Морфология
Morphology

ID: 2011-01-35-R-1149 Оригинальная статья

Клыков А.И., Дудуния Т.Т., Новикова А.В.

Ген GFP и «мозговая радуга»

Смоленская государственная медицинская академия, кафедра анатомии человека

Резюме

Статья посвящена перспективам использования зеленого флюоресцирующего протеина и его гена для маркировки клеток центральной нервной системы и нервных путей. С использованием литературного обзора показана возможность гена GFP служить маркером для различных клеток и процессов в них. Данные метод имеет большую практическую значимость.

Ключевые слова: зеленый флюоресцирующий протеин, ген, центральная нервная система.

Введение

Исследование проводящих путей является одним из важнейших направлений в нейрофизиологии и анатомии. Новые перспективы по изученью данных вопросов открывает использование новейших достижений в биотехнологии, в частности – GFP-трансгенных животных. Созданные около пяти лет назад, эти живые организмы имеют активный ген GFP (green fluorescent protein), ген зеленого флуоресцирующего протеина, способный интегрироваться в различные клетки организма и синтезирующий светящиеся белки [2].

Цель исследования - на основе имеющихся литературных данных дать обзор перспективам применения гена GFP для исследования центральной нервной системы и проводящих путей головного и спинного мозга.

Результаты исследования и их обсуждение

По своей химической структуре GFP – протеин, состоящий из 238 аминокислот с весом 26,9 кДа и бочкообразной конформацией с центрально расположенным хромофором [1,5].

Впервые «дикий», природный, тип этого протеина был выделен в 60-е годы прошлого века из медузы вида *Aequorea victoria*. Пионерами в этих исследованиях были Осаму Шимомура и Франк Джонсон, работавшие в Университете Вашингтона, которые опубликовали результаты своих работ в 1962 году.

Тем не менее, это открытие оставалось невостребованным для молекулярной биологии до 1992 года. В этом году Дуглас Прэшер представил результаты расшифровки генома данного протеина и доказал возможность его клонирования. Из-за недостатка финансирования он в дальнейшем вынужден был закрыть свою лабораторию, но перед этим он разослал ДНК с закодированным в ней белком GFP в ряд лабораторий и уже в 1994 году Мартин Чалфи интегрировал данный ген в геномы E. coli и C. elegans [2].

Однако, GFP имел ряд недостатков, такие как чувствительность к изменению pH, недостаточную фотоустойчивость и термостабильность. Поэтому стали проводится исследования по воздействию на «дикий» тип гена различными мутагенами. Первая мутация, полезная с практической точки зрения, была получена в 1995 году Роджером Тшином [6]. Создание в конце прошлого, начале нашего века другой группы мутаций было направлено на изменение цвета свечения GFP. Были получены варианты с синим, голубым, красным, оранжевым и желтым свечением [1].

GFP ген был внедрен во многие организмы: бактерии, дрожжи, грибы, рыбы, растения, клетки млекопитающих, в том числе и человека.

Внедрение гена GFP в клетку-хозяина возможно при использовании подходящего переносчика (вектора) ДНК – вируса или плазмиды.

© Бюллетень медицинских Интернет-конференций, 2011.

Наибольший интерес представляют работы по экспрессии данного гена в клетках центральной нервной системы млекопитающих. Этими исследованиями занимаются Джеф Личман и Джошуа Санес из Центра Мозга в Гарварде. Результатом их работы явилось создание трансгенных мышей с интегрированным геном GFP в клетки центральной нервной системы. Так как существуют различные цветовые вариации GFP, то возможно создание цветовых карт различных слоев коры мозга. Первая фотография такой карты появилась в журнале *Nature* 1 ноября 2007 года. Были составлены «мозговые радуги»участков коры мозжечка, гиппокампа, верхних холмиков четверохомия. Получены так же фотографии отдельных нейронов и их отростков, экспрессирующих ген GFP [2]. Индивидуально окрашенные нейроны помогут изучить не только структуру тех или иных участках коры, но и распределение проводящих путей в различных отделах центральной нервной системы. Однако исследования в этой области только начинаются. Основная задача, стоящая перед исследователями в настоящее время – привязать определенный цвет свечения к тем или иным типам нейронов.

Выводы

В дальнейшем данная методика позволит создавать трехмерные цветные карты тех или иных участков коры, что поможет как в изучении цитоархитектоники и миелоархитектоники различных участков головного мозга и анатомии проводящих путей нервной системы, так и дегенеративных патологических изменений нервной системы, например, при болезни Альцгеймера.

Библиографический список

1. Степаненко О.В., Верхуша В.В., Кузнецова И.М., Туроверов К.К. Флуоресцентные белки: физико-химические свойства и использование в клеточной биологии // Цитология. – 2007 – № 5. – С. 395-420.
2. Connecticut college chemistry department: GFP. URL: http://www.conncoll.edu/ccacad /zimmer /GFP-ww/GFP-1.htm (дата обращения: 18.02.11).
3. Introduction to Fluorescent Proteins. URL: http://www.microscopyu.com/articles/livecellimaging /fpintro.html (дата обращения: 14.02.11).
4. Livet J, Weissman TA, Kang H et al. Transgenic strategies for combinatorial expression of fluorescent proteins in the nervous system // Nature. - 2007. - 450. - P. 56-62.
5. Protein data bank. Green fluorescent protein. URL: http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId =1EMA (дата обращения: 11.03.11).
6. Roger Y. Tsien The green fluorescent protein // Annu. Rev. Biochem. – 1998. – № 67. – P. 509–544.

© Bulletin of Medical Internet Conferences, 2011