

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02402

研究課題名（和文）新規化合物を用いて迫る概日時計タンパク質CRY1とCRY2の特異性の分子基盤

研究課題名（英文）Isoform selectivity of circadian clock proteins CRY1 and CRY2 analyzed by new chemical tools

研究代表者

廣田 毅 (Hirota, Tsuyoshi)

名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・特任准教授

研究者番号：50372412

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：哺乳類の概日時計を構成するCRYタンパク質には、CRY1とCRY2というよく似たホモログが存在する。これらの機能的な差異の解析は、概日時計がどのように正確に発振するのか、いかに生理機能を調節するのか、という根本的な疑問に対するよいモデル系となる。本研究では、CRY1とCRY2のそれぞれに選択的な新規化合物を見出し、その作用機序を解析することでCRY1とCRY2の特異性を生み出すメカニズムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CRY1とCRY2は配列が非常によく似ているため、選択的な化合物のデザインは困難であった。本研究では、配列がほぼ同一である化合物結合ポケットに対して選択性を生み出すユニークな化合物を見出し、それらの作用機構を解明した。概日時計が乱れるリズム障害は現代社会における深刻な問題となっており、本研究による制御機構の理解と特異的な調節ツールの開発は、CRYを利用した疾患治療法の開発に向けた重要な足がかりとなるであろう。

研究成果の概要（英文）：CRY proteins constituting the mammalian circadian clock have two closely related homologs, CRY1 and CRY2. Functional differences of these proteins provide a model system to tackle fundamental questions regarding how the circadian clock precisely oscillates and controls physiological outputs. In this study, we discovered isoform-selective compounds against CRY1 and CRY2, and by analyzing their mechanism of action, revealed molecular mechanism underlying difference of CRY1 and CRY2.

研究分野：時間生物学

キーワード：概日時計 ケミカルバイオロジー 化合物 CRYタンパク質 選択性

1. 研究開始当初の背景

睡眠・覚醒や代謝など、多様な生理現象は体内に存在する概日時計に支配されて一日周期のリズムを示す。シフトワークや遺伝子変異によって概日時計が攪乱されると睡眠障害や代謝疾患など様々な病気につながる事が知られている。そのため概日時計の分子解析は生物がどのように時間を計って生命活動に利用するのかという本質的な謎に取り組むためだけでなく、概日リズムの変調と諸疾患を時間という観点から理解するためにも非常に重要な課題である。ショウジョウバエを用いた遺伝学および分子生物学を中心に概日時計の分子機構の解明が 1990 年代に急速に進み、哺乳類においては約 10 種類の時計遺伝子が転写・翻訳のフィードバックループを形成することが判明した。このように時計発振の基本骨格が明らかになったものの、例えば時計タンパク質の PER や CRY がどのように転写を抑制するのかといった、各因子が持つ機能の生化学的な実体すらよくわかっていないのが現状である。そのため、概日時計ループが「どのように一日という長い周期で正確に発振するのか」、「いかに生理機能を調節するのか」といった根本的な疑問の大部分は未解明である。

本課題では CRY に注目した研究を行う。CRY には CRY1 と CRY2 というよく似たふたつのホモログが存在する。CRY1 と CRY2 は概日時計ループにおける強力な転写抑制因子として同様に働くが、ノックアウトが周期に与える効果は互いに逆である。さらに、マウス肝臓の ChIP-seq 解析から、CRY1 と CRY2 のそれぞれに特異的な標的遺伝子が多数存在する可能性が報告されている。このように、CRY1 と CRY2 の差異は上述の「一日周期の形成」と「生理機能の調節」という問いに取り組むためのよいモデルになり得る。

私たちはケミカルバイオロジーの手法を応用した研究から、CRY を標的とする初の合成化合物 KL001 を発見した。KL001 は CRY に結合して FBXL3 という E3 リガーゼを介した分解を抑制することで、概日リズムの周期延長を導くことを解明した (*Science* 2012)。さらに KL001 の誘導体を解析し、非常に高い活性を持つ KL044 を見出した (*ChemMedChem* 2015)。KL001 や KL044 は CRY1 と CRY2 の両者に作用するのに対し、全く異なる化学構造を持つ新たな周期延長化合物 A と B を表現型スクリーニングから見出し、驚くべきことに CRY1 選択的に作用することを発見した。これら独自の化合物は CRY1 と CRY2 の機能的な差異を生み出すメカニズムの謎に切り込む有用なツールとなるに違いない。

2. 研究の目的

化合物 A と B という革新的なツール化合物の作用機序解析から、CRY1 と CRY2 の機能制御の本質に迫ることを目的とする。さらに、これらの化合物とは逆に CRY2 に選択性を示す化合物を開発して作用機序を比較し、CRY1 と CRY2 の特異性を生み出すメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

X線結晶構造解析：CRY1 および CRY2 の PHR (Photolyase-Homology Region) を MBP との融合タンパク質として昆虫細胞に大量発現させ、MBP を切除した後に CRY タンパク質を精製した。CRY タンパク質をアポ型として結晶化した後に化合物をソーキング、または化合物と混合した後に結晶化することで、複合体の結晶を得た。回折データは SPring-8 および高エネルギー加速器研究機構において取得した。

概日リズムアッセイ：*Bmal1-dLuc* または *Per2-dLuc* レポーターをもつヒト U2OS 細胞に化合物を様々な濃度で投与し、発光リズムを測定して概日周期に与える影響を解析した。

CRY 分解アッセイ：CRY1 または CRY2 とルシフェラーゼの融合タンパク質を安定発現するヒト HEK293 細胞、または一過性発現するヒト HEK293T 細胞に化合物を様々な濃度で投与し、タンパク質合成を停止した後の発光量の変化を測定して半減期に与える作用を解析した。ルシフェラーゼに対する効果は、ルシフェラーゼのみを発現する細胞を用いて評価した。

Per2 抑制アッセイ：*Per2::Luc* ノックインレポーターをもつ野生型、*Cry1* ノックアウト、*Cry2* ノックアウト、または *Cry1/Cry2* ノックアウトマウス由来の線維芽細胞に化合物を様々な濃度で投与し、発光量を測定して *Per2* 発現に与える影響を解析した。

細胞サーマルシフトアッセイ：CRY1-Flag および CRY2-HA を一過性発現させたヒト HEK293T 細胞に化合物を様々な濃度で投与し、熱変性させた。化合物との相互作用によって変性温度が上昇し、熱変性を免れたタンパク質を遠心分離した後、ウェスタンブロットティングによって CRY1-Flag および CRY2-HA を定量した。

4. 研究成果

CRY1 と CRY2 は高度に保存された PHR ドメインと、互いに異なる CCT (CRY C-Terminal) ドメインからなる (図 1)。CRY1 と CRY2 の両者に作用する化合物である KL001 と KL044 は PHR に存在する FAD 結合ポケットに相互作用する (図 2)。では、CRY1 に選択的な新化合物はどこに、どのように作用するのであろうか。本研究はまず、この疑問に取り組んだ。予備実験の結果から、化合物 A と B は PHR に相互作用することが示唆された。そこで X 線結晶構造解析により、CRY1 の PHR ドメインと化合物 A および B との複合体の構造を明らかにした (図 2)。その結果、どちらの化合物も FAD 結合ポケットに相互作用することが判明した。さらに、これらの化合物の誘導体を用いて構造活性相関を解析した。CRY は *in vitro* で測定できる活性を持たないため、概日リズムの周期に与える作用を細胞レベルで評価した。その結果、それぞれの化合物について、CRY1 と相互作用する部位の改変によって活性が低下し、結晶構造から得られた相互作用様式が溶液中でも成り立つことを明らかにした。

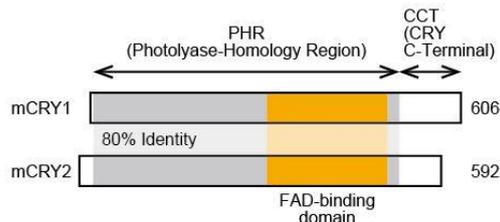


図 1. CRY タンパク質のドメイン構造

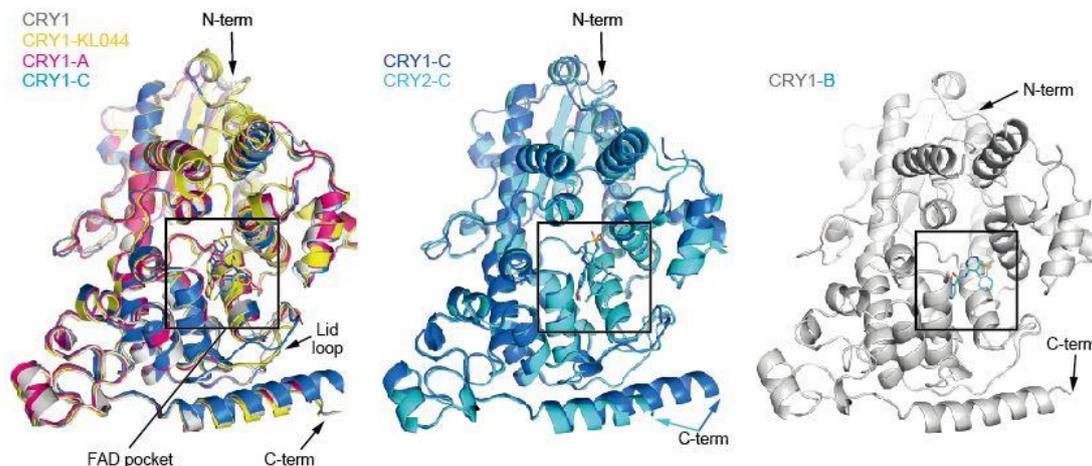


図 2. CRY タンパク質と化合物の結晶構造

これと並行して、CRY1 と CRY2 の違いをより深く理解するための新ツールとして、CRY2 に選択的な化合物を探索した。CRY1 または CRY2 とルシフェラーゼの融合タンパク質を発現する細胞を用いて新規の周期調節化合物が CRY の安定性に与える作用を解析し、CRY2 により強く作用する化合物 C を見出した。興味深いことに、化合物 C の構造は化合物 A と類似していたが、両者の CRY1/2 選択性は逆であった (図 3)。Cry1 および Cry2 ノックアウト細胞を用いて Per2 レポーターの抑制活性ならびに周期延長活性を解析し、化合物 C が内在性の CRY2 に対しても選択的に作用することを明らかにした。さらに CRY2 の PHR ドメインの発現・精製系を構築し、化合物 C との複合体の構造を X 線結晶構造解析によって明らかにした (図 2)。化合物 A と同様に、化合物 C も FAD 結合ポケットに相互作用していた。化合物 C の誘導体が概日リズムの周期に与える作用を細胞レベルで評価して構造活性相関を解析し、結晶構造におけるタンパク質と化合物の相互作用様式が溶液中でも成り立つことを示した。

化合物 A および C と相互作用するアミノ酸を CRY1 と CRY2 の間で比較した結果、1 残基 (CRY1 I392/CRY2 V410) を除いて同一であることが判明した。違いのある残基を CRY1 と CRY2 の間に入れ替えた変異体 (CRY1 I392V および CRY2 V410I) は化合物 A と C の選択性に影響を与えなかった。すなわち、選択性を決める領域

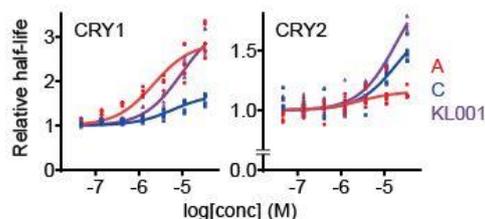


図 3. 化合物による CRY の安定化

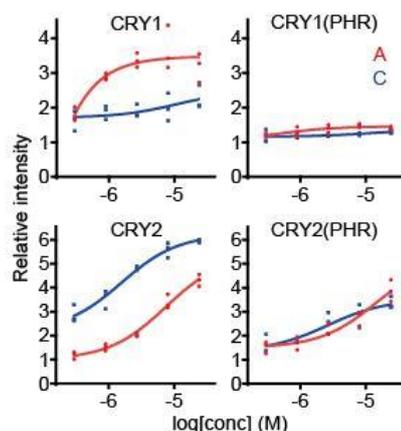


図 4. CRY タンパク質と化合物の相互作用

は化合物結合ポケットの外に存在する可能性が考えられた。そこで、細胞サーマルシフトアッセイを用いて CRY1/2 と化合物 A/C の相互作用を解析した結果、全長タンパク質では化合物の選択性が見られたのに対し、PHR では選択性が著しく減弱することを見出した (図 4)。さらに、CRY1 と CRY2 の間で CCT を入れ替えた変異体を用いた分解アッセイにおいても、化合物の選択性が大きく低下した。これらの結果から、化合物結合ポケットの外に存在する CCT が選択性の決定に必要であるという興味深い知見を得た。CCT の多様なキメラ変異体を解析することで、エクソン 10 に相当する領域が重要な役割を果たすことを解明した (Miller *et al.*, *Nature Chem Biol* 2020)。

化合物 B についてはさらに、CRY1 との複合体の結晶構造を、既に報告されている CRY2 とユビキチンリガーゼである FBXL3 との複合体の結晶構造と比較し、化合物 B が FBXL3 と競合的に CRY1 に相互作用する可能性を見出した。FBXL3 をノックダウンしたところ、化合物 B が概日リズムに与える効果が消失したことから、化合物 B は CRY1 に結合して FBXL3 による分解を抑制することで概日リズムを制御すると考えられた (Miller *et al.*, *Cell Chem Biol* 2020)。

上記の研究に加えて、表現型スクリーニングから見出した新たな周期延長化合物 TH303 とその類似化合物 TH129 がともに CRY1 に選択的に作用することを明らかにした。興味深いことに、これらの化合物は CCT を必要とせず、CRY1 の PHR に対して選択的に相互作用した。CRY1 との複合体の X 線結晶構造を決定した結果、両方の化合物についてベンゾフェノンと呼ばれる部位が、CRY1 の lid loop に存在する F409 とユニークな相互作用を形成することを明らかにした (図 5)。この相互作用を阻害する CRY1 F409A 変異体において、TH303 と TH129 の効果は著しく減弱したのに対し、KL101 の効果は変化しなかったことから、CRY1 選択性を生み出す新たな機構であると考えられた (Kolarski *et al.*, *J Am Chem Soc* 2021)。

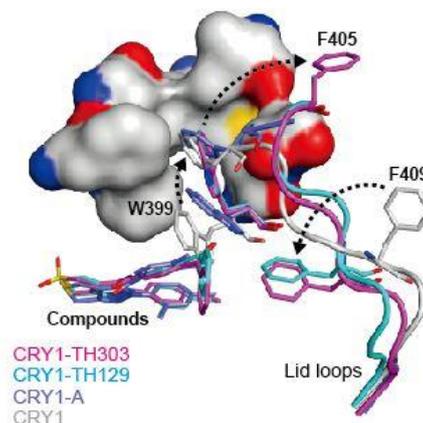


図 5. TH303 と TH129 による CRY1 の構造変化

CRY1 と CRY2 は配列が非常によく似ているため、選択的な化合物のデザインは困難であった。今回の研究から、それぞれのアイソフォームに選択的な化合物を発見し、その作用には化合物結合ポケットの外に存在する CCT や lid loop が必要であることを解明した。配列がほぼ同一である結合ポケットに対して選択性を生み出すユニークな機構であると考えられる。今後、これらのツール化合物を用いて、CRY1 と CRY2 の機能的な違いに関する研究が大きく発展すると期待できる。概日時計が乱れるリズム障害は現代社会における深刻な問題となっており、本研究による制御機構の理解と特異的な調節ツールの開発は、CRY を利用した疾患治療法の開発に向けた重要な足がかりとなるであろう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 17件 / うち国際共著 15件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Kolarski Dusan, Sugiyama Akiko, Rodat Theo, Schulte Albert, Peifer Christian, Itami Kenichiro, Hirota Tsuyoshi, Feringa Ben L., Szymanski Wiktor	4. 巻 19
2. 論文標題 Reductive stability evaluation of 6-azopurine photoswitches for the regulation of CKI activity and circadian rhythms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 2312 ~ 2321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1ob00014d	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Borgo Christian, Cesaro Luca, Hirota Tsuyoshi, Kuwata Keiko, D' Amore Claudio, Ruppert Thomas, Blatnik Renata, Salvi Mauro, Pinna Lorenzo A.	4. 巻 214
2. 論文標題 Comparing the efficacy and selectivity of Ck2 inhibitors. A phosphoproteomics approach	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 113217 ~ 113217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejmech.2021.113217	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kolarski Dusan, Miller Simon, Oshima Tsuyoshi, Nagai Yoshiko, Aoki Yugo, Kobauri Piermichele, Srivastava Ashutosh, Sugiyama Akiko, Amaike Kazuma, Sato Ayato, Tama Florence, Szymanski Wiktor, Feringa Ben L., Itami Kenichiro, Hirota Tsuyoshi	4. 巻 143
2. 論文標題 Photopharmacological Manipulation of Mammalian CRY1 for Regulation of the Circadian Clock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 2078 ~ 2087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c12280	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Borgo Christian, D' Amore Claudio, Cesaro Luca, Itami Kenichiro, Hirota Tsuyoshi, Salvi Mauro, Pinna Lorenzo A.	4. 巻 531
2. 論文標題 A N-terminally deleted form of the CK2 ' catalytic subunit is sufficient to support cell viability	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 409 ~ 415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.07.112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 D'Amore Claudio, Moro Enrico, Borgo Christian, Itami Kenichiro, Hirota Tsuyoshi, Pinna Lorenzo A., Salvi Mauro	4. 巻 1867
2. 論文標題 "Janus" efficacy of CX-5011: CK2 inhibition and methuosis induction by independent mechanisms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research	6. 最初と最後の頁 118807 ~ 118807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamcr.2020.118807	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Amaike Kazuma, Oshima Tsuyoshi, Skoulding Nicola Stephanie, Toyama Yoshifumi, Hirota Tsuyoshi, Itami Kenichiro	4. 巻 6
2. 論文標題 Small Molecules Modulating Mammalian Biological Clocks: Exciting New Opportunities for Synthetic Chemistry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem	6. 最初と最後の頁 2186 ~ 2198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chempr.2020.08.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miller Simon, Aikawa Yoshiki, Sugiyama Akiko, Nagai Yoshiko, Hara Aya, Oshima Tsuyoshi, Amaike Kazuma, Kay Steve A., Itami Kenichiro, Hirota Tsuyoshi	4. 巻 27
2. 論文標題 An Isoform-Selective Modulator of Cryptochrome 1 Regulates Circadian Rhythms in Mammals	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1192 ~ 1198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chembiol.2020.05.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Miller Simon, Son You Lee, Aikawa Yoshiki, Makino Eri, Nagai Yoshiko, Srivastava Ashutosh, Oshima Tsuyoshi, Sugiyama Akiko, Hara Aya, Abe Kazuhiro, Hirata Kunio, Oishi Shinya, Hagihara Shinya, Sato Ayato, Tama Florence, Itami Kenichiro, Kay Steve A., Hatori Megumi, Hirota Tsuyoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Isoform-selective regulation of mammalian cryptochromes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 676 ~ 685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41589-020-0505-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Miller Simon, Hirota Tsuyoshi	4. 巻 432
2. 論文標題 Pharmacological Interventions to Circadian Clocks and Their Molecular Bases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 3498 ~ 3514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2020.01.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 松田 智宏、廣田 毅	4. 巻 75
2. 論文標題 化合物を使って体内時計を操る	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 化学	6. 最初と最後の頁 66 ~ 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fribourgh Jennifer L, Srivastava Ashutosh, Sandate Colby R, Michael Alicia K, Hsu Peter L, Rakers Christin, Nguyen Leslee T, Torgrimson Megan R, Parico Gian Carlo G, Tripathi Sarvind, Zheng Ning, Lander Gabriel C, Hirota Tsuyoshi, Tama Florence, Partch Carrie L	4. 巻 9
2. 論文標題 Dynamics at the serine loop underlie differential affinity of cryptochromes for CLOCK:BMAL1 to control circadian timing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e55275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.55275	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kolarski Dusan, Sugiyama Akiko, Breton Ghislain, Rakers Christin, Ono Daisuke, Schulte Albert, Tama Florence, Itami Kenichiro, Szymanski Wiktor, Hirota Tsuyoshi, Feringa Ben L.	4. 巻 141
2. 論文標題 Controlling the Circadian Clock with High Temporal Resolution through Photodosing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 15784 ~ 15791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.9b05445	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Mosser Eric A., Chiu Cindy N., Tamai T. Katherine, Hirota Tsuyoshi, Li Suna, Hui May, Wang Amy, Singh Chanpreet, Giovanni Andrew, Kay Steve A., Prober David A.	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of pathways that regulate circadian rhythms using a larval zebrafish small molecule screen	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48914-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Zhang Yinfeng, Hirota Tsuyoshi, Kuwata Keiko, Oishi Shunsuke, Gramani Subramanian G., Bode Jeffrey W.	4. 巻 141
2. 論文標題 Chemical Synthesis of Atomically Tailored SUMO E2 Conjugating Enzymes for the Formation of Covalently Linked SUMO ^{E2} E3 Ligase Ternary Complexes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 14742 ~ 14751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.9b06820	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Uehara TN, Mizutani Y, Kuwata K, Hirota T, Sato A, Mizoi J, Takao S, Matsuo H, Suzuki T, Ito S, Saito AN, Nishiwaki-Ohkawa T, Yamaguchi-Shinozaki K, Yoshimura T, Kay SA, Itami K, Kinoshita T, Yamaguchi J, Nakamichi N	4. 巻 116
2. 論文標題 Casein kinase 1 family regulates PRR5 and TOC1 in the Arabidopsis circadian clock	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 11528 ~ 11536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1903357116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Oshima T., Niwa Y., Kuwata K., Srivastava A., Hyoda T., Tsuchiya Y., Kumagai M., Tsuyuguchi M., Tamaru T., Sugiyama A., Ono N., Zolboot N., Aikawa Y., Oishi S., Nonami A., Arai F., Hagihara S., Yamaguchi J., Tama F., Kunisaki Y., Yagita K., Ikeda M., Kinoshita T., Kay S. A., Itami K., Hirota T.	4. 巻 5
2. 論文標題 Cell-based screen identifies a new potent and highly selective CK2 inhibitor for modulation of circadian rhythms and cancer cell growth	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaau9060
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aau9060	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Lee Jae Wook, Hirota Tsuyoshi, Ono Daisuke, Honma Sato, Honma Ken-ichi, Park Keunwan, Kay Steve A.	4. 巻 62
2. 論文標題 Chemical Control of Mammalian Circadian Behavior through Dual Inhibition of Casein Kinase I and	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 1989 ~ 1998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.8b01541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Qu Meng, Duffy Tomas, Hirota Tsuyoshi, Kay Steve A.	4. 巻 115
2. 論文標題 Nuclear receptor HNF4A transrepresses CLOCK:BMAL1 and modulates tissue-specific circadian networks	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 E12305 ~ E12312
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1816411115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 羽鳥 恵、廣田 毅	4. 巻 23
2. 論文標題 時計遺伝子から考える脳機能と食	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FOOD Style21	6. 最初と最後の頁 80-83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Tsuyoshi Hirota, Dusan Kolarski, Akiko Sugiyama, Wiktor Szymanski, and Ben L. Feringa
2. 発表標題 Reversible Control of the Circadian Period by Photoswitchable Longdaysin
3. 学会等名 Society for Research on Biological Rhythms 2020 Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣田 毅
2. 発表標題 時計タンパク質に作用する低分子化合物の開発
3. 学会等名 第41回日本臨床薬理学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tsuyoshi Hirota
2. 発表標題 Small molecule modulators of the circadian clock function
3. 学会等名 日本薬理学会 第93回年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣田 毅
2. 発表標題 哺乳類CRYタンパク質のアイソフォーム選択的な制御
3. 学会等名 第2回構造生命科学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田 毅
2. 発表標題 概日時計タンパク質を標的とする低分子化合物
3. 学会等名 2019年度BINDS公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuyoshi Hirota
2. 発表標題 Chemical and structural biology approach for circadian biochemistry of clock proteins
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuyoshi Hirota
2. 発表標題 Small molecule modulators of mammalian clock proteins
3. 学会等名 2019 CIBR Beijing Conference on Brain & Behavior（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田 毅
2. 発表標題 体内時計を調節する化合物の探索
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田 毅
2. 発表標題 構造生物学とケミカルバイオロジーの融合による概日時計の創薬研究
3. 学会等名 蛋白研セミナー 第1回構造生命科学研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田 毅
2. 発表標題 新規の概日リズム調節化合物の同定とがん細胞増殖に対する効果
3. 学会等名 第2回がん代謝研究会若手の会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirota, T.
2. 発表標題 Dissecting mammalian clock mechanism with chemical tools
3. 学会等名 International Symposium on Biological Rhythms (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 廣田 毅
2. 発表標題 ケミカルバイオロジーを応用した哺乳類の概日時計のメカニズム解析
3. 学会等名 第3回先端ケミカルバイオロジー研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hirota, T.
2. 発表標題 Identification of CRY1/CRY2 selective compounds
3. 学会等名 2018 Society for Research on Biological Rhythm Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所Kay-廣田グループ
http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/kay-hirota_group/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	伊丹 健一郎 (Itami Kenichiro) (80311728)	名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
				他2機関
米国	University of Southern California	University of California Santa Cruz	California Institute of Technology	
オランダ	University of Groningen			
イタリア	University of Padova			
韓国	Korea Inst Sci Tech			