

绿色荧光蛋白

June 2003 Molecule of the Month by David
Goodsell

译者：李晓旭（农科院烟草所）

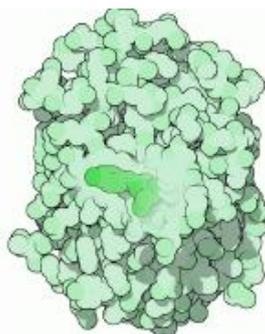
张守伟（农科院作科所）

郭丹（农科院水稻所）

顾丽姣（农科院棉花所）

介绍

绿色荧光蛋白，在这里从PDB入口所示1gfl，在生活在北太平洋的寒冷海域的水母中被发现。这种水母含有生物发光蛋白-水母发光蛋白-即发出蓝色光。绿色荧光蛋白把这种光转换成绿灯，这就是我们真正看到水母亮起的颜色。在典型的室内照明下，经GFP纯化的解决方案纯化的GFP呈现黄色，但是当在户外阳光下拍摄，他们能发出明亮的绿色光。这种蛋白质从太阳光中吸收紫外线，然后发射出低能绿光。



用途

你可能会说：谁在乎这个不起眼的在水母中的小绿蛋白？事实证明，GFP在科研中是惊人的有用的，因为它使我们能够直视到细胞的内部工作。在任何给定的时间很容易找出GFP在哪里：你只需要照紫外线，任何绿色荧光蛋白会发光明亮的绿色。因此，这里的窍门是：对你有兴趣任何物体，可以将其连接到GFP。例如，你可以将它附加到病毒。然后，病毒通过宿主传播，您可以通过跟踪发出的绿光观看传播。或者，您也可以将它通过显微镜，因为它绕着细胞内附着的蛋白质。

现用性

GFP是一种现成的荧光蛋白质，因此它特别易于使用。大多数光蛋白利用特殊的分子吸收和释放光子。举例来说，在我们眼中的视蛋白用维生素A来感知光线（见MOM-bacteriorhodopsin）。这些“发色团”必须被专门为任务建立，并仔细并入蛋白质。绿色荧光蛋白，在另一方面，内置有所有的它自己的光装卸机械，而构造只使用氨基酸。它具有3个氨基酸组成的特殊序列：丝氨酸-酪氨酸-甘氨酸（有时丝氨酸被替换为类似的苏氨酸）。当蛋白质链折叠，这个短段埋在蛋白质内心深处。然后，发生一系列化学反应：甘氨酸与丝氨酸形成化学键，形成了一个新的封闭环，然后自发地脱水。最后，通过一个多小时左右的过程中，从周围环境中的氧气攻击一个键中的酪氨酸，并在荧光发色里形成一个新的双键团。由于GFP使用自己的发色团，对于基因工程它是完美的。您不必担心操作任何奇怪的发色团，你只需要在细胞与构建GFP的融合蛋白，然后GFP就会自动折叠并开始

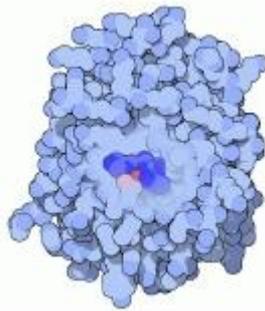
发光。

工程GFP

绿色荧光蛋白的用途也扩大到艺术与商业的世界。艺术家Eduardo Kachas已通过GFP到其细胞的方法创造了一个荧光绿色的兔子。育种家都在探索绿色荧光蛋白作为一种方式来创建独特的荧光植物和鱼类。GFP已被添加到大鼠，小鼠，青蛙，苍蝇，蠕虫和其他无数的生命体中。当然，这些工程植物和动物仍然存在争议，并加速了对基因工程的安全和道德的重要争论。

GFP改良

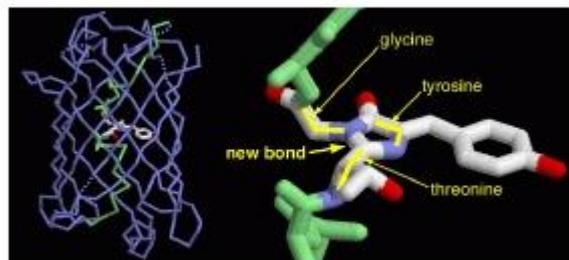
绿色荧光蛋白是研究活细胞是惊人的有用的，和科学家正在创造一种更加有用。他们是工程的GFP分子有着不同的荧光颜色。科学家们现在可以使蓝色的荧光蛋白，黄色荧光蛋白等。诀窍就是让小的突变，改变了发色团的稳定性。数千种不同的变体已经尝试过了，你在PDB可以找到几个成功的。科学家们还利用GFP来创造生物传感器：可感应离子或pH值水平的分子机器，然后以荧光特性的方式报告结果。这里，从PDB入口1kys所示的分子，是已被修改，以检测锌离子的电平，蓝色荧光蛋白。当锌，此处显示为红色，结合修改后的发色团，这里显示了明亮的蓝色，蛋白质的荧光明亮的两倍，由此创造一个很容易检测到明显的信号。



结构

你可以仔细看看绿色荧光蛋白在PDB入口1ema。整个蛋白质的骨干这里如图所示。蛋白质链形成的圆柱形（以蓝色显示），与链中的一个部分螺旋直通中间（以绿色显示）。该发色团是在桶中间右侧被发现，与周围环境完全屏蔽。该屏蔽是用于荧光必不可少的。一旦它吸收一个光子熙熙攘攘的水分子通常会抢夺其生色团的能量。但里面的蛋白，它是受保护的，释放的能量，而不是作为轻微略少高能光子。发色团（在右边的特写示出）自发地的形成3个氨基酸的蛋白质链：甘氨酸，酪氨酸和苏氨酸（或丝氨酸）。请注意如何甘氨酸和苏氨酸已经形成了新的结合，创造了一个不寻常的五元环。

这张照片是RasMol创建。您可以通过点击加入上面的代码，然后采摘下的视图结构的一个选项来创建类似的图片。这个发色团被称为“CRO”在此文件中，并且它是残基编号66中的蛋白质链。



参考文献:

Roger Y. Tsien (1998): The Green Fluorescent Protein. *Annual Review of Biochemistry* **67**, pp. 509-544.