

Abstrakt

Klíšťata patří mezi významné parazity člověka, kteří přenášejí řadu patogenů. V Evropě je hlavním druhem klíště obecné *Ixodes ricinus* přenášející bakterii *Borrelia burgdorferi* (způsobující Lymfskou boreliosu) a vir klíšťové encefalitidy. Při trávení proteinů z krve hrají důležitou roli katepsinové proteasy v žaludku klíštěte. Tato práce se zabývá katepsinem L, který je znám jako významná cysteinová trávící proteasa klíšťat.

Byl připraven rekombinantní katepsin L z *I. ricinus*, který byl chromatograficky izolován z kultivačního media expresního systému *Pichia pastoris*. Izolovaný katepsin L byl charakterizován pomocí N-koncového proteinového sekvenování a pomocí značení fluorescenční aktivní značkou Green-DCG-04. Analýza substrátové a inhibiční specifity katepsinu L pomocí peptidových substrátů a inhibitorů prokázala Z-FR-AMC jako vhodný substrát s pH optimem 3,5 a Z-FF-DMK jako účinný inhibitor. Byla zjištěna schopnost katepsinu L degradovat proteinové substráty HSA a hemoglobin v silně kyselém prostředí (pH 3,5-4,5).

Proteolytická aktivita se stejnými charakteristikami jako byly určeny u rekombinantního katepsinu L byla identifikována v extraktu ze slinných žláz a ve slinách klíštěte *I. ricinus*. Jde o první nález katepsinové proteasy ve slinách klíšťat. Lze předpokládat, že katepsin L sekretovaný do slin se může uplatnit při interakci klíštěte a hostitele.

Klíčová slova: cysteinové proteasy, katepsin L, klíště, *I. ricinus*, substrátová a inhibiční specifita, proteomické aktivní značení