

KATEPSIN B1 PARAZITICKÉ KREVNIČKY: MOLEKULÁRNÍ CÍL PRO LÉČBU SCHISTOSOMÓZY

ADÉLA JÍLKOVÁ, MARTIN HORN
a MICHAEL MAREŠ

Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha
jilkova@uochb.cas.cz

Došlo 15.6.17, přijato 16.8.17.

Klíčová slova: katepsin, proteasa, proteolýza, schistosoma, parazit, inhibitor, chemoterapeutika, vakcína

Obsah

1. Úvod: parazitické krevničky a schistosomóza
2. Úloha proteolytického systému v trávení krevniček
 - 2.1. Degradace krevních proteinů hostitele
 - 2.2. Trávicí proteasy krevniček
 - 2.3. Fyziologie a medicínální význam katepsinu B1
3. Struktura a funkce katepsinu B1 z krevničky střevní (SmCB1)
 - 3.1. Biosyntéza SmCB1
 - 3.2. Prostorová struktura a aktivita SmCB1
4. Inhibice SmCB1 a vývoj nových chemoterapeutik
 - 4.1. Kovalentní inhibitory SmCB1
 - 4.2. Inhibitory SmCB1 na bázi autoregulačního mechanismu
5. Závěr

1. Úvod: parazitické krevničky a schistosomóza

Helminti ze třídy motolice (Trematoda) jsou celosvětově významnou skupinou parazitů z hlediska veterinární i humánní medicíny. V Evropě převažují zoonotické druhy motolic rodu *Fasciola* parazitující zejména u ovcí a skotu, které způsobují velké ekonomické ztráty, ale počet případů nákazy člověka je nízký. Nejvýznamnějšími zástupci motolic ohrožujícími člověka jsou krevničky rodu *Schistosoma* s endemickým výskytem v tropických a subtropických oblastech. Jsou původcem chronického onemocnění schistosomóza, kterým je postiženo více než 250 milionů lidí v 78 zemích převážně v subsaharské Africe, Jižní Americe a na Středním východě^{1,2}. V těchto oblastech je schistosomóza po malárii druhé nejrozšířenější parazitární onemocnění a představuje globální zdravotní a sociálně ekonomický problém^{3,4}.

Mezi nejrozšířenější druhy krevniček způsobujících lidskou schistosomózu patří krevnička střevní

(*Schistosoma mansoni*), krevnička močová (*S. haematobium*) a krevnička jaterní (*S. japonicum*). K nákaze lidí dochází při kontaktu s vodou kontaminovanou infekčními stadii parazita, cercáriemi, jež pronikají kůží a dostávají se do krevního oběhu. V cévách člověka se vyvíjejí v dospělé krevničky, které se živí krví hostitele². Hlavním patologickým agens jsou vajíčka krevniček, která se hromadí v tkáních jater, střev či močového měchýře, kde vyvolávají zánětlivou reakci a mohou způsobit poškození orgánů⁵.

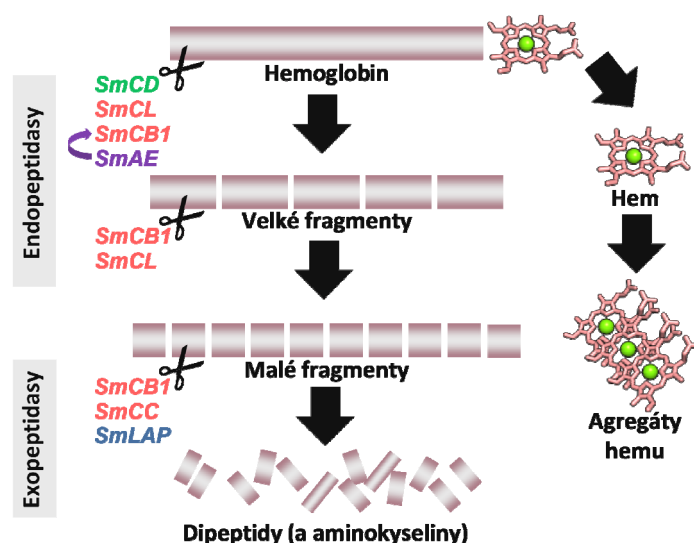
Léčba schistosomózy je již více než 30 let závislá na jediném léku praziquantelu, který je účinný pouze na dospělé krevničky⁶. Vzrůstající riziko vzniku rezistence vyvolává potřebu nových alternativních chemoterapeutik nebo vakcín^{6–8}. Současné strategie při vývoji antiparazitik se zaměřují na úvodní identifikaci molekul zásadních pro životaschopnost parazita, proti kterým by byl cílen terapeutický zásah⁶. Velmi perspektivní jsou proteolytické enzymy (proteasy), které plní řadu důležitých úloh v metabolismu parazitů a jejich interakci s hostitelem^{9–12}. Účinné inhibitory proteas tak představují potenciální léčiva proti parazitárním chorobám. Intenzivně jsou zkoumány zejména u *S. mansoni*¹³ a parazitických prvoků *Trypanosoma cruzi*^{14,15} a *Plasmodium falciparum*^{15,16}, způsobujících Chagasovu chorobu a malárii.

U *S. mansoni* se pozornost soustřeďuje na trávicí proteasy, které umožňují degradaci krevních proteinů hostitele a zajišťují tak živiny pro růst a vývoj parazita^{17,18}. Cysteinová proteasa katepsin B1 krevničky *S. mansoni* (SmCB1) hraje v procesu trávení klíčovou roli a byla identifikována jako cílová molekula pro chemoterapii schistosomózy¹³, jako kandidát pro protektivní vakcinaci¹⁹ a sérodiagnostický marker^{20,21}. Tento přehledný článek se zaměřuje na nové informace o biochemické funkci a molekulární struktuře SmCB1 a principy regulace této proteasy, které jsou důležité pro navrhování jejich specifických inhibitorů.

2. Úloha proteolytického systému v trávení krevniček

2.1. Degradace krevních proteinů hostitele

Dospělé krevničky žijí v kardiovaskulárním systému člověka a živiny získávají rozkladem krevních proteinů hostitele, především hemoglobinu obsaženého v červených krvinkách. Trávení začíná v jícnu krevničky (esofagus) lyzí erytrocytů z přijaté krve. Uvolněný hemoglobin je degradován ve střevě kaskádou trávicích proteolytických enzymů zahrnující cysteinové a aspartátové proteasy a metaloproteasy (obr. 1). Degradaci hemoglobinu nejprve vznikají větší fragmenty, následně oligopeptidy a nakonec dipeptidy a jednotlivé aminokyseliny, které krevnička dále



Obr. 1. **Proteolytické trávení krevničky.** Hemoglobin z krve hostitele je ve stěvě krevničky degradován kaskádou endopeptidas a exopeptidas zahrnující aspartátové proteasy (zeleně), cysteinové proteasy (rodina C1 červeně, rodina C13 fialově) a metaloproteasy (modře). Fialovou šipkou je vyznačena přídatná role SmAE v aktivaci SmCB1. Specifikace jednotlivých enzymů jsou uvedeny v tab. I. Uvolněný toxický hem je odstraněn ve formě nerozpustných agregátů

využívá^{17,18}. Zároveň se z hemoglobinu uvolňuje prostetická skupina hem, který je pro parazita toxický. Je detoxifikován přeměnou na tmavý krystalický pigment hemozoin, který se shromažďuje ve stěvě krevničky a je průběžně vyvrhován²².

Přesná lokalizace procesu trávení ve stěvě krevničky není zcela objasněna. Ve stěvě bylo zjištěno pH 6,0–6,4, zatímco pH optimum degradace hemoglobinu pomocí trávicích proteas je podstatně nižší (okolo pH 4,0). To naznačuje možnost účinného trávení v lumenálních nebo buněčných mikrokompartmentech uvnitř stěva, které zajišťují dostatečně kyselé prostředí^{18,23,24}.

2.2. Trávicí proteasy krevniček

Proteolytické enzymy byly podrobně studovány ve stěvě krevničky *S. mansoni* (viz tab. I). Pomocí biochemických a imunochemických metod byly identifikovány cysteinové proteasy katepsin B1 (SmCB1), katepsin L1 a L3 (SmCL1, SmCL3), dipeptidylpeptidasa I neboli katepsin C (SmCC), legumain neboli asparaginylendopeptidasa (SmAE), dále aspartátová proteasa katepsin D (SmCD) a metaloproteasa leucylaminopeptidasa (SmLAP). Jednotlivé proteasy se vzájemně doplňují při degradaci krevních proteinů a plní specifické funkce v závislosti na typu proteolytické aktivity^{17,18}. SmCD, SmCL a SmAE působí jako endopeptidas, které štěpí substrát uvnitř polypeptidového řetězce, zatímco SmCC a SmLAP jsou exopeptidas, jež odštěpují aminokyseliny a dipeptidy z N- nebo C-konce řetězce substrátu (tab. I, obr. 1). SmCB1 vykazuje jak endopeptidasovou, tak exopeptidasovou aktivitu (kap. 3.2.). Mezi proteasami v kaskádě dále existují

vztahy na regulační úrovni, jako je role SmAE v aktivaci SmCB1 (kap. 3.1.). pH optimum jednotlivých trávicích cysteinových a aspartátových proteas leží obecně v kyselé oblasti, což bylo určeno pomocí syntetických peptidových substrátů nebo pomocí fyziologických proteinových substrátů hemoglobinu a albuminu²⁴ (odkazy v tab. I).

2.3. Fyziologie a medicínální význam katepsinu B1

Katepsin B1 (SmCB1) je nejvíce zastoupenou cysteinovou proteasou ve stěvě krevničky *S. mansoni*^{23,37}. Byl lokalizován v lumen stěva a v buňkách gastrodermis vystylajících stěvní dutinu²³. V degradaci krevních proteinů hostitele hraje SmCB1 klíčovou úlohu, protože působí na všech úrovních degradační kaskády¹⁸ (obr. 1). RNAi experimenty ukázaly, že potlačení exprese SmCB1 v dospělých krevničkách *S. mansoni* vede ke snížení schopnosti trávit krevní proteiny a zpomalení růstu krevniček^{18,38}.

SmCB1 vyvolává silný antigenní efekt u lidí a myši infikovaných *S. mansoni* a je proto považován za sérodiagnostický marker^{20,21}. Během počáteční fáze nákazy se produkuje specifické protilátky IgG a IgE (cit.³⁹). SmCB1 byl vyhodnocen jako potenciální antigen pro vývoj vakcín proti schistosomóze. Imunizací pomocí aktivní formy SmCB1 bylo u myši infikovaných *S. mansoni* dosaženo významné redukce počtu parazitů (více než 60 %) i vajíček v játrech a stěvě. Imunizace zároveň vyvolala v myších vysokou produkci IL-4, IL-5, IL-13 a zapojení Th2 imunitní odpovědi. Aktivní SmCB1 působí rovněž jako účinné adjuvans, které zvyšuje protektivní efekt u jiných vakcín. Při imunizaci myši pomocí SmCB1 v kombinaci s dalšími dvěma proteiny *S. mansoni* byla protekce více než 80 %

Tabulka I

Přehled hlavních trávicích proteas krevničky střevní (*S. mansoni*). Uvedeno je jejich zařazení do rodin a typ proteolytické aktivity

Proteasa	Označení	Rodina ^a	Molekulová hmotnost ^b [kDa]	Proteolytická aktivita ^c	Lit.
Katepsin B1	SmCB1	C1	31	endo/exo (karboxy)	23,25,26
Katepsin L1 (katepsin F)	SmCL1	C1	33	endo	27,28
Katepsin L3	SmCL3	C1	28	endo	29
Katepsin C (dipeptidylpeptidasa I)	SmCC	C1	55	exo (amino)	17,30
Legumain (asparaginylendopeptidasa)	SmAE	C13	32	endo	31,32,33
Katepsin D	SmCD	A1	40	endo	34,35
Leucylaminopeptidasa	SmLAP	M17	57	exo (amino)	36

^a Kódování rodin určuje příslušnost k aspartátovým proteasám (A1), cysteinovým proteasám (C1, C13) a metaloproteasám (M17). ^b Molekulová hmotnost je uvedena pro zralý aktivní enzym. ^c Použité zkratky: endo-, endopeptidasová; exo-, exopeptidasová; karboxy-, karboxypeptidasová; amino-, aminopeptidasová

(cit.^{19,40}).

SmCB1 byl identifikován jako cílová molekula pro vývoj nových chemoterapeutik proti schistosomóze v experimentu se syntetickým vinylsulfonovým inhibitorem K11777, který blokuje aktivitu SmCB1 (cit.¹³). Opakované podání inhibitoru myším infikovaným *S. mansoni* snížilo patologické stavy vyvolané schistosomózou: bylo redukováno poškození jater a sleziny a byl snížen celkový počet parazitů i produkce vajíček krevničky v myších. Zároveň byl v krevničkách izolovaných z infikovaných myší identifikován SmCB1 jako hlavní proteasa, která je inhibována působením K11777 (cit.¹³). Další důkaz poskytlo porovnání derivátů odvozených z K11777, které byly testovány *in vitro* jako inhibitory rekombinantního SmCB1 a *ex vivo* na krevničkách kultivovaných v mediu. Prokázána byla korelace inhibičních parametrů a mortality vyvolané u živých parazitů²⁵.

3. Struktura a funkce katepsinu B1 z krevničky střevní (SmCB1)

3.1. Biosyntéza SmCB1

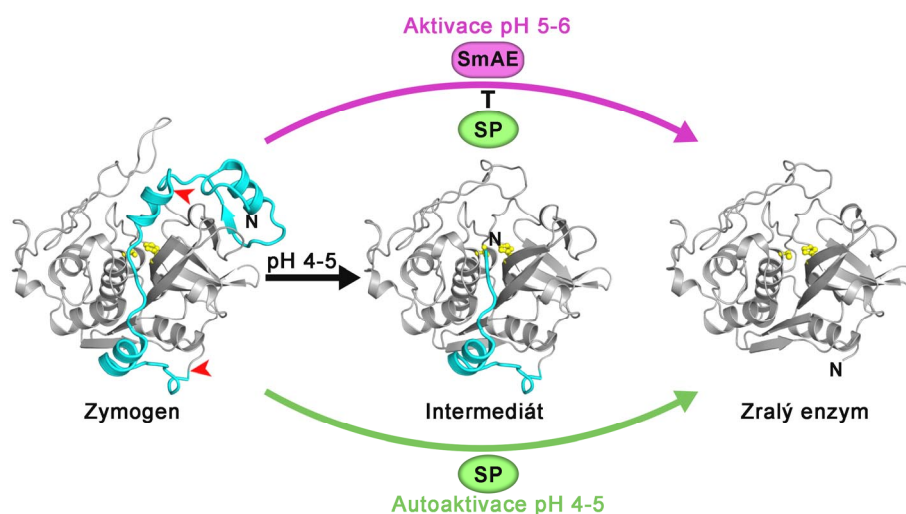
SmCB1 je biosyntetizován ve formě neaktivního zymogenu (proenzymu), ve kterém je aktivní místo blokováno N-koncovým propeptidem (o délce 69 aminokyselin) fungujícím jako přirozený intramolekulární inhibitor. Při aktivaci zymogenu SmCB1 je propeptid proteolyticky odštěpen a vzniká aktivní enzym. Tento proces probíhá dvěma alternativními mechanismy (obr. 2). Jeden je založen na proteolytickém působení asparaginylendopeptidasy z *S. mansoni* (SmAE), které probíhá v rozmezí pH 5,0–6,0 (cit.^{23,41}). Druhý je unikátní autokatalytický mechanismus, pro který je nezbytná interakce zymogenu SmCB1 se sul-

fatovanými polysacharidy (SP) v pH 4,0–5,0 umožňující odstranit propeptid autoproteolýzou⁴¹. Bez působení SP dochází k tvorbě neaktivního intermediátu, ve kterém je odštěpena zhruba polovina propeptidu^{23,41}. To odlišuje aktivační proces SmCB1 od katepsinů B z obratlovců, které SP pro autokatalytický mechanismus aktivace nevyžadují^{42,43}.

Role SP v procesu aktivace SmCB1 je komplexní a ovlivňuje nejen autoaktivaci, ale i aktivaci katalyzovanou SmAE, která je působením SP naopak potlačena. Lze předpokládat, že ve fyziologickém prostředí je proces aktivace SmCB1 regulován kombinací faktorů pH a SP (cit.⁴¹) (obr. 2). Byla studována i strukturní podstata interakce SmCB1 se SP, pro kterou je důležitý sekvenční motiv vázající heparin přítomný v aminokyselinové sekvenci propeptidu SmCB1 (cit.⁴⁴). Ve 3D struktuře zymogenu SmCB1 je tento motiv umístěn na alfa šroubovici (kap. 4.2.), která se vyskytuje pouze v propeptidech katepsinů B, které fungují jako trávicí enzymy u parazitických motolic⁴⁴.

3.2. Prostorová struktura a aktivita SmCB1

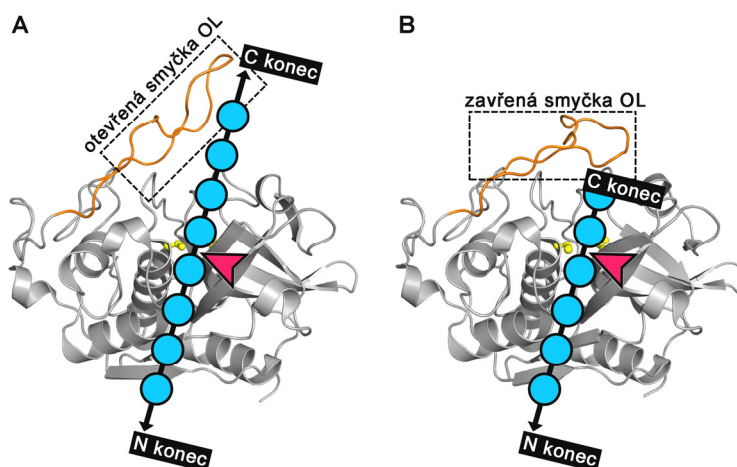
3D struktura SmCB1 vykazuje charakteristické znaky cysteinových proteas rodiny C1 (cit.⁴⁵). V molekule je patrná pravá a levá doména, mezi kterými se vyskytuje aktivní místo s katalytickými zbytky Cys100, His270, Asn290 (Uniprot kód: Q8MNY2). Do aktivního místa se váže polypeptidový řetězec substrátu aminokyselinovými zbytky P3-P2-P1-P1'-P2' (štěpená vazba je mezi P1 a P1'), kterým odpovídají vazebná podmísta S3 až S2'. Struktura SmCB1 obsahuje specifickou smyčku OL („occluding loop“) tvořenou 20 aminokyselinami, která je společným rysem katepsinů B a u jiných proteas rodiny C1 se nevyskytuje^{25,46}.



Obr. 2. **Schéma procesu aktivace SmCB1.** V neaktivním zymogenu SmCB1 (PDB kód: 4I04) blokuje propeptid (tyrkysově) aktivní místo interakcí s katalytickými zbytky Cys100 a His270 (žlutě). Propeptid je proteolyticky odštěpen během aktivace za vzniku zralého aktivního enzymu (šedě, PDB kód: 4I07). K tomu dochází buď působením asparaginyloendopeptidasy (SmAE) nebo autokatalyticky. Sulfatované polysacharidy (SP) jsou nezbytné pro autoaktivační dráhu, ale inhibují dráhu řízenou SmAE. Autoproteolýza v absenci SP vede ke vzniku neaktivního intermediátu (PDB kód: 4I05). Místa štěpení propeptidu jsou vyznačena červenými šipkami. Upraveno podle (cit.⁴¹)

Z hlediska aktivity je SmCB1 bifunkčním enzymem, neboť působí jako exopeptidasa i endopeptidasa²⁵. Duální mód aktivity je umožněn díky flexibilitě smyčky OL, která může měnit konformaci a modulovat tak tvar aktivního místa (obr. 3). Smyčka v „uzavřené“ konformaci blokuje aktivní místo za S2' podmístem pro přístup substrátu a zajišťuje tak exopeptidasovou aktivitu, konkrétně karbo-

xydipeptidasovou aktivitu, kdy jsou odštěpovány dvě aminokyseliny z C-konce substrátu. Při vyklonění smyčky ven z aktivního místa je umožněna vazba substrátu po celé délce aktivního místa a jeho štěpení v endopeptidasovém módu²⁵.



Obr. 3. **Konformace flexibilní smyčky určuje aktivní mód SmCB1.** Katalytické místo enzymu obsahuje zbytky Cys100 a His270 (žluté) a růžová šipka ukazuje polohu štěpení peptidového/proteinového substrátu (aminokyselinové zbytky jsou modré). (A) Při „otevřené“ konformaci smyčky OL (oranžově) je substrát štěpen uvnitř polypeptidového řetězce v endopeptidasovém módu. (B) Při „zavřené“ konformaci smyčky OL odštěpuje enzym dipeptidy z C konce substrátu v exopeptidasovém módu (karboxydipeptidasová aktivita). Pro zobrazení byly upraveny 3D struktury SmCB1, PDB kódy: 4I04 a 4I07

4. Inhibice SmCB1 a vývoj nových chemoterapeutik

4.1. Kovalentní inhibitory SmCB1

Aktivitu cysteinových proteas je možné účinně blokovat pomocí malých syntetických inhibitorů s různými typy reaktivních skupin, které vytvářejí kovalentní vazbu s katalytickým cysteinem. SmCB1 je stejně jako ostatní proteasy typu katepsinu B specificky inhibován CA074, ireverzibilním inhibitorem s epoxidovou reaktivní skupinou^{25,37,47}. Vazebný mód CA074 v aktivním místě SmCB1 byl popsán pomocí 3D struktury inhibičního komplexu²⁵ (obr. 4).

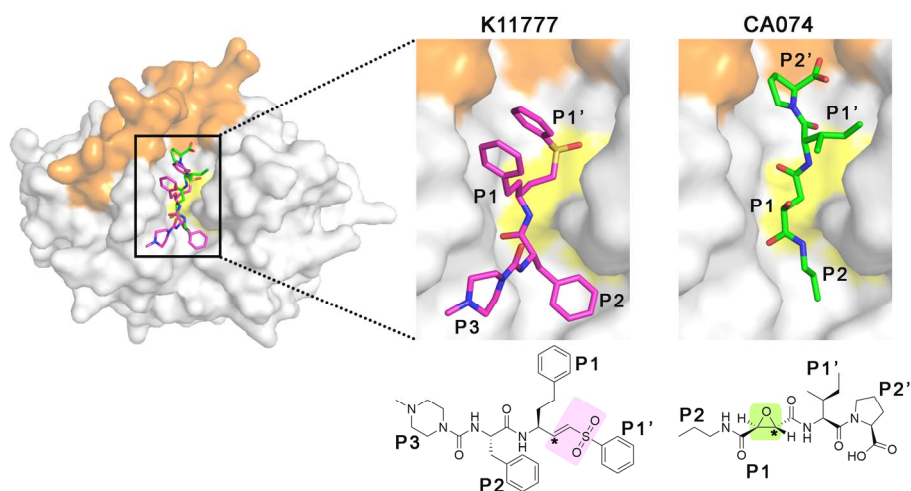
Dále byla detailně zkoumána interakce SmCB1 s inhibitory s vinylsulfonovou reaktivní skupinou. Tyto inhibitory byly původně navrženy jako ireverzibilní inhibitory lidských cysteinových katepsinů^{48,49} a později se ukázalo, že inhibují také cysteinové proteasy patogenních prvoků, jako je *Trypanosoma* a *Plasmodium*^{15,50,51}. Vinylsulfon K11777 je v současné době testován v preklinických studiích jako lék proti Chagasově chorobě, kterou způsobuje *Trypanosoma cruzi*¹⁴. K11777 je také inhibitorem SmCB1 účinným při léčbě schistosomózy u myši¹³. Pomocí 3D struktur inhibičních komplexů byla popsána interakce SmCB1 s K11777 (obr. 4) a jeho derivátem K11017. Inhibiční specifita SmCB1 byla analyzována pomocí sady vinylsulfonových derivátů s různými substituenty v pozicích P3-P1', které vykazovaly až subnanomolární inhibiční konstanty²⁵. Tato studie poskytla informace o preferencích v jednotlivých vazebných podmístech SmCB1 a dala vznik výpočetní metodě pro racionální design nových derivátů s lepšími inhibičními parametry⁵².

4.2. Inhibitory SmCB1 na bázi autoregulačního mechanismu

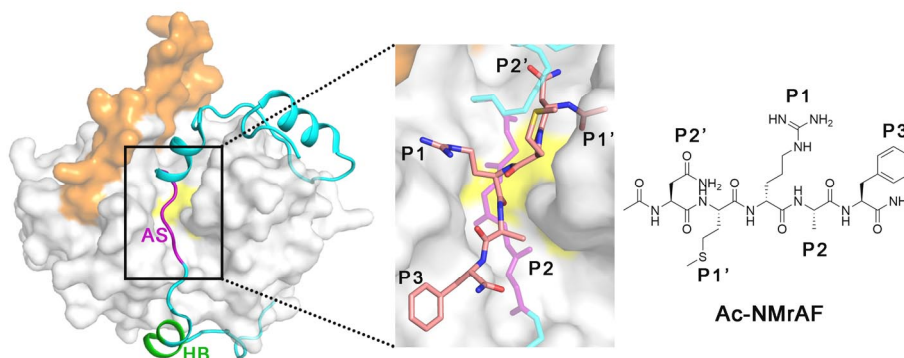
Propeptidy působí jako přirozené intramolekulární inhibitory v zymogenech cysteinových proteas, kde interagují s aktivním místem enzymu^{53,54} (kap. 3.1.). Strukturální principy inhibice propeptidem mohou být využity při konstrukci malých peptidomimetických inhibitorů, jak bylo prokázáno u lidského katepsinu L (cit.⁵⁵). V případě SmCB1 umožnilo mapování propeptidu pomocí syntetických fragmentů identifikovat dvě domény pro inhibici (obr. 5). Doména AS („active site“) interaguje přímo s aktivním místem SmCB1; doména HB („heparin-binding“) lokalizovaná v blízkosti aktivního místa obsahuje sekvenční motiv vázající heparin (kap. 3.1.) a působí jako inhibitor v komplexu s heparinem. Doména AS byla využita jako templát pro racionální design inhibitorů SmCB1 (cit.⁴⁴). Mikromolární pentapeptidové inhibitory SmCB1 odvozené z této domény vykazovaly vysokou selektivitu vůči SmCB1 v porovnání s lidskými cysteinovými katepsiny. Tyto inhibitory jsou reverzibilní a stejně jako propeptid se vážou do aktivního místa v opačné orientaci než substrát.

5. Závěr

Trávicí proteasa SmCB1 z *S. mansoni* je perspektivní cílovou molekulou pro nové terapeutické strategie proti schistosomóze, parazitárnímu onemocnění s globálním dopadem. Lze očekávat, že další výzkum SmCB1 bude soustředěn do několika následujících oblastí. Při vývoji antischistosomálních vakcín je využitelná schopnost SmCB1 indukovat imunitní odpověď a protektivní účinek proti krevničkám a působit jako adjuvans v kombinovaných vakcínách. Syntetické inhibitory SmCB1 představují



Obr. 4. Inhibice SmCB1 pomocí syntetických inhibitorů s reaktivní skupinou. U inhibitorů jsou uvedeny pozice P3 až P2', které se vážou do vazebných podmíst enzymu. Ve vzorcích vinylsulfonového inhibitoru K11777 a epoxidového inhibitoru CA074 jsou barevně vyznačeny reaktivní skupiny a hvězdičkou pozice tvorby kovalentní vazby s katalytickým zbytkem cysteinu. V molekule enzymu je zobrazena smyčka OL oranžově a katalytické zbytky Cys100 a His270 žlutě. PDB kódy: 3S3R a 3QSD



Obr. 5. **Inhibitory SmCB1 odvozené ze struktury propeptidu.** 3D struktura zymogenu SmCB1 s barevně vyznačenou smyčkou OL (oranžově) a katalytickými zbytky Cys100 a His270 (žlutě). Propeptid je zobrazen ve stužkovém modelu (tyrkysově) s inhibičními doménami AS (fialově) a HB (zeleně). Detail aktivního místa ukazuje simulaci interakce peptidu Ac-NMrAF (běžově), který byl navržen jako selektivní inhibitor SmCB1 odvozený z AS domény propeptidu⁴⁴. Pro srovnání je zobrazena pozice propeptidu s AS doménou (fialově)

potenciální chemoterapeutika pro léčbu schistosomózy. Dosud byly detailně studovány inhibitory s reaktivní vinylsulfonovou skupinou, v budoucnu se vývoj inhibitorů SmCB1 rozšíří na peptidomimetika obsahující další typy reaktivních skupin s ireverzibilním účinkem (např. diazomethylketony, halomethylketony, acyloxymethylketony) nebo reverzibilním účinkem (např. nitrily, aldehydy) na aktivitu cysteinových proteas^{56,57}. Inhibitory SmCB1 nebyly zatím analyzovány z hlediska křížové reaktivity vůči homologním katepsinům v lidském hostiteli, přičemž takové informace by umožnily efektivněji navrhovat inhibitory specifické pro SmCB1. Dalším přístupem je vývoj multifunkčních inhibitorů, které by cílily současně na SmCB1 a další cysteinové proteasy krevničky a vykazovaly silnější supresivní efekt. Racionální design nových generací inhibitorů SmCB1 bude využívat integrovanou platformu přístupů zahrnujících řešení 3D struktur inhibičních komplexů, molekulové modelování a komplexní testování inhibitorů *in vitro* a *in vivo*.

Referát vznikl v rámci řešení grantového projektu InterBioMed LO1302 a výzkumného záměru RVO 61388963.

LITERATURA

- World Health Organization: *Wkly. Epidemiol. Rec.* **91**, 37 (2016).
- Colley D. G., Bustinduy A. L., Secor W. E., King C. H.: *Lancet* **383**, 2253 (2014).
- Utzinger J., N'goran E. K., Caffrey C. R., Keiser J.: *Acta Trop.* **120 Suppl 1**, S121 (2011).
- Chitsulo L., Engels D., Montresor A., Savioli L.: *Acta Trop.* **77**, 41 (2000).
- Burke M. L., Jones M. K., Gobert G. N., Li Y. S., Ellis M. K., McManus D. P.: *Parasite Immunol.* **31**, 163 (2009).
- Caffrey C. R.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* **11**, 433 (2007).
- Crellen T., Walker M., Lamberton P. H., Kabatereine N. B., Tukahebwa E. M., Cotton J. A., Webster J. P.: *Clin. Infect. Dis.* **63**, 1151 (2016).
- Caffrey C. R.: *Future Med. Chem.* **7**, 675 (2015).
- Sajid M., McKerrow J. H.: *Mol. Biochem. Parasitol.* **120**, 1 (2002).
- McKerrow J. H., Caffrey C. R., Kelly B., Loke P., Sajid M.: *Annu. Rev. Pathol.* **1**, 497 (2006).
- Horn M., Jílková A., Mareš M.: *Chem. Listy* **108**, 358 (2014).
- Fajtová P., Stefanic S., Hradílek M., Dvořák J., Vondrášek J., Jílková A., Ulrychová L., McKerrow J. H., Caffrey C. R., Mareš M., Horn M.: *PLoS Negl. Trop. Dis.* **9**, e0003827 (2015).
- Abdulla M. H., Lim K. C., Sajid M., McKerrow J. H., Caffrey C. R.: *PLoS Med.* **4**, e14 (2007).
- McKerrow J. H., Doyle P. S., Engel J. C., Podust L. M., Robertson S. A., Ferreira R., Saxton T., Arkin M., Kerr I. D., Brinen L. S., Craik C. S.: *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **104 Suppl 1**, 263 (2009).
- Steverding D., Caffrey C. R., Sajid M.: *Mini-Rev. Med. Chem.* **6**, 1025 (2006).
- Marco M., Coteron J. M.: *Curr. Top. Med. Chem.* **12**, 408 (2012).
- Caffrey C. R., McKerrow J. H., Salter J. P., Sajid M.: *Trends Parasitol.* **20**, 241 (2004).
- Delcroix M., Sajid M., Caffrey C. R., Lim K. C., Dvořák J., Hsieh I., Bahgat M., Dissous C., McKerrow J. H.: *J. Biol. Chem.* **281**, 39316 (2006).
- El Ridi R., Tallima H., Selim S., Donnelly S., Cotton S., Gonzales S. B., Dalton J. P.: *PLoS One* **9**, e85401 (2014).
- Klinkert M. Q., Bommert K., Moser D., Felleisen R., Link G., Doumbo O., Beck E.: *Trop. Med. Parasitol.* **42**, 319 (1991).
- Ruppel A., Diesfeld H. J., Rother U.: *Clin. Exp. Immunol.* **62**, 499 (1985).
- Thetiot-Laurent S. A., Boissier J., Robert A., Meunier

- B.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 52, 7936 (2013).
23. Sajid M., McKerrow J. H., Hansell E., Mathieu M. A., Lucas K. D., Hsieh I., Greenbaum D., Bogyo M., Salter J. P., Lim K. C., Franklin C., Kim J. H., Caffrey C. R.: *Mol. Biochem. Parasitol.* 131, 65 (2003).
 24. Kašný M., Mikeš L., Hampl V., Dvořák J., Caffrey C. R., Dalton J. P., Horák P.: *Adv. Parasitol.* 69, 205 (2009).
 25. Jílková A., Řezáčová P., Lepšík M., Horn M., Váchová J., Fanfrlík J., Brynda J., McKerrow J. H., Caffrey C. R., Mareš M.: *J. Biol. Chem.* 286, 35770 (2011).
 26. Ghoneim H., Klinkert M. Q.: *Int. J. Parasitol.* 25, 1515 (1995).
 27. Brady C. P., Dowd A. J., Brindley P. J., Ryan T., Day S. R., Dalton J. P.: *Infect. Immun.* 67, 368 (1999).
 28. Bogitsh B. J., Dalton J. P., Brady C. P., Brindley P. J.: *J. Parasitol.* 87, 237 (2001).
 29. Dvořák J., Mashiyama S. T., Sajid M., Braschi S., Delcroix M., Schneider E. L., McKerrow W. H., Bahgat M., Hansell E., Babbitt P. C., Craik C. S. a spol.: *PLoS Neglected Trop. Dis.* 3, e449 (2009).
 30. Hola-Jamriska L., King L. T., Dalton J. P., Mann V. H., Aaskov J. G., Brindley P. J.: *Protein Expr. Purif.* 19, 384 (2000).
 31. Dalton J. P., Brindley P. J., v knize: *Handbook of Proteolytic Enzymes* (Barrett A. J., Rawlings N. D., Woessner J. F., ed.), kap. 254, Academic Press, London 1998.
 32. Caffrey C. R., Mathieu M. A., Gaffney A. M., Salter J. P., Sajid M., Lucas K. D., Franklin C., Bogyo M., McKerrow J. H.: *FEBS Lett.* 466, 244 (2000).
 33. Mathieu M. A., Bogyo M., Caffrey C. R., Choe Y., Lee J., Chapman H., Sajid M., Craik C. S., McKerrow J. H.: *Mol. Biochem. Parasitol.* 121, 99 (2002).
 34. Brindley P. J., Kalinna B. H., Wong J. Y., Bogitsh B. J., King L. T., Smyth D. J., Verity C. K., Abbenante G., Brinkworth R. I., Fairlie D. P., Smythe M. L. a spol.: *Mol. Biochem. Parasitol.* 112, 103 (2001).
 35. Cesari I. M., Valdivieso E., Schrevel J.: *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93 *Suppl 1*, 165 (1998).
 36. McCarthy E., Stack C., Donnelly S. M., Doyle S., Mann V. H., Brindley P. J., Stewart M., Day T. A., Maule A. G., Dalton J. P.: *Int. J. Parasitol.* 34, 703 (2004).
 37. Caffrey C. R., Ruppel A.: *Parasitol. Res.* 83, 632 (1997).
 38. Correnti J. M., Brindley P. J., Pearce E. J.: *Mol. Biochem. Parasitol.* 143, 209 (2005).
 39. de Oliveira Fraga L. A., Lamb E. W., Moreno E. C., Chatterjee M., Dvořák J., Delcroix M., Sajid M., Caffrey C. R., Davies S. J.: *BMC Immunol.* 11, 56 (2010).
 40. Figueiredo B. C., Ricci N. D., de Assis N. R., de Moraes S. B., Fonseca C. T., Oliveira S. C.: *Front. Immunol.* 6, 22 (2015).
 41. Jílková A., Horn M., Řezáčová P., Marešová L., Fajtová P., Brynda J., Vondrášek J., McKerrow J. H., Caffrey C. R., Mareš M.: *Structure* 22, 1786 (2014).
 42. Mach L., Mort J. S., Glossl J.: *J. Biol. Chem.* 269, 13030 (1994).
 43. Rozman J., Stojan J., Kuhelj R., Turk V., Turk B.: *FEBS Lett.* 459, 358 (1999).
 44. Horn M., Jílková A., Vondrášek J., Marešová L., Caffrey C. R., Mareš M.: *ACS Chem. Biol.* 6, 609 (2011).
 45. Rawlings N. D., Barrett A. J., Finn R.: *Nucleic Acids Res.* 44, D343 (2016).
 46. Musil D., Zucic D., Turk D., Engh R. A., Mayr I., Huber R., Popovic T., Turk V., Towatari T., Katunuma N.: *EMBO J.* 10, 2321 (1991).
 47. Murata M., Miyashita S., Yokoo C., Tamai M., Hanada K., Hatayama K., Towatari T., Nikawa T., Katunuma N.: *FEBS Lett.* 280, 307 (1991).
 48. Palmer J. T., Rasnick D., Klaus J. L., Bromme D.: *J. Med. Chem.* 38, 3193 (1995).
 49. Bromme D., Klaus J. L., Okamoto K., Rasnick D., Palmer J. T.: *Biochem. J.* 315 (Pt 1), 85 (1996).
 50. Engel J. C., Doyle P. S., Hsieh I., McKerrow J. H.: *J. Exp. Med.* 188, 725 (1998).
 51. Olson J. E., Lee G. K., Semenov A., Rosenthal P. J.: *Bioorg. Med. Chem.* 7, 633 (1999).
 52. Fanfrlík J., Brahmshatriya P. S., Řezáč J., Jílková A., Horn M., Mareš M., Hobza P., Lepšík M.: *J. Phys. Chem. B* 117, 14973 (2013).
 53. Cygler M., Sivaraman J., Grochulski P., Coulombe R., Storer A. C., Mort J. S.: *Structure* 4, 405 (1996).
 54. Podobnik M., Kuhelj R., Turk V., Turk D.: *J. Mol. Biol.* 271, 774 (1997).
 55. Chowdhury S. F., Sivaraman J., Wang J., Devanathan G., Lachance P., Qi H. T., Menard R., Lefebvre J., Konishi Y., Cygler M., Sulea T., Purisima E. O.: *J. Med. Chem.* 45, 5321 (2002).
 56. Powers J. C., Asgian J. L., Ekici O. D., James K. E.: *Chem. Rev.* 102, 4639 (2002).
 57. Turk V., Stoka V., Vasiljeva O., Renko M., Sun T., Turk B., Turk D.: *Biochim. Biophys. Acta* 1824, 68 (2012).

A. Jílková, M. Horn, and M. Mareš (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Cathepsin B1 from the Human Blood Fluke: A Drug Target for Treatment of Schistosomiasis**

Schistosomiasis represents a global health problem with over 200 million people infected. It is caused by blood flukes of the genus *Schistosoma* that live in the human cardiovascular system, feeding on blood. Digestive protease cathepsin B1 of *Schistosoma mansoni* (SmCB1) plays a critical role in the proteolysis of host blood proteins and was identified as a target for chemotherapy of schistosomiasis. This review provides an update on function and structure of SmCB1, and novel intervention strategies against schistosomiasis based on SmCB1 inhibitors and vaccines.