

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., Nature20XX
2. Irud et al., Cell 20XX
3. Amedet al., Cell Reports 20XX (関連論文でも可)

これまで **J-RDMM** モデル生物プロジェクトにおいてマッチング採択されたことのある方は以下をお答えください。

採択遺伝子	
IRUD 拠点へのフィードバック (頻度、方法など)	
研究結果について (論文など)	

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。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</p>

研究計画 (続き)			
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。	Human	mdydfkaklaaerervedlfeyegckvgrgtyghvykarrkdgkdekeyalkiegtgis	60
	Zebrafish	MDYDFKTKLAAERERVELFEYEGCKVGRGTYGHVYKARRKDKGDEKEYALKQIEGTGIS	60
(1) Jrdmm AP111L 変異の Jrdmm Akinase 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 Akinase 活性に異常をもたらす変異であると推察される。	Human	msacreiallrelkhpvnialqkvflshsdrkvwllfdyaehdlwhiikfhraskankkp	120
	Zebrafish	MSACREIALLRELKHPVNIALQKVFLSHSDRKVWLLFDYAEHDLWHI IKFHRASKANKKP	120
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 AP111L 変異の kinase 活性に対する影響を確認する。具体的には、Jrdmm AP111L 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。	Human	mqlprsmvksllyqildgihylanwvlhrdlkpanilvmgegepergrvkiadmgarlf	180
	Zebrafish	MQLPRGMVKSLLYQILDGIHYLANWVLRDLK PANILVMGEGEPERGRVKTADMGARLF	180
(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 AP111L 変異を野生型ゼブラフィッシュに過剰発現する。	Human	nsplkpladldpvvvtfwyrapelllgarhytkaidiwaigcifaelltsepfhcrqed	240
	Zebrafish	NSPLKPLADLDPVVVTFWYRAPELLLGARHYTKAIDIWAIGCIFAELTSEPFHCRQED	240
(3) Jrdmm A 機能改変ゼブラフィッシュの解析: Jrdmm AP111L 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 ( <a href="http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19_Supplement/616">http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19_Supplement/616</a> ) 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。	Human	iktsnpfhhdqldrifsvmgfpadkdwedirkmpeyptlqkdfrtrtyansslikymekh	300
	Zebrafish	IKTSNPFHHDQLDRIFSVMGFPADKDWEDIRKMP EYPTLQKDFRTRTYANSSLIKYMEKH	300
	Human	kvkpsdkvfl1lqklltmdptkritseqalqdpfyfedpltdvfdagcqpypkrefln	360
	Zebrafish	KVKPDSKVFLLQKLLTMDPTKRITSEQALQDPYFLEDPLTSDVFDAGCQIPYKREFLN	360
	Human	eddeekgdknqqqqnqhqqptappqaaappqppqqnqtngtaggagagvggtg	420
	Zebrafish	EDEPEEKAENQTTQHQQTAAQ-----TQTQQTQAPTQSSAQTNGTSGTAGANTG---	411
	Human	ag1qhsqdslnvppnkpr1gpgsgansgpgvmsdyqhsrslnyqssvqgssqsqt	480
	Zebrafish	PSMQHGQ---DQPPNKKTRT-----SGTG VHQTDYQHSSRLGYSNIQGSTQSQST	461
	Human	lgyssssqssqyhpshqhry	502
	Zebrafish	MGYSSSSQSHSQ-----SHRY	477

承認日: 年 月 日

マッチング委員会委員長 \_\_\_\_\_