

UNIVERSITY OF SOUTH BOHEMIA
FACULTY OF SCIENCES



**Mapping of hemoglobinolytic proteases in the gut of the hard tick
*Ixodes ricinus***

Mgr. Zdeněk Franta

RNDr. Thesis

Supervisor: RNDr. Petr Kopáček, CSc.

Biology Centre ASCR, Institute of Parasitology, České Budějovice

**České Budějovice
2009**

Zdeněk Franta (2009): Mapping of hemoglobin proteolysis in the gut of the hard tick *Ixodes ricinus*. RNDr. thesis (in english) University of South Bohemia, Faculty of Science, České Budějovice, Czech Republic 22 pages.

Annotation:

Ticks differ from other hematophagous parasites in that blood digestion occurs intracellularly. The tick gut serves mainly as a storage organ for the blood, since its contents lack extracellular peptidases. Hemoglobin digestion in ticks is a critical process for two main reasons: (1) Blood-meal digestion provides primary energy resources for tick development and egg production; (2) Hemoglobin fragmentation results in formation of peptides with potent antimicrobial activity. The hemoglobin digestion in ticks is still poorly understood at molecular level, although the main role in this process has been attributed to the cysteine and aspartic peptidases.

Prohlašuji, že svoji doktorskou rigorózní práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. V platném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 06. března 2009


.....
Zdeněk Franta

Research

Open Access

Profiling of proteolytic enzymes in the gut of the tick *Ixodes ricinus* reveals an evolutionarily conserved network of aspartic and cysteine peptidases

Daniel Sojka*¹, Zdeněk Franta^{1,3}, Martin Horn², Ondřej Hajdušek³,
Conor R Caffrey⁴, Michael Mareš² and Petr Kopáček¹

Address: ¹Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Sciences of the Czech Republic, České Budějovice, CZ-370 05, The Czech Republic, ²Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Praha, CZ-166 10, The Czech Republic, ³Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, CZ-370 05, The Czech Republic and ⁴Sandler Center for Basic Research in Parasitic Diseases, University of California San Francisco, San Francisco, CA 94158, USA

Email: Daniel Sojka* - dsojka@seznam.cz; Zdeněk Franta - zdeny@paru.cas.cz; Martin Horn - horn@marilyn.uochb.cas.cz;
Ondřej Hajdušek - hajdus@paru.cas.cz; Conor R Caffrey - caffrey@cgl.ucsf.edu; Michael Mareš - mares@marilyn.uochb.cas.cz;
Petr Kopáček - kopajz@paru.cas.cz

* Corresponding author

Published: 18 March 2008

Received: 29 January 2008

Parasites & Vectors 2008, 1:7 doi:10.1186/1756-3305-1-7

Accepted: 18 March 2008

This article is available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/1/1/7>

© 2008 Sojka et al; licensee BioMed Central Ltd.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Background: Ticks are vectors for a variety of viral, bacterial and parasitic diseases in human and domestic animals. To survive and reproduce ticks feed on host blood, yet our understanding of the intestinal proteolytic machinery used to derive absorbable nutrients from the blood meal is poor. Intestinal digestive processes are limiting factors for pathogen transmission since the tick gut presents the primary site of infection. Moreover, digestive enzymes may find practical application as anti-tick vaccine targets.

Results: Using the hard tick, *Ixodes ricinus*, we performed a functional activity scan of the peptidase complement in gut tissue extracts that demonstrated the presence of five types of peptidases of the cysteine and aspartic classes. We followed up with genetic screens of gut-derived cDNA to identify and clone genes encoding the cysteine peptidases cathepsins B, L and C, an asparaginyl endopeptidase (legumain), and the aspartic peptidase, cathepsin D. By RT-PCR, expression of asparaginyl endopeptidase and cathepsins B and D was restricted to gut tissue and to those developmental stages feeding on blood.

Conclusion: Overall, our results demonstrate the presence of a network of cysteine and aspartic peptidases that conceivably operates to digest host blood proteins in a concerted manner. Significantly, the peptidase components of this digestive network are orthologous to those described in other parasites, including nematodes and flatworms. Accordingly, the present data and those available for other tick species support the notion of an evolutionary conservation of a cysteine/aspartic peptidase system for digestion that includes ticks, but differs from that of insects relying on serine peptidases.

Abstrakt:

Pozadí: Klíšťata jsou významnými přenašeči původců řady virálních, bakteriálních i parazitárních onemocnění u lidí a domácích zvířat. Jelikož střevo představuje primární místo infekce, střevní proteolytické procesy jsou limitujícím faktorem pro přenos patogenů. Trávení hostitelské krve je pro klíšťe hlavním zdrojem živin. I když se jedná o jeden z nejdůležitějších fyziologických procesů u klíšťat, naše současné vědomosti o střevních proteolytických pochodech a získávání energie z krevních bílkovin jsou poměrně malé.

Trávicí enzymy představují potencionální kandidáty pro vývoj anti-klíšťecích vakcín.

Výsledky: Funkčně-aktivitním skenem střevní tkáně klíšťete *Ixodes ricinus* se nám podařilo identifikovat přítomnost 5-ti typů proteáz, patřících do cysteinových a aspartátových tříd. Následným genetickým skríninkem střevní cDNA jsme identifikovali geny kódující cysteinové proteázy katepsin B, L a C, asparaginylovou endopeptidázu (legumain) a aspartátovou peptidázu katepsin D. Pomocí RT-PCR jsme zjistili, že exprese asparaginylové endopeptidázy, katepsinu B a katepsinu L je omezena pouze na střevo a krevsající vývojová stádia.

Závěr: Naše výsledky demonstrují přítomnost komplexu cysteinových a aspartátových proteáz, které se podílí na trávení proteinů z hostitelské krve. Peptidázy, podílející se na trávicím procesu u klíšťat, jsou ortology enzymů známých u krevsajících nematod a motolic. Srovnáním námi získaných dat a dat dostupných z jiných klíšťecích druhů je podporována myšlenka evolučně konzervovaného trávicího systému klíšťat. Tento se značně liší od trávicích procesů hmyzu závislých především na serinových proteázách.