

## КОЛЛАГЕНЫ ГИДРОБИОНТОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ СОРБЕНТ МЕТАЛЛОВ И НАНОЧАСТИЦ

Д. В. Тарасова<sup>1</sup>, М. М. Бородина<sup>1</sup>, М. В. Лиходзиевская<sup>1</sup>, Д. А. Черенков<sup>1</sup>,  
О. В. Путинцева<sup>1</sup>, Л. В. Антипова<sup>2</sup>, М. А. Наквасина<sup>1</sup>, С. С. Антипов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Поступила в редакцию 12.01.2023 г.

**Аннотация.** Белки - важнейший класс биологически активных веществ, которые играют ключевую роль в качестве основных компонентов в живой клетке. Коллаген относится к группе фибриллярных белков, которые формируют основу соединительной ткани наземных млекопитающих и гидробионтов (кожных покровов, сухожилий, костных тканей, хрящей и т. п.) и обеспечивает их механическую прочность и эластичность. Эти белки, как и целлюлоза, являются основными структурными компонентами, которые могут набухать в водном растворе за счет большого количества функциональных групп, обладающих способностью к гидратации и структурообразованию. Текущий уровень знаний о структуре, биологических функциях и свойствах коллагенов указывает на их уникальность и чрезвычайную распространенность на различных уровнях организации жизни. Коллаген – основной белок соединительной ткани, состоящий из трех субъединиц в форме альфа-спирали. Трёхмерная структура коллагена млекопитающих активно изучается, как с использованием биоинформатических подходов, так и с использованием дифракционных методов. Результаты исследования топографии поверхности молекул коллагена свидетельствуют о том, что величина D-периода его фибрилл составила  $67 \pm 0.8$  нм. Ранее полученные данные однозначно свидетельствуют о том, что в эмульсии белков, полученной из дермальных покровов Африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*), присутствуют высокомолекулярные белки, масса которых составляет свыше 120 кДа. Также присутствует большое количество фракций, мигрирующих в области от 120 до 212 кДа. Это свидетельствует о том, что даже в условиях денатурирующего электрофореза значительная часть препарата представляет собой высокомолекулярный белок. Для цепей  $\alpha 2$  масса составляет около 130 кДа, для  $\alpha 1$  - 105 кДа, а для  $\beta$  - 250 кДа, и они являются доминирующими единицами. Однако, помимо структурного значения, коллаген обладает высокой сорбционной способностью, что является актуальным для его прикладного использования в области медицины и биотехнологии. Цель - исследование сорбционной способности губчатых коллагеновых матриц по отношению к наночастицам серебра с использованием сканирующей электронной микроскопии и энергодисперсионного анализа.

**Ключевые слова:** коллаген пресноводных гидробионтов; Африканский клариевый сом *Clarias gariepinus*; наночастицы серебра; сорбция; губчатые матрицы.

На сегодня исследование структурно-функциональных свойств белков и, в том числе олигомерных, является динамично развивающимся направлением молекулярной биологии и биофизики. Это обусловлено, с одной стороны, тем, что понимание структуры белков позволяет прогнозировать их функции, которые неразрывно связаны и непосредственно с общим метаболизмом организма,

и с формированием различных патологических состояний, и с процессами старения. Последние, учитывая широкую популяризацию «Здорового образа жизни», неизбежно затрагивают глубокое понимание структурных особенностей биомолекул.

Фибриллярные белки различной длины и молекулярной массы достаточно давно используются для решения косметологических задач. На рынке представлено огромное количество косметических и пищевых средств с применением

© Тарасова Д. В., Бородина М. М., Лиходзиевская М. В., Черенков Д. А., Путинцева О. В., Антипова Л. В., Наквасина М. А., Антипов С. С., 2023

таких белков и, в частности, белков семейства коллагенов. Но речь в большинстве случаев идет о гидролизованном белке (расщепленном с помощью химических агентов) с разрушенной структурой, который, по сути, в большинстве случаев представляет собой желатин или желатин-подобные структуры. Эффективность такого белка, особенно в форме косметических средств, достаточно спорна и не однозначна. В конце XX века было предложено несколько способов выделения нативных фибриллярных белков, которые сохраняют потенциальную способность проникать через кожу в глубокие слои эпидермиса и восстанавливать его эластичность. Было показано, что такой белок обладает широким спектром функциональных лечебно-профилактических свойств.

Позже было показано, что дермальные покровы гидробионтов по аминокислотному составу наиболее близки к аминокислотному составу кожных покровов человека, что предполагает отсутствие аллергенности при их применении. Коллагены являются достаточно ценным биоматериалом и участвуют в процессах рассеивания деформационного напряжения тканей [1–3], индукции клеточной поляризации во время адгезии клеток к матриксу [4] и управлении минерализацией костных тканей [5–7]. Коллагены млекопитающих имеют необычный аминокислотный состав: богаты глицином (~30%) и пролином (~15%) [8], поэтому не формируют глобулярных структур за счет гидрофобности или представление гидрофильной поверхности [9]. Коллагены не образуют  $\alpha$ -спиралей или  $\beta$ -тяжей. Вместо этого они формируют тройные спирали, стабилизированные большим количеством водородных связей [10,11]. После упаковки от тысяч до миллионов тройных спиралей происходит формирование высокоупорядоченных супрамолекулярных волокон, обеспечивающих основу для дальнейшего формирования внеклеточного матрикса [9]. Хотя коллагены являются одними из наиболее широко применяемых биоматериалов (косметика, пищевые продукты, хирургический шовный материал и субстраты клеточных культур), их нетипичные структурные особенности препятствуют пониманию механизмов их фолдинга, сборки и механизмов сорбции.

Коллагены типа I функционируют как отдельная хорошо различимая надмолекулярная структура [9,12]. Поперечная полосатость таких волокон возникает из-за смещения параллельной упаковки тройных спиралей [13–16]. Темная полоса называется областью разрыва, сформированной в

пустотах между последовательными тройными спиралями [12]. Светлые полосы представляют собой область перекрытия между соседними тройными спиралями. Считается, что именно таким образом коллаген типа I образует прочные ленточные волокна большой протяженности. Однако коллаген типа I животного происхождения имеет ряд недостатков в воспроизводимости таких структур, чистоте препарата, а также риск загрязнения прионами. Синтетические коллагены, произведенные в контролируемых лабораторных условиях, могут решить эти проблемы, тем не менее этот процесс высокотехнологичный и дорогостоящий, что не позволяет воспроизвести надмолекулярную сборку - и, следовательно, структуру чередования полос природных коллагенов [17–20]. Однако данный вопрос, потенциально, может быть решен с использованием коллагенов гидробионтов. На сегодня известно более 20 типов коллагена, однако, их особенности преимущественно описаны для коллагенов млекопитающих.

Ранее было установлено, что аминокислотный состав коллагенов гидробионтов имеет сходный состав с коллагенами млекопитающих, но есть некоторые отличия. В частности, зарегистрировано снижение содержания аргинина более чем в 5 раз, а пролина почти в 18 раз. При этом молекулярная масса коллагеновой фракции ниже, в частности в ней присутствуют белки, молекулярная масса которых находится в диапазоне от 120 до 212 кДа и выше. Это указывает на то, что даже в условиях денатурирующего электрофореза значительная часть препарата представляет собой высокомолекулярный белок. Однако согласно литературным данным [12], основная часть коллагеновых белков млекопитающих обладает молекулярной массой около 200 кДа, а в некоторых случаях может достигать и значений 357–362 кДа.

Коллаген, использованный для создания каркасов для культивирования живых клеток, выделенный из мантии кальмара *Dosidicus gigas*, содержит белки, которые могут соответствовать типам коллагена I, II и III. В процессе формирования пленочных каркасов на основе коллагенов гидробионтов происходит самоструктурирование фибрилл с сохранением их третичной структуры и формированием развитой поверхности, обеспечивающей высокую адгезию клеток. Механические свойства полученного материала позволяют использовать его в хирургической практике в качестве биорезорбируемого барьерного материала с заданным временем сорбции и контролируемой

биодegradацией. Такие матрицы не являются цитотоксичными, что свидетельствует о его высокой биосовместимости. Результаты исследования пролиферации клеток на их поверхности с помощью рентгенографии позволили провести remodelирование пространственной структуры внеклеточного матрикса.

Данные конфокальной микроскопии свидетельствуют о том, что культура клеток росла на поверхности исследуемого коллагенового каркаса. Скорее всего, это можно объяснить высокой плотностью каркасных фибрилл, не позволяющих клеткам проникать внутрь. Таким образом, для 3D-прототипирования тканей такой коллаген необходимо реконструировать с добавлением композиционного материала (например, полилизина). В то же время направление роста клеток определяется направлением фибрилл и может быть использовано для обеспечения контролируемого роста соединительной ткани. Сформированные таким способом коллагеновые каркасы проявляют себя как естественный источник протеиногенных аминокислот и обеспечивают высокую скорость формирования внеклеточного матрикса. Однако, зачастую, требуется дополнительная функционализация как самих молекул коллагена, так и материалов на его основе. Как правило, для таких задач используют наночастицы на основе различных металлов, которые позволяют вводить дополнительные функции молекул для решения задач тераностики и медицины. Наиболее часто используемые наночастицы для таких целей сформированы с использованием соединений железа, кобальта, кремния и многих других. При этом традиционно высокий исследовательский и прикладной интерес вызывают наночастицы на основе соединений серебра, так как для этих наночастиц показана высокая антисептическая активность. Таким образом, учитывая тот факт что, с одной стороны коллагены являются предшественниками соединительной ткани, а наночастицы серебра – прекрасным антисептическим агентом, то их совмещение в одном комплексе может оказаться весьма перспективным. Однако процесс комплексобразования коллагена и наночастиц серебра изучен недостаточно и вызывает много противоречий. Поэтому **цель** данной работы была сформулирована следующим образом - исследование сорбционной способности губчатых коллагеновых матриц по отношению к наночастицам серебра с использованием сканирующей электронной микроскопии и энергодисперсионного анализа.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследование проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа, интегрированного с энергодисперсионным анализатором JSM-6390LV/Oxford INCA Energy JEOL (Japanese Electron Optics Laboratory, JEOL)/Oxford Instrument. Этот прибор предназначен для проведения общенаучных экспериментов в области сканирующей микроскопии высокого разрешения. Применим для электронно-микроскопических и рентгеноспектральных исследований объектов различной природы: анализ морфологии, анализ поверхности микро- и наноструктур, особенностей тонкого строения, фазовой неоднородности, дисперсности, качественный и количественный элементный анализ в микрообъемах для решения фундаментальных и прикладных задач геологии, биологии, наук о материалах, междисциплинарных исследований и т. д. Низковакуумный режим в модели JSM-6390LV позволяет изучать влажные или непроводящие образцы без специальной пробоподготовки. Максимальный размер образца составляет 6 см. Энергодисперсионный анализатор Oxford Instruments X-ACT позволяет проводить качественный и количественный элементный анализ микро- и нанообъектов, картирование поверхности и сравнение спектров.

Для эксперимента были подготовлены два типа образцов. Первый – насыщенный наночастицами серебра, второй – нативные образцы коллагеновой субстанции, полученной из шкуры рыб. Насыщение наночастицами серебра проводили по следующей схеме: 100 мкл исходной коллагеновой субстанции нагревали до температуры 42°C для получения растворимой фракции. После этого к полученному раствору добавляли 5 мкл суспензии наночастиц серебра, размер которых составлял 10-20 нм, и инкубировали полученную смесь в течение 30 минут при 42°C. После этого смесь плавно охлаждали до комнатной температуры и промывали натрий фосфатным буфером стандартного состава. Промывка включала следующие этапы. Сначала к смеси коллагеновой субстанции и наночастиц серебра добавляли эквивалентный объем натрий-фосфатного буфера, тщательно перемешивали с использованием ручного дозатора и центрифугировали 10 минут при 10 000 об/мин. Полученную надосадочную жидкость удаляли, а полученный осадок подвергали еще двум циклам промывки натрий-фосфатным буфером. После удаления излишков наночастиц серебра образцы наносили на кремниевую подложку и вы-

Тарасова Д. В., Бородина М. М., Лиходзиевская М. В., Чернеков Д. А., Путинцева О. В., Антипова Л. В., Наквасина М. А., Антипов С. С.

сушивали при 37°C до получения равномерной пленки. Образцы закрепляли на держателе проб микроскопа, загружали в камеру и вакуумировали, а затем проводили фокусировку прибора. После оценки поверхности пленки, сформированной на поверхности кремневой подложки, выбирали область поверхности для регистрации энергодисперсионного спектра. Накопление спектра проводили в течение 300 секунд. Для получения наиболее полных результатов были выбраны различные участки на поверхности, в частности, в центре образца и по краям. Более того, были проанализированы участки различной гомогенности и толщины, что позволило получить наиболее достоверные данные.

Все измерения проведены в двухкратной биологической и трехкратной аналитической повторностях; в таблицах приведены средние арифметические и ошибки средних величин. Полученные результаты обработаны статистически – достоверность отличий по сравнению с контролем находили по F-критерию при уровне значимости 0,05 и обозначены \*.

Для калибровки прибора был использован стандартный набор реферсных веществ, среди которых были  $Al_2O_3$ ,  $NaCl$ ,  $AgNO_3$ ,  $C$ ,  $GaP$ ,  $MgO$ ,  $FeS_2$ ,  $KBr$  и  $CaSiO_3$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты свидетельствуют о присутствии атомов серебра в исследуемом образце, количество которого составляет, в среднем, около 15%. Стоит отметить, что в зависимости от выбранного участка для анализа это количество менялось от 5 до 40%. Такая вариабельность значений связана, прежде всего, с толщиной выбран-

ного участка, потому как в данном эксперименте не стояла задача получить гомогенную толщину пленки на поверхности подложки с точностью хотя бы до микрона. Помимо этого, результат визуального наблюдения поверхности образца в условиях вакуумизации свидетельствует о способности коллагеновой субстанции гидробионтов, и непосредственно шкуры рыб, формировать пористые гомогенные пленки (Рис. 1А), способные удерживать наночастицы серебра в значительном количестве, однако природу сил, удерживающих наночастицы, еще предстоит выявить.

Присутствие атомов металла было зарегистрировано с использованием сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), реализованной на базе растрового электронного микроскопа JEOL JSM-6390LV с интегрированным энергодисперсионным анализатором «Oxford Instruments X-АСТ» (Japanese Electron Optics Laboratory, Япония). Реализованный в установке метод энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии – аналитический метод определения элементного состава вещества, основанный на анализе энергии эмиссии его рентгеновского спектра. В процессе анализа под воздействием пучка электронов в вакууме атомы исследуемого образца переходят в возбужденное состояние, при этом испуская рентгеновское излучение, характерное для каждого химического элемента. По параметрам энергетического спектра этого излучения осуществлялась идентификация элементного состава образца.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты подтверждают функциональные свойства исследуемого препарата коллагеновой субстанции и подтверж-

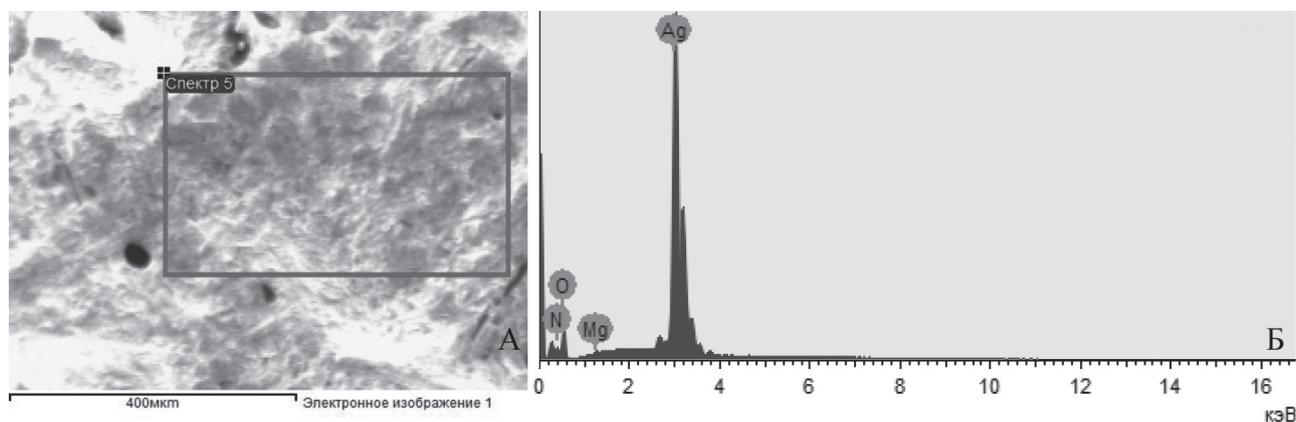


Рис. 1. Результат сканирующей электронной микроскопии и энергодисперсионного анализа для экспериментального образца. А – изображение поверхности экспериментального образца; Б – зарегистрированный энергодисперсионный спектр

дающие предположение о возможности экстраполяции результатов, полученных с использованием коллагенов на функционально-технологические свойства пленок и губок полученной из коллагеновой эмульсии гидробионтов, а также дают основания для проведения дальнейших фундаментальных междисциплинарных исследований.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shoulders M.D., Raines R.T. // Annu. Rev. Biochem. 2009. Vol. 78, pp. 929–958.
2. Ricard-Blum S. // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2011. Vol. 3(1), pp. a004978.
3. Goldberga I., Li R., Duer M.J. // Acc. Chem. Res. 2018. Vol. 51, pp. 1621–1629.
4. Jalan A.A., Sammon D., Hartgerink J.D., Brear P., Stott K., Hamaia S.W., Hunter E.J., Walker D.R., Leitinger B. and Farndale R.W. // Nature Chem. Biol. 2020. Vol. 16, pp. 423–429.
5. Zhao Y., Marcink T.C., Gari R.R.S., Marsh B.P., King G.M., Stawikowska R., Fields G.B., Van Doren S.R., Structure // 2015. Vol. 23(2), pp. 257–269.
6. Li G.Y. // J. of Amer. Leather. Chem. Associat. 2003. Vol. 98, pp. 224–229.
7. Щёктова А.В., Хамагаева И.С., Циренов В.З., Дарбаков Н.В., Хазагаева С.Н. // Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т.9(2), С. 250-259.
8. Gould L.J. // Adv. Wound Care (New Rochelle), 2016. Vol. 5(1), pp. 19–31.
9. Goldberga I., Li R., Duer M.J. // Acc. Chem. Res. 2018. Vol. 51, pp. 1621–1629.
10. Orgel J.P., Irving T.C., Miller A., Wess T.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 103, pp. 9001–9005
11. Kramer R.Z., Bella J., Mayville P., Brodsky B., Berman H.M. // Nat. Struct. Biol. 1999. Vol. 6, pp. 454–457.
12. Szpak P. // J. of Archaeological Science. 2011. V. 38(12), P. 3358–3372.
13. Antipova L.V., Sukhov I.V., Slobodyanik V.S., Kotov I.I. and Antipov S.S. // 2021. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. Vol. 640, pp. 032044.
14. Belamie E., Mosser G., Gobeaux F., Giraud-Guille M.M. // J. Phys. Condens. Matter. 2006. Vol. 18, pp. S115–S129.
15. Castilla-Casadiegos D.A., Rivera-Martínez C.A., Quiñones-Colón B.A., Almodóvar J. // Springer International Publishing: Cham. Switzerland. 2017. pp. 21–55.
- Lowe C.J., Reucroft I.M., Grota M.C., Shreiber D.I. // ACS Biomater. Sci. Eng. 2016. Vol. 2, pp. 643–651.
- Nitti P., Padmanabhan K., Cortazzi S., Stanca E., Siculella L., Licciulli A., Demitri C. // Front. Bioeng. Biotechnol. 2021. Vol. 9, pp. 631177.
- Appel A., Anastasio M.A., Brey E.M. // Tissue Eng. Part B Rev. 2011. Vol. 17, pp. 321–330.
- Shearer T., Bradley R.S., Hidalgo-Bastida L.A., Sherratt M.J., Cartmell S.H. // J. Cell Sci. 2016. Vol. 129, pp. 2483–2492.
- Rawson S.D., Maksimcuka J., Withers P.J., Cartmell S.H. BMC Biol. 2020. Vol. 18(21), pp. s12915.

*Воронежский государственный университет  
Тарасова Д. В., аспирант кафедры биофизики  
и биотехнологии  
E-mail: diana.burkova488@gmail.com*

*Бородина М. М., студент кафедры биофизики  
и биотехнологии  
e-mail: demerchi1@gmail.com*

*Лиходзиевская М. В., студент кафедры био-  
физики и биотехнологии  
e-mail: lihodzievskaya.rita@gmail.com*

*Черенков Д. А., преподаватель кафедры био-  
физики и биотехнологии  
e-mail: d.cherenkov@mail.ru*

*Voronezh State University  
Tarasova D. V., Postgraduate student, Department  
of Biophysics and Biotechnology  
e-mail: diana.burkova488@gmail.com*

*Borodina M. M., student of the Department of  
Biophysics and Biotechnology  
e-mail: demerchi1@gmail.com*

*Lihodzievskaya M. V., student of the Department  
of Biophysics and Biotechnology  
e-mail: lihodzievskaya.rita@gmail.com*

*Cherenkov D. A., Lecturer of Department of  
Biophysics and Biotechnology  
e-mail: d.cherenkov@mail.ru*

Тарасова Д. В., Бородина М. М., Лиходзиевская М. В., Чернеков Д. А., Путинцева О. В., Антипова Л. В.,  
Наквасина М. А., Антипов С. С.

Путинцева О. В., доктор биологических наук,  
профессор кафедры биофизики и биотехнологии  
e-mail: o.v.putintseva@gmail.com

Putintseva O. V., PhD., DSci., Full Professor of  
the Department of Biophysics and Biotechnology  
e-mail: o.v.putintseva@gmail.com

Наквасина М. А., доктор биологических наук  
профессор кафедры биофизики и биотехнологии  
e-mail: nakvasina\_ma@mail.ru

Nakvasina M. A., PhD., DSci., Full Professor of  
the Department of Biophysics and Biotechnology  
e-mail: nakvasina\_ma@mail.ru

\*Антипов С. С., доктор биологических наук,  
доцент кафедры биофизики и биотехнологии  
e-mail: ss.antipov@gmail.com;

\*Antipov S. S., PhD., DSci., Associate Professor  
of the Department of Biophysics and Biotechnology  
e-mail: ss.antipov@gmail.com;

Воронежский государственный университет  
инженерных технологий

Антипова Л. В., доктор технических наук,  
профессор кафедры переработки сырья растительного и животного происхождения  
e-mail: antipova.l54@yandex.ru

Voronezh State University of Engineering  
Technologies

Antipova L. V., PhD., DSci., Full Professor of  
Raw Materials Processing Department of Plant and  
Animal Origin  
e-mail: antipova.l54@yandex.ru

## HYDROBIONT COLLAGENS AS A POTENTIAL SORBENT OF METALS AND NANOPARTICLES

D. V. Tarasova<sup>1</sup>, M. M. Borodina<sup>1</sup>, M. V. Lihodzievskaya<sup>1</sup>, D. A. Cherenkov<sup>1</sup>, O. V. Putintseva<sup>1</sup>,  
L. V. Antipova<sup>2</sup>, M. A. Nakvasina<sup>1</sup>, S. S. Antipov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Voronezh State University

<sup>2</sup> Voronezh State University of Engineering Technologies

**Abstract.** Proteins are the most important class of biologically active substances that play a key role as the main components in a living cell. Collagen belongs to the group of fibrillar proteins that form the basis of the connective tissue of animals and hydrobionts (skin, tendons, bone tissue, cartilage, etc.) and provides their mechanical strength and elasticity. These proteins, like cellulose, are the main structural components that can swell in an aqueous solution due to the large number of functional groups that are capable of hydration and structure formation. The current level of knowledge about the structure, biological functions and properties of collagens indicates their uniqueness and extreme prevalence at various levels of life organization. Collagen is the main protein of connective tissue, consisting of three subunits in the form of an alpha helix. The three-dimensional structure of mammalian collagen is being actively studied using both bioinformatic approaches and diffraction methods. The results of the study of the surface topography of collagen molecules indicate that the D period of its fibrils was  $67 \pm 0.8$  nm. Previously obtained data unambiguously indicate that the protein emulsion obtained from the dermal integument of the southern catfish contains high molecular weight proteins, the mass of which is over 120 kDa. There are also a large number of fractions migrating in the region from 120 to 212 kDa. This indicates that even under conditions of denaturing electrophoresis, a significant part of the drug is a high molecular weight protein. For  $\alpha_2$  chains the mass is about 130 kDa, for  $\alpha_1$  it is 105 kDa and for  $\beta$  it is 250 kDa and they are the dominant units. However, in addition to its structural significance, collagen has a high sorption capacity, which is relevant for its applied use in medicine and biotechnology. Purpose - to study the sorption capacity of spongy collagen matrices with respect to silver nanoparticles using scanning electron microscopy and energy dispersive analysis.

**Keywords:** freshwater aquatic collagen; African catfish *Clarias gariepinus*; silver nanoparticles; sorption; sponge matrices.

## REFERENCES

1. Shoulders M.D. Raines R.T., *Annu. Rev. Biochem.*, 2009, Vol. 78, pp. 929–958.
2. Ricard-Blum S., *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2011, Vol. 3(1), pp. a004978.
3. Goldberga I., Li R., Duer M.J., *Acc. Chem. Res.*, 2018, Vol. 51, pp. 1621–1629.
4. Jalan A.A., Sammon D., Hartgerink J.D., Brear P., Stott K., Hamaia S.W., Hunter E.J., Walker D.R., Leitinger B. and Farndale R.W., *Nature Chem. Biol.*, 2020, Vol. 16, pp. 423–429.
5. Zhao Y., Marcink T.C., Gari R.R.S., Marsh B.P., King G.M., Stawikowska R., Fields G.B., Van Doren S.R., *Structure*, 2015, Vol. 23(2), pp. 257–269.
6. Li G.Y., *J. of Amer. Leather. Chem. Associat.*, 2003, Vol. 98, pp. 224–229.
7. Щёктова А.В., Хамагаева И.С., Циренов В.З., Дарбаков Н.В., Хазагаева С.Н., *Известия ВУ-Зов. Прикладная химия и биотехнология*. 2019, Т.9(2), С. 250-259.
8. L.J. Gould, *Adv. Wound Care (New Rochelle)*, 2016, Vol. 5(1), pp. 19–31.
9. Goldberga I., Li R., Duer M.J., *Acc. Chem. Res.*, 2018, Vol. 51, pp. 1621–1629.
10. Orgel J.P., Irving T.C., Miller A., Wess T.J., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, Vol. 103, pp. 9001-9005
11. Kramer R.Z., Bella J., Mayville P., Brodsky B., Berman H.M., *Nat Struct Biol.*, 1999, Vol. 6, pp. 454-457.
12. Szpak P., *J. of Archaeological Science*, 2011, V. 38(12), P. 3358-3372.
13. Antipova L.V., Sukhov I.V., Slobodyanik V.S., Kotov I.I. and Antipov S.S., 2021, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, Vol. 640, pp. 032044.
14. Belamie E., Mosser G., Gobeaux F., Giraud-Guille M.M., *J. Phys. Condens. Matter.*, 2006, Vol. 18, pp. S115–S129.
15. Castilla-Casadiago D.A., Rivera-Martínez C.A., Quiñones-Colón B.A., Almodóvar J., Almodovar, J., Ed.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2017, pp. 21–55.
16. Lowe C.J., Reucroft I.M., Grota M.C., Shreiber D.I., *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 2016, Vol. 2, pp. 643–651.
17. Nitti P., Padmanabhan K., Cortazzi S., Stanca E., Siculella L., Licciulli A., Demitri C., *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2021, Vol. 9, pp. 631177.
18. Appel A., Anastasio M.A., Brey E.M., *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2011, Vol. 17, pp. 321–330.
19. Shearer T., Bradley R.S., Hidalgo-Bastida L.A., Sherratt M.J., Cartmell S.H., *J. Cell Sci.*, 2016, Vol. 129, pp. 2483–2492.
20. Rawson S.D., Maksimcuka J., Withers P.J., Cartmell S.H., *BMC Biol.*, 2020, Vol. 18(21), pp. s12915.