

Исследование методами абсорбционной спектроскопии ассоциации эозина в растворах сывороточного альбумина человека
Бухарова Елена Михайловна (студент), Власова Ирина Михайловна (ассистент, кандидат физ. - мат. наук)
МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия
e-mail: vlasovairina1979@mail.ru

Исследование молекулярной ассоциации красителей важно в связи с широким использованием красителей в прикладных биологических задачах в качестве флуоресцентных зондов, связывающихся с белковыми макромолекулами. В данной работе представлены результаты исследований ассоциации молекулярного флуоресцентного зонда эозина в растворах сывороточного альбумина человека при различных значениях pH раствора и при различных концентрациях эозина.

В спектрах поглощения эозина в растворах наблюдается наличие двух максимумов поглощения – длинноволнового максимума мономеров и коротковолнового максимума ассоциатов. При увеличении pH раствора наблюдается синий сдвиг максимумов спектра поглощения эозина. В спектрах поглощения эозина в растворах с сывороточным альбумином человека наблюдается красный сдвиг максимумов спектров по сравнению со спектрами поглощения эозина в растворах без белка.

В работе рассчитана степень ассоциации молекул эозина в растворах, как содержащих, так и не содержащих сывороточный альбумин человека, при различных значениях концентрации красителя и при различных значениях pH раствора.

При увеличении значения pH наблюдается уменьшение степени ассоциации молекул эозина в растворах без белка. Данный эффект объясняется электростатическими причинами: при увеличении pH раствора возрастает отрицательный заряд молекул эозина, т.к. pK карбоксильной группы эозина имеет значение примерно 5,0. При значениях pH, больших pH 5,0, молекулы эозина отрицательно заряжены, и их взаимное отталкивание мешает образованию ассоциатов. При значениях pH, меньших pH 5,0, молекулы эозина переходят в нейтральную форму, что и облегчает их ассоциацию.

Степень ассоциации молекул эозина в растворах сывороточного альбумина человека меньше степени ассоциации молекул эозина в растворах без белка при соответствующих значениях pH раствора и соответствующих концентрациях эозина. Уменьшение степени ассоциации молекул эозина в белковых растворах объясняется связыванием эозина с молекулами альбумина и, соответственно, уменьшением доли несвязанных с белком молекул эозина, способных к образованию ассоциатов.

Более сильное уменьшение степени ассоциации молекул эозина в растворах альбумина по сравнению с растворами без белка имеет место при низких значениях pH раствора. Данный факт связан с тем, что при значениях pH, меньших pH 5,0, происходит эффективное связывание молекул альбумина и эозина вследствие электростатических причин. При этих значениях pH в растворе уменьшается количество свободных молекул эозина, а значит, уменьшается и степень ассоциации эозина в растворе. При увеличении значения pH выше 5,0 степень ассоциации эозина в белковых растворах по сравнению с растворами без белка уменьшается незначительно, что объясняется тем, что при этих значениях pH раствора отрицательно заряженные молекулы эозина плохо связываются с отрицательно заряженными молекулами альбумина.

Показано, что соотношение концентраций [альбумин]/[эозин] = 7,5 является оптимальным для использования данного красителя в качестве флуоресцентного зонда в исследованиях альбумина человека, т.к. дальнейшее увеличение концентрации красителя приведет к существенной ассоциации эозина, которая может мешать в оценке взаимодействия «белок – зонд».

* Авторы выражают глубокую признательность своему научному руководителю - профессору, доктору физ.-мат. наук Салецкому А.М. за оказанное внимание и помощь в выполнении работы.