Ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийн шинжлэх ухааны зарим хэрэглээг тодруулсан нь

Д.Анужин[1], Б.Журамт[1], Л.Энхсайхан[2]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Анатомийн тэнхим
[2]АШУҮИС, Био-АС, Дархлаа судлалын тэнхим
Цахим шуудан: anujin.d@mnums.edu.mn, Утас: 88099136

Түлхүүр үг:

GFP
Флюоресценци
Плазмид
Трансформаци

Товч утга:

Үндэслэл: Ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уураг (Green Fluorescent Protein-GFP) 1962 онд анх нээгдсэн үеэс хойш шинжлэх ухааны олон салбарууд ялангуяа, биологи болон био-анагаах ухааны салбарт хавдрын оношилгоо, эмчилгээнд нэвтэрсээр иржээ. Нобелийн шагналыг Химийн салбарт 2008 онд ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийг нээн судалсан Шимомура, Чалфие, Циен нарын багт олгох үеэр Нобелийн хороо GFP-ийг хорт хавдрын эсийн тархалт зэрэг нүдэнд үл үзэгдэх биохимийн үйл явцыг харагдахуйц болгож буй чиглүүлэгч од хэмээн нэрлэсэн байна. **Зорилго:** Ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийн шинжлэх ухааны зарим хэрэглээг тодруулан судлах. **Арга, аргачлал:** Бид Thomson Reuters, Pubmed-central database, google scholar зэрэг цахим эх сурвалжид ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийн ашиглан нийтлэгдсэн бүтээлүүдийн тоймтой эх зохиол судлалын магадлан шинжлэх, нэгтгэн дүгнэх аргыг ашиглан танилцаж дүгнэлт хийв. Энэхүү судалгааг эхлүүлэх ёс зүйн зөвшөөрлийг АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2023 оны 11 дүгээр сарын 24-ний өдрийн хурлаар хэлэлцүүлэн судалгааг эхлүүлэх зөвшөөрөл авсан болно (2023/3-09). **Дүгнэлт:** Олон улсын шинжлэх ухааны олон салбарт шинэ нээлт, бүтээлийн төлөө ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уураг экспресслэгч плазмидыг ашиглаж байгаагаас хорт хавдар, ген эмчилгээний салбарт түгээмэл хэрэглэгдэж байна.

Үндэслэл: Нобелийн шагналыг Химийн салбарт 2008 онд ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийг нээн судалсан Shimomura, Chalfie, Tsien нарын багт олгох үеэр Нобелийн хороо GFP-ийг хорт хавдрын эсийн тархалт зэрэг нүдэнд үл үзэгдэх биохимийн үйл явцыг харагдахуйц болгож буй чиглүүлэгч од хэмээн нэрлэсэн байна[1].

GFP нь Aequorea victoria нэртэй далайн залхагаас үүсдэг биолюминесценци эндогенийн уураг бөгөөд хорт хавдрын эсийн мөчлөг, хуваагдал, апоптоз, үсэрхийлэл, ангиогенез зэргийг бодит цаг хугацаанд дүрслэн харуулах боломжийг олгож байгааг Hoffman R (2002, 2015), Riihimaki M (2016), нарын цөөнгүй судлаачдын бүтээлүүдэд онцлон тэмдэглэсэн байна[2–5]. Лабораторийн нөхцөлд, флюоресценци зураглал, биолюминесценци зураглал ашиглан хавдрын тархалт, эмчилгээний талаар судалсан олон тооны in vitro туршилтууд эмнэл зүйн туршилтын шатанд шилжин судлагдсаар байна[6]. Судлаачдын тэмдэглэснээр зарим төрлийн эдгэршгүй өвчнийг эмнэлзүйд зөвхөн шинж тэмдгийн эмчилгээгээр намжмал үед шилжүүлж байсан бол өдгөө ген эмчилгээгээр төгс эмчилж байгаа талаар цөөнгүй судалгаанд дурьдсан байна. Олон жилийн турш судлаачдын ген эмчилгээний туршилтууд шинэ арга замыг ямагт эрэлхийлснээр сүүлийн жилүүдэд цусны эмгэг, дархлаа дутмагшил, нүдний эмгэг, мэдрэлийн эсийн регенераци, бодисын солилцооны эмгэг, хорт хавдар зэрэг удамшлын шалтгаант олон эмгэгийн эмчилгээний туршилтын загварын үр дүн эерэг гараад байна[7].

Цистик фиброз, альфа-1 антитрипсиний дутагдал, гемофили, бета талассеми, хадуур эсийн өвчин зэрэг зарим удамшлын эмгэг, мөн хорт хавдар, халдварт өвчнүүд, түүний дотор ХДХВ-ийн халдвараас урьдчилан сэргийлэх, эмчлэх, эдгээхэд ген эмчилгээг ашиглаж болно гэж Америкийн Үндэсний эрүүл мэндийн нийгэмлэг (NIH)-ээс 2022 онд мэдээлжээ[8,9].

Зорилго: Ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уураг болон түүний олон улсын шинжлэх ухааны зарим хэрэглээг тодруулан судлах.

Арга, аргачлал: Бид Thomson Reuters, Pubmed-central database, google scholar зэрэг цахим эх сурвалжид ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийн ашиглан нийтлэгдсэн бүтээлүүдийн тоймтой эх зохиол судлалын магадлан шинжлэх, нэгтгэн дүгнэх аргыг ашиглан танилцаж дүгнэлт хийв. Ингэхдээ холбогдох судалгааг дараах загварыг ашиглан тодорхойлсон болно. Үүнд: 1. Нэгдүгээр жагсаалт: Ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уураг (Green fluorescent protein), плазмид (plasmid). 2. Хоёрдугаар жагсаалт: Хавдар (Cancer), трансформаци (transformation). Ингэхдээ нэгдүгээр жагсаалтын нэг үгийг хоёрдугаар жагсаалтын нэг үгтэй хослуулан хайлт хийв. Бид нийт 150 гаруй бүтээлийг олж тогтоосон бөгөөд эдгээрээс бүтэц зүйн болон иммуногистохимийн аргыг ашиглан хийгдсэн нийт 24 эх бүтээлийг хамруулсан болно.

Энэхүү судалгааг эхлүүлэх ёс зүйн зөвшөөрлийг АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2023 оны 11 дүгээр сарын 24-ний өдрийн хурлаар хэлэлцүүлэн судалгааг эхлүүлэх зөвшөөрөл авсан болно (2023/3-09).

Үр дүн:

Нээлт: МЭ 1 дүгээр зуунд биолюминесценцийн талаар Pliny[10] нар анх хэлэлцэж эхэлснээс хойш 1962 онд Shimomura О нарын судлаачид GFP-ийг тохиолдлоор нээжээ[11]. Биолюминесценци гэдэг нь эх бодис (*Люциферин*) фермент (*Люцифераза*)-ээр исэлдэх химийн урвалын дүнд организмаас гэрэл цацрах үйл явц юм. Биолюминесценци чадвартай организмууд байгальд олон авч Aequorea victoria далайн залхагаас ялгардаг GFP-ийн судалгаа болох 1994 онд Prasher DC нарын[12] GFP генийн клон, Chalfie M нарын[9] эукариот (*Caenorhabditis elegans*) эс болон прокариот (*Escherichia coli*) эсийн GFP генийн экспресс зэрэг хамгийн түрүүнд судлагдсанаараа өдгөө шинжлэх ухааны салбарт түлхүү хэрэглэгдэж байна[9,13]. 1996 онд Филлипс групп (Phillips group) болон Ремингтон групп (Remington group) байгалийн GFP болон мутаци GFP(S65T)-ийг мэдээлснээр GFP-ийн олон хувилбарууд боловсруулагдан гарч, хөх, цэнхэр, шар өнгөөр гэрэлтэгч уургууд бүтжээ.

Бүтэц: Байгалийн GFP нь 238 амин хүчлийн үлдэгдлээс тогтох 26.9 кДа молекул жинтэй, 24 Å өргөн, 42 Å өндөртэй. Орон зайд ташуу байрлалтай альфа мушгиаг тойрсон 11 параллель бус бетта гинжээс бүрдсэн цилиндр хэлбэрийн бүтэцтэй[14]. (Зураг 1)



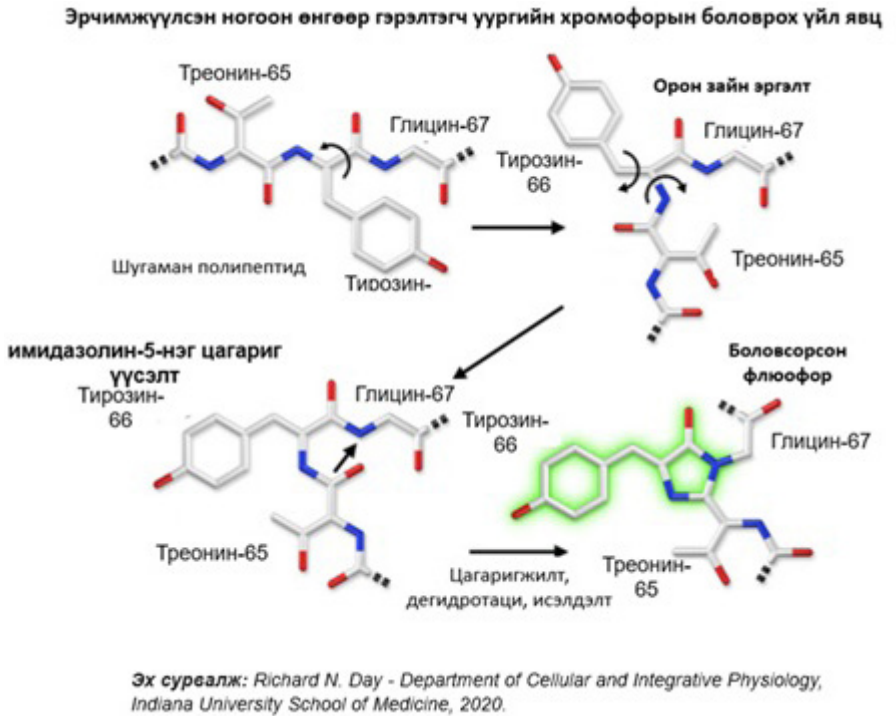
Эх сурвалж: PLoS One. 2012;7(10):e47132.

Зураг 1. Ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийн бүтэц.

Хромофор төв нь цилиндрийн төв хэсэгт альфа мушгиатай холбогдож орон зайд цис хэлбэрийг үүсгэснээр хүчилтөрөгчийн молекулаар исэлдэх, устөрөгчийн ионы дайралтаас хамгаалагдана. Хэд хэдэн туйлт нэгдлүүд, усны молекулууд хромофорын эргэн тойронд байрлаж устөрөгчийн холбоо үүсгэнэ. Үүссэн устөрөгчийн холбоо болон хромофор төвийн протонаци нь GFP-ийн гэрэлтэх механизмд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг байна[15]. Ийнхүү байгалийн GFP нь 395-475 нм долгионы урттай цэнхэр гэрлийг шингээж 540 нм долгионы урттай ногоон гэрлийг цацаргана[16]. GFP-ийн амин хүчлийн дараалал дахь Серин-65, Тирозин-66, Глицин-67 аминхүчлүүд нь флюоресценцийн идэвхийг үзүүлдэг хромофор төв юм.

GFP/S65T буюу эрчимжүүлсэн ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уураг (EGFP) нь GFP-ийн байгалийн хэлбэрийн гэрлийн идэвхтэй хромофор төвийг бүрдүүлэгч амин хүчлийн дараалал дахь Серин-65-ийг Треонин-65-аар сольж үүсгэсэн 238 амин хүчлийн үлдэгдлээс тогтох, 32.7 кДа молекул жинтэй 25 Å өргөн, 40 Å өндөртэй мутаци уураг юм. S65T мутаци нь 222 дахь амин хүчил Глутамины устөрөгчийн холбоог өөрчилж, сөрөг цэнэгийг дарангуйлснаар хромофор төвийн ионжих процессыг боломжтой болгодог[17].

Ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийн боловсрох үйл явц: Мутаци хэлбэрийн GFP/S65T уургийн флюофор хэсгийн боловсрох эхний шатанд уургийн бүтэц дэх хромофор төвийн Серин-65, Тирозин-66, Глицин-67 амин хүчлүүд нь шугаман байрлалтай байна. Дараагийн алхамд орон зайд эргэлт хийснээр Треонин-65 амин хүчлийн карбоксил бүлэг Глицин-67 амин хүчлийн амин бүлэгтэй ойртоно. Ийнхүү амин бүлгийн азотын атом руу карбоксил бүлгийн нүүрстөрөгчийн атом довтолсноор усны молекул ялгарч имидазолин-5-нэг гетеро цагариг үүснэ. Тирозин-66 амин хүчлийн альфа-бетта байрлалын нүүрстөрөгчийн холбоог хүчилтөрөгчөөр исэлдүүлэх үед имидазолины цагариг болон Тирозин-66 амин хүчлийн фенилийн цагаригийн электрон шилжилтийн дүнд флюорофор бүрэн боловсорч, флюоресценци идэвх үзүүлнэ[18]. (Зураг 2)



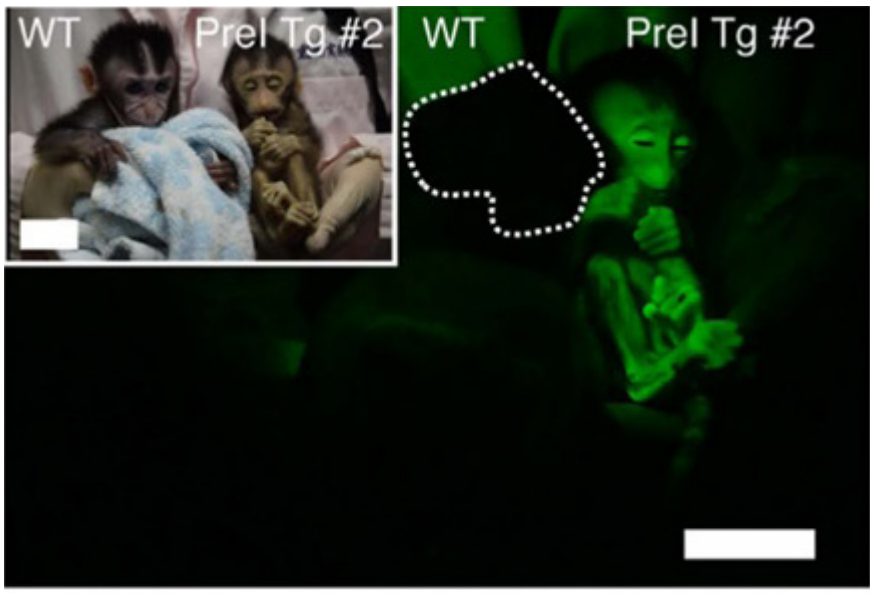
Эх сурвалж: *Richard N. Day - Department of Cellular and Integrative Physiology, Indiana University School of Medicine, 2020.*

Зураг 2. Эрчимжүүлсэн ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уургийн хромофорын боловсрох үйл явцын бүдүүвч.

Ийнхүү мутаци хэлбэрийн GFP/S65T нь 488 нм долгионы урттай цэнхэр гэрлийг шингээж 509 нм долгионы урттай ногоон гэрлийг цацаргадаг.

Вектор молекул: Гаднын генетик материалыг өөр эсэд зөөвөрлөн, олшруулж судлахад өргөн ашиглагддаг, бактерийн болон хөхтөн амьтны эсэд нэвтрэн генетик материалыг олшруулан хувилахад зөөвөрлөгчийн үүргийг гүйцэтгэх чадвартай цагариг ДНХ- ийн материалыг вектор молекул гэдэг. Гаднын ДНХ-ийн хэсгийг агуулсан вектор молекулыг рекомбинант ДНХ гэж нэрлэх ба плазмид, вирус, космид, зохиомол гэсэн дөрвөн төрлийн вектор молекулаас плазмид нь ДНХ-ийг эсийн бөөмд тээвэрлэх хамгийн энгийн вектор молекулын төлөөлөл юм[16]. Paul Berg нар 1973 онд анхны ДНХ-эрлийз молекулыг зохион бүтээсэн бол Cohen SN (1973) нар гэдэсний савханцар *Escherichia coli (E.coli*)-ийн EcoRI рестрикцийн эсэгийн тусламжтай плазмидад гаднын ДНХ-ийн жижиг хэсгийг нэгтгэсэн[19] нь генетикийн шинжлэх ухааны судалгааны хөгжилд эргэлт хийгээд зогсохгүй биологийн салбарт шинэ эрин үе авч ирсэн болохыг олон тооны бүтээлүүдэд дурдсан байна. 1997 онд Sambrook нарын гаргасан стандарт аргачлалаар Клонтек (Clontech) компани EGFP генийн дараалал агуулсан плазмидыг E.coli-ийн DH5α омгийг ашиглан угсарч олшруулсан[20] бөгөөд өдгөө молекул биологийн судалгаанд өргөн ашиглагдах болсон. Вектор молекул нь репликацийн идэвхтэй сайт болох ори дараалал, “Multicloning site (MCS)” буюу гадны ДНХ-ийн фрагментийг нэмэх хэд хэдэн рестрикцийн эсгэгийн өвөрмөц сайт агуулахаас гадна 1-2 антибиотикт тэсвэртэй генийн маркер[21] агуулсан бүтэцтэй байна. Судлаачид ихэнх векторыг сонирхож буй ДНХ-ийн жижиг хэсгийг бай эсийн дотор олшруулах болон экспресслэх зорилгоор өргөн ашигладаг.

GFP Трансген амьтад: GFP эсвэл түүний хувилбаруудыг хулгана (Okabe et al. 1997), гахай (Garrels et al. 2011, Park et al. 2001), туулай (Katter et al. 2013, Takahashi et al. 2007), сармагчин (Seita et al. 2016[22]) зэрэг лабораторийн болон тэжээмэл амьтдын геномд амжилттай шилжүүлсэн байна. Сүүлийн үед EGFP трансген амьтдыг хүний өвчний загварчлал (Garcia Diaz et al. 2016, Shetty et al. 2019), эдийн инженерчлэл (Hirakata et al. 2016) болон уушгины тромбоцит эсийн биогенезийг илрүүлэхэд ашиглах болсон (Lefrancais et al. 2017). Түүгээр ч зогсохгүй GFP экспресслэгч плазмидыг трансвекци хийсэн хондроцит эсүүдийг хархны түнхний үений дисплази, мултралыг судлахад ашиглах нь чухал ач холбогдолтой байв[23].



Эх сурвалж: Sci Rep 6, 24868 (2016).

Зураг 3. Pre-ICSI трансген (PreI Tg #2) амьтны төлийн бүх биеийн флюоресценцийн дүрслэлийг харуулсан байдал.

Репортер ген: Pan Y (2013) нарын судалгаагаар GFP экспресслэгч zebrafish-д алтны нано хэлтэнцрийн хордлогод үзүүлэх мэдрэг байдлыг судалсан. GFP тариулсан zebrafish нь GFP тариулаагүй zebrafish-аас эсийн стрессийг таньж, хүлээн авахад 20 дахин илүү мэдрэмтгий болохыг тэмдэглэсэн байна[24].

Ген эмчилгээ: Ген эмчилгээ нь удмын материалыг эс рүү дамжуулж өвчнийг эдгээх эмчилгээ юм[25].

Lebrón JA (2020) нарын судалгаагаар ДНХ pEGFP-C1 плазмидаар хийсэн трансфекцийн хэмжилтүүд нь ген эмчилгээнд хоргүй нановектор болгон ашиглах Ru(II)-д суурилсан липосомуудыг ашиглах боломжтойг харуулсан байна[26].

Pérez D (2022) нарын судалгаагаар анагаах ухааны ихэнх салбаруудад хэрэглэж буй ген эмчилгээний судалгааны нэг процесс болох трансфекцийг үр дүнтэй болгохын тулд эукариот эсийн генийн инженерчлэлийн салбарт вектор болгон ашигладаг D-маннитолоос гарган авсан шинэ био-нийлэмжит полиурэтан PUman/Phyco69 ба PUman/pEGFP-C1 полиплексүүдийг туршихад pEGFP-C1 плазмидын трансфекцийн ашиг бага, Phyco69 плазмидын трансформаци амжилттай болжээ[27].

Хорт хавдар: Chen HJ нарын судалгаанд өмнөх судалгааны протоколыг даган (Yang et al., 1999) GFP экспресслэгч pEGFP-N3(-) плазмид, ретровирусын pLPCX плазмидыг ашиглан PT67-pLPCX-EGFP вектор агуулсан эсийг бүтээж, өсгөвөрлөв. Дараа нь өсгөвөрлөсөн HCT-116 эсэд супернатантыг нэмж 37°C, 5% CO_2-ийн чийгшилтэй орчинд 24-72 цаг трансвекци хийв. 1.5×107 /ml HCT-116GFP эсийг 15 нүцгэн хулганын загварт мэс заслын аргаар арьсан дор шилжүүлэн суулгахад 3 дахь долоо хоногт флюороскопиор туршилтын бүх загварт, флюоресценци зураглалаар туршилтын 2 амьтанд хавдрын үсэрхийлэл тодорхойлогджээ[28].

Дүгнэлт: Олон улсын шинжлэх ухааны олон салбарт шинэ нээлт, бүтээлийн төлөө ногоон өнгөөр гэрэлтэгч уураг экспресслэгч плазмидыг ашиглаж байгаагаас хорт хавдар, ген эмчилгээний салбарт түгээмэл хэрэглэгдэж байна.

Ном зүй:

1. *Zimmer M. GFP: From jellyfish to the Nobel prize and beyond. Chem Soc Rev. 2009;38(10):2823-2832. doi:10.1039/b904023d*
2. *Shimomura O. Discovery of green fluorescent protein (GFP) (Nobel Lecture). Angew Chem Int Ed Engl. 2009;48(31):5590-5602. doi:10.1002/anie.200902240*
3. *Hoffman RM. Green fluorescent protein imaging of tumour growth, metastasis, and angiogenesis in mouse models. Lancet Oncology. 2002;3(9):546-556. doi:10.1016/S1470-2045(02)00848-3*
4. *Hoffman RM. Application of GFP imaging in cancer. Laboratory Investigation. 2015;95(4):432-452. doi:10.1038/labinvest.2014.154*
5. *Riihimaki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. Sci Rep. 2016;6. doi:10.1038/srep29765*
6. *Woo Y, Chaurasiya S, O'Leary M, Han E, Fong Y. Fluorescent imaging for cancer therapy and cancer gene therapy. Mol Ther Oncolytics. 2021;23:231-238. doi:10.1016/j.omto.2021.06.007*
7. *Yazdani A, Alirezaie Z, Motamedi MJ, Amani J. Gene Therapy: A New Approach in Modern Medicine. International Journal of Medical Reviews. 2018;5(3):106-117. doi:10.29252/ijmr-050304*
8. *Craggs TD. Green fluorescent protein: Structure, folding and chromophore maturation. Chem Soc Rev. 2009;38(10):2865-2875. doi:10.1039/b903641p*
9. *M C, Y T, G E, WW W, DC P. Green fluorescent protein as a marker for gene expression. Science. 1994;263(5148):1766-1767. doi:10.1126/SCIENCE.8303295*
10. *Bioluminescence : methods and protocols : Free Download, Borrow, and Streaming : Internet Archive. Accessed January 11, 2024. https://archive.org/details/bioluminescencem0000unse/page/n287/mode/2up*
11. *SHIMOMURA O, JOHNSON FH, SAIGA Y. Extraction, Purification and Properties of Aequorin, a Bioluminescent Protein from the Luminous Hydromedusan, Aequorea. J Cell Comp Physiol. 1962;59(3):223-239. doi:10.1002/JCP.1030590302*
12. *Prasher DC, Eckenrode VK, Ward WW, Prendergast FG, Cormier MJ. Primary structure of the Aequorea victoria green-fluorescent protein. Gene. 1992;111(2):229-233. doi:10.1016/0378-*

1119(92)90691-H
13. Primary structure of the Aequorea victoria green-fluorescent protein.
14. Yang F, Moss1 LG, Phillips GN. The Illolecular Structure of Green Fluorescent Protein.; 1996. http://www.nature.com/naturebiotechnology
15. Bokman SH, Ward WW. Renaturation of Aequorea green-fluorescent protein. Biochem Biophys Res Commun. 1981;101(4):1372-1380. doi:10.1016/0006-291X(81)91599-0
16. Williams PD, Kingston PA. Plasmid-mediated gene therapy for cardiovascular disease. Cardiovasc Res. 2011;91(4):565-576. doi:10.1093/cvr/cvr197
17. Ormö M, Cubitt AB, Kallio K, Gross LA, Tsien RY, Remington SJ. Crystal structure of the Aequorea victoria green fluorescent protein. Science. 1996;273(5280):1392-1395. doi:10.1126/SCIENCE.273.5280.1392
18. ZEISS Microscopy Online Campus | Introduction to Fluorescent Proteins. Accessed January 11, 2024. https://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/probes/fpintroduction.html
19. Cohen SN, Chang ACY, Boyert HW, Hellingt RB. Construction of Biologically Functional Bacterial Plasmids In Vitro (R Factor/Restriction Enzyme/Transformation/Endonuclease/Antibiotic Resistance). Vol 70.; 1973.
20. Spector DL, GRD and LLA. Cells: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory, New York. Published online 1998.
21. Salih A. Fluorescence control in natural green fluorescent protein (GFP)-based photonic structures of reef corals. Optical Biomimetics. Published online January 1, 2012:199-235e. doi:10.1533/9780857097651.199
22. Seita Y, Tsukiyama T, Iwatani C, et al. Generation of transgenic cynomolgus monkeys that express green fluorescent protein throughout the whole body. Sci Rep. 2016;6. doi:10.1038/srep24868
23. Lipták N, Bosze Z, Hiripi L. GFP transgenic animals in biomedical research: A review of potential disadvantages. Physiol Res. 2019;68(4):525-530. doi:10.33549/physiolres.934227
24. Pan Y, Leifert A, Graf M, et al. High-sensitivity real-time analysis of nanoparticle toxicity in green fluorescent protein-expressing zebrafish. Small. 2013;9(6):863-869. doi:10.1002/smll.201201173
25. Scheller EL, Krebsbach PH. Gene therapy: design and prospects for craniofacial regeneration. J Dent Res. 2009;88(7):585-596. doi:10.1177/0022034509337480
26. Lebrón JA, Ostos FJ, López-lópez M, et al. Metallo-liposomes of ruthenium used as promising vectors of genetic material. Pharmaceutics. 2020;12(5). doi:10.3390/pharmaceutics12050482
27. Pérez D, Moyá ML, Bautista M, et al. A novel biocompatible polymer derived from D-mannitol used as a vector in the field of genetic engineering of eukaryotic cells. Colloids Surf B Biointerfaces. 2023;224. doi:10.1016/j.colsurfb.2023.113219
28. Chen HJ, Yang BL, Chen YG, Lin Q, Zhang SP, Gu YF. A GFP-Labeled human colon cancer metastasis model featuring surgical orthotopic implantation. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2012;13(9):4263-4266. doi:10.7314/APJCP.2012.13.9.4263

Clarifying some scientific applications of green fluorescent protein

Anujin D[1], Juramt B[1], Enkhsaikhan L[2]

[1]Department of Anatomy, School of Bio-medicine, MNUMS
[2]Department of Immunology, School of Bio-medicine, MNUMS
E-mail: anujin.d@mnums.edu.mn, Tel: +976-88099136

Background: Since its discovery in 1962, Green Fluorescent Protein (GFP) has been used in many fields of science, especially in the biological and biomedical fields, in tumor diagnosis and treatment. In 2008, when the Nobel Prize in Chemistry was awarded to the team of Shimomura, Chalfie, and Tsien, who discovered the green fluorescent protein, the Nobel Committee named GFP as a "Guiding star" that makes invisible biochemical processes such as cancer cell proliferation visible.

Aim: To clarify some scientific applications of green fluorescent protein.

Materials and Methods: We reviewed the published works using green fluorescent protein in electronic sources such as Thomson Reuters, Pubmed-central database, and Google Scholar, and made a conclusion using the literature review and summary method. Ethical permission to start this study was discussed at the meeting of the Research Ethics Control Committee of ASUU on November 24, 2023 (March 9, 2023).

Results: GFP/S65T or enhanced green fluorescent protein (EGFP) consists of 238 amino acid residues with a molecular weight of 32.7 kDa, formed by replacing Serine-65 with Threonine-65 in the amino acid sequence that forms the light-active chromophore center of the natural form of GFP. Å wide and 40 Å high mutation protein. The S65T mutation alters the hydrogen bond of amino acid glutamine at 222 and suppresses the negative charge, enabling ionization of the chromophore center[17].

Conclusion: For many new discoveries and inventions of international scientific fields, there are high-quality applications for cancer and gene therapy, which are discovering plasmids that express green fluorescent proteins.

Keywords: GFP, Fluorescence, Plasmid, Transformation