

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21269

研究課題名（和文）ケージド時計調節化合物を用いた概日リズムの光制御と細胞間相互作用の解析

研究課題名（英文）Photopharmacological regulation of circadian rhythms with caged clock-modulating compounds for investigation of cell-cell interactions

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） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：概日時計は分子から個体の各階層を時間・空間的に統合して多様な生理現象の日内リズムを生み出す。多細胞から成る概日時計システムの理解に向けた重要課題として、細胞間の相互作用がある。本研究では光にตอบสนองして時計タンパク質の機能を調節する化合物を開発し、細胞集団の概日リズムの時間的な制御に成功した。これと概日リズムの1細胞イメージングを組み合わせ、細胞間相互作用の解析に向けた空間的な操作を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちはケミカルバイオロジーの手法を応用し、概日リズムの周期を変化させる新規化合物を発見して鍵となる制御機構を明らかにしてきた。この時計調節化合物と光薬理学を組み合わせることによって、狙ったタイミングに狙った細胞で概日時計を定量的に操作する新技術の開発につながるであろう。光を用いたタンパク質の活性制御という観点から、概日時計分野を超えて広く細胞間相互作用の研究に応用できると期待される。

研究成果の概要（英文）：Circadian clocks are hierarchically integrated from molecules to organisms in time and space to generate diurnal rhythms of diverse physiological processes. A key challenge in understanding the multicellular circadian clock system is cell-cell communications. In this study, we developed compounds that modulate the function of clock proteins in response to light and enabled temporal control of circadian rhythms in cell populations. By combining these compounds with single-cell imaging of circadian rhythms, we attempted spatial manipulation toward the analysis of cell-cell communications.

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 ケージド化合物 細胞間相互作用

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

生物は睡眠・覚醒や代謝など、様々な生理現象において一日周期のリズムを示す。これらのリズムを支配するのが、体内に存在する概日時計である。時計遺伝子の発見と制御機構の解明により、概日時計の基本骨格である転写・翻訳ループの理解は大きく進展した。このループは全身の個々の細胞に存在するため、多細胞から成る概日時計システムの理解に向けた次のステップとして解明すべき重要課題が、細胞間の相互作用である。概日リズムの周期は個々の細胞で異なるため不均一であるものの、細胞集団においては秩序だったネットワークを形成して統合され、強固なリズムを形成する。このネットワークは空間と時間の両者の変化を伴い非常に複雑であるため、従来の手法だけでは解析が困難であった。すなわち、薬理学および遺伝学では空間・時間分解能が不足しており、その発展形である薬理遺伝学および光遺伝学では時計タンパク質を制御できるツールが存在しなかった。

私たちはケミカルバイオロジーの手法を世界に先駆けて概日時計研究に応用し、概日時計の周期を大幅に変える新規化合物を多数発見した。これらの時計調節化合物の標的タンパク質をアフィニティー精製によって同定し、作用機序を解析することで、概日時計の鍵となる制御機構の一端を明らかにしてきた。以上の背景から、時計調節化合物と光薬理学を組み合わせることによって、概日時計機能の時間・空間的な精密制御にアプローチするという本研究構想に至った。その第一歩として、longdaysin と名付けた時計調節化合物を基にケージド誘導体 DK359 を開発し、標的タンパク質である CKI の光による活性調節と概日リズム周期の制御を実現した (図 1)。

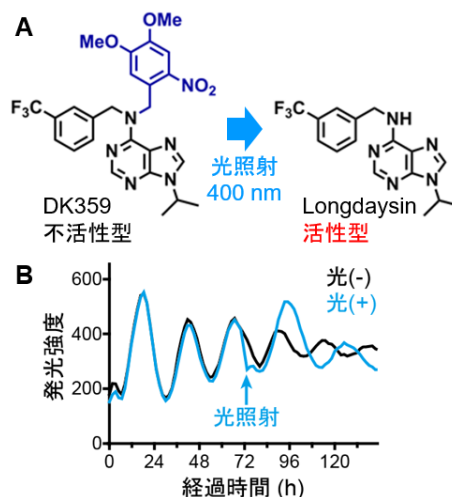


図 1. ケージド longdaysin の作用
光照射によって概日リズムの周期を
延長する。

2. 研究の目的

私たちが見出した時計調節化合物は、標的である時計タンパク質の直接的かつ定量的な機能操作を可能にする非常に強力な手段である。光薬理学を応用して、光によって時計タンパク質の機能を制御する。光は空間・時間的な調節が容易である上に、照射の強度や時間で量を、波長で質を変化させることができる。この「光調節化合物」を概日リズムの 1 細胞イメージングと組み合わせ、狙ったタイミングに狙った細胞で概日時計を定量的に操作することで、細胞間相互作用のダイナミクスを解析する突破口とする。

3. 研究の方法

時計遺伝子 *Bmal1* のプロモーターにルシフェラーゼを連結したレポーターをもつヒト U2OS 細胞と、超高感度カメラを搭載した顕微鏡システムを用いて、1 細胞レベルの概日リズム測定系をセットアップした。この系においてケージド longdaysin の DK359 を用い、概日リズムの空間的な制御を試みるために、局所的な光照射条件の検討を行った。その結果、DK359 の活性化に必要な紫色光の照射によって、化合物の有無にかかわらず細胞毒性が見られた。UV 域が少ない光源に変更した上に UV カットフィルターを用い、さらに照射時間や強度を変えても、概日リズム周期の評価に必要な長期的な測定においては紫色光照射による細胞毒性が見られた。時計遺伝子 *Per2* のレポーターマウスから採取した組織においても同様に、顕微鏡システムを用いた実験系においては紫色光照射によって起こる細胞毒性の問題を避けられないことが判明した。

ケージド化合物は光照射によって保護基が解離し、不可逆的な変化をもたらす (図 1)。これに対して、可逆的な調節が可能である光スイッチを時計調節化合物に導入し、概日リズム制御に応用することを試みた。光によってトランス体とシス体間で構造変化するアゾベンゼンを、longdaysin および時計タンパク質 CRY1 に選択的な新規化合物として同定した TH129 に導入した (図 2A; オランダ Groningen 大学・Feringa 研究室および名古屋大学・伊丹研究室との共同研究)。導入部位を検討した結果、シス体とトランス体がそれぞれ安定して存在し、標的タンパク質である CKI と CRY1 の活性を UV 光と白色光を用いて可逆的に制御することが可能な光スイッチ化合物を開発することに成功した。Longdaysin 誘導体の compound 4 は UV 光によって不活性化したのに対し、TH129 誘導体の GO1323 は UV 光によって活性化した (図 2B)。さらに、テトラフルオロアゾベンゼンを用いることで緑色光と紫色光による構造変化を可能にし、これらの化合物 compound 9 と GO1423 を用いて概日リズムの周期を細胞集団において可逆的に制御することを実現した^{1,2)} (図 3)。

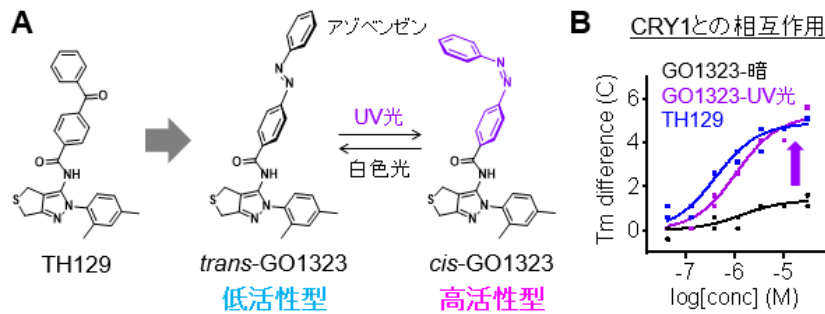


図 2. 光スイッチ化合物 GO1323 の作用
UV 光照射によって活性化して CRY1 と相互作用する。

緑色光によって CRY1 を活性化する光スイッチ化合物 GO1423 を用いて、顕微鏡システムにおいて局所的な光照射条件の検討を行った。緑色光を用いることによって細胞毒性の問題を回避することができた一方で、化合物による周期変化の度合いがケージド longdaysin と比べて大幅に小さいために、この化合物を用いて局所的な変化を検出することが困難であることが判明した。TH129 や GO1423 と似た構造をもち CRY1 に選択的な化合物 KL101 の誘導体の探索から、より高い活性を持つ化合物を見出すことに成功した。この化合物をもとに光スイッチ化合物を改変することで、周期変化の効果の上昇が期待される。

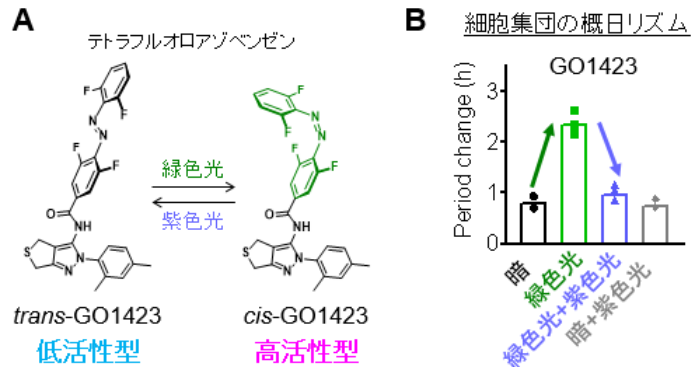


図 3. 光スイッチ化合物 GO1423 の作用
緑色光と紫色光照射によって概日リズムの周期を可逆的に調節する。

以上の研究と並行して、CRY1 とそのホモログである CRY2 の化合物選択性について興味深いメカニズムを見出した。CRY1 に選択的な KL101 および CRY2 に選択的な TH301 と相互作用するアミノ酸は CRY1 と CRY2 の間で配列が同じであるにもかかわらず、鍵となるトリプトファン側の鎖の向きが異なり、この違いが選択性に寄与することを発見して、このトリプトファンをゲートキーパーと名付けた³⁾。さらに、CRY1 と CRY2 の両方に作用する化合物 KL001 の誘導体として開発された化合物 SHP656 が予想外にも CRY2 に選択性を示し、それにゲートキーパーが関与することを見出した⁴⁾。

4. 研究成果

本研究で用いたケージド longdaysin の DK359 は、一般的な光保護基である 6-nitroveratryloxycarbonyl 基を持ち、紫色光の照射によって解離する。概日リズムという、秒や分ではなく日の単位で測定を行う実験系においては、顕微鏡システムを用いた局所的な紫色光照射による細胞毒性が問題となることが判明した。ケージド化合物を用いて概日リズムの空間的な制御を実現するには、細胞毒性の問題を回避するためにより弱い強度の紫色光で解離する保護基や緑色光などのより長い波長の光で解離する保護基が必要である。

光によってシス-トランスの構造変化をする光スイッチを用いることによって、CKI と CRY1 の活性ならびに細胞集団の概日リズムを可逆的に制御することに初めて成功した。アズベンゼン誘導体のシス型はバッファー中において非常に不安定であることが多く⁵⁾、日の単位で作用することが必要な概日リズム制御への応用は困難であった。本研究によって安定なシス型をもたらすデザインを見出すことができ、概日時計の自在な操作に新たな道が拓けると期待される。緑色光による化合物の構造変化が可能になったことで、紫色光による細胞毒性を回避することができた一方で、概日リズムの空間的な制御の実現に向けて、より高い活性をもつ光スイッチ化合物の開発が課題である。

さらに、CRY1 と CRY2 という非常によく似たホモログにおいて同一のアミノ酸から化合物選択性がうまれる謎について、側鎖の向きの違いというユニークなメカニズムを見出した。この知見は CRY アイソフォームの違いの理解だけでなく、理解に基づく制御を通じて CRY に対する光応答性化合物の開発にも役立つと考えられる。

私たちのこれまでのケミカルクロノバイオロジー研究が国際的に高く評価され、*Front Pysiol* 誌および *Methods Mol Biol* 誌の概日時計特集号に依頼を受けて総説を執筆するとともに^{6,7)}、Springer Nature および Royal Society of Chemistry から依頼を受けて本の編集を行った^{8,9)}。

<引用文献>

1. Kolarski, D.[#], Miller, S.[#], Oshima, T.[#], Nagai, Y., Aoki, Y., Kobauri, P., Srivastava, A., Sugiyama, A., Amaike, K., Sato, A., Tama, F., Szymanski, W., Feringa, B.L.*^{*}, Itami, K.*^{*}, and **Hirota, T.* (*, correspondence)**: Photopharmacological manipulation of mammalian CRY1 for regulation of the circadian clock. *J. Am. Chem. Soc.*, 143: 2078-2087 (2021)
2. Kolarski, D., Vinyals, C.M.[#], Sugiyama, A.[#], Srivastava, A., Ono, D., Nagai, Y., Iida, M., Itami, K., Tama, F., Szymanski, W.*^{*}, **Hirota, T.* (*, correspondence)**, and Feringa, B.L.*^{*}: Reversible modulation of circadian time with chronopharmacology. *Nature Commun.*, 12: 3164 (2021)
3. Miller, S.[#], Srivastava, A.[#], Nagai, Y., Aikawa, Y., Tama, F., and **Hirota, T.* (*, correspondence)**: Structural differences in the FAD-binding pockets and lid loops of mammalian CRY1 and CRY2 for isoform-selective regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 118: e2026191118 (2021)
4. Miller, S., Kesharwani, M., Chan, P., Nagai, Y., Yagi, M., Cope, J., Tama, F., Kay, S.A.*^{*}, and **Hirota, T.* (*, correspondence)**: CRY2 isoform selectivity of a circadian clock modulator with antioblastoma efficacy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 119: e2203936119 (2022)
5. Kolarski, D., Sugiyama, A., Rodat, T., Schulte, A., Peifer, C., Itami, K., **Hirota, T.* (*, correspondence)**, Feringa, B.L.*^{*}, and Szymanski, W.*^{*}: Reductive stability evaluation of 6-azopurine photoswitches for the regulation of CKI α activity and circadian rhythm. *Org. Biomol. Chem.*, 19: 2312-2321 (2021)
6. Miller, S. and **Hirota, T.* (*, correspondence)**: Structural and chemical biology approaches reveal isoform-selective mechanisms of ligand interactions in mammalian Cryptochromes. *Front Physiol.*, 13: 837280 (2022)
7. Hatori, M. and **Hirota, T.* (*, correspondence)**: Cell-based phenotypic screens to discover circadian clock modulating compounds. *Methods Mol. Biol.*, 2482: 95-104 (2022)
8. **Hirota, T.**, Hatori, M., and Panda, S. eds.: Circadian Clocks. *Neuromethods* series, volume 186: 429 pages, Springer Nature (2022)
9. Cornelissen, G. and **Hirota, T.** eds.: Chronobiology and Chronomedicine. *Chemical Biology* series, volume 23: 716 pages, Royal Society of Chemistry (2024)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計25件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 11件／うちオープンアクセス 13件）

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Ogata Aya, Yamada Takashi, Hattori Saori, Ikenuma Hiroshi, Abe Junichiro, Tada Mari, Ichise Masanori, Suzuki Masaaki, Ito Kengo, Kato Takashi, Amaike Kazuma, Hirota Tsuyoshi, Kakita Akiyoshi, Itami Kenichiro, Kimura Yasuyuki | 4. 巻 90 |
| 2. 論文標題 Development of a novel PET ligand, [11C]G0289 targeting CK2 expressed in the brain | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters | 6. 最初と最後の頁 129327 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2023.129327 | 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 Cornelissen Germaine, Otsuka Kuniaki, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 1 |
| 2. 論文標題 Introduction | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Chronobiology and Chronomedicine | 6. 最初と最後の頁 1~11 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/BK9781839167553-00001 | 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 該当する |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Cornelissen Germaine, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 1 |
| 2. 論文標題 Quo Vadis | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Chronobiology and Chronomedicine | 6. 最初と最後の頁 648 ~ 664 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/BK9781839167553-00648 | 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 該当する |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 1 |
| 2. 論文標題 Regulation of mammalian Cryptochrome with small molecule compounds from in vitro to in vivo | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Circadian Clocks | 6. 最初と最後の頁 265 ~ 281 |
| 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 廣田 毅、羽鳥 恵 | 4. 巻 95 |
| 2. 論文標題 概日時計タンパク質CRY1とCRY2をアイソフォーム選択的に制御する化合物 | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 生化学 | 6. 最初と最後の頁 604 ~ 608 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2023.950604 | 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 Uehara Takahiro N, Nonoyama Takashi, Taki Kyomi, Kuwata Keiko, Sato Ayato, Fujimoto Kazuhiro J, Hirota Tsuyoshi, Matsuo Hiromi, Maeda Akari E, Ono Azusa, Takahara Tomoaki T, Tsutsui Hiroki, Suzuki Takamasa, Yanai Takeshi, Kay Steve A, Itami Kenichiro, Kinoshita Toshinori, Yamaguchi Junichiro, Nakamichi Norihito | 4. 巻 63 |
| 2. 論文標題 Phosphorylation of RNA Polymerase II by CDKC;2 Maintains the Arabidopsis Circadian Clock Period | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology | 6. 最初と最後の頁 450 ~ 462 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcac011 | 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 Iida Mui, Nakane Yusuke, Yoshimura Takashi, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 171 |
| 2. 論文標題 Effects of cryptochrome-modulating compounds on circadian behavioural rhythms in zebrafish | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 501 ~ 507 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab096 | 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 Hatori Megumi, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 2482 |
| 2. 論文標題 Cell-Based Phenotypic Screens to Discover Circadian Clock-Modulating Compounds | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Methods Mol Biol | 6. 最初と最後の頁 95 ~ 104 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2249-0_6 | 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, Keshewani Manish, Chan Priscilla, Nagai Yoshiko, Yagi Moeri, Cope Jamie, Tama Florence, Kay Steve A., Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 119 |
| 2. 論文標題 CRY2 isoform selectivity of a circadian clock modulator with antiglioblastoma efficacy | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences | 6. 最初と最後の頁 e2203936119 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2203936119 | 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 Yagi Moeri, Miller Simon, Nagai Yoshiko, Inuki Shinsuke, Sato Ayato, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 A methylbenzimidazole derivative regulates mammalian circadian rhythms by targeting Cryptochrome proteins | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 F1000Research | 6. 最初と最後の頁 1016 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12688/f1000research.124658.2 | 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 Borgo Christian, Cesaro Luca, Hirota Tsuyoshi, Kuwata Keiko, D'Amore Claudio, Ruppert Thomas, Blatnik Renata, Salvi Mauro, Pinna Lorenzo A. | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Analysis of the phosphoproteome of CK2 (-/-) C2C12 myoblasts compared to the wild-type cells | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Open Biology | 6. 最初と最後の頁 220220 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsob.220220 | 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 松田 智宏、廣田 毅 | 4. 巻 60 |
| 2. 論文標題 概日時計の分子機構をケミカルバイオロジーで紐解く | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 化学と生物 | 6. 最初と最後の頁 212 ~ 214 |
| 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 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 Kolarski Dusan, Miro-Vinyals Carla, Sugiyama Akiko, Srivastava Ashutosh, Ono Daisuke, Nagai Yoshiko, Iida Mui, Itami Kenichiro, Tama Florence, Szymanski Wiktor, Hirota Tsuyoshi, Feringa Ben L. | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Reversible modulation of circadian time with chronopharmacology | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 3164 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-23301-x | 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 Miller Simon, Srivastava Ashutosh, Nagai Yoshiko, Aikawa Yoshiki, Tama Florence, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 118 |
| 2. 論文標題 Structural differences in the FAD-binding pockets and lid loops of mammalian CRY1 and CRY2 for isoform-selective regulation | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences | 6. 最初と最後の頁 e2026191118 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2026191118 | 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 Iida Mui, Nakane Yusuke, Yoshimura Takashi, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Effects of cryptochrome-modulating compounds on circadian behavioural rhythms in zebrafish | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 mvab096 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab096 | 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 Zhang Manhui, Kobayashi Kohei, Atsumi Haruki, Katada Yuma, Nakane Yusuke, Chen Junfeng, Nagano Ryo, Kadofusa Naoya, Nishiwaki-Ohkawa Taeko, Kon Naohiro, Hirota Tsuyoshi, Sato Ayato, Makino Toshiaki, Yoshimura Takashi | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Modulation of circadian clock by crude drug extracts used in Japanese Kampo medicine | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 21038 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-00499-w | 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 Uehara Takahiro N, Nonoyama Takashi, Taki Kyomi, Kuwata Keiko, Sato Ayato, Fujimoto Kazuhiro J, Hirota Tsuyoshi, Matsuo Hiromi, Maeda Akari E, Ono Azusa, Takahara Tomoaki T, Tsutsui Hiroki, Suzuki Takamasa, Yanai Takeshi, Kay Steve A, Itami Kenichiro, Kinoshita Toshinori, Yamaguchi Junichiro, Nakamichi Norihito | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Phosphorylation of RNA Polymerase II by CDKC;2 Maintains the Arabidopsis Circadian Clock Period | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology | 6. 最初と最後の頁 pcac011 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcac011 | 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 Miller Simon, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Structural and Chemical Biology Approaches Reveal Isoform-Selective Mechanisms of Ligand Interactions in Mammalian Cryptochromes | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Physiology | 6. 最初と最後の頁 837280 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.837280 | 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 廣田 毅、松田 智宏 | 4. 巻 31 |
| 2. 論文標題 体内時計のケミカルバイオロジー研究と創薬の可能性 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 MEDCHEM NEWS | 6. 最初と最後の頁 62 ~ 67 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14894/medchem.31.2_62 | 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 飯田 夢惟、廣田 毅 | 4. 巻 47 |
| 2. 論文標題 概日時計を標的とした化合物と創薬の最前線 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Medical Science Digest | 6. 最初と最後の頁 23 ~ 25 |
| 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 Miller Simon, Hirota Tsuyoshi | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Structural insights into isoform-selective regulators of mammalian Cryptochromes | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 SPRING-8 /SACLA Research Frontiers 2020 | 6. 最初と最後の頁 22 ~ 23 |
| 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 オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 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 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 - |

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 2件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 廣田 毅 |
| 2. 発表標題 時計タンパク質CRYの機能制御化合物と構造ダイナミクス |
| 3. 学会等名 1. 日本睡眠学会第45回定期学術集会・第30回日本時間生物学会学術大会合同大会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hirota Tsuyoshi |
| 2. 発表標題 Regulation of mammalian Cryptochrome with small molecule compounds from in vitro to in vivo |
| 3. 学会等名 Sapporo Symposium on Biological Rhythm 2022 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Tsuyoshi Hirota |
| 2. 発表標題 Isoform-selective compounds for mammalian CRY proteins |
| 3. 学会等名 5th Asian Forum on Chronobiology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 廣田 毅 |
| 2. 発表標題 低分子化合物を用いた概日時計タンパク質の機能制御の最先端 |
| 3. 学会等名 日本睡眠学会第46回定期学術集会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 廣田 毅 |
| 2. 発表標題 哺乳類の階層時計システムの理解に向けた時計タンパク質の調節化合物の開発 |
| 3. 学会等名 第28回日本時間生物学会学術大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tsuyoshi Hirota |
| 2. 発表標題 Chemical biology of the circadian clock and its potential to improve health |
| 3. 学会等名 The 94th Japanese Biochemical Society Meeting（招待講演） |
| 4. 発表年 2021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 |

〔図書〕 計2件

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Cornelissen, G. and Hirota, T. | 4. 発行年 2024年 |
| 2. 出版社 Royal Society of Chemistry | 5. 総ページ数 716 |
| 3. 書名 Chronobiology and Chronomedicine | |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Hirota, T., Hatori, M., and Panda, S | 4. 発行年 2022年 |
| 2. 出版社 Springer Nature | 5. 総ページ数 429 |
| 3. 書名 Circadian Clocks | |

〔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 |
|---------|---------------------------|-----------------------|----|
|---------|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|

| | | | | |
|------|-----------------------------------|--|--|--|
| 米国 | University of Southern California | | | |
| イタリア | University of Padova | | | |
| オランダ | University of Groningen | | | |
| インド | Indian Institute of Technology | | | |