

## БИОКОНЬЮГИРОВАНИЕ КОЛЛОИДНЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК СУЛЬФИДОВ КАДМИЯ И НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР БЕЛКА-ПОРИНА ИЗ БАКТЕРИЙ РОДА *YERSINIA*. ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА

Набережных Г.А.<sup>1</sup>, Сергеев А.А.<sup>2</sup>, Портнягина О.Ю.<sup>1</sup>, Чистюлин Д.К.<sup>1</sup>, Сидорин Е.В.<sup>1</sup>, Новикова О.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

г. Владивосток, 690022, РФ; e-mail: naber1953@mail.ru

<sup>2</sup> Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН

г. Владивосток, 690022, РФ

Поступила в редакцию: 24.07.20

**Аннотация.** Флуоресцентные квантовые точки (КТ) на основе сульфида кадмия являются перспективными материалами для оптики, оптоэлектроники, биологии и медицины. В последние годы наметился значительный прогресс в использовании наноматериалов для создания биосенсоров, в том числе с использованием белковых структур. Нативные или искусственно сконструированные биосенсоры с использованием ион-проводящих каналов являются весьма перспективным классом наноструктур. В данной работе апробированы различные подходы для формирования упорядоченных надмолекулярных структур поринов иерсиний (*Yersinia pseudotuberculosis* *Y. ruckeri*), меченных КТ: (1) конъюгирование пориновой матрицы с предварительно полученными стабилизированными КТ и (2) синтез КТ в предварительно сформированной на слюде пориновой матрице в поддерживающем липидном бислое. Размеры КТ и их конъюгатов с белками измеряли с помощью метода динамического рассеяния света (непосредственно в водной суспензии). Морфологию поверхности образцов исследовали методом атомно-силовой микроскопии. Для характеристики оптических свойств полученных конъюгатов была использована сканирующая флуоресцентная спектроскопия. Обнаружено, что интенсивность люминесценции биоконъюгатов существенно зависит от способа приготовления КТ и образца белка (изолированный порин или комплекс порин-пептидогликан). Показано что в зависимости от типа образца в спектрах возбуждения люминесценции наблюдается сдвиг края фундаментального поглощения КТ. Это указывает на формирование различных по диаметру КТ и, следовательно, на возможность управления их размерами в зависимости от структуры белковой матрицы. Полученные данные открывают перспективу использования наноструктур на основе бактериальных поринов, меченных КТ, в качестве биосенсоров.

**Ключевые слова:** порин, сульфид кадмия, квантовые точки, конъюгация, люминесценция.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы наметился значительный прогресс в использовании наноматериалов для создания биосенсоров, в том числе с использованием белковых структур, которые, вследствие их эндогенной способности к самосборке и молекулярному распознаванию, являются идеальными наноструктурированными шаблонами для разработки и синтеза наноматериалов. Квантовые точки (КТ) представляют собой полупроводниковые флуоресцентные нанокристаллы, размеры которых меньше боровского радиуса экситона [1], величина которого для сульфида кадмия составляет порядка 5,8 нм [2]. При указанных размерах в наночастицах начинает проявляться квантово-размерный эффект – зависимость оптических свойств (поглощение и люминесценция) от размера частицы. Благодаря этим необычным свойствам, КТ представляют собой новое поколение флуорохромов, обладающих значительными преимуществами по сравнению с традиционными органическими красителями, такими как флуоресцеин, родамин и их производные FITC и TRITC, и флуоресцентными белками – фикоэритрином (PE), зеленым флуоресцентным белком (GFP) и др.

Уникальные оптические свойства КТ позволяют использовать их практически во всех системах мечения и визуализации биологических объектов. В связи с этим, применение квантовых точек в иммуногистохимии, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH и аналогичные методы) и в проточной цитометрии является весьма перспективным. Комбинация техники биочипов и полупроводниковых КТ позволяет увеличить чувствительность метода и значительно повысить число детектируемых объектов (степень мультиплексности). Такой подход должен обеспечить существенный прорыв в решении задач протеомики и клинической диагностики, а также при идентификации различных молекулярных маркеров в целях понимания внутриклеточных механизмов.

В данной работе апробированы различные подходы для формирования новых люминесцентных биоконплексов, перспективных для задач оптической сенсорики, состоящих из упорядоченных надмолекулярных структур поринов иерсиний (*Y.pseudotuberculosis* и *Y. ruckeri*), меченных КТ: (1) конъюгирование пориновой матрицы с предварительно полученными стабилизированными КТ и (2) синтез КТ на предварительно сформированной на слюде пориновой матрице в поддерживающем липидном бислое.

Применение различных способов синтеза КТ и мечения ими белковой матрицы позволит получить функциональные сенсорные структуры, реагирующие на воздействие аналитов различной природы (ионы металлов и/или биомолекулы).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Культивирование бактерий.* В работе использовали штамм H-557 *Y. pseudotuberculosis* 0:1В серовара. Культивирование микроорганизмов проводили при 4 °С на питательном бульоне (Махачкала, Россия) в колбах (1л) с интенсивной аэрацией в течение 5 суток.

*Выделение порина и его комплексов с пептидогликаном (ПГ).* Комплекс ПГ-порин из *Y. pseudotuberculosis* (YpПГ) получали экстракцией бактериальных клеток ионным детергентом додецилсульфатом натрия (ДСН) по методу Розенбуша [3]. Изолированные порины получали согласно процедурам, описанным в работах: [4] для порина из *Y. pseudotuberculosis* (YpOmpF) и [5] для порина из *Y. ruckeri* (YrOmpF). Для очистки белков использовали гель-хроматографию на Sephacryl S-300 HR (Pharmacia, Швеция) в Трис-НСl буфере (0,03 М, рН 7,5), содержащем 0,25 % ДСН. В результате были получены электрофоретически гомогенные образцы поринов, содержащие исследуемые белки в нативной тримерной форме.

*Получение стабилизированных КТ.* Синтез квантовых точек сульфида кадмия проводили по методу описанному в работе [6] Для синтеза квантовых точек сульфида кадмия были приготовлены водные растворы ацетата кадмия (7 мМ), меркаптоянтарной кислоты (14 мМ), используемой в качестве стабилизатора квантовых точек и сульфида натрия (7 мМ). Смешение растворов (при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке) проводили в следующей последовательности: в раствор меркаптоянтарной кислоты вводили раствор ацетата кадмия, а затем добавляли NaOH до рН раствора 10,0. Полученную смесь продолжали перемешивать на водяной бане при 60 °С в течение 30 мин. В течение следующих 30 мин в смесь по каплям добавляли раствор сульфида натрия. Полученную реакционную смесь нагревали в термостате Binder 53 (Binder, Германия) при температуре 80 °С в течение часа. Для очистки от непрореагировавших компонентов реакционной смеси синтезированные квантовые точки осаждали этанолом (1:5 v/v по отношению к объему раствора КТ) с последующим суспендированием полученного осадка в дистиллированной воде.

*Получение пориновой матрицы на слюде и введение в нее КТ.* Формирование на слюде поддерживающего липидного бислоя из липосом (SLB-support lipid bilayer), состоящих из дидодецилфосфатидил холина, и последующую реконструкцию образцов порина и ПГ-порин осуществляли по методу [7]. Для включения порина или ПГ-порина в предварительно сформированный бислой на слюду наносили 10 мкл порина (100 мкг/мл) в ацетатном буфере (0,05 М, рН 5,5), выдерживали в течение 1 ч и отмывали от несвязавшегося белка ацетатным буфером. Конъюгацию КТ с иммобилизованными белками проводили двумя методами. В первом методе предварительно полученные КТ связывали с белками помощью водорастворимого карбодиимида (Sigma, США). Во втором методе КТ получали непосредственно на иммобилизованных белках. На слюду с порином наносили 10 мкл раствора 7 мМ CdCl<sub>2</sub> в воде, затем наносили 10 мкл раствора 7 мМ Na<sub>2</sub>S в воде и смесь выдерживали в течение 60 мин при 25 °С. Несвязавшиеся реагенты отмывали ацетатным буфером (5 раз по 20 мкл).

*Атомно-силовая микроскопия (АСМ).* Морфологию поверхности образцов исследовали с помощью атомно-силового микроскопа Nano DST (PNI, USA). Изображения получали в полуконтактном режиме с использованием сверхострого кантилевера с диаметром острия 1 нм.

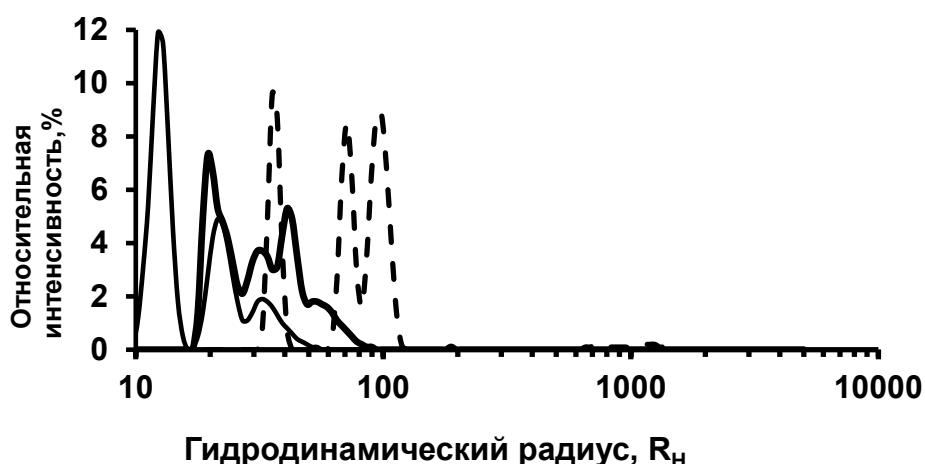
*Метод динамического рассеяния света (ДРС).* Измерение размеров КТ и их конъюгатов с белками в растворе было проведено методом ДРС с использованием прибора ZetaSizer Nano ZS («Malvern», Великобритания), оснащенный He-Ne-лазером ( $\lambda = 633$  нм, 4 мВт), в кювете 10 x 10 мм при температуре 20 °С при фиксированном угле рассеяния 173°. Время накопления данных составило 15-30 мин. Расчет Z average (среднего гидродинамического радиуса частиц образца) и R<sub>n</sub> (гидродинамического радиуса) частиц при анализе их числового распределения выполняли с помощью программного обеспечения к прибору (ZetaSizer Nano ZS, «Malvern», Великобритания).

*Метод сканирующей лазерной конфокальной микроскопии.* Спектры люминесценции образцов измеряли с помощью спектрофлуориметра FluoroLog 3 (Horiba, Япония). В качестве источника излучения использовали широкополосную ксеноновую лампу со средней мощностью 450 Вт. Спектры люминесценции регистрировали с шагом 1 нм при времени усреднения 0,1 с. Максимум возбуждения люминесценции находился в пределах от 300 до 450 нм (4,15-2,75 эВ) и зависел от размеров полученных квантовых точек в исследуемых образцах, которые, в свою очередь, определялись условиями синтеза.

Средние размеры люминесцирующего ядра КТ (без учета стабилизирующей оболочки) определялись методом эффективных масс электрона и дырки [1]. Этот метод основан на определении энергии оптического перехода между известными уровнями размерного квантования электронов и дырок, зависящей от размеров КТ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе нашего исследования были получены конъюгаты изолированного порина с КТ в растворе. С помощью метода ДРС были определены размеры частиц исходных компонентов и конъюгатов белка с КТ. Как следует из данных рисунка 1 и таблицы 1, при связывании порина с КТ наблюдается следующее: увеличивается



**Рисунок 1.** Числовое распределение по размеру частиц: исходные КТ (пунктирная линия); порин (сплошная тонкая линия) и порин конъюгированный с КТ (сплошная толстая линия)

размер частиц порина (1), происходит значительное разукрупнение частиц КТ, при этом не только уменьшаются размеры КТ, но и изменяется соотношение отдельных фракций по сравнению с исходным образцом КТ (2). В полученном полидисперсном биоконъюгате преобладают частицы со средним гидродинамическим радиусом  $R_n=19,54$  нм (40%). Данный эксперимент свидетельствует о том, что значительная часть изолированного порина связывается с КТ в этих условиях.

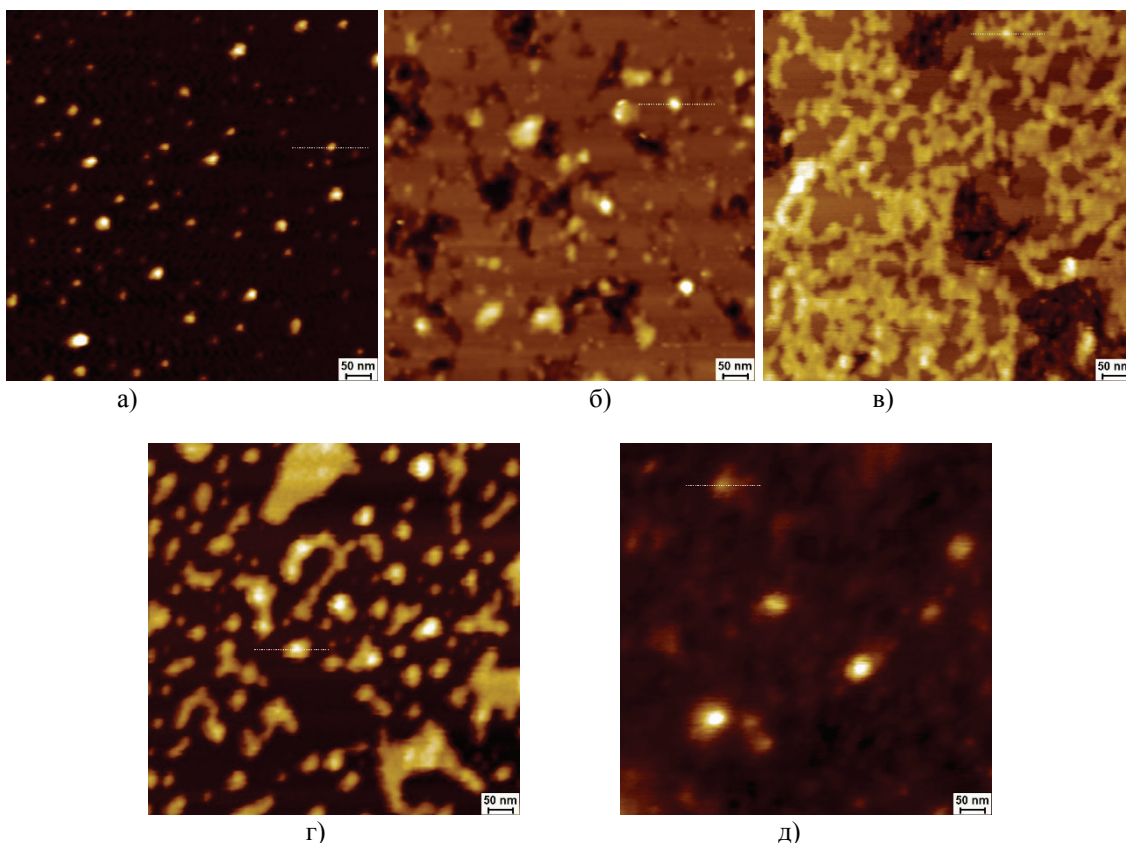
Ранее нами были подобраны условия формирования пориновой матрицы на поверхности слюды [7]. Было показано, что слабо-кислая среда (рН 5,0) является оптимальной для включения изолированного порина в поддерживающий липидный бислой. Кроме того, было обнаружено, что при использовании комплекса порина с ПГ в качестве белкового препарата образовывалась наиболее упорядоченная наномолекулярная структура.

На рисунке 2 приведены АСМ-изображения, иллюстрирующие основные этапы создания надмолекулярных структур белка-порина из *Y. pseudotuberculosis* и его комплекса с ПГ и их биоконъюгатов с квантовыми точками сульфида кадмия (КТ CdS). При нанесении поддерживающего липидного слоя (рис. 2а) на подложке формируются разрозненные массивы с шириной на полувысоте порядка 25 нм и высотой около 3 нм (рис. 3). Добавление изолированного порина приводит к формированию на поверхности подложки сплошной пленки, покрывающей в том числе массивы липидного слоя (рис. 2б). В результате латеральные размеры массивов липидного слоя увеличиваются примерно в два раза: их ширина на полувысоте составляет около 50 нм, а высота – 5 нм (рис. 3)

В случае использования комплекса ПГ-белок (рис. 2в) сформированная пленочная структура становится более выраженной. На большей части поверхности образца толщина матрицы составляет 5 нм, наблюдаются также, как и в случае изолированного порина, четко выраженные участки липидного слоя увеличенной толщины, ширина на полувысоте – 50 нм, высота – 5 нм (рис. 3). При мечении данной структуры готовыми КТ CdS, конъюгированных с помощью водорастворимого карбодиимида, отчетливо видны отдельные структуры высотой до 10 нм, по всей видимости, являющиеся связанными с белком КТ (рис. 2г).

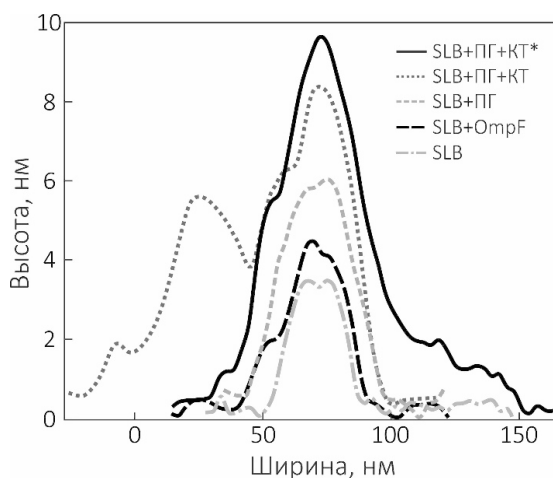
**Таблица 1.** Значения гидродинамических радиусов КТ, изолированного порина из *Y. pseudotuberculosis* (YpOmpF) и YpOmpF, конъюгированного с КТ. В скобках приведена относительная интенсивность в %

|          | г. нм (%)       | г. нм (%)       | г. нм (%)       | г. нм (%)      | г. нм (%)     | г. нм (%)      |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|---------------|----------------|
| КТ       | 94,02<br>(41)   | 71,26<br>(28,5) | 35,63<br>(27,9) | 752<br>(0,8)   | 1140<br>(1,5) | 496,2<br>(0,2) |
| порин    | 12,31<br>(56,4) | 21,43<br>(28,9) | 32,48<br>(14,3) | 78,15<br>(0,4) | -             | -              |
| порин-КТ | 19,54<br>(39,7) | 40,93<br>(26,2) | 32,48<br>(20,4) | 54,0<br>(13,0) | 188<br>(0,2)  | 108<br>(0,1)   |

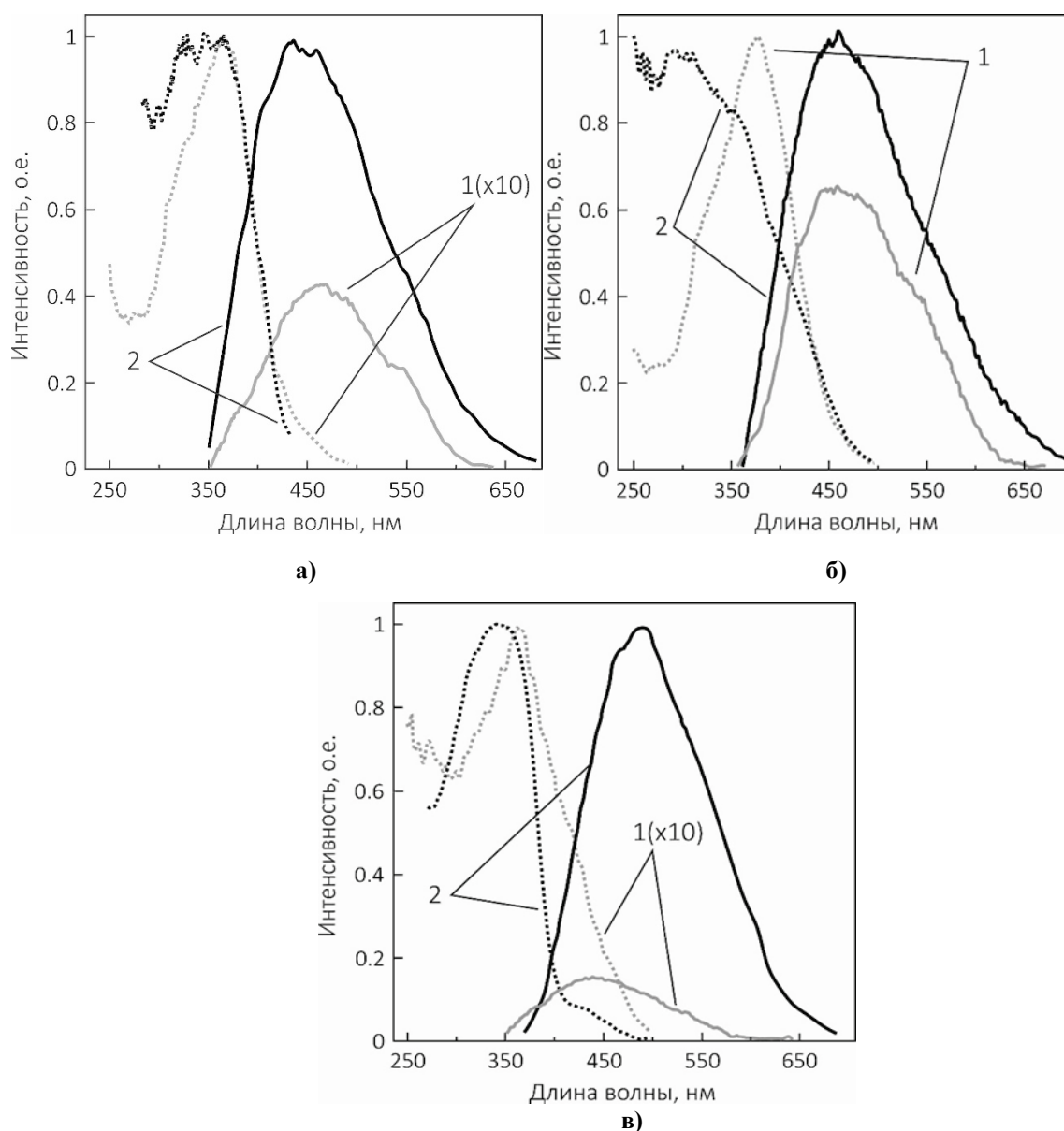


**Рисунок 2.** АСМ-изображения образцов белковых матриц, сформированных из препаратов изолированного порина *Y. pseudotuberculosis* (порин) и комплекса порин-ПГ (ПГ) в поддерживающем липидном бислое (SLB): а) слюда+SLB; б) слюда+SLB +порин; в) слюда + SLB+ ПГ; г) слюда + SLB+ ПГ, образец помечен КТ, приготовленными прямо на слюде; д) слюда + SLB + ПГ, образец помечен готовыми КТ. Белой пунктирной линией отмечены области измерения профилей единичных структур, приведенных на рисунке 3. Размер области изображения – 0,75x0,75 мкм

При проведении измерений методом флуоресцентной спектроскопии, оказалось, что интенсивность люминесценции полученных образцов существенно зависит от способа приготовления КТ и используемого препарата белка. В этой связи, для сравнительного анализа полученных данных, представленные на рисунке 4а спектры люминесценции были приведены к одному порядку интенсивности путем домножения величин интенсивности слабо люминесцирующих образцов. Коэффициент домножения указан на рисунке. Как следует данных рисунка 4 можно видеть, что наибольшей интенсивностью обладают образцы белка, полученные из бактерий *Y. pseudotuberculosis*: изолированный порин (YrOmpF) и его комплекс с ПГ (YrOmpF-ПГ), помеченные готовыми КТ CdS, привязанными карбодиимидом. В то же время, образец на основе изолированного порина из *Y. ruckeri* (YrOmpF), также помеченный готовыми КТ CdS, имеет существенно меньшую люминесценцию.



**Рисунок 3.** Профили единичных структур в массивах биоконъюгатов, состоящих из липидного слоя (SLB), функционализованного различными препаратами белка из *Y. pseudotuberculosis*, меченными КТ. Изолированный порин (OmpF) и комплекс OmpF-пептидогликан (ПГ). \*отмечены КТ, синтезированные непосредственно в белковой матрице



**Рисунок 4.** Спектры люминесценции (сплошная линия) и возбуждения люминесценции (штриховая линия) биоконъюгатов с КТ, приготовленными непосредственно в белковой матрице (1) и предварительно синтезированными (2): а) YpOmpF, б) YpПГ, в) YgOmpF.

Эти данные указывают на то, что даже такие высоко гомологичные по аминокислотной последовательности и подобных по пространственной организации белки, какими являются порины иерсиний, возможно, формируют отличные по структуре матрицы, что, в свою очередь, может сказываться на изменении оптических свойств используемых КТ в получаемых биоконъюгатах.

Достаточно четко выраженный длинноволновый максимум на спектрах возбуждения люминесценции соответствует 1S-1S переходу в КТ, что позволяет использовать его энергию для определения среднего размера КТ по методу эффективных масс [1]. Рассчитанные размеры КТ приведены в таблице 2.

Из представленных на рисунке 3 спектров возбуждения люминесценции, которые являются аналогами спектров оптического поглощения, можно видеть существенный сдвиг края фундаментального поглощения КТ (край фундаментального поглощения для сульфида кадмия составляет порядка 510 нм), зависящий от типа образца. При этом, для образцов КТ, синтезированных непосредственно в белковой матрице из препаратов порина из *Y. pseudotuberculosis*, максимум поглощения лежит в одном и том же спектральном диапазоне (380 нм), что указывает на формирование точек одинакового размера. Можно предположить, что в этом случае рост квантовых точек определяется степенью упорядоченности белковой сетчатой матрицы, размеры «ячеек» которой ограничивают размер квантовых точек.

В случае предварительно синтезированных КТ процесс их роста происходит по механизму Оствальдского созревания, согласно которому наночастицы стремятся к изотропному росту с образованием частицы со сферической формой, которые термодинамически более выгодны из-за минимизации общей поверхностной

**Таблица 2.** Средний диаметр квантовых точек, рассчитанный по методу эффективных масс электрона и дырки

| Образец    | Энергия перехода, эВ | Средний размер, нм |
|------------|----------------------|--------------------|
| YpOmpF-ПГ* | 3,40                 | 3,10               |
| YpOmpF-    | 3,57                 | 2,90               |
| YpПГ*      | 3,40                 | 3,10               |
| YpПГ       | 3,51                 | 2,96               |
| YrOmpF*    | 3,28                 | 3,40               |
| YrOmpF     | 3,22                 | 3,60               |

\*отмечены образцы, в которых КТ приготовлены непосредственно в белковой матрице.

энергии [8]. Диффузионная природа данного процесса делает весьма затруднительным прецизионный контроль размеров получаемых частиц, что может служить причиной существенного различия спектров оптического поглощения квантовых точек, полученных этим способом. Полученные результаты указывают на разные процессы роста квантовых точек в зависимости от способа получения конъюгатов.

Сравнительный анализ спектров поглощения и люминесценции (рис. 4) показывает, что все образцы биоконъюгатов, меченных КТ, полученные непосредственно в белковой матрице обладают достаточно большим стоксовым сдвигом люминесценции – не менее 70 нм или 0,55 эВ, что указывает на преимущественно дефектную природу их люминесценции [9]. При этом, образцы YpOmpF\* и YpПГ\*, обладающие одинаковым спектром поглощения имеют различный стоксовый сдвиг люминесценции – 0,55 и 0,73 эВ, соответственно. Одной из причин этого может быть различная природа дефектов поверхности КТ, например, избыток катиона или аниона, что позволяет ожидать различные сенсорные характеристики у данных типов биоконъюгатов. Конъюгаты на основе предварительно синтезированных КТ также имеют большой стоксов сдвиг люминесценции, максимальное значение которого имеет образец YpOmpF, а его величина составляет 144 нм (1,03 эВ). При этом способе связывания КТ наименьший стоксовый сдвиг зарегистрирован у образца YpПГ и составляет 80 нм (0,67 эВ), что весьма близко к образцам КТ, синтезированным непосредственно в белковой матрице.

Таким образом, в результате проведенного исследования апробированы различные способы включения КТ в биоматрицы на основе пориновых белков, способных к образованию упорядоченных наноструктур в липидном бислое. Показано, что способ получения и состав белковой матрицы существенно влияют на оптические свойства КТ в биоконъюгатах. Обнаружено, что люминесценция КТ в составе полученных комплексов определяется большим количеством поверхностных дефектов, что представляет значительный интерес с точки зрения химической сенсорики.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-03-00318).*

#### **Список литературы/References:**

1. Разумов В.Ф. Фундаментальные и прикладные аспекты люминесценции коллоидных квантовых точек. *Успехи физических наук*, 2016, т. 186, № 12, с. 1368-1376. [Razumov V.F. Fundamental and applied aspects of luminescence of colloidal quantum dots. *Advances Physical Science*, 2016, vol. 186, no. 2, pp. 1368-1376. (In Russ.)]
2. Wang Y., Herron N.J. Nanometer-sized semiconductor clusters: materials synthesis, quantum size effects, and photophysical properties. *Phys. Chem.*, 1991, vol. 95, no. 2, pp. 525 -532.
3. Rosenbusch J.P. Characterization of the major envelope protein from *Escherichia coli*. Regular arrangement on the peptidoglycan and unusual dodecylsulfate binding. *J. Biol. Chem.*, 1974, vol. 249, pp. 8019-8029.
4. Новикова О.Д., Вакорина Т.Н., Хоменко В.А., Лихацкая Г.Н., Ким Н.Ю., Емельяненко В.И., Кузнецова С.М., Соловьева Т.Ф. Влияние условий культивирования на пространственную структуру и функциональную активность OmpF-подобного порина из наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis*. *Биохимия*, 2008, т. 73, № 2, с. 173-184. [Novikova O.D., Vakorina T.I., Khomenko V.A., Likhatskaya G.N., Kim N.Yu., Emelyanenko V.I., Kuznetsova S.M., Solov'eva T.F. Influence of cultivation conditions on spatial structure and functional activity of OmpF like porin from outer membrane of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Biochemistry*, 2008, vol. 73, no. 2, pp. 173-184. (In Russ.)]
5. Garavito R.M., Rosenbusch J.P. Isolation and crystallization of bacterial porin. *Methods Enzymol*, 1986, vol. 125, pp. 309-328.
6. Qi Xiao, Chong Xiao. Surface-defect-states photoluminescence in CdS nanocrystals prepared by one-step aqueous synthesis method *Applied Surface Science*, 2009, vol. 255, pp. 7111-7114.
7. Набережных Г.А., Карпенко А.А., Хоменко В.А., Соловьева Т.Ф., Новикова О.Д. Получение упорядоченных структур бактериальных поринов в липидном бислое и исследование их морфологии методом

атомно-силовой микроскопии. *Биофизика*, 2019, т. 64, № 6, с. 1107-1114. [Naberezhnykh G.A., Karpenko A.A., Khomenko V.A., Solov'eva T.F., Novikova O.D. The formation of Ordered Structures of Bacterial Porins in a Lipid Bilayer and Analysis of Their Morphology by Atomic Force Microscopy. *Biophysics*, 2019, vol. 64, no. 6, pp. 901-907.

8. Rempel A., Magerl A. Non-periodicity in nanoparticles with close-packed structures. *Acta Crystal. Section A*, 2010, vol. 6, no. 4, pp. 479-483.

9. Voznyy O. Mobile Surface Traps in CdSe Nanocrystals with Carboxylic Acid Ligands. *J. Phys. Chem. C*, 2011, vol. 115, no. 32, pp. 15927-15932.

#### BIO-CONJUGATION OF COLLOIDAL QUANTUM DOTS OF CADMIUM SULPHIDES AND SUPROMOLECULAR STRUCTURES OF PROTEIN-PORIN FROM BACTERIA OF THE GENUS YERSINIA. OBTAINING AND CHARACTERISTIC

Naberezhnykh G.A.<sup>1</sup>, Sergeev A.A.<sup>2</sup>, Portnyagina O.Yu.<sup>1</sup>, Chistyulin D.K.<sup>1</sup>, Sidorin E.V.<sup>1</sup>, Novikova O.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences  
Vladivostok, 690022, Russia; e-mail: naber1953@mail.ru

<sup>2</sup> Institute of Automation and Control Processes Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences  
Vladivostok, 690022, Russia

**Abstract.** Cadmium sulfide fluorescence quantum dots (QDs) are promising materials for optics, optoelectronics, biology, and medicine. In recent years, significant progress has been achieved in the use of nanomaterials to create biosensors, including based on protein structures ones. Among others, native or artificially constructed biosensors based on ion-conducting channels are a very promising class of nanostructures. In this work, various approaches were tested for the formation of ordered supramolecular structures of Yersinia porins (*Yersinia pseudotuberculosis* and *Y. ruckeri*) labeled with QDs: (1) conjugation of the porin matrix with stabilized QDs previously obtained and (2) QDs synthesis in a porin matrix with supporting lipid bilayer preformed on mica. The sizes of QDs and their conjugates with proteins were measured using the method of dynamic light scattering (directly in an aqueous suspension). The surface morphology of the samples was studied by atomic force microscopy. To characterize the optical properties of the obtained conjugates scanning fluorescence spectroscopy was used. It was found that the luminescence intensity of bioconjugates substantially depends on the method of QDs preparation and on protein sample used in matrix (isolated porin or the porin-peptidoglycan complex). It was shown that, depending on the matrix type, a shift in the fundamental absorption edge of QDs is observed. This indicates the formation of QDs of different diameters and, therefore, the possibility of controlling their sizes by varying the structure of the protein matrix. The data obtained open the prospect of using QDs labeled nanostructures based on bacterial porins as biosensors.

**Key words:** porin, cadmium sulfide, quantum dots, conjugation, luminescence.