよびラットを含むがこれらに限定されないげっ歯類などであるがこれらに限定されない非ヒト哺乳動物、ならびに鳥類、家禽、爬虫類、両生類などであるがこれらに限定されない非哺乳類動物も指す。
【０１６５】
本発明の組成物および方法の実施形態は、以下の実施例において例示される。これらの実施例は、例示目的で提供されており、本発明の組成物および方法の範囲に対する限定とは見なされない。
【実施例】
【０１６６】
材料および方法
動物の使用
ＧＡＤ－ＧＦＰマウス（Ｔｇ［Ｇａｄ１－ＥＧＦＰ］９４Ａｇｍｏ／Ｊ）および野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスをＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙから購入し、社内で繁殖させた。２～４ヶ月齢のマウス（雄および雌の両方）を使用した。マウスを１２時間の明／暗サイクルで飼育し、十分な食物および水を供給した。すべての動物使用および研究は、Ｐｅｎｎｓｙｌｖａｎｉａ　Ｓｔａｔｅ　ＵｎｉｖｅｒｓｉｔｙのＩｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ（ＩＡＣＵＣ）によって承認された。すべての手順は、Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ（ＮＩＨ）の承認されたプロトコルおよび指針に従って実施された。
【０１６７】
レトロウイルスおよびＡＡＶの産生
ＣＡＧプロモーター（ｐＣＡＧ）下でＧＦＰおよびＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰを発現するレトロウイルスベクターを以前に記載した（Ｇｕｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌ，１４：１８８－２０２（２０１４））。レトロウイルスパッケージング、精製、および力価化を、前述のように行った（Ｇｕｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌ，１４：１８８－２０２（２０１４））。ＡＡＶ媒介遺伝子発現のために、Ｃｒｅ－Ｆｌｅｘ系を、ヒトＧＦＡＰ（ｈＧＦＡＰ）プロモーターを使用して、反応性星状細胞に特異的な標的導入遺伝子発現に適用した。ｐＡＡＶ－ｈＧＦＡＰ：：Ｃｒｅベクターを生成するために、まず、ｈＧＦＡＰプロモーターをＰＣＲによってｐＤＲＩＶＥ－ｈＧＦＡＰプラスミド（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ）から増幅し、ｐＡＡＶ－ＭＣＳ（Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌａｂ）のＭｌｕＩ部位とＳａｃＩＩ部位との間に挿入して、ＣＭＶプロモーターを置き換えた。次いで、Ｃｒｅ遺伝子コード断片を同様にｐｈＧＦＡＰ－Ｃｒｅ（Ａｄｄｇｅｎｅプラスミド＃４０５９１）からサブクローニングし、ｐＡＡ　ＶＭＣＳのＥｃｏＲＩ部位とＳａｌＩ部位との間に挿入した。導入遺伝子を発現するｐＡＡＶ－ＦＬＥＸベクターを構築するために、ＮｅｕｒｏＤ１、ｍＣｈｅｒｒｙまたはＧＦＰのコード配列を、対応するレトロウイルス構築物からのＰＣＲによって増幅した。ＮｅｕｒｏＤ１断片をＰ

２Ａ－ｍＣｈｅｒｒｙまたはＰ２Ａ－ＧＦＰのいずれかと融合させ、ｐＡＡＶ－ＦＬＥＸ－ＧＦＰベクター（Ａｄｄｇｅｎｅプラスミド＃２８３０４）のＫｐｎＩ部位とＸｈｏＩ部位との間にサブクローニングした。すべてのプラスミド構築物を、配列決定によって確認した。ＡＡＶ－ＣａｍＫＩＩ－ＧＦＰプラスミドをＡｄｄｇｅｎｅ（＃６４５４５）から購入した。ＡＡＶ産生のために、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、ｐＡＡＶ発現ベクター、ｐＡＡＶ９－ＲＣベクター（Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌａｂ）、およびｐＨｅｌｐｅｒベクター（Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌａｂ）でトランスフェクションし、導入遺伝子を担持するＡＡＶ粒子を産生した。トランスフェクションの３日後、細胞を培地中で削り取り、遠心分離した。次いで、上清を廃棄し、細胞ペレットを４回凍結融解し、不連続なイオジキサノール勾配で再懸濁させ、５４，０００ｒｐｍで２時間遠心分離した。最後に、ウイルス含有層を抽出し、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ａｍｉｃｏｎ　Ｕｌｔｒａ　Ｃｅｎｔｒｉｆｕｇａｌ　Ｆｉｌｔｅｒｓを使用してウイルスを濃縮した。ウイルス力価を、ＱｕｉｃｋＴｉｔｅｒ（商標）ＡＡＶ　Ｑｕａｎｔｉｔａｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌａｂｓ）を使用して決定し、次いで注射用に１×１０^{10}ゲノムコピー（ＧＣ）／ｍＬの最終濃度まで希釈した。

【０１６８】

椎弓切除術、損傷、および定位ウイルス注射

マウスを、ケタミン／キシラジン（８０～１２０ｍｇ／ｋｇのケタミン、１０～１６ｍｇ／ｋｇのキシラジン）の腹腔内注射によって麻酔した。その後、Ｔ１１～Ｔ１２椎骨で椎弓切除術を実施して、脊髄の背面表面を露出させ、刺損傷または挫傷損傷を実施した。刺損傷は、露出した表面の中心で、０．４ｍｍの深さで中心動脈の０．４ｍｍの外側で、３１ゲージの針を用いて実施され、挫傷損傷は、露出した表面の中心で直接Ｉｎｆｉｎｉｔｅ　Ｈｏｒｉｚｏｎ　Ｉｍｐａｃｔｏｒ（ＩＨ－０４００、Ｐｒｅｃｉｓｉｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　ａｎｄ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔａｔｉｏｎ）を用いて４５ｋｄｙｎの力で生成された。損傷の直後または指定された遅延のいずれかで、１．０μＬの濃縮されたウイルスを、０．０５μＬ／分の速度で、３４ゲージの注射針を備える５０μＬのハミルトンシリンジを使用して、刺損傷については同じ座標で、または挫傷損傷に対しては１ｍｍ離れた座標で注射した。次いで、注射後、針を所定の位置に３分間保持し、引き抜き中にウイルスを引き抜くことを防止した。次いで、抗生物質軟膏で手術区域を処置し、皮膚を１週間クリップして、皮膚を再縫合した。マウスを加熱パッド上に保持し、手術当日に皮下注射（５ｍｇ／ｋｇ）、および手術後３日間、飲料水（１０ｍｇ／ｋｇ）を介して痛みを緩和するためにカルプロフェンで処置し、より健康を完全に回復させるために１週間緊密に監視した。

【０１６９】

電気生理学

２．５％アベルチンによる麻酔および断頭によって、規定された時点でマウスを　殺した。次に、脊髄セグメントを脊椎から氷上の切断溶液（１２５ｍＭのＮａＣｌ、２．５ｍＭのＫＣｌ、１．３のＭｇＳＯ$_4$、２６ｍＭのＮａＨＣＯ$_3$、１．２５ｍＭのＮａＨ$_2$ＰＯ$_4$、２．０ｍＭのＣａＣｌ$_2$および１０ｍＭのグルコースはｐＨ７．４および２９５ｍＯｓｍ／Ｌに調整され、９５％のＯ$_2$／５％のＣＯ$_2$で１時間バブリングされた）に移し、アガロースマトリックス（Ｓｉｇｍａ）に封入し、ＶＴ３０００バイブラトーム（Ｌｅｉｃａ）を使用して３００μｍの厚さのスライスに切断した。次いで、スライスを保持溶液（９２ｍＭのＮａＣｌ、２．５ｍＭのＫＣｌ、１．２５ｍＭのＮａＨ$_2$ＰＯ$_4$、３０ｍＭのＮａＨＣＯ$_3$、２０ｍＭのＨＥＰＥＳ、１５ｍＭのグルコース、１２ｍＭのＮ－アセチル－Ｌ－システイン、５ｍＭのアスコルビン酸ナトリウム、２ｍＭのチオ尿素、３ｍＭのピルビン酸ナトリウム、２ｍＭのＭｇＳＯ$_4$、および２ｍＭのＣａＣｌ$_2$、ｐＨ７．４および２９５ｍＯｓｍ／Ｌに調整され、９５％のＯ$_2$／５％のＣＯ$_2$で連続的にバブリングされた）中で室温で１時間インキュベーションした後、標準ＡＣＳＦ（１２５ｍＭのＮａＣｌ、２．５ｍＭのＫＣｌ、１．２５ｍＭのＮａＨ$_2$ＰＯ$_4$、２６ｍＭのＮａＨＣＯ$_3$、１．３ｍＭのＭｇＳＯ$_4$、２．５ｍＭのＣａＣｌ$_2$、および１０ｍＭのグルコースをｐ

Ｈ７．４および２９５ｍＯｓｍ／Ｌに調整し、９５％のO_2／５％のCO_2で１時間バブリングした）中でパッチクランプ記録した。天然および変換された細胞の両方を、膜電位が－７０ｍＶで保持された標準的な内部溶液（１３５ｍＭのＫ－グルコネート、１０ｍＭのＫＣｌ、５ｍＭのナホスホクレアチン、１０ｍＭのＨＥＰＥＳ、２ｍＭのＥＧＴＡ、４ｍＭのＭｇＡＴＰ、および０．５ｍＭのNa_2GTP、ｐＨ７．４および２９５ｍＯｓｍ／Ｌに調整された）を使用して、全細胞記録によって記録した。ピペットおよび総直列抵抗についての典型的な値は、それぞれ２～１０ＭΩおよび２０～６０ＭΩであった。１０ｋＨｚでサンプリングし、１ｋＨｚでフィルタリングすることによって、ｐＣｌａｍｐ９ソフトウェア（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）を使用してデータを収集した。次いで、データを分析し、Ｃｌａｍｐｆｉｔ９．０ソフトウェア（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）でプロットした。

【０１７０】

免疫組織化学、免疫細胞化学、および顕微鏡法

灌流後、脊髄の標的領域（長さ約０．５ｃｍ）を外科的に解離し、ＰＢＳ中４％のパラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）中で１日間固定し、３０％のスクロース溶液中で１日間脱水し、Ｌｅｉｃａ　ＣＭ１９５０クライオスタットを使用して３０μｍの冠状または水平スライスに切片化した。スライスは、損傷部位からの距離が後で確認できるように、２４ウェルプレート中に連続的に収集された。次いで、試料をＰＢＳ中０．０２％のアジ化ナトリウム（NaN_3）中で４℃で保存して、細菌分解を防止した。蛍光顕微鏡下で貯蔵溶液中のレポータータンパク質（ｍＣｈｅｒｒｙまたはＧＦＰ）を検査することにより、後角の感染に基づく免疫組織化学のために脊髄スライスを選択した。刺損傷実験の場合では、組織の完全性を確保するために、損傷部位から少なくとも１００μｍ離れた冠状スライスを選択するように注意した。染色の初日に、試料を、１回の洗浄当たり５分間、ＰＢＳ中で３回洗浄し、ＰＢＳ中２％のＴｒｉｔｏｎＸ－１００で、２０分間、透過させ、ＰＢＳ中５％の正常ロバ血清（ＮＤＳ）および０．１％のＴｒｉｔｏｎ－Ｘを使用して、２時間ブロッキングし、抗体の非特異的結合を低減させた。次いで、試料を、４℃で、同じブロッキング緩衝液中に希釈した一次抗体で二晩インキュベーションし、抗体の完全に浸透させた。３日目に、試料を室温に戻し、１回の洗浄当たり５分間、ＰＢＳ中で３回洗浄し、ブロッキング緩衝液中に希釈した二次抗体で１時間インキュベーションした。最後に、試料を、１回の洗浄当たり１０分間、ＰＢＳ中で３回洗浄し、退色防止封入溶液（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して、カバースリップを備えるガラススライド上に封入した。免疫染色した試料を検査し、Ｏｌｙｍｐｕ　ＦＶ１２００およびＺｅｉｓｓ　ＬＳＭ８００レーザー共焦点顕微鏡を使用して撮像した。試料の全厚さについてのインビボ画像のためにＺスタックを収集し、最大強度およびＺスタック投影を、画像調製および分析に使用した。

【０１７１】

定量およびデータ分析

上記の慎重に選択された注射座標の結果として、感染した細胞は、脊髄の後角、レクセド層１～６（（Ｒｅｘｅｄ，Ｊ．Ｃｏｍｐ．Ｎｅｕｒｏｌ．，１００：２９７－３７９（１９５４））において大部分に見出された。細胞変換およびＮｅｕＮ取得を含む定量化の大部分について、細胞がこの領域の任意の部分に現れた場合、細胞の数を数えた。細胞亜型（図３および４）に基づく定量化のために、細胞は、小さな興奮性介在ニューロンによって支配され、その高い細胞密度により容易に区切られる領域である実体ゼラチン質を中心としたレクセド層１～３に現れた場合にのみ、数を数えた（Ｓａｎｔｏｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．，５８１：２４１－２５４（２００７））。この領域は、区切りが容易であり、ニューロン亜型の一貫した局所集団が試料ごとに予測され得るように選択された。ガイドとしてのＺスタックされた画像および層状スタックを使用して収集された画像に対して定量化を実施し、垂直方向の寸法を確認した。陽性シグナルの厳密なバックグラウンドカットオフを、関連組織および抗体の平均バックグラウンド強度の３倍として各チャネルについて計算した。感染した細胞を同定するためにウイルスフルオロフォア

（ｍＣｈｅｒｒｙまたはＧＦＰ）を、数を数えるための各細胞を確認するためにＤＡＰＩを使用し、問題の各マーカーの存在（すなわち、バックグラウンドカットオフより上）または非存在（すなわち、バックグラウンドカットオフより下）によって細胞をビニングした。発明者らの挫傷実験について感染当たりの変換されたニューロンの総数を推定するために、１個の背側、１個の中央、および１個の腹側切片から計算された水平切片当たりのＮｅｕＮ＋の感染した細胞の平均数に、試料当たりの水平切片の総数を掛けた。すべての定量化は、データポイントごとに３つの生物学的複製に対して実施され、３つの複製の平均および標準偏差として報告される。

【０１７２】

実施例１－ＮｅｕｒｏＤ１は、損傷された脊髄において反応性星状細胞をニューロンにリプログラミングする

ＳＣＩは何十年間も研究されているが、ＳＣＩ患者を治療するための療法はまだ限られている。軸索変性に加えて、ＳＣＩに続くニューロン損失は、機能回復のための主要な障害である。以前に、脳損傷後の反応性星状細胞においてＮｅｕｒｏＤ１を発現することは、星状細胞をニューロンに直接変換することができることを実証した（Ｇｕｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌ，１４：１８８－２０２（２０１４））。本研究では、かかるインビボ直接変換技術を使用して、損傷した脊髄における機能的な新たなニューロンを再生することができるかどうかを調査した。損傷後の分裂反応性星状細胞を標的とするために、主に分裂細胞において異所性遺伝子を発現するが、分裂できないニューロンにおいては発現しないレトロウイルスを用いた。多くの分裂反応性星状細胞が検出された刺損傷の４日後（ｄｐｉ）（Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，２８：１０９８３－１０９８９（２００８）、およびＨｏｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｌｉａ，６２：２０４４－２０６０（２０１４））にＮｅｕｒｏＤ１発現レトロウイルスを注射し、注射の１週間後、３週間後、および６週間後（ｗｐｉ）に試料を分析した（図１Ａ）。本研究では、脊髄の後角は、興奮性ニューロンおよび阻害性ニューロンの両方で構成されており、求心性の感覚情報処理に重要であるため、主要な目的の領域として選択した（図１Ｂ）。脊髄の前角における運動ニューロンの再生を別々に研究した。まず、発明者らの対照ＣＡＧ：：ＧＦＰレトロウイルスによって感染した細胞型を探索した。１ｗｐｉにおいて、対照ＧＦＰレトロウイルスは、反応性星状細胞（ＧＦＡＰ＋およびいくつかのＧＦＡＰ＋／Ｏｌｉｇ２＋）、乏突起膠細胞前駆細胞（ＯＰＣ）（Ｏｌｉｇ２＋）、およびミクログリア（Ｉｂａ１＋）を含むグリア細胞型の混合物に感染した（図１Ｃおよび１Ｄ）が、ＮｅｕＮ＋ニューロンには感染しなかった（図１Ｄ）ことが見出された。対照的に、ＣＡＧ：：ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰレトロウイルスによって感染した細胞は、ニューロン形態を有するＮｅｕＮ＋細胞の数が経時的に増加することを示し（図１Ｅ）、６ｗｐｉで高効率である９３．５％に定量的に到達し（図１Ｆ）、損傷した脊髄における成功裏なグリアからニューロンへの変換を示した。

【０１７３】

レトロウイルスは反応性グリア細胞を標的にすることができるが、ウイルス感染時の分裂グリア細胞の数は制限され得る。導入遺伝子発現が星状細胞特異的ＧＦＡＰプロモーターによって制御されるＡＡＶ遺伝子送達系を採用した（図２Ａ）。具体的には、２つのＡＡＶベクターを含有するＣｒｅ－Ｆｌｅｘ遺伝子発現系を使用し、一方はＧＦＡＰ－Ｃｒｅをコードし、他方は二重ＬｏｘＰ部位に隣接する逆の形態で導入遺伝子をコードした（ＦＬＥＸベクター）（Ａｔａｓｏｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，２８：７０２５－７０３０（２００８）、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＢｉｏＲｘｉｖ，Ａｐｒ．４，２０１８、ｄｏｉ：ｈｔｔｐ：／／ｄｘ．ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１１０１／２９４９６７）、およびＬｉｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，３５：９３３６－９３５５（２０１５））。したがって、２つのＡＡＶを脊髄に共注射する場合、Ｃｒｅ組換え酵素は、感染した反応性星状細胞において発現され、導入遺伝子配列を転写のための正しい形態にフリップさせることによって、ＦＬＥＸベクターにおける導入遺伝子発現をオンにする（図２Ｂ）。まず、ＡＡＶ　ＧＦＡＰ：：ＣｒｅおよびＡＡＶ　ＦＬＥＸＣＡＧ：

：ｍＣｈｅｒｒｙ（または：：ＧＦＰ）を刺損傷した後角内に共注射することによって、脊髄におけるＣｒｅ－Ｆｌｅｘ　ＡＡＶ系の特異性を確認した。対照のウイルス感染した細胞は、４ｗｐｉで、大部分がＧＦＡＰ＋、ＮｅｕＮ－星状細胞であった（図２Ｃ）。次に、ＡＡＶ　ＦＬＥＸ－ＣＡＧ：：ＮｅｕｒｏＤ１－Ｐ２Ａ－ｍＣｈｅｒｒｙとともにＡＡＶ　ＧＦＡＰ：：Ｃｒｅを刺損傷した後角に共注射した。対照ＡＡＶとは対照的に、ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙ感染した細胞は、４ｗｐｉで、大部分が明確なニューロン形態を有するＮｅｕＮ＋／ＧＦＡＰ－ニューロンであった（図２Ｄ）。感染した細胞におけるＮｅｕｒｏＤ１の過剰発現を、免疫染色によって確認した（図８）。興味深いことに、ＮｅｕＮ＋／ＧＦＡＰ変換されたニューロンに加えて、２ｗｐｉでＧＦＡＰ＋およびＮｅｕＮ＋の両方の共免疫染色を伴う多くのＮｅｕｒｏＤ１－ＡＡＶ感染した細胞を観察し（図２Ｅ）、星状細胞－ニューロン変換の間の潜在的な中間段階を示唆した。星状細胞におけるＮｅｕｒｏＤ１発現によって誘導されたこれらのＧＦＡＰ＋／ＮｅｕＮ＋細胞を、「ＡｔＮ遷移細胞」と称した。損傷後の対照ｍＣｈｅｒｒｙ感染脊髄において、かかる遷移細胞は観察されず、ＡｔＮ変換は神経損傷後には起こらないが、ＮｅｕｒｏＤ１などの転写因子の異所性発現によって誘導され得ることが示唆された。定量分析は、対照のＡＡＶ感染した細胞が、８ｗｐｉまでＧＦＡＰ＋星状細胞が大部分であることを明らかにした（図２Ｆ、左バー）が、ＮｅｕｒｏＤ１　ＡＡＶ感染した細胞は、ニューロンのパーセンテージが２～８ｗｐｉで漸進的に増加し（ＮｅｕＮ＋／ＧＦＡＰ－、図２Ｆの右バー）、８ｗｐｉで約９５％に達したことを示した（図２Ｆ、最右バー）。２ｗｐｉにおいて、ＮｅｕｒｏＤ１感染した細胞の６０％超が、ＧＦＡＰ＋／ＮｅｕＮ＋遷移細胞（図２Ｆの中央バー）であり、これは、ＮｅｕｒｏＤ１感染した細胞集団中のＧＦＡＰ＋星状細胞（図２Ｆの左バー）の減少とともに、４ｗｐｉおよび８ｗｐｉにおいて徐々に減少した。さらなる分析は、遷移細胞も変換されたニューロンも、顕著な細胞死を示さないことを示し、アポトーシスが、ＮｅｕｒｏＤ１媒介の細胞変換プロセス中に顕著な役割を果たさないことを示唆した（図９）。Ｎｇｎ２媒介またはＡｓｃｌ１媒介のＡｔＮ変換（Ｇａｓｃｏｎｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌ，１８：３９６－４０９（２０１６））と比較すると、ＮｅｕｒｏＤ１媒介の変換プロセス中に、アポトーシスの検出がより少なく、これは、異なる転写因子が異なるシグナル伝達経路および代謝経路を介して作用して細胞変換を行うことを示唆する可能性がある。

【０１７４】

実施例２－ＮｅｕｒｏＤ１は、背側脊髄の星状細胞をＴｌｘ３＋グルタミン酸作動性ニューロンに変換する

脊髄における星状細胞からニューロンへの変換を実証した後、次に、どの亜型のニューロンがＮｅｕｒｏＤ１媒介の変換を介して生成されたかを調査した。脊髄の後角は、２つの主要なニューロン亜型：グルタミン酸作動性およびＧＡＢＡ作動性ニューロンを含有する（Ａｂｒａｉｒａ　ａｎｄ　Ｇｉｎｔｙ，Ｎｅｕｒｏｎ，７９：６１８－６３９（２０１３）。脊髄の発達の間、２つの転写因子、Ｔｌｘ３およびＰａｘ２は、後角における細胞の運命の仕様を決定するのに役割を果たしているようである（Ｃｈｅｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，８：１５１０－１５１５（２００５）、およびＨｕａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｄｅｖ．Ｂｉｏｌ．，３２２：３９４－４０５（２００８））。興味深いことに、８ｗｐｉに後角におけるＡＡＶ　ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ感染した細胞を調べることにより、ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの大部分がＴｌｘ３＋（６２．６±３．３％）であることを見出し、大部分のグルタミン酸作動性ニューロン亜型を示唆した（図３Ａ）。対照的に、後角におけるＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの僅かなパーセンテージが、Ｐａｘ２＋（８．８±１．３％）であり、少数のＧＡＢＡ作動性ニューロン亜型を示唆した（図３Ａ）。ＡＡＶは、僅かな割合のニューロン（図２Ｆ、対照）に感染する可能性があるため、さらに、６ｗｐｉで後角におけるレトロウイルスＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ感染した細胞を検査し、発明者らのＡＡＶ実験と同様に、レトロウイルスＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンが主にＴｌｘ３＋であることを見出した（図３Ｂ）。対照として、未損傷および未治療のマウスの脊髄の後角におけるＴｌｘ３＋およ

びＰａｘ２＋ニューロンの割合を定量化し、Ｔｌｘ３＋およびＰａｘ２＋細胞の天然の割合が、それぞれ６２．０±６．４％および１４．２±２．０％であることを見出した（図３Ｃ、左の２つのバー）。比較すると、ＡＡＶ　ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロン中のＴｌｘ３＋およびＰａｘ２＋ニューロンの割合は、それぞれ、６２．６±３．３％および８．８±１．３％であり（図３Ｃ、中央の２つのバー）、レトロウイルスＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロン中のＴｌｘ３＋およびＰａｘ２＋ニューロンの割合は、５０．３±１７．０％および１６．４±４．３％であった（図３Ｃ、右の２つのバー）。これらの結果は、脊髄の後角におけるＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの大部分がＴｌｘ３＋ニューロンであり、僅かな割合がＰａｘ２＋ニューロンであることを示唆している。

【０１７５】

グルタミン酸作動性ニューロンを同定するためにＡＡＶ　ＣａＭＫＩＩ－ＧＦＰを使用し、ＧＡＢＡ作動性ニューロンを同定するためにＧＡＤ－ＧＦＰトランスジェニックマウスを使用して、ＮｅｕｒｏＤ１変換後のニューロン亜型をさらに確認した。ＡＡＶ　ＧＦＡＰ：：ＣｒｅおよびＦｌｅｘ－ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙをＡＡＶ　ＣａＭＫＩＩ：：ＧＦＰとともに共注射した場合（Ｄｉｔｔｇｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ，１０１：１８２０６－１８２１１（２００４））、Ｔｌｘ３＋を共発現するＧＦＰ＋細胞を８９．５±５．２％（ｎ＝３）観察し、これらのＴｌｘ３＋ニューロンが実際にグルタミン酸作動性であることを確認した（図３Ｄ）。多くのＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙ変換されたニューロンもＣａＭＫＩＩ－ＧＦＰと共局在し（図３Ｄ）、それらがグルタミン酸作動性ニューロンであることを示唆した。ＧＡＢＡ作動性ニューロンがＧＦＰで遺伝的に標識されているＧＡＤ－ＧＦＰマウス（ｎ＝３）にＡＡＶ　ＧＦＡＰ：：ＣｒｅおよびＦｌｅｘ－ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙを注射する場合、Ｔｌｘ３＋とのＧＡＤ－ＧＦＰの共発現は、予想されるようには観察されなかった。実際には、ＣａＭＫＩＩおよびＧＡＤマーカーは、内因性Ｔｌｘ３＋およびＰａｘ２＋ニューロンとも同様に一致して共染色され、これは、未損傷の未処置マウスにおける脊髄の後角において観察された（図１０）。したがって、脊髄の後角におけるＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの大部分は、マウス皮質における発明者らの発見（Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＢｉｏＲｘｉｖ，Ａｐｒ．４，２０１８；ｄｏｉ：ｈｔｔｐ：／／ｄｘ．ｄｏｉ．ｏｒｇ／１０．１１０１／２９４９６７）と一致するグルタミン酸作動性ニューロンである。

【０１７６】

実施例３－ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンは、領域特異的ニューロン亜型マーカーを発現する

ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンは、マウス皮質および脊髄の両方において主にグルタミン酸作動性ニューロンであるようであるが、さらに、それらが同じ型のグルタミン酸作動性ニューロンであるかどうかを調査した。この目的のために、同じＡＡＶ　ＧＦＡＰ：：ＣｒｅおよびＡＡＶ　ＦＬＥＸ－ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙをマウスＭ１運動皮質内および脊髄内に注射し、次いで、４ｗｐｉに皮質ニューロンマーカー（ＦｏｘＧ１およびＴｂｒ１）および脊髄ニューロンマーカー（Ｔｌｘ３およびＰａｘ２）の両方を使用して連続免疫染色を実施した（図４）。ＮｅｕｒｏＤ１感染した細胞の大部分は、４ｗｐｉで脳および脊髄の両方においてニューロンに変換された（図４Ａおよび４Ｃ）。顕著なことに、脊髄に対して脳におけるＮｅｕｒｏＤ１媒介の変換から生じるニューロン亜型を並べて比較したところ、明確なパターンが現れた。マウス皮質における変換されたニューロンは、ＦｏｘＧ１（６６．１±１４．３％）およびＴｂｒ１（１７．１±１．９％）などの皮質ニューロンマーカーを獲得したが、Ｔｌｘ３（０％）またはＰａｘ２（０％）などの脊髄ニューロンマーカーは獲得しなかった（図４Ａおよび４Ｂ）。対照的に、脊髄における変換されたニューロンは、脊髄ニューロンマーカーのＴｌｘ３（４６．４±２．２％）およびＰａｘ２（４．２±０．３％）を獲得したが、皮質ニューロンマーカーのＦｏｘＧ１（０％）またはＴｂｒ１（０．６±０．５％）は獲得しなかった（図４Ｃおよび４Ｄ）。形態学的に、脳における変換されたニューロンは、より大きな細胞体を有する皮質錐体ニューロンに似ており（図４Ａ）、脊髄におけるものは、より小さな細胞体を有

する後角介在ニューロンに似ていた（図４Ｃ）。皮質における変換されたニューロン中のＴｂｒ１＋細胞の割合の相対的な低さは、新たに変換されたニューロンが、４ｗｐｉでは十分に成熟しておらず、それらのニューロン同一性を完全に獲得するのにより長い時間を要する可能性があることを示唆する。脊髄に対して脳における同じ転写因子による変換後のニューロン同一性のこれらの明確な違いは、グリア細胞系統、ここでは皮質系統対脊髄系統、および局所環境が、変換されたニューロンの結果として生じる亜型に重要な影響を及ぼす可能性があることを示唆している。

【０１７７】

実施例４－ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンは、生理学的に機能している

ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンの機能および回路統合を試験するために、８～１０ｗｐｉで　殺されたマウス由来の脊髄スライス上の天然ニューロンおよび変換されたニューロンのパッチクランプ電気生理学的記録を実施した（図５Ａ）。変換されたニューロンは、反復活動電位を生成し（図５Ｂ）、大きなＮａ＋およびＫ＋電流を示し得る（図５Ｃ）。さらに、ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンから堅牢な自発的ＥＰＳＣを検出した（図５Ｄ）。定量的に、ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンが、隣接する天然ニューロンと同様のレベルのＮａ＋電流（図５Ｅ）および自発的ＥＰＳＣを示したことを見出した（図５Ｆ）。ＳＶ２およびＶＧｌｕｔ１／ＶＧｌｕｔ２を含む一連のシナプスマーカーでの免疫染色により、ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンが多数のシナプス点に囲まれており、それらの多くがニューロン細胞体および樹状突起を直接支配していることがさらに確認された（図５Ｇおよび５Ｈ、シアン色および黄色の点）。最後に、機能的タスク中にニューロン活性によって典型的に活性化される前早期遺伝子であるｃＦｏｓは、ＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンのうちのいくつかにおいて明らかに検出され、それらが局所脊髄回路において機能的に活性であることを示した（図５Ｉ）。これらの結果は、ＮｅｕｒｏＤ１が、損傷された脊髄の後角において反応性星状細胞を機能的ニューロンにリプログラミングすることができることを実証している。

【０１７８】

実施例５－挫傷性ＳＣＩモデルにおけるＮｅｕｒｏＤ１媒介の細胞変換

臨床的状況により近づけるために、挫傷性ＳＣＩモデルにおけるＮｅｕｒｏＤ１媒介のニューロン変換を評価した。刺損傷と比較して、挫傷性損傷（例えば、ピストン駆動の金属棒を使用して区域を打撃することによって生じる挫傷性損傷）は、はるかに重度の損傷環境を作り出し、それはニューロン変換の効率および変換されたニューロンの生存に影響を与える可能性がある。したがって、挫傷性ＳＣＩの後に発明者らのＡＡＶ　ＧＦＡＰ：：ＣｒｅおよびＦｌｅｘ－ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ系を試験するための２つの実験を実施した。１つは、急性損傷に対する応答としての発明者らの処置を試験するための短い遅延の注射（図６）、および１つは、慢性損傷に対する応答としての発明者らの処置を試験するための長い遅延の注射（図７）。短い遅延の実験の利点は、反応性星状細胞の損傷後増殖を利用することによって感染率を最大化することであり、長い遅延の実験の利点は、損傷誘導性神経炎症を次第に下げ、挫傷損傷の二次的な影響を最小限に抑えることによって、変換後のニューロンの生存を最大化することである。短い遅延の実験では、ウイルス注射は、挫傷性損傷の１０日後に行われ、組織は、ウイルス感染の６週間後に収集された（図６Ａ）。損傷コアを回避するために、挫傷部位から１ｍｍ離れてウイルス注射を実施した（図６Ｂ）。損傷コアは、挫傷後に明らかであり、ＮｅｕＮ＋ニューロン細胞体の喪失によって特徴付けられる（図６Ｃ、＊で標識される）。挫傷の１０日後のウイルス注射は、対照ＧＦＰ群およびＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ群の両方において損傷コアにお周りを囲む多くのＧＦＰ＋細胞をもたらし（図６Ｃ）、挫傷性ＳＣＩモデルにおける良好な感染率およびＡＡＶ感染した細胞の生存を示した。一方、ＡＡＶ　ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ感染した細胞は、対照ＧＦＰ群と劇的な形態学的差異を示した（図６Ｃ）。図６Ｃの拡大画像に示されるように、対照群におけるＧＦＰ感染した細胞は、典型的な星状細胞形態を示し、ＧＦＡＰシグナル（マゼンタ色に染色）との共局在を示したが、ニューロンマーカーのＮｅｕＮ（赤色に染色）とのどんな共局在も示すことはほとんどなかった。対照的に、Ｎｅ

ｕｒｏＤ１－ＧＦＰ感染した細胞は、多くの場合、ＮｅｕＮと共局在化したが、ＧＦＡＰと共局在化することはほとんどなく（図６Ｃ）、ニューロンの変換に成功したことを示した。定量的に、変換されたニューロンの総数を数え、病変コア区域の周りを囲む約２，６００個の細胞であった（図６Ｄ）。ＮｅｕＮ免疫反応性によって測定した短い遅延の実験におけるＮｅｕｒｏＤ１媒介のニューロン変換の効率は約５５％であった（図６Ｅ）が、残りの細胞は大部分がＧＦＡＰ＋であった（図６Ｆ）。対照的に、ＧＦＰ感染した細胞は、大部分がＧＦＡＰ＋星状細胞であり、ＮｅｕＮ＋ニューロンはほとんどなかった（ＧＦＰ群では、ＮｅｕＮ＋が３．９％のみであった）（図６Ｅおよび６Ｆ）。

【０１７９】

発明者らの長い遅延の実験では、挫傷後にグリア瘢痕が良好に形成されている挫傷性損傷の４ヶ月後にウイルス注射を実施し、ウイルス感染の１０週間後に組織を収集した（図７Ａ）。図７Ｂは、ＧＦＰ、ＮｅｕＮ、およびＧＦＡＰの免疫染色を伴う脊髄の全体的な形態を示す。短い遅延の実験と同様に、病変コア（＊で標識）もＮｅｕＮ＋ニューロンを欠いていた。対照のＡＡＶ　ＧＦＰ単独群では、ウイルス感染した細胞は主にＳ１００ｂ＋星状細胞であった（図７Ｃ）が、どんなＮｅｕＮ＋シグナルも示すことはほとんどなかった（図７Ｄ、上段）。対照的に、ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ感染した細胞の大部分は、ＮｅｕＮ＋ニューロンに変換された（図７Ｄ、下段、図７Ｅにおいて定量化）。ＮｅｕｒｏＤ１媒介の変換効率は＞９５％と非常に高い効率に達した（図７Ｅ）。免疫染色により、ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ感染した細胞におけるＮｅｕｒｏＤ１の過剰発現を確認した（図７Ｆ）。さらに、１０ｗｐｉでのＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンは、多くのシナプス点（ＳＶ２）によって周りを囲まれ、それらのいくつかは、細胞体および樹状突起を直接支配している（図７Ｇ、黄色の点）。また、局所的な脊髄機能回路に統合されることができることを示すＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロン中のｃ－Ｆｏｓ＋細胞を同定した（図７Ｈ）。最後に、１０ｗｐｉでの挫傷性ＳＣＩモデルにおけるＮｅｕｒｏＤ１変換されたニューロンのうちのいくつかは、発明者らの刺損傷モデルと一致する、後角におけるＴｌｘ３の発現を介したグルタミン酸作動性亜型を示した（図７Ｉ）。総じて、これらの結果は、ＮｅｕｒｏＤ１の過剰発現が、急性および慢性の両方の治療条件下で、挫傷性ＳＣＩの後に、反応性星状細胞を機能的ニューロンにリプログラミングすることができ、グリア瘢痕形成の後に、より高い変換効率が達成されることを示している。この臨床的に関連するモデルは、インビボでの細胞変換技術を使用してＳＣＩ後の機能改善をさらに試験するために、将来の研究で使用することができる。

【０１８０】

実施例６－星状細胞からニューロンへの変換

Ｍｉｒ１２４、ＮｅｕｒｏＤ１、Ｉｓｌ１、Ｌｈｘ３、Ｎｇｎ２、またはそれらの組み合わせの核酸駆動発現をマウスの前角に導入し、星状細胞をニューロンへ変換することが見出され、変換されたニューロンのいくつかは、典型的な運動ニューロンマーカーであるＣｈＡＴの免疫染色陽性によって運動ニューロンの特性を示す（図１１～１６）。

【０１８１】

実施例７－ＮｅｕｒｏＤ１およびＤｌｘ２媒介の細胞変換

以下を実施し、ＮｅｕｒｏＤ１と他の転写因子とを組み合わせることにより、ＧＡＢＡ作動性ニューロンの割合を増加させることが可能であるかどうかを調査した。１：１の比率のＡＡＶ５　ＦＬＥＸ－ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙおよびＡＡＶ５　ＦＬＥＸ－Ｄｌｘ２－ｍＣｈｅｒｒｙを、ＡＡＶ５－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅと組み合わせて（図２６、ｎ＝３）注射に使用した。まず、ウイルス感染後の免疫染色で、ＮｅｕｒｏＤ１およびＤｌｘ２の共発現を確認した（図２６Ａ）。免疫染色実験は、多くのＮｅｕｒｏＤ１＋Ｄｌｘ２変換されたニューロンがＴｌｘ３$^{+}$またはＰａｘ２$^{+}$ニューロンであることを実証した（図２６Ｂ）。定量分析により、３２．５±２．１％のＮｅｕｒｏＤ１＋Ｄｌｘ２変換されたニューロンがＰａｘ２$^{+}$ニューロンであったことが明らかになり（図２６Ｃ）、ＮｅｕｒｏＤ１単独で生成されたニューロンと比較して５倍の増加であった（６．３％、ｐ＝０．０５、クラスカル・ウォリスＨ－検定）。ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｄｌｘ２によって生成さ

れたＴｌｘ３$^{+}$ニューロンの割合は、５６．２±３．４％であった（図２６Ｃ）。ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｄｌｘ２変換されたニューロンのＧＡＢＡ作動性同一性を、さらにＧＡＤ－ＧＦＰマウスにおいて確認し、ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｄｌｘ２変換されたニューロンは、Ｐａｘ２およびＧＡＤ－ＧＦＰ＋の両方で陽性であった（図２６Ｄ、ｎ＝３、４ｗｐｉ）。これらの結果は、脊髄の後角における新たに変換されたＴｌｘ３$^{+}$対Ｐａｘ２$^{+}$ニューロンの比率が、ＮｅｕｒｏＤ１およびＤｌｘ２転写因子の組み合わせを介して決定され得ることを実証している。

【０１８２】

実施例８－ＡＬＳの治療

ＡＬＳのマウスモデル（ＳＯＤ１＊Ｇ９３Ａ）を使用して、脊髄における運動ニューロンを再生し、ＡＬＳマウスにおける運動機能を回復するためにインビボの星状細胞からニューロンへの変換技術を使用して、遺伝子療法処置を調査した。

【０１８３】

対照実験として、ＡＡＶ９－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－ｍＣｈｅｒｒｙを使用して星状細胞に感染させた。ＡＡＶ９－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙ、またはＡＡＶ９－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－Ｉｓｌ１－ｍＣｈｅｒｒｙ、またはＡＡＶ９－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－ＮｅｕｒｏＤ１－ＧＦＰ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－Ｌｈｘ３－ｍＣｈｅｒｒｙを用いて、脊髄内注射または髄腔内注射を介して、脊髄における星状細胞をニューロンに変換した。

【０１８４】

脊髄の前角にＮｅｕｒｏＤ１、またはＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１、またはＮｅｕｒｏＤ１＋Ｌｈｘ３を発現するＡＡＶ９の注射はすべて、ＡＬＳマウスにおいてＣｈＡＴ＋運動ニューロンを生成したが、対照のｍＣｈｅｒｒｙ単独のＡＡＶ感染した細胞は、星状細胞のままであった（図２７～２９）。

【０１８５】

ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するＡＡＶ９での処置もまた、Ｉｂａ１およびＣＤ１１ｂシグナルの低減として示されるように、神経炎症を低減した（図３０）。

【０１８６】

さらに、ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するＡＡＶ９での処置は、ＡＬＳマウスの体重、脚の伸張能力、吊り下げワイヤ持続時間、およびオープンフィールド可動性も部分的に救出した。キャットウォーク試験はさらに、ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１を発現するＡＡＶ９での処置が、ＡＬＳマウスにおける後足の足跡面積を増加させたことを見出した（図３１～３３）。図１７～２５も参照されたい。これらの結果は、少し多くの運動ニューロンが頸髄に現れたことを実証している。運動ニューロンは、対照群およびＮｅｕｒｏＤ１－Ｉｓｌ１－Ｌｈｘ３（ＤＩＬ）群の両方において、腰髄において深刻に変性した。Ｉｂａ１シグナルは、対照群におけるより多くのミクログリアを明らかにし、ＣＤ３１およびＬｙ６Ｃ染色により、血管において大きな差はなかったことが明らかになった。また、マクロファージマーカーのＣＤ１１ｂを、ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１およびＮｅｕｒｏＤ１＋Ｌｈｘ３を含む因子の組み合わせで検査した。これらの組み合わせのうち、ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｉｓｌ１は、ＮｅｕｒｏＤ１＋Ｌｈｘ３群またはＧＦＰ対照群と比較して、ＣＤ１１ｂシグナルのより大きな低減をもたらした。

【０１８７】

まとめると、これらの結果により、遺伝子療法処置が星状細胞をニューロンに著しく変換し得、再生された運動ニューロンがＡＬＳマウスの運動機能を改善し得ることが確認された。図１７～２５も参照されたい。

【０１８８】

動物の使用

この実施例では、Ｂ６．Ｃｇ－Ｔｇ（ＳＯＤ１＊Ｇ９３Ａ）ｄｌ１Ｇｕｒ／Ｊマウス（Ｔｈｅ　Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）をＣ５７ＢＬ／６Ｊ雌（Ｔｈｅ　Ｊａ

ｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）と交配させ、純粋な背景のマウスを得た。マウスを離乳後（Ｐ２１－２７）にヒトＳＯＤ１に対するＰＣＲにより遺伝子型決定し、変異のない同腹子を正常マウスとして使用した。マウスを１２時間の明／暗サイクルで飼育し、十分な食物および水を供給した。

【０１８９】

椎弓切除術、損傷、および定位ウイルス注射

ＳＯＤ１Ｇ９３Ａマウスを、ケタミン／キシラジン（８０～１２０ｍｇ／ｋｇのケタミン、１０～１６ｍｇ／ｋｇのキシラジン）の腹腔内注射によって麻酔し、続いて背面の毛皮を刈り、定位的設定に配置した。保護の目的のために、人工眼用軟膏を塗布して眼をカバーした。次いで、Ｔ１１～Ｌ１椎骨で椎弓切除術を実施し、脊髄を露出させた。１．０μＬのＡＡＶ９－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－ＮｅｕｒｏＤ１－ｍＣｈｅｒｒｙまたはＡＡＶ９－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ＋ＡＡＶ９－Ｆｌｅｘ－ｍＣｈｅｒｒｙを、０．０５μＬ／分の速度で、３４ゲージの注射針を備える５０μＬのハミルトン注射器を介して脊髄の前角内（０．９ｍｍの深さで中心動脈に対して０．４５ｍｍ外側）に注射した。注射後、針を所定の位置に３分間保持して、ウイルスを引き抜くことを防止し、次いで、ゆっくりと引き抜いた。次いで、手術区域を抗生物質軟膏で処置した。マウスを加熱パッド上に保持し、手術当日に皮下注射（５ｍｇ／ｋｇ）、および手術後３日間、飲料水（１０ｍｇ／ｋｇ）を介して痛みを緩和するためにカルプロフェンで処置し、より健康を完全に回復させるために１週間緊密に監視した。

【０１９０】

髄腔内注射

髄腔内注射については、９週齢のマウスにイソフルランを使用して麻酔をした。１０マイクロリットルのＡＡＶ－ＰＨＰ．ｅＢ－ＧＦＡＰ－Ｃｒｅ＋ＡＡＶ－ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－ＴＦｓ－ＧＦＰ／ｍＣｈｅｒｒｙまたは＋ＡＡＶ－ＰＨＰ．ｅＢ－Ｆｌｅｘ－ＧＦＰ／ｍＣｈｅｒｒｙを、３１ゲージ注射針を備える２５μＬのハミルトン注射器を使用して、マウス腰部の髄腔内に注射した。簡潔には、３％のイソフルランでマウスを麻酔し、針挿入中のバッターの可視化を容易にするために、尾の近くの動物の後端で２＊２ｃｍ^{2}の毛皮を剃った。腹臥位での処置中、イソフルラン投与を継続するためにマウスを鼻円錐に置いて、イソフルランを１．５％に低減した。保護の目的のために、人工眼用軟膏を塗布して眼をカバーした。針を、Ｌ５およびＬ６の椎骨の溝の間に注意深く挿入し、腰椎槽への侵入に成功した兆候として、マウスの尾のフリックを観察した。尾のフリックが観察されると、シリンジは安定化され、注射をゆっくりと進行した。この注射を２４時間ごとに２回繰り返して、ウイルスの最適量（マウス当たり総２×１０^{10}ゲノムコピーウイルス）を達成した。すべての注射は、一定の注射速度を達成するためにタイマーで行われ、２分で１０ｍＬを注射した。ＣＳＦおよびベクター漏出を最小限に抑えるため、１分後にシリンジを取り外した。マウスを同じ位置でさらに５分間維持した。手術後、動物をケージに収容し、エンドポイントまで食料および水に自由に摂取させた。

【０１９１】

体重

各マウスの体重は、７０日目から１２６日目までの８週間、８日ごとに記録した。

【０１９２】

動物の行動

オープンフィールド試験

オープンフィールド試験は、不透明なオープンアクリルボックス（４０×４０×４０ｃｍ）内で、明るく照らされた部屋で実施した。試験前にマウスを試験室で試験環境に１時間慣らした。各個々のマウスを、赤色光のある暗い部屋の箱の１つの隅に無作為に配置した。ビデオカメラは、マウスの水平移動を１０分間記録した。移動距離の合計および移動時間は、Ｎｏｌｄｕｓ　ＥｔｈｏＶｉｓｉｏｎ　ＸＴソフトウェアによって測定された。オープンフィールド装置を、各痕跡の間に７０％エタノールで洗浄した。

【０１９３】

キャットウォークテスト
試験前にマウスを試験室で１時間慣らした。キャットウォークは、Ｎｏｌｄｕｓ　ＣａｔＷａｌｋ　ＸＴシステムで実施した。各個々のマウスは、動きをギルドするために直線の通路の入り口に配置された。マウスは通路を自由に移動した。マウスが一定の速度で移動することは、成功した痕跡である。照らし出された足跡技術で３つの痕跡を記録した。足跡面積、振り速度、およびステップサイクルを、ＣａｔＷａｌｋ　ＸＴソフトウェアによって測定した。キャットウォーク装置を、各痕跡の間に７０％エタノールで洗浄した。
【０１９４】
ワイヤ吊り下げ試験
筋力を試験するため、ワイヤ吊り下げ試験を実施した。各個々のマウスをワイヤメッシュ上に置いた。マウスが動かなくなるまで、メッシュをそっと回転させた。マウスが柔らかい表面上に落下する時間を測定した。
【０１９５】
脚の伸張試験
エンドポイント（２２週）で、各個々の体マウスを、レバーから尾によって約３０秒間吊り下げさせた。ビデオカメラは脚の動きを記録した。脚の伸張頻度、距離、および動きの持続時間を測定した。
【０１９６】
実施例９－追加の実施形態
実施形態１．脊髄損傷（ＳＣＩ）を有する哺乳動物を治療するための方法であって、上述の方法が、ニューロン分化１（ＮｅｕｒｏＤ１）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物に投与することを含む、方法。
【０１９７】
実施形態２．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態１に記載の方法。
【０１９８】
実施形態３．脊髄損傷が、虚血性脳卒中；出血性脳卒中；身体的損傷；震盪；挫傷；爆発；浸潤；腫瘍；炎症；感染症；外傷性脊髄損傷；虚血性もしくは出血性脊髄症（脊髄梗塞）；心停止もしくは重度の低血圧（ショック）によって引き起こされる全身性虚血；低酸素症、低血糖症もしくは貧血によって引き起こされる低酸素性虚血性脳症；感染性心内膜炎もしくは心房粘液腫によって引き起こされるＣＮＳ塞栓症；線維軟骨性塞栓性脊髄症；小児白血病によって引き起こされるＣＮＳ血栓症；ネフローゼ症候群（腎臓病）、慢性炎症性疾患、妊娠、エストロゲンベースの避妊薬の使用、髄膜炎、脱水症によって引き起こされる脳静脈洞血栓症；またはそれらの任意の２つ以上の組み合わせからなる群から選択される状態に起因する、実施形態１に記載の方法。
【０１９９】
実施形態４．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを脊髄に送達することを含む、実施形態１に記載の方法。
【０２００】
実施形態５．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、脊髄に送達することを含む、実施形態１に記載の方法。
【０２０１】
実施形態６．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、脊髄に送達することを含む、実施形態１に記載の方法。
【０２０２】
実施形態７．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態６に記載の方法。

【０２０３】
実施形態８．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態１～７のいずれか１つに記載の方法。
【０２０４】
実施形態９．上述の投与する工程が、脊髄への定位注射を含む、実施形態１～８のいずれか１つに記載の方法。
【０２０５】
実施形態１０．上述の投与する工程が、静脈内注射または静脈内注入を含む、実施形態１～８のいずれか１つに記載の方法。
【０２０６】
実施形態１１．脊髄損傷を有する哺乳動物を治療する方法であって、上述の方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルス粒子を含有する薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物を、上述の哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。
【０２０７】
実施形態１２．薬学的組成物が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む、10^{10}～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍＬの担体の濃度でアデノ随伴ウイルスを含有する約１μＬ～約５００μＬの薬学的に許容される担体を含む、実施形態１１に記載の方法。
【０２０８】
実施形態１３．薬学的組成物が、約０．１μＬ／分～約５μＬ／分の制御された流速で上述の哺乳動物の脊髄に注射される、実施形態１１または１２に記載の方法。
【０２０９】
実施形態１４．脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法であって、上述の方法が、ｍｉｒ１２４をコードする外因性核酸、ＩＳＬ　ＬＩＭホメオボックス１（Ｉｓｌ１）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、およびＬＩＭホメオボックス３（Ｌｈｘ３）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。
【０２１０】
実施形態１５．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態１４に記載の方法。
【０２１１】
実施形態１６．上述の投与する工程が、（ｉ）ｍｉｒ１２４をコードする核酸を含む発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、および（ｉｉｉ）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片Ｌｈｘ３をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１４に記載の方法。
【０２１２】
実施形態１７．上述の投与する工程が、（ｉ）ｍｉｒ１２４をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１４に記載の方法。

【０２１３】
実施形態１８．上述の投与する工程が、（ｉ）ｍｉｒ１２４をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１４に記載の方法。
【０２１４】
実施形態１９．上述の投与する工程が、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１４に記載の方法。
【０２１５】
実施形態２０．上述の投与する工程が、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１４に記載の方法。
【０２１６】
実施形態２１．上述の投与する工程が、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１４に記載の方法。
【０２１７】
実施形態２２．上述の投与する工程が、ニューロゲニン２（Ｎｇｎ２）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、ｍｉｒ２１８、およびＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸のうちの１つ以上の治療有効な用量を、ｍｉｒ１２４、Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片、またはＬｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片の任意の組み合わせと組み合わせて、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１４に記載の方法。
【０２１８】
実施形態２３．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態１８または２１に記載の方法。
【０２１９】
実施形態２４．筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物を治療するための方法であって、方法は、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む。
【０２２０】
実施形態２５．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態２４に記載の方法。
【０２２１】
実施形態２６．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを脳に送達することを含む、実施形態２４に記載の方法。
【０２２２】
実施形態２７．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、脳に送達することを含む、実施形態２４に記載の方法。
【０２２３】
実施形態２８．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、脳に

送達することを含む、実施形態２４に記載の方法。

【０２２４】

実施形態２９．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態２８に記載の方法。

【０２２５】

実施形態３０．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、ＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態２４～２９のいずれか１つに記載の方法。

【０２２６】

実施形態３１．上述の投与する工程が、定位頭蓋内注射を含む、実施形態２４～３０のいずれか１つに記載の方法。

【０２２７】

実施形態３２．上述の投与する工程が、２回以上の定位頭蓋内注射を含む、実施形態３１に記載の方法。

【０２２８】

実施形態３３．上述の投与する工程が、後眼窩注射を含む、実施形態２４～３０のいずれか１つに記載の方法。

【０２２９】

実施形態３４．ＡＬＳを有する哺乳動物を治療する方法であって、上述の方法が、ＮｅｕｒｏＤ１をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルス粒子を含有する薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物を、上述の哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む、方法。

【０２３０】

実施形態３５．薬学的組成物が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む、10^{10}～10^{14}個のアデノ随伴ウイルス粒子／ｍｌの担体の濃度でアデノ随伴ウイルスを含有する約１μＬ～約５００μＬの薬学的に許容される担体を含む、実施形態３４に記載の方法。

【０２３１】

実施形態３６．薬学的組成物が、約０．１μＬ／分～約５μＬ／分の制御された流速で上述の哺乳動物の中枢神経系に注射される、実施形態３４または３５に記載の方法。

【０２３２】

実施形態３７．筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を有する哺乳動物を治療するための方法であって、上述の方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物の中枢神経系に投与することを含む、方法。

【０２３３】

実施形態３８．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態３７に記載の方法。

【０２３４】

実施形態３９．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、および（ｉ

ｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態３７に記載の方法。

【０２３５】

実施形態４０．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態３７に記載の方法。

【０２３６】

実施形態４１．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態３７に記載の方法。

【０２３７】

実施形態４２．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態３７に記載の方法。

【０２３８】

実施形態４３．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態３７に記載の方法。

【０２３９】

実施形態４４．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態３７に記載の方法。

【０２４０】

実施形態４５．上述の投与する工程が、Ｎｇｎ２をコードする外因性核酸、ｍｉｒ２１８、およびｍｉｒ１２４のうちの１つ以上の治療有効な用量を、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＬｈｘ３ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片の任意の組み合わせと組み合わせて、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態３７に記載の方法。

【０２４１】

実施形態４６．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態４１または４４に記載の方法。

【０２４２】

実施形態４７．ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、上述の（１）、（２）、または（３）を行うための方法であって、上述の方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物に投与することを含

み、（ａ）上述の脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する、方法。

【０２４３】

実施形態４８．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態４７に記載の方法。

【０２４４】

実施形態４９．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを脊髄に送達することを含む、実施形態４７に記載の方法。

【０２４５】

実施形態５０．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、脊髄に送達することを含む、実施形態４７に記載の方法。

【０２４６】

実施形態５１．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、脊髄に送達することを含む、実施形態４７に記載の方法。

【０２４７】

実施形態５２．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態５１に記載の方法。

【０２４８】

実施形態５３．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態４７～５２のいずれか１つに記載の方法。

【０２４９】

実施形態５４．上述の投与する工程が、脊髄への定位注射を含む、実施形態４７～５３のいずれか１つに記載の方法。

【０２５０】

実施形態５５．上述の投与する工程が、静脈内注射または静脈内注入を含む、実施形態４７～５４のいずれか１つに記載の方法。

【０２５１】

実施形態５６．ＡＬＳ疾患を有し、かつ（１）運動ニューロンを生成すること、（２）ミクログリアの数を低減させること、または（３）反応性星状細胞の数を低減させることを必要とする哺乳動物内で、上述の（１）、（２）、または（３）を行うための方法であって、上述の方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物に投与することを含み、（ａ）上述の運動ニューロンが生成されるか、（ｂ）ミクログリアの数が低減するか、または（ｃ）反応性星状細胞の数が低減する、方法。

【０２５２】

実施形態５７．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態５６に記載の方法。

【０２５３】

実施形態５８．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを脊髄に送達することを含む、実施形態５６に記載の方法。

【０２５４】
実施形態５９．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、脊髄に送達することを含む、実施形態５６に記載の方法。
【０２５５】
実施形態６０．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、脊髄に送達することを含む、実施形態５６に記載の方法。
【０２５６】
実施形態６１．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態６０に記載の方法。
【０２５７】
実施形態６２．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態５６～６１のいずれか１つに記載の方法。
【０２５８】
実施形態６３．上述の投与する工程が、脊髄への定位注射を含む、実施形態５６～６２のいずれか１つに記載の方法。
【０２５９】
実施形態６４．上述の投与する工程が、静脈内注射または静脈内注入を含む、実施形態５６～６３のいずれか１つに記載の方法。
【０２６０】
実施形態６５．ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなグルタミン酸作動性ニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、上述の（１）、（２）、または（３）を行うための方法であって、上述の方法が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、またはＬｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物に投与することを含み、（ａ）上述の脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する、方法。
【０２６１】
実施形態６６．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態６５に記載の方法。
【０２６２】
実施形態６７．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、または（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態６６に記載の方法。
【０２６３】
実施形態６８．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、（ｉｉ）

Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、または（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態６６に記載の方法。

【０２６４】

実施形態６９．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、または（ｉｉｉ）Ｌｈｘ３ポリペプチドもしくはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態６６に記載の方法。

【０２６５】

実施形態７０．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態６９に記載の方法。

【０２６６】

実施形態７１．上述の投与する工程が、脊髄への定位注射を含む、実施形態６５～７０のいずれか１つに記載の方法。

【０２６７】

実施形態７２．上述の投与する工程が、静脈内注射または静脈内注入を含む、実施形態６５～７１のいずれか１つに記載の方法。

【０２６８】

実施形態７３．脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法であって、上述の方法が、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）ディスタルレスホメオボックス２（Ｄｌｘ２）ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。

【０２６９】

実施形態７４．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態７３に記載の方法。

【０２７０】

実施形態７５．上述の投与する工程が、（ｉ）核酸ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドを含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態７３に記載の方法。

【０２７１】

実施形態７６．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態７３に記載の方法。

【０２７２】

実施形態７７．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態７３に記載の方法。

【０２７３】

実施形態７８．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態７３に記載の方法。

【０２７４】
実施形態７９．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態７３に記載の方法。
【０２７５】
実施形態８０．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態７３に記載の方法。
【０２７６】
実施形態８１．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態７７または８０に記載の方法。
【０２７７】
実施形態８２．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態７３～８１のいずれか１つに記載の方法。
【０２７８】
実施形態８３．上述の投与する工程が、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、Ｄｌｘ２ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号１１またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１３またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１０またはその機能的断片、配列番号１２またはその機能的断片、および配列番号１１もしくは配列番号１３またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態７３～８２のいずれか１つに記載の方法。
【０２７９】
実施形態８４．ＳＣＩを有し、かつ（１）背側脊髄ニューロンを再生すること、（２）新たなニューロンを生成すること、または（３）脊髄における循環を増加させることを必要とする哺乳動物内で、上述の（１）、（２）、または（３）を行うための方法であって、上述の方法が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を投与することを含み、（ａ）上述の脊髄ニューロンが再生されるか、（ｂ）新たなグルタミン酸作動性ニューロンが生成されるか、または（ｃ）脊髄循環が増加する、方法。
【０２８０】
実施形態８５．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態８４に記載の方法。
【０２８１】
実施形態８６．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上

述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態８４に記載の方法。
【０２８２】
実施形態８７．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態８４に記載の方法。
【０２８３】
実施形態８８．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｄｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の中枢神経系に送達することを含む、実施形態８４に記載の方法。
【０２８４】
実施形態８９．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態８４に記載の方法。
【０２８５】
実施形態９０．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態８４に記載の方法。
【０２８６】
実施形態９１．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＤｌｘ２ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態８４に記載の方法。
【０２８７】
実施形態９２．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態８８または９１に記載の方法。
【０２８８】
実施形態９３．上述の投与する工程が、脊髄への定位注射を含む、実施形態７３～９２のいずれか１つに記載の方法。
【０２８９】
実施形態９４．上述の投与する工程が、静脈内注射または静脈内注入を含む、実施形態７３～９３のいずれか１つに記載の方法。
【０２９０】
実施形態９５．上述の新たなニューロンが、グルタミン酸作動性ニューロンおよびＧＡＢＡ作動性ニューロンからなる群から選択される、実施形態８４に記載の方法。
【０２９１】
実施形態９６．上述の新たなニューロンが、グルタミン酸作動性ニューロンある、実施形態９５に記載の方法。
【０２９２】
実施形態９７．上述の新たなニューロンが、ＧＡＢＡ作動性ニューロンである、実施形態９５に記載の方法。
【０２９３】
実施形態９８．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ血清型５である、実施形態７７または８０に記載の方法。
【０２９４】

実施形態９９．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ血清型５である、実施形態８８または９１に記載の方法。

【０２９５】

実施形態１００．ＡＬＳを有する哺乳動物を治療するための方法であって、上述の方法が、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物に投与することを含む、方法。

【０２９６】

実施形態１０１．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態１００に記載の方法。

【０２９７】

実施形態１０２．上述の投与する工程が、（ｉ）核酸ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドを含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物に送達することを含む、実施形態１００に記載の方法。

【０２９８】

実施形態１０３．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物に送達することを含む、実施形態１００に記載の方法。

【０２９９】

実施形態１０４．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１００に記載の方法。

【０３００】

実施形態１０５．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物に送達することを含む、実施形態１００に記載の方法。

【０３０１】

実施形態１０６．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物に送達することを含む、実施形態１００に記載の方法。

【０３０２】

実施形態１０７．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物に送達することを含む、実施形態１００に記載の方法。

【０３０３】

実施形態１０８．上述のアデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態１０４または１０７に記載の方法。

【０３０４】

実施形態１０９．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％

、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態１００～１０８のいずれか１つに記載の方法。

【０３０５】

実施形態１１０．上述の投与する工程が、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号１５またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１７またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１４またはその機能的断片、配列番号１６またはその機能的断片、および配列番号１５もしくは配列番号１７またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態１００～１０９のいずれか１つに記載の方法。

【０３０６】

実施形態１１１．脊髄損傷を有する哺乳動物を治療するための方法であって、上述の方法が、（ａ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸、および（ｂ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする外因性核酸を含む組成物を、上述の哺乳動物の脊髄に投与することを含む、方法。

【０３０７】

実施形態１１２．上述の哺乳動物が、ヒトである、実施形態１１１に記載の方法。

【０３０８】

実施形態１１３．上述の投与する工程が、（ｉ）核酸ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドを含む発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１１１に記載の方法。

【０３０９】

実施形態１１４．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１１１に記載の方法。

【０３１０】

実施形態１１５．上述の投与する工程が、（ｉ）ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクター、および（ｉｉ）Ｉｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１１１に記載の方法。

【０３１１】

実施形態１１６．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１１１に記載の方法。

【０３１２】

実施形態１１７．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１１１に記載の方法。

【０３１３】

実施形態１１８．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドまたはその生物

学的に活性な断片、およびＩｓｌ１ポリペプチドまたはその生物学的に活性な断片をコードする核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス発現ベクターを、上述の哺乳動物の脊髄に送達することを含む、実施形態１１１に記載の方法。

【０３１４】

実施形態１１９．アデノ随伴ウイルスが、ＡＡＶ．ＰＨＰ．ｅＢである、実施形態１１５または１１８に記載の方法。

【０３１５】

実施形態１２０．上述の投与する工程が、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、ＮｅｕｒｏＤ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号２またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号４またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１またはその機能的断片、配列番号３またはその機能的断片、および配列番号２もしくは配列番号４またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態１１１～１１９のいずれか１つに記載の方法。

【０３１６】

実施形態１２１．上述の投与する工程が、Ｉｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え発現ベクターを投与することを含み、上述のＩｓｌ１ポリペプチドをコードする核酸配列が、配列番号１５またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１７またはその機能的断片をコードする核酸配列、配列番号１４またはその機能的断片、配列番号１６またはその機能的断片、および配列番号１５もしくは配列番号１７またはそれらの機能的断片と７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の同一性を有するタンパク質をコードする核酸配列からなる群から選択される核酸配列を含む、実施形態１１１～１２０のいずれか１つに記載の方法。

【０３１７】

配列

配列番号１－ヒトＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードするヒトＮｅｕｒｏＤ１核酸配列－１０７１ヌクレオチド、終止コドンを含む

ＡＴＧＡＣＣＡＡＡＴＣＧＴＡＣＡＧＣＧＡＧＡＧＴＧＧＧＣＴＧＡＴＧＧＧＣＧＡＧＣ
ＣＴＣＡＧＣＣＣＣＡＡＧＧＴＣＣＴＣＣＡＡＧＣＴＧＧＡＣＡＧＡＣＧＡＧＴＧＴＣＴ
ＣＡＧＴＴＣＴＣＡＧＧＡＣＧＡＧＧＡＧＣＡＣＧＡＧＧＣＡＧＡＣＡＡＧＡＡＧＧＡＧ
ＧＡＣＧＡＣＣＴＣＧＡＡＧＣＣＡＴＧＡＡＣＧＣＡＧＡＧＧＡＧＧＡＣＴＣＡＣＴＧＡ
ＧＧＡＡＣＧＧＧＧＧＡＧＡＧＧＡＧＧＡＧＧＡＣＧＡＡＧＡＴＧＡＧＧＡＣＣＴＧＧＡ
ＡＧＡＧＧＡＧＧＡＡＧＡＡＧＡＧＧＡＡＧＡＧＧＧＡＧＧＡＴＧＡＣＧＡＴＣＡＡＡＡＧ
ＣＣＣＡＡＧＡＧＡＣＧＣＧＧＣＣＣＣＡＡＡＡＡＧＡＡＧＡＡＧＡＴＧＡＣＴＡＡＧＧ
ＣＴＣＧＣＣＴＧＧＡＧＣＧＴＴＴＴＡＡＡＴＴＧＡＧＡＣＧＣＡＴＧＡＡＧＧＣＴＡＡ
ＣＧＣＣＣＧＧＧＡＧＣＧＧＡＡＣＣＧＣＡＴＧＣＡＣＧＧＡＣＴＧＡＡＣＧＣＧＧＣＧ
ＣＴＡＧＡＣＡＡＣＣＴＧＣＧＣＡＡＧＧＴＧＧＴＧＣＣＴＴＧＣＴＡＴＴＣＴＡＡＧＡ
ＣＧＣＡＧＡＡＧＣＴＧＴＣＣＡＡＡＡＴＣＧＡＧＡＣＴＣＴＧＣＧＣＴＴＧＧＣＣＡＡ
ＧＡＡＣＴＡＣＡＴＣＴＧＧＧＣＴＣＴＧＴＣＧＧＡＧＡＴＣＣＴＧＣＧＣＴＣＡＧＧＣ
ＡＡＡＡＧＣＣＣＡＧＡＣＣＴＧＧＴＣＴＣＣＴＴＣＧＴＴＣＡＧＡＣＧＣＴＴＴＧＣＡ
ＡＧＧＧＣＴＴＡＴＣＣＣＡＡＣＣＣＡＣＣＡＣＣＡＡＣＣＴＧＧＴＴＧＣＧＧＧＣＴＧ
ＣＣＴＧＣＡＡＣＴＣＡＡＴＣＣＴＣＧＧＡＣＴＴＴＴＣＴＧＣＣＴＧＡＧＣＡＧＡＡＣ
ＣＡＧＧＡＣＡＴＧＣＣＣＣＣＣＣＡＣＣＴＧＣＣＧＡＣＧＧＣＣＡＧＣＧＣＴＴＣＣＴ
ＴＣＣＣＴＧＴＡＣＡＣＣＣＣＴＡＣＴＣＣＴＡＣＣＡＧＴＣＧＣＣＣＴＧＧＧＣＴＧＣＣ
ＣＡＧＴＣＣＧＣＣＴＴＡＣＧＧＴＡＣＣＡＴＧＧＡＣＡＧＣＴＣＣＣＡＴＧＴＣＴＴＣ

CACGTTAAGCCTCCGCCGCACGCCTACAGCGCAGCGCTGG
AGCCCTTCTTTGAAAGCCCTCTGACTGATTGCACCAGCCC
TTCCTTTGATGGACCCCTCAGCCCGCCGCTCAGCATCAAT
GGCAACTTCTCTTTCAAACACGAACCGTCCGCCGAGTTTG
AGAAAAATTATGCCTTTACCATGCACTATCCTGCAGCGAC
ACTGGCAGGGGCCCAAAGCCACGGATCAATCTTCTCAGGC
ACCGCTGCCCCTCGCTGCGAGATCCCCATAGACAATATTA
TGTCCTTCGATAGCCATTCACATCATGAGCGAGTCATGAG
TGCCCAGCTCAATGCCATATTTCATGATTAG

【０３１８】

配列番号２－配列番号１によってコードされるヒトＮｅｕｒｏＤ１アミノ酸配列－３５６アミノ酸

MTKSYSESGLMGEPQPQGPPSWTDECLSSQDEEHEADKKE
DDLEAMNAEEDSLRNGGEEEDEDEDLEEEEEEEEEDDDQK
PKRRGPKKKKMTKARLERFKLRRMKANARERNRMHGLNAA
LDNLRKVVPCYSKTQKLSKIETLRLAKNYIWALSEILRSG
KSPDLVSFVQTLCKGLSQPTTNLVAGCLQLNPRTFLPEQN
QDMPPHLPTASASFPVHPYSYQSPGLPSPPYGTMDSSHVF
HVKPPPHAYSAALEPFFESPLTDCTSPSFDGPLSPPLSIN
GNFSFKHEPSAEFEKNYAFTMHYPAATLAGAQSHGSIFSG
TAAPRCEIPIDNIMSFDSHSHHERVMSAQLNAIFHD

【０３１９】

配列番号３－マウスＮｅｕｒｏＤ１タンパク質をコードするマウスＮｅｕｒｏＤ１核酸配列－１０７４ヌクレオチド、終止コドンを含む

ATGACCAAATCATACAGCGAGAGCGGGCTGATGGGCGAGC
CTCAGCCCCAAGGTCCCCCAAGCTGGACAGATGAGTGTCT
CAGTTCTCAGGACGAGGAACACGAGGCAGACAAGAAAGAG
GACGAGCTTGAAGCCATGAATGCAGAGGAGGACTCTCTGA
GAAACGGGGGAGAGGAGGAGGAGGAAGATGAGGATCTAGA
GGAAGAGGAGGAAGAAGAAGAAGAGGAGGAGGAGGATCAAAAAG
CCCAAGAGACGGGGTCCCAAAAAAGAAAAAAGATGACCAAGG
CGCGCCTAGAACGTTTTAAATTAAGGCGCATGAAGGCCAA
CGCCCGCGAGCGGAACCGCATGCACGGGCTGAACGCGGCG
CTGGACAACCTGCGCAAGGTGGTACCTTGCTACTCCAAGA
CCCAGAAACTGTCTAAAATAGAGACACTGCGCTTGGCCAA
GAACTACATCTGGGCTCTGTCAGAGATCCTGCGCTCAGGC
AAAAGCCCTGATCTGGTCTCCTTCGTACAGACGCTCTGCA
AAGGTTTGTCCCAGCCCACTACCAATTTGGTCGCCGGCTG
CCTGCAGCTCAACCCTCGGACTTTCTTGCCTGAGCAGAAC
CCGGACATGCCCCCGCATCTGCCAACCGCCAGCGCTTCCT
TCCCGGTGCATCCCTACTCCTACCAGTCCCCTGGACTGCC
CAGCCCGCCCTACGGCACCATGGACAGCTCCCACGTCTTC
CACGTCAAGCCGCCGCCACACGCCTACAGCGCAGCTCTGG
AGCCCTTCTTTGAAAGCCCCCTAACTGACTGCACCAGCCC
TTCCTTTGACGGACCCCTCAGCCCGCCGCTCAGCATCAAT
GGCAACTTCTCTTTCAAACACGAACCATCCGCCGAGTTTG
AAAAAAATTATGCCTTTACCATGCACTACCCTGCAGCGAC
GCTGGCAGGGCCCCAAAGCCACGGATCAATCTTCTCTTCC
GGTGCCGCTGCCCCTCGCTGCGAGATCCCCATAGACAACA
TTATGTCTTTCGATAGCCATTCGCATCATGAGCGAGTCAT

ＧＡＧＴＧＣＣＣＡＧＣＴＴＡＡＴＧＣＣＡＴＣＴＴＴＣＡＣＧＡＴＴＡＧ

【０３２０】

配列番号４：配列番号３によってコードされるマウスＮｅｕｒｏＤ１アミノ酸配列－３５７アミノ酸

ＭＴＫＳＹＳＥＳＧＬＭＧＥＰＱＰＱＧＰＰＳＷＴＤＥＣＬＳＳＱＤＥＥＨＥＡＤＫＫＥ
ＤＥＬＥＡＭＮＡＥＥＤＳＬＲＮＧＧＥＥＥＥＥＤＥＤＬＥＥＥＥＥＥＥＥＥＥＥＤＱＫ
ＰＫＲＲＧＰＫＫＫＫＭＴＫＡＲＬＥＲＦＫＬＲＲＭＫＡＮＡＲＥＲＮＲＭＨＧＬＮＡＡ
ＬＤＮＬＲＫＶＶＰＣＹＳＫＴＱＫＬＳＫＩＥＴＬＲＬＡＫＮＹＩＷＡＬＳＥＩＬＲＳＧ
ＫＳＰＤＬＶＳＦＶＱＴＬＣＫＧＬＳＱＰＴＴＮＬＶＡＧＣＬＱＬＮＰＲＴＦＬＰＥＱＮ
ＰＤＭＰＰＨＬＰＴＡＳＡＳＦＰＶＨＰＹＳＹＱＳＰＧＬＰＳＰＰＹＧＴＭＤＳＳＨＶＦ
ＨＶＫＰＰＰＨＡＹＳＡＡＬＥＰＦＦＥＳＰＬＴＤＣＴＳＰＳＦＤＧＰＬＳＰＰＬＳＩＮ
ＧＮＦＳＦＫＨＥＰＳＡＥＦＥＫＮＹＡＦＴＭＨＹＰＡＡＴＬＡＧＰＱＳＨＧＳＩＦＳＳ
ＧＡＡＡＰＲＣＥＩＰＩＤＮＩＭＳＦＤＳＨＳＨＨＥＲＶＭＳＡＱＬＮＡＩＦＨＤ

【０３２１】

マウスＬＣＮ２プロモーター－配列番号５

ＧＣＡＧＴＧＴＧＧＡＧＡＣＡＣＡＣＣＣＡＣＴＴＴＣＣＣＣＡＡＧＧＧＣＴＣＣＴＧＣ
ＴＣＣＣＣＣＡＡＧＴＧＡＴＣＣＣＣＴＴＡＴＣＣＴＣＣＧＴＧＣＴＡＡＧＡＴＧＡＣＡ
ＣＣＧＡＧＧＴＴＧＣＡＧＴＣＣＴＴＡＣＣＴＴＴＧＡＡＡＧＣＡＧＣＣＡＣＡＡＧＧＧ
ＣＧＴＧＧＧＧＧＴＧＣＡＣＡＣＣＴＴＴＡＡＴＣＣＣＡＧＣＡＣＴＣＧＧＧＡＧＧＣＡ
ＧＡＧＧＣＡＧＧＣＡＧＡＴＴＴＣＴＧＡＧＴＴＣＧＡＧＡＣＣＡＧＣＣＴＧＧＴＣＴＡ
ＣＡＡＡＧＴＧＡＡＴＴＣＣＡＧＧＡＣＡＧＣＣＡＧＧＧＣＴＡＴＡＣＡＧＡＧＡＡＡＣ
ＣＣＴＧＴＣＴＴＧＡＡＡＡＡＡＡＡＡＧＡＧＡＡＡＧＡＡＡＡＡＡＡＧＡＡＡＡＡＡＡＡ
ＡＡＡＴＧＡＡＡＧＣＡＧＣＣＡＣＡＴＣＴＡＡＧＧＡＣＴＡＣＧＴＧＧＣＡＣＡＧＧＡ
ＧＡＧＧＧＴＧＡＧＴＣＣＣＴＧＡＧＡＧＴＴＣＡＧＣＴＧＣＴＧＣＣＣＴＧＴＣＴＧＴ
ＴＣＣＴＧＴＡＡＡＴＧＧＣＡＧＴＧＧＧＧＴＣＡＴＧＧＧＡＡＡＧＴＧＡＡＧＧＧＧＣ
ＴＣＡＡＧＧＴＡＴＴＧＧＡＣＡＣＴＴＣＣＡＧＧＡＴＡＡＴＣＴＴＴＴＧＧＡＣＧＣＣ
ＴＣＡＣＣＣＴＧＴＧＣＣＡＧＧＡＣＣＡＡＧＧＣＴＧＡＧＣＴＴＧＧＣＡＧＧＣＴＣＡ
ＧＡＡＣＡＧＧＧＴＧＴＣＣＴＧＴＴＣＴＴＣＣＣＴＧＴＣＴＡＡＡＡＣＡＴＴＣＡＣＴ
ＣＴＣＡＧＣＴＴＧＣＴＣＡＣＣＣＴＴＣＣＣＣＡＧＡＣＡＡＧＧＡＡＧＣＴＧＣＡＣＡ
ＧＧＧＴＣＴＧＧＴＧＴＴＣＡＧＡＴＧＧＣＴＴＴＧＧＣＴＴＡＣＡＧＣＡＧＧＴＧＴＧ
ＧＧＴＧＴＧＧＧＧＴＡＧＧＡＧＧＣＡＧＧＧＧＧＴＡＧＧＧＧＴＧＧＧＧＧＡＡＧＣＣ
ＴＧＴＡＣＴＡＴＡＣＴＣＡＣＴＡＴＣＣＴＧＴＴＴＣＴＧＡＣＣＣＴＣＴＡＧＧＡＣＴ
ＣＣＴＡＣＡＧＧＧＴＴＡＴＧＧＧＡＧＴＧＧＡＣＡＧＧＣＡＧＴＣＣＡＧＡＴＣＴＧＡ
ＧＣＴＧＣＴＧＡＣＣＣＡＣＡＡＧＣＡＧＴＧＣＣＣＴＧＴＧＣＣＴＧＣＣＡＧＡＡＴＣ
ＣＡＡＡＧＣＣＣＴＧＧＧＡＡＴＧＴＣＣＣＴＣＴＧＧＴＣＣＣＣＣＴＣＴＧＴＣＣＣＣ
ＴＧＣＡＧＣＣＣＴＴＣＣＴＧＴＴＧＣＴＣＡＡＣＣＴＴＧＣＡＣＡＧＴＴＣＣＧＡＣＣ
ＴＧＧＧＧＧＡＧＡＧＡＧＧＧＡＣＡＧＡＡＡＴＣＴＴＧＣＣＡＡＧＴＡＴＴＴＣＡＡＣ
ＡＧＡＡＴＧＴＡＣＴＧＧＣＡＡＴＴＡＣＴＴＣＡＴＧＧＣＴＴＣＣＴＧＧＡＣＴＴＧＧ
ＴＡＡＡＧＧＡＴＧＧＡＣＴＡＣＣＣＣＧＣＣＣＡＡＣＡＧＧＧＧＧＧＣＴＧＧＣＡＧＣ
ＣＡＧＧＴＡＧＧＣＣＣＡＴＡＡＡＡＡＧＣＣＣＧＣＴＧＧＧＧＡＧＴＣＣＴＣＣＴＣＡ
ＣＴＣＴＣＴＧＣＴＣＴＴＣＣＴＣＣＴＣＣＡＧＣＡＣＡＣＡＴＣＡＧＡＣＣＴＡＧＴＡ
ＧＣＴＧＴＧＧＡＡＡＣＣＡ

【０３２２】

ヒトＧＦＡＰプロモーター－配列番号６

ＧＴＣＴＧＣＡＡＧＣＡＧＡＣＣＴＧＧＣＡＧＣＡＴＴＧＧＧＣＴＧＧＣＣＧＣＣＣＣＣ
ＣＡＧＧＧＣＣＴＣＣＴＣＴＴＣＡＴＧＣＣＣＡＧＴＧＡＡＴＧＡＣＴＣＡＣＣＴＴＧＧ
ＣＡＣＡＧＡＣＡＣＡＡＴＧＴＴＣＧＧＧＧＴＧＧＧＣＡＣＡＧＴＧＣＣＴＧＣＴＴＣＣ
ＣＧＣＣＧＣＡＣＣＣＣＡＧＣＣＣＣＣＣＴＣＡＡＡＴＧＣＣＴＴＣＣＧＡＧＡＡＧＣＣ
ＣＡＴＴＧＡＧＴＡＧＧＧＧＧＣＴＴＧＣＡＴＴＧＣＡＣＣＣＣＡＧＣＣＴＧＡＣＡＧＣ
ＣＴＧＧＣＡＴＣＴＴＧＧＧＡＴＡＡＡＡＧＣＡＧＣＡＣＡＧＣＣＣＣＣＴＡＧＧＧＧＣ

TGCCCTTGCTGTGGCGCCACCGGCGGTGGAGAACAAGG
CTCTATTCAGCCTGTGCCCAGGAAAGGGGATCAGGGGATG
CCCAGGCATGGACAGTGGGTGGCAGGGGGGGAGAGGAGGG
CTGTCTGCTTCCCAGAAGTCCAAGGACACAAATGGGTGAG
GGGACTGGGGCAGGGTTCTGACCCTGTGGGACCAGAGTGGA
GGGCGTAGATGGACCTGAAGTCTCCAGGGACAACAGGGCC
CAGGTCTCAGGCTCCTAGTTGGGCCCAGTGGCTCCAGCGT
TTCCAAACCCATCCATCCCCAGAGGTTCTTCCCATCTCTC
CAGGCTGATGTGTGGGAACTCGAGGAAATAAATCTCCAGT
GGGAGACGGAGGGGTGGCCAGGGAAACGGGGCGCTGCAGG
AATAAAGACGAGCCAGCACAGCCAGCTCATGCGTAACGGC
TTTGTGGAGCTGTCAAGGCCTGGTCTCTGGGAGAGAGGCA
CAGGGAGGCCAGACAAGGAAGGGGTGACCTGGAGGGACAG
ATCCAGGGGCTAAAGTCCTGATAAGGCAAGAGAGTGCCGG
CCCCCTCTTGCCCTATCAGGACCTCCACTGCCACATAGAG
GCCATGATTGACCCTTAGACAAAGGGCTGGTGTCCAATCC
CAGCCCCCAGCCCCAGAACTCCAGGGAATGAATGGGCAGA
GAGCAGGAATGTGGGACATCTGTGTTCAAGGGAAGGACTC
CAGGAGTCTGCTGGGAATGAGGCCTAGTAGGAAATGAGGT
GGCCCTTGAGGGTACAGAACAGGTTCATTCTTCGCCAAAT
TCCCAGCACCTTGCAGGCACTTACAGCTGAGTGAGATAAT
GCCTGGGTTATGAAATCAAAAAGTTGGAAAGCAGGTCAGA
GGTCATCTGGTACAGCCCTTCCTTCCCTTTTTTTTTTTTT
TTTTTGTGAGACAAGGTCTCTCTGTTGCCCAGGCTGG
AGTGGCGCAAACACAGCTCACTGCAGCCTCAACCTACTGG
GCTCAAGCAATCCTCCAGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGG
GATTACAAGCATGAGCCACCCCACTCAGCCCTTTCCTTCC
TTTTTAATTGATGCATAATAATTGTAAGTATTCATCATGG
TCCAACCAACCCTTTCTTGACCCACCTTCCTAGAGAGAGG
GTCCTCTTGATTCAGCGGTCAGGGCCCCAGACCCATGGTC
TGGCTCCAGGTACCACCTGCCTCATGCAGGAGTTGGCGTG
CCCAGGAAGCTCTGCCTCTGGGCACAGTGACCTCAGTGGG
GTGAGGGGGAGCTCTCCCCATAGCTGGGCTGCGGCCCAACC
CCACCCCCCTCAGGCTATGCCAGGGGGGTGTTGCCAGGGGCA
CCCGGGCATCGCCAGTCTAGCCCACTCCTTCATAAAGCCC
TCGCATCCCAGGAGCGAGCAGAGCCAGAGCAT

【０３２３】

マウスＡｌｄｈ１Ｌ１プロモーター－配列番号７

AACTGAGAGTGGAGGGGCACAGAAGAGCCCAAGAGGCTCC
TTAGGTTGTGTGGAGGGTACAATATGTTTGGGCTGAGCAA
CCCAGAGCCAGACTTTGTCTGGCTGGTAAGAGACAGAGGT
GCCTGCTATCACAATCCAAGGGTCTGCTTGAGGCAGAGCC
AGTGCAAAGGATGTGGTTAGAGCCAGCCTGGTGTACTGAA
GAGGGGCGAAGAGCTTGAGTAAGGAGTCTCAGCGGTGGTT
TGAGAGGCAGGGTGGTTAATGGAGTAGCTGCAGGGGAGAA
TCCTTGGGAGGGAGCCTGCAGGACAGAGCTTTGGTCAGGA
AGTGATGGGCATGTCACTGGACCCTGTATTGTCTCTGACT
TTTCTCAAGTAGGACAATGACTCTGCCCAGGGAGGGGTC
TGTGACAAGGTGGAAGGGCCAGAGGAGAACTTCTGAGAAG
AAAACCAGAGGCCGTGAAGAGGTGGGAAGGGCATGGGATT

CAGAACCTCAGGCCCACCAGGACACAACCCCAGGTCCACA
GCAGATGGGTGACCTTGCATGTCTCAGTCACCAGCATTGT
GCTCCTTGCTTATCACGCTTGGGTGAAGGAAATGACCCAA
ATAGCATAAAGCCTGAAGGCCGGGACTAGGCCAGCTAGGG
CTTGCCCTTCCCTTCCCAGCTGCACTTTCCATAGGTCCCA
CCTTCAGCAGATTAGACCCGCCTCCTGCTTCCTGCCTCCT
TGCCTCCTCACTCATGGGTCTATGCCCACCTCCAGTCTCG
GGACTGAGGCTCACTGAAGTCCCATCGAGGTCTGGTCTGG
TGAATCAGCGGCTGGCTCTGGGCCCTGGGCGACCAGTTAG
GTTCCGGGCATGCTAGGCAATGAACTCTACCCGGAATTGG
GGGTGCGGGGAGGCGGGGAGGTCTCCAACCCAGCCTTTTG
AGGACGTGCCTGTCGCTGCACGGTGCTTTTTATAGACGAT
GGTGGCCCATTTTGCAGAAGGGAAAGCCGGAGCCCTCTGG
GGAGCAAGGTCCCCGCAAATGGACGGATGACCTGAGCTTG
GTTCTGCCAGTCCACTTCCCAAATCCCTCACCCCATTCTA
GGGACTAGGGAAAGATCTCCTGATTGGTCATATCTGGGGG
CCTGGCCGGAGGGCCTCCTATGATTGGAGAGATCTAGGCT
GGGCGGGCCCTAGAGCCCGCCTCTTCTCTGCCTGGAGGAG
GAGCACTGACCCTAACCCTCTCTGCACAAGACCCGAGCTT
GTGCGCCCTTCTGGGAGCTTGCTGCCCCTGTGCTGACTGC
TGACAGCTGACTGACGCTCGCAGCTAGCAGGTACTTCTGG
GTTGCTAGCCCAGAGCCCTGGGCCGGTGACCCTGTTTTCC
CTACTTCCCGTCTTTGACCTTGGGTAAGTTTCTTTTTCTT
TTGTTTTTGAGAGAGGCACCCAGATCCTCTCCACTACAGG
CAGCCGCTGAACCTTGGATCCTCAGCTCCTGCCCTGGGAA
CTACAGTTCCTGCCCTTTTTTTTCCCACCTTGAGGGAGGTT
TTCCCTGAGTAGCTTCGACTATCCTGGAACAAGCTTTGTA
GACCAGCCTGGGTCTCCGGAGAGTTGGGATTAAAGGCGTG
CACCACCACC

【０３２４】

ヒトＮＧ２プロモーター－配列番号８

CTCTGGTTTCAAGACCAATACTCATAACCCCCACATGGAC
CAGGCACCATCACACCTGAGCACTGCACTTAGGGTCAAAG
ACCTGGCCCCACATCTCAGCAGCTATGTAGACTAGCTCCA
GTCCCTTAATCTCTCTCAGCCTCAGTTTCTTCATCTGCAA
AACAGGTCTCAGTTTCGTTGCAAAGTATGAAGTGCTGGGC
TGTTACTGGTCAAAGGGAAGAGCTGGGAAGAGGGTGCAAG
GTGGGGTTGGGCTGGAGATGGGCTGGAGCAGATAGATGGA
GGGACCTGAATGGAGGAAGTAAACCAAGGCCCGGTAACAT
TGGGACTGGACAGAGAACACGCAGATCCTCTAGGCACCGG
AAGCTAAGTAACATTGCCCTTTTCTCCTCCTGTTTGGGACT
AGGCTGATGTTGCTGCCTGGAAGGGAGCCAGCAGAAGGGC
CCCAGCCTGAAGCTGTTAGGTAGAAGCCAAATCCAGGGCC
AGATTTCCAGGAGGCAGCCTCGGGAAGTTGAAACACCCGG
ATTCAGGGGTCAGGAGGCCTGGGCTTCTGGCACCAAACGG
CCAGGGACCTACTTTCCACCTGGAGTCTTGTAAGAGCCAC
TTTCAGCTTGAGCTGCACTTTCGTCCTCCATGAAATGGGG
GAGGGGATGCTCCTCACCCACCTTGCAAGGTTATTTTGAG
GCAAATGTCATGGCGGGACTGAGAATTCTTTCTGCCCTGCG
AGGAAATCCAGACATCTCTCCCTTACAGACAGGGAGACTG

AGGTGAGGCCCTTCCAGGCAGAGAAGGTCACTGTTGCAGC
CATGGGCAGTGCCCCACAGGACCTCGGGGTGGTGCCTCTGG
AGTCTGGAGAAGTTCCTAGGGGACCTCCGAGGCAAAGCAG
CCCAAAAAGCCGCCTGTGAGGGTGGCTGGTGTCTGTCCTTC
CTCCTAAGGCTGGAGTGTGCCTGTGGAGGGGTCTCCTGAA
CTCCCGCAAAGGCAGAAAGGAGGGAAGTAGGGGCTGGGAC
AGTTCATGCCTCCTCCCTGAGGGGGTCTCCCGGGCTCGGC
TCTTGGGGCCAGAGTTCAGGGTGTCTGGGCCTCTCTATGA
CTTTGTTCTAAGTCTTTAGGGTGGGGCTGGGGTCTGGCCC
AGCTGCAAGGGCCCCCTCACCCCTGCCCCAGAGAGGAACA
GCCCCGCACGGGCCCTTTAAGAAGGTTGAGGGTGGGGGCA
GGTGGGGGAGTCCAAGCCTGAAACCCGAGCGGGCGCGCGG
GTCTGCGCCTGCCCCGCCCCCGGAGTTAAGTGCGCGGACA
CCCGGAGCCGGCCCGCGCCCAGGAGCAGAGCCGCGCTCGC
TCCACTCAGCTCCCAGCTCCCAGGACTCCGCTGGCTCCTC
GCAAGTCCTGCCGCCCAGCCCGCCGGG
【０３２５】
ＣＡＧ：：ＮｅｕｒｏＤ１－ＩＲＥＳ－ＧＦＰ－配列番号９
GATCCGGCCATTAGCCATATTATTCATTGGTTATATAGCA
TAAATCAATATTGGCTATTGGCCCATTGCATACGTTGTATC
CATATCATAATATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCAAC
ATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAA
TAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATA
TGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCC
TGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATA
ATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCC
ATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCA
CTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCC
CCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATT
ATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCA
GTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATG
CGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTG
ACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAA
TGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCA
AAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCG
GTAGGCATGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCA
ATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCCT
CCGATTGACTGAGTCGCCCGGGTACCCGTATTCCCAATAA
AGCCTCTTGCTGTTTGCATCCGAATCGTGGTCTCGCTGTT
CCTTGGGAGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCACGAC
GGGGGTCTTTCATTTGGGGGCTCGTCCGGGATTTGGAGAC
CCCTGCCCAGGGACCACCGACCCACCACCGGGAGGTAAGC
TGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGT
CTATGTTTGATGTTATGCGCCTGCGTCTGTACTAGTTAGC
TAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGGAACTGAC
GAGTTCTGAACACCCGGCCGCAACCCTGGGAGACGTCCCA
GGGACTTTGGGGGCCGTTTTTGTGGCCCGACCTGAGGAAG
GGAGTCGATGTGGAATCCGACCCCGTCAGGATATGTGGTT
CTGGTAGGAGACGAGAACCTAAAACAGTTCCCGCCTCCGT
CTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGAACCGAAGCCGCGCGTC

TTGTCTGCTGCAGCGCTGCAGCATCGTTCTGTGTTGTCTC
TGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATTAGGGCC
AGACTGTTACCACTCCCTTAAGTTTGACCTTAGGTCACTG
GAAAGATGTCGAGCGGATCGCTCACAACCAGTCGGTAGAT
GTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACCTTCTGCTCTGCAGAAT
GGCCAACCTTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTT
TAACCGAGACCTCATCACCCAGGTTAAGATCAAGGTCTTT
TCACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCCCTACA
TCGTGACCTGGGAAGCCTTGGCTTTTGACCCCCCTCCCTG
GGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCCTCCTCTT
CCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCCCCTTGAACCTCCTCGTT
CGACCCCCGCCTCGATCCTCCCCTTTATCCAGCCCTCACTCC
TTCTCTAGGCGCCGGAATTCGATGTCGACATTGATTATTG
ACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTC
ATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGT
AAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCA
TTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAA
TAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACG
GTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATG
CCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGC
CCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTT
TCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATT
ACCATGGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTC
CCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCCAATTTTGTATTTAT
TTATTTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGG
GGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGG
GCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAAT
CAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGC
GGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCG
GGCGGGAGTCGCTGCGTTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTC
CGCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCG
CGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCC
TCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAATGACGGCTCGTT
TCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGCTCCGGG
AGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGT
GCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCCCGCG
CTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGC
TTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGG
GGCGGTGCCCCGCGGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAA
AGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGG
GGTGTGGGCGCGGCGGTCGGGCTGTAACCCCCCCCTGCAC
CCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTG
CGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCC
GGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCG
GGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCG
GCGGCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCGCGGCGAGC
CGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGGGCGC
AGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCCGAAATCT
GGGAGGCGCCGCCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAA
GCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGC

CTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCATCTCC
AGCCTCGGGGGCTGCCGCAGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGG
GGACGGGGGCAGGGCGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCG
GCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTCATGCCTTCTTT
CTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTGTTGTG
CTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTCGCTAGCGGATCCG
GCCGCCTCGGCCACCGGTCGCCACCATCGCCACCATGACC
AAATCATACAGCGAGAGCGGGCTGATGGGCGAGCCTCAGC
CCCAAGGTCCCCCAAGCTGGACAGATGAGTGTCTCAGTTC
TCAGGACGAGGAACACGAGGCAGACAAGAAAGAGGACGAG
CTTGAAGCCATGAATGCAGAGGAGGACTCTCTGAGAAACG
GGGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAAGATGAGGATCTAGAGGAAGA
GGAGGAAGAAGAAGAAGAGGAGGAGGAGGATCAAAAGCCCAAG
AGACGGGGTCCCAAAAAGAAAAAGATGACCAAGGCGCGCCC
TAGAACGTTTTAAATTAAGGCGCATGAAGGCCAACGCCCG
CGAGCGGAACCGCATGCACGGGCTGAACGCGGCGCTGGAC
AACCTGCGCAAGGTGGTACCTTGCTACTCCAAGACCCAGA
AACTGTCTAAAATAGAGACACTGCGCTTGGCCAAGAACTA
CATCTGGGCTCTGTCAGAGATCCTGCGCTCAGGCAAAAGC
CCTGATCTGGTCTCCTTCGTACAGACGCTCTGCAAAGGTT
TGTCCCAGCCCACTACCAATTTGGTCGCCGGCTGCCTGCA
GCTCAACCCTCGGACTTTCTTGCCTGAGCAGAACCCGGAC
ATGCCCCCGCATCTGCCAACCGGCCAGCGCTTCCTTCCCGG
TGCATCCCTACTCCTACCAGTCCCCTGGACTGCCCAGCCC
GCCCTACGGCACCATGGACAGCTCCCACGTCTTCCACGTC
AAGCCGCCGCCACACGCCTACAGCGCAGCTCTGGAGCCCT
TCTTTGAAAGCCCCCTAACTGACTGCACCAGCCCTTCCTT
TGACGGACCCCTCAGCCCGCCGCTCAGCATCAATGGCAAC
TTCTCTTTCAAACACGAACCATCCGCCGAGTTTGAAAAAA
ATTATGCCTTTACCATGCACTACCCTGCAGCGACGCTGGC
AGGGCCCCAAAGCCACGGATCAATCTTCTCTTCCGGTGCC
GCTGCCCCTCGCTGCGAGATCCCCATAGACAACATTATGT
CTTTCGATAGCCATTCGCATCATGAGCGAGTCATGAGTGC
CCAGCTTAATGCCATCTTTCACGATTAGGTTTAAACGCGG
CCGCGCCCCTCTCCCTCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCC
GAAGCCGCTTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATAT
GTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGG
GCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTA
GGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTT
GAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGA
AGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGA
ACCCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCC
ACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAG
TGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAAT
GGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGC
CCAGAAGGTACCCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCT
CGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAA
AACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTCCT
TTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGTGAG
CAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGGTGCCCATCCTG

GTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCG
TGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCT
GACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTG
CCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGC
AGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGA
CTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAG
CGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCC
GCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCG
CATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAAC
ATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTACAACAGCCACA
ACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAA
GGTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCGCA
GTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCCATCG
GCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGAG
CACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGC
GATCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGA
TCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAGTCGACAA
TCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGT
ATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACG
CTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTAT
GGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTG
TCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTG
GCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGG
TTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACT
TTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCG
CCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTT
GGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAGCTGACG
TCCTTTCCATGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTC
TGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAA
TCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTG
CGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTC
GGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGAATTCGAGC
TCGAGCTTGTTAACATCGATAAAATAAAAGATTTTATTTA
GTCTCCAGAAAAAGGGGGGGAATGAAAGACCCCACCTGTAG
GTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCA
TGGAAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAA
GGTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAG
GATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCA
AGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATAT
CTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAAC
AGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTA
GAGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGA
AATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGC
TTCTCGCTTTCTGTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAA
TAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCCTC
CGATTGACTGAGTCGCCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAA
CCCTCTTGCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCC
TTGGGAGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCG
GGGGTCTTTCATTTCCGACTTGTGGTCTCGCTGCCTTGGG
AGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGGT

CTTCACATGCAGCATGTATCAAAATTAATTTGGTTTTTT
TCTTAAGTATTTACATTAAATGGCCATAGTTGCATTAATG
AATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTATTGGC
GCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGT
CGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCG
GTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAA
AGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCG
TAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGC
CCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGA
GGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTT
TCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACC
CTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGG
GAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCT
CAGTTCGGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTG
CACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCG
GTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGGTAAGACACGACTT
ATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGA
GCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGT
GGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTAT
CTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTT
GGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCG
GTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAA
AAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGG
TCTGACGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTT
TGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCT
TTTAAATTAAAAATGAAGTTTGCGGCCGGCCGCAAATCAA
TCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCA
ATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTA
TTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGA
TAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGC
TGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGAT
TTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCA
GAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTAT
TAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTT
AATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCG
TGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTC
CGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATG
TTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCG
TTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGT
TATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCC
GTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGT
CATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTG
CCCGGCGTCAACACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGA
ACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGC
GAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTC
GATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCT
TTTACTTTCACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAA
GGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAA
ATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAAT

【0326】

配列番号１０－ヒトＤｌｘ２タンパク質をコードするヒトＤｌｘ２核酸配列
ＡＴＧＡＣＴＧＧＡＧＴＣＴＴＴＧＡＣＡＧＴＣＴＡＧＴＧＧＣＴＧＡＴＡＴＧＣＡＣＴ
ＣＧＡＣＣＣＡＧＡＴＣＧＣＣＧＣＣＴＣＣＡＧＣＡＣＧＴＡＣＣＡＣＣＡＧＣＡＣＣＡ
ＧＣＡＧＣＣＣＣＣＧＡＧＣＧＧＣＧＧＣＧＧＧＣＧＣＣＧＧＣＣＣＧＧＧＴＧＧＣＡＡＣ
ＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＣＴＣＣＡＣＡＡＧＣＣＣＣＡＧＧＡＧＴＣＧＣ
ＣＣＡＣＣＣＴＴＣＣＧＧＴＧＴＣＣＡＣＣＧＣＣＡＣＣＧＡＣＡＧＣＡＧＣＴＡＣＴＡ
ＣＡＣＣＡＡＣＣＡＧＣＡＧＣＡＣＣＣＧＧＣＧＧＧＣＧＧＣＧＧＧＣＧＧＣＧＧＧＧ
ＧＧＣＴＣＧＣＣＣＴＡＣＧＣＧＣＡＣＡＴＧＧＧＴＴＣＣＴＡＣＣＡＧＴＡＣＣＡＡＧ
ＣＣＡＧＣＧＧＣＣＴＣＡＡＣＡＡＣＧＴＣＣＣＴＴＡＣＴＣＣＧＣＣＡＡＧＡＧＣＡＧ
ＣＴＡＴＧＡＣＣＴＧＧＧＣＴＡＣＡＣＣＧＣＣＧＣＣＴＡＣＡＣＣＴＣＣＴＡＣＧＣＴ
ＣＣＣＴＡＴＧＧＡＡＣＣＡＧＴＴＣＧＴＣＣＣＣＡＧＣＣＡＡＣＡＡＣＧＡＧＣＣＴＧ
ＡＧＡＡＧＧＡＧＧＡＣＣＴＴＧＡＧＣＣＴＧＡＡＡＴＴＣＧＧＡＴＡＧＴＧＡＡＣＧＧ
ＧＡＡＧＣＣＡＡＡＧＡＡＡＧＴＣＣＧＧＡＡＡＣＣＣＣＧＣＡＣＣＡＴＣＴＡＣＴＣＣ
ＡＧＴＴＴＣＣＡＧＣＴＧＧＣＧＧＣＴＣＴＴＣＡＧＣＧＧＣＧＴＴＴＣＣＡＡＡＡＧＡ
ＣＴＣＡＡＴＡＣＴＴＧＧＣＣＴＴＧＣＣＧＧＡＧＣＧＡＧＣＣＧＡＧＣＴＧＧＣＧＧＣ
ＣＴＣＴＣＴＧＧＧＣＣＴＣＡＣＣＣＡＧＡＣＴＣＡＧＧＴＣＡＡＡＡＴＣＴＧＧＴＴＣ
ＣＡＧＡＡＣＣＧＣＣＧＧＴＣＣＡＡＧＴＴＣＡＡＧＡＡＧＡＴＧＴＧＧＡＡＡＡＧＴＧ
ＧＴＧＡＧＡＴＣＣＣＣＴＣＧＧＡＧＣＡＧＣＡＣＣＣＴＧＧＧＧＣＣＡＧＣＧＣＴＴＣ
ＴＣＣＡＣＣＴＴＧＴＧＣＴＴＣＧＣＣＧＣＣＡＧＴＣＴＣＡＧＣＧＣＣＧＧＣＣＴＣＣ
ＴＧＧＧＡＣＴＴＴＧＧＴＧＴＧＣＣＧＣＡＧＣＧＧＡＴＧＧＣＧＧＧＣＧＧＧＣＧＧＴＧ
ＧＴＣＣＧＧＧＣＡＧＴＧＧＣＧＧＣＡＧＣＧＧＣＧＣＣＧＧＣＡＧＣＴＣＧＧＧＣＴＣ
ＣＡＧＣＣＣＧＡＧＣＡＧＣＧＣＧＧＣＣＴＣＧＧＣＴＴＴＴＣＴＧＧＧＣＡＡＣＴＡＣ
ＣＣＣＴＧＧＴＡＣＣＡＣＣＡＧＡＣＣＴＣＧＧＧＡＴＣＣＧＣＣＴＣＡＣＡＣＣＴＧＣ
ＡＧＧＣＣＡＣＧＧＣＧＣＣＧＣＴＧＣＴＧＣＡＣＣＣＣＡＣＴＣＡＧＡＣＣＣＣＧＣＡ
ＧＣＣＧＣＡＴＣＡＣＣＡＣＣＡＣＣＡＣＣＡＴＣＡＣＧＧＣＧＧＣＧＧＧＧＧＣＧＣＣ
ＣＣＧＧＴＧＡＧＣＧＣＧＧＧＧＡＣＧＡＴＴＴＴＣＴＡＡ
【０３２７】
配列番号１１－－配列番号１０によってコードされるヒトＤｌｘ２アミノ酸配列
ＭＴＧＶＦＤＳＬＶＡＤＭＨＳＴＱＩＡＡＳＳＴＹＨＱＨＱＱＰＰＳＧＧＧＡＧＰＧＧＮ
ＳＳＳＳＳＳＬＨＫＰＱＥＳＰＴＬＰＶＳＴＡＴＤＳＳＹＹＴＮＱＱＨＰＡＧＧＧＧＧＧ
ＧＳＰＹＡＨＭＧＳＹＱＹＱＡＳＧＬＮＮＶＰＹＳＡＫＳＳＹＤＬＧＹＴＡＡＹＴＳＹＡ
ＰＹＧＴＳＳＳＰＡＮＮＥＰＥＫＥＤＬＥＰＥＩＲＩＶＮＧＫＰＫＫＶＲＫＰＲＴＩＹＳ
ＳＦＱＬＡＡＬＱＲＲＦＱＫＴＱＹＬＡＬＰＥＲＡＥＬＡＡＳＬＧＬＴＱＴＱＶＫＩＷＦ
ＱＮＲＲＳＫＦＫＫＭＷＫＳＧＥＩＰＳＥＱＨＰＧＡＳＡＳＰＰＣＡＳＰＰＶＳＡＰＡＳ
ＷＤＦＧＶＰＱＲＭＡＧＧＧＧＰＧＳＧＧＳＧＡＧＳＳＧＳＳＰＳＳＡＡＳＡＦＬＧＮＹ
ＰＷＹＨＱＴＳＧＳＡＳＨＬＱＡＴＡＰＬＬＨＰＴＱＴＰＱＰＨＨＨＨＨＨＨＧＧＧＧＡ
ＰＶＳＡＧＴＩＦ
【０３２８】
配列番号１２－マウスＤｌｘ２タンパク質をコードするマウスＤｌｘ２核酸配列
ＡＴＧＡＣＴＧＧＡＧＴＣＴＴＴＧＡＣＡＧＴＣＴＧＧＴＧＧＣＴＧＡＴＡＴＧＣＡＣＴ
ＣＧＡＣＣＣＡＧＡＴＣＡＣＣＧＣＣＴＣＣＡＧＣＡＣＧＴＡＣＣＡＣＣＡＧＣＡＣＣＡ
ＧＣＡＧＣＣＣＣＣＧＡＧＣＧＧＴＧＣＧＧＧＣＧＣＣＧＧＣＣＣＴＧＧＣＧＧＣＡＡＣ
ＡＧＣＡＡＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＡＣＡＧＣＡＧＣＣＴＧＣＡＣＡＡＧＣＣＣＣ
ＡＧＧＡＧＴＣＧＣＣＡＡＣＣＣＴＣＣＣＧＧＴＧＴＣＣＡＣＧＧＣＴＡＣＧＧＡＣＡＧ
ＣＡＧＣＴＡＣＴＡＣＡＣＣＡＡＣＣＡＧＣＡＧＣＡＣＣＣＧＧＣＧＧＧＣＧＧＧＣＧＧＣ
ＧＧＣＧＧＧＧＧＧＧＧＣＣＴＣＧＣＣＣＴＡＣＧＣＧＣＡＣＡＴＧＧＧＣＴＣＣＴＡＣＣ
ＡＧＴＡＣＣＡＣＧＣＣＡＧＣＧＧＣＣＴＣＡＡＣＡＡＴＧＴＣＴＣＣＴＡＣＴＣＣＧＣ
ＣＡＡＡＡＧＣＡＧＣＴＡＣＧＡＣＣＴＧＧＧＣＴＡＣＡＣＣＧＣＣＧＣＧＴＡＣＡＣＣ
ＴＣＣＴＡＣＧＣＧＣＣＣＴＡＣＧＧＣＡＣＣＡＧＴＴＣＧＴＣＴＣＣＧＧＴＣＡＡＣＡ
ＡＣＧＡＧＣＣＧＧＡＣＡＡＧＧＡＡＧＡＣＣＴＴＧＡＧＣＣＴＧＡＡＡＴＣＣＧＡＡＴ

AGTGAACGGGAAGCCAAAGAAAGTCCGGAAACCACGCACC
ATCTACTCCAGTTTCCAGCTGGCGGCCCTTCAACGACGCT
TCCAGAAGACCCAGTATCTGGCCCTGCCAGAGCGAGCCGA
GCTGGCGGCGTCCCTGGGCCTCACCCAAACTCAGGTCAAA
ATCTGGTTCCAGAACCGCCGATCCAAGTTCAAGAAGATGT
GGAAAAGCGGCGAGATACCCACCGAGCAGCACCCTGGAGC
CAGCGCTTCTCCTCCTTGTGCCTCCCCGCCGGTCTCGGCG
CCAGCATCCTGGGACTTCGGCGCGCCGCAGCGGATGGCTG
GCGGCGGCCCGGGCAGCGGAGGCGGCGGTGCGGGCAGCTC
TGGCTCCAGCCCGAGCAGCGCCGCCTCGGCCTTTTCTGGGA
AACTACCCGTGGTACCACCAGGCTTCGGGCTCCGCTTCAC
ACCTGCAGGCCACAGCGCCACTTCTGCATCCTTCGCAGAC
TCCGCAGGCGCACCATCACCACCATCACCACCACCACGCA
GGCGGGGGCGCCCCGGTGAGCGCGGGGACGATTTTCTAA

【０３２９】

配列番号１３－配列番号１２によってコードされるマウスＤｌｘ２アミノ酸配列

MTGVFDSLVADMHSTQITASSTYHQHQQPPSGAGAGPGGN
SNSSSSNSSLHKPQESPTLPVSTATDSSYYTNQQHPAGGG
GGGASPYAHMGSYQYHASGLNNVSYSAKSSYDLGYTAAYT
SYAPYGTSSSPVNNEPDKEDLEPEIRIVNGKPKKVRKPRT
IYSSFQLAALQRRFQKTQYLALPERAELAASLGLTQTQVK
IWFQNRRSKFKKMWKSGEIPTEQHPGASASPPCASPPVSA
PASWDFGAPQRMAGGGPGSGGGGAGSSGSSPSSAASAFLG
NYPWYHQASGSASHLQATAPLLHPSQTPQAHHHHHHHHHA
GGGAPVSAGTIF

【０３３０】

配列番号１４－ヒトＩｓｌ１タンパク質をコードするヒトＩｓｌ１核酸配列

tgaaggaaga ggaagaggag gagagggagg ccagagccag aacagcccgg cagcccgggc
ttcgggggag aacggcctga gccccgagca agttgcctcg ggagccctaa tcctctcccg
ctggctcgcc gagcggtcag tggcgctcag cggcggcgag gctgaaatat gataatcaga
acagctgcgc cgcgcgccct gcagccaatg ggcgcggcgc tcgcctgacg tccccgcgcg
ctgcgtcaga ccaatggcga tggagctgag ttggagcaga gaagtttgag taagagataa
ggaagagagg tgcccgagcc gcgccgagtc tgccgccgcc gcagcgcctc cgctccgcca
actccgccgg cttaaattgg aatcctagat ccgcgagggc gcggcgcagc cgagcagcgg
ctctttcagc attggcaacc ccaggggcca atatttccca cttagccaca gctccagcat
cctctctgtg ggctgttcac cagctgtaca accaccattt cactgtggac attactccct
cttacagata tgggagacat gggagatcca ccaaaaaaaa aacgtctgat ttccctatgt
gttggttgcg gcaatcagat tcacgatcag tatattctga gggtttctcc ggatttggaa
tggcatgcgg catgtttgaa atgtgcggag tgtaatcagt atttggacga gagctgtaca
tgctttgtta gggatgggaa aacctactgt aaaagagatt atatcaggtt gtacgggatc
aaatgcgcca agtgcagcat cggcttcagc aagaacgact tcgtgatgcg tgcccgctcc
aaggtgtatc acatcgagtg tttccgctgt gtggcctgca gccgccagct catccctggg
gacgaatttg cgcttcggga ggacggtctc ttctgccgag cagaccacga tgtggtggag
agggccagtc taggcgctgg cgacccgctc agtcccctgc atccagcgcg gccactgcaa
atggcagcgg agcccatctc cgccaggcag ccggccctgc ggccccacgt ccacaagcag
ccggagaaga ccacccgcgt gcggactgtg ctgaacgaga agcagctgca caccttgcgg
acctgctacg ccgcaaaccc gcggccagat gcgctcatga aggagcaact ggtagagatg
acgggcctca gtccccgtgt gatccgggtc tggtttcaaa acaagcggtg caaggacaag
aagcgaagca tcatgatgaa gcaactccag cagcagcagc ccaatgacaa aactaatatc
caggggatga caggaactcc catggtggct gccagtccag agagacacga cggtggctta
caggctaacc cagtggaagt acaaagttac cagccacctt ggaaagtact gagcgacttc
gccttgcaga gtgacataga tcagcctgct tttcagcaac tggtcaattt ttcagaagga
ggaccgggct ctaattccac tggcagtgaa gtagcatcaa tgtcctctca acttccagat
acacctaaca gcatggtagc cagtcctatt gaggcatgag gaacattcat tctgtatttt
ttttccctgt tggagaaagt gggaaattat aatgtcgaac tctgaaacaa aagtatttaa
cgacccagtc aatgaaaact gaatcaagaa atgaatgctc catgaaatgc acgaagtctg
ttttaatgac aaggtgatat ggtagcaaca ctgtgaagac aatcatggga ttttactaga
attaaacaac aaacaaaacg caaaacccag tatatgctat tcaatgatct tagaagtact
gaaaaaaaaa gacgttttta aaacgtagag gatttatatt caaggatctc aaagaaagca
ttttcatttc actgcacatc tagagaaaaa caaaaataga aaattttcta gtccatccta

atctgaatgg tgctgtttct atattggtca ttgccttgcc aaacaggagc tccagcaaaa
gcgcaggaag agagactggc ctccttggct gaaagagtcc tttcaggaag gtggagctgc
attggtttga tatgtttaaa gttgacttta acaaggggtt aattgaaatc ctgggtctct
tggcctgtcc tgtagctggt ttatttttta ctttgccccc tccccacttt ttttgagatc
catcctttat caagaagtct gaagcgactt taaaggtttt tgaattcaga tttaaaaacc
aacttataaa gcattgcaac aaggttacct ctattttgcc acaagcgtct cgggattgtg
tttgacttgt gtctgtccaa gaacttttcc cccaaagatg tgtatagtta ttggttaaaa
tgactgtttt ctctctctat ggaaataaaa aggaaaaaaa aaaaaaaa

【０３３１】

配列番号１５－－配列番号１４によってコードされるヒトＩｓｌ１アミノ酸配列

ＭＧＤＭＧＤＰＰＫＫＫＲＬＩＳＬＣＶＧＣＧＮＱＩＨＤＱＹＩＬＲＶＳＰＤＬＥＷＨＡ
ＡＣＬＫＣＡＥＣＮＱＹＬＤＥＳＣＴＣＦＶＲＤＧＫＴＹＣＫＲＤＹＩＲＬＹＧＩＫＣＡ
ＫＣＳＩＧＦＳＫＮＤＦＶＭＲＡＲＳＫＶＹＨＩＥＣＦＲＣＶＡＣＳＲＱＬＩＰＧＤＥＦ
ＡＬＲＥＤＧＬＦＣＲＡＤＨＤＶＶＥＲＡＳＬＧＡＧＤＰＬＳＰＬＨＰＡＲＰＬＱＭＡＡ
ＥＰＩＳＡＲＱＰＡＬＲＰＨＶＨＫＱＰＥＫＴＴＲＶＲＴＶＬＮＥＫＱＬＨＴＬＲＴＣＹ
ＡＡＮＰＲＰＤＡＬＭＫＥＱＬＶＥＭＴＧＬＳＰＲＶＩＲＶＷＦＱＮＫＲＣＫＤＫＫＲＳ
ＩＭＭＫＱＬＱＱＱＱＰＮＤＫＴＮＩＱＧＭＴＧＴＰＭＶＡＡＳＰＥＲＨＤＧＧＬＱＡＮ
ＰＶＥＶＱＳＹＱＰＰＷＫＶＬＳＤＦＡＬＱＳＤＩＤＱＰＡＦＱＱＬＶＮＦＳＥＧＧＰＧ
ＳＮＳＴＧＳＥＶＡＳＭＳＳＱＬＰＤＴＰＮＳＭＶＡＳＰＩＥＡ

【０３３２】

配列番号１６－マウスＩｓｌ１タンパク質をコードするマウスＩｓｌ１核酸配列

caactccgcc ggcttaaatc ggactcccag atctgcgagg gcgcggcgca gccgggcagc
tgtttccccc agttttggca accccggggg ccactatttg ccacctagcc acagcaccag
catcctctct gtgggctatt caccaattgt ccaaccacca tttcactgtg gacgttactc
cctcttacag atatgggaga catgggcgat ccaccaaaaa aaaaacgtct gatttccctg
tgtgttggtt gcggcaatca aattcacgac cagtatattc tgagggtttc tccggatttg
gagtggcatg cagcatgttt gaaatgtgcg gagtgtaatc agtatttgga cgaaagctgt
acgtgctttg ttagggatgg gaaaacctac tgtaaaagag attatatcag gttgtacggg
atcaaatgcg ccaagtgcag cataggcttc agcaagaacg acttcgtgat gcgcgcccgc
tctaaggtgt accacatcga gtgtttccgc tgtgtagcct gcagccgaca gctcatcccg
ggagacgaat tcgccctgcg ggaggatggg cttttctgcc gtgcagacca cgatgtggtg
gagagagcca gcctgggagc tggagaccct ctcagtccct tgcatccagc gcggcctctg
caaatggcag ccgaacccat ctcggctagg cagccagctc tgcggccgca cgtccacaag
cagccggaga agaccacccg agtgcggact gtgctcaacg agaagcagct gcacaccttg
cggacctgct atgccgccaa ccctcggcca gatgcgctca tgaaggagca actagtggag
atgacgggcc tcagtcccag agtcatccga gtgtggtttc aaaacaagcg gtgcaaggac
aagaaacgca gcatcatgat gaagcagctc cagcagcagc aacccaacga caaaactaat
atccagggga tgacaggaac tcccatggtg gctgctagtc cggagagaca tgatggtggt
ttacaggcta acccagtaga ggtgcaaagt taccagccgc cctggaaagt actgagtgac
ttcgccttgc aaagcgacat agatcagcct gcttttcagc aactggtcaa tttttcagaa
ggaggaccag gctctaattc tactggcagt gaagtagcat cgatgtcctc gcagctccca
gatacaccca acagcatggt agccagtcct attgaggcat gaggaacatt cattcagatg
ttttgttttg ttttgttttg ttttttccc ctgttggaga aagtggg

【０３３３】

配列番号１７－配列番号１６によってコードされるマウスＩｓｌ１アミノ酸配列

MGDMGDPPKKKRLISLCVGCGNQIHDQYILRVSPDLEWHA
ACLKCAECNQYLDESCTCFVRDGKTYCKRDYIRLYGIKCA
KCSIGFSKNDFVMRARSKVYHIECFRCVACSRQLIPGDEF
ALREDGLFCRADHDVVERASLGAGDPLSPLHPARPLQMAA
EPISARQPALRPHVHKQPEKTTRVRTVLNEKQLHTLRTCY
AANPRPDALMKEQLVEMTGLSPRVIRVWFQNKRCKDKKRS
IMMKQLQQQQPNDKTNIQGMTGTPMVAASPERHDGGLQAN
PVEVQSYQPPWKVLSDFALQSDIDQPAFQQLVNFSEGGPG
SNSTGSEVASMSSQLPDTPNSMVASPIEA

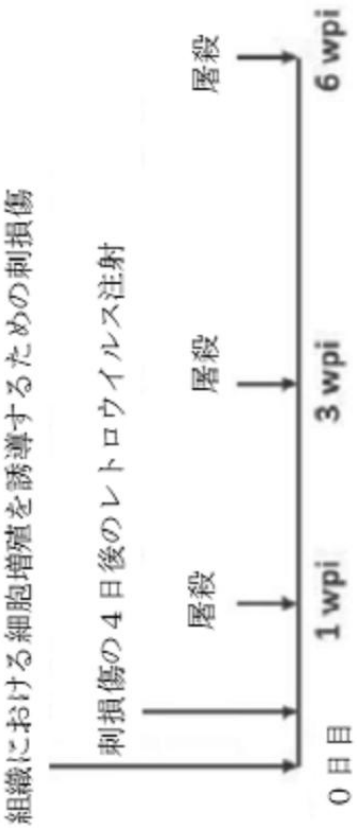
【０３３４】

その他の実施形態

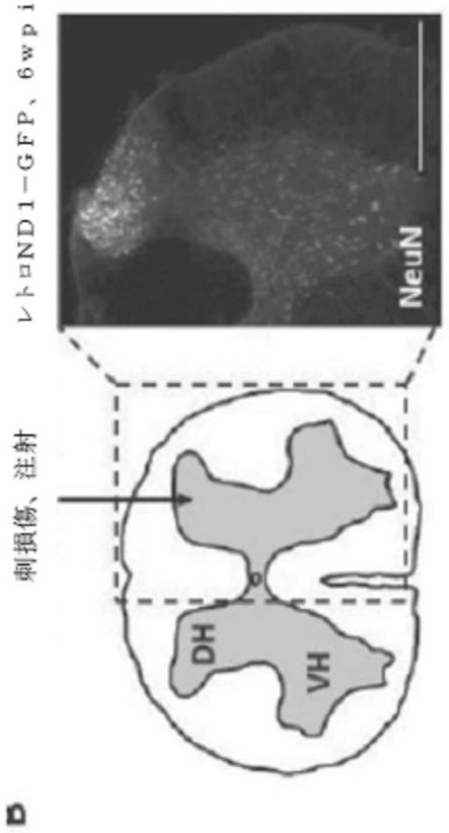
本発明をその詳細な説明とともに記載してきたが、前述の説明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を例示するものであり、それを限定することは意図していないことを理解されたい。他の態様、利点、および変形は、以下の特許請求の範囲の範囲内である。

【図面】

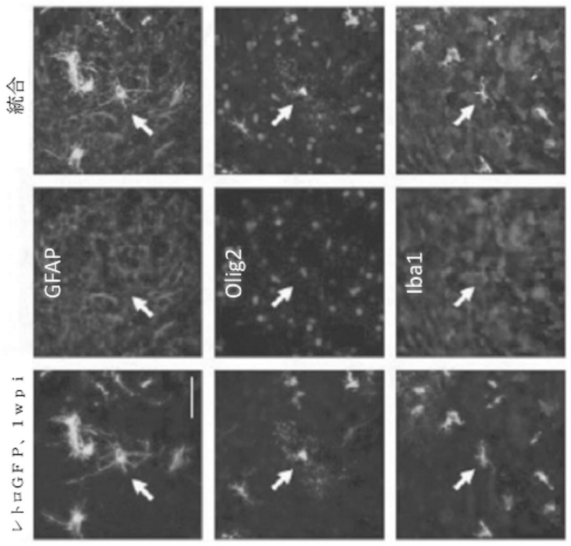
【図１Ａ】



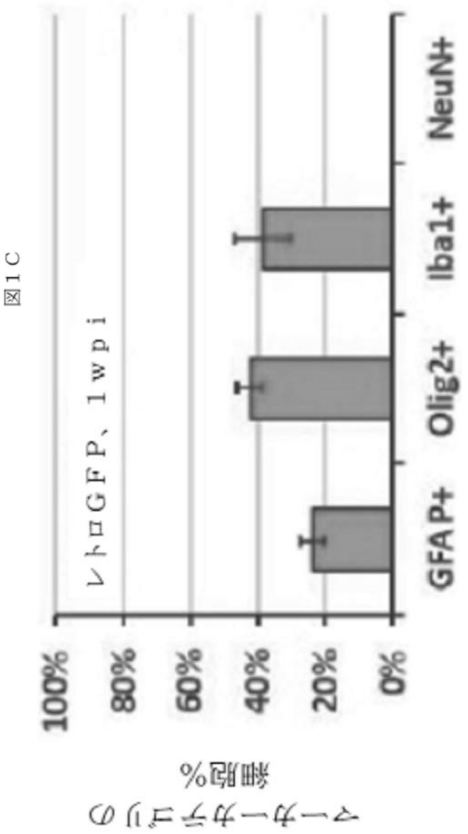
【図１Ｂ】



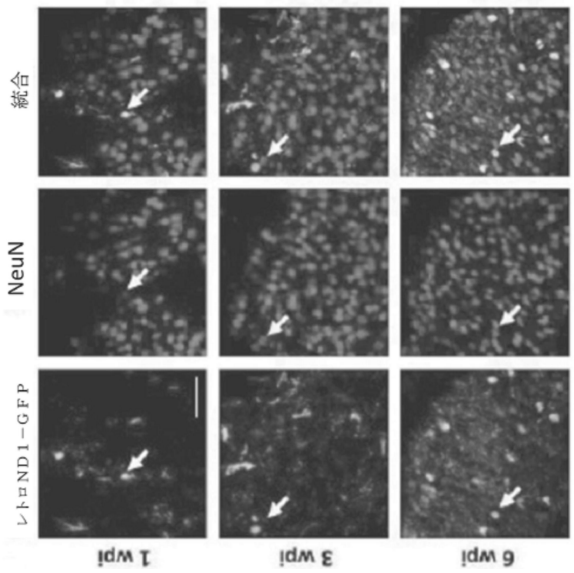
【図１Ｃ】



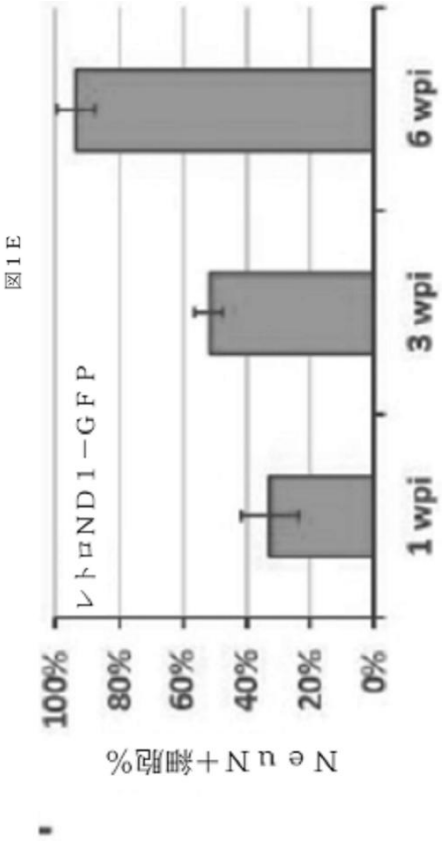
【図１Ｄ】



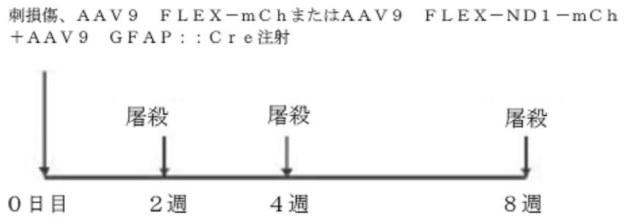
【図１Ｅ】



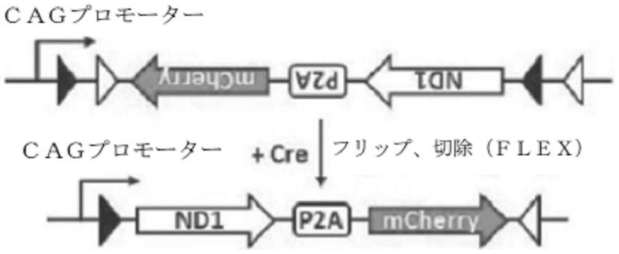
【図１Ｆ】



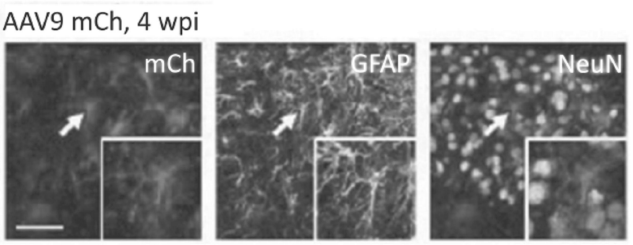
【図２Ａ】



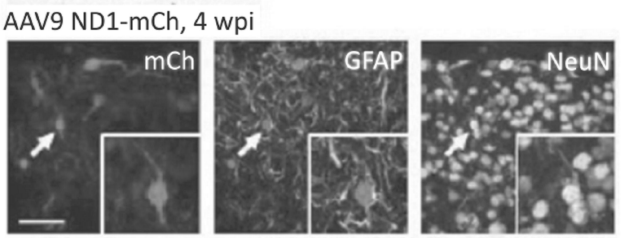
【図２Ｂ】



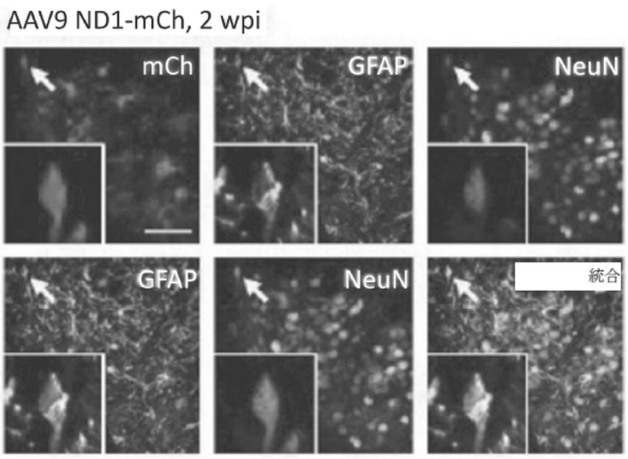
【図２Ｃ】



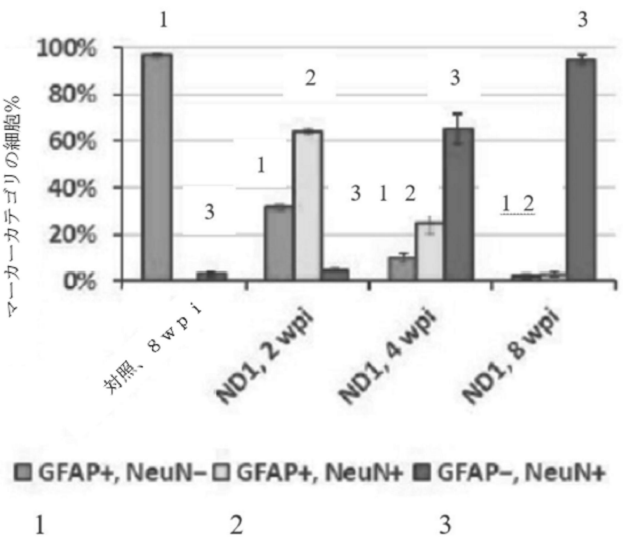
【図２Ｄ】



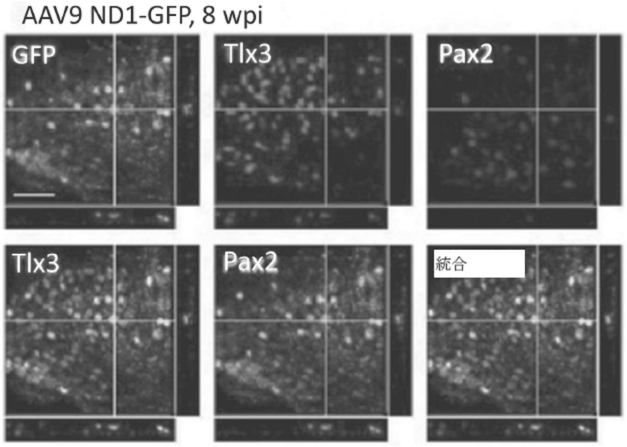
【図２Ｅ】



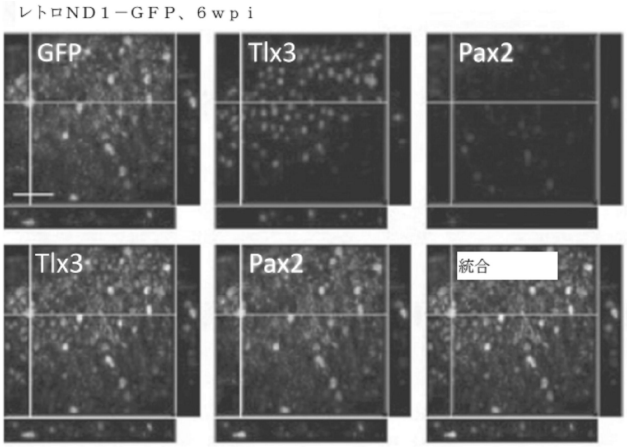
【図２Ｆ】



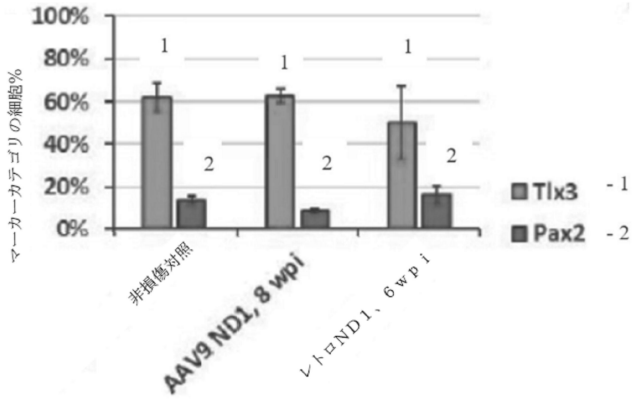
【図３Ａ】



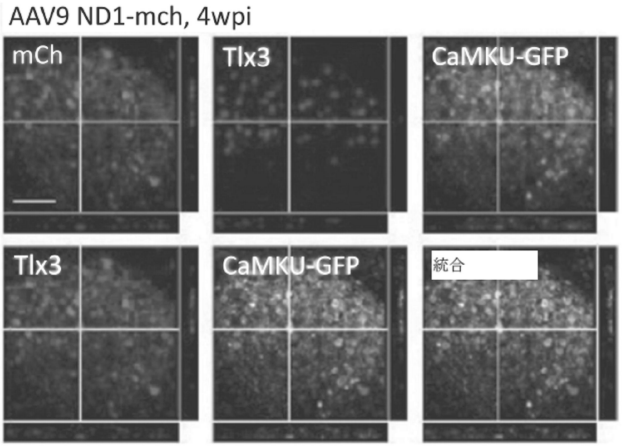
【図３Ｂ】



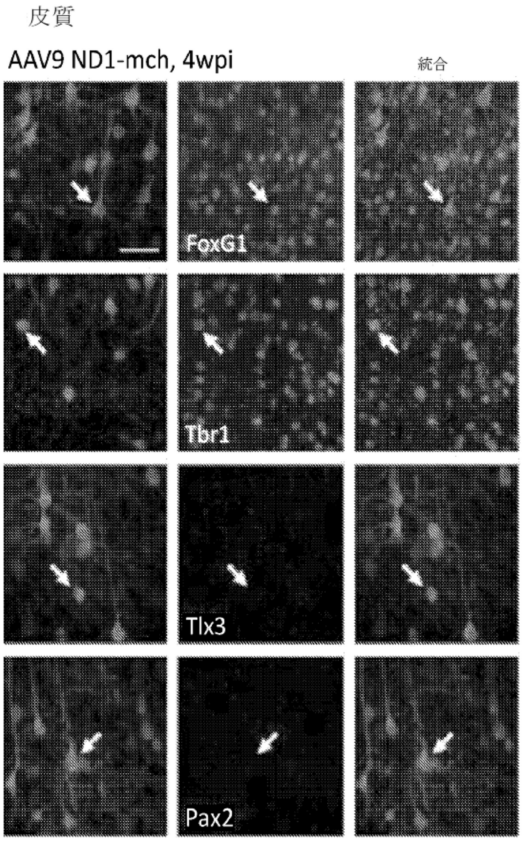
【図３Ｃ】



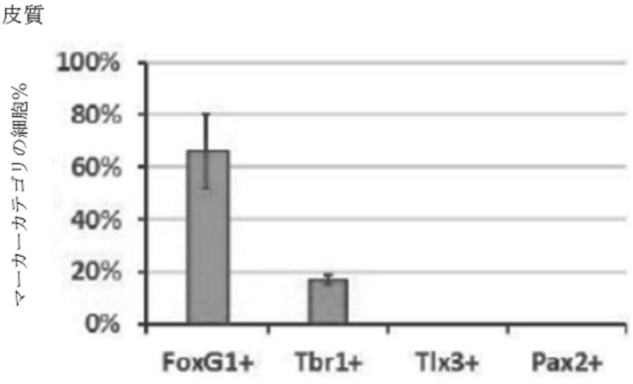
【図３Ｄ】



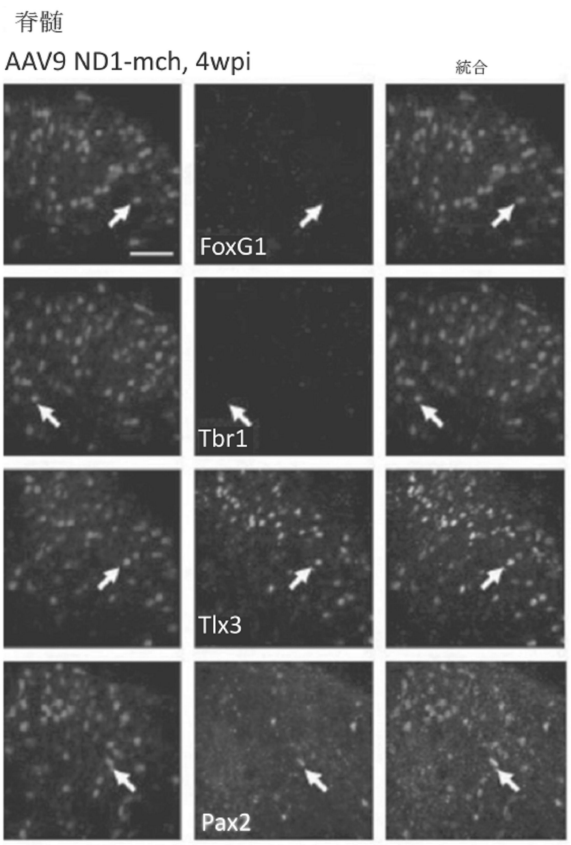
【図４Ａ】



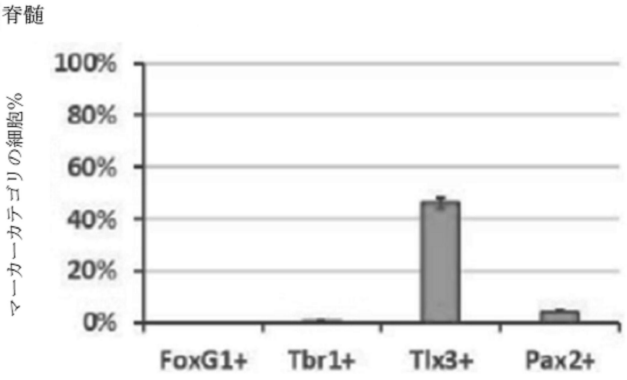
【図４Ｂ】



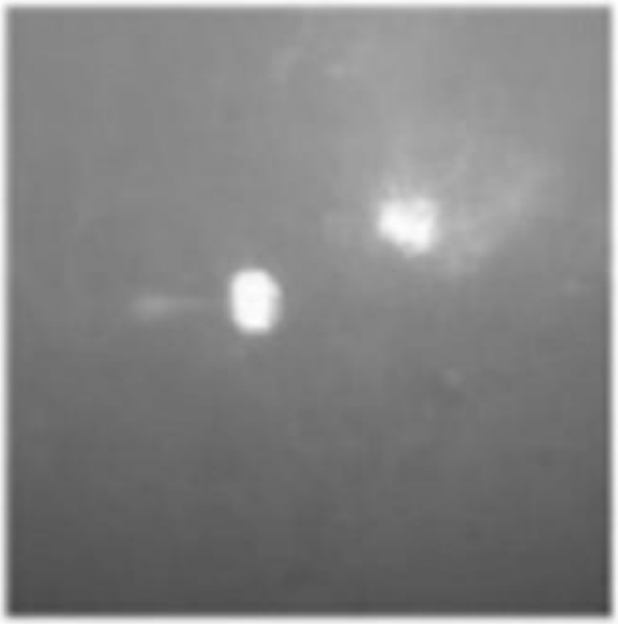
【図４Ｃ】



【図４Ｄ】



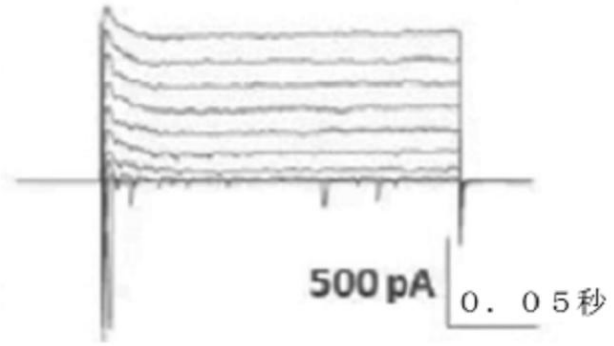
【図５Ａ】



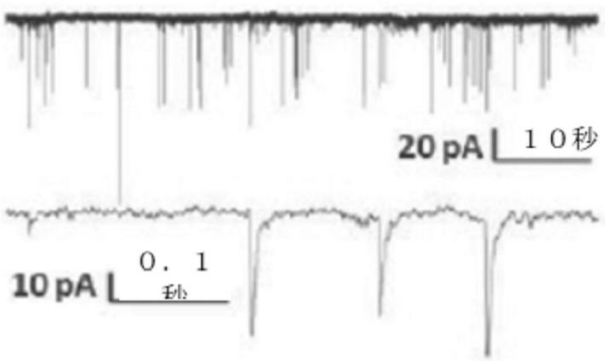
【図５Ｂ】



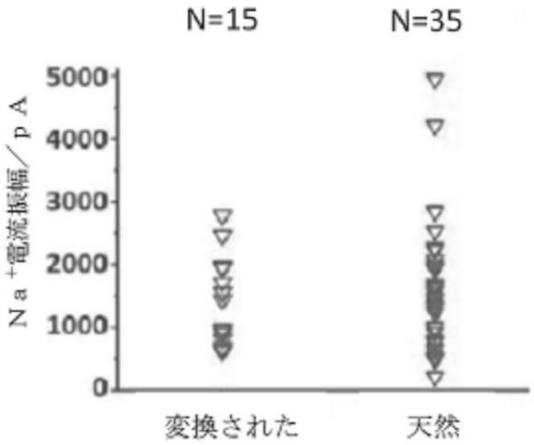
【図５Ｃ】



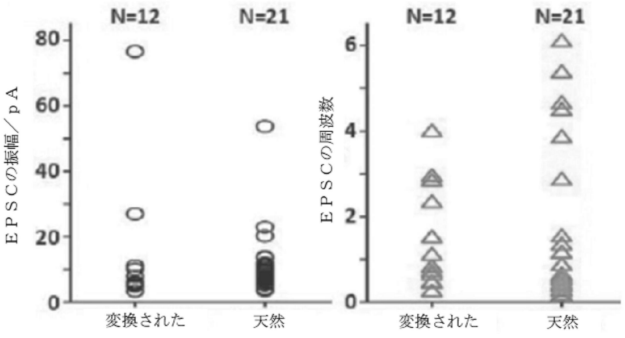
【図５Ｄ】



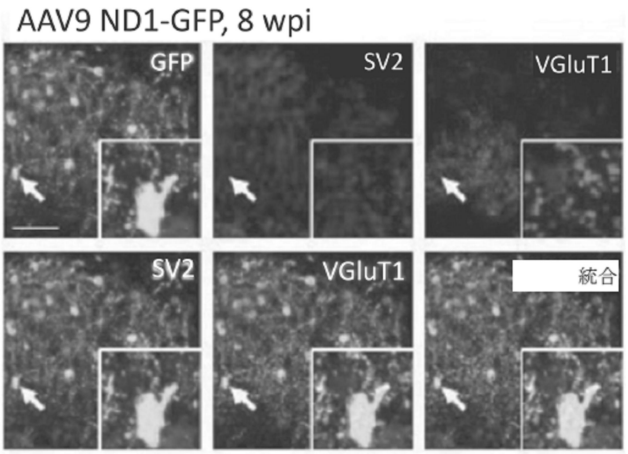
【図５Ｅ】



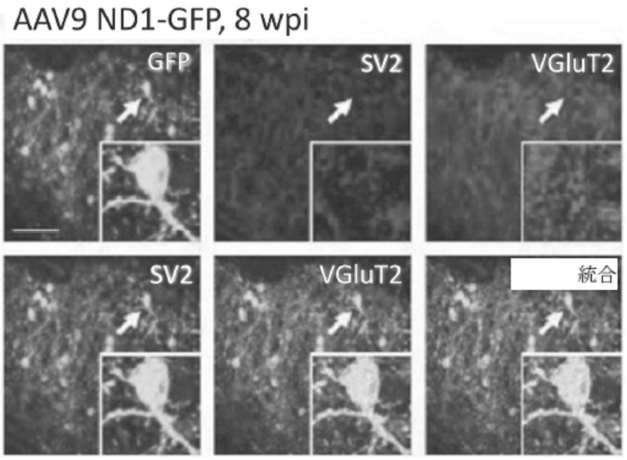
【図５Ｆ】



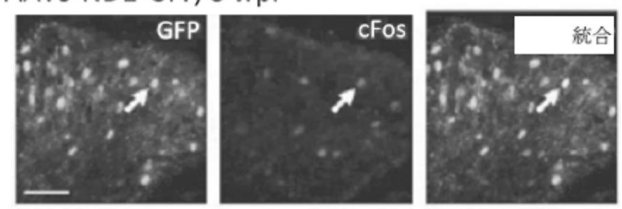
【図５Ｇ】



【図５Ｈ】



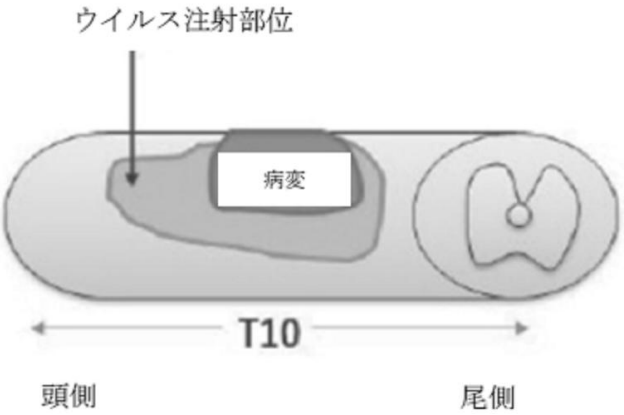
【図５Ｉ】



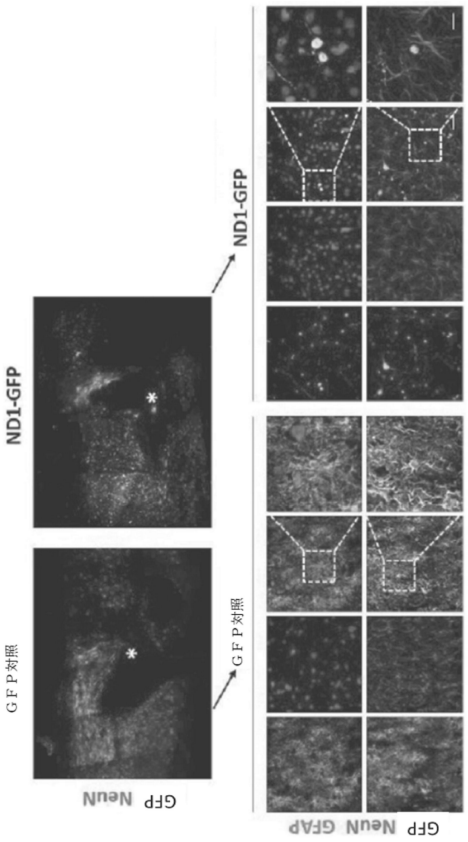
【図６Ａ】



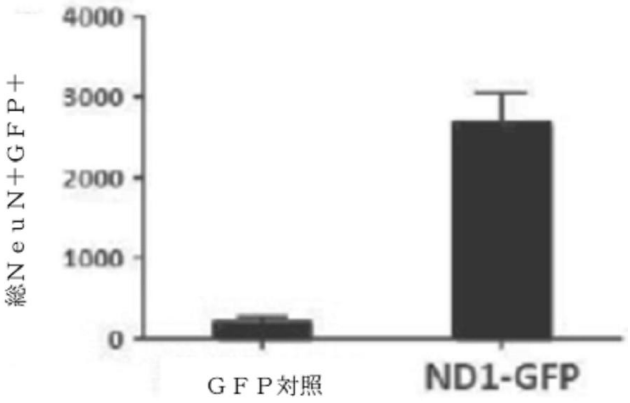
【図６Ｂ】



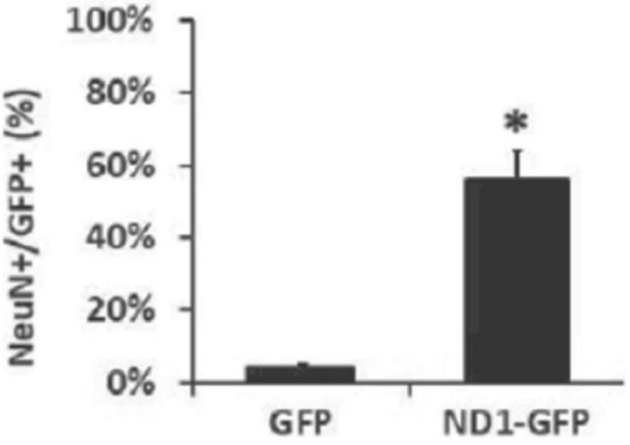
【図６Ｃ】



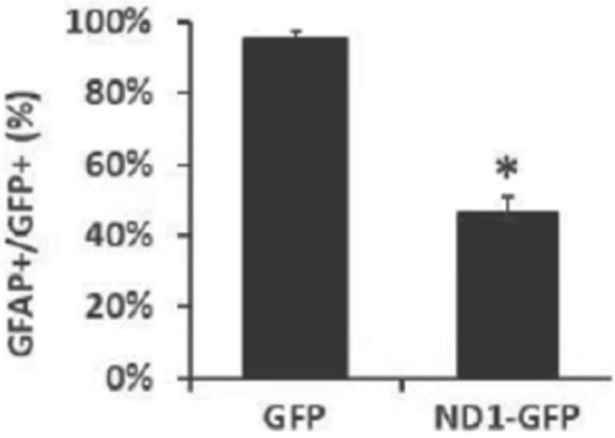
【図６Ｄ】



【図６Ｅ】



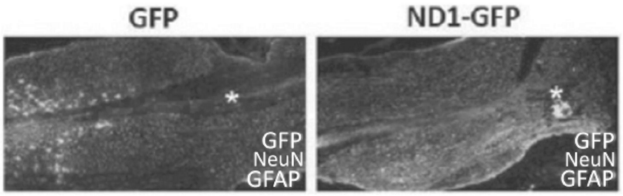
【図６Ｆ】



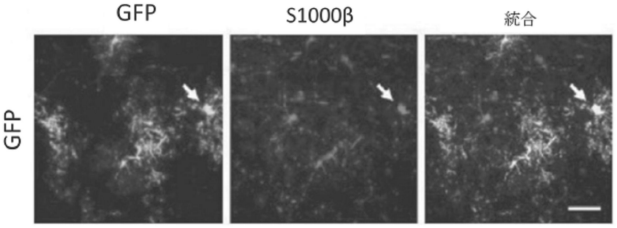
【図７Ａ】



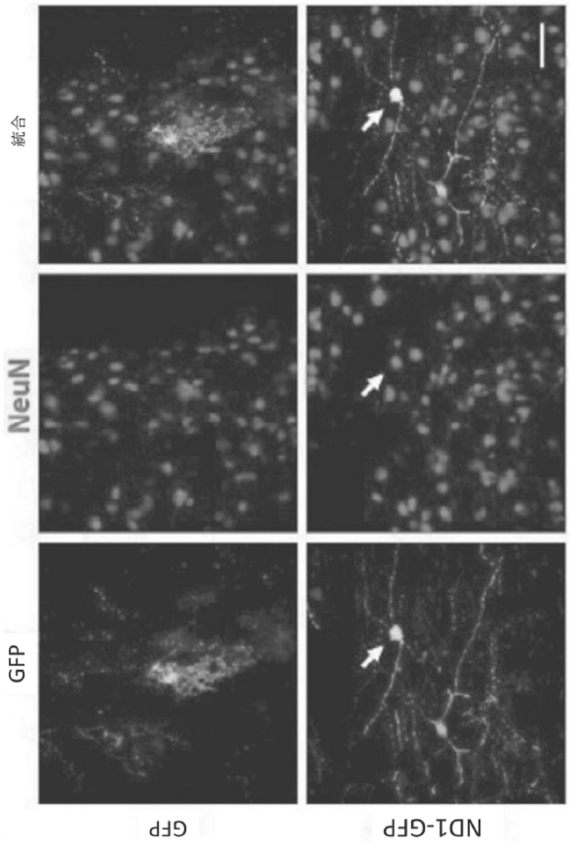
【図７Ｂ】



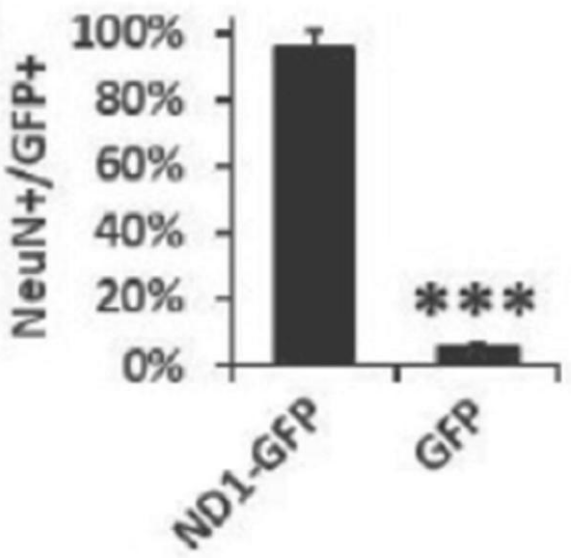
【図７Ｃ】



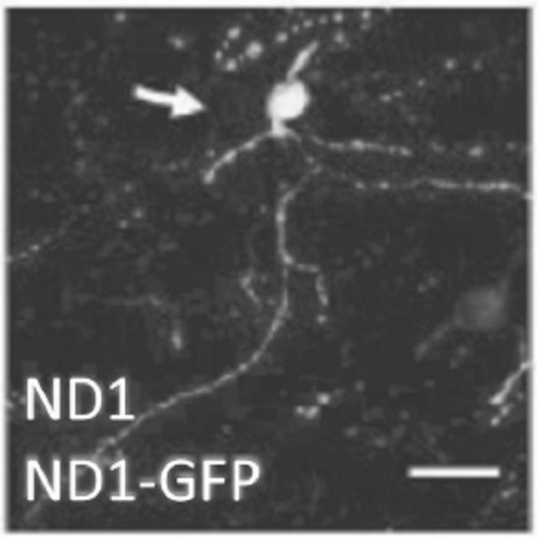
【図７Ｄ】



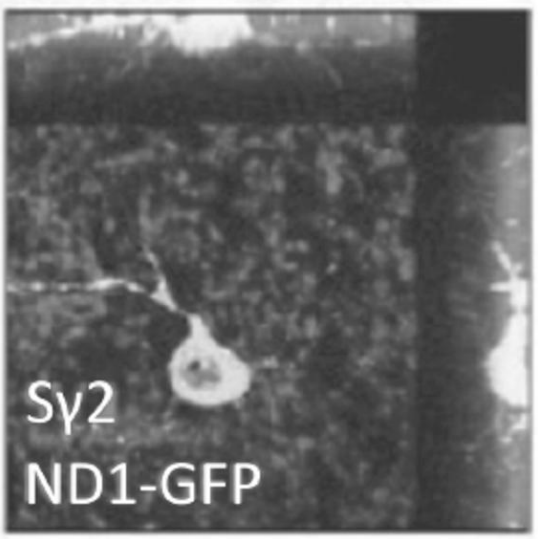
【図７Ｅ】



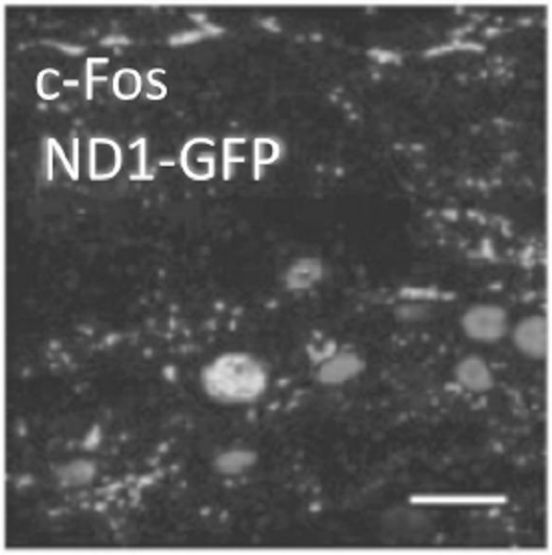
【図７Ｆ】



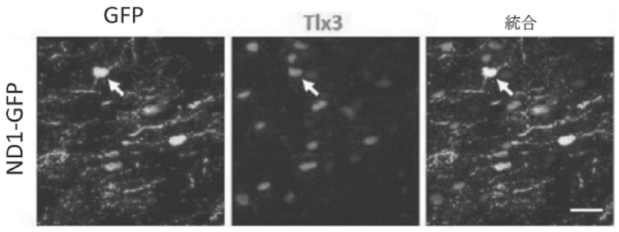
【図７Ｇ】



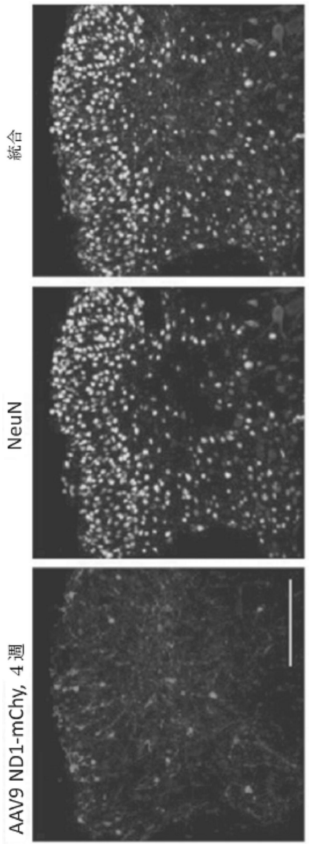
【図７Ｈ】



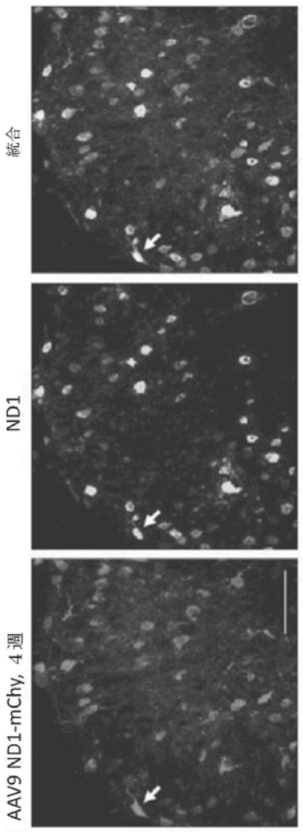
【図７Ｉ】



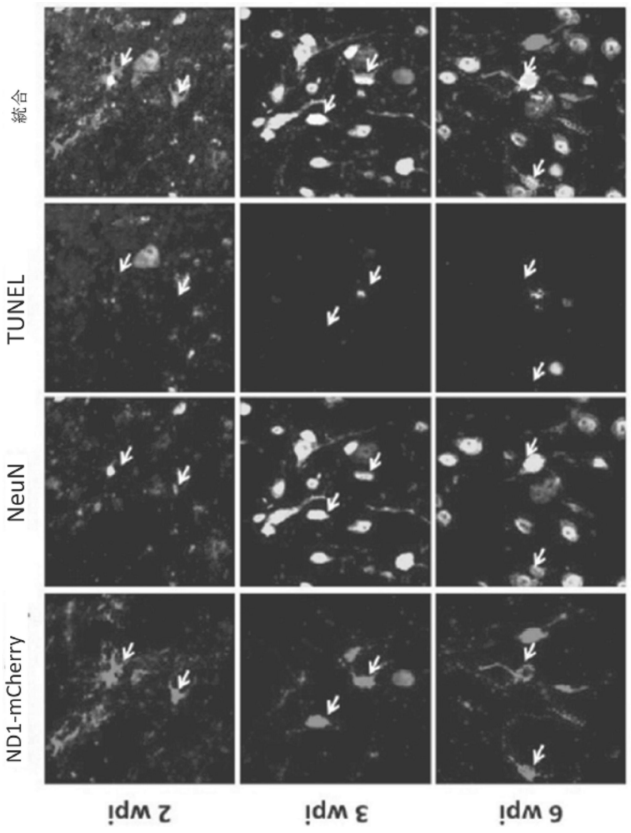
【図８Ａ】



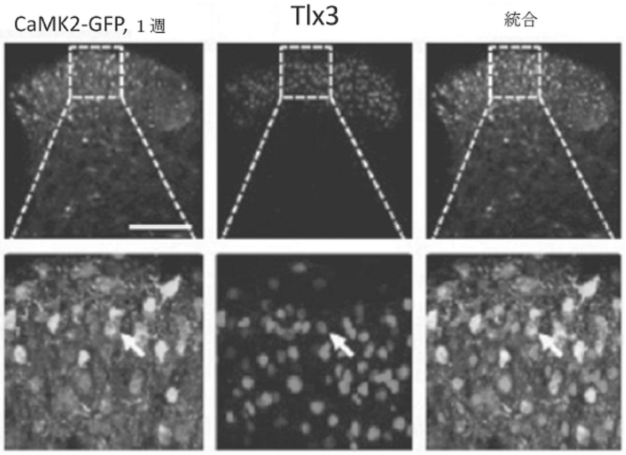
【図８Ｂ】



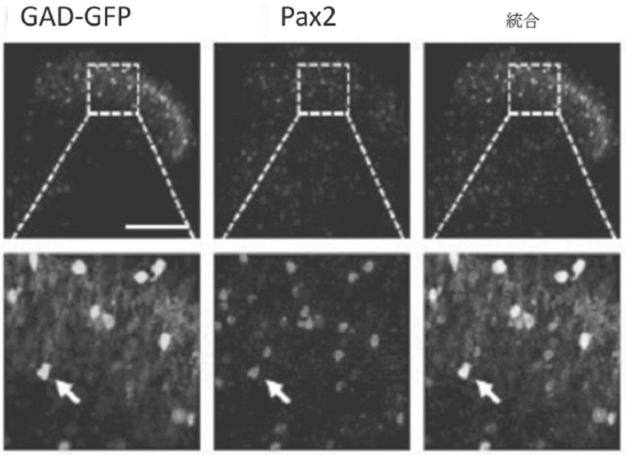
【図９】



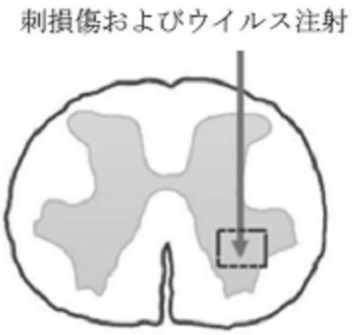
【図１０Ａ】



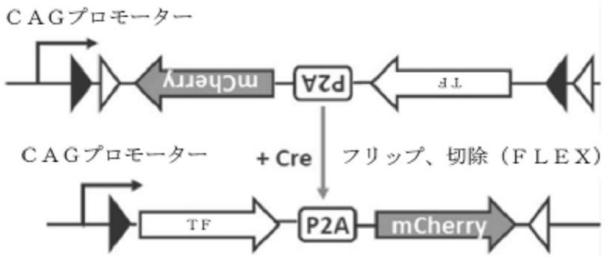
【図１０Ｂ】



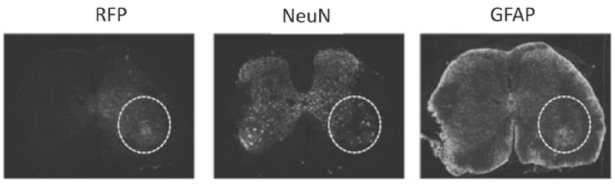
【図１１Ａ】



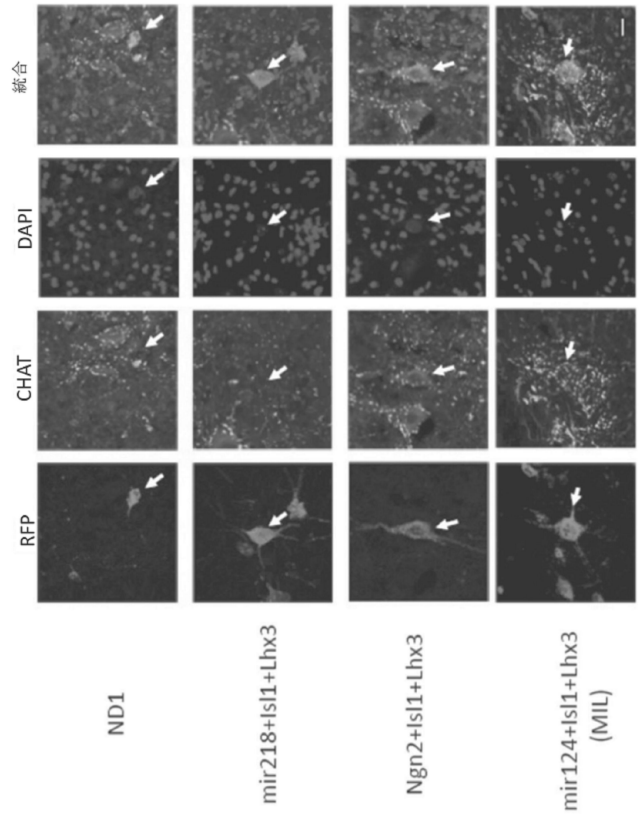
【図１１Ｂ】



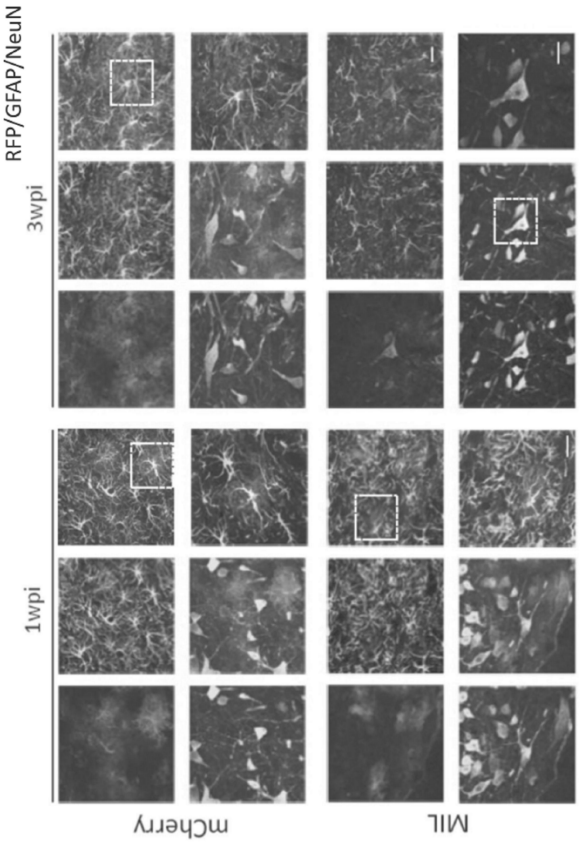
【図１１Ｃ】



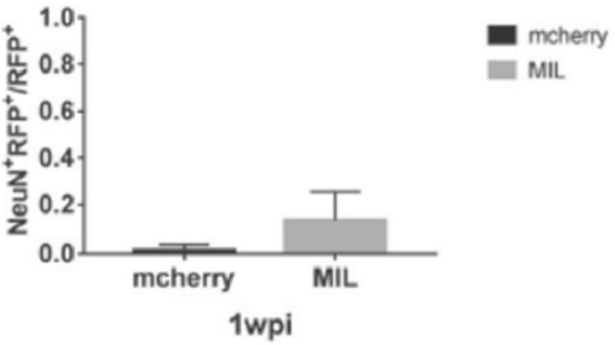
【図１１Ｄ】



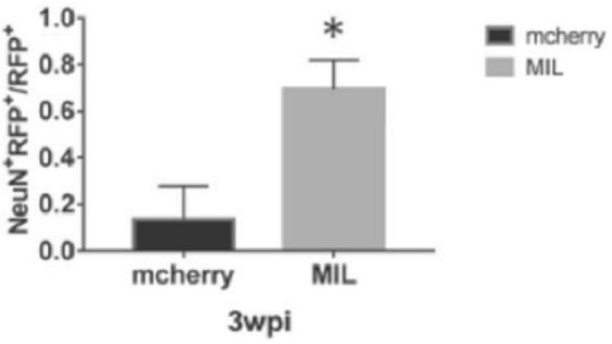
【図１２Ａ】



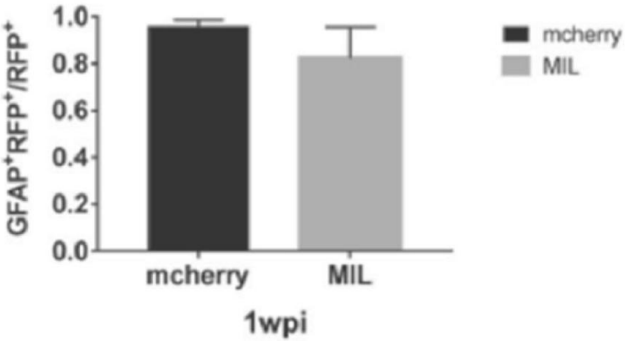
【図１２Ｂ】



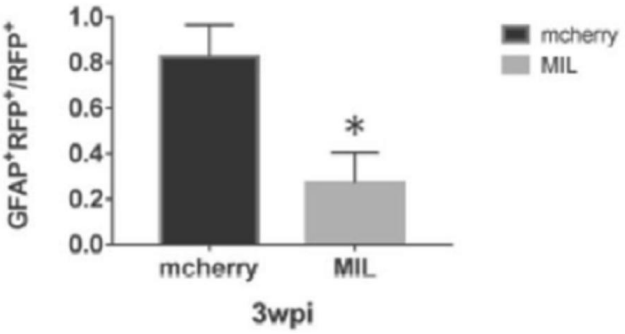
【図１２Ｃ】



【図１２Ｄ】



【図１２Ｅ】



【図１３－１】

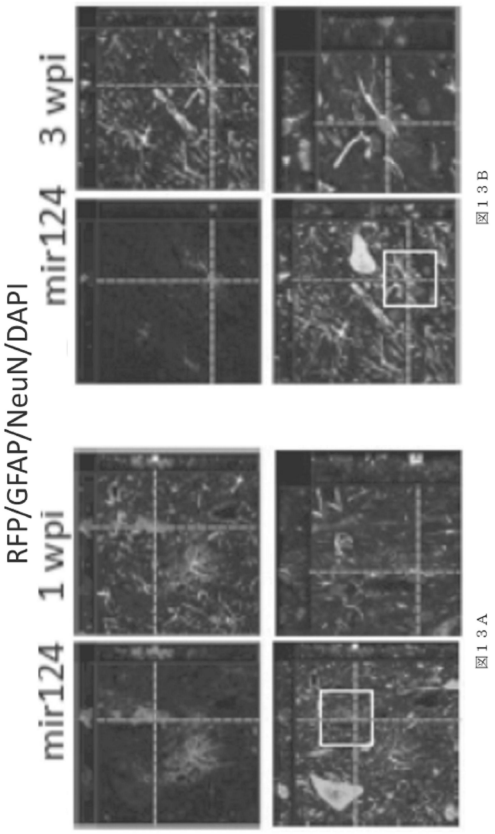


図１３Ａ

図１３Ｂ

【図１３－２】

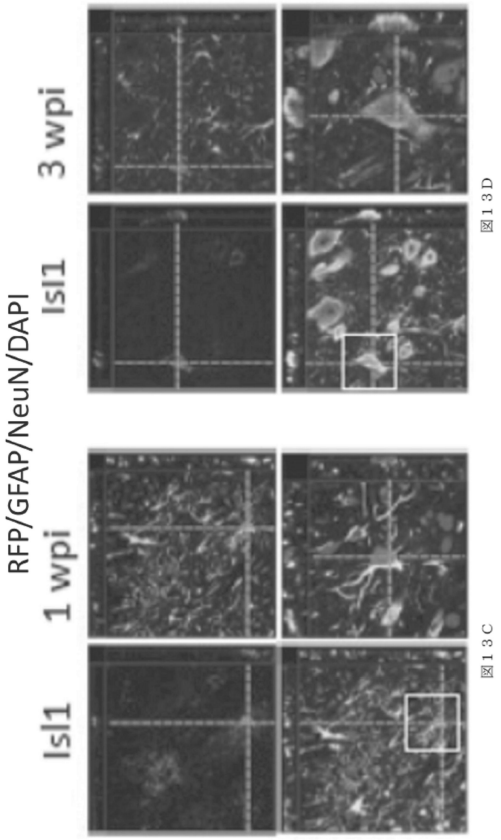


図１３Ｃ

図１３Ｄ

【図１３－３】

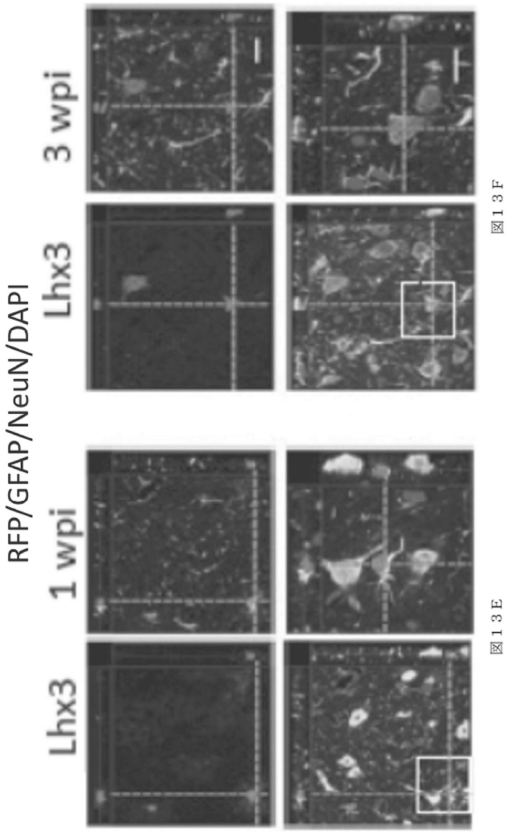
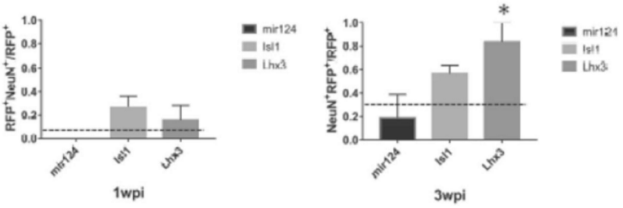


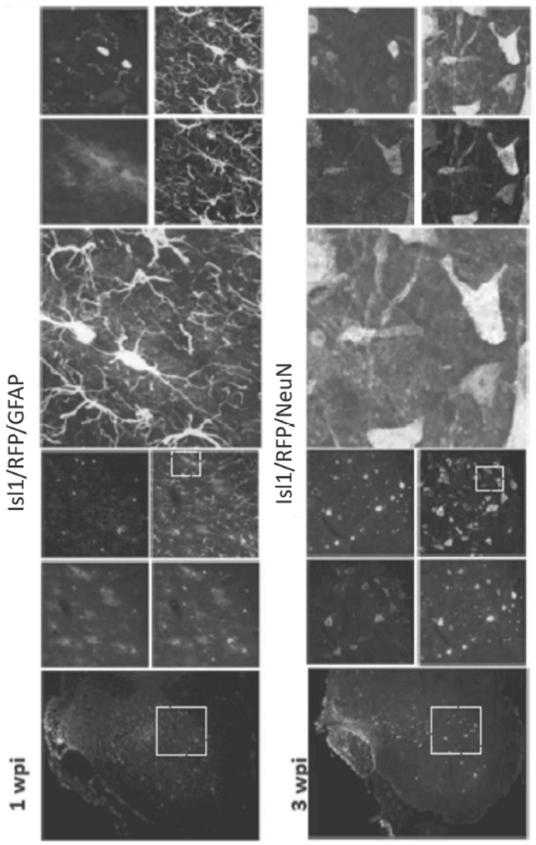
図１３Ｅ

図１３Ｆ

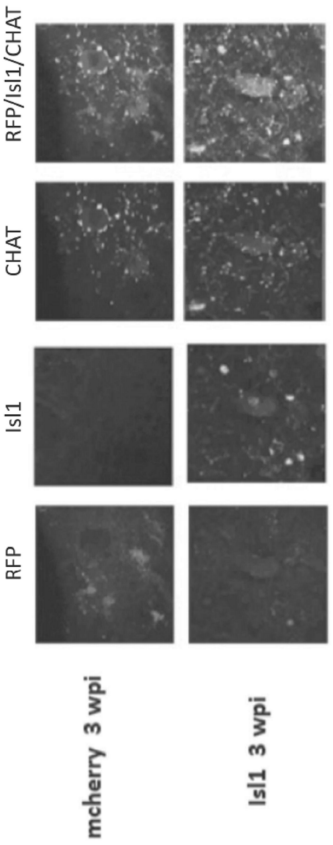
【図１３－４】



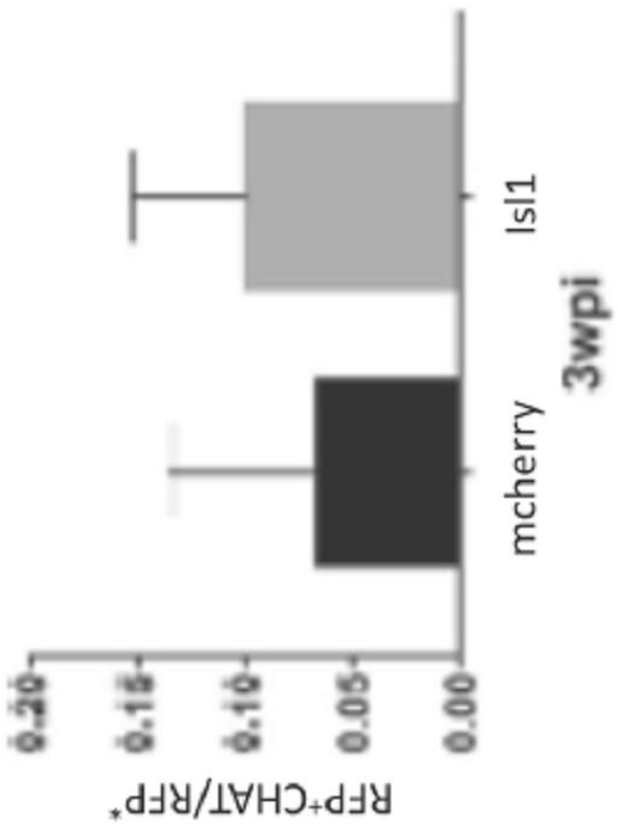
【図１４Ａ】



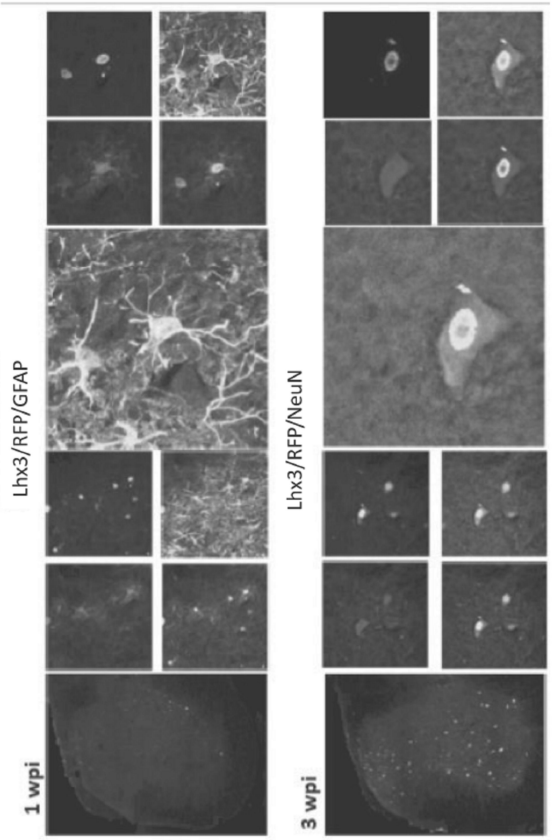
【図１４Ｂ】



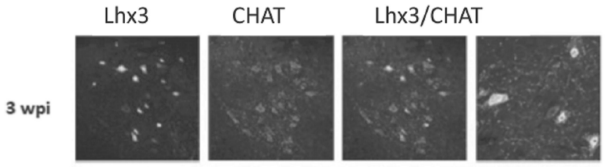
【図１４Ｃ】



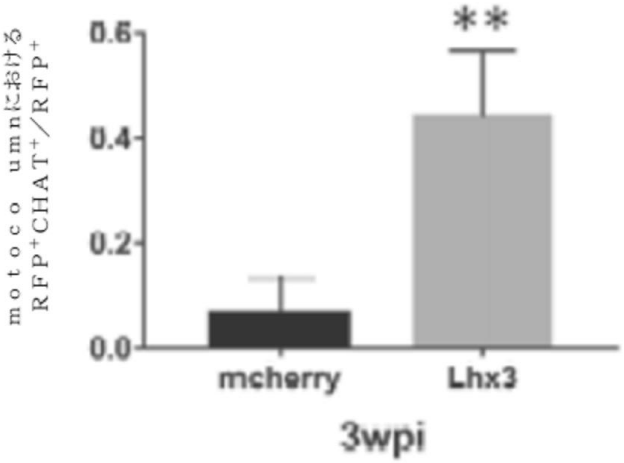
【図１５Ａ】



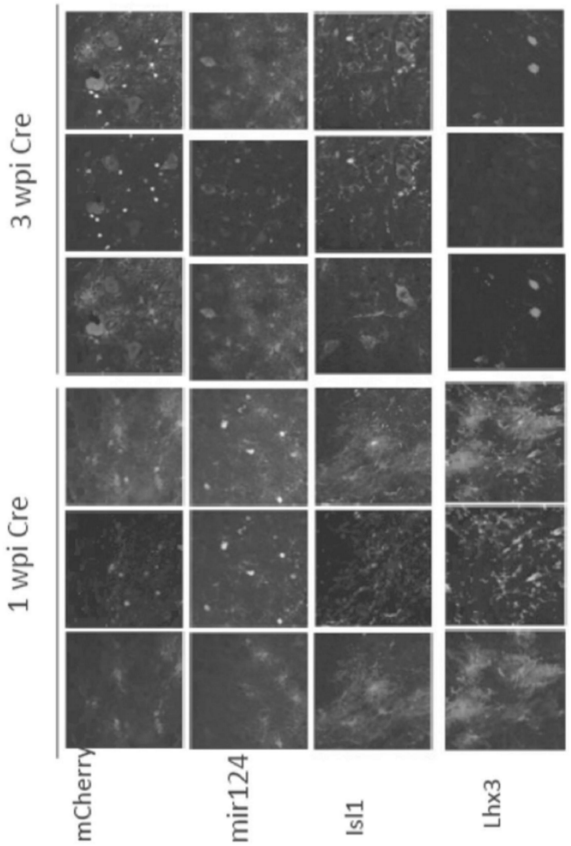
【図１５Ｂ】



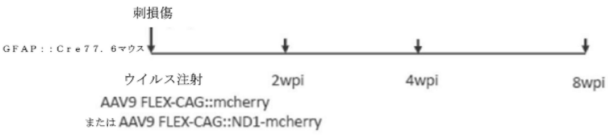
【図１５Ｃ】



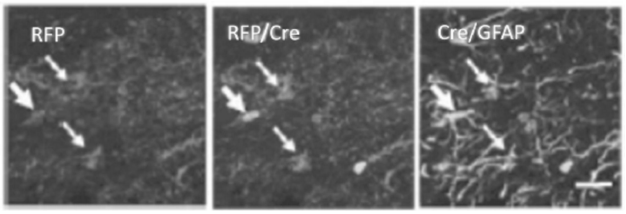
【図１６】



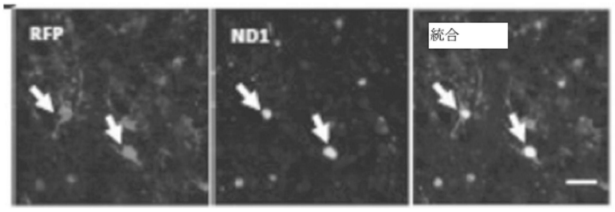
【図１７Ａ】



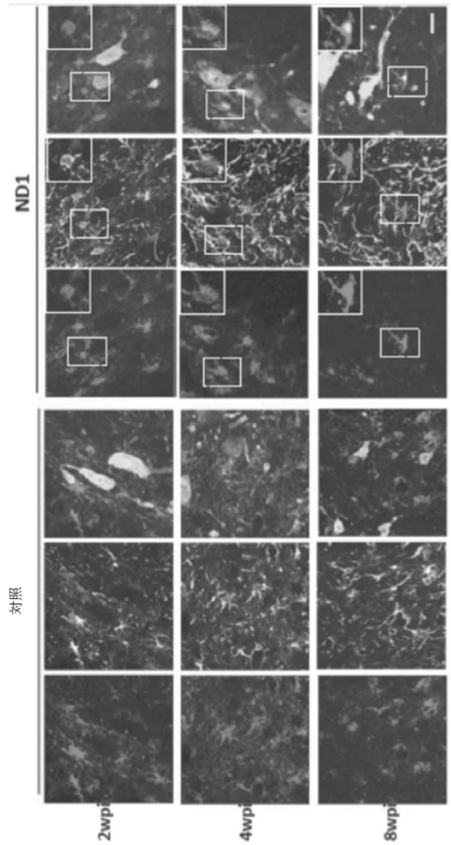
【図１７Ｂ】



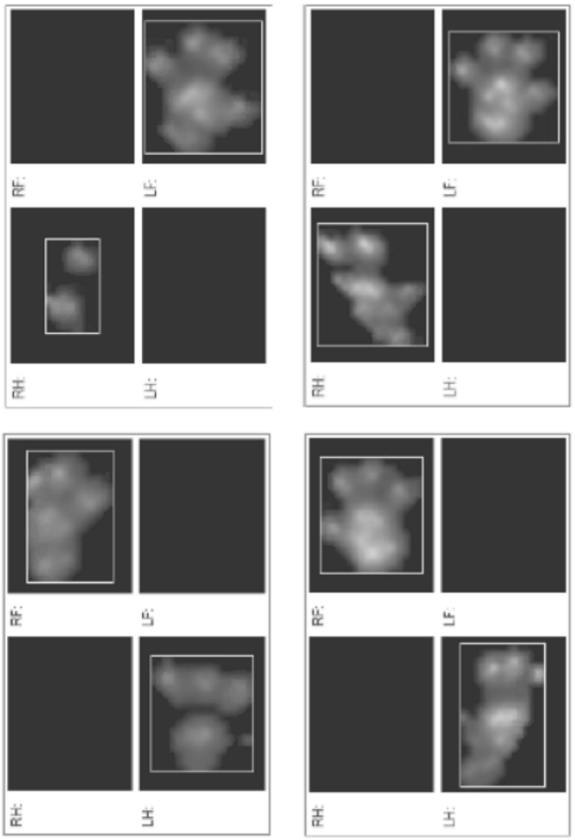
【図１７Ｃ】



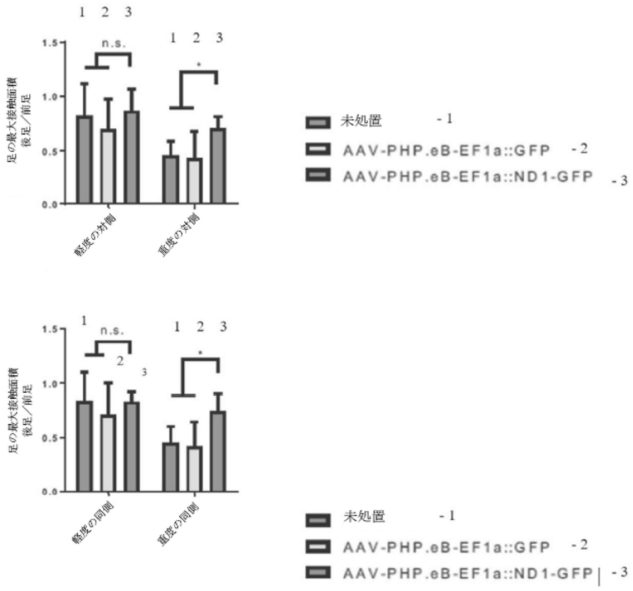
【図１７Ｄ】



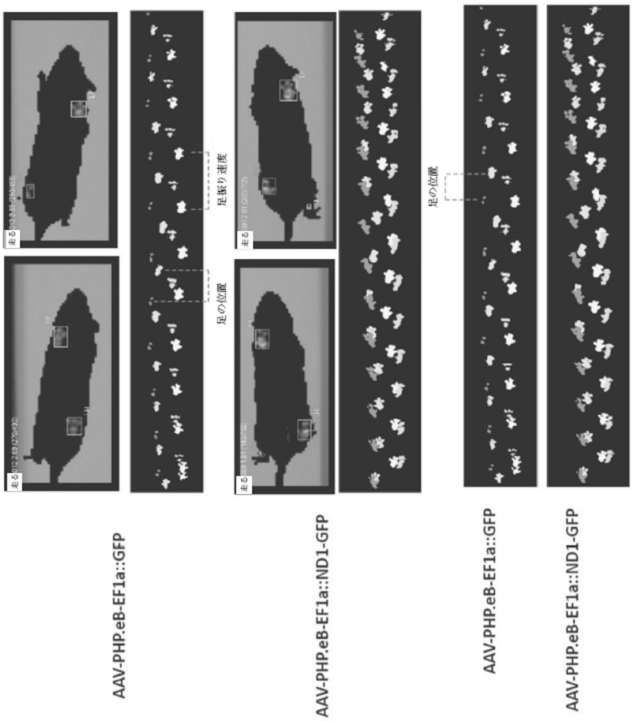
【図１８Ａ】



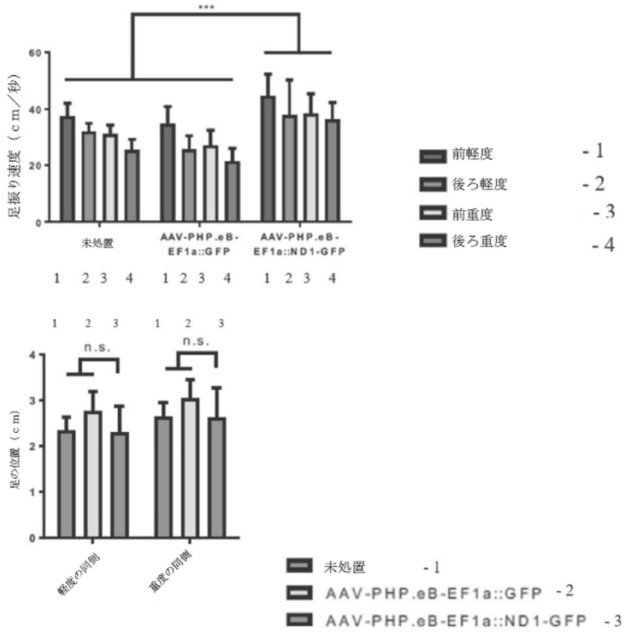
【図１８Ｂ】



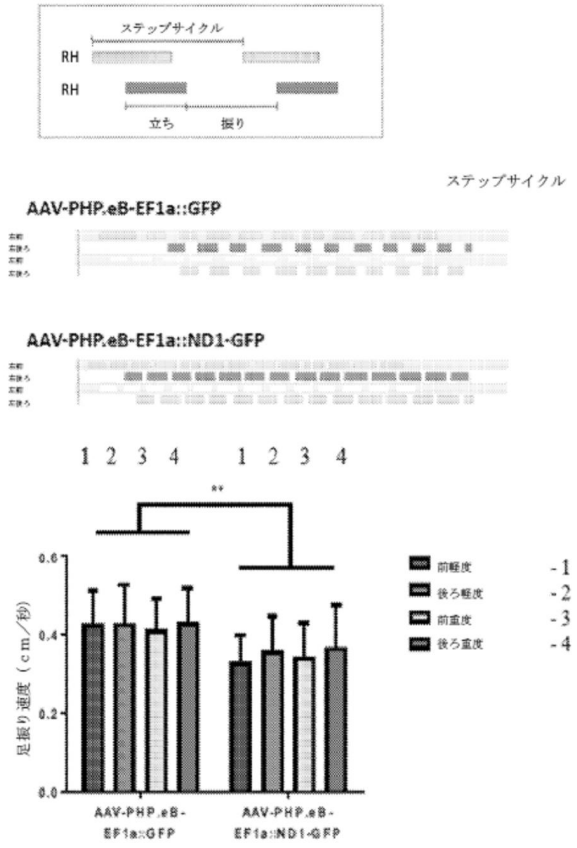
【図１９】



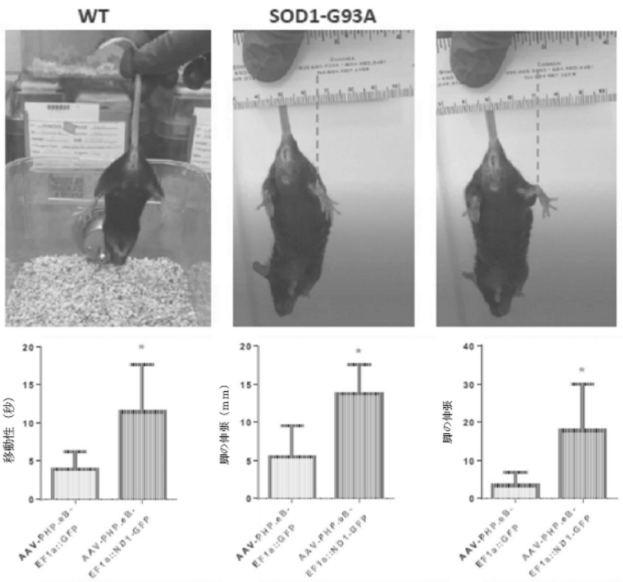
【図２０】



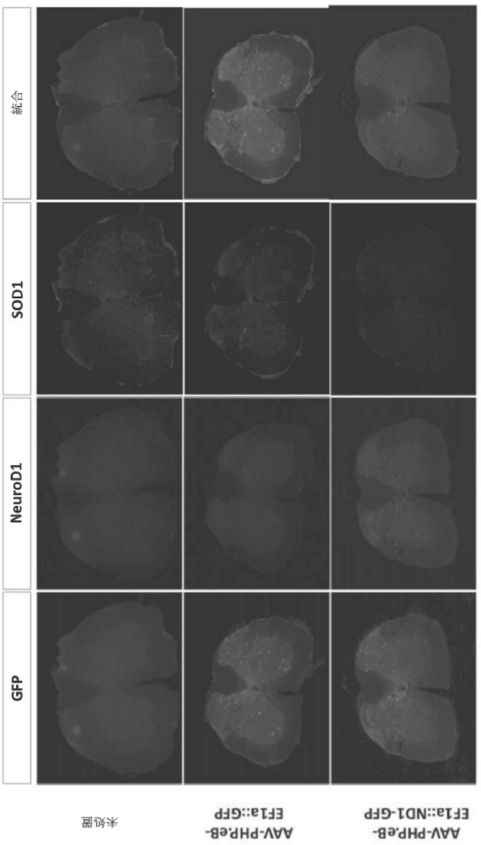
【図２１】



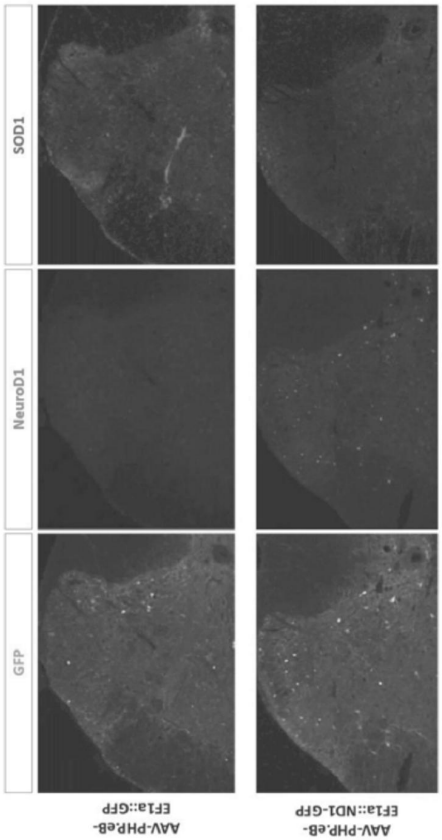
【図２２】



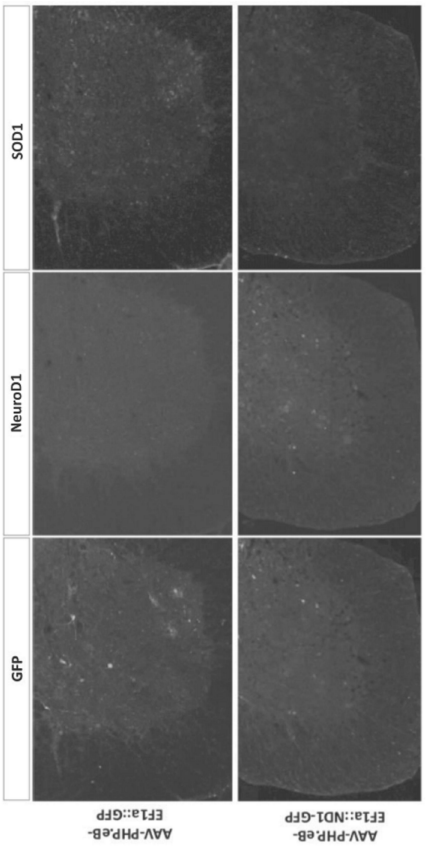
【図２３Ａ】



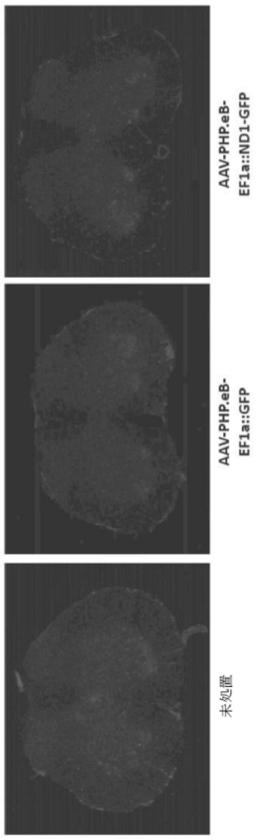
【図２３Ｂ】



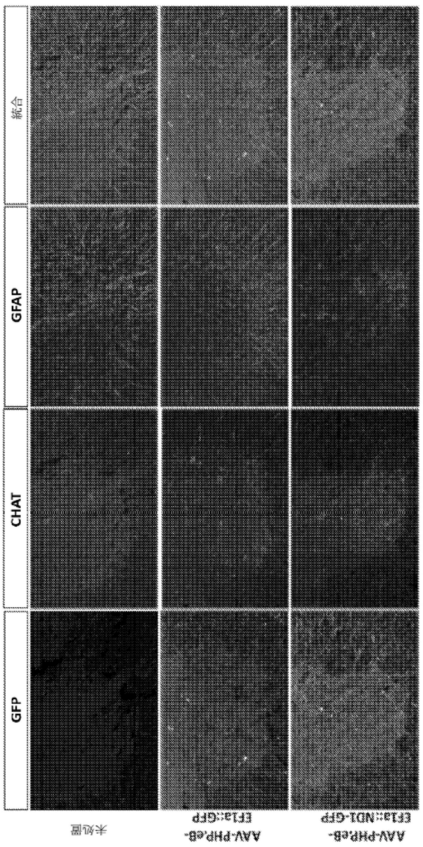
【図２３Ｃ】



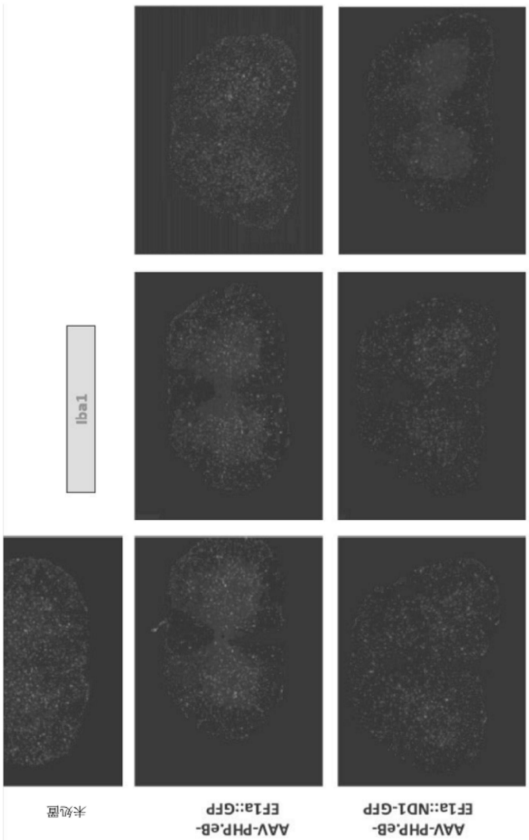
【図２４Ａ】



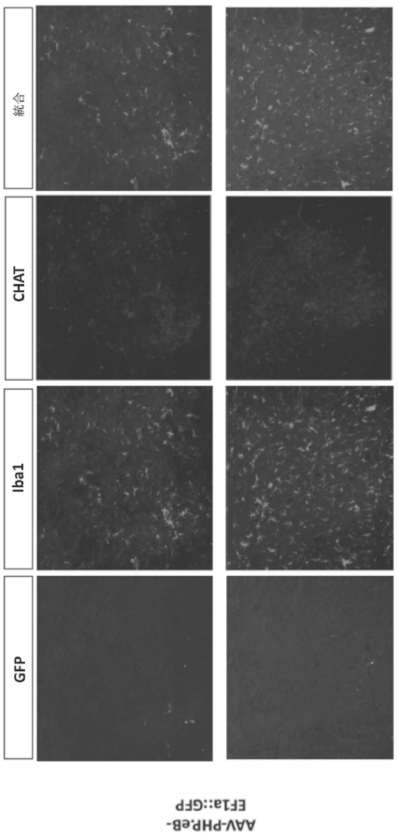
【図２４Ｂ】



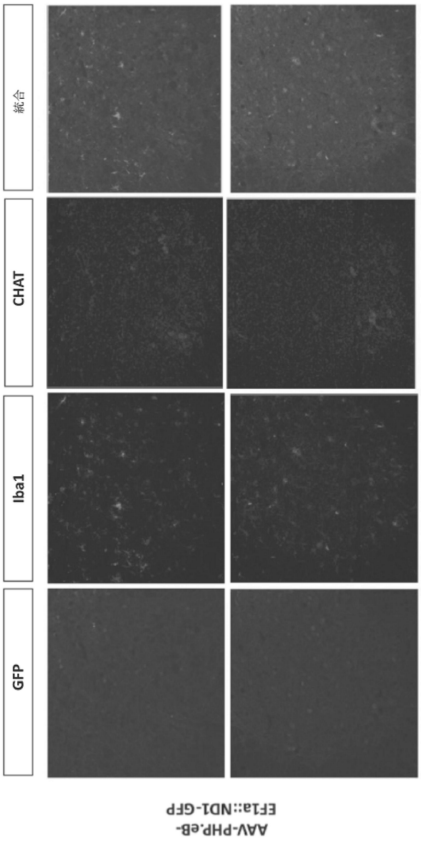
【図２４Ｃ】



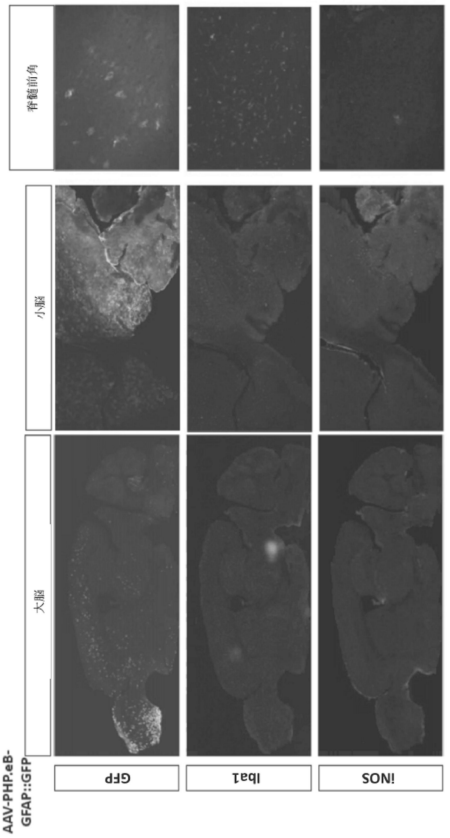
【図２４Ｄ】



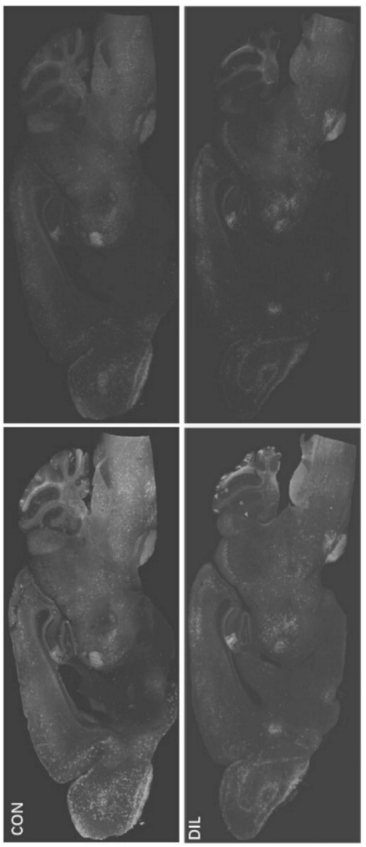
【図２４Ｅ】



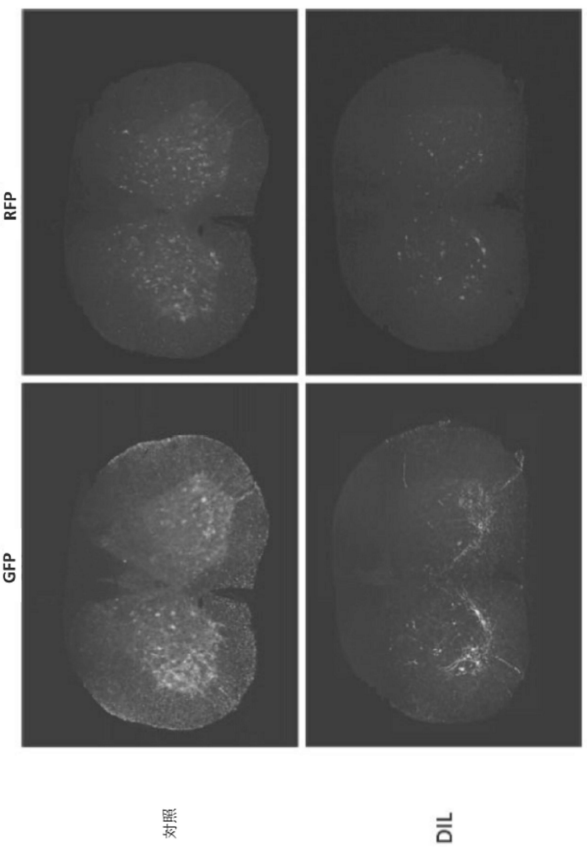
【図２４Ｆ】



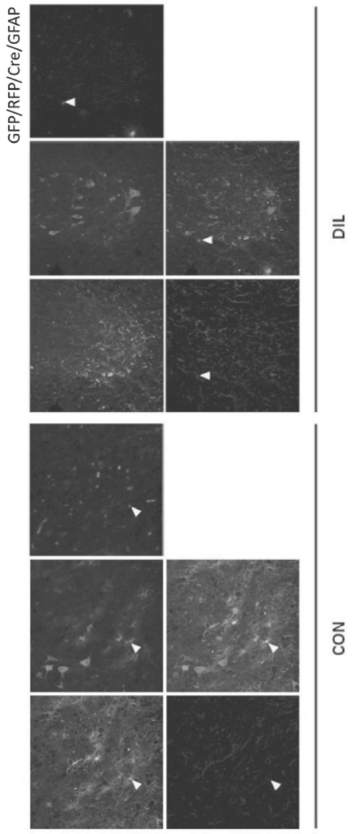
【図２５Ａ】



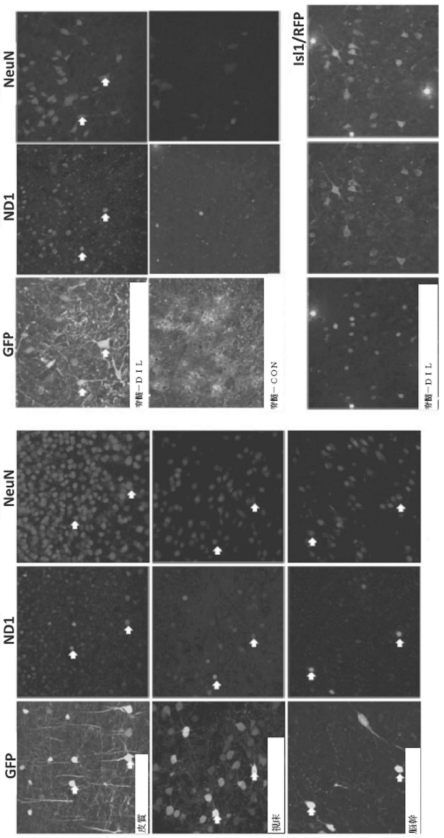
【図２５Ｂ】



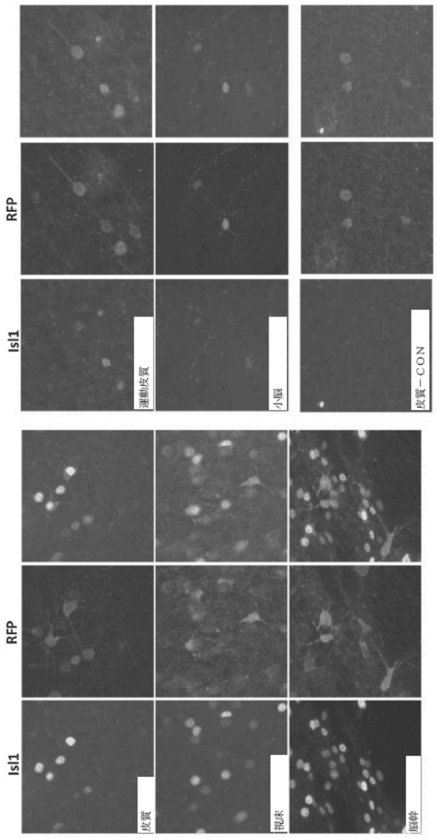
【図２５Ｃ】



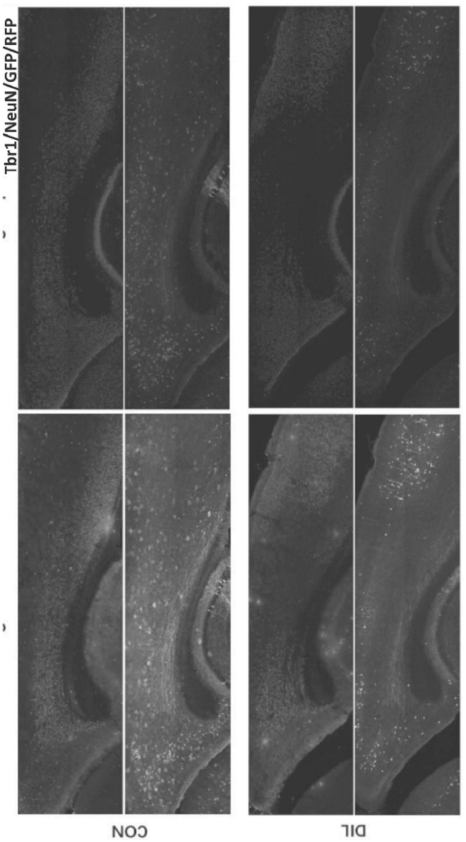
【図２５Ｄ】



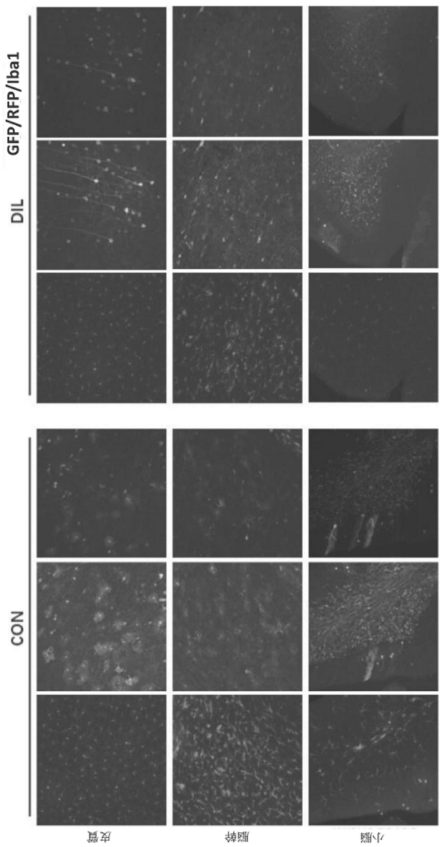
【図２５Ｅ】



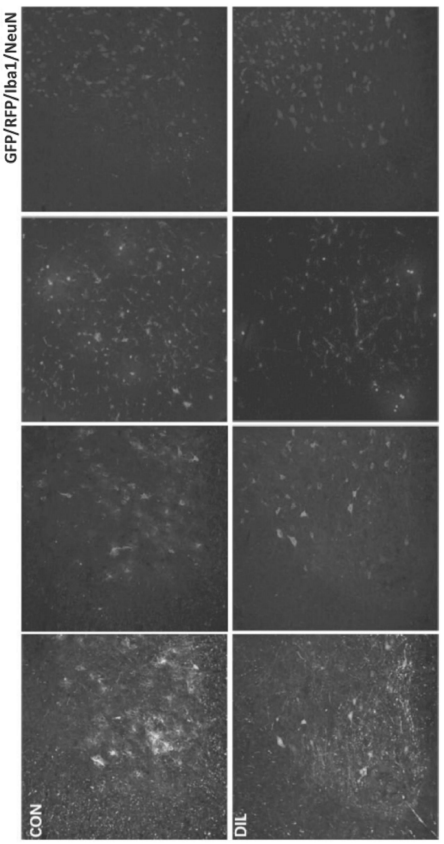
【図２５Ｆ】



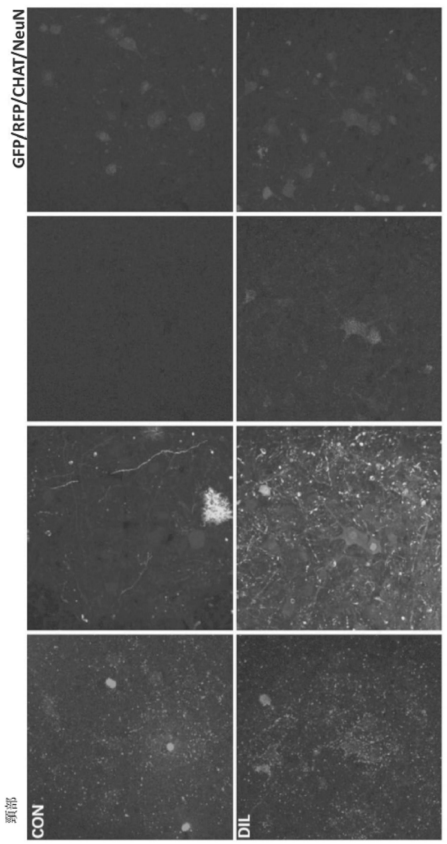
【図２５Ｇ】



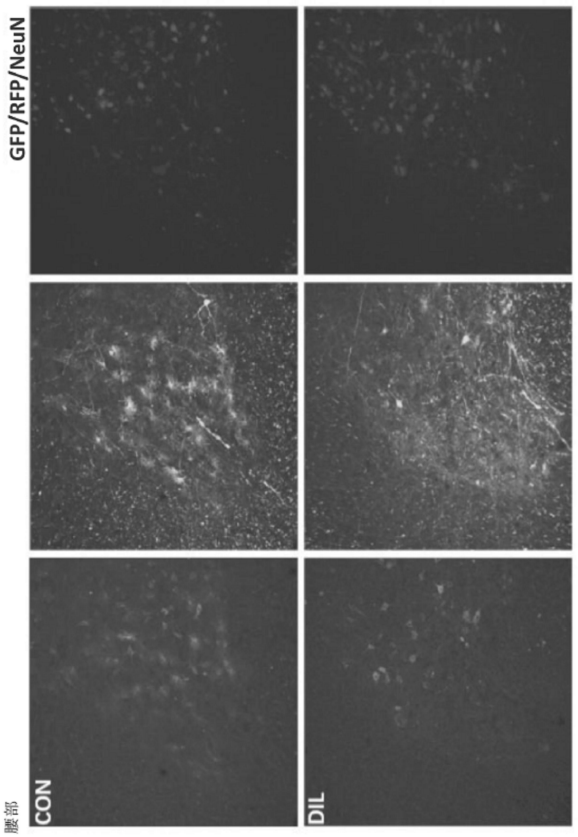
【図２５Ｈ】



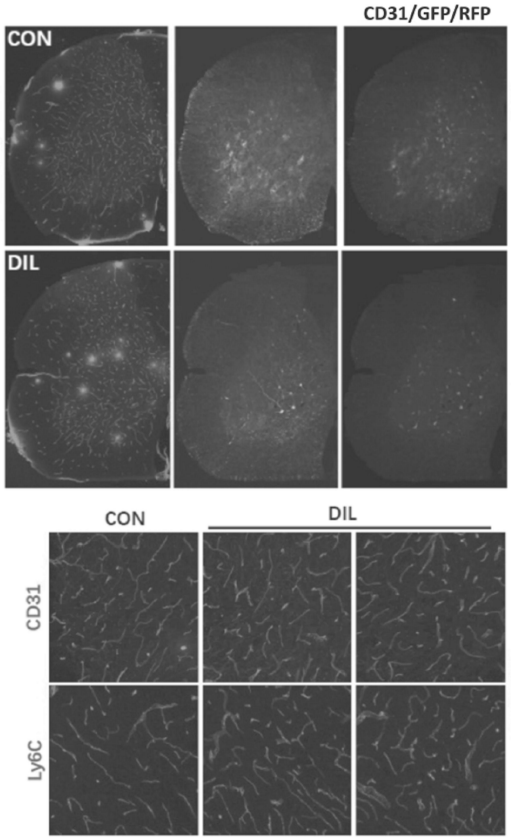
【図２５Ｉ】



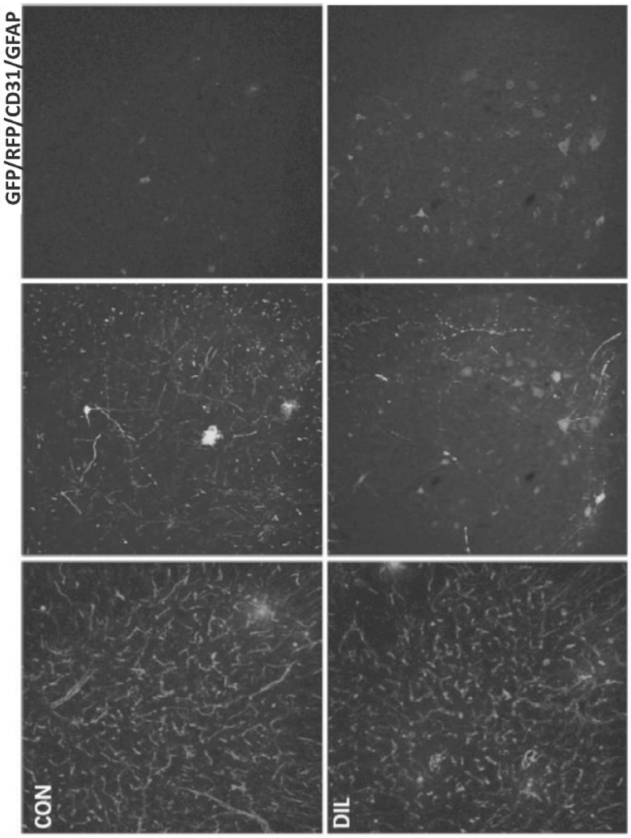
【図２５Ｊ】



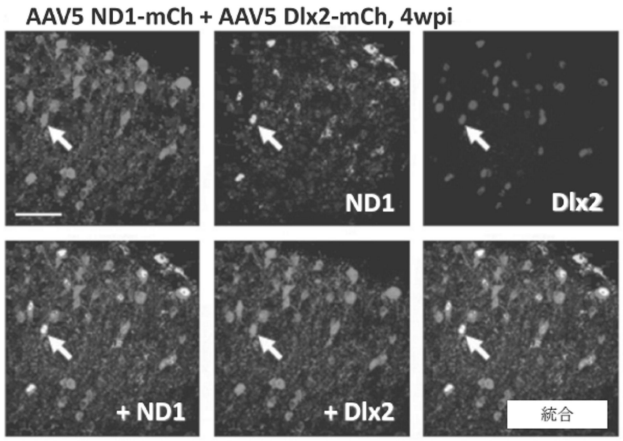
【図２５Ｋ】



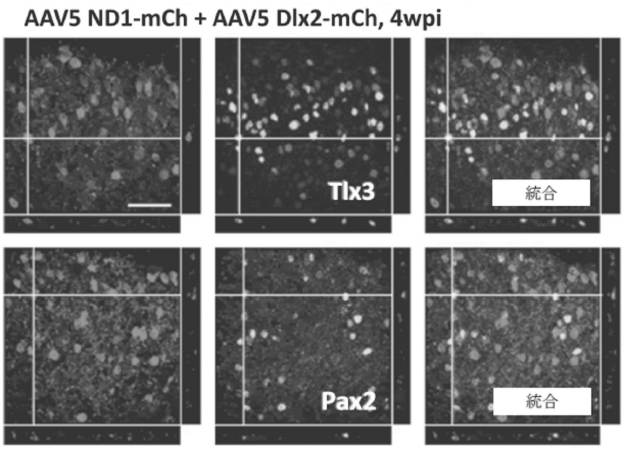
【図２５Ｌ】



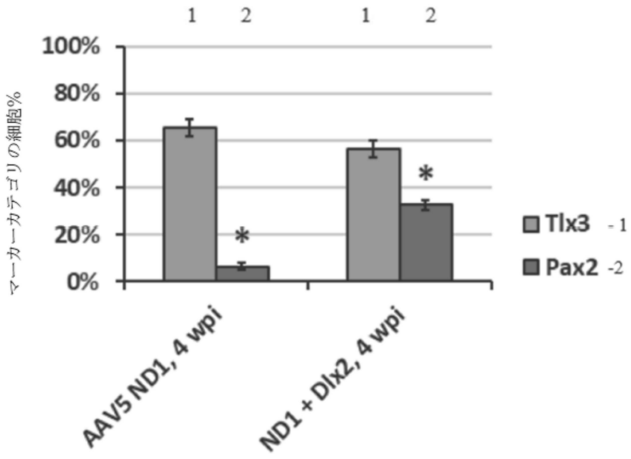
【図２６Ａ】



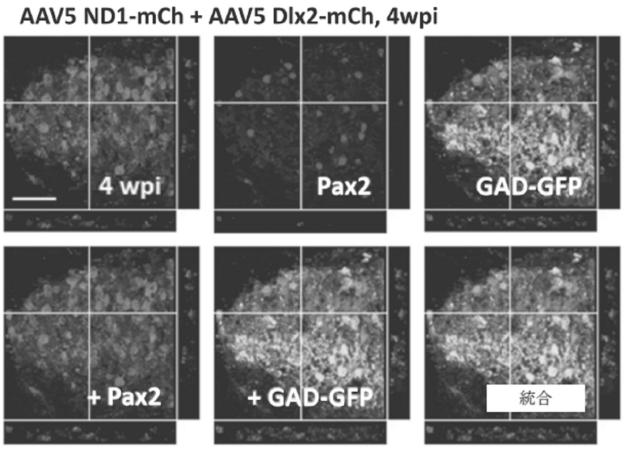
【図２６Ｂ】



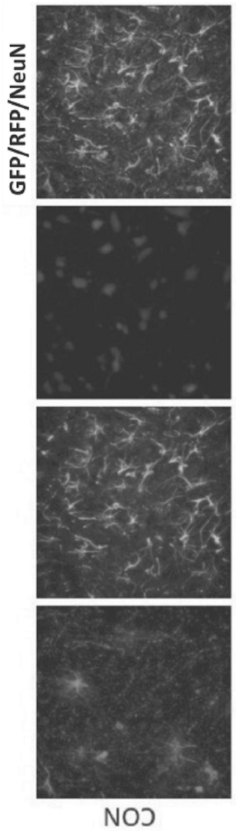
【図２６Ｃ】



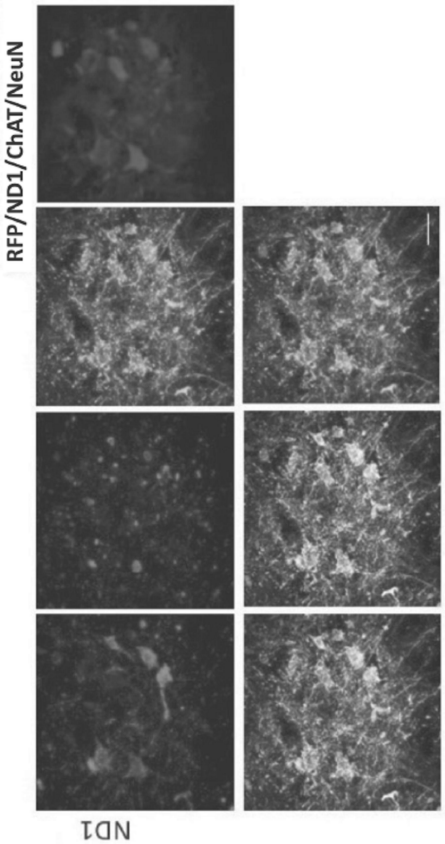
【図２６Ｄ】



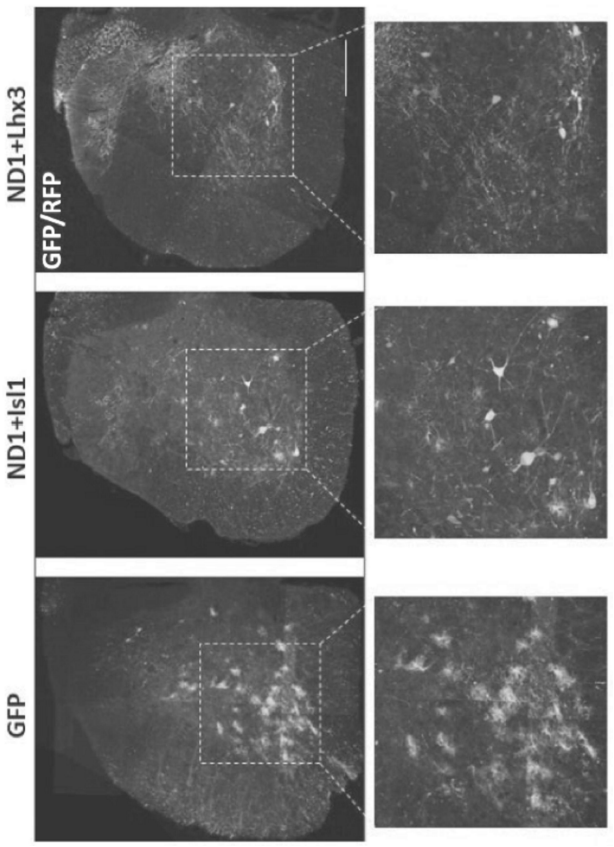
【図２７Ａ】



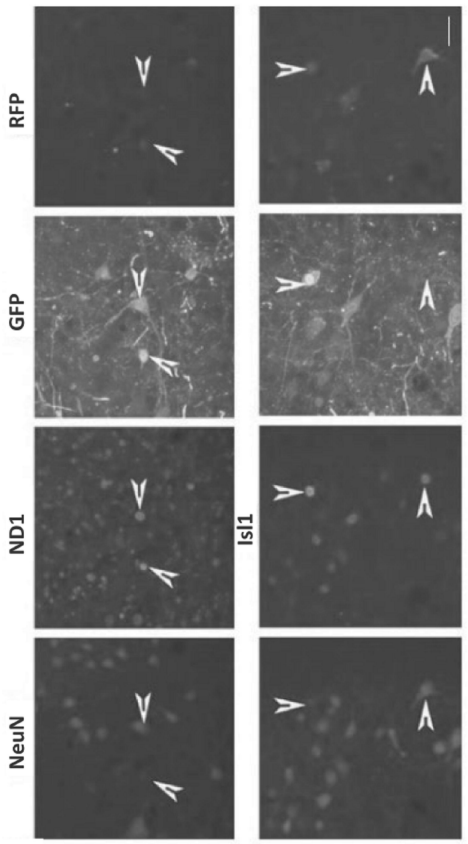
【図２７Ｂ】



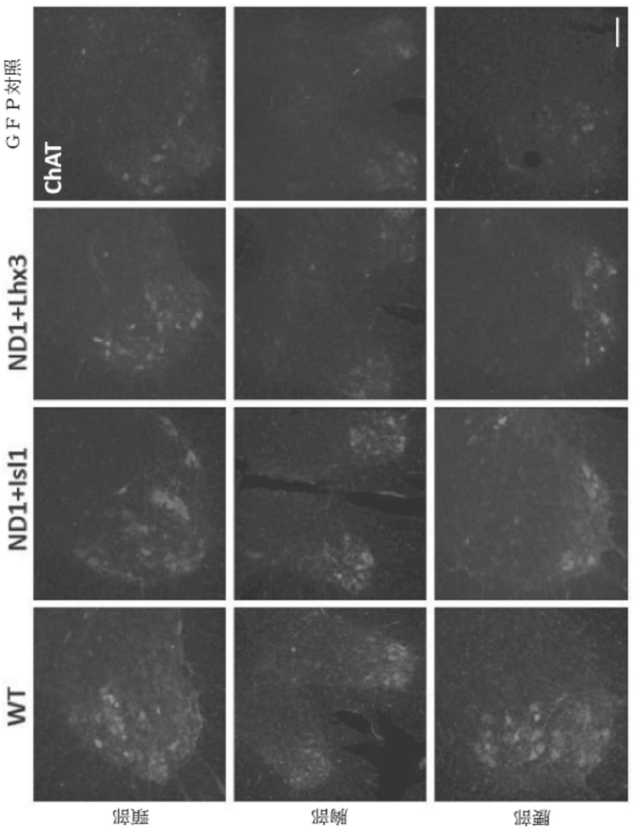
【図２８Ａ】



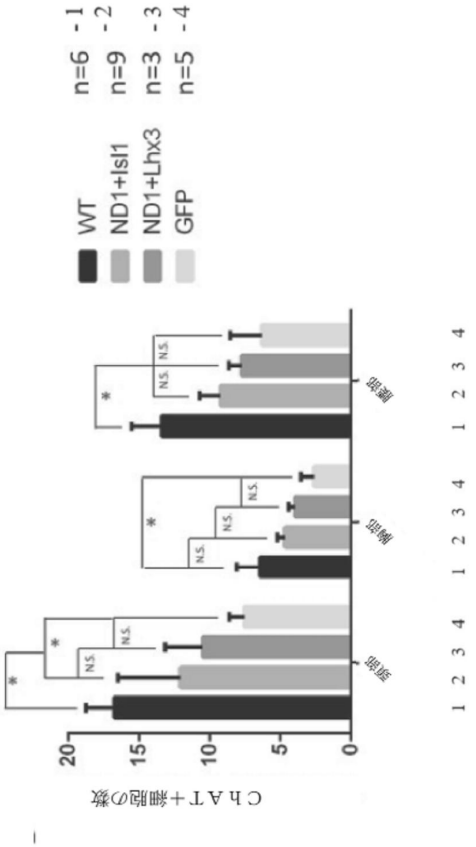
【図２８Ｂ】



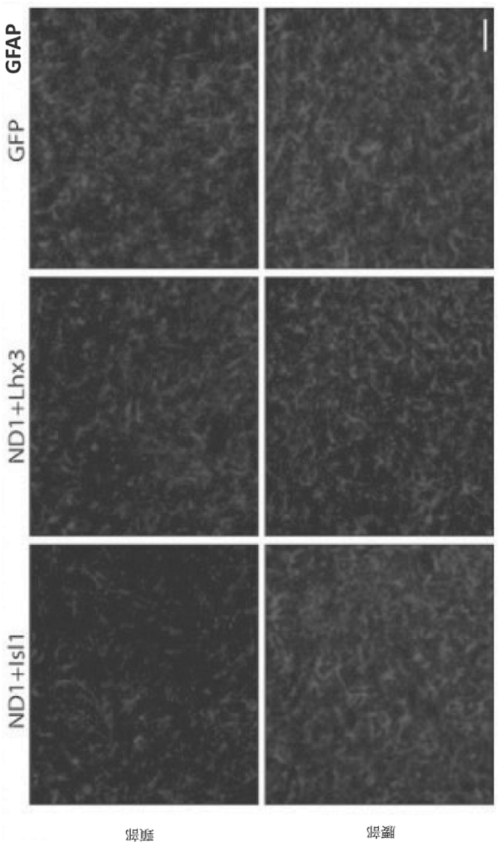
【図２９Ａ】



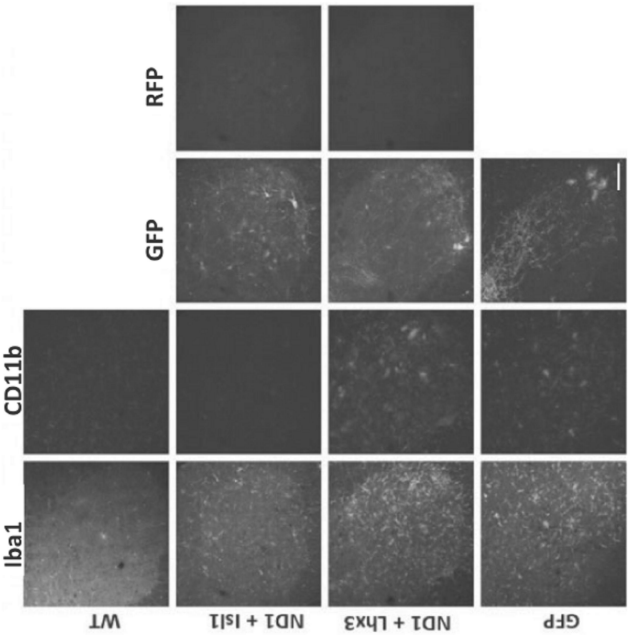
【図２９Ｂ】



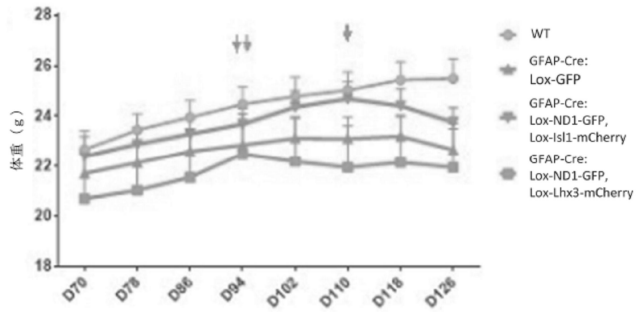
【図３０Ａ】



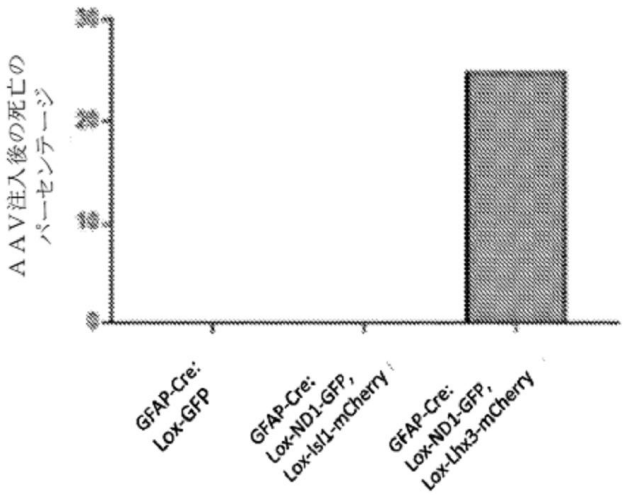
【図３０Ｂ】



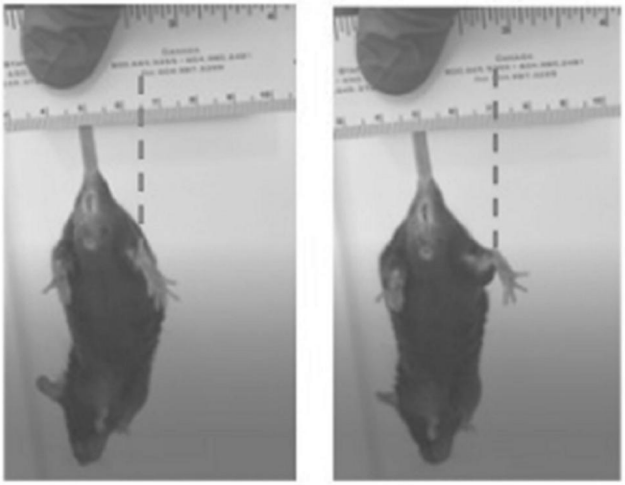
【図３１Ａ】



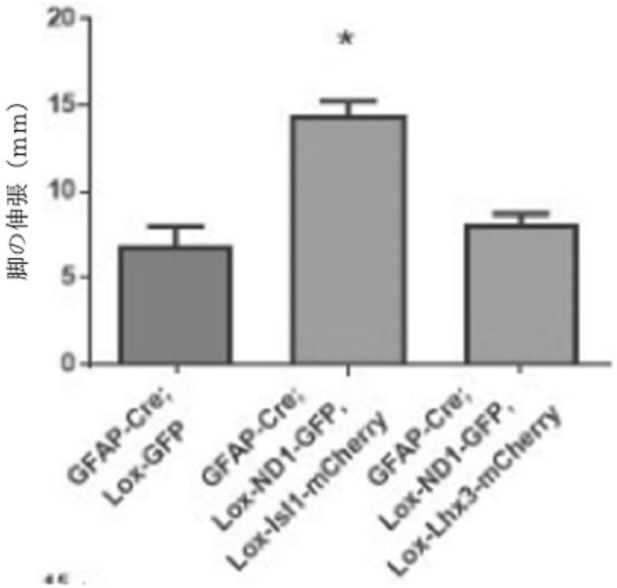
【図３１Ｂ】



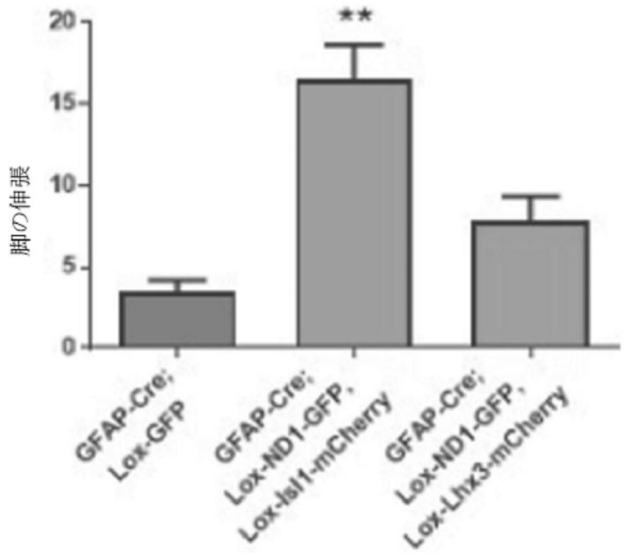
【図３１Ｃ】



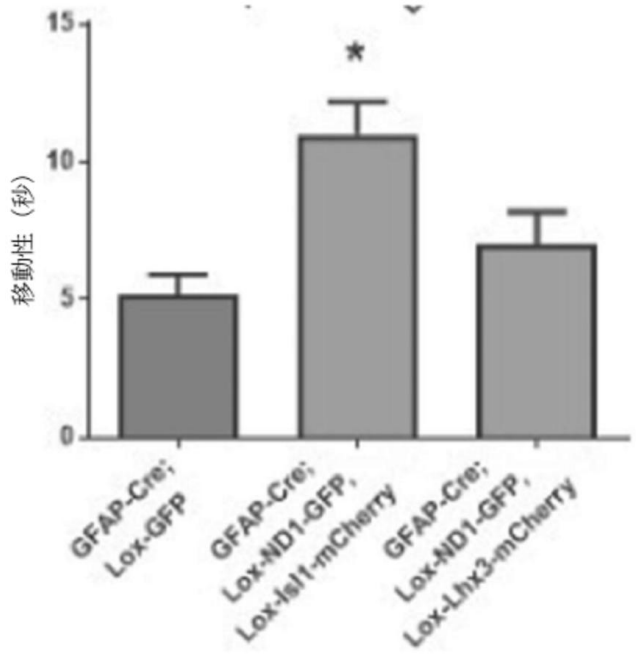
【図３１Ｄ】



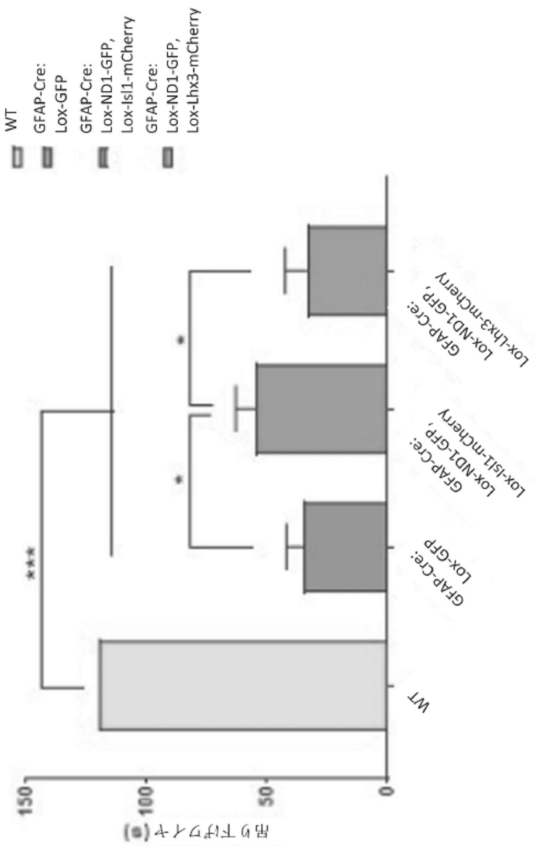
【図３１Ｅ】



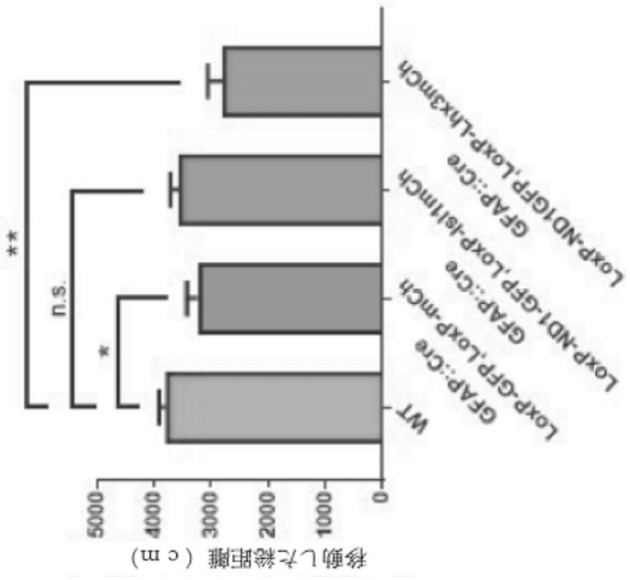
【図３１Ｆ】



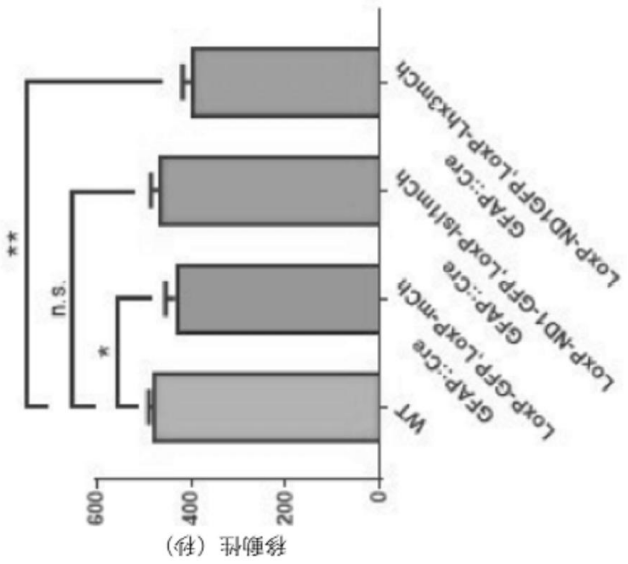
【図３１Ｇ】



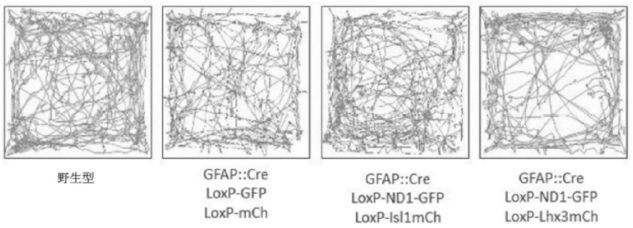
【図３２Ａ】



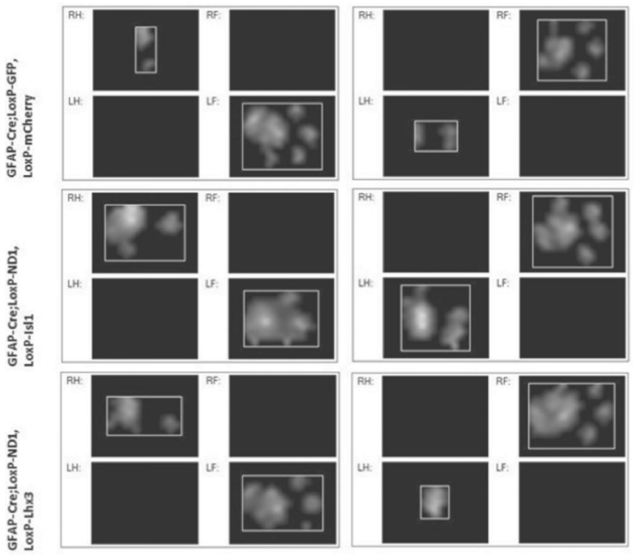
【図３２Ｂ】



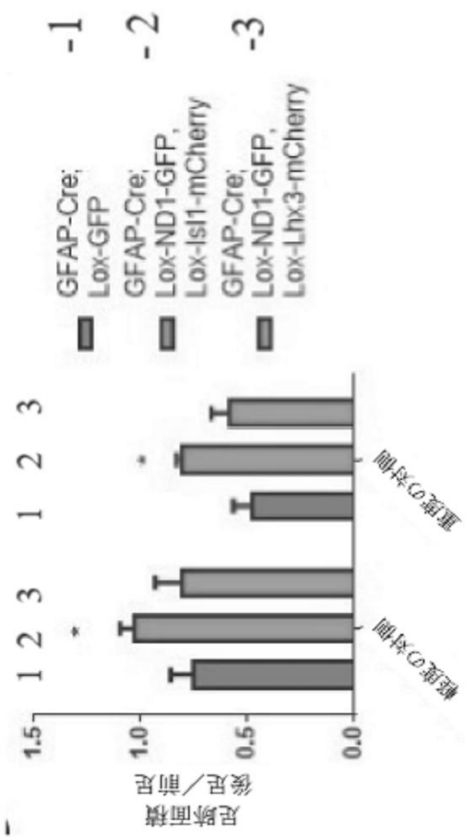
【図３２Ｃ】



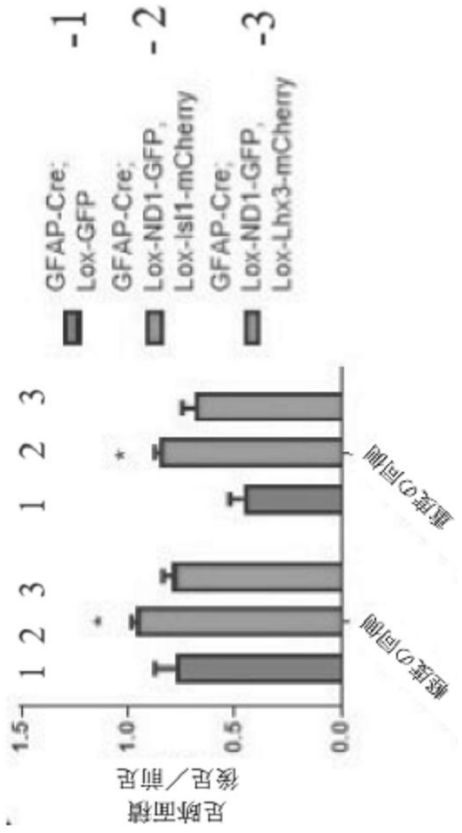
【図３３Ａ】



【図３３Ｂ】



【図３３Ｃ】



【配列表】
20222552003000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/056108

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61P 25/00; C07K 14/47; C12N 15/85 (2021.01)
CPC - A61P 25/00; C07K 14/4702; C12N 15/85; C12N 2501/60 (2021.01)

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)
see Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2019/0000982 A1 (WAYNE STATE UNIVERSITY et al) 03 January 2019 (03.01.2019) entire document	1, 4, 7, 8, 10, 11
X	US 2016/0115447 A1 (PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE) 28 April 2016 (28.04.2016) entire document	2, 5, 6, 9, 12, 13
X	WO 2019/032320 A1 (WASHINGTON UNIVERSITY) 14 February 2019 (14.02.2019) entire document	3
A	US 2019/0117797 A1 (THE PENN STATE RESEARCH FOUNDATION) 25 April 2019 (25.04.2019) entire document	1-13
A	ZHANG et al. "Reversing Glial Scar Back To Neural Tissue Through NeuroD1-Mediated Astrocyte-To-Neuron Conversion," bioRxiv, 07 February 2018 (07.02.2018), Pgs. 1-36. entire document	1-13

☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
26 January 2021	12 FEB 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/056108

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 1-8 were searched.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*15/113 (2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*15/12 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/12		
Ｃ１２Ｎ	*15/864 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/864	１００Ｚ	

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(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),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),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,IT,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＲＩＴＯＮ

弁理士　及川 健太郎

(72)発明者　チェン，ゴン

アメリカ合衆国１６８０３ペンシルベニア州ステイト・カレッジ、オールド・ゲイツバーグ・ロード２３５７

Ｆターム（参考）　4C076　BB11 BB13 CC01 EE56 FF02

4C084　AA02 AA03 AA13 BA01 BA08 BA22 BA23 CA18 CA23 CA53 MA16 MA17 MA23 MA35 MA37 MA41 MA43 MA52 MA65 MA66 NA14 ZA021 ZA022

4C087　AA01 AA02 BC83 NA14 ZA02