

PROTEASE: ENZIM CATHEPSIN PADA IKAN

Protease: Cathepsin on fish

Henneke Pangkey¹

¹Dosen pada Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado

Abstract. Cathepsins are the enzyme that plays very important role in various physiologic pattern in fish. This is crucial to be observed, thus, we could produce the fish product in high quality. There are many kinds of cathepsins, however in this paper we will discuss the cathepsin B, D, H, L and S that belong to the cysteine protease and aspartate protease.

Keywords: Protease, sistein protease, aspartat protease, cathepsin

PENDAHULUAN

Protease adalah semua enzim yang dapat mendegradasi polipeptida (protein). Protease dapat digolongkan ke dalam 6 golongan besar yakni: serin protease, treonin protease, sistein protease, aspartat protease, metal protease, dan asam glutamat protease. Protease biasanya dibentuk sebagai protein prekursor yang besar yang disebut zymogen. Protease diaktifkan melalui penghilangan bagian inhibitor (faktor penghambat) yang juga adalah protein. Aktifasi terjadi ketika protease dikirim ke tempat yang spesifik seperti lisosom atau lingkungan ekstraseluler seperti lambung. Sistem akan menghambat sel memproduksi protease dengan merusak protein tersebut. Inhibitor (penghambat) protein/enzim itu sendiri biasanya merupakan protein yang berada pada domain yang sama yang menghambat sisi aktif enzim (protease) untuk mencegah masuknya substrat. Inhibitor dapat merupakan inhibitor yang kompetitif (inhibitor yang terikat pada sisi aktif sehingga menghambat

interaksi enzim-substrat); sedangkan inhibitor yang non-kompetitif adalah inhibitor yang terikat pada sisi alosterik daripada enzim (mengubah sisi aktif yang mencegah substrat untuk berinteraksi dengan enzim).

Cathepsin berasal dari bahasa Yunani kuno yaitu *kata-* yang berarti 'down' dan *hepsin* yang berarti 'boil'. Ada beberapa macam cathepsin yang dapat dibedakan atas perbedaan struktur, mekanisme katalitik serta protein yang didegradasi oleh enzim ini. Hampir seluruh jenis cathepsin aktif pada pH rendah dan berada di lisosom, sehingga seluruh aktivitas enzim cathepsin selalu berada di organ ini. Cathepsin memiliki peran yang sangat vital pada proses 'turnover' dalam sel. Hal ini sangat penting dalam proses penanganan paska panen produk akuakultur serta berbagai fungsi fisiologi lainnya. Dalam sel, cathepsin mendegradasi polipeptida dan dapat dibedakan oleh kekhususan substratnya.

CATHEPSIN

Cathepsin dapat digolongkan ke dalam sistein protease (cathepsin B, H, L dan S), aspartat protease (cathepsin D) dan serin protease (cathepsin G) (Petanceska and Devi, 1992). Berawal dari cathepsin B yang menunjukkan sifat ketergantungan terhadap tiol (McDonald and Ellis, 1975), kemudian, ditemukan bahwa ada juga beberapa cathepsin yang memiliki karakteristik yang serupa, di antaranya cathepsin C, H (mulanya disebut cathepsin B3), J, K, L, M, N, O, S dan T. Semua enzim ini disebut sebagai sistein protease karena reaksinya terhadap perfakuan untuk aktivasi ataupun penghambatan secara khusus dan disebut juga sebagai enzim lisosom.

Diantara golongan sistein protease lisosom yang ada, cathepsin B [EC 3.4.22.1], H [EC 3.4.22.16], L [EC 3.4.22.15], S [EC 3.4.22.27] dan C [EC 3.4.14.1] adalah macam enzim yang memiliki sikuens asam amino yang sangat dekat, pola pelipatan yang hampir sama, memiliki gugus katalisa yang sama serta tergolong ke dalam famili

enzim papain (Dolene, *et al.*, 1992; Kuribayashi *et al.*, 1993; dan Turk *et al.*, 1996). Cathepsin B, H, L dan S memegang peranan penting pada berbagai proses fisiologi dalam sel seperti aktivasi pro-enzim, degradasi protein dan "turnover", produksi antigen, pematangan hormon, pembaharuan jaringan dan pembentukan jaringan tulang (Schwartz and Bird, 1977; Takahashi and Tang, 1981; Katunuma and Kominami, 1987; Joseph, *et al.*, 1988; Ritonja *et al.*, 1988; Gairola, *et al.*, 1989; Sheahan *et al.*, 1989; Trabandt, *et al.*, 1991; Duffy, 1992; Eakin, *et al.*, 1992; Yamasaki, *et al.*, 1992; Esser, *et al.*, 1994; Kirschke and Wiederanders, 1994; Boulay, *et al.*, 1996 dan Gerbaux, *et al.*, 1996). Aktivitas proteolitik dari enzim-enzim ini juga berhubungan dengan berbagai penyakit pada manusia seperti neoplasia, arthritis, emphysema dan penyakit Alzheimer. Jadi aktifitas enzim ini erat kaitannya dengan berbagai aksi biologi juga keadaan homeostasis.

Dilain pihak, meskipun tingkat kesamaan diantara cathepsin B, C, H, L dan S; akan tetapi para enzim ini menunjukkan karakter yang sangat berbeda dalam hal aktifitas proteolitiknya seperti cathepsin L menunjukkan kemampuan yang sangat aktif sebagai endopeptidase. Sementara itu cathepsin B sangat berperan sebagai karboksipeptidase dipeptidil (eksopeptidase), walaupun kadang-kadang enzim ini juga menunjukkan aktifitasnya sebagai endopeptidase. Cathepsin S berfungsi sebagai endopeptidase, hanya sifat yang sangat khusus dari enzim ini adalah kapasitasnya yang dapat mendegradasi substrat peptide pada pH 7. Sifat ini membuat cathepsin S berbeda dengan sistein proteinase lisosom yang lainnya (Kirschke, *et al.*, 1989). Cathepsin C berbeda dari cathepsin B, H, L dan S dalam hal cathepsin C membutuhkan ion klorida untuk aktifitas enzimnya. Enzim ini membentuk struktur oligometrik pada kira-kira 200 kDa melalui analisis filtrasi gel serta aktifitas enzim

ini dihambat oleh E-64 (Ishido, *et al.*, 1991). Hal unik lainnya dari enzim ini adalah enzim ini mempunyai daerah aktifitas pada zone pH yang berbeda yaitu pH 5 dan 7,5 (Jones, *et al.*, 1952).

Enzim yang akan kami bahas disini adalah yang berhubungan dengan enzim cathepsin yaitu yang termasuk ke dalam sistein protease dan aspartat protease yang berperan dalam ikan. Enzim sistein protease memiliki mekanisme katalitik yang membutuhkan tiol sistein pada gugus aktifnya, sedangkan golongan enzim aspartat protease adalah enzim protease yang menggunakan gugus aspartat dalam mengkatalisa substratnya. Beberapa enzim yang tergolong ke dalam sistein protease adalah actinidin, bromelain, calpain, caspase, cathepsin, mir1-CP dan papain, sedangkan enzim-enzim yang tergolong ke dalam aspartat protease misalnya HIV-1 protease, chymosin, renin, cathepsin D, pepsin dan plasmepsin.

CATHEPSIN PADA IKAN

Pada ikan, sejauh ini ditemukan ada 13 jenis cathepsin yang terdapat dalam lisosom yang juga berperan penting dalam protein "turn over" serta perubahan "postmortem" dalam otot ikan. Dari semua enzim lisosom yang ada, cathepsin B, C, D, H, L telah berhasil diisolasi dan dipelajari karakteristiknya dan semua enzim ini ditemukan berpartisipasi dalam degradasi protein secara intraseluler baik pada ikan laut maupun ikan air tawar (Yamashita dan Konagaya, 1990; Sherekar, *et al.*, 2006). Cathepsin S juga sudah berhasil dimurnikan dan ditemukan memiliki fungsi yang sama seperti pada cathepsin B, C, D, H dan L (Pangkey, *et al.*, 2000).

Meskipun cathepsin memiliki aktifitas untuk mendegradasi substrat sintetik pada pH netral; akan tetapi pada otot organisme yang hidup, sel memiliki perlindungan tersendiri dari potensi hidrolisa secara luar biasa, karena para enzim ini terbentuk secara mandiri ataupun terdenaturasi dalam kondisi fisiologi dalam sitosol serta dikontrol oleh inhibitor yang khusus baik dalam sitosol itu sendiri maupun pada area ekstraseluler. Zeece and Katoh (1989) melaporkan bahwa membran lisosom dapat luruh akibat kondisi "postmortem" yang menyebabkan pembebasan cathepsin ke sarcoplasma (jaringan otot).

Kerapuhan dari membran lisosom ini memberi kesempatan yang lebih besar terhadap kerusakan fisik demikian juga terhadap perlakuan pembekuan ataupun pencairan dari otot pada saat postmortem (Kolodziejska and Sikorski, 1996). Meskipun cathepsin otot rata-rata aktif pada pH 3-4, tetapi beberapa diantaranya masih aktif pada pH di atas

pH 7,0. Cathepsin D dijumpai masih aktif pada pH yang sangat rendah dari postmortem pada beberapa ikan. Akan tetapi, hal ini belum dapat dipastikan apakah kerja para enzim ini merupakan hal yang sangat berperan dalam hal kemunduran mutu daging dari kebanyakan ikan setelah masa pembekuan. Aoki *et al.*, (2001) menjumpai aktifitas cathepsin D pada otot putih dan merah dari 24 jenis ikan dan tidak terdapat perbedaan antara otot putih dan merah ataupun pada jenis ikan air tawar. Hasil ini menunjukkan bahwa cathepsin D tidak bertanggung jawab atas adanya perbedaan spesis pada peristiwa degradasi jaringan untuk postmortem. Makinodan (1996) juga melaporkan bahwa cathepsin D tidak berhubungan dengan degradasi jaringan pada postmortem yang disebabkan oleh pH yang rendah. Namun Porter, *et al.*, (1996) menemukan sedikit aktifitas dari enzim cathepsin D pada 4 jenis ikan yaitu Pacific whiting, arrowtooth flounder, Alaska pollack dan Pacific cod. Perbandingan dari aktivitas beberapa cathepsin dalam jaringan otot ikan seperti pada ikan cod, herring, sole, flounder, trout dan ikan mas dengan enzim-enzim yang terdapat pada otot hewan mamalia seperti tikus, sapi dan kelinci menunjukkan bahwa otot ikan mengandung 10 kali lebih banyak aktifitas enzim cathepsin (Siebert, *et al.*, 1965). Penting untuk diketahui bahwa level protease pada otot dan jaringan lain lebih kuat dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk keadaan fisiologi dari organisme saat ditangkap. Selama masa migrasi untuk bertelur, otot ikan cum salmon dan sockeye salmon menunjukkan peningkatan level aktivitas protease. Aktifitas cathepsin B, D, H dan L meningkat 3-7 kali lebih tinggi pada ikan yang sedang bermigrasi untuk

bertelur dibandingkan dengan ikan yang sedang bermigrasi untuk makan; dimana kandungan protein dan lemak menurun (Mommson *et al.*, 1980).

Dalam otot ikan salmon, peningkatan level para enzim cathepsin dianggap memegang peranan penting pada perubahan fisiologis (termasuk peningkatan kekebalan tubuh) yang terjadi pada saat kematangan seksual ketika migrasi untuk pemijahan terjadi (Yamashita and Konagaya, 1990 dan 1991). Faktor-faktor lain dapat memberi kontribusi terhadap variasi aktivitas cathepsin termasuk di dalamnya (1) bagian di mana jaringan ikan diambil pada otot ikan. Otot di bagian ekor dilaporkan menunjukkan bahwa kira-kira sebanyak dua kali aktifitas daripada otot abdominal, sementara otot yang diambil pada bagian belakang (dekat dengan sirip utama) menunjukkan aktivitas yang sedang-sedang saja; (2) bagian otot yang menunjukkan pertumbuhan, dengan ukuran yang kecil sampai kepada medium akan memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan pada ikan besar (Makinodan, *et al.*, 1984). Perbedaan dalam hal level protease akan menunjukkan keadaan fisiologis yang nyata karena laju "turnover" dari protein berdasarkan ukuran kecil dan medium tubuh ikan biasanya lebih tinggi dibandingkan dengan ikan berukuran besar.

Berdasarkan serangkaian studi autolysis pada otot ikan salmon, maka Yamashita and Konagaya (1992) menyarankan bahwa cathepsin L merupakan enzim utama yang bertanggungjawab dalam kemunduran daging ikan walaupun pengaruhnya juga diperkuat oleh aktivitas enzim cathepsin lainnya seperti cathepsin D dan E.

Efek kerusakan yang terparah dari autolysis ditemukan pada suhu 55°C selama pemanasan dari otot ikan pacific white (Morrisey *et al.*, 1993; An *et al.*, 1994), dan degradasi dari protein myofibril oleh cathepsin L adalah lebih lagi pada suhu ini (kira-kira 90% dari molekul myosin terhidrolisa dalam waktu 5 menit) (Chang Lee, *et al.*, 1989). Aktivitas protease akan berkurang sebanyak 3% dari aktivitas awal dengan menggunakan inhibitor yang khusus seperti E64, hal ini menunjukkan bahwa protease yang ada adalah sistein protease.

Di dalam menghidrolisa protein myofibril, cathepsin L dilaporkan memiliki aktivitas yang tinggi terhadap beberapa macam kolagen dan elastin. Jadi, hal ini diasumsikan sebagai penyebab disintegrasi parsial dari struktur matriks ekstraseluler awal, yang mana

memegang peran yang penting dalam penurunan mutu jaringan ikan. Cathepsin L juga dipercayakan sebagai penyebab produksi jel yang menyebabkan kemunduran mutu ikan flounder serta kemunduran mutu yang tak terkontrol dari otot ikan pacific hake yang terkena parasit *Myxosporidia* (Toyohara *et al.*, 1993). Selanjutnya, Silvester *et al.*, 2005 dan Bahaud *et al.*, 2009 menemukan bahwa peran enzim cathepsin B dan L juga ditentukan oleh jenis pakan yang diberikan pada ikan yang dibudidayakan. Tetapi, aktifitas cathepsin D dan L ditemukan tidak dipengaruhi oleh masa puasa pada ikan rainbow trout (Salem *et al.*, 2007).

Cathepsin lysosom yang lain yang secara hipotesa berperan dalam kemunduran mutu dari ikan flounder arrowtooth adalah cathepsin S (Visessanguan *et al.*, 2001). Enzim ini berbeda dari protease lysosom yang lain dalam hal aktivitas serta stabilitasnya pada nilai pH yang netral (Bromme and Kirschke, 1993). Cathepsin B dan L memiliki aktifitas yang optimal pada kondisi yang sedikit asam, biasanya pada kisaran pH 5-6, dan tidak aktif pada pH 7,0. Lagipula, cathepsin S menghidrolisa myosin demikian juga elastin dan kolagen pada kisaran pH 5-8. Karakteristik ini menunjukkan hal yang sangat penting untuk peristiwa autolysis postmortem pada protein otot ikan.

Selanjutnya, selain peran para enzim cathepsin pada kemunduran mutu daging ikan; ditemui para enzim ini berperan juga dalam proses fisiologi lainnya. Cathepsin B, D dan L ditengarai sebagai agen antimikroba pada lapisan mukosa kulit ikan (Aranishi F., 1999; Cho *et al.*, 2002). Arukwe and Goksoyr (2003); Raldua, *et al.*, 2005; dan Tan, *et al.*, (2006) menemukan cathepsin D dan B juga berperan pada pembentukan kuning telur pada ovari; hal ini akan berpengaruh pada penyimpanan telur (*cryopreservation*) (Anonim, 2005).

Selain fungsi fisiologis di atas, cathepsin B diasumsikan memiliki peran dalam aktivitasnya saat pengaturan osmoregulasi oleh ikan sidat, walaupun peran ini belum diketahui dengan jelas (Svetlana, *et al.*, 2007).

Lingkungan juga mempengaruhi aktivitas dari para enzim cathepsin, demikian pula musim dan lokasi penangkapan ikan (Kaivarainen, *et al.*, 1998) baik dari spesies ikan laut maupun ikan air tawar.

Selain pada ikan, aktivitas cathepsin juga ditemukan pada teripang laut dan *Artemia franciscana* (Butler, *et al.*, 2001; Zhu, *et al.*, 2008).

SIMPULAN

Berbagai cathepsin telah berhasil diisolasi dan dipelajari karakteristiknya serta peranannya dalam berbagai peristiwa fisiologi dalam tubuh ikan. Se jauh ini, cathepsin yang sangat berperan dalam berbagai fungsi pada tubuh ikan adalah cathepsin

B, D, H, L dan S. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan kajian karakteristik serta peran enzim-enzim ini untuk golongan non-ikan seperti udang, kepiting, lobster, dan sebagainya.

DAFTAR PUSTAKA

- An, H.J, V. Weerasinghe, T.A. Seymour, and M.T. Morrissey. 1994. Degradation of pacific whiting surimi proteins by cathepsins. *J. Food Sci.* 59 (5): 1013-1020
- Anonim. 2005. Towards the development of technologies for cryopreservation of fish oocytes. Website: <http://cryocyte.ocean.org.il>
- Aoki, T., T. Yamashita, and R. Ueno. 2001. Distribution of cathepsins in red and white muscles among fish species. *Fisheries Science*, Vol. 66 (4), p. 776 -782
- Aranishi, F. 1999. Lysis of pathogenic bacteria by epidermal cathepsins L and B in the Japanese eel. *Fish Physiology and Biochemistry*, Vol. 20, No. 1, January 1999; p. 37-41(5)
- Arukwe A. and A. Goksøyr. 2003. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. *Comparative Hepatology* 2003, 2:4
- Aoki, T., T. Yamashita, and R. Ueno. 2000. Distribution of cathepsins in red and white muscle among fish species. *Fish. Sci.*, 66:776-782
- Bahuaud, D., T.K.K. Østbye, B.E. Torstensen, A.M.B. Rørå, R. Ofstad, M.S. Veiseth, B. Thomassen, and B. Ruyter. 2009. Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle structure integrity and lysosomal cathepsins B and L influenced by dietary n-6 and n-3 fatty acids. *Food Chemistry*, 2009, 114 (4): 1421-1432
- Boulaye, C., A. Van Wormhoudt, and D. Sellos. 1996. Cloning and expression of cathepsin L-like proteinases in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus vannamei* during the intermolt cycle. *J. Comp. Physiol. B.*, 166: 310-318
- Bromme, D. and H. Kirschke. 1993. N-peptidyl-o-carbamoyl amino-acid hydroxamates-irreversible inhibitors for the study of the s2 specificity of cysteine proteinases. *FEBS Lett.* 322 (3): 211-214
- Butle, A. M., A. L. Aiton, and A. H. Warner. 2001. Characterization of a novel heterodimeric cathepsin L-like protease and cDNA encoding the catalytic subunit of the protease in embryos of *Artemia franciscana*. *Biochem. Cell Biol.* 79(1): 43-56
- ChangLee, R. A. Pacheco and L. Crawford, 1989. Proteolytic activity of surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and heatset gel texture. *J. Food Sci.* 54:1116-1119
- Cho, J.H, I.Y Park, H.S Kim, Lee W.T, Kim M.S and S.C Kim. 2002. Cathepsin D produces antimicrobial peptide parasin I from histone H2A in the skin mucosa of fish. *FASEB Journal*, 16:429-431
- Dolenc, I., A. Ritonja, A. Colic, M. Podobnik, T. Ogrine and V. Turk. 1992. Bovine cathepsin S and L: isolation and amino acid sequence. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 373, 407-412
- Duffy, M.J., 1992. The role of proteolytic enzymes in cancer invasion and metastasis. *Clin. Exp. Metastasis*, 10, 145-155.
- Eakin, A.E., A.A Mills, G. Harth, J.H. McKerrow and C.S Craik. 1992. The sequence, organization and expression of the major cysteine protease (Cruzain) from *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.*, 267: 7411-7420.
- Esse, E.R., R.A. Angelo, M.D. Murphey, L.M. Watts, L.P. Thornburg, J.T. Palmer, J.W. Talhouk and R.E. Smith. 1994. Cysteine proteinase inhibitors decrease articular cartilage and bone destruction in chronic inflammatory arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 37: 236-247.
- Gairola, C.G., N.I. Galicki, C. Cardozo, Y.L. Lai and M. Lesser. 1989. Cigarette smoke stimulates cathepsin B activity in alveolar macrophages of rats. *J. Lab. Clin. Med.*, 114: 419-425.
- Gerbaux, C., F.V. Bambeke, J.P. Montenez, J. Piret, G. Morlighem and P.M. Tulkens. 1996. Hyperactivity of cathepsin B and other lysosomal enzymes in fibroblasts exposed to azithromycin. A dicationic macrolide antibiotic with exceptional tissue accumulation. *FEBS Lett.*, 394: 307-310.
- Ishido, K., D. Munó, N. Sato and E. Kominami, 1991. Molecular cloning of cDNA for rat cathepsin C, a cysteine proteinase with an extremely long propeptide. *J. Biol. Chem.*, 266, 16312-16317.
- Jones, M.E., W.R. Hearn, W.R. Fried and J.S. Fruton. 1952. Transamidation reactions catalyzed by cathepsin C. *J. Biol. Chem.*, 195, 645-656.
- Joseph, L.J., L.C. Chang, D. Stamenkovich and V.P. Sukhatme. 1988. Complete nucleotide and deduced amino acid sequence of human and murine preprocathepsin L. *J. Clin. Invest.* 81: 1621-1629.
- Kaivarainen, E.I., N.N. Nemova, M.Y. Krupnova and L.A. Bondareva. 1998. The Effect of toxic factors on intracellular proteinase activity in freshwater fish. *Acta vet. Brno* 67, 1998: 309-316.
- Katunuma N. and E. Kominami. 1987. Abnormal expression of lysosomal cysteine proteinases in muscle wasting diseases. *Rev. Physiol. Biochem.*, 108, 1-20.
- Kirschke, H., B. Wiederanders, D. Bromm and A. Rinne. 1989. Cathepsin S from bovine spleen: Purification, distribution, intracellular localization and action on proteins. *Biochem. J.*, 264: 467-473
- Kirschke, H. and B. Wiederanders. 1994. Cathepsin S and related lysosomal endopeptidases. *Methods enzymology*, 244, 500-511.
- Kolodziejaska I and Z. Sikorski. 1996. Neutral and alkaline muscle proteases of marine fish and invertebrates. *J. Food Biochem* 20:349-363
- Kuribayashi, M., H. Yamada, T. Ohmori, M. Yanai, and T. Imoto. 1993. Endopeptidase activity of cathepsin C, dipeptidyl aminopeptidase I, from bovine spleen. *J. Biochem.* 113: 441-449

- Makinodan, Y., H. Toyohara, S. Ikeda. 1984. Comparison of muscle proteinase activity among fish species. *Comp. Biochem. Phys. B* 79 (2): 129-134.
- McDonald, J.K. and S. Ellis. 1975. On the substrate specificity of cathepsins B1 and B2 including a new fluorogenic substrate for cathepsin B1. *Life Science*, 17: 1269-1276
- Mommsen, T.P., C.J. French, P.W. Hochachka. 1980. Sites and patterns of protein and amino-acid utilization during the spawning migration of salmon. *Can J Zool*, 58 (10): 1785-1799.
- Morrissey, M., J. Wu, D. Lin. 1993. Effect of food grade protease inhibitors on autolysis and gel strength of surimi. *J. Food Sci.* 1993, 58: 1050-1054.
- Pangkey, H., K. Hara, K. Tachibana, M. Cao, K. Osatomi and T. Ishihara. 2000. Purification and characterization of cathepsin S from hepatopancreas of carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Sc.* 66: 1130-1137.
- Petanceska, S. and L. Devi. 1992. Sequence analysis, tissue distribution and expression of rat cathepsin S. *J. Biol. Chem.*, 267: 26038-26043.
- Porter, R., B. Koury and F. Stone. 1996. Comparison of cathepsin B, D, H and L activity in four species of Pacific fish. *Journal of food biochemistry*, Vol. 19 (6): 429-442
- Raldua, D., M. Fabra, M.G. Bozzo, E. Weber and J. Cerda. 2005. Cathepsin B-mediated yolk protein degradation during killifish oocyte maturation blocked by a H⁺-ATPase inhibitor: Effects on a hydration mechanism. *AJP-Regul Integr Comp Physiol*. 43 p.
- Ritonja, A., T. Popovic, M. Kotnik, W. Machleidt and V. Turk. 1988. Amino acid sequences of the human kidney cathepsin H and L. *FEBS let.*, 228: 341-345.
- Salem, M. J. Silverstein, C. E. Rexroad III and J. Yao. 2007. Effect of starvation on global gene expression and proteolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BMC Genomics* 2007, 8:328
- Schwartz, W.N. and J.W.C Bird. 1977. Degradation of myofibrillar proteins by cathepsin B and D. *Biochem. J.*, 167, 811-820.
- Sheahan K., S. Shuja and M.J Murnane. 1989. Cysteine protease activities and tumor development in human colorectal carcinoma. *Cancer Res.*, 49: 3809-3814.
- Sherekar, S.V., M. S. Gore, and V. Ninjoor. 2006. Purification and characterization of cathepsin B from the skeletal muscle of fresh water fish, *Tilapia mossambica*. *Journal of Food Science*, Vol. 53 (4): 1018-1023
- Siebert, G., A. Schmitt, and R.Vonmalor. 1965. Reinigung und eigenschaften von dorschmuskel-kathepsin. *H-S Z Physiol Chem* 342 (1-3): 20-27
- Silverstein, J., B.L. Brazil, M.S. Salem, M.K. Cox, K.P. Blenkins, J. Yao. 2005. Ammonia excretion as an indicator of growth efficiency. *Aquaculture America Conference. Aquaculture America Book of Abstracts*, p. 285
- Svetlana, K., I. S. McWilliam, V. A. Zaguinaiko, A. L. Feilen, J. Nicholson, N. Hazon, C. P. Cutler and G. Cramb. 2007. Transcriptomic approach to the study of osmoregulation in the European eel *Anguilla Anguilla*. *Physiological Genomics*, 31:385-401
- Takahashi, T. and J. Tang. 1981. Cathepsin D from porcine and bovine spleen. *Methods enzymology*, 80: 565-581
- Tan, Y., K. Osatomi, M. Nagae and K. Hara. 2006. Primary structure and mRNA expression of carp (*Cyprinus carpio*) cathepsin B. *Bull. Fac. Fish., Nagasaki Univ.*, 87: 7-14.
- Toyohara, H., M. Kinoshita, I. Kimura, M. Satake, M. Sakaguchi. 1993. Cathepsin L-like protease in pacific hake muscle infected by myxosporidian parasites. *Nippon Suisan Gakk* 59 (6): 1101-1101
- Trabandt, A., R.E Fassbender and S. Gay. 1991. Cathepsin B in synovial cells at the site of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 34: 1444-1451
- Turk, D., M. Podobnik, R. Kuheš, M. Dolinar and V. Turk. 1996. Crystal structures of human procathepsin B at 3.2 and 3.3 Å resolution reveal an interaction motif between a papain-like cysteine protease and its propeptide. *FEBS Lett.*, 384, 211-214.
- Turk, B. V. and D. Turk. 1997. Structural and functional aspect of papain-like cysteine proteinases and their protein inhibitors. *Biol Chem* 378: 141-150
- Visessanguan, W., A.R Menino, S.M Kim, and H. An. 2001. Cathepsin L: A predominant heatactivated proteinase in arrowtooth flounder muscle. *J. Agr. Food Chem*, 49 (5): 2633-2640.
- Yamasaki, H., E. Kominami and T. Aoki. 1992. Immunocytochemical localization of a cysteine protease in adult worms of the liver fluke *fasciola sp.* *Parasitol Res.*, 78: 574-580
- Yamashita, M., S. Konagaya. 1992. Differentiation and localization of catheptic proteinases responsible for extensive autolysis of mature chum salmon muscle (*oncorhynchus-keta*). *Comp. Biochem. Phys. B* 103 (4): 999-1003.
- Yamashita, M. and S. Konagaya. 1990. High activities of cathepsins B, D, H and L in the white muscle of chum salmon in spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 95B (1): 149-152
- Yamashita, M. and S. Konagaya. 199. Increase in catheptic activity and appearance of phagocytes in the white muscle of chum salmon during spawning migration. *Biomed Biochim. Acta*, 50 (4-6): 565-567
- Zeece, M and K. Katoh. 1989. Cathepsin D and its effects on myofibrillar proteins. *J. Food Biochem.* 13:157-178
- Zhu, B.W., L. Zhao, L.M. Sun, D.M. Li, Y. Murata, L. Yu, and L. Zhang. 2008. Purification and characterization of a cathepsin L-like enzyme from the body wall of the sea cucumber *Stichopus japonicas*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 72, No.6: 1430-1437