Study of Type VIII collagen in two species of marine sponges from Latakia coast

Dr.Ahmad Kara Ali*
Dr.Izdihar Ammar**
Khalil Ibrahim***

(Received 24 / 6 / 2024. Accepted 15 / 7 /2024)

□ ABSTRACT □

Collagen Type VIII was analyzed in two species of Demosponges: *Spongia officinalis* and *Hippospongia communis*. Sponge samples were collected by free diving from depths of 5-10 metres, from the site of the Fanar Ibn Hani Marine protect area, next to the Higher Institute for Marine Research, during the years 2020 and 2021.
Noticeable concentrations of this collagen were observed in marine sponges, where the average concentration is 10.625 mg/g in *Spongia officinalis* and 7.902 mg/g in *Hippospongia communis*, and the concentrations seemed close to each other. The technology of visible light spectroscopy was used in the analysis, which showed an easy and good way to study collagen in marine life.

Keywords: sea sponge, collagen, amino acids, bioactive compound

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **Professor, High Institute of Marine Research - Tishreen University - Lattakia – Syria**
****Professor, High Institute of Marine Research - Tishreen University - Lattakia – Syria**
*****Postgraduate Student- High Institute of Marine Research - Tishreen University - Lattakia – Syria**

دراسة الكولاجين Type VIII في نوعين من الاسفنج البحري من شاطئ مدينة اللاذقية

د أحمد قره علي*

د. ازدهار عمار**

خليل ابراهيم***

(تاريخ الإيداع 24 / 6 / 2024. قبل للنشر في 15 / 7 / 2024)

□ ملخّص □

تـــم تحليـــل الكـــولاجين TypeVIII فـــي نـــوعين مـــن الاســـفنجيات الغرويـــة همـــا اســـفنج الحمّـــام *Spongia officinalis* و *Hippospongia communis*. جمعت عينات الاسفنجيات عن طريق الغوص الحر من أعماق 5– 10 متراً، من موقع محمية فنار ابن هاني بجوار مبنى المعهد العالي للبحوث البحرية خلال العامين 2020 و 2021.

أظهـرت النتـائج وجـود تراكيـز ملحوظـة مـن هـذا الكـولاجين فـي النـوعين المدروسـين، وكانـت تراكيـزه الوسـطية 10.625 mg/g في النوع *Spongia officinalis* و7.902 mg/g عند النوع *Hippospongia communis*، وقد بدت التراكيز متقاربة بينهما. استخدم في التحليل تقانة التحليل الطيفي الضوئي المرئي و التي بينت أنها طريقة سهلة و جيدة لدراسة الكولاجين في الأحياء البحرية.

الكلمات المفتاحية: إسفنج بحري، كولاجين ، أحماض امينية، مركبات نشطة حيوياً.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY–NC–SA 04

*أستاذ، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

**أستاذ، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

***طالب ماجستير ، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

مقدمة:

يُعرّف الكولاجين بأنه بروتين ليفي، وزنه الجزيئي مرتفع، وهو موجود في أكثر من نوع (نمط) مختلف في كل من الكائنات الفقارية واللافقاريات (Gelse et al., 2003; Myllyharju et al., 2004). يتم تنتظم سلاسل البولي ببتيد الخاصة به في هيكل فريد من نوعه، تتشابك فيه ثلاث طبقات لتشكل حلزوناً ثلاثياً يمينياً مميزاً. هذه الببتيدات غنية بالأحماض الأمينية أهمها الغليسين والبرولين والهيدروكسي برولين، وكلها ضرورية لتشكيل الحلزون (Silva et al., 2014).

ونظرًا لتوافقه الحيوي العالي وقابليته للتحلل البيولوجي، يدخل الكولاجين في عدد كبير من التطبيقات، يأتي في المقام الأول قطاع مستحضرات التجميل والأدوية ومنتجات الرعاية الطبية **(**Meena **et al., 1999;** Berillis **et al., 2015)**. كما يستخدم الكولاجين كمادة مضافة في صناعة تجهيز الأغذية والمغذيات (Venugopal, 2009). يعدّ هذا البوليمر الحيوي الطبيعي مادة مثالية لتطعيم العظام وتجديد الأنسجة وبناء جلد صناعي **(**Patino **et al., 1998;** Francis **et al., 1975)**.

ينتج الكولاجين المخصص للاستخدام الصناعي بشكل أساسي من الأبقار والخنازير، عن طريق إجراء قائم على التحلل المائي الحمضي (Francis, 1975). وقد أدت حوادث الحساسية بما فيها اضطرابات الأنسجة، مثل التهاب المفاصل والذئبة ، وكذلك اعتلال الدماغ الإسفنجي البقري والاعتلال الدماغي الإسفنجي المعدي **(**Lynn **et al., 2004)** إلى إعادة النظر في الماشية باعتبارها المصدر الرئيس لإنتاج الكولاجين. علاوة على ذلك ، فإن كولاجين الخنازير محظور على بعض المجتمعات بسبب القيود الدينية. مع الأخذ في الاعتبار هذين القيدين ، يتم البحث عن مصدر أكثر أمانًا في الوقت الحاضر.

يكتسب الكولاجين من أصل بحري marine collagen شهرة كبيرة في الوقت الحاضر كبديل لمصادره من الثدييات (Arvanitoyannis et al., 2008, Leary et al., 2009)، وتشكل اللافقاريات البحرية مثل قناديل البحر والاسفنجيات ورأسيات الأرجل والرخويات مصادر مهمة له. وقد ازداد الطلب عليه في الأسواق العالمية لاسيما بعد النتائج التي أثبتتها سلسلة من الدراسات الناجحة حول فعالية الكولاجين البحري وامتصاصه الجيد من قبل الجسم**(**Ehrlich , 2010; Ehrlich **et al., 2018;** Orgel **et al., 2017;** Benayahu **et al., 2018)**، كما أنه صديق للبيئة وأكثر واستدامة من مصادر الكولاجين الأخرى (Market data forecast, 2023)) وهو "أنظف" من الكولاجين المستخرج من الحيوانات البرية، حيث أن خطر الملوثات أقل ولا توجد فرصة لانتقال الأمراض من مصدر سمكي (Ferretti et al., 2007, 2009). وبالتالي هو النوع الأكثر ملائمة للمستهلكين في جميع أنحاء العالم.

ونظرًا لأن الكولاجين هو المكون الرئيسي للمصفوفات خارج الخلية لجميع الكائنات الحيوانية التوالي metazoans، فإن الإسفنج يعدّ أحد المصادر الواعدة (Simon et al., 2008, Boot-Handford et al., 2003).

ويتكون الإسفنج من كتلة من الخلايا تشكل هيكلًا مساميًا مصنوعًا من مكونات عضوية (ألياف الكولاجين و/أوالإسفنجين، خاصة صف الاسفنجيات الغروية) ومكونات غير عضوية (شويكات)، وهي من الحيوانات التوالي متعددة الخلايا Metazoa والأكثر بدائية (Garrone, 1985, Exposito et al., 2002). وقد ثبت أن الإسفنج البحري مصدر لا ينضب للمستقلبات الثانوية التي تظهر خصائص دوائية متنوعة كمضادات للأورام ومضادات للميكروبات ومضادات للفيروسات (Costantino et al., 2008, Lamoral-Theys et al., 2011, Mehbub, 2014, Blunt et al., 2016; Esposito et al., 2022). بالإضافة إلى ذلك، اكتسبت الجزيئات الكبيرة الاهتمام

نظرًا لأن هذه البوليمرات الحيوية تمتلك مجموعة واسعة من الأنشطة الحيوية التي يمكن أن تجد تطبيقات في قطاع الطب الحيوي والخلايا الجذعية.

أهمية البحث وأهدافه:

يعدّ هذا البحث من الأبحاث المهمة لأنه يهدف إلى استثمار الاسفنجيات كمصدر بحري آمن وغني بالكولاجين، واستخلاص الكولاجين منها.

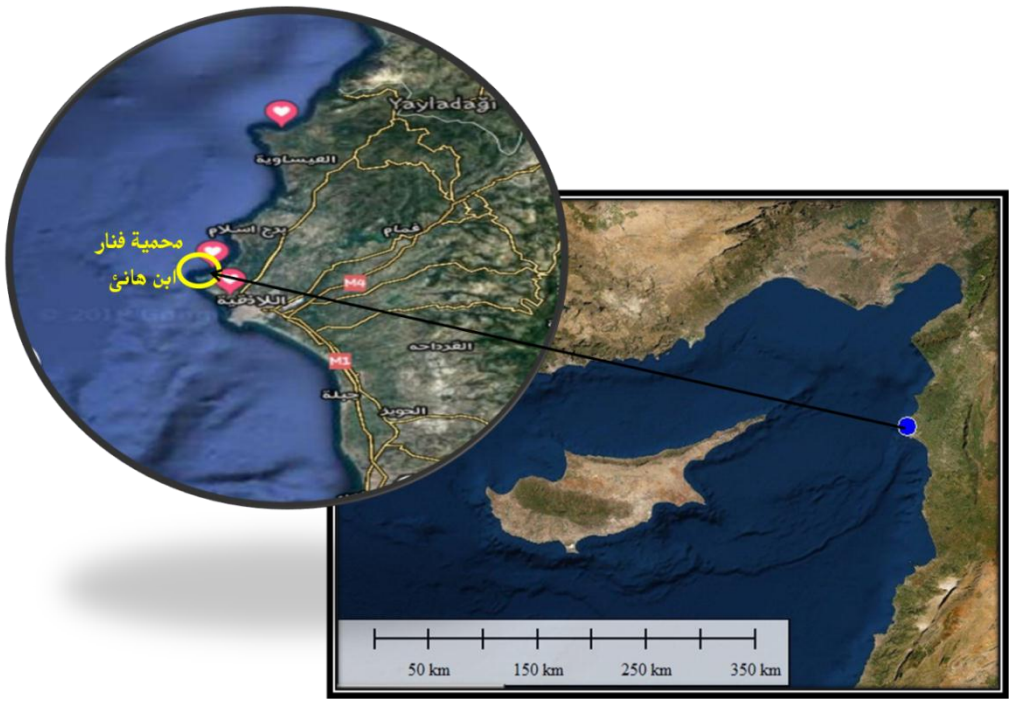
يهدف هذا البحث إلى

استخلاص الكولاجين Type VIII من نوعين من الاسفنجيات البحرية من شاطئ مدينة اللاذقية وتحديد تراكيزه .

طرائق البحث ومواده:

- منطقة الدراسة والاعتيان:

جمعت عينات من الاسفنجيات يدوياً عن طريق الغطس الحر من أعماق 5 -10 أمتار، من موقع محمية فنار ابن هاني بجوار مبنى المعهد العالي للبحوث البحرية، الشكل (1)، وفق الإحداثيات (35.5927N, 35.74191E) (Google Earth, 2023) خلال العامين 2020 و 2021. نقلت العينات إلى المختبر، و حفظت في المجمدة عند درجة حرارة (20-) درجة مئوية لحين إجراء التحاليل الكيميائية اللازمة.



الشكل (1). خارطة الشاطئ السوري وموقع جمع العينات (محمية فنار ابن هاني) في الدراسة الحالية. احداثيات الموقع (35.5927N, 35.74191E) (المصدر (Google Earth, 2023.

- استخلاص الكولاجين والتحاليل الكيميائية:

يوضح الشكل (2) القطع الاسفنجية المستخدمة في استخلاص الكولاجين قبل تقطيعها

a) الاستخلاص:

تمت عملية الاستخلاص وفق,(Swatschek et al., 2002) حيث

- تم تقطيع الاسفنج البحري لقطع صغيرة جداً
- غسلت القطع الاسفنجية بالماء المقطر للتنظيف
- وبعدها وضعت بمزيج من (tris- HCl 100mM) ، ثم ب EDTA 10mM، ثم 8mM من urea ونظمت درجة الـ pH إلى 9 بـ NaOH لمدة 24 ساعة
- ثفلت العينة بالمثفلة لمدة 5 دقائق عند 5000rpm
- فصلت المادة الطافية ونظم الـ pH إلى 4 باستخدام حمض الخل الثلجي 5% وثفلت العينة و أضيف إليها الماء المقطر وأعيد تثفيلها وأخذت المادة الطافية لتصبح جاهزة للتحليل

S. officinalis *H. communis*

الشكل (2). القطع الاسفنجية المستخدمة في استخلاص الكولاجين

b) التحليل:

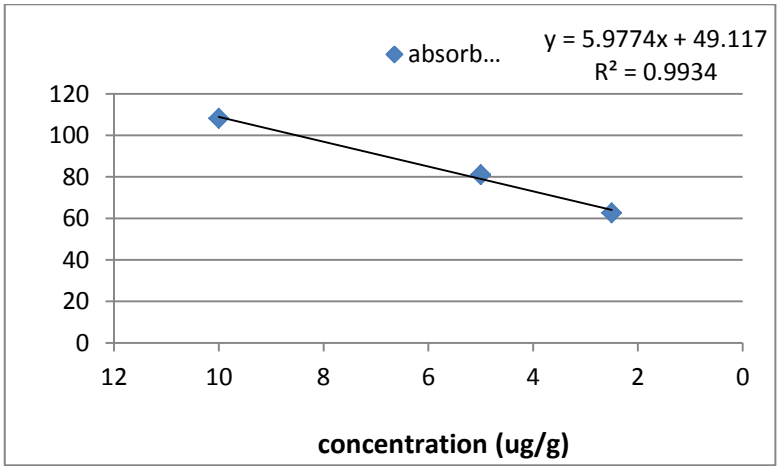
تم تحليل الكولاجين وفق (Deyl et al., 1997) باستخدام تقانة التحليل الطيفي الضوئي نوع Jasco 2000 وعند طول موجة 230 nm

النتائج والمناقشة:

الكولاجين من النوع الثامن، هو عبارة عن كولاجين قصير السلسلة وغير ليفي، يتم إنتاجه بواسطة الخلايا البطانية للأوعية الدموية الدقيقة وبعض الخلايا السرطانية (Shuttleworth. 1997). يوجد الكولاجين من النوع الثامن في القلب والدماغ والكبد والرئة والعضلات وحول الخلايا الغضروفية في الغضاريف، ويشكل هياكل شبكية سداسية مميزة . كما تم العثور على النوع الثامن من الكولاجين حول الأوعية المتكاثرة بشكل نشط في أورام المخ وفي الأوعية الليفية الكبيرة للأورام الوعائية(Shuttleworth. 1997, Hansen & Karsdal, 2016).

لقد سلطت الأبحاث الحديثة الضوء على أهمية هذا الكولاجين في الأوعية الدموية. قد يكون من المهم بشكل خاص تنظيمه لهجرة خلايا العضلات الملساء ودوره المحتمل في الحفاظ على مظهرها.

هناك عدة طرائق لاستخلاص وتحليل الكولاجين وباستخدام تقانات متنوعة، ولكن الطريقة العامة هي الاستخلاص بحمض الخل الثلجي، تعدّ هذه الطريقة جيدة في الحصول على الكولاجين من الأحياء البحرية، كما يلاحظ أن طريقة التحليل بتقانة التحليل الطيفي الضوئي المرئي جيدة حيث نلاحظ علاقة خطية قوية (R^2=0.9934) الشكل (3)، وهي مستقيم معادلته من الشكل Y=aX+b .



الشكل (4). منحني الامتصاصية للكولاجين VIII.

يلاحظ من الجدول (1) التالي أن تراكيز الكولاجين Type VIII في النوعين المدروسين كانت من رتبة mg/g حيث تراوح تركيزه في النوع *Spongia officinalis* بين 9.23 – 11.51 mg/g من الوزن الرطب وبقيمة وسطية 10.623 mg/g.

أما تركيز الكولاجين Type VIII في النوع *Hippospongia communis* فقد تراوح بين 7.224 – 8.34 mg/g من الوزن الرطب وبقيمة وسطية 7.902 mg/g.

ونلاحظ تقارب التراكيز بين النوعين إلا أن النوع *S. officinalis* كان محتواه أعلى

الجدول (1): تركيز الكولاجين type VIII في النوعين المدروسين من الاسفنج البحري

تركيز الكولاجين في النوع *Hippospongia communis* (mg/g)	تركيز الكولاجين في النوع *Spongia officinalis* (mg/g)	نوع الاسفنج
7.224	11.51	
8.137	11.131	
8.345	9.23	
7.902	10.623	القيمة الوسطى

يتبين من خلال ذلك أهمية الإسفنج البحري فيما يحتويه من الكولاجين بأنواع مختلفة لاسيما Type I , Type IV (Jander et al., 1990)، إضافة للكولاجين type VIII ودوره الهام في تجديد ومرونة جدران الأوعية الدموية، حيث يحوي على مجموعة من الأحماض الأمينية

وبالاعتماد على الدراسات المرجعية في تحديد بعض الاحماض الامينية في الكولاجين من مصدر الاسفنج البحري و الذي يبين ان النسب الوسطية لهذه الاحماض في الكولاجين الاسفنج البحري هي % %Lysine 3–3.6% Hermann Ehrlich et al.,2018 Glycine 13.9–14.4 Arginine 4.3–5.9% Cystine 2.8

من خلال ذلك يمكن تحديد الاحماض الامينية في نوعي الاسفنج *ippospongia communis* و *Spongia officinalis*

نجد نسب هذه الاحماض في نوعي الاسفنج المدروسين

وفق الجدول التالي :

نسب الاحماض الامينية في نوعي الاسفنج البحري

نوع الاسفنج	تركيز الكولاجين في النوع *Spongia officinalis* (%)	تركيز الكولاجين في النوع *Hippospongia communis* (%)
Lysine	0.4	0.31
Arginin	0.64	0.5
Cystine	0.3	0.23
Glycine	1.5	1.1

نلاحظ ان Glycine كانت نسبته الاعلى و التي بلغت 1.5% في النوع *Spongia officinalis* و 1.1 % في النوع *Hippospongia communis* في حين كانت اق ل نسب هو الحمض الاميني Cystine الذي تراوحت نسبه بين 0.3% في النوع *Spongia officinalis* و 0.23% في النوع *ippospongia communis* ومت خلال ذلك نجد ان نسب الاحماض الامينية متقاربة في كلا النوعين ولكن كانت في النوع *Spongia officinalis* أعلى

لم تتوفر المعلومات عن نسبة الكولاجين في الأحياء البحرية الأخرى في الساحل السوري علما أنه هناك دراسة محلية عن دراسة الكولاجين في خيار البحر لكن لم تنشر النتائج بعد فقمنا بمقارنة الكولاجين في دراسات في مناطق أخرى حسب الجدول (2).

الجدول (2). بعض القيم المسجلة عن محتوى الكولاجين في أنواع من الأحياء البحرية في العالم

البلد	نوع الكائن البحري	تركيز الكولاجين % وزن جاف	المرجع
اليابان	سمك السللور	28	(Abbas et al., 2022)
USA	سمك البوري	0.42	(Jafari et al., 2020)
اليابان – ايطاليا	الإسفنج البحري	15–30 مجموعة من الأنواع Types I, II, III, IV	(Ehrlich et al., 2018; Coppola et al., 2020)
ايران	قنديل البحر الشريطي	9–19	(Hajiani et al., 2020)
شاطئ مدينة اللاذقية	الإسفنج البحري	0.7–1 وزن رطب للنوع Type VIII	الدراسة الحالية

يظهر من الجدول أعلاه احتواء سمك السلّور على النسبة الأعلى وهي أعلى بكثير من القيم المسجلة في الإسفنج السوري وهذا يتوافق مع ما تؤكده الدراسات أن أحشاء الأسماك هي الأغنى بالكولاجين، في حين بدت القيمة منخفضة وتقارب النتائج المحلية في سمك البوري. كما يبدو محتوى قناديل البحر من الكولاجين مرتفعاً، وقد تراوحت نسبته مابين 9–19%، سجلت النسبة الأعلى في أنواع مختلفة من الاسفنجيات في دول مثل اليابان وايطاليا وتراوحت مابين 15 – 30% ويبدو هذا الرقم أعلى بكثير من القيم المسجلة في الدراسة الحالية.

وفي دراسة لتقييم محتوى نوعين من الاسفنجيات الغروية من الكولاجين وهما *Axinella cannabina* و *Suberites carnosus* (Tziveleka et al., 2017) تبين احتواءهما على أشكال مختلفة منه و بتراكيز تراوحت مابين 1.9% للنوع *S. carnosus* و 42.8% للنوع *A. cannabina*.

يذكر أنه تم في دراسات وأبحاث عالمية سابقة(Garrone., 1985, Swatschek et al., 2002) استخلاص الكولاجين من أنواع مختلفة من الإسفنج مثل:

Spongia graminea, Microciona prolifera, ،Haliclona oculata,, Cacospongia scalaris, Geodia cydonium, Chondrosia reniformis

وأنواع مختلفة من النوع Ircinia (Pallela et al., 2011)، وقد أظهر الكولاجين المستخلص فعالية عالية في تجديد الأنسجة (Ferreira et al., 2012) في بعض الحالات.

الاستنتاجات و التوصيات:

1–وجود الكولاجين و بتراكيز ملحوظة في نوعي الإسفنج البحري في شاطئ مدينة اللاذقية

2–بلغ متوسط تركيز الكولاجين type VIII في الإسفنج البحري نوع *Spongia officinalis* 10. 625 mg/g و 7.902 mg/g في النوع *Hippospongia communis*

3–كانت التراكيز متقاربة بين النوعين *Spongia officinalis* و *Hippospongia communis*

4–ضرورة الاهتمام بالاسفنجيات البحرية لما لها من أهمية بيئية و طبية

5–دراسة أنواع أخرى من الكولاجين لاسيما Type I، Type IV

6–دراسة الأحماض الأمينية في أنواع الكولاجين البحري

References:

Abbas AA, Shakir KA, Walsh MK. Functional Properties of Collagen Extracted from Catfish (Silurus triostegus) Waste. Foods. **2022** Feb 22;11(5):633. doi: 10.3390/foods11050633. PMID: 35267266; PMCID: PMC8909090.

Arvanitoyannis I.S., Kassaveti A. Fish industry waste: Treatments, environmental impacts, current and potential uses. Int. J. Food Sci. Technol. **2008**, 43:726–745. doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.01513.x.

Benayahu, D.; Sharabi, M.; Pomeraniec, L.; Awad, L.; Haj-Ali, R.; Benayahu, Y. Unique Collagen Fibers for Biomedical Applications. Mar. Drugs **2018**, 16, 102.

Berillis, P. Marine collagen: Extraction and applications. In Research Trends in Biochemistry, Molecular Biologyand Microbiology; Madhukar, S., Ed.; SM Group: Dover, DE, USA, 2015; pp. 1–13.

Blunt, J.W.; Copp, B.R.; Keyzers, R.A.; Munro, M.H.G.; Prinsep, M.R. Marine natural products. Nat. Prod. Rep. **2016**, 33, 382–431.

Boot-Handford, R.P.; Tuckwell, D.S. Fibrillar collagen: The key to vertebrate evolution? A tale of molecular incest. BioEssays **2003**, 25, 142–151.
Coppola, D.; Oliviero, M.; Vitale, G.A.; Lauritano, C.; D'Ambra, I.; Iannace, S.; de Pascale, D. Marine Collagen from Alternative and Sustainable Sources: Extraction, Processing and Applications. Mar. Drugs **2020**, 18, 214. https://doi.org/10.3390/md18040214
Costantino V., Fattorusso E., Imperatore C., Mangoni A., Freigang S., Teyton L.(2008). Glycolipids from sponges. 18. Corrugoside, a new immunostimulatory alpha-galactoglycosphingolipid from the marine sponge Axinella corrugata. Bioorg. Med. Chem. 2008, 16:2077–2085. doi: 10.1016/j.bmc.**2007**.10.098.
Deyl, Z., Miksik, I., Zicha, J., Jelinkova, D. Anal. Chim. Acta 352 (1997) 257.
Ehrlich, H. Chitin and collagen as universal and alternative templates in biomineralization. Int. Geol. Rev. **2010**, 52, 661–699.
Ehrlich, H.; Wysokowski, M.; ˙Zółtowska-Aksamitowska, S.; Petrenko, I.; Jesionowski, T. Collagens of Poriferan Origin. Mar. Drugs **2018**, 16, 79.
Esposito, R., Federico, S., Bertolino, M., Zupo, V. and Costantini, M. Marine Demospongiae: A Challenging Treasure of Bioactive Compounds. Mar. Drugs, **2022**, 20, 244. https://doi.org/10.3390/ md200402
Exposito, J.-Y.; Cluzel, C.; Garrone, R.; Lethias, C. Evolution of collagens. Anat. Rec. **2002**, 268, 302–316. 25. Mehbub, M.F.; Lei, J.; Franco, C.; Zhang, W. Marine sponge derived natural products between 2001 and 2010: Trends and opportunities for discovery of bioactives. Mar. Drugs **2014**, 12, 4539–4577.
Ferreira A.M., Gentile P., Chiono V., Ciardelli G. Collagen for bone tissue regeneration. Acta. Biomater. **2012**, 8:3191–3200. doi: 10.1016/j.actbio.2012.06.014.
Ferretti, C., Marengo, B., De Ciucis, C., Nitti, M., Pronzato, M.A., Marinari, U.M., Pronzato, R., Manconi, R., Domenicotti, C. (2007). Effects of Agelas oroides and Petrosia ficiformis crude extracts on human neuroblastoma cell survival. Int. J. Oncol. **2007**, 30, 161–169.
Ferretti, C., Vacca, S., De Ciucis, C., Marengo, B., Duckworth, A.R., Manconi, R., Pronzato, R., Domenicotti, C. (2009). Growth dynamics and bioactivity variation of the Mediterranean demosponges Agelas oroides (Agelasida, Agelasidae) and Petrosia ficiformis(Haplosclerida, Petrosiidae). Mar. Ecol. **2009**, 30, 327–336.
Francis, G.; Thomas, J. Isolation and chemical characterization of collagen in bovine pulmonary tissues. Biochem. J. **1975**, 145, 287–297.
Hermann Ehrlich ,Marcin Wysokowski , Sonia Z˙ ółtowska-Aksamitowska , Iaroslav Petrenko and Teofil Jesionowski "Review Collagens of Poriferan Origin" Received: 30 December 2017; Accepted: 28 February 2018; Published: 3 March 2018
Garrone, R. The Collagen of the Porifera. In Biology of Invertebrate and Lower Vertebrate Collagens; Bairati, A.,Garrone, R., Eds.; NATO ASI Series; Plenum Press: New York, NY, USA, **1985**; pp. 157–175.
Gelse, K.; Pöschl, E.; Aigner, T. Collagens-structure, function, and biosynthesis. Adv. Drug Deliv. Rev. **2003**, 55, 1531–1546.
Hajiani E, Osfouri S. Extraction and Purification of Collagen from the Jellyfish Catostylus mosaicus of the Persian Gulf. Iran South Med J **2021**; 24 (2) :88-100 URL: http://ismj.bpums.ac.ir/article-1-1437-en.html

Jafari H, Lista A, Siekapen MM, Ghaffari-Bohlouli P, Nie L, Alimoradi H, Shavandi A. Fish Collagen: Extraction, Characterization, and Applications for Biomaterials Engineering. Polymers (Basel). **2020** Sep 28;12(10):2230. doi: 10.3390/polym12102230. PMID: 32998331; PMCID: PMC7601392.

Jander, R., Korsching E., Rauterberg J. Characteristics and in vivo occurrence of type VIII collagen Eur. J. Biochem. 1990, 189, 601 -607.

Lamoral-Theys D., Fattorusso E., Mangoni A., Perinu C., Kiss R., Costantino V. (2011). An in vitro valuation of the anticancer activity of diterpene isonitriles from the sponge Pseudoaxinella flava in apoptosis-sensitive and apoptosis-resistant cancer cell lines. J. Nat. Prod. **2011**, 74:2299–2303. doi: 10.1021/np2005055.

Leary D., Vierros M., Hamon G., Arico S., Monagle C. Marine genetic resources: A review of scientific and commercial interest. Mar. Policy. **2009**, 33:183–194. doi: 10.1016/j.marpol.2008.05.010.

Lynn, A.K.; Yannas, I.V.; Bonfield, W. Antigenicity and immunogenicity of collagen. J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. **2004**, 71, 343–354

Market data forecast. Marine Collagen Market by Type (Type I, Type II, Type III), Source (Bones & Tendons, Muscles, Scales, and Skin), Application (Medical, Nutraceuticals, Cosmetics), and Region – Global Industry Size, Share, Growth, Trends and Demand Analysis Report 2023 to 2028. **2023**, Report. https://www.marketdataforecast.com/market-reports/marine-collagen-market

Meena, C.; Mengi, S.A.; Deshpande, S.G. Biomedical and industrial applications of collagen. J. Chem. Sci. **1999**, 111, 319–329.

Myllyharju, J.; Kivirikko, K.I. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. Trends Genet. **2004**, 20, 33–43.

Orgel, J.P.; Sella, I.; Madhurapantula, R.S.; Antipova, O.; Mandelberg, Y.; Kashman, Y.; Benayahu, D.; Benayahu, Y. Molecular and ultrastructural studies of a fibrillar collagen from octocoral (Cnidaria). J. Exp. Biol. **2017**, 220, 3327–3335.

Pallela R., Bojja S., Janapala V.R. Biochemical and biophysical characterization of collagens of marine sponge, Ircinia fusca (Porifera: Demospongiae: Irciniidae) Int. J. Biol. Macromol. **2011**, 49:85–92. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2011.03.019.

Patino, M.G.; Neiders, M.E.; Andreana, S.; Noble, B.; Cohen, R.E. Collagen: An overview. Implant Dent. **2002**, 11, 280–2858. Friess, W. Collagen-biomaterial for drug delivery. Eur. J. Pharm. Biopharm. **1998**, 45, 113–136.

Silva, T.H.; Moreira-Silva, J.; Marques, A.L.P.; Domingues, A.; Bayon, Y.; Reis, R.L. Marine origin collagens and its potential applications. Mar. Drugs **2014**, 12, 5881–5901.

Simon, P.; Lichte, H.; Formanek, P.; Lehmann, M.; Huhle, R.; Carrillo-Cabrera,W.; Harscher, A.; Ehrlich, H. Electron holography of biological samples. Micron **2008**, 39, 229–256.

Swatschek, D.; Schatton,W.; Kellermann, J.; Müller,W.E.G.; Kreuter, J. Marine sponge collagen: Isolation, characterization andeffects on the skin parameters surface-pH, moisture and sebum. Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arb. fur Pharm. Verfahr. e.V **2002**, 53, 107–113.

Tziveleka, L.-A.; Ioannou, E.; Tsiourvas, D.; Berillis, P.; Foufa, E.; Roussis, V. Collagen from the Marine Sponges Axinella cannabina and Suberites carnosus: Isolation and Morphological, Biochemical, and Biophysical Characterization. Mar. Drugs **2017**, 15, 152.

Venugopal, V. Marine Products for Healthcare: Functional and Bioactive Nutraceutical Compounds from the Ocean;CRC Press: Boca Raton, FI, USA, 2009.