

## 平成26年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書 〔追跡評価用〕

◆記入に当たっては、「平成26年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書等記入要領」を参照してください。

平成26年 4月23日現在

<b>研究代表者 氏名</b>	河西 春郎	<b>所属研究機関・ 部局・職 (研究期間終了時)</b>	東京大学・大学院医学系研究科・ 教授
<b>研究課題名</b>	2光子励起顕微鏡法を用いたシナプス・開口放出機構の研究		
<b>課題番号</b>	16002012		
<b>研究組織 (研究期間終了時)</b>	研究代表者 河西 春郎（東京大学・大学院医学系研究科・教授）		

### 【補助金交付額】

年度	直接経費
平成16年度	113,700 千円
平成17年度	136,400 千円
平成18年度	110,900 千円
平成19年度	92,900 千円
平成20年度	49,800 千円
総計	503,700 千円

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)～(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

### (1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

#### 1. 2光子顕微鏡を用いた大脳スパインシナプス形態可塑性の解明

本特別推進研究では樹状突起スパインの頭部増大を発見し、その大枠の解明を海馬標本で進めた(Matsuzaki et al., Nature 2004; Noguchi et al., Neuron 2005; Tanaka et al., Science 2008; Honkura et al., Neuron 2008)。この際、大きく残った以下の問題について、その後研究を進めている。

##### i) スパイン収縮・除去機構

スパイン頭部増大がケイジドグルタミン酸の2光子アンケイジング法で比較的容易に誘発できたのに対して(2001年から3年で論文発表)、この逆の現象である収縮や除去は、容易に予想される手続きでは誘発されず、特別推進期間から5年の時間が経過し、2010年になってようやくその誘発法が見いだされた。結果的には2013年になりようやく発表することができたが(2006年から7年)(Hayama et al., Nature Neurosci. 2013)、他のラボも同様に苦しんでいたようで、同年に関連する報告が2報発表された(Wiegert et al., PNAS 2013; Oh et al., PNAS 2013)。しかし、我々の研究が事象の解明において圧倒的に優れており、増大と伴に収縮・除去現象も我々の研究室がその最も重要な部分を明らかにしたと考える。

その誘発法の鍵は、グルタミン酸受容体によるカルシウムドメインの抑制を起こさずに、スパインの平均カルシウム濃度を抑制して特定のレンジに入れるということにあった。このために、グルタミン酸とスパイクの刺激時(STDP刺激)に先行して抑制性伝達物質GABAがあることがとても有利であることが初めに見つかった。これには、同時に開発を進めていたケイジドGABA試薬の研究が役に立った(Kantevari, Nature Methods 2010; Matsuzaki, Nature Chem Biol. 2010)。GABAはグルタミン酸受容体によるカルシウム流入は抑制せずに、スパイクによるカルシウム流入を抑制するので、上記の条件を満たす生理的な刺激と考えられた。しかし、GABAは必須ではない。GABAの代わりに細胞内にEGTAを適切な濃度注入すると、収縮が見られた。要するに、バルクのカルシウム濃度上昇が抑制されることが必要である。これは、これまで長期抑圧にGABAが必要とする説と不要とする説があり対立していたが、この問題は解消された。この際、速いカルシウムバッファーであるBAPTAを注入すると収縮は起きないので、グルタミン酸受容体のドメイン性のカルシウム上昇が収縮には必要である。このため、グルタミン酸入力が減ってはいけず、グルタミン酸受容体とGABA受容体の両方が刺激されるのがよい。このドメインはスパインがシナプス前終末からの入力を受けていることを検出していると考えられる。実際、収縮のカルシウムセンサーはcalcineurinと考えられたが、この蛋白は自分自身に高親和性のカルシウム結合部位を持つのに加えてcalmodulinという低親和性カルシウム結合蛋白を必須とする。Calcineurinは脱リン酸化酵素で、cofilinを脱リン酸化して活性化してアクチン繊維を脱重合し、スパインは収縮する。このcofilinは18kDaの小さな蛋白質で細胞内を良く拡散するので、活性化した状態で広がり、周囲のスパインの収縮を起こす。一方、増大ではcofilinがリン酸化してアクチンが重合する反応が起きるので、増大と収縮は単一スパインレベルで競合する。こうして、収縮部分のメカニズムがわかることでシナプスの選別に関わる機構の大筋が明らかになった。増大は刺激が強ければ起きるので調べやすかったが、収縮は中間状態で起き、この様な沢山の複雑な事情により起きるので解明に時間と努力が必要だった。しかし、こうして、スパイン増大だけでなく、シナプスの収縮除去や競合などの解明がすべて日本で達成された。

ii) 他の項目は(4)に記載いたしました。

#### 2. 2光子顕微鏡を用いた開口放出機構の解明

本特別推進研究において、開発した定量的開口放出解析法(TEPIQ)を用いて、開口放出関連蛋白質SNAREの構造変化をFRETを用いて測定する実験を推進した(Takahashi et al., Cell Metabolism 2010)。具体的にはSNAP25が複合体を作って、その2つのSNAREモチーフが会合する際に、FRETとして検出されるプローブを作り、アデノウイルスで導入し、2光子励起による開口放出とSNAREの複合化の両方を同時に計測した。まず、ベータ細胞にはSNAP25の複合化の異なる2つの領域があった。そして、高いFRET領域からは速い開口放出が、低いFRET領域からは遅い開口放出が起きた。そして、低いFRET領域から起きる開口放出にだけそれに先行してFRETの上昇があることがわかった。これは、ベータ細胞の様な遅い分泌細胞の低FRET領域ではSNARE分子は複合化しておらず、その複合化によって開口放出が起きること、一方、高FRET領域ではSNARE分子はある程度複合化した状態で止まっているために、速く開口放出が起きることが示唆された。この様に、SNAREの複合化状態で分泌速度が決まっている可能性を初めて示すことができた。他のグループも類似の研究を行っていたが、発表は2013年となり(Zhao et al. PNAS 2013)、開口放出の分子機構の可視化解析分野において優位性を保っている。

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

論文：交付期間内（2004-2008）

1. Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 429, 761-766.
2. Nemoto, T., Kojima, T., Oshima, A., Bito, H. & Kasai, H. (2004). Stabilization of exocytosis by dynamic F-actin coating of zymogen granules in pancreatic acini. *J. Biol. Chem.* 279, 37544-37550.
3. Sakai N, Tsubokawa H., Matsuzaki M., Kajimoto T., Takahashi E., Ren Y., Ohmori S., Shirai Y., Matsubayashi H., Chen J., Duman RS., Kasai H. & Saito N. (2004). Propagation of gammaPKC translocation along the dendrites of Purkinje cell in gammaPKC-GFP transgenic mice. *Genes Cells.* 9, 945-957.
4. Kasai, H., Matsuzaki, M. & Ellis-Davies, G.C.R. (2004). Two-photon uncaging microscopy. In "Imaging in Neuroscience and Development," CSH Lab. Press.
5. Tanaka, J., Matsuzaki, M., Tarusawa, E., Momiyama, A., Molnar, E., Kasai, H. & Shigemoto, R. (2005). Number and Density of AMPA Receptors in Single Synapses in Immature Cerebellum. *J. Neurosci.* 25, 799-807.
6. Oshima, A., Kojima, T., Dejima, K., Hisa, I., Kasai, H. & Nemoto, T. (2005). Two-photon microscopic analysis of acetylcholine-induced mucus secretion in guinea pig nasal glands. *Cell Calcium* 37, 349-357.
7. Hayakawa, Y., Nemoto, T., Iino, M. & Kasai, H. (2005). Rapid Ca<sup>2+</sup>-dependent increase in oxygen consumption by mitochondria in single mammalian central neurons. *Cell Calcium* 37, 359-370.
8. Kasai, K., Ohara-Imaizumi, M., Takahashi, N., Mizutani, S., Zhao, S., Kikuta, T., Kasai, H., Nagamatsu, S., Gomi, H. & Izumi, T. (2005). Rab27a mediates the tight docking of insulin granules onto the plasma membrane during glucose stimulation. *J. Clin. Invest.* 115, 388-396.
9. Noguchi, J., Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2005). Spine-neck geometry determines NMDA receptor-dependent Ca<sup>2+</sup> signaling in dendrites. *Neuron* 46, 609-622.
10. Kasai, H., Hatakeyama, H., Kishimoto, T., Liu, T.-T., Nemoto, T. & Takahashi, N. (2005). A new quantitative (two-photon extracellular polar-tracer imaging-based quantification (TEPIQ)) analysis for diameters of exocytic vesicles and its application to pancreatic islets. *J. Physiol. (Lond.)* 568, 891-903.
11. Kishimoto, T., Liu, T.-T., Hatakeyama, H., Nemoto, T., Takahashi, N. & Kasai, H. (2005). Sequential compound exocytosis of large dense-core vesicles in PC12 cells studied with TEPIQ (two-photon extracellular polar-tracer imaging-based quantification) analysis. *J. Physiol. (Lond.)* 568, 905-915.
12. Liu, T.-T., Kishimoto, T., Hatakeyama, H., Nemoto, T., Takahashi, N. & Kasai, H. (2005). Exocytosis and endocytosis of small vesicle in PC12 cells studied with TEPIQ (two-photon extracellular polar-tracer imaging-based quantification) analysis. *J. Physiol. (Lond.)* 568, 917-929.
13. Ohkura, M., Matsuzaki, M., Kasai, H., Imoto, K. & Nakai, J. (2005). Genetically encoded bright Ca<sup>2+</sup> probe applicable for dynamic Ca<sup>2+</sup> imaging of dendritic spines. *Analytical. Chem.* 77, 5861-5869.
14. Fukui K, Yang Q, Cao Y, Takahashi N, Hatakeyama H, Wang H, Wada J, Zhang Y, Marselli L, Nammo T, Yoneda K, Onishi M, Higashiyama S, Matsuzawa Y, Gonzalez FJ, Weir GC, Kasai H, Shimomura I, Miyagawa J, Wollheim CB & Yamagata K. (2005). The HNF-1 target Collectrin controls insulin exocytosis by SNARE complex formation. *Cell Metab.* 2, 373-384.
15. Miura A, Yamagata K, Kakei M, Hatakeyama H, Takahashi N, Fukui K, Nammo T, Yoneda K, Inoue Y, Sladek FM, Magnuson MA, Kasai H. Miyagawa J, Gonzalez FJ, & Shimomura I (2006). Hepatocyte nuclear factor-4alpha is essential for glucose-stimulated insulin secretion by pancreatic beta-cells. *J Biol Chem.* 281, 5246-5257.
16. Hatakeyama, H., Kishimoto, T., Nemoto, T., Kasai, H. & Takahashi, N. (2006). Rapid glucose sensing by protein kinase A for insulin exocytosis in mouse pancreatic islets. *J. Physiol. (Lond.)*, 570, 271-282.
17. Kishimoto, T., Kimura, R., Liu, T.-T., Nemoto, T., Takahashi, N. & Kasai, H. (2006). Vacuolar sequential exocytosis of large dense-core vesicles in adrenal medulla. *EMBO J.* 25, 673-682.
18. Kasai, H., Kishimoto, T., Nemoto, T., Hatakeyama, H., Liu, T.-T. & Takahashi, N. (2006). Two-photon excitation imaging of exocytosis and endocytosis and determination of their spatial organization. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 58, 850-877.
19. Augustine, G.J. & Kasai, H. (2007). Bernard Katz, quantal transmitter release, and the foundations of presynaptic physiology. *J. Physiol. (Lond.)*, 578:623-625.
20. Wang, H.\*, Peca, J.\*, Matsuzaki, M.\*, Matsuzaki, K., Noguchi, J., Qiu, L., Wang, D., Zhang, F., Boyden, E., Deisseroth, K., Kasai, H., Hall, W.C., Feng, G. & Augustine, G.J. (2007) Activation and high-speed mapping of brain circuitry using photostimulation in Channelrhodopsin-2 transgenic mice. *PNAS*, 104:8143-8148. (\* Equal contribution)
21. Ellis-Davies, G.C.R., Matsuzaki, M., Paukert, M., Kasai, H. & Bergles, D.E. (2007). CDNI-Glu: an improved caged glutamate for expeditious ultraviolet and 2-photon photolysis in brain slices. *J. Neurosci.*, 27:6601-6604.
22. Hatakeyama, H., Takahashi, N., Kishimoto, T., Nemoto, T., & Kasai, H. (2007). Two cAMP-dependent pathways differentially regulate large-dense core and small vesicles in mouse  $\beta$  cells. *J. Physiol. (Lond.)* 582, 1087-1098.
23. Takahashi, N. & Kasai, H. (2007). Two-photon excitation imaging of insulin exocytosis. In "Pancreatic beta cell in health and disease," Springer Verlag, New York, pp195-211.
24. Takahashi, N. & Kasai, H. (2007). Exocytic process analyzed with two-photon excitation imaging in endocrine pancreas. *Endocrine J.* 54, 337-347.
25. Honkura, N., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2008). The subsynaptic organization of actin fibers regulates the structure and plasticity of dendritic spines. *Neuron* 57, 719-729.
26. Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2008). Three-dimensional mapping of unitary synaptic connections by two-photon macro photolysis of caged glutamate. *J. Neurophysiol.* 99, 1535-1544.

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか (続き)

27. Tanaka, J., Horiike, Y., Matsuzaki, M., Miyazaki, T., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2008). Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines. *Science* 319, 1683-1687. (Published online 28 February 2008 in *Science Express Reports*).
28. Yasumatsu, N., Matsuzaki, M., Miyazaki, T., Noguchi, J. & Kasai, H. (2008). Principles of long-term dynamics of dendritic spines. *J. Neurosci.* 28: 13592-13608.
29. Hira, R., Honkura, N., Noguchi, J., Maruyama, Y., Augustine, G.J., Kasai, H., & Matsuzaki, M. (2009). Transcranial optogenetic stimulation for functional mapping of the motor cortex. *J. Neurosci. Methods*, 179: 258-263.
30. Morita, S., Yasumatsu, N., Noguchi, J. & Kasai, H. (2009). Generation, elimination and weight fluctuations of synapses in the cerebral cortex. *Communicative and Integrative Biology* 2, 1-4.

## 論文 : 交付期間内 (2009-2013)

1. Kasai, H., Hatakeyama, H., Ohno, M. & Takahashi, N. (2010). Exocytosis in islet beta-cells. *Advances in Experimental Medicine and Biology* ("The Islet of Langerhans."), 654, 303-336.
2. Kasai, H., Fukuda, M., Watanabe, S., Hayashi-Takagi, A. & Noguchi, J. (2010). Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci.* 33, 121-129.
3. Matsuzaki, M., Hayama, T., Kasai, H. & Ellis-Davies, G.C.R. (2010). Two photon uncaging of  $\gamma$ -aminobutyric acid probes on neurons in intact brain tissue. *Nature Chemical Biology* 6, 255-257.
4. Kantevari, S.\*, Matsuzaki, M.\*, Kanemoto, Y., Kasai, H.<sup>CA</sup> & Ellis-Davies, G.C.R.<sup>CA</sup> (2010). Two-color, two-photon uncaging of glutamate and GABA. *Nature Methods* 7, 123-125. (\* Equal contribution. <sup>CA</sup>Corresponding authors.)
5. Obi, N., Momotake, A., Kanemoto, Y., Matsuzaki, M., Kasai, H. & Arai, T. (2010). 1-Acyl-5-methoxy-8-nitro-1,2-dihydroquinoline: A biologically useful photolabile precursor of carboxylic acids. *Tetrahedron letters* 51, 1642-1657.
6. Kasai, H., Hayama, T., Ishikawa, M., Watanabe, S. & Yagishita, S. (2010). Learning rules and persistence of dendritic spines. *Eur. J. Neurosci.* 32, 241-249.
7. Takahashi, N., Hatakeyama, H., Okado, H., Noguchi, J., Ohno, M. & Kasai, H. (2010). SNARE conformational changes that prepare vesicles for exocytosis. *Cell Metabolism* 12, 19-29.
8. Kaneko, K., Ueki, K., Takahashi, N., Hashimoto, S., Okamoto, M., Awazawa, M., Okazaki, Y., Ohsugi, M., Inabe, K., Umehara T., Yoshida M., Kakei M., Kitamura, T., Luo, J., Kulkarni, R.N., Kahn, C.R., Kasai, H., Cantley, L.C. & Kadowaki, T. (2010). Class IA phosphoinositide 3-kinase in pancreatic  $\beta$  cells controls insulin secretion by multiple mechanisms. *Cell Metabolism* 12, 619-632.
9. Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G.C.R., Kanemoto, Y., & Kasai, H. (2011). Simultaneous two-photon activation of presynaptic cells and calcium imaging in postsynaptic dendritic spines. *Neural Systems and Circuits* 1:2.
10. Cai, T., Hirai, H., Zhang, G., Zhang, M., Takahashi, N., Kasai, H., Satin, L.S., Leapman, R.D. & Notkins, A.L. (2011) Decreased in the number of dense core vesicles is responsible for the impaired secretion of insulin in IA-2 and IA-2 $\beta$  null mice. *Diabetologia*, 54:2347-57.
11. Noguchi, J., Nagaoka, A., Watanabe, S., Ellis-Davies, G.C.R., Kitamura, K., Kano, M., Matsuzaki, M. & Kasai H. (2011). *In vivo* two-photon uncaging of glutamate revealing the structure-function relationships of dendritic spines in the neocortex of adult mice. *J. Physiol.* 589: 2320-2329.
12. Kanemoto, Y., Matsuzaki, M., Morita, S., Hayama, T., Noguchi, J., Senda, N., Momotake, A., Arai, T., & Kasai, H. (2011). Spatial distributions of GABA receptors and local inhibition of  $Ca^{2+}$  transients studied with GABA uncaging in the dendrites of CA1 pyramidal neurons. *PLoS ONE*, 6: e22652.
13. Matsuzaki, M. & Kasai, H. (2011). Two-Photon Uncaging Microscopy. *Imaging in Neuroscience: A Laboratory Manual* (eds. Helmchen and Konnerth). CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.
14. Ako, R., Wakimoto, M., Ebisu, H., Tanno, K., Hira, R., Kasai, H., Matsuzaki, M. & Kawasaki, H. (2011). Simultaneous visualization of multiple neuronal properties with single-cell resolution in the living rodent brain. *Mol. Cell. Neurosci.*, 48:246-257.
15. Kimura, Y., Momotake, A., Takahashi, N., Kasai, H. & Arai, T. (2012) Polarity-dependent photophysical properties of hemicyanine dyes and their application in 2-photon microscopy biological imaging. *Chemistry Letters* 41:528-530. doi :10.1246/cl.2012.528
16. Ogata, S., Miki, T., Seino, S., Tamai, S., Kasai, H. & Nemoto, T. (2012). A novel function of Noc2 in agonist-induced intracellular  $Ca^{2+}$  increase during zymogen-granule exocytosis in pancreatic acinar cells. *PLoS ONE* 7: e37048.
17. Kasai, H., Takahashi, N. & Tokumaru, H. (2012). Distinct initial SNARE configurations underlying the diversity of exocytosis. *Physiol. Rev.*, 92:1915-1964.
18. Lam, P.\*, Ohno, M.\*, Subhankar, D.\*, He, Y., Qin, T., Lian, T., Zhu, D., Kang, Y., Liu, Y., Kauppi, M., Xie, L., Wan, W., Bin, N., Sugita, S., Olkkonen, V., Takahashi, N., Kasai, H.<sup>CA</sup> & Gaisano, H.Y.<sup>CA</sup> (2013). Munc18b is a major mediator of insulin exocytosis in rat pancreatic  $\beta$ -cells. *Diabetes*. 62:2416-2428. (\* Equal contribution. <sup>CA</sup>Corresponding authors.)
19. Hira, R., Ohkubo, F., Ozawa, K., Isomura, Y., Kitamura, K., Kano, M., Kasai, H., & Matsuzaki, M. (2013). Spatial and temporal reconfiguration of microcircuitry activity in the motor cortex for voluntary movement. *J. Neurosci.* 33:1377-1390.
20. Hira, R., Ohkubo, F., Tanaka, Y.R., Masamizu, Y., Augustine, G.J., Kasai, H. & Matsuzaki, M. (2013). *In vivo* optogenetic tracing of functional corticocortical connections between motor forelimb areas. *Frontier in Neural Circuits* 7:55.
21. Hayama, T., Noguchi, J., Watanabe, S., Ellis-Davies, G.C.R., Hayashi, A., Takahashi, N., Matsuzaki, M. & Kasai, H. (2013). GABA promotes the competitive selection of dendritic spines by controlling local  $Ca^{2+}$  signaling. *Nature Neurosci.* 16:1409-1416. (doi:10.1038/nn.3496).
22. Nuriya, M., Momotake, A., Kimura, Y., Yasui, M., Kasai, H. & Arai, T. (2013) Evaluation of dialkylaminofluorene-based hemicyanine dyes for second harmonic generation imaging by the direct comparison approach. *Bull. Chemical Soc. Jpn.* 86:1190-1192. (doi:10.1246/bcsj.20130094)

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

23. Asrican, B, Augustine, G.J., Berglund, K., Chen, S., Chow, N, Deisseroth, K., Feng, G., Gloss, B, Hira, R., Hoffman, C., Kasai, K., Katarya, M., Jinsook, K., Kudolo, J., Lee, L., Qiang Lo, S., Mancuso, J., Matsuzaki, M., Nakajima, R., Qiu, L., Tan, T., Tang, Y., Ting, J.T., Tsuda, S. & Wen, L. (2013). Next-generation transgenic mice for optogenetic analysis of neural circuits. *Frontier in Neural Circuits* 7:160. Doi:10.3389/fncir.2013.00160
24. Takehara, H., Nagaoka, A., Noguchi, J., Akagi, T., Sakai, T., Chung, U., Kasai, H. & Ichiki, T. (2013). Implementation of tetra-poly(ethylene glycol) hydrogel with high mechanical strength into microfluidic device technology. *Biomicrofluidics* 7, 054109. doi.org/10.1063/1.4822033
25. Hayashi-Takagi, A., Araki, Y., Nakamura, M., Vollrath, B., Duron, S.G, Yan, Z., Kasai, H., Haganir, R.L., Campbell, D.A., Sawa, A. (2014) PAK inhibitors rescue DISC1-deficit-triggered dendritic spine deterioration: novel therapeutic potential for schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* In press.

## 国際会議等への招待講演

- H. Kasai (2004.6.23) Two-photon excitation imaging of exocytosis and endocytosis. Gordon Research Conference on Cell Biology of the Neuron. New London (NH, USA).
- H. Kasai (2004.6) Single-spine functions studied with two-photon photolysis of caged-glutamate. 日米情報交換セミナー”Molecular Basis of Synaptic Plasticity: Synaptogenesis, Receptor trafficking and cytoskeleton proteins” (New York)
- H. Kasai, M. Matsuzaki, G.C.R. Ellis-Davies, J. Noguchi, N. Yasumatsu & N. Honkura (2004.8) Structural and functional plasticity of single dendritic spines in hippocampal CA1 pyramidal neurons. 国際解剖学会シンポジウム (京都)
- H. Kasai (2004.10) Two-photon photolysis. EMBO course for multiphoton microscope (Munich)
- H. Kasai (2005.4.21) Dendritic spine structures critical for spine functions and plasticity. Cold Spring Harbor Symposium on Learning and Memory. Cold Spring Harbor (NY, USA).
- H. Kasai (2005.9) Stability and plasticity of dendritic spines. Gordon Research Conference on Excitatory Amino Acids. Ausoir (France).
- H. Kasai (2006.7.24) Structure dependence of plasticity in dendritic spines. Gordon Research Conference on Synaptic transmission. New London (USA).
- H. Kasai (2007.6.24) 2-Photon Imaging of Ca<sup>2+</sup> dependent exocytosis in living cells. Symposium on second messengers, mitochondrial metabolism and exocytosis, American Diabetes Society 67<sup>th</sup> annual scientific sessions, Chicago.
- H. Kasai, Naoki Honkura, Jun Noguchi and Masanori Matsuzaki (2007.7.4) Dynamic organizations of actin fibers at rest and during enlargement in single dendritic spines. The 8th Meeting of the Japanese *Drosophila* Research Conference, Awajishima.
- H. Kasai (2008.2.26) Actin-based plasticity of dendritic spines. US-Japan Workshop (Asilomar, USA)
- H. Kasai (2008.4.21) Principles of long-term dynamics of dendritic spines. Neuroscience Workshop in NUS (Singapore)
- H. Kasai (2008.5.23) Imaging of exocytosis and endocytosis with two-photon microscope. International Meeting on Exocytosis (Ljubljana, Slovenia)
- H. Kasai (2009.6.23) Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of dendritic spines. Neurotrophic Factor Gordon Research Conference (Rhode Island, USA)
- H. Kasai (2009.12.10) Plasticity and maintenance of dendritic spines. Distinguished International Lecture Series, Duke University (Durham, USA)
- H. Kasai (2010.3.23) In vivo two-photon uncaging in the adult brain. Janelia Conference on Structural Plasticity in the Mammalian Brain (Dulles, VA, USA)
- H. Kasai (2010.10.11) SNARE conformational changes that prepare vesicle for exocytosis. Symposium on New Horizon in Ca signaling, Biophysical Meeting. (Beijing, China).
- H. Kasai (2011.10.28) GABA dependence of synaptic competition in dendritic spines. Max-Planck-Institute/U-Tokyo Symposium (Tokyo).
- H. Kasai, Mitsuyo Ohno, Wakako Sawada, Satoshi Watanabe, Noriko Takahashi (2011.11.1). Two-photon FRET/FLIM imaging of SNARE dependent exocytosis. IUPAB (Beijing, China).
- H. Kasai (2011.12.07). Synaptic competition in the dendritic spines of CA1 pyramidal neurons. 高等研シンポジウム (Nara).
- H. Kasai (2012.5.24) Structural plasticity of spine synapses studied with two-photon microscope. International Symposium on in vivo microscopy (Helsinki, Finland).
- H. Kasai, Tatsuya Hayama, Jun Noguchi, Satoshi Watanabe (2012.6.30) Synaptic competition in the dendritic spines. Jacques-Monod Symposium in "Imaging neuronal functions: from molecules to circuits," (Roscoff, France).
- H. Kasai (2013.7.19). Structural plasticity of spine synapses in vitro and in vivo, Current trends and future directions of synaptic plasticity research, US/Japan joint workshop (Seattle, USA).
- H. Kasai (2013.9.5). Imaging synaptic function and plasticity. MRC-JST-British Embassy Tokyo Workshop: The use of next generation optical microscopy for neuroscience disease challenges (Tokyo).
- H. Kasai & A. Hayashi (2014.4.2) Labeling and erasure of dendritic spines and motor learning with novel synaptic optogenetic probes *in vivo*. Janelia Conference for "Structure and function of synapses" (Dulles, USA)
- H. Kasai & S. Yagishita (2014.5.10) A critical time window for dopamine actions on the dendritic spines in ventral striatum. Max-Planck-Institute/U-Tokyo Symposium (Florida, USA).
- H. Kasai & N. Takahashi (2014.8.5) FRET/FLIM analysis of SNARE structure and function in presynaptic terminals. Gordon Research Conference on Synaptic Transmission (New Haven, USA).

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

### (3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

科学研究費特別推進研究「大脳棘シナプスと分泌現象の2光子顕微鏡による研究」

2009-2013 430,900 千円

脳科学研究戦略推進プログラム課題G 「側坐核スパイン形態可塑性の2光子解析」

2011-2015 年度 50,000 千円

国際ヒューマンフロンティア研究グラント 「光制御G蛋白を用いたシナプスオプトジェネティクスの建設」

2010-2014 年度 24,000 千円

科学研究費基盤研究A「大脳シナプスと記憶回路の2光子顕微鏡と新規光プローブを用いた研究」

2014-2016 年度 28,000 千円

JST 戦略的国際科学技術協力推進事業日本-英国研究交流 「シナプスオプトジェネティクスによる正常・精神疾患モデル動物の大脳記憶回路の研究」 2014-2016 年度 15,000 千円

### (4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

#### i) 個体でのスパイン動態と精神疾患の関係

スパイン動態をスライスで定量化する実験の結果、「揺らぎ」の重要性が認識されたので(Yasumatsu et al. J. Neurosci. 2008)、個体動物での測定に挑戦してきた。個体動物の大脳表面で慢性的な薬物還流を行うとか、GCaMP6により阻害剤の効果を確認するなどの手続きにより、活動依存的可塑性が起きない条件にしても、スパインの生成消滅の大部分は存続することがわかった。そこで、精神遅滞モデル動物である FMRPKO 動物で同じ測定を行うと、この活動非依存的揺らぎが2-3倍亢進していることがわかった。これまで、スパインの形態変化は活動依存的なもののみ考えられてきたが、シナプスの動態や疾患を理解するには、「揺らぎ」や「自発的生成主滅」を考慮することが必須であることがわかった。この「揺らぎ」を阻害する薬を見つけており、その作用を調べて発表予定である。

#### ii) モノアミンによるスパイン可塑性調節

スパイン収縮の研究から偶然 GABA の新しい作用を見つけたが、モノアミンのスパインへの作用は誰もまだ調べていなかった。我々は、側坐核の中型有棘細胞でドーパミンの作用を調べたところ、ドーパミンはスパイン増大を強力に促進するが、このドーパミン作用は STDP 刺激に遅れること 0.3-2 秒の範囲でのみ有効で、ちょうど条件付け学習或は強化学習の報酬時間枠に該当する機構をスパインが持っていることを見つけた。スパインは Hebb 学習だけでなく強化学習をし、ドーパミンは報酬信号となっている（論文投稿中）。特別推進研究で見つけた形態可塑性を指標として、伝達物質が脳に記憶を刻む様子の解明が進んできた。

#### iii) 個体動物におけるスパインシナプスの操作的研究

ケイジドグルタミン酸は少数のスパインを操作するにはいいが、動物行動へのスパインの影響を見るほど沢山のスパインを改変することはできない。我々はスパインシナプスの可塑性が形態的であることを利用して、細胞運動のレギュレータである Rac1 を蛋白的にケイジする技術を用いて(Wu et al. Nature 2009)、遺伝子導入により大量のシナプスを改変する技術を開発している。この際、特別推進研究で見つけた頭部増大の蛋白質合成依存性という性質を使い、記憶関連シナプスにこの光プローブを送り込むことに成功し、獲得した記憶を消去できるようになった（論文準備中）。この技術の改良と発展により、記憶痕跡を回路レベルで可視化する脳機能の抜本的方法論が築かれる可能性がある。

#### iv) 開口放出プローブの開拓

SNAP25 の分子内プローブを神経に適用した所、分泌細胞とは比較にならない程強いシグナルが得られることが明らかとなった。これをもとに、2光子蛍光寿命イメージングによる分子間 FRET 測定により、3つある SNARE 分子のすべての組み合わせで、複合化の解析を行い、これまで仮想されていただけのシナプス前終末の SNARE 複合体の transSNARE を定量的に測定する技術を開発した。このプローブでスライス標本でシナプス前終末を染め、長期増強刺激を与えると transSNARE が長期的に増量することなどがわかってきた。今後、このプローブは個体でシナプス前終末の機能を追跡し、学習記憶へのシナプス前終末の役割を推定するなどの使用目的が考えられ、確立・改良を続けて行く。

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

### (1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

特別推進研究で開発した2光子グルタミン酸アンケイジ法によるスパインや樹状突起の調査法は世界中の研究室で利用され、神経科学領域を代表する成果をあげてきており、今後も必須の方法と考えられている。以下にその代表例を挙げる。我々の提唱した形態可塑性の概念が、長期増強の最も有力な理論基盤となっている。

Harvey, C. D. & Svoboda, K. Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites. *Nature* **450**, 1195-1200, (2007). 頭部増大自信は広がらないが、その効果は側方にも及ぶ。

Harvey, C. D., Yasuda, R., Zhong, H. & Svoboda, K. The spread of Ras activity triggered by activation of a single dendritic spine. *Science* **321**, 136-140 (2008). 効果が広がる理由は Ras かもしれない。

Losonczy, A., Makara, J. K. & Magee, J. C. Compartmentalized dendritic plasticity and input feature storage in neurons. *Nature* **452**, 436-441 (2008). 樹状突起の枝ごとに Ca スパイクが発生し、その細胞体への伝達効率が調節されている。

Lee, S. J., Escobedo-Lozoya, Y., Szatmari, E. M. & Yasuda, R. Activation of CaMKII in single dendritic spines during long-term potentiation. *Nature* **458**, 299-304 (2009). スパイン頭部増大の際に CaMKII が単一スパインで活性化している。この活性化はカルシウムドメインを必要とする。一方、その活性化は 10 秒しか続かないので CaMKII はその位しか記憶を保持できない。

Govindarajan, A., Israely, I., Huang, S. Y. & Tonegawa, S. The dendritic branch is the preferred integrative unit for protein synthesis-dependent LTP. *Neuron* **69**, 132-146 (2011). 頭部増大は蛋白合成依存的に起きるが、この蛋白合成の結果は、側方に樹状突起の枝一つ分程広がり、分子の取り合いが起きることを示した。

Murakoshi, H., Wang, H. & Yasuda, R. Local, persistent activation of Rho GTPases during plasticity of single dendritic spines. *Nature* **472**, 100-104 (2011). 頭部増大が起きる際に RhoA や Cdc42 の活性化が起きることを FRET 蛍光寿命測定法を用いて示した。Cdc42 の活性はスパインに限局するのに対して RhoA の活性は広がる。

Kwon, H. B. & Sabatini, B. L. Glutamate induces de novo growth of functional spines in developing cortex. *Nature* **474**, 100-104, doi:10.1038/nature09986 (2011). 幼弱期の脳新皮質では樹状突起でアンケイジするとスパイン新生が起きる。この新生は CaMKII に依存せず、PKA に依存する。また、同様な過程は生後 20 日になるともう起きない。

Branco, T., B.A. Clark, and M. Hausser. 2010. Dendritic discrimination of temporal input sequences in cortical neurons. *Science*. 329:1671-1675. 2光子アンケイジで樹状突起に沿って行くと、細胞体に近づく方向のアンケイジの方が遠ざかるアンケイジよりも大きな脱分極を起こす。樹状突起は入力の時空間分布を検出している。

Harnett, M.T., Makara, J.K., Spruston, N., Kath, W.L. & Magee, J.C. Synaptic amplification by dendritic spines enhances input cooperativity. *Nature* (2012) 2光子アンケイジと樹状突起の脱分極を比較することにより、シナプス入力による脱分極はスパインでは 25mV もあるのに対し、樹状突起本幹では 2mV に減衰することがあることを示唆した。

Chiu, C. Q. *et al.* Compartmentalization of GABAergic inhibition by dendritic spines. *Science* **340**, 759-762, (2013). 脳皮質の錐体細胞の一部のスパインは GABA による抑制入力を受ける。この抑制によるカルシウムシグナルの減衰はそのスパインに限局している。

Zhai, S., Ark, E. D., Parra-Bueno, P. & Yasuda, R. Long-Distance Integration of Nuclear ERK Signaling Triggered by Activation of a Few Dendritic Spines. *Science* **342**, 1107-1111 (2013). 樹状突起の少数部位での 2光子アンケイジにより細胞体の ERK の活性化が起きる。この活性化には、異なる枝が刺激された方が有利である。

2光子顕微鏡を用いた開口放出解析は神経シナプスにおけるほど高度な技術を用いる研究室が研究していないことから広く使われるに至っていないが、少数の代表的研究室で利用されている。

Speidel, D. *et al.* CAPS1 and CAPS2 regulate stability and recruitment of insulin granules in mouse pancreatic beta cells. *Cell Metab* **7**, 57-67 (2008).

Zhang, J. & Castle, D. Regulation of fusion pore closure and compound exocytosis in neuroendocrine PC12 cells by SCAMP1. *Traffic* **12**, 600-614 (2011).

2光子顕微鏡を用いた開口放出解析はよりインタクトに近い標本で分子レベルの解析ができ単一の開口放出の可視化もできるので、他の方法に比して信頼性の高い結果が得られることが認められている。我々のこの部分の仕事は、すべての分泌細胞の分泌を神経と同じモデルで考えるドグマに陥っている現在の研究の流れに対抗するものなので、浸透するにはやや長い年月がかかると推定されるが、結局正しいものは残ると信じる。

Kasai, H., Takahashi, N. & Tokumaru, H. Distinct initial SNARE configurations underlying the diversity of exocytosis. *Physiol Rev* **92**, 1915-1964 (2012).

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

## 【研究期間中に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. <i>Nature</i> 429, 761-766.	2光子アンケイジング法でシナプスの長期増強を調べることで、樹状突起スパインが増大する細胞運動が、シナプスに個別可変的に起きることを世界に先駆けて明らかにした。	840
2	Tanaka, J., Horiike, Y., Matsuzaki, M., Miyazaki, T., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2008). Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines. <i>Science</i> 319, 1683-1687.	2光子アンケイジング法にシナプス後部のスパイクを加えると BDNF 及び蛋白合成依存的に樹状突起スパインの増大が個別可変的に起きることを明らかにした。	233
3	Noguchi, J., Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2005). Spine-neck geometry determines NMDA receptor-dependent $Ca^{2+}$ signaling in dendrites. <i>Neuron</i> 46, 609-622.	スパインネックの多形性はカルシウムの透過性に影響し、スパインのカルシウム濃度上昇を調節することを明らかにした。	168
4	Honkura, N., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Ellis-Davies, G.C.R. & Kasai, H. (2008). The subspine organization of actin fibers regulates the structure and plasticity of dendritic spines. <i>Neuron</i> 57, 719-729.	スパインには安定と動的な二つのアクチン繊維のプールがあり、頭部増大の際にはこれに加えてやや安定なアクチン繊維のプールが生成する。	143
5	Nemoto, T., Kojima, T., Oshima, A., Bito, H. & Kasai, H. (2004). Stabilization of exocytosis by dynamic F-actin coating of zymogen granules in pancreatic acini. <i>J. Biol. Chem.</i> 279, 37544-37550.	外分泌腺の開口放出の際には、開口放出後に、顆粒にアクチン繊維のコートが起き、この表面に更に内部の顆粒が開口放出する。このコートを阻害すると急性膵炎の様に顆粒が細胞内で膨潤する。	76
6	Tanaka, J., Matsuzaki, M., Tarusawa, E., Momiyama, A., Molnar, E., Kasai, H. & Shigemoto, R. (2005). Number and Density of AMPA Receptors in Single Synapses in Immature Cerebellum. <i>J. Neurosci.</i> 25, 799-807.	免疫電顕で数えた AMPA 受容体の数と 2光子アンケイジングで数えた AMPA 受容体の数は一致する。よって、免疫電顕による AMPA 受容体は機能的な指標を与える。	69
7	Yasumatsu, N., Matsuzaki, M., Miyazaki, T., Noguchi, J. & Kasai, H. (2008). Principles of long-term dynamics of dendritic spines. <i>J. Neurosci.</i> 28: 13592-13608.	スパインは学習刺激で形態変化をするだけでなく、ゆっくりとした揺らぎがあり、これによりシナプス結合の安定性や頭部体積の分布が決まる。	64
8	Hatakeyama, H., Kishimoto, T., Nemoto, T., Kasai, H. & Takahashi, N. (2006). Rapid glucose sensing by protein kinase A for insulin exocytosis in mouse pancreatic islets. <i>J. Physiol. (Lond.)</i> , 570, 271-282.	インスリン分泌の際には PKA が必須で、これが細胞内のグルコース代謝を検出して開口放出を直接増強する。	40
9	Hatakeyama, H., Takahashi, N., Kishimoto, T., Nemoto, T., & Kasai, H. (2007). Two cAMP-dependent pathways differentially regulate large-dense core and small vesicles in mouse $\beta$ cells. <i>J. Physiol. (Lond.)</i> 582, 1087-1098.	膵臓ベータ細胞にはインスリン顆粒以外に小型小胞があり、cAMP は両方の分泌を促進するが、PKA はインスリン顆粒の分泌しか促進しない。	38
10	Kishimoto, T., Liu, T.-T., Hatakeyama, H., Nemoto, T., Takahashi, N. & Kasai, H. (2005). Sequential compound exocytosis of large dense-core vesicles in PC12 cells studied with TEPIQ (two-photon extracellular polar-tracer imaging-based quantification) analysis. <i>J. Physiol. (Lond.)</i> 568, 905-915.	2光子顕微鏡により、小胞の大きさを計りながら開口放出を測定する手法を確立して、PC12細胞においても逐次開口放出が盛んに起きてくることを明らかにした。	29



## 【研究期間終了後に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Kasai, H., Fukuda, M., Watanabe, S., Hayashi-Takagi, A. & Noguchi, J. (2010). Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. <i>Trends Neurosci.</i> 33, 121-129.	2004-2008年の期間のスパインの研究の総括と今後の展望をまとめた総説。スパインの形態や運動に関する総説として最も広く引用されるものの一つとなった。	164
2	Kantevari, S.*, Matsuzaki, M.*, Kanemoto, Y., Kasai, H. <sup>CA</sup> & Ellis-Davies, G.C.R. <sup>CA</sup> (2010). Two-color, two-photon uncaging of glutamate and GABA. <i>Nature Methods</i> 7, 123-125.	2光子励起法により、グルタミン酸とGABAの両方をアンケイジングする技術を初めて確立した。	36
3	Hira, R., Honkura, N., Noguchi, J., Maruyama, Y., Augustine, G.J., Kasai, H., & Matsuzaki, M. (2009). Transcranial optogenetic stimulation for functional mapping of the motor cortex. <i>J. Neurosci. Methods</i> , 179: 258-263.	チャンネルロドプシン導入変異動物において、頭皮をとるだけで経頭蓋的に光刺激を行い、大脳運動やの機能局在を求める手法を確立した。	32
4	Matsuzaki, M., Hayama, T., Kasai, H. & Ellis-Davies, G.C.R. (2010). Two photon uncaging of $\gamma$ -aminobutyric acid probes on neurons in intact brain tissue. <i>Nature Chemical Biology</i> 6, 255-257.	GABAの2光子励起によるアンケイジング法を初めて確立し、海馬錐体細胞ではスパインには局在がなく、軸索に局在があることを明らかにした。	31
5	Takahashi, N., Hatakeyama, H., Okado, H., Noguchi, J., Ohno, M. & Kasai, H. (2010). SNARE conformational changes that prepare vesicles for exocytosis. <i>Cell Metabolism</i> 12, 19-29.	開口放出を起こす蛋白質SNARE分子のFRETを測定する系を初めて構築した。遅いインスリン分泌は低いFRET領域から起き、開口放出に先行したFRETシグナルの上昇があるので、SNAREの複合化により遅い開口放出が起きると結論された。	25
6	Noguchi, J., Nagaoka, A., Watanabe, S., Ellis-Davies, G.C.R., Kitamura, K., Kano, M., Matsuzaki, M. & Kasai, H. (2011). <i>In vivo</i> two-photon uncaging of glutamate revealing the structure-function relationships of dendritic spines in the neocortex of adult mice. <i>J. Physiol.</i> 589: 2320-2329.	2光子励起法によるグルタミン酸アンケイジング法を個体動物大脳に応用する技術を開発して、成熟動物の大脳新皮質の錐体細胞でもスパインの形態と機能は相関することを明らかにした。	22
7	Kasai, H., Takahashi, N. & Tokumaru, H. (2012). Distinct initial SNARE configurations underlying the diversity of exocytosis. <i>Physiol. Rev.</i> , 92:1915-1964.	多様な分泌細胞における開口放出分子機構を整理して再考し、統一的に説明する基盤を解説した。	12
8	Kanemoto, Y., Matsuzaki, M., Morita, S., Hayama, T., Noguchi, J., Senda, N., Momotake, A., Arai, T., & Kasai, H. (2011). Spatial distributions of GABA receptors and local inhibition of $Ca^{2+}$ transients studied with GABA uncaging in the dendrites of CA1 pyramidal neurons. <i>PLoS ONE</i> , 6: e22652.	2光子励起によるGABAのアンケイジングを利用して、樹状突起におけるGABAによるカルシウム上昇の抑制を調べた結果、側方20ミクロン以上広がらないことが明らかになった。	6
9	Hayama, T., Noguchi, J., Watanabe, S., Ellis-Davies, G.C.R., Hayashi, A., Takahashi, N., Matsuzaki, M. & Kasai, H. (2013). GABA promotes the competitive selection of dendritic spines by controlling local $Ca^{2+}$ signaling. <i>Nature Neurosci.</i> 16:1409-1416.	スパインの収縮は、増大と異なり側方に広がりシナプス競合を起こす。その誘発にはスパイクに伴うカルシウム上昇の抑制が必要でGABAによる抑制が先行することが有利で、カルシウムドメインによりシナプス入力を検出するなど多数の新初見を得た。	2
10	Lam, P.*, Ohno, M.*, Subhankar, D.*, He, Y., Qin, T., Lian, T., Zhu, D., Kang, Y., Liu, Y., Kauppi, M., Xie, L., Wan, W., Bin, N., Sugita, S., Olkkonen, V., Takahashi, N., Kasai, H. <sup>CA</sup> & Gaisano, H.Y. <sup>CA</sup> (2013). Munc18b is a major mediator of insulin exocytosis in rat pancreatic $\beta$ -cells. <i>Diabetes</i> . 62:2416-2428.	2光子顕微鏡による膵臓ランゲルハンス島のインスリン開口放出測定で、神経と異なり、Munc18bが主としてインスリン分泌を起こしていることを明らかにした。	2

### 3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

#### 論文発表の引用

交付期間及びその後に発表した55編の論文は、*Nature*, *Cell*, *Science*, *Nature Neuroscience*, *Neuron*, *PNAS* など2,000編以上の論文に引用された。

#### 受賞

2012年 上原賞（上原記念生命科学財団）  
「大脳シナプスと分泌機構の2光子顕微鏡を用いた研究」

#### 東京大学医学部「健康と医学の博物館」での企画展

2012年 3-8月 「記憶と大脳の樹状突起スパイン」  
2014年 3-8月 「インスリンが分泌されるしくみを蛋白レベルで解明」

#### 研究成果の新聞発表

2004年8月18日（木）朝刊 朝日新聞 「神経細胞のシナプス記憶時に増大」  
2008年3月6日（水）朝刊 日経産業新聞 「たんぱく質が記憶促進」  
2008年3月24日（金）日経産業新聞「記憶形成 神経細胞の変形関与」  
2009年1月11日（日）読売新聞「脳神経細胞 学習以外でも「ゆらぎ」」  
2010年7月20日（金）科学新聞 「インスリン分泌を起こすタンパク質の構造変化」  
2013年8月26日 日刊工業新聞にて掲載「東大、脳内メカニズム解明－記憶の選別にGABAが関与」  
2013年8月26日 時事ドットコムにて掲載「記憶定着、詳細な仕組み解明＝脳神経接合部で伝達物質の新たな働き発見－東大」

#### テレビ放映

2006年12月13日（水）NHKハイビジョン特集「赤ちゃん 脳と体の成長の神秘」  
2011年7月30日（金）NHKサイエンスゼロ「神経細胞の不思議」画像提供出演

## 3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

(当時のポジション)

(現在のポジション)

准教授

基礎生物学研究所 教授

助教

北海道大学電子科学研究所 教授

特任講師

東京大学医学系研究科 講師

特任助教

東京大学医学系研究科 助教

助教

医学部学生

博士研究員

東北大学生命科学研究科 独立助教

博士研究員

Uppsala 大学 博士研究員

博士課程大学院生

防衛医大 助教

博士課程大学院生

武田薬品工業医薬研究所研究員

博士課程大学院生

基礎生物学研究所 助教

博士課程大学院生

勤務医

博士課程大学院生

特許事務所

修士課程大学院生

London 大学 博士課程大学院生

修士課程大学院生

東京大学医学系研究科 博士研究員