

УДК 543.4/577.322

doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-4-586-593

СРАВНЕНИЕ МЕТОДИК РАСЧЕТА ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ ДЕКОНВОЛЮЦИИ ИНФРАКРАСНЫХ СПЕКТРОВ

Д.А. Усольцев, В.Е. Ситникова, Т.Н. Носенко, Р.О. Олехнович, М.В. Успенская

Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация
 Адрес для переписки: v.e.sitnikova@gmail.com

Информация о статье

Поступила в редакцию 29.04.19, принята к печати 29.05.19
 Язык статьи — русский

Ссылка для цитирования: Усольцев Д.А., Ситникова В.Е., Носенко Т.Н., Олехнович Р.О., Успенская М.В. Сравнение методик расчета вторичной структуры белков на основе деконволюции инфракрасных спектров // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2019. Т. 19. № 4. С. 586–593. doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-4-586-593

Аннотация

Предмет исследования. Проведено сравнение двух различных спектроскопических методик количественного определения компонентов вторичной структуры двух глобулярных белков, имеющих разную вторичную структуру – человеческий сывороточный альбумин и свиной трипсин. Проанализирована вариативность и воспроизводимость каждой из методик. **Метод.** Вторичная структура белков определена с помощью двух распространенных спектроскопических методик количественной оценки вторичной структуры белков – деконволюции контура полосы поглощения амид I в инфракрасном спектре и деконволюция второй производной инфракрасного спектра в области частот амида I. Для данных методик использованы спектры после вычитания спектра растворителя из спектра раствора белка. **Основные результаты.** Сравнение двух спектроскопических методик показывает, что деконволюция второй производной инфракрасного спектра белков дает большую воспроизводимость по компонентам вторичной структуры при независимых экспериментах по сравнению с разложением спектра в диапазоне полосы поглощения амид I как для альбумина, так и для трипсина. Величина коэффициента вариации при деконволюции второй производной также имеет малую величину, следовательно, метод второй производной дает более точное определение вторичной структуры белков в отличие от разложения контура полосы амид I. Полученные результаты деконволюции второй производной лучше согласуются с расчетными методами и рентгеноструктурным анализом. **Практическая значимость.** Полученные экспериментальные результаты по сравнению с результатами разных методик количественного определения вторичной структуры белков позволяют выбрать наиболее точную методику расчета, которая, помимо оценки содержания белковых вторичных структур, также может предоставить информацию о структурной стабильности и динамике белка в различных средах.

Ключевые слова

вторичная структура белков, альбумин, трипсин, ИК-спектроскопия, вторая производная

doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-4-586-593

COMPARISON OF PROTEIN SECONDARY STRUCTURE CALCULATION METHODS BASED ON INFRARED SPECTRA DECONVOLUTION

D.A. Usoltsev, V.E. Sitnikova, T.N. Nosenko, R.O. Olekhovich, M.V. Uspenskaya

ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation
 Corresponding author: v.e.sitnikova@gmail.com

Article info

Received 29.04.19, accepted 29.05.19
 Article in Russian

For citation: Usoltsev D.A., Sitnikova V.E., Nosenko T.N., Olekhovich R.O., Uspenskaya M.V. Comparison of protein secondary structure calculation methods based on infrared spectra deconvolution. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2019, vol. 19, no. 4, pp. 586–593 (in Russian). doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-4-586-593

Abstract

Subject of Research. The paper presents comparison of two different spectroscopic methods for the quantitative determination of the secondary structure components of two globular proteins with different secondary structure, such as human serum albumin and porcine trypsin. The variability and reproducibility of each method are analyzed. **Method.** The secondary structure of proteins was determined by two common spectroscopic methods for quantitative assessment of protein secondary structure, such as deconvolution of amide I absorption band in the infrared spectrum and deconvolution of infrared spectrum second derivative in

the frequency range of amide I. We used spectra after subtraction of the solvent spectrum from the protein solution spectrum for these methods. **Main Results.** Comparison of two spectroscopic methods shows that the second derivative deconvolution method for protein infrared spectrum provides greater reproducibility of the secondary structure components in independent experiments compared to the decomposition of the spectrum in the amide I absorption band for both albumin and trypsin. The coefficient of variation in the second derivative deconvolution also has a small value, therefore, the method of the second derivative gives a more accurate determination of the protein secondary structure as opposed to the contour decomposition of amide I band. The obtained results of the second derivative deconvolution are in better agreement with computational methods and X-ray analysis.

Practical Relevance. Experimental results obtained by comparison of different methods of secondary structure quantitative determination for proteins allow choosing the most accurate calculation method, which can provide information on the structural stability and dynamics of protein in various media and assess the content of protein secondary structures.

Keywords

protein secondary structure, albumin, trypsin, IR spectroscopy, second derivative

Введение

Конечная цель структурных исследований белков заключается в том, чтобы получить представление о трехмерной структуре белка на уровне высокого разрешения. Это часто может быть достигнуто применением таких методов, как рентгеноструктурный анализ или многомерная спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Однако исследования белков с высоким разрешением не всегда возможны. Например, в кристаллографических исследованиях требуются высококачественные монокристаллы, которые для многих белков (например, подавляющее большинство мембранных белков) недоступны. ЯМР-спектроскопия предлагает большую гибкость в изучении структуры белка в «биологически релевантных» средах. Однако интерпретация ЯМР-спектров крупных белков очень сложна, и в настоящее время методика ограничена небольшими белками [1].

Практические ограничения, возникающие при структурных исследованиях белков с высоким разрешением, стимулировали исследования в разработке и совершенствовании спектроскопических методов с низким разрешением (например, спектроскопия кругового дихроизма, различные виды колебательной спектроскопии), которые обеспечивают глобальное понимание общей вторичной структуры белков, не имея возможности установить точное трехмерное расположение отдельных структурных элементов. Одним из таких методов является инфракрасная спектроскопия (ИК) с преобразованием Фурье (ИК-Фурье спектроскопия).

Одним из особых преимуществ ИК-спектроскопии является его легкость и быстрота получения высококачественных спектров на основе анализа очень малых количеств белков (около 100 мкг). Кроме того, ИК-спектроскопия позволяет исследовать белки в различных средах, включая оптически мутные среды. Это делает метод подходящим для исследования структуры мембранных белков, а также белковых комплексов, т.е. систем, которые трудно изучать с помощью других спектроскопических методов.

Инфракрасные спектры белков и полипептидов демонстрируют ряд так называемых амидных полос, которые соответствуют различным колебаниям пептидного фрагмента. Из всех амидных мод пептидной группы наиболее широко используемым в исследованиях вторичной структуры белка является амид I, находящийся в диапазоне 1700–1580 см⁻¹. Он соответствует валентным колебаниям связи С=О пептидной группы [2]. Основными факторами, ответственными за конформационную чувствительность амидных полос, являются водородная связь и связь между переходными диполями [3]. Переходная дипольная связь приводит к расщеплению колебания амида I. Величина этого расщепления зависит от ориентации и расстояния взаимодействующих диполей и, таким образом, обеспечивает информацию о геометрических расположениях пептидных групп в полипептидной цепи. Белки обычно складываются в сложные трехмерные структуры, которые состоят из множества доменов, содержащих полипептидные сегменты, сложенные в различные типы вторичной структуры. Так как в каждой из этих конформаций связь С=О имеет собственную частоту колебания, наблюдаемые контуры полосы амида I представляют собой полосы сложного состава: они состоят из множества перекрывающихся компонентов, которые представляют собой различные структурные элементы, такие как α -спирали, β -листы, повороты и неупорядоченные или нерегулярные структуры. Основная трудность, возникающая при анализе составного контура полосы, возникает из-за того, что ширина полос составляющих компонентов больше, чем расстояние между максимумами соседних пиков. Как следствие, отдельные составляющие полосы не могут быть разделены и (или) идентифицированы в широких контурах экспериментально измеренных спектров, а извлечение структурной информации, закодированной в этих инфракрасных полосах, требует математической обработки экспериментальных данных. Методы, используемые в настоящее время для анализа инфракрасных спектров белков, можно разделить на две категории: те, которые основаны на сужении зон и разложении полосы амида I на его базовые компоненты (иногда называемые «основанными на частоте» подходах) [4, 5] и основанные на принципе «распознавания образов» [6].

Широко используемый подход для извлечения информации о вторичной структуре белка из ИК-спектров связан с вычислительной процедурой фурье-само-деконволюции. Эта процедура, иногда называемая «усилением разрешения», уменьшает ширину инфракрасных полос, что позволяет увеличить разделение

и, следовательно, лучше идентифицировать перекрывающиеся полосы компонентов, находящихся в составном контуре полосы [4, 7]. Увеличение разделения перекрывающихся полос также может быть достигнуто путем вычисления n -й производной спектра поглощения [5].

Для извлечения количественной информации о вторичной структуре белка в анализе, основанном на усилении разрешения, была предложена процедура [8], которая включает подгонку контура амид I в виде линейной комбинации отдельных полос компонентов путем итеративной регулировки высот, ширины и положения этих полос. Предполагалось, что данные отдельные полосы, соответствующие разным типам вторичной структуры (α -спирали, β -листы, повороты и нерегулярные структуры), представляют собой проценты этих структур в данном белке. Утверждается, что эта процедура обеспечивает высокоточные оценки вторичной структуры белка и была принята с различными модификациями другими исследователями [9, 10]. В настоящее время наиболее распространенными методиками количественной оценки вторичной структуры являются деконволюция контура полосы поглощения амид I и деконволюция второй производной спектра в области частот амида I.

Однако противоречивые данные о вторичной структуре белка, получаемые методом ИК-спектроскопии, вынуждают еще раз обратиться к теме сравнения результатов различных методик расчета вторичной структуры. Так, для хорошо изученного белка альбумина в литературе встречаются весьма разнящиеся данные о его вторичной структуре, полученные с помощью ИК-спектроскопии, в частности, количество α -спиралей в структуре альбумина по данным статей колеблется от 47 до 70 % [11–13]. Подобные различия касаются и других хорошо изученных белков [14].

В данной работе рассмотрены две методики расчета вторичной структуры белков: метод второй производной и метод деконволюции спектра. Целью работы явилось сравнение двух исследуемых методик с результатами референсных методов расчета вторичной структуры белков.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования в данной работе выбраны человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) (аптечная форма 20 % р-р) и трипсин свиной. Первый имеет преимущественно спиральную вторичную структуру, второй имеет в своем составе преимущественно β -листы. С помощью ИК-спектроскопии исследовалась нативная структура белков в растворе. Было проведено по три независимых измерения для каждого белка. При проведении независимого измерения каждый раз отбиралось 5 мкл раствора и проводилась запись ИК-спектра.

Для регистрации спектров поглощения в среднем ИК-диапазоне использовали ИК-Фурье спектрометр Tensor 37 фирмы Bruker с приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) (кристалл ZnSe с алмазным покрытием). Спектры каждого образца регистрировали с разрешением 2 см^{-1} и усредняли по 32 накоплениям. Из полученных спектров поглощения вычитали спектр физиологического раствора, подбирая коэффициент вычитания таким образом, чтобы добиться ровной базовой линии в области $2200\text{--}2000 \text{ см}^{-1}$.

С помощью приставки НПВО регистрируют ИК-спектры нарушенного полного внутреннего отражения в относительных единицах НПВО, $\text{НПВО} = AB \times X/1000$, где X — длина волны, а $AB = \log(TR)$, где AB — поглощение, TR — пропускание.

Деконволюция пика амид I и второй производной этого пика производилась в программе OriginPro 2015. Спектр вычитания обрабатывался с помощью процедуры Фурье-сглаживания. Все вторые производные ИК-спектров умножены на -1 для удобства разложения.

Методики деконволюции контура полосы поглощения амид I и деконволюции второй производной спектра в области частот амида I подробно описаны в работах [1, 8].

Качество процедуры деконволюции оценивалось с помощью средних значений, стандартных отклонений и коэффициента вариации, который оценивает отклонение членов выборки от среднего значения в процентах от величины среднего значения.

Результаты и обсуждение

Вторичная структура ЧСА и трипсина изучена методами кругового дихроизма и рентгеноструктурного анализа [15, 16]. Данные о вторичной структуре исследуемых белков, полученные с помощью различных методов, представлены в табл. 1. Эти данные будут использоваться как референсные значения для оценки ИК-спектроскопических методик. Так как все эти методы сходятся в основном в значении спиральных структур, результаты спектроскопических методик будут сравниваться со значением спиральных структур в референсных методах.

На рис. 1 представлены ИК-спектр и вторая производная (рис. 1, а) человеческого сывороточного альбумина и приведены примеры процедуры деконволюции ИК-спектра (рис. 1, б) и второй производной (рис. 1, в) в диапазоне пика амид I для данного белка.

Таблица 1. Вторичная структура ЧСА и трипсина

Белок	Метод	β - повороты, %	α -спираль, %	Неориентированная структура, %	β -листы, %
ЧСА	DSSP* [17]	8,89	68,38	12,99	—
	STRIDE** [18]	15,7	69,06	12,48	—
	Рентгеноструктурный анализ [15]	2,1	68,8	21,8	7,3
Трипсин	DSSP [17]	14,8	10,31	30,04	32,29
	STRIDE [18]	36,77	10,76	19,73	32,74
	Рентгеноструктурный анализ [16]	4,7	9,9	41,9	43,3

*Define Secondary Structure of Proteins — стандартный алгоритм для определения вторичной структуры белка

**Structural identification — веб-сервер для определения вторичной структуры белка

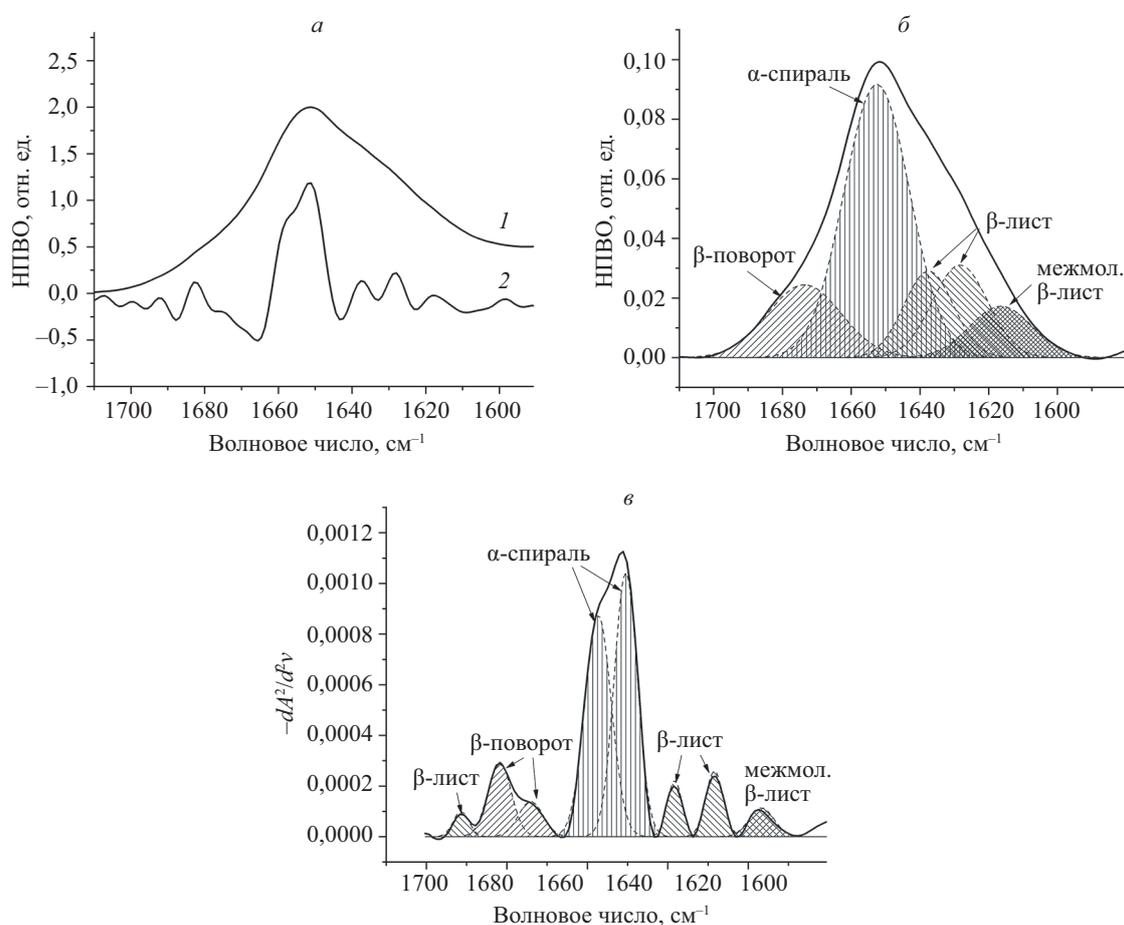


Рис. 1. Инфракрасный спектр альбумина в области частот полосы поглощения амид I (1) и вторая производная (2) (а); деконволюция спектра (б) и второй производной (в) в области частот амид I

При проведении трех независимых измерений ИК-спектра одного и того же образца для каждого измерения была выполнена деконволюция самого ИК-спектра в области пика амид I и второй производной ИК-спектра в той же области (табл. 2). По результатам деконволюции участка ИК-спектра, соответствующего пику амид I, содержание α -спиралей в ЧСА имеет среднее значение 53,57 %. Однако ни один из референсных методов не дает подобного значения для α -спиралей в ЧСА. Деконволюция второй производной дает среднее значение 69,5 %, которое практически совпадает с данными референсных методов. Кроме того, можно видеть, что в этих двух методах при приблизительно одинаковом уровне содержания α -спиралей и β -поворотов уровни содержания β -листов и межмолекулярных β -листов отличаются почти в два раза.

При анализе второй производной коэффициент вариации (коэф. вар.) меньше, т. е. разброс выборки в случае второй производной меньше. Следовательно, вторая производная дает более однозначную картину содержания вторичных структур в альбумине (табл. 2).

Таблица 2. Деконволюция второй производной и спектра ЧСА в области амид I для трех независимых экспериментов

№ образца	Межмолекулярные β -листы, %	β -повороты, %	α -спирали, %	Неориентированные структуры, %	β -листы, %
Деконволюция второй производной					
1	4,29	14,92	67,28	—	13,46
2	2,42	15,00	72,05	—	10,49
3	3,55	15,79	69,19	—	11,43
Ср. знач.	$3,42 \pm 1,40$	$15,23 \pm 0,71$	$69,50 \pm 2,24$	—	$11,79 \pm 3,57$
Станд. откл.	0,94	0,48	2,40	—	1,51
Коэф. вар., %	27,53	3,15	3,45	—	12,87
Деконволюция спектра					
1	9,81	14,89	50,40	—	24,87
2	7,59	14,02	52,59	—	26,46
3	9,43	12,32	57,74	—	20,48
Ср. знач.	$8,94 \pm 1,75$	$13,74 \pm 1,93$	$53,57 \pm 4,60$	—	$23,93 \pm 5,60$
Станд. откл.	1,18	1,30	3,76	—	3,09
Коэф. вар., %	13,27	9,51	7,03	—	12,93

При рассмотрении двух выборок данных анализа вторичной структуры по второй производной и данных вторичной структуры по ИК-спектру альбумина можно провести сравнение двух выборок между собой при помощи парного критерия Стьюдента. Для уровня $\alpha = 0,01$ и степеней свободы 4 получили статистически значимые различия в величине средних значений содержания α -спиралей, β -листов во вторичной структуре альбумина при анализе ИК-спектральных данных и второй производной. Сравнивая полученные результаты с референсными данными (табл. 1), можно сделать вывод о том, что деконволюция второй производной приводит к более однозначным результатам оценки содержания компонентов вторичной структуры в альбумине.

Тот же самый эксперимент был проведен с трипсином, который представляет собой преимущественно β -листной белок (рис. 2).

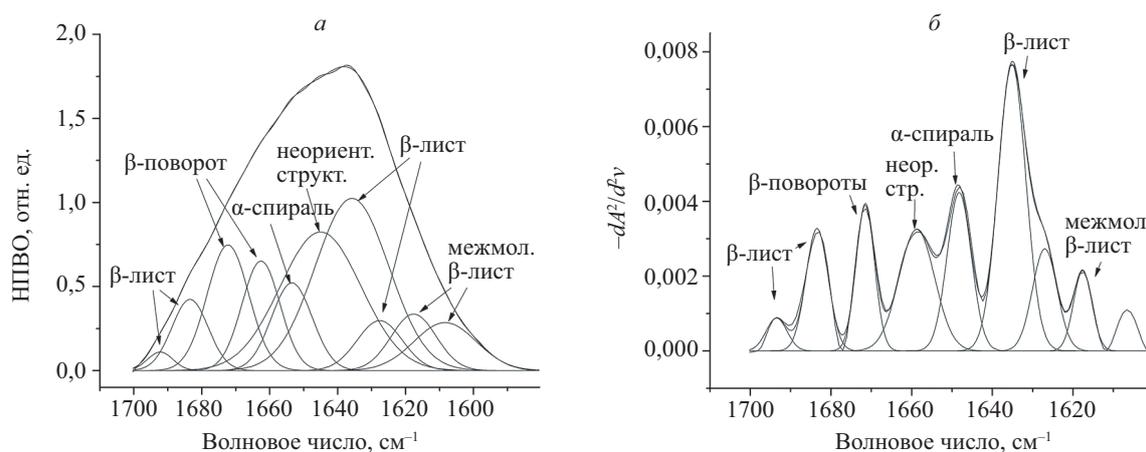


Рис. 2. Разложение инфракрасного спектра в области амида I трипсина (а) и второй производной (б)

Сравнение результатов деконволюции спектра и второй производной в табл. 3 показывает, что метод разложения второй производной дает большую воспроизводимость по компонентам вторичной структуры при независимых экспериментах по сравнению с разложением спектра в диапазоне полосы поглощения амид I как для альбумина, так и для трипсина.

Таблица 3. Деконволюция второй производной и спектра в области амида I трипсина для трех независимых экспериментов

№ образца	Межмолекулярный β -лист, %	β -повороты, %	α -спирали, %	Неориентированные структуры, %	β -листы, %
Деконволюция второй производной					
1	8,20	25,42	16,39	12,64	37,32
2	7,34	26,38	12,33	14,00	39,92
3	11,08	29,16	11,51	9,49	38,74
Ср. знач.	8,88 \pm 2,91	26,99 \pm 2,89	13,41 \pm 3,89	12,04 \pm 3,44	38,66 \pm 1,93
Станд. откл.	1,95	1,94	2,61	2,31	1,29
Коэф. вар., %	22,03	7,18	19,49	19,22	3,35
Деконволюция спектра					
1	15,27	18,80	19,68	26,17	20,06
2	4,51	51,64	0,00	2,38	41,44
3	12,47	24,86	7,63	24,57	30,45
Ср. знач.	10,75 \pm 8,31	31,77 \pm 26,03	9,10 \pm 14,78	17,71 \pm 19,80	30,65 \pm 15,92
Станд. откл.	5,58	17,47	9,92	13,29	10,69
Коэф. вар., %	51,91	55,01	108,97	75,06	34,88

При сравнении двух выборок данных анализа вторичной структуры по второй производной и данных вторичной структуры по ИК-спектру трипсина статистически значимых различий не обнаружено. Разброс значений содержания рассматриваемых белковых структур при анализе данных по ИК-спектру настолько значителен, что становится неприемлемым для последующей оценки, о чем говорит и коэффициент вариации (табл. 3). Рассчитанный доверительный интервал среднего значения компонентов вторичной структуры для деконволюции второй производной в несколько раз меньше, чем доверительный интервал для деконволюции ИК-спектра, что приводит к меньшему разбросу значений результатов.

Также была проведена деконволюция одного и того же ИК-спектра и его второй производной для трипсина при изменении положения максимума гауссовых кривых на 0,1 см⁻¹. Были получены 6 вариантов деконволюции для самого ИК-спектра и 6 вариантов для второй производной (табл. 4, рис. 3).

Таблица 4. Деконволюция ИК-спектра второй производной 20 % по массе раствора нативного трипсина в области амид I

Метод	№ варианта деконволюции	α -спирали, %	β -листы, %	Неориентированные структуры, %	β -повороты, %	β -лист, %
Разложение спектра амид I	1	7,63	30,45	24,57	24,86	12,47
	2	0,13	8,02	67,32	14,40	10,10
	3	7,48	32,26	23,52	25,13	11,58
	4	0,16	9,85	59,92	17,94	12,11
	5	11,52	35,50	14,18	26,44	12,33
	6	11,10	50,27	6,00	24,79	7,82
	Ср. знач.	6,34	27,73	32,58	22,26	11,07
	Станд.откл.	5,08	16,15	25,08	4,88	1,81
	Коэф. вар., %	80,16	58,25	76,97	21,94	16,35
Разложение второй производной	1	11,51	38,74	9,49	29,16	11,08
	2	11,50	38,51	9,47	29,45	11,04
	3	11,51	38,71	9,50	29,11	11,15
	4	11,52	38,57	9,50	29,38	11,00
	5	11,53	38,65	9,48	29,49	10,82
	6	11,51	38,79	9,51	28,98	11,19
	Ср. знач.	11,51	38,66	9,49	29,26	11,05
	Станд. откл.	0,01	0,10	0,01	0,20	0,12
	Коэф. вар., %	0,09	0,27	0,14	0,70	1,16

В случае анализа второй производной ИК-спектра процент содержания α -спиралей, β -структур и неориентированных структур по средним значениям для 6 вариантов разложения соответствует диапазону референсных методов, имея при этом малый разброс от среднего значения. А анализ спектра белка приводит к неоднозначному выводу о содержании компонентов вторичных структур и дает недопустимые значения коэффициента вариации. Это значит, что при проведении деконволюции по ИК-спектру можно получить любые значения содержания рассматриваемых белковых структур, что может приводить к ошибкам.

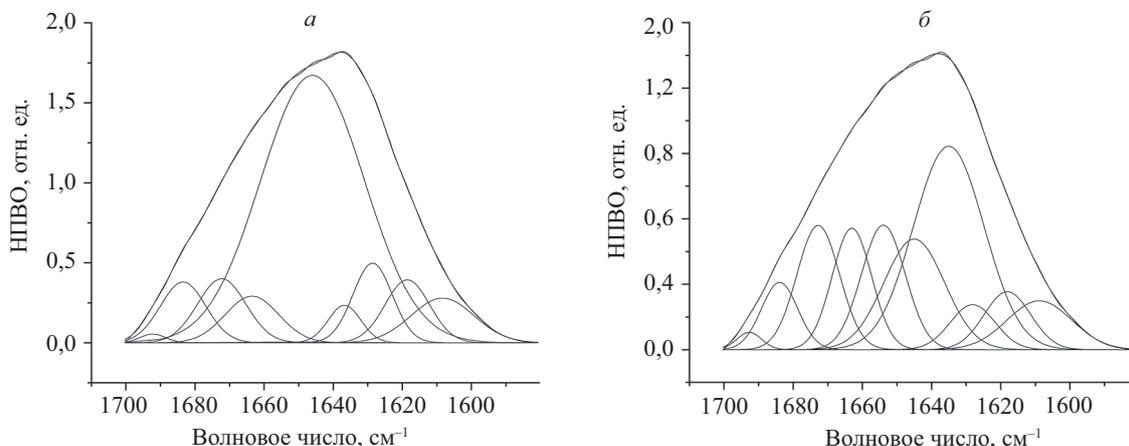


Рис. 3. Примеры деконволюции одного и того же инфракрасного спектра трипсина в области пика амид I: а — четвертый, б — пятый деконволюции, представленный в табл. 4

На основе данных табл. 4 можно сказать, что для одного и того же образца наблюдается крайне высокая воспроизводимость результатов разложения его второй производной по сравнению с разложением участка спектра амид I.

Заключение

В работе были рассмотрены две методики расчета вторичной структуры белков: деконволюция спектра и деконволюция второй производной спектра в области частот амида I. Сравнение двух методов показывает, что при деконволюции второй производной наблюдается более стабильный воспроизводимый результат количественного содержания компонентов вторичной структуры, который согласуется с расчетными методами и рентгеноструктурным анализом. Величина коэффициента вариации при деконволюции второй производной также имеет малую величину, следовательно, метод второй производной дает более точное определение вторичной структуры белков.

Таким образом, обработка инфракрасных спектров при применении деконволюции второй производной является ценным методом для исследования вторичной структуры различных белков, который помимо оценки содержания белковых вторичных структур также может предоставить информацию о структурной стабильности и динамике белка в различных средах.

Литература

1. Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. *Biochemistry*. 5th ed. New York: W.H. Freeman, 2002.
2. Yang H., Yang S., Kong J., Dong A., Yu S. Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy // *Nature Protocols*. 2015. V. 10. N 3. P. 382–396. doi: 10.1038/nprot.2015.024
3. Bandekar J. Amide modes and protein conformation // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1992. V. 1120. N 2. P. 123–143. doi: 10.1016/0167-4838(92)90261-B
4. Kauppinen J.K., Moffatt D.J., Mantsch H.H., Cameron D.G. Fourier self-deconvolution: a method for resolving intrinsically overlapped bands // *Applied Spectroscopy*. 1981. V. 35. N 3. P. 271–276. doi: 10.1366/0003702814732634
5. Cameron D.G., Moffatt D.J. A generalized approach to derivative spectroscopy // *Applied Spectroscopy*. 1987. V. 41. N 4. P. 539–544. doi: 10.1366/0003702874448445
6. Dousseau F., Pezolet M. Determination of the secondary structure content of proteins in aqueous solutions from their amide I and amide II infrared bands. Comparison between classical and

References

1. Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. *Biochemistry*. 5th ed. New York, W.H. Freeman, 2002.
2. Yang H., Yang S., Kong J., Dong A., Yu S. Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. *Nature Protocols*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 382–396. doi: 10.1038/nprot.2015.024
3. Bandekar J. Amide modes and protein conformation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1992, vol. 1120, no. 2, pp. 123–143. doi: 10.1016/0167-4838(92)90261-B
4. Kauppinen J.K., Moffatt D.J., Mantsch H.H., Cameron D.G. Fourier self-deconvolution: a method for resolving intrinsically overlapped bands. *Applied Spectroscopy*, 1981, vol. 35, no. 3, pp. 271–276. doi: 10.1366/0003702814732634
5. Cameron D.G., Moffatt D.J. A generalized approach to derivative spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 1987, vol. 41, no 4, pp. 539–544. doi: 10.1366/0003702874448445
6. Dousseau F., Pezolet M. Determination of the secondary structure content of proteins in aqueous solutions from their amide I and amide II infrared bands. Comparison between classical and

- partial least-squares methods // *Biochemistry*. 1990. V. 29. N 37. P. 8771–8779. doi: 10.1021/bi00489a038
7. Сизиков В.С., Лавров А.В. Исследование погрешностей некоторых методов разделения перекрывающихся спектральных линий в условиях воздействия помех // *Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики*. 2017. Т. 17. № 5. С. 879–889.
 8. Byler M., Susi H. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra // *Biopolymers*. 1986. V. 25. N 3. P. 469–487. doi: 10.1002/bip.360250307
 9. Surewicz W.K., Mantsch H.H. New insight into protein secondary structure from resolution-enhanced infrared spectra // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1988. V. 952. P. 115–130. doi: 10.1016/j.bba.1988.05.001
 10. Goormaghtigh E., Cabiaux V., Ruyschaert J.-M. Secondary structure and dosage of soluble and membrane proteins by attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectroscopy on hydrated films // *European Journal of Biochemistry*. 1990. V. 193. P. 409–420. doi: 10.1111/j.1432-1033.1990.tb19354.x
 11. Guglielmella A., Rizzutib B., Guzzi R. Stereoselective and domain-specific effects of ibuprofen on the thermal stability of human serum albumin // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018. V. 112. P. 122–131. doi: 10.1016/j.ejps.2017.11.013
 12. Ge Y.-S., Jin Ch., Song Z., Zhang J.-Q., Jiang F.-L., Liu Y. Multi-spectroscopic analysis and molecular modeling on the interaction of curcumin and its derivatives with human serum albumin: A comparative study // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2014. V. 124. N 265. P. 265–276. doi: 10.1016/j.saa.2014.01.009
 13. Ahmed M.H., Byrne J.A., McLaughlin J., Ahmed W. Study of human serum albumin adsorption and conformational change on DLC and silicon doped DLC using XPS and FTIR spectroscopy // *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 2013. V. 4. N 2. P. 194–203. doi: 10.4236/jbnb.2013.42024
 14. Chanphai P., Kreplak L., Tajmir-Riahi H.A. Aggregation of trypsin and trypsin inhibitor by Al cation // *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology*. 2017. V. 169. P. 7–12. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.02.018
 15. Sugio S., Kashima A., Mochizuki S., Noda M., Kobayashi K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution // *Protein Engineering, Design and Selection*. 1999. V. 12. N 6. P. 439–444. doi: 10.1093/protein/12.6.439
 16. Deepthi S., Johnson A., Pattabhi V. Structures of porcine beta-trypsin-detergent complexes: the stabilization of proteins through hydrophilic binding of polydocanol // *Acta Crystallographica Section D*. 2000. V. 57. P. 1506–1512. doi: 10.1107/s0907444901011143
 17. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein data bank // *Nucleic Acids Research*. 2000. V. 28. P. 235–242. doi: 10.1093/nar/28.1.235
 18. Heinig M., Frishman D. STRIDE: a web server for secondary structure assignment from known atomic coordinates of proteins // *Nucleic Acids Research*. 2004. V. 32. W500–W502. doi: 10.1093/nar/gkh429
 7. Sizikov V.S., Lavrov A.V. Study of errors of some methods for separating overlapped spectral lines under noise effect. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2017, vol. 17, no. 5, pp. 879–889 (in Russian). doi: 10.17586/2226-1494-2017-17-5-879-889
 8. Byler M., Susi H. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra. *Biopolymers*, 1986, vol. 25, no. 3, pp. 469–487. doi: 10.1002/bip.360250307
 9. Surewicz W.K., Mantsch H.H. New insight into protein secondary structure from resolution-enhanced infrared spectra. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1988, vol. 952, pp. 115–130. doi: 10.1016/j.bba.1988.05.001
 10. Goormaghtigh E., Cabiaux V., Ruyschaert J.-M. Secondary structure and dosage of soluble and membrane proteins by attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectroscopy on hydrated films. *European Journal of Biochemistry*, 1990, vol. 193, pp. 409–420. doi: 10.1111/j.1432-1033.1990.tb19354.x
 11. Guglielmella A., Rizzutib B., Guzzi R. Stereoselective and domain-specific effects of ibuprofen on the thermal stability of human serum albumin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, vol. 112, pp. 122–131. doi: 10.1016/j.ejps.2017.11.013
 12. Ge Y.-S., Jin Ch., Song Z., Zhang J.-Q., Jiang F.-L., Liu Y. Multi-spectroscopic analysis and molecular modeling on the interaction of curcumin and its derivatives with human serum albumin: A comparative study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, vol. 124, no. 265, pp. 265–276. doi: 10.1016/j.saa.2014.01.009
 13. Ahmed M.H., Byrne J.A., McLaughlin J., Ahmed W. Study of human serum albumin adsorption and conformational change on DLC and silicon doped DLC using XPS and FTIR spectroscopy. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2013, vol. 4, no. 2, pp. 194–203. doi: 10.4236/jbnb.2013.42024
 14. Chanphai P., Kreplak L., Tajmir-Riahi H.A. Aggregation of trypsin and trypsin inhibitor by Al cation. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology*, 2017, vol. 169, pp. 7–12. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.02.018
 15. Sugio S., Kashima A., Mochizuki S., Noda M., Kobayashi K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein Engineering, Design and Selection*, 1999, vol. 12, no. 6, pp. 439–444. doi: 10.1093/protein/12.6.439
 16. Deepthi S., Johnson A., Pattabhi V. Structures of porcine beta-trypsin-detergent complexes: the stabilization of proteins through hydrophilic binding of polydocanol. *Acta Crystallographica Section D*, 2000, vol. 57, pp. 1506–1512. doi: 10.1107/s0907444901011143
 17. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 2000, vol. 28, pp. 235–242. doi: 10.1093/nar/28.1.235
 18. Heinig M., Frishman D. STRIDE: a web server for secondary structure assignment from known atomic coordinates of proteins. *Nucleic Acids Research*, 2004, vol. 32, W500–W502. doi: 10.1093/nar/gkh429

Авторы

Усольцев Дмитрий Андреевич — студент, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация, ORCID ID: 0000-0001-8072-310X, dmitriy.usolcev.97@mail.ru

Ситникова Вера Евгеньевна — кандидат химических наук, тьютор, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация, Scopus ID: 55668895400, ORCID ID: 0000-0003-4753-976X, v.e.sitnikova@gmail.com

Носенко Татьяна Николаевна — тьютор, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация, Scopus ID: 57190940294, ORCID ID: 0000-0003-4159-133X, Tata-nostra@yandex.ru

Олехнович Роман Олегович — кандидат технических наук, доцент, доцент, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация, Scopus ID: 56572767000, ORCID ID: 0000-0002-2717-7661, r.o.olekhnovich@mail.ru

Успенская Майя Валерьевна — доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой, профессор, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация, Scopus ID: 6602189454, ORCID ID: 0000-0003-2510-2639, mv_uspenskaya@mail.ru

Authors

Dmitry A. Usoltsev — student, ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation, ORCID ID: 0000-0001-8072-310X, dmitriy.usolcev.97@mail.ru

Vera E. Sitnikova — PhD, tutor, ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation, Scopus ID: 55668895400, ORCID ID: 0000-0003-4753-976X, v.e.sitnikova@gmail.com

Tatiana N. Nosenko — tutor, ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation, Scopus ID: 57190940294, ORCID ID: 0000-0003-4159-133X, tata-nostra@yandex.ru

Roman O. Olekhnovich — PhD, Associate Professor, Associate Professor, ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation, Scopus ID: 56572767000, ORCID ID: 0000-0002-2717-766, r.o.olekhnovich@mail.ru

Mayya V. Uspenskaya — D.Sc., Full Professor, Head of Chair, ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation, Scopus ID: 6602189454, ORCID ID: 0000-0003-2510-2639, mv_uspenskaya@mail.ru