

УДК 576.8

ЗЕЛЕНЫЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ БЕЛОК

*Субботин Д.А., студент 1 курса ФВМиБ
Научный руководитель - Фролова Т.А., старший преподаватель
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: GFP, зелёный флуоресцентный белок, хромофор, флуорофор, флуоресцентная микроскопия.

Статья посвящена флуоресцентным белкам и знакомит с их видами и областью применения.

Зеленый флуоресцентный белок (GFP) - белок, который демонстрирует зеленую флуоресценцию под воздействием голубого света. Впервые этот белок был выделен в 60-х годах из медузы *Aequorea Victoria*, а позднее обнаружен во многих морских организмах.

В клеточной и молекулярной биологии ген GFP широко используется в качестве репортёрного гена. Различные его модификации применяются для создания биосенсоров. Благодаря трансгенным технологиям GFP может вводиться в геном животного и передаваться потомству.

В 2008 году учёные Роджер Тсьен, Осаму Симомура и Мартин Чалфи были удостоены Нобелевской премии по химии за «открытие и разработку зелёного флуоресцентного белка (GFP)».

Структура GFP. GFP имеет классическую структуру бета-барреля, состоящего из одного β -листа и альфа-спирали с флуорофором в центре. Плотный упакованный бета-лист защищает флуорофор от тушения окружающей средой, а внутреннее строение молекулы вызывает реакции циклизации трипептида Ser65-Tyr66-Gly67, в результате которых возникает флуорофор. Процесс формирования флуорофора называется созреванием и состоит из нескольких этапов, во время каждого из которых образуются продукты с различными спектральными свойствами.

Существуют и другие флуоресцентные белки - UnaG, dsRed, eqFP611, Dronpa, TagRFPs, KFP, EosFP, Dendra, IrisFP и многие другие. Некоторые из них обладают уникальными свойствами такими, как смещение длины волны из зеленой области спектра в красную.

ФМН-связывающие флуоресцентные белки (флавиномононуклеотид/ФМН) были получены в 2007 году и относятся к классу кислороднезависимых флуоресцентных белков с небольшой молекулярной

массой (11-16 кДа), которые являются производными от рецепторных белков синего цвета. Они предназначены специально для использования в анаэробных или гипоксических условиях, поскольку формирование и связывание флавинокхромофора не требует молекулярного кислорода, как в случае с синтезом хромофора белка GFP.

Ещё один класс флуоресцентных белков произошёл от цианобактерий (*Trichodesmium erythraeum*) *phycobiliprotein*, α -*allophycocyanin*, и в 2016 году был назван малым ультракрасным флуоресцентным белком (smURFP). smURFP автокаталитически активирует хромофор биливердин без участия ферментов класса лиаз. Для образования хромофора производным флуоресцентных белков, выделяемым из медуз и кораллов, необходим кислород; в ходе данной реакции образуется стехиометрическое количество перекиси водорода. smURFP не требует кислорода и не образует перекиси водорода, он использует хромофор-биливердин.

Флуоресцентная микроскопия. GFP и его производные используются в клеточной биологии и других биологических дисциплинах. В отличие от большинства флуоресцентных молекул с малой молекулярной массой, таких как флуоресцеинизотиоцианат, флуоресцентные белки, гораздо менее фототоксичны при использовании в живых клетках.

Кроме того, GFP присуща способность формировать внутренние хромофоры без наличия каких-либо кофакторов, ферментов или других субстратов, кроме молекулярного кислорода.

Эти преимущества флуоресцентных белков позволили использовать их в качестве флуоресцентных меток для наблюдения за клетками в течение определённого временного промежутка.

GFP широко используется в исследованиях рака и раковых клеток, а также для построения модели метастазирования - процесса, при котором раковые клетки распространяются из того места, где они образовались, в другие органы и ткани.

Трансгенные животные. Альба - это зеленый-флуоресцентный кролик, выведенный в французской лаборатории путём внедрения несколько модифицированного GFP в оплодотворённую яйцеклетку крольчихи. Американская компания «YorktownTechnologies» разводит зеленых флуоресцентных рыб-зебр (GloFish), которые были первоначально разработаны для обнаружения загрязнения в водотоках. Американская компания NeonPets поставляет на рынок зеленых флуоресцентных мышей. Зеленые флуоресцентные свиньи были выведены группой

исследователей Национального Университета Тайваня под руководством У Шинь-Чжи. Группа японских и американских учёных создала зеленых флуоресцентных кошек в качестве модельных организмов для изучения болезней, в частности ВИЧ. В 2009 году команда учёных из Сеульского Национального Университета (Южная Корея) впервые вывела трансгенных биглей с клетками фибробластов от актинии. Эти собаки излучают красный флуоресцентный свет, и предназначены для изучения генов, вызывающих такие заболевания человека, как нарколепсия и слепота.

Библиографический список

1. Green Fluorescent Protein. [Электронный ресурс]. - Режим доступа: https://en.wikipedia.org/wiki/Green_fluorescent_protein
2. Enhanced green fluorescent protein, EGFP. [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.abfrontier.com/product/downloadPDF.do?catalogNo=LF-P0416A>

GREEN FLUORESCENT PROTEIN

Subbotin D.

Key words: *GFP, green fluorescent protein, chromophore, fluorophore, fluorescence microscopy.*

The article is devoted to the fluorescent proteins, their classes and application.