

**ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ШЕРСТИ РАЗДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ
МАКРОФИБРИЛЛ**

Абдуллазизова Интизорхон Турсун кизи
Ферганский государственный университет, Узбекистан
e-mail: intizor.isroilova.97@mail.ru

АННОТАЦИЯ:

Макрофибриллы шерстяных волокон получают ультразвуком кортикальных клеток в муравьиной кислоте и отделяют от других частиц за счет различий в скоростях осаждения в колонке с этанолом. С помощью световой микроскопии и сканирующей электронной микроскопии обнаружено, что макрофибриллы имеют длину около 10 мкм и диаметр 0,3 мкм, и состоят из более тонких волокнистых нитей. Аминокислотный анализ макрофибрилл по существу такой же, как и анализ клеток коры головного мозга, которые были подвергнуты аналогичной обработке ультразвуком.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Шерсть мериноса; нити; макрофибриллы; кортикальные клетки; ортокортикальные клетки; паракортикальные клетки. Муравьиная кислота. Ультразвуковое исследование. Анализ аминокислот. Световая микроскопия; сканирующая электронная микроскопия.

ВВЕДЕНИ

Кератиновые волокна очень сложны по своей природе, поскольку они состоят из большого количества гистологических компонентов, каждый из которых состоит из различных белков, которые часто сильно сшиты дисульфидными связями. Комплекс клеточных мембран также содержит липиды. Для выяснения химического состава этой сложной структуры, необходимо разделить различные гистологические компоненты как можно более мягкими методами, перед анализом аминокислот, солубилизацией и разделением растворимых белков и т.д. Чистое разделение и анализ аминокислот были получены первоначально для кутикулы и кортикальных клеток [2, 4], но впоследствии для различных компонентов кутикулы, а именно, эпикутикула [15], экзокутикулы и эндокутикулы [8], для комплекса клеточных мембран [7], для ортокортеса и паракортеса шерсти [9, 11, 16], а также для центрального ядра или продолговатого мозга [6, 10] грубых кератиновых волокон.

Более низкие уровни организации внутри кортикальных клеток (длина которых составляет около 100 мкм, диаметр - 5 мкм) представляют собой макроволокна, микрофибриллы и протофибриллы. Наличие макрофибрилл в шерсти было показано в ранних работах по кортикальным клеткам [1, 12, 13, 14, 21] и одиночная макрофибрилла, выделенная Эледом и Заном [12]. Его размеры составляли около 15 мкм в длину и 0,3 мкм в диаметре; последний размер был подтвержден электронными микрофотографиями поперечных сечений волокон [17]. Однако количество макрофибрилл было чрезвычайно

маленьким. В этой статье я описываю новый метод разделения макрофибрилл с заметным выходом и впервые сообщаю об их аминокислотном анализе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Натуральная шерсть мериноса очистили, как описано ранее [3], и нарезали на кусочки длиной около 0,5 см. Образец шерсти весом 1 г подвергли ультразвуку в течение 5 мин в 50 мл перегнанного сельскохозяйственного остатка муравьиной кислоты для удаления чешуек кожи [5], поместили еще в 50 мл муравьиной кислоты и диспергировали в политронной мешалке при 10000 об/мин в течение 10 мин [18]. За этим последовали обработка ультразвуком в течение 45 мин и отделение дисперсного материала от остатков шерсти и муравьиной кислоты [2]. Дисперсию в этаноле размешивали на колонке с этанолом размером 50×8 см, содержащей 1,6% четыреххлористого углерода, и через 6 часов материал оседал на дно, собирали центрифугированием и обрабатывали еще дважды. Таким образом, стало возможным получить кортикальные клетки, свободные от тонко разделенной кутикулы и разрушенных кортикальных клеток.

Чистый образец кортикальных клеток (0,1 г) диспергировали в муравьиной кислоте и подвергала ультразвуковому воздействию в течение 5 часов. Дисперсию центрифугировали в течение 1 часа при 4600 г, осажденный материал диспергировали в этаноле и наслаивала на колонку размером 30×3,5 см с этанолом, содержащим 1,6% четыреххлористого углерода. (Супернатант из центрифуги была исследована в просвечивающем электронном микроскопе и состояла из очень мелко измельченных кусочков без видимой закономерности размера или формы.) После отстаивания в течение 16 часов из супернатанта было удалено небольшое количество очень мелкодисперсного материала. Осажденный материал подвергли повторной обработке продолжительностью 4 часа, в результате которой получался супернатант, состоящий из мелких частиц довольно равномерного размера (наблюдаемых при фазово-контрастной световой микроскопии), которые являются макрофибриллами. При ультразвуковом исследовании кортикальных клеток было получено большое количество частиц промежуточных размеров между кортикальными клетками и макрофибриллами (см. рис. 1), которые представляют собой промежуточные стадии процесса разрушения, т.е. разрушенные кортикальные клетки [2] или группы макрофибрилл, все еще сросшихся вместе. Выход макрофибрилл из кортикальных клеток составило 1%, основные потери (75%) произошли в результате удаления материала на различных стадиях очистки, 12% кортикальных клеток не были разрушены, а 12% материала было растворено в муравьиной кислоте.

Макрофибриллы наносили на загрузку электронного микроскопа из суспензии в спирте и покрывала тонким слоем золото-палладиевым сплавом (70:30) перед исследованием в сканирующем электронном микроскопе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Как показано на рисунках 2, 3 и 4, существует значительная неоднородность в размере частиц (хотя и не большая, чем наблюдается в образце клеток коры головного мозга) со

средней длиной около 10 мкм и шириной около 0,3 мкм. Это в разумных пределах согласуется с другими оценками размера макрофибрилл [12, 17].

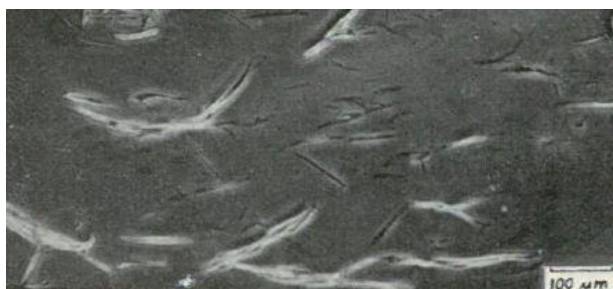


Рис. 1 Световая микрофотография образца дисперсного материала после 3-часового ультразвукового исследования клеток коры головного мозга в муравьиной кислоте.

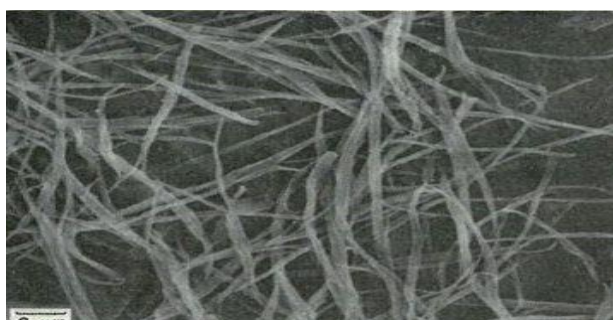


Рис.2 Сканирующая электронная микрофотография макрофибрилл, в которых видны признаки скручивания

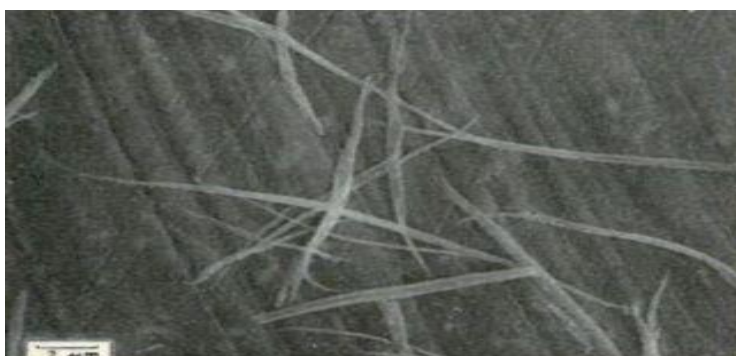


Рис.3 Сканирующая электронная микрофотография макрофибрилл. Имеются свидетельства отщепления тонкого волокнистого материала, особенно с концов макрофибрилл.

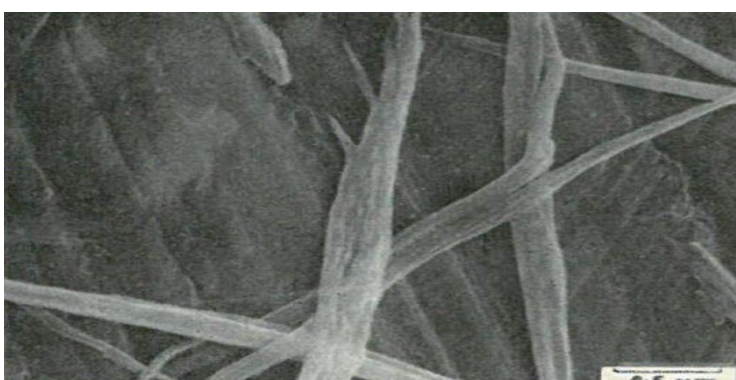


Рис 4. Увеличенная часть фрагмента рис.3, показывающая волокнистую природу макрофибрилл и отщепление более мелких палочковидных частиц

Частицы имеют форму, сходную с кортикальными клетками, с пальцевидными отростками на концах, которые позволяют взаимодействовать с соседними клетками.

Чтобы проверить относительную скорость распада ортокортикальных и паракортикальных клеток во время ультразвукового исследования, были получены окрашенные золотом ортокортикальные и паракортикальные клетки [11]. Их отдельно

подвергала ультразвуковому исследованию в муравьиной кислоте, и процент интактных клеток коры головного мозга, оставшихся в дисперсии, измеряла микроскопически путем подсчета клеток.

Было обнаружено, что все ортокортикальные клетки были разрушены после 30-минутной обработки, тогда как 55% паракортикальных клеток остались по истечении этого времени и 25% - через 3 часа. Очевидно, что окрашенные золотом ортокортикальные клетки разрушаются гораздо быстрее, чем окрашенные золотом паракортикальные клетки. Следовательно, в случае необработанных кортикальных клеток 11% по массе, которые остались после 5-часового ультразвукового исследования, вероятно, произошли от более устойчивых паракортикальных клеток. Обработка золотом делает клетки более восприимчивыми к растворению при ультразвуковом исследовании в муравьиной кислоте, поскольку 90 мас.% окрашенных золотом ортокортикальных клеток растворялись через 1 час, 57% окрашенных золотом паракортикальных клеток растворялись через 3 часа, но только 12% неокрашенных кортикальных клеток растворялись в муравьиной кислоте 5 часов (см. выше). Вероятно, это результат окислительного расщепления части дисульфидных поперечных связей, которое происходит при обработке хлоридом золота [11].

Аминокислотный анализ проводили в двух экземплярах, на макрофибриллах и остаточных клетках коры головного мозга, полученных после 5-часовой обработки ультразвуком. Из результатов, приведенных в таблице 1, следует, что макрофибриллы и остаточные кортикальные клетки содержат значительное количество цистеиновой кислоты, но меньше цистеиновой кислоты + цистин/2, гистидина, тирозина и, возможно, меньше серина, чем кортикальные клетки, проанализированные ранее. Во многом это связано с химическим воздействием на нерастворимый кератин, которое происходит в результате ультразвука в муравьиной кислоте (22), но некоторые различия могут быть связаны с использованием разных образцов шерсти мериноса для производства кортикальных клеток.

Более важное сравнение касается анализа аминокислот макрофибрилл и клеток коры головного мозга. В связи с этим содержание цистеиновой кислоты в макрофибриллах высокое, а содержание метионина и тирозина низкое, что свидетельствует о более выраженном химическом воздействии при длительном воздействии ультразвуком на более мелкие макрофибриллы, чем на более крупные кортикальные клетки. Помимо довольно высокого содержания пролина в макрофибриллах, его аминокислотный анализ по существу такой же, как у клеток коры головного мозга, которые подвергались такой же обработке ультразвуком. Этого следовало ожидать, поскольку макрофибриллы были получены непосредственно путем ультразвукового разрушения клеток коры головного мозга. Предположительно, расщепление произошло на границах между макрофибриллами, и при растворении было потеряно лишь умеренно небольшое количество (12%) белка.

Таблица 1. Аминокислотный анализ макрофибрилл (молярный %)

Аминокислота	Макрофиб риллы	Остаточные кортикальные клетки	Кортикальные клетки
Аланин	6.25	5.67	5.88
Аргинин	6.86	7.19	6.85
Аспарагиновая кислота	7.11	7.39	6.79
Цистеиновая кислота	1.69	0.73	0.14
Цистин/2	6.62	6.89	9.27
Цистеиновая кислота+цистин/2	8.31	7.62	9.41
Глутаминовая кислота			
Глицин	12.29	12.37	11.68
Гистидин	9.05	9.02	9.58
Изолейцин	0.16	0.16	0.76
Лейцин	3.56	4.06	3.28
Лизин	8.20	9.49	7.85
Метионин	2.85	3.09	2.86
Фенилаланин	0.24	0.51	0.44
Пролин	2.80	3.27	3.11
Серин	7.31	5.68	5.95
Треонин	9.33	9.46	10.35
Тирозин	5.74	5.78	5.59
Валин	2.75	3.29	4.20
% Восстановление ангидроаминокислоты	6.68	6.02	5.70
	83	85	96

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА:

1. Обер Л., Анатомия фолликулов, продуцирующих шерстяные волокна, с особым акцентом на кератинизацию, пер. Рой. Soc. Ред. 62, 191-252 (1950).
2. Брэдбери Дж. Х. и Чепмен Г. В. Химический состав шерсти. I. Разделение и микроскопическая характеристика компонентов, полученных методом ультразвуковой дезинтеграции, Austr. J. Biol. Sci. 17, 960-972 (1964).
3. Брэдбери Дж. Х., Чепмен Г. В., Хэмбли А. Н. и Кинг Н. Л. Р., Разделение химически немодифицированных гистологических компонентов кератиновых волокон и анализ кутикулы, Nature 210, 1333-1334, (1966).
4. Брэдбери Дж. Х., Чепмен Г. В. и Кинг Н. Л. Р., Химический состав шерсти. II. Анализ основных гистологических компонентов, полученных методом ультразвуковой дезинтеграции, Austr. J. Biol. Sci. 18, 353-364, (1965).

5. Брэдбери Дж. Х., Чепмен Г. В. и Кинг Н. Л. Р., Химический состав шерсти. III: Анализ кутикулы, чешуек кожи и материала клеточных мембран, стажер. Шерстяной текстиль Res. Конф. Париж, раздел I, стр. 359-366, 1965.
6. Брэдбери Дж. Х., Чепмен Г. В., Кинг Н. Л. Р. и О'Ши Дж. М., Кератиновые волокна. III: Аминокислотный анализ гистологических компонентов, *Austr. J. Biol. Sci.* 23, 637-643 (1970).
7. Брэдбери Дж. Х., Лидер Дж. Д. и Уотт И. К., Химический состав шерсти. VIII: Комплекс клеточных мембран шерсти, *pp1. Симпозиумы по полимерам*, № 18, 227-236 (1971).
8. Брэдбери Дж. Х. и Лей К. Ф. Химический состав шерсти. XI. Разделение и анализ экзокутикулы и эндокутикулы, *Австр. J. Biol. Sci.* Представлено для публикации.
9. Брэдбери Дж. Х., Лей К. Ф. и Питерс Д. Э., Отделение ортокортикальных и паракортикальных клеток от шерсти, *Texhile Res. J.* 41, 87-88 (1971).
10. Брэдбери, Дж. Х. и О'Ши, Дж. М., Кератиновые волокна I. Разделение и анализ медуллярных клеток, *Austr. J. Biol. Sci.* 22, 1205-1215, (1969).
11. Чепмен Г. В. и Брэдбери Дж. Х., Химический состав шерсти. VII. Разделение и анализ ортокортеса и паракортеса, *арх. Биохимия. Биофизика.* 127, 157-163, (1968).
12. Элод, Э. и Зан, Х., Получение и свойства кортикальных клеток шерсти, *Меллианд Текстильбер.* 24, 245-249, (1941).
13. Хок, К. У., Рамзи, Р. К. и Харрис, М., Микроскопический Структура шерстяного волокна, *J. Res. Nat. Колючка. Стенд.* 27, 181-190, (1941).
14. Хок, К. У. и Макмерди, Х. Ф., Структура шерстяного волокна, выявленная с помощью электронного микроскопа, *Амер. Краситель Рептр.* 32, 443-436, 451-454, (1943).
15. Кинг, Н. Л. Р. и Брэдбери, Дж. Х., Химический состав шерсти. Против Эпикутикла, *Австр. J. Biol. Sci.* 21, 375-384, (1968).
16. Кулкарни В. Г., Робсон Р. М. и Робсон А., Исследования ортокортеса и паракортеса шерсти мериноса, приложение. Симпозиумы по полимерам, № 18, 127-146, (1971).
17. Лич С. Дж., Роджерс Г. Э. и Филши Б. К. Селективная экстракция кератина шерсти разбавленной кислотой. I. Химические и морфологические изменения, *Арх. Биохимия. Биофизика.* 105, 270-287 (1964).
18. Лей К. Ф. Химические исследования некоторых гистологических компонентов шерсти. Дипломная работа, Австралийский национальный университет, 1971
19. Лундгрэн, Х. П. и Уорд, У. Х., в "Ультраструктуре белковых волокон", под ред. Бораски, Р., Нью-Йорк, Academic Press, стр. 39-122, 1963.
20. Мерсер, Э. Х., Сверхсжатие кератина, *Textile Res. J.* 22, 476-479 (1952).
21. Мерсер Э. Х. и Рис А. Л. Г., Исследование кутикулы шерсти под электронным микроскопом, *Aust. J. Exp. Биол. Медицинские науки.* 24, 147-158 (1946).
22. О'Ши, Дж. М. и Брэдбери, Дж. Х., Влияние ультразвукового облучения на белки, интерн. Дж. Прот. отв. ред. Представлено для публикации.
22. Н.М. Ахмадиев Семейное чтение – ведущий фактор содействия нравственному воспитанию молодежи. Научные исследования в Кыргызской Республике. 2019 год.

23. Ahmadiev Nuriddin M. Family reading -a leading factor in the promotion of youth moral education. 2019.
24. Н Ахмадиев Факторы повышения уровня духовной и социальной активности молодежи. Научно-технический журнал Наманганского инженерно. 2019 год.
25. Н.М. Ахмадиев Исламское духовное процветание молодежи в религиозном образовании. Научный вестник Наманганского государственного университета. 2019 год.
26. Н Ахмадиев Роль идеологического воспитания молодежи в предупреждении духовных угроз. Academicia: Международный междисциплинарный исследовательский журнал 11 (1), 843–851. 2021 год.
27. Н.М. Ахмадиев ДУХОВНО-НРАВСТВЕННОЕ ВОСПИТАНИЕ МОЛОДЕЖИ – ФАКТОР БОЛЬШИХ ПЕРСПЕКТИВ. ПЕДАГОГИКА. ПРОБЛЕМЫ, ПЕРСПЕКТИВЫ, ИННОВАЦИИ, 3-6. 2020г.
28. Н Ахмадиев РОЛЬ СЕМЕЙНОЙ СРЕДЫ И ПОЖИЛОГО ПОКОЛЕНИЯ В ПОВЫШЕНИИ НРАВСТВЕННОЙ КУЛЬТУРЫ МОЛОДЕЖИ. Интернаука, 9-10. 2020г.
29. А.Н. Мухутдинович Интеллектуальная культура в повышении инновационной активности молодежи – важный критерий. Американский журнал социальных и гуманитарных исследований 3 (7), 134–136. 2022г.
30. А.Н. Мухутдинович В вопросах духовно-нравственного воспитания детей в семье отчуждение молодежи от старшего поколения. Центральноазиатский журнал литературы, философии и культуры 3 (7), 24-26. 2022г.
31. Н.М. Ахмадиев ФАКТОРЫ ЗДОРОВЬЯ ДУХОВНО-НРАВСТВЕННОГО МИРА ПОДРОСТКОВ. Восточный журнал социальных наук 2 (06), 51-59. 2022г.
32. Ахмадиев Нуриддин Мухитдинович. ФАКТОРЫ ПОВЫШЕНИЯ УРОВНЯ ДУХОВНОЙ И СОЦИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОЛОДЕЖИ. НамДУ илмий ахборотномаси - Научный вестник НамГУ 2019 йил 1-сон.