

Válaszok Dr. Vellai Tibor bírálataira

Nagyra értékelem Vellai Tibor professzor úr értekezésemre vonatkozó, apró részletekre is kiterjedő bírálatát, és nagyon köszönöm dicsérő szavait. Különösen jól esett a dolgozat stílusát és tudományos szemléletemet érintő méltató véleménye. Köszönöm az írásmódra és szóhasználatra tett formai megjegyzéseket, azokkal egyetértek, és igyekszem a tanulságokat a jövőben hasznosítani.

Kérdései és az azokra adott válaszaim a következők:

- 1. A cirkadián óra működése robosztus: a VVD fehérje represszálja a WCC működését gyenge fényben (értsd: gátolja, hogy a félhold felborítsa az óra működését). A városi életforma éjszakai megvilágításai azonban messze meghaladhatják a félhold fényerősségét. Ez miért nem torzítja el a biológiai óránk ritmusát, miért nem okoz tömeges mértékű alvási problémákat?**

A *Neurospora* VVD védő hatásának elégtelenségét emberben ahhoz hasonlítanám, amikor éjszaka egy erős fényt adó lámpa ég a szobában, ami átvilágít a szemhéjon. Ez utóbbi helyzet áll elő intenzív osztályokon, ahol éjjel-nappal folyamatos és erős megvilágítás van. Az ilyen körülmények között ápolt betegekben jól ismert a súlyos ritmuszavar mind az alvás, mind a fiziológiai mutatók terén, de nyilván ilyenkor a betegségből adódóan is számos további faktor (pl. gyulladásos mediátorok hatása) szerepet játszhat az óraműködés felborulásában.

Az emberi belső óra működését és így az alvás és általában a fiziológiai működések cirkadián ritmusát több "Zeitgeber" együttes hatása határozza meg. A "Zeitgeber" tényezők egymáshoz képesti súlya sokat változott az idők során. A klasszikus, minden élőlény esetében szerepet játszó "Zeitgeberek" (fény, hőmérséklet, táplálék) mellett emberben fontos szerepe van a szociális hatásoknak és a testmozgásnak, ez utóbbinak jelentőségét alaposabban csak a közelmúltban kezdték vizsgálni. Mindezek eredője határozza meg a belső óránk fázisát, rossz esetben pedig, elsősorban akkor, ha a "Zeitgeber" hatások nincsenek hasonló fázisban, eredményezi a ritmusunk zavarát. A mesterséges világítás egyértelműen megzavarja a ritmusunkat, nem véletlen, hogy az alvászavarok kezelésében fontos és hatékony eszköz a fényviszonyok időbeliségének megfelelő kontrollja, amiben kiemelt szerepe van az esti fényexpozíció csökkentésének, kékfény-szűrők alkalmazásának a monitoron vagy a telefon kijelzőjén. Bár egyre nagyobb figyelem irányul a cirkadián deszinkronizáció talaján kialakuló alvászavarok felé, előfordulásuk gyakorisága valószínűleg még mindig alábecsült. Különböző tanulmányok szerint, függően attól, hogy milyen korú populáción készültek a vizsgálatok, a kamasz-felnőtt populáció 10-16%-nak van a cirkadián szabályozás zavarán alapuló alvászavara (CRSD, circadian rhythm sleep disorders), ami igen jelentős hányad (Ando et al., 2002; Barion and Zee, 2007; Crowley et al., 2007). A mesterséges fény és a városi életmód ritmust meghatározó szerepének vizsgálatára Wright és munkatársai ugyanazon személyek alvásidőzítését és melatonin szint változásait vizsgálták egy hétig szokásos városi

környezetben, majd egy héten keresztül a Sziklás-hegységben töltött kempingezés alatt (Wright et al., 2013). Ez utóbbi időszak felelt meg a természetes fényviszonyoknak, ugyanis sátorban laktak, és a tábortűzön kívül esténként más fényforrás nem állt rendelkezésre. Egyértelmű különbség volt megállapítható az alvási ritmusban és a melatonin szekréció fázisában is, a természetes környezetben mindkettő fázisa 1-2 órával korábbra tolódott, és ez a hatás jelentősebb volt a késői kronotípusok esetében. Érdekes és fontos adat volt még, hogy az átlagos fényexpozíció a kempingező időszakban mintegy négyszerese volt annak, ami a városi környezetben érte a vizsgált alanyokat. Fenti adatok tehát egyértelműen arra utalnak, hogy a városi élethez kapcsolódó megvilágítási viszonyok módosítják alvásunk természetes ritmusát.

2. Milyen molekuláris kölcsönhatásokon keresztül alakulhat ki egy tetszőleges humán betegség az óra hibájának következtében?

A familiáris előretolt alvásfázis szindróma (FASPS) patomechanizmusa szép példája annak, ahogy az oszcillátor komponensek mutációja egy betegség tüneteit magyarázhatja (Jones et al., 1999; Shanware et al., 2011; Toh et al., 2001; Xu et al., 2005). A kórkép hátterében a PER fehérjék, elsősorban a PER2 CK1 δ és valószínűleg CK1 ϵ révén történő foszforilációjának megváltozása áll, aminek oka egyaránt lehet a PER2 és a kazein kináz mutációja. A PER2-ben a 662-es szerin egy iniciációs hely, amelynek foszforilációja elősegíti a vele egy klaszterben lévő további szerin maradékok foszforilációs módosulását. Ennek a régióknak a foszforilációja, szemben a cirkadián szabályozásban résztvevő fehérjék esetében gyakoribb hatással, nem növeli, hanem csökkenti a degradáció sebességét, azaz növeli a fehérje stabilitását. A betegekben a kitüntetett szerin foszforilációjának elmaradása a PER2 stabilitásának csökkenéséhez vezet, aminek következtében gyorsabban felszabadul a pozitív komplex a gátlás alól, azaz gyorsul az oszcillátorműködés és rövidebb periódus alakul ki. A betegekben mért átlagosan 19 órás szabadon futó periódus "entrained", azaz változó környezeti körülmények mellett az SCN-ben és az egyéb központi idegrendszeri struktúrákban, illetve perifériás szövetekben is a molekuláris óra fázisának korábbra válásához vezet, és ennek velejárója az alvás regulációjában résztvevő központi struktúrák aktivitási fázisának megváltozása. Ha lehetséges, a FASPS-ban szenvedő betegek átlagosan 19:30 órakor elalszanak, és hajnali 4:30 óra körül már kelnek. Az alvászavar mellett az érintettek mintegy fele mutat enyhébb vagy súlyosabb depressziós tüneteket már fiatal korban, ez az előfordulás pedig sokszorosa annak, ami a teljes populációra jellemző. Hogy a depresszió kialakulása közvetlen kapcsolatban van-e az oszcillátor valamely komponensének megváltozott működésével, vagy az a ritmuszavar és az ezzel kapcsolatos szociális alkalmazkodási zavar másodlagos következménye-e, egyelőre nem tisztázott.

3. Mi a helyzet az állandóan sötétben (pl. talajban, barlangban) élő szervezetek esetében? A *Caenorhabditis elegans* fonálféregnek például van cirkadián órája?

Valóban vannak élőlények, amelyek kevésbé vannak kitéve a környezet ciklikus változásainak, ilyenek a barlangokban, a talaj mélyebb rétegeiben vagy a tengerek mélyén élő organizmusok, illetve az év bizonyos szakaszaiban a sarkvidéki élőlények is. Régóta ismert, hogy a rénszarvas viselkedési ritmusa szünetel a folyamatos világos időszakban, azaz ha nincsen ritmusos környezeti változás, gyakorlatilag leáll az óraműködés. Ugyanakkor érdekes, hogy a legtöbb, ritmus nélküli környezetben lévő állat vizsgálata kapcsán sikerült valamilyen szinten cirkadián ritmust kimutatni, még ha sokszor nem is egyértelmű, hogy ez milyen előnnyel járhat. Az állandóan a tengerek mélyén élő állatok esetében az az elképzelés, hogy más élőlények, esetleg a táplálék forrás napszaki vándorlása jelent időinformációt számukra, az szinkronizálja a ritmusukat. Ilyenkor a megfelelő ritmusos működés egyértelmű előnnyel jár, hiszen felkészülhet a szervezet a táplálék fogadására (Beale et al., 2016).

A cirkadián óra nemcsak a környezethez való adaptáció időbeliségét szabályozza, hanem lényeges szerepe van, természetesen többnyire a környezeti változásokhoz illesztve, az antagonisztikus élettani és biokémiai folyamatok időbeni szeparálásában is. Ilyen például a metabolizmus részfolyamatainak, a fotoszintézis és nitrogén fixáció vagy a sejtciklus fázisainak időbeli elkülönítése. Ez az irodalomban "day within"-nek nevezett szabályozási forma akkor is lényeges, ha a környezet időnként vagy akár állandóan változatlan (Brown et al., 2012).

A *C. elegans*-ban egyértelműen kimutatható cirkadián ritmus: a viselkedés, a stressztolerancia, a szaglás és a metabolizmus különböző folyamatainak ciklikus napi változásai ismertek, és a különböző molekuláris órakomponensek homológjait is azonosították (Beale et al., 2016; Caldart et al., 2020; Romanowski et al., 2014). A lokomotoros aktivitás ritmusát vizsgálták részletesen, ami fény és hőmérséklet ciklusokra is jól reagál (Caldart et al., 2020). Bár hagyományos értelemben vizuális információ feldolgozásról nem beszélhetünk, a *C. elegans* is mutat fényérzékenységet, és amennyiben nem nagyon mélyen helyezkedik el a talajban, a ciklikus fényintenzitás változások természetes körülmények között is fontos szerepet játszanak a ritmusa beállításában. Mélyebb talajrétegekben pedig a napszaktól függő hőmérsékelt ingadozások jelenthetik az óra bemenetét. Az óramechanizmus egyértelmű jelenléte ellenére a *C. elegans* mint modellorganizmus valóban nem vált a cirkadián kutatások gyakori eszközévé. Ennek egyik oka, hogy a rövid generációs idő miatt a viszonylag gyors életsiklus váltakozások maszkolhatják a cirkadián ritmust, és ezzel nehezebbé válik a kísérletek értékelése (Kippert et al., 2002).

4. A jelölt eredményei alapján a ROS-ok hatnak a cirkadián óra működésére. A ROS-ok részben a mitokondriális respiráció termékei. Miért nem befolyásolja a fokozott mitokondriális légzés az óra normális működését?

Azt gondolom, hogy befolyásolja, mégpedig állandó körülmények között a periódust, változó környezeti viszonyok mellett pedig a fázist. Tekintettel azonban arra, hogy a legtöbb sejtben a ROS termelés növekedését általában az antioxidáns rendszerek aktivitásának fokozódása kíséri, és így azok kompenzálják a nagy és tartós ROS szint "kilengéseket", a hatás mérsékelt

maradhat. Olyankor azonban, amikor a kompenzáló mechanizmus nem kielégítő, így pl. öregedő szervezetben, akkor a mitokondriális aktivitás változása jelentősebb óraműködés változást okozhat.

Vizsgálataink alapján valószínűsíthető, hogy *Neurospora*-ban a metabolizmus során termelt ROS játszik elsődleges szerepet a fázis beállításában, nem az egyéb ROS generáló útvonalak (pl. NOX aktivitás). Azt láttuk, hogy a hőmérséklet emelése, amiről ismert, hogy emeli a mitokondriális ROS képződést, szignifikáns hatással volt a konidizációs ritmusra, és ez koncentráció függő módon befolyásolható volt az antioxidáns hatású NAC-val, ami pedig arra utal, hogy ROS keletkezése közvetítette a hőmérséklet változás hatását a ritmus fázisára. Természetesen a metabolizmus ilyen szintű (pl. 5°C-os hőmérséklet emelésre bekövetkező) intenzitás változásai csak mérsékelt ROS szint változáshoz vezetnek a gombában, aminek a fázis 40-100 perces módosításában, azaz finomhangolásában lehet szerepe.

5. Miért hat a glükóz az oszcillátorműködésre?

A transzkripció/transzláció intenzitása jelentősen függ a tápanyag mennyiségtől gombában és emlős sejtekben egyaránt, ami kompenzációs folyamatok hiányában pl. *Neurospora crassa*-ban az órafehérjék szintjének változásaihoz is vezet (Sancar et al., 2012). Elsősorban a FRQ és a WC-1 mennyisége lehet kritikus az oszcillátor működés szempontjából, hiszen a harmadik alaponkomponens, a WC-2 egyébként is feleslegben van jelen, azaz a WCC mennyiségét a WC-1 szintje határozza meg. Glükózkompenzáció hiányában a glükóz mennyiségétől függően módosul az oszcillátor periódusa. Változó glükózkoncentráció mellett a WC-1 kifejeződés stabilizálásában a CSP-1 szerepe ismert (Sancar et al., 2012). A glükóz koncentráció növekedése serkenti a CSP-1 transzlációját is, az emelkedett CSP-1 pedig transzkripció represszorként hat a WC-1 promóterén, és gátolja a WC-1 átíródását. A *wc-1* mRNS mennyiségének csökkenése kompenzálja a glükóz hatására megnövekedett transzlációs aktivitást, és a WC-1 szintje gyakorlatilag változatlan marad, biztosítva ezzel a WCC változatlan aktivitás-tartományban való működését. CSP-1 hiányában glükóz hatására megnő a WCC mennyisége, gyorsabban emelkedik a *frq* szint, gyorsul a visszacsatolás, és ennek megfelelően rövidül a periódus. A mi tanulmányunk a FRQ-en keresztüli kompenzációra kínált megoldást. Azt láttuk, hogy glükóz hozzáadására fokozódik a FRQ szintézise, ez pedig az újonnan szintetizált és a negatív visszacsatolásban domináns hipofoszforilált fehérjeforma felhalmozódásához vezetne. Ezt kompenzálja a párhuzamosan aktiválódó RAS2, ami eredményeink alapján valószínűleg a PKA aktivitás fokozása révén növeli a FRQ foszforilációjának mértékét. Ezzel csökkenti a magban a hipofoszforilált FRQ arányát, biztosítva ezzel, hogy a visszacsatolás erőssége, és így a periódus ne változzék (Gyongyosi et al., 2017). Ezen az útvonalakon kívül ismert még a PRD-1 és az RCO-1 szerepe a *Neurospora* órájának metabolikus kompenzációjában, de ezekben az esetekben még nem áll rendelkezésre adat a hatásmechanizmusra vonatkozóan (Emerson et al., 2015; Olivares-Yanez et al., 2016).

Emlős sejtekben a metabolikus kompenzáció mechanizmusáról keveset tudunk, de a glükóz, illetve általában az energiaellátottság Zeitgeberként való működése, azaz az óra fázisát módosító hatása jól ismert (Reinke and Asher, 2019). Ezekről a poszttranszlációs módosuláson keresztül létrejövő hatásokról, bár nem kifejezetten a metabolizmussal való kölcsönhatásra fókuszálva, írtam is a disszertáció bevezetésében. A glükóz hatását az óra felé a belőle hatékonyan képződő uridin-difoszfát-N-acetil-glükózamin (UDP-GlcNAc) közvetíti, aminek mennyisége meghatározza több órafehérjén az O-GlcNAc módosítás mértékét. A módosítás érinti a CLOCK, a BMAL1 és a PER2 fehérjéket, aminek révén változik a pozitív komplex aktivitása és a PER2 stabilitása. Összességében ez oda vezet, hogy a glükóz ellátottság csökkenése esetén az óra fázisa késik (Li et al., 2013).

Ezen kívül a glükóz áttételesen, a sejt energiaellátottságán, illetve a redox állapot befolyásolásán keresztül több úton is hathat az emlős sejtek órájára. A NAD^+ szintje, illetve a NAD^+/NADH hányados a redox állapot egyik fő indikátora. Éhezéskor az arány emelkedik, míg glikolízis hatására csökken. A NAD^+ a SIRT1 nevű hiszton-deacetiláz kofaktora és egyben aktivitásának szabályozója. A SIRT1 komplexet képez a CLOCK-kal és amennyiben magas a NAD^+ szint, a SIRT1 hiszton-deacetiláció, valamint a BMAL1 deacetilálása révén mérsékli az óra által szabályozott gének átírását. Az óra és a metabolizmus kapcsoltsága kölcsönössé válik azáltal, hogy a nikotinamid foszforiboziltranszferáz (NAMPT), amely a NAD^+ bioszintézisének sebességmeghatározó lépését katalizálja, szintén óragén. Ennek révén egyes sejtekben a NAD^+ szintje is ritmusosan változik, ami viszont a SIRT1 aktivitásának oszcillációját vonja maga után (Asher et al., 2010; Hirayama et al., 2007; Nakahata et al., 2008).

A SIRT1 aktivitásának ritmusos változása további metabolikus folyamatok időbeli változását idézheti elő, ugyanis a SIRT1 számos enzim működését szabályozza. Ilyen például a PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α), amely viszont a *Bmal1* transzkripció aktiválásán keresztül hat vissza az óraműködésre. Ismert egy további NAD^+ -függő visszacsatolás is. A poli(ADP)-ribóz polimeráz 1 (PARP1) is NAD^+ -ot használ kofaktorként, aminek következtében aktivitása időben a NAD^+ oszcillációját követi. A PARP1 a BMAL1-CLOCK komplex ADP-ribozilálása révén növeli annak DNS iránti affinitását és ezáltal átállítja a cirkadián óra fázisát, illetve módosítja az óra által kontrollált egyes gének expresszióját (Asher et al., 2010).

A sejt energiaellátottságának függvénye az ATP/AMP megoszlás is, ami viszont az AMP-aktivált protein kináz (AMPK) fontos regulátora. Az órafehérjék közül a CRY stabilitásának fontos szabályozója ez az enzim (Reinke and Asher, 2019). Ezen kívül az AMPK a CK1 ϵ foszforilációja útján a PER fehérjék stabilitását csökkenti.

Összességében tehát sok példa áll már rendelkezésre azzal kapcsolatban, hogy milyen módon befolyásolhatja a glükóz ellátottság a cirkadián órát. Úgy tűnik, hogy ezek a módosító hatások kevésbé konzerváltak, mint maga az oszcillátorműködés, valószínűleg erősebben függnak az adott modellorganizmus metabolikus sajátosságaitól.

6. Minden fajt egy adott átlagos élettartam jellemez (a *C. elegans* jellemzően 2 hétig, a *Drosophila* 2 hónapig, a kutya 10-15 évig, míg az ember 70-80 évig él). Létezik egy

olyan biológiai óra, amely az életkorunk változását méri, és amely beállítja az öregedési ráta sebességét? A cirkadián óra mechanizmusának tükrében milyen jellegű molekuláris gépezetről lehet szó?

Bár öregedés biológiával kutatás szintjén soha nem foglalkoztam, és annak elméletét is csak érintőlegesen ismerem, azt gondolom, hogy a cirkadián óra és az élettartamot befolyásoló, öregedést meghatározó folyamatok között lehet párhuzamot vonni. Mindkét esetben részben egymáshoz is kapcsolt molekuláris történések sebessége vagy frekvenciája játszik szerepet abban, hogy a kezdettől a folyamat végéig mennyi idő telik el. Ez a cirkadián ritmus esetében nagyjából 24 óra, az élettartam esetében a fajtól függő, azaz a genetikai készlet által meghatározott hosszúságú időszak. Az öregedés folyamatában ismert módon szerepet játszó telomer rövidülésnek, a DNS metiláció változásának és a transzpozonok mozgásának, illetve az öregedést lassító, javító folyamatoknak a sebessége határozhatja meg, hogy mennyi idő alatt következik be a sejtfunkció végzetes romlása, azaz jár le a sejt életideje, szöveti szervezeti szinten pedig mikor válik kritikussá a működő sejtek száma az adott életfunkció szempontjából (Larocca et al., 2021). Míg egyetlen sejt esetében az öregedés könnyebben visszavezethető a molekuláris történésekre, szervezeti szinten összetettebb a folyamat, hiszen a különböző szövetek öregedésének egymásra hatása következtében (pl. az erek öregedése befolyásolja az ellátott szövet oxigén és tápanyag felvételét, és ezen keresztül a sejtek regenerációs molekuláris folyamatait), illetve környezeti faktorok révén újabb sebesség meghatározó tényezők bonyolíthatják a modellt. A szövetek közötti függőségi viszony következtében szervezeti szinten egyre gyorsabban követhetik egymást a degenerációs folyamatok, és *circulus vitiosus* alakulhat ki. Ez az ördögi kör, aminek ciklusideje a cirkadián ritmus periódusával ellentétben folyamatosan rövidül, járulhat hozzá a szervezeti szintű működés teljes megszűnéséhez.

Bár az irodalomban megtalálható az élettartam óra (lifespan clock) kifejezés, ez nem a cirkadián órához hasonló, az időt folyamatosan mérő mechanizmusra utal. A fogalom olyan predikciós módszert takar, ami egyes promoter régiókban található lehetséges DNS metilációs helyek és az adott fajra jellemző élettartam közötti összefüggésekre épül (Mayne et al., 2019).

A cirkadián ritmus és az élettartam között kapcsolódási pont lehet a szezonális vagy éves ritmus. Sok olyan élőlény van, aminek kifejezett szezonális ritmusa van, és bizonyos fajok (pl. egyes rovarok) élettartama kifejezetten évszakokhoz kötődik. Az éves ritmus kialakításában ugyanakkor fontos szerepe van a cirkadián órának, jelentősége az éves ritmus fotoperiodikus szabályozásában egyértelműen bizonyított (Dardente et al., 2010; Wood et al., 2020). A cirkannuális és cirkadián időmérés közötti szoros összefüggés nem is meglepő, hiszen a fényperiódus hosszára, illetve annak változására mindkét rendszernek érzékenyen kell reagálnia, így az éves ritmus fényperiódustól függő alakulását a cirkadián ritmus szabályozásában is résztvevő, fény-függő faktorok szabályozzák, például emlős szervezetben fontos közvetítő a két rendszer között a melatonin.

Az öregedés és a cirkadián óra kapcsolatát sokat vizsgálják, és karakteres, kortól függő változásokat írnak le az óraműködésben (Hood and Amir, 2017). Mind a molekuláris óra, mind az élettani folyamatok szintjén a ritmus amplitudójának csökkenése és jellegzetes fázisváltozása (koraibbá válása) figyelhető meg a kor előrehaladtával. Ezen kívül csökken a Zeitgeberek iránti érzékenység és ezáltal az óra adaptációs képessége, azaz a rendszer merevebbé válik, a környezethez kevésbé tud alkalmazkodni. Az óraműködés életkor függő változásában a SIRT1 aktivitás (l. előző válasz) változásának tulajdonítanak fontos szerepet (Chang and Guarente, 2013). A cirkadián ritmus beszűkülése idős korban csökkenti a környezettel való működésbeli szinkronizációra való készséget, a környezeti idővel való összhang megbomlása pedig egyértelműen növeli egyes betegségek kialakulásának kockázatát, illetve gyorsíthatja azok (pl. magas vérnyomás, cukorbetegség) progresszióját (Kervezee et al., 2020). Így a cirkadián ritmus öregkori megváltozása, illetve annak szándékos befolyásolása, akár orvosi tanácsra, indirekt módon, de hatással lehet az élettartamra.

Szeretném még egyszer megköszönni Professzor úr tanulságos bírálatát, elismerő szavait és hogy értekezésem nyilvános vitára bocsátását támogatta. Kérem, hogy a kérdésekre adott válaszaimat fogadja el.

Budapest, 2021. július 27.

Dr. Káldi Krisztina

Irodalomjegyzék

- Ando, K., Kripke, D.F., and Ancoli-Israel, S. (2002). Delayed and advanced sleep phase symptoms. *Isr J Psychiatry Relat Sci* 39, 11-18.
- Asher, G., Reinke, H., Altmeyer, M., Gutierrez-Arcelus, M., Hottiger, M.O., and Schibler, U. (2010). Poly(ADP-ribose) polymerase 1 participates in the phase entrainment of circadian clocks to feeding. *Cell* 142, 943-953.
- Barion, A., and Zee, P.C. (2007). A clinical approach to circadian rhythm sleep disorders. *Sleep Med* 8, 566-577.
- Beale, A.D., Whitmore, D., and Moran, D. (2016). Life in a dark biosphere: a review of circadian physiology in "arrhythmic" environments. *J Comp Physiol B* 186, 947-968.
- Brown, S.A., Kowalska, E., and Dallmann, R. (2012). (Re)inventing the circadian feedback loop. *Dev Cell* 22, 477-487.
- Caldart, C.S., Carpaneto, A., and Golombek, D.A. (2020). Synchronization of circadian locomotor activity behavior in *Caenorhabditis elegans*: Interactions between light and temperature. *J Photochem Photobiol B* 211, 112000.
- Chang, H.C., and Guarente, L. (2013). SIRT1 mediates central circadian control in the SCN by a mechanism that decays with aging. *Cell* 153, 1448-1460.
- Crowley, S.J., Acebo, C., and Carskadon, M.A. (2007). Sleep, circadian rhythms, and delayed phase in adolescence. *Sleep Med* 8, 602-612.

- Dardente, H., Wyse, C.A., Birnie, M.J., Dupre, S.M., Loudon, A.S., Lincoln, G.A., and Hazlerigg, D.G. (2010). A molecular switch for photoperiod responsiveness in mammals. *Curr Biol* 20, 2193-2198.
- Emerson, J.M., Bartholomai, B.M., Ringelberg, C.S., Baker, S.E., Loros, J.J., and Dunlap, J.C. (2015). period-1 encodes an ATP-dependent RNA helicase that influences nutritional compensation of the *Neurospora* circadian clock. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 15707-15712.
- Gyongyosi, N., Szoke, A., Ella, K., and Kaldi, K. (2017). The small G protein RAS2 is involved in the metabolic compensation of the circadian clock in the circadian model *Neurospora crassa*. *J Biol Chem* 292, 14929-14939.
- Hirayama, J., Sahar, S., Grimaldi, B., Tamaru, T., Takamatsu, K., Nakahata, Y., and Sassone-Corsi, P. (2007). CLOCK-mediated acetylation of BMAL1 controls circadian function. *Nature* 450, 1086-1090.
- Hood, S., and Amir, S. (2017). The aging clock: circadian rhythms and later life. *J Clin Invest* 127, 437-446.
- Jones, C.R., Campbell, S.S., Zone, S.E., Cooper, F., DeSano, A., Murphy, P.J., Jones, B., Czajkowski, L., and Ptacek, L.J. (1999). Familial advanced sleep-phase syndrome: A short-period circadian rhythm variant in humans. *Nat Med* 5, 1062-1065.
- Kervezee, L., Kosmadopoulos, A., and Boivin, D.B. (2020). Metabolic and cardiovascular consequences of shift work: The role of circadian disruption and sleep disturbances. *Eur J Neurosci* 51, 396-412.
- Kippert, F., Saunders, D.S., and Blaxter, M.L. (2002). *Caenorhabditis elegans* has a circadian clock. *Curr Biol* 12, R47-49.
- Larocca, D., Lee, J., West, M.D., Labat, I., and Sternberg, H. (2021). No Time to Age: Uncoupling Aging from Chronological Time. *Genes (Basel)* 12.
- Li, M.D., Ruan, H.B., Hughes, M.E., Lee, J.S., Singh, J.P., Jones, S.P., Nitabach, M.N., and Yang, X. (2013). O-GlcNAc signaling entrains the circadian clock by inhibiting BMAL1/CLOCK ubiquitination. *Cell Metab* 17, 303-310.
- Mayne, B., Berry, O., Davies, C., Farley, J., and Jarman, S. (2019). A genomic predictor of lifespan in vertebrates. *Sci Rep* 9, 17866.
- Nakahata, Y., Kaluzova, M., Grimaldi, B., Sahar, S., Hirayama, J., Chen, D., Guarente, L.P., and Sassone-Corsi, P. (2008). The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell* 134, 329-340.
- Olivares-Yanez, C., Emerson, J., Kettenbach, A., Loros, J.J., Dunlap, J.C., and Larrondo, L.F. (2016). Modulation of Circadian Gene Expression and Metabolic Compensation by the RCO-1 Corepressor of *Neurospora crassa*. *Genetics* 204, 163-176.
- Reinke, H., and Asher, G. (2019). Crosstalk between metabolism and circadian clocks. *Nat Rev Mol Cell Biol* 20, 227-241.
- Romanowski, A., Garavaglia, M.J., Goya, M.E., Ghiringhelli, P.D., and Golombek, D.A. (2014). Potential conservation of circadian clock proteins in the phylum Nematoda as revealed by bioinformatic searches. *PLoS One* 9, e112871.
- Sancar, G., Sancar, C., and Brunner, M. (2012). Metabolic compensation of the *Neurospora* clock by a glucose-dependent feedback of the circadian repressor CSP1 on the core oscillator. *Genes Dev* 26, 2435-2442.
- Shanware, N.P., Hutchinson, J.A., Kim, S.H., Zhan, L., Bowler, M.J., and Tibbetts, R.S. (2011). Casein kinase 1-dependent phosphorylation of familial advanced sleep phase syndrome-associated residues controls PERIOD 2 stability. *J Biol Chem* 286, 12766-12774.

Toh, K.L., Jones, C.R., He, Y., Eide, E.J., Hinz, W.A., Virshup, D.M., Ptacek, L.J., and Fu, Y.H. (2001). An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science (New York, N.Y.)* 291, 1040-1043.

Wood, S.H., Hindle, M.M., Mizoro, Y., Cheng, Y., Saer, B.R.C., Miedzinska, K., Christian, H.C., Begley, N., McNeilly, J., McNeilly, A.S., *et al.* (2020). Circadian clock mechanism driving mammalian photoperiodism. *Nat Commun* 11, 4291.

Wright, K.P., Jr., McHill, A.W., Birks, B.R., Griffin, B.R., Rusterholz, T., and Chinoy, E.D. (2013). Entrainment of the human circadian clock to the natural light-dark cycle. *Curr Biol* 23, 1554-1558.

Xu, Y., Padiath, Q.S., Shapiro, R.E., Jones, C.R., Wu, S.C., Saigoh, N., Saigoh, K., Ptacek, L.J., and Fu, Y.H. (2005). Functional consequences of a CKIdelta mutation causing familial advanced sleep phase syndrome. *Nature* 434, 640-644.