

P53 ・泉 裕士<sup>1,2</sup>、古屋亜佐子<sup>1,2</sup>、太田奈緒<sup>1,2</sup>、松崎文雄<sup>1,2,3</sup> (1 東北大・加齢研・神経機能情報、2 CREST・JST、3 理研・発生再生センター)

ショウジョウバエ神経幹細胞の非対称分裂異常突然変異のスクリーニング

”非対称分裂”は細胞の多様性を作り出す基本的なプロセスであり、ショウジョウバエの神経幹細胞はそのモデルシステムとして先端的な知見を提供している。我々は神経幹細胞の非対称分裂の分子機構を明らかにする目的で、突然変異誘起剤(EMS)による非対称分裂異常突然変異のスクリーニングを行っている。第二染色体へ点変異を導入し、非対称分配因子 Miranda の局在を指標にスクリーニングした所、inscuteable, lgl など既知の変異と共にいくつかの新しい変異が同定でき、このスクリーニング法が有効である事が示唆された。現在までの経過を報告する。

P54 ・芳賀和子<sup>1</sup>、芳賀達也<sup>1,2</sup>、中迫雅由<sup>3</sup> (1 CREST・JST、2 学習院・理・生命研、3 東大・分生研)

ムスカリン受容体結晶化の試み

ムスカリン受容体 M2 サブタイプの変異体を、バキュロウイルス・Sf9 発現系を用いて、1月に約 201 培養して約 20 mg の受容体を発現させている。ジギトニンを用いて可溶化後、ABT-Agarose・Ni カラム精製系を用いて、1月に約 10 mg の精製受容体を恒常的に調製している。精製後、高親和性リガンド QNB を結合させ、各種界面活性剤(主にアルキルグリコシド)に交換し、各種条件(主に硫酸またはポリエチレングリコールを使用)で結晶化を検討している。

P55 ・武田茂樹<sup>1</sup>、岡田知明<sup>2</sup>、能瀬栄美<sup>2</sup>、小暮克哉<sup>2</sup>、松村衣美子<sup>2</sup>、芳賀達也<sup>1,2</sup> (1 学習院・理・生命研、2 CREST・JST)

ヒトゲノム情報から予想された新規 G タンパク質受容体に対するリガンド検索系の構築

G タンパク質受容体は大きなスーパーファミリーを成す膜タンパク質であり、それに対するリガンド検索は生体内情報伝達系の解析や創薬の観点からポストゲノム時代の重要な課題である。我々はヒトゲノム情報から予想した 50 個の新規 G タンパク質受容体遺伝子のほとんどをクローニングし、RT-PCR による発現部位の解析を行った。さらにこれらの新規受容体の遺伝子を Gi1, Gs, G16 の  $\alpha$  サブユニットと融合させた遺伝子を作成した。この融合遺伝子は昆虫細胞や動物細胞で発現させることにより受容体-G $\alpha$  融合タンパク質を用いたリガンドの検索系に利用するもので、ハイスループットな検索系を整備している。

P56 古川浩康<sup>1</sup>、岡田知明<sup>1</sup>、芳賀達也<sup>1,2</sup> (1 CREST・JST、2 学習院・理・生命研)

ムスカリン受容体・Gi1  $\alpha$  融合タンパク質の発現・精製

Sf9 / baculovirus 系で発現したムスカリン受容体・Gi1  $\alpha$  融合タンパク (M2-Gi1  $\alpha$ ) は、膜の状態でも M2 受容体と Gi1 との相互作用活性を保持している。M2-Gi1  $\alpha$  の発現量を G タンパク質 bg サブユニットと共発現する事により約 2 倍向上させ (8 nmol/liter culture)、digitonin/sodium cholate で可溶化し、Ligand affinity column/hydroxylapatite で精製した。精製した M2-Gi1  $\alpha$  は、グアニンヌクレオチド感受性高親和性アゴニスト結合、アゴニスト依存性 G タンパク質活性化能を保持していた。