

研究題目

膵β細胞特異的 *Arfgef3* ノックアウトマウスの作製およびその機能解析

研究組織

研究代表者：佐藤 叔史（熊本大学大学院生命科学研究部）

共同研究者：竹本 龍也（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：今見 考志（京都大学 薬学研究科）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

低酸素は膵β細胞の機能低下を引き起こすがこの時低酸素で活性化される AMPK シグナルが重要な役割を担っていることを明らかにした (Sato Y. *JBC* 2017)。しかしながら AMPK の下流の分子機序は不明である。そこで低酸素暴露細胞を用いてリン酸化プロテオーム解析を実施し、AMPK 標的分子を網羅的に探索した結果、低酸素により強くリン酸化される ARFGEF3 (Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 3 : BIG 3) を同定した。ARFGEF3 はトランスゴルジネットワーク (TGN) に存在する膜蛋白であり、膵β細胞においてはインスリン顆粒形成に関与することが報告されているが、低酸素ストレス環境や糖尿病の進展における ARFGEF3 の機能については不明である。

本研究では、膵β細胞特異的 *Arfgef3* ノックアウトマウスを作製するために *Arfgef3* flox マウスを作製し、糖尿病の発症進展における β 細胞 ARFGEF3 の役割を *in vivo* で検討する。

[1-2] 研究の方法・経過

マウス *Arfgef3* は、全長 6513 bp、34 個のエキソンから構成されている約 240 kDa の高分子蛋白である。ARFGEF ファミリーは、不活性な GDP 結合型から活性な GTP 結合型へと変換し、様々なエフェクタータンパク質と結合し細胞内小胞輸送

を調節することが知られている。この GDP/GTP 交換反応の触媒には Sec7 ドメインが必要である。このドメインはマウス *Arfgef3* においてはエクソン 12 に存在しており、エクソン 12 を挟む形でイントロン部分に LoxP 配列を一つずつ挿入し flox マウスを作成する。

昨年度の段階で 1 つ目の LoxP 配列をノックインできたことを確認しており、現在 2 つ目の LoxP 配列の挿入段階である。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

上述のように、*Arfgef3* flox マウスが作製段階にあり、目的となる膵β細胞特異的 *Arfgef3* ノックアウトマウスは得られていない。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

全身性 *Arfgef3* ノックアウトマウスを用いた検討結果は論文上認められるが組織特異的に ARFGEF3 機能をノックアウトしたマウスの解析は認められない。本研究で作成された *Arfgef3* flox マウスは我々が行おうとしている膵β細胞における機能解析のみならず今後様々な臓器における ARFGEF3 の機能解析に有用であると考えられる。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表
なし

[3-2]学会発表
なし

[3-3]成果資料等
なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

次年度は2つ目の LoxP 配列の挿入および flox アリルが次世代に遺伝することを確認し *Arfgef3* flox マウスの個体完成を目指す。また膵β細胞特異的にノックアウトするために膵β細胞特異的 Cre 発現マウス (Pdx-1-Cre、Ins-Cre、MIP-CreERT マウス) との交配を行う。