

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ  
Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій  
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

**Дипломна магістерська робота**

на тему: Комп'ютерні методи аналізу та моделювання структури колагену

Виконала: студентка 2 курсу, групи МгЗБТ-20

Спеціальності 162 Біотехнології та

біоінженерія освітньої програми

Біотехнологія високомолекулярних сполук

Тетяна ПЕТРОВСЬКА

Керівник: к.б.н. Ігор ГРЕЦЬКИЙ

Рецензент: к.б.н. Любов ЗЕЛЕНА

Київ 2021

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА  
ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій  
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра  
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія  
Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри  
біотехнології, шкіри та хутра  
д.т.н., проф. Олена МОКРОУСОВА

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ року

**ЗАВДАННЯ**  
**НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**  
**Петровської Тетяни Олександрівни**

1. Тема роботи: **Комп'ютерні методи аналізу та моделювання структури колагену**  
Науковий керівник роботи к.б.н. Ігор ГРЕЦЬКИЙ  
затверджені наказом вищого навчального закладу від  
«04» жовтня 2021 року №286.
2. Строк подання студентом роботи \_\_\_\_\_
3. Вихідні дані до роботи: завдання на дипломну магістерську роботу; наукова література щодо комп'ютерних методів аналізу та моделювання білків, дані з структури колагену; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.
4. Зміст дипломної роботи: вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, експериментальна частина, висновки, список використаних джерел, додатки.

## 5. Консультанти розділів дипломної магістерської роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	Ігор ГРЕЦЬКИЙ, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Розділ 2	Ігор ГРЕЦЬКИЙ, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Розділ 3	Ігор ГРЕЦЬКИЙ, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		

6. Дата видачі завдання 04.10.2021.

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ		
2	Розділ 1 Огляд літератури		
3	Розділ 2 Матеріали та методи дослідження		
4	Розділ 3 Експериментальна частина		
5	Висновки		
6	Оформлення дипломної магістерської роботи		
7	Подання дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування		
8	Перевірка дипломної магістерської роботи на наявність ознак плагіату		
9	Подання дипломної магістерської роботи у відділ магістратури для перевірки виконання індивідуального плану		
10	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри		

Студент \_\_\_\_\_

Тетяна ПЕТРОВСЬКА

Науковий керівник роботи \_\_\_\_\_

Ігор ГРЕЦЬКИЙ

Директор НМЦУПФ \_\_\_\_\_

Олена ГРИГОРЕВСЬКА

## АНОТАЦІЯ

Тетяна ПЕТРОВСЬКА Комп'ютерні методи аналізу та моделювання структури колагену .- Рукопис.

Дипломна магістерська робота за спеціальністю 162 – Біотехнологія та біоінженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2021 рік.

В дипломній магістерській роботі розглянуті дані про фізико-хімічні властивості колагену, які зберігаються за допомогою електродіалізу, що повністю показує його переваги в експерименті. Тому можна припустити, що електродіаліз також може покращити середовище виробництва рибного колагену

Детально описані методи за допомогою яких можна виконувати моделювання структури будь-якого колагену, пошук та співставлення різних білків на предмет гомології, показана візуалізація. Проведено дослідження інструментів, які використовують ці методи та дають точний результат вирішення задачі.

**Ключові слова:** Тваринний колаген, рибний колаген, гомологічне моделювання, T-Coffe, Clustal Omega, Swiss-model, Prodigy.

## ANNOTATION

Tetiana PETROVSKA Computer methods of analysis and modeling of collagen structure.- Manuscript.

Master's thesis in specialty 162 - Biotechnology and Bioengineering. - Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2021.

In the master's thesis data on the physicochemical properties of collagen, which are stored by electro dialysis, which fully shows its benefits in the experiment. Therefore, it can be assumed that electro dialysis can also improve the environment for the production of fish collagen

The methods by which it is possible to perform modeling of the structure of any collagen, search and comparison of different proteins for homology are described in detail, visualization is shown. A study of tools that use these methods and give an accurate result of the problem.

**Key words:** Animal collagen, fish collagen, homologous modeling, T-Coffe, Clustal Omega, Swiss-model, Prodigy.

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	8
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	11
1.1. Загальна характеристика колагену та його склад.....	11
1.2. Види колагену та їх класифікація.....	14
1.3. Пептиди та гідролізат колагену.....	17
1.4. Форми випуску препаратів колагену.....	19
Висновок до розділу 1.....	20
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b> .....	22
2.1. Колаген морського походження. Рибний колаген.....	22
2.2. Гомологічне моделювання рибного колагену.....	31
2.3. Методика порівняння послідовностей рибного колагену.....	36
Висновок до розділу 2.....	51
<b>РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА</b> .....	52
3.1 Застосування методу T-Coffee.....	52
3.2 Застосування методу Clustal Omega .....	53
3.3 Застосування веб-серверу SWISS MODEL.....	55
3.4 Застосування веб-сервісу PRODIGY .....	62
Висновок до розділу 3 .....	65
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	66
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	67
<b>ДОДАТКИ</b> .....	71

## ВСТУП

Колаген є різновидом біосумісного білкового матеріалу, який широко використовується в медичній тканинній інженерії, доставці ліків, косметичі, їжі та інших галузях. Через широке джерело, низьку вартість видобутку та хороші фізико-хімічні властивості він привернув увагу багатьох дослідників останніми роками. Однак застосування колагену, отриманого з наземних організмів, обмежене через наявність хвороб, релігійних вірувань та інших проблем. Тому вивчення ширшого кола джерел колагену стало однією з головних тем для дослідників.

Колаген є найбільш поширеним білком в організмі людини і є основним будівельним матеріалом для кісток, хрящів, сухожиль, зв'язок і шкіри. Молекули колагену мають вирішальне значення для організації тканин і фізіології, їх функції варіюються від великої механічної міцності до делікатних інструкцій до рецепторів клітин. Усього науці поки що відомо 28 типів колагену, з яких в організмі людини було виявлено як мінімум 16. При цьому переважна більшість даного білка (більше 90 %) у наших тілах представлена типами I, II та III.

*Актуальність* даної роботи полягає у дослідженні різних типів колагену і виявленні найефективнішого колагену для людини, методом моделінгу структури білків та програмувань його просторової структури. Але як вибрати ефективний колаген, щоб вирішити проблеми із суглобами або зменшити зморшки за допомогою прийому колагену всередину. Чи варто купувати морський колаген або колаген, отриманий з кісток і шкіри тварин? Яка різниця між типом I, II та III — чимось, що багато брендів рекламують на етикетці препаратів. Що таке гідролізований колаген. Таким чином, ці питання та їх вивчення і застосування типів колагену, його властивостей сьогодні представляється вкрай актуальним.

*Мета дослідження* – проаналізувати різні типи колагену, провести їх гомологічне моделювання та визначити оптимальну модель структури колагену.

*Завдання дослідження:*

1. Дослідити типи колагену та застосування колагену, отриманого з наземних організмів .
2. Визначити ефективність впливу тваринного та морського колагену на людину.
3. Дослідити та порівняти структурні зразки гомологічного моделювання рибного колагену типу I між собою.
4. Визначити оптимальну модель даної структури-зразка моделі рибного колагену та зробити оцінку її ефективності в організмі людини.

*Об'єкт дослідження* – гомологічне моделювання структури колагену.

*Предмет дослідження* – оцінка структури колагену при гомологічному моделюванні.

*Методи дослідження* – біоінформаційні, статистичні, молекулярний докінг.

*Наукова новизна.* У роботі узагальнено методи вилучення та характеристики морського колагену та отримано оцінки різних структур – зразків рибного колагену для подальшого їх застосування.

*Практичне значення.*

Запропоновано процедуру визначення гомологічного моделювання структури-зразка, групування шуканої структури до структури зразка, побудова моделі та оцінка її якості морського колагену типу I та вплив на його організм людини.

*Апробація.* Основні результати роботи представлено на конференціях:

1. XII Міжнародна науково-практична конференція "TOPICAL TENDENCIES OF SCIENCE AND PRACTICE", Едмонтон, Канада, 07-10 грудня 2021р.

*Публікації:*

1. Petrovska T., Hretskyi I. Simulation of protein structure *ab initio* // Topical tendencies of science and practice. Abstracts of XII International Scientific and



Practical Conference. Edmonton, Canada. 2021. Pp. 82-83. Available at : DOI: 10.46299/ISG.2021.II.XII [27].

*Структура і обсяг.* Дипломна магістерська робота складається зі вступу, трьох розділів, 30 рисунків, 10 таблиць, чотирьох висновків, списку з 27 використаних джерел, додатків. Обсяг дипломної магістерської роботи 67 сторінок.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Загальна характеристика колагену та його склад

Колаген — це свого роду біологічна макромолекула, яка є найбагатшим білком в організмі людини, на його частку припадає понад 30% загального білка організму. Це основний матеріал позаклітинного матриксу шкіри, кісток, зв'язок, хрящів і сухожиль. Більше 90% людського колагену відноситься до типу I, тоді як інші поширені типи колагену включають типи II, III і IV.

Колаген – це тример, що складається з трьох поліпептидних  $\alpha$ -ланцюгів. I він має типову структуру потрійної спіралі та багатий на залишки гліцину, проліну та гідроксипроліну. Колаген – фібрилярний білок, що є каркасом наших внутрішніх органів, суглобів та шкіри та забезпечує їх еластичність.

Синтез колагену – це складний ферментативний процес, який має бути забезпечений належною кількістю вітамінних та мінеральних елементів. Синтез відбувається і у фібробласті, і поза ним також.

Так, утворення найважливішої для колагену амінокислоти, гідроксипроліну, проходить виключно за допомогою ферменту «пролінгідроксилази», а цей фермент знаходиться в активній формі тільки якщо складається з двовалентного заліза, а двовалентність заліза забезпечує саме вітамін С.

Усього налічують 28 типів колагену (табл. 1.1), але що цікаво, гліцин – це обов'язкова амінокислота, яка є в будь-якому з типів. Колаген, як білкова сполука, складається з 18 амінокислот, майже половина з яких є незамінними, з яких в організмі людини було виявлено як мінімум 16. При цьому переважна більшість даного білка (більше 90 %) у наших тілах представлена типами I, II та III.

Таблиця 1.1.

**Відомі типи колагену та його роль організму**

Клас	Тип	На що впливає
Фібрілоутворюючі (фібрилярні)	I	Кістки, шкіра, сухожилля, зв'язки, рогівка, дентин
	II	Хрящі, склоподібне тіло в очах
	III	Шкіра, м'язи, кровonosні судини,
	V	Кістки, дерма, ембріональні тканини, пов'язані з типом I
	XI	Хрящі, міжхребцеві диски, пов'язані з типом II
	XXIV	Кістки, роговиця
	XXVII	Хрящі
Пов'язані з фібрилами колагени з преривчастими потрійними спіралями	VII	Сечовий міхур, дерма
	IX	Хрящі, роговиця
	XII	Сухожилля, дерма
	XIV	Кістки, дерма, хрящі
	XVI	Нирки, дерма
	XIX	Базальна мембрана
	XX	Роговиця у курчат
	XXI	Нирки, шлунок
	XXII	З'єднання тканин
	XXVI	Яєчники у жінок, сім'яні канали у чоловіків
Мережоутворюючі	IV	Базальна мембрана
	VI	М'язи, дерма, роговиця, хрящі
	VIII	Мозок, шкіра, нирки, серце
	X	Хрящі
	XXVIII	Дерма, сідничний нерв
Мембранозв'язані білки з преривчастими потрійними спіралями	XIII	Дерма, очі, ендотеліальні клітини
	XVII	Напівдесмосоми в епітелії
	XXIII	Серце, сітчатка
	XXV	Серце, сім'яні канали, мозок
Мультиплексні	XV	Капіляри, сім'яні канали, нирки, серце
	XVIII	Печінка, базальна мембрана

Більшість цих типів колагену не представлені на ринку харчовими добавками, але їх можна отримувати з білкової їжі, кісткового бульйону та

мультиколагенових порошоків. Збалансоване харчування є ідеальним варіантом, оскільки багато важливих колагенів, таких як тип V, що відповідає за якість волосся і плаценти, практично не входять до складу добавок.

Сучасні дослідження, що проводяться в даній галузі, направлені не те, щоб отримати особливий колаген для вживання, але на ринку в широкому доступі представлені всього 4 типи: I, II, III і IV. Розглянемо їх властивості трохи докладніше, а потім перейдемо до кращих джерел цих колагенів: морський, коров'ячий, курячий та ін.

Типи колагену

*Тип I – найкращий колаген для шкіри та інших косметичних цілей*

Колаген типу 1 - найпоширеніший і вивчений тип колагену в організмі людини. За різними оцінками він займає від 75 до 90% колагену! Його волокна зокрема утворюють шкіру, сухожилля та зв'язки. Він допомагає формувати кістки, сприяє загоєнню ран, надає шкірі еластичність та зміцнює тканини. Прийом гідролізату колагену I типу збільшив у жінок, котрі його використовували вміст вологи у роговому шарі та покращив еластичність шкіри. Це призвело до більшої гладкості, зменшення зморшок та шорсткості.

*Колаген типу II – найкраще, що ви можете купити для суглобів*

Здоров'я наших суглобів безпосередньо залежить від хряща, який у свою чергу формується з колагену типу II з набагато меншими кількостями колагенів типу IX і типу XI (таблиця 1.1). З цієї причини він вважається найбільш корисним для запобігання болю в суглобах та різних симптомів артриту. У середньому колаген типу 2 становить до 10% всього колагену в організмі людини.

*Тип III – підтримує шкіру та інші органи*

Можна сказати, що фібрилярні колагени типу I, III та V діють на шкіру спільно. Саме за рахунок них, переважно, забезпечується її еластичність і пружність. При цьому колаген типу III є найважливішим компонентом позаклітинного матриксу – основи сполучної тканини. Він утворює кровоносні судини та тканини в серці, а також пов'язаний з еластичними

властивостями шкіри, легень, кишківника та інших органів. Дефіцит колагену типу III навіть може підвищити ризики розриву судин та ранньої смерті.

А ось колаген II типу з ними зовсім «не товаришує», тому перш ніж починати прийом колагену спочатку визначте яку проблему вам потрібно вирішити в першу чергу і як приймати колаген правильно.

*Колаген типу IV – для шкіри, нервів, судин та органів у цілому*

Цей колаген входить до складу і відповідає за міцність базальної мембрани, яка є тонким шаром гелеподібної рідини та забезпечує прокладку між сполучною тканиною та клітинами епітелію або ендотелію. Перші вистилають поверхню тіла (у вигляді епідермісу), органи травлення та дихальні шляхи, а також входять до складу оболонок органів, м'язів та жиру. Другі вистилають судини та порожнини серця.

## **1.2 Види колагену та їх класифікація**

Види колагену – морський, тваринний та рослинний

*Морський колаген.* Серед медиків та фахівців вважається найкращим і легко засвоюваним. Його ефективність пояснюється тим, що мікроелемент морського походження аналогічний людському, звідси такий сприятливий вплив. Він добре проникає в кров, повністю розчиняючись у ній. Основне джерело – луска та кістки морських риб. Один з найбільш дорогих засобів, але результат після застосування приголомшливий.

Чи є різниця між рибним і морським колагеном? Як правило, колаген, який продається як «морський колаген», насправді не з морської риби. Промисловий рибний колаген зазвичай отримують з прісноводної риби, причому двома найпоширенішими джерелами є *Pangasius* і *Tilapia*. Колаген, отриманий зі шкіри Пангасіуса і Тілапії, містить більше гліцину, проліну і гідроксипроліну, які є амінокислотами, які підвищують стабільність потрійної спіралі колагену в порівнянні з іншими джерелами морського колагену. Ці три амінокислоти, з яких складається колаген, мають

незвичайний склад і послідовність. Найпоширенішими мотивами в амінокислотній послідовності колагену є: «XY-Gly», де кожна третя амінокислота - гліцин, а X і Y - будь-яка інша амінокислота, найчастіше пролін і гідроксипролін.

Вміст гідроксипроліну визначається кількісно, оскільки ця амінокислота майже лише міститься в колагені і є важливим маркером термічної стабільності колагену завдяки його здатності утворювати водневі зв'язки між поліпептидними ланцюгами. Чим більше гідроксипроліну знайдено, тим стабільніше потрійна спіраль колагену .

*Тваринний колаген.* Потрібно відзначити, що цей вид засвоюється набагато гірше, ніж морський. Справа в тому, що синтезовані речовини тваринного походження мають мало спільного з людськими. Організму людини потрібно більше часу та ресурсів, щоб отримати всі необхідні мікроелементи та розпочати роботу. Єдине, чим він приваблює покупців – низька вартість та доступність. Видобувається зі шкіри, кісток, хрящів свійської птиці, великої рогатої худоби, свинини.

*Рослинного колагену* не існує. Така речовина в жодному стеблі, квітці або листі не міститься. Наразі не існує веганського джерела колагену, хоча вчені шукають рослину, структурно подібну. Один несподіваний приклад: листя зеленого чаю. Відомо, що він допомагає стимулювати виробництво колагену та запобігає його руйнуванню. У нашому тілі вже є колаген, який робить дивовижну роботу. Головне – підтримувати його, щоб він міг продовжувати виконувати свою роботу.

Найпопулярнішими джерелами для колагенових добавок є різні частини яловичини, свинини, риби, курки та мембрани з яєчних шкаралуп (табл. 1.2).

## Класифікація і роль колагену

Тип	Перевага	Джерело
I	До 90% всього колагену в організмі. Допомагає у загоєнні ран і згортанні крові. Може знизити прояви целюліту. Зменшувати зморшки, покращує якість і еластичність шкіри	Риб'ячий і загалом морський колаген, яєчний білок, пептиди коров'ячого колагену, кістковий бульйон, багаті білком продукти, особливо риба і яловичина
II	Відповідає за здоров'я суглобів. На відміну від типу I знаходиться в більш еластичних тканинах і краще засвоюється після перорального прийому	Кістковий бульйон, курячі хрящі, протеїнові порошки, багаті білком, продукти, зокрема курка
III	Покращує структуру м'язів, Органів, шкіри і судин. Допмагає м'язам рости, підтримує здоров'я кишечника і сприяє згортанню крові	Пептиди коров'ячого колагену, кістковий бульйон, багаті білком продукти, особливо риба і яловичина
IV	Допомагає у фільтрації крові, підтримує здоров'я шкіри і всього організму	Білки яєць та інші багаті білком продукти, рідко зустрічається в добавках колагену
V	Міститься в плаценті і сприяє неонатальному розвитку. Міститься у шкірі, волоссі, підтримує здоров'я очей	Мультиколагенові протеїнові порошки, багаті білком продукти, яєчні білки
X	Важливий для формування кісток і суглобових хрящів, загоєння переломів	Мультиколагенові протеїнові порошки, багаті білком продукти, яєчні білки

Подивимося, чим ці колагени принципово відрізняються і коли вони приносять більше користі організму:

1. *Бичачий (коров'ячий або яловичий) колаген* зі шкіри, м'язів та зв'язок корів містить в основному колагени типів I і III, тому він ефективний для підтримки шкіри та волосся. У ньому багатий запас гліцину та проліну, що робить його корисним для нарощування м'язової маси та збільшення вироблення організмом власного колагену. У той же час коров'ячий колаген з хряща містить більше колагену типу II і підходить для відновлення суглобів. Тим не менш, морський (риб'ячий) колаген вважається більш ефективним для підвищення рівня колагену в організмі та покращення стану шкіри, волосся та нігтів.

2. *Курячий колаген* містить багато колагену типу 2, а тому найкраще підходить для оздоровлення суглобів. Цей його ефект посилюється вмістом у курячому колагені двох таких речовин з омолоджуючим ефектом, як хондроїтинсульфат та глюкозаміну сульфат. При цьому джерело колагену не підходить для зменшення ознак старіння шкіри.

3. *Риб'ячий колаген* легко засвоюється організмом і забезпечує його колагеном типу I з амінокислотами гліцин, пролін та гідроксипролін. Споживання риб'ячого колагену пов'язане з користю для всього організму, включаючи суглоби, судини, волосся, шкіру та інші органи. Завдяки низькій молекулярній вазі він всмоктується в 1,5 рази ефективніше порівняно з бичачим або свинячим колагеном. Відлякати від нього вас може лише 2 моменти: висока ціна та алергія на рибу.

4. *Колаген мембрани* яєчної шкаралупи містить в основному колаген типу 1, з деякою кількістю колагенів типів 3, 4 і 10. У ньому також присутні вже згадуваний вище глюкозамін сульфат, хондроїтин сульфат, гіалуронова кислота і різні амінокислоти, які корисні для формування , нарощування м'язової маси та зменшення болю.

5. *Свинячий колаген*. Пептиди свинячого колагену зазвичай мають порівняно низьку вартість і, як коров'ячий, містять колагени типу III і типу I. Це робить його ефективним для підтримки шкіри та волосся, хоча засвоюється він далеко не так добре, як морський.

### **1.3 Пептиди та гідролізат колагену**

Який колаген краще вживати – природний, желатиновий, гідролізований.

Від способу багато в чому залежить ефективність лікування. Одні засвоюються гірше, інші – краще.

*Природний* – колаген, що надходить до організму разом із їжею. У великій кількості міститься у шкірі та хрящах сільськогосподарських тварин. Однак його добової норми недостатньо, оскільки речовина складна, на



перетравлення та всмоктування в кров йде досить багато часу. Не рекомендується людям, які страждають від порушень у роботі шлунково-кишкового тракту.

*Желатин* - це популярні препарати, що приковують увагу покупців. Дуже не настільки ефективно, як його рекламують. У перетравленні бере активну участь спеціальний фермент желатиназу. Тому тільки цілком здорова людина може вживати цей препарат. Тим, хто має проблеми, він не рекомендується. Дані препарати роблять кров густішою, що загрожує негативними наслідками.

*Гідролізований колаген* -це означає, що холодні ферменти були додані до білка для його розщеплення», і насправді є просто більш обробленою формою колагену. Чим більше розщеплений білок, тим легше його перетравлювати та використовувати організм. Отже, якщо ви хочете почати використовувати колаген в медицині, ви можете розглянути добавку, завдяки цьому добавка легше засвоюється, ніж колаген, що надходить з їжею . (Знову ж таки, колаген - це великий білок.)

*Пептиди* – молекули білка (рис. 1.1) Такі препарати дуже ефективні. Вони швидко проникають у кров, після чого прямують у місця, які відчують гостру нестачу колагену. Однак це не означає, що ефект буде однаковим для всіх. Головний принцип дії засобу – допомога там, де організм найбільше його потребує.

Тобто, якщо людина приймає колаген для покращення стану шкіри, але при цьому у неї великі проблеми із суглобами – отже, всі корисні елементи впливатимуть саме на суглоби. Але у будь-якому випадку добавка дуже корисна, шкоди від неї не буде.

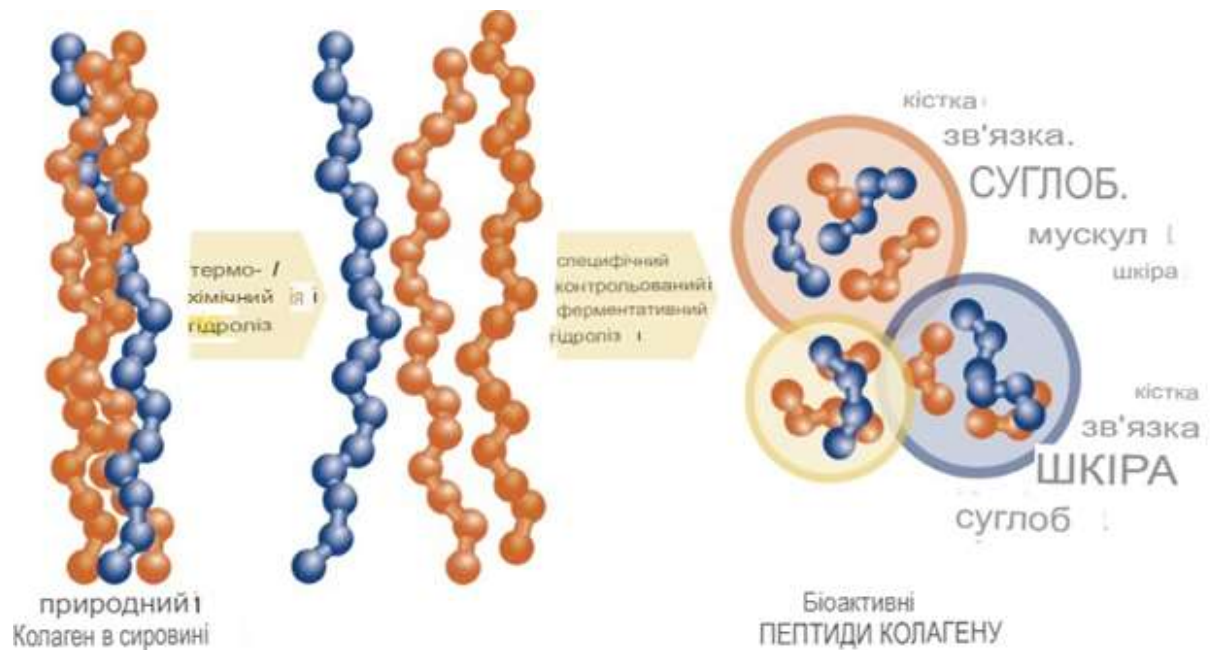


Рис. 1.1. Молекули білка

Іншими словами, потягнувши кістковий бульйон і з'ївши тріску на вечерю, ви отримаєте користь. Ось чому колаген — це білок з потрійною спіраллю, що, означає, що він складається з трьох ниток, звитих разом, щоб створити одну сильну молекулу. Це великий, складний білок. Хоча співвідношення і концентрація амінокислот можуть відрізнятися від джерела до джерела, структурно колаген однаковий, незалежно від того, чи надходить він від корови, курки чи риби.

#### 1.4 Форми випуску препаратів колагену

Ефективність препарату багато в чому визначає форма випуску колагену:

*Рідкий колаген* - приймається за півгодини або за годину до їжі. Слід відповідально поставитися до зберігання, зокрема, температурного режиму.

*Порошок* – найбільш доступна та зручна форма. Добавка починає діяти відразу при потраплянні в кров. Розбавляється невеликою кількістю рідини, випивається за півгодини до початку прийому їжі. Слід приймати по пакетику.

*Капсули* теж добре впливають на організм людини. По ефективності значно поступається порошку, оскільки потрібен час для перетравлення оболонки. Вартість досить висока. Випивати по капсулі до їжі, за 30-60 хвилин.

*Пігулки* - теж аналог ефективний аналог. Однак на нього потрібен час – приймати за півгодини-годину до їжі, чекати на засвоєння протягом 45 хвилин. Денна доза становить 6 таблеток, тоді ефект буде.

**Висновок до розділу 1:** Історія розвитку виробництва колагену розпочалася саме з тваринного колагену, який набагато легше добувати, ніж рибний. Зайшовши до ринку задовго до рибного, тваринний колаген, не маючи аналога, встиг завоювати своїх покупців. Однак, з розвитком промислового виробництва морського колагену, стали очевидними його незаперечні плюси перед тваринним колагеном. Справа в тому, що розмір молекул тваринного колагену набагато більший, ніж у рибного, що робить процес його проникнення в глибокі шари шкіри більш скрутним.

Однак для ефективного впливу на організм, що омолоджує, молекули колагену повинні вбудовуватися в структури людського організму, а тут тваринний колаген працює набагато гірше, ніж рибний. Рибний колаген за своїм біохімічним складом практично ідентичний людському, що робить його вбудовуваність у людські білки практично природним. За аналогією, морський колаген, що абсолютно підходить за розміром, легко вбудовується в структури людського білка. Крім того, незважаючи на те, що і тваринний і рибний колаген мають однаковий набір амінокислот, вони відрізняються різною кількістю окремих амінокислот, що робить структуру і властивості морського колагену в рази кориснішим, ніж тварини. Що містяться в невеликій кількості в тваринному колагені, такі амінокислоти як: гідроксипролін, пролін, гліцин, серин, тирозин, аланін, глутамінова і аспарагінова кислоти, які необхідні для запуску процесу синтезу колагену в організмі, містяться в підвищеній кількості саме в рибному колагені.

Клінічні дослідження тваринного та рибного колагенів виявили вигідну відмінність морського білка в амінокислотному складі, структурі, розмірах молекул, що робить його набагато ефективнішим для вживання. Висновок напрашується сам собою: рибний колаген запускає природні процеси утворення власного колагену в організмі набагато швидше та ефективніше, ніж тварина.

Крім того, численні дослідження довели, що оброблений якісний рибний колаген викликає менше алергічних реакцій у людей, схильний до різного роду алергій. Крім того, жодні хвороби, на кшталт страшних хвороб від великої рогатої худоби, як ящур чи коров'яче сказ, з рибним колагеном споживачеві точно не передаються, а від риби до людини жодних захворювань не передається зовсім.

На смак, зрозуміло, мікро гранульований порошок рибного колагену, що пройшов 4 стадії очищення, включаючи ультра і нано фільтрацію жодних натяків на рибу не має, так що в цьому плані вибирати рибний колаген можна навіть тим, хто не переносить морепродукти та їх запах . Крім того, важливо, що саме рибний колаген виключно добре підходить для людей, які проповідують релігії, у яких заборонено свинину, яка часто використовується для виготовлення тваринного колагену.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Колаген морського походження. Рибний колаген

Колаген морського походження має хорошу біологічну сумісність і біологічно розкладається. В останні роки вчені провели широкі дослідження харчових емульсій та біомедичних застосувань. Колаген морського походження можна витягти з продуктів рибних відходів, які є економічним і стійким джерелом колагену і можуть використовуватися як альтернатива наземному колагену.

Наземний колаген несе ризик передачі зоонозних захворювань, таких як губчаста енцефалопатія великої рогатої худоби та хвороби рук, ящуру. З релігійних міркувань колаген, отриманий зі свиней, не можна використовувати в деяких продуктах харчування. Протеїн колагену морського походження має дуже важливе застосування в їжі, його можна використовувати, як харчову емульсію для інкапсуляції риб'ячого жиру для захисту. Він має керівне значення для рецептури м'ясних продуктів з низьким вмістом жиру і є корисним для підвищення безпеки харчових продуктів і харчової цінності.

Колаген морського походження широко використовується в медичній тканині, особливо в інженерії кісткової тканини, інженерії хрящової тканини та функціональному відновленні тканин шкіри (рис. 2.1). Хороша біосумісність робить його найкращим шаблоном для росту клітин. У той же час каркаси, виготовлені з колагену морського походження, можуть дозволити клітинам жити в тривимірному просторі. Крім того, завдяки своїй здатності до біологічного розкладання, морський колаген може бути хорошою системою інкапсуляції ліків і системою тривалого вивільнення для підвищення ефективності доставки ліків.

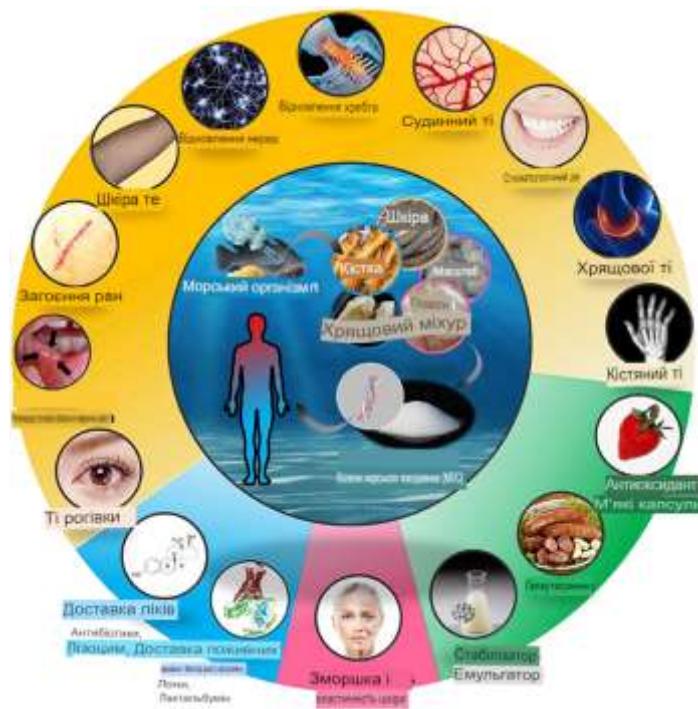


Рис. 2.1. Застосування колагену морського походження для різних областей здоров'я людини.

Однак колаген морського походження також має характеристики низької механічної міцності та швидкої деградації *in vivo*, які можна вирішити шляхом зшивання з іншими природними або синтетичними полімерами. Таким чином, 25% зшивання глутаральдегідом може покращити механічну міцність та характеристики деградації колагенової мембрани. Залишковий глутаровий альдегід після зшивання обробляють гліцином.

На даний момент на ринку представлено не так багато видів колагену морського походження, але існує велика кількість видів морських організмів з чудовими фізичними та хімічними властивостями. Тому перспективи застосування всіх видів морського колагену широкі.

Як новий тип біоматеріалу, рибний колаген морського походження отримав широке визнання і привертає все більше уваги дослідників у клінічній, медицині, харчовій та інших областях. Рибний колаген безперечно очолює список всіх колагенів. Хоча є переваги, пов'язані з усіма джерелами колагену тваринного походження, пептиди риб'ячого колагену, як відомо,

мають найкраще поглинання та біодоступність завдяки меншому розміру частинок порівняно з іншими колагенами тварин, що робить їх потужними антиоксидантами. Біодоступність дуже важлива, оскільки вона значною мірою визначає ефективність будь-якої поживної речовини, яку ви вживаєте.

Рибний колаген всмоктується в організмі в 1,5 рази ефективніше і має кращу біодоступність, ніж бичачий або свинячий колаген. Оскільки він ефективніше засвоюється і швидше потрапляє в кров, він вважається найкращим джерелом колагену для лікувальних цілей. Здатність рибного колагену легше засвоюватися нашим організмом завдяки його меншій молекулярній вазі та розміру, які дозволяють колагену всмоктуватися на більш високому рівні через кишковий бар'єр у кровотік і розноситися по всьому тілу.

Рибний колаген - це складний структурний білок. Це колаген I типу, який є найбільш поширеним колагеном в організмі людини. Тип I найбільш відомий тим, що створює основу для красивої шкіри, міцних сполучних тканин і міцних кісток.

Коли рибний колаген потрапляє в організм, пептиди гідроксипроліну не повністю перетравлюються до вільних амінокислот і можуть бути виявлені в крові. Ці пептиди гідроксипроліну стимулюють клітини шкіри, суглобів і кісток, і вони призводять до синтезу колагену шляхом активації та росту клітин. Пептиди рибного колагену мають дуже специфічний амінокислотний склад з високою концентрацією гліцину, гідроксипроліну та проліну.

Оскільки ми не схильні їсти ті частини риби, які містять колаген (в основному шкіру та луску), найкраще зробити домашній рибний бульйон або додати колаген.

Луска, шкіра, кістки і плавники прісної або морської риби використовуються для створення добавок рибного колагену. Оскільки ці частини вважаються відходами переробки риби, їх використання для створення інших продуктів допомагає зменшити забруднення навколишнього середовища.

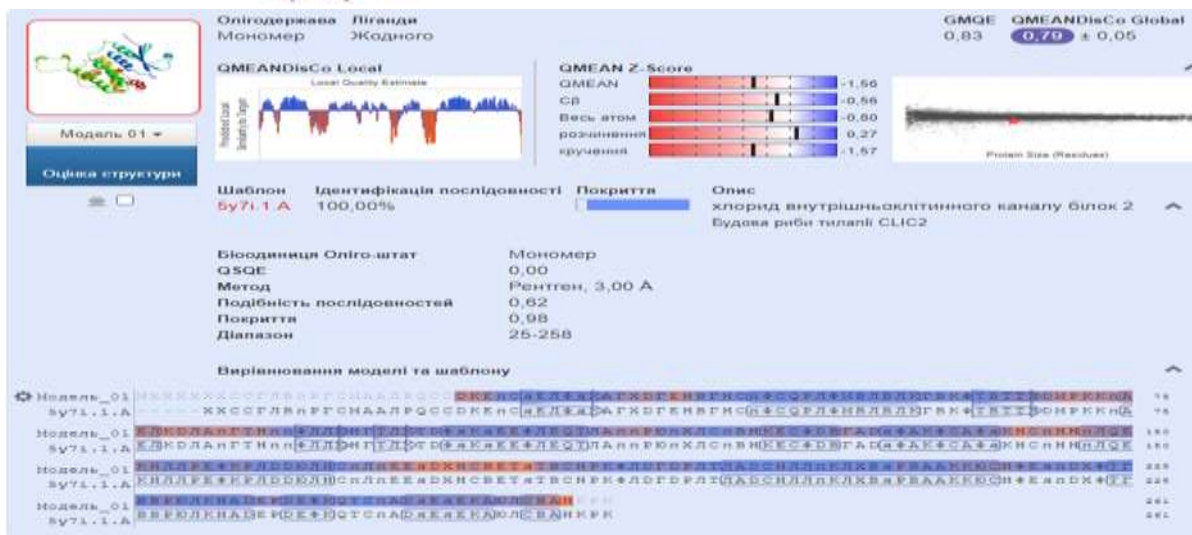
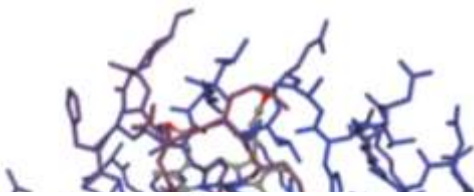


Рис. 2.2. Тривимірний модель структури зразка рибного колагену риби тилапія (tilapia) SWISS-MODEL

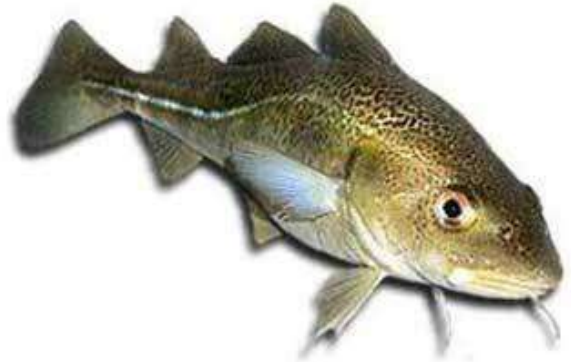
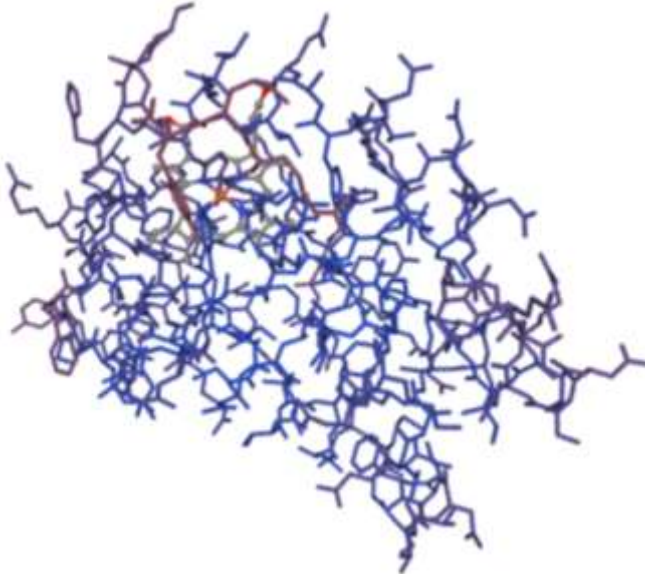
*Тілапія* (tilapia) харчується в основному планктоном і водоростями і має дуже низьку потребу в рибі в своєму раціоні (Товариство охорони морської природи). Природне середовище проживання обох цих видів охоплює річки, ставки та інші джерела прісної води.

*Атлантична тріска* (*Gadus morhua*). Шкіра тріски має високий ступінь чистоти і здатність утримувати воду, вона забезпечує низьку температуру денатурації, що означає, що колаген буде поганим желеутворюючим агентом, що обмежує його застосування в косметиці. Крім того, тріска в основному не





у, при цьому до 75% її маси тіла



Олігодержавка Ліганди		GMQE	QMEANDisCo	Global
Мономер	1 x HEM	0,91	0,82	± 0,07

QMEANDisCo Local		QMEAN Z-Score	
Шаблон	Ідентифікація послідовності	Покриття	Опис
6hit.2.B	100,00%		Ланцюг гемоглобіну бета 4 Кристалічна структура гемоглобіну з атлантичної тріски

Рис. 2.3. Тривимірний модель структури зразка рибного колагену *Атлантична тріска (Gadus morhua)* SWISS-MODEL

Перспективною технологією застосованою для вилучення рибного колагену є Електродіаліз. В даний час фізико-хімічні властивості флавоноїдного колагену зберігаються за допомогою електродіалізу, тому можна припустити, що електродіаліз також може покращити середовище виробництва рибного колагену. Вилучення колагену зі шкіри риби підвищує цінність морських побічних продуктів і запобігає забрудненню, спричиненому великою кількістю відходів.

Взявши за приклад атлантичну тріску, швидкість екстракції колагену оцтовою кислотою та пепсином становила 5,72 і 11,14% відповідно. Порівняно з традиційною екстракцією розчином органічної кислоти швидкість екстракції колагену та властивості продуктів покращуються підкислювальною водою  $\text{CO}_2$ , що має потенційну цінність у галузі біомедицини та косметики.

*Японської камбали* (*aralichthys olivaceus*). Вчені з Науково-дослідного інституту людства і природи (RIHN) і Японського агентства досліджень і освіти з рибальства (FRA), Японія, доводять цю тезу для японської зимньої камбали, вимірюючи співвідношення ізотопів у колагені хребтно-кісткового типу. Нове дослідження, яке можна прочитати в *морській біології*, показує, що існують поведінкові групи риб з різними моделями міграції та/або харчування (рис. 2.4).

Зграя риб вирішуватиме їхнє середовище проживання з урахуванням основних потреб для виживання, таких як доступність їжі та безпека для розмноження та годування потомства. Для відстеження руху риби було застосовано кілька методів, таких як телеметрія, мічення або аналіз отоліту. Проте дослідження співвідношення стабільних ізотопів у кількох частинах тіла дає унікальне уявлення про історію життя риб.

Риби залишають розплідник і починають досліджувати глибші частини моря. Проте навіть у дорослих особин добре збереглися записи про тривалість їхнього життя в їх центрі хребця, конусоподібна шарувата структура у риб. хребця, як форми стабільних ізотопних співвідношень кількох елементів. Це дозволяє нам реконструювати індивідуальну історію міграції та харчування», – сказав колишній дослідник RIHN доктор Йошіказу Като, провідний автор дослідження.

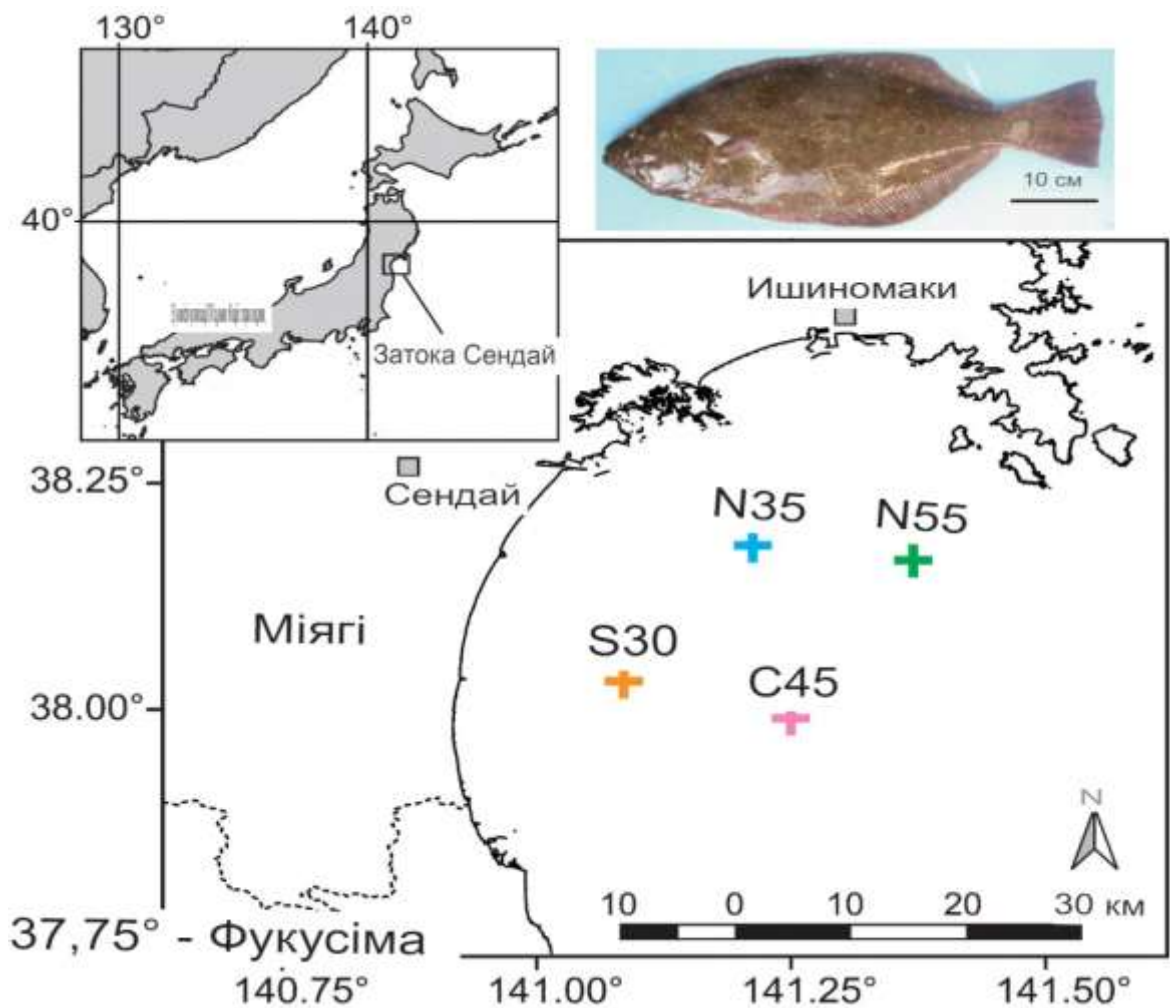


Рис. 2.4. Японська камбала та її місця проб у затоці Сендай, Японія. Кожна цифра в назві місця відбору проби вказує на приблизну глибину (М) ділянки. Пунктурні лінії представляють кордони префектури.

Вчені досліджували дику популяцію японської камбали (*Paralichthys olivaceus*) в затоці Сендай, біля узбережжя Тихого океану на півночі Японії. Риба була обрана через її важливий комерційний статус в Японії. Міграційні та харчові звички риб були добре вивчені в минулому, але мало відомо про те, як їх звички змінюються з віком і є різноманітними серед особин, які належать до генетично однорідної групи.

Дорослі риби були зібрані на чотирьох місцях відбору проб у затоці. Потім хронологічно аналізували стабільні вуглець і азот ізотопи колагену в центрі їх хребців. Аналіз нелінійного часового ряду з використанням співвідношення стабільних ізотопів відрізняв риб, зібраних

на одному місці, від риб на інших трьох ділянках, що свідчить про те, що ці риби використовували інше середовище проживання та/або дієту протягом більшої частини свого життя. Аналізуючи стабільні співвідношення ізотопів азоту в амінокислотах, Като та його колеги також виявили міграції з мілкового розплідника до більш глибоких місць проживання та зміни їх їжі.

Ці висновки, , свідчать про те, що, розглядаючи політику ефективного управління та збереження, вчені повинні визнати, що не всі японські камбали реагують однаково.

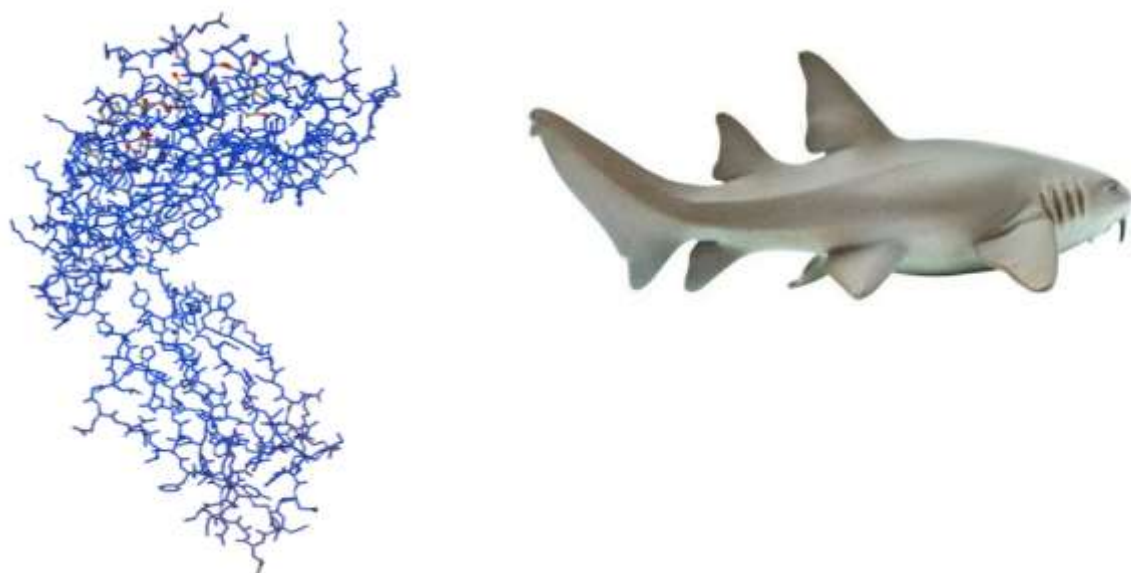
Результати свідчать про те, що *Paralichthys olivaceus* є не просто однорідною групою за поведінкою, а принаймні з двох різних груп, які мають різні моделі міграції. Оскільки їх середовище проживання змінюється природним або техногенним впливом, ми очікуємо, що ці поведінкові групи будуть реагувати по-різному.

*Акула нянька..* На ринку є продукти з морським колагеном, які використовують шкіру акули (тип I) і хрящ акули (тип II) і як основне джерело колагену. (рис. 2.5)

Види акул, безсумнівно, перебувають під загрозою зникнення і виловлюються з нестабільною швидкістю. Акулячий колаген має високий вміст хондроїтину сульфату, що міститься в їхніх хрящах, потужного інгредієнта, який використовується для лікування болю та запалення суглобів, м'яса як їжі та сквалену з печінки для догляду за шкірою.

Акулячі плавники також вбивають від 73 до 100 мільйонів акул щороку, які в основному використовуються для приготування супу з плавників акул в азіатських країнах.

Плавники акули є суто хрящовими. Найчастіше акули залишаються живими, коли їх викидають без плавників, що погіршує їх здатність плавати, що в кінцевому підсумку призводить до їх смерті.



 Модель 01 Оцінка структури	<b>Олігодержавка</b> Мономер Ліганди 1 x PHE-ALA-ASN-PHE-PHE-ILE-ARG-GLY-LEU 1 x PHE-ALA-ASN-PHE-PHE-ILE-ARG-GLY-LEU PHE-ALA-ASN-PHE-PHE-ILE-ARG-GLY-LEU.1: 33 залишки в межах 4Å 23 взаємодії PLIP	GMQE 0,98 QMEANDisCo Global <b>0,93</b> ± 0,05
	QMEANDisCo Local QMEAN Z-Score	Шаблон Ідентифікація послідовності 100,00%
<b>Вирівнювання моделі та шаблону</b>		
Модель_01 блуп.1.1.A	Г С К С L E R E E E T V E F G A G S G A P E E A V T G F P C S E V Q V F S S R F K E A F P S F V V N K E S T P E E V E R E T Q T L E T E I E L P T T A N	74 74
Модель_01 блуп.1.1.A	A D A L Q X E T G N D T T G A H G E O L N C S L S E F E D G S S N T T E K V Q A F S S F E A Y S L F M K I V E T A V S V G K A T Y N N V D V Q (A E	180 150
Модель_01 блуп.1.1.A	N Q F T K R P L E G S E V E L Q N L N G N V E L F R L M H C S Y E K S F R G I N C L S S V A T T E F A K S E S N L E F S C A F M D E T E K T G	222 222
Модель_01 блуп.1.1.A	V E F N K H G S Q Q X E S T F E S I N S Q A N C S S V E F M D G L R Q Q L E V F E	267 267

Рис. 2.5. Тривимірний модель структури зразка рибного колагену акул *SWISS-MODEL*

У глобальному масштабі світ стикається з дедалі зростаючою потребою в пошуку альтернативних, стійких та екологічно чистих джерел колагену через зміни у харчуванні та способі життя людей.

Колаген з риби вважається екологічно безпечним джерелом колагену, оскільки більшість побічних продуктів переробки риби стають відходами, якими в першу чергу є шкіра риби, яка, як ми зараз знаємо, багата колагеном I типу. Те ж саме стосується виробництва бичачого колагену. Однак, коли ми порівнюємо морський і бичачий колаген за їх впливом на навколишнє середовище, морський колаген виходить на перше місце. Морський колаген виділяє набагато менше парникових газів, ніж бичачий.

Оскільки види акул під загрозою, обізнаність громадськості про важливість захисту та збереження акул і всієї морської аквакультури є найбільш помітною. Акули приносять більше, ніж просто користь харчовій промисловості та харчових добавок, вони необхідні для підтримки морських і прісноводних екосистем і глобального різноманіття.

Законодавство та заборони на риболовлю зменшують попит на нестабільні та зникаючі морські види, зокрема продукти походження з акул.

## **2.2 Гомологічне моделювання рибного колагену**

Рибний колаген - це складний структурний білок, який складається із пептидів, тобто молекул, які побудовані із амінокислотних залишків. Пептиди рибного колагену мають дуже специфічний амінокислотний склад з високою концентрацією гліцину, гідроксипроліну та проліну.

Коли рибний колаген потрапляє в організм, пептиди гідроксипроліну не повністю перетравлюються до вільних амінокислот і можуть бути виявлені в крові. Ці пептиди гідроксипроліну стимулюють клітини шкіри, суглобів і кісток, і вони призводять до синтезу колагену шляхом активації та росту клітин.

Гомологічне моделювання рибного колагену базується на знаходженні пептидних білків, первинна структура яких схожа на структуру студійованого білка, і на створенні процедури групування. Остання може бути глобальною і локальною.

*Глобальне групування* – це процедура глобальної оптимізації, яка намагається згрупувати кожну амінокислоту з кожною. Розрахунок глобального вирівнювання – це різновид глобальної оптимізації, яка «змушує» групування розповсюджуватись на всю довжину послідовності (амінокислот первинної структури). Глобальні вирівнювання, які прагнуть знайти пару кожному залишку в кожній послідовності, найбільш продуктивні, коли послідовності в наборі схожі одна на одну і приблизно однакової довжини. Типовим прикладом глобального вирівнювання є

алгоритм Нідлмана – Вунча (Needleman – Wunsch), який базується на динамічному програмуванні.

*Локальні групування* виявляють схожі регіони всередині довгих послідовностей, які часто несхожі загалом. Локальні групування дають завжди більш якісну картину, але можуть бути більш складними з точки зору розрахунків через необхідність розв'язувати додаткову задачу із виявлення схожих регіонів. Локальні вирівнювання найбільш підходять для несхожих у цілому послідовностей, які, як очікується, мають схожі регіони. Прикладом методу локального групування може слугувати алгоритм Сміта – Вотермана (Smith – Waterman) і також базується на динамічному програмуванні.

Для розв'язання проблеми групування, використовуються точні методи, такі як динамічне програмування, та швидкі евристичні алгоритми або ймовірнісні методи.

Гомологічне моделювання може дати структурні моделі високої якості у випадку, коли шукана структура і структура зразка дуже схожі. Це стало спонукальним мотивом для створення консорціуму структурної геноміки, присвяченого створенню експериментальних структур типових класів білків.

Процедура гомологічного моделювання може бути розбита на чотири етапи: вибір структури-зразка, групування шуканої структури до структури зразка, побудова моделі та оцінка її якості.

*Вибір структури-зразка.* Перший вирішальний крок у гомологічному моделюванні – це знаходження найкращої структури зразка, якщо взагалі така доступна. Найпростіший спосіб ідентифікації структури-зразка базується на попарних групуваннях послідовності амінокислот первинної структури студійованого та структур потенційних зразків. Пошукові методи FASTA, BLAST, та інші, серед яких одночасне групування декількох структур (наприклад, PSI-BLAST), метод розпізнавання згорток білків (protein threading), тут дуже корисні.

Якщо дві послідовності при групуванні мають спільне походження, їх розбіжності можуть бути трактовані як точкові мутації, а шпарини – як

індели (indels – вставки чи пропуски), що з часом виникли в одній або в обох послідовностях, оскільки вони обидві пішли одна від одної, або від спільного предка.

При вирівнюванні білків, рівень схожості між амінокислотами послідовностей може бути розцінений ,як груба оцінка того, на скільки консервативним ,щодо мутацій є той чи інший регіон послідовності.

Дуже короткі або дуже схожі послідовності можуть бути згруповані вручну. Проте, найбільша кількість цікавих проблем вимагає групування довгих або багатьох послідовностей, що дуже відрізняються одна від одної, і не можуть бути згруповані вручну.

*Гібридні методи*, також відомі як напівглобальні, намагаються знайти найкраще можливе вирівнювання, що включає у себе початок і кінець однієї чи іншої послідовності.

*Попарне групування.* Методи попарного групування використовуються для знаходження схожих ділянок лише двох послідовностей. Ці методи ефективні та часто використовуються для випадків коли не потрібна дуже висока точність (наприклад, пошук послідовностей з високим ступенем гомологічності до даної). Основні три методи попарного групування – це растрові (dot-matrix) методи, динамічне програмування, та «словесні» методи (word methods). Хоча всі три методи мають свої сильні і слабкі сторони, всі вони мають проблеми з послідовностями, що мають ділянки з низьким рівнем інформації, які часто повторюються, особливо, коли кількість таких ділянок неоднакова у двох послідовностей, що групуються.

*Растровий підхід* – якісний і простий, але повільний, якщо послідовність велика. Щоб сконструювати растр, дві послідовності записуються одна в горизонтальний ряд зверху двовимірної матриці, інша у вертикальний – зліва від неї.

*Матриця* заповнюється крапками у клітинах, що знаходяться на перетині колонок і рядків з однаковими літерами. Растри схожих



послідовностей будуть виглядати як лінія, яка проходить неподалік від основної діагоналі матриці.

*Техніка динамічного програмування* може бути застосована для створення глобальних групувань за методом Нідлмана – Вунча і локальних групувань за методом Сміта – Вотермана. Як правило, використовується матриця підстановок щоб призначити питому вагу фактам збіжності чи розбіжності амінокислот у послідовності й штраф на прогалини для сполучення амінокислоти в одній послідовності з прогалиною в іншій. Загальноприйнятим розширенням стандартних лінійних штрафів на прогалини – використання двох різних штрафів на відкриваючу прогалину (першу) і на її продовження (прогалини, що слідує зразу за першою). Як правило, перший набагато більший за другий. Це має сенс з біологічної точки зору, бо прогалини і залишки при використанні такої моделі тримаються поруч.

«Словесні» методи, також відомі як *k-tuple* методи – це евристичні методи, які не гарантують знаходження оптимального розв'язку задачі групування, але працюють набагато швидше ніж методи динамічного програмування. Вони особливо корисні для пошуку за великими базами даних, де зрозуміло, що переважна більшість послідовностей-кандидатів не матиме суттєвих сполучень із студійованою послідовністю.

«Словесні» методи реалізовані в таких алгоритмах як FASTA і BLAST. Ці методи виявляють серії коротких підпослідовностей, що не перекриваються («слів») у студійованій послідовності, які потім зіставляються з послідовностями-кандидатами із баз даних.

*Метод FASTA* дозволяє задати параметр *k* – довжину слова, яка використовується при пошуку по базі. Метод працює повільніше і більш точно при менших значеннях *k*. FASTA швидкий і селективний; методи FASTP і FASTA були розроблені для знаходження білкових послідовностей, які походять від спільного предка і вони довели свою виняткову корисність для цієї задачі.

*Метод BLAST* був розроблений щоб надати більш швидкий альтернативний алгоритм з меншою точністю; так само, як і FASTA, BLAST використовує «словесний» пошук довжини  $k$ , але оцінює тільки найбільш значимі збіги слів, на відміну від FASTA. Більша частина реалізацій BLAST використовує фіксовану стандартну довжину слова, яка оптимізована під запит і тип бази даних, і змінюється тільки в залежності від деяких особливих обставин, таких як пошук дуже коротких послідовностей. Реалізації цих алгоритмів можуть бути знайдені в мережі Інтернет, наприклад EMBL FASTA, NCBI BLAST, EMBOSS-Align та ін.

*Оцінка ваги гомологічного моделювання.* Вирівнювання послідовностей є корисним у біоінформатиці для з'ясування ступеню схожості послідовностей амінокислот, для створення пілогенетичних дерев та для розробки гомологічних моделей структури білків. Тим не менше, біологічна значимість вирівнювання послідовностей не завжди чітко зрозуміла. Вирівнювання часто розглядаються як спосіб відображення еволюційних змін, що відбулися у двох білків, які мають спільного предка; але формально можливо, також, що конвергентна еволюція може спричинити до виникнення схожостей у білків, що не мають спільного предка, але виконують схожі функції.

При використанні пошукових систем по базах даних, таких як BLAST, результати вирівнювання можуть відрізнитися в залежності від складу бази даних, по якій проводиться пошук. Ймовірність знаходження хорошого вирівнювання тим збільшується, якщо база даних складається тільки з послідовностей того ж самого організму, що й шукана послідовність. Послідовності, які повторюються (в базі чи в запиті), також можуть викривляти отримані результати або оцінку їх важливості; BLAST автоматично фільтрує такі послідовності-повтори у запиті щоб уникнути видимих збігів, які є штучними (статистичними артефактами).

*Методи оцінки* статистичної ваги для вирівнювання послідовностей з прогалинами доступні в літературі.

*Функції підрахунку.* Вибір функції підрахунку ступені подібності двох послідовностей (біологічних чи статистичних) є дуже важливим для побудови якісних вирівнювань. Білкові послідовності часто вирівнюються за допомогою підстановочних матриць, які відображають ймовірності даних «символ-до-символу» замінів.

*Ряд матриць PAM* (Point Accepted Mutation matrices – матриці точкових мутацій, уперше визначені Маргаретою Дейхоф; інколи їх називають матрицями «Дейхов») явно кодують еволюційні апроксимації щодо частот та ймовірностей мутацій окремих амінокислот.

*Ряд матриць BLOSUM.* Інший розповсюджений клас матриць підрахунку, відомий як BLOSUM (Blocks Substitution Matrix – матриця заміни блоків), кодує ймовірності заміни, отримані емпірично. Варіації обох видів матриць використовуються для знаходження послідовностей з різним рівнем невідповідності, таким чином, даючи можливість користувачам BLAST або FASTA обмежити пошуки до більш близьких степеней відповідності або навпаки розширити пошук для знаходження більш далеких за схожістю послідовностей.

Дуже корисним може бути використання декількох матриць для одного вирівнювання. Порівнюючи результати, можна визначити регіони, в яких знайдене рішення є неточним або не єдиним – це регіони де вирівнювання дуже відрізняються в залежності від використаних матриць оцінки та їх параметрів.

### **2.3 Методика порівняння послідовностей рибного колагену**

**Вирівнювання послідовностей** – це метод упорядкування послідовностей ДНК, РНК або білка для виявлення областей подібності. Зараз створені численні обчислювальні алгоритми для вирішення проблеми вирівнювання послідовностей, включаючи повільніші, але формальні, методи оптимізації динамічного програмування і ефективні евристичні або ймовірні методи для пошуку в великих базах даних.

Що таке вирівнювання кількох послідовностей?

У **множинному вирівнюванні послідовностей (MSA)** ми намагаємося вирівняти *три або більше пов'язаних послідовностей*, щоб досягти максимального збігу між ними. Мета **MSA** полягає в тому, щоб упорядкувати набір послідовностей таким чином, щоб якомога більше символів з кожної послідовності відповідало певній функції оцінки.

*Clustal Omega*. *Clustal Omega* - це останній алгоритм MSA з сімейства Clustal. Цей алгоритм використовується лише для вирівнювання послідовностей білків (хоча нуклеотидні послідовності, ймовірно, будуть введені вчасно). Точність Clustal Omega для невеликої кількості послідовностей подібна до інших високоякісних вирівнювачів; однак у великих наборах послідовностей Clustal Omega перевершує інші алгоритми MSA за часом завершення та загальною якістю вирівнювання. Clustal Omega здатний вирівняти 190 000 послідовностей на одному процесорі за кілька годин.

1. Алгоритм Clustal Omega створює вирівнювання кількох послідовностей, спочатку створюючи попарне вирівнювання за допомогою методу k-кортежів. Потім послідовності групуються за допомогою методу mBed. За цим слідує метод кластеризації k-середніх. Далі направляюче дерево будується за допомогою методу UPGMA. Нарешті, вирівнювання кількох послідовностей створюється за допомогою пакета HAlign, який вирівнює дві моделі прихованих профілів Маркова (НММ), як показано на рис. 2.6.

2. Попарне вирівнювання Clustal Omega проводиться за допомогою методу k-кортежів, тієї ж техніки, що використовувалася ClustalW, описана раніше.

3. Кластеризація послідовностей. Після того, як оцінки подібності визначаються на основі попарного вирівнювання, Clustal Omega використовує метод mBed, який має складність. Працює mBed шляхом

«вбудовування» кожної послідовності в простір розмірів, де пропорційно  $\log$ .

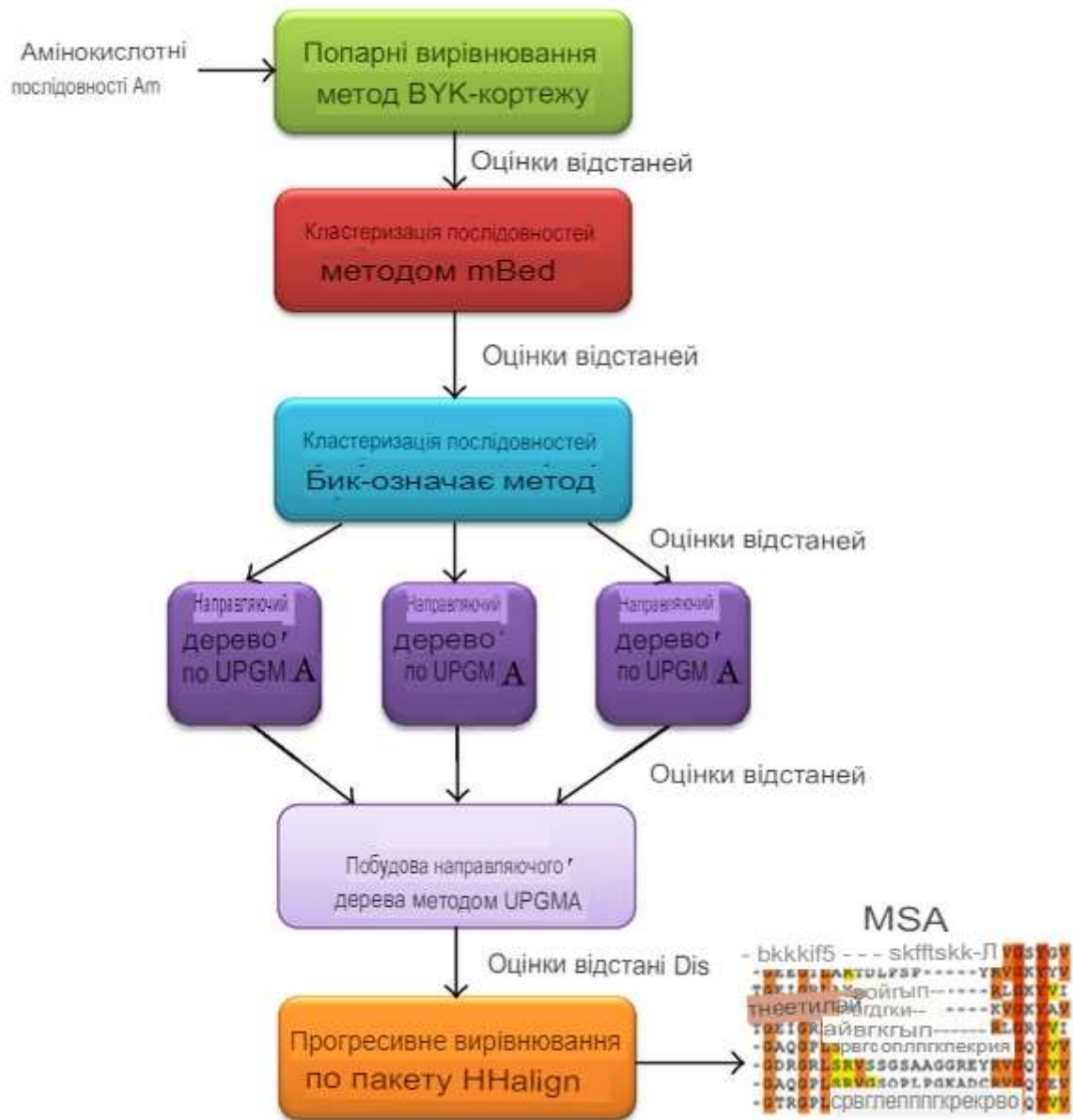


Рис. 2.6. Схема алгоритму Clustal Omega

Кожна послідовність потім замінюється вектором елемента. Кожен елемент - це відстань до однієї з «посилкових послідовностей». Потім ці вектори можна надзвичайно швидко об'єднати в кластери за допомогою таких методів, як k-середніх або UPGMA.

4. Кластеризація k-середніх. Clustal Omega використовує метод кластеризації k-means++, розроблений Артуром і Васильвицьким. Метод k-середніх є широко використовуваним методом кластеризації, який прагне мінімізувати середню квадратичну відстань між точками в одному кластері. Цей метод дуже спрощений і швидкий у кластеризації послідовностей. k-means++ успішно долає проблеми визначення початкових центрів кластерів для k-середніх і покращує швидкість і точність методу k-середніх.

5. Керівництво по будівництву дерева. Clustal Omega використовує метод UPGMA для побудови дерева напрямних послідовностей. UPGMA — це простий метод побудови дерева, який використовує послідовний алгоритм кластеризації, в якому локальна гомологія між оперативними таксаномічними одиницями (OTU) визначається в порядку подібності. Дерево будується поетапно. Пари OTU, які найбільш схожі, спочатку визначаються, а потім розглядаються як новий один OTU. Згодом із нової групи OTU ідентифікується та групується пара з найбільшою схожістю. Цей процес триває до тих пір, поки не залишиться лише два OTU.

6. Прогресивне вирівнювання. Clustal Omega використовує пакет HAlign від Johannes Soding 2005 для завершення прогресивного вирівнювання. Цей метод вирівнює дві приховані моделі Маркова, замість порівняння профілю та профілю; це значно покращує чутливість і якість вирівнювання. Усі методи порівняння профілів послідовності та послідовності НММ засновані на оцінці логарифмічних шансів. Оцінка логарифмічних шансів є мірою того, наскільки більш імовірно, що послідовність випромінюється НММ, а не випадковою нульовою моделлю.

**T-Coffee.** *T-Coffee* - це інструмент вирівнювання кількох послідовностей, що означає цільову функцію на основі дерева для оцінки вирівнювання. Це одночасне вирівнювання, яке поєднує найкращі властивості локального та глобального вирівнювання, і для цього також використовується алгоритм

Сміта-Вотермана. T-Coffee є прогресом у порівнянні з іншими інструментами вирівнювання, такими як ClustalW, MUSCLE.

Його основні функції включають, по-перше, множинне вирівнювання з використанням різних джерел даних, які є бібліотекою парних вирівнювань (глобальне + локальне). Другою основною особливістю є метод оптимізації, який забезпечує множинне вирівнювання, яке найкраще вписується у вхідну бібліотеку.

Як працює T-Coffee?

1. Створення первинної бібліотеки вирівнювань: вона складається з набору попарних вирівнювань усіх послідовностей, які потрібно вирівняти (тут джерело вирівнювання є локальним). Він також може включати два або більше різних вирівнювань однієї і тієї ж пари послідовностей. Потім глобальне вирівнювання виконується за допомогою ClustalW.

2. Вивести вагові коефіцієнти первинної бібліотеки: на цьому кроці за допомогою зваженої схеми отримується найнадійніша пара залишків. При цьому кожній парі вирівняних залишків у бібліотеці призначається вага. Тут ідентичність послідовності є критерієм для вимірювання точності з більш ніж 30 % ідентичності. Для кожного набору послідовностей створюються дві бібліотеки разом із їх вагами, одна з використанням ClustalW, а інша за допомогою Lalign (програма пакету FASTA).

3. Об'єднання бібліотек: на цьому кроці всі дубльовані пари об'єднуються в один запис, вага якого дорівнює сумі двох ваг, або створюється новий запис для пари, що розглядається.

4. Розширити бібліотеку: використовується триpletний підхід, що включає метод проміжної послідовності. Наприклад, у нас є 4 послідовності, A, B, C & D, він вирівнює AB, а також C і D і перевіряє вирівнювання.

5. Стратегія прогресивного вирівнювання: у цій стратегії вирівнювання матриця відстаней будується з використанням попарного вирівнювання між усіма послідовностями, за допомогою якого будується напрямне дерево за допомогою методу Neighbor Joining (NJ) (метод, який спочатку вирівнює дві

найближчі послідовності) , отримана пара послідовностей перевіряється на наявність пробілів, знову наступні найближчі дві послідовності. Так продовжується до тих пір, поки всі послідовності не будуть вирівняні.

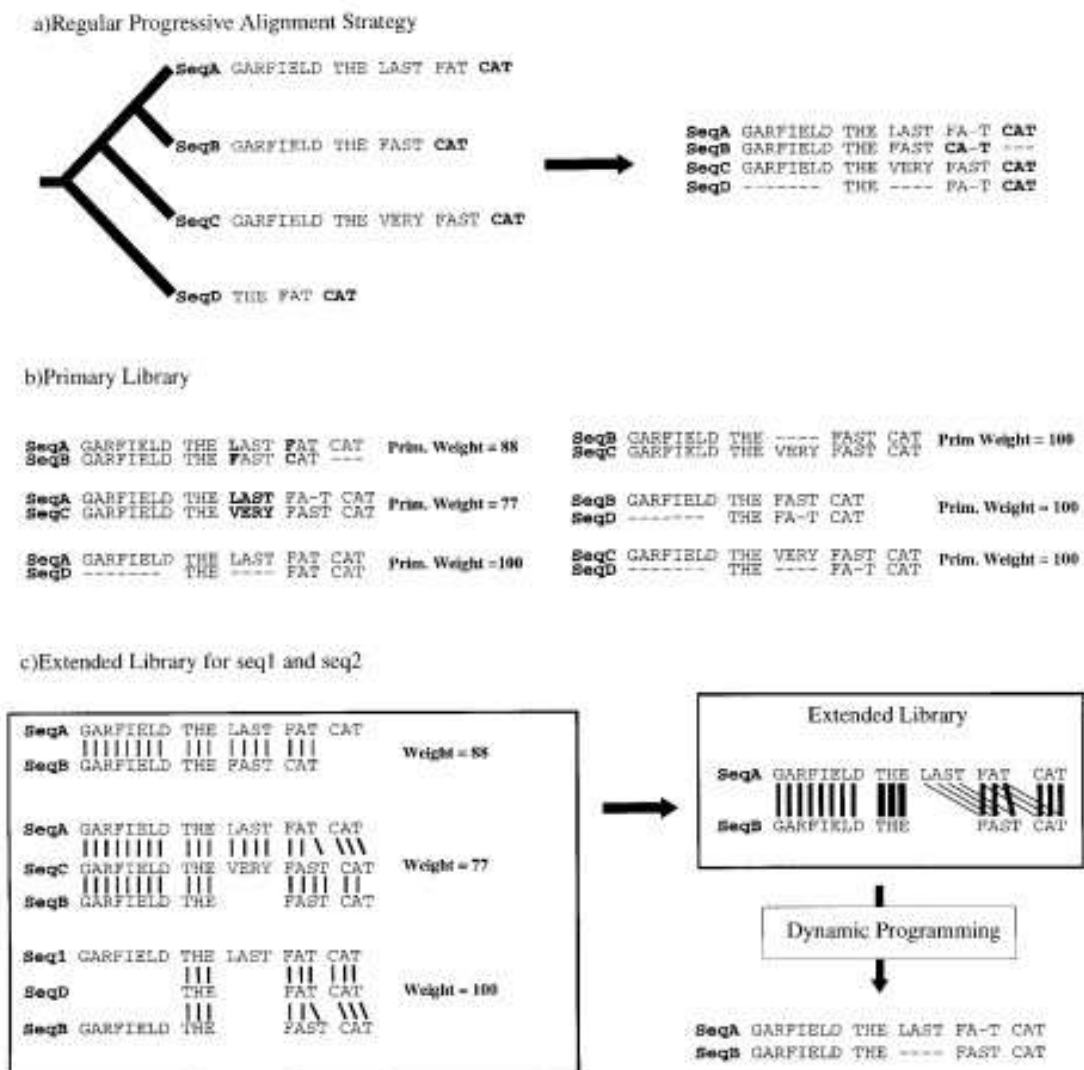


Рис. 2.7. Розширення бібліотеки

Поступове вирівнювання (Рис. 2.7, а). Було розроблено чотири послідовності. Дерево вказує порядок, у якому послідовності вирівнюються при використанні прогресивного методу, такого як ClustalW. Показано отримане вирівнювання зі словом CAT неправильно.

Початкова бібліотека (Рис. 2.7, б). Кожна пара послідовностей вирівнюється за допомогою ClustalW. У цих вирівнюваннях кожна пара вирівняних залишків пов'язана з вагою, що дорівнює середній тотожності



серед відповідних залишків у межах повного вирівнювання (невідповідності позначено жирним шрифтом).

Розширення бібліотеки для пари послідовностей (Рис. 2.7, с). Показано три можливі вирівнювання послідовності А і В (А і В, А і В - С, А і В - D). Ці вирівнювання об'єднуються, як пояснюється в тексті, для створення бібліотеки для специфічних позицій. Ця бібліотека вирішується за допомогою динамічного програмування, щоб забезпечити правильне вирівнювання. Товщина ліній вказує на силу ваги.

*Молекулярний докінг* (Molecular docking). *Молекулярний докінг* (або молекулярне стикування) – це метод молекулярного моделювання, який дозволяє передбачити найбільш вигідну для утворення стійкого комплексу орієнтацію і положення однієї молекули по відношенню до іншої. Молекулярний докінг - визначення найвигіднішої орієнтації та розміщення одних молекул відносно інших (Рис. 2.8 ).

Вихідною інформацією для докінгу слугують тривимірні структури білка (рецептора) і ліганду, конфірмаційна рухливість і взаєморозташування яких моделюється в процесі докінгу. Результатом моделювання є конформація ліганду, яка найкращим чином взаємодіє з білковим сайтом зв'язування.

Здійснюється за допомогою операції, при якій одну молекулу наближають до іншої, неперервно обчислюючи енергію взаємодії між ними при різних орієнтаціях та конформаціях, поступово встановлюючи найвигіднішу взаємну орієнтацію. При обчисленнях найчастіше враховують лише кулонівські та вандерваальсові взаємодії між атомами молекул.

Знання оптимальної молекулярної орієнтації може бути використане для передбачення сили асоціації або спорідненості між двома молекулами. Зв'язок між біологічно значимими молекулами, такими як білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди відіграє центральну роль у передачі сигналу. Крім того, відносна орієнтація двох взаємодіючих партнерів може вплинути на тип

сигналу, (наприклад, антагонізм проти агонізму). Тому докінг може використовуватись для прогнозування сили і типу сигналу.

Метод лежить в основі структурного дизайну ліків.

#### 1. Основні ознаки молекулярного докінгу:

- У загальному випадку число молекул довільне.
- Парний докінг — стикування однієї молекули (ліганда) до іншої (мішені).
- Моделювання дає тільки кінцевий стан комплексу (нічого не відомо про траєкторії утворення комплексу).
- У процесі роботи формується велике число проміжних варіантів надмолекулярних структур (комплексів).
- Вибір варіантів здійснюється довільно.
- Як правило процедура не дає остаточного варіанта структури комплексу.

2. Визначення проблеми молекулярного докінгу. Вивчення взаємодії лігандів з відповідними білками (рецепторами, ферментами) є одним з ключових завдань молекулярної біології, біотехнології та медицини, оскільки від його успішного вирішення залежить подальший прогрес у таких практично важливих областях, як розробка нових ліків, отримання високопродуктивних ферментів і тощо. Комп'ютерне моделювання міжмолекулярних взаємодій і носить назву молекулярний докінг. Схематично ідея докінгу представлена на малюнку.



Рис. 2.8. Схематична діаграма, що ілюструє докінг малої молекули ліганду (синя) з білковим рецептором (червона).

3. Основна мета докінгу - отримання оптимальних (згідно з установленими критеріями) просторових структур комплексів. Їх аналіз дозволяє виявити ділянки «взаємного розпізнання» молекул, визначити рушійні сили, які сприяють зв'язуванню. В результаті з'являється можливість цілеспрямованого впливу на характеристики зв'язування шляхом модифікації однієї або декількох взаємодіючих молекул — наприклад, за рахунок введення точкових мутацій в білок, зміни фізико — хімічних властивостей ліганда і тощо. Як правило, при виконанні розрахунків на систему накладають певні обмеження. Наприклад, часто враховують конформаційну рухливість ліганду, тобто при обчисленні і подальшої мінімізації повної енергії системи координати атомів ліганда варіюють. Навпаки, молекулу білка, як правило, вважають нерухомою, або конформаційно лабільною є лише невелика область сайту зв'язування з лігандом. Таким чином, в процесі докінгу рухливий ліганд орієнтується відносно нерухомого білка-мішені. Взаємна просторова орієнтація ліганда і білка — мішені є основним результатом докінгу. «Правильність» орієнтації оцінюється за допомогою спеціальної оціночної функції, яка корелює з експериментально визначеною вільною енергією зв'язування ліганду. Основне призначення оціночної функції докінгу - відобразити вільну енергію зв'язування ліганда ( $\Delta\Delta G$ ), проте в силу цілого ряду наближень, властивих завданням докінгу, кореляція не завжди присутня. Наведена функція враховує всі попарні невалентні (Ван - дервальсові і електростатичні) взаємодії між атомами ліганду і між лігандом і білком.

4. Сфери застосування. Комплекси таких біологічно важливих молекул, як білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи і ліпіди відіграють ключову роль у передачі хімічного сигналу. До того ж, відносна орієнтація двох взаємодіючих молекул може впливати на тип генерованого сигналу (буде він інгібуючим або каталітичним). Тому докінг важливий для передбачення як типу, так і сили виробленого сигналу.

Зазвичай докінг використовують для вирішення наступних типових задач:

Підбір лігандів, найбільш ефективно взаємодіючих з досліджуваним білком, шляхом послідовного перебору потенційних кандидатів з баз даних низькомолекулярних сполук.

Пошук в просторовій структурі досліджуваного білка сайту зв'язування для певного ліганда.

Оптимізація активного сайту білка — мішені шляхом введення в нього точкових мутацій, що підвищують ефективність взаємодії з певним лігандом або класом лігандів.

У першому з перелічених варіантів молекулярний докінг використовують у процесі створення нових лікарських препаратів. У варіантах 2 і 3 комп'ютерне моделювання дозволяє оптимізувати властивості білка - мішені таким чином, щоб домогтися бажаної зміни параметрів зв'язування його з потрібними лігандами - наприклад, підвищити їх афінність і / або специфічність, блокувати зв'язування і т. д.

5. Підходи до моделювання докінгу. Існують два підходи при моделюванні докінгу. Один підхід використовує техніку відповідності, яка описує білок і ліганд як додаткові поверхні. Другий підхід моделює фактичний процес докінгу, в якому обчислюються попарні енергії взаємодії. У обох підходах є істотні переваги, а також деякі обмеження.

6. Взаємозалежність форми. Геометрична відповідність (методи взаємозалежності форми) описується для білка і ліганда як ряд особливостей, які дозволяють їх докінгувати. Ці особливості можуть включати як саму молекулярну поверхню, так і опис додаткових особливостей поверхні. У цьому випадку молекулярна поверхня рецептора описується з точки зору її доступності площі поверхні для розчинника, а молекулярна поверхня ліганда описується з точки зору її відповідності опису поверхні рецептора. Взаємозалежність між двома поверхнями складає опис відповідності форми, яка може допомогти виявленню додаткового положення докінга молекули-

мішені і молекул ліганда. В іншому підході потрібно описати гідрофобні особливості білка, використовуючи повороти в атомах головного ланцюга.

7. Симуляція. У цьому підході білок і ліганд відділені деякими фізичним відстаннями, і ліганд знаходить потрібне положення на активному сайті білка після певного числа «кроків». Кроки включають перетворення твердого тіла, такі як переміщення і обертання, а також внутрішні зміни структури ліганда включаючи кутові обертання. Кожен з цих кроків у просторі змінює повну енергійну оцінку системи, і отже вона обчислюється після кожного руху. Очевидна перевага цього методу полягає в тому, що це дозволяє досліджувати гнучкість ліганда під час моделювання, тоді як методи взаємозалежності форми повинні використовувати деякі інші методи, щоб дізнаватися про гнучкість ліганда. Інша перевага полягає в тому, що процес фізично ближче до того, що відбувається насправді, коли білок і ліганд наближаються до один одному після молекулярного розпізнавання. Незручність цієї техніки — те, що вона займає час, щоб оцінити оптимальну позу закріплення, так як необхідно досліджувати досить великий енергетичний пейзаж.

Існує багато програм для теоретичного докінгу білків. Більшість з них працює за наступним принципом: один білок фіксується в просторі, а другий повертається навколо нього різноманітними способами.

*Програми для молекулярного докінгу.* Сервер *SWISS-MODEL* був першим повністю автоматизованим для моделювання гомології білків і постійно вдосконалювався протягом останніх 28 років. Його функціональні можливості моделювання були нещодавно розширені, щоб включати моделювання гомо- і гетеромерних комплексів, враховуючи амінокислотні послідовності взаємодіючих партнерів як відправну точку. Інші нещодавно представлені функції включають розробку нового механізму моделювання, ProMod3, з підвищеною точністю вироблених моделей, а також покращений метод оцінки якості локальної моделі (QMEANDisCo), заснований на новій версії QMEAN .

SWISS-MODEL наразі генерує ~3000 моделей на день (~2 моделі на хвилину), у порівнянні з ~1500 моделей на день у 2014 році, що робить його одним із найбільш широко використовуваних серверів моделювання структур у всьому світі. Його продуктивність постійно оцінюється та порівнюється з іншими найсучаснішими серверами в цій галузі. З цією метою ми беремо активну участь у проєкті CAMEO (Continuous Automated Model Evaluation), повністю автоматизованому сліпому прогнозуванню на основі щотижневого попереднього випуску послідовностей із PDB, що дозволяє нам постійно контролювати та покращувати продуктивність сервера.

**Робочий процес моделювання.** У порівняльному моделюванні тривимірна білкова модель цільової послідовності створюється шляхом екстраполяції експериментальної інформації з еволюційно пов'язаної структури білка, яка служить шаблоном. У SWISS-MODEL робочий процес моделювання за замовчуванням складається з таких основних кроків:

**1. Вхідні дані:** цільовий білок може бути наданий як амінокислотна послідовність у форматі FASTA, Clustal або у вигляді простого тексту. В якості альтернативи можна вказати код доступу UniProtKB. Якщо цільовий білок є гетеромерним, тобто він складається з різних білкових ланцюгів у вигляді субодиниць, для кожної субодиниці необхідно вказати амінокислотні послідовності або коди приєднання UniProtKB.

**2. Пошук шаблону:** дані, надані на кроці 1, служать запитом для пошуку пов'язаних еволюційно структур білка з бібліотекою шаблонів SWISS-MODEL SMTL. SWISS-MODEL виконує це завдання за допомогою двох методів пошуку в базі даних: BLAST, який є швидким і достатньо точним для тісно пов'язаних шаблонів, і HHblits, який додає чутливість у випадку віддаленої гомології.

**3. Вибір шаблону:** коли пошук шаблону завершено, шаблони ранжуються відповідно до очікуваної якості отриманих моделей, як оцінюється за оцінкою Global Model Quality Estimate (GMQE) і Quaternary Structure Quality Estimate (QSQE). Шаблони та вирівнювання з найвищим

рейтингом порівнюються, щоб перевірити, чи представляють вони альтернативні конформаційні стани чи охоплюють різні області цільового білка. У цьому випадку автоматично вибираються кілька шаблонів і відповідно створюються різні моделі. Щоб надати користувачеві можливість використовувати альтернативні шаблони, ніж ті, що вибираються автоматично, усі шаблони відображаються у вигляді таблиці з описовим набором функцій. Крім того, інтерактивні графічні представлення полегшують аналіз і порівняння доступних шаблонів з точки зору їх тривимірних структур, подібності послідовностей і особливостей четвертинної структури.

**4. Побудова моделі:** для кожного вибраного шаблону автоматично створюється 3D-модель білка шляхом спочатку передачі збережених координат атома, як визначено вирівнюванням цільового шаблону. Координати залишків, що відповідають вставкам/видаленням у вирівнюванні, генеруються шляхом моделювання петлі, а модель повноатомного білка отримують шляхом побудови неконсервативних бічних ланцюгів амінокислот. Для виконання цього кроку SWISS-MODEL спирається на систему обчислювальної структурної біології OpenStructure і механізм моделювання ProMod3. Щоб отримати більш детальну інформацію про побудову моделі, ми звернемося до спеціального розділу в розділі «Результати».

**5. Оцінка якості моделі:** для кількісної оцінки помилок моделювання та оцінки очікуваної точності моделі, SWISS-MODEL покладається на функцію оцінки QMEAN . QMEAN використовує статистичні потенціали середньої сили для генерування глобальних оцінок якості та оцінок якості на залишок. Оцінки локальної якості покращуються попарними обмеженнями відстані, які представляють інформацію про ансамбль із усіх знайдених структур шаблонів. Додаткову інформацію про оцінку якості можна знайти у спеціальному розділі Результати.

SWISS-MODEL дозволяє додатково налаштувати кроки 1 і 3. Досвідчені користувачі можуть безпосередньо завантажувати власні вирівнювання послідовності цільового шаблону, структури шаблонів або файли проекту DeepView в окремих формах введення.

**Бібліотека шаблонів SWISS-MODEL.** Бібліотека шаблонів SWISS-MODEL (SMTL), доступна за адресою <https://swissmodel.expasy.org/templates/>, є керованою бібліотекою шаблонів, яка оновлюється щотижня відповідно до нового випуску PDB. Кожна депонована структура PDB автоматично обробляється, анотується та індексується для підтримки ефективного запиту високоякісних структурних даних. Записи SMTL організовані за збірками чвертинних структур відповідно до анотації «Біологічна асамблея», зазначеної в PDB. Біологічно релевантні ліганди анотовані відповідно, а потім анотація використовується механізмом моделювання, щоб визначити, чи розглядається ліганд для включення в остаточну модель.

**Інтеграція з репозиторієм SWISS-MODEL та перехресні посилання на інші сервіси.** Репозиторій SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/repository>) - це база даних автоматично згенерованих моделей гомології для відповідних модельних організмів та інформації про експериментальну структуру для всіх послідовностей у UniProtKB. Щоразу, коли послідовність UniProtKB передається в SWISS-MODEL, згенерована модель автоматично зберігається в SMR разом з усіма даними, які використовуються для створення моделі. На даний момент SMR містить 1 067 355 моделей від SWISS-MODEL і 129 416 структур з PDB з відображенням на UniProtKB.

Щоб полегшити дослідження доступної інформації про даний цільовий білок, SWISS-MODEL забезпечує перехресні зв'язки з різними іншими ресурсами та базами даних. Ми включаємо посилання на RCSB, PDBsum, PDBe, CATH і SwissDock. Крім того, ми також надаємо прямий доступ до спеціалізованого сервера для моделювання антитіл. Попередній скринінг



цільової послідовності був розширений, щоб автоматично визначити, чи присутня послідовність імуноглобуліну у вхідних даних. Якщо буде виявлено відповідний сигнал послідовності, дані можуть бути відправлені на сервер прогнозування структури імуноглобуліну PIGSPro, де модель антитіла генерується за методом канонічної структури.

**Модель моделювання ProMod3.** Модельний двигун є серцем SWISS-MODEL. Він будує модель атомістичного білка з урахуванням структури матриці та вирівнювання послідовності цільового шаблону. Донедавна для виконання цього завдання використовувався пакет програм ProMod-II, який використовував MODELLER як запасний варіант. Станом на червень 2020 року використовується виключно новий движок моделювання ProMod3. ProMod3 був розроблений з метою забезпечення швидкого та гнучкого створення прототипів для майбутніх розробок моделювання в SWISS-MODEL.

Як і його попередники, ProMod3 витягує структурну інформацію з вирівняної структури шаблону в декартовому просторі. Вставки та видалення, визначені вирівнюванням послідовності, вирішуються шляхом першого пошуку життєздатних фрагментів-кандидатів у структурній базі даних. Це актуальна модифікація, оскільки ProMod-II в основному покладався на методи *ab-initio* для виконання цього кроку. Остаточні кандидати відбираються за допомогою методів оцінки статистичних потенціалів середніх сил. Якщо не вдається знайти відповідних фрагментів, виконується пошук конформаційного простору за допомогою вибірки Монте-Карло. Неконсервовані бічні ланцюги моделюються за допомогою бібліотеки ротамерів, що залежать від групи Dunbrack. Оптимальна конфігурація ротамерів оцінюється за допомогою алгоритму TreePack на основі графіка шляхом мінімізації функції енергії SCWRL4. На останньому етапі невеликі структурні викривлення, несприятливі взаємодії або зіткнення, що виникли під час процесу моделювання, усуваються шляхом мінімізації

енергії. ProMod3 використовує бібліотеку OpenMM для виконання обчислень і силове поле CHARMM27 для параметризації.

**Висновки до розділу 2:** Колаген морського походження можна витягти з продуктів рибних відходів, Пептиди морського колагену є оздоровчим інгредієнтом, отриманим з риби і використовуються в різноманітних продуктах для здоров'я та краси. Як і колагени великої рогатої худоби, свині та інших риб, ці колагенові пептиди виробляються з 100% природних джерел тваринного походження – у даному випадку, шкірки диких океанських риб. Пептиди морського колагену стають все більш популярними як серед споживачів, так і виробників на ринках здоров'я, краси та харчових продуктів.

Колагенові пептиди риб — це так звані колагенові пептиди I типу. Вони виготовлені з колагену. Колагенові пептиди I типу є найбільш поширеним колагеном в організмі людини; Тип I є будівельним матеріалом для красивої шкіри, гнучких сполучних тканин і міцних кісток.

Використання вищезгаданих методів гомології не вимагає наявності бази білкових структур або технічної наявності доступу до неї, оскільки багато з них впроваджені й доступні як відкриті інтернет-сервери розпізнавання структур.

Використання вищезазначених програм моделювання просторової структури дозволяє скоротити зусилля на пошук структур зразків і зосередитись на побудові моделі білків. Одним з таких серверів є SWISS-MODEL. За його допомогою планується створити алгоритм для побудови третинних білкових структур на базі первинних. Очікується, що алгоритм матиме хорошу точність для структур, близьких за походженням до вивчених нині експериментально.

## РОЗДІЛ 3

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

#### 3.1 Застосування методу T-Coffee

Для отримання інформації по пошуку гомології між різними послідовностями використовують методи множинного вирівнювання біологічних послідовностей. Одним з таких методів є метод T-Coffee.

Виконання пошуку гомології будемо робити на прикладі білків вусатої акули-няньки (*Ginglymostoma cirratum*) та тріски атлантичної (*Gadus morhua*) (табл 3.1).

Таблиця 3.1

#### Коди білків морських тварин

Назва морської тварини	Код білка морської тварини
<i>Ginglymostoma cirratum</i>	>pdb 6lup B E ATSSPNVQVYTYKLIKEGESNVLLCHAKDFSPPNIKLELLENGRIIPNT TQSDLSFESDWSFKLTRYVEFTPQSGYKYSCMVTHNGDSKEIQLDRY
<i>Gadus morhua</i>	>pdb 6hit A C E G SLSSKQKATVKDFFSKMSTRSDDIGAEALSRLVAVYPQTKSYFSHW KDASPGSAPVRKHGITIMGGVYDAVKGIDDLKGGLLSLSELHAFML RVDPVNFKLLAHCMLVCM SMIFPEEFTPQVHVAVDKFLAQLALALA EKYR

Вставляємо задані білки у модель T-Coffee на сайті ebi.ac.uk (рис. 3.1)

Рис. 3.1. Кроки порівняння послідовностей за методом T-Coffee

Результати пошуків за методом T-Coffee можна побачити на рисунку 3.2 та таблиці 3.2.

```

T-COFFEE, Version 13.45.0.4846264 (2020-10-15 17:52:11 - Revision 5becd5d - Build 620)
Cedric Notredame
CPU TIME:0 sec.
SCORE=677
*
BAD AVG GOOD
*
pdb|6hit|A : 61
pdb|6lup|B : 77
cons      : 67

pdb|6hit|A SLSSKQKATVKDFFSKMSTRSDDIGAEALSRLVAVYPQTKSYFSHWKD
pdb|6lup|B ATSSPNVQV---YTYKL-----IKEGESNVLLCHAKD
cons      : ** : . : * : : : : **

pdb|6hit|A ASPGSAPVRKHGITIMGGVYDAVGKIDDLKGGLLSLSELHAFMLRVDP
pdb|6lup|B FSPJNI-----KLELLENGRIIPNTTQSDLSFESD
cons      : ** . : : * : * : : : : .

pdb|6hit|A VNFKLLAHCMLVCMSMIFPEEFTPOVHVAVDKFLAQLALAL---AEKY
pdb|6lup|B WSKLTRY-----VEFTPQSGYKYS CMVTHNGDSKEIQLDRY
cons      : .*** : : ***** . : : : : : **

pdb|6hit|A R
pdb|6lup|B -
cons      █
  
```

Рис. 3.2. Результат порівняння послідовностей за методом T-Coffee

Таблиця 3.2

**Відсоткова матриця ідентичності**

1 : pdb	6hit A	100	21,51
2 : pdb	6lup B	21,51	100

Отримані результати показують, що між двома цими білками є 21,51% спільного.

За результатом порівняння послідовностей можна зробити висновок що у цих білків може бути спільний предок і що промислове добування протеїну із одного виду морської тварини, може бути замінено на іншу, якщо саме співпадаючі послідовності потрібні для видобування.

**3.2 Застосування методу Clustal Omega**

Метод T-Coffee є не єдиним, існують й інші методи, які можуть виконувати множинне вирівнювання послідовностей. Одним з таких методів є метод Clustal Omega. Візьмемо для моделювання такі ж самі білки для дослідження та виконаємо моделювання на тому ж сайті **ebi.ac.uk**.

Вставляємо задані білки у модель Clustal Omega (рис. 3.3)

The screenshot shows the Clustal Omega web interface. At the top, there is a text input field for pasting sequences. Below it, a text area contains two protein sequences: one from pdb|6lup|B and another from pdb|6hit|A. The interface is divided into three steps: Step 1 (input), Step 2 (output format selection), and Step 3 (submit). In Step 2, 'ClustalW з кількістю символів' is selected as the output format. A 'Повторити' button is visible at the bottom.

Рис. 3.3. Кроки порівняння послідовностей за методом T-Coffee

Результати пошуків за методом Clustal Omega можна побачити на рис. 3.4 та таблиці 3.3.

```

pdb|6lup|B    ---ATSSPMVQVYTYKLIK-----EGESNVLVCHAKDFSPPIKLV---E    38
pdb|6hit|A    SLSSKQKATVKDFFSKMSTRSDDIGAEALSRLVAVYPQTKSYFSHWKDASPGSAPVRKHG    60
               :... :* : : * : .                               :: :.* ** * . :

pdb|6lup|B    LLENGRII-----PNTTQSDLSFESDWSFKLT-RYVEFTPQSGYKYSVMVTHNGD----    87
pdb|6hit|A    ITIMGGVYDAVGKIDDLKGGLLSLSELHAFMLRVDPVNFKLLAHCMVCMVMIFPEEFTP    120
               : * :          : . . ** : . : * * * : * : * : * :

pdb|6lup|B    SKEIQLDRY-----          96
pdb|6hit|A    QVHVAVDKFLAQLALALAEKYR    142
               . . : * :
    
```

Рис. 3.4. Результат порівняння послідовностей за методом Clustal Omega

Таблиця 3.3.

### Відсоткова матриця ідентичності

1 : pdb	6lup B	100	17,71
2 : pdb	6hit A	17,71	100

За результатом порівняння послідовностей можна зробити висновок що гомології у цих двох білках менше.

За рахунок різних математичних методів моделювання можемо отримувати й різні результати, як можна побачити на цьому прикладі відмінність результатів може досягати до 4%.

В незалежності від того, які методи використовуються все рівно вони дають можливість знайти відмінності й спільності між двома відомим білками і дозволяють знайти зв'язок між відомим і невідомим білками й таким чином встановити, що за невідомий білок є у дослідженні науковців. Дати можливість завчасно зробити аналітику по раціональності добуванню та використанню певного білка.

### **3.3. Огляд веб-серверу SWISS MODEL**

Ще одним засобом дослідження білків є веб-сервер програмного моделювання SWISS MODEL. Він дозволяє вирішувати багато задач моделювання. У цій дипломній роботі буде достатньо розглянути тільки три базових задачі:

- Отримання інформації, не тільки про спорідненість білка, але й про його назву та властивості;
- Знаходження близьких за структурою білків по заданому одному білку або його частинці;
- Пошук пов'язаних ланцюгів з усіма бажаними субодиницями.

Для прикладу моделювання задачі по знаходженню спорідненості білка візьмемо білки які вказані в таблиці 3. Вводимо їх у SWISS MODEL, після чого з'явиться пропозиція обрати один із можливих варіантів моделювання (рис. 3.5)

Як можна побачити (рис. 3.6, 3.7, 3.8) в результаті моделювання отримано дані, які дають досить багато інформації про вирівнювання послідовностей.



Рис. 3.5. Вікно вибору моделювання у SWISS MODEL

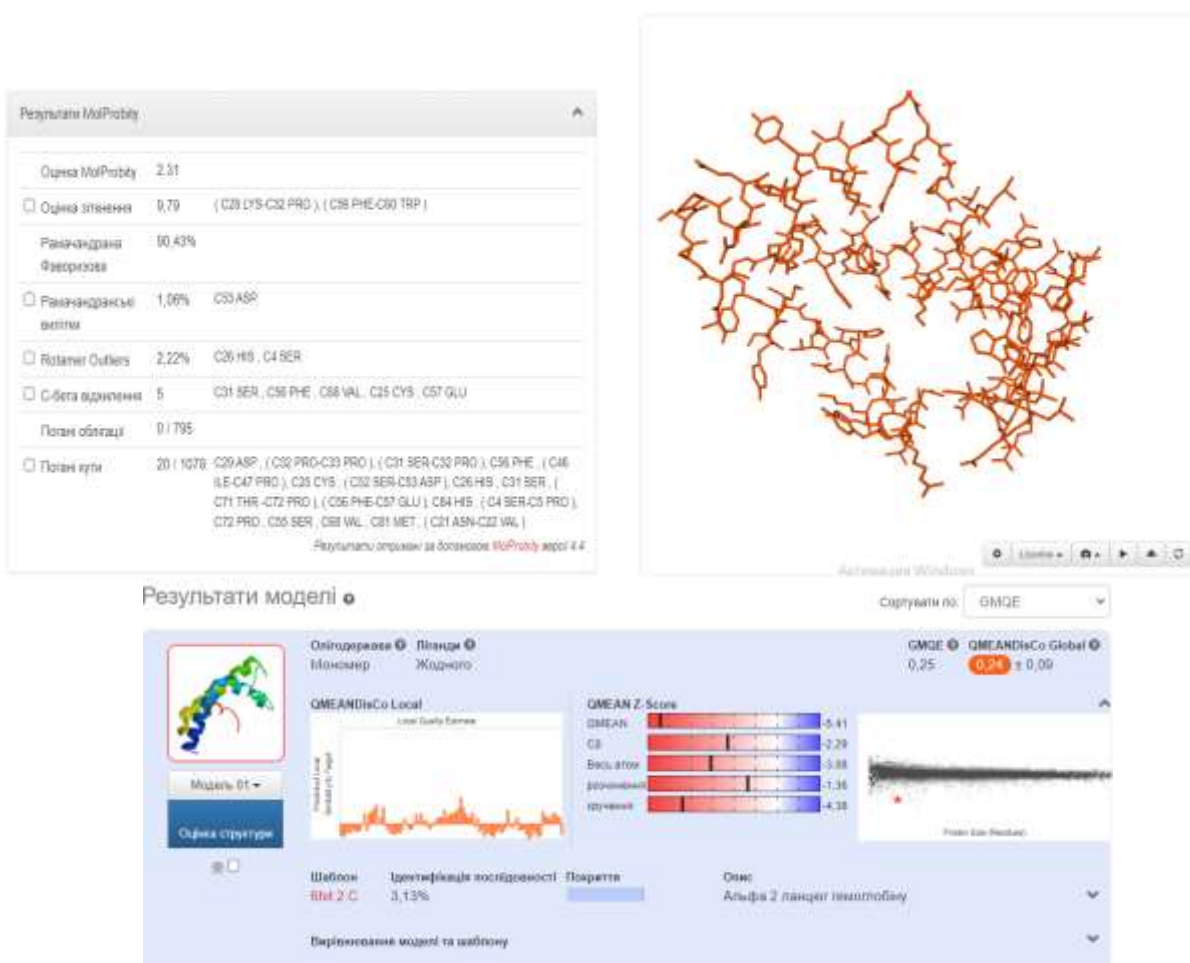


Рис. 3.6. Результат вирівнювання послідовностей на веб- сервері SWISS MODEL

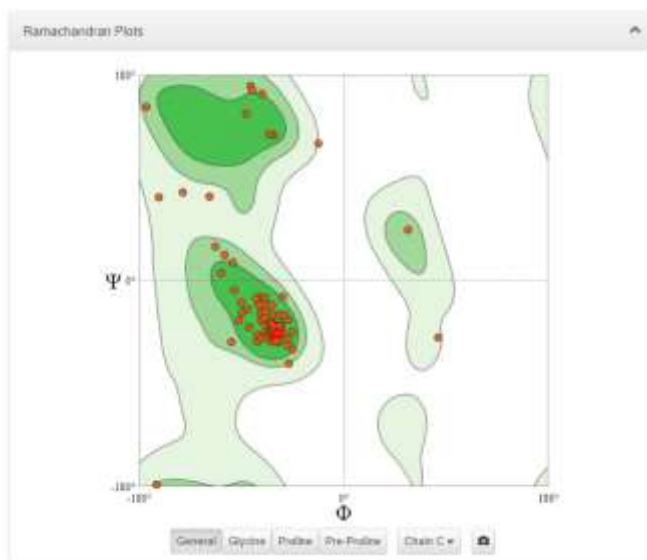


Рис. 3.7. Карта Рамачандрана за результатами вирівнювання послідовностей на веб-сервері SWISS MODEL



Рис. 3.8. Результат вирівнювання послідовностей на веб-сервері SWISS MODEL

Далі розглянемо варіант вирішення задачі по пошуку аналогічних послідовностей за однією послідовністю у SWISS MODEL. Наприклад візьмемо один білок вусатої акули-няньки зображений на рис. 3.9.



```
>pdb|6lup|A D
GSHSLRYFFTWTSTAGSGIPEFVAVGVYDDQQFVQYDSDRKEMIPRQRWVKESEGPEYWERETQTLRGWEPWGGKANIDILSKRTNQTGGI
HTYQLMCGCELRDDGSSNTGFVQHAWDSTDFISLKDCKMVMVTPVTWGEITKNKWDRDMAFNQGTGKYLEGICIEWLQKYLKNGNVELR
PVKPSVFTTSVRGNKQLSCVATGFYPHSIEVNLFRDSAKIDETESTGVRPNHDGSYQIHRSTEFDPNSQAKYSCVVDHDLGGLQQLVVFY
```

Рис. 3.9. Білок вусатої акули-няньки

Вставимо цю послідовність у SWISS MODEL та спробуємо знайти подібні білки (Рис. 3.10).



Рис. 3.10. Початкова сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій приступають до пошуку аналогічних послідовностей

Сторінка веб-серверу SWISS MODEL на якій виконується пошук аналогічних послідовностей зображена на рис. 3.11.



Рис. 3.11. Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій триває пошук аналогічних послідовностей

В результаті проведеного пошуку з'являється список шаблонів амінокислотних послідовностей, які мають схожу структуру відносно первинного білка (Рис. 3.12.).



Рис. 3.12. Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій зображено список шаблонів амінокислотних послідовностей, які мають схожу структуру відносно первинного білка.

Останнім варіантом дослідження можливостей веб-серверу SWISS MODEL в рамках цієї дипломної роботи є задача по пошуку пов'язаних ланцюгів з усіма бажаними субодинацями. Для цього використаємо деякі білки різних тварин (табл. 3.4)

Таблиця 3.4

**Коди білків різних тварин.**

Назва тварин	Код білка тварин
<i>Ginglymostoma cirratum</i>	>pdb 6lup A D GSHSLRYFFTSTAGSGIPEFVAVGYVDDQQFVQYSDSRKEMIPRQ RWVKESEGPEYWERETQTLRGWEPWGGANIDILSKRTNQTGGIHTY QLMCGCELRDDGSSNTGFVQHAWDSTDFISLDKDKMVWVTPVTW GEITKNKWDRDMAFNQGTKGYLEGICIEWLQKYLKNGNVELRPVK PSVTFTSVRGNKQLSCVATGFYPHSIEVNLFRDSAKIDETESTGVRPN HDGSYQIHRSTEFDPNSQAKYSCVVDHDGLGQQLVVFY
<i>Canis lupus familiaris</i>	>pdb 7cjq A D GSHSLRYFYTSVSRPGRGDPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAATGRMEP RAPWMEQEGPEYWDRETRTVKETAQRYRVDLDTLRGYYNQSEAGS HTRQTMYGCDLPGGRLRGYSQDAYDGADYIALNEDLRSWTAAD TAAQITRRKWEAAGTAEHDRNYLETTCVEWLRRYLEMGETLLRA EPPSTRVTRHPISDHEVTLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE VVDTRPAGDGTQKWAAVVPSGQEQRYTCHVQHEGLAEPVTRR WE

Додаємо спочатку один білок у модель (Рис. 3.13) потім через кнопку «Додати гетеро ціль» додаємо другий білок (див. Рис. 3.14). Після чого починаємо будувати (шукати) модель (тобто найбільш наближений білок до цих двох білків).

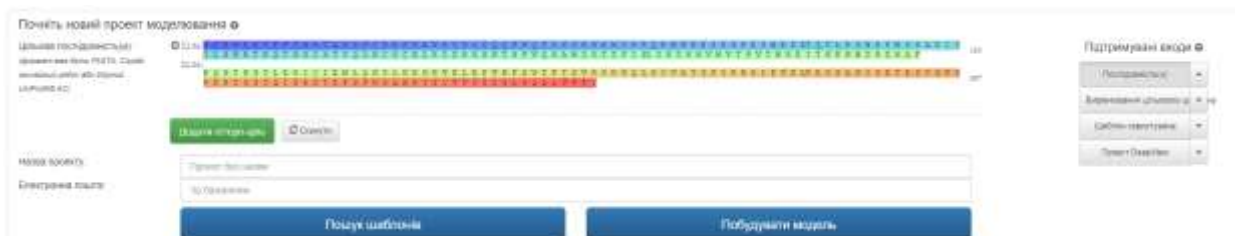


Рис. 3.13. Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій додаємо перший білок у модель



Рис. 3.14. Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій додаємо другий білок у модель

В результаті моделювання веб-сервер SWISS MODEL видав результат, що білок 3jts.3 має найбільшу спорідненість із початковими двома білками (Рис. 3.15; 3.16; 3.17; 3.18).

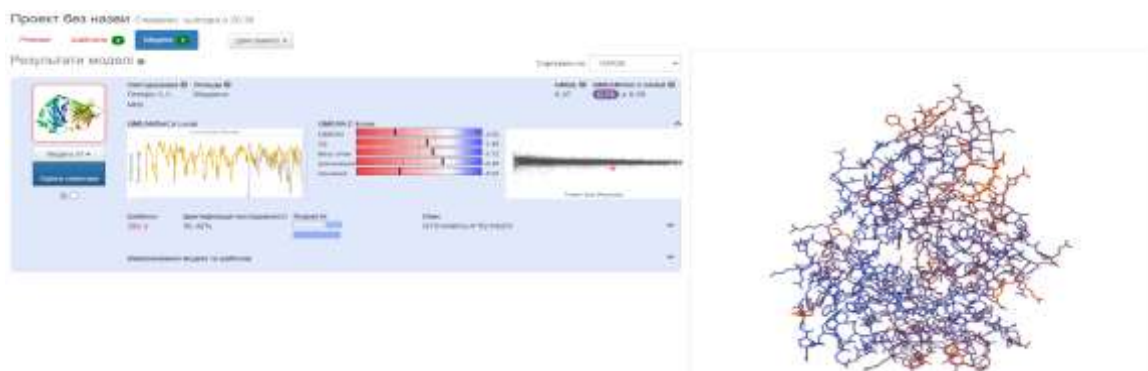


Рис. 3.15. Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій зображено результат пошуків

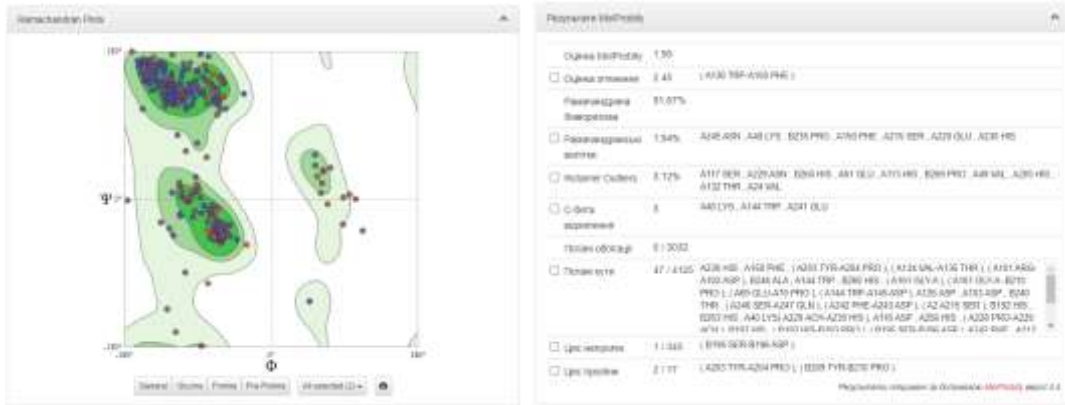


Рис. 3.16. Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій зображено результат пошуків

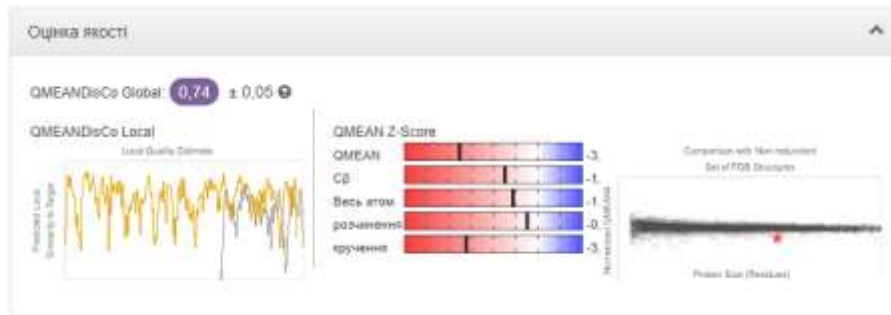


Рис. 3.17 . Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій зображено результат пошуків

Результати проведеного дослідження можливостей серверу SWISS MODEL показують, яким чином виконуються дослідження, які результати можна отримати, також за потреби можна побачити деталізацію цих результатів. Отже ми можемо зробити висновок, що завдяки кропіткій праці багатьох науковців та програмістів людство зараз має комплексний потужний інструмент дослідження білків будь якого походження.

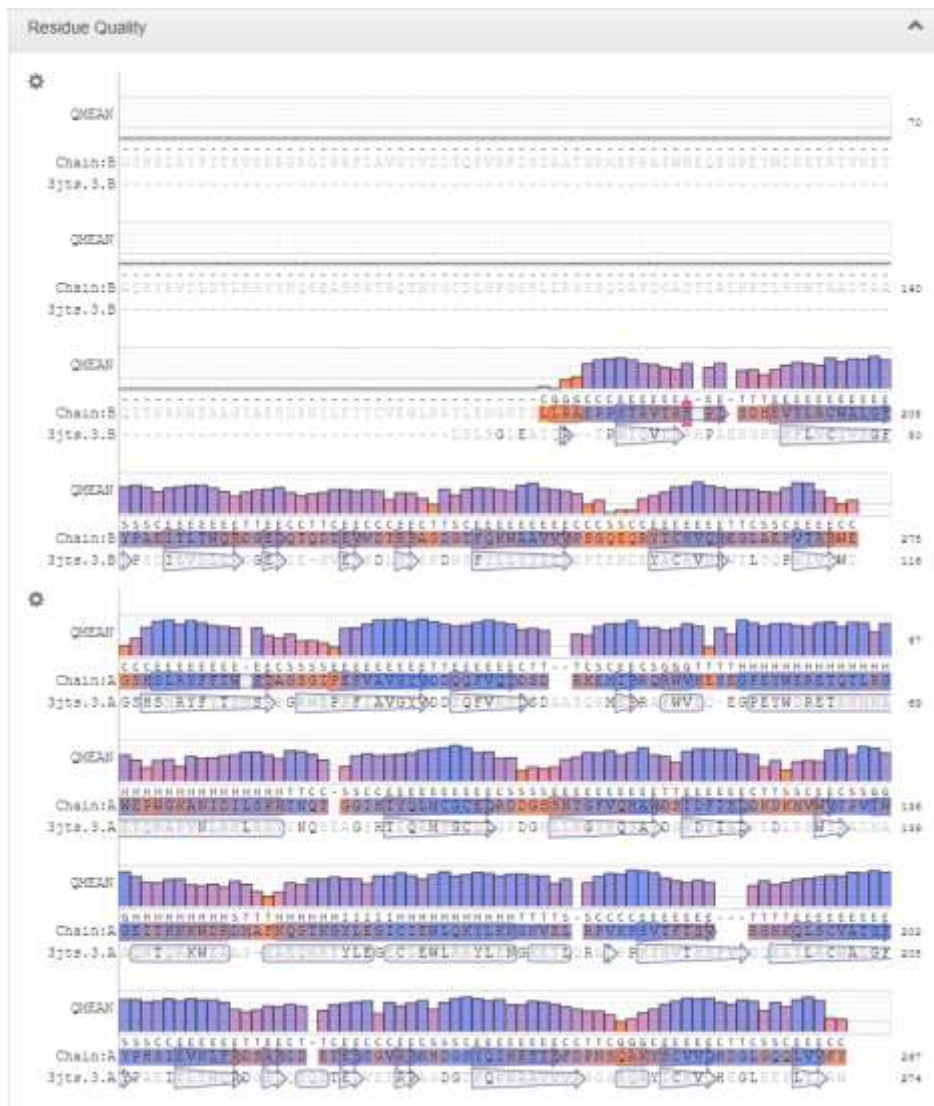


Рис. 3.18. Сторінка веб-серверу SWISS MODEL, на якій зображено результат пошуків

### 3.4. Застосування веб-сервісу PRODIGY

Використання молекулярного докінгу дозволяє визначити найвигіднішу орієнтацію та розміщення одних молекул відносно інших в рамках одного білка. Для візуалізації процесу докінгу будемо використовувати веб-сервіс PRODIGY. Спершу ми змодельуємо докінг білка blur із таблиці 3.4. в комплексі білок-білок. На рис. 3.19 можна побачити введення початкової інформації для процесу докінгу.

Рис. 3.19. Початкова сторінка веб-сервісу PRODIGY, де вводимо дані про білок

В результаті моделювання ми отримуємо прогноз скільки енергії потрібно на зв'язування ( $\Delta G$ ) та яка буде при цьому константа дисоціації ( $K_d$ ) (табл. 3.5)

Таблиця 3.5

**Коди білків різних істот.**

<b>Білково-білковий комплекс</b>	<b><math>\Delta G</math> (ккал моль<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>K_d</math> (M) при 25,0 °C</b>
b1up	-16.5	7.4E-13

В детальному прогнозі ми можемо побачити кількість інтерфейсних контактів за властивостями (табл. 3.6), а також можна побачити який відсоток складає поверхня білка, що не взаємодіє і не приймає участі у молекулярному докінгу (табл. 3.7).

Наступним цікавим методом молекулярного докінгу є класифікація інтерфейсів на біологічні та кристалографічні. Для візуалізації цього методу візьмемо інструмент PRODIGY-CRYSTAL і ту ж саму пару ланцюгів що й минулого разу. Вводимо початкові дані у модель (рис. 3.20).

## Стан інтерфейсних контактів.

Стан інтерфейсних контактів	К-ть
Інтерфейсні контакти заряджені-заряджені	5
Інтерфейсні контакти заряджені-полярні	9
Інтерфейсні контакти заряджені-аполярні	22
Інтерфейсні контакти полярні-полярні	9
Інтерфейсні контакти полярні-аполярні	43
Інтерфейсні контакти аполярні-аполярні	20

## Стан невзаємодіючої поверхні.

Стан невзаємодіючої поверхні	К-ть у %
Невзаємодіюча поверхня заряджена:	29,79%
Невзаємодіюча поверхня аполярна:	31,85%

Рис. 3.20. Початкова сторінка веб-сервісу PRODIGY, де вводимо дані про білок

За результатами моделювання отримуємо такі дані:

1. Прогнозований інтерфейс: біологічний
2. Ймовірність прогнозу: 0,852 (біологічне) / 0,148 (кристалографічне)
3. Прогноз спорідненості зв'язування, розрахований за PRODIGY ΔG (ккал моль<sup>-1</sup>): -16,5

Додатково отримуємо детальний прогноз по залишковим контактам та щільністю їх зав'язків (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Стан інтерфейсних контактів.**

<b>Стан інтефейсних контактів</b>	<b>К-ть</b>
Інтерфейсні контакти заряджені-заряджені	5
Інтерфейсні контакти заряджені-полярні	5
Інтерфейсні контакти заряджені-аполярні	17
Інтерфейсні контакти полярні-полярні	7
Інтерфейсні контакти полярні-аполярні	36
Інтерфейсні контакти аполярні-аполярні	17
<b>Щільність зв'язків: 0,068</b>	

Моделювання у PRODIGY-CRYSTAL крім цифрових значень дає візуалізацію інтерфейсів. На рис. 3.21 взаємодіючі ланцюги пофарбовані в синій/рожевий колір, а залишки інтерфейсу виділені зеленим/червоним. У випадку біологічних/кристалографічних інтерфейсів таке ж кольорове маркування.



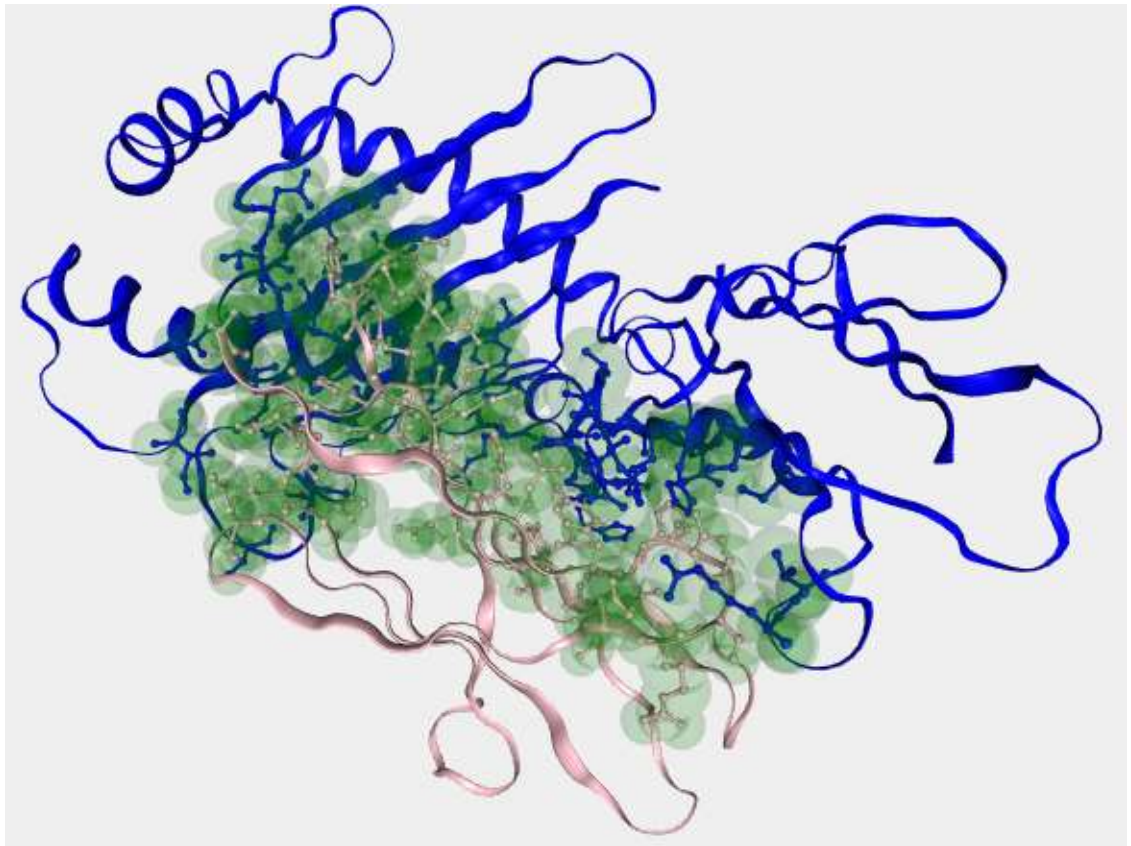


Рис. 3.21. Зображення візуалізації інтерфейсів білка на веб-сервісу PRODIGY

**Висновок до розділу 3:** Результати проведених досліджень дають повну картину можливостей інструментів для дослідження білків. Десятки років науковці зі всього світу розробляли та створювали ці інструменти. Завдяки цьому станом на 2021 рік ми маємо можливість виконувати дослідження без використання дорогих практичних методів, виконувати пошуки подібних білків, лише знаючи частинку дослідного зразка, виконувати співставлення ідентичності між різними білками та робити аналізи можливостей поєднання молекул білків між собою. І отримувати високу точність результатів з розумінням у якому напрямку скеровувати дослідження.

## ВИСНОВКИ

У цій дипломній роботі було проведено загальний огляд колагенів та наведено детальний опис колагену морського походження, оскільки саме цей колаген, на сьогодні відносно легко отримати та він має найкраще засвоєння в організмі людини. У роботі було розглянуто застосування методик T-Coffee та Clustal Omega і розглянуті такі основні сервіси, як SWISS MODEL та PRODIGY.

1. Аналіз літературних даних клінічних досліджень тваринного та рибного колагенів виявили вигідну відмінність морського білка в амінокислотному складі, структурі, розмірах молекул, що робить його набагато ефективнішим для вживання в наслідок чого рибний колаген запускає природні процеси утворення власного колагену в організмі набагато швидше та ефективніше, ніж тварина.

2. Використання методів гомології не вимагає наявності бази білкових структур або технічної наявності доступу до неї, а застосування програм моделювання просторової структури дозволяє скоротити зусилля на пошук структур зразків і зосередитись на побудові моделі білків. Сервер SWISS-MODEL дозволяє створити алгоритм для побудови третинних білкових структур на базі первинних з хорошою точністю.

3. За результатом порівняння послідовностей методів T-Coffee та Clustal Omega можна зробити висновок що у білків може бути спільний предок і що промислове добування протейну із одного виду морської тварини, може бути замінено на іншу, якщо саме співпадаючі послідовності потрібні для видобування.

4. При застосуванні для моделювання веб-серверу SWISS MODEL з'ясовано що білок 3jts.3 має найбільшу спорідненість із початковими двома білками. Для візуалізації молекулярного докінгу було використано інструмент PRODIGY-CRYSTAL.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Silvipriya K., Kumar K., Bhat A., Kumar B., John A., Lakshmanan P. Collagen: sources of animal origin and biomedical application. *J Appl Pharm Sci*. 2015. №5. С. 123–27
2. Lim YS, Ok YJ, Hwang SY, Kwak JY, Yoon S. Marine Collagen as A Promising Biomaterial for Biomedical Applications. *MARINE DRUGS*. 2019. №17. С. 467
3. Abu Nil EA, Bozec L, Knowles JC, Syed O, Mudera V, Day R and others. Collagen - new collagen-based treatments impress the patient. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013. № 65. P. 429–456.
4. Colchester ACF, Colchester NTH. The origin of spongiform encephalopathy in cattle: the hypothesis of human prion disease. *Lancet*. 2005. №366. P. 856–61
6. Феррейра АМ, Gentile P, Chiono V, Ciardelli G. Колаген для регенерації кісткової тканини. *Acta Biomater*. 2012. №8. С. 3191–3200
7. Yamada S., Yamamoto K., Ikeda T., Yanagiguchi K., Hayashi Y. Potential of fish collagen as a support for regenerative medicine. *Biomed Res Int*. 2014. №2014:302932
8. Yamamoto K., Igawa K., Sugimoto K., Yoshizawa Y., Yanagiguchi K., Ikeda T. and others. Biological safety of fish collagen (tilapia). *Biomed Res Int*. 2014. №2014:630757
9. Leary D, Vierros M, Hamon G, Arico S, Monagle C. Marine genetic resources: a review of scientific and commercial interest. *Marine Policy*. 2009. №33. С. 183–94
10. Оцінка та оцінка запасів морського рибальства для японських вод (2018/2019 фінансовий рік). *Агентство рибальства та Агентство досліджень та освіти Японії*. 2019.

11. Fujinami Y, Semba Y, Ohshimo S, Tanaka S. Development of an alternative technique for aging blue shark (*Prionace glauca*) using the vertebrae. *J Appl Ichthyol*. 2018. №34. C. 590–600
12. Furuta S, Watanabe T, Yamada H, Nishida T, Miyanaga T. Changes in the distribution, growth and abundance of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, grown in an incubator released in the coastal area of Tottori Prefecture. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1997. №63 C. 877–885
13. Furuta S, Watanabe T, Yamada H. The predation of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, grown in an incubator, was released in the coastal area of Tottori Prefecture. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1998. №64. C. 1–7
14. Kurita Y, Okazaki Y, Yamashita Y. Changes in the ontogenetic habitat of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* on the Pacific coast of northeastern Japan: differences in time of shift between regions and potential impact on recruitment success. *Fisheries Science*. 2018 84:173–187.
15. Kurita Y, Sakuma T, Kakehi S, Shimamura S, Sanematsu A, Kitagawa H, Ito S, Kawabe R, Shibata Y, Tomiyama T. Seasonal changes in the depth and temperature of the habitat of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* on the Pacific coast of northeastern Japan. *Fisheries Science*. 2021. №87: C. 223–237.
16. Carvalho AM and others. Evaluation of the potential of cod skin collagen as a biomaterial for biomedical applications. *MARINE DRUGS*. 2018. №16(12). P. 495
17. Coppola D., Olivier M., Vitale GA, Lauritano K. Marine collagen from alternative and sustainable sources: extraction, processing and use. *MARINE DRUGS*, 2020. №18(4). P. 214.
18. Kleinnijenhuis AJ. Non-target and target analysis of collagen hydrolysates during digestion and absorption. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2020. 412(4). P. 973–982.
19. Arnold K., Bordoli L., Kopp J., Swede T. SWISS-MODEL workspace: a web environment for modeling the structure structure homology. *Bioinformatics*. 2006. №22. P. 195–201.

20. Bordoli L., Schwede T. Automated protein structure modeling with SWISS-MODEL Workspace and the Protein Model Portal. *Methods Mol Biol.* 2012. №857. P.107–136.

21. Benkert P., Biasini M., Schwede T. To assess the absolute quality of models of the structure of individual proteins. *Bioinformatics.* 2011. №27. P. 343–350.

22. Berman HM, Battistuz T., Bhat TN, Bluhm WF, Bourne PE, Burkhardt K., Feng Z., Gilliland GL, Iype L., Jain S. та ін. The Protein Data Bank. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2002. №58. С. 899–907.

23. Muniba Faiza. T-Coffee: A tool that combines both local and global alignments. *Bioinformaticsreview.* 2015.

24. Fabian Sievers, Desmond G. Higgins. Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences. *Protein Science.* 2017.

25. Молекулярний докінг

[https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8F%D1%80%D0%BD%D1%8B%D0%B9\\_%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D0%B8%D0%BD%D0%B3](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8F%D1%80%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D0%B8%D0%BD%D0%B3) (дата звернення 30.11.2021)

26. Огляд колагенів <https://www.humann.com/nutrition/different-types-of-collagen/#section1> (дата звернення 30.11.2021)

27. Petrovska T., Hretskyi I. Simulation of protein structure ab initio // Topical tendencies of science and practice. Abstracts of XII International Scientific and Practical Conference. Edmonton, Canada. 2021. Pp. 82-83. Available at : DOI: 10.46299/ISG.2021.II.XII.



Про  
дов  
жен  
ня  
ДО  
ДАТ  
КУ  
А



**International Science Group**

**ISG-KONF.COM**

**XII**

**INTERNATIONAL SCIENTIFIC  
AND PRACTICAL CONFERENCE**

**"TOPICAL TENDENCIES OF SCIENCE AND PRACTICE"**

**Edmonton, Canada  
December 07-10, 2021**

**ISBN 978-1-68564-521-2**

**DOI 10.46299/ISG.2021.II.XII**

**TOPICAL TENDENCIES OF SCIENCE AND  
PRACTICE**

Abstracts of XII International Scientific and Practical Conference

Edmonton, Canada  
December 07 – 10, 2021



## TOPICAL TENDENCIES OF SCIENCE AND PRACTICE

9.	Коломиец В.А. ЭТАПЫ ВЫПОЛНЕНИЯ ЗАДАНИЯ «АКВАРЕЛЬНАЯ ОТМЫВКА ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ТЕЛ С РАЗНЫМИ ЦВЕТО-ФАКТУРНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ И МАТЕРИАЛАМИ НА ПРИМЕРЕ НАТЮРМОРТА»	55
10.	Коломиец В.А. ТЕХНИКА «КУМИКО». ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В ДИЗАЙНЕ ИНТЕРЬЕРОВ. ТРЕНИРОВОЧНЫЕ УПРАЖНЕНИЯ В ЭТОЙ ТЕХНИКЕ	64
11.	Лихачова О.І., Голіус В.А. ІНТЕРФЕЙС У ГЕЙМ-ДИЗАЙНІ	71
12.	Слуцький В.С. ЗАРОДЖЕННЯ ТЕАТРУ БЕРГОНЬЄ	75
BIOLOGICAL SCIENCES		
13.	Heybatova N., Nasibova A. EPR STUDIES OF THE EFFECT OF IONIZING GAMMA RADIATION ON PELVIC GRAPE SNAILS (HELIX POMATIA LINNAEUS)	80
14.	Petrovska T., Hretskyi I. SIMULATION OF PROTEIN STRUCTURE AD INITIO	82
15.	Taran O., Savchuk M., Didur E., Kovalenko N. EXPRESS-ANALYSIS OF THE PHYSIOLOGICAL STATUS OF PLANTS DURING VIRAL INFECTION USING A PORTABLE CHRONOFLUOROMETER	84
16.	Герасимчук О.А. СУЧАСНА СИСТЕМА ПТАХІВ І ВИВЧЕННЯ ЦЬОЇ ТЕМИ У ШКІЛЬНОМУ КУРСІ	90
17.	Горчакова В.В. СУЧАСНА СИСТЕМАТИКА РИБ І ВИВЧЕННЯ ЦЬОЇ ТЕМИ У ШКІЛЬНОМУ КУРСІ	92

BIOLOGICAL SCIENCES  
TOPICAL TENDENCIES OF SCIENCE AND PRACTICE

## SIMULATION OF PROTEIN STRUCTURE AD INITIO

**Petrovska Tetiana**

student

Kyiv National University of Technology and Design

**Hretskyi Ihor**

Ph.D., Associate Professor

Kyiv National University of Technology and Design

The field of molecular computer modeling of biological systems has been developing for over 40 years and is currently a fairly extensive field of science. From all the variety of methods used in this field, there are three main types: structural modeling, dynamic modeling and modeling of intermolecular interactions.[1].

Structural modeling is the determination of the spatial structure of molecules of different sizes - both small molecules and macromolecules. The tasks of structural modeling are, in particular, calculation of molecule geometry, their electronic structure and chemical reactions (mainly by quantum chemistry), construction of structural models for crystallography, NMR and cryoelectron microscopy, structure prediction and homologous modeling of proteins and nucleic acids.[2]

The process of modeling the structure of proteins by homology is based on:

- Search for proteins in the primary structure (global optimization)
- Creating protein grouping procedures (global and local optimization) Local and global grouping
  - Global alignment is a type of global optimization that "forces" the grouping to extend the entire length of the sequence (amino acids of the primary structure).
  - Local groupings give a good picture, but are difficult to calculate due to the need to solve an additional problem of identifying similar regions.

The homologous modeling procedure can be divided into four stages [3]:

- choice of sample structure,
- grouping the desired structure to the structure of the sample,
- model construction
- assessment of its quality.

To solve the problem of grouping, precise methods of studying the structure of proteins are used:

- De novo method or ab initio (comparative prediction)
- Method of cyclic modeling
- Hybrid methods (semi-global methods)
- Pair grouping (dot-matrix) methods, dynamic programming, and word methods
- FASTA method (FASTP and FASTA methods)

Estimation of weight of homologous modeling

- Sequence alignment - a way to reflect the evolutionary changes that have occurred in two proteins that have a common ancestor;

## **Продовження ДОДАТКУ А**

BIOLOGICAL SCIENCES  
TOPICAL TENDENCIES OF SCIENCE AND PRACTICE

- Repeated sequences (in the database or in the query) can also distort the results obtained or assess their importance.

Counting functions

- Choice of the function of calculating the degree of similarity of two sequences: protein sequences are often aligned using substitution matrices (a series of PAM matrices (Point Accepted Mutation matrices) and another common class of counting matrices, known as BLOSUM, Blocks Substitution Matrix).

References:

1. Yesylevskyy S.O., Kraszewski S., Ramseyer C. Determination of the shape and curvature of nonplanar lipid bilayers that are bent in a single plane in molecular dynamics simulations. *Journal of Molecular Modeling*. 2014. 20(4): 2176. <https://doi.org/10.1007/s00894-014-2176-x>

1. Lim YS, Ok YJ, Hwang SY, Kwak JY, Yoon S. Marine Collagen as A Promising Biomaterial for Biomedical Applications. *MARINE DRUGS*. 2019. №17. P. 467

2. Bordoli L., Schwede T. Automated protein structure modeling with SWISS-MODEL Workspace and the Protein Model Portal . *Methods Mol Biol*. 2012. №857. P.107–136.

3. Arnold K., Bordoli L., Kopp J., Swede T. SWISS-MODEL workspace: a web environment for modeling the structure structure homology. *Bioinformatics*. 2006. №22. P. 195–201.