БИОХИМИЯ, 2021, том 86, вып. 6, с. 771 – 786

УДК 543.51

БЕЛОК DJ-1 И ЕГО РОЛЬ В РАЗВИТИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА: ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ

Обзор

© 2021 О.А. Бунеева, А.Е. Медведев*

НИИ биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича,
119121 Москва, Россия; электронная почта: professor57@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.12.2020
После доработки 25.02.2021
Принята к публикации 12.03.2021

DJ-1, известный также как белок 7 болезни Паркинсона (БП) (Parkinson disease protein 7), – многофункциональный белок, который экспрессируется практически во всех клетках и тканях. Взаимодействуя с белками различных внутриклеточных компартментов, DJ-1 играет важную роль в поддержании ряда клеточных функций. У мутантных форм DJ-1, содержащих аминокислотные замены (особенно L166P, характерные для БП), нарушены способность этого белка к димеризации, стабильность и фолдинг. DJ-1 проявляет несколько видов каталитической активности, однако в классификации ферментов он фигурирует как протеиндегликаза (КФ 3.5.1.124). По-видимому, в разных компартментах клетки DJ-1-белку свойственны каталитические и некаталитические функции, соотношение которых пока неизвестно. Оксидативный стресс способствует диссоциации цитоплазматических димеров DJ-1 и увеличенному поступлению образовавшихся мономеров в ядро, где этот белок действует как коактиватор различных сигнальных путей, предотвращая гибель клеток. В митохондриях DJ-1 обнаружен в составе синтасом, где он взаимодействует с β-субъединицей АТР-синтазы. При моделировании экспериментального паркинсонизма подавление экспрессии гена *DJ-1* повышает чувствительность клеток к нейротоксинам, а введение рекомбинантного белка DJ-1 ослабляет проявление этой патологии. Тринадцатичленный фрагмент аминокислотной последовательности DJ-1, присоединённый к проникающему в клетки гептапептиду TAT-белка, проявлял нейропротекторные свойства в различных вариантах моделирования паркинсонизма как на культурах клеток, так и при введении животным. Низкомолекулярные лиганды DJ-1 также обладают терапевтическим потенциалом, оказывая нейропротекторный эффект как при инкубации с клетками, так и при введении животным.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: белок DJ-1, структура и функции, каталитическая активность, патогенные мутации, болезнь Паркинсона, экспериментальные модели, лиганды DJ-1.

DOI: 10.31857/S0320972521060026

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – прогрессирующее нейродегенеративное расстройство, которое характеризуется относительно избирательной потерей дофаминергических нейронов и присутствием телец Леви в чёрной субстанции [1]. В большинстве случаев преобладают спорадические формы БП, на долю БП с ранним началом приходится от 5 до 10 процентов всех случаев [2]. Аутосомно-рецессивные формы БП с ранним началом вызваны мутациями в генах *Parkin* (*PARK2*), *PINK1* (*PARK6*), *DJ-1* (*PARK7*) и *ATP13A2* (*PARK9*) [2]. Открытие мутаций, вызывающих наследственные формы БП, сделало поистине революционный прорыв в изучении механизмов развития БП [2, 3], которая в течение длительного времени рассматривалась как нейродегенеративное заболевание, не связанное с наследственностью.

Белок DJ-1, фигурирующий в базе данных UniProt под названием Parkinson disease protein 7 (код доступа Q99497), был открыт в 1997 г., как продукт онкогена, вовлечённый в сигнальный путь Ras/MAP-киназа [4]. В 2003 г. было обнаружено, что кодирующий его ген *DJ-1* (также известный как *PARK7*, что обозначает связь с БП и хронологический порядок идентификации [5]) ассоциирован с довольно редкой аутосомно-рецессивной формой болезни Паркинсона с ранним началом [6, 7]. Позднее выявлены изменения экспрессии этого гена в различных

Принятые сокращения: БП – болезнь Паркинсона; МФТП – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин; $МФП^+$ – ион 1-метил-4-фенилпиридиния; МАО – моноаминоксидаза; HIF-1α – индуцируемый гипоксией транскрипционный фактор 1 (Hypoxia-inducible factor 1-alpha); Nrf2 – ядерный транскрипционный фактор (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2); SOD – супероксиддисмутаза; TRAF6 – фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей (TNF receptor-associated factor 6).

* Адресат для корреспонденции.

отделах мозга пациентов с распространёнными формами БП [7].

Интерес к DJ-1 настолько велик, что, как иронично заметил видный специалист в области изучения БП Марк Куксон, число исследователей этого белка намного превышает число больных с данной наследственной формой паркинсонизма, обусловленной мутацией гена *PARK7* [8]. Это связано с тем, что в клетке DJ-1 может взаимодействовать со многими белками-партнёрами, а обнаруженные мутации в гене *DJ-1* приводят к изменению структуры и функции кодируемого им белка, что способствует пониманию как молекулярных механизмов развития определенных форм БП, так и общебиологической роли этого белка в организме. Немаловажную роль играет и тот факт, что современный молекулярно-биологический инструментарий позволяет «дирижировать» различными формами DJ-1 и моделировать патофизиологические состояния как на уровне клеток, так и целых экспериментальных организмов.

СТРУКТУРА И ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКА DJ-1

DJ-1 – высококонсервативный белок, состоящий из 189 аминокислотных остатков, который содержит 9 альфа-спиралей и 7 бета-складчатых структур [9] (рис. 1). *In vivo* он существует в виде димера, а у мутантных форм белка, содержащих характерные для БП аминокислотные замены, нарушена способность к димеризации, стабильность и фолдинг [10]. Наиболее разрушительной в этом плане оказывается аминокислотная замена L166P, которая нарушает пространственную структуру белка и образование гомодимеров [11]. Другие ассоциированные с БП мутации (E64D, A104T, D149A, E163K и M26I) такого повреждающего действия на фолдинг и димеризацию белка DJ-1 не оказывают, но снижают термостабильность в растворе [12, 13].

DJ-1 содержит три остатка цистеина (C46, C56 и C106), среди которых наиболее функционально важным является C106. Именно этот остаток цистеина наиболее восприимчив к окислительному стрессу; в ходе окисления его SH-группа последовательно превращается в сульфеновую (SOH), сульфиновую (SO_2H) и далее в сульфоновую (SO_3H) кислоты. Замена остатка цистеина C106A предупреждала образование окисленной формы белка DJ-1, в то время как аналогичные аминокислотные замены других остатков цистеина (C46A или C53A) такого действия не оказывали [14]. Мутация именно остатка цистеина C106A предупреждала транслокацию белка DJ-1 в митохондрии [14]. Окис-

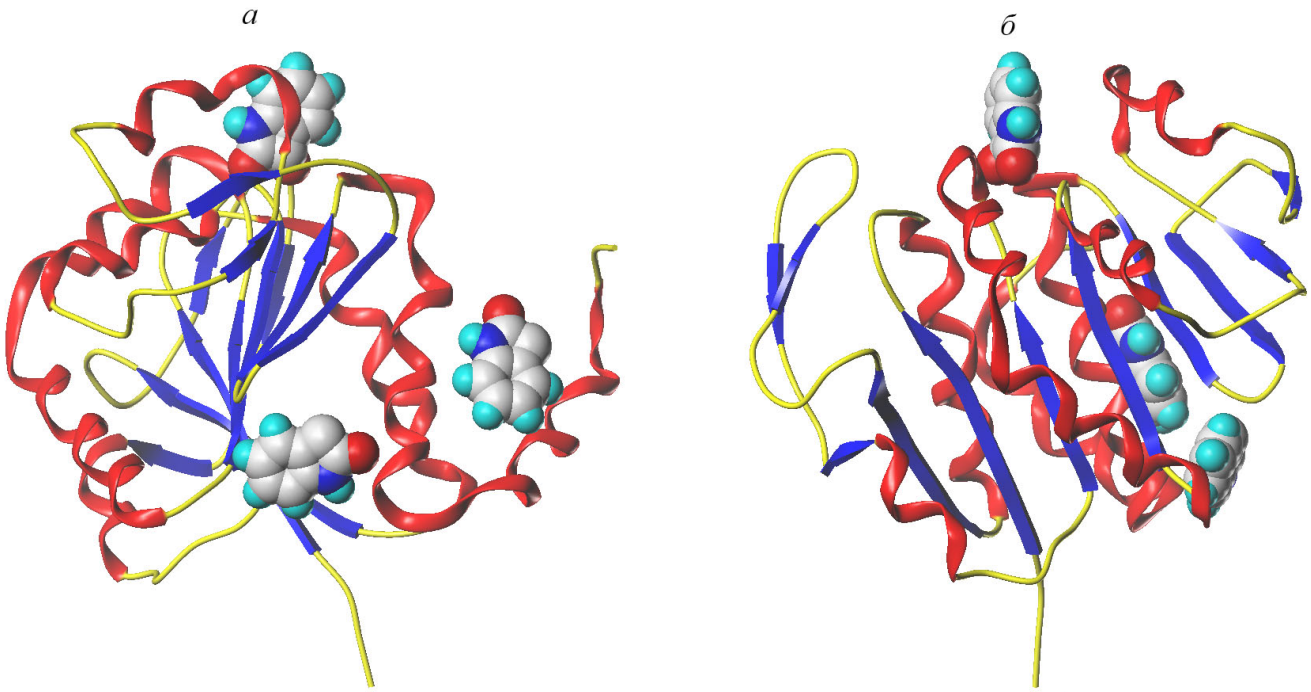

Рис. 1. Пространственная структура белка DJ-1 со связанными молекулами изатина (изображены сферами). Взята из базы данных PDB (ID: 6AF9); внесена в базу данных авторами: Caaveiro, J. M. M., Tashiro, S., Tsumoto, K. (дата внесения 08.08.2018); *а*, *б* – две ортогональные проекции. (С цветными вариантами рисунков можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/)

ление C106 оказывает минимальное влияние на структуру белка DJ-1, но именно эта форма оказывала ингибиторное действие на агрегацию α-синуклеина. Более глубокое окисление белка DJ-1 сопровождалось нарушениями вторичной структуры и потерей способности ингибировать образование α-синуклеиновых фибрилл [15]. Исследование уровня окисленного белка DJ-1 в областях мозга, имеющих отношение к развитию БП, не выявило статистически значимых различий между молодыми (9 недель) и старыми (130 недель) мышами [16]. Исключение составил только стриатум, где соотношение окисленного и неокисленного белка DJ-1 было выше у молодых животных.

Помимо окисления остатков цистеина важную роль для биологической активности DJ-1 играет сумоилирование – присоединение небольших убиквитин-подобных белков (small ubiquitin-like modifiers, SUMO) [17, 18]. Функционально компетентный белок (дикого типа) DJ-1 подвергается сумоилированию в клетках по остатку лизина (K130); при мутации K130R этот процесс нарушался, а мутантный белок DJ-1 становился функционально неактивным. В случае мутации, ассоциированной с развитием БП (L166P), сумоилирование происходило по другим остаткам лизина с формированием неправильно свёрнутых нерастворимых форм белка [17].

DJ-1 также подвергается убиквитинированию. Это способствует деградации в протеасомах мутантного белка DJ-1, содержащего аминокислотную замену L166P, обнаруженную у больных с БП [17].

В клетках нейробластомы и в лизатах мозга человека белок DJ-1 формирует комплекс с паркином и PINK1 (мутации каждого из этих трех белков приводят к БП, наследуемой по аутосомно-рецессивному типу) [19]. Этот комплекс обладает убиквитинлигазной активностью и способен убиквитинировать субстраты паркина (например, синфилин-1) и сам паркин. Генетическое устранение DJ-1 либо PINK1 приводит к снижению уровня убиквитинирования самого паркина и его субстратов и накоплению аберрантных белков. Такой же эффект наблюдается и в случае мутантных (паркинсонических) форм PINK1 и паркина [19]. В клетках нейробластомы человека SH-SY5Y DJ-1 взаимодействует с другой E3-убиквитинлигазой – опухолевым супрессором, белком VHL (Von Hippel Lindau). Это приводит к нарушению взаимодействия VHL с альфа-субъединицей гетеродимерного индуцируемого гипоксией транскрипционного фактора 1 (HIF-1α) и препятствует убиквитинированию HIF-1α. Дефицит DJ-1 приводит к снижению уровня HIF-1α при гипоксии и окислительном стрессе. Лимфобласты пациентов с БП, связанной с мутациями DJ-1, характеризуются менее стабильным HIF-1α по сравнению с таковым у здоровых людей. Это позволяет заключить, что DJ-1 защищает нейроны от гибели путём ингибирования убиквитинлигазной активности VHL [20].

E3-Убиквитинлигаза TRAF6 (фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей), помимо неправильно свёрнутого мутантного DJ-1, убиквитинирует и мутантный α-синуклеин – основной компонент телец Леви [21–22]. Интересно, что TRAF6 осуществляет атипичное полиубиквитинирование DJ-1 и α-синуклеина за счёт лизиновых остатков K6, K27 и K29 молекулы убиквитина. Это способствует накоплению нерастворимых агрегатов полиубиквитинированных DJ-1 и α-синуклеина в цитоплазме. В аутопсийных препаратах мозга пациентов с БП белок TRAF6 локализован совместно с DJ-1 и α-синуклеином. Известно, что полиубиквитинирование с участием остатков K48 осуществляется, как правило, для мечения белков с целью последующей протеасомной деградации [23], в то время как атипичное полиубиквитинирование преимущественно играет роль в аутофагии, формировании различных сигнальных путей, репарации ДНК и регуляции иммунного ответа [24–26].

DJ-1 может служить регулятором 20S-протеасомы. Связываясь с протеасомой, DJ-1 ингибирует её активность, защищая частично развёрнутые белки от деградации [27]. Это позволяет поддерживать определенный уровень в клетке ряда важных белков-субстратов 20S-протеасомы (например, α-синуклеина и p53). При окислительном стрессе DJ-1, напротив, активирует 20S-протеасому с помощью Nrf2-зависимого сигнального пути (ядерный транскрипционный фактор 2; Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), способствуя быстрому удалению повреждённых белков из клетки [27].

В контексте функционирования убиквитин-протеасомной системы убиквитинирование DJ-1 может, очевидно, играть и регуляторную роль. Во всяком случае недавно проведённый анализ митохондриального убиквитилома мозга мышей [28] показал, что сетевое взаимодействие убиквитинированных белков формируется тремя функциональными горизонтальными слоями, связь между которыми осуществляется белками DJ-1, супероксиддисмутазой 2 (SOD2) и белком теплового шока Hsp90α (кодируемыми генами *Park7*, *Hsp90aa1* и *Sod2* соответственно) (рис. 2). И хотя прямое взаимодействие между этими белками не было исследовано, ряд

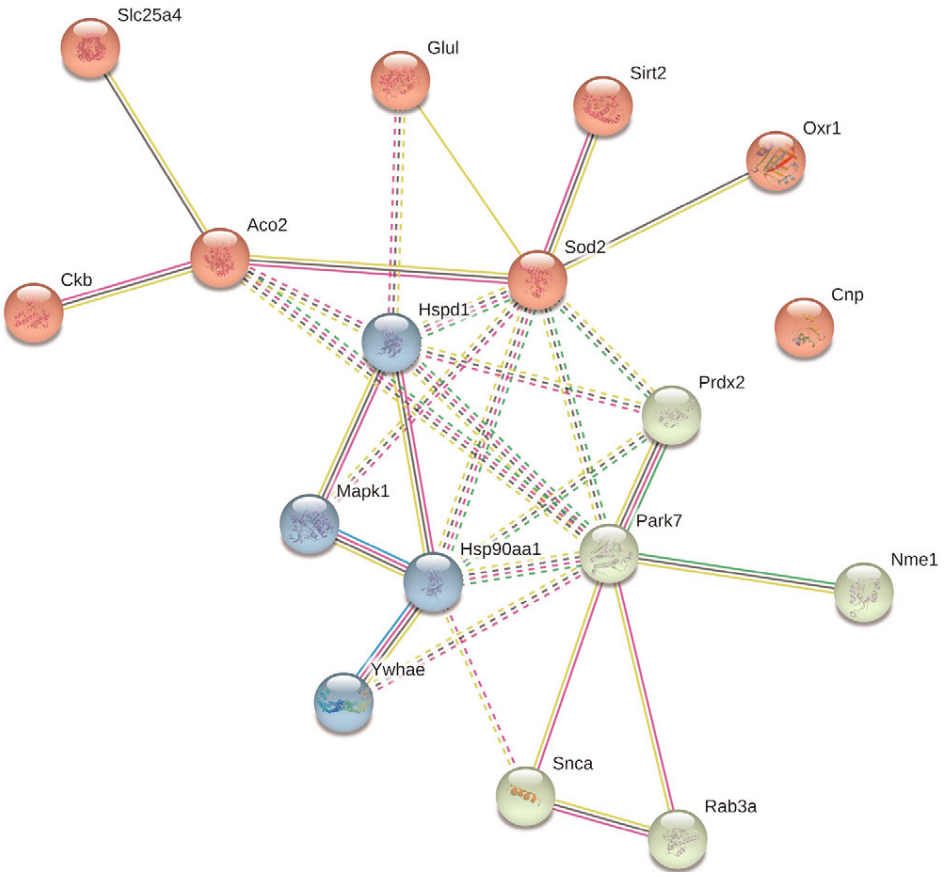

Рис. 2. Сетевой анализ взаимодействия убиквитинированных белков митохондрий мозга мышей [28]. Объяснения приведены в тексте. Воспроизведено с разрешения Pleiades Publishing

косвенных данных указывает на существование такого рода функциональных взаимосвязей [29]. Все это свидетельствует о том, что в митохондриях мозга белок DJ-1 вовлечён в межмолекулярные взаимодействия, которые связаны с защитными механизмами от окислительного стресса, включающими процессы убиквитинирования митохондриальных белков. В контексте прямого взаимодействия DJ-1 с антиоксидантными белками следует отметить, что в его структуре выявлен участок связывания ионов меди, включающий остаток C106 [30]. В модельных экспериментах этот участок играл важную роль в переносе иона меди между DJ-1 и цитозольной супероксиддисмутазой 1 (SOD1) [30]. В мотонейронах трансгенных мышей $SOD1^{G93A}$ показано прямое взаимодействие DJ-1 с мутантной SOD1, которое способствовало снижению проявлений оксидативного стресса [31].

Среди других видов посттрансляционных модификаций следует отметить недавно обнаруженное прямое фосфорилирование DJ-1 протеинкиназой A (PKA) [32]. Связывание DJ-1 с каталитической субъединицей (PKAcα) приводило к фосфорилированию по остатку T154. Аминокислотная замена T154A нарушала стабильность мутанта, димеризацию и способствовала его деградации в протеасомах. В клетках $PRAK^{+/+}$, экспрессирующих киназу PRAK (p38 regulated/activated kinase), фосфорилирование DJ-1 происходило после воздействия 0,3 мМ пероксидом водорода [33]. В клетках без этой киназы ($PRAK^{-/-}$) фосфорилирование DJ-1 обнаружено не было. Поскольку фосфорилирование было выявлено при помощи антител, специфичных к фосфосерину, конкретный модифицированный аминокислотный остаток не был идентифицирован.

Анализ протеоформ белка DJ-1 в клетках карциномы молочной железы MCF-7, проведённый с помощью тандемной масс-спектрометрии [34], позволил выявить ещё один сайт фосфорилирования – T125, имеющий отношение к регуляции каталитических функций этого белка. Однако фермент, осуществляющий фосфорилирование DJ-1, пока не выявлен.

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКА DJ-1

На сегодняшний день DJ-1 фигурирует в классификации ферментов как протеиндегликаза (КФ 3.5.1.124), катализирующая реакцию дегликирования остатков аргинина, лизина и цистеина в белках:

(1) N^{ω}-(1-hydroxy-2-oxopropyl)-[protein]-L-Arg + + H_2O = [protein]-L-Arg + (*R*)-lactate,

(2) N^{6}-(1-hydroxy-2-oxopropyl)-[protein]-L-Lys + + H_2O = [protein]-L-Lys + (*R*)-lactate,

(3) *S*-(1-hydroxy-2-oxopropyl)-[protein]-L-Cys + + H_2O = [protein]-L-Cys + (*R*)-lactate.

В модельных системах DJ-1 восстанавливал гликированные аминокислоты N-ацетилцистеин, N-ацетиларгинин и N-ацетилизин, предварительно модифицированные в реакции с метилглиоксалем (MGO) [35]. Дегликазная активность белка DJ-1 была подтверждена в экспериментах с гликированными белками (бычьим сывороточным альбумином, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой, фруктозо-1,6-бисфосфатальдолазой, аспартатаминотрансферазой). Для дегликазной активности необходим интактный остаток C106: мутантный DJ-1-белок с аминокислотной заменой C106S был неактивен в реакции дегликирования N-ацетилцистеина, а активность мутантных белков с аминокислотными заменами C53S и C46S была сопоставима с активностью DJ-1 дикого типа [35]. DJ-1 также катализировал реакцию дегликирования предварительно MGO-гликированного α-синуклеина; мутантная форма этого белка, содержащая ассоциированную с БП аминокислотную замену (L166P), была менее активна и проявляла меньшее сродство к α-синуклеину [36]. Помимо дегликирования белков, DJ-1 предотвращал гликирование нуклеиновых кислот [37].

Дегликазная активность белка DJ-1 может объяснить ряд других ранее описанных активностей этого белка. Действуя как дегликаза, DJ-1 может выступать в качестве шаперона, взаимодействующего с гликированными белками глиоксалазы 1, осуществляющей и превращения гемитиоацеталей в тиоэфиры, и аминокарбинолов в амиды глиоксалазы 2, осуществляющей расщепления тиоэфиров в ходе дегликирования цистеина, а также протеазы, расщепляющей амидные связи при дегликировании лизина/аргинина [35]. Правда, для всех этих активностей необходим неокисленный остаток цистеина C106 [35]. С учётом того, что мягкое окисление SH-группы C106 до сульфеновой кислоты фактически служит сигналом для транслокации DJ-1 в митохондрии [14, 18], всю многофункциональность этого белка вряд ли можно связать только с его каталитическими функциями. По-видимому, в разных компартментах клетки белку DJ-1 свойственны каталитические и некаталитические функции, соотношение которых нуждается в дальнейших исследованиях.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ DJ-1 С БЕЛКАМИ МИТОХОНДРИЙ И ЯДРА

Белок DJ-1 преимущественно определяется в цитоплазме и при развитии оксидативного стресса транслоцируется в митохондрии и ядро. Важным для процесса транслокации DJ-1 в митохондрии является окисление SH-группы C106 до сульфеновой кислоты [14, 18].

Прямое взаимодействие DJ-1 с субъединицами NADH-дегидрогеназы митохондрий играет важную роль в поддержании функциональной активности комплекса I.

На клетках, экспрессирующих FLAG-меченую субъединицу митохондриальной NADH-дегидрогеназы NDUFA4, показано прямое связывание DJ-1 с субъединицами комплекса I, кодируемыми как ядерной ДНК (NDUFA4), так и митохондриальной (ND1) [38]. В условиях окислительного стресса, индуцированного 0,2 мМ H_2O_2, FLAG-меченая субъединица NDUFA4 была связана как с восстановленной, так и с окисленной формами DJ-1. Окислительный стресс способствовал ассоциации эндогенного DJ-1 и с другими субъединицами комплекса I (ND1). Нокдаун гена *DJ-1* в клетках NIH3T3 и HEK293 при помощи малой интерферирующей РНК (siRNA) приводил к снижению активности комплекса I. Мутантный белок DJ-1, несущий аминокислотную замену L166P, обнаруженную у пациентов с БП [5], также связывался с NDUFA4, но в отличие от белка дикого типа не влиял на активность комплекса I. Это свидетельствует о том, что DJ-1 участвует в регуляции активности комплекса I. В то же время нокаут гена *DJ-1* у так называемых *Polg*-мутаторных мышей (у которых полимераза-γ, ответственная за репликацию митохондриального генома, лишена 3′–5′-экзонуклеазной активности, необходимой для исправления ошибок репликации [39]) не оказывал существенного влияния на нигростриатные пути [40].

DJ-1 обнаружен в составе субмитохондриальных везикул (синтасом), где взаимодействует с β-субъединицей ATP-синтазы, снижая таким образом утечку протонов и повышая продукцию ATP [41]. Мутантные DJ-1-белки, содержащие аминокислотные замены, связанные с болезнью Паркинсона (A104T, D149A и L166P), и DJ-1, лишённые *C*-концевого 60-членного пептида,

также взаимодействовали с β-субъединицей ATP-синтазы, но не снижали утечку протонов (и не повышали синтез ATP). Выключение гена *DJ-1* в клетках среднего мозга приводило практически к двукратному падению уровня ATP и снижало рост и число нейритов дофаминергических нейронов. Поскольку отсутствие DJ-1 лишь частично компенсировалось добавлением декспрамипексола (dexpramipexole) – препарата, способного блокировать утечку протонов через внутреннюю мембрану, – регуляторные эффекты DJ-1, очевидно, не ограничиваются только взаимодействием этого белка с ATP-синтазой [41]. Митохондрии, дефектные по DJ-1, характеризуются повышенным уровнем дыхания в метаболическом состоянии 4, что также свидетельствует в пользу важной роли DJ-1 в функциональной целостности внутренней мембраны [42]. По данным электронной микроскопии [43], форма митохондрий клеток M17 нейробластомы человека, экспрессирующих DJ-1 дикого типа, существенно отличалась от аналогичных клеток, экспрессирующих мутантные формы этого белка, содержащие аминокислотные замены R98Q, D149A и L166P. В мутантных клетках уровень фрагментации митохондрий был существенно повышен [43]. Все эти данные свидетельствует о важной роли белка DJ-1 в митохондриях.

Экспрессируемый эндогенно белок DJ-1 поступает из цитоплазмы в ядро в виде мономера, и этот процесс существенно увеличивается в ответ на оксидативный стресс клеток, индуцированный пероксидом водорода [44]. Оксидативный стресс способствует диссоциации цитоплазматических димеров DJ-1 и увеличенному поступлению образовавшихся мономеров в ядро. Сигналом ядерной локализации, по-видимому, служит пролин-тирозиновый дипептидный фрагмент белка DJ-1, узнаваемый белком кариоферином-бета2 [45]. Кариоферин-бета2 образовывал комплексы как с белком DJ-1 дикого типа, так и с мутантными формами, содержащими аминокислотные замены C106A, A104T, D149A, но не E163K. Это говорит в пользу того, что редокс-статус C106 вряд ли имеет существенное значение для транспорта DJ-1 [44].

Помимо каталитической функции (дегликирования гистонов), которая повышается при фосфорилировании T125 [34], в ядре DJ-1 может взаимодействовать и осуществлять секвестрацию белка Daxx, что способствует предотвращению гибели клеток [46].

Он также действует как коактиватор различных сигнальных путей, в том числе андрогенового рецептора [47, 48], Nrf2 [49], белка p53 [50, 51]. DJ-1 является нейропротекторным транскрипционным коактиватором, который связывается с промотором гена тирозингидроксилазы (TH), в конечном итоге регулируя выработку дофамина [52, 53].

В таблице обобщены примеры взаимодействия DJ-1 со своими белками-партнёрами.

БЕЛОК DJ-1 В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

МФТП-индуцированный паркинсонизм. Среди экспериментальных моделей паркинсонизма одной из наиболее популярных является паркинсонизм, индуцируемый поступлением в организм 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) [1, 8, 70, 71]. Этот протоксин подвергается метаболическому превращению при участии моноаминоксидазы типа Б (МАО Б), которая при этом инактивируется. Образующийся нейротоксин МФП$^+$ (ион 1-метил-4-фенилпиридиния) ингибирует комплекс I дыхательной цепи, приводя в конечном итоге к развитию симптомокомплекса, характерного для этого заболевания. Введение ингибиторов МАО Б (например, депренила или изатина [72–74]), препятствующих метаболической активации МФТП, предупреждает развитие дефицита нейромедиатора дофамина и двигательных нарушений, свойственных болезни Паркинсона.

Через две недели после введения мышам суммарной дозы МФТП 80 мг/кг (4 инъекции по 20 мг/кг с интервалом в 2 ч) в чёрной субстанции отмечено двукратное снижение числа дофаминергических нейронов, оцениваемых по иммуноокрашиванию на тирозингидроксилазу – ключевой фермент биосинтеза дофамина. При этом число пролиферирующих (BrdU$^+$-позитивных) клеток субгранулярной и субвентрикулярной зон не отличалось от контроля. В этих клетках обнаружено существенное увеличение DJ-1 в области ядра, свидетельствующее в пользу транслокации этого белка в ядро нейрональных стволовых клеток. С учётом того, что именно клетки субгранулярной и субвентрикулярной зон имеют отношение к процессам нейрогенеза во взрослом мозге, увеличение ядерной локализации белка DJ-1 рассматриваются в качестве компенсаторной реакции при МФТП-индуцированном паркинсонизме [75]. Введение той же суммарной дозы МФТП мышам C57BL/6 по несколько иной схеме (4 инъекции по 20 мг/кг с интервалом в 24 ч) приводило к существенному снижению уровня дофамина и его метаболитов (3,4-дигидроксифенилуксусной и гомованилиновой кислот). Сверхэкспрессия паркина и DJ-1

(путём введения соответствующих генетических конструкций в составе рекомбинантного аденоассоциированного вируса) не предотвращала снижения дофамина в стриатуме, но снижала гибель дофаминергических нейронов, индуцированную введением МФТП [76].

Введение МФТП мышам, лишённым *DJ-1* (*DJ-1*$^{-/-}$), вызывало существенно большую гибель нигростриатных нейронов, по сравнению с мышами (*DJ-1*$^{+/+}$), экспрессирующими этот белок. Эффект был особенно заметен через 14 дней после введения нейротоксина [77]. Восстановление экспрессии белка DJ-1 путём введения мышам *DJ-1*$^{-/-}$ аденовирусной конструкции, экспрессирующей DJ-1, за неделю до введения МФТП способствовало повышению уровня этого белка в чёрной субстанции и ослабляла эффект этого нейротоксина на гибель клеток [77]. Следует отметить, что мыши *DJ-1*$^{-/-}$ не отличались от контрольных животных дикого типа практически по всем исследованным параметрам [78], включая количество нейронов в чёрной субстанции мозга и уровень дофамина чёрной субстанции. Снижение индуцированного выброса дофамина, выявленное у таких животных, нормализовалось блокадой обратного захвата дофамина [78]. Однако высокочастотная стимуляция кортикостриатных терминалей таких животных не приводила к индукции долговременной депрессии (LTD), что связывают с отсутствием регуляции дофаминовых D2-рецепторов при участии DJ-1 [78].

Трёхкратное введение МФТП (15 мг/кг с интервалом в 2 ч) мышам C57BL/6J также приводило к снижению уровня дофамина, обнаруживаемому в стриатуме через 3 дня после введения МФТП. При этом соотношение окисленной и неокисленной форм белка DJ-1, определяемое с помощью специфических антител (с использованием в качестве контроля мышей с нокаутированным геном *DJ-1*), значимо не менялось в первые две недели, но повышалось в чёрной субстанции, стриатуме и обонятельной луковице через 6 недель после введения МФТП [16].

В экспериментах на клетках M17 нейробластомы человека, экспрессирующих белок DJ-1 дикого типа, а также мутанты, несущие аминокислотные замены C46A, C53A и C106A, было установлено, что только DJ-1 дикого типа и мутант C53A снижали проявления токсического действия МФП$^{+}$. При этом мутация именно остатка цистеина C106A предупреждала транслокацию белка DJ-1 в митохондрии [14].

Другие аминокислотные замены (R98Q, D149A и особенно L166P) повышали чувствительность клеток M17 нейробластомы человека к МФП$^{+}$ [43].

В аналогичных экспериментах с использованием в качестве нейротоксического агента севофлурана (средство для наркоза) показано, что клетки M17 нейробластомы человека, стабильно экспрессирующие DJ-1 дикого типа или мутант L166P, отвечают на присутствие этого вещества в среде культивирования увеличением уровня мРНК и белка DJ-1 [79]. При этом только DJ-1 дикого типа оказывал защитное действие, способствуя снижению активных форм кислорода и азота (NO).

Ротенон-индуцированный паркинсонизм. Другая модель БП предусматривает повторные инъекции пестицида ротенона животным (крысам или мышам); это приводит к ингибированию комплекса I в мозге [80, 81] и периферических органах [82]. Хотя гистопатологические и другие исследования выявили несколько критически важных органов-мишеней этого токсина [82], введение ротенона вызывало преимущественную дегенерацию нигростриатной дофаминергической системы в мозге и воспроизводило основные симптомы БП [80, 81].

При введении ротенона (2 мг/кг) крысам Спрэгг–Доули в течение 4-х недель происходило развитие двигательных нарушений, свойственных БП, и увеличение экспрессии белка DJ-1, а также фактора Nrf2 и гемоксигеназы-1 в среднем мозге и стриатуме [83]. Введение ротенона крысам Льюис приводило к развитию характерных для БП двигательных нарушений и существенному (38%) снижению нейронов чёрной субстанции, экспрессирующих тирозингидроксилазу [84]. Экспрессия человеческого гена *DJ-1* в астроцитах этих животных существенно снижала потерю дофаминергических нейронов. При этом в дофаминергических нейронах чёрной субстанции отмечено снижение уровня α-синуклеина и его фосфорилирования и увеличение экспрессии белка, ассоциированного с мембраной лизосом (маркера LAMP-2A) – маркёра опосредованной шаперонами аутофагии [84]. Эти данные свидетельствуют о том, что нейропротекторное действие белка DJ-1 не ограничивается экспрессирующими его клетками, а распространяется и на соседние нейроны.

Цитотоксическое действие ротенона воспроизводилось и в опытах с изолированными клетками: культивирование первичных нейронов среднего мозга 17-дневных эмбрионов в присутствии 100 нМ ротенона приводило к 10-кратному снижению числа клеток, экспрессирующих тирозингидроксилазу (уровень других, недофаминергических нейронов снижался не столь драматично) [85]. Трансдукция гена, кодирующего DJ-1 дикого типа, но не мутантных

Взаимодействие белка DJ-1 с белками-партнёрами

Белки-партнёры DJ-1	Экспериментальная модель	Локализация комплекса	Биологический эффект	Ссылки
DJ-1 (димеризуется)	трансфекция мутантных форм DJ-1 человека (L166P, L10P и P158DEL, делеции) в клетки CHO	Я, Ц	нарушена стабильность; фолдинг и способность к димеризации у мутантных БП-форм	[10]
α-Синуклеин (мономеры и олигомеры)	моделирование паркинсонизма на клеточных культурах (SH-SY5Y) и у животных (мыши)	Л	нокаут *DJ-1* приводит к повышенной агрегации альфа синуклеина; сверхэкспрессия DJ-1 снижает уровень альфа синуклеина	[54, 55]
Тау белок	культура клеток IMR; технология редактирования генома CRISPR; мутанты тау белка P301L	Ц	мутантный тау белок (P301L) сильнее взаимодействует с DJ-1	[56]
Паркин и PINK1 (pten-induced kinase 1)	культуры клеток SH-SY5Y и HEK293; лизаты мозга человека	МХ, Ц	в комплексе появляется убиквитин-лигазная активность	[19, 57]
Субъединицы NDUFA4 и ND1 митохондриального комплекса I	культуры клеток NIH3T3 и HEK293	МХ	нокдаун *DJ-1* приводит к снижению активности комплекса I др. дефектам митохондрий	[38]
Фактор сплайсинга PSF (Polypyrimidine tract-binding protein-associated splicing factor)	культуры клеток CHP-212, SHSY5Y, HeLa, HEK293; лимфобласты пациентов с БП с патогенной мутацией гена DJ-1-белка	Я	регуляция экспрессии гена тирозингидроксилазы с помощью DJ-1 и PSF; DJ-1 ингибирует сумоилирование PSF и подавление синтеза тирозингидроксилазы	[52]
E3-Убиквитинлигаза VHL (Von Hippel-Lindau)	клетки SH-SY5Y; убиквитинирование *in vitro* и *in vivo*	Ц, Я	VHL образует комплекс с HIF-1α; DJ-1 ингибирует образование комплекса HIF-VHL, препятствует убиквитинированию	[20, 58]
E3-Убиквитинлигаза TRAF 6	аутопсийные препараты мозга пациентов с БП; клетки SH-SY5Y; L166P мутанты DJ-1	Ц	убиквитинирование DJ-1 под действием TRAF 6 способствует образованию агрегатов мутантных DJ-1	[21, 22]
20S-Протеасома	протеасомы печени крысы; BL21(DE3) штамм *Escherichia coli*; трансформированный вектором pET-15b-hDJ-1, несущим ДНК DJ-1WT либо DJ-1C106A человека	Ц	образование комплекса тормозит активность 20S-протеасомы и уменьшает деградацию частично развёрнутых белков	[27]
Тиоредоксин 1 (Trx1)	клетки SH-SY5Y, SY5Y, HeLa; мутантные (M26I и L166P) формы DJ-1; DJ-1-нокаутные мыши	Ц, Я	DJ-1 ингибирует активацию ASK1, предотвращая диссоциацию комплекса Trx1 с ASK1 и увеличивая транскрипцию Trx1	[59, 60]
p53 – супрессор опухоли	культуры клеток HEK293T, A549, H1299; моделирование окислительного стресса	Ц, Я	DJ-1 регулирует/ингибирует транскрипционную активность p53	[50, 51]
ERK1/2 и ERK2 (extracellular signal-regulated kinase)	клетки HEK293T – DJ-1 нокдаун; лизаты мозга мышей – DJ-1 нокаут	Ц, Я	транслокация Erk1/2 в ядро в условиях окислительного стресса; активация Elk1, способствующая экспрессии супероксид-дисмутазы 1 (SOD1)	[61]
ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1)	клетки HEK293, MEF, HeLa	Ц	образование комплекса ингибирует активность ASK1	[62–64]
Проапоптотический белок Daxx (Death-associated protein 6)	дрожжевой двухгибридный скрининг; клетки SH-SY5Y, COS-7	Я	связывая Daxx, DJ-1 удерживает его в ядре и препятствует активации ASK1 и апоптозу	[46]

Окончание таблицы

Белки-партнёры DJ-1	Экспериментальная модель	Локализация комплекса	Биологический эффект	Ссылки
β-Субъединица ATP-синтазы	культуры клеток HEK293	МХ	взаимодействие DJ-1 с β-субъединицей ATP-синтазы снижает утечку протонов и повышает продукцию ATP	[41]
Каталитическая субъединица протеинкиназы A (PKAcα)	система *in vitro*	Ц	PKAcα фосфорилирует DJ-1 по T154	[32]
PRAK/MK5 (p38 regulated/activated kinase)	клетки HEK293, NIH3T3, HeLa, $PRAK^{+/+}$ и $PRAK^{-/-}$ клетки MEF	Я	PRAK образует комплекс с DJ-1 и фосфорилирует DJ-1 *in vitro* и *in vivo*	[33]
Фосфатаза PTEN	культуры клеток NIH3T3, HEK293A	Ц	образование комплекса с DJ-1 тормозит активность PTEN	[65, 66]
PIASχα/ARIP3 (protein inhibitor of activated STAT) χα/androgen receptor-interacting protein 3	клетки 293T, Cos1, TM4, HepG2, CV1	Я	DJ-1 – позитивный регулятор андрогенного рецептора (AR); связываясь с модулятором AR (PIASχα/ARIP3), способствует восстановлению транскрипции AR, удаляя PIASχα из комплекса с AR	[47]
DJBP (DJ-1 binding protein)	клетки 293T, Cos1; экстракты тестикул быка; экспрессия F-DJ-1 и DJBP в *E. coli*	Я	DJ-1, DJBP и AR формируют тройной комплекс, в котором DJ-1 ассоциирует с AR посредством связывания с DJBP; DJ-1 способствует активации транскрипции AR	[48]
TTRAP (TRAF and TNF receptor-associated protein)	мутантные M26I и L166P DJ-1; клетки SH-SY5Y, HEK-293T	Ц, Я	связывание с мутантами DJ-1 вызывает JNK- и p38 MAPK-индуцированный апоптоз	[67]
Cezanne/Za20d1, деубиквитиназа семейства A20, ингибирующая активность фактора транскрипции NF-κB	клетки MEF, H157, HEK293T; мутантные FLAG-DJ-1	Я, Ц	связывание с DJ-1 ингибирует деубиквитиназу Cezanne; это способствует перемещению NF-κB в ядро и предотвращает гибель клеток	[68]
Рецепторная тирозинкиназа HER3 (ErbB-3)	клетки HEK293T и CHO; ксенотрансплантантная модель опухоли у мышей	Я	взаимодействие с DJ-1 защищает HER3 от убиквитинирования и последующей протеасомной деградации	[69]

Примечание. Обозначения: Я – ядро клетки, Ц – цитоплазма, МХ – митохондрии, Л – лизосомы.

форм DJ-1 (M26I, E64), увеличивала процент экспрессирующих тирозингидроксилазу клеток.

Паркинсонизм, индуцированный 6-гидроксидофамином. Это ещё одна популярная модель БП, механизм которой включает накопление токсина в катехоламинергических нейронах за счёт дофаминового или норадреналинового транспортёров [86]. Поскольку фармакологическая блокада этих транспортёров предупреждает развитие токсических проявлений, это указывает, что именно транспорт 6-гидроксидофамина является ключевым патогенетическим моментом. Поступая внутрь нейронов, 6-гидроксидофамин индуцирует оксидативный стресс, обусловленный как автоокислением этого амина, так и окислительным дезаминированием под действием моноаминоксидазы A с образованием пероксида водорода. Образующиеся при этом активные формы кислорода оказывают повреждающее действие на нейроны. В связи с тем, что 6-гидроксидофамин не проникает через гематоэнцефалический барьер, его вводят непосредственно в мозг методом стереотаксической хирургии [86]. Введённый таким образом в стриатум мышей C57bl/6 или трансгенных мышей с нокаутом гена *DJ-1* 6-гидроксидофамин вызывал снижение уровня дофамина и иммуногистохимически выявляемой тирозингидроксилазы [87]. При этом изменения были более выражены у животных с нокаутом гена *DJ-1*.

Исследования, выполненные на первичных культурах астроцитов мышей C57bl/6 или транс-

генных мышей с нокаутом гена *DJ-1*, также продемонстрировали большую уязвимость клеток животных с нокаутом *DJ-1* к 6-гидроксидофамину [87]. При этом астроциты животных с нокаутированным *DJ-1* хуже защищали нейроны от токсического действия в ходе их сокультивирования в присутствии увеличивающихся концентраций нейротоксина, а также реагировали повышенной экспрессией ядерного фактора Nrf2 и гемоксигеназы 1 при более высоких концентрациях 6-гидроксидофамина [87]. Последнее свидетельствует об участии других регуляторов (помимо DJ-1) в активации ядерного фактора Nrf2 и гемоксигеназы 1.

В условиях токсического действия 6-гидроксидофамина на клетки (SH-SY5Y) DJ-1 может окисляться; при этом снижение клеточного GSH предшествует окислению DJ-1 [88]. При введении 6-гидроксидофамина в чёрную субстанцию (substantia nigra pars compacta) крыс Вистар происходило накопление окисленных форм DJ-1 в мембранной фракции и снижение этого белка в цитозоле [89], что согласуется с известными представлениями о транслокации DJ-1 в митохондрии.

На дофаминергических нейронах MN9D показано, что выключение гена *DJ-1* при помощи малой шпилечной РНК повышало чувствительность клеток к 6-гидроксидофамину, который способствовал накоплению активных форм кислорода и ускорял апоптоз [90]. При этом нокдаун *DJ-1* изменял уровень 27 белков. В контексте оксидативного стресса особенно важным было снижение уровня пероксиредоксина 6.

Как и в случае других экспериментальных моделей БП, нейротоксический эффект 6-гидроксидофамина был более выражен на животных с нокаутом гена *DJ-1* (*DJ-1*$^{-/-}$), а также первичной культуре нейронов среднего мозга, полученных от этих животных [91]. В клетках PC12/TetOn, экспрессирующих α-синуклеин с аминокислотной заменой, связанной с БП (A30P), сайленсинг DJ-1 повышал токсичность мутанта α-синуклеина.

Введение проникающей в клетки формы рекомбинантного белка DJ-1 (TAT-DJ-1) в стриатум мышей *DJ-1*$^{-/-}$ снижало нейротоксические проявления, индуцированные 6-гидроксидофамином [91]. Это свидетельствует о возможном терапевтическом потенциале белка DJ-1.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БЕЛКА DJ-1 И ЕГО ЛИГАНДОВ

Помимо обнаруженного «терапевтического» эффекта проникающей в клетки формы рекомбинантного белка DJ-1 (TAT-DJ-1), был исследован 13-членный фрагмент аминокислотной последовательности DJ-1, присоединённый к проникающему в клетки гептапептиду TAT-белка [92]. Эта конструкция, получившая название ND-13, была исследована на моделях паркинсонизма, индуцированного введением 6-гидроксидофамина или МФТП. На культурах клеток SH-SY5Y ND-13 снижал повреждающее действие 6-гидроксидофамина, не влияя на их пролиферацию. В разных вариантах парентерального введения (интрастриатно, подкожно или внутривенно) животным ND-13 ослаблял токсические проявления, вызванные 6-гидроксидофамином (индуцированная амфетамином ротация крыс, уровень дофамина и тирозингидроксилазы). Этот эффект был обнаружен как у животных, экспрессирующих DJ-1, так и у животных с нокаутированным геном *DJ-1*. Интересно, что в этих экспериментах выраженность снижения уровня дофамина при введении одного 6-гидроксидофамина и «повышение» (а точнее предупреждение снижения) этого показателя под действием ND-13 были практически одинаковы у нокаутных и экспрессирующих DJ-1 животных [92]. В модели МФТП-индуцированного паркинсонизма (25 мг/кг в течение 5 дней) совместное с нейротоксином введение пептида ND-13 животным в дозе 20 мг/кг снижало падение уровня дофамина в чёрной субстанции и числа дофаминергических нейронов, экспрессирующих тирозингидроксилазу [92]. Одним из возможных кандидатов, опосредующих нейропротекторные эффекты пептида ND-13, может быть ядерный фактор Nrf2. Хотя инкубация ND-13 с интактными клетками не оказывала влияния на транслокацию Nrf2 в ядро; при совместном добавлении ND-13 и 6-гидроксидофамина отмечено увеличение уровня мРНК и транслокация белка Nrf2 в ядро [92].

Терапевтическим потенциалом обладают и лиганды DJ-1. Проведённый среди 30 000 структур виртуальный скрининг (*in silico*) веществ, способных связываться с DJ-1, выявил соединения UCP0045037 и UCP0054278 (рис. 3), которые взаимодействовали с восстановленным или окисленным (по C106) белком [93]. Помимо DJ-1 дикого типа они взаимодействовали и с мутантами, имеющими отношение к БП (L166P, M26I). Предварительное в течение суток культивирование клеток SH-SY5Y или нейронов среднего мозга крысы в присутствии 1 мкМ UCP0045037 снижало нейротоксический эффект увеличивающихся (0–400 мкМ) концентраций H_2O_2. Аналогичный цитопротекторный эффект 1 мкМ UCP0045037 и 1 мкМ UCP0054278 отмечен и при воздействии нейро-

токсина 6-гидроксидофамина (диапазон концентраций 0–100 мкМ) на эти клетки [93]. На клетках с выключенным геном *DJ-1* цитопротекторные эффекты лигандов этого белка отсутствовали. Оба соединения (UCP0045037 и UCP0054278) проникали через гематоэнцефалический бартер и на модели БП, индуцированной введением 6-гидрксидофамина, снижали выраженность двигательных нарушений и повышали число выживших дофаминергических нейронов [93].

Нейропротекторное действие DJ-1 и его лиганда было также продемонстрировано на модели фокальной ишемии-реперфузии, индуцированной у крыс окклюзией средней мозговой артерии: введение рекомбинантного белка DJ-1 [94] или соединения UCP0045037 уменьшало размер инфрактной зоны мозга [95].

Ещё один лиганд – соединение 23, селективность взаимодействия которого с DJ-1 была подтверждена на клетках с выключенным геном *DJ-1*, проявлял нейропротекторное действие в модели МФТП-индуцированного паркинсонизма [96]. Мышам дикого типа и мышам с нокаутированным геном *DJ-1* вводили соединение 23 (в дозе 1 мг/кг), а через 1 ч – МФТП (30 мг/кг). Терапевтический эффект анализировали через 5 дней после введения МФТП. Соединение 23 снижало проявления двигательных нарушений, вызванных МФТП, а также гибель клеток в чёрной субстанции и стриатуме и падение уровня дофамина. На животных, дефектных по белку DJ-1, данное вещество терапевтического эффекта не оказывало [96]. Это свидетельствует о высокой специфичности действия соединения 23 на конкретную мишень – белок DJ-1.

Ещё одним веществом, взаимодействующим с DJ-1, является изатин [97]. Изатин (индол-2,3-дион) – эндогенный биологический регулятор, обнаруженный в мозге, периферических тканях и биологических жидкостях человека и животных [28, 98, 99]. Широкий спектр биологической активности изатина опосредуется многочисленными изатин-связывающими белками [98, 99]. Физиологические концентрации изатина *in vitro* ингибируют моноаминоксидазу Б (МАО Б) и гуанилатциклазу рецепторов натрийуретических пептидов, более высокие (нейропротекторные) концентрации (от 50 мкМ до 400 мкМ) вызывают апоптоз клеточных линий различных (в том числе злокачественных) опухолей и влияют на экспрессию генов [98]. При введении *in vivo* изатин ослабляет проявления паркинсонизма, индуцированного введением МФТП, что связывают со снижением превращения МФТП в МФП$^+$ в результате

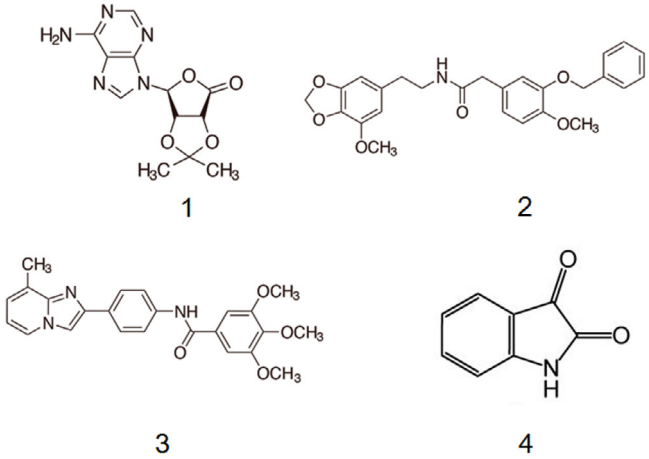

Рис. 3. Структуры лигандов белка DJ-1, использованных в экспериментальных моделях БП. В скобках приведены ссылки на работы, в которых эти лиганды были использованы. 1 – Соединение UCP0045037: 5α-(6-Амино-9Н-пурин-9-ил)-4,5-дигидро-3β,4β-(изопропилидендиокси)-2(3Н)-фуранон [93–95]; 2 – соединение UCP0054278: 2-[3-(Бензилокси)-4-метоксифенил]-N-[2-(7-метокси-2Н-1,3-бензодиоксол-5-ил)этил]ацетамид [93–95]; 3 – соединение 23: N-[4-(8-метил(4-гидроимидазо[1,2-а]пиридин-2-ил))фенил](3,4,5- триметоксифенил)карбоксамид [96]; 4 – изатин (индол-2,3-дион) [97]

конкурентного ингибирования МАО Б [72–74]. Кроме того, эта нейропротекторная доза изатина вызывает многоуровневые изменения в мозге, затрагивающие протеом [99].

Сродство DJ-1 к изатину (K_D = 3,2 мкМ; [97]) сопоставимо со сродством к этому регулятору глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы – другой привлекательной фармакологической мишени нейропротекторных соединений [100]. С учётом этих данных становится все более очевидным, что известное нейропротекторное действие изатина, очевидно, связано не только с торможением активности МАО Б, но и с взаимодействием с другими важными в контексте нейропротекции белками, включая DJ-1. Интересно отметить, что в некоторых исследованиях белок DJ-1 был идентифицирован в группе изатин-связывающих белков, специфичных для мозга контрольных мышей, однако при введении нейропротекторной дозы изатина (100 мг/кг) этот белок с аффинным сорбентом не связывался [101]. С учётом того, что изатин проникает через гематоэнцефалический барьер и накапливается в мозге, это подтверждает тот факт, что именно взаимодействие DJ-1 с изатином препятствует связыванию этого белка с аффинным сорбентом, содержащим аналог изатина в качестве лиганда.

Ряд аналогов изатина характеризовался более прочным связыванием с белком DJ-1

(K_D < 1 мкМ) и эффективным торможением глиоксалазной активности, измеренной с фенилглиоксалем в качестве субстрата (IC_{50} < 0,5 мкМ) [97]. Открытие аналогов изатина, эффективно тормозящих каталитические функции, даёт в руки исследователей мощный инструмент, который позволит оценить вклад фермента протеиндегликазы в нейропротекторные функции белка DJ-1.

Создание зонда, ковалентно связывающегося с (восстановленными) остатками цистеина белка DJ-1 [102], существенно расширяет возможности исследований белка в живых системах. Протеомный анализ нескольких линий клеток (HeLa, A549, SH-SY5Y), меченных этим зондом, продемонстрировал преимущественное включение метки именно в DJ-1, которое снижалось в условиях оксидативного стресса [102]. Использование соединений, избирательно действующих на каталитически активную (восстановленную) форму DJ-1, позволит «разграничить» ферментативные и неферментативные механизмы действия этого белка в норме и при патологии.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Данная работа не предполагала использования людей и животных в качестве объектов исследования. Обобщённые в обзоре результаты исследований авторов оригинальных работ были выполнены с одобрения соответствующих комитетов по этике, указанные в каждой процитированной статье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Obeso, J. A., Stamelou, M., Goetz, C. G., Poewe, W., Lang, A. E., et al. (2017) Past, present, and future of Parkinson's disease: a special essay on the 200th anniversary of the shaking palsy, *Mov. Disord.*, **32**, 1264-1310, doi: 10.1002/mds.27115.
2. Klein, C., and Westenberger, A. (2012) Genetics of Parkinson's disease, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, **2**, a008888, doi: 10.1101/cshperspect.a008888.
3. Buneeva, O. A., and Medvedev, A. E. (2006) Ubiquitin-protein ligase parkin and its role in the development of Parkinson's disease, *Biochemistry (Moscow)*, **71**, 851-860.
4. Nagakubo, D., Taira, T., Kitaura, H., Ikeda, M., Tamai, K., et al. (1997) DJ-1, a novel oncogene which transforms mouse NIH3T3 cells in cooperation with ras, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **231**, 509-513, doi: 10.1006/bbrc.1997.6132.
5. Bonifati, V., Rizzu, P., van Baren, M. J., Schaap, O., Breedveld, G. J., et al. (2003) Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism, *Science*, **299**, 256-259.
6. Djarmati, A., Hedrich, K., Svetel, M., Schäfer, N., Juric, V., et al. (2004) Detection of Parkin (PARK2) and DJ1 (PARK7) mutations in early-onset Parkinson's disease: Parkin mutation frequency depends on ethnic origin of patients, *Hum. Mutat.*, **23**, 525, doi: 10.1002/humu.9240.
7. Kumaran, R., Vandrovcova, J., Luk, C., Sharma, S., Renton, A., et al. (2009) Differential DJ-1 gene expression in Parkinson's disease, *Neurobiol. Disease*, **36**, 393-400, doi: 10.1016/j.nbd.2009.08.011.
8. Cookson, M. R. (2010) DJ-1, PINK1 and their effects on mitochondrial pathways, *Mov. Disord.*, **25 (Suppl. 1)**, S44-S48, doi: 10.1002/mds.22713.
9. Lee, S. J., Kim, S. J., Kim, I. K., Ko, J., Jeong, C. S., et al. (2003) Crystal structures of human DJ-1 and *Escherichia coli* Hsp31, which share an evolutionarily conserved domain, *J. Biol. Chem.*, **278**, 44552-44559, doi: 10.1074/jbc.M304517200.
10. Ramsey, C. P., and Giasson, B. I. (2010) L10p and P158DEL DJ-1 mutations cause protein instability, aggregation, and dimerization impairments, *J. Neurosci. Res.*, **88**, 3111-3124, doi: 10.1002/jnr.22477.
11. Moore, D. J., Zhang, L., Dawson, T. M., and Dawson, V. L. (2003) A missense mutation (L166P) in DJ-1, linked to familial Parkinson's disease, confers reduced protein stability and impairs homo-oligomerization, *J. Neurochem.*, **87**, 1558-1567.
12. Lakshminarasimhan, M., Maldonado, M. T., Zhou, W., Fink, A. L., and Wilson, M. A. (2008) Structural impact of three parkinsonism-associated missense mutations on human DJ-1, *Biochemistry*, **47**, 1381-1392.
13. Malgieri, D., and Eliezer, D. (2008) Structural effects of Parkinson's disease linked DJ-1 mutations, *Prot. Sci.*, **17**, 855-868, doi: 10.1110/ps.073411608.
14. Canet-Avilés, R. M., Wilson, M. A., Miller, D. W., Ahmad, R., McLendon, C., et al. (2004) The Parkinson's disease protein DJ-1 is neuroprotective due to cysteine-sulfinic acid-driven mitochondrial localization, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 9103-9108, doi: 10.1073/pnas.0402959101.
15. Zhou, W., Zhu, M., Wilson, M. A., Petsko, G. A., and Fink, A. L. (2006) The oxidation state of DJ-1 regulates its chaperone activity toward alpha-synuclein, *J. Mol. Biol.*, **356**, 1036-1048, doi: 10.1016/j.jmb.2005.12.030.
16. Mita, Y., Kataoka, Y., Saito, Y., Kashi, T., Hayashi, K., et al. (2018) Distribution of oxidized DJ-1 in Parkinson's disease-related sites in the brain and in the peripheral tissues: effects of aging and a neurotoxin, *Sci. Rep.*, **8**, 12056, doi: 10.1038/s41598-018-30561-z.
17. Shinbo, Y., Niki, T., Taira, T., Ooe, H., Takahashi-Niki, K., et al. (2006) Proper SUMO-1 conjugation is essential to DJ-1 to exert its full activities, *Cell Death Differ.*, **13**, 96-108.

18. Ariga, H., Takahashi-Niki, K., Kato, I., Maita, H., Niki, T., and Iguchi-Ariga, S. M. (2013) Neuroprotective function of DJ-1 in Parkinson's disease, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2013**, 683920, doi: 10.1155/2013/683920.
19. Xiong, H., Wang, D., Chen, L., Choo, Y. S., Ma, H., Tang, C., et al. (2009) Parkin, PINK1, and DJ-1 form a ubiquitin E3 ligase complex promoting unfolded protein degradation, *J. Clin. Invest.*, **119**, 650-660, doi: 10.1172/JCI37617.
20. Parsanejad, M., Zhang, Y., Qu, D., Irrcher, I., Rousseaux, M. W. C., et al. (2014) Regulation of the VHL/HIF-1 Pathway by DJ-1, *J. Neurosci.*, **34**, 8043-8050.
21. Zucchelli, S., Codrich, M., Marcuzzi, F., Pinto, M., Vilotti, S., et al. (2010) TRAF6 promotes atypical ubiquitination of mutant DJ-1 and alpha-synuclein and is localized to Lewy bodies in sporadic Parkinson's disease brains, *Hum. Mol. Genet.*, **19**, 3759-3770, doi: 10.1093/hmg/ddq290.
22. Vilotti, S., Codrich, M., Dal Ferro, M., Pinto, M., Ferrer, I., et al. (2012) Parkinson's disease DJ-1 L166P alters rRNA biogenesis by exclusion of TTRAP from the nucleolus and sequestration into cytoplasmic aggregates via TRAF6, *PLoS One*, **7**, e35051, doi: 10.1371/journal.pone.0035051.
23. Hershko, A., and Ciechanover, A. (1998) The ubiquitin system, *Annu. Rev. Biochem.*, **67**, 425-479, doi: 10.1146/annurev.biochem.67.1.425.
24. Chen, Z. J., and Sun, L. J. (2009) Nonproteolytic functions of ubiquitin in cell signaling, *Mol. Cell*, **33**, 275-286.
25. Buneeva, O. A., and Medvedev, A. E. (2017) The role of atypical ubiquitination in cell regulation, *Biochemistry (Moscow) Suppl. Ser. B Biomed. Chem.*, **11**, 16-31, doi: 10.1134/S1990750817010024.
26. Van Huizen, M., and Kikkert, M. (2020) The role of atypical ubiquitin chains in the regulation of the antiviral innate immune response, *Front. Cell Dev. Biol.*, **7**, 392, doi: 10.3389/fcell.2019.00392.
27. Moscovitz, O., Ben-Nissan, G., Fainer, I., Pollack, D., Mizrachi, L., and Sharon, M. (2015) The Parkinson's-associated protein DJ-1 regulates the 20S proteasome, *Nat. Commun.*, **6**, 6609, doi: 10.1038/ncomms7609.
28. Buneeva, O. A., Medvedeva, M. V., Kopylov, A. T., and Medvedev, A. E. (2019) Ubiquitin subproteome of brain mitochondria and its changes induced by experimental parkinsonism and action of neuroprotectors, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1359-1374, doi: 10.1134/S0006297919110117.
29. Xu, X., Martin, F., and Friedman, J. S. (2010) The familial Parkinson's disease gene DJ-1 (PARK7) is expressed in red cells and plays a role in protection against oxidative damage, *Blood Cells Mol. Dis.*, **45**, 227-232, doi: 10.1016/j.bcmd.2010.07.014.
30. Girotto, S., Cendron, L., Bisaglia, M., Tessari, I., Mammi, S., et al. (2014) DJ-1 is a copper chaperone acting on SOD1 activation, *J. Biol. Chem.*, **289**, 10887-10899, doi: 10.1074/jbc.M113.535112.
31. Yamashita, S., Mori, A., Kimura, E., Mita, S., Maeda, Y., et al. (2010) DJ-1 forms complexes with mutant SOD1 and ameliorates its toxicity, *J. Neurochem.*, **113**, 860-870, doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06658.x.
32. Ko, Y. U., Kim, S. J., Lee, J., Song, M. Y., Park, K. S., et al. (2019) Protein kinase A-induced phosphorylation at the Thr154 affects stability of DJ-1, *Parkinsonism Relat. Disord.*, **66**, 143-150, doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.07.029.
33. Tang, J., Liu, J., Li, X., Zhong, Y., Zhong, T., et al. (2014) PRAK interacts with DJ-1 and prevents oxidative stress-induced cell death, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2014**, 735618, doi: 10.1155/2014/735618.
34. Scumaci, D., Olivo, E., Fiumara, C. V., La Chimia, M., De Angelis, M. T., et al. (2020) DJ-1 proteoforms in breast cancer cells: the escape of metabolic epigenetic misregulation, *Cells*, **9**, 1968, doi: 10.3390/cells9091968.
35. Richarme, G., Mihoub, M., Dairou, J., Bui, L. C., Leger, T., and Lamouri, A. (2015) Parkinsonism-associated protein DJ-1/Park7 is a major protein deglycase that repairs methylglyoxal- and glyoxal-glycated cysteine, arginine, and lysine residues, *J. Biol. Chem.*, **290**, 1885-1897.
36. Sharma, N., Rao, S. P., and Kalivendi, S. V. (2019) The deglycase activity of DJ-1 mitigates α-synuclein glycation and aggregation in dopaminergic cells: Role of oxidative stress mediated downregulation of DJ-1 in Parkinson's disease, *Free Radic. Biol. Med.*, **135**, 28-37, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.02.014.
37. Richarme, G., Liu, C., Mihoub, M., Abdallah, J., Leger, T., et al. (2017) Guanine glycation repair by DJ-1/Park7 and its bacterial homologs, *Science*, **357**, 208-211, doi: 10.1126/science.aag1095.
38. Hayashi, T., Ishimori, C., Takahashi-Niki, K., Taira, T., Kim, Y. C., et al. (2009) DJ-1 binds to mitochondrial complex I and maintains its activity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **390**, 667-672, doi: 10.1016/j.bbrc.2009.10.025.
39. Buneeva, O., Fedchenko, V., Kopylov, A., and Medvedev, A. (2020) Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: focus on mitochondrial DNA, *Biomedicines*, **8**, E591, doi: 10.3390/biomedicines8120591.
40. Hauser, D. N., Primiani, C. T., Langston, R. G., Kumaran, R., and Cookson, M. R. (2015) The Polg mutator phenotype does not cause dopaminergic neurodegeneration in DJ-1-deficient mice, *eNeuro*, **2**, doi: 10.1523/ENEURO.0075-14.2015.
41. Chen, R., Park, H. A., Mnatsakanyan, N., Niu, Y., Licznerski, P., et al. (2019) Parkinson's disease protein DJ-1 regulates ATP synthase protein components to increase neuronal process outgrowth, *Cell Death Dis.*, **10**, 469, doi: 10.1038/s41419-019-1679-x.
42. Hao, L. Y., Giasson, B. I., and Bonini, N. M. (2010) DJ-1 is critical for mitochondrial function and rescues PINK1 loss of function, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 9747-9752.
43. Wang, X., Petrie, T. G., Liu, Y., Liu, J., Fujioka, H., and Zhu, X. (2012) Parkinson's disease-associated DJ-1 mutations impair mitochondrial dynamics and cause mitochondrial dysfunction, *J. Neurochem.*, **121**, 830-839, doi: 10.1111/j.1471-4159.2012.07734.x.
44. Björkblom, B., Maple-Grødem, J., Puno, M. R., Odell, M., Larsen, J. P., and Møller, S. G. (2014) Reactive oxygen species-mediated DJ-1 monomerization modulates intracellular trafficking involving karyopherin β2, *Mol. Cell. Biol.*, **34**, 3024-3040, doi: 10.1128/MCB.00286-14.
45. Lee, B. J., Cansizoglu, A. E., Suel, K. E., Louis, T. H., Zhang, Z., and Chook, Y. M. (2006) Rules for nuclear localization sequence recognition by karyopherin beta 2, *Cell*, **126**, 543-558, doi: 10.1016/j.cell.2006.05.049.
46. Junn, E., Taniguchi, H., Jeong, B. S., Zhao, X., Ichijo, H., and Mouradian, M. M. (2005) Interaction of DJ-1 with Daxx inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1 activity and cell death, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 9691-9696, doi: 10.1073/pnas.0409635102.
47. Takahashi, K., Taira, T., Niki, T., Seino, C., Iguchi-Ariga, S. M., and Ariga, H. (2001) DJ-1 positively regulates the

androgen receptor by impairing the binding of PIASx alpha to the receptor, *J. Biol. Chem.*, **276**, 37556-37563, doi: 10.1074/jbc.M101730200.
48. Niki, T., Takahashi-Niki, K., Taira, T., Iguchi-Ariga, S. M., and Ariga, H. (2003) DJBP: a novel DJ-1-binding protein, negatively regulates the androgen receptor by recruiting histone deacetylase complex, and DJ-1 antagonizes this inhibition by abrogation of this complex, *Mol. Cancer Res.*, **1**, 247-261.
49. Clements, C. M., McNally, R. S., Conti, B. J., Mak, T. W., and Ting, J. P. (2006) DJ-1, a cancer- and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant transcriptional master regulator Nrf2, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 15091-15096, doi: 10.1073/pnas.0607260103.
50. Shinbo, Y., Taira, T., Niki, T., Iguchi-Ariga, S. M., and Ariga, H. (2005) DJ-1 restores p53 transcription activity inhibited by Topors/p53BP3, *Int. J. Oncol.*, **26**, 641-648, doi: 10.3892/ijo.26.3.641.
51. Kato, I., Maita, H., Takahashi-Niki, K., Saito, Y., Noguchi, N., et al. (2013) Oxidized DJ-1 inhibits p53 by sequestering p53 from promoters in a DNA-binding affinity-dependent manner, *Mol. Cell. Biol.*, **33**, 340-359, doi: 10.1128/MCB.01350-12.
52. Zhong, N., Kim, C. Y., Rizzu, P., Geula, C., Porter, D. R., et al. (2006) DJ-1 transcriptionally up-regulates the human tyrosine hydroxylase by inhibiting the sumoylation of pyrimidine tractbinding protein-associated splicing factor, *J. Biol. Chem.*, **281**, 20940-20948, doi: 10.1074/jbc.M601935200.
53. Ishikawa, S., Taira, T., Takahashi-Niki, K., Niki, T., Ariga, H., and Iguchi-Ariga, S. M. (2010) Human DJ-1-specific transcriptional activation of tyrosine hydroxylase gene, *J. Biol. Chem.*, **285**, 39718-39731, doi: 10.1074/jbc.M110.137034.
54. Zondler, L., Miller-Fleming, L., Repici, M., Goncalves, S., Tenreiro, S., et al. (2014) DJ-1 interactions with alphasynuclein attenuate aggregation and cellular toxicity in models of Parkinson's disease, *Cell Death Dis.*, **5**, e1350, doi: 10.1038/cddis.2014.307.
55. Xu, C. Y., Kang, W. Y., Chen, Y. M., Jiang, T. F., Zhang, J., et al. (2017) DJ-1 Inhibits alpha-synuclein aggregation by regulating chaperone-mediated autophagy, *Front. Aging Neurosci.*, **9**, 308, doi: 10.3389/fnagi.2017.00308.
56. Wang, X., Williams, D., Müller, I., Lemieux, M., Dukart, R., et al. (2019) Tau interactome analyses in CRISPR-Cas9 engineered neuronal cells reveal ATPase-dependent binding of wild-type but not P301L Tau to non-muscle myosins, *Sci. Rep.*, **9**, 16238.
57. Tang, B., Xiong, H., Sun, P., Zhang, Y., Wang, D., et al. (2006) Association of PINK1 and DJ-1 confers digenic inheritance of early-onset Parkinson's disease, *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 1816-1825.
58. Vasseur, S., Afzal, S., Tardivel-Lacombe, J., Park, D. S., Iovanna, J. L., and Mak, T. W. (2009) DJ-1/PARK7 is an important mediator of hypoxia-induced cellular responses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 1111-1116.
59. Im, J. Y., Lee, K. W., Junn, E., and Mouradian, M. M. (2010) DJ-1 protects against oxidative damage by regulating the thioredoxin/ASK1 complex, *Neurosci. Res.*, **67**, 203-208, doi: 10.1016/j.neures.2010.04.002.
60. Im, J. Y., Lee, K. W., Woo, J. M., Junn, E., and Mouradian, M. M. (2012) DJ-1 induces thioredoxin 1 expression through the Nrf2 pathway, *Hum. Mol. Genet.*, **21**, 3013-3024, doi: 10.1093/hmg/dds131.
61. Wang, Z., Liu, J., Chen, S., Wang, Y., Cao, L., et al. (2011) DJ-1 modulates the expression of Cu/Zn-superoxide dismutase-1 through the Erk1/2-Elk1 pathway in neuroprotection, *Ann. Neurol.*, **70**, 591-599, doi: 10.1002/ana.22514.
62. Waak, J., Weber, S. S., Görner, K., Schall, C., Ichijo, H., et al. (2009) Oxidizable residues mediating protein stability and cytoprotective interaction of DJ-1 with apoptosis signal-regulating kinase 1, *J. Biol. Chem.*, **284**, 14245-14257, doi: 10.1074/jbc.M806902200.
63. Mo, J.-S., Jung, J., Yoon, J.-H., Hong, J.-A., Kim, M.-Y., et al. (2010) DJ-1 modulates the p38 mitogen-activated protein kinase pathway through physical interaction with apoptosis signal-regulating kinase 1, *J. Cell. Biochem.*, **110**, 229-237, doi: 10.1002/jcb.22530.
64. Cao, J., Ying, M., Xie, N., Lin, G., Dong, R., et al. (2014) The oxidation states of DJ-1 dictate the cell fate in response to oxidative stress triggered by 4-HPR: autophagy or apoptosis? *Antioxid. Redox Signal.*, **21**, 1443-1459, doi: 10.1089/ars.2013.5446.
65. Kim, Y. C., Kitaura, H., Taira, T., Iguchi-Ariga, S. M., and Ariga, H. (2009) Oxidation of DJ-1-dependent cell transformation through direct binding of DJ-1 to PTEN, *Int. J. Oncol.*, **35**, 1331-1341.
66. Choi, M. S., Nakamura, T., Cho, S.-J., Han, X., Holland, E. A., et al. (2014) Transnitrosylation from DJ-1 to PTEN attenuates neuronal cell death in parkinson's disease models, *J. Neurosci.*, **34**, 15123-15131, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4751-13.
67. Zucchelli, S., Vilotti, S., Calligaris, R., Lavina, Z. S., Biagioli, M., et al. (2009) Aggresome-forming TTRAP mediates pro-apoptotic properties of Parkinson's disease-associated DJ-1 missense mutations, *Cell Death Differ.*, **16**, 428-438, doi: 10.1038/cdd.2008.169.
68. McNally, R. S., Davis, B. K., Clements, C. M., Accavitti-Loper, M. A., Mak, T. W., and Ting, J. P. (2011) DJ-1 enhances cell survival through the binding of Cezanne, a negative regulator of NF-kappaB, *J. Biol. Chem.*, **286**, 4098-4106.
69. Zhang, S., Mukherjee, S., Fan, X., Salameh, A., Mujoo, K., et al. (2016) Novel association of DJ-1 with HER3 potentiates HER3 activation and signaling in cancer, *Oncotarget*, **7**, 65758-65769, doi: 10.18632/oncotarget.11613.
70. Cookson, M. R. (2005) The biochemistry of Parkinson's disease, *Annu. Rev. Biochem.*, **74**, 9-52.
71. Mingazov, E. R., Khakimova, G. R., Kozina, E. A., Medvedev, A. E., Buneeva, O. A., et al. (2018) MPTP mouse model of preclinical and clinical Parkinson's disease as an instrument for translational medicine, *Mol. Neurobiol.*, **55**, 2991-3006, doi: 10.1007/s12035-017-0559-6.
72. Zhou, Y., Zhao, Z. Q., and Xie, J. X. (2001) Effect of isatin on rotational behavior and DA levels in caudate putamen in Parkinsonian rats, *Brain Res.*, **917**, 127-132.
73. Hamaue, N., Minami, M., Terado, M., Hirafuji, M., Endo, T., et al. (2004) Comparative study of the effects of isatin, an endogenous MAO-inhibitor, and selegiline on bradykinesia and dopamine levels in a rat model of Parkinson's disease induced by the Japanese Encephalitis virus, *Neurotoxicology*, **25**, 205-213.
74. Medvedev, A. E., Buneeva, O. A., Kopylov, A. T., Tikhonova, O. V., Medvedeva, M. V., et al. (2017) The brain mitochondrial subproteome of RPN10-binding proteins and its changes induced by the neurotoxin MPTP and the neuroprotector isatin, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 330-339.
75. Sun, Y., Wang, Y., Zhao, X., and Pu, X. (2018) Nuclear translocation of DJ-1 protects adult neuronal stem cells in

an MPTP mouse model of Parkinson's disease, *NeuroReport*, **29**, 301-307.
76. Paterna, J. C., Leng, A., Weber, E., Feldon, J., and Büeler, H. (2007) DJ-1 and Parkin modulate dopamine-dependent behavior and inhibit MPTP-induced nigral dopamine neuron loss in mice, *Mol. Ther.*, **15**, 698-704, doi: 10.1038/sj.mt.6300067.
77. Kim, R. H., Smith, P. D., Aleyasin, H., Hayley, S., Mount, M. P., et al. (2005) Hypersensitivity of DJ-1-deficient mice to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyrindine (MPTP) and oxidative stress, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 5215-5220.
78. Goldberg, M. S., Pisani, A., Haburcak, M., Vortherms, T. A., Kitada, T., et al. (2005) Nigrostriatal dopaminergic deficits and hypokinesia caused by inactivation of the familial parkinsonism-linked gene DJ-1, *Neuron*, **45**, 489-496, doi: 10.1016/j.neuron.2005.01.041.
79. Zhang, Y., Li, Y., Han, X., Dong, X., Yan, X., and Xing, Q. (2018) Elevated expression of DJ-1 (encoded by the human PARK7 gene) protects neuronal cells from sevoflurane-induced neurotoxicity, *Cell Stress Chaperones*, **23**, 967-974.
80. Cannon, J. R., Tapias, V., Na, H. M., Honick, A. S., Drolet, R. E., and Greenamyre, J. T. (2009) A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease, *Neurobiol. Dis.*, **34**, 279-290.
81. Sanders, L. H., McCoy, J., Hu, X., Mastroberardino, P. G., Dickinson, B. C., et al. (2014) Mitochondrial DNA damage: Molecular marker of vulnerable nigral neurons in Parkinson's disease, *Neurobiol. Dis.*, **70**, 214-223.
82. Heinz, S., Freyberger, A., Lawrenz, B., Schladt, L., Schmuck, G., and Ellinger-Ziegelbauer, H. (2017) Mechanistic investigations of the mitochondrial complex I inhibitor rotenone in the context of pharmacological and safety evaluation, *Sci. Rep.*, **7**, 45465.
83. Michel, H. E., Tadros, M. G., Esmat, A., Khalifa, A. E., and Abdel-Tawab, A. M. (2017) Tetramethylpyrazine ameliorates rotenone-induced Parkinson's disease in rats: involvement of its anti-inflammatory and anti-apoptotic actions, *Mol. Neurobiol.*, **54**, 4866-4878.
84. De Miranda, B. R., Rocha, E. M., Bai, Q., El Ayadi, A., Hinkle, D., et al. (2018) Astrocyte-specific DJ-1 overexpression protects against rotenone-induced neurotoxicity in a rat model of Parkinson's disease, *Neurobiol. Disease*, **115**, 101-114.
85. Liu, F., Nguyen, J. L., Hulleman, J. D., Li, L., and Rochet, J. C. (2008) Mechanisms of DJ-1 neuroprotection in a cellular model of Parkinson's disease, *J. Neurochem.*, **105**, 2435-2453, doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05333.x.
86. Simola, N., Morelli, M., and Carta, A. R. (2007) The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease, *Neurotoxicity Res.*, **11**, 151-167.
87. Lev, N., Barhum, Y., Ben-Zur, T., Melamed, E., Steiner, I., and Offen, D. (2013) Knocking out DJ-1 attenuates astrocytes neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity, *J. Mol. Neurosci.*, **50**, 542-550.
88. Miyama, A., Saito, Y., Yamanaka, K., Hayashi, K., Hamakubo, T., and Noguchi, N. (2011) Oxidation of DJ-1 induced by 6-hydroxydopamine decreasing intracellular glutathione, *PLoS One*, **6**, e27883, doi: 10.1371/journal.pone.0027883.
89. Yanagida, T., Takata, K., Inden, M., Kitamura, Y., Taniguchi, T., et al. (2006) Distribution of DJ-1, Parkinson's disease-related protein PARK7, and its alteration in 6-hydroxydopamine-treated hemiparkinsonian rat brain, *J. Pharmacol. Sci.*, **102**, 243-247, doi: 10.1254/jphs.sc0060098.
90. Kim, S. J., Park, Y. J., and Oh, Y. J. (2012) Proteomic analysis reveals a protective role for DJ-1 during 6-hydroxydopamine-induced cell death, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **422**, 8-14, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.04.063.
91. Batelli, S., Invernizzi, R. W., Negro, A., Calcagno, E., Rodilossi, S., et al. (2015) The Parkinson's disease-related protein DJ-1 protects dopaminergic neurons *in vivo* and cultured cells from alpha-synuclein and 6-hydroxydopamine toxicity, *Neurodegener. Dis.*, **15**, 13-23.
92. Lev, N., Barhum, Y., Ben-Zur, T., Aharony, I., Trifonov, L., et al. (2015) A DJ-1 based peptide attenuates dopaminergic degeneration in mice models of Parkinson's disease via enhancing Nrf2, *PLoS One*, **10**, e0127549, doi: 10.1371/journal.pone.0127549.
93. Miyazaki, S., Yanagida, T., Nunome, K., Ishikawa, S., Inden, M., et al. (2008) DJ-1-binding compounds prevent oxidative stress-induced cell death and movement defect in Parkinson's disease model rats, *J. Neurochem.*, **105**, 2418-2434.
94. Yanagisawa, D., Kitamura, Y., Inden, M., Takata, K., Taniguchi, T., et al. (2008) DJ-1 protects against neurodegeneration caused by focal cerebral ischemia and reperfusion in rats, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **28**, 563-578.
95. Yamane, K., Kitamura, Y., Yanagida, T., Takata, K., Yanagisawa, D., et al. (2009) Oxidative neurodegeneration is prevented by UCP0045037, an allosteric modulator for the reduced form of DJ-1, a wild-type of familial Parkinson's disease-linked PARK7, *Int. J. Mol. Sci.*, **10**, 4789-4804, doi: 10.3390/ijms10114789.
96. Takahashi-Niki, K., Inafune, A., Michitani, N., Hatakeyama, Y., Suzuki, K., et al. (2015) DJ-1-dependent protective activity of DJ-1-binding compound no. 23 against neuronal cell death in MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease, *J. Pharmacol. Sci.*, **127**, 305-310, doi: 10.1016/j.jphs.2015.01.010.
97. Tashiro, S., Caaveiro, J., Nakakido, M., Tanabe, A., Nagatoishi, S., et al. (2018) Discovery and optimization of inhibitors of the Parkinson's disease associated protein DJ-1, *ACS Chem. Biol.*, **13**, 2783-2793, doi: 10.1021/acschembio.8b00701.
98. Medvedev, A., Buneeva, O., Gnedenko, O., Ershov, P., and Ivanov, A. (2018) Isatin, an endogenous nonpeptide biofactor: a review of its molecular targets, mechanisms of actions, and their biomedical implications, *Biofactors*, **44**, 95-108, doi: 10.1002/biof.1408.
99. Medvedev, A., Kopylov, A., Buneeva, O., Kurbatov, L., Tikhonova, O., et al. (2020) A neuroprotective dose of isatin causes multilevel changes involving the brain proteome: prospects for further research, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 4187, doi: 10.3390/ijms21114187.
100. Medvedev, A., Buneeva, O., Gnedenko, O., Fedchenko, V., Medvedeva, M., et al. (2006) Isatin interaction with glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, a putative target of neuroprotective drugs: partial agonism with deprenyl, *J. Neural Transm. Suppl.*, **71**, 195-203.
101. Buneeva, O. A., Kapitsa, I. G., Ivanova, E. A., Kopylov, A. T., Zgoda, V. G., and Medvedev, A. E. (2020) The effect of a neuroprotective dose of isatin or deprenyl to mice on the profile of brain isatin-binding proteins, *Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. B Biomed. Chem.*, **14**, 116-126.
102. Drechsel, J., Mandl, F. A., and Sieber, S. A. (2018) Chemical probe to monitor the parkinsonism-associated protein DJ-1 in live cells, *ACS Chem. Biol.*, **13**, 2016-2019.

DJ-1 PROTEIN AND ITS ROLE IN THE DEVELOPMENT OF PARKINSON'S DISEASE: STUDIES ON EXPERIMENTAL MODELS

Review

O. A. Buneeva and A. E. Medvedev*

Institute of Biomedical Chemistry, 119121 Moscow, Russia; E-mail: professor57@yandex.ru

DJ-1, also known as Parkinson's disease protein 7, is a multifunctional protein ubiquitously expressed in cells and tissues. Interacting with proteins of various intracellular compartments, DJ-1 plays an important role in maintaining different cellular functions. Mutant DJ-1 forms containing amino acid substitutions (especially L166P), typical of Parkinson's disease, are characterized by impaired dimerization, stability, and folding. DJ-1 exhibits several types of catalytic activity; however, in the enzyme classification it exists as protein deglycase (EC 3.5.1.124). Apparently, in different cell compartments DJ-1 exhibits catalytic and non-catalytic functions, and their ratio still remains unknown. Oxidative stress promotes dissociation of cytoplasmic DJ-1 dimers into monomers, which are translocated to the nucleus, where this protein acts as a coactivator of various signaling pathways, preventing cell death. In mitochondria, DJ-1 is found in the synthasome, where it interacts with the β ATP synthase subunit. Downregulation of the *DJ-1* gene under conditions of experimental PD increases sensitivity of the cells to neurotoxins, and introduction of the recombinant DJ-1 protein attenuates manifestation of this pathology. The thirteen-membered fragment of the DJ-1 amino acid sequence attached to the heptapeptide of the TAT protein penetrating into the cells exhibited neuroprotective properties in various PD models both in cell cultures and after administration to animals. Low molecular weight DJ-1 ligands also demonstrate therapeutic potential, providing neuroprotective effects seen during their incubation with cells and administration to animals.

Keywords: DJ-1 protein, structure and function, catalytic activity, pathogenic mutations, Parkinson's disease, experimental models, DJ-1 ligands