

## АНАЛИЗ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСОВ ПОЛИМЕТИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С БЕЛКАМИ СЫВОРОТКИ КРОВИ МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА

Самцов М.П.<sup>1</sup>, Тарасов Д.С.<sup>1</sup>, Малюшкова Е.В.<sup>2</sup>, Хлудеев И.И.<sup>3</sup>,  
Луговский А.П.<sup>1</sup>, Семак И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко Белорусского государственного университета  
г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Белорусский государственный университет  
г. Минск, Беларусь

<sup>3</sup> Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники  
ул. П. Бровки, 6, г. Минск, 220013, Беларусь; e-mail: ivan2khl@mail.ru

Поступила в редакцию: 16.07.2021

**Аннотация.** В статье представлены результаты исследований комплексообразования трикарбоцианиновых красителей с белками плазмы крови с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Основная полоса поглощения исследуемых красителей находится в ближней ИК-области, что затрудняет их визуальное обнаружение на электрофореграмме. В связи с этим определение локализации красителей осуществлялось по их флуоресценции с помощью лазерного флуоресцентного спектрометра. Для сканирования гелей с координатной привязкой использовалось устройство, представляющее собой платформу, перемещаемую микрометрическими винтами, на которой перпендикулярно плоскости измерения закреплялся держатель оптоволоконного спектрометра. Сканирование гелей проводили до стадии окрашивания и визуализации белков, во время которой обнаруживалась необратимая деструкция трикарбоцианиновых красителей. Координаты фиксировались относительно границ гелей, что позволяло совместить на электрофореграмме распределение белков и индотрикарбоцианиновых красителей. Белки в комплексах с красителями идентифицировали по их молекулярной массе. На примере исследования с использованием гель-электрофореза растворов сыворотки крови человека и бычьего сывороточного альбумина, окрашенных трикарбоцианиновыми красителями, показана возможность обнаружения и идентификации комплексов красителей с белками сыворотки крови. В результате было обнаружено, что трикарбоцианиновые красители с хлорзамещенным ортофениленовым мостиком способны образовывать ковалентные комплексы с альбумином и аполипопротеином А-I, основным структурным элементом липопротеинов высокой плотности. Было показано, что полиэтиленгликоли с молекулярной массой 300 Да на концевых группах красителей не влияют на это свойство.

**Ключевые слова:** трикарбоцианиновые красители, комплексообразование, белки плазмы крови, гель-электрофорез, лазерно-индуцированная флуоресцентная спектроскопия.

### ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых материалов и методов в области медицины и биотехнологий является общемировым трендом в направлениях развития научных исследований. Полиметиновые красители (ПК) благодаря широким возможностям структурной модификации стали важным объектом исследований для различных медико-биологических приложений. В НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ целенаправленно ведется разработка фотосенсибилизаторов (ФС) на основе трикарбоцианиновых красителей для тераностики злокачественных новообразований. По результатам комплексных исследований фотофизических свойств ряда индотрикарбоцианиновых красителей в модельных средах и опухолевых моделях на экспериментальных животных *in vivo* выделен краситель с оптимальными свойствами [1]. Отличительными особенностями его структуры являются наличие хлорзамещенного ортофениленового мостика в цепи сопряжения и двух цепочек полиэтиленгликолей (ПЭГ) с молекулярной массой 300 Да, которые ковалентно связаны с концевыми группами. Структурная модификация с помощью полиэтиленгликолей обеспечила новому фотосенсибилизатору высокую растворимость в воде и биосовместимость.

Эффективность ФС во многом зависит от избирательности его накопления в опухолевых тканях. Большое количество исследований посвящено разработкам новых способов адресной доставки препаратов. Один из путей решения этого вопроса – использование комплексов молекул ФС с носителями, которые обеспечивают эффективное накопление в опухолевых клетках. В этом плане отдельного внимания в качестве эндогенных переносчиков заслуживают компоненты плазмы крови – белки и липопротеины. В работе [2] с помощью методов спектрофотометрии и эксклюзионной хроматографии показано образование комплексов трикарбоцианиновых красителей с белками плазмы крови. Однако, использованные в работе методы не позволяли точно определить с какими именно белковыми структурами образуются комплексы, а также установить характер связи в них.

Электрофоретический метод разделения белков стандартно используется для идентификации белков по их молекулярной массе [3]. Можно ожидать, что комплексы трикарбоцианиновых красителей, ковалентно связанные с белками плазмы крови, будут обнаруживаться на электрофореграмме в полосах соответствующих

белков. В частности, такой подход используется в исследованиях с помощью гель-электрофореза протеинов, окрашенных коммерческими флуоресцентными маркерами на основе полиметиновых красителей Су3 и Су5 [4]. Данная работа посвящена исследованию окрашивания трикарбоцианиновыми красителями белков сыворотки крови с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

### МЕТОДИКА

Основным объектом исследования выступал разработанный в лаборатории спектроскопии НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ симметричный индотрикарбоцианиновый краситель ПК220, который по многим параметрам перспективен для использования в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии (ФДТ) [1], а также два близких по структуре красителя – ПК154 и ПК222. У первого по сравнению с ПК220 отсутствуют полиэтиленгликоли на концевых группах, а у второго – хлорзамещенный ортофениленовый мостик.

В качестве модельных сред использовали 5 % раствор сыворотки крови человека (СКЧ), а также раствор бычьего сывороточного альбумина (БСА, концентрация белка 2 г/л). Сыворотку крови получали путем свертывания крови и осаждения клеточного сгустка центрифугированием. Альбумин является основным транспортным белком сыворотки крови [5,6], что обуславливает важность исследований взаимодействия красителей с ним. С другой стороны, это хорошая модель с одним типом белка для отработки методики анализа окрашенных красителями белковых растворов.

Растворы готовили в натрий-калиевом фосфатном буфере Дюльбекко (0,14 моль/л) с pH=7,4 (ФСБ). Концентрация белков в анализируемых на электрофорезе образцах составляла порядка 30 мкМ, что обеспечило эффективное обнаружение различных белковых фракций. Стоковые растворы красителей готовили в ФСБ. Краситель ПК154 обладает низкой растворимостью в воде, поэтому стоковый раствор для него готовили с добавлением 5% этанола. Исследования проводили для двух концентраций красителей – 30 мкМ и 10 мкМ.

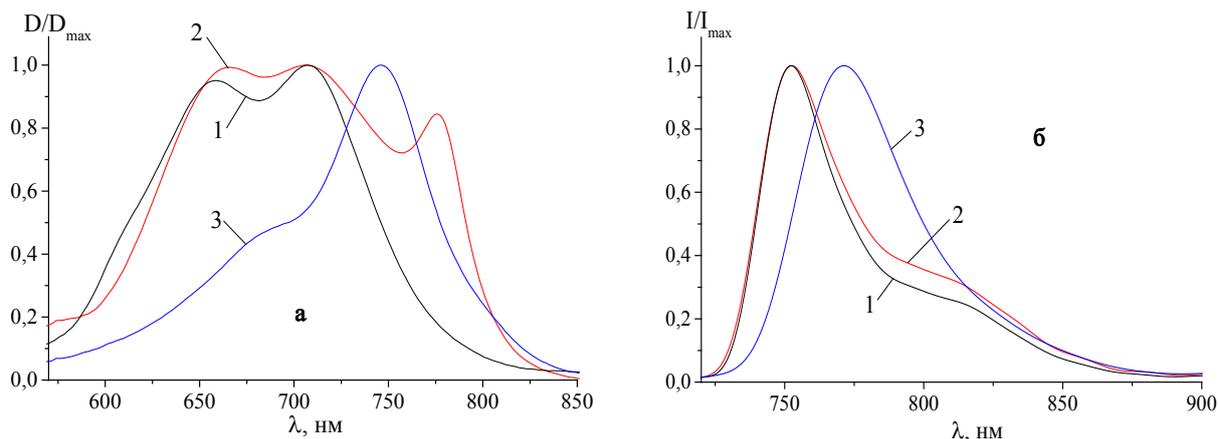
Спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометра Solar PV1251. Люминесцентные характеристики изучали с помощью спектрофлуорометра Fluogolog. В отдельных экспериментах использовали лазерный флуоресцентный спектрометр с длиной волны возбуждающего лазера 684 нм [7], в котором подвод возбуждающего излучения к исследуемому образцу и отвод свечения флуоресценции в полихроматор осуществлялся с помощью оптоволоконка.

Анализ связывания красителей с белками в растворах СКЧ и БСА выполняли с помощью электрофореза белков по методу Лэмли в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия в восстанавливающих условиях (SDS-PAGE). Электрофоретическое разделение белков проводили в 15% полиакриламидном геле в диссоциирующих условиях. Визуальное обнаружение локализации исследованных красителей на электрофореграмме затруднительно в связи с тем, что основная полоса поглощения исследуемых красителей располагается в области 700-800 нм. Поэтому, для регистрации расположения молекул красителей в белковых фракциях в результате гель-электрофореза использовано устройство, состоящее из перемещаемой микрометрическими винтами платформы, над которой перпендикулярно плоскости измерения закреплен держатель световода лазерного флуоресцентного спектрометра. Координаты локализации молекул красителей в составе белков определяли по устойчивому превышению сигнала флуоресценции красителей по сравнению с фоновым, который регистрировался вне области расположения гелевой пластины с белковыми полосами относительно светокolleктора. В связи с тем, что на стадии окрашивания используются агрессивные среды, которые приводят к необратимой деструкции индотрикарбоцианиновых красителей, места локализации красителей на электрофореграмме определяли до начала обработки гелевой пластины 30% раствором трихлорукусной кислоты и процедуры окрашивания и визуализации полос белков раствором Кумасси. В обоих случаях координаты фиксировались относительно границ геля, что позволило совместить в последствии расположение белковых полос и индотрикарбоцианиновых красителей на электрофореграмме. Отсутствие деструкции красителей на стадии электрофоретического разделения белков подтверждено спектральными измерениями при моделировании соответствующих условий в кювете.

После детектирования красителя осуществляли осаждение белков в геле с помощью 30% раствора трихлорукусной кислоты. Далее проводили окрашивание раствором Кумасси. После окрашивания, гель отмывали 7% уксусной кислотой до полного обесцвечивания фона. Имеющееся в распоряжении оборудование позволяет исследовать на одной электрофореграмме до 9 образцов. Для определения молекулярной массы белков в одну из лунок вносили набор белков-стандартов с известными молекулярными массами – от 10 кДа до 200 кДа. Полученные визуализированные электрофореграммы исследуемых образцов фиксировали с помощью фотокамеры, и на снимки переносили координаты обнаружения красителей.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектральные характеристики красителей в фосфатно-солевом буфере определяются процессом агрегации молекул в водном окружении. В водном окружении гидрофобный краситель ПК154 без ПЭГ склонен к сильной агрегации по Н- и J-типу в зависимости от концентрации красителя, pH раствора и температуры [8]. В спектрах поглощения его растворов в ФСБ обнаруживаются полосы, соответствующие мономерам, Н- и J-агрегатам (рис. 1). Максимум полосы поглощения мономеров располагается вблизи 707 нм. Краситель ПК220

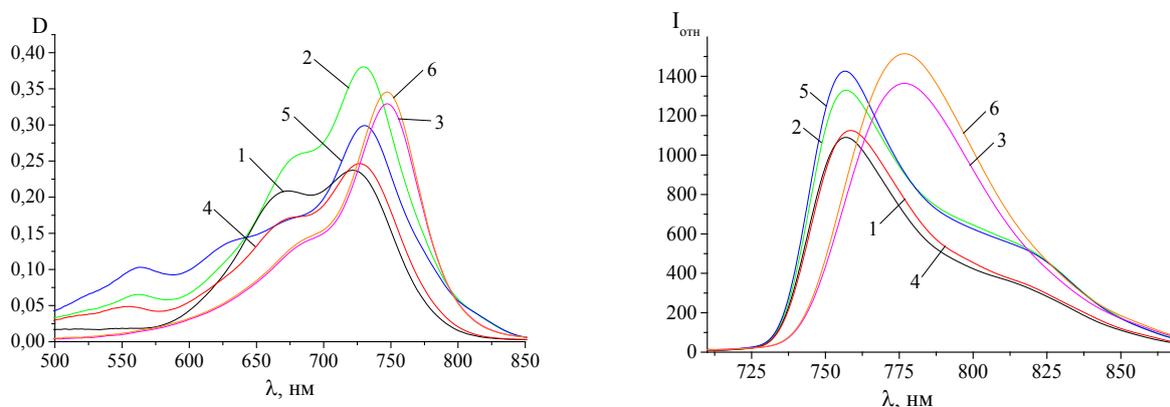


**Рисунок 1.** Спектры поглощения (а) и флуоресценции (б) при возбуждении излучением с длиной волны 684 нм растворов трикарбоцианиновых красителей (10 мкМ) в фосфатно-солевом буфере Дюльбекко (0,14М, рН 7,4): 1 – ПК220, 2 – ПК154, 3 – ПК222

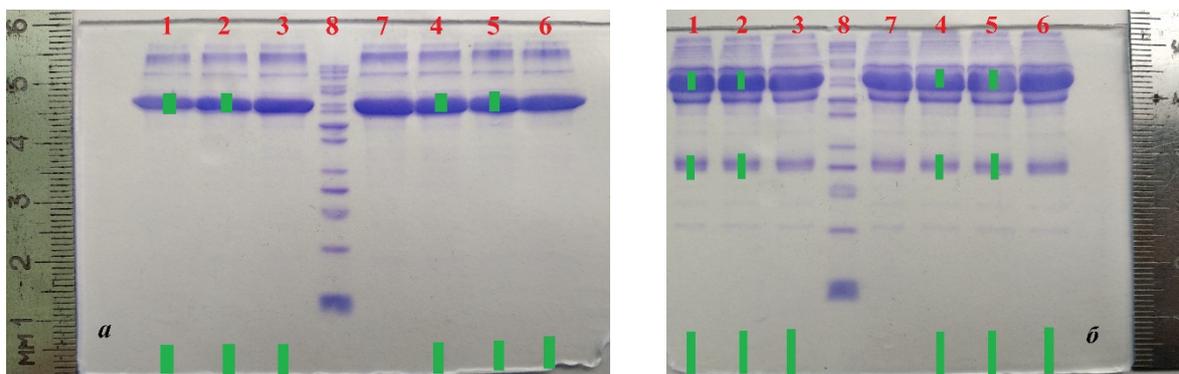
гидрофильный [9], его растворы в ФСБ представляют собой равновесную смесь мономеров и димеров Н-типа. Максимум поглощения мономеров располагается на длине волны 708 нм. Следует отметить, что при одинаковой концентрации краситель ПК220 в ФСБ агрегирован в меньшей степени по сравнению с его прекурсором без ПЭГ – ПК154. Анализ спектрально-люминесцентных свойств ПК222 в растворах в ФСБ позволяет утверждать, что его молекулы находятся преимущественно в форме мономеров (максимум поглощения – 746 нм).

Спектральные параметры растворов ПК220 и ПК154 в присутствии белковых молекул сыворотки крови (рис. 2) существенно отличаются от таковых в ФСБ: наблюдается смещение максимума поглощения (ПК220 – 723 нм, ПК154 – 730 нм) и флуоресценции (ПК220 – 757 нм, ПК154 – 757 нм) в длинноволновую область, уменьшается поглощение в полосе агрегатов, возрастает квантовый выход и время жизни флуоресценции.

Подобное батохромное смещение положения спектров для данных красителей наблюдается при переходе от полярных растворителей к малополярным. Следовательно, в растворах с сывороткой крови молекулы красителей находятся в микроокружении с более низкой полярностью вследствие образования комплексов с белковыми молекулами. При эквимольной концентрации белков и красителей (30 мкМ) в основной полосе поглощения наряду с интенсивной полосой мономеров наблюдается и полоса ассоциатов красителя. В растворах с пониженной концентрацией красителей (10 мкМ) при сохранении концентрации белков ~30 мкМ уменьшается поглощение в полосе ассоциатов (коротковолновый край основной полосы), точное определение степени ассоциации красителей требует более детальных исследований. Для анализа окрашенных красителями растворов СКЧ с помощью электрофореза важно учитывать, что связывание молекул красителей происходит в мономерной и агрегированной формах. Не обнаружено влияние белков сыворотки крови на спектрально-люминесцентные свойства ПК222, у которого отсутствует хлорзамещенный ортофениленовый мостик на полиметиновой цепи сопряжения.



**Рисунок 2.** Спектры поглощения (а) и флуоресценции (б) при возбуждении излучением с длиной волны 684 нм растворов трикарбоцианиновых красителей (30 мкМ) в СКЧ для денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле: 1 – ПК220, 22 °С; 2 – ПК154, 22 °С; 3 – ПК222, 22 °С; 4 – ПК220, 37 °С; 5 – ПК154, 37 °С; 6 – ПК222, 37 °С



**Рисунок 3.** Электрофореграммы окрашенных трикарбоцианиновыми красителями растворов БСА (а) и СКЧ (б): 1 – ПК220, 22 °С; 2 – ПК154, 22 °С; 3 – ПК222, 22 °С; 4 – ПК220, 37 °С; 5 – ПК154, 37 °С; 6 – ПК222, 37 °С; 7 – раствор без красителей; 8 – набор белков стандартов с известными молекулярными массами

Характерное время образования комплексов красителей ПК220 и ПК154 с белками в растворах СКЧ и БСА удалось оценить путем измерения спектров флуоресценции с помощью лазерного флуоресцентного спектрометра. При добавлении СКЧ или БСА в ФСБ происходит смещение в длинноволновую область спектра флуоресценции данных красителей в пределах времени регистрации сигнала спектрометром (200–500 мс). С течением времени после введения наблюдается медленная деформация спектров поглощения и флуоресценции – смещение в длинноволновую область, которая наиболее выражена у ПК220. Скорость данного процесса зависит от температуры, при комнатной температуре (~20 °С) выход на квазистационарное состояние занимает ~24 часов, при 37 °С ~100–140 минут [2]. В связи с этим исследования на электрофорезе проводились для двух серий образцов, которые инкубировали при комнатной температуре (22 °С) или в течение 120 минут при 37 °С.

В результате сканирования лазерным флуоресцентным спектрометром гель-электрофореграммы обнаружено несколько позиций с выраженным сигналом, близким по спектральному составу с сигналом флуоресценции исследованных красителей. На фотографиях гелей после окрашивания эти позиции отмечены метками (рис. 3). В пределах полос, соответствующих положению белков, не окрашенных красителями, никакого свечения при возбуждении лазером с длиной волны 684 нм не наблюдали.

Прежде всего, следует обратить внимание на сигнал флуоресценции вблизи полосы белков с молекулярной массой (72±4) кДа в образцах, окрашенных красителями ПК220 и ПК154 растворов БСА. Сигнал флуоресценции наблюдали для двух серий: без и с инкубацией при 37 °С в течение 2 часов. Молекулярная масса бычьего сывороточного альбумина – 69 кДа, учитывая пространственное разрешение сканирующей системы, можно утверждать, что флуоресценция в данной области соответствует ковалентным комплексам ПК220 и ПК154 с альбумином.

Выраженный сигнал флуоресценции ПК220 и ПК154 вблизи полосы альбумина человека (66,5 кДа) также обнаружен на электрофореграмме образцов в растворах СКЧ – (68±4) кДа. В работах [10–12] отмечали способность к образованию ковалентного комплекса с альбумином красителей, имеющих в своей структуре хлор в мезо-положении. Наиболее вероятный путь – это взаимодействие с единственным свободным остатком Cys34 в молекуле САЧ с замещением мезо-SI в молекуле красителя [12].

Интенсивность флуоресценции ПК в пределах полосы альбумина для образцов, которые инкубировались при 37 °С в течение 2 часов, приблизительно в 4 раза больше по сравнению с образцами без инкубации. Это подтверждает растянутый во времени процесс образования вторичных комплексов.

Для всех красителей обнаружен интенсивный сигнал флуоресценции на нижнем краю геля. Согласно экстраполяции стандарта, эта область соответствует приблизительно 1,5–6,0 кДа. При этом после окрашивания геля здесь не обнаруживаются визуальное присутствие каких-либо белков. Молекулярная масса исследованных красителей: ПК154 – 740 г/моль, ПК220 – 1270 г/моль, ПК222 – 1117 г/моль. Учитывая точность определения координаты, справедливо утверждать, что в данной области обнаруживаются несвязанные с белками красители.

В пределах полос разделения образцов ПК220 и ПК154 в СКЧ обнаружен также сигнал флуоресценции красителя вблизи полосы белков с молекулярной массой (25±3) кДа, где располагается полоса аполипротеина А-I (АроА-1, 24,7 кДа). Данный белок является основным структурным элементом липопротеинов высокой плотности (ЛВП) [13]. В работе [14] показано, что при гель-электрофорезе в полиакриламидном геле данный белок наблюдается для ЛВП всех типов и в следовых количествах у липопротеинов низкой плотности (ЛНП). Основным структурным элементом ЛНП является аполипротеин В (АроВ). В человеческой плазме он существует в двух основных изомерных формах АроВ-100 (550 кДа) и АроВ-48 (264 кДа) и в условиях денатурирующего гель-электрофореза аполипротеины В наблюдаются в соответствующих белковых полосах [15]. Однако в настоящей работе использовался электрофорез с параметрами разделяющего раствора для диапазона молекулярных масс 10–200 кДа.

Постоянство спектральных параметров ПК222 в растворах с белками сыворотки крови, а также то обстоятельство, что при электрофоретическом разделении окрашенных данным красителем растворов СКЧ и БСА достоверный сигнал флуоресценции обнаружен только в области несвязанного с белками красителя,

позволяют утверждать, что ковалентное связывание трикарбоцианиновых красителей с альбумином и липопротеинами высокой плотности сыворотки крови происходит с участием хлорзамещенного ортофениленового мостика. Полиэтиленгликоли с молекулярной массой 300 Да не влияют на эффективность образования трикарбоцианиновыми красителями ковалентных комплексов с альбумином и липопротеинами высокой плотности.

Таким образом, проведенное исследование с помощью гель-электрофореза окрашенных трикарбоцианиновыми красителями растворов сыворотки крови человека и бычьего сывороточного альбумина показало возможность обнаружения и идентификации комплексов ПК с белками сыворотки крови. Установлено, что трикарбоцианиновые красители с хлорзамещенным ортофениленовым мостиком способны образовывать ковалентные комплексы с альбумином и липопротеинами высокой плотности. Показано, что полиэтиленгликоли с молекулярной массой 300 Да на концевых группах не препятствуют процессу комплексообразования.

#### Список литературы/References:

1. Lugovski A.A., Samtsov M.P., Kaplevsky K.N. et al. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2016, vol. 316, pp. 31-36.
2. Белько Н.В., Хлудеев И.И., Зорин В.П. и др. Влияние комплексообразования с белками плазмы крови на спектральные характеристики трикарбоцианиновых красителей. *Весті БДПУ. Серія 3. Фізика. Математика. Інфарматика. Біологія. Географія*, 2018, т. 1, с. 14-20. [Belko N.V., Khludeev I.I., Zorin V.P. et al. Effect of complexation with blood plasma proteins on the spectral characteristics of tricarbocyanine dyes. *Vesci BDPU. Gray 3. Physics. Matematika. Infarmatika. Bialogia. Geography*, 2018, vol. 1, pp. 14-20. (In Russ.)]
3. Hames B.D. Gel electrophoresis of proteins: a practical approach. Oxford, OUP, 1998, vol. 197.
4. Namada A., Sharma R., Du Plessis S.S. et al. Two-dimensional differential in-gel electrophoresis-based proteomics of male gametes in relation to oxidative stress. *Fertility and sterility*, 2013, vol. 99, no. 5, pp. 1216-1226.
5. Tillement J.P., Houin G., Zini R. et al. The binding of drugs to blood plasma macromolecules: Recent advances and therapeutic significance. *Adv. Drug Res.*, 1984, vol. 13, pp. 59-94.
6. Quinlan G.J., Martin G.S., Evans T.W. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology*, 2005, vol. 41, no. 6, pp. 1211-1219.
7. Ермалицкий Ф.А., Радько А.Е., Каплевский К.Н. и др. Спектрометрический комплекс для фотохимиотерапии с мощным светодиодом. *Лазерная и оптико-электронная техника*, 2008, с. 254-263. [Ermalitsky F.A., Radko A.E., Kaplevsky K.N. et al. Spectrometric complex for photochemotherapy with a powerful light-emitting diode. *Laser and optoelectronic engineering*, 2008, pp. 254-263. (In Russ.)]
8. Белько Н.В., Самцов М.П., Луговский А.П. Управление H\* - и J-агрегацией индотрикарбоцианинового красителя в водных растворах неорганических солей. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*, 2020, vol. 2, pp. 19-27. [Belko N.V., Samtsov M.P., Lugovsky A.P. Control of H\* - and J-aggregation of indotricarbocyanine dye in aqueous solutions of inorganic salts. *Journal of the Belarusian State University. Physics*, 2020, vol. 2, pp. 19-27. (In Russ.)]
9. Тарасов Д.С., Каплевский К.Н., Самцов М.П. и др. Анализ спектральных свойств многокомпонентных растворов нового индотрикарбоцианинового красителя. *Вестник БГУ*, 2015, сер. 1, № 2, с. 8-12. [Tarasov D.S., Kaplevsky K.N., Samtsov M.P. and other Analysis of the spectral properties of multicomponent solutions of a new indotricarbocyanine dye. *Bulletin of BSU*, 2015, vol. 1, no. 2, pp. 8-12. (In Russ.)]
10. Кузьмин В.А., Дурандин Н.А., Лисицына Е.С. и др. Спектрально-кинетические характеристики комплексообразования между индотрикарбоцианином и альбумином. *Докл. РАН*, 2015, т. 462, № 2, с. 182-184. [Kuzmin V.A., Durandin N.A., Lisitsyna E.S. et al. Spectral and kinetic characteristics of complexation between indotricarbocyanine and albumin. *Dokl. RAS*, 2015, vol. 462, no. 2, pp. 182-184. (In Russ.)]
11. Awasthi K., Nishimura G. Modification of near-infrared cyanine dyes by serum albumin protein. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2011, vol. 10, no. 4, pp. 461-463.
12. Usama S.M., Lin C-M., Burgess K. On the Mechanisms of Uptake of Tumor-Seeking Cyanine Dyes. *Bioconjugate Chem.*, 2018, vol. 29, no. 11, pp. 3886-3895.
13. van der Vorst E.P.C. High-density Lipoproteins and Apolipoprotein A1. Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins. *Springer, Cham.*, 2020, vol. 94, pp. 399-420.
14. Cameron S.J., Morrell C.N., Bao C. A novel anti-inflammatory effect for high density lipoprotein. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 12, e0144372.
15. Kim J.Y., Kim S.M., Kim S.J. et al. Consumption of policosanol enhances HDL functionality via CETP inhibition and reduces blood pressure and visceral fat in young and middle-aged subjects. *International journal of molecular medicine*, 2017, vol. 39, no. 4, pp. 889-899.

**ANALYSIS OF THE PROPERTIES OF POLYMETHINE DYES COMPLEXES WITH BLOOD SERUM PROTEINS BY GEL ELECTROPHORESIS****Samtsov M.P.<sup>1</sup>, Tarasov D.S.<sup>1,2</sup>, Maliushkova E.V.<sup>2</sup>, Khludeyev I.I.<sup>3</sup>, Lugovski A.A.<sup>1</sup>, Semak I.V.<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Institute of Applied Physical Problems named after A.N. Sevchenko Belarusian State University*Minsk, Belarus*<sup>2</sup>Belarusian State University*Minsk, Belarus*<sup>3</sup>Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics*st. P. Brovka, 6, Minsk, 220013, Belarus; e-mail: ivan2khl@mail.ru*

**Abstract.** The paper presents the results of studies of the complexation of tricarbocyanine dyes with blood plasma proteins using polyacrylamide gel electrophoresis. The main absorption band of the dyes under study is located in the near-IR region, which complicates their visual detection on an electrophoregram. In this regard, the detection of localization of dyes was carried out by their fluorescence using a laser fluorescence spectrometer. For scanning gels with a coordinate binding, a device was used, which consisted of a platform movable by micrometric screws, on which the spectrometer fiber holder was fixed perpendicular to the measurement plane. Scanning of the gels was performed until the stage of staining and visualization of proteins, at which irreversible destruction of tricarbocyanine dyes was detected. The coordinates were fixed relative to the boundaries of the gels, which made it possible to combine the distribution of proteins and indotricarbocyanine dyes on the electrophoregram. Proteins in complexes with dyes were identified by their molecular weight. On the example of a study using gel electrophoresis of solutions of human serum and bovine serum albumin stained with tricarbocyanine dyes, the possibility of detecting and identifying complexes of dyes with blood serum proteins has been shown. As a result, it was found that tricarbocyanine dyes with a chlorine-substituted orthophenylene bridge are able to form covalent complexes with albumin and Apolipoprotein A-I, the main structural element of high-density lipoproteins. It has been shown that polyethylene glycols with a molecular weight of 300 Da at the end groups of dyes do not affect this property.

**Key words:** *tricarbocyanine dyes, complexation, blood plasma proteins, gel-electrophoresis, laser-induced fluorescence spectroscopy.*