

Saccharomyces cerevisiae TSA1의 보존된 아스파르트산 잔기 및 세린 잔기의 변이가 과산화효소 활성 및 샤페론 활성에 미치는 영향

이승미¹, 조은이², 김강화^{3*}

¹동신대학교 식품영양학과

²아주대학교 약학대학

³전남대학교 식품영양학과

Received: February 15, 2017 / Revised: March 7, 2017 / Accepted: March 9, 2017

Effects of Mutation at Two Conserved Aspartate Residues and a Serine Residue on Functions of Yeast TSA 1

Songmi Lee¹, Eun Yi Cho², and Kanghwa Kim^{3*}

¹Department of Food and Nutrition, Dongshin University, Chonnam 58245, Republic of Korea

²College of Pharmacy, Ajou University, Suwon 16499, Republic of Korea

³Department of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju 61186, Republic of Korea

Alignment of 967 reference sequences of the typical 2-Cys peroxiredoxin family of proteins revealed that 10 amino acids were conserved, with over 99% identity. To investigate whether the conserved aspartic acid residues and serine residue affect the peroxidase and chaperone activity of the protein, we prepared yeast TSA1 mutant proteins in which aspartic acids at positions 75 and 103 were replaced by valine or asparagine, and serine at position 73 was replaced by alanine. By non-reducing SDS-PAGE, TSA1 and the S73A, D75V and D75N mutants were detected in dimeric form, whereas the D103V and D103N mutants were detected in various forms, ranging from high molecular-weight to monomeric. Compared with wild type TSA1, the D75N mutant exhibited 50% thioredoxin peroxidase activity, and the S73A and D75V mutants showed 25% activity. However, the D103V and D103N mutants showed no peroxidase activity. All proteins, except for the D103V and D103N mutants, exhibited chaperone activity at 43°C. Our results suggest that the two conserved aspartic acid residues and serine residue of TSA1 play important roles in its thioredoxin peroxidase activity, and D103 plays a critical role in its chaperone activity.

Keywords: Peroxiredoxin, TSA1, chaperone, aspartate 75, aspartate 103, serine 73

서론

호기성 환경에서 필연적으로 발생하는 세포 내 활성산소종을 제거하기 위해 모든 호기성 생물은 효소적 또는 비효소적 항산화물질을 가지고 있다. 과산화물 음이온은 슈퍼옥사이드 디스무테이스(superoxide dismutase), 슈퍼옥사이드 환원효소(superoxide reductase)에 의해 제거되고, 과산화수소는 카탈라아제(catalase), 글루타치온 과산화효소(glutathione peroxidase, GPx), 퍼옥시레독신(peroxiredoxin, Prx), 아스

코르브산 과산화효소 및 사이토크롬 C 과산화효소에 의해 제거된다. 그리고 아스코르브산(vitamin C)과 비타민 E는 비효소적 항산화제로 역할을 한다[1].

퍼옥시레독신은 대부분 살아있는 생물에서 발견되며 포유류 세포는 적어도 여섯 종류의 퍼옥시레독신 동위효소를 가지고 있다. 퍼옥시레독신은 NADPH, 티오레독신 환원효소, 티오레독신으로 구성된 티오레독신 시스템으로부터 환원력을 얻어 과산화물을 환원시킨다. 촉매 메커니즘에 기초하여 퍼옥시레독신을 정형 2-Cys 퍼옥시레독신(typical 2-Cys Prx), 비정형 2-Cys 퍼옥시레독신(atypical 2-Cys Prx) 및 1-Cys Prx의 3가지 그룹으로 분리할 수 있다. 정형 2-Cys Prxs (Prx I-IV)는 아미노말단에 과산화물과 직접 반응하여 촉매 활성에 필수적인 시스테인 잔기(peroxidatic cysteine)와, 아

*Corresponding author

Tel: +82-62-530-1334, Fax: +82-62-530-1339

E-mail: kimkh@jnu.ac.kr

© 2017, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

미노말단 시스테인 잔기를 재생시켜 주는 카복시말단 부위의 시스테인 잔기(resolving cysteine)를 가지고 있다. 촉매 과정 중 아미노말단 시스테인은 과산화물과 반응하여 술펜산으로 환원되고, 다른 퍼옥시레독신의 카복시말단 부위의 시스테인 잔기와 분자 사이 이황화 결합을 형성하게 되며 이는 티오레독신 시스템에 의해 환원된다. 술펜산으로 환원된 비정형 2-Cys Prx (Prx V)의 아미노말단 시스테인은 동일 소단위체의 카복시말단 부위의 시스테인 잔기와 분자 내 이황화결합을 형성하며 이는 티오레독신에 의해 환원된다. 반면에 1-Cys Prx (Prx VI)은 술펜산을 형성하며 황화합물에 의해 환원될 수 있는 하나의 촉매 시스테인 잔기를 가지고 있다[1-10].

일부 2-Cys 퍼옥시레독신은 퍼옥시다아제 활성뿐만 아니라 분자 샤페론으로 기능을 한다고 보고하였다[11]. 샤페론 단백질은 단백질 합성 시 정상적인 구조를 유지할 수 있도록 올바른 접힘을 도와주는 기능을 한다[12-14]. 그리고 분자 샤페론 단백질은 올바른 접힘이 이루어지지 않거나, 접힘 구조를 유지하지 못한 미성숙한 경우, 단백질이 변형에 의해 접힘 구조가 풀린 경우 및 세포 내 이동을 위해 단백질의 구조가 풀어진 경우 불안정한 구조의 단백질과 반응하여 단백질의 응집을 방지하고 올바른 구조를 유지할 수 있게 도와주는 기능을 하는 것으로 보고되었다[15-17].

많은 종류의 퍼옥시레독신에서 촉매활성에 필수적인 시스테인 잔기와 그 주위의 아미노산에 관한 기능적 특성에 대해서는 잘 알려져 있다[18]. 정형 2-Cys Prx에 속하는 퍼옥시레독신의 아미노산 서열을 정렬하였을 때 시스테인 잔기 이외에 잘 보존되어 있는 아스파르트산 잔기와 세린잔기를 확인하였다. 지금까지 이 잔기에 대해서는 거의 알려지지 않았다. TSA1은 효모 *Saccharomyces cerevisiae*에서 최초로 발견된 퍼옥시레독신으로 정형 2-Cys Prx에 속한다[19]. 본 연구에서는 TSA1의 퍼옥시레독신과 분자 샤페론의 기능에 있어 아스파르트산 잔기와 세린 잔기가 어떤 역할을 하는지에 대해 알아보려고 한다.

재료 및 방법

2-Cys 퍼옥시레독신군 단백질 서열 정렬

아미노산 서열자료는 NCBI의 PubMed Protein 중 퍼옥시레독신 참고서열(reference sequence)을 검색하여 정형 2-Cys Prx를 선택하였고, CLUSTAL W 프로그램(<http://www.genome.jp/tools/clustalw/>)을 이용하여 서열 정렬하여 보존된 잔기를 조사하였다.

유전자 클로닝 및 발현

TSA1에 해당하는 DNA는 효모 cDNA를 주형으로 하여

PCR법에 의해 제조하였다. 아미노말단의 프라이머는 *Nde* I 제한효소 자리(밑줄)와 개시코돈을 도입한 5'-AAACATATG GTCGCTCAAGTTCAAAAGCAAGCT-3'을 사용하였고, 카복시말단의 프라이머는 종결코돈과 *Bam*H I 제한효소 자리(밑줄)를 도입한 5'-GGATCCTTATTTGTTGGCAGCTTCAAGTATTC-3'을 사용하였다. 세린을 알라닌, 아스파르트산을 발린과 아스파라진으로 변이시킨 TSA1 변이 단백질을 (S73A, D75V, D75N, D103V 및 D103N) 제조를 위해 TSA1의 플라스미드를 주형으로 하여 각 잔기를 변이시킨 프라이머를 이용하여 1차 PCR 한 후, PCR 산물을 주형으로 아미노말단과 카복시말단 프라이머를 가하여 2차 PCR을 하여 변이 단백질 유전자를 제조하였다. 1차 및 2차 PCR은 효모 cDNA 100 ng, 각 20 pmole의 프라이머와 5X Taq-PCR Mix (Genotech Ltd)을 넣어주고 반응시켰다. 얻어진 PCR 산물은 pCR 2.1 vector에 삽입하였으며 한국기초과학연구소 광주분원에 의뢰하여 염기서열 분석하여 확인하였다. *Nde* I 과 *Bam*H I 제한효소로 처리한 TSA1 및 변이 단백질 유전자를 대장균 발현벡터 pET 14b에 도입하였으며 BL21(DE3) 대장균 발현 시스템에 형질도입하였다.

재조합 단백질의 정제

TSA1 단백질을 정제하기 위해 LB 배지에 발현이 확인된 콜로니를 배양하여 1 mM isopropyl-1-thio-D-galactoside (IPTG)로 단백질 발현을 유도하여 균체를 수확하였다.

초음파 분쇄기를 이용하여 파쇄한 His-tag TSA1와 His-tag 돌연변이 단백질을 포함한 초추출물을 Ni-NTA chelating agarose CL-6B관에 주입하고 300 mM imidazole 완충용액 (pH 8.0)으로 용출시켜 분획하였다. SDS-PAGE로 분석하여 목적 단백질을 포함하는 분획들을 모았으며 사용 시까지 -70°C에 보관하였다.

과산화효소 활성 측정

티오레독신 의존성 과산화효소 활성은 과산화효소 반응에 의하여 산화된 티오레독신이 티오레독신 환원효소에 의해 다시 환원될 때 NADPH가 산화되는 속도를 기준으로 측정하였다. 0.2 mM NADPH, 6 μM 티오레독신, 0.3 μM 티오레독신 환원효소, 1 μM의 각각 단백질 시료, 50 mM HEPES 완충용액(pH 7.0)을 포함하는 0.5 ml의 반응용액을 30°C가 되도록 예열한 후, 과산화수소를 1 mM이 되도록 가하고 반응을 시작하여 분광광도계(U2800 UV-Vis Double Beam Spectrophotometer, Hitachi, Japan)를 이용하여 340 nm에서 NADPH의 흡광도 감소를 측정하였다[20, 21].

샤페론 활성 측정

열변성에 의한 단백질의 응집을 막는 샤페론 활성은

Schizosaccharomyces pombe 구연산 생성효소(citrate synthase, CS)를 사용하여 43°C에서 단백질의 응집으로 인한 빛의 산란 증가를 억제하는 활성으로 측정하였다. 시트르산 생성효소 1 µM을 포함하는 50 mM HEPES 완충용액(pH 7.0)에 단백질 시료를 가하고 분광광도계를 이용하여 43°C를 유지하면서 시간의 흐름에 따른 360 nm에서 빛의 산란 정도를 측정하였다[22].

결과 및 고찰

정형 2-Cys Prx군에 속하는 퍼옥시레독신 참고서열 1,024개 중 부분적인 서열 등을 제외한 967개 서열을 정렬하였을 때 99% 이상 보존된 잔기는 모두 10개였다(Fig. 1A). 여기에는 퍼옥시레독신 촉매 활성에 필요한 아미노말단 및 카복시말단 쪽의 시스테인 잔기(이하 효모 TSA1의 아미노산 잔기 위치, Cys48 및 Cys169)와 효소 활성에 가장 중요한 잔기인 Cys48 주변의 두 개의 프롤린 잔기(Pro41 및 Pro49), 두 개의 트레오닌/세린 잔기(Thr45, Thr50), 그리고 글루타민산 잔기(Glu51)가 있었고, 보존된 두 시스테인 잔기 사이에 두 개의 아스파르트산 잔기(Asp75, Asp103)과 카복시말단 쪽의 두 개의 아르기닌 잔기(Arg124, Arg154)가 있었다(Fig. 1B).

Cys48, Pro41, Thr45와 Arg124 잔기는 정형 2-Cys Prx군 뿐만 아니라 모든 퍼옥시레독신에 잘 보존된 것으로 알려졌다. 촉매 활성에 필요한 아미노 말단의 시스테인 잔기는 잘 보존되어 있는 Pro41, Thr45 및 Arg124에 의해 둘러싸여 있다. 용매와 과산화물은 Pro41의 피롤리딘 고리에 의해 접근 가능성이 제한되어 과산화물에 의한 초과산화(overoxidation)를 막아준다. Thr45는 아미노 말단의 시스테인 잔기와 3.0 Å의 짧은 수소 결합을 이루고 있어 양성자 공

여에 유리하다. Arg124의 염기성 구아니딘 그룹의 질소원자와 아미노 말단 시스테인의 황 원자간의 거리가 7.4 Å으로 비교적 가깝게 위치하고 있어 활성 자리 시스테인의 pKa 값을 낮추어 이온화 양상을 안정되게 한다고 보고되었다[4, 23-25].

Asp75와 Asp103 잔기는 각각 100%, 99.7% 보존되고 있음을 확인하였고 Ser73은 97% 보존되었다. 사람 Prx의 결정구조 연구에 의하면 75 및 103의 아스파르트산 잔기는 이량체가 모여 만들어지는 십량체 구조에서 이량체와 이량체의 접촉면에 존재하며 활성자리로부터 14 Å 정도 떨어져 있음을 보고하였다[26].

지금까지 정형 2-Cys Prx군에 속하는 퍼옥시레독신에 잘 보존되어 있으나 전혀 연구되지 않은 아스파르트산 잔기와 세린 잔기의 기능을 알아보기 위해 발린 및 아스파라진으로 치환하여 음이온이 활성에 미치는 영향을 살펴보고, 세린을 알라닌으로 치환하여 아스파르트산과 세린이 효모 TSA1의 퍼옥시다아제 활성 및 샤페론 활성에 미치는 영향을 살펴보았다.

재조합 효모 TSA1과 변이 단백질의 정제

아스파르트산의 음전하의 중요성을 알아보기 위해 75번 및 103번 아스파르트산 잔기를 아스파라진으로 치환시킨 D75N와 D103N과, 아스파르트산의 극성의 중요성을 알아보기 위해 발린으로 치환시킨 D75V와 D103V 단백질을 준비하였다. 세린 잔기의 수산기의 기능을 알아보기 위해 세린은 알라닌으로 대체하였다.

정제된 재조합 TSA1과 변이 단백질을 SDS-PAGE로 분석하였다. 환원조건에서 TSA1과 모든 변이단백질은 23 kDa의 단일체 형태로 나타났다(Fig. 2A). D103 변이 단백질의 경우 다른 변이단백질에 비해 이동이 약간 늦은 위치에서 나타났다는데 이는 C48 변이 단백질의 이동이 늦게 나타난 것을

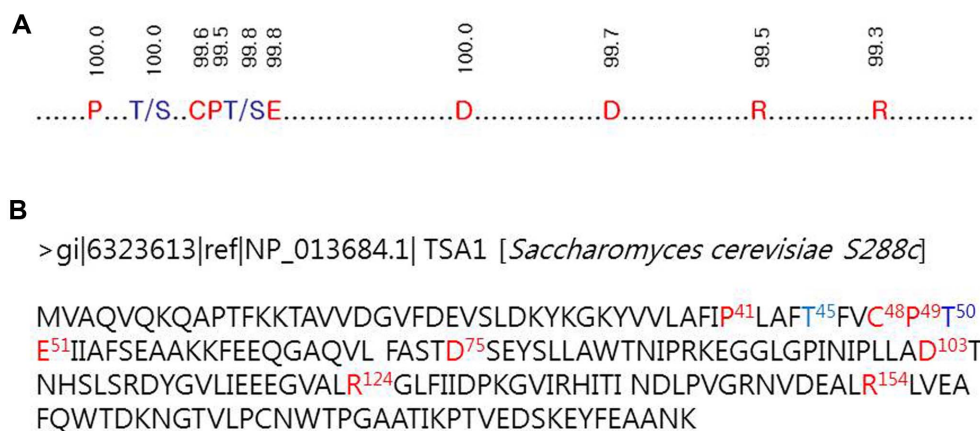


Fig. 1. The highly conserved amino acid residues for Prx_Typ2cys group (A) and amino acid sequence of *Saccharomyces cerevisiae* TSA1 (B).

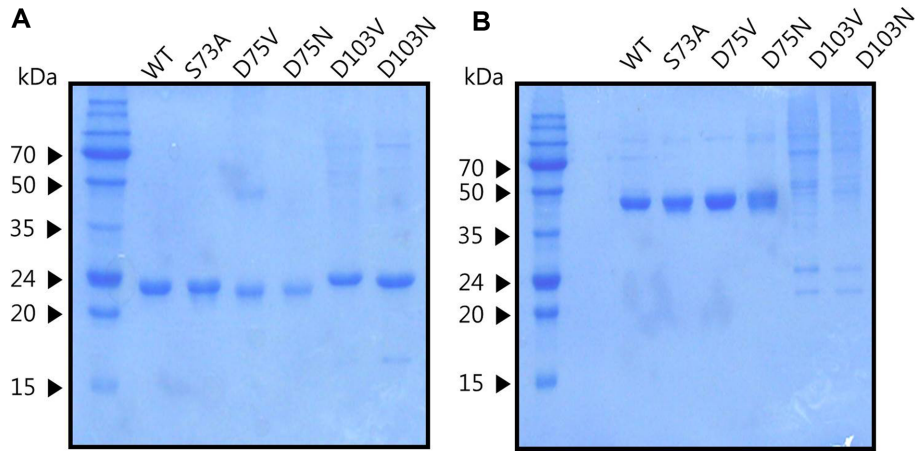


Fig. 2. Analysis of purified yeast TSA1 and mutant proteins by SDS-PAGE. The purified proteins were separated by 12% reducing SDS-PAGE (A) and 12% non-reducing SDS-PAGE (B). Coomassie brilliant blue R-250 was used to visualize protein bands.

보고한 경우와 비슷한 결과였다[27]. 비환원 조건에서 전기영동 하였을 때 S73A, D75V와 D75N은 TSA1과 동일하게 이량체 형태로 나타났고, D103V와 D103N은 소량의 단량체 및 이량체를 포함하여 매우 다양한 형태로 나타났다(Fig. 2B). 이 결과 73번의 세린 잔기와 75번의 아스파르트산 잔기는 단량체 간의 이황화 결합 형성에 영향을 미치지 않는 것으로 보여지며, 103번의 아스파르트산 잔기는 비정상적인 이황화 결합을 형성함을 추정할 수 있었다. 103번의 아스파르트산 잔기 변이 단백질의 경우 정제과정에서 70% 이상 불용성 단백질로 생성되었는데 이는 103번 변이 단백질의 비정상적 이황화 결합에 의한 응집 때문일 것으로 생각된다.

티오레독신 퍼옥시다제 활성

TSA1는 티오레독신, 티오레독신 환원효소, NADPH로 구성된 티오레독신 시스템의 환원력을 이용하여 과산화물을 제거하는 활성을 가지고 있다. 잘 보존된 아미노산이 티오레독신 퍼옥시다제 활성에 미치는 영향을 살펴보았다.

TSA1과 비교하였을 때 D75N는 50%의 활성도, S73A와 D75V는 25%의 활성도를 나타냈으며, D103V과 D103N는 티오레독신 퍼옥시다제 활성을 보이지 않았다(Fig. 3). 티오레독신 퍼옥시다제의 활성에 있어 75번 아스파르트산의 음전하 및 극성 잔기가 요구됨을 확인하였고 103번 아스파르트산의 경우 음전하가 활성에 중요한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 변이 단백질의 낮은 활성이 과산화수소 혹은 티오레독신과의 기질 친화력 차이에 의한 것인지 최대반응속도 변화에 의한 것인지는 추후 연구가 필요하다.

분자 샤페론 활성

분자 샤페론 활성에 있어 잘 보존된 잔기의 영향을 알아

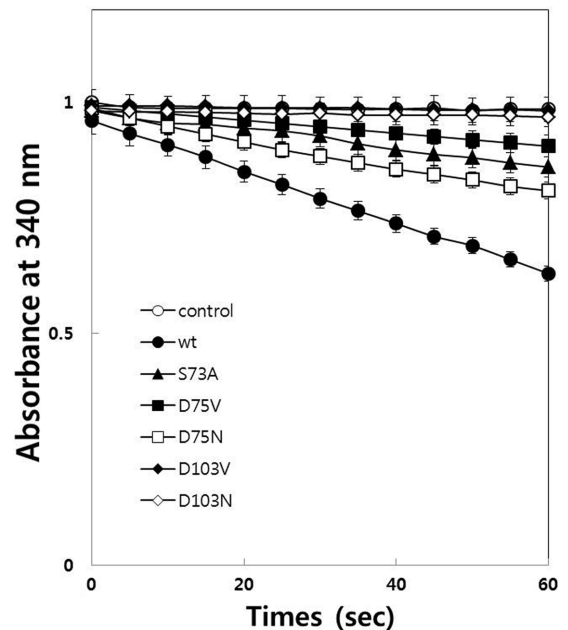


Fig. 3. Trx-dependent peroxidase activity of purified yeast TSA1 and mutant proteins. Trx-dependent peroxidase activity was measured by the oxidation of NADPH. Assay mixture contained 0.2 mM NADPH, 1 μM yeast TSA1 (●), mutant proteins ((S73A (▲), D75V (■), D75N (□), D103V (◆) and D103N (◇)), 6 μM Trx, 0.3 μM TR, and 1 mM H₂O₂.

보기 위해 43°C에서 시트르산 합성효소의 열변성에 의한 응집을 방어하는 활성도를 측정하였다. TSA1 및 변이 단백질과 시트르산 합성효소의 비율을 4:1로 반응시켰을 때 D75V는 TSA1와 같은 정도 활성을 보였고, S73A와 D75N는 TSA1보다 활성도가 좋았으며, D103V와 D103N은 TSA1과

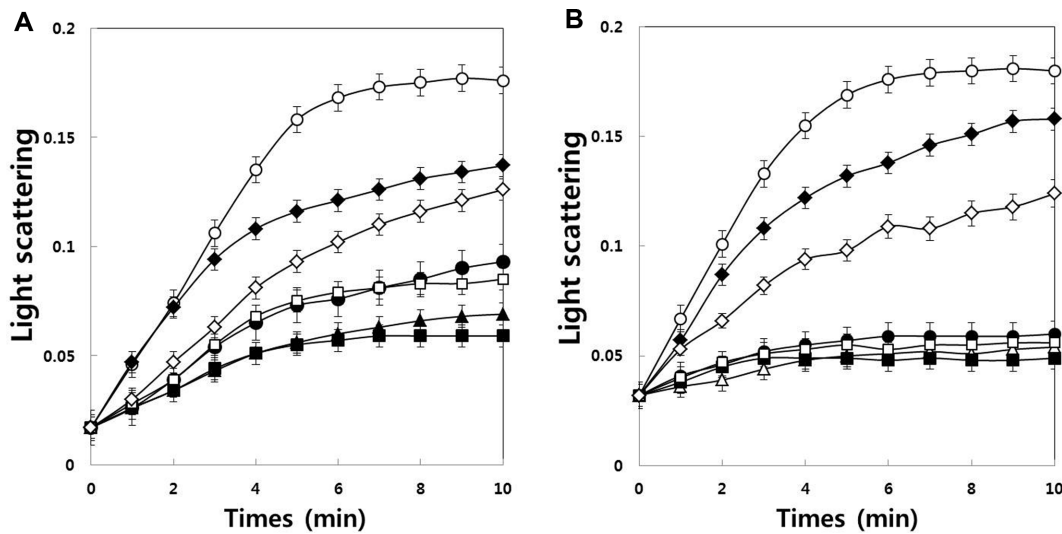


Fig. 4. Molecular chaperone activity of purified yeast TSA1 and mutant proteins. Chaperone activity of yeast TSA1 and mutant proteins was measured to protect thermal aggregation of citrate synthase in 50 mM HEPES-NaOH (pH 7.0) at 43 °C. Substrate aggregation was monitored by measuring light scattering at 360 nm. Chaperone activity was measured in the absence (○) or presence of TSA1 (●) and mutant proteins (S73A (▲), D75V (■), D75N (□), D103V (◆) and D103N (◇)) at subunit molar ratios of TSA1 to citrate synthase of 4:1 (A) and 8:1 (B).

비교할 때 50%의 활성을 나타내었다(Fig. 4A).

효모 TSA1에 의존적인 분자 샤페론 활성을 살펴보기 위해 TSA1 및 변이 단백질과 시트르산 합성효소의 비율을 8:1로 반응하여 측정하였다. D103V와 D103N를 제외한 모든 단백질이 43°C에서 시트르산 합성효소의 열 변성에 의한 응집을 억제하였다(Fig. 4B). D103V와 D103N을 제외한 다른 변이 단백질은 분자 샤페론 활성을 가지고 있었다. 샤페론 활성을 나타내는데 십량체 형성이 중요하다고 보고되었다[9]. 고속 액체 크로마토그래피용 젤 여과관을 이용하여 중합체 형성을 살펴본 결과 TSA1, S73A, D75V 및 D75N은 고중합체를 형성하였으며 이는 샤페론 활성 결과와 일치하였다. 퍼옥시레독신은 2개의 이량체가 모여 십량체를 형성하는데 이량체와 이량체의 접촉면에 네 개의 아스파르트산 잔기가 근접되어 있는 구조를 나타낸다. 이들 잔기를 변이시키는 경우 십량체 형성 및 샤페론 활성에 변화를 나타내는 것으로 보아 정상적 십량체 형성에 잘 보존된 아스파르트산 잔기가 기여하는 것으로 판단된다.

요 약

퍼옥시레독신은 티오레독신, 티오레독신 환원효소, NADPH로 이루어진 티오레독신 시스템의 환원력을 이용하여 과산화물을 제거하는 티오레독신 과산화효소 활성과 다른 단백질의 열변성에 의한 응집을 막아주는 샤페론 활성을 갖는 효소이다. 정형 2-Cys Prx군에 속하는 퍼옥시레독신 참고서열

1,024개 중 부분적인 서열 등을 제외한 967개 서열을 정렬하였을 때 75번과 103번 아스파르트산 잔기는 99% 보존되었고, 73번 세린 잔기는 97% 보존되었음에도 불구하고 잘 보존된 아스파르트산 잔기와 세린 잔기에 대해 알려지지 않았다. 이 잔기가 TSA1의 두가지 효소 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 재조합 단백질을 이용하여 활성도를 알아보았다. *in vitro* 실험을 통하여 잘 보존된 잔기인 103번 아스파르트산은 75번 아스파르트산보다 티오레독신 퍼옥시레독신 활성 및 분자 샤페론 활성에 더 영향을 미치고, 103번의 음전하는 분자 샤페론 활성에 중요한 역할을 하며 과산화효소활성에는 75번과 103번의 음전하가 관여함을 알 수 있었다. 또한 73의 세린 잔기 역시 과산화효소에 영향을 미치는 잔기임을 알 수 있었다. 최근 출아 효모 퍼옥시레독신인 TSA2의 79번과 109번의 세린 잔기를 시스테인 잔기로 변이시킨 경우 두 변이 단백질 모두 과산화효소 활성과 샤페론 활성이 증가되었는데 이는 β -sheet 구조의 증가와 관련되는 것으로 보고하였다[28]. 이들 두 세린 잔기는 TSA1 구조에 의하면 모두 α -나선 구조에 위치하였다. 반면에 73번의 세린 잔기는 β -sheet의 C-말단에 위치하는 잔기로 과산화효소 활성에 대한 영향이 다르게 나타나는 것으로 추정된다. 추후 생체 내 실험을 통하여 아스파르트산 잔기의 변이가 과산화물 저항성이 미치는 영향 및 열 저항성(thermal stress)에 미치는 역할을 살펴볼 필요가 있다. 또한 아스파르트산 잔기와 과산화물과의 반응 및 분자 샤페론과의 반응에 장애가 되는 요인이 무엇인지에 대한 추가 연구가 필요할 것이다.

References

- Nordberg J, Arnér ESJ. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* **31**: 1287-1312.
- Rhee SG, Kang SW, Jeong W, Chang T-S, Yang K-S, Woo HA. 2005. Intracellular messenger function of hydrogen peroxide and its regulation by peroxiredoxins. *Curr. Opin. Cell Biol.* **17**: 183-189.
- Panfili E, Sandri G, Ernster L. 1991. Distribution of glutathione peroxidases and glutathione reductase in rat brain mitochondria. *FEBS* **290**: 35-37.
- Rhee SG, Chae HZ, Kim K. 2005. Peroxiredoxin: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic. Biol. Med.* **38**: 1543-1552.
- Karplus PA. 2015. A primer on peroxiredoxin biochemistry. *Free Radic. Biol. Med.* **80**: 183-190.
- Martin RE, Cao Z, Bulleid NJ. 2014. Regulating the level of intracellular hydrogen peroxide: the role of peroxiredoxin IV. *Biochem. Soc. Trans.* **42**: 42-46.
- Hoyle NP, O'Neill JS. 2014. Oxidation-reduction cycle of peroxiredoxin proteins and non transcriptional aspects of timekeeping. *Biochemistry* **54**: 184-193.
- Kang SW, Rhee SG, Chang TS, Jeong WJ, Chai MH. 2005. 2-Cys peroxiredoxin function in intracellular signal transduction: therapeutic implications. *Trends in Mol. Med.* **11**: 571-578.
- Park SG, Cha MK, Jeong W, Kim IH. 2000. Distinct physiological functions of thiol peroxidase isoenzymes in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* **275**: 5723-5732.
- Seo MS, Kang SW, Kim K, Baines I, Lee TH, Rhee SG. 2000. Identification of a new type of mammalian peroxiredoxin that forms an intramolecular disulfide as a reaction intermediate. *J. Biol. Chem.* **275**: 20346-20354.
- Jang HH, Lee KO, Chi YH, Jung BG, Park SK, Park JH, 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.
- Gething MJ, Sambrook J. 1992. Protein folding in the cell. *Nature* **355**: 33-45.
- Hendrick JP, Hartl FU. 1993. Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annu. Rev. Biochem.* **62**: 349-384.
- Ellis RJ. 1993. The general concept of molecular chaperones. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **339**: 257-261.
- Nover L. 2000. Heat stress response; a complex gene with chaperones and transcription factors. *Proceedings of EMBO Lecture Course*.
- Feder ME, Hofmann GE. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response; evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.* **61**: 243-282.
- Chae HZ, Oubrahim H, Park JW, Rhee SG, Chock PB. 2011. Protein glutathionylation in the regulation of peroxidase that function as antioxidants, molecular chaperone, and signal modulators. *Antioxidants & Redox Signaling* **16**: 506-523.
- Woo HA, Yim SH, Shin DH, Kang D, Yu D-Y, Rhee SG. 2010. Inactivation of peroxiredoxin I by phosphorylation allows localized H₂O₂ accumulation for cell signaling. *Cell* **140**: 517-528.
- Rhee SG. 2016. Overview on peroxiredoxin. *Mol. Cells.* **39**:1-5.
- Kim JS, Bang MA, Lee S, Chae HZ, Kim K. 2010. Distinct functional roles of peroxiredoxin isozymes and glutathione peroxidase from fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*. *BMB Rep.* **43**: 170-175.
- Chae HZ, Chung SJ, Rhee SG. 1994. Thioredoxin-dependent Peroxidase Reductase from yeast. *J. Biol. Chem.* **269**: 27670-27678.
- Lee S, Kim JS, Yun CH, Chae HZ, Kim K. 2009. Aspartyl aminopeptidase of *Schizosaccharomyces pombe* has a molecular chaperone function. *BMB Rep.* **42**: 812-816.
- Wood ZA, Schroder E, Harris JR, Poole LB. 2003. Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends Biochem. Sci.* **28**: 32-40.
- Montemaritini M, Kalisz HM, Hecht HJ. 1999. Activation of active-site cysteine residues in the peroxiredoxin-type trypanoxin peroxidase of *Crithidia fasciculata*. *Eur. J. Biochem.* **264**: 516-524.
- Flohe L, Budde H, Bruns K, Castro H, Clos J, Hofmann B, et al. 2002. Trypanoxin peroxidase of *Leishmanis donovani*: molecular cloning, heterologous expression, specificity and catalytic mechanism. *Arch. Biochem. Biophys.* **397**: 324-335.
- Schröder E, Littlechild JA, Lebedev AA, Errington N, Vagin AA, Isupov MN. 2000. Crystal structure of decameric 2-Cys peroxiredoxin from human erythrocytes at 1.7 Å. *Structure* **8**: 605-615.
- Chae HZ, Uhm TB, Rhee SG. 1994. Dimerization of thiol-specific antioxidant and essential role of cysteine 47. 1994. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**:7022-7026.
- Hong SH, Lee SS, Chung JM, Jung HS, Singh S, Mondal S, et al. 2017. *Protoplasma* **254**: 327-334.