

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА КЕРАТИНІВ ЛЮДСЬКОГО ВОЛОСА ТА ВОВНЯНОГО ВОЛОКНА

В. В. Гавриляк¹, Г. М. Седіло²

¹Інститут біології тварин НААН України

²Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН

У статті наведено результати досліджень щодо структурних особливостей та амінокислотного складу кератину людського волоса та вовняного волокна. Встановлено, що людський волос порівняно із вовняним волокном характеризується більшим вмістом кератин-асоційованих протеїнів і відповідно меншою кількістю білків інтермедіальних філаментів. Концентрація сірки у всіх фракція кератоз є також вищою у волоссі людини.

Показано, що кератини людського волоса містять більше цистину, аргініну, гістидину, серину і треоніну, тоді як у вовняному волокні більше таких амінокислот як лейцин, валін, фенілаланін, гліцин і тирозин. Такі відмінності в амінокислотному складі кератинів залежать від співвідношенні між вмістом інтермедіальних філаментів та асоційованих із ними протеїнів із низьким вмістом сірки.

Ключові слова: ВОЛОС ЛЮДИНИ, ВОВНЯНЕ ВОЛОКНО, ПРОТЕЇНИ, СТРУКТУРА, АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД

Загальновідомо, що такі епідермальні придатки шкіри, як волосся, вовна чи нігті належать до класу високо спеціалізованих фібрилярних білків — кератинів. Кератини не є хімічно гомогенними і складаються із відмінних між собою поліпептидів. Їх можна виділити лише після попереднього окиснення чи відновлення дисульфідних груп [1]. Хроматографічно чи електрофоретично ці протеїни розділяються на дві великі групи — білки з високою молекулярною масою і низьким вмістом сірки або інтермедіальні філаменти та низькомолекулярні білки з високим вмістом сірки або кератин-асоційовані протеїни. У результаті чисельних досліджень було показано, що білки з низьким вмістом сірки мають фібрилярну будову, тоді як білки з високим вмістом сірки формують внутрішньоклітинний цемент або матрикс [2—4].

З овечої вовни та волосся мишей виділено ще одну групу білків, які відзначаються високим вмістом тирозину і гліцину. Це порівняно невеликі пептиди, молекулярна маса яких не перевищує 10 кДа. У волоссі людини ця фракція відсутня [2, 5]. Вважається, що ця група білків разом із кератин-асоційованими протеїнами утворює міжфібрилярний матрикс у кортексі волокон.

Усі ці групи білків є гетерогенними, а співвідношення між протеїновими фракціями у межах кожної групи також може змінюватися. Літературні дані свідчать, що аліментарні фактори [6], хімічна обробка [7], чинники зовнішнього середовища [8] чи генетичні захворювання [9] можуть впливати на співвідношення протеїнів, що призводить до змін у структурі волоса.

У зв'язку з цим наша робота присвячена порівняльному дослідженню структурних характеристик вовняного волокна та волоса людини.

Матеріали і методи

Об'єктом наших досліджень були зразки людського волоса та вовняних волокон асканійських кросбредних вівцематок, які для аналізу готували відповідно до [10]. Фракціонували кератинові волокна шляхом окиснення надмурашиною кислотою з

наступним розчиненням у лузі як описано Asquit et al. [11]. Вміст сірки у кератозах визначали за методом Макара і співавт. [10].

Амінокислотний склад кератину визначали на аналізаторі амінокислот ААА Т339 (Чехія) після гідролізу білків 6 н розчином соляної кислоти протягом 24 годин за температури 110°C.

Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням середнього арифметичного та стандартної похибки ($M \pm m$) та достовірного інтервалу для оцінки ступеня вірогідності (p) за допомогою критерію Стьюдента (t). Зміни вважали статистично вірогідними при $p < 0,05$. Для розрахунків використовували спеціальні комп'ютерні програми Excel (Microsoft, USA).

Результати та обговорення

У результаті фракціонування кератинів після їх попереднього окиснення надмурашиною кислотою виділено білкові фракції — кератози, що відповідають конкретним структурним компонентам волокон. Зокрема, альфа-кератоza відноситься до білків макро- і мікрофібрил коркового шару, бета-кератоza — до мембран веретеноподібних клітин, клітинних ядер та найстійкіших філаментів клітин кортексу, а також фрагментів зовнішньої оболонки волокна — кутикули. Гамма-кератоza представляє собою міжволокнисту речовину кортексу, або його матрикс.

Проведеними дослідженнями (табл. 1) показано, що структура людського волоса відрізняється від вовняного волокна насамперед за співвідношенням між альфа- і гамма-кератозами. Так частка макро- і мікрофібрил у людському волоссі є меншою на 15 % ($p < 0,02$) порівняно із вовняним волокном, тоді як вміст матриксних білків, навпаки, на 17 % ($p < 0,02$) більший. Відомо, що фракція альфа-кератоzi забезпечує наявність α -спіральных ділянок в кератині. Гетерогенність її порівняно невелика, приблизно 15-20 індивідуальних білків [2]. Що ж стосується гамма-кератоzi, або кератин-асоційованих протенів, то це невеликі, гідрофобні протеїни з характерними повторюваними структурами. Вони складають головний компонент матриксу, наявного всередині інтермедіальних структур, який відповідає за формування міцного стержня волоса шляхом утворення перехресних дисульфідних зв'язків. Важливо відмітити, що саме ці білки вважаються чи не найбільшим джерелом цистину в природі. Їх характерною рисою є висока гетерогенність як за розмірами, так і зарядом. У випадку білків вовни з високим вмістом сірки, то їх у діапазоні молекулярної маси від 10 до 30 кДа можна розділити більше ніж на 60 компонентів [2].

Таблиця 1

Структура кератинових волокон, %, $M \pm m$, $n=5-6$

Показник	Людський волос	Вовняне волокно
Альфа-кератоza	50,51 \pm 1,41	58,29 \pm 1,48**
Вміст сірки в α -кератоzi	2,30 \pm 0,09	1,55 \pm 0,02***
Бета-кератоza	13,07 \pm 0,44	11,37 \pm 0,34*
Вміст сірки в β -кератоzi	3,81 \pm 0,1	2,35 \pm 0,1***
Гамма-кератоza	36,42 \pm 1,12	30,35 \pm 1,47**
Вміст сірки в γ -кератоzi	6,72 \pm 0,2	5,09 \pm 0,18***

Примітка: у цій і наступній таблиці статистично вірогідні різниці: * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$

Як видно із таблиці 1 вміст бета-кератоzi, нерозчинної частки волоса, на 13 % ($p < 0,05$), більший у людському волоссі порівняно до вовняного волокна, що цілком логічно, якщо врахувати, що кутикула людського волоса складається із 6–10 шарів клітин, тоді як у вовні їх лише 1–3.

Характерно, що рівень сірки у всіх трьох фракціях кератоз, виділених із людського волоса, є вірогідно вищим, що, очевидно, може бути пов'язано із більшим вмістом загальної сірки у волосі порівняно до вовни.

Відомо також, що згадані фракції кератинів у різних видів тварин відрізняються між собою. Вважається, що причиною хімічних відмінностей різних кератинів є особливості кількісного співвідношення всередині згаданих фракцій. Особливо важливе значення у цьому відношенні має гамма-кератоза, або протеїни з високим вмістом сірки. На думку деяких дослідників саме гамма-кератоза спричиняється до мінливості сірки в кератинах в цілому [12]. Як показали численні дослідження, в тому числі і нашої лабораторії, кількісне співвідношення кератоз у волосі є доволі лабільним показником і може помітно змінюватися під впливом різноманітних факторів, серед яких має значення вік особин, їх фізіологічний стан, умови живлення [12].

Важливо також зазначити, що серед різних груп гомологічних тканин кератини унікальні насамперед тим, що більшість конститутивних амінокислот у його складі можуть змінюватися у досить широких межах.

Результати досліджень, представлені у таблиці 2, свідчать, що амінокислотний склад волоса людини та вовняного волокна є типовим для твердих кератинів, проте відрізняється від м'яких, в тому числі і рогового шару епітелію. Встановлено відмінності стосовно цистину, амінокислоти, що є не лише субстратом для синтезу кератину, але й важливим фактором у формуванні та стабілізації його структури. Так, у людському волосі його вміст більший на 11 % ($p < 0,02$), що свідчить про підвищене використання сульфгідрильних груп для утворення міцної, стійкої структури стрижня [13].

Таблиця 3

Амінокислотний склад кератинових волокон, %, $M \pm m$, $n=3$

Амінокислота	Волос людини	Вовняне волокно
Лізин	0.98±0.07	1.28±0.18
Лейцин	7.72±0.10	9.92±0.55**
Валін	5.24±0.22	6.16±0.22*
Треонін+серин	17.76±0.11	14.92±0.56**
Ізолейцин	2.97±0.33	2.33±0.13
Фенілаланін	2.95±0.16	3.70±0.03**
Тирозин	3.08±0.05	4.77±0.19***
Гістидин	6.35±0.12	3.50±0.21***
Метіонін	0.60±0.09	0.86±0.04
Цистин	13,95±0,17	12,54±0,31**
Триптофан	—	—
Аргінін	7.23±0.16	4.07±0.08***
Аспарагінова кислота	5.48±0.31	7.15±0.13**
Пролін	—	—
Глютамінова кислота	14.85±0.13	14.92±0.18
Гліцин	3.42±0.15	5.86±0.21***
Аланін	3,18±0.11	2,88±0.31
Сума амінокислот	95,26	94.86

Недавні роботи показали, що вміст цистину в кератинах різних типів і різних видів тварин коливається від 5 % для рогу носорога і до 19 % для волоса єнота. Автори вказують на те, що основною причиною відмінностей уконцентрації цистину є різний вміст білків, багатих на сірку [2].

Подібні зміни спостерігаються і стосовно гістидину та аргініну, вміст яких у людському волосі більший на 81 % і 78 % ($p < 0,001$) відповідно.

У результаті проведених досліджень показано також відмінності і стосовно вмісту амінокислот із вуглецевим бічним ланцюгом, які відіграють вагомий роль у формуванні структури кератину. Так, кератин вовняного волокна порівняно із людським волосом, характеризується вищим рівнем лейцину на 28 % ($p < 0,02$), валіну на 17 % ($p < 0,05$), фенілаланіну на 25 % ($p < 0,01$), гліцину на 71 % ($p < 0,001$). У той же час концентрація таких гідроксилвмісних амінокислот як серин і треонін у вовняному волокні є меншою. Більша концентрація у вовняному волокні тирозину та гліцину, очевидно, пов'язана із наявністю у його складі групи білків із високим вмістом тирозину і гліцину. Вміст цих протеїнів у кератинах ссавців змінюється у дуже широкому діапазоні, від 0 у кератині людського волоса до 30–40 % у голках єхидни [2].

За умов проведених досліджень нами не виявлено в кератинових волокнах амінокислот триптофану і проліну, що, очевидно, пов'язане із умовами їх гідролізу.

Отже, відмінності в амінокислотному складі кератинів, очевидно, залежать від співвідношення між кристалічною і аморфною фазами волокна, а саме протеїнами матриксу та макро- і мікрофібрил з одного боку, а з іншого — відмінностями у морфологічній будові людського волоса та вовняного волокна, про що свідчать і літературні дані [2].

Висновки

Встановлено відмінності щодо структурної організації волоса людини та вовняного волокна. Показано, що людський волос характеризується більшим вмістом білків матриксу і відповідно меншою кількістю фібрилярних білків порівняно до вовняного волокна, концентрація сірки у всіх фракціях кератоз є також вищою у волоссі людини.

Різні співвідношення між вмістом інтермедіальних філаментів та кератин-асоційованих протеїнів є причиною відмінностей у амінокислотному складі кератинів людського волоса та вовняного волокна.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть скеровані на з'ясування електрофоретичних характеристик різних груп протеїнів кератинових волокон.

V. Havrylyak, H. Sedilo

THE COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF HUMAN HAIR AND WOOL FIBER KERATINS

S u m m a r y

The data about the structural features and amino acid composition of human hair and wool fibers keratin were presented. It was found that human hair compared to wool fiber is characterized by higher content of keratin-associated proteins and thus fewer proteins of intermediate filaments. The concentration of sulfur in the keratoses is also higher in human hair.

It was shown that the human hair keratins contain more cystine, arginine, histidine, serine and threonine, while the wool fiber consists of more such amino acids as leucine, valine, phenylalanine, glycine and tyrosine. Such differences in amino acid composition of keratins depend on the ratio between the intermediate filaments proteins and keratin-associate proteins.

V. Гавриляк, Г. Седило

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЕРАТИНА ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ВОЛОСА И ШЕРСТНОГО ВОЛОКНА

А н н о т а ц и я

В статье приведены результаты исследований структурных особенностей и аминокислотного состава кератина человеческого волоса и шерстного волокна. Установлено, что человеческий волос по сравнению с шерстным волокном характеризуется большим содержанием кератин-ассоциированных протеинов и соответственно меньшим количеством белков интермедиальных филаментов. Концентрация серы во всех фракция кератоз также выше в волосах человека.

Показано, что кератины человеческого волоса содержат больше цистина, аргинина, гистидина, серина и треонина, тогда как в шерстном волокне больше таких аминокислот как лейцин, валин, фенилаланин, глицин и тирозин. Такие различия в аминокислотном составе кератинов зависят от соотношения между содержанием интермедиальных филаментов и ассоциированных с ними белков с низким содержанием серы.

1. *Fraser R.* Keratins: Their composition, structure and biosynthesis [Text] / R. Fraser, K. McRae, G. Rogers. — N. Y. Charl. Thom, 1972. — P. 12.
2. Yu J. Human hair keratins / J. Yu, D.-W. Yu, D. Checkla et al. // *J. Invest. Dermatol.* — 1993. — V. 101, № 1, Suppl. — P. 56S–59S.
3. Довідник : Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : 3-є вид / Л. В. Андреева, П. І. Вербицький, О. І. Віщур та ін. ; під ред. В. В. Влізла. — Львів, 2004. — 399 с.
4. *Aoki N.* Isolation and characterization of mouse high-glycine/tyrosine proteins / N. Aoki, K. Ito, M. Ito // *J. of Biochemistry.* — 1997. — V. 272, N 48. — P. 30512–30518.
5. *Asquit R. S.* The morphological origin and reactions of some keratin fractions / R. S. Asquit, D. C. Parkinson // *Textile Research Journal.* — 1966. — V. 36. — P. 1064–1071.
6. *Gillespie J. M.* The structural Proteins of Hair: Isolation, characterization, and regulation of biosynthesis / J. M. Gillespie // *In Physiology, biochemistry and molecular biology of skin:* Oxford, 1991. — P. 625–658.
7. *Rippon J. A.* The structure of wool / J. A. Rippon // *In: Wool Dyeing,* Bradford: Society of Dyers and Colourists, 1-51. — 1992.
8. *Hogg L. J.* FT Raman spectroscopic studies of wool / L. J. Hogg, H. G. M. Edwards, D. W. Farwell, A. T. Peters // *J.S.D.C.* — 1994. — 110:196–199.
9. *Marshall R. C.* Changes in wool low sulfur and high sulfur protein components following chemical defleecing / R. C. Marshall // *Text. Research J.* — 1981. — 51, 384–388
10. *Fraser. R. D. B.* Keratins, Their Composition, Structure and Biosynthesis / R. D. B. Fraser, T. P. MacRae, G. E. Rogers. — Thomas, Springfield MA, 1972. — P. 30–55.
11. *Steinert P. M.* Characterization of the proteins of guinea pig hair and hair follicle tissue. / P. M. Steinert, G. E. Rogers // *Biochem. J.* — 1973. — 135, 759–771.
12. *Marshall R. C.* Genetic variation in the proteins of human nail / R. C. Marshall // *J. Invest. Dermatol.* — 1980. — 75, 264–269.
13. *Kon R.* Analysis of the damaged components of permed hair using biochemical technique / R. Kon, A. Nakamura, N. Hirabayashi, K. Takeuchi // *J. Cosmet. Sci.* — 1998. — V. 49. — P. 13–22.

Рецензент: провідний науковий співробітник лабораторії інтелектуальної власності та маркетингу інновацій, кандидат біологічних наук, с. н. с. Грабовська О. С.