

水产胶原蛋白热稳定性与环境温度 相关性研究进展

王柯¹, 郭志文², 段蕊², 周天宇¹, 张俊杰^{1*}

(1. 江苏海洋大学海洋食品与生物工程学院, 连云港 222005;
2. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 连云港 222005)

摘要: 水产胶原蛋白是一种优良的生物材料, 被广泛应用于医药、化妆品、食品加工等领域。但水产胶原蛋白热稳定性较差, 且目前对其热稳定性与环境温度相关性的研究较少。本文详细论述水产胶原蛋白的三螺旋结构, 对其热稳定性的来源作出详细分析, 并以环境温度为主导因素, 综述生存环境温度差异带来的水产胶原蛋白氨基酸组成变化、结构变化(亚基组成, 翻译后修饰)与热稳定性差异。生存在较高温度的生物, 其胶原的变性温度(denaturation temperature, Td)也相对较高, 且含有较高比例的 $\alpha 1$ 亚基与较少的 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 亚基, 反之亦然。这种亚基比例改变的实质可能涉及I型胶原 $\alpha 1(I)\alpha 2(I)\alpha 3(I)$ 与 $\alpha 1(I)_2\alpha 2(I)$ 分子构型的互相转变。除上述变化, 变温动物可以调节胶原翻译后修饰数量, 辅助亚基比例的变化, 增强或降低胶原的热稳定性, 这是变温动物特有的一种能力。水产胶原蛋白的热稳定性随环境温度的变化而改变, 是生物对环境适应能力的一部分。本文对现阶段关于胶原蛋白结构、热稳定性与环境温度相关性的研究进行总结, 以期对胶原蛋白材料的研究与应用提供参考。

关键词: 胶原蛋白; 热稳定性; 三螺旋结构; 亚基; 环境温度

Research progress on correlation between thermal stability of aquatic collagen and environmental temperature

WANG Ke¹, GUO Zhi-Wen², DUAN Rui², ZHOU Tian-Yu¹, ZHANG Jun-Jie^{1*}

(1. College of Ocean Food and Biological Engineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;
2. College of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China)

ABSTRACT: Aquatic collagen is an excellent biological material, widely used in medicine, cosmetics, food processing and other fields. However, the thermal stability of aquatic collagen is poor and few studies have been conducted to correlate its thermal stability with the environmental temperature. This paper discussed the triple helix structure of aquatic collagen in detail, analyzed the sources of its thermal stability in detail, and reviewed the changes in aquatic collagen amino acid composition, structure (subunit composition, post-translational modification) and thermal stability caused by the difference in living environmental temperature. Organisms living at higher

基金项目: 江苏省高等学校重点发展计划项目(PAPD)、江苏省大学生创新创业培训计划项目(SY202111641638009)

Fund: Supported by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD), and the Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students in Jiangsu Province (SY202111641638009)

*通信作者: 张俊杰, 博士, 教授, 主要研究方向为水产胶原蛋白的应用。E-mail: zjj203204@163.com

*Corresponding author: ZHANG Jun-Jie, Ph.D, Professor, College of Ocean Food and Biological Engineering, Jiangsu Ocean University, No.59, Cangwu Road, Haizhou District, Lianyungang 222005, China. E-mail: zjj203204@163.com

temperatures had a relatively high denaturation temperature (Td) of collagen, and contained a higher proportion of $\alpha 1$ and less $\alpha 2$ and $\alpha 3$, and vice versa. The substance of this change in subunit ratio might involve the interconversion between the molecular configuration of type I collagen $\alpha 1(I)_2\alpha 2(I)$ and $\alpha 1(I)\alpha 2(I)\alpha 3(I)$ molecular configurations. In addition to the above changes, poikilotherms could adjust the amount of post-translational modification of collagen, as a complement to changes in subunit proportions, and enhanced or decreased the thermal stability of collagen, which was a unique ability of poikilotherms. The thermal stability of aquatic collagen changes with the change of environmental temperature, which was part of the adaptability of organisms to the environment. This paper summarized the current state of research on the structure, thermal stability and environmental temperature correlation of aquatic collagen to provide a reference for research and application of aquatic collagen materials.

KEY WORDS: collagen; thermal stability; triple helix structure; subunit; environmental temperature

0 引言

胶原蛋白是生物体内含量最多的蛋白质, 约占总蛋白含量的 30%到 35%^[1]。“collagen”一词来源于希腊语中的“glue”和“produce”, 因此它最初被认为是那些煮沸后会产生胶水的组织^[2], 而最初的胶原蛋白正是通过热提取法制得的。胶原蛋白是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的主要成分, 通过自组装成原纤维, 为细胞生长提供支持, 并维持结缔组织的机械弹性^[3]。

胶原蛋白的三螺旋结构不同于普通蛋白, 这赋予它很多特殊的生物学功能。如细胞信号识别, I 型胶原结合受体包括整合素 $\alpha\beta 1$ 和盘状蛋白结构域受体 DDR1 和 DDR2, 它们介导许多不同的细胞内信号级联, I 型胶原可以改善胰岛细胞存活并维持短期胰岛素表达^[4]。胶原蛋白, 尤其是纤维胶原具有较强的机械性能, 可以制作成不同物理构象的三维支架、骨骼、皮肤材料等^[5]。同时胶原具有良好的生物降解性, 作为植入材料或各种敷料用于生物体后, 可作为营养被吸收同化进入宿主, 成为宿主机体的一部分, 利于创伤组织愈合恢复^[6]。除此之外, 胶原蛋白还具有极低的抗原性、促止血等特性, 这些特性使得胶原蛋白作为一种新兴的生物材料, 在医疗卫生、食品加工、化妆品、工业材料等领域都有广泛的应用^[7-8]。

传统胶原蛋白主要来自猪、牛等陆地哺乳动物, 但在实际生产中, 猪源胶原蛋白受到伊斯兰教等宗教信仰地区的排斥, 牛源胶原蛋白也因为口蹄疫及疯牛病发生受到影响^[9], 因此近些年学者们将目光转移到水产胶原蛋白上。与传统胶原蛋白相比, 水产胶原蛋白抗原性与致敏性更低、生物利用率则更高, 不会受到动物疾病与宗教信仰的限制^[10]。此外, 水产胶原蛋白主要来自鱼类皮肤、鳞片、骨骼等工业生产下脚料, 能很好地实现资源的充分利用且减少环境污染。与传统胶原蛋白相比, 水产胶原蛋白在性质与资源的利用价值上受到广泛关注, 但水产胶原蛋白热稳定性较差, 是限制水产胶原蛋白应用的主要因素^[11]。

热稳定性的影响因素主要有亚基的氨基酸组成、三条亚基的比例和胶原蛋白的翻译后修饰^[12-13]。当温度高于某一特定值时, 胶原蛋白三螺旋结构部分打开, 其生物学活性丧失, 从胶原变为明胶, 这一过程即为胶原蛋白的变性, 这一温度即为胶原蛋白的变性温度^[14]。变性温度越高, 证明胶原蛋白内部结构越稳定, 热稳定性越高。胶原蛋白的热稳定性是制约胶原蛋白材料应用的重要因素, 也是相关学者研究的重点领域, 很多研究已经表明, 环境温度对胶原蛋白的空间结构以及热稳定性存在较大影响, 因此本文对现阶段关于胶原蛋白的空间结构、热稳定性与环境温度相关性的研究进行总结, 以期对胶原蛋白材料的研究与应用提供参考。

1 胶原蛋白的空间结构

1.1 胶原蛋白的一级结构

胶原蛋白的一级结构指的是其肽链的氨基酸组成, 一级结构决定了其高级结构的折叠组合方式。一般蛋白质含有 20 种氨基酸, 胶原蛋白则含有 18 种氨基酸, 胶原氨基酸中丝氨酸(serine, Ser)、半胱氨酸(cysteine, Cys)和芳香族氨基酸含量极低, 因此, 从营养角度分析, 胶原蛋白为不完全蛋白质^[15-16]。胶原蛋白一级结构主要由 Xaa-Yaa-Gly 的重复序列构成, 这一序列组合在胶原蛋白的一级结构中反复出现, 构成其独特的氨基酸组成。一般来说 Xaa 与 Yaa 可以是任何氨基酸, 但进一步的研究发现, Xaa 和 Yaa 通常为脯氨酸(proline, Pro)和羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)^[17-19], 除此之外, 根据氨基酸自身所带电荷, Xaa 位置经常被带负电荷的氨基酸占据, 而 Yaa 位置经常被带正电荷的氨基酸占据^[20]。在脯氨酰羟化酶的催化下, Pro 的第 4 或第 3 位羟基化, 形成 Hyp^[21], 氨基酸测序发现, Pro 可存在于 Xaa 与 Yaa 位置, 而 4-Hyp 仅存在于 Yaa 位置^[22]。胶原蛋白中含有大量 Pro 与 Hyp。以 I 型胶原蛋白为例, 其氨基酸组成中含有约 33% 甘氨酸(glycine, Gly)、约 10% Pro、约 10% 4-Hyp 和约 0.1% 3-Hyp^[23], 而

在其他蛋白质中, Pro 与 Hyp 含量极少。Pro 与 Hyp 具有吡咯环结构, 而胶原蛋白的变性温度与其氨基酸中含有吡咯烷(Pro+Hyp)总含量有重要关系^[24]。Xaa 与 Yaa 位置的氨基酸对胶原高级结构的折叠速度也有较大影响。Gly-Xaa-Hyp 三联体形式的肽链折叠速度显著高于 Gly-Pro-Yaa 和 Gly-Xaa-Yaa 三联体^[25]。

1.2 胶原蛋白的二级结构

构成氨基酸一级结构的氨基酸序列进一步折叠、扭曲, 形成胶原蛋白的二级结构。氨基酸序列以多聚脯氨酸-II式构象, 按照一个共同的轴, 以左手超螺旋形式扭曲形成多肽链^[26]。在这一过程中, 重复序列中 Gly 的 N-H 与 Xaa 的 C=O 间形成氢键, 这种氢键在多肽链内也重复出现, 是稳定胶原蛋白二级结构的主要作用力。除此之外, 部分氨基酸之间发生折叠, 形成 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角、无规则卷曲等二级结构^[27-28]。

1.3 胶原蛋白的三级结构

胶原蛋白的二级结构在空间中进一步折叠、扭曲, 构成了胶原蛋白的完整三螺旋空间结构。三条多肽链以右手超螺旋形式进一步组装成胶原蛋白的三螺旋结构, 多肽链间彼此相差一个氨基酸错位排列, 第一链上的 Gly 跟第二链的 X 残基和第三链的 Y 残基相邻^[29]。每个 Gly-Xaa-Yaa 三联体之间有两个氢键, 其中每个 Gly 残基的 N-H 与相邻的 X 残基的 C=O 形成氢键即为第一个氢键^[30], 另一个氢键则是通过水分子在第 3 位羟脯氨酸的羟基的帮助下形成^[31]。这些链间氢键大量存在, 维持了胶原蛋白空间结构的稳定。由于 3 条链在共同轴附近的紧密排列对每第 3 个位置施加了空间约束, 这要求第 3 位所容纳的氨基酸体积必须足够小, 而甘氨酸侧链只有一个氢键, 是所有氨基酸中体积最小的, 因而这一位置都是甘氨酸^[32-33]。在三级结构中, 链间同时会形成离子键、疏水键、配位键、范德华力等次级键, 以稳固其空间结构^[34]。

1.4 胶原蛋白的四级结构

原胶原分子呈阶梯式平行排列, 互相间隔约 1/4 分子长度, 分子内、分子间的赖氨酸(lysine, Lys)、Hyp、Pro 残基互相交联、聚合, 形成胶原纤维, 胶原纤维经糖蛋白等粘合后, 形成胶原纤维束, 即广义上的胶原蛋白^[35-36]。此为胶原蛋白的四级结构。

2 水产胶原蛋白热稳定性与环境温度相关性

2.1 环境温度对胶原变性温度的影响

不同来源的水产胶原蛋白变性温度存在差异, 但根据胶原来源生物的生活环境, 仍表现出一定规律。表 1 结果表明, 温水性鱼类的胶原蛋白变性温度较高, 而冷水性鱼类的胶原蛋白变性温度相对较低。AKITA 等^[41]利用圆二

色谱法(circular dichroism, CD)对来自较宽温度范围内的 11 种鱼类胶原蛋白三螺旋结构与变性温度(denaturation temperature, Td)进行测定, 研究发现, 暖水鱼胶原蛋白的 Td 显著高于冷水鱼胶原蛋白, 且测得三螺旋结构含量与 Td 呈正相关。这一事实表明, 不同温度环境下的鱼胶原蛋白具有不同的二级结构, 这是热稳定性的环境温度适应性调节, 这取决于它们不同的栖息地水温。MUYONGA 等^[42]也在研究中发现了类似的现象。DUAN 等^[43]对冬、夏季季节捕获的鲢鱼鳞片中提取所得的胶原蛋白进行研究, 发现夏季鲢鱼鳞胶原的变性温度比冬季高 2°C 左右, FUJII 等^[44]在不同温度下培养斑马鱼胚胎成纤维细胞, 并对培养所得胶原进行研究, 发现较高的培养温度下胶原蛋白的热熔温度显著增加。生活在不同温度环境下的同一种生物胶原蛋白变性温度出现差异, 这证明生物体内胶原的热稳定性并不是恒定的, 而是会随着环境温度调整, 生活高温环境下的生物, 其胶原蛋白热稳定性会更高, 反之亦然。

除了环境温度对水产胶原蛋白热稳定性的影响, 研究发现, 不同组织部位的水产胶原蛋白热稳定性也存在差异。如 LIU 等^[45]研究表明鳙鱼内部组织(鱼鳃和骨骼)的胶原蛋白的变性温度略高于外部组织(鳍、鳞片和皮肤)的胶原蛋白。同样的, 在鲈鱼的胶原蛋白中也存在这一现象^[46]。这是由于, 生物体的外部组织与环境直接接触, 其热稳定性受到环境温度变化的影响更大。与外部组织相比, 内部组织处于外部组织的保护之中, 对于外界环境变化也显得更加从容, 因此其热稳定性高于外部组织。

表 1 不同鱼类的胶原蛋白变性温度
Table 1 Denaturation temperatures of collagen in different species of fish

名称	生存水温分类	胶原蛋白的变性温度/°C
鲢鱼	温水性鱼类	29 ^[37]
鲤鱼	温水性鱼类	28 ^[37]
草鱼	温水性鱼类	28 ^[37]
鳕鱼	冷水性鱼类	16.8 ^[38]
三文鱼	冷水性鱼类	19.4 ^[39]
双髻鲨鱼	冷水性鱼类	16.89 ^[40]

环境温度对胶原热稳定性的影响在不同物种间更加显著。小牛皮胶原蛋白 Td 为 40°C^[47], 鲢鱼皮胶原蛋白 Td 为 29°C, 鳕鱼皮胶原蛋白 Td 为 15°C^[48]。从生存环境来看, 牛是陆地哺乳动物, 其体温恒定, 其胶原所处环境温度即为其体温(约 38°C), 鲢鱼与鳕鱼为冷血动物, 其胶原所处温度即为水温。鳕鱼生活在深海, 其环境温度终年保持在 5°C 左右, 鲢鱼生活在淡水湖泊中, 水温虽然随季节有所波动, 但高于深海, 且低于牛的体温。按照生存环境温度来看, 牛>鲢鱼>鳕鱼, 变性温度测定结果也显示牛>鲢鱼>鳕鱼。这些结果证明, 生物体内胶原蛋白的热稳定性会随

外界环境变化而调节,且与环境温度呈正相关。

2.2 环境温度对与热稳定性相关的胶原氨基酸组成的影响

正如前文论述,环境温度与胶原的变性温度密切相关,这一现象背后涉及一系列氨基酸组成的改变,较低温度环境下生存的生物,其胶原中会含有更少的亚氨基酸(Pro 与 Hyp)、Gly 与更多的 Ser。

SOUZA 等^[49]与 FARALIZADEH 等^[50]研究发现,鳕鱼酸溶型胶原蛋白(acid soluble collagen, ASC)中 Hyp 含量为 50/1000 残基、鲑鱼为 73/1000 残基,这都远低于牛 ASC (94/1000 残基)。Pro 可以通过羟基化形成 Hyp^[51],Pro 与 Hyp 可以促进肽链 α 螺旋的形成,其氨基酸残基还参与链间氢键的形成^[15],同时,Pro 与 Hyp 的环状结构能限制胶原三维结构的改变^[52],对三螺旋结构的稳定性极其重要。

在 Pro 含量减少的同时,低温环境下生存的生物,其胶原中 Ser 含量相对增加^[41,53]。Ser 含量的增加是为了补偿 Pro 的缺失引起的羟基总量的减少^[54-55],同时保持三螺旋内的氢键,因为胶原蛋白的稳定性不仅仅是由羟脯氨酸的含量来衡量,而且与羟基的总含量有关^[56]。用 Ser 替代 Pro 与 Hyp,是生物适应环境温度的重要调节方式。同时,与环状 Hyp 残基相比,Ser 残基会赋予胶原蛋白更大的自由度,使胶原蛋白柔韧性增强,同时保持三螺旋结构与氢键的完整性。

低温环境下生活的生物,其蛋白中会含有更多的甘氨酸残基^[57],而在胶原中,Gly-Xaa-Yaa 的序列反复出现,Gly 的减少显示链总长度在减少,链总长的减少导致胶原的生化不稳定^[41]。

2.3 环境温度对与热稳定性相关的胶原亚基组成的影响

水产胶原蛋白的热稳定性随环境变化而变化,这种总体的变化内在表现为组成胶原蛋白的几种亚基比例的改变。组成胶原蛋白的每条链被称为亚基,所有胶原蛋白都是三条亚基按照右手超螺旋形成的三螺旋结构。若构成胶原的三条亚基相同,则为同三聚体,如 II 型胶原蛋白($\alpha 1(\text{II})_3$);若构成胶原的三条亚基不同,则为异三聚体,如 I 型胶原蛋白($\alpha 1(\text{I})_2\alpha 2(\text{I})$)^[1]。

夏季鲑鱼鳞中提取所得胶原蛋白相较于冬季的,含有更多的 $\alpha 1$ 亚基,同时 $\alpha 2$ 与 $\alpha 3$ 亚基的比例下降^[43],FUJII 等^[44]在研究中也发现,高温条件下养殖的斑马鱼细胞会增加 $\alpha 1$ 亚基的表达,减少 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 亚基的表达。这是因为组成 I 型胶原蛋白的 3 种亚基稳定性存在差异, $\alpha 1(\text{I})_3$ 同三聚体比($\alpha 1(\text{I})_2\alpha 2(\text{I})$)异三聚体的解链温度高出约 2.5°C,且在同一温度下,同三聚体变性速率比异三聚体慢 100 多倍^[58]。GALAZKA 等^[59]也指出 $\alpha 1$ 链比 $\alpha 2$ 链具有更好的重折叠能力,能使三螺旋结构更加紧密,增加胶原结构稳定性。因

此, $\alpha 1(\text{I})$ 稳定性高于 $\alpha 2(\text{I})$,生物在高温环境下会增加 $\alpha 1$ 亚基的表达,减少 $\alpha 2$ 与 $\alpha 3$ 亚基的表达,使胶原的总体稳定性改变。这种亚基比例的改变很可能与 I 型胶原蛋白的分子构型有密切关系。

I 型胶原蛋白的分子构型存在争议,PIEZ^[60]在鳕鱼 I 型胶原中发现 $\alpha 3$ 亚基的存在,并提出 $\alpha 1(\text{I})\alpha 2(\text{I})\alpha 3(\text{I})$ 的分子构型,也有部分学者认为是 $\alpha 1(\text{I})_2\alpha 2(\text{I})$ 构型^[61-62]。但这两种分子构型都很难解释 I 型胶原蛋白在不同温度条件下的亚基组成改变,相比之下,KIMURA 等^[38]于 1987 年提出的 $\alpha 1(\text{I})\alpha 2(\text{I})\alpha 3(\text{I})$ 与 $\alpha 1(\text{I})_2\alpha 2(\text{I})$ 共存的双分子构型更为合理,且这两种分子构型可能处于动态的相互转化状态。即 $\alpha 1(\text{I})\alpha 2(\text{I})\alpha 3(\text{I})$ 与 $\alpha 1(\text{I})_2\alpha 2(\text{I})$ 热稳定性存在差异,且前者热稳定性低于后者,当环境温度升高时,生物增加 $\alpha 1$ 的表达,减少 $\alpha 2$ 与 $\alpha 3$ 的表达,将部分 $\alpha 1(\text{I})\alpha 2(\text{I})\alpha 3(\text{I})$ 转化为 $\alpha 1(\text{I})_2\alpha 2(\text{I})$,以更好地适应环境变化。

2.4 环境温度对胶原蛋白翻译后修饰的影响

胶原蛋白的翻译后修饰指的是 Pro 与 Lys 的羟基化。Pro 羟基化形成 Hyp,Lys 羟基化生成羟赖氨酸(hydroxylysine, Hyl),这一过程发生在内质网的管腔中^[63]。胶原蛋白首先在结缔组织中按照蛋白质的一般合成规则合成肽链,随后转移到内质网官腔中,在 HSP47 蛋白(一种热休克蛋白)的参与下,以 Fe^{2+} 和维生素 C 为辅因子, α -酮戊二酸为底物,脯氨酸和赖氨酸羟化酶为催化酶,将肽链中的 Pro 与 Lys 羟基化为 Hyp 与 Hyl^[64]。Hyp 与 Hyl 的羟基会参与链内、链间氢键的形成,所以胶原蛋白翻译后修饰量会影响胶原蛋白的稳定性^[41]。环境温度的变化会影响胶原蛋白翻译后修饰。

FUJII 等^[65]对小鼠成纤维细胞进行 HSP47 敲除后培养,发现胶原蛋白翻译后过度修饰现象,这种现象在降低培养温度后得到修复。低温环境抑制了胶原蛋白的翻译后修饰,这种抑制弥补了 HSP47 基因敲除带来的影响。特别的是,未进行 HSP47 基因敲除的正常细胞(斑马鱼细胞和小鼠细胞)的温度胁迫培养实验结果显示,仅变温动物具备这种能力^[44,66]。哺乳动物体温恒定,其胶原所处环境稳定,不会出现随季节的温度变化,变温动物——尤其是生活在淡水湖泊中的鱼类,其生存环境温度随季节变化大,这种调节翻译后修饰数量的能力与 3 种亚基比例的调节相结合,使其能更好地适应环境的变化。

3 结论与展望

生物对环境的适应具有普遍性,也就是生活在自然界的各种生物都有独特的环境适应能力。对于水产生物体内的胶原蛋白而言,这种变化体现在热稳定性、氨基酸组成、亚基组成以及翻译后修饰中。目前的研究已经证明生活在不同温度环境下的水产生物,会随环境温度变化调节组成 I 型胶原的 3 种亚基的比例,以提高或降低胶原蛋白的

变性温度,这种亚基比例调节的实质很可能是两种分子构型的互相转化。这一过程还涉及部分氨基酸的变化,这些氨基酸的改变是胶原蛋白结构改变的内在原因。特别是,变温动物除调整各亚基比例,还会调节胶原蛋白翻译后修饰的数量,这种方法使变温动物胶原蛋白热稳定性的调节范围更加广泛,是变温动物对环境的特殊适应能力。

现阶段的研究已经证明水产胶原蛋白热稳定性与环境温度密切相关,但本文中提到的部分结论,仍需要更多的理论和数据支持,这些结论在更大的生物范围内是否统一,也需要进一步的研究,现阶段研究主要存在3方面不足。

(1)目前的研究多集中于某一特定范围内,缺乏大规模的跨物种研究,动物体内胶原蛋白为适应环境发生的这些改变在更大的生物范围内是否统一,仍需要系统的跨物种研究。

(2)哺乳动物与鱼类之间物种差异过大,直接进行联合分析虽然容易,但是确并不严谨,如果加入两栖动物作为过渡,得出的结论会更加可信。且两栖动物活动范围广泛,对环境的适应能力更强,对其深入研究,可能发现更多生物体内胶原蛋白在环境适应过程中发生的改变。

(3)目前对于胶原蛋白热稳定性与环境温度相关性的研究多是分子研究,缺乏相关的基因水平的研究。

对这3个方向进行更加深入的研究,能更好地理解胶原蛋白热稳定性与环境温度的相关性,以及因此产生的结构与功能差异,为胶原蛋白材料的应用提供更多的参考价值。

参考文献

- [1] LANFEI X, JIEHUAN L, YONGJUN L, *et al.* Structural, physicochemical properties and function of swim bladder collagen in promoting fibroblasts viability and collagen synthesis [J]. *LWT*, 2023. DOI: 10.1016/J.LWT.2022.114294
- [2] MAZUMDER N, CHAKRABARTY S. Collagen biomaterials [M]. London: Intech Open, 2023.
- [3] SORUSHANOVA A, DELGADO LM, WU Z, *et al.* The collagen suprafamily: From biosynthesis to advanced biomaterial development [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(1): 1801651.1-1801651.39.
- [4] RIOPEL M. Collagen matrix support of pancreatic islet survival and function [J]. *Front Biosci-Landmark*, 2014, 19(1): 77-90.
- [5] GLOWACKI J, MIZUNO S. Collagen scaffolds for tissue engineering [J]. *Biopolymers*, 2008, 89(5): 338-344.
- [6] 何杜鹃, 马旭, 刘盛, 等. 重组人源化胶原蛋白促进创面修复研究及其医用敷料应用[J]. *生物化工*, 2023, 9(4): 46-51.
HE DJ, MA X, LIU S, *et al.* Study on promoting wound repair with recombinant human collagen and its application in medical surgical dressing [J]. *Biol Chem Eng*, 2023, 9(4): 46-51.
- [7] 杨晓东, 张杨, 张寿, 等. 胶原蛋白肽的提取及应用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(9): 469-476.
YANG XD, ZHANG Y, ZHANG S, *et al.* Research progress in extraction and application of collagen peptides [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(9): 469-476.
- [8] 樊建茹, 亓玺, 郝旸, 等. 天然生物质材料的制备、性质与应用(V)——生物相容性良好的功能蛋白质材料: 胶原蛋白[J]. *日用化学工业*, 2022, 52(5): 476-485.
FAN JR, YUAN X, HAO Y, *et al.* Preparation, properties and applications of natural biomass materials (V) functional protein material with excellent biocompatibility: Collagen peptide [J]. *China Surfact Deterg Cosmet*, 2022, 52(5): 476-485.
- [9] 高博雅, 李平兰. 微生物发酵技术生产水产胶原蛋白肽的研究进展[J]. *中国酿造*, 2023, 42(3): 1-7.
GAO BY, LI PL. Research progress on the production of aquatic collagen peptides by microbial fermentation technology [J]. *China Brew*, 2023, 42(3): 1-7.
- [10] 宋彦卓, 于明晓, 康春梅, 等. 水产胶原蛋白及其生物活性肽的研究进展[J]. *现代食品*, 2022, 28(11): 1-3.
SONG YZ, YU MX, KANG CM, *et al.* Research progress on aquatic collagen and its bioactive peptides [J]. *Mod Food*, 2022, 28(11): 1-3.
- [11] 赵然, 曹敏杰, 王晶, 等. 水产动物源胶原蛋白的提取及应用研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(22): 8157-8165.
ZHAO R, CAO MJ, WANG J, *et al.* Advances in the extraction and application of aquatic animal collagen [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(22): 8157-8165.
- [12] 吴锦涛. 几种鱼明胶的酶催化改性及其应用研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2023.
WU JT. Study on enzymatic modification and application of several fish gelatins [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2023.
- [13] 周莲. 基于胶原蛋白原纤的定向多孔结构止血海绵及其性能研究[D]. 上海: 东华大学, 2023.
ZHOU L. A directional porous structure hemostatic sponge based on collagen fibril and its properties [D]. Shanghai: Donghua University, 2023.
- [14] 傅宝尚, 侯红漫, 张公亮, 等. 刺参体壁酶促溶性胶原蛋白的热变性[J]. *食品科学*, 2022, 43(10): 29-35.
FU BS, HOU HM, ZHANG GL, *et al.* Thermal denaturation of pepsin-solubilized collagen from sea cucumber body wall [J]. *Food Sci*, 2022, 43(10): 29-35.
- [15] 沈家成, 秦政, 周祖浩, 等. 鱼皮中胶原蛋白的药用价值研究进展[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-9. [2023-12-07]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033747
SHEN JC, QIN Z, ZHOU ZH, *et al.* Research progress on the medicinal value of collagen in fish skin [J/OL]. *Food Ferment Ind*: 1-9. [2023-12-07]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033747
- [16] 宋增柳. 罗非鱼皮胶原蛋白发酵法提取及其电纺膜的制备与应用研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2021.
SONG ZL. Study on collagen extracted from the tilapia fish skin by fermentation method and its electrospun film fabrication and application [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2021.
- [17] TOMAS F, PECORA EB, RAHEL H, *et al.* Predicting collagen triple helix stability through additive effects of terminal residues and caps [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2022. DOI: 10.1002/ANIE.202214728
- [18] ERMENG Y, CHUANYAN P, XU L, *et al.* Structural characteristics,

- component interactions and functional properties of gelatins from three fish skins extracted by five methods [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2023.125813
- [19] MIENALTOWSKI M, GONZALES N, BEALL J, *et al.* Basic structure, physiology, and biochemistry of connective tissues and extracellular matrix collagens [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021. DOI: 10.1007/978-3-030-80614-9_2
- [20] KARSDAL MA, LEEMING DJ, HENRIKSEN K, *et al.* Biochemistry of collagens, laminins and elastin: Structure, function and biomarkers [M]. Amsterdam: Elsevier Inc, 2023.
- [21] MOFIEED A, KUMAR AV, AHMAD MM, *et al.* Probing the impact of alkyl chain length of imidazolium ionic liquids on the conformational stability of collagen type-I from skin of *Lutjanus erythropterus* [J]. *J Mol Struct*, 2023. DOI: 10.1016/J.MOLSTRUC.2023.135855
- [22] GORDON MK, HAHN RA. Collagens [J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 339(1): 247.
- [23] GURUNG D, DANIELSON JA, TASNIM A, *et al.* Proline isomerization: From the chemistry and biology to therapeutic opportunities [J]. *Biology*, 2023. DOI: 10.3390/BIOLOGY12071008
- [24] JOSSE J, HARRINGTON WF. Role of pyrrolidine residues in the structure and stabilization of collagen [J]. *J Mol Biol*, 1964, 9(2): 269–287.
- [25] 刘晨阳, 马建中, 张跃宏. 胶原蛋白基纳米复合材料的性能及界面研究进展[J]. *复合材料学报*, 2021, 38(6): 1691–1702.
LIU CY, MA JZ, ZHANG YH. Progress on properties and interface of collagen-based nanocomposites [J]. *Acta Mater Compos Sin*, 2021, 38(6): 1691–1702.
- [26] KIRKNESS WM, LEHMANN K, FORDE RN. Mechanics and structural stability of the collagen triple helix [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2019, 53: 98–105.
- [27] FALLAS JA, O'LEARY LER, HARTGERINK JD. Synthetic collagen mimics: Self-assembly of homotrimers, heterotrimers and higher order structures [J]. *Chem Soc Rev*, 2010, 39(9): 3510–3527.
- [28] 傅容湛, 范代娣, 杨婉娟, 等. 重组胶原蛋白的产业发展历程和生物医学应用前景展望[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(9): 3228–3242.
FU RZ, FAN DD, YANG WJ, *et al.* Industrial development and biomedical application prospect of recombinant collagen [J]. *Chin J Biotechnol*, 2022, 38(9): 3228–3242.
- [29] COWAN PM, MCGAVIN S, NORTH ACT. The polypeptide configuration of collagen [J]. *Nature*, 1955, 176: 1062–1064.
- [30] RAMACHANDRAN GN. Molecular structure of collagen [J]. *Int Rev Connect Tissue Res*, 1967, 1: 103–183.
- [31] ANFINSEN CB, EDSALL JT, RICHARDS FM. Stability of proteins. Proteins which do not present a single cooperative system [J]. *Adv Protein Chem*, 1982, 35: 1–104.
- [32] MAAABEN A, GEBAUER JM, THERES ABRAHAME, *et al.* Triple-helix-stabilizing effects in collagen model peptides containing PPII-helix-preorganized diproline modules [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59(14): 5747–5755.
- [33] RAMACHANDRAN GN, KARTHA G. Structure of collagen [J]. *Nature*, 1955, 176: 593–595.
- [34] NAJAFI H, JAFARI M, FARAHAVAR G, *et al.* Recent advances in design and applications of biomimetic self-assembled peptide hydrogels for hard tissue regeneration [J]. *Bio-Des Manuf*, 2021, 4(4): 735–756.
- [35] IZU Y, BIRK DE. Collagen XII mediated cellular and extracellular mechanisms in development, regeneration, and disease [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023. DOI: 10.3389/fcell.2023.1129000
- [36] REVELL CK, JENSEN OE, SHEARER T, *et al.* Collagen fibril assembly: New approaches to unanswered questions [J]. *Matrix Biol Plus*, 2021, 12: 100079.
- [37] ZHANG Y, LIU W, LI G, *et al.* Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Food Chem*, 2007, 103(3): 906–912.
- [38] KIMURA S, OHNO Y. Fish type I collagen: Tissue-specific existence of two molecular forms, $(\alpha 1)2\alpha 2$ and $\alpha 1\alpha 2\alpha 3$, in alaska pollack [J]. *Comp Biochem Phys B*, 1987, 88(2): 409–413.
- [39] KIMURA S, ZHU XP, MATSUI R, *et al.* Characterization of fish muscle type I collagen [J]. *J Food Sci*, 1988, 53(5): 1315–1318.
- [40] CHI CF, WANG B, LI ZR, *et al.* Characterization of acid-soluble collagen from the skin of hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) [J]. *J Food Biochem*, 2014. DOI: 10.1111/jfbc.12042
- [41] AKITA M, NISHIKAWA Y, SHIGENOBU Y, *et al.* Correlation of proline, hydroxyproline and serine content, denaturation temperature and circular dichroism analysis of type I collagen with the physiological temperature of marine teleosts [J]. *Food Chem*, 2020, 329: 126775.
- [42] MUYONGA JH, COLE CGB, DUODU KG. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*) [J]. *Food Chem*, 2004, 85: 81–89.
- [43] DUAN R, ZHANG JJ, JING L, *et al.* The effect of the subunit composition on the thermostability of collagens from the scales of freshwater fish [J]. *Food Chem*, 2012, 135(1): 127–132.
- [44] FUJII KK, TAGA Y, TAKAGI YK, *et al.* The thermal stability of the collagen triple helix is tuned according to the environmental temperature [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4): 2040.
- [45] LIU D, LIANG L, REGENSTEIN JM, *et al.* Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) [J]. *Food Chem*, 2012, 133: 1441–1448.
- [46] SINTHUSAMRAN S, BENJAKUL S, KISHIMURA H. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*) [J]. *Food Chem*, 2013, 138(4): 2435–2441.
- [47] BROWN EM, FARRELL HM, WILDERMUTH RJ. Influence of neutral salts on the hydrothermal stability of acid-soluble collagen [J]. *J Protein Chem*, 2000, 19(2): 85–92.
- [48] ZHANG JJ, DUAN R, CHAO YE, *et al.* Isolation and characterization of collagens from scale of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. *J Food Biochem*, 2010, 34(6): 1343–1354.
- [49] SOUSA RO, ALVES AL, CARVALHO DN, *et al.* Acid and enzymatic extraction of collagen from Atlantic cod (*Gadus morhua*) swim bladders envisaging health-related applications [J]. *J Biomater Sci-Polym E*, 2020, 31(1): 20–37.

- [50] FARALIZADEH S, RAHIMABADI EZ, BAHRAMI SH, *et al.* Extraction, characterization and biocompatibility evaluation of collagen from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin by-product [J]. *Sustain Chem Pharm*, 2021, 22: 100454.
- [51] XU SC, GU M, WU K, *et al.* Unraveling the role of hydroxyproline in maintaining the thermal stability of the collagen triple helix structure using simulation [J]. *J Phys Chem B*, 2019, 123(36): 7754–7763.
- [52] 刘泓, 郭玉杰, 许雄, 等. 羧甲基壳聚糖对牛骨胶原蛋白微观结构、热稳定性及自组装性质的影响[J/OL]. *食品科学*: 1-17. [2023-12-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20231107.1114.016.html> [2023-12-09].
- LIU H, GUO YJ, XU X, *et al.* Impact of carboxymethyl chitosan on the microstructure, thermal stability, and self-assembly behavior of bovine bone collagen [J/OL]. *Food Sci*: 1-17. [2023-12-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20231107.1114.016.html> [2023-12-09].
- [53] YANG LL, TANG SK, HUANG Y, *et al.* Low temperature adaptation is not the opposite process of high temperature adaptation in terms of changes in amino acid composition [J]. *Genome Biol Evol*, 2015, 7(12): 3426–3433.
- [54] YI S, LANLAN T, CHENGZHI Y, *et al.* Regulatory mechanisms governing collagen peptides and their 3D printing application for frozen surimi [J]. *J Food Sci*, 2022, 87(6): 2692–2706.
- [55] QIU Y, MEKKAT A, YU HT, *et al.* Collagen Gly missense mutations: Effect of residue identity on collagen structure and integrin binding [J]. *J Struct Biol*, 2018, 203(3): 255–262.
- [56] QI YY, ZHOU DN, KESSLER JL, *et al.* Terminal repeats impact collagen triple-helix stability through hydrogen bonding [J]. *Chem Sci*, 2022, 13(42): 12567–12576.
- [57] 许蓉, 郑淋, 赵谋明. 温度和 pH 值对鸡胸软骨 II 型胶原蛋白的结构、黏度和热稳定性的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(14): 66–71.
- XU R, ZHENG L, ZHAO MM. Effect of temperature and pH on the structure, viscosity and thermal stability of type I collagen from chicken cartilage [J]. *Food Sci*, 2020, 41(14): 66–71.
- [58] EESHA K, CONSTANCIO G, KAPLAN DL, *et al.* Collagen transformer: End-to-end transformer model to predict thermal stability of collagen triple helices using an nlp approach [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2022. DOI: 10.1021/acsbomaterials.2c00737
- [59] GALAZKA VB, LEDWARD DA. Functional properties of food macromolecules [J]. *J Wildlife Manage*, 1986, 28(1): 57–64.
- [60] PIEZ KA. Characterization of a collagen from codfish skin containing three chromatographically different α chains [J]. *Biochemistry*, 1965, 4: 2590–2596.
- [61] SYLVIE R. The collagen family [J]. *Csh Perspect Biol*, 2011. DOI: 10.1101/cshperspect.a004978
- [62] SOHEILA GN, NOORAHMAD L, TAYYEB G, *et al.* Biochemical and biological characterization of type-I collagen from scomberomorus commerson skin as a biomaterial for medical applications [J]. *Int J Pept Res Ther*, 2023. DOI: 10.1007/S10989-023-10534-1
- [63] CREECY A, BROWN KL, ROSE KL, *et al.* Post-translational modifications in collagen type I of bone in a mouse model of aging [J]. *Bone*, 2021. DOI: 10.1016/j.bone.2020.115763
- [64] FRANCESCO P, RITA F, BIAGIO M, *et al.* Expanding the genetic and clinical spectrum of osteogenesis imperfecta: Identification of novel rare pathogenic variants in type I collagen-encoding genes [J]. *Front Endocrinol*, 2023. DOI: 10.3389/FENDO.2023.1254695
- [65] FUJII KK, TAGA Y, SAKAI T, *et al.* Lowering the culture temperature corrects collagen abnormalities caused by HSP47 gene knockout [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 17433.
- [66] 林佳丽. 温度对斑马鱼肌肉营养成分和胶原蛋白含量的影响及初步机制研究[D]. 汕头: 汕头大学, 2021.
- LIN JL. Preliminary study on the effects of temperature on muscle nutritional composition and collagen content of zebrafish (*Danio rerio*) [D]. Shantou: Shantou University, 2021.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



王 柯, 硕士研究生, 主要研究方向为水产胶原蛋白的结构与功能。

E-mail: 2092053398@qq.com



张俊杰, 博士, 教授, 主要研究方向为水产胶原蛋白的应用。

E-mail: zjj203204@163.com