

УДК 577.152.193

## ЗАГАДКА 2-Cys-ПЕРОКСИРЕДОКСИНОВ: КАКОВА ИХ РОЛЬ В КЛЕТКЕ?

### Обзор

© 2021 А.В. Пескин\*, К.С. Уинтерборн

*Centre for Free Radical Research, University of Otago Christchurch,  
8140 Christchurch, New Zealand; E-mail: alexander.peskin@otago.ac.nz*

Поступила в редакцию 02.09.2020

После доработки 09.10.2020

Принята к публикации 09.10.2020

2-Cys пероксиредоксины являются широко распространенными белками, содержащими активную тиольную группу, которые эффективно вступают в реакции с различными пероксидами. В отличие от других ферментов, их исключительно высокая реакционная способность не зависит от кофакторов. Механизм окисления и восстановления пероксиредоксинов представляет этим белкам хорошую возможность действовать как антиоксиданты, а кроме того, участвовать в редокс-путях передачи сигнала. Понимание тонкостей функционирования пероксиредоксинов необходимо для трансляционной медицины.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** пероксиредоксин, тиолы, редокс, сигнальные пути, пероксид.

**DOI:** 10.31857/S0320972521010085

«Защищать и служить»

Девиз LAPD

### ИСТОРИЧЕСКИЙ АСПЕКТ

Пероксиредоксины являются широко распространенными тиол-содержащими белками. Их открытие не было одномоментным событием и было растянуто во времени. Отправной точкой в этом открытии стало обнаружение неизвестного фактора, который защищал глутаминсинтетазу дрожжей от окисления тиол-зависимым образом [1]. Белок, который был ответственен за эту защиту, был очищен и охарактеризован как тиол-специфичный антиоксидант (TSA – thiol-specific antioxidant). Первоначальная гипотеза заключалась в том, что этот защитный эффект мог быть результатом реакции белка с реакционноспособными формами серы. Было показано, что дрожжевые клетки, которые культивировались в условиях окислительного

стресса, экспрессируют повышенное количество TSA. В то же время мутантные дрожжевые клетки, которые не продуцировали TSA, с трудом росли в аэробных условиях [2, 3]. Позже подобный белок был очищен из ткани мозга крыс [4]. Дальнейший прогресс был достигнут при исследовании бактерий, у которых их алкилгидропероксид-редуктазная активность приводила к восстановлению перекиси водорода за счет NADPH [5]. Оказалось, что очищенная ферментативная активность была связана с двумя белками – AphC и AphF. Секвенирование кодирующих эти белки генов показало, что белок AphF является гомологом тиоредоксинредуктазы, и после периода некоторого замешательства стало ясным, что в белке AphC имеются высококонсервативные последовательности, характерные также для TSA [6, 7].

В последующих работах было показано, что эти ферменты являются представителями большого семейства белков, присутствующих в клетках всех биологических видов. В 1994 г. они были названы пероксиредоксинами, и это оказалось удивительным предвидением. К тому времени уже было известно 46 белков из различных биологических видов, для которых была уста-

Принятые сокращения: C<sub>p</sub>SH – пероксидативный остаток цистеина; C<sub>p</sub>SOH – сульфеновая кислота; C<sub>p</sub>SO<sub>2</sub>H – сульфиновая кислота; C<sub>r</sub>SH – результирующий остаток цистеина; Gtx – глутаредоксин; GSH – глутатион; Prdx – пероксиредоксин; Srx – сульфиредоксин; Trx – тиоредоксин; TrxR – тиоредоксинредуктаза; TSA – тиол-специфичный антиоксидант.

\* Адресат для корреспонденции.

новлена гомология с TSA и AphC, но при этом их участие в биохимических путях оставалось невыясненным [7]. Для сокращенного обозначения пероксиредоксинов исходно использовались термины Prx и Prdx, но недавно они были рационализированы до единого обозначения — Prdx.

Число структурно охарактеризованных пероксиредоксинов (Prdx) постоянно растет. Основываясь на аминокислотных последовательностях, находящихся вблизи активного центра, пероксиредоксины можно разделить на шесть групп [8]. Все Prdx имеют высокореактивный остаток цистеина (пероксидативный,  $C_pSH$ ), который при реакции с пероксидом образует сульфеновую кислоту ( $C_pSOH$ ). В соответствии с каталитическим механизмом для восстановления  $C_pSOH$ , эти белки можно разделить на три подсемейства [9].

1. Типичный 2-Cys Prdx. Сульфеновая кислота реагирует с результирующим остатком цистеина ( $C_RSH$ ) другой субъединицы конститутивного нековалентного гомодимера.

2. Нетипичный 2-Cys Prdx. Образование дисульфида происходит с участием  $C_RSH$ , находящегося на одной и той же субъединице.

3. 1-Cys Prdx.  $C_RSH$  отсутствует, и другие тиолы участвуют в реакции с  $C_pSOH$ .

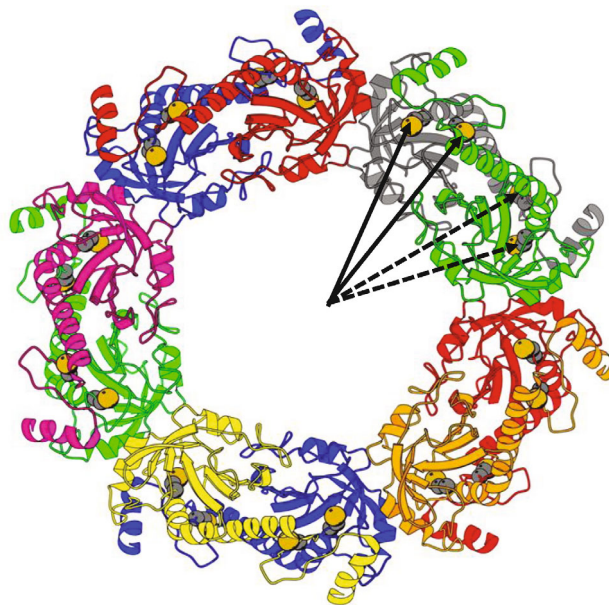
Отличительной особенностью 2-Cys пероксиредоксинов является их способность образовывать высокомолекулярные комплексы, состоящие, в зависимости от конкретного белка, из 5 или 6 димеров. Поскольку молекулярная масса мономера составляет примерно 22 кДа, декамер Prdx2 (рис. 1) человека имеет молекулярную массу 220 кДа.

Эти регулярные структуры имеют пончиковую форму, и они могут быть визуализированы с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии (ТЕМ — transmission electron microscopy). С помощью метода ТЕМ пероксиредоксин эритроцитов выявлялся в виде единого торического белка, состоящего из 10 субъединиц и названного торинном еще до того, как были обнаружены TSA и установлена каталитическая активность пероксиредоксинов [10].

В настоящем обзоре будут подробно рассмотрены 2-Cys пероксиредоксины (Prdxs).

## 2-Cys ПЕРОКСИРЕДОКСИНЫ

**Каталитический цикл 2-Cys пероксиредоксинов.** 2-Cys Prdxs существуют как обязательные нековалентные гомодимеры, соединенные между собой в положении «голова-хвост»; эти димеры являются минимальными каталитическими



**Рис. 1.** Декамер Prdx2. Стрелками обозначены положения активных центров пероксидативного ( $C_p$ ) и результирующего ( $C_R$ ) остатков цистеина в димерной единице, сплошные стрелки для одной пары  $C_p$  и  $C_R$ , а пунктирные — для другой. Расстояние между  $C_p$  и  $C_R$  составляет 14 Å. Адаптировано из статьи, doi: 10.2210/pdb1QMV/pdb, <http://www.rcsb.org/structure/1QMV>. (С цветным вариантом рисунка можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>.)

ми единицами. Активный центр фермента с  $C_pSH$  высоко консервативен для всех представителей семейства пероксиредоксинов. Непосредственным продуктом реакции с пероксидом является сульфеновая кислота,  $C_pSOH$ . Структура активного центра этих ферментов организована уникальным образом для осуществления нуклеофильной атаки на связь пероксид—O—O— [11–13]. Пероксиредоксины расщепляют эту связь в перекиси водорода [4, 7, 14], алкил-пероксидах [7, 15, 16], пероксинитрите [17–21] и гидропероксидах аминокислот и белков [22]. В клетках млекопитающих выявлены четыре изоформы 2-Cys пероксиредоксинов — цитозольные белки Prdx1 и Prdx2, митохондриальный белок Prdx3 и Prdx4, локализованный в эндоплазматическом ретикулуме. В типичных 2-Cys Prdx консервативный остаток цистеина  $C_R$  на C-конце не может конкурировать с  $C_pSH$  за пероксид, но способен эффективно восстанавливать  $C_pSOH$  на другой субъединице с образованием дисульфида. Кроме участия в реакции образования дисульфидной связи,  $C_pSOH$  также может вступить в реакцию с другой молекулой пероксида и подвергаться гиперокислению с образованием сульфеновой кислоты,  $C_pSO_2H$  (рис. 2).

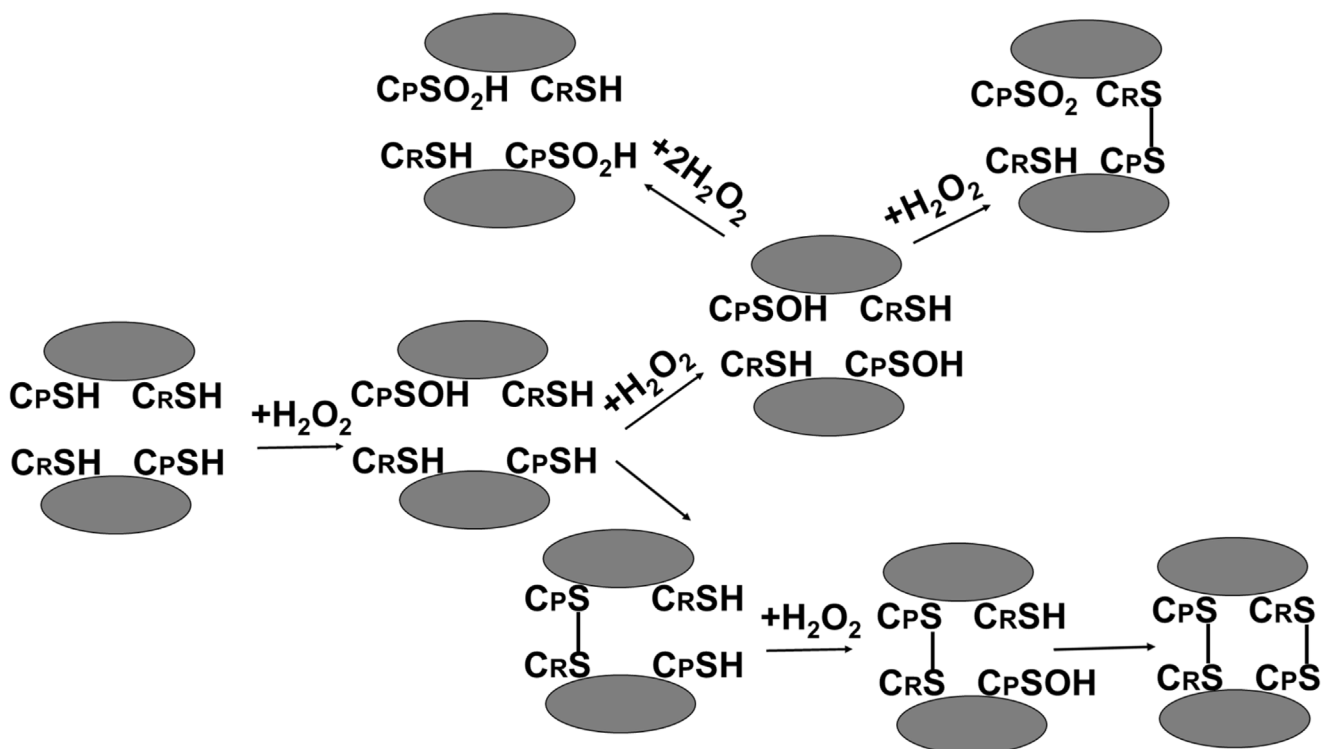


Рис. 2. Схема поэтапного окисления нековалентного димера 2-Cys Prdx

Дисульфид может быть эффективно восстановлен тиоредоксином (Trx) и тиоредоксинредуктазой (TrxR) [7] или системой глутатиона (GSH) и глутаредоксина (Grx) [23]. Ранее образование  $C_pSO_2H$  считалось необратимым процессом, однако открытие сульфиредоксина (Srx) выявило сложный механизм полного, хотя и медленного, восстановления функционально активного белка [24]. Эффективность гиперокисления различных 2-Cys пероксиредоксинов регулируется C-концевой аминокислотной последовательностью, в которой содержится  $C_RSH$  [25]. Так, бактериальный пероксиредоксин AhpC чрезвычайно устойчив к гиперокислению. Эукариотический цитозольный Prdx2 очень чувствителен, а устойчивость к гиперокислению митохондриального белка Prdx3 находится по середине [26].

#### Реакционная способность пероксиредоксина.

Первый представитель пероксиредоксинов был обнаружен как белок, который защищает другой белок от окислительного повреждения [1]. Дальнейшие исследования кристаллической структуры, энзимологические и генетические данные дали ясно понять, что Prdxs являются антиоксидантными белками, действие которых направлено на пероксиды [4, 7, 11, 12, 14]. Однако было трудно понять, как Prdxs могут проявлять защитное действие, так как их каталитическая эффек-

тивность, измеренная в то время, была на два порядка ниже, чем у каталазы или глутатионпероксидаз, содержащих селеноцистеин [15]. Действительно, в то время была выдвинута точка зрения, что «идея о том, что они могут быть чем-то иным, чем антиоксидантами, поддерживающими глутатионпероксидазу или каталазу, вероятно, может быть проигнорирована. Ситуация, когда любой из пероксиредоксинов может конкурировать с каталазой за общий субстрат, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, по-видимому, не существует» [15].

К середине нулевых годов расчет константы скорости второго порядка для реакции Prdx с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> производился с использованием системы, в которой восстановление H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> пероксиредоксином было сопряжено с Trx, TrxR и NADPH. Следовательно, измерение проходило по цепочке следующих реакций: 1) окисление Prdx перекисью водорода, 2) восстановление Prdx тиоредоксином, 3) восстановление тиоредоксина тиоредоксинредуктазой и 4) окисление NADPH тиоредоксинредуктазой. Поэтому измеряемая активность отражала, скорее, скорость наиболее медленной реакции в этой системе, а не собственно скорость реакции Prdx с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Измерение скорости прямой реакции оказалось непростой задачей. Очищенный Prdx после восстановления и удаления восстановителя быстро возвращался в окисленное состояние.

Оказалось, что виновником был случайный пероксид, присутствующий в буферных растворах. Когда эта проблема была обозначена, и были применены соответствующие технологии, позволяющие работать с очищенными препаратами пероксиредоксина в отсутствие восстановителей, константа скорости прямой реакции второго порядка Prdx с  $H_2O_2$  оказалась намного выше. В конкурентных опытах с пероксидазой хрена или каталазой её величина оказалась равной  $2-4 \times 10^7 M^{-1} \cdot c^{-1}$  [19, 27, 28]. Измерения, основанные на потере внутренней флуоресценции Prdx в результате окисления  $H_2O_2$ , дали значение  $\sim 10^8 M^{-1} \cdot c^{-1}$  [29]. Такой уровень эффективности фермента позволяет внести пероксиредоксины не только в список первоосновных антиоксидантов, а также в ряд самых быстродействующих ферментов, но и выделить их в отдельный класс. В отличие от других ферментов исключительно высокая реакционная способность Prdx не зависит от кофакторов.

Пероксидативный остаток цистеина в активном центре Prdx необходим для реакции с пероксидом. Способность остатков цистеина вступать в реакцию зависит от степени их ионизации [30], и значение  $pK_a$  для  $C_pSH$  оказалось равным 6 [27, 31], что поддерживает его в ионизированном состоянии при физиологических значениях pH. Однако реакционная способность пероксиредоксинов на много порядков превышала значения, определенные для других тиол-зависимых ферментов [32]. Исключительная реакционная способность  $C_pSH$  обусловлена высокоорганизованной сетью водородных связей в активном центре фермента и нахождением в непосредственной близости консервативных остатков пролина, аргинина и треонина [11–13, 33, 34]. Их координированное действие стабилизирует переходное состояние со связанным субстратом, ослабляет связь  $-O-O-$  и приближает проксимальный атом кислорода к  $C_pSH$ . По-видимому, даже более отдаленные от  $C_pSH$  аминокислоты участвуют в поддержании его высокой реактивности, поскольку их мутации резко снижают скорость реакции [35–37].

Положение  $C_pSH$  в активном центре фермента позволяет проведение агрессивной нуклеофильной атаки на широкий спектр субстратов типа ROOH. В то же время высокая реакционная способность Prdx в отношении пероксидов не проявляется в отношении других электрофилов. Типичные тиоловые реагенты, такие как иодоацетамид и хлорамины, взаимодействуют с  $C_pSH$  намного медленнее, чем с другими тиолами с низкими значениями  $pK_a$  [27, 38].

Структурные исследования показали, что  $C_pSH$  располагается в основании кармана ак-

тивного центра в полностью свернутом состоянии (FF – fully folded state). После образования  $C_pSOH$  в результате окисления он может вступить в реакцию с другой молекулой  $H_2O_2$ , и образующийся  $C_pO_2H$  остается в состоянии FF. В противном случае  $C_pSOH$  смещается из кармана активного центра в направлении  $C_RSH$  и приобретает локально развернутую структуру (LU) в ходе образования дисульфидной связи [39].

Пероксидативные тиолы димеров 2-Cys Prdxs демонстрируют положительное кооперативное действие. В том случае, когда первый  $C_pSH$  находится в виде сульфеновой кислоты, второй  $C_pSH$  быстрее, чем первый, вступает в реакцию с  $H_2O_2$ . Кооперативность отсутствует, если уже был образован дисульфид  $C_pS-SC_R$  [40].

**Влияние C-конца на окисление Prdx.** Начальная реакция всех 2-Cys пероксиредоксинов с  $H_2O_2$  происходит одинаково быстро, в то время как восприимчивость к гипероксидации сильно варьируется. Возможность для остатка  $C_pSOH$  быстро вступать в реакцию с другой молекулой  $H_2O_2$  исчезает, как только он выходит из кармана активного центра и приобретает конформационное состояние LU. Структура C-концевого хвостового участка, на котором располагается  $C_RSH$ , оказывает влияние на чувствительность к гиперокислению. 2-Cys пероксиредоксины млекопитающих, которые в отличие от бактериальных ферментов намного более чувствительны к гиперокислению, имеют дополнительную C-концевую петлю, содержащую мотив GGLG и спираль, содержащую мотив YF. Эти последовательности присутствуют только у пероксидчувствительных Prdx, и они замедляют способность  $C_RSH$  реагировать с  $C_pSOH$ . В результате появляется повышенная возможность для  $C_pSOH$  вступать в реакцию с другой молекулой  $H_2O_2$  [39].

Кроме того, 2-Cys пероксиредоксины млекопитающих отличаются друг от друга по их чувствительности к гиперокислению. Так, цитоплазматический белок Prdx2 в 10 раз более подвержен гиперокислению, чем митохондриальный белок Prdx3 [26], а Prdx1 располагается между ними [41]. Мутации с заменой аминокислотных остатков в C-концевом хвостовом участке могут делать Prdx2 менее чувствительным, а Prdx3 более чувствительным к гиперокислению [42].

**Восстановление 2-Cys Prdx.** Показано, что тиоредоксин эффективно восстанавливает дисульфидные связи в 2-Cys пероксиредоксинах (рис. 2). Для поддержания пероксиредоксинов в восстановленной форме их рециклирует Trx с

помощью тиоредоксинредуктазы с использованием NADPH в качестве источника восстановительных эквивалентов [7]. Следовательно, каталитическое восстановление ROOH Prdx в клетке зависит от поддержки других тиол-содержащих соединений и общего состояния метаболизма, которое обеспечивает клетку достаточным количеством восстанавливающих эквивалентов. Так, синдром дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы ограничивает продукцию NADPH по пентозофосфатному пути и препятствует эффективному восстановлению уровня Prdx2 в эритроцитах в условиях окислительного стресса [43].

Кроме системы Trx, рециклизация также может быть осуществлена системой GSH и Grx [23], как это показано на рис. 3. Эти две системы могут дополнять друг друга, например в эритроцитах. В условиях пониженной активности TrxR [44] GSH и Grx могут взять на себя бремя рециклизации белков Prdx.

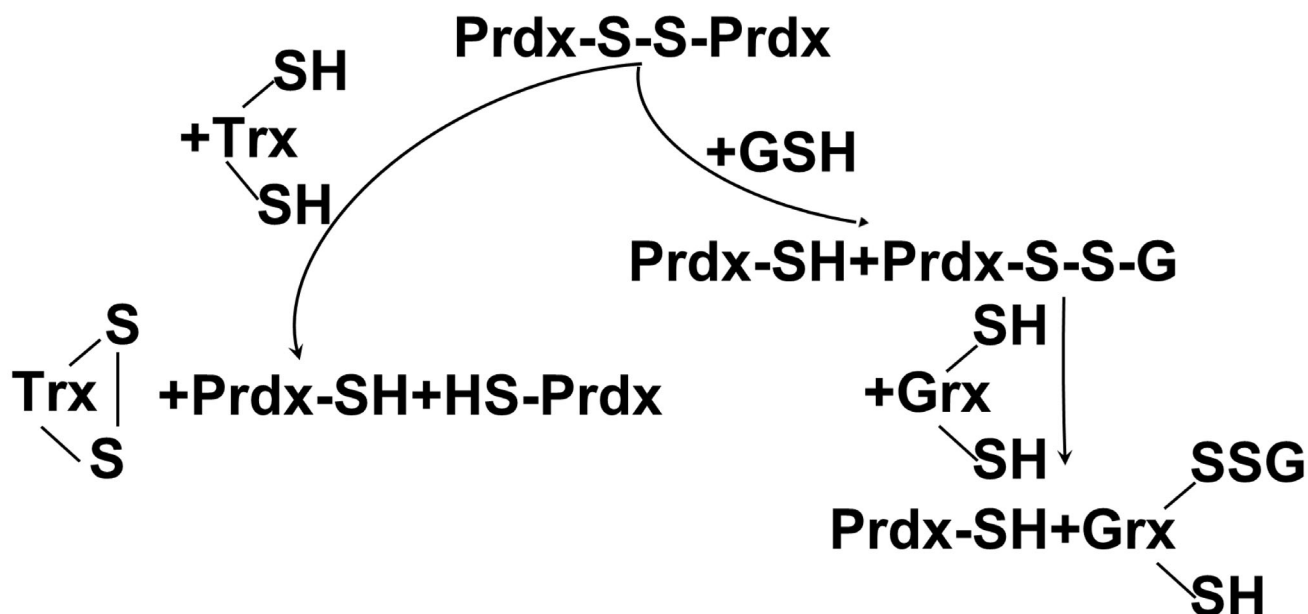
Также был обнаружен эффект кооперативности в процессе восстановления двух дисульфидов в полностью окисленных димерах Prdx. Оказалось, что дитиотрейтол-зависимое восстановление второго дисульфида протекает примерно в 2 раза быстрее [40].

**Гиперокисление 2-Cys Prdx.** Гиперокисление, которое исходно рассматривалось как инактивация пероксиредоксинов, может быть повернуто вспять сульфидредоксином [45]. Эта реакция проходит медленно и состоит из нескольких

этапов. Сначала Srx катализирует фосфорилирование  $C_PSO_2H$  за счет АТФ. Затем под воздействием Srx эфир сульфеновой кислоты и фосфорила подвергается гидролизу с образованием тиосульфината с Prdx. На следующем этапе при участии GSH образуются глутатионилированные Srx и  $C_PSOH$ . Для полного восстановления далее необходимо вернуть сульфенилированный Prdx в его восстановленное состояние, а также привлечь дополнительную молекулу GSH для рециклизации Srx [24, 46]. Очевидно, что энергетические затраты на восстановление гиперокисленных Prdx высоки, что говорит о важности этого процесса.

Исследования структуры гиперокисленного Prdx2 показали, что  $C_PSO_2H$  погружен в активный центр. Поэтому было неясно, как чисто механически Srx может получить к нему доступ. Анализ кристаллической структуры комплекса Prdx-Srx показал, что белки тесно переплетены с полностью развернутой структурой C-концевого участка Prdx, располагающегося на обратной стороне Srx вдали от активного центра Srx [47]. Такое изошрэнное взаимодействие белков предполагает, что Srx эволюционировал у эукариот строго специфично для восстановления сульфеновой кислоты в Prdx.

Для того чтобы произошло гиперокисление,  $C_PSOH$  должен вступить в реакцию со второй молекулой  $H_2O_2$  вместо того, чтобы вместе с  $C_RSH$  образовать дисульфид (рис. 1). Это можно наблюдать в экспериментах *in vitro* при непре-



**Рис. 3.** Схематическое изображение восстановления дисульфидной связи в подвергшемся окислению димере Prdx. Для упрощения показан один активный центр. Восстановление может происходить под действием тиоредоксина (Trx) или глутатиона (GSH) с участием глутаредоксина (Grx)

рывном определении пероксидазной активности, когда Prdx смешивается с  $H_2O_2$  в присутствии Trx, TrxR и NADPH и регистрируется скорость окисления NADPH. При каждом обороте цикла происходит окисление части  $C_pSOH$ . Поэтому со временем процесс окисления NADPH замедляется из-за накопившихся гиперокисленных Prdx [20, 48]. С другой стороны, в экспериментах с очищенными восстановленными Prdx было показано, что оборот не является необходимым для гиперокисления, и при значительной концентрации  $H_2O_2$  процесс гиперокисления в единичном цикле может одержать верх над образованием  $C_pS-SC_R$  [26]. В гиперокислении пероксиредоксинов в клетках могут быть задействованы оба механизма. Однако остаются некоторые моменты, которые необходимо прояснить, — почему в присутствии Trx, TrxR и NADPH степень гиперокисления Prdx меньше, чем предсказываемая на основе констант скорости реакции второго порядка, полученных в экспериментах с очищенными белками.

**Функции пероксиредоксинов.** В клетках Prdx не ограничены одной физиологической ролью. Скорее они являются центральными фигурами в редокс-метаболизме и могут выполнять различные функции.

Высокая реакционная способность, а также высокая уровень экспрессии белка в клетках позволяет считать, что в первую очередь с перекисями реагируют Prdxs [32]. В этой связи их можно рассматривать как антиоксидантные ферменты наряду с супероксиддисмутазами (SOD), глутатионпероксидазами (Gpxs) и каталазами.

Помимо их эффективности, широкий круг их субстратов, включая пероксинитрит, делает Prdxs незаменимыми антиоксидантами. Так, гидроперекиси свободных аминокислот и белков представляют серьезную угрозу для клеток, и Prdxs являются единственными известными белками, способными удалять их [22]. Еще одна важная особенность заключается в том, как Prdxs удаляют  $H_2O_2$ . В отличие от каталаз, они не выделяют кислород в качестве продукта реакции и, следовательно, полностью подавляют образование активных форм кислорода.

Результаты расчетов реакционной способности и количества Prdx показывают, что другие тиол-содержащие мишени, медленно реагирующие с  $H_2O_2$ , внутри клеток не должны подвергаться окислению. Однако в действительности обработка клеток  $H_2O_2$  приводит к окислению этих тиоловых белков, чего, исходя из их низкой реакционной способности, теоретически, не должно было произойти [32]. Для описания роли Prdx в регуляции редокс-гомеостаза был предло-

жен механизм «шлюза», основанный на чувствительности Prdx млекопитающих к гиперокислению. В своей первоначальной форме теория предполагала, что Prdx потребляет  $H_2O_2$  до тех пор, пока окислитель не накапливается до достаточно высокого уровня, чтобы подвергнуть Prdx гиперокислению, и в этот момент другие менее реактивные мишени способны подвергаться окислению [39]. Теория «шлюза» также может быть интерпретирована как механизм, который освобождает Trx от восстановления Prdx, что приводит к увеличению активности Trx, доступной для восстановления других мишеней [49].

Другим объяснением окисления тиоловых белков, медленно реагирующих с  $H_2O_2$ , может быть то, что пероксиредоксины действуют как сенсоры  $H_2O_2$  и направляют окислительные эквиваленты к соответствующим белкам, таким как фосфатазы и факторы транскрипции при помощи механизма эстафеты (relay) [50]. Роль пероксиредоксинов в  $H_2O_2$ -опосредованной передаче сигнала нашла строгое экспериментальное подтверждение. Кроме того, были обнаружены смешанные дисульфидные связи пероксиредоксинов и белков-мишеней в клетках, обработанных  $H_2O_2$  [51–53]. В отдельных случаях доказать, что такие эстафеты существуют довольно непросто. Например, при обработке клеток низкими дозами  $H_2O_2$  (i) видно синхронное окисление Prdx2 и CRMP2 (collapsin response mediator protein 2), (ii) иммунопреципитация Prdx2 происходит совместно с CRMP2, (iii) в клетках можно наблюдать ко-локализацию этих двух белков. Однако смешанного дисульфида обнаружено не было. В клеточной среде такие смешанные дисульфиды могут быть слишком короткоживущими из-за быстрого восстановления, кроме того, их можно не увидеть *in vitro*, если для объединения партнеров необходим другой (скаффолд) белок [54].

Чисто механически эта эстафета может происходить через (i) обмен тиольными группами между дисульфидной связью в Prdx и восстановленным белком-мишенью или (ii) образование смешанной дисульфидной связи в том случае, если белок-мишень реагирует с  $C_pSOH$ , вытесняя  $C_RSH$ . Аргументы против механизма обмена могут быть следующие: (i) относительно низкая скорость обмена тиольных групп и (ii) конкуренция с GSH, Trx и другими белками, содержащими тиольную группу. Однако механизмы обмена нельзя сбрасывать со счетов, поскольку теоретически, они могут быть облегчены с помощью скаффолда. С другой стороны, особенности энзимологии 2-Cys Prdx делают возможной реакцию белка-мишени с  $C_pSOH$ . Скорость димеризации пероксиредоксинов относительно

мала ( $2 \text{ с}^{-1}$  — в случае Prdx2), в то время как образование  $\text{C}_p\text{SOH}$  протекает в течение микросекунд [21, 26]. Относительно небольшая скорость конденсации с  $\text{C}_r\text{SH}$  обеспечивает возможность для  $\text{C}_p\text{SOH}$  вступать в реакцию с другой мишенью. Это может быть дополнительно усилено тем, что имеется эффект отрицательной кооперативности, который вдвое снижает скорость конденсации второго активного центра, когда один дисульфид уже образован [40].

Функция шаперона, защищающая другие белки от инактивации, была признана в качестве физиологической роли пероксиредоксинов еще до того момента, когда стала известна их высокая реакционная способность в отношении ROOH [55]. Нековалентные димеры Prdx организованы в регулярные пончиковидные структуры. Эти декамеры (или додекамеры) могут защищать другие белки от инактивации и агрегации. Образование дисульфидов в димерах Prdx снижает стабильность этих тороидов, в то время как гиперокисление делает их более стабильными. Таким образом, Prdxs в их восстановленном и гиперокисленном состояниях могут осуществлять функцию шаперонов [56]. Шапероновая активность Prdx может не только защищать белки от инактивации и агрегации, но и способствовать восстановлению неправильно свернутых белков. Гиперокисленный Prdx вместе с Hsp70 образует комплексы с неправильно свернутыми белками с последующим рекрутированием Hsp104. Затем Srx присоединяется к комплексу, и после восстановления  $\text{C}_p\text{SO}_2\text{H}$  происходит разрушение комплекса с высвобождением восстановленного нативного белка [57].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

2-Cys пероксиредоксины способны защищать клетки эффективно инактивируя ROOH и

сохраняя целостность структуры белков. Они также могут обнаруживать пероксиды и передавать окислительно-восстановительные сигналы другим белкам. Неудивительно, что такие универсальные белки вовлечены в различные патологии [58, 59]. Например, в раковых клетках наблюдается повышение экспрессии пероксиредоксинов [60]. Естественно, идёт поиск специфичного ингибитора Prdx. Однако это непростая задача: найти ингибитор, который может целенаправленно воздействовать на тиольные группы в белке Prdx и при этом не действовать на тиольные группы в других белках. Так, биологический эффект аденантина (дитерпеноида, выделенного из листьев, который индуцирует дифференцировку клеток острой промиелоцитической лейкемии) исходно был ассоциирован с его целенаправленным воздействием на 2-Cys пероксиредоксины [61]. Однако оказалось, что аденантин также реагирует с другими тиолами и гораздо более избирателен для селеноцистеин-зависимой TxhR, вызывая таким образом накопление окисленного Prdx путем ингибирования рециркуляции Txh [62].

Определенно может показаться, что есть противоречие в том, что один и тот же белок выполняет две роли: и выявление, и разрушение оксиданта. Можно предположить, что сочетание высокой реакционной способности, сложного механизма рециркуляции, положительной кооперативности в начальной реакции с окислителем и отрицательной кооперативности в димеризации позволяет 2-Cys Prdxs сочетать эти задачи.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kim, K. H., Lee, K. Y., Kim, I. H., Rhee, S. G., and Stadtman, E. R. (1988) The Isolation and purification of a specific protector protein which inhibits enzyme inactivation by a thiol/Fe(III)/ $\text{O}_2$  mixed-function oxidation system, *J. Biol. Chem.*, **263**, 4704-4711.
- Kim, I. H., Kim, K., and Rhee, S. G. (1989) Induction of an antioxidant protein of *Saccharomyces cerevisiae* by  $\text{O}_2$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , or 2-mercaptoethanol, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6018-6022.
- Chae, H. Z., Kim, I. H., Kim, K., and Rhee, S. G. (1993) Cloning, sequencing, and mutation of thiol-specific antioxidant gene of *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biol. Chem.*, **268**, 16815-16821.
- Chae, H. Z., Robison, K., Poole, L. B., Church, G., Storz, G., and Rhee, S. G. (1994) Cloning and sequencing of thiol-specific antioxidant from mammalian brain: alkyl hydroperoxide reductase and thiol-specific antioxidant define a large family of antioxidant enzymes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 7017-7021.
- Jacobson, F. S., Morgan, R. W., Christman, M. F., and Ames, B. N. (1989) An alkyl hydroperoxide reductase from *Salmonella typhimurium* involved in the defense of DNA against oxidative damage. Purification and properties, *J. Biol. Chem.*, **264**, 1488-1496.
- Tartaglia, L. A., Storz, G., Brodsky, M. H., Lai, A., and Ames, B. N. (1990) Alkylhydroperoxide reductase from *Salmonella typhimurium*. Sequence and homology to thioredoxin reductase and other flavoprotein disulfide oxidoreductases, *J. Biol. Chem.*, **265**, 10535-10540.
- Chae, H. Z., Chung, S. J., and Rhee, S. G. (1994) Thioredoxin-dependent peroxide reductase from yeast, *J. Biol. Chem.*, **269**, 27670-27678.

8. Poole, L. B., and Nelson, K. J. (2016) Distribution and features of the six classes of peroxiredoxins, *Mol. Cells*, **39**, 53-59.
9. Knoops, B., Loumaye, E., and Van Der Eecken, V. (2007) Evolution of the peroxiredoxins, in *Peroxiredoxin systems. Subcellular biochemistry*, vol 44, (Flohé, L., and Harris, J. R., eds.) Springer, Dordrecht.
10. Harris, J. R. (1969) Some negative staining features of a protein from erythrocyte ghosts, *J. Mol. Biol.*, **46**, 329-335.
11. Wood, Z. A., Schröder, E., Harris, J. R., and Poole, L. B. (2003) Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins, *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 32-40.
12. Hall, A., Parsonage, D., Poole, L. B., and Karplus, P. A. (2010) Structural evidence that peroxiredoxin catalytic power is based on transition state stabilization, *J. Mol. Biol.*, **402**, 194-209.
13. Pedre, B., van Bergen, L. V., Pallo, A., Rosado, L. A., Dufe, V. T., et al. (2016) The active site architecture in peroxiredoxins: a case study on *Mycobacterium tuberculosis* AhpE, *Chem. Commun.*, **52**, 10293-10296.
14. Netto, L. E. S., Chae, H. Z., Kang, S.-W., Rhee, S. G., and Stadtman, E. R. (1996) Removal of hydrogen peroxide by thiol-specific antioxidant enzyme (Tsa) is involved with its antioxidant properties: Tsa possesses thiol peroxidase activity, *J. Biol. Chem.*, **271**, 15315-15321.
15. Hofmann, B., Hecht, H.-J., and Flohe, L. (2002) Peroxiredoxins, *Biol. Chem.*, **383**, 347-364.
16. Dietz, K. J. (2003) Plant peroxiredoxins, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **54**, 93-107.
17. Bryk, R., Griffin, P., and Nathan, C. (2000) Peroxynitrite reductase activity of bacterial peroxiredoxins, *Nature*, **407**, 211-221.
18. Wong, C.-M., Zhou, Y., Ng, R. W. M., Kung, H.-F., and Jin, D.-Y. (2002) Cooperation of yeast peroxiredoxins Tsa1p and Tsa2p in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress, *J. Biol. Chem.*, **277**, 5385-5394.
19. Ogusucu, R., Rettori, D., Munhoz, D. C., Netto, L. E., and Augusto, O. (2007) Reactions of yeast thioredoxin peroxidases I and II with hydrogen peroxide and peroxynitrite: rate constants by competitive kinetics, *Free Radic. Biol. Med.*, **42**, 326-334.
20. Manta, B., Hugo, M., Ortiz, C., Ferrer-Sueta, G., Trujillo, M., and Denicola, A. (2009) The peroxidase and peroxynitrite reductase activity of human erythrocyte peroxiredoxin 2, *Arch. Biochem. Biophys.*, **484**, 146-154.
21. De Armas, M. I., Esteves, R., Viera, N., Reyes, A. M., Mastrogiovanni, M., et al. (2019) Rapid peroxynitrite reduction by human peroxiredoxin 3: implications for the fate of oxidants in mitochondria, *Free Radic. Biol. Med.*, **130**, 369-378.
22. Peskin, A. V., Cox, A. G., Nagy, P., Morgan, P. E., Hampton, M. B., and Winterbourn, C. C. (2010) Rapid removal of amino acid, peptide and protein hydroperoxides by reaction with peroxiredoxins 2 and 3, *Biochem. J.*, **432**, 313-321.
23. Peskin, A. V., Pace, P. E., Behring, J. B., Paton, L. N., Soethoudt, M., Bachschmid, M. M., and Winterbourn, C. C. (2016) Glutathionylation of the active site cysteines of peroxiredoxin 2 and recycling by glutaredoxin, *J. Biol. Chem.*, **291**, 3053-3062.
24. Chang, T.-S., Jeong, W., Woo, H. A., Lee, S. M., Park, S., and Rhee, S. G. (2004) Characterization of mammalian sulfiredoxin and its reactivation of hyperoxidized peroxiredoxin through reduction of cysteine sulfenic acid in the active site to cysteine, *J. Biol. Chem.*, **279**, 50994-51001.
25. Perkins, A., Poole, L. B., and Karplus, P. A. (2014) Tuning of peroxiredoxin catalysis for various physiological roles, *Biochemistry*, **53**, 7693-7705.
26. Peskin, A. V., Dickerhof, N., Poynton, R. A., Paton, L. N., Pace, P. E., Hampton, M. B., and Winterbourn, C. C. (2013) Hyperoxidation of peroxiredoxins 2 and 3: rate constants for the reactions of the sulfenic acid of the peroxidic cysteine, *J. Biol. Chem.*, **288**, 14170-14177.
27. Peskin, A. V., Low, F. M., Paton, L. N., Maghzal, G. J., Hampton, M. B., and Winterbourn, C. C. (2007) The high reactivity of peroxiredoxin 2 with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is not reflected in its reaction with other oxidants and thiol reagents, *J. Biol. Chem.*, **282**, 11885-11892.
28. Winterbourn, C. C., and Peskin, A. V. (2016) Kinetic approaches to measuring peroxiredoxin reactivity, *Mol. Cells*, **39**, 26-30.
29. Carvalho, L. A. C., Truzzi, D. R., Fallani, T. S., Alves, S. V., Toledo, J. C., et al. (2017) Urate hydroperoxide oxidizes human peroxiredoxin 1 and peroxiredoxin 2, *J. Biol. Chem.*, **292**, 8705-8715.
30. Winterbourn, C. C., and Metodiewa, D. (1999) Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide, *Free Radic. Biol. Med.*, **27**, 322-328.
31. Nelson, K. J., Parsonage, D., Hall, A., Karplus, P. A., and Poole, L. B. (2008) Cysteine pKa values for the bacterial peroxiredoxin AhpC, *Biochemistry*, **47**, 12860-12868.
32. Winterbourn, C. C. (2008) Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species, *Nat. Chem. Biol.*, **4**, 278-286.
33. Schröder, E., Littlechild, J. A., Lebedev, A. A., Errington, N., Vagin, A. A., and Isupov, M. N. (2000) Crystal structure of decameric 2-Cys peroxiredoxin from human erythrocytes at 1.7 Å resolution, *Structure*, **8**, 605-615.
34. Hall, A., Nelson, K., Poole, L. B., and Karplus, P. A. (2011) Structure-based insights into the catalytic power and conformational dexterity of peroxiredoxins, *Antioxid. Redox Signal.*, **15**, 795-815.
35. Parsonage, D., Youngblood, D. S., Sarma, G. N., Wood, Z. A., Karplus, P. A., and Poole, L. B. (2005) Analysis of the link between enzymatic activity and oligomeric state in AhpC, a bacterial peroxiredoxin, *Biochemistry*, **44**, 10583-10592.
36. Nagy, P., Karton, A., Betz, A., Peskin, A. V., Pace, P., et al. (2011) Model for the exceptional reactivity of peroxiredoxins 2 and 3 with hydrogen peroxide: a kinetic and computational study, *J. Biol. Chem.*, **286**, 18048-18055.
37. Yewdall, N. A., Peskin, A. V., Hampton, M. B., Goldstone, D. C., Pearce, F. G., and Gerrard, J. A. (2018) Quaternary structure influences the peroxidase activity of peroxiredoxin 3, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **497**, 558-563.
38. Stacey, M. M., Peskin, A. V., Vissers, M. C., and Winterbourn, C. C. (2009) Chloramines and hypochlorous acid oxidize erythrocyte peroxiredoxin 2, *Free Radic. Biol. Med.*, **47**, 1468-1476.
39. Wood, Z. A., Poole, L. B., and Karplus, P. A. (2003) Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling, *Science*, **300**, 650-653.
40. Peskin, A. V., Meotti, F. C., de Souza, L. F., Anderson, R. F., Winterbourn, C. C., and Salvador, A. (2020) Intra-dimer cooperativity between the active site cysteines during the oxidation of peroxiredoxin 2, *Free Radic. Biol. Med.*, **158**, 115-125.
41. Bolduc, J. A., Nelson, K. J., Haynes, A. C., Lee, J., Reisz, J. A., et al. (2018) Novel hyperoxidation resistance motifs in 2-Cys peroxiredoxins, *J. Biol. Chem.*, **293**, 11901-11912.
42. Poynton, R. A., Peskin, A. V., Haynes, A. C., Lowther, W. T., Hampton, M. B., and Winterbourn, C. C. (2016) Kinetic analysis of structural influences on the susceptibility of peroxiredoxins 2 and 3 to hyperoxidation, *Biochem. J.*, **473**, 411-421.
43. Cheah, F. C., Peskin, A. V., Wong, F.-L., Ithnin, A., Othman, A., and Winterbourn, C. C. (2014) Increased



- basal oxidation of peroxiredoxin 2 and limited peroxiredoxin recycling in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient erythrocytes from newborn infants, *FASEB J.*, **28**, 3205-3210.
44. Low, F. M., Hampton, M. B., Peskin, A. V., and Winterbourn, C. C. (2007) Peroxiredoxin 2 functions as a noncatalytic scavenger of low-level hydrogen peroxide in the erythrocyte, *Blood*, **109**, 2611-2617.
  45. Woo, H. A., Chae, H. Z., Hwang, S. C., Yang, K.-S., Kang, S. W., et al. (2003) Reversible oxidation of the catalytic site of cysteine of peroxiredoxins to cysteine sulfenic acid in mammalian cells, *Science*, **300**, 653-656.
  46. Biteau, B., Labarre, J., and Toledano, M. B. (2003) ATP-dependent reduction of cysteine-sulphinic acid by *S. cerevisiae* sulphiredoxin, *Nature*, **425**, 980-984.
  47. Jönsson, T. J., Lynnette, C., Johnson, L. C., and Lowther, W. T. (2008) Structure of the sulphiredoxin–peroxiredoxin complex reveals an essential repair embrace, *Nature*, **451**, 98-101.
  48. Chae, H. Z., Kim, H. J., Kang, S. W., and Rhee, S. G. (1999) Characterization of three isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in the presence of thioredoxin, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **45**, 101-112.
  49. Veal, E. A., Underwood, Z. E., Tomalin, L. E., Morgan, B. A., and Pillay, C. S. (2018) Hyperoxidation of peroxiredoxins: gain or loss of function? *Antioxid. Redox Signal.*, **28**, 574-590.
  50. Winterbourn, C. C., and Hampton, M. B. (2015) Signalling via a peroxiredoxin sensor, *Nature Chem. Biol.*, **11**, 5-6.
  51. Cao, J., Schulte, J., Knight, A., Leslie, N. R., Zagazdon, A., et al. (2009) Prdx1 inhibits tumorigenesis via regulating PTEN/AKT activity, *EMBO J.*, **28**, 1505-1517.
  52. Jarvis, R. M., Hughes, S. M., and Ledgerwood, E. C. (2012) Peroxiredoxin I functions as a signal peroxidase to receive, transduce, and transmit peroxide signals in mammalian cells, *Free Radic. Biol. Med.*, **53**, 1522-1530.
  53. Sobotta, M. C., Liou, W., Stocker, S., Talwar, D., Oehler, M., et al. (2015) Peroxiredoxin-2 and STAT3 form a redox relay for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signaling, *Nat. Chem. Biol.*, **11**, 64-70.
  54. Pace, P. E., Peskin, A. V., Konigstorfer, A., Jasoni, C. J., Winterbourn, C. C., and Hampton, M. B. (2018) Peroxiredoxin interaction with the cytoskeletal-regulatory protein CRMP2: investigation of a putative redox relay, *Free Radic. Biol. Med.*, **129**, 383-393.
  55. Jang, H. H., Lee, K. O., Chi, Y. H., Jung, B. G., Park, S. K., et al. (2004) Two enzymes in one; two yeast peroxiredoxins display oxidative stress-dependent switching from a peroxidase to a molecular chaperone function, *Cell*, **117**, 625-635.
  56. Teixeira, F., Castro, H., Cruz, T., Tse, E., Koldewey, P., et al. (2015) Mitochondrial peroxiredoxin functions as crucial chaperone reservoir in *Leishmania infantum*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E616-E624.
  57. Hanzén, S., Vielfort, K., Yang, J., Roger, F., Andersson, V., et al. (2016) Lifespan control by redox-dependent recruitment of chaperones to misfolded proteins, *Cell*, **166**, 140-151.
  58. Kisucka, J., Chauhan, A. K., Patten, I. S., Yesilaltay, A., Neumann, C., et al. (2008) Peroxiredoxin I prevents excessive endothelial activation and early atherosclerosis, *Circ. Res.*, **103**, 598-605.
  59. Radyuk, S. N., and Orr, W. C. (2018) The multifaceted impact of peroxiredoxins on aging and disease, *Antioxid. Redox Signal.*, **29**, 1293-1311.
  60. Forshaw, T. E., Holmila, R., Nelson, K. J., Lewis, J. E., Kemp, M. L., et al. (2019) Peroxiredoxins in cancer and response to radiation therapies, *Antioxidants*, **8**, 11.
  61. Liu, C. X., Yin, Q. Q., Zhou, H. C., Wu, Y. L., Pu, J. X., et al. (2012) Adenanthin targets peroxiredoxin I and II to induce differentiation of leukemic cells, *Nat. Chem. Biol.*, **8**, 486-493.
  62. Soethoudt, M., Peskin, A. V., Dickerhof, N., Paton, L. N., Pace, P. E., and Winterbourn, C. C. (2014) Interaction of adenanthin with glutathione and thiol enzymes: Selectivity for thioredoxin reductase and inhibition of peroxiredoxin recycling, *Free Radic. Biol. Med.*, **77**, 331-339.

## THE ENIGMA OF 2-Cys PEROXIREDOXINS: WHAT ARE THEIR ROLES?

### Review

A. V. Peskin\* and C. C. Winterbourn

Centre for Free Radical Research, University of Otago Christchurch, 8140 Christchurch, New Zealand, E-mail: alexander.peskin@otago.ac.nz

2-Cys peroxiredoxins are abundant thiol proteins that react efficiently with a wide range of peroxides. Unlike other enzymes, their exceptionally high reactivity does not rely on cofactors. The mechanism of oxidation and reduction of peroxiredoxins places them in a good position to act as antioxidants as well as key players in redox signaling. Understanding of the intimate details of peroxiredoxin functioning is important for translational research.

**Keywords:** peroxiredoxin, thiols, redox, signaling, peroxide