

GFP 样蛋白

英文标题: GFP-like Proteins

作者: David Goodsell

原著日期: 2014-06

译者: 李玉明 (上海兽医研究所)

翻译日期: 2014-09-24

原文链接: [10.2210/rcsb_pdb/mom_2014_6](https://doi.org/10.2210/rcsb_pdb/mom_2014_6)

关键词: 绿色荧光蛋白、荧光显微镜、蛋白质工程

简介

20年前,绿色荧光蛋白(GFP)被首次用来揭示蛋白质在活细胞内的位置,从那以后,GFP便成为细胞生物学家最重要的科研工具。GFP是一个小的,稳定的且发光明亮的荧光蛋白,编码GFP的基因可以被添加到细胞内从而在细胞内合成GFP,最终产生其内在的发光基团,该发光基团在紫外照射下可以发出荧光且不消耗自身能量。另外,也许是其最重要一点是,GFP可以再不影响其本身正常功能的前提下与其他蛋白发生融合,从而变为一个高度可见的标签,然后我们就可以凭此在细胞内追踪我们感兴趣的蛋白。

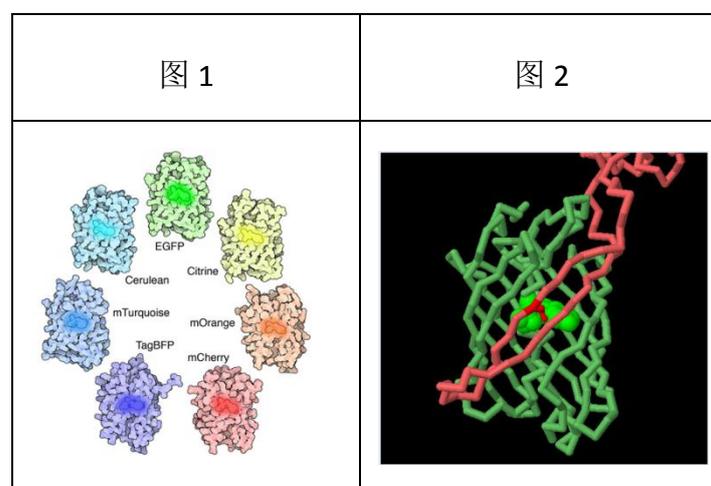
扩大荧光类型

当GFP的作用显而易见的时候,科学家们开始寻找其他的方法来对其进行改善和扩展,他们的主要目标就是改变荧光的颜色,从而通过颜色的不同来区分细胞内不同的蛋白。科学家们首在各种生物体中去寻找可以产生不同颜色荧光的天然存在的蛋白。在这里我将向大家展示的是dsRED蛋白,他是在一种珊瑚中被发现的,就像他的名字一样,它可以发出红色的荧光。

令人讨厌的四聚体

最初,在水母中发现GFP是非常偶然的,并且,他是为数不多的一种天然的,可在典型条件下以单体形式发挥功能的荧光蛋白。这对于细胞生物学家来说简直是完美的,因为他们不用担心这些荧光标签会引起一些不必要的聚合。然而,dsRED确是一个四聚体,例如,如果他与肌动蛋白(actin)接触时,他将会与四个肌动蛋白发生连接,从而在细胞内形成一个混乱的状态。dsRED的这个缺陷却激发了

一场密集的研究运动：修改该荧光蛋白的天然四聚体结构使其像单体一样发挥功能，同时还保留着其特征性的且明亮的荧光。



五彩缤纷的荧光

幸运的是，对单体荧光蛋白的研究非常成功，并且，现在的科学家们可以选择几乎任意的颜色。图 1 给出了一些荧光蛋白样例，你可以在 PDB 档案中查到它们。所有这些蛋白都与 GFP 非常相似：由一个筒状的 β 折叠围绕着一个自我装配的贯穿于分子中心的发光基团构成，然而，这些发光基团在颜色上略有不同，并且围绕在其外侧的氨基酸也可对其发出的光进行进一步的调整。

结构探索

研究者们已经以各种聪明的方式来使用这些荧光蛋白了，例如，研究蛋白的相互作用：他们把 GFP 蛋白分为两部分，每一部分分别于不同的蛋白结合，然后，如果这两个蛋白在细胞内彼此接近，GFP 蛋白将会组装在一起，然后发出荧光（PDB 中展示了一个被分开的 GFP 片段），这可以作为一个通过借助蛋白结晶确定其结构的一个方法。我们可以把两个 β 链片段融合到一个我们感兴趣的蛋白质中（以 sfCherry 为例，图 2 中红色部分），与缺少这两个 β 链片段的 GFP 变体构成一个系统，当这两个工程（重组）蛋白通过运载体 sfCherry 的转运被混合在一起并相互作用时，GFP 的两个蛋白就会组装成一个可发光的荧光蛋白。想了解更多关于该重组复合物的细节，请点击图片。

参考文献

- [1] D. M. Chudakov, M. V. Matz, S. Lukyanov & K. A. Lukyanov (2010) Fluorescent proteins and their applications in imaging living cells and tissues. *Physiological Reviews* 90, 1103-1163.
- [2] 4kf5: H. B. Nguyen, L. W. Hung, T. O. Yeates, T. C. Terwilliger & G. S. Waldo (2013) Split green fluorescent protein as a modular binding partner for protein crystallization. *Acta Crystallographica Section D* 69, 2513-2523.
- [3] 4ar7: D. Von Stetten, M. Noirclerc-Savoie, J. Goedhart, T. W. J. J. Gadella & A. Royant (2012) Structure of a fluorescent protein from *Aequorea victoria* bearing the obligate- monomer mutation A206K. *Acta Crystallographica Section F* 68, 878.
- [4] 2y0g: A. Royant & M. Noirclerc-Savoie (2011) Stabilizing role of glutamic acid 222 in the structure of enhanced green fluorescent protein. *Journal of Structural Biology* 174, 385-390.
- [5] 3mf4: O. M. Subach, V. N. Malashkevich, W. D. Zencheck, K. S. Morozova, K. D. Piatkevich, S. C. Almo & V. Verkhusha (2010) Structural characterization of acylimine-containing blue and red chromophores in mTagBFP and TagRFP fluorescent proteins. *Chemistry & Biology* 17, 333-341
- [6] 2q57: G. D. Malo, L. J. Pouwels, M. Wang, A. Weichsel, W. R. Montfort, M. A. Rizzo, D. W. Piston & R. M. Wachter (2007) X-ray structure of Cerulean GFP: a tryptophan- based chromophore useful for fluorescence lifetime imaging. *Biochemistry* 46, 9865- 9873.
- [7] 2h5o, 2h5q: X. Shu, N. C. Shaner, C. A. Yarbrough, R. Y. Tsien & S. J. Remington (2006) Novel chromophores and buried charges control color in mFruits. *Biochemistry* 45, 9639-9647.
- [8] 1huy: O. Griesbeck, G. S. Baird, R. E., Campbell, D. A. Zacharias & R. Y. Tsien (2001) Reducing the environmental sensitivity of yellow fluorescent protein. *Journal of Biological Chemistry* 276, 29188-29194.
- [9] 1g7k: D. Yarbrough, R. M. Wachter, K. Kallio, M. V. Matz & S. J. Remington (2001) Refines crystal structure of DsRed, a red fluorescent protein from coral, at 2.0-Å resolution. *PNAS USA* 98, 462-467.