

**Прогнозирование протеолитической деградации коллагена
типов I-III in silico**

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Изучение протеолитической деградации белков соединительной ткани на примере коллагена осуществляют доступными экспериментальными методами определения гидроксिलированных аминокислотных остатков пролина и лизина в свободном и связанном состоянии. Применение ферментативных методов в лабораторной практике ограничено, в связи с использованием дорогостоящих синтетических пептидных субстратов. Используя алгоритмы специфического гидролитического расщепления белковых субстратов in silico можно с высокой долей вероятности прогнозировать качественный состав пептидных продуктов при нарушении обмена соединительной ткани.

Целью данного исследования явилось прогнозирование протеолитической деградации коллагена типов I-III in silico.

Материалы и методы исследования. В качестве белковых субстратов были взяты аннотируемые FASTA-аминокислотные последовательности коллагенов I типа (>BAA04809.1 collagen [Homo sapiens]), II типа (>AAI16450.1 collagen, type II, alpha 1 [Homo sapiens]) и III типа (>AGL34959.1 collagentype III, alpha 1 [Homo sapiens]) из банка данных www.ncbi.nlm.nih.gov/gene. Для прогнозирования сайтов деструкции коллагенов применяли модель специфического расщепления пептидных связей в сегменте субстрата P4-P4' [Schechter, Berger, 1967]. Данная модель

включает 24 различных типов протеаз, охватывающих четыре основных семейства - аспарагиновые, цистеиновые, сериновые и металлопротеиназы [<https://prosper.erc.monash.edu.au>]. Полученные N- и C-концевые пептидные фрагменты анализировали по количеству, молекулярной массе, длине пептида с применением статистических функций MSExcel.

Результаты. При моделировании *in silico* определено, что частота протеолитических расщеплений коллагенов 2 и 3 типов характерна для металлопротеиназы 9 (MMP-9) и катепсина К; коллагена I типа - MMP-9, катепсин К и эластаза 2. Установлено, что наибольшая количественная вероятность расщепления коллагена I типа характерна для катепсина G в сегменте RRPM | SNLW с образованием C- и N-концевых пептидных фрагментов с молекулярной массой 124,93 и 90,77 кДа соответственно; для коллагена II типа при помощи MMP-9 в сегменте VAAV | LRCQ с образованием C- и N-концевых пептидных фрагментов с молекулярной массой 2,18 кДа и 186,59 кДа соответственно; для коллагена III типа при помощи MMP-9 в сегменте VFCN | METG с образованием C- и N-концевых пептидных фрагментов с молекулярными массами 165,51 кДа и 20,84 кДа соответственно.

Заключение. Учитывая профиль локальной аминокислотной последовательности коллагенов типов I-III, предсказанную вторичную структуру, доступность растворителя и третичную структуру, модель расщепления позволяет количественно прогнозировать вероятность протеолитической деградации с последующим анализом образованных пептидных N- и C-фрагментов по молекулярной массе и длине, что дает дополнительную информацию при использовании хроматографических методов исследования. Анализ пептидных фрагментов на наличие потенциальных центров гидроксирования расширяет возможности применения методов определения специфических маркеров обмена соединительной ткани.