

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究(B)  
 研究期間：2005～2008  
 課題番号：17370042  
 研究課題名(和文)：アセチルコリン受容体とラプシン複合体の構造機能研究  
 研究課題名(英文)：Structural and functional studies of acetylcholine receptor and rapsyn complex  
 研究代表者  
 宮澤 淳夫(MIYAZAWA ATSUO)  
 独立行政法人理化学研究所・生体マルチソーム研究チーム・チームリーダー  
 研究者番号：60247252

研究成果の概要：神経筋接合部において神経から筋への情報伝達に深く関わっているニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)とその結合タンパク質である rapsyn の原子レベルでの構造解明を目的として、脱感作状態における nAChR の結晶化と rapsyn の精製の検討を行った。その結果、シブレエイの電気器官を用いて再配列させる方法により nAChR の二次元結晶を作製することができた。また、rapsyn は昆虫細胞を用いた発現系を利用することによってカラム精製することができた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	4,400,000	0	4,400,000
2006年度	4,700,000	0	4,700,000
2007年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
総計	14,400,000	1,590,000	15,990,000

研究分野：生物物理学

科研費の分科・細目：生物科学・構造生物化学

キーワード：アセチルコリン受容体、二次元結晶化、精製、脱感作、電子顕微鏡

## 1. 研究開始当初の背景

ニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)は、リガンド開閉型イオンチャネル(LGIC)として最初に分離・精製された。それから既に40年近くが経過し、LGICの代表的な分子として様々な生化学的・生理学的な解析が行われてきた。しかし、nAChRの原子レベルでの三次元構造と分子メカニズムの全貌は未

だに解明されていない。

nAChRは、神経筋接合部において、自身の内包するイオンチャネルを開閉させることにより、神経から筋肉への情報伝達を司っている。また、電気生理学の実験から、静止状態(リガンド無・チャネル閉)と活性化状態(リガンド結合・チャネル開)以外に、3つ目の状態として、リガンドが結合していても

チャンネルを開かない脱感作状態が存在することが報告されている。これまでに、1995年に活性化状態の構造が9の分解能で、2003年に静止状態の構造が4の分解能で、それぞれチューブ状結晶を用いて電子線結晶学的法により解析された。一方、脱感作状態に関しては、静止状態で作製したチューブ状結晶を脱感作状態にすると、らせん対称性が壊れてしまい解析できなかった。しかしながら、電気生理学的実験においては、受容体を平面の脂質二重膜に再構成して脱感作状態の計測が行われているので、二次元結晶であれば脱感作状態での構造解析が可能であると推測された。

また、神経筋接合部において nAChR は、rapsyn、MuSK、dystroglican を始めとした様々なタンパク質と共に複合体クラスターを形成して、正常な情報伝達が行われる。その中でも、nAChR の足場タンパク質である rapsyn は、nAChR のクラスター化に必要な不可欠な因子である。しかし、生体内から取り出すと不安定で凝集してしまい、構造解析どころか精製も困難な状況にあった。

## 2. 研究の目的

本研究は二つの目標を掲げて、nAChR を中心とする神経筋接合部の情報伝達機構を構造学的視点で理解することを目的とする。第一の目標は、nAChR の脱感作状態における全体構造を原子分解能で解析することを目的として、脱感作状態の nAChR の二次元結晶化を行うことである。静止状態および活性化状態の構造解析に利用したチューブ状結晶は、二次元結晶が筒状になったものであるが、チューブ状結晶では解析できる分解能が制限されている(4程度)。そこで、さらに高い分解能での解析を行うために、チューブ状結晶ではなく、シート状の二次元結晶を作製する。

脱感作状態における nAChR の構造が解明されれば、nAChR の3つすべての状態において構造解析されたことになり、リガンド結合によるチャンネルの開口から脱感作状態に至る分子メカニズムの解明が可能になる。また、nAChR はLGICの中で唯一全長で結晶構造解析されたタンパク質であり、同じファミリーに属するセロトニン、GABA、グリシン受容体の構造と機能の解明にも寄与できると考えられる。

第二の目標は、nAChR 結合タンパク質である rapsyn の X 線結晶構造解析を目的として rapsyn の精製法を確立することである。rapsyn は nAChR の足場タンパク質であり、rapsyn の C 末端近傍にある coiled-coil ドメインが nAChR との結合に不可欠であることが報告されているが、詳細な結合様式は解明されていない。X 線結晶構造解析を行って

rapsyn の構造を明らかにし、nAChR との結合様式の解明を目的とする。

原子レベルの分解能で nAChR や rapsyn の構造を解明できれば、これらの異常によって引き起こされる重症筋無力症などの神経筋疾患の分子レベルでの解明につながると考えられる。将来的には、神経筋接合部において nAChR と共存し協調して機能している rapsyn を始め、MuSK、dystroglican 等との複合体 - 生体内超分子複合体 - としての解析も視野に入れており、nAChR と rapsyn の構造解析が、末梢シナプスにおける情報伝達の分子レベルでの解明の出発点となる。

## 3. 研究の方法

### (1) 脱感作 nAChR の二次元結晶化

二次元結晶化の実験方法としては、nAChR が豊富に存在しているシビレイ電気器官のポストシナプス膜より界面活性剤を用いて可溶化した nAChR を脂質二重膜に再構成する方法、ならびに ポストシナプス膜をそのまま用いて nAChR を再配列させる方法、の二つを検討した。

#### 再構成法による二次元結晶化

可溶性・精製に用いる界面活性剤の予備的検討は、シビレイ (*Torpedo californica*) の電気器官から膜画分を調製した後、スクロース遠心分離法によって分画したポストシナプス膜を用いて行った。様々な界面活性剤を添加後、遠心分離を行って可溶性画分と不溶性画分を分離し、SDS-PAGE により溶解度を調べた。可溶性画分はネガティブ染色を行って電子顕微鏡で観察した。

次に、このポストシナプス膜の可溶性画分を用いて、二次元結晶化を検討した。二次元結晶化は、ポストシナプス膜をいったん界面活性剤で可溶化後、1mM のニコチンもしくはカルバコールを添加して nAChR を脱感作状態とし、種々の脂質を添加した上で透析法により二次元結晶化を検討した。二次元結晶の有無は電子顕微鏡で確認した。

また、精製 nAChR の二次元結晶化に関しては、界面活性剤を用いて膜画分を可溶化した後、研究協力者である Dr. M. Stowell が英国 MRC 滞在中に作製した専用のアフィニティークラムと、イオン交換カラムおよびゲルろ過カラムを用いて精製した。精製後、1mM のニコチンもしくはカルバコールを添加して nAChR を脱感作状態とした後、種々の脂質を添加して、様々な条件下で透析法により、二次元結晶化を検討した。

#### 再配列による二次元結晶化

シビレイの電気器官をミキサーで破碎した後、低速遠心分離と2回的高速遠心分離により膜画分を調製した。膜画分を種々の緩衝液中でホモジナイザーを用いて懸濁し、1mM のニコチンもしくはカルバコールを添加

して脱感作状態とした。一週間 4 で静置して上層から順に懸濁液を分取し、それぞれの画分を、4 ~37 でインキュベートし、1週間ごとに電子顕微鏡で観察して二次元結晶の有無を調べた。

## (2)rapsyn の精製

### シビレイの電気器官を用いた精製

電気器官の膜画分をリン酸緩衝液(pH11)で懸濁して rapsyn を可溶化した後、pH を中性に戻し、Q sephalose もしくは SP sephalose カラムに通して 1M NaCl で溶出した。

### 大腸菌を用いた発現・精製

GST、His もしくはマルトース結合タンパク質(MBP)タグを融合した rapsyn 遺伝子を大腸菌に導入し、IPTG を用いて 18~37 で発現誘導を行い、ウェスタンブロッティングを行って発現の有無を調べた。MBP 融合 rapsyn の精製は、アミロースカラムに結合させて 10mM マルトースで溶出後、enterokinase もしくは Factor Xa を用いて MBP の切断・除去を行った。

### HEK293 を用いた発現・精製

His もしくは FLAG タグを融合した rapsyn 遺伝子をリポフェクション法により HEK293 細胞に導入し、ウェスタンブロッティングを行って発現の有無を確認した。FLAG 融合 rapsyn の精製は、抗 FLAG 抗体カラムに結合させて 100 µg/mL の FLAG ペプチドで溶出した。

### 昆虫細胞を用いた発現・精製

Hisタグを融合した rapsyn 遺伝子をバキュロウイルスを用いて Sf+細胞に導入し、ウェスタンブロッティングを行って発現の有無を確認した。精製は、N<sub>2</sub>ガスをを用いて細胞を破碎し、低速遠心分離および高速遠心分離によって調製した膜画分をCAPS緩衝液(pH11)で懸濁して rapsyn を溶解させた。この溶液をニッケルカラムに通して 200mM イミダゾールで溶出した後、ハイドロキシアパタイトカラムに通して 50~400mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>で溶出した。

## 4. 研究成果

### (1)脱感作 nAChR の二次元結晶化

#### 再構成法による二次元結晶化

まず、nAChRの可溶化・精製に用いる界面活性剤の予備的検討を行った。結晶化の検討を行うには大量のタンパク質が必要であることから、十分な溶解度の得られる界面活性剤を選択する必要がある。しかし、数日に渡る精製・二次元結晶化の過程でタンパク質を変性させてしまうものであってはならない。12種の界面活性剤(octyl-glycopyranoside (OG)、decyl-maltopyranoside(DM)、dodecyl-maltopyranoside(DDM)、dodecyl-N,N-dimethylamine-N-oxide(LDAO)、FOS-choline-12、C<sub>8</sub>E<sub>4</sub>、C<sub>8</sub>E<sub>6</sub>、C<sub>10</sub>E<sub>5</sub>、C<sub>10</sub>E<sub>9</sub>、C<sub>12</sub>E<sub>8</sub>、Triton-X100、コー

ル酸)について検討した結果、コール酸で特に高い溶解度が認められたが、他にも二次元結晶化に十分な溶解度(50%程度)が得られた。一方、Triton-X100は、添加後SDS-PAGE上でnAChRの新たなバンドが生じた。これは、nAChRが一部変性したと考えられることから、Triton-X100は可溶化に適していないと考えられる。また、可溶性画分を電子顕微鏡で観察したところ、OGを添加したものは、nAChR分子が数個集合した状態で分散しており、OGも可溶化に適していないことが分かった。

次に、可溶化に適していないと判断された界面活性剤を除いて、二次元結晶化の検討を行った。nAChRを豊富に含む電気器官のポストシナプス膜を界面活性剤を用いて可溶化し、nAChRのリガンドを添加して脱感作状態とした後、様々な脂質を添加して、透析法により二次元結晶化を試みた。しかしながら、いずれの条件においても二次元結晶は得られなかったが、脂質として caproylamine phosphoethanolamine(caprolyamine PE)を含む脂質を添加したもので、nAChRが再構成された脂質二重膜や、大きなリポソーム(数百nm)が形成される傾向が見られた。構造解析を行うにはある程度の大きさ(1 µm程度)の二次元結晶が必要であることから、大きなリポソームが形成されることは、良い兆候である。また、この方法で二次元結晶を生じなかったのは、ポストシナプス膜から nAChR を精製していないために、共同在するタンパク質が混在しており、二次元結晶化に至らなかったのではないかと考えた。

そこで、カラムを用いて高純度のnAChRの精製を行い、同様の方法で二次元結晶化を検討した。界面活性剤としては、予備的検討で最もnAChRの分散が良かったC<sub>12</sub>E<sub>8</sub>を用いた。その結果、図1のように全サブユニットを含む高純度のnAChRを得ることができた。また、これを電子顕微鏡で観察したところ、図2のように二量体を形成したnAChRを確認することができた。電気器官のポストシナプス膜では、2分子のnAChRが並んだ列が観察されていることから、生体内でnAChRは二量体を形成していると予測されている。精製したnAChRも二量体として存在していたことから、生体内の状態を保持していると考えられる。そこで、リガンドを添加して脱感作状態とし

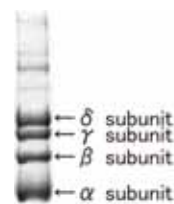


図1: C<sub>12</sub>E<sub>8</sub>を用いて可溶化・精製した nAChR (SDS-PAGE)。nAChRの4種のサブユニット(α×2, β, γ, δ)が確認できる。

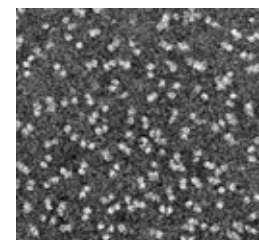


図2: C<sub>12</sub>E<sub>8</sub>を用いて可溶化・精製したnAChRを負染色して電子顕微鏡で観察したもの。多くの粒子が二量体を形成している。



た後、caprolyl-amine PEを含む脂質溶液を添加して、透析法により二次元結晶化を検討した。様々な透析条件（緩衝液・塩濃度・透析温度と時間）について検討を行ったが、一部のnAChRは脂質二重膜へ再構成されたものの、大部分は水溶液中で分散した状態で存在しており、界面活性剤の除去効率が悪いことが推測された。二次元結晶は、界面活性剤濃度が臨界ミセル濃度(CMC)以下に減少しなければ、形成されない。しかし、 $C_{12}E_8$ はCMCが低いために透析法ではなかなかCMC以下の濃度にならず、二次元結晶化が困難であると考えられた。そこで、良好な可溶性が得られ、比較的CMCが高い界面活性剤 6 種(DM、LDAO、FOS-choline-12、 $C_{10}E_5$ 、 $C_{10}E_9$ 、コール酸)を用いて、さらに精製・二次元結晶化の検討を行った。その結果、図3に示すように、LDAOとFOS-choline-12 を使用して精製したものはSDS-PAGE上で凝集物と思われるバンドが生じ、また、 $C_{10}E_5$ とコール酸を使用したものでは最終的に不純物を除去できなかつた。また、 $C_{10}E_9$ は 4 で界面活性剤自身の析出が生じたため、低温での操作を必要とするnAChRの精製には向かないと判断された。これらの結果から、DMがnAChRの精製に最も適していると考えられた。そこで、DMを用いて精製したnAChRを脱感作状態とし、二次元結晶化を検討した。その結果、 $C_{12}E_8$ を用いて精製した時より多くのnAChRを脂質二重膜へ再構成させることができた(図4)。しかしながら、再構成されなかつた分子も多く、いったん溶解したnAChRを再構成することは困難であることが分かった。

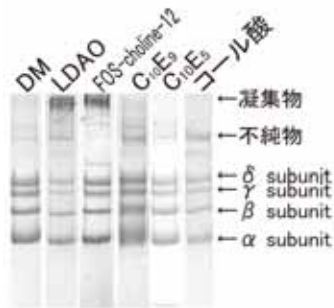


図3: 様々な界面活性剤を用いて可溶性・精製した nAChR (SDS-PAGE)。DM 以外では凝集物や不純物が残っているのが分かる。

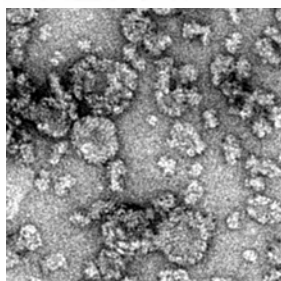


図4: DMを用いて可溶性・精製した nAChR を脱感作状態とした後、二次元結晶化の検討後に電子顕微鏡で観察したもの。一部の nAChR が再構成されていることが確認できる。

#### 再配列による二次元結晶化

シビレエイの電気器官のポストシナプス膜では nAChR が豊富に集積しているため、ポストシナプス膜を単離して 3~4 週間程度、

18 でインキュベートすることにより、ポストシナプス膜内で nAChR が再配列し、チューブ状結晶が生じる。チューブ状結晶形成後にリガンドを添加すると、らせん対称性が壊れてしまうことから、あらかじめリガンドを過剰量添加して脱感作状態としてから、様々な条件でインキュベートを行い、二次元結晶化を検討した。精製に用いる材料としては、まず、世界各国で数多く実験に使用されている米国カリフォルニア産シビレエイ (*Torpedo californica*) の電気器官の凍結品を購入し、検討を行った。しかし、膜画分のホモジナイズ回数や添加するリガンドの種類、懸濁する緩衝液、塩濃度、インキュベート温度や時間について様々な条件を検討したにも関わらず、二次元結晶は得られなかつた。組み換えタンパク質ではなく、天然のタンパク質を材料として結晶化に用いた場合、個体差が大きいことがよくある。*Torpedo californica* の電気器官はすでに生体から取り出され、破碎されたものを重量単位で購入するので、個体情報が分からず、個体ごとに検討することができない。また、静止状態におけるチューブ状結晶は、生体から取り出した電気器官を凍結することなくそのまま調製して結晶化しており、いったん凍結した電気器官では密に集積した nAChR 間の相互作用が破壊されるなどして結晶が形成されにくくなっている可能性がある。

そこで、生きたシビレエイを安定に供給できるように、日本国内の漁港から、日本近海にいるシビレエイ (*Torpedo japonica*) を入手できるルートを確保した。*Torpedo japonica* は他の *Torpedo* ファミリーとよく似た形状をしており、体長 1 m にも及ぶ *Torpedo californica* より、以前に静止状態のチューブ状結晶を作製する時に用いた体長 30cm 程度のフランス産の *Torpedo marmorata* に近い大きさであった。合計 7 匹の生きていた *Torpedo japonica* からそれぞれ電気器官を取り出して膜画分を調製し、脱感作状態とした後、二次元結晶化を検討した。しかし、どの個体からも二次元結晶は得られなかつた。

次に、研究協力者である Dr. N. Unwin の協力のもと、フランス沿岸で水揚げされた *Torpedo marmorata* から取り出した電気器官で二次元結晶化を検討した。添加するリガンドの種類(ニコチン、カルバコール)、膜画分の調製法(電気器官の融解方法)、インキュベート時間について詳細に検討した結果、リガンドとしてカルバコールを添加したもので、インキュベート 1~2 週間後に、図5のように nAChR が一部整列した領域を含むリポソームが多数生じた。これらの領域を高速フーリエ変換したところ、脂質二重膜内にタンパク質が規則的に配列していることを示す回折点を検出することができた。リガンド

を添加しなかった試料では 4~5 週間のインキュベート後にチューブ状結晶が形成されたが、リガンドを添加したものではチューブ状結晶は形成されなかった。このことから、リガンド添加により nAChR の構造変化が生じ、形成される結晶形が変化したことが推測される。現在までに脱感作状態での nAChR の二次元結晶化は全く報告されておらず、本研究課題における成果が、初めての二次元結晶化の報告となる。結晶性の良い良質な二次元結晶を用いれば、原子レベルの分解能で脱感作状態における nAChR の構造解析が可能となることから、脱感作状態に移行する分子メカニズムの解明が期待される。

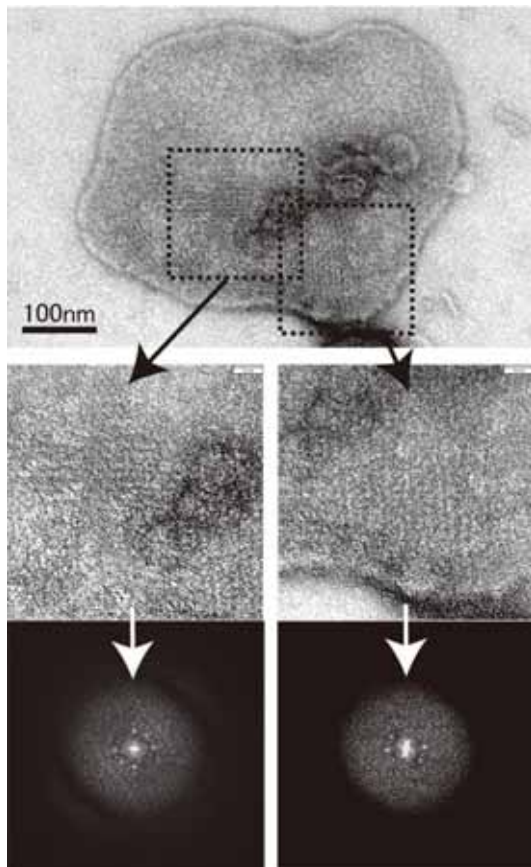


図 5 : 脱感作状態の nAChR の二次元結晶。四角で囲った領域を高速フーリエ変換したところ、タンパク質が結晶状に配列していることを示す回折点が検出された。

## (2) rapsyn の精製

rapsyn は、シビレイの電気器官のポストシナプス膜画分から、nAChR と結合した状態で分画されてくる。そこでまず、この膜画分を精製材料として用いることにした。rapsyn は疎水的相互作用により nAChR と結合していると考えられるので、界面活性剤を用いて可溶化を検討したが、rapsyn を効率良く可溶化できる界面活性剤はなかった。一方、pH11 のアルカリ性緩衝液により rapsyn は可溶性と

なることが分かった。pH11 はタンパク質を変性させる可能性のある厳しい条件であることから、いったん可溶化後、pH を中性付近に戻して、イオン交換カラムに通した。その結果、陽イオン交換カラムには結合しなかったが、陰イオン交換カラムに結合することが確認できた。しかし、溶出できた rapsyn はごくわずかで、大部分の rapsyn はカラム内で凝集していた。

rapsyn は生体から取り出して時間がたつと非常に凝集しやすいことから、短時間で効率良く精製を行う必要がある。そのためにはタグを融合して発現させ、アフィニティークラムを利用することが効果的である。まず始めに、大腸菌を用いて、タグを融合した組み換え rapsyn の発現・精製を検討した。まず、GST および His タグ融合 rapsyn について検討したところ、いずれのコンストラクトも大腸菌で発現させることができた。しかし、発現は封入体中であり不溶性であった。そこで、尿素を用いて封入体を溶解し、変性条件下での精製を検討したが、いったん変性した rapsyn の巻き戻しを行うことはできなかった。次に、rapsyn の可溶性を向上させる目的で、高い溶解度を持つ MBP タグを融合して検討を行った。その結果、rapsyn は可溶性を示し、アフィニティークラムで精製することができた。しかしながら、rapsyn は MBP から切断すると凝集してしまった。これらの結果から、原核生物で本来存在しない rapsyn は、大腸菌体内では、折りたたみがうまくいかず、本来の構造を形成できていないと判断された。

次に、真核細胞株である HEK293 細胞を用いて、His および FLAG タグ融合 rapsyn で検討を行った。その結果、His タグ融合 rapsyn の発現は封入体中であったが、FLAG タグ融合 rapsyn は、発現量は低いものの可溶性を示し、アフィニティークラムで精製することができた。しかしながら、HEK293 細胞のような動物培養細胞では組み換えタンパク質の大量発現は困難であり、また、FLAG タグ融合 rapsyn 遺伝子をゲノムに組み込んだ細胞株では、rapsyn の大量発現によって細胞が死んでしまった。このため、HEK293 細胞では、結晶化に十分な量の精製をするまでには至らなかった。

最後に、一般に動物培養細胞より組み換えタンパク質の高発現が可能な昆虫細胞を用いて His タグ融合 rapsyn の発現・精製の検討を行った。その結果、His タグ融合 rapsyn は膜画分から検出された。rapsyn には脂質修飾部位があり、昆虫細胞内において rapsyn が脂質二重膜に挿入されたネイティブに近い状態で発現している可能性が高い。そこで、膜結合タンパク質を抽出する様々な方法で rapsyn の可溶化を検討した。その結果、界面



活性剤や高塩濃度、還元剤では効果が得られなかったが、シビルエイの時と同様にアルカリ処理で rapsyn を溶解できることが分かった。アルカリ処理に必要な pH 条件について検討したところ、pH11 以上で約 50% の rapsyn を可溶化することができた。pH11 で可溶化した rapsyn の pH を中性付近に戻すと、rapsyn は沈殿してしまっただけから、pH11 での精製を検討した。その結果、図 6 のように His タグ融合 rapsyn は pH11 でニッケルカラムに結合し、イミダゾールで溶出させることができた。続いて、溶出画分をさらにハイドロキシアパタイトカラムに通し、 $K_2HPO_4$  を用いて溶出させることができた。rapsyn は *in vitro* において非常に凝集しやすく不安定であるため、カラムを用いた高純度での精製が困難なタンパク質であった。しかし、本研究課題で、カラム精製により rapsyn を溶出できたことから、rapsyn の三次元結晶化から立体構造の解明に向けて一歩前進できたと言える。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

### [雑誌論文](計4件)

Kazuhiro Shigemoto, Sachiko Kubo, Atsuo Miyazawa(11名中10番目),

Myasthenia gravis experimentally induced with muscle-specific kinase, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 査読無, 1132, 2008, 93-98  
西野有里, 宮澤淳夫, 「膜タンパク質の二次元結晶化法」, *膜*, 査読無, 32(1), 2007, 25-31

宮澤淳夫, 「ニコチン性アセチルコリン受容体の構造と機能」, *実験医学*, 査読無, 24(5), 2006, 630-637

宮澤淳夫, 西野有里, 藤吉好則 「極低温電子顕微鏡で解析されたアセチルコリン受容体の構造と機能」, *構造生物*, 査読無, 11(1), 2005, 31-50

### [学会発表](計7件)

宮澤淳夫, 日本学術振興会 回折構造生物第169委員会 第27回研究会, 「ニコチン性アセチルコリン受容体の構造と分子メカニズム」, 2008年10月27日~28日, 京都大学百周年時計台記念館, 京都市

西野有里, 公開合同カンファレンス: 神経筋の疾患、老化研究から分子複合体高次構造解析への展開, 「タンパク質の構造解析に向けた試料調製」, 2008年2月13日, 東京都老人総合研究所, 東京都

Atsuo Miyazawa, Asia-Pacific Advanced Microscopy Symposium,

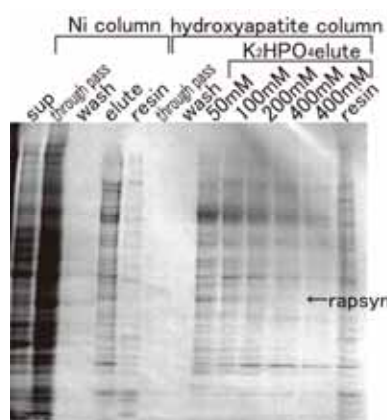


図6: ニッケルカラム、ハイドロキシアパタイトカラムを利用したHisタグ融合 rapsyn の精製 (SDS-PAGE)。rapsyn は 50mM から 200mM  $K_2HPO_4$  にかけて溶出されている。

「Structure and mechanism of nicotinic acetylcholine receptor」, 16-18

November 2005, Hualien, Taiwan

宮澤淳夫, 日本顕微鏡学会 第50回シンポジウム, 「顕微鏡による次世代への挑戦」, 「低温電子顕微鏡法による膜タンパク質の高分解能構造解析」, 2005年11月1日~2日, 九州大学医学部, 福岡市

宮澤淳夫, 日本顕微鏡学会 第61回学術講演会シンポジウム, 「電子顕微鏡によるタンパク質のイメージング」, 「低温電子顕微鏡によるイオンチャネルの機能構造の解析」, 2005年6月1日~3日, つくば国際会議場, つくば市

Atsuo Miyazawa, 2nd Bilateral Japan-UK Symposium on Structural Genomics and Proteomics, 「Structure and Function of Nicotinic Acetylcholine Receptor」, 28-30 May 2005, RIKEN Yokohama Institute, Yokohama, Japan

宮澤淳夫, 第82回日本生理学会大会シンポジウム, 「センサータンパク分子内の情報転換の仕組み」, 「ニコチン性アセチルコリン受容体の機能構造の解析」, 2005年5月18日~20日, 仙台国際センター, 仙台市

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮澤 淳夫 (MIYAZAWA ATSUO)

独立行政法人理化学研究所・生体マルチソーム研究チーム・リームリーダー

研究者番号: 60247252

### (2) 研究分担者

西野 有里 (NISHINO YURI)

独立行政法人理化学研究所・生体マルチソーム研究チーム・研究員

研究者番号: 20342826

### (3) 研究協力者

NIGEL UNWIN

英国 MRC 分子生物学研究所・神経生物学部門・部門長

MICHAEL STOWELL

米国コロラド大学・生物学部・准教授