

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

低酸素はインスリン産生細胞である膵β細胞の増殖能の低下やインスリン分泌の低下を引き起こすが、この時我々は低酸素によって活性化される 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 の下流の分子機構は不明であった。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一方で低酸素ストレス環境や糖尿病の進展における ARFGEF3 の機能については全く不明である。

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

[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* においてはエキソン 12 に存在しており、エキソン 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。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

本年度は、2 つ目の LoxP 配列をノックインし flox マウスの作製が完了した。昨年 8 月に熊本大学の動物施設 CARD に凍結胚を移送し、個体作成を行った。雄雌合計 13 匹の個体が得られており、現在マウスの繁殖および組織特異的 Cre 発現マウスとの交配の準備を行っている。

上述のように、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ため、表現型解析についてはまだである。

[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

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) との交配を最優先に考えており、ARFGEF3 のノックアウトが確認でき次第、マウスの糖代謝および表現型の解析に着手したいと考えている。