

Процессы молекулярной ассоциации и флуоресцентные характеристики наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах бычьего сывороточного альбумина

И. М. Власова^{1,a}, А. А. Кулешова¹, А. А. Власов², А. М. Салецкий^{1,b}

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, физический факультет,

¹кафедра общей физики; ²кафедра квантовой теории и физики высоких энергий.

Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.

E-mail: ^aulasovairina1979@mail.ru, ^bsam@phys.msu.ru

Статья поступила 24.03.2013, подписана в печать 26.04.2013.

Проведен анализ молекулярной ассоциации и флуоресцентных характеристик наномаркеров семейства флуоресцеина — флуоресцеина, эритрозина, эозина и бенгальского розового — в растворах БСА. Для всех наномаркеров характерно уменьшение степени молекулярной ассоциации в растворах с БСА по сравнению с растворами без белка. В растворах с БСА у всех наномаркеров семейства флуоресцеина происходят тушение флуоресценции и красный сдвиг максимума спектра флуоресценции. Зависимости степени молекулярной ассоциации от pH различаются для флуоресцеина и его галоген-производных. Характер зависимости интенсивности флуоресценции наномаркера от pH различается для флуоресцеина и его галоген-производных. Зависимости эффективности связывания наномаркера с БСА от pH различаются для флуоресцеина и его галоген-производных.

Ключевые слова: флуоресцеин, эозин, эритрозин, бенгальский розовый, бычий сывороточный альбумин, наномаркер.

УДК: 535.372.3. PACS: 87.83.+a, 87.15.-v.

Введение

Бычий сывороточный альбумин (БСА, 64 кДа, изоэлектрическая точка pI 4.9) представляет собой глобулярный белок плазмы крови. Уникальная способность молекулы БСА связывать обширный круг органических и неорганических лигандов определяет одну из основных функций этого белка — транспорт физиологических метаболитов. Основой взаимодействий молекулы БСА с лигандами является структурная подвижность этой белковой молекулы, обеспеченная уникальной укладкой цепи белка. Первичная структура БСА определяется единственной полипептидной цепью, состоящей из 582 аминокислотных остатков. Третичная структура БСА определяется тремя доменами. БСА является типичным представителем белков семейства альбуминов и имеет строение, схожее с сывороточным альбумином человека (САЧ) с небольшими различиями [1].

Механизм связывания лигандов с молекулой БСА определяется наличием на белке специфических участков — связывающих центров. Некоторые реакции связывания белка с лигандами обеспечиваются электростатическими взаимодействиями, другие — носят ковалентный характер, вызывая химические модификации боковых радикалов аминокислотных остатков.

Большую роль в изучении физико-химических свойств связывающих центров БСА играет метод флуоресцентных наномаркеров [2–6]. Для исследования БСА, как и САЧ, непосредственно в плазме крови используют анионные при физиологическом значении pH наномаркеры семейства флуоресцеина (рис. 1) — исходное соединение флуоресцеин и его галоген — производные (тетрахлор-тетраiod-производная — бенгальский розовый, тетрабром-производная — эозин, тетра-

йод-производная — эритрозин). Флуоресцентные наномаркеры семейства флуоресцеина также используются для моделирования взаимодействия лекарственных препаратов с БСА.

Ранее нами изучены процессы молекулярной ассоциации наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах САЧ [7–10], флуоресцентные характеристики наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах САЧ [8–12], исследованы механизмы связывания наномаркеров семейства флуоресцеина с САЧ [13–17].

В настоящей работе представлены исследования процессов молекулярной ассоциации и флуоресцентных характеристик наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах БСА при различных значениях pH. Исследования этих характеристик наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах БСА позволяют получать информацию о характере связывания этих наномаркеров с БСА, что имеет важный прикладной медицинский и фармакологический аспект при моделировании взаимодействия ряда лекарственных препаратов с БСА.

1. Материалы и методы

Были подготовлены следующие буферные растворы: 0.1 М CH_3COOH — KOH (pH 3.5–5.0) и 0.1 М KH_2PO_4 — 0.1 М NaOH (pH 6.0–8.0).

1.1. Абсорбционная спектроскопия в исследованиях молекулярной ассоциации наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах БСА

На основе вышеуказанных буферных растворов были приготовлены:

1) растворы наномаркера (флуоресцеина, эритрозина, эозина и бенгальского розового) различных кон-

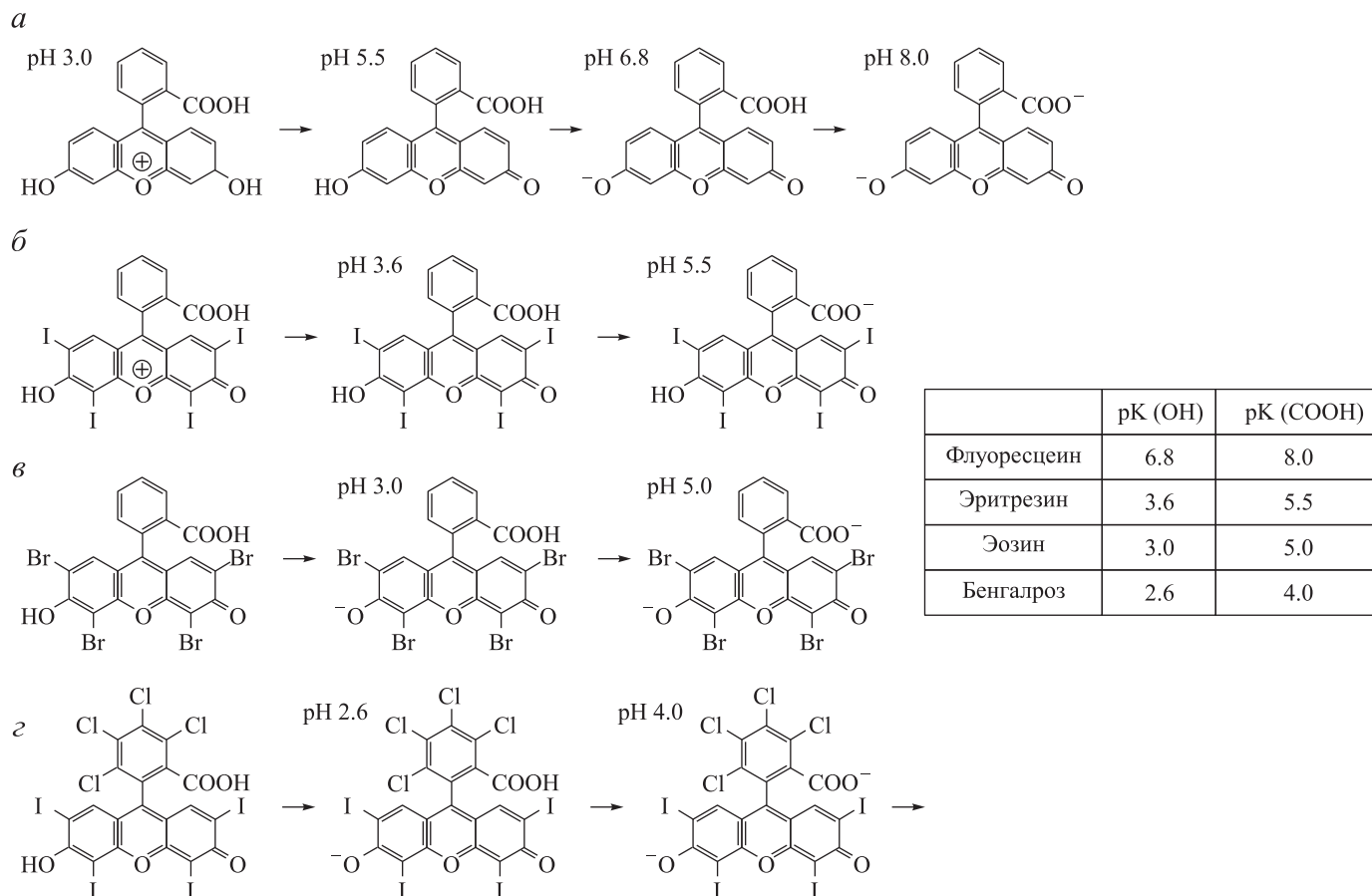


Рис. 1. Структурные формулы наномаркеров семейства флуоресцеина и значения pK их ионизируемых групп:
а — флуоресцеин, б — эритрозин, в — эозин, г — бенгальский розовый

концентраций (3–50 мкМ) при различных значениях pH (3.0–8.0);

2) растворы наномаркера (флуоресцеина, эритрозина, эозина и бенгальского розового) различных концентраций (3–50 мкМ), содержащие БСА (150 мкМ), при различных значениях pH (3.0–8.0).

Измерения спектров поглощения наномаркеров в исследуемых растворах проводились на спектрофотометре Lambda 35 (Perkin Elmer). Приготовленные образцы помещались при измерении в 1-см кювету при комнатной температуре. Спектры поглощения наномаркеров в растворах регистрировались в диапазоне 300–700 нм.

1.2. Изучение флуоресцентных характеристик наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах БСА

На основе буферных растворов были приготовлены:

1) растворы наномаркера (3 мкМ флуоресцеина; 30 мкМ эритрозина; 30 мкМ эозина, 3 мкМ бенгальского розового) при различных значениях pH (3.0–8.0);

2) растворы наномаркера (3 мкМ флуоресцеина; 30 мкМ эритрозина; 30 мкМ эозина, 3 мкМ бенгальского розового), содержащие БСА (150 мкМ), при различных значениях pH (3.0–8.0).

Поскольку в настоящей работе представляет интерес качественное влияние БСА на флуоресценцию каждого наномаркера при различных значениях pH, а не количественное сравнение интенсивностей флуоресценции наномаркеров между собой, было возможно выбрать

различные концентрации наномаркеров, что обусловлено техническими моментами, связанными с прибором.

Исследования флуоресценции наномаркеров в растворах проводились на спектрофлуориметре LS 55 (Perkin Elmer) при комнатной температуре.

Флуоресценция наномаркеров в исследуемых растворах возбуждалась светом со следующими длинами волн: 1) флуоресцеин — $\lambda_{\text{возб}}^{\text{фл}} = 440$ нм; 2) эритрозин — $\lambda_{\text{возб}}^{\text{эрит}} = 530$ нм; 3) эозин — $\lambda_{\text{возб}}^{\text{эоз}} = 520$ нм; 4) бенгальский розовый — $\lambda_{\text{возб}}^{\text{фл}} = 540$ нм.

2. Обсуждение результатов

2.1. Молекулярная ассоциация наномаркеров в растворах БСА при различных pH

Получены спектры поглощения наномаркеров семейства флуоресцеина как в растворах без белка, так и в растворах БСА при различных значениях pH и при различных концентрациях наномаркеров. Вид спектров поглощения наномаркеров в растворах без белка аналогичен известным спектрам поглощения данных наномаркеров в [2, 3, 18], где они представлены для различных растворителей наномаркеров, а вид спектров поглощения наномаркеров в растворах с БСА схож с видом спектров поглощения этих наномаркеров в растворах САЧ, подробно представленных в [19].

Обнаружено, что для всех наномаркеров наблюдается общая закономерность — положение максимума спектра поглощения наномаркера в растворах с БСА

смещается в красную область по сравнению с растворами без белка, что объясняется связыванием наномаркера с белком [2, 7, 9, 13].

В полученных спектрах поглощения наномаркеров в растворах как с БСА, так и без него, наблюдается наличие двух максимумов поглощения — длинноволнового максимума мономеров и коротковолнового максимума ассоциатов наномаркеров. В работе определена величина степени молекулярной ассоциации наномаркеров как в растворах без белка, так и в растворах с БСА при различных значениях pH и при различных концентрациях наномаркеров. Величина степени молекулярной ассоциации ($1 - X$) раствора наномаркера представляет собой долю ассоциированных молекул наномаркера ($1 - X$) в растворе, где X — доля мономерных молекул, и определяется по стандартной методике разложения спектра поглощения наномаркера-красителя на компоненты мономеров и ассоциатов, подробно представленной в [3].

На рис. 2, *a* представлены зависимости от значения pH степени молекулярной ассоциации $1 - X$ исходного соединения данного ряда наномаркеров — флуоресцеина (для его концентрации 30 мкМ) как в растворах без белка, так и с БСА. Зависимости $1 - X$ от pH для других концентраций флуоресцеина имеют схожие с представленной концентрацией (30 мкМ) закономерности, причем только наблюдается увеличение значений $1 - X$ при увеличении концентрации флуоресцеина.

Из рис. 2, *a* видно, что как в растворах без белка, так и в растворах с БСА зависимость $1 - X$ флуоресцеина от pH имеет нелинейный характер с максимумом при значении pH 6.0, при котором молекулы флуоресцеина электрически нейтральны (см. рис. 1) и легко образуют ассоциаты.

$1 - X$ молекул флуоресцеина в растворах БСА меньше $1 - X$ молекул флуоресцеина в растворах без белка, что объясняется связыванием флуоресцеина с БСА и уменьшением доли несвязанного с белком флуоресцеина, способного к образованию ассоциатов. Наиболее

сильное уменьшение $1 - X$ флуоресцеина в растворах с БСА имеет место при pH 6.0, что объясняется сильным связыванием флуоресцеина с белком.

На рис. 2, *б* представлены зависимости от значения pH степени молекулярной ассоциации $1 - X$ галоген-производных флуоресцеина (эритрозина, эозина и бенгальского розового) как в растворах без белка, так и с БСА (для их концентрации 30 мкМ). Зависимости $1 - X$ от pH для других концентраций наномаркеров имеют схожие с представленной концентрацией (30 мкМ) закономерности, причем только наблюдается увеличение значений $1 - X$ при увеличении концентрации каждого наномаркера.

При увеличении pH как в растворах с БСА, так и в растворах без белка наблюдается монотонное уменьшение $1 - X$ молекул всех трех галоген-содержащих наномаркеров (эритрозина, эозина и бенгальского розового), что объясняется увеличением их отрицательного заряда с ростом pH и соответственно уменьшением способности к образованию ассоциатов по электростатическим причинам.

При высоких значениях pH > 5.5 молекулы эритрозина сильно отрицательно заряжены (дианионы), и их взаимное отталкивание мешает образованию ассоциатов. При более низких значениях $3.6 < \text{pH} < 5.5$ молекулы эритрозина теряют отрицательный заряд на COOH -группе и переходят в слабо отрицательно заряженную форму моноаниона, что и облегчает их ассоциацию.

При высоких значениях pH > 5.0 молекулы эозина сильно отрицательно заряжены (дианионы), и их взаимное отталкивание мешает образованию ассоциатов. При более низких значениях $3.0 < \text{pH} < 5.0$ молекулы эозина теряют отрицательный заряд на COOH -группе и переходят в слабо отрицательно заряженную форму моноаниона, что и облегчает их ассоциацию.

При высоких значениях pH > 4.0 молекулы бенгальского розового сильно отрицательно заряжены (дианионы), и их взаимное отталкивание мешает образованию

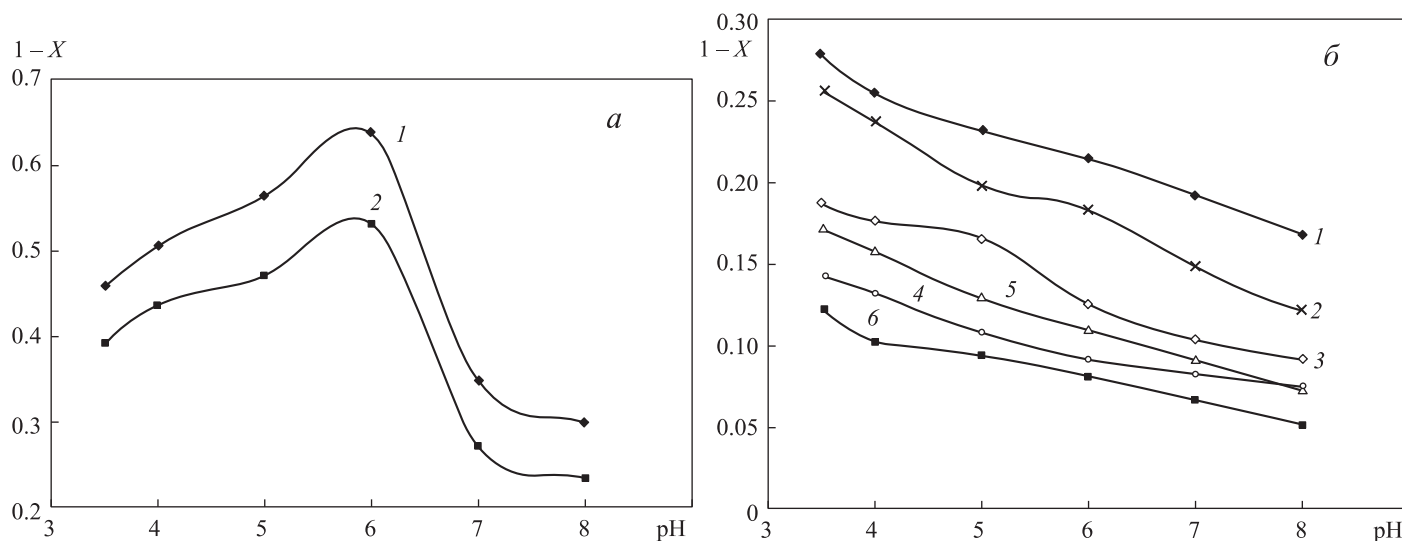


Рис. 2. Зависимость от pH: *a* — степени молекулярной ассоциации флуоресцеина (30 мкМ): 1 — без белка, 2 — с БСА (150 мкМ); *б* — степени молекулярной ассоциации галоген-производных флуоресцеина (30 мкМ): 1 — эритрозина, 2 — эритрозина с БСА (150 мкМ), 3 — эозина, 4 — эозина с БСА (150 мкМ), 5 — бенгальского розового, 6 — бенгальского розового с БСА (150 мкМ)

ассоциатов. При более низких значениях $2.6 < \text{pH} < 4.0$ молекулы бенгальского розового теряют отрицательный заряд на COOH -группе и переходят в слабо отрицательно заряженную форму моноаниона, что и облегчает их ассоциацию.

В растворах БСА (рис. 2, б) $1-X$ молекул всех трех галоген-содержащих наномаркеров меньше $1-X$ молекул этих наномаркеров в растворах без белка при соответствующих значениях pH, что объясняется связыванием наномаркеров с молекулами БСА и соответственно уменьшением доли несвязанных с белком молекул наномаркеров.

Наиболее сильное уменьшение $1-X$ молекул галоген-содержащих наномаркеров в растворах БСА по сравнению с растворами без белка имеет место при pH, меньших 5.0, когда происходит эффективное связывание положительно заряженных молекул БСА и данных наномаркеров (эозина в форме моноаниона при $3.0 < \text{pH} < 5.0$, эритрозина в форме нейтральной молекулы при $3.5 < \text{pH} < 3.6$ и моноаниона при $3.6 < \text{pH} < 5.5$, бенгальского розового в форме моноаниона при $2.6 < \text{pH} < 4.0$ и дианиона при $4.0 < \text{pH} < 5.0$).

2.2. Флуоресцентные характеристики наномаркеров в растворах БСА при различных pH

Получены спектры флуоресценции наномаркеров флуоресцеина как в растворах без белка, так и в растворах с БСА при различных значениях pH. Вид спектров флуоресценции наномаркеров в растворах без белка аналогичен известным спектрам флуоресценции данных наномаркеров в [2, 3, 18], где они представлены для различных растворителей наномаркеров, а вид спектров флуоресценции наномаркеров в растворах с БСА схож с видом спектров флуоресценции этих наномаркеров в растворах САЧ, подробно представленных в [19].

Для наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах с БСА при всех исследованных значениях pH наблюдается небольшое красное смещение положения максимума спектра флуоресценции наномаркера по сравнению с растворами без белка, что объясняется связыванием наномаркера с белком [2, 7, 9, 13].

Например, при pH 5.0 максимум спектра флуоресценции флуоресцеина находится для растворов без белка на 510 нм, а для растворов с БСА — на 515 нм, максимум спектра флуоресценции эритрозина находится для растворов без белка на 550 нм, а для растворов с БСА на — 566 нм, максимум спектра флуоресценции эозина находится для растворов без белка на 544 нм, а для растворов с БСА на — 555 нм, максимум спектра флуоресценции бенгальского розового находится для растворов без белка на 563 нм, а для растворов с БСА на — 572 нм.

На рис. 3 представлены зависимости интенсивности в максимуме спектров флуоресценции ($I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$) наномаркеров семейства флуоресцеина от pH растворов, как содержащих БСА, так и не содержащих белок.

В растворах без белка при увеличении pH наблюдается увеличение $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ флуоресцеина, что связано с изменением заряда наномаркера. При значениях $\text{pH} < 5.5$ флуоресцеин находится в слабо положительно заряженной форме, обладающей небольшой способностью

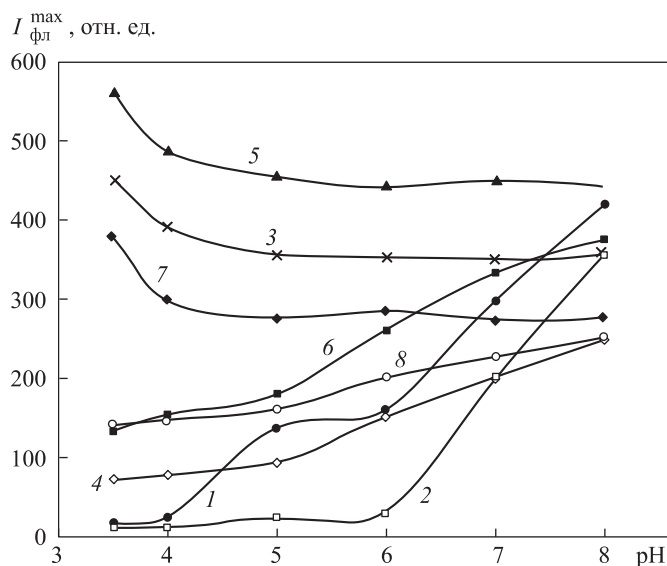


Рис. 3. Зависимость интенсивности в максимуме спектра флуоресценции наномаркеров семейства флуоресцеина от pH: 1 — флуоресцеина (3 мкМ), 2 — флуоресцеина (3 мкМ) с БСА (150 мкМ), 3 — эритрозина (30 мкМ), 4 — эритрозина (30 мкМ) с БСА (150 мкМ), 5 — эозина (30 мкМ), 6 — эозина (30 мкМ) с БСА (150 мкМ), 7 — бенгальского розового (3 мкМ), 8 — бенгальского розового (3 мкМ) с БСА (150 мкМ)

к флуоресценции. При значениях $5.5 < \text{pH} < 6.8$ молекулы флуоресцеина электрически нейтральны. В области $6.8 < \text{pH} < 8.0$ флуоресцеин слабо отрицательно заряжен и находится в форме моноаниона. При $\text{pH} > 8.0$ флуоресцеин сильно отрицательно заряжен и находится в форме дианиона. Отрицательно заряженные формы флуоресцеина обладают большей интенсивностью флуоресценции.

В растворах без белка $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ эритрозина уменьшается, а затем выходит на постоянное значение с увеличением pH. При значениях $\text{pH} < 3.6$ молекулы эритрозина электрически нейтральны. При $3.6 < \text{pH} < 5.5$ эритрозин слабо отрицательно заряжен (моноанион) и слабо экранируется дипольными молекулами воды, поэтому $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ высокая. При $\text{pH} > 5.5$ эритрозин заряжен сильно отрицательно (дианион), что вызывает его сильную экранировку молекулами воды и соответственно уменьшение $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ по сравнению с $\text{pH} < 5.5$.

В растворах без белка $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ эозина уменьшается, а затем выходит на постоянное значение с увеличением pH. При значениях $\text{pH} < 3.0$ молекулы эозина электрически нейтральны. При $3.0 < \text{pH} < 5.0$ эозин слабо отрицательно заряжен (моноанион) и слабо экранируется дипольными молекулами воды, поэтому $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ высокая. При $\text{pH} > 5.0$ эозин заряжен сильно отрицательно (дианион), что вызывает его сильную экранировку молекулами воды и, соответственно, уменьшение $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ по сравнению с $\text{pH} < 5.0$.

В растворах без белка $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ бенгальского розового уменьшается, а затем выходит на постоянное значение с увеличением pH. При значениях $\text{pH} < 2.6$ молекулы бенгальского розового электрически нейтральны. При $2.6 < \text{pH} < 4.0$ бенгальский розовый слабо отрицательно заряжен (моноанион) и слабо экранируется

дипольными молекулами воды, поэтому $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ высокая. При $\text{pH} > 4.0$ бенгальский розовый заряжен сильно отрицательно (дианион), что вызывает его сильную экранировку молекулами воды и соответственно уменьшение $I_{\text{фл}}^{\text{макс}}$ по сравнению с $\text{pH} < 4.0$.

Общей чертой для всех четырех наномаркеров семейства флуоресцеина при добавлении в раствор БСА является тушение флуоресценции, помимо указанного красного сдвига максимума спектра флуоресценции.

По тушению флуоресценции (см. рис. 3) флуоресцеина видно, что наибольшее связывание флуоресцеина с БСА происходит при $5.0 < \text{pH} < 6.0$, когда молекулы флуоресцеина либо слабо положительно заряжены (при $5.0 < \text{pH} < 5.5$), либо электрически нейтральны (при $5.5 < \text{pH} < 6.0$), а белок слабо отрицательно заряжен.

Судя по тушению флуоресценции (рис. 3), интенсивное связывание галоген-производных флуоресцеина с БСА происходит при значениях $\text{pH} < 5.0$, что обусловлено взаимным соотношением зарядов наномаркеров и БСА: БСА положительно заряжен, эозин в форме моноаниона при $3.0 < \text{pH} < 5.0$, эритрозин в форме нейтральной молекулы при $3.5 < \text{pH} < 3.6$ и моноаниона при $3.6 < \text{pH} < 5.5$, бенгальский розовый в форме моноаниона при $2.6 < \text{pH} < 4.0$ и дианиона при $4.0 < \text{pH} < 5.0$.

Заключение

В работе проведен анализ молекулярной ассоциации и флуоресцентных характеристик наномаркеров семейства флуоресцеина — флуоресцеина, эритрозина, эозина и бенгальского розового — в растворах БСА при различных значениях pH. Обнаружены как сходства, так и отличия в ассоциации и флуоресценции наномаркеров.

Среди общих черт для всех четырех наномаркеров семейства флуоресцеина следует назвать следующие. Во-первых, для всех наномаркеров семейства флуоресцеина характерно уменьшение степени молекулярной ассоциации $1-X$ в растворах с БСА по сравнению с растворами без белка. Во-вторых, в растворах с БСА у всех наномаркеров семейства флуоресцеина происходят тушение флуоресценции и красный сдвиг максимума спектра флуоресценции.

При этом наблюдаются отличия в молекулярной ассоциации при сравнении наномаркеров между собой. Во-первых, обнаружена различная зависимость от pH степени молекулярной ассоциации: у исходного соединения данного ряда — флуоресцеина — обнаружен нелинейный вид зависимости $1-X$ от pH с максимумом при pH 6.0, тогда как у галоген-производных флуоресцеина (эритрозина, эозина и бенгальского розового) зависимость $1-X$ от pH имеет монотонно убывающий характер при увеличении pH. Во-вторых, характер зависимости интенсивности флуоресценции наномаркера от pH различается для флуоресцеина и его галоген-производных. В-третьих, зависимости эффективности связывания наномаркера с БСА от pH различаются для флуоресцеина и его галоген-производных.

Зарегистрированные закономерности во флуоресцентных характеристиках и в молекулярной ассоциации наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах БСА схожи с полученными нами ранее результатами по данным наномаркерам в растворах сывороточного альбумина человека САЧ [7–17], что объясняется принадлежностью БСА и САЧ к одному гомологичному семейству альбуминов и одинаковыми механизмами взаимодействия наномаркеров семейства флуоресцеина с этими белками.

Обнаруженные закономерности в молекулярной ассоциации, во флуоресцентных характеристиках и в связывании с БСА для наномаркеров семейства флуоресцеина позволяют получить информацию о характере связывания этих наномаркеров с БСА, что имеет важный прикладной медицинский и фармакологический аспект при моделировании взаимодействия ряда лекарственных препаратов с БСА.

Список литературы

1. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. М., 1994.
2. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М., 1989.
3. Левшин Л.В., Салецкий А.М. Оптические методы исследования молекулярных систем. М., 1994.
4. Pelet S., Gratzel M., Moser J.-E. // J. Phys. Chem. B. 2003. **107**. С. 3215.
5. Birla L., Prieto B., Noguel T., et al. // Revue Roumaine Chimie. 2007. **52**, N 7. С. 639.
6. Власова И.М., Землянский А.Ю., Салецкий А.М. // Журн. прикл. спектроскопии. 2006. № 5. С. 661.
7. Бухарова Е.М., Власова И.М., Салецкий А.М. // Журн. прикл. спектроскопии. 2008. № 6. С. 782.
8. Власова И.М., Салецкий А.М. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 2009. № 4. С. 52.
9. Vlasova I.M., Saletsky A.M. // Curr. Appl. Phys. 2009. **9**, N 5. С. 1027.
10. Власова И.М., Кулешова А.А., Салецкий А.М. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 2011. № 5. С. 44.
11. Vlasova I.M., Bukharova E.M., Kuleshova A.A., Saletsky A.M. // Curr. Appl. Phys. 2011. **11**, N 5. С. 1126.
12. Vlasova I.M., Kuleshova A.A., Panchishin A.I., Vlasov A.A. // J. Mol. Struct. 2012. **1016**. С. 1.
13. Vlasova I.M., Saletsky A.M. // J. Mol. Struct. 2009. **936**. С. 220.
14. Vlasova I.M., Saletsky A.M. // Laser Physics Lett. 2008. **5**, N 11. С. 834.
15. Vlasova I.M., Polyansky D.V., Saletsky A.M. // Laser Physics Lett. 2007. **4**, N 5. С. 390.
16. Vlasova I.M., Saletsky A.M. // Laser Physics Lett. 2008. **5**, N 5. С. 384.
17. Власова И.М., Гордеева Ю.А., Власов А.А., Салецкий А.М. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 2012. № 2. С. 60.
18. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. М., 2007.
19. Власова И.М. Применение оптико-спектральных методов в исследованиях компонентов сыворотки крови: Дисс. ... канд. физ.-мат. наук. М., 2005.

Processes of molecular association and fluorescent characteristics of nanomarkers of fluorescein family in bovine serum albumin solution**I. M. Vlasova^{1,a}, A. A. Kuleshova¹, A. A. Vlasov², A. M. Saletsky^{1,b}**¹ *Department of General Physics;* ² *Department of Quantum Theory and High Energy Physics, Faculty of Physics, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia.**E-mail:* ^a *vlasovairina1979@mail.ru,* ^b *sam@phys.msu.ru.*

The analysis of molecular association and fluorescent characteristics of nanomarkers of fluorescein family — fluorescein, erythrosin, eosin, Bengal rose — in bovine serum albumin (BSA) solutions was made. The decrease of degree of molecular association in BSA solutions in comparison with solution without protein is the characteristic feature for all nanomarkers. The quenching of fluorescence and the red shift of spectrum of fluorescence take place in BSA solutions for all nanomarkers of fluorescein family. The differences between fluorescein and its halogen-derivatives in dependence of molecular association on pH are found out. Character of dependence of intensity of fluorescence of nanomarker on pH differs for fluorescein and its halogen-derivatives. The efficiency of binding of nanomarker to BSA in dependence on pH differs for fluorescein and its halogen-derivatives.

Keywords: fluorescein, eosin, erythrosin, Bengal rose, bovine serum albumin, nanomarker.*PACS:* 87.83.+a, 87.15.-v.*Received 24 March 2013.**English version: Moscow University Physics Bulletin 4(2013).***Сведения об авторах**

1. Власова Ирина Михайловна — канд. физ.-мат. наук, ст. преподаватель; тел.: (495) 939-14-89, e-mail: vlasovairina1979@mail.ru.
2. Кулешова Анна Александровна — аспирант; тел.: (495) 939-14-89, e-mail: ak2210first@yandex.ru.
3. Власов Александр Анатольевич — докт. физ.-мат наук, вед. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-16-47, E-mail: aav1956@mail.ru.
4. Салеский Александр Михайлович — докт. физ.-мат. наук, профессор, зав. кафедрой; тел.: (495) 939-14-89, E-mail: sam@phys.msu.ru.