

THE HISTORY OF BIOCHEMISTRY

ДЛЯ ЧОГО ПОТРІБНІ ЦИРКАДНІ РИТМИ, АБО ЯК ЗМІНИТИ ХІД «БІОЛОГІЧНОГО ГОДИННИКА»

Нобелівська премія з фізіології і медицини 2017 р.

С. В. КОМІСАРЕНКО, С. І. РОМАНЮК

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ

2 жовтня Нобелівський комітет при Каролінському медичному інституті оголосив імена лауреатів Нобелівської премії з фізіології і медицини за 2017 рік. Ними стали троє американських учених: Джеффри Холл (Jeffrey C. Hall), Майкл Росбаши (Michael Rosbash) і Майкл Янг (Michael W. Young). Нагороду їм присуджено «за відкриття молекулярних механізмів, що контролюють циркадний ритм».

Щорічне оголошення лауреатів Нобелівських премій без перебільшення є найбільш очікуваною подією у науковому світі, яка завжди привертає до себе пильну увагу всього суспільства. Цього року 116-й нобелівський тиждень у Стокгольмі розпочався 2 жовтня з оголошення Нобелівським комітетом при Каролінському медичному інституті імен лауреатів Нобелівської премії з фізіології і медицини. Список номінантів на премію містив 361 ім'я вчених, які зробили найвагоміші відкриття в цій галузі. За умовами заповіту засновника Нобелівської премії шведського підприємця і винахідника Альфреда Нобеля (1833–1896) цей список тримається в секреті і може бути оприлюднений тільки через 50 років.

Напередодні оголошення рішення Нобелівського комітету відома своїми прогнозами компанія Clarivate Analytics, яка нещодавно відокремилася від Thomson Reuters, назвала найімовірніших претендентів на Нобелівську премію з фізіології та медицини 2017 р. По-перше, це Льюїс Кентлі (Lewis C. Cantley), директор Центру раку Сандри і Едуарда Мейер при Медичній школі Корнелльського університету (Weill Cornell Medicine) у Нью-Йорку (США), який відкрив сигнальний шлях фосфоінозитид-3-кінази (PI3K) і з'ясував його роль у рості пухлин. По-друге, ймовірним кандидатом на

премію назвали Карла Фрістона (Karl J. Friston), професора Центру нейровізуалізації Wellcome Trust при Університетському коледжі Лондона (Велика Британія) за його значний внесок у методи аналізу зображень мозку, в тому числі зображень, одержаних за допомогою магнітно-резонансної томографії. По-третє, Нобелівську премію могли б отримати Юань Чан (Yuan Chang) та її чоловік Патрік Мур (Patrick S. Moore) зі школи медицини Пітсбурзького університету (Пенсильванія, США) за відкриття вірусу герпесу людини 8 (HHV8 або KSHV), що спричинює саркому Капоші – злоякісне новоутворення шкіри, яке трапляється у 40–60% людей зі СНІДом [1].

Крім того, багато хто, зокрема й автори статті, очікував, що Нобелівську премію дадуть за відкриття технології редагування геному методом CRISPR/Cas. Цей метод відкрив унікальні можливості для точного, швидкого і дешевого внесення змін у геном (gene editing) практично будь-яких організмів і, зрозуміло, може бути використаний в молекулярній медицині (генній терапії) та в сучасних біотехнологіях. Цими вченими могли бути насамперед Дженніфер Дудна (Jennifer Doudna) з Каліфорнійського університету в Берклі (США) та французька дослідниця Еммануель Шарпентьє (Emmanuelle Charpentier), яка працює в Інституті інфекційної

біології Товариства Макса Планка (Берлін, Німеччина) та Університеті Умео (Швеція).

Однак і цього року прогнози експертів не справдилися. Лауреатами 108-ї Нобелівської премії з фізіології та медицини (212–214 за рахунком) стали троє американських учених: Джеффри Холл (Jeffrey C. Hall), Майкл Росбаш (Michael Rosbash) та Майкл Янг (Michael W. Young). Секретар Нобелівського комітету з фізіології та медицини Томас Перлманн (Thomas Perlmann) оголосив мотивування рішення про нагородження: вчені були удостоєні цієї престижної нагороди «за відкриття молекулярних механізмів, що контролюють циркадний ритм». Згідно з офіційним прес-релізом, лауреати «змогли проникнути всередину «біологічного годинника» та визначити внутрішні механізми його роботи. Їх відкриття розкривають як рослини, тварини та люди синхронізують свої біологічні ритми зі змінами, що відбуваються на Землі» [2]. Церемонія нагородження лауреатів відбудеться за традицією 10 грудня у Стокгольмі в день смерті Альфреда Нобеля. Король Швеції Карл XVI Густав вручить лауреатам дипломи та золоті медалі, створені шведським скульптором Еріком Ліндбергом, а наступного дня Нобелівський фонд перекаже гроші на їхні банківські рахунки. У зв'язку з падінням курсу шведської крони було прийнято рішення про збільшення в 2017 р. розміру Нобелівської премії з 8 до 9 млн шведських крон (1,12 млн дол. США).

Хто ж ці люди, яким у 2017 р. поталанило отримати Нобелівську премію з фізіології та медицини?

72-річний заслужений професор біології у відставці Джеффри Коннор Холл працював у США в Брандейському університеті в Уолтемі (штат Массачусетс) та Університеті Мена в Ороно (штат Мен). Джеффри Холл народився 3 травня 1945 р. у Нью-Йорку в сім'ї репортера агентства Associated Press із Брукліна, дитинство провів у передмісті Вашингтона (округ Колумбія). У 18 років він вступив до Амхерстського коледжу в Массачусетсі, де здобув ступінь бакалавра. Джеффри планував присвятити себе медицині, однак під час навчання в коледжі зацікавився генетикою. Першим його вчителем був Філіп Івз (Philip Ives), учень генетика Альфреда Стертеванта (Alfred Sturtevant). Івз передав Холлу секрет роботи з дрозофілами — найпопулярнішим модельним об'єктом генетики. Пізніше Джеффри

Холл одержав ступінь магістра у Вашингтонському університеті в Сіетлі (штат Вашингтон) і був рекомендований до вступу в аспірантуру при відділі генетики цього університету, де працював під керівництвом Лоренса Сандлера (Laurence Sandler). У 1971 р. Джеффри Холл захистив дисертацію і почав працювати в лабораторії Сеймура Бензера (Seymour Benzer) в Каліфорнійському технологічному інституті (Пасадена, штат Каліфорнія). З 1974 р. і до виходу на пенсію у 2008 р. він працював у Брандейському університеті (Уолтем, штат Массачусетс), у 2004–2012 рр. за сумісництвом – в Університеті Мена (Ороно, штат Мен). Джеффри Холл нагороджений медаллю Американського генетичного товариства, є членом Національної академії наук США (2003), його відзначено премією Грубера в галузі нейрології (2009), премією Луїзи Гросс Хорвіц Колумбійського університету (2011), премією Мессрі Університету Південної Каліфорнії, міжнародною премією канадського фонду Gairdner (2012), а також премією Шао в галузі науки про життя та медицини (2013). Зараз Джеффри Холл проживає у сільській місцевості штату Мен. Він залишив науку «через брак фінансування та збільшення інституційної корупції». Кошти від Нобелівської премії планує передати благодійній організації, яка рятує домашніх тварин від повеней, спричинених ураганами.

73-річний професор Майкл Морріс Росбаш працює у США в Брандейському університеті в Уолтемі (штат Массачусетс), а також є дослідником Медичного інституту Говарда Х'юза у Чеві Чейзі (штат Меріленд). Майкл Росбаш народився 7 березня 1944 р. в Канзас-Сіті (штат Міссурі) в сім'ї єврейських біженців, які залишили нацистську Німеччину в 1938 р. Батько Майкла був синагогальним кантором, а мати – цитопатологом. Коли хлопчику виповнилося 2 роки, родина переїхала до Бостона (штат Массачусетс), а в 10 років він втратив батька, який помер від серцевого нападу. Майкл Росбаш планував стати математиком, але після курсу біології в Каліфорнійському технологічному інституті (Пасадена, штат Каліфорнія) та літньої практики в лабораторії Нормана Девідсона (Norman Davidson) змінив свої наміри. Росбаш закінчив Каліфорнійський технологічний інститут у 1965 р. зі ступенем із хімії. За рахунок стипендії Фулбрайта він упродовж року стажувався у

Фізико-хімічному інституті біології в Парижі і в 1970 р. здобув ступінь PhD з біофізики в Масачусетському технологічному інституті. Після трьох років докторантури в галузі генетики в Единбурзькому університеті (Велика Британія) Росбаш у 1974 р. почав працювати на факультеті Брандейського університету, де познайомився з Джеффри Холлом, який став не лише співавтором його наукових досліджень, а й другом. У 1980-х роках Росбаш одружився зі своєю аспіранткою Надею Абович (Nadja Abovich), нині має двох дорослих дітей: доньку Таню та пасербицю Паулу. Майкл Росбаш є директором Національного центру поведінкової геноміки Брандейського університету, а з 1989 р. – ще й дослідником Медичного інституту Говарда Х'юза в Чеві Чейзі (штат Меріленд). Крім того, він є співзасновником та членом науково-консультативної ради компанії Hursion Inc. – дочірньої компанії Eli Lilly, що займається розробленням ліків проти розладів центральної нервової системи, а також доклінічною перевіркою ліків щодо їхньої здатності впливати на процеси сну, порушувати циркадні ритми та спричинювати звикання. Майкл Росбаш був нагороджений премією для розвитку наукової кар'єри Національного інституту здоров'я (1976–1980), премією для видатних випускників Каліфорнійського технологічного інституту (2001), премією в галузі хронобіології «Правило Ашоффа» (2008), премією Грубера в галузі нейрології (2009), премією Луїзи Гросс Хорвіц Колумбійського університету (2011), міжнародною премією канадського фонду Gairdner (2012), премією Мессрі Університету Південної Каліфорнії (2012), XII щорічною премією фонду Wiley в галузі біомедичних наук (2013) та премією Шао у галузі науки про життя та медицини (2013).

68-річний професор Майкл Уоррен Янг працює в Рокфеллерівському університеті в Нью-Йорку (США). Він народився 28 березня 1949 р. в Майямі (штат Флорида). Його батьки були далекі від науки: батько працював у компанії з продажу алюмінію, мати – секретарем в юридичній фірмі. Однак вони підтримували інтерес хлопчика до науки. Саме з книги Дарвіна, подарованої батьками, Майкл дізнався про існування загадкового «біологічного годинника» і зацікавився цією темою. Згодом сім'я переїхала в Даллас (штат Техас). У Техаському університеті в Остіні в 1971 р. Майкл

Янг здобув ступінь бакалавра з біології, а в 1975 р. – докторський ступінь з генетики. Згодом він перейшов до Медичної школи Стенфордського університету (штат Каліфорнія), а через два роки (у 1978 р.) – до Рокфеллерівського університету в Нью-Йорку. Деякий час працював також у Медичному коледжі Ейнштейна в Нью-Йорку. У 1984 р. отримав звання доцента, в 1988 р. – професора, у 2004 р. його було призначено віце-президентом з питань академічних справ Рокфеллерівського університету. У 2007 р. він став членом Національної академії наук США і Американської академії мікробіології. Майкл Янг нагороджений стипендією Фонду Андре та Белли Мейер (1978), премією Пітендріга/Ашоффа від Товариства досліджень біологічних ритмів (2006), премією Грубера з нейрології (2009), премією Луїзи Гросс Хорвіц Колумбійського університету (2011), премією Мессрі Університету Південної Каліфорнії (2012), міжнародною премією канадського фонду Gairdner (2012), премією Шао у галузі науки про життя та медицини (2013), XII щорічною премією фонду Wiley в галузі біомедичних наук (2013). Ще в Техаському університеті Майкл зустрів свою майбутню дружину – Лорел Екхардт (Laurel Eckhardt), яка зараз є професором біології в Хантерському коледжі Університету Нью-Йорка. Вони мають двох доньок – Наталі та Аріссу.

Що ж саме відкрили цьогорічні лауреати Нобелівської премії з фізіології та медицини? І що взагалі таке циркадний ритм та «біологічний годинник»?

Циркадні ритми (від лат. *circa i diem* – «навколо дня» або «протягом дня») – це циклічні коливання інтенсивності біологічних процесів із періодичністю близько 24 год, яка відповідає часу обертання нашої планети навколо своєї осі та пов'язана з процесом зміни дня і ночі. Циркадні ритми притаманні всім організмам, що живуть на планеті Земля: бактеріям, грибам, рослинам, тваринам і людині. Якщо організм позбавити можливості відчувати зміну дня і ночі (в умовах експериментальної лабораторії або полярної ночі та полярного дня), він все одно буде відтворювати циркадний ритм з тією самою періодичністю, зберігаючи чіткий режим сну та неспання. Біоритми можуть бути пов'язані не лише з добовими, а й з місячними та сезонними змінами. У різні пори року тривалість світлового

дня різна, що спонукає біоритми змінюватися, підлаштовуючись під певну пору року. Наприклад, деякі тварини і рослини взимку впадають у сплячку, чи анабіоз.

Сформувалося уявлення про складний молекулярний механізм – «біологічний годинник», який керує змінами розумової активності, поведінки, температури, серцевого ритму, кров'яного тиску, складу крові, концентрації гормонів (зокрема, кортизолу, інсуліну та мелатоніну), обміну речовин тощо. Причому в різних органах і системах максимальна активність спостерігається в різний час. Наприклад, пік фізичної активності в людини припадає на ранній вечір, а різкий стрибок кров'яного тиску – на ранній ранок (саме тому вранці серцеві напади та інсульти трапляються в 2–3 рази частіше), а гормон росту виробляється лише раз на добу, у фазі нічного сну. На роботу цього «годинника» можуть впливати зовнішні чинники, головним з яких є світло. Слід наголосити, що завдяки «біологічному годиннику» живі організми не просто реагують на схід сонця, а здатні передбачати його [3].

Людство знало про існування біоритмів з давніх-давен. Згадки про періодичність явищ живої природи трапляються ще в роботах Гіппократа і Аристотеля, а вперше про циркадні ритми в живих організмів згадується в роботі Андростена (325 р. до н.е.) – вченого, який супроводжував Олександра Македонського в походах і спостерігав зміну положення листя у тамаринда, або індійського фініка (*Tamarindus indicus*), протягом дня. Перший експериментальний доказ існування «відчуття часу» в живих істот було одержано в 1729 р. французьким астрономом Жан-Жаком де Мераном, який спостерігав за ритмічним згортанням і розкриттям листя мімози (*Mimosa pudica*) в умовах цілодобової відсутності світла, а в 1834 р. відомий швейцарський ботанік Огюстен Декандоль визначив, що період рухів листя мімози коротший за добу і становить 22–23 год. У 1880 р. Чарльз Дарвін і його син Френсіс зробили припущення про спадкову природу циркадних ритмів і експериментально довели це, схрещуючи рослини квасолі з різними періодами циркадних ритмів (у гібридів довжина періоду відрізнялася від довжини періоду в обох батьків) [4]. Ендогенну природу циркадних ритмів було остаточно підтверджено вченими з Університету Нью-Йорка в 1984 р. у

дослідах з грибами *Neurospora crassa*, проведеними в космосі [5].

Однак, як саме влаштований цей точний «годинниковий механізм»? Це залишалось загадкою протягом багатьох століть.

Лише в 1960-х роках розпочалося активне вивчення молекулярного механізму «біологічного годинника». У 1969 р. вчений румунського походження Франц Халберг (Franz Halberg) з Міннесотського університету в Міннеаполісі (США) запропонував назву «хронобіологія» для науки, що вивчає циркадні ритми [6], і став одним з її фундаторів. Невдовзі, в 1971 р., в цій галузі було зроблено значний прорив, і здійснили його Сеймур Бензер (Seymour Benzer) із Каліфорнійського технологічного університету в Пасадені (США) та його студент словацького походження Рональд Конопка (Ron Konopka). Спостерігаючи за життєвим циклом плодових мушок – дрозофіл, Конопка виявив мутантних мух із порушеним циклом (вкороченим, подовженим або аперіодичним). Дослідники припустили, що ці порушення спричинені мутацією в певному гені *period*, або скорочено *per*, і виявили цей ген в Х-хромосомі [7]. Цікаво, що Сеймур Бензер був фізиком за освітою й успішно працював у галузі напівпровідників, але, зацікавившись генетикою, в 1950 р. відкрив новий метод рекомбінації бактеріофагів, а в 1961 р. разом з Френсісом Кріком довів триплетність генетичного коду. На жаль, він помер у 2007 р., так і не дочекавшись нобелівської нагороди за жодне зі своїх великих відкриттів. Рональд Конопка помер у 2015 р. і також не міг претендувати на Нобелівську премію. Тому цьогоорічною премією було нагороджено вчених, які зробили другий, проте не менш важливий крок на шляху до розкриття таємниці «біологічного годинника».

У 1984 р. Джеффри Холл і Майкл Росбаш, які працювали в Брандейському університеті в Уолтемі, клонували ген *period* і визначили його нуклеотидну послідовність [8]. Разом з Рональдом Конопкою і колегами з Массачусетського та Нью-Йоркського університетів вони виділили функціональну частину гена *per*, клонували її в бактеріях, а потім вставили за допомогою плазмідних векторів мухам із мутаціями в гені *per*. Як наслідок було одержано мух з нормальним циркадним ритмом [9]. Незалежно від них у тому самому 1984 р. це зробив і Майкл Янг із Рокфеллерівського університету Нью-Йорка

[10]. У 1990 р. учень Росбаша Пол Хардін (Paul E. Hardin) помітив циклічні коливання протягом доби мРНК гена *per*, які відбувалися з певним зсувом у часі відносно коливань рівня протеїну PER, що зростає протягом ночі (протеїн синтезувався) та знижувався впродовж дня (протеїн руйнувався під впливом певних факторів, у тому числі світла). Це спостереження дозволило Холлу і Росбашу припустити існування петлі зворотного зв'язку, завдяки якій система регулює сама себе: коли протеїну PER накопичується надто багато, він блокує активність власного гена і припиняє синтез мРНК та протеїну PER [11]. Це було дуже важливе відкриття, оскільки, як виявилось пізніше, на принципі петлі зворотного зв'язку транскрипції/трансляції побудовано регуляцію роботи інших, тоді ще невідомих компонентів «біологічного годинника» у більшості видів живих організмів. У 1992 р. Холл і Росбаш отримали підтвердження своєї гіпотези, виявивши за допомогою імуноцитохімічних методів накопичення протеїну PER протягом ночі всередині клітинного ядра [12].

Однак було абсолютно незрозуміло, як цей протеїн потрапляє в ядро, адже він синтезується в цитоплазмі? Відповідь на це питання в 1994 р. знайшов Майкл Янг, який відкрив новий ген *timeless*, мутації в якому впливали на добові ритми активності дрозодил [13]. Виявилось, що продукт цього гена ТІМ утворює комплекс з протеїном PER, захищає його від руйнування і забезпечує доставку в ядро [14]. Крім того, протеїн ТІМ сам здатен руйнуватися під впливом світла, що сприяє пристосуванню життєвого циклу до зміни дня і ночі [15]. Яким же чином протеїни PER і ТІМ блокують в ядрі гени?

Це стало зрозумілим після того, як у 1998 р. Холл і Росбаш відкрили у дрозодил гени транскрипційних факторів *clock* [16] і *cycle* [17]. Слід зауважити, що ген *clock* виявив у миші на рік раніше Джозеф Такаhashi (Joseph Takahashi) [18]. Продукти цих генів CLK і CYC утворюють комплекс, який зв'язується з певною послідовністю E-Box (Enhancer Box – CACGTG) у промоторах генів *period*, *timeless* (і, як виявилось пізніше, багатьох інших циркадних генів) та стимулює їх транскрипцію. Коли комплекс протеїнів PER і ТІМ потрапляє в ядро, він блокує транскрипційні фактори CLK і CYC, що приводить до інгібування транскрипції генів *period* і *timeless*. До речі, роль послідовностей

E-Box в активації гена *period* у 1997 р. з'ясував Пол Хардін [19], який тоді вже не працював з Росбашем, а вперше послідовність E-Box виявили в 1985 р. Сусуму Тонегава (Susumu Tonegawa), лауреат Нобелівської премії з фізіології і медицини 1987 р., який відкрив генетичний принцип походження різноманітності антитіл, і Волтер Гілберт (Walter Gilbert), лауреат Нобелівської премії з хімії 1980 р. за відкриття методу секвенування ДНК [20].

У 1998 р. Холл і Росбаш також відкрили у дрозодил ген *cryptochrome*, що кодує протеїн фоторецептора CRY, який реагує на синє та ультрафіолетове світло, забезпечуючи тим самим надходження в мозок інформації про освітленість і час доби [21]. CRY у присутності світла зв'язується з протеїном ТІМ і сприяє його швидкій деградації, доки ТІМ не почне знову накопичуватися в темряві [22]. Цікаво, що минулого року китайські вчені заявили про відкриття у дрозодил протеїну MagR, який взаємодіє з молекулами CRY, утворюючи магніточутливий стрижнеподібний мультимерний комплекс, що орієнтується в магнітному полі Землі певним чином, являючи собою внутрішньоклітинний магнітний рецептор [23].

У тому самому 1998 р. Майкл Янг відкрив ген *dbt* (double-time), що кодує протеїн DBT (казеїнкіназа 1), який, як виявилось, фосфорилує протеїн PER, що сприяє його деградації і запобігає утворенню надлишку цього протеїну в цитоплазмі, а також забезпечує стабільність добових ритмів при порушенні зміни дня і ночі, коли порушується циклічність надходження протеїну ТІМ у цитоплазму. Крім того, протеїн DBT уповільнює накопичення протеїну PER для того, щоб «розтягнути» коливальний цикл до 24 год [24].

Після цього всі зрозуміли, що механізм «біологічного годинника» складніший, ніж здавалося спочатку. Один за одним почали відкривати нові гени, пов'язані з циркадними ритмами: *shaggy* (протеїнкіназа SGG, що фосфорилує ТІМ і регулює його транспорт у ядро) [25], casein kinase 2 (протеїнкіназа CK2, що разом з DBT фосфорилує PER) [26], *vriille* та PAR domain protein 1 (фактори транскрипції VRI та Pdp1, що регулюють транскрипцію CLK) [27, 28], *jetlag* (протеїн JET, що забезпечує деградацію ТІМ і CRY в протеасомі) [29] та ін. До речі, гени *shaggy*, *vriille* і PAR domain protein 1 було відкрито за участю лабораторії Майкла Янга.

Отже, виявилось, що в кожній клітині організму є власний, досить складний «біологічний годинник», який відраховує добовий цикл. Але як багатоклітинному організму вдається працювати злагоджено? Як усі ці «годинники» синхронізуються і де знаходиться головний з них – той, що задає ритм?

Нескладно здогадатися, що головний «біологічний годинник» знаходиться у мозку. Ще в 1970-х роках було відомо, що супрахіазмальне ядро гіпоталамуса має стосунок до регуляції сну, і висловлювалося припущення, що існування у тварин двох піків активності (зранку та ввечері) пояснюється роботою двох пов'язаних генераторів коливаль: ранковий генератор М (від англ. *morning* – ранок) відповідає за активність вранці і прискорюється світлом; вечірній генератор Е (від англ. *evening* – вечір) зумовлює активність увечері і сповільнюється світлом [30]. Лише через 30 років було встановлено, де саме знаходиться центральний «біологічний годинник» і як він працює. Як виявилось, генератор Е – це дорсальні бічні нейрони LN(d)s супрахіазмального ядра гіпоталамуса, а генератор М – це відповідні вентральні бічні нейрони LN(v)s, які є головними завдяки здатності підтримувати цілодобовий цикл у постійній темряві та синтезувати нейропептид PDF (фактор дисперсії пігменту) [31], що відіграє важливу роль у передаванні сигналу між різними групами нейронів. До речі, PDF було відкрито у дрозофіли в 1998 р. у лабораторії Джеффри Холла [32]. Один з учнів Янга – Джастін Блау (Justin Blau) з Університету Нью-Йорка дослідив супрахіазмальне ядро гіпоталамуса личинок дрозофіли, яке складається всього з 6 нейронів, і показав, що М-клітини вранці активуються за участю протеїну ТІМ і передають цей сигнал одна одній, а потім – Е-клітинам. Увечері активуються Е-клітини, і все відбувається навпаки [33].

За такого обміну сигналами «годинники» в нейронах синхронізуються і сигнал передається шишкоподібній залозі або епіфізу, який іноді називають «третім оком», оскільки в деяких риб, амфібій і рептилій він розташований на маківці і може отримувати інформацію про освітленість. У ссавців епіфіз знаходиться всередині мозку, але все одно отримує сигнали про освітленість через зорові нерви від гангліозних клітин сітківки, що містять фоточутливі криптохромні

та меланопсинові рецептори. Цікаво, що меланопсин хребетних тварин і людини, який бере участь у регулюванні добових циклів, дуже подібний до родопсину безхребетних, який має стосунок до зору [34].

Одержавши сигнал, епіфіз виділяє гормони мелатонін і серотонін, які синхронізують циркадні ритми в усіх клітинах організму. Мелатонін є гормоном сну і синтезується в темряві, а серотонін є гормоном радості, бадьорості та працездатності і виробляється вдень, особливо на яскравому світлі. Дія багатьох антидепресантів ґрунтується на блокуванні зворотного захоплення серотоніну нейронами, які його виділяють. Крім регуляції циркадних ритмів ці гормони виконують в організмі багато інших функцій, наприклад, мелатонін є імуностимулятором і найбільш потужним антиоксидантом, що захищає від ушкоджень ДНК, запобігаючи виникненню раку, а серотонін регулює чутливість больових рецепторів і стимулює згортання крові. Цікаво, що мелатонін синтезується з серотоніну, а саме – є його індольним похідним. Тому порушення сну, які намагаються лікувати мелатоніном, часто спричинені нестачею серотоніну. Слід зазначити, що дослідження ролі серотоніну у функціонуванні головного мозку проводилося в Інституті біохімії АН УРСР ще за життя академіка О. В. Палладіна, зокрема, було темою докторської дисертації М. Д. Курського [35]. У регулюванні синтезу мелатоніну беруть участь гормони кортизол, естроген і тестостерон, а для їх синтезу необхідний холестерин, що міститься в продуктах тваринного походження. Тому неповноцінне харчування також є однією з причин безсоння. Такий механізм синхронізації циркадних ритмів є універсальним і працює як у людини, так і у дрозофіли [36].

Більшість генів, які забезпечують роботу «біологічного годинника» у дрозофіли, мають гомологи у геномах усіх тварин, хоча деталі механізму «годинника» у різних класів тварин можуть різнитися (наприклад, у ссавців є 3 гени *period* і 2 гени *cryptochrome*, а гомолог СУС має назву *BMAL1*) [37]. У рослин за роботу «біологічного годинника» відповідають переважно інші протеїни: важливу роль відіграє система протеїнів фітохромів, які реагують на зміну спектрального складу світла і сигналізують про час доби та пору року. Од-

нак «біологічний годинник» рослин працює на тих самих принципах регуляції, які були відкриті цьогорічними нобелівськими лауреатами [38]. Завдяки цим відкриттям біологія циркадних ритмів, або хронобіологія, перетворилася на наукову дисципліну, яка зараз активно вивчає механізми регулювання «біологічного годинника» у різних видів живих організмів і намагається одержати відповіді на безліч нових запитань.

З'являється все більше фактів на користь того, що в регуляції роботи «біологічного годинника» важливу роль відіграють поліморфізм циркадних генів [39], мікроРНК [40], а також епігенетичні процеси (метилування та ацетилювання ДНК і гістонів) [41]. Наявність циркадних коливань в еритроцитах ссавців, що в процесі дозрівання втрачають ядро, рибосоми та мітохондрії, дозволила припустити існування іншого механізму регуляції «біологічного годинника» крім петель зворотного зв'язку транскрипції/трансляції [42]. Таким механізмом можуть бути метаболічні та окисно-відновні цикли, наприклад за участю антиоксидантних протеїнів пероксиредоксинів, які тісно пов'язані з циркадними ритмами і можуть виявитися невід'ємним елементом для їх генерації [43]. Крім того, зараз активно вивчають, як саме організми пристосовують свої «біологічні годинники» до змін не тільки освітленості, а й інших факторів. Встановлено, що циркадний датчик температури знаходиться не в мозку, а на периферії. Важливу роль у передачі інформації про температуру у дрозофіли можуть відігравати фосфоліпаза C, що кодується геном *norpA*, великий глутамін-багатий протеїн з невідомими поки що функціями, який кодується геном *nocte*, і рецептор IR25a [44, 45]. Припускають, що зворотний зв'язок від механосенсорних і, зокрема, пропріоцептивних органів може адаптувати «біологічний годинник» до власних рухів і дій комахи [46].

Уже не вперше Нобелівська премія з фізіології та медицини фактично виявляється премією з біології. Однак від премії з медицини завжди чекають якихось перспектив впровадження в лікувальну практику. Відкриття цьогорічних лауреатів є зразком фундаментальної науки. Як же результати цих досліджень можна використати на практиці, хоча б у віддаленій перспективі?

Уже зараз намагаються підвищити ефективність ліків і зменшити їх побічну дію, застосовуючи медичні препарати в певний період доби, розрахований на основі циркадних ритмів пацієнта. Наприклад, препарати ловастатину, що знижують рівень холестерину, приймають вночі, оскільки саме в цей час рівень його ферменту-«мішені» є найвищим. Також хронотерапевтичні підходи успішно використовують при лікуванні різних видів раку [47].

Всім відомо, що люди поділяються на «сови» і «жайворонків» залежно від здатності ефективно працювати відповідно ввечері чи зранку. Тих, хто активно працює вдень, вчасно засинає ввечері і легко прокидається вранці, називають «голубами». Чим зумовлений такий поділ? Можливо, це звичка або сови – просто ледарі. Здебільшого саме так і є, і порушення сну в таких людей легко вилікувати дотриманням чіткого режиму. Однак у частини людей проблеми зі сном дійсно спричинені генетичними порушеннями в роботі «біологічного годинника». Наприклад, мутація в гені людини *per2* зумовлює синдром передчасної фази сну (advanced sleep phase syndrome – ASPS), при якому людина лягає спати засвітла і прокидається вночі, тобто є «гіпержайворонком» [48]. А мутація в гені людини *per3* викликає протилежний ефект – синдром затримки фази сну (delayed sleep-phase syndrome – DSPS), коли людина засинає пізно вночі і фізіологічно не здатна прокинутися о сьомій ранку. В 1 із 75 чоловік «совиний» режим спричинений генетичною мутацією протеїну CRY1 [49]. Іноді жартома виділяють ще одну категорію людей – «дятлів», які активні та бадьорі в будь-який час доби. Виявляється, що в цьому жарті є лише частка жарту: люди, які мало сплять, але при цьому висипаються, дійсно існують. З'ясувалося, що фенотип короткого сну викликаний мутаціями в гені людини *dec2* [50], а транскрипційний фактор DEC2, який кодується цим геном, зв'язується з BMAL1 (гомологом CLK) і зумовлює пригнічення активності гена *per1* [51].

Іноді ушкодження ділянок мозку, важливих для роботи «біологічного годинника», викликають дуже серйозні захворювання. Наприклад, мутація в гені пріонового протеїну PRNP призводить до утворення амілоїдних бляшок у таламусі та розвитку невиліковного захворювання, яке називається фатальним сімейним безсон-

ням і проявляється безсонням, галюцинаціями, слабоумством та смертю через півтора року від перевтоми і абсолютної нездатності спати. Цікаво, що мутація в цьому самому гені спричинює синдром Крейтцфельда–Якоба – дистрофічне захворювання ЦНС, яке є проявом пріонової хвороби, або губчатої енцефалопатії [52].

Люди здавна помітили, що неузгодженість між способом життя і «біологічним годинником» може мати негативні наслідки для здоров'я. Зараз цей факт підтверджено епідеміологічними дослідженнями і лабораторними дослідженнями на мишах [53]. Усім відомо, що в разі швидкої зміни часового поясу (наприклад, при перельотах літаком) людина тривалий час (приблизно протягом тижня) не може пристосуватися до нового ритму життя і перебуває у стані «джетлагу» (від англ. *jet* – реактивний літак; *lag* – відставання, зміщення фаз). Ті, кому доводиться багато подорожувати, змінюючи часові пояси, постійно вживають гормони сну та неспання, що шкодить здоров'ю через пригнічення синтезу цих гормонів власним організмом. Іноді людина змушена порушувати природний ритм «біологічного годинника» під впливом певних соціальних факторів: ненормований робочий день або робота у нічну зміну, догляд за маленькими дітьми, які часто не сплять уночі. В такому разі виникає подібний стан «соціального джетлагу», який людина переносить дуже важко. Всі, хто працює вночі, знають, як це складно. Не кожна людина може витримати такий ритм життя, хоча за роботу в нічні зміни й платять більше.

Зараз активно вивчають взаємозв'язок циркадних ритмів і метаболізму, а також причини виникнення метаболічних порушень у разі збою «біологічного годинника» [54]. Хронічне перебування у стані «джетлагу» незалежно від причин, що його викликали, може призвести до фатальних наслідків для здоров'я: пришвидшення старіння, порушення репродуктивної функції у жінок, збільшення ризику розвитку ожиріння, цукрового діабету, інфаркту міокарда, інсульту і навіть раку [55, 56]. Дуже небезпечним є вплив на нервову систему: починаючи від зниження продуктивності праці та депресії до порушення когнітивних функцій і серйозних психічних розладів, що нерідко стають причиною трагічних подій [57]. Так, післяпологова депресія у жінок, зумовлена гормональною перебудовою

та «соціальним джетлагом», іноді призводить до вбивства матір'ю дитини. Навіть природні сезонні зміни у роботі «біологічного годинника» здатні спричинити сезонні депресії, неврози або психози. Щоб зменшити розбіжності між робочим графіком та світловим днем, які можуть викликати у населення втрату працездатності, в багатьох країнах (переважно Європи та Північної Америки) два рази на рік змінюють час на 1 год – переходять з літнього часу на зимовий і навпаки.

Хронобіологічні дослідження зараз є актуальними як ніколи, оскільки суспільства розвинених країн охопила криза сну. Пріоритетом для сучасної людини є робота, кар'єра, гроші, а не власне здоров'я. Більше того, відмова від сну вже сприймається як необхідний елемент успіху. З появою електронних гаджетів люди цілодобово можуть працювати, спілкуватися, перебувають у постійній готовності відповісти, прореагувати, а їхній робочий день фактично не закінчується ніколи. Дуже шкідливим є використання яскравого штучного світла вночі, що порушує роботу всіх систем організму. Особливо шкідливим є синє світло світлодіодів (з довжиною хвилі 480 нм), яке часто використовують у сучасних приладах [58]. Не дивно, що безсоння та захворювання, зумовлені порушенням циркадних ритмів, невпинно поширюються. У китайській, японській та корейській мовах навіть з'явилося спеціальне слово, яким позначають смерть на роботі від перевтоми. В англійській чи українській мовах, на щастя, такого слова поки що немає, але невдовзі воно може знадобитися [57]. Виникає питання: якщо неможливо змінити режим роботи чи спосіб життя, чому б не «підкрутити» «біологічний годинник»? Це дуже спокуслива можливість, зважаючи на те, що багатьом людям не вистачає дня для вирішення всіх своїх справ, не кажучи вже про необхідність у майбутньому адаптуватися до іншої тривалості доби в разі колонізації людством інших планет і майбутніх космічних подорожей.

Завдяки відкриттю механізму регулювання циркадних ритмів можна говорити про теоретичну можливість створення препаратів, які могли б відкоригувати цикл. Уже розпочався пошук речовин, які б специфічно взаємодіяли з продуктами циркадних генів. Так, під час скринінгу бібліотеки з 60 тис. малих молекул знайдено речовину, яка взаємодіє з CRY [59]. Якби вдалося

розробити подібні препарати, проблеми з недосипанням залишилися б у минулому. Головне, щоб ціна, яку ми маємо заплатити природі за таку можливість, не виявилася занадто високою. Однак чомусь видаються пророчими слова провідного німецького хронобіолога Тілля Ренеберга: «Сумніваюся, що хтось захоче скорочувати тривалість сну, коли ми по-справжньому зрозуміємо, для чого він потрібен» [57].

Проте насамкінець автори статті мають зізнатися, що, на жаль, самі з різних причин часто-густо не дотримуються правил тривалості повноцінного сну.

WHY CIRCADIAN RHYTHMS ARE NEEDED, OR HOW TO CHANGE THE RATE OF THE “BIOLOGICAL CLOCK”

Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2017

S. V. Komisarenko, S. I. Romanyuk

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

On October 2, the Nobel Committee at Karolinska Institutet announced the names of the winners of the Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2017. They are three American scientists Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash and Michael W. Young. The Prize was awarded to them “for their discoveries of molecular mechanisms controlling the circadian rhythm”.

References

1. The 2017 Clarivate Citation Laureates. <https://clarivate.com/2017-citation-laureates/>
2. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2017. Press Release. https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2017/press.html.
3. Circadian rhythm. From Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Circadian_rhythm.
4. Circadian rhythm [Циркадный ритм.] https://wikivisually.com/lang-ru/wiki/Циркадный_ритм.
5. Sulzman FM, Ellman D, Fuller CA, Moore-Ede C, Wassmer G. Neurospora circadian rhythms in space: a reexamination of the endogenous-exogenous question. *Science*. 1984; 225: 232.
6. Halberg F. Chronobiology. *Annu Rev Physiol*. 1969; 31: 675.
7. Konopka RJ, Benzer S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1971; 68(9): 2112.
8. Reddy P, Zehring WA, Wheeler DA, Pirrotta V, Hadfield C, Hall JC, Rosbash M. Molecular analysis of the period locus in *Drosophila melanogaster* and identification of a transcript involved in biological rhythms. *Cell*. 1984; 38(3): 701.
9. Bargiello TA, Jackson FR, Young MW. Restoration of circadian behavioral rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature*. 1984; 312(5996): 752.
10. Zehring WA., Wheeler DA, Reddy P, Konopka RJ, Kyriacou CP, Rosbash M, Hall JC. P-element transformation with period locus DNA restores rhythmicity to mutant, arrhythmic *Drosophila melanogaster*. *Cell*. 1984; 39(2): 369.
11. Hardin PE, Hall JC, Rosbash M. Feedback of the *Drosophila* period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature*. 1990; 343(6258): 536.
12. Liu X, Zwiebel LJ, Hinton D, Benzer S, Hall JC, Rosbash MJ. The period gene encodes a predominantly nuclear protein in adult *Drosophila*. *Neuroscience*. 1992; 12(7): 2735.
13. Sehgal A, Price JL, Man B, Young MW. Loss of circadian behavioral rhythms and per RNA oscillations in the *Drosophila* mutant timeless. *Science*. 1994; 263(5153): 1603.
14. Gekakis N, Saez L, Delahaye-Brown AM, Myers MP, Sehgal A, Young MW, Weitz CJ. Isolation of timeless by PER protein interaction: defective interaction between timeless protein and long-period mutant PERL. *Science*. 1995; 270(5237): 811.
15. Myers MP, Wager-Smith K, Rothenfluh-Hilfiker A, Young MW. Light-induced degradation of TIMELESS and entrainment of the *Drosophila* circadian clock. *Science*. 1996; 271(5256): 1736.
16. Allada R, White NE, So WV, Hall JC, Rosbash M. A mutant *Drosophila* homolog of mammalian Clock disrupts circadian rhythms and transcription of period and timeless. *Cell*. 1998; 93(5): 791.
17. Rutila JE, Suri V, Le M, So WV, Rosbash M, Hall JC. CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and

- transcription of *Drosophila* period and timeless. *Cell*. 1998; 93(5): 805.
18. King DP, Zhao Y, Sangoram AM, Wilsbacher LD, Tanaka M, Antoch MP, Steeves TD, Vitaterna MH, Kornhauser JM, Lowrey PL, Turek FW, Takahashi JS. Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell*. 1997; 89(4): 641.
 19. Hao H, Allen DL, Hardin PE. A circadian enhancer mediates PER-dependent mRNA cycling in *Drosophila melanogaster*. *Mol Cell Biol*. 1997; 17(7): 3687.
 20. Ephrussi A, Church GM, Tonegawa S, Gilbert W. B lineage-specific interactions of an immunoglobulin enhancer with cellular factors in vivo. *Science*. 1985; 227(4683): 134.
 21. Emery P, So WV, Kaneko M, Hall JC, Rosbash M. CRY, a *Drosophila* clock and light-regulated cryptochrome, is a major contributor to circadian rhythm resetting and photosensitivity. *Cell*. 1998; 95(5): 669.
 22. Ceriani MF, Darlington TK, Staknis D, Mas P, Petti AA, Weitz CJ, Kay SA. Light-dependent sequestration of TIMELESS by CRYPTOCHROME. *Science*. 1999; 285(5427): 553.
 23. Qin S, Yin H, Yang C, Dou Y, Liu Z, Zhang P, Yu H, Huang Y, Feng J, Hao J, Hao J, Deng L, Yan X, Dong X, Zhao Z, Jiang T, Wang HW, Luo SJ, Xie C. A magnetic protein biocompass. *Nat Mater*. 2016; 15(2): 217.
 24. Price JL, Blau J, Rothenfluh A, Abodeely M, Kloss B, Young MW. Double-time is a novel *Drosophila* clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. *Cell*. 1998; 94(1): 83.
 25. Martinek S, Inonog S, Manoukian AS, Young MW. A role for the segment polarity gene shaggy/GSK-3 in the *Drosophila* circadian clock. *Cell*. 2001; 105(6): 769.
 26. Lin JM, Kilman VL, Keegan K, Paddock B, Emery-Le M, Rosbash M, Allada R. A role for casein kinase 2alpha in the *Drosophila* circadian clock. *Nature*. 2002; 420(6917): 816.
 27. Blau J, Young MW. Cycling vrille expression is required for a functional *Drosophila* clock. *Cell*. 1999; 99(6): 661.
 28. Cyran SA, Buchsbaum AM, Reddy KL, Lin MC, Glossop NR, Hardin PE, Young MW, Storti RV, Blau J. vrille, Pdp1, and dClock form a second feedback loop in the *Drosophila* circadian clock. *Cell*. 2003; 112(3): 329.
 29. Koh K, Zheng X, Sehgal A. JETLAG resets the *Drosophila* circadian clock by promoting light-induced degradation of TIMELESS. *Science*. 2006; 312(5781): 1809.
 30. Pittendrigh CS, Daan S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: a clock for all seasons. *J Comp Physiol*. 1976; 106(2): 333.
 31. Grima B, Chelot E, Xia R, Rouyer F. Morning and evening peaks of activity rely on different clock neurons of the *Drosophila* brain. *Nature*. 2004; 431(7010): 869.
 32. Park JH, Hall JC. Isolation and chronobiological analysis of a neuropeptide pigment-dispersing factor gene in *Drosophila melanogaster*. *J Biol Rhythms*. 1998; 13(3): 219.
 33. Collins B, Kane EA, Reeves DC, Akabas MH, Blau J. Balance of activity between LN(v)s and glutamatergic dorsal clock neurons promotes robust circadian rhythms in *Drosophila*. *Neuron*. 2012; 74(4): 706.
 34. Hankins MW, Peirson SN, Foster RG. Melanopsin: an exciting photopigment. *Trends Neurosci*. 2008; 31(1): 27.
 35. Курский МД. Роль 5-окситриптамина (серотонина) в биоэнергетических процессах: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Киев, 1971.
 36. Серотонин vs мелатонин или баланс природы. Режим доступа: <https://kactaheda.livejournal.com/168608.html>.
 37. Lowrey PL, Takahashi JS. Genetics of the mammalian circadian system: Photic entrainment, circadian pacemaker mechanisms, and posttranslational regulation. *Annu Rev Genet*. 2000; 34: 533.
 38. Nohales MA, Kay SA. Molecular mechanisms at the core of the plant circadian oscillator. *Nat Struct Mol Biol*. 2016; 23(12): 1061.
 39. Tauber E, Zordan M, Sandrelli F, Pegoraro M, Osterwalder N, Breda C, Daga A, Selmin A, Monger K, Benna C., Rosato E, Kyriacou CP, Costa R. Natural selection favors a newly derived timeless allele in *Drosophila melanogaster*. *Science*. 2007; 316(5833): 1895.
 40. Chacolla-Huaranga R, Moreno-Cuevas J, Trevino V, Scott SP. Entrainment of Breast Cell Lines Results in Rhythmic Fluctuations of MicroRNAs. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(7): E1499.
 41. Feng D, Liu T, Sun Z, Bugge A, Mullican SE, Alenghat T, Liu XS, Lazar MA. A circadian

- rhythm orchestrated by histone deacetylase 3 controls hepatic lipid metabolism. *Science*. 2011; 331(6022): 1315.
42. O'Neill JS, Reddy AB. Circadian clocks in human red blood cells. *Nature*. 2011; 469(7331): 498.
 43. Edgar RS, Green EW, Zhao Y, van Ooijen G, Olmedo M, Qin X, Xu Y, Pan M, Valekunja UK, Feeney KA, Maywood ES, Hastings MH, Baliga NS, Mellow M, Millar AJ, Johnson CH, Kyriacou CP, O'Neill J, Reddy AB. Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms. *Nature*. 2012; 485(7399): 459.
 44. Sehadova H, Glaser FT, Gentile C, Simoni A, Giesecke A, Albert JT, Stanewsky R. Temperature entrainment of *Drosophila*'s circadian clock involves the gene nocte and signaling from peripheral sensory tissues to the brain. *Neuron*. 2009; 64(2): 251.
 45. Chen C, Buhl E, Xu M, Croset V, Rees JS, Lilley KS, Benton R, Hodge JJ, Stanewsky R. *Drosophila* Ionotropic Receptor 25a mediates circadian clock resetting by temperature. *Nature*. 2015; 527(7579): 516.
 46. Simoni A, Wolfgang W, Topping MP, Kavlie RG, Stanewsky R, Albert JT. A mechanosensory pathway to the *Drosophila* circadian clock. *Science*. 2014; 343(6170): 525.
 47. Ozturk N, Ozturk D, Kavakli IH, Okyar A. Molecular Aspects of Circadian Pharmacology and Relevance for Cancer Chronotherapy. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(10): E2168.
 48. Toh KL, Jones CR, He Y, Eide EJ, Hinz WA, Virshup DM, Ptacek LJ, Fu YH. An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science*. 2001; 291(5506): 1040.
 49. Patke A, Murphy PJ, Onat OE, Krieger AC, Ozelik T, Campbell SS, Young MW. Mutation of the Human Circadian Clock Gene CRY1 in Familial Delayed Sleep Phase Disorder. *Cell*. 2017; 169(2): 203.
 50. He Y, Jones CR, Fujiki N, Xu Y, Guo B, Holder JL Jr, Rossner MJ, Nishino S, Fu YH. The transcriptional repressor DEC2 regulates sleep length in mammals. *Science*. 2009; 325(5942): 866.
 51. Honma S, Kawamoto T, Takagi Y, Fujimoto K, Sato F, Noshiro M, Kato Y, Honma K. Dec1 and Dec2 are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature*. 2002; 419(6909): 841.
 52. Goldfarb LG, Petersen RB, Tabaton M, Brown P, LeBlanc AC, Montagna P, Cortelli P, Julien J, Vital C, Pendelbury WW. Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: disease phenotype determined by a DNA polymorphism. *Science*. 1992; 258(5083): 806.
 53. Roenneberg T, Mellow M. The Circadian Clock and Human Health. *Curr Biol*. 2016; 26(10): R432.
 54. Panda S. Circadian physiology of metabolism. *Science*. 2016; 354(6315): 1008.
 55. Nedeltcheva A.V., Scheer F.A. Metabolic effects of sleep disruption, links to obesity and diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014; 21(4): 293.
 56. James P, Bertrand KA, Hart JE, Schernhammer ES, Tamimi RM, Laden F. Outdoor Light at Night and Breast Cancer Incidence in the Nurses' Health Study II. *Environ Health Perspect*. 2017; 125(8): 087010.
 57. Хаффингтон А. Революция сна. Как менять свою жизнь ночь за ночью. М.: Альпина Паблишер, 2017.
 58. Hatori M, Gronfier C, Van Gelder RN, Bernstein PS, Carreras J, Panda S, Marks F, Sliney D, Hunt CE, Hirota T, Furukawa T, Tsubota K. Global rise of potential health hazards caused by blue light-induced circadian disruption in modern aging societies. *NPJ Aging Mech Dis*. 2017; (3): 9.
 59. Hirota T, Kay SA. Identification of small-molecule modulators of the circadian clock. *Methods Enzymol*. 2015. 551: 267.

(Статтю передруковано з журналу «Вісник НАН України», № 12, 2017)