

ӘОЖ 577.1; 579.6

## БАКТЕРИЯЛЫҚ КОЛЛАГЕНАЗАЛАР – ШОЛУ МАҚАЛАСЫ

Костанова А.<sup>1,2\*</sup>, Балтин К.<sup>1</sup><sup>1</sup>Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, Астана қ., 010000, Қазақстан Республикасы<sup>2</sup>С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті» КеАҚ, Жеңіс даңғылы, 62, Астана қ., 010011, Қазақстан Республикасы\*Корреспондент автор: Костанова А., [kostanova@biocenter.kz](mailto:kostanova@biocenter.kz)

## АБСТРАКТ

Бактериялық коллагеназалар - табиғи коллагенді қорыту қабілетіне байланысты жануарлар жасушаларының жасушадан тыс матрицасын бұзуға қатысатын металлопротеиназалар. Бұл ферменттер әртүрлі патогендік бактериялардың вируленттілігінің маңызды факторлары болып табылады. Дегенмен, ғылымда бұл ферменттердің дұрыс және нақты анықталған жіктелуіне қатысты консенсус жоқ және коллагеназаларды дұрыс анықтаудағы пікірталастар бар. Клостридиальды коллагеназалар бірінші болып сипатталды. Бұл шолуда бактериялық коллагеназалар туралы деректерді ұсынып, бактериялық коллагеназалардың функционалды-құрылымдық әртүрлілігіне шолу жасалынады. Бұл ақуыздардың табиғаттағы молекулалық әртүрлілігі мен таралуының жалпы көрінісі екенін көрсетеді. Әртүрлі протеолитикалық белсенділіктің нақты аспектілері тиісті қолдану салаларында, негізінен биотехнологиялық процестер мен терапевтік мақсаттарда қарастырылады.

**Түйін сөздер:** *коллагеназа, фермент, микроорганизм, желатин, белсенділік.*

## 1 КІРІСПЕ

Коллаген - сүтқоректілердің терісі, сүйектері, шеміршектері, сіңірлері және қан тамырлары сияқты дәнекер тіндердің негізгі құрылымдық ақуызы. Коллаген негізінен қайталанатын gly-X-Y триплет тізбегінен тұратын үш  $\alpha$ -тізбектен құралған (X және Y көбінесе пролин және гидроксипролин), бұл әрбір  $\alpha$ -тізбекті бастапқы, қайталама, үшінші және төрттік құрылымдармен сол жақты спиральды сақтауға мәжбүр етеді [1-4].

29 түрлі коллагендері бар болғандықтан, әрбір коллаген өзінің аминқышқылдарының реттілігімен, құрылымымен және қызметімен айтарлықтай ерекшеленеді. Коллаген протеолизі көптеген физиологиялық функциялар үшін қажет, соның ішінде тіндерді қайта құру, морфогенез және жараларды емдеу. Коллаген ісік жасушаларының таралуы, артрит, тіндердің ойық жарасы, жүрек-қан тамыр аурулары, нейродегенеративті аурулар және пародонтоз аурулары сияқты көптеген патологиялардың дамуына ықпал ететін маңызды фактор ретінде танылады [5, 6].

Коллаген мен одан алынған сусындарды, тамақ өнімдерді, дәрі-дәрмектерді, косметика және әртүрлі денсаулық сақтау өнімдерінің ингредиенттері коммерциялық қолдану жылдам қарқынмен өсуде [7-10].

Денедегі коллаген синтезінің төмендеуіне байланысты теріге, шашқа және сүйек тіндеріне коллаген қажеттілігі қартайған сайын артады. Коллагеннің ыдырау өнімі болып табылатын коллаген пептидтері өнеркәсіпке, тамақ өнеркәсібіне, диетологияға және биомедицинаға қызығушылық тудыратын бірқатар биологиялық қасиеттерге ие екендігі белгілі [11, 12].

Сонымен қатар, коллагеннің ыдырау өнімдері остеопорозды, асқазан жарасын, гипертонияны емдеуге, теріні ылғалдандырғыш және консервант ретінде пайдаланатын дәрі-дәрмектер ретінде медицина мен фармацевтикаға қы-

зығушылық тудыратын әртүрлі қасиеттерге ие. Коллагеннің ыдырау өнімдерінің тұтқырлығы төмен және суда ерігіштігі жоғары болғандықтан, олардың функционалдық және қоректік қасиеттерін өндірістік проблемаларсыз жақсарту үшін тағамдар мен сусындарға қосуға болады.

I типті коллаген - ең көп таралған және коммерциялық маңызы ақым түрлерінің бірі. Ол жасушалық адгезияның, жоғары биоүйлесімділіктің, биоыдырағыштықтың және әлсіз антигеннің жақсы қасиеттеріне байланысты тамақ, биомедициналық, фармацевтикалық және косметикалық салаларда кеңінен қолданылады.

Негізінен *Clostridium histolyticum* ашыту арқылы алынатын коммерциялық бактериялық коллагеназалар басқа протеазалармен бірге 2 негізгі коллагеназа класының (I класс және II класс) әртүрлі пропорцияларында болатын күрделі қоспалар болып табылады. Бұл ферменттер әрі қарай I, II, III, IV және V типтеріне және гепатоцеллюлярлы-спецификалық коллагеназаларға бөлінеді, олардың әрқайсысы өзінің ерекше ферментативті белсенділігімен ерекшеленеді және нақты қолдануға арналған. Коллагеназа түрін таңдау бөлу және қорыту үшін тіннің белгілі бір түріне бейімделуі керек (кесте 1).

Коллагендер мен олардың фибриллалары басқа полимерлермен бірге кеуекті тіректерді алу үшін де қолданыла алады.

Қазіргі уақытта құрлықтағы жануарлардың терісі мен сүйектері (бұқа мен шошқа етінің сүйектері) коммерциялық коллагеннің негізгі көзі болып табылады. Сонымен қатар, кейбір діндерде бұқа мен шошқа етінен алынған коллагендер мен тағамдарға тыйым салынады. Осыған байланысты соңғы жылдары судан/теңізден шыққан нақты коллагендерге сұраныс артып келеді [21-23].

Ферменттер ұзақ уақыт бойы әртүрлі салалардың ажырамас бөлігі ретінде қолданылған. Ферментативті әді-

**Кесте 1** – Коммерциялық коллагеназалардың түрлері мен қолданылуы.

Типтері	Сипаттамасы	Қосымша	Әдебиеттер көзі
I типі	Бірнеше ферменттердің салыстырмалы орташа белсенділігі (соның ішінде коллагеназа, клостридий протеазасы, трипсин белсенділігі)	Ол негізінен эпителий тінде, бауырда, өкпеде, май тінде және бүйрек үсті безі тінде бастапқы жасушаларды өсіру үшін қолданылады	[13, 14]
II типі	Клостридий протеазасының жоғары белсенділігі, I типпен салыстырғанда	Әдетте жүректен, сүйектен, бауырдан, тимус безінен, сілекей бездерінен және шеміршектен бастапқы жасушаларды алу үшін қолданылады	[15]
III типі	Екіншілік протеазалардың төмен гидролитикалық белсенділігі	Сүт безі тінінен бастапқы жасушаларды алу	[16]
IV типі	Ұйқы безі ферменттерінің белсенділігі төмен	Арал жасушаларын дайындау үшін қолданылады	[17]
V типі	Коллагеназа мен казеин белсенділігі жоғары, бірақ ұйқы безі ферменттерінің белсенділігі төмен ішінара тазартылған түрі	Аралдарды дайындауға жарамды	[18]
NB	Салыстырмалы түрде орташа белсенділік бірнеше ферменттер (соның ішінде коллагеназа, клостридий протеазасы, бейтарап ақ ферменттің белсенділігі)	Әр түрлі жасушаларды бөлуге жарамды адам мен жануарлардың ұлпаларында және кең спектрге ие	[19, 20]

стер рН пен температураның қолайлы жағдайында, өте төмен концентрацияда жоғары спецификалық табиғаты мен жоғары белсенділігіне байланысты өндірістік процестердің маңызды бөлігі болып табылады, бұл сонымен қатар жағымсыз әсерлер мен екіншілік өнімдердің азаюына әкелуі мүмкін [24].

Бактериялық коллагеназалар коллагенді қоректік заттардың көзі ретінде пайдалану үшін анаэробты/аэробты патогенді және патогенді емес микроорганизмдерден бөлінеді. «Жергілікті» коллагендер үш спиральды құрылымына байланысты қарапайым протеазалардың көпшілігіне төзімді, бірақ коллагеназалар арқылы белгілі бір жерлерде оңай ыдырайды. Әдебиеттер дерекздерінде бастапқыда коллагеназалар деп аталатын көптеген ферменттер сипатталған, бірақ кейіннен олар протеазалар немесе кең басқа спецификалық пептидазалар болып шықты.

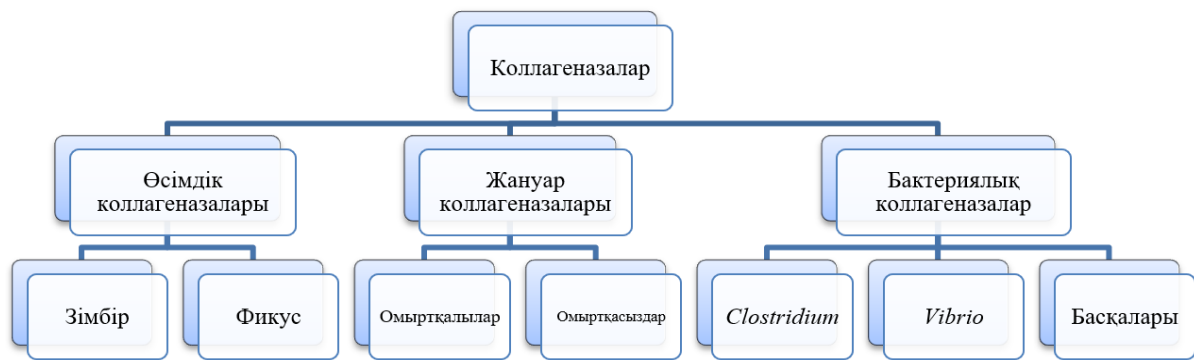
Коллагеназалар жануарларда (ЕС 3.4.24.7) және микроорганизмдерде (ЕС 3.4.24.3) кездеседі. Жануарлар коллагеназасы жергілікті үш спиральды коллагенді бір пептидтік байланыс арқылы ыдырайды. Алайда, бактериялық коллагеназа ерекше және физиологиялық жағдайда табиғи коллагенді гидролиздеуге қабілетті. Коллагеназалар кең субстрат ерекшелігіне ие және суда ерімейтін «жергілікті» коллагендерді де, суда еритін денатуратталған коллагендерді де ыдырата алады. Осы бірегей белсенділіктің арқасында бактериялық коллагеназалар эмбрионның дамуында, морфогенезде, тіндерді қайта құруда, жараларды емдеуде және артрит, қатерлі ісік, атеросклероз сияқты адам ауруларында маңызды рөл атқарады. Сондықтан бактериялық «шынайы» коллагеназалар көптеген өнеркәсіптік, биотехнологиялық, фармакологи-

ялық, дәрілік және тағамдық қосымшалардың арқасында үлкен назар аударады [25].

Коллагеназалар тамақ, былғары, аң терісі, балық өңдеу, сыра қайнату, ет өңдеу, сыранны ағарту және тұрақтандыру, медицина, косметика, балық сүрлемі, балық соусы, балық ұны, мал азығын өңдеу, ғылыми және аналитикалық зерттеулер сияқты әртүрлі салаларда қолданылады. Сондықтан қазіргі уақытта ғылыми қауымдастық жоғары өнімді фермент түзетін микроорганизмдерді таңдаумен, арзан өсіру орталарын дамытумен, сондай-ақ жаңа қасиеттері бар коллагенолитикалық ферменттерді үнемді өндіру үшін әртүрлі әдістермен қарқынды айналысады. Шын мәнінде, бұл шолу бактериялық коллагеназаларды шолумен байланысты өзекті ақпаратты, сондай-ақ осы коллагеназаларды тамақ өнеркәсібінде әлеуетті қолдану перспективаларына ерекше назар аудара отырып, болашақ тенденциялары мен перспективаларын қамтуға арналған. Әдби шолу сонымен қатар коллаген гидролизатын қолдана отырып, жаңа функционалды тағамдар мен сусындарды әзірлеуге болатын жаңа стратегияларды қарастырады.

## **2 КОЛЛАГЕНАЗАЛАР: КОЛЛАГЕНАЗАЛАРДЫҢ ПАЙДА БОЛУЫ ЖӘНЕ ТАРАЛУЫ**

Коллагеназалар әдетте «жергілікті» және суда еритін денатуратталған коллагенге арнайы әсер ететін ферменттер ретінде қарастырылады. «Шынайы коллагеназа» термині олардың бұқа жануарының Ахиллес сіңірінің жергілікті коллагенін гидролиздеу қабілетіне негізделген. Коллагеназалар негізінен жануарларда, микроорганизмдерде және өсімдіктерде кездеседі [26].



Сурет 1 – Коллагеназалардың жіктелуі [29].

Коллагеназа - әртүрлі аймақтарда ең көп қолданылатын ферменттердің бірі. Бұрын жануарлардың тіндерінен коллагенді оқшаулауға және алуға көп көңіл бөлінді. Жақында жануарлардың коллагеназаларынан жақсы ерекшеленетін бактериялық коллагеназаларды алуға баса назар аударылды. Өнеркәсіптік масштабта бұл фермент *Clostridium spp.* қоздырғышынан алынды. Вейнберг пен Рендин алғаш рет коллагеназаның бактериялық өндірісі туралы 1932 жылы хабарлады. 1937 жылы Машманн желатинді де, коллагенді де сіңіре алатын *C. perfringens* ферменті үшін «коллагеназа» атауын ұсынды [27, 28].

Коллагеназалар организмдердің, соның ішінде микроорганизмдердің, жануарлардың және өсімдіктердің құрамында кең ауқымда анықталды (сурет 1) [29].

### 2.1 Өсімдік коллагеназалары.

Коллагеназалар негізінен жануарлар мен микроорганизмдерде кездеседі. Коллагеназалар кейбір өсімдіктерде де табылған. Өсімдік коллагеназалары негізінен коллагеннің жергілікті түрін белгілі бір жерде ыдыратады. Бұл ферменттердің биологиялық процестерге қатысатыны дәлелденбеген, бірақ олар нематодтар сияқты зиянкестерден қорғау сияқты биологиялық функциялармен байланысты болуы мүмкін. Өсімдіктердің коллагенолитикалық белсенділігі қоршаған ортаның өзгеруіне қарсы қорғаныс желісі ретінде маңызды рөл атқаруы мүмкін және олардың белсендірілуі әртүрлі стресс түрлерін қолданудан туындауы мүмкін. Зімбір тамырынан (*Zingiber officinale*) [30] және інжір латексінен (*Ficus carica* var. Brown Turkey) коллагеназаның оқшаулануы мен сипаттамасы туралы белгілі [31].

### 2.2 Жануарлар коллагеназалары.

Жануарлар коллагеназасы (ЕС 3.4.24.7, интерстициальды коллагеназа) коллагенді жергілікті үш спиральды құрылымға ұйымдастырылған үш  $\alpha$ -тізбек арқылы бір пептидтік байланыс арқылы ыдыратады. Жануарлардың коллагеназасы коллагеннің үштік спиралын x-Gly байланысынан молекула ұзындығының төрттен үш бөлігіне ыдыратуы мүмкін. Коллагеназалар омыртқалы жануарлар арасында кең таралған. Жануарларда коллагеназалар «табиғи үш спиральды коллагеннің» немесе «суда ерімейтін табиғи коллагеннің» деградациясы коллагеннің шығу тегі мен түріне байланысты [32]. Жануарлардан алынатын коллаген көбінесе балықты өңдеудің екіншілік өнімдерінен немесе балықтар мен басқа жануарлардың ішектерінен оқшауланып тазартылады [33].

### 2.3 Бактериялық коллагеназалар.

Бактериялық коллагеназалар (ЕС 3.4.24.3) X-Gly байланыстары арқылы үштік спираль аймағындағы жергілікті коллагенді қорытады. Бактериялық коллагеназалардың кең субстраттық ерекшелігі бар және олардың үш спиральды конформациясында «суда еритін/ерімейтін жергілікті» және «денатуратталған» коллагендерді бұзады. Бактериялық коллагеназалар коллагеннің әрбір полипептидтік тізбегін бірнеше жерде бұзуы мүмкін. Бактериялық коллагеназалардың өндірісі кейбір патогендік бактериялар мен саңырауқұлақтарда тіркелген. Бактериялық көздер микробтық коллагеназаларды өндіру үшін кеңінен қолданылады (кесте 2) [34].

**Кесте 2** – Бактериялық коллагеназалардың әртүрлі көздері [34].

<i>Clostridium</i> коллагеназалары	Теңіз коллагеназалары	Басқа коллагеназалар
- <i>C. histolyticum</i> - <i>C. tetani</i> - <i>C. perfringens</i>	- <i>Vibrio alginolyticus</i>	- <i>Penicillium aurantiogriseum</i> - <i>Rhizoctonia solani</i> - <i>Bacillus spp.</i>

Алғашқы анықталған және сипатталған бактериялық коллагеназалар *Clostridium spp.* Бактериялық коллагеназалар туралы біліміміздің негізгі көзі *C. histolyticum* коллагеназаларын кең зерттеуінен тұрады. The *C. histolyticum* коллагенолитикалық белсенділігі бар жеті түрлі полипептидтер көрсетілді, олар субстраттың ерекшелігі негізінде екі топқа бөлінеді [35].

Коллагеназа өндіретін жақсы зерттелген *C. histolyticum* микроорганизмінен басқа, кейбір басқа кластридиялар да коллагеназа түзе алады, дегенмен, әдебиеттерде олардың биохимиялық қасиеттері туралы аз ақпарат табуға болады. *C. perfringens* және *C. tetani* -коллагеназа түзетін басқа кластридиялар. Олар табиғатта, әсіресе нәжіспен ластанған топырақ пен суда кең таралған. Олар сондай-ақ адам мен жануарлардың ішек жолдарында өмір сүреді. Кейде *C. perfringens* кластридиальды гистотоксикалық инфекцияның ең көп таралған қоздырғышы бола отырып, инфекцияны тудырады. *C. histolyticum* және *C. tetani* сияқты патогендік штамдар анаэробты инфекциялар кезінде ағзаға енуді, колонизацияны және токсиндердің таралуын жеңілдету үшін коллагеназаны қолданатыны хабар-

ланды. Сонымен қатар, тағы бір жақсы зерттелген бактериялық коллагеназа - *Vibrio alginolyticus* коллагеназасы. *V. alginolyticus* коллагеназасының белсенділігі кез келген басқа бактериялық коллагеназаға қарағанда жоғары екені анықталды. Соңғы жылдары жануарлардың коллагеназаларымен салыстырғанда микробтық коллагеназаларға көп көңіл бөлінді. Осы уақытқа дейін микробтық коллагеназалар бірнеше түрден тазартылып, олардың гендері клондалған және реттелген. Дегенмен, көптеген бактериялық коллагеназалар әлі ферментативті және құрылымдық түрде сипатталған жоқ [36].

### 3 БАКТЕРИЯЛЫҚ КОЛЛАГЕНАЗАЛАРДЫҢ КОММЕРЦИЯЛЫҚ ҚОЛЖЕТІМДІЛІГІ

Алғашқы коммерциялық қолжетімді бактериялық коллагеназа оқшауланған *C. histolyticum* болған. Ұзақ уақыт бойы ол - коммерциялық қолжетімді жалғыз бактериялық коллагеназа. Бұл кластридиальды коллагеназалар жақсы зерттелген және олардың қасиеттері сипатталған. Қазіргі уақытта олар жаңадан ашылған коллагенолитикалық ферменттермен салыстыруға болатын жалғыз анықтамалық ферменттер болып табылады. Бұл ферменттер әртүрлі патогендердің вируленттілігінің маңызды факторлары болып табылады. Кластридиальды коллагеназалар - төрталты доменнен тұратын шамамен 115 кДа болатын үлкен мультимодульді мырыш-металлопротеиназалар. Әрқайсысы шамамен 10 кДа болатын екіден төртке дейінгі қосалқы домендер коллагенді байланыстыруға және ісінуге жауап беретін жергілікті коллагеназа үшін маңызды экзондарды қамтамасыз ететін ауыспалы құрамдағы с-терминалды коллаген рекрутингтік бірліктерін құрайды. Кластридиальды штамдардың көпшілігінде бір коллагеназа

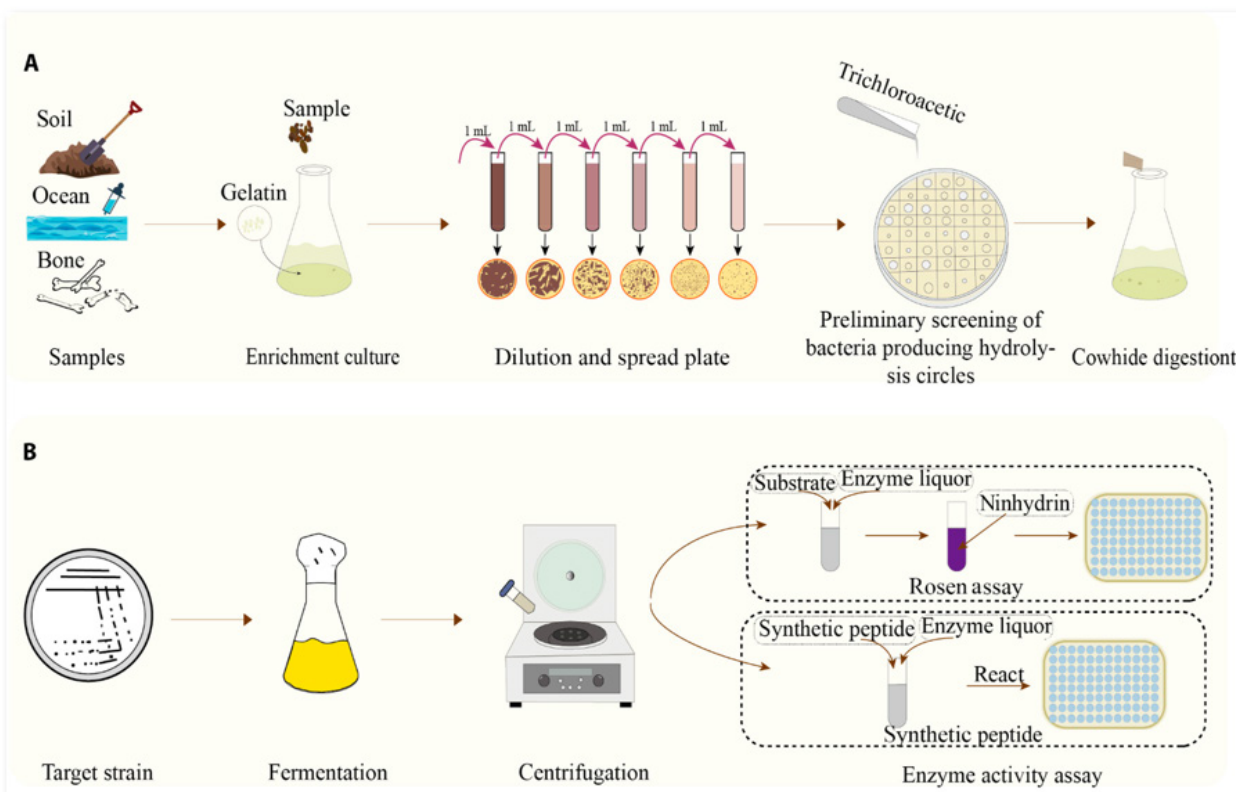
болғанымен, *C. histolyticum* екі коллагеназаны бірін-бірі толықтыратын сипаттамалармен кодтайды. Коллагеназа G (Col G) жоғары коллагенолитикалық және төмен пептидолитикалық белсенділікке ие, ал оның гомологы Коллагеназа H (Col H) төмен коллагенолитикалық және жоғары пептидолитикалық белсенділікті көрсетеді [37].

### 4 КОЛЛАГЕНАЗА ТҮЗЕТІН МИКРООРГАНИЗМДЕРДІ ОҚШАУЛАУ ЖӘНЕ ОНЫҢ СКРИНИНГІ

Коллагеназа өндіретін микроорганизмдер топырақ, термалды аймақтар, жауын құрттарының ішек қалдықтары, тамақ материалдары, балық тұздықтары, балық қалдықтары (тері, сүйек және қанаттар), мал сою алаңдарынан топырақ пен ағынды сулардың үлгілері, әртүрлі патологиялық көздер, сондай-ақ тері өңдеу зауыттары/өндірістері сияқты әртүрлі мекендеу орындарында табылады.

Әртүрлі зерттеу топтары коллагеназа түзетін микроорганизмдерді скринингтің бірнеше әдістерін ұсынды. Дегенмен, әдебиеттерде коллагеназа түзетін микроорганизмдердің дұрыс және нақты анықталған скринингіне қатысты кең ғылыми келіспеушіліктер бар. Бұл келіспеушіліктер коллагенолитикалық протеаза, желатиназа және басқа протеазалар сияқты ұқсас ферменттердің болуына байланысты. Сапалық және сандық сипаттамаларға негізделген коллагеназа түзетін микроорганизмдерді оқшаулау мен скринингтің нақты анықталған стандартты әдісі жоқ. Осылайша, зерттеулер коллагеназа өндіретін микроорганизмдердің жылдам, сенімді және үнемді сапалы скринингін стандарттауға бағытталуы керек [38].

Табиғи коллагеннің субстрат ретіндегі ерекшелігі



Сурет 2 – Коллагеназа өндіру үшін жабайы типті сызықты скрининг үшін қолданылатын әдістердің схемасы [39]:

А - коллагеназа скринингінің сапалы әдісі, В - коллагеназа скринингінің сандық әдістері.



жоғары, бірақ ферменттің белсенділігін анықтау үшін көп уақыт қажет және операцияның өзі күрделі, бұл әдістерді жоғары өнімді скринингте қолдануды шектейді. Синтетикалық пептидтердің субстрат ретінде реакция уақыты қысқа және әдістерді қолдану оңай, бірақ олар табиғи коллагеннің гидролитикалық ортасын толығымен еліктемеуі мүмкін. Изотоптық және флуоресцентті таңбалау әдістері жоғары сезімталдыққа ие және белсенділікті дәл анықтауға жарамды болғанымен, оларды ауқымды скринингте қолдану құны мен техникалық талаптарымен шектеледі. Дегенмен, коллагеназды скринингтік зерттеулер жылдам, сезімтал, дәл және автоматтандырылған операцияларға бейімделуі мүмкін жоғары өнімді скринингтік технологияларды әзірлеуге және оңтайландыруға бағытталуы керек. Мысалы, негізделген скринингтік платформалар реакция көлемі мен құнын төмендеті отырып, көптеген үлгілерді өңдеуге мүмкіндік беретін микрофлюидтік технологияларды зерттеуге болады. Сонымен қатар, машиналық оқытумен және жасанды интеллект алгоритмдерімен бірге скринингтің дәлдігі мен тиімділігін одан әрі жақсарту, сондай-ақ тиімді сәйкестендіру және пайдалану үшін скринингтік деректер үлгілерін жылдам талдау және тану мүмкін коллагеназа түзетін микроорганизмдер (сурет 2) [39].

#### 4.1 Желатин гидролизіне негізделген тәсіл.

Желатин - табиғатта жоқ, бірақ денатурация арқылы ата-аналық коллаген ақуызынан алынатын ақуыз фракцияларының класы. Желатиннің гидролизі коллагеназаның белсенділігін сапалы анықтауға мүмкіндік береді. Бірнеше зерттеушілер коллагеназа өндіретін жасушадан тыс микроорганизмдерді скрининг үшін триптиканық соя ағары, селективті орта, картоп-декстроза ағары және қоректік ағар сияқты әртүрлі орталарға қосымша ретінде 1-3% желатинді қолданғанын хабарлады. Коллагеназа өндірісі колониялардың айналасында айқын немесе айқын гало аймағы ретінде көрінеді. Дегенмен, гидролизденген аймақтың анықтығы ортасы бар планшетте анық болмауы мүмкін. Сондықтан микроорганизмдер колониясының айналасындағы гидролизденген аймақтың анықтығын ақуыздарды трихлорацет қышқылымен (ТХҚ) тұндыру арқылы жақсартуға болады. ТХҚ-ның 30%-ын қолдану желатин гидролизінің айқын аймағының пайда болуына әкелетіні анық. Коллагеназа түзетін микроорганизмдерді скрининг үшін ағар шыныаяқ әдісі де қолданылады. Жасушасыз супернатант 1-ден 2%-ға дейін (w/v) желатинді бар планшет шыныаяқтарына (8 мм) орналастырылады. Желатинді қорыту қабілеті шыныаяқтарда мөлдір гало түзілуімен мм-де көрінеді [40].

#### 4.2 Коллаген мен коллаген гидролизіне негізделген тәсіл.

Микроорганизмдердің коллагенолитикалық белсенділігін ерімейтін/еритін коллаген немесе коллаген гидролизаты өнімдерін қолдану арқылы анықтауға болады. Коллагендердің көпшілігінде денатурация температурасы төмен (30-дан 37°C-қа дейін). Коллагеннің денатурациясын болдырмау үшін коллагенмен толықтырылған ортаны автоклавтау арқылы зарарсыздандыру мүмкін емес. Сондықтан коллагенмен толықтырылған өсу ортасын зарарсыздандыру ғылыми қауымдастық үшін күрделі міндет болып табылады. Коллагеннің стерильден-

ген өсу ортасына асептикалық қосылуы коллагеннің стерильділігіне байланысты проблемалы болуы мүмкін [41]. Сонымен қатар, қышқыл коллаген ерітіндісі (коллаген әдетте сұйылтылған қышқылда ериді, мысалы, 0,5 М сірке қышқылында) ортаның рН мәнін өзгертуі мүмкін. Осы мәселелерді шешу үшін пропилен оксиді, этилен оксиді, газ плазмасын зарарсыздандыру, гамма-сәулелену, хлороформ, глутаральдегид, формальдегид, қышқыл рН сияқты қайта суспензияланған коллагенді дезинфекциялау және/немесе зарарсыздандыру үшін басқа да зарарсыздандыру әдістері қолданылады, электронды сәулені зарарсыздандыру, сірке қышқылын зарарсыздандыру немесе осылардың комбинациясы. Стерилизацияның бұл әдістері бастапқы материалдың/коллагеннің құрылымы мен биотропикалық қасиеттеріне теріс әсер етпейді [42-44].

### 5 КОЛЛАГЕНАЗА БЕЛСЕНДІЛІГІН ӨЛШЕУ

Бактериялық коллагеназа суда ерімейтін «жергілікті» коллагендерге де, суда еритін денатурацталған коллагендерге де әсер етуі мүмкін (яғни, желатин). Коллагеназа белсенділігіне ерігіштік, тұтқырлық, коллаген ерітіндісінің концентрациясы, коллагенді еріту үшін қолданылатын қышқыл түрі, фермент мөлшері, гидроксипролин сияқты коллагеннің деградациялық өнімдері, аминқышқылдары, пептидтер, және басқа реакция жағдайлары (рН, температура және араластыру). Коллагеназаны талдау үшін субстрат ретінде суда ерімейтін және еритін коллаген жиі қолданылады. Бұл әдістерде коллагеназа белсенділігін анықтау үшін әдетте коллаген субстраттарынан түзілетін аминқышқылдарының мөлшерін анықтау қолданылады. Аминқышқылдарын сандық бағалауға арналған модификацияланған колориметриялық Розеннингидрин әдісі әдетте коллагеназа белсенділігін өлшеу үшін қолданылады. Бұл әдісте коллаген субстраты (әдетте «жергілікті» коллаген) ферменттермен инкубацияланады. Коллагеназа белсенділігі коллаген субстратынан босатылған бос амин топтарының санын өлшеу арқылы анықталады. Коллагеназа белсенділігі әдетте стандартты талдау жағдайында L-лейцин/глицинді сілтеме ретінде пайдалана отырып, мл-де минутына бөлінетін аминқышқылдарының микромольдерінде (мкмоль) көрсетіледі. Дегенмен, кейбір зерттеу топтары талдау үшін субстрат ретінде желатинді қолдану арқылы коллагеназа белсенділігін анықтау туралы хабарлады [45, 46].

Спектрофотометрия әдісімен коллагеназа белсенділігін анықтау үшін полиэтиленгликольді (ПЭГ) қамтитын нингидринге негізделген өзгертілген әдіс көрсетілді. ПЭГ нингидринмен реакцияларда Руэман күлгінін тиімді тұрақтандыруға қабілетті полиэфирлі қосылыстар қатарына жатады және ПЭГ болуы нингидрин негізіндегі реакцияларды коллагеназа талдауына жарамды етеді. Сіңіру уақыты ұлғайған сайын сіңіру артады. Коллагеназаны талдаулардың көпшілігі көп уақытты қажет етеді (3-тен 18 сағатқа дейін). Егер коллагенолитикалық талдау 37°C-тан жоғары температурада жүргізілсе (коллаген денатурациясының температурасынан жоғары), онда коллагенолитикалық емес, желатинолитикалық белсенділік өлшенеді. Жоғары температурада коллаген гидролизденеді және әрине, коллаген гидролизаты немесе желатин алынады [47].

Коллагеназа белсенділігін анықтауға арналған сезімтал, жылдам және ерекше электрофорез әдісі де сипатталған. Бұл зимография әдісінде коллаген субстрат ретінде қолданылады. Коллаген полиакриламидті гелге енгізіледі және денатурацияланбайтын электрофорез жасалады. Бұл әдіс боялған ақуыздың (коллагеннің) қараңғы фонымен қоршалған айқын аймақтар/жолақтар түрінде кездесетін фермент арқылы коллаген гидролизін көрсетеді. Бұл әдіс коллагеназаның белсенділігін нанограммаға дейін анықтауға мүмкіндік береді. Коллагеназаның белсенділік жолағын гелді Coomassie Blue бояғышымен бояу арқылы көруге болады. Коллагеназаны анықтаудың бірқатар әдістері бар болса да, коллагеназа белсенділігін анықтаудың қарапайым, сенімді және үнемді әдісіне деген қажеттілік әлі де қанағаттандырылмайды [48].

## 6 БАКТЕРИЯЛЫҚ КОЛЛАГЕНАЗАЛАРДЫҢ ЖІКТЕЛУІ

Нағыз микробтық коллагеназалар, әсіресе бактериялық коллагеназалар физиологиялық жағдайда «жергілікті» фибриллярлық коллагеннің спиральды аймақтарын ыдырататын ферменттер ретінде сипатталады. Дегенмен, шынайы микробтық коллагеназаларды желатиннен және басқа бактериялық протеазалардан ажырату жиі қиын. «Коллагенолитикалық протеаза», «желатиназа», «коллагеназа» және «коллагенолитикалық ферменттер» терминдері ғылыми қауымдастық арасында айтарлықтай жалғандықты тудырды. Бұл микробтық коллагеназалардың жіктелуінде де, номенклатурасында да даулар мен дәлсіздіктерге әкеледі. Оларды қолдануда шатаспау үшін бұл терминдерді анықтау керек. Сонымен қатар, омыртқалы коллаген мен желатиннің микробтық коллагеназалардан айырмашылығының шекараларын нақты анықтау қажет [49, 50].

Жануарлардың коллагеназалары коллагенді ыдыратып, өзінің үш спиральды конформациясында ұйымдастырылған үш  $\alpha$ -тізбек арасындағы жалғыз пептидтік байланысты гидролиздейді. Осындай алғашқы коллаген фрагментациясынан кейін  $\alpha$ -тізбектерге шабуыл өте шектеулі және түзілген фрагменттер желатиназалар сияқты басқа протеазаларға сезімтал коллаген полипептидтеріне айналады. Керісінше, коллагеннің барлық дерлік түрлеріне  $\alpha$ -тізбектің әртүрлі нақты аймақтарындағы микробтық коллагеназалар шабуыл жасай алады. Атап өту маңызды, микробтық протеазалардың көп мөлшері Бір тізбекті және денатуратталған коллаген полипептидтерін гидролиздеу қабілетіне ие. Бұл коллагенолитикалық бактериялық протеазаларды үш спиральды табиғи коллагенді бұзуға қабілетті нақты микробтық коллагеназалармен шатастыруға болмайды [51, 52].

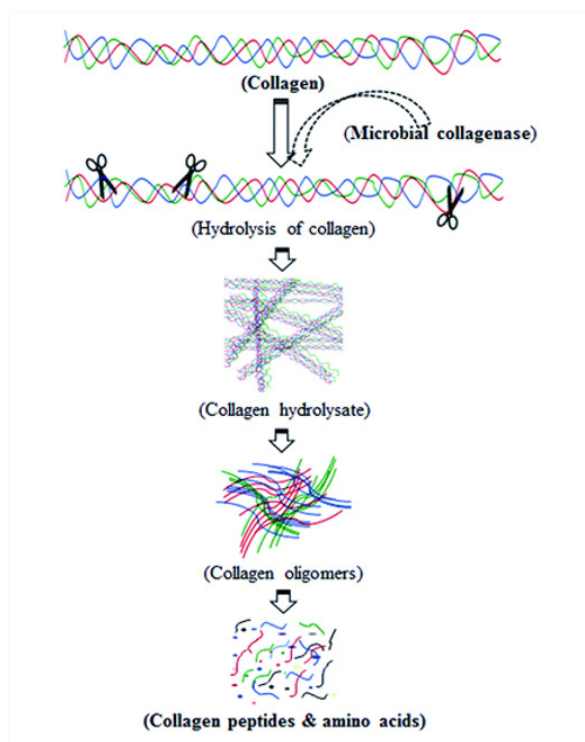
## 7 КОЛЛАГЕНАЗАНЫҢ ФЕРМЕНТАТИВТІ ӨНДІРІСІ

Бактериялық коллагеназалардың өндірісі туралы есептердің шектеулі саны бар. Бүгінгі күнге дейін хабарланған микробтық коллагеназалардың көпшілігі суға батырылған ашыту әдісімен алынған. Коллаген қоспаларының әртүрлі түрлері (жергілікті коллаген, желатин/коллаген гидролизаты) жасушадан тыс коллагеназа ферменттерін өндіру үшін культура орталарында қолданылған. Көптеген зерт-

теушілер коллагеназа ферментінің өндірісін тудыруы мүмкін культуралық ортаға қосымша ретінде 1% желатин мен соя ұны қосылған уыт сығындысын қолданды. Сондай-ақ, ерімейтін коллаген және балық коллагені сияқты субстраттар коллагеназа өндірісінің индукторлары болып табылады. Балық масштабындағы ұнтақ және балық терісі сияқты шикі субстраттарды, сондай-ақ сүтқоректілердің, ашшандардың және шаяндардың қосалқы өнімдерін кейбір зерттеу топтары коллагеназа өндіру үшін культура орталарында көміртегі/азоттың жалғыз көзі ретінде пайдаланады [53, 54].

*Nocardiosis Dassionvillei*-де суға батырылған ашыту әдісімен азот пен көміртектің жалғыз көзі ретінде ашшандар мен шаяндарды қолдану арқылы мл-ге 240 U коллагеназаның максималды белсенділігі туралы хабарланды. *Bacillus pumilus* өндіретін жасушадан тыс коллагеназа максималды коллагеназа белсенділігін 129,5 U көрсетті, сондай-ақ *B. cereus* (мл-ге 23,07 U) және *Klebsiella pneumoniae* (1 мл-ге 10,84 U) коллагеназа өндірісі туралы хабарланды. Тран және Nagano *B. subtilis*-тен бір мл-ге 3,07 U-да коллагеназаның максималды белсенділігі туралы хабарлады. *Candida albicans* коллагеназасының максималды коллагенолитикалық белсенділігі  $6,8 \pm 0,4$  U. бактериялық коллагеназалардың әлеуетті қолданылуы және олардың жоғары сұранысы ғылыми қауымдастықтың жаңа қасиеттері бар жасушадан тыс коллагеназалардың жоғары титрлерін шығаруға қабілетті микроорганизмдердің жаңа түрлерін/штамдарын іздеуге қызығушылығын тудырады [55].

Гидролизденген коллаген-гидролиз процесінен өткен коллагеннің бір түрі (су арқылы молекулаларды кішірек бөліктерге бөлу процесі). Коллаген жағдайында гидролиз үлкен коллаген молекулаларының пептидтер деп аталатын кішірек бөлшектерге бөлінуін білдіреді. Айтпақшы, сондықтан гидролизденген коллаген көбінесе пептид деп аталады (сурет 3) [56].



Сурет 3 – Коллаген гидролизі [56].

## 8 КОЛЛАГЕНАЗАНЫҢ БАКТЕРИЯЛЫҚ ӨНДІРІСІН ЖАҚСARTУ ҮШІН ҚОЛДАНЫЛАТЫН СТРАТЕГИЯЛАР

Соңғы онжылдықта коллагеназаларды зерттеу қарқын алуға, өйткені коллагеназалар дәстүрлі протеазаларға қосымша медициналық, өнеркәсіптік және биотехнологиялық қолданбаларға ие. Бактериялық коллагеназаларды өндіруге арналған ортаның арзан өнеркәсіптік құрамдарын әзірлеу өнімнің өзіндік құнында, концентрациясында, өнімділігінде және өнімділігінде маңызды рөл атқаруы мүмкін. Ортаның құрамы коллагеназаның өнеркәсіптік өндірісіндегі маңызды факторлардың бірі болып табылады, өйткені өндіріс шығындарының 30-40%-ы өсу ортасының жоғары құнына байланысты. Сондықтан мұндай процестердегі шығындар мен пайдалардың арақатынасын оңтайландыру басты міндеттердің бірі болып табылады. Коллагеназаны өндіру құны коллагеназаларды өнеркәсіптік табысты қолдануға негізгі кедергі болып табылады. Жоғары өнімді коллагеназаны экономикалық тұрғыдан тиімді өнеркәсіптік өндіру үшін арзан ортаны пайдалануға болады. *B. cereus* CNA1 және *K. pneumoniae* CNL3 коллагеназасын өндіру үшін физиохимиялық жағдайларды (рН, температура, көміртегі көзі және желатин) оңтайландыру туралы хабарланды [57, 58].

### 8.1. Статистикалық жобалау әдістері.

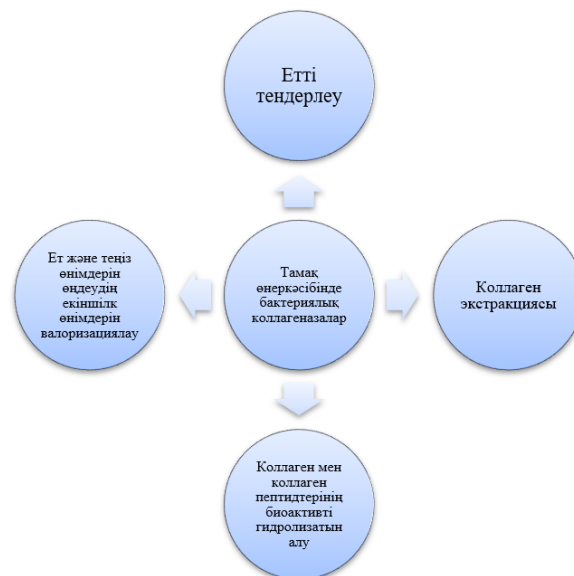
Коммерциялық талаптарды қанағаттандыру үшін процестің әртүрлі параметрлерін және қоршаған орта құрамдарын оңтайландыру ферменттерді көп мөлшерде артық өндірудің белгілі әдістері болып табылады. Культуралық ортаның құрамы және биопроцестің физика-химиялық жағдайлары микробтық коллагеназа өндірісін арттырудың маңызды факторлары болып табылады. Алайда, қоршаған ортаны дамыту-бұл көп уақытты қажет ететін, қымбат және жиі уақытты қажет ететін процесс, оған бірнеше эксперименттер кіреді. Жауап бетінің әдістемесі сияқты статистикалық құралдар жасушадан тыс микробтық коллагеназалардың өндірісін арттыру үшін әртүрлі биопроцесс айнымалыларының деңгейін оңтайландыруда маңызды рөл атқарады. Суға батырылған ашыту әдісі арқылы бактериялық коллагеназа өндірісін статистикалық оңтайландыру туралы хабарлады [59].

## 9 БАКТЕРИЯЛЫҚ КОЛЛАГЕНАЗАЛАРДЫҢ БИОХИМИЯЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ

Тазартылған бактериялық коллагеназалардың шектелуі саны температураға, рН-қа, сондай-ақ металл иондары мен хелаттаушы агенттердің әсеріне байланысты олардың белсенділігі мен тұрақтылығының профилдерімен сипатталды. Бактериялық коллагеназалардың биохимиялық сипаттамалары 3-кестеде келтірілген. Коллагеназалардың қасиеттері микроорганизмнің түріне/штаммына байланысты. Коллагеназалардың көпшілігі 50-ден 120 кДа-ға дейінгі диапазонда жоғары көрінетін молекулалық салмаққа ие. рН-тың коллагеназа белсенділігіне әсері туралы деректер өте аз. Бактериялық коллагеназалардың оңтайлы рН 5-тен 9,5-ке дейін болатыны анықталды [60, 61].

## 10 БАКТЕРИЯЛЫҚ КОЛЛАГЕНАЗАЛАРДЫ ҚОЛДАНУ САЛАЛАРЫ

Бактериялық коллагеназаларды қолдану салалары өте кең және тамақ, былғары, ет және косметика өнеркәсібі, фармацевтикалық өндіріс және фрескаларды биореставрациялау сияқты салаларды қамтиды. Бактериялық коллагеназалар сүтқоректілердің жасушаларын оқшаулау және өсіру үшін де қолданылады. Сондықтан олар медициналық салаларда маңызды рөл атқарады. Микробтық коллагеназаларды күйіктерді, жараларды, тыртық тіндерін емдеу, белгілі бір мүшелерді трансплантациялау, Пейрони ауруы, деструктивті фиброз, бауыр циррозы және медициналық диагностикадағы скринингі жақсарту үшін қанды тазарту үшін қолдануға болады [67].



Сурет 4 – Бактериялық коллагеназаларды әртүрлі салаларда қолдану.

*Етті тендерлеу.* Нәзіктік - еттің маңызды сенсорлық қасиеттерінің бірі. Оған саркомерлердің ұзындығы, дәнекер тіннің тұтастығы (фондық қаттылық) және миофибрилдер (актомиозин қаттылығы) әсер етеді. Қаттылық - ет сапасының қолайсыз болуының маңызды себептерінің бірі. Үндістан сияқты дамушы елдерде жануарлардың көпшілігі қос мақсатта өсіріледі және олардың өнімді экономикалық өмірі аяқталғаннан кейін ғана сойылады (олар кез келген басқа мақсатта пайдасыз болған кезде). Бұл ескі/пайдаланылған жануарлардан алынған ет өте қатал. Сондықтан шикі ет пен ет өнімдерінің тұтынушылық тартымдылығын арттыру үшін тендерлеу процесі қажет (сурет 4) [68-70].

Ет сапасын жақсарту үшін тендерлеу мәселесін ферментативті агенттер мен процесті өзгерту арқылы тиімді шешуге болады. Протеазалармен емдеу (микробтық және өсімдік тектес) – ет нәзіктігін арттыру үшін қолданылатын ең прогрессивті әдістердің бірі. Бұл протеазалар ет ақуыздарына қатысты кең ерекшелікке ие. Сондықтан бактериялық/өсімдік протеазалары тендерленген бірнеше қажетсіз сенсорлық белгілерге әкелуі мүмкін. Коллаген (дәнекер тіннің 80% құрайды) қызыл ет қаттылығына да жауап береді және оның қорытылуы етті тендерлеу процесін тудырады. Осылайша, басқа ақуыздармен салыстырғанда коллагенге қатысты арнайы гидролиздеу белсенділігін көрсететін бактериялық коллагеназа жақсырақ



Кесте 3 – Бактериялық коллагеназалардың биохимиялық сипаттамалары.

Микроорганизмнің атауы	pH-тың оптимумы	Температура оптимумы, °C	Молекулалық массасы, кДа	Әдебиеттер көзі
<i>Bacillus licheniformis</i> F11.4	7	50	124	[62]
<i>Clostridium histolyticum</i>	анықталмаған	анықталмаған	116	[63]
<i>C. perfringens</i>	7.2	42	120	[64]
<i>C. histolyticum</i>	анықталмаған	анықталмаған	116	[65]
<i>Grimontia hollisae</i> 1706B ( <i>Vibrio</i> )	анықталмаған	анықталмаған	84	[66]

болар еді. Сондықтан микробтық коллагеназалар етті тендерлеу процесерінде спецификалық емес өсімдік/микробтық протеазаларға тартымды балама ретінде ұсынылды. Алайда, патогенділік және басқа да жағымсыз әсерлер сияқты қауіпсіздікке қатысты алаңдаушылық етті тендерлеу процесінде осы организмдерден микробтық коллагеназаларды өнеркәсіптік пайдалануды шектеді. Идеал ет тендері бөлме температурасында жоғары белсенділігі бар және ет өнімдерін дайындау процесінде оңай инактивацияланатын арнайы фермент болуы керек [71-74].

**Коллаген экстракциясында.** Коллаген және оның гидролизденген түрі, желатин, тамақ өнеркәсібінде кеңінен қолданылады. Дәстүр бойынша коллаген ферменттің көмегімен немесе онсыз қышқыл ерітіндімен алынады. Коллаген экстракциясының шығымдылығын бактериялық коллагеназалардың төмен концентрациясын қолдану арқылы арттыруға болады. Микробтық коллагеназалар телопептидтік аймақты ыдырату арқылы коллаген экстракциясына ықпал етеді [75].

**Коллаген мен коллаген пептидтерінің биоактивті гидролизатын алу кезінде.** Коллаген гидролизаты әдетте протеолитикалық өңдеу арқылы желатиннен алынады. Трипсин, химотрипсин, пепсин, алкалаза, коллагеназа, бромелайн және папаин сияқты протеазалар коллаген гидролизатын алу үшін ең көп қолданылатын ферменттер болып табылады. Коммерциялық қол жетімді коллаген гидролизатының орташа молекулалық салмағы 0,5-тен 20 кДа-ға дейін. Коллаген гидролизатының құрылымы, құрамы, молекулалық массасының таралуы және функционалдық қасиеттері өңдеу жағдайлары мен бастапқы материалға, сондай-ақ желатин гидролизі үшін қолданылатын ферменттің ерекшелігіне байланысты. Коллаген гидролизатын АҚШ-тың азық-түлік және дәрі-дәрмек басқармасы (USFDA), азық-түлік және азық-түлік қауіпсіздігі орталығы (Gras) қауіпсіз ретінде мақұлдады. Тамақтану тұрғысынан коллаген гидролизаттары қауіпсіздігімен танымал. Сондықтан жануарлардан/теңізден шыққан коллагеннен алынған коллаген гидролизаттары/пептидтері функционалды тағамдар мен сусындардың әлеуетті ингредиенттері ретінде үлкен қызығушылық тудырады [76].

Коллаген гидролизаты (коллагеннен алынған ингредиенттер) тамақ, косметика және фармацевтика өнеркәсібінде гелеу қабілеті, текстурасы, қоюлану және суды байланыстыру қабілеті, ісіну және ерігіштік қасиеттері, эмульсиялау, көбік түзу және тұрақтандыру, ад-

гезия және когезия, қорғаныс коллоидтық қызметі және пленка түзу қабілеті арқасында кеңінен қолданылады. Ол диеталық қосымша ретінде кеңінен қолданылады немесе әртүрлі тағамдардың бөлігі болып табылады. Кейбір клиникалық зерттеулерде коллаген гидролизатын күнделікті қабылдау буындардағы ауырсынуды азайтады, терідегі әжімдерді азайтады және оның қасиеттерін жақсартады. Басқа зерттеулер сонымен қатар гидролизатпен байытылған диета сүйек коллагенінің метаболизмін жақсарта алатынын көрсетті. Коллаген гидролизатын остеоартритті емдеу және остеопороздың алдын алу үшін болашақ тамақтану тәсілдерін әзірлеуде балама ретінде пайдалануға болады. Коллаген гидролизаты/коллаген пептидтері күшті антиоксидантты, шаршауға қарсы, микробқа қарсы және ангиотензинді түрлендіретін ферментті тежейтін әрекеттерді көрсетті [77-79].

**Ет және теңіз өнімдерін өңдеудің екіншілік өнімдерін валоризациялау.** Микробтық коллагеназаны коллаген, желатин, коллаген пептидтері, коллаген гидролизаты және жануарлар/теңіз өнімдерін өңдеудің әртүрлі жанама өнімдерінен ақуыз гидролизаттары сияқты биомолекулаларды/биополимерлерді алу үшін де қолдануға болады. *V.tequilensis*-тен коллагеназаның үнемді өндірісіне ет өнеркәсібінің қалдықтарын азот пен көміртектің жалғыз көзі ретінде пайдалану арқылы қол жеткізілді [80].

### ҚОРЫТЫНДЫ

Бұл шолудың мақсаты бактериялық коллагеназалардың әртүрлі сипаттамаларын анықтау және осы ферменттердің коммерциялық қолданылуына шолу жасау болды.

Қазіргі уақытта «коллагеназа» терминін анықтау, жіктеу және сәйкестендіру төңірегінде белсенді даулар бар. Ақуыздық сипатына байланысты коллагеназаға сипаттамаларды анықтау эксперименттері кезінде және реакциялар кезінде температура мен рН сияқты факторлар қатты әсер етеді. Бактериялық коллагеназаларды алу үшін қолданылатын үрдіс көбінесе көптеген екіншілік өнімдерге әкеледі, бұл жоғары шығындарға байланысты өнеркәсіптік өндірісті қиындатады. Медицина саласында бактериялық коллагеназаны қолдану пациенттердің қалпына келуін бақылауды қамтамасыз ету үшін өте маңызды. Белгілі бактериялық коллаж негіздерінің көпшілігі құрылымдық немесе ферментативті сипаттамаларға ие болғандықтан, осы ферменттердің ерекшелігін, құрылымын және қызметін зерттеу коллагеннің деградация механизмдері туралы түсінігімізді жақсарта



алады және сонымен бірге биотехнологияда қолданудың әлеуетті мүмкіндіктерін нақтылай алады. Бактериялық коллагеназалардың ықтимал қолданылуы туралы зерттеулер кең таралмаған. Қазіргі уақытта бактериялық коллагеназаларды ферментативті өндіру және қолдану бойынша зерттеулер өте аз. Коллагеназа түзетін микроорганизмдерді дұрыс және біржақты анықтау мен жіктеуге қатысты көптеген келіспеушіліктер бар. Коллагеназалардың құнын төмендету үшін агроөнеркәсіптік кешеннің арзан екіншілік өнімдерін қолдана отырып, коллагеназаларды өндіріп патогенді емес бактериялық көздерді іздеу қажет. Патогенді емес штаммдардан коллагеназа өндірісі патогенділіктің алдын алу және қауіпсіздік мәселелерін шешу арқылы тамақ өнеркәсібінде қолдану мүмкіндіктерін кеңейте алады. Белгілі бактериялық коллагеназалардың көпшілігі құрылымдық немесе ферментативті құрылымда сипатталмаған. Сондықтан бактериялық коллагеназалардың ерекшелігін, құрылымын және қызметін зерттеу коллагеннің деградация механизмдерін одан әрі түсінуге, сондай-ақ әртүрлі әлеуетті биотехнологиялық қолданбаларды ашуға мүмкіндік береді.

Азық-түлік, ет және басқа да қосымша құнды өнімдердің сапасын жақсарту үшін бактериялық коллагеназалардың рөлін зерттеу қызықты болар еді. Болашақ зерттеулер биоактивті коллаген пептидтерін, коллаген гидролизатын өндіру және тамақ пен сусындарға арналған жаңа функционалды ингредиенттерді әзірлеу сияқты пәнаралық салаларға бағытталуы керек. Сонымен қатар, коллаген экстракциясы және оны тамақ өнеркәсібінде қолдану маңызды болады. Осылайша, коллагеназаны өндіру мен қолдануды зерттеу, тамақ өнеркәсібінің, тамақтанудың және басқа да байланысты салалардың өсуін жақсарту үшін қызықты, пайдалы және қолайлы болады.

## МҮДДЕЛЕР ҚАҚТЫҒЫСЫ

Авторлар мүдделер қақтығысының жоқтығын мәлімдейді.

## ҚАРЖЫЛАНДЫРУ

Бұл зерттеулер Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым комитетімен қаржыландырылды (№AP19678954 грант).

## ӘДЕБИТТЕР ТІЗІМІ

1. Kadler, K.E., Baldock, C., Bella, J., Boot-Handford, R.P. Collagens at a glance // *Journal of Cell Science*. – 2007. – Vol. 120(12). – P. 1955–1958. <https://doi.org/10.1242/jcs.03453>.

2. Eckhard, U., Huesgen, P. F., Brandstetter, H., Overall, C.M. Proteomic protease specificity profiling of clostridial collagenases reveals their intrinsic nature as dedicated degraders of collagen // *Journal of Proteomics*. – 2014. – Vol. 100. – P. 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.10.004>.

3. Fields, G.B. Interstitial Collagen Catabolism // *Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 288(13). – P. 8785–8793. <https://doi.org/10.1074/jbc.r113.451211>.

4. Pal, G.K., Nidheesh, T., Suresh, P.V. Comparative study on characteristics and in vitro fibril formation ability of acid and pepsin soluble collagen from the skin of catla (*Catla*

*catla*) and rohu (*Labeo rohita*) // *Food Research International*. – 2015. – Vol. 76. – P. 804–812. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.018>.

5. Silver, F.H., Freeman, J.W., Seehra, G.P. Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties // *Journal of Biomechanics*. – 2003. – Vol. 36(10). – P. 1529–1553. [https://doi.org/10.1016/s0021-9290\(03\)00135-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9290(03)00135-0).

6. Manka, S.W., Carafoli, F., Visse, R., Bihan, D., Raynal, N., Farndale, R.W., Murphy, G., Enghild, J.J., Hohenester, E., Nagase, H. Structural insights into triple-helical collagen cleavage by matrix metalloproteinase 1 // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2012. – Vol. 109(31). – P. 12461–12466. <https://doi.org/10.1073/pnas.1204991109>.

7. Bilek, S.E., Bayram, S.K. Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen // *Journal of Functional Foods*. – 2015. – Vol. 14. – P. 562–569. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.024>.

8. Lima, C.A., Campos, J.F., Filho, J.L.L., Converti, A., da Cunha, M.G.C., Porto, A.L.F. Antimicrobial and radical scavenging properties of bovine collagen hydrolysates produced by *Penicillium aurantiogriseum* URM 4622 collagenase // *Journal of Food Science and Technology*. – 2014. – Vol. 52(7). – P. 4459–4466. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1463-y>.

9. Lima, C.A., Filho, J.L.L., Neto, B.B., Converti, A., Carneiro da Cunha, M.G., Porto, A.L.F. Production and characterization of a collagenolytic serine proteinase by *Penicillium aurantiogriseum* URM 4622: A factorial study // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. – 2011. – Vol. 16(3). – P. 549–560. <https://doi.org/10.1007/s12257-010-0247-0>.

10. Lima, C.A., Viana Marques, D.A., Neto, B.B., Lima Filho, J.L., Carneiro-da-Cunha, M.G., Porto, A.L.F. Fermentation medium for collagenase production by *Penicillium aurantiogriseum* URM4622 // *Biotechnology Progress*. – 2011. – Vol. 27(5). – P. 1470–1477. <https://doi.org/10.1002/btpr.664>.

11. Ruszczak, Z. Collagen as a carrier for on-site delivery of antibacterial drugs // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2003. – Vol. 55(12). – P. 1679–1698. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.007>.

12. Miles, C.A., Avery, N.C., Rodin, V.V., Bailey, A.J. The Increase in Denaturation Temperature Following Cross-linking of Collagen is Caused by Dehydration of the Fibres // *Journal of Molecular Biology*. – 2005. – Vol. 346(2). – P. 551–556. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.12.001>.

13. Xue, Y., Zhang, Y., Zhong, Y., Du, S., Hou, X., Li, W., Li, H., Wang, S., Wang, C., Yan, J., Kang, D.D., Deng, B., McComb, D.W., Irvine, D.J., Weiss, R., Dong, Y. LNP-RNA-engineered adipose stem cells for accelerated diabetic wound healing // *Nature Communications*. – 2024. – Vol. 15(1). – P. 739. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45094-5>.

14. Kloskowski, T., Uzarska, M., Gurtowska, N., Olkowska, J., Joachimiak, R., Bajek, A., Gagat, M., Grzanka, A., Bodnar, M., Marszałek, A., Drewa, T. How to isolate urothelial cells? Comparison of four different methods and literature review // *Human Cell*. – 2013. – Vol. 27(2). – P. 85–93. <https://doi.org/10.1007/s13577-013-0070-y>.

15. Shen, P., Wu, P., Maleitzke, T., Reisener, M.-J., Heinz, G. A., Heinrich, F., Durek, P., Gwinner, C., Winkler, T., Pum-

- berger, M., Perka, C., Mashreghi, M.-F., Löhning, M. Optimization of chondrocyte isolation from human articular cartilage to preserve the chondrocyte transcriptome // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2022. – Vol. 10. – P. 1046127. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1046127>.
16. Rønnov-Jessen, L., Villadsen, R., Edwards, J.C., Petersen, O.W. Differential Expression of a Chloride Intracellular Channel Gene, CLIC4, in Transforming Growth Factor- $\beta$ 1-Mediated Conversion of Fibroblasts to Myofibroblasts // *The American Journal of Pathology*. – 2002. – Vol. 161(2). – P. 471–480. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)64203-4](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)64203-4).
17. Low, J.T., Zavortink, M., Mitchell, J.M., Gan, W.J., Do, O.H., Schwiening, C.J., Gaisano, H.Y., Thorn, P. Insulin secretion from beta cells in intact mouse islets is targeted towards the vasculature // *Diabetologia*. – 2014. – Vol. 57(8). – P. 1655–1663. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3252-6>.
18. Ding, L., Sun, Y., Liang, Y., Zhang, J., Fu, Z., Ren, C., Li, P., Liu, W., Xiao, R., Wang, H., Zhang, Z., Yue, X., Li, C., Wu, Z., Feng, Y., Liang, X., Ma, C., Gao, L. Beta-Cell Tipe1 Orchestrates Insulin Secretion and Cell Proliferation by Promoting G $\alpha$ s/cAMP Signaling via USP5 // *Advanced Science*. – 2024. – Vol. 11(16). – P. e2304940. <https://doi.org/10.1002/advs.202304940>
19. Haack-Sørensen, M., Johansen, E.M., Højgaard, L.D., Kastrup, J., Ekblond, A. GMP Compliant Production of a Cryopreserved Adipose-Derived Stromal Cell Product for Feasible and Allogeneic Clinical Use // *Stem Cells International*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2022/4664917>.
20. Keshtkar, S., Kaviani, M., Jabbarpour, Z., Sabet Sarvestani, F., Ghahremani, M.H., Esfandiari, E., Hossein Aghdaei, M., Nikeghbalian, S., Shamsaeifar, A., Geramizadeh, B., Azarpira, N. Hypoxia-Preconditioned Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells Mitigate Stress-Induced Apoptosis and Ameliorate Human Islet Survival and Function in Direct Contact Coculture System // *Stem Cells International*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1–14. <https://doi.org/10.1155/2020/8857457>.
21. Wu, S., Zhou, X., Jin, Z., Cheng, H. Collagenases and their inhibitors: a review // *Collagen and Leather*. – 2023. – Vol. 5 (1). – P. 1-20. <https://doi.org/10.1186/s42825-023-00126-6>.
22. Farooq, S., Ahmad, M. I., Zheng, S., Ali, U., Li, Y., Shixiu, C., Zhang, H. A review on marine collagen: sources, extraction methods, colloids properties, and food applications // *Collagen and Leather*. – 2024. – Vol. 6(1). – P. 1-27. <https://doi.org/10.1186/s42825-024-00152-y>
23. Gudzenko, O.V., Varbanets, L.D., Ivanytsia, V.O., Shtenikov, M.D. Representatives of Bacillus from Deep-Water Bottom Sediments of the Black Sea – Producers of Elastases, Fibrin(ogen)ases, and Collagenases // *Mikrobiologichnyi Zhurnal*. – 2024. – Vol. 86(3). – P. 51–57. <https://doi.org/10.15407/microbiolj86.03.051>.
24. Schlapp, M., Friess, W. Collagen/PLGA Microparticle Composites for Local Controlled Delivery of Gentamicin // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2003. – Vol. 92(11). – P. 2145–2151. <https://doi.org/10.1002/jps.10460>.
25. Shahidi, F., Janak Kamil, Y.V.A. Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry // *Trends in Food Science & Technology*. – 2001. – Vol. 12(12). – P. 435–464. [https://doi.org/10.1016/s0924-2244\(02\)00021-3](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(02)00021-3).
26. T.R. Gomes, M., L. Oliva, M., T.P. Lopes, M., E. Salas, C. Plant Proteinases and Inhibitors: An Overview of Biological Function and Pharmacological Activity // *Current Protein & Peptide Science*. – 2011. – Vol. 12(5). – P. 417–436. <https://doi.org/10.2174/138920311796391089>.
27. Lima, C.A., Júnior, A.C.V.F., Filho, J.L.L., Converti, A., Marques, D.A.V., Carneiro-da-Cunha, M.G., Porto, A.L.F. Two-phase partitioning and partial characterization of a collagenase from *Penicillium aurantiogriseum* URM4622: Application to collagen hydrolysis // *Biochemical Engineering Journal*. – 2013. – Vol. 75. – P. 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.012>.
28. Lima, C.A., Rodrigues, P.M.B., Porto, T.S., Viana, D.A., Lima Filho, J.L., Porto, A.L.F., Carneiro da Cunha, M.G. Production of a collagenase from *Candida albicans* URM3622 // *Biochemical Engineering Journal*. – 2009. – Vol. 43(3). – P. 315–320. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.014>.
29. Ohbayashi, N., Yamagata, N., Goto, M., Watanabe, K., Yamagata, Y., Murayama, K. Enhancement of the Structural Stability of Full-Length Clostridial Collagenase by Calcium Ions // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2012. – Vol. 78(16). – P. 5839–5844. <https://doi.org/10.1128/aem.00808-12>.
30. Kim, M., Hamilton, S.E., Guddat, L.W., Overall, C.M. Plant collagenase: Unique collagenolytic activity of cysteine proteases from ginger // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. – 2007. – Vol. 1770(12). – P. 1627–1635. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2007.08.003>.
31. Raskovic, B., Bozovic, O., Prodanovic, R., Niketic, V., Polovic, N. Identification, purification and characterization of a novel collagenolytic serine protease from fig (*Ficus carica* var. Brown Turkey) latex // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2014. – Vol. 118(6). – P. 622–627. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.05.020>.
32. Daboor, S.M., Budge, S.M., Ghaly, A.E., Brooks, M.S., Dave, D. Isolation and activation of collagenase from fish processing waste // *Advances in Bioscience and Biotechnology*. – 2012. – Vol. 03(03). – P. 191–203. <https://doi.org/10.4236/abb.2012.33028>.
33. Jafari, H., Lista, A., Siekapen, M.M., Ghafari-Bohlouli, P., Nie, L., Alimoradi, H., Shavandi, A. Fish Collagen: Extraction, Characterization, and Applications for Biomaterials Engineering // *Polymers*. – 2020. – Vol. 12(10). – P. 2230. <https://doi.org/10.3390/polym12102230>.
34. Matsushita, O., Yoshihara, K., Katayama, S., Minami, J., Okabe, A. Purification and characterization of *Clostridium perfringens* 120-kilodalton collagenase and nucleotide sequence of the corresponding gene // *Journal of Bacteriology*. – 1994. – Vol. 176(1). – P. 149–156. <https://doi.org/10.1128/jb.176.1.149-156.1994>.
35. Yoshihara, K., Matsushita, O., Minami, J., Okabe, A. Cloning and nucleotide sequence analysis of the colH gene from *Clostridium histolyticum* encoding a collagenase and a gelatinase // *Journal of Bacteriology*. – 1994. – Vol. 176(21). – P. 6489–6496. <https://doi.org/10.1128/jb.176.21.6489-6496.1994>.

36. Teramura, N., Tanaka, K., Iijima, K., Hayashida, O., Suzuki, K., Hattori, S., Irie, S. Cloning of a Novel Collagenase Gene from the Gram-Negative Bacterium *Grimontia (Vibrio) hollisae* 1706B and Its Efficient Expression in *Brevibacillus choshinensis* // *Journal of Bacteriology*. – 2011. – Vol. 193(12). – P. 3049–3056. <https://doi.org/10.1128/jb.01528-10>.
37. Duarte, A.S., Correia, A., Esteves, A.C. Bacterial collagenases – A review // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2014. – Vol. 42(1). – P. 106–126. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2014.904270>.
38. Lockhart, R.A., S. Hakakian, C. Tissue Dissociation Enzymes for Adipose Stromal Vascular Fraction Cell Isolation: A Review // *Journal of Stem Cell Research & Therapy*. – 2015. – Vol. 5(12). – P. 321. <https://doi.org/10.4172/2157-7633.1000321>.
39. Wang, Z.-Z., Wang, K., Xu, L.-F., Su, C., Gong, J.-S., Shi, J.-S., Ma, X.-D., Xie, N., Qian, J.-Y. Unlocking the Potential of Collagenase: Structure, Function, and Emerging Therapeutic Horizons // *BioDesign Research*. – 2024. – Vol. 6. – P. 0050. <https://doi.org/10.34133/bdr.0050>.
40. Watanabe, K. Collagenolytic proteases from bacteria // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2004. – Vol. 63(5). – P. 520–526. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1442-0>.
41. Tran, L.H., Nagano, H. Isolation and Characteristics of *Bacillus subtilis* CN2 and its Collagenase Production // *In Journal of Food Science*. – 2002. – Vol. 67(3). – P. 1184–1187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09474.x>.
42. Petrova, D., Vlahov, S., Dalev, P. Purification and Characterization of a Thermostable Alkaline Collagenase from *Thermoactinomyces* Sp. E-21 Strain // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. – 2001. – Vol. 15(2). – P. 31–38. <https://doi.org/10.1080/13102818.2001.10819127>.
43. Petrova, D.H., Shishkov, S.A., Vlahov, S.S. Novel thermostable serine collagenase from *Thermoactinomyces* sp. 21E: purification and some properties // *Journal of Basic Microbiology*. – 2006. – Vol. 46(4). – P. 275–285. <https://doi.org/10.1002/jobm.200510063>.
44. Petrova, D., Derekova, A., Vlahov, S. Purification and properties of individual collagenases from *Streptomyces* sp. strain 3B // *Folia Microbiologica*. – 2006. – Vol. 51(2). – P. 93–98. <https://doi.org/10.1007/bf02932162>.
45. Suphatharaprteep, W., Cheirsilp, B., Jongjareonrak, A. Production and properties of two collagenases from bacteria and their application for collagen extraction // *New Biotechnology*. – 2011. – Vol. 28(6). – P. 649–655. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.04.003>.
46. Zhang, Y., Fu, Y., Zhou, S., Kang, L., Li, C. A straightforward ninhydrin-based method for collagenase activity and inhibitor screening of collagenase using spectrophotometry // *Analytical Biochemistry*. – 2013. – Vol. 437(1). – P. 46–48. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.02.030>.
47. Sakurai, Y., Inou, H., Nishii, W., Takahashi, T., Iino, Y., Yamamoto, M., Takahashi, K. Purification and Characterization of a Major Collagenase from *Streptomyces parvulus* // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. – 2009. – Vol. 73(1). – P. 21–28. <https://doi.org/10.1271/bbb.80357>.
48. Thanzami, K., Roy, I. A sensitive, rapid and specific technique for the detection of collagenase using zymography // *Eltrophorsis*. – 2008. – Vol. 29(7). – P. 1585–1588. <https://doi.org/10.1002/elps.200700655>.
49. Okamoto, M., Yonejima, Y., Tsujimoto, Y., Suzuki, Y., Watanabe, K. A thermostable collagenolytic protease with a very large molecular mass produced by thermophilic *Bacillus* sp. strain MO-1 // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2001. – Vol. 57(1-2). – P. 103–108. <https://doi.org/10.1007/s002530100731>.
50. Harrington, D.J. Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease // *Infection and Immunity*. – 1996. – Vol. 64(6). – P. 1885–1891. <https://doi.org/10.1128/iai.64.6.1885-1891.1996>.
51. Eckhard, U., Schönauer, E., Ducka, P., Briza, P., Nüss, D., Brandstetter, H. Biochemical characterization of the catalytic domains of three different clostridial collagenases // *Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 390(1). – P. 11–18. <https://doi.org/10.1515/bc.2009.004>.
52. Watanabe, K. Collagenolytic proteases from bacteria // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2004. – Vol. 63(5). – P. 520–526. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1442-0>.
53. Tran, L.H., Nagano, H. Isolation and Characteristics of *Bacillus subtilis* CN2 and its Collagenase Production // *Journal of Food Science*. – 2002. – Vol. 67(3). – P. 1184–1187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09474.x>.
54. Preet Kaur, S., Azmi, W. Cost Effective Production of a Novel Collagenase from a Non-Pathogenic Isolate *Bacillus tequilensis* // *Current Biotechnology*. – 2013. – Vol. 2(1). – P. 17–22. <https://doi.org/10.2174/2211550111302010004>.
55. Wu, Q., Li, C., Li, C., Chen, H., Shuliang, L. Purification and Characterization of a Novel Collagenase from *Bacillus pumilus* Col-J // *In Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2009. – Vol. 160(1). – P. 129–139. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8673-1>.
56. Duarte, A.S., Correia, A., Esteves, A.C. Bacterial collagenases – A review // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2014. – Vol. 42(1). – P. 106–126. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2014.904270>.
57. Nidheesh, T., Gaurav Kumar, P., Suresh, P.V. Enzymatic degradation of chitosan and production of d-glucosamine by solid substrate fermentation of exo- $\beta$ -d-glucosaminidase (exochitinase) by *Penicillium decumbens* CFRNT15 // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2015. – Vol. 97. – P. 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.10.016>.
58. Nidheesh, T., Pal, G.K., Suresh, P.V. Chitoooligomers preparation by chitinase produced under solid state fermentation using shrimp by-products as substrate // *Carbohydrate Polymers*. – 2015. – Vol. 121. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.017>.
59. Stanford, N.J., Millard, P., Swainston, N. RobOKoD: microbial strain design for (over)production of target compounds // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2015. – Vol. 3. – P. 17. <https://doi.org/10.3389/fcell.2015.00017>.
60. Thadathil, N., Velappan, S.P. Recent developments in chitinase research and its biotechnological applications: A



- review // In Food Chemistry. – 2014. – Vol. 150. – P. 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.083>.
61. Ohbayashi, N., Matsumoto, T., Shima, H., Goto, M., Watanabe, K., Yamano, A., Katoh, Y., Igarashi, K., Yamagata, Y., Murayama, K. Solution Structure of Clostridial Collagenase H and Its Calcium-Dependent Global Conformation Change // In Biophysical Journal. – 2013. – Vol. 104(7). – P. 1538–1545. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.02.022>.
62. Baehaki, A., Sukarno, Syah, D., Setyahadi, S., & Suhartono, M. T. Production and Characterization of Collagenolytic Protease from *Bacillus licheniformis* F11.4 Originated from Indonesia // Asian Journal of Chemistry. – 2014. – Vol. 26(10). – P. 2861–2864. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.15863>.
63. Tamai, E., Miyata, S., Tanaka, H., Nariya, H., Suzuki, M., Matsushita, O., Hatano, N., Okabe, A. High-level expression of his-tagged clostridial collagenase in *Clostridium perfringens* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – Vol. 80(4). – P. 627–635. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1592-1>.
64. Fancher, C.A., Thames, H.T., Colvin, M.G., Zhang, L., Nuthalapati, N., Kiess, A., Dinh, T. T.N., Sukumaran, A.T. Research Note: Prevalence and molecular characteristics of *Clostridium perfringens* in “no antibiotics ever” broiler farms // Poultry Science. – 2021. – Vol. 100(11). – P. 101414. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101414>.
65. Traore, E.J., Wang, W., Yafi, F.A., Hellstrom, W.J. G. Collagenase *Clostridium histolyticum* in the management of Peyronie’s disease: a review of the evidence // Therapeutic Advances in Urology. – 2016. – Vol. 8(3). – P. 192–202. <https://doi.org/10.1177/1756287216637569>.
66. Ikeuchi, T., Yasumoto, M., Takita, T., Tanaka, K., Kububata, M., Hayashida, O., Hattori, S., Mizutani, K., Mikami, B., Yasukawa, K. Crystal structure of *Grimontia hollisiae* collagenase provides insights into its novel substrate specificity toward collagen // Journal of Biological Chemistry. – 2022. – Vol. 298(8). – P. 102109. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102109>.
67. Daboor, S.M., Budge, S.M., Ghaly, A.E., Brooks, S. Dave, D. Extraction and Purification of Collagenase Enzymes: A Critical Review // American Journal of Biochemistry and Biotechnology. – 2010. – Vol. 6(4). – P. 239–263. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2010.239.263>.
68. Kemp, C.M., Sensky, P.L., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., Parr, T. Tenderness – An enzymatic view // Meat Science. – 2010. – Vol. 84(2). – P. 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.008>.
69. Hopkins, D.L., Allingham, P.G., Colgrave, M., van de Ven, R.J. Interrelationship between measures of collagen, compression, shear force and tenderness // Meat Science. – 2013. – Vol. 95(2). – P. 219–223. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.054>.
70. Hopkins, D.L., Lamb, T.A., Kerr, M.J., van de Ven, R.J. The interrelationship between sensory tenderness and shear force measured by the G2 Tenderometer and a Lloyd texture analyser fitted with a Warner–Bratzler head // Meat Science. – 2013. – Vol. 93(4). – P. 838–842. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.052>.
71. Allen Foegeding, E., Larick, D.K. Tenderization of beef with bacterial collagenase // Meat Science. – 1986. – Vol. 18(3). – P. 201–214. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(86\)90034-3](https://doi.org/10.1016/0309-1740(86)90034-3).
72. Ha, M., Bekhit, A.E.-D., Carne, A., Hopkins, D.L. Characterisation of kiwifruit and asparagus enzyme extracts, and their activities toward meat proteins // Food Chemistry. – 2013. – Vol. 136(2). – P. 989–998. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.034>.
73. Millr, A.J., Strang, E.D., Whiting, R.C. Improved Tenderness of Restructured Beef Steaks by a Microbial Collagenase Derived from *Vibrio B-30* // Journal of Food Science. – 1989. – Vol. 54(4). – P. 855–857. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb07898.x>.
74. Zhao, G.-Y., Zhou, M.-Y., Zhao, H.-L., Chen, X.-L., Xie, B.-B., Zhang, X.-Y., He, H.-L., Zhou, B.-C., Zhang, Y.-Z. Tenderization effect of cold-adapted collagenolytic protease MCP-01 on beef meat at low temperature and its mechanism // Food Chemistry. – 2012. – Vol. 134(4). – P. 1738–1744. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.118>.
75. Suphatharapateep, W., Cheirsilp, B., Jongjareonrak, A. Production and properties of two collagenases from bacteria and their application for collagen extraction // New Biotechnology. – 2011. – Vol. 28(6). – P. 649–655. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.04.003>.
76. Lafarga, T., Hayes, M. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients // Meat Science. – 2014. – Vol. 98(2). – P. 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.036>.
77. Lafarga, T., O’Connor, P., Hayes, M. Identification of novel dipeptidyl peptidase-IV and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from meat proteins using in silico analysis // Peptides. – 2014. – Vol. 59. – P. 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.07.005>.
78. Daneault, A., Coxam, V., Wittrant, Y. Biological Effect of Hydrolyzed Collagen on Bone Metabolism // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2017. – Vol. 57(9). – P. 1922–1937. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1038377>.
79. Sai-Ut, S., Benjakul, S., Sumpavapol, P., Kishimura, H. Antioxidant Activity of Gelatin Hydrolysate Produced from Fish Skin Gelatin Using Extracellular Protease from *Bacillus amyloliquefaciens* H11 // Journal of Food Processing and Preservation. – 2014. – Vol. 39(4). – P. 394–403. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12244>.
80. Rosen, H. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1957. – Vol. 67(1). – P. 10–15. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(57\)90241-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(57)90241-2).

## REFERENCES

1. Kadler, K.E., Baldock, C., Bella, J., Boot-Handford, R.P. Collagens at a glance // Journal of Cell Science. – 2007. – Vol. 120(12). – P. 1955–1958. <https://doi.org/10.1242/jcs.03453>.
2. Eckhard, U., Huesgen, P. F., Brandstetter, H., Overall, C.M. Proteomic protease specificity profiling of clostridial collagenases reveals their intrinsic nature as dedicated degraders of collagen // Journal of Proteomics. – 2014. – Vol.

100. – P. 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.10.004>.
3. Fields, G.B. Interstitial Collagen Catabolism // *Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 288(13). – P. 8785–8793. <https://doi.org/10.1074/jbc.r113.451211>.
4. Pal, G.K., Nidheesh, T., Suresh, P.V. Comparative study on characteristics and in vitro fibril formation ability of acid and pepsin soluble collagen from the skin of catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) // *Food Research International*. – 2015. – Vol. 76. – P. 804–812. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.018>.
5. Silver, F.H., Freeman, J.W., Seehra, G.P. Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties // *Journal of Biomechanics*. – 2003. – Vol. 36(10). – P. 1529–1553. [https://doi.org/10.1016/s0021-9290\(03\)00135-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9290(03)00135-0).
6. Manka, S.W., Carafoli, F., Visse, R., Bihan, D., Raynal, N., Farndale, R.W., Murphy, G., Enghild, J.J., Hohenester, E., Nagase, H. Structural insights into triple-helical collagen cleavage by matrix metalloproteinase 1 // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2012. – Vol. 109(31). – P. 12461–12466. <https://doi.org/10.1073/pnas.1204991109>.
7. Bilek, S.E., Bayram, S.K. Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen // *Journal of Functional Foods*. – 2015. – Vol. 14. – P. 562–569. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.024>.
8. Lima, C.A., Campos, J.F., Filho, J.L.L., Converti, A., da Cunha, M.G.C., Porto, A.L.F. Antimicrobial and radical scavenging properties of bovine collagen hydrolysates produced by *Penicillium aurantiogriseum* URM 4622 collagenase // *Journal of Food Science and Technology*. – 2014. – Vol. 52(7). – P. 4459–4466. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1463-y>.
9. Lima, C.A., Filho, J.L.L., Neto, B.B., Converti, A., Carneiro da Cunha, M.G., Porto, A.L.F. Production and characterization of a collagenolytic serine proteinase by *Penicillium aurantiogriseum* URM 4622: A factorial study // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. – 2011. – Vol. 16(3). – P. 549–560. <https://doi.org/10.1007/s12257-010-0247-0>.
10. Lima, C.A., Viana Marques, D.A., Neto, B.B., Lima Filho, J.L., Carneiro-da-Cunha, M.G., Porto, A.L.F. Fermentation medium for collagenase production by *Penicillium aurantiogriseum* URM4622 // *Biotechnology Progress*. – 2011. – Vol. 27(5). – P. 1470–1477. <https://doi.org/10.1002/btpr.664>.
11. Ruszczak, Z. Collagen as a carrier for on-site delivery of antibacterial drugs // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2003. – Vol. 55(12). – P. 1679–1698. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.007>.
12. Miles, C.A., Avery, N.C., Rodin, V.V., Bailey, A.J. The Increase in Denaturation Temperature Following Cross-linking of Collagen is Caused by Dehydration of the Fibres // *Journal of Molecular Biology*. – 2005. – Vol. 346(2). – P. 551–556. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.12.001>.
13. Xue, Y., Zhang, Y., Zhong, Y., Du, S., Hou, X., Li, W., Li, H., Wang, S., Wang, C., Yan, J., Kang, D.D., Deng, B., McComb, D.W., Irvine, D.J., Weiss, R., Dong, Y. LNP-RNA-engineered adipose stem cells for accelerated diabetic wound healing // *Nature Communications*. – 2024. – Vol. 15(1). – P. 739. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45094-5>.
14. Kloskowski, T., Uzarska, M., Gurtowska, N., Olkowska, J., Joachimiak, R., Bajek, A., Gagat, M., Grzanka, A., Bodnar, M., Marszałek, A., Drewa, T. How to isolate urothelial cells? Comparison of four different methods and literature review // *Human Cell*. – 2013. – Vol. 27(2). – P. 85–93. <https://doi.org/10.1007/s13577-013-0070-y>.
15. Shen, P., Wu, P., Maleitzke, T., Reiserer, M.-J., Heinz, G. A., Heinrich, F., Durek, P., Gwinner, C., Winkler, T., Pumberger, M., Perka, C., Mashreghi, M.-F., Löhning, M. Optimization of chondrocyte isolation from human articular cartilage to preserve the chondrocyte transcriptome // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2022. – Vol. 10. – P. 1046127. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1046127>.
16. Rønnev-Jessen, L., Villadsen, R., Edwards, J.C., Petersen, O.W. Differential Expression of a Chloride Intracellular Channel Gene, CLIC4, in Transforming Growth Factor- $\beta$ 1-Mediated Conversion of Fibroblasts to Myofibroblasts // *The American Journal of Pathology*. – 2002. – Vol. 161(2). – P. 471–480. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)64203-4](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)64203-4).
17. Low, J.T., Zavortink, M., Mitchell, J.M., Gan, W.J., Do, O.H., Schwiening, C.J., Gaisano, H.Y., Thorn, P. Insulin secretion from beta cells in intact mouse islets is targeted towards the vasculature // *Diabetologia*. – 2014. – Vol. 57(8). – P. 1655–1663. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3252-6>.
18. Ding, L., Sun, Y., Liang, Y., Zhang, J., Fu, Z., Ren, C., Li, P., Liu, W., Xiao, R., Wang, H., Zhang, Z., Yue, X., Li, C., Wu, Z., Feng, Y., Liang, X., Ma, C., Gao, L. Beta-Cell Tipe1 Orchestrates Insulin Secretion and Cell Proliferation by Promoting Gas/cAMP Signaling via USP5 // *Advanced Science*. – 2024. – Vol. 11(16). – P. e2304940. <https://doi.org/10.1002/advs.202304940>
19. Haack-Sørensen, M., Johansen, E.M., Højgaard, L.D., Kastrup, J., Ekblond, A. GMP Compliant Production of a Cryopreserved Adipose-Derived Stromal Cell Product for Feasible and Allogeneic Clinical Use // *Stem Cells International*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2022/4664917>.
20. Keshtkar, S., Kaviani, M., Jabbarpour, Z., Sabet Sarvestani, F., Ghahremani, M.H., Esfandiari, E., Hossein Aghdaei, M., Nikeghbalian, S., Shamsaeifar, A., Geramizadeh, B., Azarpira, N. Hypoxia-Preconditioned Wharton’s Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells Mitigate Stress-Induced Apoptosis and Ameliorate Human Islet Survival and Function in Direct Contact Coculture System // *Stem Cells International*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1–14. <https://doi.org/10.1155/2020/8857457>.
21. Wu, S., Zhou, X., Jin, Z., Cheng, H. Collagenases and their inhibitors: a review // *Collagen and Leather*. – 2023. – Vol. 5 (1). – P. 1-20. <https://doi.org/10.1186/s42825-023-00126-6>.
22. Farooq, S., Ahmad, M. I., Zheng, S., Ali, U., Li, Y., Shixiu, C., Zhang, H. A review on marine collagen: sources, extraction methods, colloids properties, and food applications // *Collagen and Leather*. – 2024. – Vol. 6(1). – P. 1-27. <https://doi.org/10.1186/s42825-024-00152-y>
23. Gudzenko, O.V., Varbanets, L.D., Ivanytsia, V.O., Shtenikov, M.D. Representatives of *Bacillus* from Deep-Water Bottom Sediments of the Black Sea – Producers of Elastases, Fibrin(ogen)ases, and Collagenases // *Mikrobiologichnyi Zhurnal*. – 2024. – Vol. 86(3). – P. 51–57. <https://doi.org/10.1186/s42825-024-00152-y>

[org/10.15407/microbiolj86.03.051](https://doi.org/10.15407/microbiolj86.03.051).

24. Schlapp, M., Friess, W. Collagen/PLGA Microparticle Composites for Local Controlled Delivery of Gentamicin // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2003. – Vol. 92(11). – P. 2145–2151. <https://doi.org/10.1002/jps.10460>.

25. Shahidi, F., Janak Kamil, Y.V.A. Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry // *Trends in Food Science & Technology*. – 2001. – Vol. 12(12). – P. 435–464. [https://doi.org/10.1016/s0924-2244\(02\)00021-3](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(02)00021-3).

26. T.R. Gomes, M., L. Oliva, M., T.P. Lopes, M., E. Salas, C. Plant Proteinases and Inhibitors: An Overview of Biological Function and Pharmacological Activity // *Current Protein & Peptide Science*. – 2011. – Vol. 12(5). – P. 417–436. <https://doi.org/10.2174/138920311796391089>.

27. Lima, C.A., Júnior, A.C.V.F., Filho, J.L.L., Converti, A., Marques, D.A.V., Carneiro-da-Cunha, M.G., Porto, A.L.F. Two-phase partitioning and partial characterization of a collagenase from *Penicillium aurantiogriseum* URM4622: Application to collagen hydrolysis // *Biochemical Engineering Journal*. – 2013. – Vol. 75. – P. 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.012>.

28. Lima, C.A., Rodrigues, P.M.B., Porto, T.S., Viana, D.A., Lima Filho, J.L., Porto, A.L.F., Carneiro da Cunha, M.G. Production of a collagenase from *Candida albicans* URM3622 // *Biochemical Engineering Journal*. – 2009. – Vol. 43(3). – P. 315–320. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.014>.

29. Ohbayashi, N., Yamagata, N., Goto, M., Watanabe, K., Yamagata, Y., Murayama, K. Enhancement of the Structural Stability of Full-Length Clostridial Collagenase by Calcium Ions // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2012. – Vol. 78(16). – P. 5839–5844. <https://doi.org/10.1128/aem.00808-12>.

30. Kim, M., Hamilton, S.E., Guddat, L.W., Overall, C.M. Plant collagenase: Unique collagenolytic activity of cysteine proteases from ginger // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. – 2007. – Vol. 1770(12). – P. 1627–1635. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2007.08.003>.

31. Raskovic, B., Bozovic, O., Prodanovic, R., Niketic, V., Polovic, N. Identification, purification and characterization of a novel collagenolytic serine protease from fig (*Ficus carica* var. Brown Turkey) latex // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2014. – Vol. 118(6). – P. 622–627. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.05.020>.

32. Daboor, S.M., Budge, S.M., Ghaly, A.E., Brooks, M.S., Dave, D. Isolation and activation of collagenase from fish processing waste // *Advances in Bioscience and Biotechnology*. – 2012. – Vol. 03(03). – P. 191–203. <https://doi.org/10.4236/abb.2012.33028>.

33. Jafari, H., Lista, A., Siekapen, M.M., Ghafari-Bohloul, P., Nie, L., Alimoradi, H., Shavandi, A. Fish Collagen: Extraction, Characterization, and Applications for Biomaterials Engineering // *Polymers*. – 2020. – Vol. 12(10). – P. 2230. <https://doi.org/10.3390/polym12102230>.

34. Matsushita, O., Yoshihara, K., Katayama, S., Minami, J., Okabe, A. Purification and characterization of *Clostridium perfringens* 120-kilodalton collagenase and nucleotide sequence of the corresponding gene // *Journal of Bacteriology*.

– 1994. – Vol. 176(1). – P. 149–156. <https://doi.org/10.1128/jb.176.1.149-156.1994>.

35. Yoshihara, K., Matsushita, O., Minami, J., Okabe, A. Cloning and nucleotide sequence analysis of the colH gene from *Clostridium histolyticum* encoding a collagenase and a gelatinase // *Journal of Bacteriology*. – 1994. – Vol. 176(21). – P. 6489–6496. <https://doi.org/10.1128/jb.176.21.6489-6496.1994>.

36. Teramura, N., Tanaka, K., Iijima, K., Hayashida, O., Suzuki, K., Hattori, S., Irie, S. Cloning of a Novel Collagenase Gene from the Gram-Negative Bacterium *Grimontia (Vibrio) hollisae* 1706B and Its Efficient Expression in *Brevibacillus choshinensis* // *Journal of Bacteriology*. – 2011. – Vol. 193(12). – P. 3049–3056. <https://doi.org/10.1128/jb.01528-10>.

37. Duarte, A.S., Correia, A., Esteves, A.C. Bacterial collagenases – A review // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2014. – Vol. 42(1). – P. 106–126. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2014.904270>.

38. Lockhart, R.A., S. Hakakian, C. Tissue Dissociation Enzymes for Adipose Stromal Vascular Fraction Cell Isolation: A Review // *Journal of Stem Cell Research & Therapy*. – 2015. – Vol. 5(12). – P. 321. <https://doi.org/10.4172/2157-7633.1000321>.

39. Wang, Z.-Z., Wang, K., Xu, L.-F., Su, C., Gong, J.-S., Shi, J.-S., Ma, X.-D., Xie, N., Qian, J.-Y. Unlocking the Potential of Collagenase: Structure, Function, and Emerging Therapeutic Horizons // *BioDesign Research*. – 2024. – Vol. 6. – P. 0050. <https://doi.org/10.34133/bdr.0050>.

40. Watanabe, K. Collagenolytic proteases from bacteria // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2004. – Vol. 63(5). – P. 520–526. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1442-0>.

41. Tran, L.H., Nagano, H. Isolation and Characteristics of *Bacillus subtilis* CN2 and its Collagenase Production // *International Journal of Food Science*. – 2002. – Vol. 67(3). – P. 1184–1187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09474.x>.

42. Petrova, D., Vlahov, S., Dalev, P. Purification and Characterization of a Thermostable Alkaline Collagenase from *Thermoactinomyces* Sp. E-21 Strain // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. – 2001. – Vol. 15(2). – P. 31–38. <https://doi.org/10.1080/13102818.2001.10819127>.

43. Petrova, D.H., Shishkov, S.A., Vlahov, S.S. Novel thermostable serine collagenase from *Thermoactinomyces* sp. 21E: purification and some properties // *Journal of Basic Microbiology*. – 2006. – Vol. 46(4). – P. 275–285. <https://doi.org/10.1002/jobm.200510063>.

44. Petrova, D., Derekova, A., Vlahov, S. Purification and properties of individual collagenases from *Streptomyces* sp. strain 3B // *Folia Microbiologica*. – 2006. – Vol. 51(2). – P. 93–98. <https://doi.org/10.1007/bf02932162>.

45. Suphatharaprateep, W., Cheirsilp, B., Jongjareonrak, A. Production and properties of two collagenases from bacteria and their application for collagen extraction // *New Biotechnology*. – 2011. – Vol. 28(6). – P. 649–655. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.04.003>.

46. Zhang, Y., Fu, Y., Zhou, S., Kang, L., Li, C. A straightforward ninhydrin-based method for collagenase activity and inhibitor screening of collagenase using spectrophotometry



- // Analytical Biochemistry. – 2013. – Vol. 437(1). – P. 46–48. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.02.030>.
47. Sakurai, Y., Inou, H., Nishii, W., Takahashi, T., Iino, Y., Yamamoto, M., Takahashi, K. Purification and Characterization of a Major Collagenase from *Streptomyces parvulus* // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2009. – Vol. 73(1). – P. 21–28. <https://doi.org/10.1271/bbb.80357>.
48. Thanzami, K., Roy, I. A sensitive, rapid and specific technique for the detection of collagenase using zymography // Eltrophorsis. – 2008. – Vol. 29(7). – P. 1585–1588. <https://doi.org/10.1002/elps.200700655>.
49. Okamoto, M., Yonejima, Y., Tsujimoto, Y., Suzuki, Y., Watanabe, K. A thermostable collagenolytic protease with a very large molecular mass produced by thermophilic *Bacillus* sp. strain MO-1 // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2001. – Vol. 57(1-2). – P. 103–108. <https://doi.org/10.1007/s002530100731>.
50. Harrington, D.J. Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease // Infection and Immunity. – 1996. – Vol. 64(6). – P. 1885–1891. <https://doi.org/10.1128/iai.64.6.1885-1891.1996>.
51. Eckhard, U., Schönauer, E., Ducka, P., Briza, P., Nüss, D., Brandstetter, H. Biochemical characterization of the catalytic domains of three different clostridial collagenases // Biol. Chem. – 2008. – Vol. 390(1). – P. 11–18. <https://doi.org/10.1515/bc.2009.004>.
52. Watanabe, K. Collagenolytic proteases from bacteria // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2004. – Vol. 63(5). – P. 520–526. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1442-0>.
53. Tran, L.H., Nagano, H. Isolation and Characteristics of *Bacillus subtilis* CN2 and its Collagenase Production // Journal of Food Science. – 2002. – Vol. 67(3). – P. 1184–1187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09474.x>.
54. Preet Kaur, S., Azmi, W. Cost Effective Production of a Novel Collagenase from a Non-Pathogenic Isolate *Bacillus tequilensis* // Current Biotechnology. – 2013. – Vol. 2(1). – P. 17–22. <https://doi.org/10.2174/2211550111302010004>.
55. Wu, Q., Li, C., Li, C., Chen, H., Shuliang, L. Purification and Characterization of a Novel Collagenase from *Bacillus pumilus* Col-J // In Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2009. – Vol. 160(1). – P. 129–139. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8673-1>.
56. Duarte, A.S., Correia, A., Esteves, A.C. Bacterial collagenases – A review // Critical Reviews in Microbiology. – 2014. – Vol. 42(1). – P. 106–126. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2014.904270>.
57. Nidheesh, T., Gaurav Kumar, P., Suresh, P.V. Enzymatic degradation of chitosan and production of d-glucosamine by solid substrate fermentation of exo- $\beta$ -d-glucosaminidase (exochitinase) by *Penicillium decumbens* CFRNT15 // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2015. – Vol. 97. – P. 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.10.016>.
58. Nidheesh, T., Pal, G.K., Suresh, P.V. Chitoooligomers preparation by chitinase produced under solid state fermentation using shrimp by-products as substrate // Carbohydrate Polymers. – 2015. – Vol. 121. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.017>.
59. Stanford, N.J., Millard, P., Swainston, N. RobOKoD: microbial strain design for (over)production of target compounds // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2015. – Vol. 3. – P. 17. <https://doi.org/10.3389/fcell.2015.00017>.
60. Thadathil, N., Velappan, S.P. Recent developments in chitinase research and its biotechnological applications: A review // In Food Chemistry. – 2014. – Vol. 150. – P. 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.083>.
61. Ohbayashi, N., Matsumoto, T., Shima, H., Goto, M., Watanabe, K., Yamano, A., Katoh, Y., Igarashi, K., Yamagata, Y., Murayama, K. Solution Structure of Clostridial Collagenase H and Its Calcium-Dependent Global Conformation Change // In Biophysical Journal. – 2013. – Vol. 104(7). – P. 1538–1545. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.02.022>.
62. Baehaki, A., Sukarno, Syah, D., Setyahadi, S., & Suhartono, M. T. Production and Characterization of Collagenolytic Protease from *Bacillus licheniformis* F11.4 Originated from Indonesia // Asian Journal of Chemistry. – 2014. – Vol. 26(10). – P. 2861–2864. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.15863>.
63. Tamai, E., Miyata, S., Tanaka, H., Nariya, H., Suzuki, M., Matsushita, O., Hatano, N., Okabe, A. High-level expression of his-tagged clostridial collagenase in *Clostridium perfringens* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – Vol. 80(4). – P. 627–635. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1592-1>.
64. Fancher, C.A., Thames, H.T., Colvin, M.G., Zhang, L., Nuthalapati, N., Kiess, A., Dinh, T. T.N., Sukumaran, A.T. Research Note: Prevalence and molecular characteristics of *Clostridium perfringens* in “no antibiotics ever” broiler farms // Poultry Science. – 2021. – Vol. 100(11). – P. 101414. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101414>.
65. Traore, E.J., Wang, W., Yafi, F.A., Hellstrom, W.J. G. Collagenase *Clostridium histolyticum* in the management of Peyronie’s disease: a review of the evidence // Therapeutic Advances in Urology. – 2016. – Vol. 8(3). – P. 192–202. <https://doi.org/10.1177/1756287216637569>.
66. Ikeuchi, T., Yasumoto, M., Takita, T., Tanaka, K., Kusubata, M., Hayashida, O., Hattori, S., Mizutani, K., Mikami, B., Yasukawa, K. Crystal structure of *Grimontia hollisiae* collagenase provides insights into its novel substrate specificity toward collagen // Journal of Biological Chemistry. – 2022. – Vol. 298(8). – P. 102109. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102109>.
67. Daboor, S.M., Budge, S.M., Ghaly, A.E., Brooks, S. Dave, D. Extraction and Purification of Collagenase Enzymes: A Critical Review // American Journal of Biochemistry and Biotechnology. – 2010. – Vol. 6(4). – P. 239–263. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2010.239.263>.
68. Kemp, C.M., Sensky, P.L., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., Parr, T. Tenderness – An enzymatic view // Meat Science. – 2010. – Vol. 84(2). – P. 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.008>.
69. Hopkins, D.L., Allingham, P.G., Colgrave, M., van de Ven, R.J. Interrelationship between measures of collagen, compression, shear force and tenderness // Meat Science. – 2013. – Vol. 95(2). – P. 219–223. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.008>.

[meatsci.2013.04.054](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.054).

70. Hopkins, D.L., Lamb, T.A., Kerr, M.J., van de Ven, R.J. The interrelationship between sensory tenderness and shear force measured by the G2 Tenderometer and a Lloyd texture analyser fitted with a Warner–Bratzler head // *Meat Science*. – 2013. – Vol. 93(4). – P. 838–842. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.052>.

71. Allen Foegeding, E., Larick, D.K. Tenderization of beef with bacterial collagenase // *Meat Science*. – 1986. – Vol. 18(3). – P. 201–214. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(86\)90034-3](https://doi.org/10.1016/0309-1740(86)90034-3).

72. Ha, M., Bekhit, A.E.-D., Carne, A., Hopkins, D.L. Characterisation of kiwifruit and asparagus enzyme extracts, and their activities toward meat proteins // *Food Chemistry*. – 2013. – Vol. 136(2). – P. 989–998. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.034>.

73. Millr, A.J., Strang, E.D., Whiting, R.C. Improved Tenderness of Restructured Beef Steaks by a Microbial Collagenase Derived from *Vibrio B-30* // *Journal of Food Science*. – 1989. – Vol. 54(4). – P. 855–857. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb07898.x>.

74. Zhao, G.-Y., Zhou, M.-Y., Zhao, H.-L., Chen, X.-L., Xie, B.-B., Zhang, X.-Y., He, H.-L., Zhou, B.-C., Zhang, Y.-Z. Tenderization effect of cold-adapted collagenolytic protease MCP-01 on beef meat at low temperature and its mechanism // *Food Chemistry*. – 2012. – Vol. 134(4). – P. 1738–1744. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.118>.

75. Suphatharaprateep, W., Cheirsilp, B., Jongjareonrak, A. Production and properties of two collagenases from bacteria and their application for collagen extraction // *New Bio-*

*technology*. – 2011. – Vol. 28(6). – P. 649–655. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.04.003>.

76. Lafarga, T., Hayes, M. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients // *Meat Science*. – 2014. – Vol. 98(2). – P. 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.036>.

77. Lafarga, T., O'Connor, P., Hayes, M. Identification of novel dipeptidyl peptidase-IV and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from meat proteins using in silico analysis // *Peptides*. – 2014. – Vol. 59. – P. 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.07.005>.

78. Daneault, A., Coxam, V., Wittrant, Y. Biological Effect of Hydrolyzed Collagen on Bone Metabolism // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2017. – Vol. 57(9). – P. 1922–1937. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1038377>.

79. Sai-Ut, S., Benjakul, S., Sumpavapol, P., Kishimura, H. Antioxidant Activity of Gelatin Hydrolysate Produced from Fish Skin Gelatin Using Extracellular Protease from *Bacillus amyloliquefaciens* H11 // *Journal of Food Processing and Preservation*. – 2014. – Vol. 39(4). – P. 394–403. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12244>.

80. Rosen, H. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1957. – Vol. 67(1). – P. 10–15. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(57\)90241-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(57)90241-2).

УДК 577.1; 579.6

## БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КОЛЛАГЕНАЗЫ – ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Костанова А.<sup>1,2\*</sup>, Балтин К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный центр биотехнологии, Коргалжын шоссе, 13/5, г. Астана, 010000, Республика Казахстан

<sup>2</sup>НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина», проспект Женис, 62, г. Астана, 010011, Республика Казахстан

\*Корреспондент автор: Костанова А., [kostanova@biocenter.kz](mailto:kostanova@biocenter.kz)

### АБСТРАКТ

Бактериальные коллагеназы – это металлопротеиназы, которые участвуют в разрушении внеклеточного матрикса клеток животных из-за их естественной способности переваривать коллаген. Эти ферменты являются важными факторами вирулентности различных патогенных бактерий. Однако в науке нет единого мнения относительно правильной и четко определенной классификации этих ферментов, и ведутся споры о правильном определении коллагеназ. Первыми были описаны клостридиальные коллагеназы. В этом обзоре представлены данные о бактериальных коллагеназах и представлен обзор функционально-структурного разнообразия бактериальных коллагеназ. Это показывает, что белки являются общим отражением молекулярного разнообразия и распределения в природе. Конкретные аспекты различной протеолитической активности рассматриваются в соответствующих областях применения, в основном в биотехнологических процессах и терапевтических целях.

**Ключевые слова:** коллагеназа, фермент, микроорганизм, желатин, активность.

UDC 577.1; 579.6

## BACTERIAL COLLAGENASES - A REVIEW ARTICLE

Kostanova A.<sup>1,2\*</sup>, Baltin K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National center for biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Astana, 010000, Kazakhstan

<sup>2</sup>NJSC «S.Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University», Zhenis avenue, 62, Astana, 010011, Republic of Kazakhstan

\*Corresponding author: Kostanova A., [kostanova@biocenter.kz](mailto:kostanova@biocenter.kz)

### ABSTRACT

Bacterial collagenases are metalloproteinases that are involved in the destruction of the extracellular matrix of animal cells due to their natural ability to digest collagen. These enzymes are important virulence factors of various pathogenic bacteria. However, there is no consensus in science regarding the correct and well-defined classification of these enzymes, and there is debate about the correct definition of collagenases. Clostridial collagenases were the first to be described. This review presents data on bacterial collagenases and provides an overview of the functional and structural diversity of bacterial collagenases. This shows that proteins are a general reflection of the molecular diversity and distribution in nature. Specific aspects of various proteolytic activities are considered in their respective fields of application, mainly in biotechnological processes and therapeutic purposes.

**Keywords:** *collagenase, enzyme, microorganism, gelatin, activity.*