

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「脳神経回路の形成・動作原理の解明と
制御技術の創出」
研究課題「シナプス前性神経回路制御メカニズ
ムの生後発達」

研究終了報告書

研究期間 平成21年10月～平成27年3月

研究代表者:高橋智幸
(同志社大学脳科学研究科・教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

- (I) 伝達物質の放出速度と放出確率に関わる Ca チャネルとシナプス小胞の配置、および距離の生後発達変化を、ラットの calyx of Held において高感度局所 Ca 測光、免疫標識レプリカ電顕(重本グループ)、スライス・パッチクランプ法ピペット灌流法を組み合わせる実験を行い、実験結果に基づいてシミュレーションを行った結果、Ca チャネルクラスターの周縁から小胞までの距離が生後 1-2 週にかけて 30 nm から 20 nm に短縮することによって伝達物質の放出速度が加速されると結論された。Ca チャネルクラスターの中心でなく周縁から小胞までの距離が放出速度を決定するという結論は、従来の Ca ドメイン仮説に大きな修正を加えるものと位置づけられる(*Neuron*, 2015)。
- (II) グルタミン酸のシナプス小胞再充填速度を明らかにするため、calyx of Held 前末端細胞内のグルタミン酸をケージドグルタミン酸に置換して小胞内グルタミン酸を枯渇させた後、光照射によって、瞬時に末端内グルタミン酸濃度を上昇させ、シナプス応答の回復時間から充填時定数が 15 秒であることを明らかにした(*Neuron*, 2012)。
- (III) Ca チャネルの synprint site と前末端タンパク質 synaptotagmin, AP2 の三者間の Ca 濃度依存性相互結合作用がシナプス小胞の endocytosis に必要不可欠なことを、生化学と電気生理学の手法を組み合わせる明らかにした(*J Neurosci* 2010)。
- (IV) ラットの calyx of Held ではエンドサイトーシスはすべて細胞内 Ca に依存しているが、個体の成熟と共に、細胞内 bulk Ca 濃度に依存する calmodulin/calcineurin 依存性エンドサイトーシスは作動しなくなり、endocytosis は専ら Ca 流入直後の高濃度ドメインに依存するようになることを膜容量測定によって明らかにした(*Nature Neuroscience* 2010)。
- (V) シナプス前末端から放出されるグルタミン酸の量に応じてシナプス後細胞の NMDA 型受容体チャネルを流入する Ca が増大し、それによって NO の合成が盛んになり、シナプス前末端の PKG を活性化させる結果 PIP₂ レベルが上昇して endocytosis が加速することを明らかにした(*Neuron*, 2012)。次いで、PKG から PIP₂ へのカスケードが Rho kinase によって媒介されることを明らかにした(*J Neurosci*, 2013)。
- (VI) カリックス巨大前末端を細胞培養で新たに形成させて、シナプス小胞の動態を可視化する方法を開発した。更に巨大シナプスの形成、刈込と構造、機能分化に必要な因子を明らかにした(投稿中)。
- (VII) アルツハイマー病の原因タンパク質のひとつタウ、およびパーキンソン病の原因タンパク質シヌクレインをそれぞれラット calyx of Held シナプス前末端に注入したところシナプス伝達に異常が認められた。これらタンパク質の標的と作用メカニズムには共通点が認められた(投稿準備中)。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 論文: Yamashita et al., *Nature Neurosci.* (2010)

概要: シナプス小胞の exocytosis が Ca²⁺に依存することはよく知られているが、小胞の回収再利用に関わる endocytosis が Ca²⁺に依存するかについては明らかでなかった。この研究では、未成熟、および成熟個体のシナプス前末端へ Ca²⁺キレート剤を注入して、いずれの時期においても膜容量測定によって記録される endocytosis が Ca²⁺に依存することを明らかにした。未成熟シナプスでは bulk Ca²⁺が calmodulin と下流の calcineurin を活性化して endocytosis を誘発するが、成熟シナプスでは Ca²⁺チャネル直下の nanodomain が endocytosis 誘発の主役となることを明らかにした。

2. 論文 : Hori and Takahashi. *Neuron*. (2012)

概要 : グルタミン酸のシナプス小胞への充填時定数は、分離小胞における測定では数分を超えているが、この値は小胞枯渇後の伝達回復時間が数十秒であることと整合しない。シナプス前末端内の MNI-glutamate からグルタミン酸を UV パルスによって放出させて、小胞内へのグルタミン酸充填速度を EPSC の回復時間から測定し、時定数が 15 秒であることを明らかにした。更に、シナプス前末端内の Cl 濃度がグルタミン酸充填速度を修飾することを明らかにした。

3. 論文 : Eguchi et al., *Neuron*. (2012) および Taoufiq et al., *J Neurosci*. (2013)

概要 : シナプス前末端内における分子カスケードとシナプス機能の関係には未知の点が多い。ポストシナプスの NMDA 受容体から流入する Ca によって産生された NO がプレシナプスの cGMPP 上昇により PKG を活性化すると、Rho kinase が活性化され、PIP₂ の濃度が上昇するという一連のカスケードが作動し、これによって、小胞 endocytosis が加速されることを明らかにした。このシステムはプレシナプスが exocytosis の増大を感知して小胞の枯渇を防ぐ仕組みと解釈される。

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

1. カリックス巨大前末端を細胞培養で新たに形成させて、シナプス小胞の動態を可視化する方法を開発した。

特許 : WO/2013/144999

NEURONAL CULTURE MEDIUM AND METHOD FOR PRODUCING IN VIVO-LIKE AND ENHANCED SYNAPTOGENESIS NEURON MODEL
(生体内同様のシナプス形成を促進する神経培養液と培養方法)

概要 : 培養液中に NT-3, KCl, FGF2 を加える培養法の改良により、生体内におけるシナプス形成を再現するニューロンモデル培養法を考案した。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 高橋グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
高橋 智幸	同志社大学 脳科学研究科	教授	H21.10～H27.3
齋藤 直人	同志社大学生命医科学部	准教授	H21.10～H27.3
堀 哲也	同志社大学 脳科学研究科	嘱託研究員	H21.10～H27.3
中村 行宏	同上	嘱託研究員	H21.10～H25.3
三木 崇史	同志社大学生命医科学部	特別研究員	H22.4～H25.12
山下 愛美	同志社大学 脳科学研究科	特別研究員	H25.6～H27.3
田坂 侑美	同志社大学	技術員	H23.4～H27.3
山下 貴之	沖縄科学技術大学院大学 細胞分子シナプス機能	研究員	H21.10～H22.8
高木 博	同上	研究員	H22.9～H27.3
江口 工学	同上	研究員	H21.10～H27.3
Guiland Laurent	同上	研究員	H22.4～H27.3
中西 節子	同上	研究員	H22.4～H27.3
Dimitrov Dimitar	同上	研究員	H24.4～H27.3
Zacharie Toufiq	同上	研究員	H24.4～H27.3
大町 優史	同上	研究員	H25.4～H27.3
Ananda Babu Lashmi Piriya	同上	大学院生	H25.5～H27.3

研究項目

- ・ 1. カリックスシナプス前末端イメージング
- 2. シナプス小胞回収機構の生後発達
- 3. シナプス前末端 Ca チャネル生後発達スイッチ機構
- 4. 伝達物質小胞充填機構
- 5. シナプス伝達維持機構

② 重本グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
重本 隆一	生理学研究所	教授	H22.4～H25.3
釜澤 尚美	同上	特任助教	H22.4～H22.12
松井 広	同上	助教	H22.4～H25.3
Laxm Kumar Parajuli	総合研究大学院大学	大学院生	H22.4～H25.3
Dwi Wahyu Indriati	同上	大学院生	H22.4～H25.3
原田 春美	生理学研究所	専門研究職員	H23.4～H25.3

研究項目
シナプス前末端 Ca チャネルの免疫電顕的解析

③ 高森グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
高森 茂雄	同志社大学 脳科学研究科	教授	H26.4～H27.3
森 靖典	同上	特定任用研究員 (助教)	H26.4～H27.3
江頭 良明	同上	特定任用研究員 (助教)	H26.4～H27.3
高瀬 美樹	同志社大学 研究支援課	技術員	H26.4～H27.3

研究項目
シナプス小胞の動態と endocytosis 調節機構

§ 3 研究実施内容及び成果

1. カリックスシナプス前末端イメージング

1-1 マイクロドメイン Ca transient

神経終末端内において、電位依存性 Ca^{2+} チャンネルと開口可能小胞間の距離がシナプス伝達強度と精度を決定すると考えられているが、両者の空間配置は良く分かっていない。ラット脳幹の calyx of Held 前末端における $\text{Cav}2.1$ の分布を freeze-fracture replica immunogold labeling により測定し、活動電位で誘発した局所 Ca^{2+} transient を共焦点顕微鏡下に記録し、パッチ電極灌流によって EGTA を calyx 細胞内に注入して神経伝達抑制効果を検討した。生後 1-3 週齢を通じて $\text{Cav}2.1$ はクラスターを形成し、EPSC は 10 mM の EGTA によって抑制されたが、抑制効果は生後発達と共に減弱した。この結果から、開口可能小胞が Ca^{2+} チャンネルクラスターの縁に局在するという perimeter-coupled 放出モデルを提唱してシミュレーションを行った結果、小胞は周辺から数 10 nm 離れて局在し、EGTA の EPSC 抑制効果と伝達物質放出時間の生後発達変化は、この距離が 10 nm 程度短縮することによって説明された。このモデルではクラスター内 Ca^{2+} チャンネル数は放出確率を決定するが、放出精度を決定するクラスター小胞間距離にはほとんど関わらないことが明らかになった (*Neuron*, 2015)。

1-2 培養カリックスイメージング立上げ

培養カリックスシナプス形成のための最適条件が見つかり、培養カリックスシナプス標本が安定に供給できるようになった。

1-3 シナプス小胞の動態

Quantum dot を取り込ませてラベルした小胞の移動距離と速度を、シナプス静止状態において計測した。その結果、カリックスの finger 内における遅い短距離の移動と、finger を越える、長距離の速い移動があることが判明した。

1-4 巨大シナプス形成分子メカニズム

カリックス培養条件の探索を通じて、巨大シナプスの形成に栄養因子 NT3 とその受容体 TrKC が重要かつ特異的な役割を果たすことが明らかになった。

1-5 シナプス cAMP イメージング :

細胞内 cAMP 濃度変化をモニターするプローブを開発し、細胞内およびミトコンドリア内の cAMP 濃度を 2 波長で定量し、リアルタイムで測定できるようになった。

2. シナプス小胞グルタミン酸再充填機構

ホールセルピペット内液によって前末端内のグルタミン酸を洗い流して小胞内グルタミン酸を枯渇させ、MNI glutamate photolysis によって前末端内のグルタミン酸濃度を急速に上昇させ、EPSC 振幅の増大と mEPSC の頻度上昇から小胞内へのグルタミン酸充填速度を測定するための実験系を確立した。次いで、充填率と充填速度の関係を求め、充填速度と充填率の Cl 依存性と生後発達変化を明らかとした。その結果、充填速度時定数は室温で、15 秒、 Q_{10} 2.4 と特定した。更にこの時定数が、生後 7-14 日にかけて加速すること、Cl の低濃度 (<mM)、高濃度 (>100 mM) において遅くなることを明らかにした (*Neuron* 2012)。

3. シナプス前末端 Ca チャネル生後発達スイッチ機構

小脳スライス培養プルキンエ細胞-深部核シナプスにおいて、生後発達に伴う Ca チャネルサブタイプの N 型→P/Q 型スイッチを再現した。このスイッチは TTX または低 Ca/Mg 下の培養でブロックされたが BDNF、または NT4 の投与により回復した。神経活動によって放出される BDNF および NT4 が TrkB を介して Ca チャネルサブタイプをスイッチさせると結論された (*J Neurosci* 2013)。

4. シナプス小胞回収機構の生後発達

4-1 小胞の endocytosis はシナプス前末端に流入する Ca 流入によってトリガーされる。生後発達に伴って endocytosis に関わる Ca 領域のサイズが 10 mM EGTA, 1 mM BAPTA の及ぶ microdomain から 10 mM BAPTA のみが達することのできる nanodomain に縮小することを明らかにした。Endocytosis の CaM/calcineurin 依存性および GTP 依存性が生後発達によって変化することを明らかにした (*Nature Neurosci* 2010)。

4-2 プレシナプスの PKG に媒介される endocytosis の促進機構を明らかにした。この機構は個体の成熟と共に獲得され、exocytosis とカップルしてシナプス小胞数を維持することによりシナプス伝達を維持することを明らかにした (*Neuron* 2012)。更にこのカスケードが Rho kinase によって媒介されることを明らかにした (*J Neurosci* 2013)。

4-3 アルツハイマー病の原因蛋白質の一つとされるタウをシナプス前末端に投与すると、シナプス小胞の endocytosis がブロックされ、次いでシナプス伝達がブロックされることを見出した。

Ca チャネルの免疫電顕解析 (重本グループ)

P/Q 型 Ca チャネル Cav2.1 の特異的抗体の登場に伴い、これを用いたレプリカ電顕解析が可能になったため、重本グループを加わえて、カリックス Ca チャネルの分布と、生後発達変化を解析した。その結果 Ca チャネルは専ら active zone にクラスター形成することが明らかになった。

§ 4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際 (欧文) 誌 8 件)

■原著論文 (国際 (欧文) 誌)

1. Watanabe H, Yamashita T, Saitoh N, Kiyonaka S, Iwamatsu A, Campbell KP, Mori Y, Takahashi T. (2010) Involvement of Ca²⁺ channel synprint site in synaptic vesicle endocytosis. *J Neurosci*. 30: 655-660.
2. Yamashita T, Eguchi K, Saitoh N, von Gersdorff H, Takahashi T. (2010) Developmental shift to a mechanism of synaptic vesicle endocytosis requiring nanodomain Ca²⁺. *Nature Neurosci*. 13: 838-844.
3. Eguchi K, Nakanishi S, Takagi S, Taoufiq Z, Takahashi T. (2012) Maturation of a PKG-dependent retrograde mechanism for exo-endocytic coupling of synaptic vesicles. *Neuron*. 74: 517-529.
4. Hori T, Takahashi T. (2012) Kinetics of synaptic vesicle refilling with neurotransmitter glutamate. *Neuron*. 76: 511-517.
5. Parajuli LK, Nakajima C, Kulik A, Matsui K, Schneider T, Shigemoto R, Fukazawa Y. (2012) Quantitative regional and ultrastructural localization of the Cav2.3 subunit of R-type calcium channels in mouse brain. *J Neurosci*. 32: 13555-13567.
6. Taoufiq Z, Eguchi K, Takahashi T. (2013) Rho-kinase accelerates synaptic vesicle endocytosis by linking cyclic GMP-dependent protein kinase activity to phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate synthesis. *J Neurosci*. 33: 12099-12104.
7. Miki T, Hirai H, Takahashi T. (2013) Activity-dependent neurotrophin signaling underlies developmental switch of Ca²⁺ channel subtypes mediating neurotransmitter release. *J Neurosci*. 33: 18755-18763.
8. Indriati DW, Kamasawa N, Matsui K, Meredith AL, Watanabe M, Shigemoto R. (2013) Quantitative localization of Cav2.1 (P/Q-type) voltage-dependent calcium channels in Purkinje cells: somatodendritic gradient and distinct somatic co-clustering with calcium-activated potassium channels. *J Neurosci*. 33: 3668-3678.
9. Nakamura Y, Harada H, Kamasawa N, Matsui K, Rothman JS, Shigemoto R, Silver A, DiGregorio DA, Takahashi T. Nanoscale distribution of presynaptic Ca²⁺ channels and its impact on vesicular release during development. *Neuron*. 85: 145-158.

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. Takahashi T, Hori, T, Nakamura Y, Yamashita T (2012) Patch-clamp recording method in slices for studying presynaptic mechanisms: In Patch clamp techniques. (Okada Y ed.) pp. 137-145. Tokyo: Springer.
2. 高橋智幸, 堀哲也, 中村行宏, 山下貴之 (2011). プレシナプス機構のパッチクランプ研究法. In 最新パッチクランプ実験技術法. (岡田泰伸編) , pp. 96-102, 京都: 吉岡書店.

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 0 件、国際会議 10 件)

■招待講演詳細情報(国際)

1. Takahashi T. Diverse and dynamic roles of presynaptic Ca²⁺ channel and Ca²⁺ domain in synaptic signaling. The 87th Annual Meeting of Japan Physiological Society, Hagiwara Memorial Lecture, Morioka, Japan, 2010/5/19-21.
2. Takahashi T. Diverse and dynamic roles of presynaptic Ca²⁺ channels. Kyoto

- University GCOE symposium. Kyoto, Japan, 2010/12/10.
3. Takahashi T. Working on Ca transients in the past and present. Symposium in Memory of Fabrizio. Rome, Italy, 2010/9/19-20.
 4. Takahashi T. Postnatal development of the mechanism for the maintenance of central synaptic transmission. The 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Special Lecture, Ngoya, Japan, 2012/9/18-21.
 5. Takahashi T. Vesicle reuse for the maintenance of synaptic transmission. Conference "Cellular Mechanisms of Sensory Processing". Goettingen, Germany, 2012/10/9.
 6. Takahashi T. Looking into factories in the nerve terminal. Riken BSI Summer Program. Wako, Saitama, Japan, 2013/7/2.
 7. Takahashi T. Perimeter Ca²⁺ channel coupling to transmitter release at developing calyces of Held. 16th International Winter Conference. Solden, Austria, 2014/4/8-12.
 8. Takahashi T. Imaging presynaptic functions at the calyx of Held. Nikon Imaging Center at Harvard Medical School Imaging Symposium. Harvard Medical School, Boston, USA, 2014/5/2.
 9. Takahashi T. Imaging presynaptic activity at calyceal synapses in culture. Jacques-Monod Conference, Roscoff, France, 2014/6/11-15.
 10. Takahashi T. Visiting factories in the nerve terminal. NIH Neuroscience Seminar. NIH/NINDS, Bethesda, Maryland, USA. 2015/1/12

② 口頭発表 (国内会議 3 件、国際会議 7 件)

■口頭発表 (国際)

1. Eguchi K. Retrograde regulation of synaptic vesicle endocytosis at calyx of Held, OIST International Workshop: Molecular & Structural Organization of Presynaptic Function and Plasticity, Okinawa, Japan, 2011/7-9.
2. Nakamura Y. Developmental changes in Ca domain at the calyx of Held, OIST International Workshop: Molecular & Structural Organization of Presynaptic Function and Plasticity, Okinawa, Japan, 2011/7-9.
3. Hori T. Refilling rate of synaptic vesicles with glutamate in the mammalian presynaptic terminal, OIST International Workshop: Molecular & Structural Organization of Presynaptic Function and Plasticity, Okinawa, Japan, 2011/7-9.
4. Hori T., Takahashi T. Refilling rate of synaptic vesicles with glutamate in the mammalian presynaptic terminal, The 41st Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA, 2011/11/14.
5. Eguchi K. Postnatal development of PIP2-dependent vesicle endocytosis at the calyx of Held, The 41st Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington, DC, USA, 2011/11/14.
6. Hori T. The physiological importance of synaptic vesicle filling rate with neurotransmitter. 2013 JSPS Core-to-Core Program Symposium, "Mechanisms of Synaptic Transmission", Doshisha University, Kyoto, Japan, 2013/12/5-6
7. Eguchi K. The acceleration mechanisms of synaptic vesicle endocytosis by Rho-associated protein kinase. 2013 JSPS Core-to-Core Program Symposium, "Mechanisms of Synaptic Transmission", Doshisha University, Kyoto, Japan, 2013/12/5-6

■口頭発表(国内)

1. Eguchi K. The retrograde regulation of synaptic vesicle endocytosis via RhoA/Rho-kinase at calyx of Held synapse. NIPS meeting, "Newly molecules for signal transduction and its physiological potentialities". National Institute for

- Physiological Sciences (NIPS), Okazaki, Aichi, Japan, 2013/09/26-27.
2. Hori T. Physiological importance of the rate of synaptic vesicle filling for maintaining fast synaptic transmission in the mammalian CNS. The 91th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. Kagoshima University, Kagoshima, Japan, 2014/3/16-18.
 3. Eguchi K. The Regulatory mechanisms of synaptic vesicle dynamics in central nervous system. The meeting for the research on sense information processing, Hotel centraza hakata, Fukuoka, Japan, 2014/6/28.
- ③ ポスター発表 (国内会議 10 件、国際会議 6 件)

■ポスター発表(国際)

1. Yamashita T., Eguchi K, von Gersdorff H, Takahashi T. Developmental rearrangements of the mechanisms underlying vesicular endocytosis at the calyx of Held. The 39th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Chicago, USA, 2009/10/19.
2. Nakamura Y., Silver RA, Takahashi T. Developmental reduction in functional Ca²⁺ channel density tightens Ca²⁺ secretion coupling at a central excitatory synapse. The 39th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Chicago, USA, 2009/10/19.
3. Eguchi K. Postnatal development of PIP2-dependent vesicle endocytosis at the calyx of Held. The 41st Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington, DC, USA, 2011/11/14.
4. Guillaud L., Dimitrov D, Takahashi T. Wnt7a and nicotine enhance synaptogenesis and vesicular glutamate transporter heterogeneity in cultured calyceal synapses. Society for Neuroscience (SFN) 2013, San-Diego, U.S.A., 2013/11/9-13.
5. Taoufiq Z., Eguchi K, Takahashi T. Rho-kinase plays a key role in balancing exocytosis and endocytosis of synaptic vesicles via regulating the level of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. Society for Neuroscience (SFN) 2013, San-Diego, U.S.A., 2013/11/9-13.
6. Eguchi K., Taoufiq Z, Takahashi T. Rho-kinase accelerates synaptic vesicle endocytosis by modulating phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. 9th FENS (Federation of European Neuroscience Society) forum of Neuroscience, MiCo, Milan, Italy, 2014/7/5-9.

■ポスター発表(国内)

1. Eguchi K., Takahashi T. Protein phosphorylation regulates vesicle exo/endocytosis at the calyx of Held synapses. The 33th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Kobe, Japan, 2010/9/2-4.
2. Eguchi K., Nakanishi S, Takagi H, Takahashi T. Postnatal development of retrograde upregulatory mechanism of vesicle endocytosis at a fast synapse. The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama, Japan, 2011/9/16.
3. Akahane M., Hori T, Takahashi T. Activity-dependent regulation of recycling synaptic vesicles at the calyx of Held presynaptic terminals. The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama, Japan, 2011/9/17.
4. Eguchi K., Nakanishi S, Taoufiq Z, Takagi H, Takahashi T. The role of postnatal development of PKG-dependent vesicle endocytosis at the calyx of Held. The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Matsumoto, Japan, 2012/3/29.
5. Dimitrov D., Takagi H, Guillaud L, Nakanishi S, Saitoh N, Takahashi T. The neurotrophin-3 receptor TrkC mediates structural and functional development of calyceal giant synapses in dissociated culture of auditory brainstem neurons. 第36

- 回日本神経科学大会 (Neuro 2013) , Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan,2013/6/20-23.
6. Nakanishi S, Takahashi T. P/Q-type Ca²⁺ channels visualized with biotinylated &omega-Aga IV A toxin in transmission electron microscopy at the calyx of Held synapse. 第36回日本神経科学大会 (Neuro 2013) , Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan,2013/6/20-23.
 7. Taoufiq Z, Eguchi K, Takahashi T. Rho-kinase accelerates synaptic vesicle endocytosis by linking PKG activity to phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate synthesis. 第36回日本神経科学大会 (Neuro 2013) , Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan,2013/6/20-23.
 8. Hori T, Akahane M, Takahashi T. Estimation of the recycling pool size at the calyx of Held presynaptic terminal. 第36回日本神経科学大会 (Neuro 2013) , Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan,2013/6/20-23.
 9. Ohmachi M, Takahashi T. Real-time fluorescence imaging of quantum dot-loaded single synaptic vesicles. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Pacifico Yokohama, Yokohama, Kanagawa, Japan, 2014/9/11-13.
 10. Ohmachi M, Takahashi T. Real-time fluorescence imaging of quantum dot-loaded single synaptic vesicles. The 52nd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Sapporo convention center, Sapporo, Hokkaido, Japan, 2014/9/25-27.

(4)受賞・報道等

①マスコミ(新聞・TV等)報道

1. Yamashita et al (2010) Nature Neurosci
日本経済新聞 6月11日朝刊
沖縄タイムス 6月12日
琉球新報 6月23日
2. Eguchi et al (2012) Neuron
日刊工業新聞 5月10日
琉球新報 5月10日
3. Hori & Takahashi (2012) Neuron
京都新聞 11月8日
産経新聞 11月8日
日経産業新聞 11月9日
Nature Chemical Biology, Research Highlights (vol 9, p9, 2013)

§ 5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2011年9月7日-9日	Molecular & Structural Organization of Presynaptic Function and Plasticity	OIST	約 50 名	国際シンポジウム主催 オーガナイザー: 高橋智幸 高森茂雄、Ian Forsythe
2012年12月5日-8日	JSPS Core-to-Core Program Symposium on “Mechanism of synaptic transmission”	同志社大学 京田辺キャンパス	約 50 名	学術振興会拠点形成事業 「神経シナプスナノ生理学拠点の構築」国際シンポジウム オーガナイザー: 高橋智幸
2013年12月5日-6日	JSPS Core-to-Core Program Symposium on “Mechanism of synaptic transmission”	同志社大学 京田辺キャンパス	約 30 名	学術振興会拠点形成事業 「神経シナプスナノ生理学拠点の構築」国際シンポジウム オーガナイザー: 高橋智幸 若手研究者を中心とするシンポジウム。

§6 最後に

