

マッチング申請-モデル生物研究者

申請日：20XX年X月XX日

氏名	IRUD Beyond
所属	AMED 大学 IRUD 部門 Beyond 研究室
Email	irud@beyond.jp
モデル生物名	ゼブラフィッシュ
研究対象の遺伝子名 もしくはパスウェイ	Jrdmm A

代表論文もしくは関連論文
1. Irud et al., Nature 20XX
2. Irud et al., Cell 20XX
3. Amed et al., Cell Reports 20XX (関連論文でも可)
4.

研究計画			
<p>Jrdmm A は、転写調節に関わる Ser/Thr キナーゼである Jrdmm B のパラログであり、Jrdmm B と同様の分子活性をもつと考えられている。ゼブラフィッシュには Jrdmm A 遺伝子が一つ存在し、右図に示すようにその構造は高度に保存されている。患者で変異が起きている P111 残基は kinase domain の activation-loop に位置し、ゼブラフィッシュ Jrdmm A においても保存されている。しかし、この P111 残基は Jrdmm A とパラログの Jrdmm B では保存されているが、他のサブタイプの Jrdmm C/D/E では Leu 残基となっている。つまり、Jrdmm のサブタイプ特有のアミノ酸であり、この変異により Jrdmm19 は Jrdmm C/D/E 寄りの性質を獲得している可能性がある。</p> <p>ゼブラフィッシュでの発現パターンは現時点で不明であるが、患者の症状から中枢神経系を含む多様な組織においてその形態形成期から発現するであろうと推測される。</p>	human	mdydfkaklaaerervedlfeyegckvgrgtyghvykarrkdgkdekeyalkiegtgis	60
	zebrafish	MDYDFKTKLAERERVEDLFYEGCKVGRGTYGHVYKAKRKDGKDEKEYALKQIEGTGIS	60
	human	msacreiallrelkhpvnialqkvflshsdrkvllfdyaehdlwhiikfhrskankkp	120
	zebrafish	MSACREIALLRELKHPVNIALQKVFLSHSDRKVLLFDYAEHDLWHIIFHRASKANKKP	120
	human	mq1prsmvksllyqildgihylhanwvlhrdlkpanilvmgeggergrvkiadmgarlf	180
	zebrafish	MQLPRGMVKSLLYQILDGIHYLHANWVLRDLKPANILVMGEGPERGRVKIADMGARLF	180
	human	nsp1kpladldpvtvfwyrapelllgarhytkaidiwaigcifaelltsepihferged	240
	zebrafish	NSPLKPLADLDPVVTVFWYRAPELLGARHYTKAIDIWAIGCIFAELTSEPIHFERGED	240
	human	iktsnfpfhhdqldrifsvmgfpadkdwedirkmpeyptlqkdfrrttyansslikymekh	300
	zebrafish	IKTSNPFPHHDQLDRIFSVMGFPADKDWEDIRKMPYPTLQKDFRRTTYANSSLIKYMEKH	300
human	kvkpdskvfl1lqk1l1tmdptkritisseqalqdpfygedpltdvfagcqiypkrefln	360	
zebrafish	KVKPDSKVFL1LQK1L1TMDPTKRITSEQALQDPFYGEDPLTDVDFAGCQIYPKREFLN	360	
human	eddpeekgdknqqqqnqhqqptappqaaappqppppqstqngtaggagagvggtg	420	
zebrafish	EDEPEEKAENQTOHQQTAAQ-----TQTQTQQAAPTQSSAQTNGTSGTAGANTG---	411	
human	ag1qhsqdslnqvpnnkprlgpsgansggpmpsdvqhsrslrnyqssvqgssqsgst	480	
zebrafish	PSMQHGQ----DQGPPNKKTRT-----SGTGVHQTDYQHSRSLRNYQSSVQGSSQSGST	461	
human	lgyssssqgssqyhpshqahry	502	
zebrafish	MGYSSSQSHQ-----SHRY	477	

研究計画（続き）

研究計画)

(1) Jrdmm A P111L 変異の Jrdmm A kinase 活性への影響の確認： Jrdmm P111L 変異は kinase domain の activation-loop における変異であることから、Jrdmm A kinase 活性に異常をもたらす変異であると推察される。そこで、ゼブラフィッシュ遺伝子機能改変実験を行う前に、Jrdmm A P111L 変異の kinase 活性に対する影響を確認する。具体的には、Jrdmm A P111L 変異体と野生型 Jrdmm A の発現プラスミドを作製し、培養細胞を用いて変異体と野生型の kinase 活性を比較し、P111L 変異が kinase 活性を低下させる変異か、あるいは上昇させる変異かを確認する。

(2) Jrdmm A 機能改変ゼブラフィッシュの作製： Crispr/Cas9 システムを用いてゼブラフィッシュ Jrdmm A 遺伝子に変異を導入する。第一目標としては P111 残基の L への置換を目指す。周辺配列によっては困難である可能性がある。この場合は、上述の(1)の結果に従い、以下のような2通りのアプローチを行う。まず、P111L 変異が kinase 活性を低下させる変異であった場合は、Jrdmm A の kinase 活性を低下させるゲノム編集を Crispr/Cas9 システムを用いて行う。あるいは、モルフォリノアンチセンスオリゴを用いた解析を行う。一方で、まず、P111L 変異が kinase 活性を上昇させる変異であった場合は、Jrdmm A P111L 変異を野生型ゼブラフィッシュに過剰発現する。

(3) Jrdmm A 機能改変ゼブラフィッシュの解析： Jrdmm A P111L 変異の患者は成長障害、運動機能障害、小精巣などの症状を示す。機能改変ゼブラフィッシュ成魚においてこれらに相関する異常が認められるか、解析する。また、小精巣などの症状から患者では性決定異常が起きている可能性も予測され、関連して Jrdmm A が Androgen Receptor (AR) の活性を正に制御するという報告

([http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19\\_Supplement/616](http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19_Supplement/616)) もあるため、AR 活性や生殖器官の発生に特に注目して解析する。

承認日： 年 月 日

IRUD 研究者氏名 \_\_\_\_\_

マッチング委員会委員長 \_\_\_\_\_