

Anna Iwaniak, Kamil Dąbrowski, Małgorzata Darewicz

Katedra Biochemii Żywności, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Analiza *in silico* białek wybranych gatunków ryb jako źródła peptydów bioaktywnych

Wstęp

Ryby stanowią źródło białka o wysokiej wartości odżywczej. Wartość odżywcza białek ryb jest porównywalna z białkami kurczaka, mleka, wołowiny oraz albuminy jaj. Zawierają one 10 podstawowych, egzogennych aminokwasów odgrywających istotną rolę w homeostazie organizmu człowieka. Obecność wysokowartościowego białka, soli mineralnych, jodu, witamin oraz kwasów tłuszczowych omega-3 sprawia, że ryby są atrakcyjnym produktem żywnościowym (Agnes 2013). Poza walorami żywieniowymi białka ryb mogą stanowić źródło peptydów bioaktywnych (biopeptydów) (Ryan i in. 2011). Biopeptydy są fragmentami zawartymi w sekwencji białka źródłowego, które po uwolnieniu przez enzymy proteolityczne wykazują aktywność biologiczną w wyniku korzystnych lub niekorzystnych oddziaływań z odpowiednimi receptorami organizmu (Meisel i in. 2006). Możliwość uwalniania peptydów z sekwencji białek jest obecnie jednym z kryteriów oceny ich wartości (Meisel i in. 2006).

Dotychczas zidentyfikowano i wyizolowano biopeptydy m.in. obniżające ciśnienie krwi, przeciwkrzepliwie, antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, antyamnezyjne, inhibitory proteinaz i in. (Minkiewicz i in. 2008). Poszukiwanie związków bioaktywnych w żywności wpływających na stan zdrowia organizmu człowieka wpisuje się w obserwowany od kilku lat trend postrzegania jej jako nutraceutyku. Traktowanie żywności jako czynnika prewencyjnego odpowiada idei wygłoszonej 2500 lat temu przez Hipokratesa, a brzmiącej: „*Niech żywność będzie lekarstwem, a lekarstwo żywnością*” (Ramaa i in. 2006).

Coraz częściej w badaniach składników żywności stosuje się techniki analityczne skojarzone z technikami analizy komputerowej. Jest to związane z rozwojem technologii informacyjnych oraz programów komputerowych, wykorzystujących dostępne informacje na temat układów biologicznych do analizowania zjawisk przyrodniczych (Iwaniak 2011). Rozwój technologii komputerowych zaowocował powstaniem bioinformatyki – dziedziny naukowej zajmującej się analizą danych biologicznych (Iwaniak 2011). Wykonywaniu badań za pomocą metod bioinformatycznych towarzyszy pojęcie *in silico*. Oznacza

ono, że dane analizowano posługując się metodami sztucznej inteligencji, tj. bazami danych, specjalistycznymi programami komputerowymi, analizą biostatystyczną (Selzer i in. 2008).

Biorąc pod uwagę postęp w dziedzinie badania składników za pomocą nowoczesnych metod bioinformatycznych oraz znaczenie ryb w profilaktyce wielu chorób cywilizacyjnych podjęto pracę, której celem była komputerowa analiza sekwencji wybranych białek ryb w aspekcie obecności w nich peptydów o właściwościach biologicznych.

Materiały i metody

Do badań *in silico* wybrano 8 sekwencji białek ryb lub ich krótszych fragmentów pochodzących z: siei (*Coregonus lavaretus*), suma europejskiego (*Silurus glanis*), szczupaka (*Esox lucius*), okonia europejskiego (*Perca fluviatilis*), węgorza europejskiego (*Anguilla anguilla*) oraz karpia (*Cyprinus carpio*). Sekwencje białek pochodziły z bazy danych UniProt (<http://www.expasy.org>), natomiast sekwencje bioaktywnych peptydów z bazy danych BIOPEP (<http://www.uwm.edu.pl/biochemia>). Nazwy systematyczne sekwencji wybranych białek ryb wraz z numerami dostępu w bazie danych UniProt (ang. ID accession number), liczbą reszt aminokwasowych oraz informacją na temat lokalizacji sekwencji w materiale biologicznym i pełnionej funkcji zestawiono w tabeli 1.

Sekwencje białek ryb analizowano w oparciu o jedno z kryteriów oceny wartości białka, jako źródła peptydów bioaktywnych, tj. profilu potencjalnej aktywności biologicznej. Jest to rodzaj i lokalizacja bioaktywnego fragmentu w sekwencji prekursora (Iwaniak i Dziuba 2009). Powyższe kryterium jest jedną z funkcji obliczeniowych znajdujących się w zakładce o nazwie „*Analysis*”, udostępnionej w bazie danych sekwencji białek i peptydów bioaktywnych „BIOPEP” (Iwaniak 2011).

O wyborze wymienionych sekwencji białek ryb decydowała ich dostępność w bazie danych UniProt, pełniona przez nie funkcja oraz przede wszystkim dane na temat struktury białka. W UniProt jest zamieszczonych nawet po kilkaset sekwencji białek różnych gatunków ryb. Niemniej

Informacje na temat analizowanych sekwencji wybranych białek ryb (baza danych UniProt)

Gatunek	Białko	Liczba reszt aminokwasowych	Numer identyfikacyjny	Informacje dodatkowe (lokalizacja/ funkcja)
Sieja (<i>Coregonus lavaretus</i>)	Aktyna- β (fragment)	38	Q309B2_CORLV	-
Sum europejski (<i>Silurus glanis</i>)	Synkleina- α	125	C6K8Q7_9TELE	składnik cytoplazmy/ regulator wydzielania dopaminy
Szczupak (<i>Esox lucius</i>)	Parwalbumina- α	108	PRVA_ESOLU	mięśnie/ 1. rozkurcz mięśni, 2. wiązanie jonów wapnia
	Parwalbumina- β	107	PRVB_ESOLU	mięśnie/ 1. rozkurcz mięśni, 2. wiązanie jonów wapnia
Okoń europejski (<i>Perca fluviatilis</i>)	Aktyna- β	375	B2ZHC1_PERFL	składnik cytoplazmy/ 1. białko cytoszkieletowe, 2. wiązanie z ATP
Węgorz europejski (<i>Anguilla anguilla</i>)	Troponina C	160	TNNC2_ANGAN	mięśnie szkieletowe/ 1. rozkurcz mięśni, 2. wiązanie jonów wapnia
Karp (<i>Cyprinus carpio</i>)	Parwalbumina- α	109	PRVB_CYPKA	mięśnie/ 1. rozkurcz mięśni, 2. wiązanie jonów wapnia
	Parwalbumina- β	108	PRVB_CYPKA	mięśnie/ 1. rozkurcz mięśni, 2. wiązanie jonów wapnia

TABELA 2

Profil potencjalnej aktywności biologicznej fragmentu sekwencji parwalbuminy- α karpia (*Cyprinus carpio*)

znaczna ich część to białka łańcucha oddechowego (cytochromy), enzymy, jak na przykład oksydoreduktazy współdziałające z NADH i ubichinonem lub sekwencje, których niektóre reszty aminokwasowe zostały poddane modyfikacjom potranslacyjnym (m.in. glikozylacji). Te ostatnie ze względu na obecność zmodyfikowanych reszt aminokwasowych nie były włączane do analizy profilu potencjalnej aktywności biologicznej białka, ponieważ BIOPEP zawiera sekwencje peptydów zbudowanych z 20 podstawowych aminokwasów białkowych i nie uwzględnia sekwencji składających się z reszt nietypowych.

Wyniki i dyskusja

Zmodyfikowane podejście do rozumienia roli białka jako składnika żywności wynika obecnie z zasadniczych zmian w definiowaniu wzajemnej relacji zdrowie-odżywianie (Milward i in. 2008). Żywność o działaniu profilaktycznym określana jest mianem „żywności specjalnego przeznaczenia” lub terminem wywodzącym się z terminologii anglosaskiej tzw. nutraceutical food (Pandey i in. 2010). Coraz częściej podkreśla się rolę bioaktywnych peptydów pochodzących z białek żywności jako składników żywności tego typu (Korhonen i Pihlanto 2006). Źródłem takich peptydów mogą być np. białka ryb.

W tabeli 2 przedstawiono profil potencjalnej aktywności biologicznej wyznaczony dla sekwencji parwalbuminy- α karpia. Takie profile aktywności biologicznej wykonano dla wszystkich badanych białek (dane nieprzedstawione).

Według Cejko i Glogowskiego (2010) karp jest jednym z najbardziej poznanych pod względem liczebności gatunków ryb słodkowodnych. Szeroki zasięg występowania kar-

Sekwencja peptydu* oraz lokalizacja w łańcuchu				
<i>inhibitory ACE</i>				
LKL [63-65]	LF [65-66]	YG [2-3]	AY [1-2]	
VK [106-107]	LKA [86-88]	AF [46-47], [84-85]	RA [75-76]	
AA [13-14], [103-104]	GF [56-57]	VG [33-34]	IG [97-98]	
GI [4-5]	GA [73-74]	GL [34-35]	AG [72-73], [88-89]	
DA [8-9], [79-80]	GV [98-99]	GK [95-96]	GG [3-4]	
SG [55-56]	GD [89-90], [93-94]	EA [16-17]	YGG [2-4]	
DG [92-93], [94-95]	NF [69-70]	SF [64-65]	KL [64-65]	
AR [74-75]	KA [45-46], [83-84], [87-88], [107-108]	IE [58-59]	LQ [67-68]	
LN [6-7]	Razem = 42			
<i>immunomodulacyjne</i>				
YG [2-3]	YGG [2-4]	Razem = 2		
<i>stymulujące</i>				
LV [105-106]	IL [5-6]	EE [59-60]	Razem = 3	
<i>antyoksydacyjne</i>				
IKK [43-45]	AY [1-2]	EL [62-63]	LK [63-64], [86-87]	Razem = 5
<i>ligand bakteryjnej permeazy</i>				
KK [44-45]				Razem = 1
<i>pozostałe inhibitory</i>				
KA [45-46], [83-84], [87-88], [107-108]	FA [30-31], [47-48], [102-103]	EF [101-102]		Razem = 8
<i>hipotensyjne</i>				
EF [101-102]				Razem = 1
<i>aktywujące mechanizm ubikwityno-zależnej proteolizy</i>				
RA [75-76]				Razem = 1
Liczba peptydów bioaktywnych ogółem = 63				

*sekwencje peptydów podano za pomocą jednoliterowego kodu aminokwasów

pia, jego gatunków i podgatunków sprawia, że jest on głównym obiektem hodowlanym w kraju i na świecie oraz gatunkiem modelowym akwakultury. W obrębie łańcucha fragmentu parwalbuminy- α karpia liczącego 108 reszt aminokwasowych stwierdzono obecność 63 fragmentów

Liczba peptydów bioaktywnych oraz dominujące aktywności w wybranych białkach ryb

Białko	Aktywność ¹ /X _{akt} ²												X _{tot} ³
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	
aktyna-β (fragment) sieja	8	2	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	14
parwalbumina-α karp	42	3	1	8	5	1	1	-	-	2	-	-	63
parwalbumina-β karp	48	4	10	1	3	1	1	-	-	-	-	-	68
parwalbumina-β szczupak	45	1	1	12	5	2	4	-	-	-	-	-	70
synukleina-α sum europejski	56	3	1	11	2	-	-	-	-	-	-	-	73
parwalbumina-α szczupak	44	9	3	13	10	3	-	-	-	-	-	-	82
troponina C węgorz europejski	54	17	-	9	-	4	1	6	1	-	-	-	92
aktyna-β okoń europejski	170	18	-	26	12	1	3	2	2	1	1	3	239

¹Aktywność: a-inhibitor ACE; b-stymulująca; c-ligand bakteryjnej permeazy; d-inhibitorowa; e-antyoksydacyjna; f-hipotensyjna; g-aktywująca mechanizm ubikwityno-zależnej proteolizy; h-antyamnezyczna; i-przeciwkrzepiwa; j-immunomodulacyjna; k-neuropeptyd; l-regulująca

²X_{akt} – liczba peptydów o określonej aktywności; ³X_{tot} – liczba peptydów ogółem

o zdefiniowanej i potwierdzonej aktywności biologicznej. Najwięcej z nich (42 peptydy) wykazywało zdolność hamowania działania enzymu konwertującego angiotensynę (inhibitora ACE). Fragmenty o wymienionej aktywności są dotychczas najlepiej scharakteryzowaną grupą peptydów. Inhibitory ACE odgrywają istotną rolę w obniżaniu ciśnienia krwi (Bhuyan i Mugesh 2011), dlatego żywność, która je zawiera może być włączana do diety szczególnie dla pacjentów cierpiących na nadciśnienie tętnicze. Raport WHO podaje, że do roku 2020 choroby układu krążenia, w tym nadciśnienie tętnicze, staną się główną przyczyną śmierci ludzi na całym świecie (Jimsheena i Gowda 2011). Obecnie nadciśnienie tętnicze może być regulowane za pomocą leków i/lub diety eliminującej czynniki rozwoju choroby (Reddy i Katan 2004). Naturalny charakter pochodzących z białek żywności bioaktywnych peptydów, ich terapeutyczny i prewencyjny charakter oraz biofunkcjonalność sprawiają, że są one traktowane, jako bezpieczny i naturalny czynnik terapeutyczny w porównaniu z lekami otrzymywanymi na drodze syntezy (Vermeirssen i in. 2004a). Na korzyść włączania do diety białek zawierających inhibitory ACE może przemawiać również fakt występowania efektów ubocznych, wynikających z długotrwałego zażywania niektórych leków obniżających ciśnienie krwi. Dotychczas wykazano możliwość pojawienia się następujących efektów ubocznych: angiodemii, zaburzeń smaku, wysypki, kaszlu, mdłości, wzrostu poziomu potasu. Dodatkowym zagrożeniem wynikającym z długotrwałej terapii medycznej są interakcje między lekami (Scully 2004, Balasuriya i in. 2011).

Poza fragmentami o aktywności inhibitora ACE w sekwencji parwalbuminy-α karpia stwierdzono obecność peptydów o aktywnościach: immunomodulacyjnej, stymulującej, antyoksydacyjnej, hipotensyjnej (inhibitory reniny o właściwościach redukujących ciśnienie krwi) oraz ligand bakteryjnej permeazy. W parwalbuminie-α karpia stwierdzono także obecność fragmentów pełniących funkcję inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV – enzymu układu pokarmowego.

W tabeli 3 zestawiono uproszczone profile potencjalnej aktywności biologicznej badanych białek. Pominięto lokalizację zidentyfikowanych peptydów w sekwencji białka, a skoncentrowano się na liczebności wykrytych peptydów oraz ich aktywnościach biologicznych.

Sekwencje pozostałych siedmiu badanych białek ryb liczyły od 107 (parwalbumina-β szczupaka) do 375 (aktyna-β okonia europejskiego) reszt aminokwasowych (tab. 1). Długość łańcucha polipeptydowego jest istotna w odniesieniu do częstotliwości występowania w nich bioaktywnych fragmentów oraz prawdopodobieństwa pojawiania się fragmentów o określonej długości łańcucha. Jest to relacja, według której im dłuższa sekwencja białka, tym wzrasta prawdopodobieństwo pojawienia się większej liczby peptydów o różnorodnej aktywności (Minkiewicz i in. 2008). Potwierdziło to wiele badań *in silico* na temat białek, jako źródła bioaktywnych peptydów (Minkiewicz i in. 2008), jak również wyniki uzyskane w omawianej pracy. W białku o najdłuższym łańcuchu, tj. aktynie-β okonia europejskiego (375 reszt aminokwasowych) wykazano obecność największej liczby peptydów bioaktywnych (ogółem 239), natomiast fragment aktyny-β siei (38 reszt aminokwasowych) zawierał ich prawie 20 razy mniej (tab. 3).

Analiza profili potencjalnej aktywności biologicznej parwalbumin karpia i szczupaka wykazała różnice w liczbie bioaktywnych peptydów, mimo że długość łańcuchów sekwencji aminokwasowych tych białek była podobna (tab. 3). Sekwencje te liczyły od 107 (parwalbumina-α szczupaka) do 109 (parwalbumina-α karpia) reszt aminokwasowych. Parwalbuminy należą do tej samej rodziny białek, których cechą charakterystyczną jest obecność dwóch domen typu EF-hand. Domeną nazywany fragment liczący od kilku do kilkudziesięciu reszt aminokwasowych określający przynależność białka do określonej rodziny poprzez pełnienie konkretnej funkcji (Majumdar i in. 2009). W przypadku domeny EF-hand funkcja ta polega na wiązaniu jonów wapnia (2011). Różnice w liczbie zidentyfikowanych peptydów bioaktywnych w sekwencjach parwalbumin karpia i ryb wynikają z róż-

nego stopnia identyczności sekwencji. Analiza za pomocą programu BLAST (ang. Basic Local Alignment Search Tool,) wykazała, że np. stopień identyczności pomiędzy parwalbuminą- α i β karpia wynosi 93% (101 reszt aminokwasowych identycznych w obu sekwencjach), natomiast porównanie parwalbumin karpia i szczupaka wykazało, że stopień identyczności pomiędzy sekwencjami obu gatunków ryb wynosi 72% (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Wszystkie z badanych sekwencji białek ryb stanowią potencjalne źródło peptydów o aktywności inhibitora ACE. Badania prowadzone na świecie potwierdziły, że ryby są obiecującym źródłem peptydów redukujących ciśnienie krwi. Dotychczas w badaniach klinicznych potwierdzono efekt redukcji ciśnienia krwi peptydu o sekwencji Val-Tyr otrzymanego z izolatu białek mięśni sardynek (Matsui i Kawasaki 2000). Inny peptyd o sekwencji Leu-Lys-Pro-Asn-Met uzyskany z mięśni sardynek jest składnikiem japońskiej potrawy o nazwie *katsubushi*. Jest to produkt o statusie FOSHU (ang. Food for Special Health Use), co oznacza żywność o specjalnym przeznaczeniu zdrowotnym. Dawka 1,5 mg *katsubushi* spożywana dziennie przez 8 tygodni przez pacjentów z nadciśnieniem tętniczym obniżała ciśnienie skurczowe krwi o 12,55 mmHg (Ryan i in. 2011). Efekt redukcji ciśnienia krwi wynikający ze spożycia peptydów pochodzących z białek ryb potwierdzono na szczurach z wrodzonym nadciśnieniem. Peptydy te uzyskano z białek tuńczyka, łososia oraz mintaja (Ryan i in. 2011).

Wśród peptydów, których obecność stwierdzono w sekwencjach badanych białek dominują głównie di- i tripeptydy (dane niezamieszczone). Wyjątkiem jest aktywna- β okonia europejskiego, gdzie poza di- i tripeptydami o wymienionej aktywności wykryto łącznie 8 sekwencji o dłuższych łańcuchach. Były to po dwa tetra-, penta- oraz heksapeptydy i po jednym hepta- i nonapeptydzie (dane niezamieszczone). Długość łańcucha peptydów odgrywa istotne znaczenie w procesie ich wchłaniania do krwi – di- oraz tripeptydy ulegają wchłanianiu z przewodu pokarmowego do krwi szybciej niż wolne aminokwasy (Siemensma i in. 1993).

Inne rodzaje aktywności biopeptydów, jakie zidentyfikowano w analizowanych białkach ryb i które mogą odgrywać ważną rolę w regulacji funkcji organizmu to np. aktywność przeciwrzepliwa (aktywna- β okonia europejskiego, troponina C węgorza europejskiego), antyamnezyjna (aktywna- β okonia europejskiego, troponina C węgorza europejskiego), czy antyoksydacyjna (wszystkie sekwencje badanych białek ryb z wyjątkiem troponiny C węgorza europejskiego).

Poza wymienionymi aktywnościami, niektóre z badanych sekwencji białek zawierały fragmenty, które określono mianem „aktywność inhibitorowa” i/lub „stymulująca”. Pod pojęciem pierwszym należy rozumieć peptydy będące inhibitorami enzymów, takich jak: kinaza, proteinaza HIV, dipeptydylopeptydaza IV, chymotrypsyna i kalpaina, natomiast pep-

tydy „stymulujące” odpowiadają za stymulację różnych czynności organizmu, np.: stymulację produkcji γ -interferonu lub wchłaniania glukozy (<http://www.uwm.edu.pl/biochemia>).

Liczba peptydów zidentyfikowanych w sekwencji białka (tab. 3) odgrywa ważną rolę z punktu widzenia hydrolizy białka pod wpływem enzymów proteolitycznych. Im jest ich więcej, tzn. im bogatszy jest profil peptydowy, tym wzrasta prawdopodobieństwo ich uwolnienia w wyniku działania proteaz. Potwierdziły to badania na temat projektowania procesów proteolizy (Minkiewicz i in. 2008) w kontekście pozyskiwania peptydów o określonej aktywności biologicznej. Przewidywanie aktywności biologicznej potencjalnych produktów hydrolizy białek należy do coraz popularniejszych analiz stosowanych w badaniach żywności (Vermeirssen i in. 2004b). Eksperyment polegający na wykorzystaniu metod komputerowych do badania białek ryb jako prekursorów bioaktywnych peptydów, pozwala na ich ocenę jakościową oraz ilościową pod kątem obecności peptydów bioaktywnych. Taka ocena może być przydatna do wstępnej kwalifikacji surowca, tj. ryb w aspekcie potencjalnej aktywności biologicznej, a następnie projektowania/produkcji żywności funkcjonalnej i nutraceutyków (Iwaniak 2011). Desiere i in. (2002) podkreślają zasadność stosowania analizy bioinformatycznej do ulepszania procesów wytwarzania żywności. Poprawa jakości i/lub projektowanie żywności w oparciu o metody *in silico* jest zgodna z ideą QbD (ang. *quality by design*) oznaczającą jakość poprzez projektowanie (Tsirk 2010). Dzięki metodom *in silico* sekwencje bioaktywnych peptydów i ich białkowe prekursorów mogą być już poznawane na etapie „przedlaboratoryjnym”. Wykorzystanie narzędzi komputerowych m. in. do przewidywania aktywności biologicznych w sekwencjach białek żywności pozwala na przykład na uniknięcie izolowania peptydów bioaktywnych metodą „prób i błędów”, co pozwala na zmniejszenie czasu- i kosztochłonności badań (Vermeirssen i in. 2004a, b).

Mimo że analiza bioinformatyczna należy do procedur stosunkowo prostych oraz łatwo odtwarzalnych to należy pamiętać, że stosowanie metod *in silico* wymaga krytycznej oceny uzyskanych wyników, a pojawianie się nowych informacji (np. sekwencji białek) może rzutować na uzyskane rezultaty. Niemniej połączenie analizy bioinformatycznej z eksperymentem prowadzonym w warunkach *in vitro*, może ułatwiać odkrywanie nowych właściwości prozdrowotnych białek (Majumder i Wu 2010).

Podsumowanie

Biologicznie aktywne peptydy należą do składników żywności o dużym potencjale aplikacyjnym w terapii chorób cywilizacyjnych, takich jak nadciśnienie tętnicze. Analiza bioinformatyczna wykazała, że białka ryb są potencjalnym źródłem peptydów charakteryzujących się różną aktywnością biologiczną. Dominującą aktywnością występującą we

wszystkich analizowanych sekwencjach białek jest zdolność hamowania enzymu konwertującego angiotensynę (ACE), tj. kluczowa funkcja w redukcji ciśnienia krwi. Długość łańcucha prekursora białkowego wpływa na liczbę wykrytych peptydów bioaktywnych. Spośród badanych białek ryb najlepszym potencjalnym źródłem peptydów bioaktywnych jest aktyna- β okonia europejskiego, natomiast najmniej biopeptydów znajduje się we fragmencie aktyny- β siei.

Wiedza na temat peptydów aktywnych biologicznie pochodzących z białek żywności wynikająca z najnowszych osiągnięć naukowych, w tym technologii informacyjnych, może być przydatna w projektowaniu żywności, może w istotny sposób przyczynić się do programowania długofalowego działania prewencyjnego, zmiany nawyków żywieniowych i profilaktyki chorób cywilizacyjnych.

Pracę sfinansowano ze środków Katedry Biochemii Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Literatura

- Agnes S.B. 2013 – Nutritional Level in Edible Marine Fish *Parastromateus Niger* And Its Depletion during Storage – *Int. J. Eng. Sci. Invention* 2(2): 51-55.
- Balasuriya B.W.N., Rupasinghe V. 2011 – Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension – *Funct. Foods Health Dis.* 5: 172-188.
- Baza danych sekwencji białek i peptydów bioaktywnych – BIOPEP – <http://www.uwm.edu.pl/biochemia> – dostęp 03 lipca 2013.
- BLAST – <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> – dostęp 11 września 2013.
- Bhuyan B.J., Mugesh G. 2011 – Angiotensin converting enzyme inhibitors in the treatment of hypertension – *Curr. Sci.* 101, 7: 881-887.
- Cejko B.I., Glogowski J. 2010 – Charakterystyka porównawcza wybranych parametrów jakości mleczka czterech linii hodowlanych karpia *Cyprinus carpio* L. – *Komun. Ryb.* 6: 16-20.
- Chazin W.J. 2011 – Relating form and function of EF-hand calcium binding proteins – *Acc. Chem. Res.* 15, 44(3): 171-179.
- Desiere F., German B., Watzke H., Pfeifer A., Saguy S. 2002 – Bioinformatics and data knowledge: the new frontiers for nutrition and foods – *Trends Food Sci. Technol.* 12: 215-229.
- Iwaniak A. 2011 – Analiza zależności między strukturą peptydów pochodzących z białek żywności a ich aktywnością inhibitorową wobec enzymu konwertującego angiotensynę. Ocena przydatności metod *in silico* w badaniach nad białkowymi prekursorami bioaktywnych peptydów – Wydawnictwo UW-M w Olsztynie, 162, 1-152.
- Iwaniak A., Dziuba J. 2009 – Animal and plant origin proteins as the precursors of peptides with ACE inhibitory activity. Proteins evaluation by means of *in silico* methods – *Food. Technol. Biotechnol.*, 47 (4): 441-449.
- Jimsheena V.K., Gowda L.R. 2011 – Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from arachin by simulated gastric digestion – *Food Chem.* 125:561-569.
- Korhonen H., Pihlanto A. 2006 – Bioactive peptides: production and functionality – *Int. Dairy J.*, 16:945-960.
- Majumdar I., Kinch L.N., Grishin N.V. 2009 – A Database of Domain Definitions for Proteins with Complex Interdomain Geometry – *PLoS ONE* 4(4): e5084.
- Majumder K., Wu J. 2010 – A new approach for identification of novel antihypertensive peptides from egg proteins by QSAR and bioinformatics – *Food Res. Int.*, 43: 1371-1378.
- Matsui T., Kawasaki T. 2000 – Antihypertensive effects of bioactive peptides derived from food proteins. Development of antihypertensive food with bioactive sardine muscle peptide (Val-Tyr) – *J. Japanese Soc. Nutr. Food Sci.* 53, 2: 77-85.
- Meisel H., Walsh D.J., Murray B., FitzGerald R.J. 2006 – ACE inhibitory peptides – W: *Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease* (Red.) Mine Y., Shahidi F. Taylor and Francis Group, Boca Raton, London, New York: 269-315.
- Milward D.J., Layman D.K., Tomé D., Schaafsma G. 2008 – Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health – *Am. J. Clin. Nutr.*, 87, 5: 1576S-1581S.
- Minkiewicz P., Dziuba J., Iwaniak A., Dziuba M., Darewicz M. 2008 – BIOPEP and other programs for processing bioactive peptide sequences – *J. AOAC*, 91, 4: 965-980.
- Pandey M., Verma R.K., Saraf S.A. 2010 – Nutraceuticals: New era of medicine and health – *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 3, 1: 11-15.
- Ramaa C.S., Shirode A.R., Mundada A.S., Kadam V.J. 2006 – Nutraceuticals – an emerging era in the treatment and prevention of cardiovascular diseases – *Curr Pharm Biotechnol* 7: 15-23.
- Reddy K.S., Katan B. 2004 – Diet, nutrition and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases – *Public Health Nutrition* 7(1A): 167-186.
- Ryan J.T., Ross R.B., Bolton D., FitzGerald G.F., Stanton C. 2011 – Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish – *Nutrients* 3: 765-791.
- Scully C. 2004 – Adverse drug reactions in the orofacial region – *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 15(4): 221-240.
- Serwer proteomiczny UniProt – <http://www.expasy.org> – dostęp 03 lipca 2013.
- Selzer P.M., Marhöfer R.J., Rohwer A. 2008 – Applied bioinformatics. An introduction – Springer, Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, 260.
- Siemensma A.D., Weijer W.J., Bak H.J. 1993 – The importance of peptide length on hypoallergenic infant formulae – *Trends Food. Sci. Technol.* 4:16-21.
- Tsirk A. 2010 – Quality by design: A Peptide CMO Approach – W: *Pharmaceutical. The International Peptide Review.* World Business Journals Ltd., London, 28-31.
- Vermeirssen V., Van Camp J., Verstraete W. 2004a – Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides – *Br. J. Nutr.* 92: 357-366.
- Vermeirssen V., van der Bent A., Van Camp J., van Amerongen A., Verstraete W. 2004b – A quantitative *in silico* analysis calculates angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity in pea and whey protein digests – *Biochimie* 86: 231-239.

Przyjęt po recenzji 16.09.2013 r.

ANALYSES OF *IN SILICO* PROTEIN FROM SELECTED FISH SPECIES AS A SOURCE OF BIOACTIVE PEPTIDES

Anna Iwaniak, Kamil Dąbrowski, Małgorzata Darewicz

ABSTRACT. Computer analysis was used to evaluate the values of selected fish protein sequences as sources of biologically-active peptides. Two databases were used to analyze eight fish protein sequences: UniProt and BIOPEP. The main criterion of protein value applied was the profile of the potential biological activity of a protein. Bioinformatic analysis showed that all fish protein sequences were potential sources of bioactive peptides. The largest number of peptides detected among the analyzed fish proteins indicated an ACE inhibitory effect, which is the ability to reduce blood pressure. The best potential source of bioactive peptides was b-actin from European perch (*Perca fluviatilis*), while the smallest number of bioactive peptides were detected in a fragment of b-actin from freshwater whitefish (*Coregonus lavaretus*).

Keywords: bioactive peptides, fish protein, biological activity