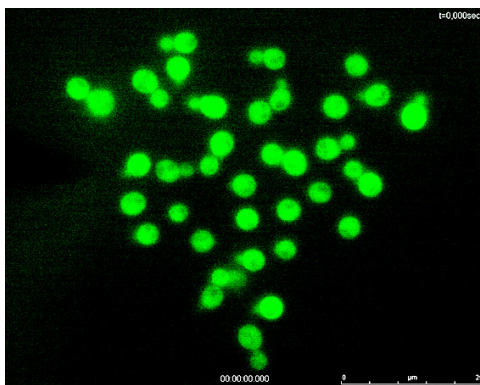


# Zielone białka fluoryzujące

**Nagrodę Nobla z chemii w 2008 r. otrzymali Osamu Shimomura, Martin Chalfie i Roger Y. Tsien (wszyscy z USA) za badania nad zielonym białkiem fluoryzującym (GFP – Green Fluorescent Protein).**

Białko to zostało odkryte podczas badań nad biochemicznymi mechanizmami luminescencji jamochłonów występujących w Oceanie Spokojnym i wyizolowane z meduzy *Aequorea victoria* przez Osamu Shimomurę w 1962 r. W r. 1994 Martin Chalfie wprowadził sekwencję kodującą GFP do dwóch innych organizmów: bakterii *Escherichia coli* oraz nicienia *Caenorhabditis elegans*, tak otrzymując funkcjonalne białko, które wkrótce znalazło szerokie zastosowanie w biologii molekularnej. W kolejnych latach Roger Y. Tsien wprowadził do dzikiej odmiany GFP modyfikacje mające na celu zwiększenie wydajności fluorescencji, skrócenie czasu dojrzewania oraz poszerzenie palety kolorystycznej.

Pierwszym wyizolowanym z *A. victoria* białkiem była akworyna, świecąca na niebiesko pod wpływem wzbudzenia ultrafioletem. Jednakże światło emitowane przez *A. victoria* nie ma zabarwienia niebieskiego, lecz zielone. Idąc za tym tropem Shimomura i współpracownicy znaleźli drugie białko, współwystępujące z akworyną: zielone białko fluoryzujące – GFP. Odkryli, że ulega ono wzbudzeniu, na zasadzie zjawiska Förstera, wskutek oddziaływania z akworyną. Maksimum emisji akworyny przypada dla  $\lambda=470$  nm, zaś jedno z maksimumów absorpcji zielonego białka fluoryzującego występuje przy  $\lambda=480$  nm. Dzięki temu energia emitowana przez wzbudzoną akworynę (donora) jest przekazywana do GFP (akceptora), które z kolei oddaje energię na sposób promienisty, fluoryzując na zielono,  $\lambda_{\max}=509$  nm. Wydajność kwantowa tego zjawiska jest stosunkowo wysoka: 0,72. Efekt ten, określany jako FRET (Fluorescence (Förster) Resonance Energy Transfer), ma szerokie zastosowanie w badaniach biologicznych z użyciem mikroskopii fluorescencyjnej.



Drożdże (*Saccharomyces cerevisiae*); białko Hog1, wyznakowane GFP. W nieobecności stresu hiperosmotycznego białko jest równo rozłożone w cytoplazmie.

fol. Elżbieta Petelenz & Emma Eriksson  
Centre for Biophysical Imaging, Dept. of Physics,  
University of Gothenburg, Göteborg, Sweden.

polipeptydowego, a następnie ich reakcji z tlenem cząsteczkowym. Chromofor ten jest bardzo stabilny, ponieważ znajduje się wewnątrz beczułkowatej struktury, zbudowanej z 11 antyrównoległych arkuszy  $\beta$ .

W 1992 r. Martin Chalfie wprowadził gen kodujący GFP, pochodzący od *A. victoria*, do dwóch innych organizmów: bakterii *Escherichia coli* i nicienia *Caenorhabditis elegans*, otrzymując mutanty z obcopochodnym GFP. W ten sposób wykazał, że zielone białko fluoryzujące może ulec ekspresji w dowolnym organizmie, zarówno eukariotycznym, jak i prokariotycznym, bez dodatkowej

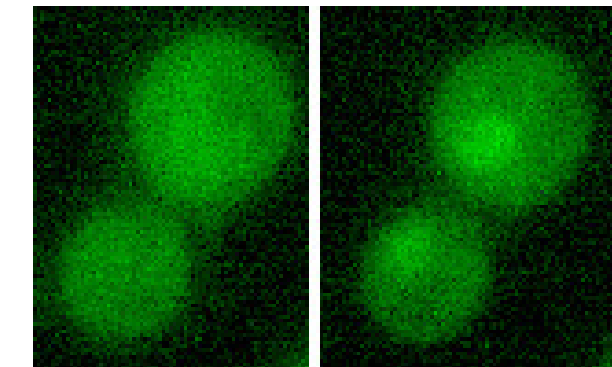
obróbki enzymatycznej ani udziału kofaktorów specyficznych dla *A. victoria*. To odkrycie zrewolucjonizowało współczesną biologię molekularną, gdyż dostarczyło narzędzia do nieinwazyjnego badania licznych procesów zachodzących w komórce.

Po wprowadzeniu do genomu sekwencji kodującej GFP, kontrolowanej przez odpowiedni promotor, zamiast sekwencji kodującej białko badane, można otrzymać zielone białko fluoryzujące w ilości odpowiadającej ilości białka badanego, proporcjonalnej zarazem do aktywności danego promotora. Z kolei, wprowadzając sekwencję kodującą GFP tuż obok genu kodującego białko badane (przed kodonem STOP), można otrzymać białko fuzyjne składające się z GFP połączonego z białkiem badanym.



Elżbieta Petelenz:  
– Odkrycie GFP zrewolucjonizowało biologię molekularną.

fol. ze zbiorów autorki



Drożdże (*Saccharomyces cerevisiae*); porównanie sytuacji: *no stress* i *stress*. Pod wpływem stresu hiperosmotycznego GFP Hog1 koncentruje się w jądrze komórkowym.

fol. Elżbieta Petelenz & Emma Eriksson  
Centre for Biophysical Imaging, Dept. of Physics, University  
of Gothenburg, Göteborg, Sweden.

Obecność znacznika, jakim w tym przypadku jest GFP, nie wydaje się wpływać na zachowanie białka badanego, co umożliwia śledzenie lokalizacji takiej hybrydy przy użyciu mikroskopii fluorescencyjnej. Dodawanie kolejnych znaczników w różnych kolorach pozwala na śledzenie kilku procesów równocześnie. Roger Tsien wniósł zasadniczy wkład w ten aspekt zagadnienia poszerzając paletę barw oraz ulepszając właściwości fizyczne i biochemiczne tychże białek fluoryzujących. Przykłady tutaj przytoczone stanowią jedynie cząstkę możliwych zastosowań tych białek<sup>1</sup>.

ELŻBIETA PETELEENZ  
Dept. of Physics, University of Gothenburg, Göteborg, Sweden

<sup>1</sup> Z uwagi na charakter *PAUzy Akademickiej* nie zamieszczamy odnośników do literatury naukowej podanych przez Autorkę (*Red*). Więcej informacji o GFP można znaleźć np. pod adresem: [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2008/sci.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2008/sci.html)