

А. Л. ЗАЙДЕС и С. Л. ПУПКО

## ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛЛАГЕНА

(Представлено академиком А. И. Опариным 15 I 1949)

Исследование волокнистого белка основного вещества дермы кожи — коллагена с помощью электронного микроскопа представляет большой интерес с точки зрения изучения не только самого коллагена, являющегося важнейшим материалом в кожевенной промышленности, но и вообще волокнистых белков, широко используемых во многих отраслях техники.

До настоящего времени основным методом исследования тонкой структуры коллагена служил рентгеновский анализ, не позволяющий, однако, непосредственно наблюдать форму и взаимное расположение элементов структуры толщиной порядка  $100\text{--}50 \text{ \AA}$  для отдельных субфибрилл (рис. 1, см вклейку).

Для электронно-микроскопического изучения коллагена нами были применены как прямой метод исследования, так и метод реплик. Используемый нами впервые для коллагена метод реплик позволил дополнить выдвигавшиеся ранее представления о строении этого вещества <sup>(1)</sup>.

Наиболее совершенным способом диспергирования коллагена для непосредственного наблюдения в электронном микроскопе оказалось воздействие на микротомные срезы, толщиной в несколько микрон, звуковых колебаний с частотой около 8000 герц в течение 3—5 мин. Полученные таким образом препараты наносились на поддерживающие коллоидные или оксидные алюминиевые пленки и для более контрастного выявления структуры оттенялись хромом <sup>(2)</sup>.

Были исследованы волокна необработанные, «окрашенные» различными солями тяжелых металлов, а также обработанные дубильным экстрактом из древесины дуба.

Приведенные на рис. 2, а, б, в и г электронные микрофотографии показывают во всех случаях периодически повторяющуюся поперечную полосатость, которая располагается спирально или перпендикулярно к оси волокна. На некоторых микрофотографиях спиральное расположение выражено особенно резко.

В зависимости от способа обработки расстояние между чередующимися полосами меняется, и видны еще более мелкие полосы внутри каждого периода. Так например, в случае дубления органическим растительным дубителем (дубовый экстракт) при общем периоде  $\sim 700 \text{ \AA}$  подпериоды составляют  $\sim 170 \text{ \AA}$  (рис. 2, г).

Как видно из рис. 3 б, полистирол-кварцевая реплика <sup>(2)</sup> с необработанного коллагена полностью подтверждает строение, выявленное прямыми методами.

Такую же электронно-микроскопическую картину дают метил-метакрилат-кварцевые реплики, где, в отличие от указанного типа реплик, исключено нагревание объекта в первой ступени препарирования реплики (расплавление полистирола на объекте при 160°).

Электронно-микроскопические исследования в области коллагена, проведенные американскими авторами (3), приводят к следующим представлениям о строении этого вещества. Поперечно-полосатый вид субфибрилл коллагена вызван чередованием полос различной плотности, причем каждая полоса обладает однородной плотностью во всех участках и проходит через всю ширину субфибриллы. Вследствие этого последней приписывают форму ленты. Такой вывод идет вразрез с полученными нами экспериментальными данными.

Действительно, если бы субфибрилла имела форму ленты, то на реплике с коллагена было бы отображено расположение отдельных субфибрилл без внутренней структуры. Приведенная же нами электронная микрофотография реплики ясно показывает не только полосатость отдельных субфибрилл, но и периодичность пучка субфибрилл в двух взаимно перпендикулярных поперечных направлениях.

Эти данные приводят к иным представлениям, а именно о существовании рельефа в расположении молекулярных цепей белковой молекулы коллагена.

На иллюстрируемой нами электронной микрофотографии (рис. 3а) необработанных волокон коллагена, натененных хромом, видна объемная структура волокна. Тени, отбрасываемые волокнами, обладают полосатостью, соответствующей полосатости самого объекта. Это является дополнительным подтверждением наличия рельефа.

Наблюдавшийся нами неоднократно момент разрыва фибрилл, вызванный влиянием электронной бомбардировки или же разрывом поддерживающей коллодиевой пленки, подтверждает высказанные нами выше соображения о строении коллагена. Разрыв происходил всегда на более светлых, а следовательно, и более тонких полосах. Более темные, а значит и более плотные полосы в результате этого явления принимали форму вытянутой капли. У разорванной фибриллы коллагена разница в ширине между светлыми и темными участками (полосами) еще более резко выражена, что явно подтверждает объемность структуры.

Интересно отметить, что и у разорванного волокна, обработанного фосфорно-вольфрамовой кислотой, наблюдается еще дополнительная полосатость, повидимому, за счет равномерной адсорбции металла (рис. 4).

Авторы приносят благодарность Ю. М. Кушнису, А. И. Фримеру и А. Н. Михайлову за проявленный интерес к работе.

Центральный научно-исследовательский  
институт кожевенно-обувной промышленности

Поступило  
30 XII 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> F. Schmitt, C. Hall and M. Jakus, *Biol. Symposia*, **10**, 261 (1943); C. Wolpers, *Virchows Archiv*, **312**, 292 (1944); G. Nutting and R. Borasky, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **43**, 96 (1948). <sup>2</sup> А. И. Фример и С. Л. Пупко, *Зав. лабор.*, **11**, 1375 (1947). <sup>3</sup> F. Schmitt, C. Hall and M. Jakus, *J. Cell. and Compar. Physiol.*, **20**, 11 (1942).