

质子泵调控剂在制备药物中的用途

技术领域

本申请涉及生物医药领域，具体的涉及一种质子泵调控剂在制备预防和/或治疗脑卒中药物中的用途。

背景技术

ATP6V1B2 基因所编码的 ATP6V1B2 蛋白是 ATP 水解驱动的质子泵的重要组成结构蛋白。其在人体组织内广泛分布，但在脑组织中、肾脏、破骨细胞等部位分布更为丰富。其在突触传递及溶酶体酸化等过程中发挥重要功能。其基因突变可导致 DOORS 综合征（易感常染色体显性遗传先天性耳聋伴甲发育不良综合征）。ATP6V1B2 蛋白表达降低可能与 AD 发病有相关性。

脑卒中俗称“中风”，具有高发病率、高致残率、高复发率和高死亡率的特点，是世界上最重要的致死性疾病之一，也是我国第一位致残和致死性疾病。脑卒中主要分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中两大类，其中 80% 左右为缺血性脑卒中。

因此，寻找有效的药物以治疗脑卒中是目前亟待解决的问题。

发明内容

本申请提供了一种质子泵调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述质子泵调控剂调控 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段，其中所述疾病包括脑卒中。

另一方面，本申请提供了一种 DIR 调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述 DIR 调控剂调控 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段，其中所述疾病包括脑卒中。

在某些实施方式中，其中所述脑卒中包括缺血性脑卒中和/或出血性脑卒中。

在某些实施方式中，其中所述缺血性脑卒中包括脑梗。

在某些实施方式中，其中所述脑梗包括腔隙性梗死、缺血性脑梗死和/或出血性梗死。

在某些实施方式中，其中所述缺血性脑卒中由包括以下的因素导致：血栓、栓塞和/或低血压。

在某些实施方式中，其中所述血栓由包括以下的因素导致：动脉粥样硬化、动脉瘤、血管畸形、动脉炎和/或血管痉挛。

在某些实施方式中，其中所述缺血性脑卒中包括大动脉粥样硬化型、心源性栓塞型、小动脉闭塞型、其他明确病因型和/或不明原因型缺血性脑卒中。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中包括脑实质出血、脑室出血和/或蛛网膜下腔出血。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中包括原发性脑出血和/或继发性脑出血。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中包括动脉瘤性蛛网膜下腔出血。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中由包括以下的因素导致：血管畸形、动脉瘤、血液病、脑淀粉样血管病、脑底异常血管网、脑动脉炎、抗凝或溶栓治疗和/或瘤卒中。

在某些实施方式中，其中所述脑卒中包括脑卒中所引起的损害。

在某些实施方式中，其中所述损害包括影像学所观察到的损害。

在某些实施方式中，其中所述影像学所观察到的损害包括脑内血肿、脑室内出血和/或蛛网膜下腔出血。

在某些实施方式中，其中所述影像学所观察到的损害包括水肿、血肿和/或占位效应。

在某些实施方式中，其中所述影像学所观察到的损害包括致密动脉征、岛带征、豆状核轮廓模糊或密度减低、脑穿支小动脉闭塞、水肿和/或占位。

在某些实施方式中，其中所述损害包括学习能力的损害，所述学习能力包括认知能力、运动能力、记忆能力和/或空间探索能力。

在某些实施方式中，其中所述学习能力通过实施选自下组的试验衡量：新物体认知试验和水迷宫试验。

在某些实施方式中，其中所述新物体认知试验评价所述认知能力、运动能力和/或空间探索能力。

在某些实施方式中，其中所述水迷宫试验评价所述记忆能力、运动能力和/或空间探索能力。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段来源于哺乳动物。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 或其功能活性片段来源于人或小鼠。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 包含 SEQ ID NO: 8 或 16 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含人 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含小鼠 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含 SEQ ID NO: 10-11 中任一项所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 包含由 SEQ ID NO: 9 或 17 所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够调控质子泵活性和/或功能。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性提高。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够调控所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高，其中所述提高包括与所述受试者中原始的所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性相比，所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的表达水平包括 ATP6V1B2 基因的表达水平、ATP6V1B2 基因的转录水平和/或 ATP6V1B2 蛋白的表达水平。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够增加神经元突触递质释放，所述增加包括与所述受试者中原始神经元突触递质释放的水平相比，增加至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂增加兴奋性突触后电流的发放频率，所述增加包括与所述受试者中原始兴奋性突触后电流的发放频率的水平相比，增加至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 调控剂使受试者中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低。

在某些实施方式中，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性相比，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述表达水平包括编码所述 DIR/或其功能片段的基因的表达水

平、编码所述 DIR/或其功能片段的基因的转录水平和/或所述 DIR/或其功能片段的表达水平。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 的功能片段保留所述 DIR 的至少部分的生物学活性。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括影响神经元的兴奋性和/或抑制神经元的活性。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括能够降低兴奋性突触后电流（EPSC）的频率，和/或能够降低 EPSC 的幅度。

在某些实施方式中，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，使受试者中的兴奋性突触后电流（EPSC）的频率降低，和/或使受试者中的 EPSC 的幅度降低。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括影响认知能力。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括参与与 A β 沉积相关的信号通路，和/或，参与与 Tau 缠结产生相关的信号通路。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括通过 gelsolin 诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段通过与 gelsolin 结合诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平与 A β 的表达水平正相关。

在某些实施方式中，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，使受试者的认知能力降低。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段来源于哺乳动物。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段来源于灵长类动物。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段来源于人。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 包含 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 的功能片段包含 DDIT4L 中滞留的内含子所编码的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 的功能片段包含 SEQ ID NO: 59-60 中任一项所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包括蛋白质和/或多肽。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 33 中所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 30-32 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 27-29 任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 19-26 中所示的氨基酸序列和/或其变体。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包括多聚体。

在某些实施方式中，其中所述多聚体包括同二聚体。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂的氨基酸序列中的半胱氨酸不具有巯基封闭的修饰。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂的氨基酸序列中的丝氨酸不具有磷酸化的修饰。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包括融合蛋白和/或融合多肽。

在某些实施方式中，其中所述融合蛋白和/或融合多肽包含能够跨血脑屏障运输至脑的分子。

在某些实施方式中，其中所述能够跨越血脑屏障运输至脑的分子包含多肽。

在某些实施方式中，其中所述能够跨血脑屏障运输至脑的分子包含穿膜肽。

在某些实施方式中，其中所述穿膜肽包含如 SEQ ID NO: 34 所述的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 48 中所示的氨基酸序列，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 45-47 中任一项所示的氨基酸序列，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 42-44 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 35-41 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体。

在某些实施方式中，其中所述受试者包括哺乳动物。

在某些实施方式中，其中所述受试者包括人。

在某些实施方式中，其中所述试剂被配制为适于口服施用和/或注射施用。

另一方面，本申请提供了一种质子泵调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述质子泵调控剂调控 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段，其中所述疾病包括与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段来源于哺乳动物。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 或其功能活性片段来源于人或小鼠。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 包含 SEQ ID NO: 8 或 16 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含人 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含小鼠 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含 SEQ ID NO: 10-11 中任一项所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 包含由 SEQ ID NO: 9 或 17 所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够调控质子泵活性和/或功能。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性提高。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够调控所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高，其中所述提高包括与所述受试者中原始的所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性相比，所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述 ATP6V1B2 的表达水平包括 ATP6V1B2 基因的表达水平、ATP6V1B2 基因的转录水平和/或 ATP6V1B2 蛋白的表达水平。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂能够增加神经元突触递质释放，所述增加包括与所述受试者中原始神经元突触递质释放的水平相比，增加至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂增加兴奋性突触后电流的发放频率，所述增加包括与所述受试者中原始兴奋性突触后电流的发放频率的水平相比，增加至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂使受试者中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低。

在某些实施方式中，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性相比，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低至少约 10%。

在某些实施方式中，其中所述表达水平包括编码所述 DIR/或其功能片段的基因的表达水平、编码所述 DIR/或其功能片段的基因的转录水平和/或所述 DIR/或其功能片段的表达水平。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 的功能片段保留所述 DIR 的至少部分的生物学活性。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括影响神经元的兴奋性和/或抑制神经元的活性。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括能够降低兴奋性突触后电流（EPSC）的频率，和/或能够降低 EPSC 的幅度。

在某些实施方式中，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，使受试者中的兴奋性突触后电流（EPSC）的频率降低，和/或使受试者中的 EPSC 的幅度降低。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括影响认知能力。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括参与与 A β 沉积相关的信号通路，和/或，参与与 Tau 缠结产生相关的信号通路。

在某些实施方式中，其中所述生物学活性包括通过 gelsolin 诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段通过与 gelsolin 结合诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平与 A β 的表达水平正相关。

在某些实施方式中，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核

酸，使受试者的认知能力降低。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段来源于哺乳动物。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段来源于灵长类动物。

在某些实施方式中，其中所述 DIR/或其功能片段来源于人。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 包含 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 的功能片段包含 DDIT4L 中滞留的内含子所编码的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述 DIR 的功能片段包含 SEQ ID NO: 59-60 中任一项所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂包括蛋白质和/或多肽。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 33 中所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 30-32 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 27-29 任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 19-26 中所示的氨基酸序列和/或其变体。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂包括多聚体。

在某些实施方式中，其中所述多聚体包括同二聚体。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂的氨基酸序列中的半胱氨酸不具有巯基封闭的修饰。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂的氨基酸序列中的丝氨酸不具有磷酸化的修饰。

在某些实施方式中，其中所述质子泵调控剂包括融合蛋白和/或融合多肽。

在某些实施方式中，其中所述融合蛋白和/或融合多肽包含能够跨血脑屏障运输至脑的分子。

在某些实施方式中，其中所述能够跨越血脑屏障运输至脑的分子包含多肽。

在某些实施方式中，其中所述能够跨血脑屏障运输至脑的分子包含穿膜肽。

在某些实施方式中，其中所述穿膜肽包含如 SEQ ID NO: 34 所述的氨基酸序列。

在某些实施方式中,其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 48 中所示的氨基酸序列,其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中,其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 45-47 中任一项所示的氨基酸序列,其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中,其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 42-44 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体,其中 X 为任意氨基酸。

在某些实施方式中,其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 35-41 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体。

在某些实施方式中,其中所述受试者包括哺乳动物。

在某些实施方式中,其中所述受试者包括人。

在某些实施方式中,其中所述试剂被配制为适于口服施用和/或注射施用。

在某些实施方式中,其中所述与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病包括认知障碍、神经退行性疾病和/或脑卒中。

在某些实施方式中,其中所述认知障碍包括正常衰老引起的认知障碍、路易体痴呆(LBD)、额颞叶痴呆和/或血管性痴呆。

在某些实施方式中,其中所述认知障碍的诱导疾病包括阿尔兹海默症、多发性梗死型、帕金森氏症、艾滋病和/或克雅氏病(CJD)。

在某些实施方式中,其中所述认知障碍包括早期认知障碍(MCI)、中期认知障碍和晚期认知障碍。

在某些实施方式中,其中所述认知障碍包括遗忘型 MCI 多认知域受损(aMCI-m)。

在某些实施方式中,其中所述神经退行性疾病包括急性神经退行性疾病和慢性神经退行性疾病。

在某些实施方式中,其中所述神经退行性疾病包括由神经元死亡和胶质细胞稳态引起的神经退行性疾病、由衰老引起的神经退行性疾病、由 CNS 细胞功能被影响引起的神经退行性疾病、由细胞间异常通信引起的神经退行性疾病和/或由细胞运动受损引起的神经退行性疾病。

在某些实施方式中,其中所述神经退行性疾病包括阿尔兹海默症、帕金森氏症、多发性硬化(MS)、肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)和/或亨廷顿病(HD)。

在某些实施方式中,其中所述神经退行性疾病包括早老性痴呆。

在某些实施方式中,其中所述神经退行性疾病包括早老性痴呆早期、早老性痴呆中期和/或早老性痴呆晚期。

在某些实施方式中，其中所述脑卒中包括缺血性脑卒中和/或出血性脑卒中。

在某些实施方式中，其中所述缺血性脑卒中包括脑梗。

在某些实施方式中，其中所述脑梗包括腔隙性梗死、缺血性脑梗死和/或出血性梗死。

在某些实施方式中，其中所述缺血性脑卒中由包括以下的因素导致：血栓、栓塞和/或低血压。

在某些实施方式中，其中所述血栓由包括以下的因素导致：动脉粥样硬化、动脉瘤、血管畸形、动脉炎和/或血管痉挛。

在某些实施方式中，其中所述缺血性脑卒中包括大动脉粥样硬化型、心源性栓塞型、小动脉闭塞型、其他明确病因型和/或不明原因型缺血性脑卒中。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中包括脑实质出血、脑室出血和/或蛛网膜下腔出血。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中包括原发性脑出血和/或继发性脑出血。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中包括动脉瘤性蛛网膜下腔出血。

在某些实施方式中，其中所述出血性脑卒中由包括以下的因素导致：血管畸形、动脉瘤、血液病、脑淀粉样血管病、脑底异常血管网、脑动脉炎、抗凝或溶栓治疗和/或瘤卒中。

在某些实施方式中，其中所述脑卒中包括脑卒中所引起的损害。

在某些实施方式中，其中所述损害包括影像学所观察到的损害。

在某些实施方式中，其中所述影像学所观察到的损害包括脑内血肿、脑室内出血和/或蛛网膜下腔出血。

在某些实施方式中，其中所述影像学所观察到的损害包括水肿、血肿和/或占位效应。

在某些实施方式中，其中所述影像学所观察到的损害包括致密动脉征、岛带征、豆状核轮廓模糊或密度减低、脑穿支小动脉闭塞、水肿和/或占位。

在某些实施方式中，其中所述损害包括学习能力的损害，所述学习能力包括认知能力、运动能力、记忆能力和/或空间探索能力。

在某些实施方式中，其中所述学习能力通过实施选自下组的试验衡量：新物体认知试验和水迷宫试验。

在某些实施方式中，其中所述新物体认知试验评价所述认知能力、运动能力和/或空间探索能力。

在某些实施方式中，其中所述水迷宫试验评价所述记忆能力、运动能力和/或空间探索能力。

本领域技术人员能够从下文的详细描述中容易地洞察到本申请的其它方面和优势。下文的详细描述中仅显示和描述了本申请的示例性实施方式。如本领域技术人员将认识到的，本申请的内容使得本领域技术人员能够对所公开的具体实施方式进行改动而不脱离本申请所涉及发明的精神和范围。相应地，本申请的附图和说明书中的描述仅仅是示例性的，而非为限制性的。

附图说明

本申请所涉及的发明的具体特征如所附权利要求书所显示。通过参考下文中详细描述 of 示例性实施方式和附图能够更好地理解本申请所涉及发明的特点和优势。对附图简要说明书如下：

图 1 显示了制备本申请的疾病模型所使用的示例性基因编辑策略。

图 2A-2D 显示了对基因编辑效果的验证结果。

图 3A-3B 显示了 DIR-Ki 小鼠的示例性表型特征。

图 4A-4C 显示了 DIR-Ki 小鼠的示例性行为学表型特征。

图 5A-5C 显示了 DIR-Ki 小鼠的示例性生理学表型特征。

图 6A-6B 显示了 DIR-Ki 小鼠的生长、代谢及运动功能没有改变。

图 7A-7B 显示了本申请所述 ATP6V1B2 调控剂可以与 ATP6V1B2 蛋白结合。

图 8A-8K 显示的是本申请所述 ATP6V1B2 调控剂对兴奋性突触传递的影响。

图 9 显示的是本申请所述 ATP6V1B2 调控剂通过灌胃施用能够改善 AD 小鼠新物体识别试验中的认知行为。

图 10 显示的是本申请所述 ATP6V1B2 调控剂通过灌胃施用能够改善 AD 小鼠水迷宫试验中的学习能力。

图 11 显示的是本申请所述 ATP6V1B2 调控剂通过静脉施用能够改善 AD 小鼠新物体识别试验中的认知行为。

图 12 显示的是本申请所述 ATP6V1B2 调控剂通过静脉施用能够改善 AD 小鼠水迷宫试验中的学习能力。

图 13 显示的是 MCAO 模型 DIR-Ki 小鼠组织及血清中 DIR 表达增加。

图 14 显示的是本申请所述 ATP6V1B2 调控剂与 DIR 蛋白之间形成免疫共沉淀。

图 15 显示的是本申请所述 DIR 调控剂/ATP6V1B2 调控剂改善 DIR-Ki 小鼠认知记忆力。

图 16 显示的是各组动物 MCAO 造模后 24h 神经行为学评分柱状图,表明本申请所述 DIR 调控剂/ATP6V1B2 调控剂能够降低 MCAO 造模导致的神经行为学受损。

图 17 显示的是各组动物 MCAO 造模后 24h 梗死体积统计图,表明本申请所述 DIR 调控剂/ATP6V1B2 调控剂能够降低 MCAO 造模导致的梗死体积。

图 18 显示的是荧光显微镜下检测本申请所述 DIR 调控剂/ATP6V1B2 调控剂抑制 OGD 引起的 ROS 增多。

图 19 显示的是对本申请所述 DIR 调控剂/ATP6V1B2 调控剂抑制 OGD 引起的 ROS 增多的统计结果。

具体实施方式

以下由特定的具体实施例说明本申请发明的实施方式,熟悉此技术的人士可由本说明书所公开的内容容易地了解本申请发明的其他优点及效果。

术语定义

在本申请中,术语“DDIT4L”通常是指 DNA damage-inducible transcript 4-like, DNA 损伤诱导转录本 4 样。其也可以称为 REDD2/RTP801L。研究发现,DDIT4L 可以与心脏功能障碍相关。也可以用于治疗胶质瘤。人 DDIT4L 基因在 GenBank 的登录号为 115265;人 DDIT4L 蛋白在 GenBank 的登录号为 NP_660287.1。

在本申请中,术语“DIR”通常是指 DDIT4L 的内含子滞留剪切产物。DDIT4L 的剪切反应可以参见图 1。在本申请中,所述 DIR 的氨基酸序列可以如 SEQ ID NO: 56 所示。

在本申请中,术语“ATP6V1B2”通常是指 ATP 酶 H⁺运输 V1 亚基 B2 (ATPase H⁺ transporting V1 subunit B2) 蛋白(或称为 ATP6B2, DOOD, HO57, VATB, VPP3, Vma2 或 ZLS2),以及编码该蛋白的基因。所述 ATP6V1B2 可以为一种介导真核细胞内细胞器酸化的多亚基酶。所述 ATP6V1B2 可以参与蛋白质分选、酶原激活、受体介导的内吞作用和突触囊泡质子梯度生成等过程。所述 ATP6V1B2 蛋白可以包括胞质 V1 结构域和跨膜 V0 结构域。人 ATP6V1B2 在 GenBank 中的登录号为 526。人 ATP6V1B2 在 UniProt 中的登录号可以为 P21281。

在本申请中,术语“质子泵相关蛋白”通常是指编码和/或表达质子泵的相关蛋白。所述质子泵可以为在生物膜上逆膜两侧氢离子电势差主动运输氢离子的蛋白质。所述质子泵可以包括 Na-K 泵、Ca²⁺泵、H⁺-ATP 泵和 H⁺焦磷酸泵。

在本申请中，术语“调控剂”通常是指改变分子表达量和/或活性的化合物。例如，调控剂可以包括这样的化合物，其使得分子的某种活性强度和/或表达量与没有该调控剂时的活性强度和/或表达量相比增大或下降。例如，所述调控剂可以包括抑制剂，其降低分子的一种或多种活性的强度和/或表达量。

在本申请中，术语“结合剂”通常是指与靶或靶的一部分特异性结合的天然分子或非天然分子。结合剂可以包括小分子化合物、聚合物和/或生物大分子。结合剂可以包括蛋白质、肽、核酸、糖、脂质和小分子化合物。例如，结合剂可以包括多肽。例如，结合剂可以包括融合多肽。

在本申请中，术语“表达水平”通常是指特定相关基因的蛋白质、RNA 或 mRNA 水平。可以采用本领域中已知的任何方法来测定特定相关基因（例如人 DDIT4L 基因）的表达水平。在本申请中，所述“表达”通常是指将基因编码的信息转变成存在于细胞中并在细胞中操作的结构的过程。例如可以包括逆转录和扩增分析（例如 PCR、连接 RT-PCR 或定量 RT-PCT）、杂交分析、RNA 印迹法（Northern blotting）、斑点印迹法、原位杂交、胶凝电泳、毛细管电泳、柱色谱、蛋白质印迹法、免疫组织化学、免疫染色或质谱。可以直接对生物样品或对从样品中分离出来的蛋白质/核酸执行分析。

在本申请中，术语“活性”通常是指与特定蛋白质相关的任何活性。在本申请中，所述活性可以包括例如 DIR 蛋白相关的任何活性。所述活性可以包括蛋白酶相关的酶促活性。在某些情况下，所述活性可以包括生物活性。在某些情况下，所述活性可以包括蛋白质与受体的结合，例如，该结合可能产生可测量的下游效应。在本申请中，所述活性可以包括将被本领域技术人员归因于该蛋白的任何活性。

在本申请中，术语“变体”通常是指包含与亲本或参考多肽（例如野生型多肽）的氨基酸序列相差至少一个氨基酸残基的氨基酸序列的多肽。在本申请中，所述变体可以与所述亲本或参考多肽具有较高的（例如至少 80%）的同源性。所述同源性可以包括序列的相似性或同一性。在本申请中，所述同源性可以用本领域已知的标准技术确定（参见例如 Smith 和 Waterman, Adv. Appl. Math. 《应用数学进展》）；多核苷酸或多肽序列共有的同一性百分数通过分子之间序列信息的直接比较测定，所述比较通过序列比对并使用本领域已知的方法确定同一性来进行。适用于确定序列相似性的算法的例子是 BLAST 算法（参见 Altschul 等人, J.Mol.Biol.《分子生物学杂志》，215:403-410 [1990]）。用于进行 BLAST 分析的软件可通过国家生物技术信息中心（NCBI）公开获得。

在本申请中，所述“变体”和/或“功能性变体”可以为，例如在所述蛋白质和/或所述多肽（例

如，结合 ATP6V1B2 的结合剂或其片段）的氨基酸序列中经过取代、缺失或添加一个或多个氨基酸的蛋白质或多肽。例如，所述变体可包含已经通过至少 1 个，例如 1-30 个、1-20 个或 1-10 个，又例如 1 个、2 个、3 个、4 个或 5 个氨基酸取代、缺失和/或插入而具有氨基酸改变的蛋白质或多肽。所述功能性变体可基本上保持改变（例如取代、缺失或添加）之前的所述蛋白质或所述多肽的生物学特性。例如，所述功能性变体可保持改变之前的所述蛋白质或所述多肽的至少 60%，70%，80%，90%，或 100% 的生物学活性（例如结合 ATP6V1B2 的能力）。例如，所述取代可以为保守取代。例如，所述变体也可以为涵盖其功能活性片段的多肽，不限于在细胞中发生的加工和/或修饰后产生的包含所述蛋白功能活性片段的多肽。

在本申请中，所述“变体”可以为同源物。所述同源物可以为与所述蛋白质和/或所述多肽（例如，特异性结合 ATP6V1B2 的结合剂或其片段）的氨基酸序列具有至少约 85%（例如，具有至少约 85%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或更高的）序列同源性的蛋白质或多肽。

在本申请中，所述同源性通常是指两个或多个序列之间的相似性、类似或关联。可以通过以下方式计算“序列同源性百分比”：将两条待比对的序列在比较窗中进行比较，确定两条序列中存在相同核酸碱基（例如，A、T、C、G、U）或相同氨基酸残基（例如，Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、Cys 和 Met）的位置的数目以得到匹配位置的数目，将匹配位置的数目除以比较窗中的总位置数（即，窗大小），并且将结果乘以 100，以产生序列同源性百分比。为了确定序列同源性百分数而进行的比对，可以按本领域已知的多种方式实现，例如，使用可公开获得的计算机软件如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign（DNASTAR）软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适宜参数，包括为实现正在比较的全长序列范围内或目标序列区域内最大比对所需要的任何算法。所述同源性也可以通过以下的方法测定：FASTA 和 BLAST。对 FASTA 算法的描述可以参见 W. R. Pearson 和 D. J. Lipman 的“用于生物学序列比较的改进的工具”，美国国家科学院院刊（Proc. Natl. Acad. Sci.），85：2444-2448，1988；和 D. J. Lipman 和 W. R. Pearson 的“快速灵敏的蛋白质相似性搜索”，Science，227：1435-1441，1989。对 BLAST 算法的描述可参见 S. Altschul、W. Gish、W. Miller、E. W. Myers 和 D. Lipman 的“一种基本的局部对比（alignment）搜索工具”，分子生物学杂志，215：403-410，1990。

在本申请中，术语“氨基酸”通常是指天然存在的，合成的，或非天然氨基酸，以及与天然存在的氨基酸以相似的方式发挥功能的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。示例性的氨基酸包括天然存在的氨基酸；其类似物、衍生物和同类物；具有变异侧链的氨基酸类似物以及任何

前述物质的立体异构物。本申请所用的 20 种常用氨基酸及其缩写词按常规用法。参见 Immunology-A Synthesis(第 2 版, E.S.Golub 和 D.R.Gren 主编, Sinauer Associates, Sunderland, Mass.(1991)), 所述文献的内容通过引用结合到本文中。本申请采用常用的氨基酸单字母缩写词和三字母缩写词(Bruce Alberts 等, Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing, Inc., New York(第四版, 2002))。

在本申请中, 术语“保守替换 (conservative replacement 或 conservative substitution)”也称“保守突变 (conservative mutation)”, 通常是指蛋白质中具有相似特性 (例如电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、主链构象和刚性等) 的其他氨基酸对氨基酸的取代。具有拥有相似化学性质的侧链的氨基酸组的实例包括 1) 脂肪族侧链: 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸; 2) 脂肪族-羟基侧链: 丝氨酸和苏氨酸; 3) 含有酰胺的侧链: 天冬酰胺和谷氨酰胺; 4) 芳香族侧链: 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸; 5) 碱性侧链: 赖氨酸、精氨酸和组氨酸; 6) 酸性侧链: 天冬氨酸和谷氨酸; 和 7) 含硫侧链: 半胱氨酸和甲硫氨酸。保守氨基酸置换组可以是例如, 缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。

在本申请中, 术语“非保守替换”也称“激进替换 (Radical Replacement 或 Radical Substitution)”, 通常是指蛋白质中具有不同特性 (例如电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、主链构象和刚性等) 的其他氨基酸对氨基酸的取代。例如, 非保守取代也可以涉及使用非天然氨基酸。

在本申请中, 术语“极性氨基酸”可以包含极性不带电氨基酸、碱性 (带正电) 氨基酸、酸性 (带负电) 氨基酸。例如, 极性氨基酸可以包含苏氨酸, 丝氨酸, 胱氨酸, 酪氨酸, 天冬酰胺, 谷氨酰胺, 赖氨酸, 精氨酸, 组氨酸, 天冬氨酸, 谷氨酸。

在本申请中, 术语“非极性氨基酸”可以包含苯丙氨酸, 脯氨酸, 缬氨酸, 亮氨酸, 异亮氨酸, 蛋氨酸, 色氨酸, 丙氨酸, 甘氨酸。

在本申请中, 术语“融合多肽”通常表示这样的多肽, 所述多肽包含至少两个离散的肽或多肽 (在天然多肽中不以这种方式一起存在, 即, 这些部分不天然存在于同一种多肽中或以相同的顺序存在), 或由至少两个离散的肽或多肽 (在天然多肽中不以这种方式一起存在, 即, 这些部分不天然存在于同一种多肽中或以相同的顺序存在) 组成。所述离散的肽或多肽可以通过直接或间接的方式连接在一起形成融合多肽。例如, 所述离散的肽或多肽可以通过肽键连接形成融合多肽。例如, 所述离散的肽或多肽可以通过连接子连接形成融合多肽。例如, 本申请所述的融合多肽可以包含能够结合 ATP6V1B2 的多肽与具有特定功能的多肽连接形成的融

合多肽。在本申请中，术语“融合蛋白”通常是指由两种或更多种多肽构成的蛋白质。

在本申请中，术语“血脑屏障（BBB）”通常是指在外周循环与脑和脊髓之间的生理学屏障，其由脑部毛细血管内皮细胞、基底膜和神经胶质细胞的终足构成，形成限制分子，甚至是非常小的分子(如尿素(60 道尔顿))转运至脑的紧密屏障。脑内的 BBB、脊髓内的血液-脊髓屏障、和视网膜内的血液-视网膜屏障是 CNS 内的连续毛细管屏障，并且在本文中总称为血脑屏障或 BBB。BBB 还涵盖血液-CSF 屏障(脉络丛)，其中所述屏障由室管膜细胞而不是毛细管内皮细胞组成。

在本申请中，术语“穿膜肽”通常是指是一类能够穿过细胞膜或组织屏障的短肽。例如，穿膜肽可以通过内吞和直接穿透等机制运载蛋白质、RNA、DNA 等生物大分子进入细胞内发挥其效应功能。

在本申请中，术语“多聚体”通常是指具有共价、非共价或同时通过共价和非共价相互作用缔合的两个或多个多肽链的分子。所述多聚体可以包括二聚体。

在本申请中，术语“同二聚体”通常是指由两个相同的单体形成的分子。这两个相同的单体可以通过共价和/或非共价相互作用彼此聚集、络合或缔合。

在本申请中，术语“巯基封闭”通常是指使自由巯基被封闭而难以形成分子内和/或分子间的二硫键。在本申请中，所述巯基封闭可以发生在半胱氨酸残基上。所述巯基封闭可以使蛋白质的半胱氨酸残基之间无法形成二硫键而防止蛋白质进行交联或修饰。所述巯基封闭可以通过使用封闭剂实现，所述封闭剂可以为还原剂。所述封闭剂可以包括二硫苏糖醇（DTT）、β-巯基乙醇（BME）和三（2-羧乙基）膦盐酸盐（TCEP·HCl）。

在本申请中，术语“丝氨酸磷酸化”通常是指发生在丝氨酸残基上的磷酸化修饰。所述丝氨酸磷酸化可以为将供体（例如 ATP 或 GTP）的磷酸基转移到丝氨酸残基上的过程。所述丝氨酸磷酸化可以借助蛋白质激酶。所述丝氨酸磷酸化可以导致蛋白质活性的变化。

在本申请中，术语“分离的”通常是指从天然状态下经人工手段获得的。例如，某一活体动物体内天然存在某种未被分离的多聚核苷酸或多肽，而从这种天然状态下分离出来的高纯度的相同的多聚核苷酸或多肽可以称之为分离的。术语“分离的”可以不排除混有人工或合成的物质，也可以不排除存在不影响物质活性的其它不纯物质。

在本申请中，术语“核酸分子”通常是指任何长度的分离形式的核苷酸，脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸，或从其天然环境分离的或人工合成的类似物。

在本申请中，术语“载体”通常是指可将编码某蛋白的多聚核苷酸插入其中并使蛋白获得表达的一种核酸运载工具。载体可以通过转化、转导或转染宿主细胞，使其携带的遗传物质

元件在宿主细胞内表达得以表达。一种载体可能含有多种控制表达的元件。另外，载体还可含有复制起始位点。载体还有可能包括有协助其进入细胞的成分。

在本申请中，术语“细胞”通常是指可以是或已经是受试者质粒或载体的接受者的单个细胞、细胞系或细胞培养物，其包括本申请所述的核酸分子或本申请所述的载体。细胞可以包括单个细胞的后代。由于天然、偶然或有意的突变，后代可以不一定与原始母细胞完全相同（在总 DNA 互补体的形态上或在基因组上）。细胞可包括用本申请所述的载体在体外转染的细胞。

在本申请中，术语“免疫缀合物”通常是指多肽与其它活性剂连接形成的物质，其他活性剂可以是小分子活性剂，例如治疗剂、成像探针或光谱探针。

在本申请中，术语“药物组合物”通常是指用于预防/治疗疾病或病症的组合物。所述药物组合物可以包含本申请所述的分离的多肽、本申请所述的核酸分子、本申请所述的载体和/或本申请所述的细胞，以及任选地药学上可接受的佐剂。此外，所述药物组合物还可以包含一种或多种（药学上有有效的）载剂等合适的制剂。组合物的可接受成分在所用剂量和浓度下可以对接受者无毒。本申请的药物组合物包括但不限于液体、冷冻和冻干组合物。

在本申请中，术语“药学上可接受的载剂”通常是指药剂学可接受的载体、赋形剂或稳定剂，它们在所采用的剂量和浓度对暴露于其的细胞或哺乳动物是无毒的。生理学可接受的载体可包括合适的物质。药剂学可接受的载体(carrier)与基因工程中用于插入核酸的载体(vector)通常并不是同一物质。

在本申请中，术语“特异性结合”或“特异性的”通常是指可测量的和可再现的相互作用，例如靶标和抗体之间的结合，可在分子（包括生物分子）的异质群体存在的情况决定靶标的存在。例如，特异性结合靶标（其可以为表位）的抗体可以是以比它结合其它靶标更大的亲和性、亲合力、更容易、和/或以更大的持续时间结合该靶标的抗体。在某些实施方案中，抗体特异性结合蛋白质上的表位，所述表位在不同种属的蛋白质中是保守的。在某些实施方案中，特异性结合可以包括但不要求排他性地结合。

在本申请中，术语“神经元”通常是指神经细胞，其是神经系统主要的功能单元。神经元可以由细胞体及其突起轴突以及一个或多个树突组成。神经元可以通过在突触处释放神经递质向其他神经元或细胞传递信息。

在本申请中，术语“递质释放”通常是指神经递质释放，即一个神经元通过释放囊泡中包裹的神经递质(Neurotransmitter)到突触间隙，作用到另一个神经元上，从而传递信息的过程。在所述递质释放过程中，可以涉及神经环路的基本结构突触(Synapse)。在某些情况，所述递

质释放可以被称为突触传递 (Synaptic transmission)。所述递质释放的方法可以包括同步释放 (Synchronous release)、非同步释放 (Asynchronous release) 和自发释放 (Spontaneous release)。

在本申请中, 术语“兴奋性突触后电流 (EPSC)”通常是指引起兴奋性突触后电位 (excitatory postsynaptic potential, EPSP) 的离子流。所述 EPSP 是突触后电位, 使突触后神经元更容易触发一个动作电位。这种由带正电荷的离子流入突触后细胞引起的突触后膜电位的暂时去极化是打开配体门控离子通道的结果。所述 EPSC 的频率和/或振幅可以用电压钳制记录。

在本申请中, 术语“发放频率”通常是指动作电位的发放频率。动作电位可以是指可兴奋细胞受到刺激时在静息电位的基础上产生的一次膜两侧电位的快速而可逆转的倒转和复原的过程。动作电位可以由峰电位和后电位组成, 分别对应去极化 (Depolarization) 和超极化 (Hyperpolarization) 过程。动作电位的发放可以出现脉冲的特点。在某些情况下, 脉冲的发放频率为脉冲发放的数量与时间之比。例如, 所述发放频率可以包括突触囊泡释放神经递质的发放频率。例如, 所述发放频率可以包括兴奋性突触后电流的发放频率。

在本申请中, 术语“学习能力”通常是指一切与学习/认知过程相关或所需的能力。所述学习能力可以包括通过包括体验、学习或接受训练等的过程来获得新的信息、知识和/或技能的能力。所述学习能力可以包括想象力、注意力、感知观察能力、阅读能力、分析能力、操作能力、适应能力、归纳总结能力、解决问题能力或其组合。

在本申请中, 术语“认知能力”通常是指通过感知处理信息的能力。所述认知能力可以包括对事物的构成、性能与他物的关系、发展的动力、发展方向以及基本规律的把握能力。

在本申请中, 术语“运动能力”通常是指参加运动和训练所具备的能力。所述运动能力可以包括有氧运动能力、肌肉力量、身体柔韧性、平衡能力和反应能力。所述运动能力可以是身体形态、素质、技能、技能和心理能力等多种因素的综合表现。

在本申请中, 术语“记忆能力”通常是指识记、保持、再认识和重现客观事物所反映的内容和经验的能力。所述记忆能力可以包括感觉记忆能力、短时记忆能力和长期记忆能力。

在本申请中, 术语“空间探索能力”通常是指探索物体形状和/或位置的能力。所述空间探索能力包括观察、思考、想象、认识和/或摸索物体形状和/或位置。

在本申请中, 术语“学习能力的评估分数”通常是指对受试者学习能力的定量测评分数。所述学习能力的评估分数可以通过进行包括注意/执行功能评估 (例如韦氏记忆测验)、语言能力评估 (例如语言筛查测验 (the language screening test, LAST))、视空间和结构能力评估 (例如视觉运动整合测验、Hooper 视觉组织测验、物品拼凑测验、图形排列测验、画钟测验)、

运用能力评估、日常功能评估（例如痴呆残疾评估（disability assessment for dementia, DAD））和/或神经心理量表所得到的分数来获得。在某些情况下，所述学习能力的评估分数可以通过进行简易精神状态检查（mini-mental state examination, MMSE）、蒙特利尔认知评估量表（Montreal cognitive assessment, MoCA）、阿尔茨海默病评估量表-认知部分（Alzheimer disease assessment scale-cog, ADAS-cog）和临床痴呆评定量表（clinical dementia rating scale, CDR）检测所获得的分数来获得。

在本申请中，术语“新物体认知试验”通常是指通过使动物（例如小鼠）在特定空间内识别物体，从而检测动物学习对新物体的识别所需时间的试验。在某些情况下，所述新物体认知试验可以参考 Ennaceur 等，Behav Brain Res 80 9-25, 1996 所记载的试验方法。例如，所述新物体认知试验可以包括以下步骤：将两个相同的物体放入固定体积的容器中，将小鼠放入该容器中识别这两个物体，间隔一段时间后，将同一容器中的两个物体之一替换为具有不同形状的新物体，然后测量小鼠对新物体的搜寻时间。

在本申请中，术语“水迷宫试验”通常是指强迫动物（例如小鼠）游泳，从而学习寻找隐藏在水中的平台的试验。所述水迷宫试验（例如 Morris 水迷宫）可以测试小鼠对空间位置感和方向感的学习能力和/或记忆能力。所述水迷宫试验也可包括获得性训练、探查训练、对位训练或对位探查训练。如果动物（例如小鼠）从进入水中到找到平台所需的时间越短，在此期间运动的距离约短，则动物（例如小鼠）的学习能力的评估分数相应约高。水迷宫评价试验可以是评价学习能力的重要实验。

在本申请中，术语“认知障碍”通常是指被认为或确实牵涉于神经元结构和/或功能的进行性损失（包括神经元死亡）或与上述有关的疾病和病症。例如，所述认知障碍的特征可以包括认知（例如，记忆、注意力、感知和/或思维）的损伤。这些障碍可以包括病原体-诱导的认知功能障碍，例如 HIV 相关的认知功能障碍和莱姆病相关的认知功能障碍。认知障碍的实例可以包括阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化（ALS）、孤独症、早期认知功能损害（MCI）、中风、创伤性脑损伤（TBI）和/或与年龄相关的记忆损害（AAMI）。

在本申请中，术语“神经退行性疾病”通常是指由神经元结构和功能逐渐丧失，包括神经元死亡和胶质细胞平衡，所导致的痴呆等认知障碍。在某些情况下，年龄（例如阿尔茨海默病（AD）、帕金森病（PD））或影响 CNS 细胞功能的基因突变（例如亨廷顿氏舞蹈病、早发性 AD 或 PD、肌萎缩性脊髓侧索硬化症（ALS））可以引起所述神经退行性疾病。所述神经退行性疾病可以具有选自以下的变化和/或病症：蛋白错误折叠和聚集；神经炎症（例如在毒刺激（如蛋白聚集）、感染、创伤性损伤或自身免疫等信号刺激下出现的 CNS 炎症）；细胞

信号转导的改变；获得性衰老/细胞死亡（例如被中断的凋亡信号转导、线粒体功能障碍、自噬受损以及坏死小体被应激/炎症激活）；运动细胞受损以及表观遗传学变化。

在本申请中，术语“早老性痴呆”在本申请中可以与术语“阿尔兹海默症”互换使用。所述早老性痴呆可以包括早老性痴呆早期、早老性痴呆中期和/或早老性痴呆晚期。例如，所述早老性痴呆早期患者的学习与记忆障碍会愈见明显，在某些情况下，会具有语言障碍、执行障碍、认识障碍（失认症）和/或技能执行障碍（失用症）。例如，所述早老性痴呆中期患者将失去独立生活的能力，并且可能无法进行大部分的日常活动（在某些情况下，可以患有命名不能症、言语错乱症、和/或病觉缺失症）。例如，所述早老性痴呆晚期患者可能会晚期依赖照护者。例如，可能完全失去了语言能力。例如，可能无法自行进食。

在本申请中，术语“阿尔兹海默症”通常是指早老性痴呆、老年痴呆，是一种发病进程缓慢、随着时间不断恶化的神经退化性疾病。最常见的早期症状为丧失短期记忆（难以记住最近发生的事），当疾病逐渐进展，可能逐渐出现下述症状中的至少一种：语言障碍、定向障碍（例如，容易迷路）、情绪不稳、丧失动机、无法自理和行为问题。阿尔茨海默病的真正成因至今仍然不明，其进程可能与大脑中的淀粉样蛋白质斑块沉积和 Tau 蛋白过度磷酸化所致的纤维缠结有关。目前并没有可以阻止或逆转病程的治疗，只有少数方法或许可以暂时缓解或改善症状。

在本申请中，术语“A β ”通常是指 β 分泌酶介导 β 淀粉样前体蛋白（APP）裂解所得到的任何的肽。例如，所述 A β 可以包括 37、38、39、40、41、42 以及 43 个氨基酸的肽，并且从 β 分泌酶裂解位点延长至氨基酸 37、38、39、40、41、42 或 43。所述 A β 还可以上述肽的 N-末端截短类型，诸如焦谷氨酸形式 pE3-40、pE3-42、pE3-43、pE11-42、pE11-43 及类似形式。

在本申请中，术语“Tau”通常是指与神经细胞中微管的稳定化有关的 Tau 蛋白及广泛的 Tau 聚集体（例如，神经原纤维缠结）的组份。所述 Tau 缠结可以包括 Tau 的寡聚体形式和/或纤维形式，其具有毒性。所述 Tau 还可以包括所有类型和形式（例如不同的选择性剪接形式）的 Tau。

在本申请中，术语“早期认知障碍（Mild Cognitive Impairment, MCI）”、“轻度认知障碍”可以互换使用，通常是指一种介于正常认知与认知障碍的中间临床状态。在某些情况下，所述 MCI 可以包括满足痴呆标准但程度超过正常衰老的认知损害。MCI 在临床表现、病因、预后和患病率方面存在多样化。在某些情况，MCI 可以为阿尔茨海默症的一个病理阶段。某些形式的认知损害可视为神经变性疾病的早期表现，最终将导致痴呆。在本申请中，术语“中期认知障碍”、“中度认知障碍”可以互换使用，可以包括较严重的记忆障碍，影响到患者的独立

生活能力，和/或可以伴有括约肌障碍。在本申请中，术语“晚期认知障碍”、“重度认知障碍”可以互换使用，可以包括严重的智能损害，不能自理，完全依赖他人照顾，和/或有明显的括约肌障碍。可以通过临床表现、日常能力受损情况或认知评估等确定认知障碍的严重程度。例如，可以通过日常生活能力量表(activity of daily living scale, ADL)、临床痴呆评定量表(clinical dementia rating, CDR)或总体衰退量表(global deterioration scale, GDS)做出认知障碍严重程度的诊断。在某些情况下，所述 MCI 可以包括选自下组的亚型：aMCI-s：遗忘型 MCI 单认知域受损；aMCI-m：遗忘型 MCI 多认知域受损；naMCI-s：非遗忘型 MCI 单认知域受损；以及 naMCI-m：非遗忘型 MCI 多认知域受损。

在本申请中，术语“正常衰老引起的认知障碍”通常是指由于正常衰老引起的认知损害。例如，所述正常衰老引起的认知障碍可以表现为：记忆丧失、对熟悉地方的位置感到困惑、完成日常工作需要比平时更长时间、或者情绪和性格的变化。

在本申请中，术语“路易体痴呆（LBD）”通常是指 Lewy Body Dementia，或 Lewy 体痴呆。路易体痴呆的特征是蛋白质异常积聚成为称为路易体的肿块。路易体痴呆症导致心智能力逐渐下降。路易体痴呆症患者可能会出现幻视以及警觉性和注意力的变化。其他影响包括肌肉僵硬、运动缓慢、行走困难和颤抖。大脑中有路易体的患者也可以有与阿尔茨海默病相关的斑块和缠结。

在本申请中，术语“额颞叶痴呆”通常是指皮克病，其是一种 tau 蛋白只影响大脑的额叶和颞叶的渐进性的罕见病。额颞叶痴呆患者在更高层次的推理、表达语言、语言感知和记忆形成方面都有困难。额颞叶痴呆患者的大脑的额叶和颞叶可以随着时间推移而萎缩。

在本申请中，术语“血管性痴呆”通常是指由于大脑血液流动受损而导致的推理、判断和记忆方面的问题。例如，所述血管性痴呆可以包括由于心脏病和中风风险的因素，如高血压和高胆固醇而导致的痴呆。

在本申请中，术语“多发性梗死型”通常是指由大型脑动脉的单个穿通支闭塞引起的非皮质性小梗死。所述多发性梗死型可以是脑梗塞的一种特殊类型，又称缺血性中风。所述多发性梗死型可以表现为偏身感觉障碍、失语、构音不全、动作缓慢、笨拙（尤以精细动作如书写更为困难）。

在本申请中，术语“帕金森氏症”通常是指一种进行性神经变性疾病。所述帕金森氏症（PD）的临床特征可以包括运动症状（例如震颤、运动徐缓、肌强直和姿势不稳），以及神经精神性及其他非运动表现。例如，所述非运动表现可以包括认知功能障碍和痴呆、心境障碍（例如抑郁、焦虑、情感淡漠）和睡眠障碍。

在本申请中，术语“艾滋病”通常是指获得性免疫缺陷综合征（AIDS）。AIDS 的临床表现包括记忆力、专注力、注意力和运动技能的变化。在某些情况下，AIDS 患者可以出现认知障碍，例如，约 50% 的感染者可能进一步发展为 HIV 相关的神经认知功能障碍综合征（HIV-associated neurocognitive disorders, HAND）。

在本申请中，术语“克雅氏病（CJD）”通常是指一种发生在人类身上的传染性海绵状脑病。CJD 是由朊病毒感染引起的疾病。CJD 患者可以表现为偏执行为，意识模糊、食欲及体重下降、抑郁，少数患者有视觉或听觉异常；在进展期，表现为进行性的神经系统病情恶化（例如感觉异常、语言障碍和失语）。

在本申请中，术语“多发性硬化（MS）”通常是指一种脱髓鞘性神经病变。所述 MS 患者脑或脊髓中的神经细胞表面的绝缘物质（即髓鞘）受到破坏，神经系统的信号转导受损，可以导致一系列可能发生的症状，影响患者的活动、心智、甚至精神状态。这些症状可以包括复视、单侧视力受损、肌肉无力、感觉迟钝，或协调障碍。

在本申请中，术语“肌萎缩性脊髓侧索硬化症（ALS）”通常是指渐冻人症、运动神经元病，是一种渐进且致命的神经退行性疾病。其中少数 ALS 患者可以出现额颞叶痴呆。部分 ALS 患者的觉、视觉、触觉、嗅觉和味觉会出现退化，极少数肌萎缩侧索硬化症患者会同时出现痴呆症。

在本申请中，术语“亨廷顿病（HD）”，即亨廷顿舞蹈症，通常是指一种会导致脑细胞死亡的遗传性疾病。HD 患者随着疾病的进展，身体运动的不协调变得更加明显，能力逐渐恶化直到运动变得困难，无法说话。心智能力则通常会衰退为痴呆症。

在本申请中，术语“老龄阶段”通常是指受试者的老龄化阶段。例如，对人而言，所述老龄阶段可以为 60 岁以上，70 岁以上或 75 岁以上；对小鼠而言，所述老龄阶段可以为 10 月龄以上，例如可以为 13 月龄以上或者 18 月龄以上。在某些情况下，所述老龄阶段的受试者可以具有学习缺陷、记忆力障碍、记忆力缺陷和/或脑功能障碍中的一种或多种症状。

在本申请中，术语“受试者”通常是指人类或非人类动物，包括但不限于猫、狗、马、猪、奶牛、羊、兔、小鼠、大鼠或猴。

在本申请中，术语“脑卒中”或者“中风”通常是指由于给大脑供血的一或多个血管阻塞或出血，导致细胞死亡而造成的状况，包括脑卒中及脑卒中所引起的损害。例如，脑卒中可以是一种急性脑血管病。本申请所述的脑卒中包括急性脑卒中。本申请所述的脑卒中包括急性缺血性脑卒中和/或急性出血性脑卒中。在本申请中，“缺血性脑卒中”通常是指由于给大脑供血的一或多个血管阻塞而引起的脑卒中。本申请所述的缺血性脑卒中可以包括病因/发病机

制分型的各类缺血性脑卒中。缺血性脑卒中可以由血栓、栓塞和/或低血压导致。血栓可以由动脉粥样硬化、动脉瘤、血管畸形、动脉炎和/或血管痉挛导致。本申请所述的缺血性脑卒中包括脑梗，所述脑梗可以包括腔隙性梗死、缺血性脑梗死和/或出血性梗死。本申请所述的缺血性脑卒中的类型可以包括，例如栓塞性脑卒中、心脏栓塞性脑卒中、血栓性脑卒中、大血管脑卒中、腔隙性脑梗死、动脉-动脉脑卒中以及隐发性脑卒中。本申请所述的缺血性脑卒中的类型可以包括不同原因引起的缺血性脑卒中，例如，根据 TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment, TOAST) 分型，本申请所述的缺血性脑卒中可以包括：大动脉粥样硬化型、心源性栓塞型、小动脉闭塞型、其他明确病因型和不明原因型等五型缺血性脑卒中。其中，其他明确病因可以包括非动脉粥样硬化性血管病、高凝状态和血液病等，例如：夹层动脉瘤；血凝障碍性疾病；血液成分改变（红细胞增多症）；血管炎（钩体病、梅毒等）；血管畸形（动静脉畸形、烟雾病）；结缔组织病（SLE、无脉症）；脱水；外伤；纤维肌营养不良；压迫性血管疾病；药物成瘾等。在本申请中，“出血性脑卒中”通常是指由于给大脑供血的一或多个血管出血而导致的中风。出血性脑卒中可以包括脑实质出血、脑室出血和/或蛛网膜下腔出血。出血性脑卒中可以包括原发性脑出血和/或继发性脑出血。出血性脑卒中可以包括动脉瘤性蛛网膜下腔出血。出血性脑卒中可以由血管畸形、动脉瘤、血液病、脑淀粉样血管病、脑底异常血管网、脑动脉炎、抗凝或溶栓治疗和/或瘤卒中导致。

在本申请中，术语“脑卒中所引起的损害”通常是指由脑卒中所直接或间接引起的状况。脑卒中所引起的损害可以包括与脑卒中同时发生的损害以及在脑卒中发生之后引起的损害。脑卒中所引起的损害可以包括大脑中的损害。脑卒中所引起的损害可以不局限于脑卒中发生的位置，可以包括发生脑卒中的患者全身的损害，只要跟脑卒中或者脑卒中发生相关。脑卒中所引起的损害可以表现为发生脑卒中的患者学习能力和/或行为能力的损害。脑卒中所引起的损害可以表现为发生脑卒中的患者认知能力、运动能力和/或空间探索能力的损害。脑卒中所引起的损害可以通过已知的手段进行检测，包括但不限于影像学所观察、新物体认知试验和水迷宫试验。本申请所述的脑卒中所引起的损害包括神经症状、日常生活活动能力的降低和功能障碍。

在本申请中，术语“包含”通常是指包括、总括、含有或包涵的含义。在某些情况下，也表示“为”、“由……组成”的含义。

在本申请中，术语“约”通常是指在比特定值多或少 20% 的数值范围。例如，“约 X”包括为 X 的 $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 2\%$ 、 $\pm 1\%$ 、 $\pm 0.5\%$ 、 $\pm 0.2\%$ 或 $\pm 0.1\%$ 的数值范围，其中 X 为数值。

发明详述

一方面，本申请提供一种质子泵调控剂，其调控 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段，在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述疾病包括脑卒中。

ATP6V1B2 及其功能活性片段

在本申请中，所述 ATP6V1B2 可以源自任何生物体。例如，所述 ATP6V1B2 可以源自人或小鼠。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 可以包含 SEQ ID NO: 8 或 16 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 的功能活性片段可以与本申请所述的结合剂结合。在本申请中，所述 ATP6V1B2 的功能活性片段可以具有与 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。例如，所述 ATP6V1B2 的功能活性片段可以包括 ATP6V1B2 的截短体。例如，所述 ATP6V1B2 的功能活性片段可以包含人 ATP6V1B2 蛋白的第 287 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。例如，所述 ATP6V1B2 的功能活性片段可以包含小鼠 ATP6V1B2 蛋白的第 287 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段可以包含 SEQ ID NO: 8、10-11、16 中任一项所示的氨基酸序列。

在本申请中，编码所述 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段的核酸序列可以包含 SEQ ID NO: 9 或 17 所示的核酸序列。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 的活性可以包括 ATP6V1B2 蛋白和/或其功能活性片段的生物活性（例如可以包括其导致的可测量的下游效应）。例如，所述 ATP6V1B2 的活性可以包括使所述质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性提高。在本申请中，所述提高可以包括与所述受试者中原始质子泵相关蛋白的活性相比，所述质子泵相关蛋白的活性提高了至少约 10%。例如，可以提高至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

ATP6V1B2 调控剂

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以与 ATP6V1B2 结合。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以是 ATP6V1B2 的结合剂。在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂与 ATP6V1B2 的结合可以是特异性的。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以大于或等于约 10^5M^{-1} （例如，大于或等

于约 10^5M^{-1} 、大于或等于约 10^6M^{-1} 、大于或等于约 10^7M^{-1} 、大于或等于约 10^8M^{-1} 、大于或等于约 10^9M^{-1} 、大于或等于约 10^{10}M^{-1} 、大于或等于约 10^{11}M^{-1} 、大于或等于约 10^{12}M^{-1} 、大于或等于约 10^{13}M^{-1} 或更高)的 K_a (即结合相互作用的平衡缔合常数, 数值为 $1/M$); 或者, 以小于或等于约 10^{-5}M (例如, 小于或等于约 10^{-5}M 、小于或等于约 10^{-6}M 、小于或等于约 10^{-7}M 、小于或等于约 10^{-8}M 、小于或等于约 10^{-9}M 、小于或等于约 10^{-10}M 、小于或等于约 10^{-11}M 、小于或等于约 10^{-12}M 、小于或等于约 10^{-13}M 或更小)的平衡解离常数 K_d 与 ATP6V1B2 结合或缔合。例如, 所述 ATP6V1B2 调控剂与 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段的结合可以是体内的也可以是体外的。

在本申请中, 所述 ATP6V1B2 调控剂可以包括小分子化合物、聚合物和/或生物大分子。在本申请中, 所述 ATP6V1B2 调控剂可以包括蛋白质和/或多肽。

在本申请中, 所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 1 和/或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列和/或其变体。例如, 所述结合剂可以包含与 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列的全长相比, 具有氨基末端缺失、羧基末端缺失, 和/或内部缺失或置换, 而剩余的氨基酸序列通常与 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列的相应位置相同的多肽。例如, 所述结合剂可以包含具有 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列的多肽的至少 60%, 70%, 80%, 90%, 或 100% 的生物学活性的多肽。例如, 所述结合剂可以包含在 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列中经过取代、缺失或添加一个或多个氨基酸的蛋白质或多肽。例如, 所述结合剂可以包含已经通过在 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列中至少 1 个, 例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或更多个氨基酸取代、缺失和/或插入而具有氨基酸改变的多肽。

例如, 所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 1 和/或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列的同源物。例如, 所述结合剂可以包括与 SEQ ID NO: 1 和/或 SEQ ID NO: 2 中所示的氨基酸序列具有至少约 40% (例如, 具有至少约 43%、约 50%、约 57%、约 60%、约 62.5%、约 70%、约 71%、约 75%、约 80%、约 85%、约 86%、约 87%、约 88%、约 89%、约 90%、约 92%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或更高的) 序列同源性的多肽。

在本申请中, 所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 54 和/或 SEQ ID NO: 55 中所示的氨基酸序列和/或其变体。例如, 所述结合剂可以包含与 SEQ ID NO: 54 或 SEQ ID NO: 55 中所示的氨基酸序列的全长相比, 具有氨基末端缺失、羧基末端缺失, 和/或内部缺失或置换, 而剩余的氨基酸序列通常与 SEQ ID NO: 54 或 SEQ ID NO: 55 中所示的氨基酸序列的相应位置相同的多肽。例如, 所述结合剂可以包含具有 SEQ ID NO: 54 或 SEQ ID NO: 55 中所示

的氨基酸序列的多肽的至少 60%，70%，80%，90%，或 100% 的生物学活性的多肽。例如，所述结合剂可以包含在 SEQ ID NO: 54 或 SEQ ID NO: 55 中所示的氨基酸序列中经过取代、缺失或添加一个或多个氨基酸的蛋白质或多肽。例如，所述结合剂可以包含已经通过在 SEQ ID NO: 54 或 SEQ ID NO: 55 中所示的氨基酸序列中至少 1 个，例如 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个或更多个氨基酸取代、缺失和/或插入而具有氨基酸改变的多肽。

例如，所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 54 和/或 SEQ ID NO: 55 中所示的氨基酸序列的同源物。例如，所述结合剂可以包括与 SEQ ID NO: 54 和/或 SEQ ID NO: 55 中所示的氨基酸序列具有至少约 40%（例如，具有至少约 43%、约 50%、约 57%、约 60%、约 62.5%、约 70%、约 71%、约 75%、约 80%、约 85%、约 86%、约 87%、约 88%、约 89%、约 90%、约 92%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或更高的）序列同源性的多肽。

在本申请中，所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 33 中所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 可以为任意氨基酸。例如，所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 30-32 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 可以为任意氨基酸。例如，所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 27-29 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 可以为任意氨基酸。例如，所述结合剂可以包含 SEQ ID NO: 19-26 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 可以为任意氨基酸。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以包括多肽，所述多肽可以具有至少 7 个氨基酸。例如，所述多肽可以具有至少 8 个氨基酸。在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以包含含有本申请所述多肽序列的具有任意数量氨基酸的多肽。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以包括多肽，所述多肽自 N 端到 C 端的氨基酸以 X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、X8 表示，以此类推。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2-X4 可以为任意的氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸。

例如，所述多肽的 X2 可以为脯氨酸。例如，所述多肽的 X2 可以为脯氨酸的保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X2 可以为脯氨酸的非保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X2 可以为丙氨酸。例如，所述多肽的 X2 可以为丙氨酸的保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X2 可以为丙氨酸的非保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X2 可以为非极性氨基酸。例如，所述多肽的 X2 可以为极性氨基酸。

例如，所述多肽的 X3 可以为缬氨酸。例如，所述多肽的 X3 可以为缬氨酸的保守替换氨

氨酸。例如，所述多肽的 X3 可以为缬氨酸的非保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X3 可以为丙氨酸。例如，所述多肽的 X3 可以为丙氨酸的保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X3 可以为丙氨酸的非保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X3 可以为非极性氨基酸。例如，所述多肽的 X3 可以为极性氨基酸。

例如，所述多肽的 X4 可以为天冬氨酸。例如，所述多肽的 X4 可以为天冬氨酸的保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X4 可以为天冬氨酸的非保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X4 可以为丙氨酸。例如，所述多肽的 X4 可以为丙氨酸的保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X4 可以为丙氨酸的非保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X4 可以为非极性氨基酸。例如，所述多肽的 X4 可以为极性氨基酸。

例如，所述多肽可以具有 X8，所述多肽的 X8 可为任意氨基酸，例如，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸。例如，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸保守替换的氨基酸。例如，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸的非保守替换氨基酸。例如，所述多肽的 X8 可以为非极性氨基酸。例如，所述多肽的 X8 可以为极性氨基酸。例如，所述多肽可以不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X3 可以为缬氨酸或丙氨酸，所述多肽的 X4 可以为天冬氨酸或丙氨酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为脯氨酸或丙氨酸，所述多肽的 X3 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X4 可以为天冬氨酸或丙氨酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为脯氨酸或丙氨酸，所述多肽的 X3 可以为缬氨酸或丙氨酸，所述多肽的 X4 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X3 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X4 可以为天冬氨酸或丙氨酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为脯氨酸或丙氨酸

酸，所述多肽的 X3 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X4 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X3 可以为缬氨酸或丙氨酸，所述的 X4 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X3 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X4 可以为除甘氨酸以外的任意氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为丝氨酸，所述多肽的 X3 可以为除半胱氨酸以外的任意氨基酸，所述多肽的 X4 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为除丝氨酸以外的任意氨基酸，所述多肽的 X3 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X4 可以为任意氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为丝氨酸，所述多肽的 X3 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X4 可以为除甘氨酸以外的任意氨基酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为丝氨酸，所述多肽的 X3 可以为除半胱氨酸以外的任意氨基酸，所述多肽的 X4 可以为甘氨酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在某一实施方式中，所述多肽的 X1 可以为丝氨酸，所述多肽的 X2 可以为除丝氨酸以外的任意氨基酸，所述多肽的 X3 可以为半胱氨酸，所述多肽的 X4 可以为甘氨酸，所述多肽的 X5 可以为缬氨酸，所述多肽的 X6 可以为缬氨酸，所述多肽的 X7 可以为半胱氨酸，所述多

肽的 X8 可以为丝氨酸或所述多肽不具有 X8。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以包括多聚体。例如，所述多聚体可以包括二聚体。例如，所述多聚体可以包括同二聚体。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以为多肽，所述多肽中可以包含半胱氨酸，所述多肽的氨基酸序列中的半胱氨酸可以不具有巯基封闭的修饰。例如，如果所述多肽氨基酸序列中的半胱氨酸残基被巯基封闭，其可以丧失与 ATP6V1B2 蛋白结合的能力。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以为多肽，所述多肽中可以包含丝氨酸，所述多肽的氨基酸序列中的丝氨酸不具有磷酸化的修饰。例如，如果所述多肽氨基酸序列中的丝氨酸残基被磷酸化修饰，其可以丧失与 ATP6V1B2 蛋白结合的能力。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以为融合蛋白和/或融合多肽。例如，所述融合蛋白和/或融合多肽可以包括第一部分和第二部分。例如，所述融合蛋白和/或多肽可以包括本申请所述的 ATP6V1B2 的 ATP6V1B2 调控剂和/或本申请所述的多肽作为第一部分。例如，所述融合蛋白和/或多肽可以包括与第一部分相同、不同或不完全相同的部分作为第二部分。

例如，所述第一部分和第二部分直接或间接连接。例如，所述第一部分和第二部分可以通过肽键连接。例如，所述第一部分和第二部分可以通过连接子连接。例如，所述第一部分和第二部分可以通过非肽连接。

例如，所述第二部分可以具有特定的功能。例如，所述第二部分可以跨越血脑屏障运输至脑。例如，所述第二部分可以包含能够跨越血脑屏障运输至脑的分子。例如，所述能够跨越血脑屏障运输至脑的分子包含多肽。例如，所述第二部分可以包含穿膜肽。例如，所述穿膜肽能够跨越血脑屏障运输至脑。例如，所述第二部分包含如 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。

例如，所述第二部分可以结合 ATP6V1B2。例如，所述第二部分可以完全、不完全或完全不结合 ATP6V1B2。例如，所述第二部分可以影响第一部分与 ATP6V1B2 的结合。例如，所述第二部分可以增强第一部分与 ATP6V1B2 的结合能力。例如，与所述第一部分与 ATP6V1B2 的结合能力相比，包含所述第一部分和所述第二部分的融合多肽或融合蛋白与 ATP6V1B2 的结合能力更强。例如，与所述第一部分与 ATP6V1B2 的结合能力相比，包含所述第一部分和所述第二部分的融合多肽或融合蛋白与 ATP6V1B2 的结合能力强于至少约 1%、约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%、约 100%或更多。例如，所述第二部分可以减弱第一部分与 ATP6V1B2 的结合能力。例如，例如，与第一部分与 ATP6V1B2 的结合能力相比，包含

第一部分和第二部分的融合多肽或融合蛋白与 ATP6V1B2 的结合能力更弱。例如，与所述第一部分与 ATP6V1B2 的结合能力相比，包含所述第一部分和所述第二部分的融合多肽或融合蛋白与 ATP6V1B2 的结合能力弱于至少约 1%、约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 25%、约 30%、约 35%、约 40%、约 45%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%、约 100% 或更多。例如，可以通过本领域常用的技术手段来测量所述结合能力。例如，所述结合能力可以通过平衡解离常数 K_d 来表示。例如，所述结合能力可以通过免疫共沉淀的方法测定。

例如，所述融合蛋白和/或多肽可以包括本申请所述的 ATP6V1B2 调控剂和/或本申请所述的多肽作为第一部分和穿膜肽作为第二部分。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂与穿膜肽可以通过肽键连接形成融合多肽和/或融合蛋白。

例如，所述融合蛋白和/或多肽可以包含如 SEQ ID NO: 48 中任一项所述的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。例如，所述融合蛋白和/或多肽可以包含如 SEQ ID NO: 45-47 中任一项所述的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。例如，所述融合蛋白和/或多肽可以包含如 SEQ ID NO: 42-44 中任一项所述的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。例如，所述融合蛋白和/或多肽可以包含如 SEQ ID NO: 35-41 中任一项所述的氨基酸序列和/或其变体。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以调控质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以使质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性提高。例如，所述质子泵相关蛋白的表达水平包括编码质子泵相关蛋白基因的表达水平、编码质子泵相关蛋白基因的转录水平和/或质子泵相关蛋白的表达水平。例如，所述提高包括与所述受试者中原始质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性相比，所述质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性提高至少约 10%。在本申请中，所述提高可以包括与所述受试者中原始质子泵相关蛋白的表达水平相比，所述质子泵相关蛋白的表达水平提高了至少约 5%。例如，可以提高至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500% 或更多。

例如，质子泵相关蛋白的表达水平可以通过本领域常规技术手段进行衡量。例如，包括但不限于通过实施选自下组的试验衡量质子泵相关蛋白的表达水平：qPCR、qRT-PCR、杂交分析、RNA 印迹法、斑点印迹法、原位杂交、胶凝电泳、毛细管电泳、柱色谱、蛋白质印迹法、免疫组织化学、免疫染色和质谱。例如，所述质子泵相关蛋白的表达水平可以但不限于通过利用选自下组的物质衡量：能够特异性扩增编码质子泵相关蛋白基因的引物、与编码质

子泵相关蛋白基因特异性结合的核酸分子、与质子泵相关蛋白特异性结合的核酸分子、与质子泵相关蛋白特异性结合的小分子、与质子泵相关蛋白特异性结合的探针和与质子泵相关蛋白特异性结合的多肽。

在本申请中，所述质子泵相关蛋白可以包括 NADH 脱氢酶、辅酶 Q、琥珀酸-辅酶 Q 还原酶、细胞色素 c 和/或辅酶 Q-细胞色素 c 还原酶。

在本申请中，所述质子泵相关蛋白的活性可以包括所述质子泵相关蛋白的生物活性。

例如，所述质子泵相关蛋白的活性可以通过氢/钾三磷酸腺苷酶系统（又称氢/钾离子 ATP 酶，即 H⁺/K⁺ ATPase）的活性水平；和/或 H₂ 受体的活性水平来进行衡量。在本申请中，所述质子泵相关蛋白的活性的提高可以包括与所述受试者中原始质子泵相关蛋白的活性相比，所述质子泵相关蛋白的活性提高了至少约 5%。例如，可以提高至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以调控 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段的表达水平和/或生物学活性。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以使 ATP6V1B2 的表达水平和/或生物学活性提高。在本申请中，所述提高可以包括与所述受试者中原始 ATP6V1B2 的表达水平相比，所述 ATP6V1B2 的表达水平提高了至少约 10%。例如，可以提高至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

例如，所述 ATP6V1B2 的表达水平包括 ATP6V1B2 基因的表达水平、ATP6V1B2 基因的转录水平和/或 ATP6V1B2 蛋白的表达水平。例如，所述表达水平可以包括特定基因（例如人 ATP6V1B2 基因）多核苷酸、mRNA 或氨基酸产物或蛋白质的量。所述表达水平可以包括特定基因（例如人 ATP6V1B2 基因）转录的多核苷酸、翻译的蛋白质或翻译后修饰的蛋白质的片段的量。

例如，ATP6V1B2 的表达水平可以通过本领域常规技术手段进行衡量。例如，包括但不限于通过实施选自下组的试验衡量 ATP6V1B2 的表达水平：qPCR、qRT-PCR、杂交分析、RNA 印迹法、斑点印迹法、原位杂交、胶凝电泳、毛细管电泳、柱色谱、蛋白质印迹法、免疫组织化学、免疫染色和质谱。例如，所述 ATP6V1B2 的表达水平可以但不限于通过利用选自下组的物质衡量：能够特异性扩增 ATP6V1B2 基因的引物、与 ATP6V1B2 基因特异性结合的核酸

分子、与 ATP6V1B2 蛋白特异性结合的核酸分子、与 ATP6V1B2 蛋白特异性结合的小分子、与 ATP6V1B2 蛋白特异性结合的探针和与 ATP6V1B2 蛋白特异性结合的多肽。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以改善认知能力。例如，所述认知能力可以包括可以通过新物体识别行为实验衡量的认知能力。例如，所述认知能力可以包括可以通过水迷宫行为实验衡量的认知能力。例如，所述提高可以包括与向所述受试者施用所述 ATP6V1B2 调控剂后，所述受试者的认知能力得到改善。例如，所述受试者的认知能力得到提高可以包括水迷宫行为实验中，所述受试者在平台所在象限的时间增加、进入平台所在象限的间隔时间减少和/或穿越平台所在象限的次数增加。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以增加神经元突触递质释放。例如，所述增加包括与所述受试者中原始神经元突触递质释放的水平相比，可以增加至少约 10%。例如，可以提高至少约 20%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500% 或更多。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂能够增加兴奋性突触后电流的发放频率。在本申请中，所述增加包括与所述受试者中原始兴奋性突触后电流的发放频率的水平相比，可以增加至少约 10%。例如，可以增加至少约 20%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500% 或更多。

另一方面，本申请提供了一种 DIR 调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述 DIR 调控剂调控 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段，其中所述疾病包括脑卒中。

DIR 及其功能片段

人 DDIT4L 异常剪切产生的一种内含子滞留形式（DIR）。通过序列比对，发现该核酸序列在灵长类中具有保守性，其中与人类亲缘关系较近的黑猩猩具有高度保守性，而在猕猴中的保守性则相对较差。但是在大鼠、小鼠、狗、猪等常用的实验动物中无保守性。

在本申请中，所述功能片段通常是指包含与亲本或参考多肽（例如 DIR）的氨基酸序列相差至少一个氨基酸残基的氨基酸序列的多肽。在本申请中，所述功能片段可以与所述亲本或参考多肽具有较高的（例如至少 80%）的同源性。所述同源性可以包括序列的相似性或同一性。在本申请中，所述同源性可以用本领域已知的标准技术确定（参见例如 Smith 和 Waterman, Adv. Appl. Math. 《应用数学进展》）；多核苷酸或多肽序列共有的同一性百分数通

过分子之间序列信息的直接比较测定，所述比较通过序列比对并使用本领域已知的方法确定同一性来进行。适用于确定序列相似性的算法的例子是 BLAST 算法（参见 Altschul 等人，J.Mol.Biol.《分子生物学杂志》，215:403-410 [1990]）。用于进行 BLAST 分析的软件可通过国家生物技术信息中心（NCBI）公开获得。

在本申请中，所述 DIR 的表达水平可以包括 DIR 基因的表达水平、DIR 基因的转录水平和/或 DIR 蛋白的表达水平。例如，所述表达水平可以包括特定基因（例如人 *DDIT4L* 基因；和/或，编码人 DIR 和/或其功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因（例如人 DIR 基因）多核苷酸、mRNA 或氨基酸产物或蛋白质的量。所述表达水平可以包括特定基因转录的多核苷酸、翻译的蛋白质或翻译后修饰的蛋白质的片段的量。在本申请中，QDLIR 可以与 DIR 替换使用，其可以为人 *DDIT4L* 基因表达时异常剪切产生的一种内含子滞留形式。在本申请中，编码所述 DIR 的基因可以称为 DIR 基因。

在本申请中，所述 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的表达水平可以包括编码 DIR 的功能片段基因的表达水平、编码 DIR 的功能片段基因的转录水平和/或 DIR 的功能片段蛋白的表达水平。例如，所述表达水平可以包括特定基因（例如编码人 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因）的多核苷酸、mRNA 或氨基酸产物或蛋白质的量。所述表达水平可以包括特定基因（例如编码人 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因）转录的多核苷酸、翻译的蛋白质或翻译后修饰的蛋白质的片段的量。

在本申请中，所述 DIR-I 可以为 IR（即滞留的内含子所编码的氨基酸序列，其氨基酸序列如 SEQ ID NO: 58 所示）由自 N 端起前 27 个氨基酸组成的氨基酸序列。DIR-I 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 59 所示。所述 DIR-II 可以为 IR 由自 C 端起后 27 个氨基酸组成的氨基酸序列。DIR-II 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 60 所示。

在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的表达水平相比，所述 DIR 的表达水平降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述 DIR 的表达水平可以通过利用选自下组的物质衡量：特异性扩增 DIR 基因的引物、与 DIR 基因特异性结合的核酸分子、与 DIR 蛋白特异性结合的核酸分子、与 DIR 蛋白特异性结合的小分子、与 DIR 蛋白特异性结合的探针和与 DIR 蛋白特异性结合的多肽。

在本申请中，所述 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的表达水平可以通过利用选自下组的物质衡量：特异性扩增 DIR 的功能片段基因的引物、与 DIR 的功能片段基因特异性结合的核酸分子、与 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）特异性结合的核酸分子、与 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）特异性结合的小分子、与 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）特异性结合的探针和与 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）特异性结合的多肽。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平可以通过实施选自下组的试验衡量：逆转录和扩增分析（例如 PCR、连接 RT-PCR 或定量 RT-PCT）、杂交分析、RNA 印迹法（Northern blotting）、斑点印迹法、原位杂交、胶凝电泳、毛细管电泳、柱色谱、蛋白质印迹法、免疫组织化学、免疫染色或质谱。例如，可以通过 qPCR、qRT-PCR、northern 杂交、western 杂交和/或 ELISA 检测对本申请所述的 DIR 的表达水平进行测量。所述 DIR 的表达水平也可以通过直接对生物样品或对从样品中分离出来的蛋白质/核酸执行分析来进行测量。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的活性可以包括 DIR 蛋白的生物活性。例如，所述生物学活性可以包括影响神经元的兴奋性和/或抑制神经元的活性。例如，所述生物学活性可以包括通过抑制神经元的兴奋性和/或抑制神经元的活性而抑制认知能力。

在本申请中，所述生物学活性可以包括能够降低兴奋性突触后电流（EPSC）的频率，和/或能够降低 EPSC 的幅度。例如，所述降低可以包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，可以使受试者中的兴奋性突触后电流（EPSC）的频率降低，和/或使受试者中的 EPSC 的幅度降低。

例如，所述 DIR 的功能片段 DIR-I 可以降低 EPSC 的频率。例如，所述降低可以包括与所述受试者中原始 EPSC 的频率相比，施用所述 DIR-I 后，EPSC 的频率降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500% 或更多。例如，所述 DIR 的功能片段 DIR-II 可以降低 EPSC 的频率。例如，所述降低可以包括与所述受试者中原始 EPSC 的幅度相比，施用所述 DIR-II 后，EPSC 的幅度降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至

少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述生物学活性可以包括影响认知能力。在本申请中，所述生物学活性可以包括参与与 A β 沉积相关的信号通路，和/或，参与与 Tau 缠结产生相关的信号通路。例如，所述 DIR 和/或其功能片段可以抑制认知能力。例如，所述 DIR 和/或其功能片段可以通过抑制与 A β 沉积相关的信号通路，和/或，抑制与 Tau 缠结产生相关的信号通路而抑制认知能力。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的活性的降低可以包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，使受试者的认知能力降低。

在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的生物学活性相比，所述 DIR 的生物学活性降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平（例如在血浆中的表达水平）可以与 A β 水平（例如在血浆中的表达水平）正相关。例如，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平可以与 A β 40 的表达水平正相关。例如，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平可以与 A β 42 的表达水平正相关。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平（例如在血浆中的表达水平）可以与受试者的认知能力的降低程度正相关。例如，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平能够随着认知障碍的进展（例如 MCI 和/或 AD 的疾病进展）而提高。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平（例如在血浆中的表达水平）可以与 A β 水平（例如在皮质的 A β -PET 表达水平）正相关。在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平可以与 AD 患者的淀粉样斑块形成相关。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平可以与陈述性记忆的存储相关。例如，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平越高，陈述性记忆的存储的能力越低。在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平可以与联想学习的存储相关。例如，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平越高，联想学习的存储的能力越低。

在本申请中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平的降低可以提高认知能力。在本申请中，可以通过基因编辑的方法降低所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平。例如，所述基因编辑的方法可以包括 knock-down（例如，可以借助 CRISPR/Cas 系统；例如，可以借助反义寡

核苷酸)。在本申请中,所述表达水平的降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的表达水平相比,所述 DIR 的表达水平降低了至少约 10%。例如,可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中,所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平越低,认知能力(例如通过新物体识别行为实验衡量的认知能力)越高。例如,当所述表达水平的降低为与所述受试者中原始 DIR 的表达水平相比,所述 DIR 的表达水平降低了至少约 10%时,所述认知能力可以提高至少约 10%。例如,可以提高至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中,所述 DIR/或其功能片段可以来源于哺乳动物。例如,可以来源于灵长类动物。例如,可以来源于人。

在本申请中,所述 DIR 可以包含 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列。

在本申请中,所述 DIR 的功能片段可以包含 DDIT4L 中滞留的内含子所编码的氨基酸序列。在本申请中,所述 DIR 的功能片段可以包含 SEQ ID NO: 58 所示的氨基酸序列。

在本申请中,所述 DIR 的功能片段可以包含 SEQ ID NO: 59-60 中任一项所示的氨基酸序列。

在本申请中,所述 DIR/或其功能片段可以参与 A β 沉积。例如,所述 DIR/或其功能片段可以通过 gelsolin 诱导 A β 沉积。

其中,DDIT4L 中滞留的内含子(即 DIR-内含子(IR),其氨基酸序列如 SEQ ID NO: 58 所示)可以为 DIR 与 A β 相互作用的主要区域。A β 可以有助于 DIR 与 gelsolin 之间的相互作用。在本申请中,所述 DIR-内含子可以参与 A β 沉积。

在本申请中,所述 DIR/或其功能片段能够在病理条件下通过与 gelsolin 结合,而导致 A β 沉积和淀粉样斑块形成。

DIR 调控剂

在本申请中,所述 DIR 调控剂可以与 DIR 和/或其功能片段结合。例如,所述 DIR 调控剂可以与 DIR-II 结合。

例如,所述 DIR 调控剂可以是 DIR 和/或其功能片段的结合剂。在本申请中,所述 DIR

调控剂与 DIR 和/或其功能片段的结合可以是特异性的。例如，所述 DIR 调控剂可以大于或等于约 10^5M^{-1} （例如，大于或等于约 10^5M^{-1} 、大于或等于约 10^6M^{-1} 、大于或等于约 10^7M^{-1} 、大于或等于约 10^8M^{-1} 、大于或等于约 10^9M^{-1} 、大于或等于约 10^{10}M^{-1} 、大于或等于约 10^{11}M^{-1} 、大于或等于约 10^{12}M^{-1} 、大于或等于约 10^{13}M^{-1} 或更高）的 K_a （即结合相互作用的平衡缔合常数，数值为 $1/\text{M}$ ）；或者，以小于或等于约 10^{-5}M （例如，小于或等于约 10^{-5}M 、小于或等于约 10^{-6}M 、小于或等于约 10^{-7}M 、小于或等于约 10^{-8}M 、小于或等于约 10^{-9}M 、小于或等于约 10^{-10}M 、小于或等于约 10^{-11}M 、小于或等于约 10^{-12}M 、小于或等于约 10^{-13}M 或更小）的平衡解离常数 K_d 与 DIR 和/或其功能片段结合或缔合。例如，所述 DIR 调控剂与 DIR 和/或其功能活性片段的结合可以是体内的也可以是体外的。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以包括小分子化合物、聚合物和/或生物大分子。在本申请中，所述 DIR 调控剂可以包括蛋白质和/或多肽。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以降低所述 DIR 和/或其功能片段，和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸的表达水平和/或生物学活性。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以降低 DIR 基因的表达水平、DIR 基因的转录水平和/或 DIR 蛋白的表达水平。例如，所述调控剂可以降低例如人 DDIT4L 基因；和/或，编码人 DIR 和/或其功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因（例如人 DIR 基因）多核苷酸、mRNA 或氨基酸产物或蛋白质的量。例如，所述调控剂可以降低例如人 DDIT4L 基因；和/或，编码人 DIR 和/或其功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因（例如人 DIR 基因）基因转录的多核苷酸、翻译的蛋白质或翻译后修饰的蛋白质的片段的量。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以降低编码 DIR 的功能片段基因的表达水平、编码 DIR 的功能片段基因的转录水平和/或 DIR 的功能片段蛋白的表达水平。例如，所述调控剂可以降低编码人 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因的多核苷酸、mRNA 或氨基酸产物或蛋白质的量。例如，所述调控剂可以降低编码人 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因转录的多核苷酸、翻译的蛋白质或翻译后修饰的蛋白质的片段的量。

在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的表达水平相比，所述 DIR 的表达水平降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的表达水平相比，所述 DIR 的

功能片段的表达水平降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以降低所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性。在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的生物学活性相比，所述 DIR 或其功能片段的生物学降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以抑制与 A β 沉积相关的信号通路。在本申请中，所述调控剂可以抑制与 Tau 缠结产生相关的信号通路。在本申请中，所述抑制可以包括与所述受试者中原始参与与 A β 沉积相关的信号通路和/或与 Tau 缠结产生相关的信号通路的分子的表达水平和/或生物学活性相比，经施用所述调控剂后，这些分子的表达水平和/或生物学活性降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。在本申请中，所述调控剂可以通过 gelsolin 抑制 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。例如，所述调控剂可以通过抑制所述 DIR/或其功能片段与 gelsolin 的结合，从而抑制 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以降低 DIR-II 与 gelsolin 的结合。例如，经施用所述调控剂后，DIR-II 与 gelsolin 的结合水平可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

另一方面，本申请提供了一种质子泵调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述质子泵调控剂调控 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段，其中所述疾病包括与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。

ATP6V1B2 调控剂作为 DIR 调控剂

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以结合 DIR 和/或其功能片段。在本申请中，所述

ATP6V1B2 调控剂可以调控 DIR 和/或其功能片段。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以与 DIR 和/或其功能片段结合。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以与 DIR-II 结合。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以是 DIR 和/或其功能片段结合的结合剂。在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂与 DIR 和/或其功能片段结合的结合可以是特异性的。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以大于或等于约 10^5M^{-1} （例如，大于或等于约 10^5M^{-1} 、大于或等于约 10^6M^{-1} 、大于或等于约 10^7M^{-1} 、大于或等于约 10^8M^{-1} 、大于或等于约 10^9M^{-1} 、大于或等于约 10^{10}M^{-1} 、大于或等于约 10^{11}M^{-1} 、大于或等于约 10^{12}M^{-1} 、大于或等于约 10^{13}M^{-1} 或更高）的 K_a （即结合相互作用的平衡缔合常数，数值为 $1/M$ ）；或者，以小于或等于约 10^{-5}M （例如，小于或等于约 10^{-5}M 、小于或等于约 10^{-6}M 、小于或等于约 10^{-7}M 、小于或等于约 10^{-8}M 、小于或等于约 10^{-9}M 、小于或等于约 10^{-10}M 、小于或等于约 10^{-11}M 、小于或等于约 10^{-12}M 、小于或等于约 10^{-13}M 或更小）的平衡解离常数 K_d 与 DIR 和/或其功能片段结合或缔合。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂与 DIR 和/或其功能活性片段的结合可以是体内的也可以是体外的。

在本申请中，所述 DIR 调控剂可以包括 ATP6V1B2 调控剂。在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低所述 DIR 和/或其功能片段，和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸的表达水平和/或生物学活性。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低 DIR 基因的表达水平、DIR 基因的转录水平和/或 DIR 蛋白的表达水平。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低例如人 DDIT4L 基因；和/或，编码人 DIR 和/或其功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因（例如人 DIR 基因）多核苷酸、mRNA 或氨基酸产物或蛋白质的量。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低例如人 DDIT4L 基因；和/或，编码人 DIR 和/或其功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因（例如人 DIR 基因）基因转录的多核苷酸、翻译的蛋白质或翻译后修饰的蛋白质的片段的量。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低编码 DIR 的功能片段基因的表达水平、编码 DIR 的功能片段基因的转录水平和/或 DIR 的功能片段蛋白的表达水平。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低编码人 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因的多核苷酸、mRNA 或氨基酸产物或蛋白质的量。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低编码人 DIR 的功能片段（例如 DIR-I，和/或，DIR-II）的基因转录的多核苷酸、翻译的蛋白质或翻译后修饰的蛋白质的片段的量。

在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的表达水平相比，所述 DIR 的

表达水平降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的表达水平相比，所述 DIR 的功能片段的表达水平降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂可以降低所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性。在本申请中，所述降低可以包括与所述受试者中原始 DIR 的生物学活性相比，所述 DIR 或其功能片段的生物学活性降低了至少约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

适应症

与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病

在本申请中，与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病可以包括与 DIR 的表达水平和/或生物活性相关的疾病。例如，所述与 DIR 和/或其功能片段相关的疾病可以包括由 DIR 的表达水平和/或生物活性提高的疾病。例如，所述在与 DIR 和/或其功能片段相关的疾病患者中，可以检测到 DIR 的表达水平和/或生物活性提高。

例如，与受试者中原始 DIR 的表达水平或正常人 DIR 表达水平相比，患有与 DIR 和/或其功能片段相关的疾病的受试者中所述 DIR 的功能片段的表达水平提高了至少约 10%。例如，可以提高至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

例如，与受试者中原始 DIR 的生物活性或正常人 DIR 生物活性相比，患有与 DIR 和/或

其功能片段相关的疾病的受试者中所述 DIR 的功能片段的表达水平提高了至少约 10%。例如，可以提高至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

例如，与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病可以包括认知障碍、神经退行性疾病和/或脑卒中。

在本申请中，所述认知障碍可以包括轻度认知障碍（MCI）、中度认知障碍和重度认知障碍。例如，所述认知障碍可以包括正常衰老引起的认知障碍、路易体痴呆（LBD）、额颞叶痴呆和/或血管性痴呆。例如，所述认知障碍的诱导疾病可以包括阿尔兹海默症、多发性梗死型、帕金森氏症、艾滋病和/或克雅氏病（CJD）。在本申请中，所述认知障碍可以包括遗忘型 MCI 多认知域受损（aMCI-m）。

在本申请中，所述神经退行性疾病可以包括急性神经退行性疾病和慢性神经退行性疾病。例如，所述神经退行性疾病可以包括由神经元死亡和胶质细胞稳态引起的神经退行性疾病、由衰老引起的神经退行性疾病、由 CNS 细胞功能被影响引起的神经退行性疾病、由细胞间异常通信引起的神经退行性疾病和/或由细胞运动受损引起的神经退行性疾病。

脑卒中

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂和/或所述 DIR 调控剂可以预防和/或治疗脑卒中。本申请提供的 ATP6V1B2 调控剂和/或本申请提供的 DIR 调控剂，能够用于改善脑卒中所致的神经症状、日常生活活动能力和功能障碍。

在本申请中，所述脑卒中可以包括急性脑卒中。例如，所述脑卒中可以包括急性缺血性脑卒中和急性出血性脑卒中。

在本申请中，所述脑卒中可以包括缺血性脑卒中和/或出血性脑卒中。

在本申请中，所述缺血性脑卒中可以包括脑梗。例如，所述脑梗可以包括腔隙性梗死、缺血性脑梗死和/或出血性梗死。在本申请中，所述缺血性脑卒中可以包括任何病因引起的缺血性脑卒中。例如，所述缺血性脑卒中可以包括大动脉粥样硬化型缺血性脑卒中、心源性栓塞型缺血性脑卒中、小动脉闭塞型缺血性脑卒中、其他明确病因型缺血性脑卒中和不明原因型缺血性脑卒中。例如，所述缺血性脑卒中可以由包括以下的因素导致：血栓、栓塞和/或低血压。例如，所述血栓可以由包括以下的因素导致：动脉粥样硬化、动脉瘤、血管畸形、动脉炎和/或血管痉挛。

在本申请中，所述出血性脑卒中可以包括脑实质出血、脑室出血和/或蛛网膜下腔出血。例如，所述出血性脑卒中可以包括原发性脑出血和/或继发性脑出血。例如，所述出血性脑卒中可以包括动脉瘤性蛛网膜下腔出血。例如，所述出血性脑卒中可以由包括以下的因素导致：血管畸形、动脉瘤、血液病、脑淀粉样血管病、脑底异常血管网、脑动脉炎、抗凝或溶栓治疗和/或瘤卒中。

在本申请，所述脑卒中还可以包括脑卒中所引起的损害。

例如，所述损害可以包括影像学所观察到的损害。例如，所述影像学所观察到的损害可以包括脑内血肿、脑室内出血和/或蛛网膜下腔出血。例如，所述影像学所观察到的损害可以包括水肿、血肿和/或占位效应。例如，所述影像学所观察到的损害可以包括致密动脉征、岛带征、豆状核轮廓模糊或密度减低、脑穿支小动脉闭塞、水肿和/或占位。在本申请中，所述影像学观察可以包括本领域常规的影像学观察手段。例如，所述影像学观察可以包括但不限于超声、CT、头颅血管造影（CTA）、CT灌注扫描（CTP）、核磁共振（MRI）和数字减影血管造影（DSA）。

例如，所述损害可以包括学习能力的损害，所述学习能力包括认知能力、运动能力、记忆能力和/或空间探索能力。

在本申请中，所述学习能力可以包括一切与学习/认知过程相关或所需的能力。例如，所述学习能力可以包括认知能力、运动能力、记忆能力和/或空间探索能力。

在本申请中，所述学习能力的损害可以包括与受试者的发生脑卒中之前的学习能力的评估分数相比，脑卒中所引起的损害后的所述受试者的学习能力的评估分数提高降低约 10%。例如，可以降低至少约 15%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述学习能力的评估分数可以通过进行包括注意/执行功能评估（例如韦氏记忆测验）、语言能力评估（例如语言筛查测验（the language screening test, LAST））、视空间和结构能力评估（例如视觉运动整合测验、Hooper 视觉组织测验、物品拼凑测验、图形排列测验、画钟测验）、运用能力评估、日常功能评估（例如痴呆残疾评估（disability assessment for dementia, DAD））和/或神经心理量表所得到的分数来获得。例如，所述学习能力的评估分数可以通过实施选自下组的试验衡量：新物体认知试验和水迷宫试验。

在本申请中，所述新物体认知试验可以评价所述认知能力、运动能力和/或空间探索能力。在本申请中，所述新物体认知试验可以使受试者（例如小鼠）在固定容器内探索并学习特定

形状的物体，并根据学习获得的记忆在几天后区分出该固定容器内新出现的与之前物体形状不同的新物体。如果小鼠在几天后区分出该形状不同的新物体的时间越短，则小鼠的学习能力相应越高。水迷宫评价试验可以是评价受试者习能力的重要实验。

在本申请中，所述水迷宫试验可以评价所述记忆能力、运动能力和/或空间探索能力。在本申请中，所述水迷宫试验（例如 Morris 水迷宫）可以强迫受试者（例如小鼠）游泳，从而学习寻找隐藏在水中的平台，进而测试小鼠对空间位置感和方向感的空间探索能力和/或记忆能力。水迷宫试验也可包括获得性训练、探查训练、对位训练或对位探查训练。如果小鼠从进入水中到找到平台所需的时间越短，在此期间运动的距离越短，则小鼠的学习能力相应越高。水迷宫评价试验可以是评价受试者学习能力的重要实验。

受试者

在本申请中，所述受试者可以包括哺乳动物。例如，所述受试者可以包括啮齿类动物和/或灵长类动物，例如所述受试者可以包括人。

在本申请中，所述受试者可以处于任何年龄阶段。例如，所述受试者可以处于老龄阶段。

在本申请中，所述受试者可以包括非脑卒中患者、非认知障碍患者和/或非神经退行性疾病患者。例如，所述受试者可以为正常人和/或健康的人。例如，所述受试者可以具有进一步提高其学习能力的需求和/或愿望。

在本申请中，所述受试者可以包括脑卒中患者和/或脑卒中所引起的损害患者。

例如，所述受试者可以包括缺血性脑卒中和/或出血性脑卒中的患者。例如，所述受试者可以包括脑梗患者。例如，所述患者可以包括腔隙性梗死、缺血性脑梗死和/或出血性梗死的患者。例如，所述患者可以包括患有血栓、栓塞和/或低血压的患者。例如，所述患者可以包括动脉粥样硬化、动脉瘤、血管畸形、动脉炎和/或血管痉挛的患者。

在本申请中，所述受试者可以包括脑实质出血、脑室出血和/或蛛网膜下腔出血的患者。例如，所述受试者可以包括原发性脑出血和/或继发性脑出血的患者。例如，所述受试者可以包括动脉瘤性蛛网膜下腔出血的患者。例如，所述患者可以包括血管畸形、动脉瘤、血液病、脑淀粉样血管病、脑底异常血管网、脑动脉炎、抗凝或溶栓治疗和/或瘤卒中的患者。

在本申请，所述受试者还可以包括脑卒中所引起的损害患者。

例如，所述患者可以包括观察到的脑内血肿、脑室内出血和/或蛛网膜下腔出血的患者。例如，所述患者可以包括观察到水肿、血肿和/或占位效应的患者。例如，所述患者可以包括观察到致密动脉征、岛带征、豆状核轮廓模糊或密度减低、脑穿支小动脉闭塞、水肿和/或占位的患者。

在本申请中，所述受试者可以包括神经退行性疾病患者。例如，所述受试者可以包括阿尔兹海默症患者。例如所述阿尔兹海默症患者可以处于阿尔兹海默症的前期、早期、中期或晚期。

在本申请中，所述受试者可以包括认知障碍患者。例如，所述受试者可以患有早期认知障碍（MCI）（例如，失去短期记忆、表达或理解抽象事情时感困难、情绪或行为变幻无常、学习新事物及跟随复杂指令感到困难、判断力减退和/或基本自理需要旁人提醒）、中度认知障碍（例如，混淆远期记忆和现实情况记忆、词不达意、行为性格转变或情绪不稳和/或需要旁人协助自理）或重度认知障碍（例如，记忆缺损、身体活动及精神状况出现衰退、不能有效表达或沟通、不能自理和/或生物钟混乱）。在本申请中，所述受试者可以患有能够引起诱导所述认知障碍的疾病。例如，所述受试者可以患有阿尔兹海默症、多发性梗死型、帕金森氏症、艾滋病和/或克雅氏病（CJD）。

预防和/或治疗疾病

本申请提供了本申请所述的质子泵调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂，在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述疾病包括脑卒中。

本申请提供了预防和/或治疗疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用本申请所述的质子泵调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂，其中所述疾病包括脑卒中。

本申请提供了本申请所述的质子泵调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂，在预防和/或治疗疾病中的用途，其中所述疾病包括脑卒中。

本申请提供了本申请所述的质子泵调控剂，在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述疾病包括与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。

本申请提供了预防和/或治疗疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用本申请所述的质子泵调控剂，其中所述疾病包括与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。

本申请提供了本申请所述的质子泵调控剂，在预防和/或治疗疾病中的用途，其中所述疾病包括与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。

本申请所述试剂可以通过任何方式施用。例如，本申请所述试剂可以通过口服施用和/或注射施用。例如，本申请所述试剂可以被配制为适于其使用方式的形式。例如，本申请所述试剂可以被配制为适于口服施用和/或注射施用。

本申请所述的质子泵调控剂、本申请所述的 DIR 调控剂、和/或本申请所述的用于预防和/或治疗疾病的试剂可以以治疗有效量的剂量被施用。例如，治疗有效量可以包括给予受试者时，有效预防或改善一种或多种疾病或病况的症状或该疾病或病况的发展的量。例如，治疗有效量可以包括足以导致症状改善的结合化合物的量，例如治疗、治愈、预防或改善相关医学病况或者提高这类病况的治疗、治愈、预防或改善的速度的量。例如，当对个体施用单独给予的活性成分时，治疗有效剂量仅是指该成分。例如，当组合施用时，治疗有效剂量是指引起治疗效果的活性成分的综合量，不论是组合、依次给予还是同时给予。

本申请所述的质子泵调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂，可以预防和/或治疗脑卒中。本申请所述的质子泵调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂，可以预防和/或治疗脑卒中所引起的损害。

本申请所述 ATP6V1B2 调控剂可以预防和/或治疗与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。例如，所述 ATP6V1B2 调控剂可以预防和/或治疗与 DIR 和/或其功能片段相关的认知障碍、神经退行性疾病和/或脑卒中。

在本申请中，所述 ATP6V1B2 调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂对脑卒中所引起的损害的预防和/或治疗效果可以通过影像学观察。例如，本申请所述的质子泵调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂，可以缩小脑梗范围。例如，相比于施用本申请所述的 ATP6V1B2 调控剂和/或本申请所述的 DIR 调控剂之前，所述受试者的脑梗面积至少缩小约 5%。例如，可以缩小至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 100%、至少约 200%、至少约 500%或更多。

在本申请中，所述预防和/或治疗不仅包括预防和/或治疗疾病，还通常包括预防疾病的发作，减缓或逆转疾病的进展，预防或减缓与疾病相关的一种或多种症状的发作，减少和/或减轻与疾病相关的一种或多种症状，降低疾病和/或与其相关的任何症状的严重程度和/或持续时间和/或预防疾病和/或与其相关的任何症状的严重程度的进一步增加，预防、减少或逆转由疾病引起的任何生理损伤，以及通常对正在治疗的患者有益的任何药理学作用。例如，本申请的本申请所述的结合剂、本申请所述的多肽、本申请所述的融合多肽、本申请所述的免疫缀合物、本申请所述的核酸分子、本申请所述的载体、本申请所述的细胞、本申请所述的药物组合物和/或本申请所述的用于预防和/或治疗疾病的试剂不需要实现完全治愈或根除疾病的任何症状或表现。如在相关领域中所认识到的，用作治疗剂的药物可降低给定疾病状态的严重程度，但不需要消除疾病的每种表现才能被认为是有用治疗剂。类似地，预防性施用的治

疗构成可行的预防剂不需要完全有效地预防病症的发作。简单地在受试者中减少疾病的影响(例如,通过减少其症状的数量或严重程度,或通过提高另一种治疗的有效性,或通过产生另一种有益效果),或减少疾病发生或恶化的可能性就足够了。

不欲被任何理论所限,下文中的实施例仅仅是为了阐释本申请的融合蛋白、制备方法和用途等,而不适用于限制本申请发明的范围。

实施例

实施例 1 构建 DIR-KI 小鼠模型及表征

1.1 构建 DIR-KI 小鼠模型

构建策略:由于小鼠 DDIT4L 前 20 个氨基酸与 DIR 一致,因此利用 CRISPR/Cas9 技术,通过同源重组的方式将编码 DIR 剩余 64 个氨基酸的核酸序列直接插入到小鼠 DDIT4L 基因组中编码第 20 个氨基酸(天冬氨酸)的核酸序列之后(图 1),使得小鼠能够正常表达人 DIR (SEQ ID NO: 56)。

简要地:首先,通过体外转录的方式,获得 Cas9 mRNA 和用于敲入的 sgRNA (SEQ ID NO: 64);然后,构建作为供体的同源重组载体,该载体包含约 3kb 的 5' 同源臂 (SEQ ID NO: 65)、编码人 DIR 后 64 个氨基酸的核酸序列 (SEQ ID NO: 66),以及约 3kb 的 3' 同源臂 (SEQ ID NO: 67)。紧接着,将编码 Cas9 的 mRNA、sgRNA 和供体载体显微注射到 C57BL/6J 小鼠的受精卵中,获得 F0 代小鼠。最后将通过 PCR 鉴定为阳性的 F0 代小鼠与 C57BL/6J 小鼠交配获得阳性 F1 代小鼠。F1 代小鼠间进行交配可获得 F2 代野生型、杂合子以及纯合子小鼠。

1.2 DIR-KI 小鼠的鉴别

随后,通过基因组鉴定、mRNA 鉴定、免疫组织染色以及蛋白检测等多种方式来验证实施例 1 中所述的经基因敲入的小鼠能够正常表达人 DIR。

基因组鉴定:收集实施例 1 的 DIR-KI 小鼠的鼠尾,用 TIANamp Genomic DNA Kit (TIANGEN)来抽提小鼠的基因组 DNA,设计鉴定引物 P1 (SEQ ID NO: 68)、P2 (SEQ ID NO: 69),并通过 PCR 反应结合凝胶电泳来鉴定小鼠的基因型。其中,由野生型 (WT) 小鼠可以获得一个 476 bp 的 PCR 产物,由 DIR 杂合子 (HE) 小鼠可以获得 476 bp 和 671 bp 两个 PCR 产物,由 DIR 纯合子 (HO) 小鼠可以获得一个 671 bp 的 PCR 产物(图 2A)。

mRNA 鉴定:收集实施例 1 的 DIR-KI 小鼠的脑组织并打散,加入 Trizol (Sigma) 试剂和异丙醇提取 mRNA,并用 70% 的乙醇溶液清洗晾干后,加超纯水溶解。取其中 1 微克的 mRNA,用 Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (翌圣生物)将 mRNA 反转录为 cDNA。

设计引物 P3 (SEQ ID NO: 70)、P4 (SEQ ID NO: 71)、P5 (SEQ ID NO: 72), 通过 PCR 鉴定 DDIT4L 和 DIR 的表达情况。其中 P3 和 P4 用来鉴定 DDIT4L, 可以发现野生型小鼠和 DIR-KI 小鼠都能正常表达 DDIT4L 的 mRNA。P3 和 P5 用来鉴定 DIR, 只有 DIR-KI 小鼠能够表达 DIR 的 mRNA (图 2B)。

蛋白检测: 取 DIR-KI 小鼠和野生型小鼠的脑组织, 用裂解液 (50mM Tris, 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% 脱氧胆酸钠, 0.1% SDS, pH 7.4) 裂解后, 离心取上清液, 并与适量的 4X 上样缓冲液混匀, 于 100℃ 变性 10 分钟。最后取适量的样品做蛋白免疫印迹实验, 结果显示, 在 DIR-KI 小鼠的脑组织中可以检测出 DIR 蛋白 (图 2C)。

免疫组织染色: 使成年 DIR-KI 小鼠麻醉后, 分别用 PBS 进行灌注, 再用 Lana's 固定液 (45 mM NaH₂PO₄ · 2H₂O, 115 mM Na₂HPO₄ · 12H₂O, 4% PFA, 14% 饱和苦味酸) 灌注, 随即将小鼠的脑组织取下, 在徕卡冷冻切片机下, 切成约 50 微米厚的组织切片。取出适量的切片贴附到事先用明胶包被过的载玻片上, 用驴血清进行封闭后, 加入 DIR 抗体 (吉尔生化) 进行标记, 再加上荧光二抗标记所述 DIR 抗体。最后用徕卡 SP8 双光子共聚焦显微镜对标记好的组织片进行成像, 可以发现在神经元中 DIR 高度富集。纯合子 (HO) DIR-KI 小鼠脑切片的免疫染色显示, DIR 在许多海马齿状回 (DG) 神经元、CA1 和 CA3 区的一些神经元、以及少数皮质和丘脑神经元中表达 (图 2D, 比例尺=100 μm。)

1.3 DIR-KI 小鼠的生理特征

通过电生理记录的方法检测 DIR-KI 小鼠神经元的活性, 并通过免疫组织染色来判断是否发生 p-Tau 的升高以及 Aβ 的累积。

免疫组织染色: 使成年 DIR-KI 小鼠麻醉后, 分别用 PBS 进行灌注, 再用 4% 多聚甲醛溶液固定, 随即将小鼠的脑组织取下, 在徕卡冷冻切片机下, 切成约 50 微米厚的组织切片。取出适量的切片贴附到事先用明胶包被过的载玻片上, 用驴血清进行封闭后, 加入 p-Tau (Abcam, 货号 ab32057) 和 Aβ (Agrisera, 货号 AS0932) 抗体进行标记, 再加上荧光二抗标记 p-Tau 和 Aβ 抗体。最后用徕卡 SP8 双光子共聚焦显微镜对标记好的组织片进行成像, 根据结果显示, DIR-KI 小鼠脑组织中 p-Tau 和 Aβ 的含量有明显升高 (图 3), DIR-KI 小鼠的海马齿状回中 Aβ 和 p-Tau 的表达水平升高 (图 3A, 比例尺=100 μm; 图 3B, **, p < 0.01)。

1.4 DIR-KI 小鼠的行为学特征

通过各种行为学测试来验证 DIR-KI 小鼠是否出现记忆损伤。

Y 迷宫实验: 开展行为学实验前, 使小鼠适应饲养环境一周。实验当天提前 30 分钟让小鼠适应实验房间。实验开始后, 将小鼠面朝箱壁置于 Y 形迷宫起始臂 A, 自由探索迷宫 10 分

钟。当位于迷宫中心时，小鼠可选择任意方向进入。认知正常的小鼠在实验过程中会倾向进入未被探索过的臂。整个过程采用摄像头录像记录。实验结束后，小鼠归笼。实验间隔中采用 75% 的酒精清理实验装置。实验结束后，人工记录小鼠探索迷宫臂的顺序，用于计算总进臂次数和交替比例（交替比例=实际交替入臂次数/（总进臂次数-2））。实验操作者和数据分析者为双盲。结果显示，DIR-KI 小鼠的行为表现要弱于野生型小鼠，表明 DIR-KI 小鼠的工作记忆能力有显著下降（图 4A）。

新物体识别实验：实验当天提前 30 分钟使小鼠适应实验房间。实验分为适应期、训练期和实验期。适应期：将小鼠从饲养笼取出，置于塑料箱中央，自由探索实验场地 10 分钟。在适应期的 12~24 小时后进行训练期；训练期：将 2 个相同的电池置于距离箱壁 5 厘米处。将小鼠置于场地中央，自由探索 10 分钟。在训练期结束的 3~4 小时之内进行实验期；实验期：将玩具随机替代 1 个电池，摆放位置与原物体相同。将小鼠置于场地中央自由探索 10 分钟。实验结束后，小鼠归笼。整个过程采用摄像头录像记录。实验间隔中采用 75% 的酒精清理实验装置。实验结束后，由人工对录像中小鼠探索新旧物体的时间进行计数并计算新物体的时间识别指数。当小鼠的鼻尖距离物体 2 厘米范围内，且小鼠嗅或触碰物体视为探索物体的行为，啃咬或爬上物体不视作探索行为。小鼠对新物体的识别指数=（探索新物体的时间 - 探索旧物体的时间）/（探索新物体的时间+探索旧物体的时间）。小鼠探索总时间小于 15 秒的数据将被排除。实验操作者和数据分析者为双盲。结果显示，DIR-KI 小鼠对于新物体的识别能力要弱于野生型小鼠（图 4B）。

水迷宫实验：实验当天提前 30 分钟使小鼠适应实验房间。实验分为训练日和实验日。训练日为 5~6 天，实验日为 1 天。实验前在水箱中装入 30 厘米深度的水，水温维持在 19~22℃，水中加入滑石粉使之浑浊。水箱分为四个方向：N、S、E 和 W，平台放置在 NE 象限，小鼠每日的入水点选择 S、W、NW 和 SE 的不重复组合。房间设置在实验期间保持不变，在水迷宫四周贴有特定图案作为远端线索。房间灯光为非直射灯光。实验全程采用摄像头录像记录，实验日的录像使用 Etho Vision XT 14 软件分析结果。训练日：将平台高度置于水下 0.5 厘米处。将小鼠从指定入水点入水，面朝水箱壁，同时开始计时 1 分钟。当小鼠到达平台时停止计时，若在 1 分钟内小鼠没有到达平台，则将小鼠置于平台上或引导上平台。待小鼠在平台停留 30 秒后，取出小鼠，擦干，归笼。在下一入水前需间隔 30 分钟。将小鼠置于新的入水点，重复上述实验 3 次。实验人员记录每次实验中小鼠上平台的用时。第二天，重复以上实验。每天训练 4 次，共训练 5~6 天。实验日：训练日结束的 24 小时之后进行实验。移除平台。小鼠从 SW 象限入水，面朝水箱壁。1 分钟后取出小鼠，擦干，归笼。实验结束后采用

Etho Vision XT 14 软件分析小鼠行为录像，采集数据包括：进入目标象限的逃避潜伏期、穿越平台位置的次数、在目标和非目标象限的停留时间。实验操作者和数据分析者为双盲。结果显示，DIR-KI 小鼠穿过平台所在象限的次数显著降低，进入平台所在象限的时间显著升高，说明 DIR-KI 小鼠的空间记忆能力减弱（图 4C）。

1.5 包含 DIR 功能活性片段的疾病模型

脑片电生理记录：将小鼠脑组织放置于预冷过的人工脑脊液（ACSF）中，并且不断充入 95% O₂ 和 5% CO₂，然后用徕卡震动切片机切成约 350 微米厚的组织片。挑取出合适的脑片后，放置在充满人工脑脊液中的观察小室中，观察小室固定于显微镜的视野之下，并且不断灌注新鲜的人工脑脊液以维持脑组织的活性。最后使用电极记录海马区发放的突触后电流。结果显示，给予海马脑片 DIR-IR（SEQ ID NO: 58）片段之后，突触后电流的幅度有显著降低，电流的频率也有降低的趋势（图 5A）。将 DIR-IR 片段更进一步分成 DIR-I（SEQ ID NO: 59）和 DIR-II（SEQ ID NO: 60）两部分，比较二者对突触后电流的影响。给予海马脑片 DIR-I 片段之后，突触后电流的幅度无明显变化，电流的频率有显著降低（图 5B）。给予海马脑片 DIR-II 片段之后，突触后电流的幅度有降低的趋势，但电流的频率没有明显变化（图 5C）。据此，推知 DIR 的片段也至少能够部分或全部实现所述 DIR 的功能。

1.6 疾病模型的生长、代谢及运动功能没有改变

通过称量小鼠体重发现野生型小鼠（WT）和纯合子小鼠（HO）之间没有明显差别，说明 DIR 敲入不影响小鼠的生长代谢（图 6A）。

旷场实验：实验当天提前 30 分钟让小鼠适应实验房间。实验时将小鼠从饲养笼取出，置于塑料箱中央，自由探索实验场地 10 分钟。实验结束后，小鼠归笼。整个过程采用摄像头录像记录。实验间隔中采用 75% 的酒精清理实验装置。实验结束后，使用 Etho Vision XT 14 软件分析实验录像，统计小鼠在中央区域和外围区域的停留时间。结果显示野生型小鼠（WT）和纯合子小鼠（HO）之间没有明显差别，说明 DIR 敲入小鼠的运动能力没有改变（图 6B）。

实施例 2 ATP6V1B2 调控剂与 ATP6V1B2 的结合及生物学活性

2.1 ATP6V1B2 调控剂与 ATP6V1B2 的结合

分别构建 hATP6V1B2、QD202、点突变 QD202(D15A)、点突变 QD202(V16A)、点突变 QD202(P13A)、点突变 QD202(V14A) 的表达质粒，具体序列见表 1。hATP6V1B2 分别与 QD202、点突变 QD202(D15A)、点突变 QD202(V16A)、点突变 QD202(P13A)、点突变 QD202(V14A) 表达质粒在 HEK 293 中同时转染，转染 48 小时后提取细胞蛋白。

表 1：质粒序列

质粒名称	载体	CDS 序列
hATP6V1B2	pcDNA3.1(+)-myc-his	atggcgctgccccgatgccccggattgtcaacggggccgcacccgagctacccgt gcccaccggtgggcccggcggtgggagctcgggagcaggcgctggcagtcagtcgg aactacctctccagcctcgctcacatacaagacagtatctggagtcgaatggccacta gtgatcttagatcatgttaagttccaggtatgctgaaattgacattgacctaccggat ggacaaaagagaagtgggcaagttctggaagttagtggtccaaggcagtagtgcaggt atttgaagggaacttcaggtatagatgctaagaaaacgtcctgtgagtttactgggatatt ctccgaacaccggtgtctgaggatgcttggcggttattcaatggatcgggaaaacc cattgacagaggtcctgttactggccgaagacttcctgatacatgggtcagccaatc aacctcaatgtcgaatctaccagaggaaatgattcagactggcatttcggccatcgat gggatgaacagattgctagggggcagaaaattcctatcttctgctgctgggtacca cacaatgagattgcagctcagatctgtcgcaggtggttgtaaagaatccaaagat gtatgactacagtgaggaaaatttgcattgtattgctgctatgggtgtaaacatgga aactgcccgggttctcaaatctgactttgaagaaaatggcgaatggacaatgctgcctct tttgaactggcgaatgacccaaccattgagcgaattatcactcctgcctggcttaacc acagctgaatttctggcgtaacaaTGtgaagaacatgattggtattctaacagacatg agttctatgctgaagcacttcgagaggttcagcagccagggaagaggtacctggctg acgaggtttccaggtacatgtatacagatttagccagatatgaacgcgctggcg agtggagggaagaaacggctcgattactcaaatcctattctaaccatgcctaatgatga tatcactcacccatccagacttgactggctacattacagaggggcagatcatgtgga cagacagctgcacaacagacagatttatccactatcaatgtgctgccctcactatcacg gttaatgaagtctgtattggagaaggatgaccaggaagatcatgccgatgtatctaa ccagctatatgctgtctattggaaggatgtgcaagccatgaaagctgtcgttgg agaagaagccctacctcagatgatcttctacttggaaatttctgcagaagtttgagagg aacttcattgctcagggtccttacgaaaatcgactgtcttgagacttggacattggctg gcagctactccgaatcttcccaaagaatgctgaagagaatccctcagagaccctca gcgaattttaccctcgagactctgcaaagcat (SEQ ID NO: 49)
QD202	pEGFP-N3	atgtacggcaggaagaagaggaggcagaggaggaggagccccgtggacgtggtgt gcagc (SEQ ID NO: 73)
QD202(D15A)	pEGFP-N3	atgtacggcaggaagaagaggaggcagaggaggaggagccccgtggcgtggtgt gcagc (SEQ ID NO: 50)
QD202(V16A)	pEGFP-N3	atgtacggcaggaagaagaggaggcagaggaggaggagccccgtggacgccgtgt gcagc (SEQ ID NO: 51)
QD202(P13A)	pEGFP-N3	atgtacggcaggaagaagaggaggcagaggaggaggagcccggtggacgtggtgt gcagc (SEQ ID NO: 52)
QD202(V14A)	pEGFP-N3	atgtacggcaggaagaagaggaggcagaggaggaggagccccgccgacgtggtgt gcagc (SEQ ID NO: 53)

用 Pierce RIPA 裂解液进行蛋白抽提，以 60 mm 培养皿的细胞为例，加入 500 μL 含有蛋白酶抑制剂的 Pierce RIPA 裂解液，用细胞刮刀将细胞收集转移至干净的 1.5 mL EP 管中，4 °C 旋转混匀仪上混匀 1 小时后，4 °C 13,000 rpm 离心 10 分钟去除细胞碎屑。将 hATP6V1B2 等分为 4 份，分别与 QD202、点突变 QD202(P13A)、点突变 QD202(V14A)、点突变 QD202(D15A)、点突变 QD202(V16A)转染的细胞裂解液混合，取 30 μL 上清加入 10 μL 4×loading buffer，100 °C

煮沸 5 分钟后-20 °C 冷冻保存；其余 470 μ L 蛋白裂解液中加入 2 μ L 抗体（Anti-GFP, Roche, 11814460001）放在 4 °C 旋转混匀仪上混旋过夜，约 16-18 小时。取 30 μ L Protein G 琼脂糖珠（Roche, 11243233001）于 EP 管中，用 Pierce RIPA 裂解液清洗三次，去除原本储液的干扰，将与抗体孵育过夜的蛋白加入琼脂糖珠中，在 4 °C 混匀孵育 2 小时，使抗体与蛋白充分结合。以 4000 rpm 的转速离心 1 分钟，吸去上清，并加入 600 μ L Pierce RIPA 裂解液，轻柔翻转，离心取上清，重复上述步骤三次，以清洗非特异性结合的蛋白。最后，加入 30 μ L 1 $\times$ loading buffer，混匀后 60 °C 加热 20 分钟，使蛋白变性并储存于-20 °C。通过 western blot 的方法检验蛋白（Myc-Tag (9B11) Mouse mAb, CST, 2276S; Anti-GFP, Roche, 11814460001）。

hATP6V1B2 分别与 QD202、点突变 QD202(P13A)、点突变 QD202(V14A)、点突变 QD202(D15A)、点突变 QD202(V16A) 表达质粒在工具细胞 HEK 293 中共转，通过免疫共沉淀的方法发现，琼脂糖珠可以将带有 Myc 标签的 hATP6V1B2 与 QD202 相互结合，同时也可以与 15 位天冬氨酸突变为丙氨酸的 QD202(D15A) 结合，同时也可以与 13 位脯氨酸突变为丙氨酸的 QD202(P13A) 及 14 位缬氨酸突变为丙氨酸的 QD202(V14A) 结合，但与 16 位缬氨酸突变为丙氨酸的 QD202(V16A) 结合减弱，推测 QD202 上的 16 位缬氨酸是 hATP6V1B2 与 QD202 结合的重要氨基酸之一，13 位脯氨酸、14 位缬氨酸和 15 位天冬氨酸可替换为丙氨酸，如图 7A 和图 7B 所示。

2.2 ATP6V1B2 调控剂的生物学活性

本实施例说明，本申请所述的 ATP6V1B2 调控剂可以增加神经元自发的兴奋性突触递质释放，可以增加兴奋性突触后电流的发放频率。

试验步骤：

根据 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列合成多肽 QD202。

根据 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列合成多肽 QD202 N'-1。

根据 SEQ ID NO: 3 所示的氨基酸序列合成多肽 QD202 C'-1。

根据 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列合成多肽 QD202 C'-2。

根据 SEQ ID NO: 54 所示的氨基酸序列合成多肽 SS8。

将 2-3 月龄 C57 小鼠腹腔注射 20% 乌来糖 0.1-0.15ml 麻醉后，快速断头剥离脑组织，并置于预先通混合气（95%O₂ 和 5%CO₂）的人工脑脊液（ACSF）冰水混合态液体中，放置 2 min，ACSF 配方如下：NaCl 11.7mM, KCl 0.36mM, NaH₂PO₄ 0.12mM, CaCl₂ 0.25mM, MgCl₂ 0.12mM, NaHCO₃ 25mM, 葡萄糖 11mM。利用振动切片机切取 350 μ m 的海马冠状脑片。海马脑片在室温 ACSF 中放置 30 min 以上进行恢复，然后将脑片置于记录槽中，并用通混合气的 ACSF

以 2-2.5ml/min 的速度持续灌流, 在 Olympus BX51 正置显微镜下, 对海马 CA1 锥体神经元进行盲扎封接, 利用 Axon700B 放大器和 1550B 数模转换器进行全细胞膜片钳记录, 钳制电压为 -70 mV 的状态下, 电压钳记录锥体神经元自发兴奋性突触后电流(sEPSC), 记录 5min sEPSC 后给与 5 μ M QD202 或 QD202 N'-1, C'-1, C'-2, SS8 等合成肽 5min, 然后以 ACSF 灌流冲洗 10 min。以 Minianalysis 软件对所记录的数据进行分析。

结果发现, QD202、SS8 均可增加海马 CA1 神经元自发的兴奋性突触递质释放, 主要表现为增加兴奋性突触后电流的发放频率, 但对兴奋性突触后电流幅度没有影响 (参见图 8A,8B,8C); 并且, SS8 增强 sEPSC 频率的作用强于 QD202 (参见图 8J, 图 8K)。

与 QD202 影响兴奋性突触传递的作用相比较, 在 N 端去掉一个氨基酸即观察不到与 QD202 类似的作用效果 (参见图 8D,8E); 在 C 端去掉一个氨基酸仍可观察到与 QD202 类似的作用效果 (参见图 8F,8G); 在 C 端去掉两个氨基酸则观察不到与 QD202 类似的作用效果 (参见图 8H,8I)。

2.3 ATP6V1B2 调控剂对学习能力的改善作用

新物体识别测试

新物体识别参考 Leger, M., et al. Object recognition test in mice. Nat Protoc. 8, 2531-2537 (2013) 所记载的行为试验方案, 使用旷场箱 (40×40×35cm 由蓝色的不透明塑料制成。) 进行新物体识别测试。在第一天, 将小鼠放入旷场箱中适应 10min。在第二天, 将每只小鼠轻轻放在箱的中央, 在中央区域放置两个相似物体 (一号电池), 让其自由探索 10min, 然后将小鼠送回它们的饲养笼。3h 后, 将小鼠再次放回箱 (将一个电池更换为一个 10 厘米高的人偶玩具) 10 min 以进行记忆保持测试。用 Etho Vision XT 14 软件分析录像, 记录小鼠探索新/旧物体所用时间。辨别指数计算为 $(T_{\text{novel}} - T_{\text{familiar}}) / (T_{\text{novel}} + T_{\text{familiar}})$ 。

莫里斯水迷宫测试

莫里斯水迷宫参考 Qing-Feng Wu 等人于 Fibroblast growth factor 13 is a microtubule-stabilizing protein regulating neuronal polarization and migration. Cell. 149, 1549-1564 (2012) 所记载的试验方案。测试是在固定环境的房间中, 在装有水的圆形水池 (直径 120cm, 深度 30cm, 通过添加二氧化钛使其不透明, 保持在 $21 \pm 1^\circ\text{C}$) 中进行的。实验分为适应期 (1 天)、训练期 (5-6 天) 和测试期 (1 天)。适应期: 将平台置于水面上方 0.5 厘米处, 引导小鼠上平台。训练日: 将平台置于水下 0.5 厘米处, 训练小鼠找平台。当小鼠到达平台时停止计时, 若在 1 分钟内小鼠没有到达平台, 则引导上平台, 并使其停留在平台上 30s。每天训练 4 次, 每天训练 4 次 (8: 00-16: 00 间进行), 每次从不同的入水点放下小鼠, 每次训练间隔至少 30min, 共

训练 6 天，每天的入水点顺序不同。实验日：训练日结束的 24 小时之后进行实验。移除平台，小鼠从未训练过的入水点入水，录像 1 分钟。用 Etho Vision XT 14 软件分析录像，记录参数包括进入目标象限的逃避潜伏期、穿越平台的次数、在目标象限的停留时间。

2.3.1 口服多肽

选择 10 个月龄的 APP/PS1 转基因小鼠（购自南模生物），将这些小鼠等分为 3 组，分别向这些小鼠灌胃服用 PBS 缓冲液（组 2）、QD202（组 3，QD202 的给药剂量为 6.25mg/kg（其中 QD202 的浓度为 500 μ M））和美金刚（组 4，美金刚的给药剂量为 1.25mg/kg，其中美金刚的浓度为 1mM），没有灌胃服用任何试剂的 10 月龄 C57 BL/6 小鼠作为对照（组 1）。

将这四组小鼠进行上述的行为学试验。

结果发现，QD202 连续灌胃 1 周，APP/PS1 转基因 AD 小鼠在新物体识别（参见图 9）及水迷宫行为（参见图 10）检测中表现出明显的学习认知功能改善。

2.3.2 静脉注射多肽

选择 10 个月龄的 APP/PS1 转基因小鼠（购自南模生物），将这些小鼠等分为 2 组，分别向这些小鼠静脉注射 PBS 缓冲液（组 2）、QD202（组 3，QD202 的给药剂量为 1.25mg/kg，其中 QD202 的浓度为 500 μ M），没有静脉注射任何试剂的 10 月龄 C57 BL/6 小鼠作为对照（组 1）。

将这四组小鼠进行上述的行为学试验。

结果发现，QD202 连续静脉注射 1 周，APP/PS1 转基因 AD 小鼠在新物体识别（参见图 11）及水迷宫行为（参见图 12）检测中表现出明显的学习认知功能改善。

由此可见，QD202 对学习能力，尤其是记忆能力和认知能力有显著的改善作用。

实施例 3 DIR-Ki 小鼠 MCAO（Middle Cerebral Artery Occlusion）术后 DIR 的表达增加

（1）材料和方法：

在 DIR-Ki 小鼠左侧行 MCAO 手术，未做手术的 DIR-Ki 小鼠及手术组 DIR-Ki 小鼠进行心尖取血，并取其左右侧大脑皮层组织和海马组织，未做手术的 WT 小鼠亦取大脑皮层组织及海马组织，10 mg 组织加入 100 μ L 含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液，并放入一颗钢珠，在组织研磨仪中 60 Hz 研磨 1 分钟，4 $^{\circ}$ C 13,000 rpm 离心 10 分钟取上清，加入 4 $\times$ loading buffer 并在 100 $^{\circ}$ C 变性 5 分钟。心尖取血的血样置于抗凝剂 EDTA $\cdot$ 2Na 处理的离心管中，4 $^{\circ}$ C 1,200 $\times$ g 离心 10 分钟取上层血浆，加入 4 $\times$ loading buffer 并在 100 $^{\circ}$ C 变性 5 分钟，用 1 $\times$ loading buffer 稀释 10 倍。样品储存于 -20 $^{\circ}$ C。通过 western blot 的方法检测蛋白（Anti-DIR, GL Biochem 定

制; HIF1A, Sigma, SAB2702132; β -Tubulin, Sigma, T5293)。

(2) 实验结果:

通过组织及血清 western blot 实验可知 (图 13), DIR-Ki 小鼠的脑组织及海马组织 DIR 的表达量在 MCAO 模型小鼠手术侧显著增加, 在 MCAO 模型小鼠的手术对侧 DIR 表达量轻微增加, 而血浆中 DIR 的表达量在 MCAO 模型小鼠中显著增加。综上, MCAO 会增加脑组织和血浆中 DIR 的表达。

实施例 4 DIR 与 DIR 调控剂和/或 ATP6V1B2 调控剂的结合

本实施例说明, 本申请所述的 DIR 调控剂和/或本申请所述的 ATP6V1B2 调控剂可以与 DIR 结合。

(1) 材料和方法:

构建 DIR 表达质粒, 具体序列见表 1。在 HEK 293 中转染 Flag-His-DIR 表达质粒, 转染 48 小时后提取细胞蛋白。

表 2: 质粒序列

质粒名称	载体	CDS 序列
FH-DIR	pCMV-Flag-His	ATGGTTGCAACTGGCAGTTTGAGCAGCAA GAACCCGGCCAGCATTTCAGAATTGCTGG ACTGTGGCTATCACCCAGAGAGCCTGCTAA GTGGTGAGTGTCCCCGCTGTCCACCCTTCT CCCCTCCCAAGGTCGGTGCCTCTGGATCTA TTGGGTGGGCGGGCTTTCGACTTCCTCCCC TACCTCTATGTAGGAGGTGCCACAAAATCC ATCTGAGGAGACTCCTTTCCAAATTTCTA ACATCTTCTCTCCATAA

使用 Pierce RIPA 裂解液进行蛋白抽提, 加入 1000 μ L 含有蛋白酶抑制剂的 Pierce RIPA 裂解液, 用细胞刮刀将细胞收集转移至干净的 1.5 mL EP 管中, 4 $^{\circ}$ C 旋转混匀仪上混匀 1 小时后, 4 $^{\circ}$ C 13,000 rpm 离心 10 分钟去除细胞碎屑。将上清裂解液分为两份, 各 500 μ L, 其中一份加入 1 mM 浓度的 QD202-Biotin 多肽 10 μ L。两份各取 30 μ L 上清加入 10 μ L 4 $\times$ loading buffer, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 5 分钟后 -20 $^{\circ}$ C 冷冻保存; 其余 470 μ L 蛋白裂解液中加入 2 μ L 抗体 (Anti-Biotin, Vector, sp-3000) 放在 4 $^{\circ}$ C 旋转混匀仪上混旋过夜, 约 16-18 小时。取 30 μ L Protein G 琼脂糖珠 (Roche, 11243233001) 于 EP 管中, 用 Pierce RIPA 裂解液清洗三次, 将与抗体孵育过夜的蛋白加入琼脂糖珠中, 在 4 $^{\circ}$ C 混匀孵育 2 小时, 使抗体与蛋白充分结合。以 4000 rpm 的转速离心 1 分钟, 吸去上清, 并加入 600 μ L Pierce RIPA 裂解液, 轻柔翻转, 离心取上清, 重复上述步骤三次, 以清洗非特异性结合的蛋白。最后, 加入 35 μ L 1 $\times$ loading buffer, 混匀后 60 $^{\circ}$ C

加热 20 分钟, 使蛋白变性并储存于-20°C。通过 western blot 及 dotblot 的方法检测蛋白 (DYKDDDDK-Tag (3B9) mAb, Abmart, M20008; Anti-Biotin, Vector, sp-3000)。

(2) 实验结果:

通过免疫共沉淀的方法发现, QD202 可以与 DIR 蛋白结合 (图 14)。由此说明, 本申请所述的 ATP6V1B2 调控剂能够与 DIR 结合。例如, 具有本申请所述序列的 ATP6V1B2 调控剂能够与 DIR 结合。

实施例 5 本申请所述 DIR 调控剂和/或本申请所述的 ATP6V1B2 调控剂改善 DIR 转基因小鼠认知记忆减退

(1) 材料和方法:

纯和子 DIR-Ki 小鼠 30 只, 分为对照组 (HO+PBS)、QD202 1mg/kg (HO+QD202 1 mpk)、QD202 5mg/kg (HO+QD202 5 mpk) 三组, QD202 给药组连续静脉给药 7 天后, 开始新物体识别行为检测。

实验装置:

正方型 PVC 塑料箱 (体积为 25 厘米×25 厘米×30 厘米)、2 个相同的 1 号电池、1 个与电池等高的塑料玩具、实验观测箱、摄像头、录像软件

实验方法与步骤:

实验当天提前 30 分钟让小鼠适应实验房间。实验分为训练期和实验期。

训练期: 将 2 个相同的电池置于距离某一箱体壁 5 厘米处, 两电池间距 5 厘米。将小鼠置于场地中央, 自由探索 10 分钟。在训练期结束的 3~4 小时后进行实验期检测。

实验期: 用与电池大小和高度近似的玩具随机替代 1 个电池, 摆放位置与电池相同。将小鼠置于场地中央自由探索 10 分钟。实验结束后, 小鼠归笼。整个过程采用摄像头录像记录。实验间隔中采用 75% 的酒精清理实验装置。实验结束后, 由人工对录像中小鼠探索新旧物体的时间进行计数并计算新物体的时间识别指数。当小鼠的鼻尖距离物体 2 厘米范围内, 且小鼠嗅或触碰物体视为探索物体的行为, 啃咬或爬上物体不视作探索行为。小鼠对新物体的识别指数 = (探索新物体的时间 - 探索旧物体的时间) / (探索新物体的时间 + 探索旧物体的时间)。识别指数越大, 代表动物在探索新物体上的时间相对越长。小鼠探索总时间小于 15 秒的数据将被排除。实验操作者和录像统计者为双盲。

(2) 实验结果:

实验结果显示 QD202 1.0mg/kg 和 5.0mg/kg 静脉连续给药 7 天, 均可明显提高 DIR-Ki 小鼠的新物体识别指数 (见图 15)。由此说明, 本申请所述的 ATP6V1B2 调控剂能够作为 DIR 调

控制，例如，具有本申请所述序列的 ATP6V1B2 调控剂能够作为 DIR 调控剂，从而能够用于治疗与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。

实施例 6 本申请所述 DIR 调控剂和/或 ATP6V1B2 调控剂对大鼠 MCAO 术后功能及脑梗死范围的影响

本实施例说明，本申请所述 DIR 调控剂和/或 ATP6V1B2 调控剂通过静脉给药或口服给药，均可改善大鼠 MCAO 术后神经和行为学能力，例如可以改善大鼠 MCAO 术后的神经行为学评分，缩小脑梗死范围。大脑中动脉栓塞（Middle Cerebral Artery Occlusion, MCAO）是用于小鼠和大鼠的常用脑卒中模型。依达拉奉（Edaravone）是一种已广泛应用于急性缺血性脑卒中治疗的药物。本实施例说明，本申请所述 DIR 调控剂和/或 ATP6V1B2 调控剂具有对脑卒中的治疗效果，且效果优于依达拉奉。

实验方案：SD 大鼠（雄性，260-280 g）随机分组为 Sham+QD202 安慰剂组(n=6)，Model+QD202 安慰剂组(n=6)，阳性对照组 Edaravone-5 mpk (n=6)，QD202-1 mpk 组(n=6)，QD202-3 mpk 组(n=6)，QD202-5 mpk 组(n=6)，sham 组为假手术组，Model 组大鼠进行右侧大脑中动脉栓塞（Middle Cerebral Artery Occlusion, MCAO）造模，依达拉奉给药组在术前 3 天开始，每日一次给药，手术当天，术前 30min、术后 30min 和术后 60min 共给药 6 次，QD202 组在术后 30min 单次给药，在术后 24 小时，依据表 3 对其神经功能进行评分，然后取大鼠全脑组织，进行 TTC 染色，评估其梗死范围。

MCAO 造模具体流程如下：(1)将动物进行呼吸麻醉，颈部备皮，碘伏消毒；(2)动物仰卧位固定，暴露颈部；(3)用剪刀在颈部正中切口，进行钝性分离，暴露右侧颈总动脉、颈内动脉及颈外动脉，动脉夹夹闭颈总动脉，5-0 缝合线在颈外动脉近脑侧打死结，在颈外动脉靠近颈总分叉处打一活结；(4)动脉夹夹闭颈内动脉，用显微剪在颈外动脉两个打结中间剪断，将线栓从断口中插入进颈内动脉，并松开颈内动脉夹，向内插入大脑中动脉，直至线栓弯曲，拉紧颈总分叉处的活结，栓塞时间为 60 min；(5)栓塞结束后稍稍松开活结，拔出线栓后，立刻将颈外动脉活结扎死，松开颈总动脉夹缝合颈部伤口，碘伏消毒；(6)术后注射适量的葡萄糖溶液以保障动物的基本生存状态。

表 3 神经学功能评分表

测试项	行为表现	得分
一般行为	易怒/立毛	1
	静止/盯着	1
	癫痫发作/肌痉挛/震颤	1
	前肢屈曲	1
	后肢屈曲	1
	头部在 30 s 内偏离垂直轴>10°	1
	无法走直线	1
运动	一点转圈	2
	转圈(>50%)	3
	跌倒	4
	角膜反射消失	1
感官	耳廓反射消失	1
	惊跳反射消失	1
	紧抓平衡木边缘	1
本体感官 (在平衡木上)	紧抱平衡木，一侧肢体滑落	2
	紧抱平衡木，肢体从平衡木垂落或旋转(>60 s)	3
	试图在平衡木上平衡但跌落(5 s)	4
	无法平衡，直接跌落	5
总分		18
备注	1-6 分轻度损伤；7-12 分中度损伤；13-18 分重度损伤。	

神经行为学评分结果：结果如图 16 所示，与 Model+QD202 安慰剂组相比，Sham+QD202 安慰剂组神经行为学评分结果低于 Model+QD202 安慰剂组，统计学上具有极显著差异(p<0.001)。与 Model+QD202 安慰剂组相比，阳性对照组 Edaravone-5 mpk 组神经行为学评分结果低于 Model+QD202 安慰剂组，统计学上具有显著差异(p<0.01)，QD202-1 mpk 组神经行为学评分结果低于 Model+QD202 安慰剂组，统计学上具有差异性(p<0.05)，QD202-3 mpk 组和 QD202-5 mpk 组神经行为学评分结果均低于 Model+QD202 安慰剂组，统计学上具有极显著差异(p<0.001)。

TTC 染色结果：结果如图 17 所示，与 Model+QD202 安慰剂组相比，Sham+QD202 安慰剂组无梗死体积，统计学上具有极显著差异(p<0.001)；与 Model+QD202 安慰剂组相比，阳性对照组 Edaravone-5 mpk 组梗死体积低于 Model+QD202 安慰剂组，统计学上具有显著差异(p<0.01)，QD202-1 mpk 组梗死体积低于 Model+QD202 安慰剂组，统计学上具有差异性(p<0.05)，QD202-3 mpk 组和 QD202-5 mpk 组梗死体积均低于 Model+QD202 安慰剂组，统计学上具有极显著差异(p<0.001)。

实施例 7 本申请所述 DIR 调控剂和/或本申请所述 ATP6V1B2 调控剂在体外糖氧剥夺细胞模型中清除 ROS 的作用

本实施例说明，本申请所述 DIR 调控剂和/或本申请所述 ATP6V1B2 调控剂具有清除自由基、抗氧化作用，从而具有神经保护作用以及对脑卒中的治疗作用，且效果优于依达拉奉。

目前根据缺血性脑卒中的发生机制和疾病发生过程，应用最广泛的体外模型是神经细胞氧糖剥夺模型（Oxygen-Glucose Deprivation, OGD），主要模拟体内缺血性损伤的发生过程，通过对细胞进行无糖和去氧的处理，模拟脑组织因脑梗死导致的能量供应不足诱发的凋亡。

细胞培养：小鼠海马 HT22 细胞用 DMEM 和 10%血清在 5% CO₂ 培养箱中 37°C 培养。

糖氧剥夺（Oxygen-Glucose Deprivation, OGD）细胞模型：HT22 细胞以约 1×10^5 的密度接种到 96 孔板，用 DMEM 和 10%血清在 5% CO₂/95%空气的 37°C 培养箱中培养 24 小时。将 HT22 细胞置于无葡萄糖培养基后转移至含有 5% CO₂/95% N₂ 混合气的密闭器中，并将密闭器放置 37°C 培养箱保持 16 小时。随后将无葡萄糖培养基换成含有葡萄糖的正常培养基，并在含有 5% CO₂/95%空气的 37°C 培养箱中培养 24 小时，进行复氧。

实验分组：正常培养的 HT22 细胞作为对照组，经 OGD 处理的 HT22 细胞在正常培养基中复氧，并分别给予溶剂、QD202（0.1 μ M, 1 μ M, 5 μ M）以及 ROS 清除剂依达拉奉（200 μ M），经复氧 24 小时，进行 ROS 的定量检测。

ROS 的定量检测：使用碧云天活性氧检测试剂盒，利用荧光探针 DCFH-DA 进行活性氧检测，按照 1:1000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA，终浓度为 10 μ M，去除培养基并加入稀释好的 DCFH-DA，置于 37°C 细胞培养箱中孵育 20 分钟。用无血清细胞培养基洗涤细胞三次，充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。用荧光显微镜观察，然后利用 Image J 软件统计平均荧光强度。

数据分析：进行 3 次平行实验，以 OGD 加溶剂组的平均荧光强度作为标准值 100%，对各组细胞的荧光强度进行标准化处理，数值以平均值 $\pm$ 标准差显示，以 One-Way ANOVA 对各组数值进行非参数检验。

结果：与正常培养的 HT22 细胞相比，OGD 处理后，溶剂处理组 ROS 含量明显增多，而 QD202 1 μ M 和 5 μ M 均显著抑制 HT22 细胞 ROS 水平升高，抑制率分别为 60.63 $\pm$ 8.27% 和 70.09 $\pm$ 2.84%。0.1 μ M QD202 处理轻微抑制 ROS 的产生，抑制率为 17.55 $\pm$ 12.95%。另外阳性对照药物依达拉奉 200 μ M 也可以明显抑制 OGD 引起的 ROS 增多，抑制率为 63.79 $\pm$ 10.9%（见图 18 和图 19）。

权 利 要 求 书

1. 质子泵调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述质子泵调控剂调控 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段，所述疾病包括脑卒中。
2. DIR 调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述 DIR 调控剂调控 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段，其中所述疾病包括脑卒中。
3. 根据权利要求 1-2 中任一项所述的用途，其中所述脑卒中包括缺血性脑卒中和/或出血性脑卒中。
4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的用途，其中所述缺血性脑卒中包括脑梗。
5. 根据权利要求 4 所述的用途，其中所述脑梗包括腔隙性梗死、缺血性脑梗死和/或出血性梗死。
6. 根据权利要求 3-5 中任一项所述的用途，其中所述缺血性脑卒中由包括以下的因素导致：血栓、栓塞和/或低血压。
7. 根据权利要求 6 所述的用途，其中所述血栓由包括以下的因素导致：动脉粥样硬化、动脉瘤、血管畸形、动脉炎和/或血管痉挛。
8. 根据权利要求 3-7 中任一项所述的用途，其中所述缺血性脑卒中包括大动脉粥样硬化型、心源性栓塞型、小动脉闭塞型、其他明确病因型和/或不明原因型缺血性脑卒中。
9. 根据权利要求 3-8 中任一项所述的用途，其中所述出血性脑卒中包括脑实质出血、脑室出血和/或蛛网膜下腔出血。
10. 根据权利要求 3-9 中任一项所述的用途，其中所述出血性脑卒中包括原发性脑出血和/或继发性脑出血。
11. 根据权利要求 3-10 中任一项所述的用途，其中所述出血性脑卒中包括动脉瘤性蛛网膜下腔出血。
12. 根据权利要求 3-11 中任一项所述的用途，其中所述出血性脑卒中由包括以下的因素导致：血管畸形、动脉瘤、血液病、脑淀粉样血管病、脑底异常血管网、脑动脉炎、抗凝或溶栓治疗和/或瘤卒中。
13. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的用途，其中所述脑卒中包括脑卒中所引起的损害。
14. 根据权利要求 13 所述的用途，其中所述损害包括影像学所观察到的损害。
15. 根据权利要求 14 所述的用途，其中所述影像学所观察到的损害包括脑内血肿、脑室内出血和/或蛛网膜下腔出血。
16. 根据权利要求 14-15 中任一项所述的用途，其中所述影像学所观察到的损害包括水肿、血肿和/或占位效应。

17. 根据权利要求 14-16 中任一项所述的用途，其中所述影像学所观察到的损害包括致密动脉征、岛带征、豆状核轮廓模糊或密度减低、脑穿支小动脉闭塞、水肿和/或占位。
18. 根据权利要求 13 所述的用途，其中所述损害包括学习能力的损害，所述学习能力包括认知能力、运动能力、记忆能力和/或空间探索能力。
19. 根据权利要求 18 所述的用途，其中所述学习能力通过实施选自下组的试验衡量：新物体认知试验和水迷宫试验。
20. 根据权利要求 19 所述的用途，其中所述新物体认知试验评价所述认知能力、运动能力和/或空间探索能力。
21. 根据权利要求 19 所述的用途，其中所述水迷宫试验评价所述记忆能力、运动能力和/或空间探索能力。
22. 根据权利要求 1-21 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段来源于哺乳动物。
23. 根据权利要求 1-22 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 或其功能活性片段来源于人或小鼠。
24. 根据权利要求 1-23 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 包含 SEQ ID NO: 8 或 16 所示的氨基酸序列。
25. 根据权利要求 1-24 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。
26. 根据权利要求 1-25 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。
27. 根据权利要求 1-26 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含人 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。
28. 根据权利要求 1-27 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含小鼠 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。
29. 根据权利要求 1-28 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含 SEQ ID NO: 10-11 中任一项所示的氨基酸序列。
30. 根据权利要求 1-29 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 包含由 SEQ ID NO: 9 或 17 所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。
31. 根据权利要求 1-30 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够调控质子泵活性和/或功能。
32. 根据权利要求 1-31 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中质子泵

相关蛋白的表达水平和/或活性提高。

33. 根据权利要求 1-32 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够调控所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性。
34. 根据权利要求 1-33 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高，其中所述提高包括与所述受试者中原始的所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性相比，所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高至少约 10%。
35. 根据权利要求 31-34 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的表达水平包括 ATP6V1B2 基因的表达水平、ATP6V1B2 基因的转录水平和/或 ATP6V1B2 蛋白的表达水平。
36. 根据权利要求 1-35 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够增加神经元突触递质释放，所述增加包括与所述受试者中原始神经元突触递质释放的水平相比，增加至少约 10%。
37. 根据权利要求 1-36 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂增加兴奋性突触后电流的发放频率，所述增加包括与所述受试者中原始兴奋性突触后电流的发放频率的水平相比，增加至少约 10%。
38. 根据权利要求 1-37 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 调控剂使受试者中，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低。
39. 根据权利要求 38 所述的用途，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性相比，所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低至少约 10%。
40. 根据权利要求 38-39 中任一项所述的用途，其中所述表达水平包括编码所述 DIR/或其功能片段的基因的表达水平、编码所述 DIR/或其功能片段的基因的转录水平和/或所述 DIR/或其功能片段的表达水平。
41. 根据权利要求 1-40 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 的功能片段保留所述 DIR 的至少部分的生物学活性。
42. 根据权利要求 41 所述的用途，其中所述生物学活性包括影响神经元的兴奋性和/或抑制神经元的活性。
43. 根据权利要求 41-42 中任一项所述的用途，其中所述生物学活性包括能够降低兴奋性突触后电流（EPSC）的频率，和/或能够降低 EPSC 的幅度。
44. 根据权利要求 43 所述的用途，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或

其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，使受试者中的兴奋性突触后电流（EPSC）的频率降低，和/或使受试者中的 EPSC 的幅度降低。

45. 根据权利要求 41-44 中任一项所述的用途，其中所述生物学活性包括影响认知能力。
46. 根据权利要求 41-45 中任一项所述的用途，其中所述生物学活性包括参与与 A β 沉积相关的信号通路，和/或，参与与 Tau 缠结产生相关的信号通路。
47. 根据权利要求 41-46 中任一项所述的用途，其中所述生物学活性包括通过 gelsolin 诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。
48. 根据权利要求 47 所述的用途，其中所述 DIR/或其功能片段通过与 gelsolin 结合诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。
49. 根据权利要求 1-48 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平与 A β 的表达水平正相关。
50. 根据权利要求 38-49 中任一项所述的用途，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，使受试者的认知能力降低。
51. 根据权利要求 1-50 中任一项所述的用途，其中所述 DIR/或其功能片段来源于哺乳动物。
52. 根据权利要求 1-51 中任一项所述的用途，其中所述 DIR/或其功能片段来源于灵长类动物。
53. 根据权利要求 1-52 中任一项所述的用途，其中所述 DIR/或其功能片段来源于人。
54. 根据权利要求 1-53 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 包含 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列。
55. 根据权利要求 1-54 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 的功能片段包含 *DDIT4L* 中滞留的内含子所编码的氨基酸序列。
56. 根据权利要求 1-55 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 的功能片段包含 SEQ ID NO: 59-60 中任一项所示的氨基酸序列。
57. 根据权利要求 1-56 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包括蛋白质和/或多肽。
58. 根据权利要求 57 中所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 33 中所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。
59. 根据权利要求 1-58 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 30-32 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。

60. 根据权利要求 1-59 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 27-29 任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。
61. 根据权利要求 1-60 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含 SEQ ID NO: 19-26 中所示的氨基酸序列和/或其变体。
62. 根据权利要求 1-61 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包括多聚体。
63. 根据权利要求 62 所述的用途，其中所述多聚体包括同二聚体。
64. 根据权利要求 1-63 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂的氨基酸序列中的半胱氨酸不具有巯基封闭的修饰。
65. 根据权利要求 1-64 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂的氨基酸序列中的丝氨酸不具有磷酸化的修饰。
66. 根据权利要求 1-65 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包括融合蛋白和/或融合多肽。
67. 根据权利要求 66 所述的用途，其中所述融合蛋白和/或融合多肽包含能够跨血脑屏障运输至脑的分子。
68. 根据权利要求 67 所述的用途，其中所述能够跨越血脑屏障运输至脑的分子包含多肽。
69. 根据权利要求 67-68 中任一项所述的用途，其中所述能够跨血脑屏障运输至脑的分子包含穿膜肽。
70. 根据权利要求 69 所述的用途，其中所述穿膜肽包含如 SEQ ID NO: 34 所述的氨基酸序列。
71. 根据权利要求 1-70 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 48 中所示的氨基酸序列，其中 X 为任意氨基酸。
72. 根据权利要求 1-71 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 45-47 中任一项所示的氨基酸序列，其中 X 为任意氨基酸。
73. 根据权利要求 1-72 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 42-44 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。
74. 根据权利要求 1-73 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂和/或所述 DIR 调控剂包含如 SEQ ID NO: 35-41 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体。
75. 根据权利要求 1-74 中任一项所述的用途，其中所述受试者包括哺乳动物。
76. 根据权利要求 1-75 中任一项所述的用途，其中所述受试者包括人。

77. 根据权利要求 1-76 中任一项所述的用途，其中所述试剂被配制为适于口服施用和/或注射施用。
78. 质子泵调控剂在制备用于预防和/或治疗疾病的试剂中的用途，其中所述质子泵调控剂调控 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段，其中所述疾病包括与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病。
79. 根据权利要求 78 中所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 和/或其功能活性片段来源于哺乳动物。
80. 根据权利要求 78-79 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 或其功能活性片段来源于人或小鼠。
81. 根据权利要求 78-80 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 包含 SEQ ID NO: 8 或 16 所示的氨基酸序列。
82. 根据权利要求 78-81 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。
83. 根据权利要求 78-82 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段具有与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列特异性结合的能力。
84. 根据权利要求 78-83 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含人 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。
85. 根据权利要求 78-84 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含小鼠 ATP6V1B2 蛋白的第 288 位至第 512 位氨基酸序列中的至少部分序列。
86. 根据权利要求 78-85 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 的功能活性片段包含 SEQ ID NO: 10-11 中任一项所示的氨基酸序列。
87. 根据权利要求 78-86 中任一项所述的用途，其中所述 ATP6V1B2 包含由 SEQ ID NO: 9 或 17 所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。
88. 根据权利要求 78-87 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够调控质子泵活性和/或功能。
89. 根据权利要求 78-88 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中质子泵相关蛋白的表达水平和/或活性提高。
90. 根据权利要求 78-89 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够调控所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性。
91. 根据权利要求 78-90 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂能够使受试者中 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高，其中所述提高包括与所述受试者中原始的所述

ATP6V1B2 的表达水平和/或活性相比, 所述 ATP6V1B2 的表达水平和/或活性提高至少约 10%。

92. 根据权利要求 78-91 中任一项所述的用途, 其中所述 ATP6V1B2 的表达水平包括 ATP6V1B2 基因的表达水平、ATP6V1B2 基因的转录水平和/或 ATP6V1B2 蛋白的表达水平。
93. 根据权利要求 78-92 中任一项所述的用途, 其中所述质子泵调控剂能够增加神经元突触递质释放, 所述增加包括与所述受试者中原始神经元突触递质释放的水平相比, 增加至少约 10%。
94. 根据权利要求 78-93 中任一项所述的用途, 其中所述质子泵调控剂增加兴奋性突触后电流的发放频率, 所述增加包括与所述受试者中原始兴奋性突触后电流的发放频率的水平相比, 增加至少约 10%。
95. 根据权利要求 78-94 中任一项所述的用途, 其中所述质子泵调控剂使受试者中, 所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低。
96. 根据权利要求 95 所述的用途, 其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性相比, 所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平和/或生物学活性降低至少约 10%。
97. 根据权利要求 95-96 中任一项所述的用途, 其中所述表达水平包括编码所述 DIR/或其功能片段的基因的表达水平、编码所述 DIR/或其功能片段的基因的转录水平和/或所述 DIR/或其功能片段的表达水平。
98. 根据权利要求 95-97 中任一项所述的用途, 其中所述 DIR 的功能片段保留所述 DIR 的至少部分的生物学活性。
99. 根据权利要求 98 所述的用途, 其中所述生物学活性包括影响神经元的兴奋性和/或抑制神经元的活性。
100. 根据权利要求 98-99 中任一项所述的用途, 其中所述生物学活性包括能够降低兴奋性突触后电流 (EPSC) 的频率, 和/或能够降低 EPSC 的幅度。
101. 根据权利要求 100 所述的用途, 其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比, 施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸, 使受试者中的兴奋性突触后电流 (EPSC) 的频率降低, 和/或使受试者中的 EPSC 的幅度降低。
102. 根据权利要求 95-101 中任一项所述的用途, 其中所述生物学活性包括影响认知能力。
103. 根据权利要求 95-102 中任一项所述的用途, 其中所述生物学活性包括参与与 A β 沉积相

关的信号通路，和/或，参与与 Tau 缠结产生相关的信号通路。

104. 根据权利要求 95-103 中任一项所述的用途，其中所述生物学活性包括通过 gelsolin 诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。
105. 根据权利要求 104 的用途，其中所述 DIR/或其功能片段通过与 gelsolin 结合诱导 A β 沉积和/或淀粉样斑块形成。
106. 根据权利要求 95-105 用途，其中所述 DIR 和/或其功能片段的表达水平与 A β 的表达水平正相关。
107. 根据权利要求 95-106 任一项所述的用途，其中所述降低包括与所述受试者中原始的所述 DIR 和/或其功能片段的生物学活性相比，施用所述 DIR 和/或其功能片段和/或编码所述 DIR 和/或其功能片段的核酸，使受试者的认知能力降低。
108. 根据权利要求 78-107 中任一项所述的用途，其中所述 DIR/或其功能片段来源于哺乳动物。
109. 根据权利要求 78-108 中任一项所述的用途，其中所述 DIR/或其功能片段来源于灵长类动物。
110. 根据权利要求 78-109 中任一项所述的用途，其中所述 DIR/或其功能片段来源于人。
111. 根据权利要求 78-110 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 包含 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列。
112. 根据权利要求 78-111 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 的功能片段包含 *DDIT4L* 中滞留的内含子所编码的氨基酸序列。
113. 根据权利要求 78-112 中任一项所述的用途，其中所述 DIR 的功能片段包含 SEQ ID NO: 59-60 中任一项所示的氨基酸序列。
114. 根据权利要求 78-113 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包括蛋白质和/或多肽。
115. 根据权利要求 114 中所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 33 中所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。
116. 根据权利要求 78-115 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 30-32 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。
117. 根据权利要求 78-116 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 27-29 任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。
118. 根据权利要求 78-117 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含 SEQ ID NO: 19-26 中所示的氨基酸序列和/或其变体。
119. 根据权利要求 78-118 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包括多聚体。

120. 根据权利要求 119 所述的用途，其中所述多聚体包括同二聚体。
121. 根据权利要求 78-120 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂的氨基酸序列中的半胱氨酸不具有巯基封闭的修饰。
122. 根据权利要求 78-121 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂的氨基酸序列中的丝氨酸不具有磷酸化的修饰。
123. 根据权利要求 78-122 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包括融合蛋白和/或融合多肽。
124. 根据权利要求 123 所述的用途，其中所述融合蛋白和/或融合多肽包含能够跨血脑屏障运输至脑的分子。
125. 根据权利要求 124 所述的用途，其中所述能够跨越血脑屏障运输至脑的分子包含多肽。
126. 根据权利要求 124-125 中任一项所述的用途，其中所述能够跨血脑屏障运输至脑的分子包含穿膜肽。
127. 根据权利要求 126 所述的用途，其中所述穿膜肽包含如 SEQ ID NO: 34 所述的氨基酸序列。
128. 根据权利要求 78-127 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 48 中所示的氨基酸序列，其中 X 为任意氨基酸。
129. 根据权利要求 78-128 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 45-47 中任一项所示的氨基酸序列，其中 X 为任意氨基酸。
130. 根据权利要求 78-129 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 42-44 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体，其中 X 为任意氨基酸。
131. 根据权利要求 78-130 中任一项所述的用途，其中所述质子泵调控剂包含如 SEQ ID NO: 35-41 中任一项所示的氨基酸序列和/或其变体。
132. 根据权利要求 78-131 中任一项所述的用途，其中所述受试者包括哺乳动物。
133. 根据权利要求 78-132 中任一项所述的用途，其中所述受试者包括人。
134. 根据权利要求 78-133 中任一项所述的用途，其中所述试剂被配制为适于口服施用和/或注射施用。
135. 根据权利要求 78-134 中任一项所述的用途，其中所述与 DNA 损伤诱导性转录物 4 样转录物的内含子滞留剪切产物 DIR 和/或其功能片段相关的疾病包括认知障碍、神经退行性疾病和/或脑卒中。
136. 根据权利要求 135 中所述的用途，其中所述认知障碍包括正常衰老引起的认知障碍、

路易体痴呆 (LBD)、额颞叶痴呆和/或血管性痴呆。

137. 根据权利要求 135-136 中任一项所述的用途，其中所述认知障碍的诱导疾病包括阿尔兹海默症、多发性梗死型、帕金森氏症、艾滋病和/或克雅氏病 (CJD)。
138. 根据权利要求 135-137 中任一项所述的用途，其中所述认知障碍包括早期认知障碍 (MCI)、中期认知障碍和晚期认知障碍。
139. 根据权利要求 135-138 中任一项所述的用途，其中所述认知障碍包括遗忘型 MCI 多认知域受损 (aMCI-m)。
140. 根据权利要求 135-139 中任一项所述的用途，其中所述神经退行性疾病包括急性神经退行性疾病和慢性神经退行性疾病。
141. 根据权利要求 135-140 中任一项所述的用途，其中所述神经退行性疾病包括由神经元死亡和胶质细胞稳态引起的神经退行性疾病、由衰老引起的神经退行性疾病、由 CNS 细胞功能被影响引起的神经退行性疾病、由细胞间异常通信引起的神经退行性疾病和/或由细胞运动受损引起的神经退行性疾病。
142. 根据权利要求 135-140 中任一项所述的用途，其中所述神经退行性疾病包括阿尔兹海默症、帕金森氏症、多发性硬化 (MS)、肌萎缩性脊髓侧索硬化症 (ALS) 和/或亨廷顿病 (HD)。
143. 根据权利要求 135-142 中任一项所述的用途，其中所述神经退行性疾病包括早老性痴呆。
144. 根据权利要求 135-143 中任一项所述的用途，其中所述神经退行性疾病包括早老性痴呆早期、早老性痴呆中期和/或早老性痴呆晚期。
145. 根据权利要求 135-144 中任一项所述的用途，其中所述脑卒中包括缺血性脑卒中和/或出血性脑卒中。
146. 根据权利要求 145 所述的用途，其中所述缺血性脑卒中包括脑梗。
147. 根据权利要求 146 所述的用途，其中所述脑梗包括腔隙性梗死、缺血性脑梗死和/或出血性梗死。
148. 根据权利要求 145-147 中任一项所述的用途，其中所述缺血性脑卒中由包括以下的因素导致：血栓、栓塞和/或低血压。
149. 根据权利要求 148 所述的用途，其中所述血栓由包括以下的因素导致：动脉粥样硬化、动脉瘤、血管畸形、动脉炎和/或血管痉挛。
150. 权利要求 145-149 中任一项所述的用途，其中所述缺血性脑卒中包括大动脉粥样硬化型、心源性栓塞型、小动脉闭塞型、其他明确病因型和/或不明原因型缺血性脑卒中。

151. 根据权利要求 145-151 中任一项所述的用途,其中所述出血性脑卒中包括脑实质出血、脑室出血和/或蛛网膜下腔出血。
152. 根据权利要求 145-151 中任一项所述的用途,其中所述出血性脑卒中包括原发性脑出血和/或继发性脑出血。
153. 根据权利要求 145-152 中任一项所述的用途,其中所述出血性脑卒中包括动脉瘤性蛛网膜下腔出血。
154. 根据权利要求 145-153 中任一项所述的用途,其中所述出血性脑卒中由包括以下的因素导致:血管畸形、动脉瘤、血液病、脑淀粉样血管病、脑底异常血管网、脑动脉炎、抗凝或溶栓治疗和/或瘤卒中。
155. 根据权利要求 135-154 中任一项所述的用途,其中所述脑卒中包括脑卒中所引起的损害。
156. 根据权利要求 155 所述的用途,其中所述损害包括影像学所观察到的损害。
157. 根据权利要求 156 所述的用途,其中所述影像学所观察到的损害包括脑内血肿、脑室内出血和/或蛛网膜下腔出血。
158. 根据权利要求 156-157 中任一项所述的用途,其中所述影像学所观察到的损害包括水肿、血肿和/或占位效应。
159. 根据权利要求 156-158 中任一项所述的用途,其中所述影像学所观察到的损害包括致密动脉征、岛带征、豆状核轮廓模糊或密度减低、脑穿支小动脉闭塞、水肿和/或占位。
160. 根据权利要求 156 所述的用途,其中所述损害包括学习能力的损害,所述学习能力包括认知能力、运动能力、记忆能力和/或空间探索能力。
161. 根据权利要求 160 所述的用途,其中所述学习能力通过实施选自下组的试验衡量:新物体认知试验和水迷宫试验。
162. 根据权利要求 161 所述的用途,其中所述新物体认知试验评价所述认知能力、运动能力和/或空间探索能力。
163. 根据权利要求 161-162 中任一项所述的用途,其中所述水迷宫试验评价所述记忆能力、运动能力和/或空间探索能力。