

## RODAMİN 6G LAZER RƏNGİNİN İPƏK FİBROİNİ TƏBƏQƏSİNDƏ ZÜLAL AGREGASİYASINA TƏSİRİ: SEM STRUKTURUN ANALİZİ

A.C. MƏMMƏDOVA (QULİYEVƏ)

AR ETN-nin Biofizika İnstitutu,  
Bakı, Azərbaycan, Zahid Xəlilov 117  
a.k134@hotmail.com

İpək fibroin (İF) - Rodamin 6G (RHD 6G) təbəqələrində baş verən morfoloji dəyişikliklər skan edən elektron mikroskopiyası (SEM) vasitəsilə tədqiq edilmişdir. SEM nəticələri İF təbəqələrində 70% metanolun təsiri ilə iri aqreqatların əmələ gəlməsini göstərir. Təbəqələrdə RHD 6G molekulu iştirak etdikdə zülal aqreqatlarının çox kiçik hissələrə parçalanması aydın görünür. Rentgen difraksiyası (XRD) və Furiye çevirici infraqırmızı (FÇİQ) spektroskopiyası göstərir ki, İF təbəqələri 70% metanolu uzun müddət saxlanıldıqda dehidrasiya hadisəsi baş verir və bunun nəticəsi olaraq İF amiloidi daha sıx yığılır.

**Açar sözlər:** ipək fibroin, amiloid, aqreqasiya, neyrodegenerativ xəstəliklər, flüoressensiya, SEM, XRD  
**DOI:**10.70784/azip.2.2025251

### Giriş

Son illərdə biomaterialların tətbiqi tibb sahəsində mühüm irəliləyişlərə səbəb olmuşdur [1]. Xüsusilə təbii polimerlər arasında ipək fibroini (İF) özünün unikal biouyğunluğu, yüksək mexaniki dayanıqlığı və biodegradasiya qabiliyyəti ilə fərqlənir [2]. *Bombyx mori* ipək qurdları tərəfindən sintez olunan bu zülal, son dövrlərdə aparılan tədqiqatlarda biotibbi təbii üçün böyük potensiala malik material kimi qiymətləndirilir [3]. Ən güclü dartılma müqavimətinə malik təbii materiallardan biri olan ipək, funksional amiloid fibrillərinin formalaşmasında mühüm rol oynayır və bu baxımdan amiloid əmələgəlmə mexanizmlərinin öyrənilməsi üçün model sistem kimi geniş istifadə olunur [4].

İpək fibroinin aqreqasiya prosesi mürəkkəb biomolekulyar sistemlərdən biridir və bu prosesin molekulyar əsaslarının tam izahı üçün geniş tədqiqatlara ehtiyac duyulur. Xüsusilə amiloid əmələ gətirən zülalların tənzimlənməsi, onların bioloji funksiyaları və qarşılıqlı təsirləri bu sahədə aparılan araşdırmaların əsas istiqamətlərini təşkil edir.

Əvvəlki tədqiqatlarda göstərilmişdir ki, Rodamin 6G (RHD 6G) ipək fibroini ilə spesifik qarşılıqlı əlaqəyə girərək, zülalın  $\beta$ -vərəq əsaslı aqreqatların əmələ gəlməsinin qarşısını alır. İpək fibroinin matrisası həmdə RHD 6G molekullarının yüksək konsentrasiyada belə monomer formada sabit qalmasını təmin edir və aqreqasiya olunmasının qarşısını alır. Bu hal, ipək fibroinin optik və bio-lazer təbii üçün ideal matrisa olduğunu göstərir [5].

*İpək fibroin (İF)* əsasən iki zəncirdən ibarətdir – ağır zəncir (*H-chain*, 390 kDa) və yüngül zəncir (*L-chain*, 26 kDa). Bu zəncirlər disulfid bağları vasitəsilə birləşərək H-L kompleksi yaradır və ipək lifinin funksional struktural əsasını təşkil edir [2]. İpək fibroinin əsas tərkibi qlisin (Gly, 45.9%), alanin (Ala, 30.3%), serin (Ser, 5.3%) və digər amin turşulardan ibarətdir [6]. Bu amin turşuları  $\beta$ -vərəq ( $\beta$ -sheet) strukturlarını əmələ gətirir və ipəyin yüksək mexaniki dayanıqlığını təmin edir. İpək fibroinin  $\beta$ -vərəq strukturları onu möhkəm, elastik və suya davamlı edir [7].

Rodamin 6G (RHD 6G) isə güclü flüoressensiya və yüksək optik sabillik nümayiş etdirən sintetik boyadır. Bu xüsusiyyətlərinə görə RHD 6G bio-optik cihazlarda, fotonik sistemlərdə və biomateriallarla qarşılıqlı təsirin öyrənilməsində geniş istifadə olunur [8]. Onun ipək fibroini ilə qarşılıqlı təsiri həm struktur səviyyəsində dəyişikliklərə səbəb olur, həm də kvant çıxışa təsir göstərir.

Təqdim olunan işdə ipək fibroin təbəqələrinin SEM metodu ilə tədqiqi İF-in morfolojiyasının onun aqreqasiya vəziyyətindən asılı dəyişməsi göstərilmişdir. Belə ki, aqreqasiya nəticəsində yaranan "dalğavari" mikrorelyeflər (bu formalar  $\beta$ -vərəq strukturunun morfoloji strukturu kimi qəbul edilə bilər) RHD 6G ilə qarşılıqlı təsir nəticəsində əhəmiyyətli dərəcədə azalır və nöqtəvari təsvir yaranır. Bu, daha əvvəl tədqiq edilmiş kimi, RHD 6G-nin zülalın  $\beta$ -vərəq aqreqatlarının əmələ gəlməsini inhibe etdiyini göstərir.

Rentgen difraksiyası metodu ilə tədqiqi nəticəsində 70% metanol ilə emal olunan zülal təbəqəsi dehidratasiyaya məruz qalaraq  $\beta$  strukturunda dəyişikliklər baş verir. Zülalın  $\beta$ -zəncirlər arasında məsafə dəyişmir, lakin  $\beta$ -vərəqlər arasında məsafə isə azalır. Bu da zülal strukturunu daha kompakt və sıx edir [9? 10].

### Materiallar və metodlar

*Təbəqələrin hazırlanması:* *B. mori* ipək kokonu hissələrə bölünərək 0.02 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Fisher SCI) məhlulunda 45 dəqiqə qaynadılmışdır. Bu proses serisin zülallarını xaric etmək və ipək fibroini təmizləmək üçün həyata keçirilmişdir [11]. Fibroin ekstraktı üç dəfə saf su ilə yuyulmuşdur. Təmizlənmiş ipək fibroini 9.3 M LiBr (Sigma-Aldrich) məhlulunda otaq temperaturunda həll edilmiş və 60°C sobada 4 saat saxlanılmışdır. Sonra 30 mM fosfat bufer məhlulunda (pH 7.5) 24 saat dializ edilmişdir. Dializ olunmuş ipək məhlulu 9000 rpm sürətlə 10 dəqiqə sentrifudadan (Eppendorf "Centrifuge 5418") keçirilib, yuxarı hissəsi (supernatant) toplanaraq 4°C temperaturda saxlanılmışdır. İpək məhlulunun son konsentrasiyası 86  $\mu$ M olaraq təyin edilmişdir (UV absorbsiya spektroskopiyası ilə  $\epsilon_{275 \text{ nm}} = 1.064 \text{ sm}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ mL}$  istifadə edilərək

ölçülmüşdür (Shimadzu UV-2700) [5]. 400 µL İF məhlulu polisterol səth üzərinə yerləşdirilib və yavaş buxarlanma yolu ilə təbəqə alınmışdır. İpək fibroin Rodamin 6G (Sigma-Aldrich №252433) qarışıq kompleksi 1:18 molyar nisbətində İF konsentrasiyasına əsasən təbəqə hazırlanmışdır.

*Təbəqənin metanol ilə emal olunması:* Təmiz ipək fibroin təbəqəsi 70% metanol məhlulunda 1 saat ərzində saxlandıqdan sonra otaq temperaturunda qurudulur və ölçmələr üçün hazır vəziyyətə gətirilir. Daha sonra yeni təmiz İF təbəqəsi 2.5 gün ərzində 70% metanolda saxlanılır və eyni şəraitdə qurudulur.

*İpək Fibroin Filminin Qalınlığının Ölçülməsi:* İpək fibroin təbəqələrin qalınlığı şaquli tipli optik ölçü cihazı (IZV-2N710133, Rusiya istehsalı) vasitəsilə müəyyən edilmişdir.

*UV-Vis Udulma Spektrlərinin Analizi:* Təbəqələrin UV-görünən udulma spektrləri Shimadzu UV-2700 spektrofotometri vasitəsilə qeyd olunmuşdur. Spektral zolağın eni 1.0 nm olaraq seçilmişdir. Spektral məlumatların işlənməsi və onların Gauss komponentlərinə ayrılması prosesi OriginLab proqramı vasitəsilə həyata keçirilmişdir.

*SEM analizi:* SEM nəticələri üçün HITACHI TM4000 cihazından istifadə olunub. Şəkillər 1000 dəfə böyütmə ilə 10-15kV arası elektron şüasının nümunəyə nüfuz etmə dərinliyi ilə ölçülüb.

*XRD analizi.* Təbəqələr D8 Advance XRD difraktometrindən (Bruker, Almaniya) istifadə edilməklə tədqiq edilmişdir. Difraktometrin parametrləri: 40 kV, 40 mA, CuKα – şüalanma,  $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ .

## Nəticələr və müzakirə.

Hazırlanan ipək fibroin (İF) təbəqələri yüksək optik şəffaflığa malikdir (təxminən 95%) və bu təbəqələrin qalınlığı orta hesabla 38 µm-dir [5]. İF-in strukturunda β-vərəqlər və amin turşuları kimi funksional qrupların mövcudluğu, Rodamin 6G molekulları ilə qarşılıqlı təsirlərin baş verməsinə şərait yaradır [12].

Furier Çevirmə İnfraqırmızı Spektroskopiyaya (FTIR) nəticələrinə əsasən, müxtəlif molyar nisbətlərdə RHD 6G-ni İF matrisinə daxil edilməsi β-vərəq strukturlarının miqdarında azalma olub. Bu dəyişiklik RHD 6G-nin İF-lə qarşılıqlı təsiri nəticəsində β-aqreqatların inhibə olunması ilə əlaqəlidir. Eyni zamanda, İF matrisi öz özünə aqreqasiya olunmuş RHD 6G molekullarını monomer formada sabit saxlamaqla onların dimer və yüksək dərəcəli aqreqatlara çevrilməsinin qarşısını alır. Bu hadisə, RHD 6G-nin flüoressensiya xüsusiyyətlərini qorunub saxlayır, həmçinin yüksək kvant çıxışı ilə müşahidə olunur [5]. Digər tərəfdən, saf İF təbəqələrinin 70% metanol (MeOH) ilə emal olunması nəticəsində strukturun İpək I-dən İpək II-yə keçidi baş verir. Bu keçid β-vərəqlərin əhəmiyyətli dərəcədə (təqribən 22.9%-ə qədər) artmasına səbəb olur [5, 11, 12]. Belə struktur dəyişiklikləri təbəqələrin mexaniki möhkəmliyinin artması deməkdir. Lakin İF:RHD kompleks təbəqələrində β-vərəq strukturunun artımı baş vermir, bu da RHD 6G-nin β-vərəq formalaşmasının qarşısını almaqla izah olunur. Bu nəticələr bir daha təsdiq edir ki, ipək fibroin biomateriali

həm quruluş sabitliyinə, həm də molekulyar səviyyədə tənzimləmə bilən "host-guest" qarşılıqlı təsirlərinə malikdir. Bu xüsusiyyətlər onu optik, biomühəndislik və bioelektron tətbiqlərdə perspektivli materiala çevirir [5].

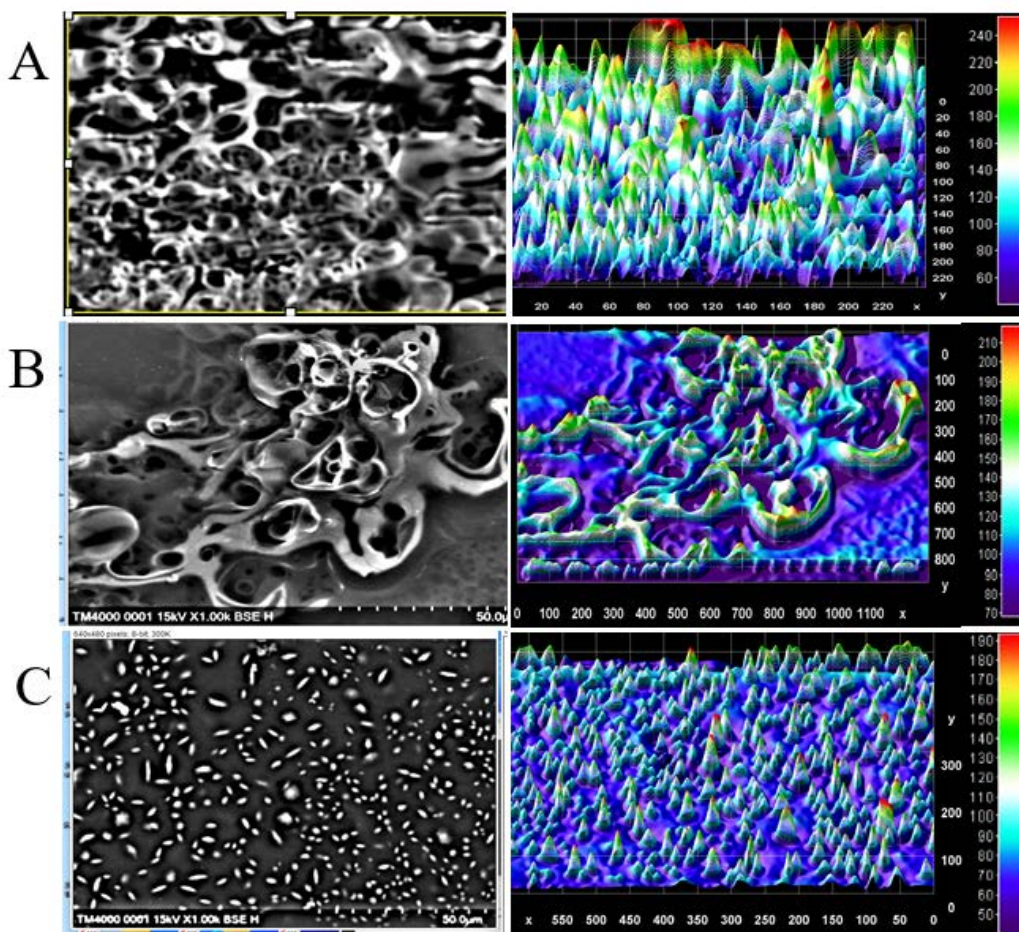
## Fibroin təbəqələrinin morfoloqiyasının SEM vasitəsilə tədqiqi.

Skan edən elektron mikroskopiya (SEM, Scanning Electron Microscopy) nano- və mikrostruktur səviyyəsində biomateriallərin səth xüsusiyyətlərinin təhlilində geniş istifadə olunan etibarlı analiz metodlarından biridir. Xüsusilə ipək fibroin (İF) kimi təbii polimerlərdə aqreqasiya vəziyyətinin, kristallıq dərəcəsinin və səth morfoloqiyasının tədqiq olunmasında bu metod yüksək əhəmiyyət daşıyır. Hazırlanmış İF təbəqələri ümumilikdə hamar və nanoməsəmali səth quruluşu ilə xarakterizə olunur. Şəkil 1(a) saf ipək fibroinin heç bir əlavə reagent və ya emal olmadan, otaq temperaturunda zəif sürətlə buxarlanma ilə qurudulmuş təbəqəsinin SEM görüntüsünü təqdim edir. Təbəqə, İF molekullarının öz-özünə yığılması nəticəsində yaranmışdır və onun səthi homogen, az məsəmali və optik cəhətdən şəffafdır. SEM görüntülərdə müşahidə olunan kiçik ölçülü məsələlərin diametri təqribən 50µm-dir, qeyri-bərabər paylanmış "dalğavari" mikrorelief strukturları ilə seçilir. β-vərəq strukturlarının formalaşması isə ipək fibroinin kristallığını artıraraq onu suda həll olunmaz edir və struktur sabitliyini təmin edir [15]. Şəkil 1 (b) hissəsində isə 70% metanol ilə emal olunmuş ipək fibroin təbəqəsinin SEM görüntüsü verilmişdir. 1 saat 70% metanolda emal olunduqdan sonra β-vərəqlərin artması müşahidə olunur və ədəbiyyatda da göstərilirdiyi kimi İpək II kristal fazasının yaranmasına səbəb olur [5]. Görüntülərdə məsəmə quruluşunun daha böyük, qeyri-bərabər paylanmış və kristallığa uyğun "relyefli" səth forması müşahidə olunur. Bu dəyişiklik dehidratasiya nəticəsində β-vərəqin aqreqasiyasının artmasını göstərir. Şəkil 1 (c) isə İF ilə Rodamin 6G (RHD 6G) kompleksin 1:18 molyar nisbətində hazırlanmış təbəqənin morfoloqiyasını təqdim edir. Bu nümunədə "dalğavari" mikrorelief formalarının əhəmiyyətli dərəcədə azaldığı və nöqtəvari təsvir müşahidə olunur. Bu müşahidə RHD 6G-nin İF molekullarının β-vərəqlərin aqreqatların inhibə etməsi ilə müşahidə edilir. Əldə olunan görüntülər əvvəlki FTIR və NMR analiz nəticələrini təsdiqləyərək, RHD 6G-nin həm struktur səviyyəsində müdaxilə etdiyini, həm də səth morfoloqiyasına əhəmiyyətli təsir göstərir.

Bütün bu nəticələri nəzərə alaraq, İF və İF:RHD təbəqələrinin yüksək optik şəffaflığa malik olması, onları kontakt linzalar, biosensör, optik örtüklər və digər bio-optik cihazlar üçün potensial biomateriala çevirir. Bu funksional xüsusiyyətlər, İF matrisi daxilində RHD 6G molekullarının aqreqasiyasını idarə etməsi və RHD 6G ilə qarşılıqlı təsiri onların müxtəlif tətbiqlərdə 50 mikrometr diapazonunda əhatələnir. (B) İpək fibroin təbəqəsinin 70% metanolda saxlandıqdan sonra. 1000 dəfə böyütmə ilə ölçülüb, 15 kV – elektron şüasının nümunəyə nüfuz etmə dərinliyi. Görüntünün hər seqmenti 50 mikrometr diapazonunda əhatələnir. (C) İpək Fibroin (İF) - Rodamin 6G (RHD 6G) 1:18

molyar nisbətində təbəqəsinin Skan edən elektron mikroskop (SEM) görüntüsü verilmişdir. 1000 dəfə böyütmə ilə ölçülüb, 15 kV – elektron şüasının nümu-

nəyə nüfuz etmə dərinliyi. Görüntünün hər seqmenti 50 mikrometr diapazonunda əhatələnir.



Şəkil 1. İpək fibroin təbəqələrin SEM görüntüləri. (A) İpək fibroin təbəqəsi (degummed) – 86μM konsentrasiyada. 1000 dəfə böyütmə ilə ölçülüb. 10 kV -elektron şüasının nümunəyə nüfuz etmə dərinliyi. Görüntünün hər seqmenti

### Fibroin amiloid halında strukturunun rentgen difraksiyası ilə tədqiqi

Amiloid fibrillərin ilk rentgen difraksiyası (XRD) tədqiqatları 1960-cı illərin sonu və 1970-ci illərin əvvəllərində aparılmışdır. Bu tədqiqatların nəticəsində bu strukturlar üçün xarakterik olan “*cross-β*” difraksiya nümunəsi aşkar edilmişdir [16]. Bu difraksiya nümunəsi, meridional (şaquli) istiqamətdə təqribən 4.7 Å məsafəsində və ekvatorial (üfüqi) istiqamətdə 10–12 Å məsafədə yerləşən iki əsas refleksiya ilə xarakterizə olunur [15,16]. Meridional refleksiya  $\beta$ -zəncirlər arasındakı hidrogen rabitəsi tərəfindən müəyyən edilmiş məsafəsinə uyğun gəlir, ekvatorial refleksiya isə paralel  $\beta$ -vərəqlərin bir-biri ilə assosiasiyasını və yan zəncirlərin yerləşməsinə əks etdirir [13, 17]. İF:RHD təbəqələri üçün əldə edilən Rentgen difraksiyası (XRD) məlumatları, “*cross-β*” quruluşuna xas olan əlavə amiloidlərin struktur məlumatları təqdim edir. Şəkil 2-də göstərilirdiyi kimi, saf ipək fibroin təbəqəsi (boz spektr) üçün alınan XRD spektrində geniş və zəif intensivlikli piklərin müşahidə olunması amorf strukturun mövcudluğunu göstərir. Bu amorf təbiət, əsasən

İpək I forması ilə əlaqələndirilir və təsadüfi spiral strukturların üstünlüyünü göstərir.

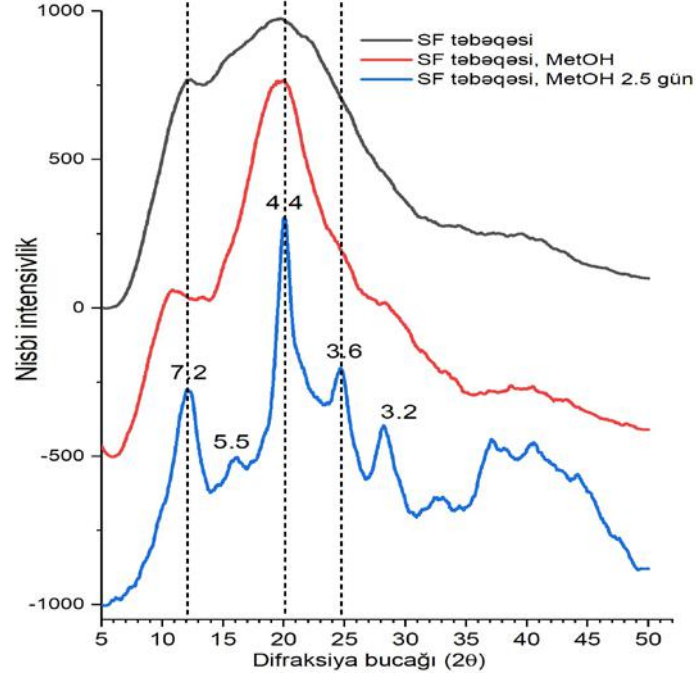
Saf ipək fibroin təbəqəsi ilə müqayisədə, 70% metanol ilə işlənmiş təbəqələrin difraksiya spektrlərində əhəmiyyətli dərəcədə və yüksək intensivlikli piklər müşahidə olunur (qırmızı və mavi xətlər). Xüsusilə 7.2 Å, 5.5 Å, 4.4 Å, 3.6 Å və 3.2 Å məsafələrində yaranan piklər ipək fibroinin İpək II formasına xas olan antiparalel  $\beta$ -vərəq quruluşlarına uyğun gəlir [20]. Bu piklərin intensivliyinin və kəskinliyinin artması, metanol emalı nəticəsində İF strukturunun kristallığını artırdığını və  $\beta$ -vərəq formalaşdığını göstərir. Qısa müddətli metanol emalı (Şəkil 2 qırmızı xətt) kristallıq səviyyəsində müəyyən artıma səbəb olub. Lakin 2.5 gün ərzində 70% metanol ilə emal olunduqdan sonra təbəqə (mavi xətt) daha güclü və kəskin  $\beta$ -vərəq pikləri ilə seçilir. Bu isə zaman faktorunu ilə dehidratasiya nəticəsində kristallaşma prosesinin daha da gücləndiyini və strukturun daha sabit hala gəldiyini sübut edir. Beləliklə, İF-in struktur keçidi İpək I (amorf və  $\alpha$ -spiral/  $\beta$ -döngə) formadan Silk II (kristallıq antiparalel  $\beta$ -vərəq) keçidi müşahidə olunur. Şəkil 3-də ipək fibroinin 2.5 gün 70% metanolun dehidratasiya prosesinin nəticəsində  $\beta$ -vərəqlər arasındakı

məsafə dəyişir  $9.8\text{Å} \rightarrow 7.2\text{Å}$ . Burada görüldüyü kimi isə  $\beta$ -zəncirlər arasındakı məsafə dəyişmir ( $4.4\text{Å}$ ). Təbəqə daha sıx və sərt formaya keçir.

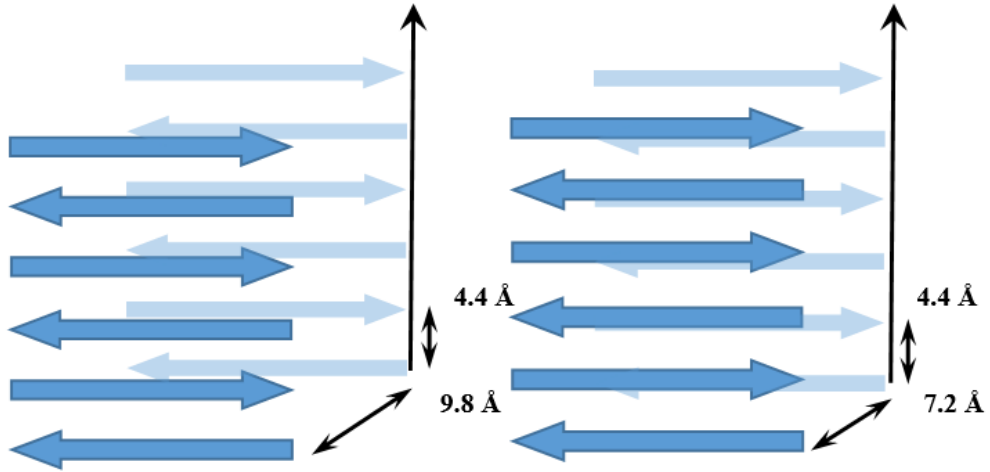
malaşmağını gücləndirərək onun kristallıq dərəcəsini artırır. Nümayiş olunan dəyişiklik yalnız struktur sabitliyinə deyil, eyni zamanda biomaterialın mexaniki və optik xüsusiyyətlərinə də əhəmiyyətli təsir göstərir. Metanol ilə emal olunaraq fərqli strukturlara malik fibroin təbəqələri almaq mümkündür və onları optik, bioelektron, biomühəndislik kimi sahələrdə tətbiq edilə bilər.

### Yekun.

Bu nəticələr bir daha təsdiq edir ki, 70% metanolun ipək fibroin strukturlarına tətbiqi  $\beta$ -vərəqlərin for-



Şəkil 2. İpək fibroin təbəqələrin XRD spektrləri. Qara xətt- saf ipək fibroin təbəqəsi. Qırmızı xətt-70% metanol ilə emal olunan təbəqə. Mavi xətt- 2.5 gün 70% metanol ilə emal olunan ipək fibroin təbəqəsi.



Şəkil 3. 70% metanol ilə emal olunan ipək fibroin təbəqəsinin antiparalel  $\beta$ -vərəq strukturunun düzülüşü. Sol tərəfdə şaquli  $\beta$ -zəncirlər arasındakı məsafə  $4.4\text{Å}$ . Üfüqi ox bir birinə perpendikulyar olan  $\beta$ -vərəqlərdir və aralarındakı məsafə  $9.8\text{Å}$  azalaraq  $7.2\text{Å}$  olur.

### Minnətdarlıq

Müəllif Rentgen difraksiyası spektrlərinin çəkilişində göstərdiyi dəstəyə görə AMEA-nın Fizika İnstitutu-

nun Kristalloqrafiya laboratoriyasının müdiri, f.e.d professor İmaməddin Əmiraslanova minnətdarlığını bildirir.

- [1] *F. J. O'Brien*. "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering," *Mater. Today*, vol. 14, № 3, pp. 88–95, 2011, doi: 10.1016/S1369-7021(11)70058-X.
- [2] *C. Vepari and D. L. Kaplan*. "Silk as biomaterial," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 100, № 2, pp. 130–134, 2012, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.013.
- [3] *S. Kapoor and S. C. Kundu*. "Silk protein-based hydrogels: Promising advanced materials for biomedical applications," *Acta Biomater.*, vol. 31, pp. 17–32, 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2015.11.034.
- [4] *L. Jean, A. C. Foley and D. J. T. Vaux*. "The physiological and pathological implications of the formation of hydrogels, with a specific focus on amyloid polypeptides," *Biomolecules*, vol. 7, № 4, 2017, doi: 10.3390/biom7040070.
- [5] *O. K. Gasyimov, C. Botta, L. Ragona, A. J. Guliyeva and H. Molinari*. "Silk Fibroin-Based Films Enhance Rhodamine 6G Emission in the Solid State: A Chemical-Physical Analysis of their Interactions for the Design of Highly Emissive Biomaterials," *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 220, № 4, 2019, doi: 10.1002/macp.201970007.
- [6] *V. Murugesan, S. Mundada and S. Rajagopal*. "Silk fibroin as a functional biomaterial for tissue engineering," *Silk Fibroin Adv. Appl. Res.*, pp. 155–175, 2023.
- [7] *A. Ogunsipe*. "Solvent Effects on the Spectral Properties of the Rhodamine 6G: Estimation of Ground and Excited State Dipole Moments," *J. Solution Chem.*, vol. 47, № 2, pp. 203–219, 2018, doi: 10.1007/s10953-017-0706-8.
- [8] *S. Tomaselli et al.* "Encapsulation of a rhodamine dye within a bile acid binding protein: Toward water processable functional bio host-guest materials," *Biomacromolecules*, vol. 14, № 10, pp. 3549–3556, 2013, doi: 10.1021/bm400904s.
- [9] *R. F. Həşimov*.  $\text{La}_{0.63}\text{Ba}_{0.37}\text{MnO}_3$  birləşməsinin kristal quruluşunun rentgenoqrafik tədqiqi. *AJP Fizika*, cild XXVIII, № 1, section: Az, pp. 35–37, 2022.
- [10] *A.M. Mammedzade, B.U. Gasimli*. Structural origin of silk nanoparticles and their stabilization. *AJP Fizika*, vol. XXIX, section En, № 3, pp. 6–12, 2023.
- [11] *W. Huang, S. Ling, C. Li, F.G. Omenetto, and D. L. Kaplan*. "Silk-based Materials and Devices through Bio-nanotechnology Article Type: Tutorial Review Chemical Society Reviews Article type: Tutorial Review Paper Title: Silkworm Silk-based Materials and Devices generated using Bio-nanotechnology," 2018.
- [12] *B.D. Lawrence et al.* "Effect of hydration on silk film material properties," *Macromol. Biosci.*, vol. 10, № 4, pp. 393–403, 2010, doi: 10.1002/mabi.200900294.
- [13] *B.D. Lawrence, M. Cronin-Golomb, I. Georgakoudi, D.L. Kaplan, and F.G. Omenetto*. "Bioactive silk protein biomaterial systems for optical devices," *Biomacromolecules*, vol. 9, № 4, pp. 1214–1220, 2008, doi: 10.1021/bm701235f
- [14] *H.J. Jin et al.* "Water-stable silk films with reduced  $\beta$ -sheet content," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 15, № 8, pp. 1241–1247, 2005, doi: 10.1002/adfm.200400405.
- [15] *A.S. Cohen and M. Skinner*. "the Amyloid Fibril," № 34110, pp. 1373–1375.
- [16] *L.C. Serpell, J. Berriman, R. Jakes, M. Goedert, and R.A. Crowther*. "Fiber diffraction of synthetic  $\alpha$ -synuclein filaments shows amyloid-like cross- $\beta$  conformation," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 97, № 9, pp. 4897–4902, 2000, doi: 10.1073/pnas.97.9.4897.
- [17] *K.L. Morris and L.C. Serpell*. "X-ray fibre diffraction studies of amyloid fibrils," *Methods Mol. Biol.*, vol. 849, pp. 121–135, 2012, doi: 10.1007/978-1-61779-551-0\_9.
- [18] *S. Dutta, B. Talukdar, R. Bharali, R. Rajkhowa, and D. Devi*. "Fabrication and characterization of biomaterial film from gland silk of muga and eri silkworms," *Biopolymers*, vol. 99, № 5, pp. 326–333, 2013, doi: 10.1002/bip.22168.
- [19] *G.G. Kariyappa et al.* "Crystallite Shapes and Functional Data Analysis of Silk forms using X-ray Diffraction: Microwave Irradiation Effects," *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 13, № 3, pp. 1–10, 2023, doi: 10.33263/BRIAC133.241.

**A.J. Mammadova (Guliyeva)**

**EFFECT OF RHODAMINE 6G LASER DYE ON PROTEIN AGGREGATION IN SILK FIBROIN FILMS: STRUCTURAL ANALYSIS BY SEM**

Morphological changes occurring in Silk Fibroin -Rhodamine 6G films were examined using scanning electron microscopy (SEM). SEM analysis revealed that treatment of SF films with 70% methanol induces the formation of large aggregates. However, in the presence of RHD 6G, these protein aggregates appear to be fragmented into significantly smaller structures. X-ray diffraction (XRD) and Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy further indicate that prolonged exposure of SF films to 70% methanol results in dehydration, leading to the dense packing of SF amyloids.

*Qəbul olunma tarixi: 21.05.2025*