剖析複雜的生物分子：
中研院原子與分子科學研究所
生物物理與分析技術組

「中研院原分所也有那麼多人在做生物？」這是我們和做生命科學研究的朋友聊天的時候，常常會被問到的問題。從李遠哲院長、浦大邦教授、及張昭鼎教授等的努力籌備，中央研究院原子與分子科學研究所創立至今正好20週年。因應於所內生物相關的研究活動愈來愈多，生物物理與分析技術組於12前成立，目前有7個研究團隊，積極以物理及化學為基礎，結合理論與實驗來探討生命現象的本質，並且運用光學、顯微鏡、與奈米科學的技術，開發新一代的工具來探討生物系統在分子、細胞、及組織層級的行為。專精的研究包括螢光奈米鑽石的開發與應用、設計癌症偵測螢光分子、蛋白質交互作用動態模擬、辨識疾病指標生物分子、發展超高速光學顯微攝影、超高解析顯微技術以及核磁共振光譜技術等。希望能以此篇介紹，促進與臨床醫學上的互相合作，以下分別就7個研究團隊加以介紹。

A.張煥正老師實驗室
B.韓肇中老師實驗室
C.張大釗老師實驗室
D.楊大衍老師實驗室
E.謝佳龍老師實驗室
F. 廖仲麒老師實驗室
G.余慈顏老師實驗室

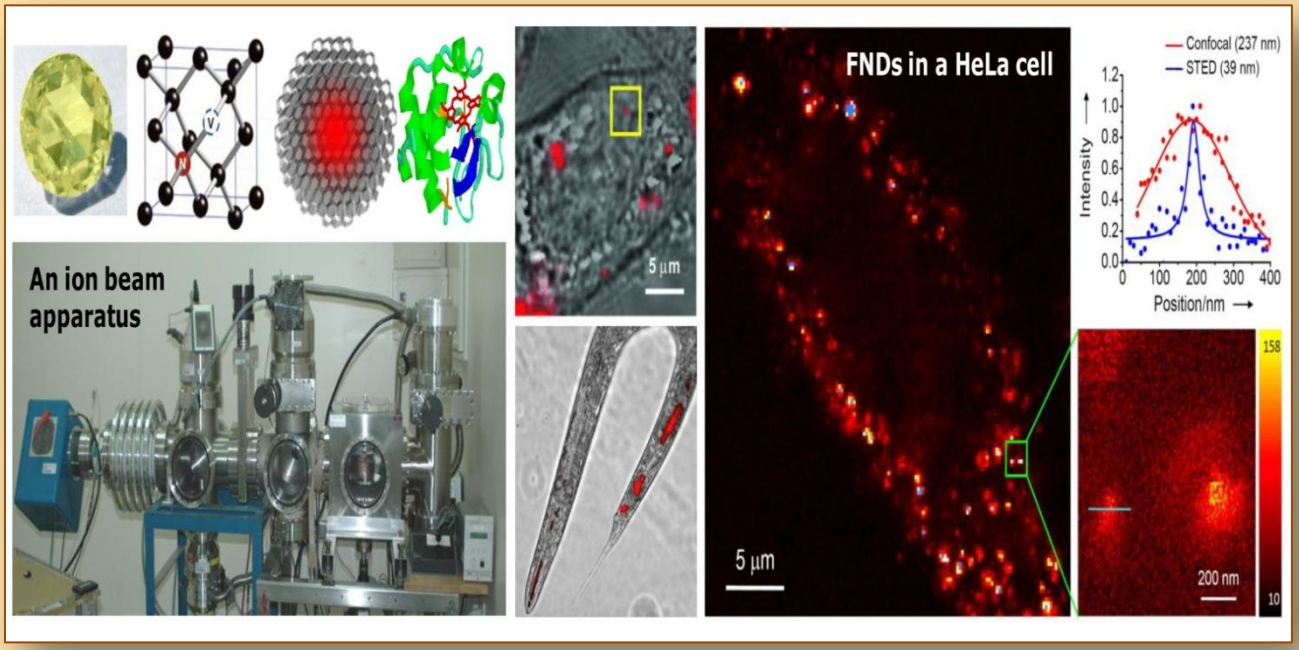
http://www.iams.sinica.edu.tw/tw/?link=rarea&id=3

黃維君博士後研究員 整理

A. 張煥正老師實驗室

科學上許多重要的突破，常常仰賴新工具的開發與應用，生命科學亦是如此，著名的例子包括X射線繞射（x-ray diffraction）、磁共振成像（magnetic resonance imaging）與質譜術（mass spectrometry）等。這些物理學家所深入探討的現象及其衍生的發明，在上一個世紀裡，為生命科學領域帶來了許多驚人的發現和革命性的影響。奈米科技被譽為二十一世紀最重要的前瞻技術之一，它是否能如X射線繞射、磁共振成像與質譜等技術於生命科學領域中作出重大的貢獻，一直是學界所關心的議題及努力的目標。在眾多的奈米材料中，奈米鑽石鮮少受到注意，原因包括製備困難、非導體、光學特徵不明顯等。但奈米鑽石有著優異的生物相容性，又能發出多彩的螢光，與其他奈米碳材（**nanocarbon**）截然不同。有鑑於此材料的發展潛力，本人過去多年來致力於螢光奈米鑽石（**fluorescent nanodiamonds, FNDs**）的開發及其在生物醫學方面的應用。這是一項跨領域的研究，結合化學家、物理學家、生物學家及材料學家的專長，通力合作才能獲得顯著的成果。例如，**2013**年，本人與中研院細胞與個體生物學研究所游正博教授合作，應用螢光奈米鑽石來標記肺部幹細胞，追蹤該幹細胞在小鼠體內的路徑與修復方式。在此項工作中，所使用的關鍵技術是時間閘門（**time gating**）及生命週期螢光顯微鏡術（**fluorescence lifetime imaging microscopy, FLIM**）。我們首先分離出新生小鼠的肺部幹細胞，進行螢光奈米鑽石標記，並證明該幹細胞的生長與功能不受到影響。

我們隨後將這些幹細胞注入肺部已損傷的成鼠體內，利用時間閘門這項技術區分出螢光生命週期較長的螢光奈米鑽石訊號與螢光生命週期較短的細胞背景訊號，追蹤該幹細胞在組織與器官中的分布情形。實驗結果發現，以螢光奈米鑽石標定的肺部幹細胞不僅僅會回到受傷的肺部區域來進行修補，並且能夠再生出新的肺部組織。我們藉由共軛焦螢光學顯微鏡（**confocal fluorescence microscope**）建構之影像系統來追蹤體內微量的肺部幹細胞，可以達到單一細胞的偵測靈敏度與解析度。**(**參考資料來源 *自然科學簡訊*第二十七卷第四期 **[**研究成果報導**])**



上圖**:** 螢光奈米鑽石分子的研發與應用**---**本實驗室利用自製的基質能量離子束儀器**(medium-energy ion beam apparatus)**來產生高硬度的奈米鑽石，此奈米鑽石內部帶有陰極缺氮分子中心**(negatively charged nitrogen-vacancy defect centers)**，由於螢光奈米鑽石分子可進入人類細胞等生物體，並藉由螢光性質來偵測其動態軌跡，本實驗室此特性，利用超高分辨技術**(STED)**來觀察細胞內，與蛋白質分子結合的螢光奈米鑽石分子的動態表現。

By 張煥正教授

B. 韓肇中老師實驗室

運用與張煥正教授共同發明的創新蛋白質濃縮工具，開發辨識疾病生物指標的技術。由於百分之六十的臨床藥物標靶為膜蛋白，這項發明特別有利於從像尿液這種不需經由侵入方式就可取得的極度稀釋體液中，快速又經濟地提取多肽及蛋白質等分子，以供大規模檢體統計分析之研究。

其作用原理為鑽石的表面一般覆蓋著一層疏水性的 **C-H** 鍵結，在強氧化酸性處理下，鑽石表面經由氧化而生成羧基（**COOH**） 或其他含氧的官能基（例如 **C=O**、**C-O-C** 等），故而產生親水性。這些鑽石顆粒對於多 肽和蛋白質，普遍具有很強的吸附力，藉由調整溶液的酸鹼度，更可以適度地反映出該多肽的等電位點（**isoelectric point, pI**）。這種吸附特性可以應用於從複雜的生物樣本基質中萃取其中的特定種類分子，例如從血液或是尿液中快速分離 出多肽和蛋白質，因而簡化檢體化驗分析的流程，在臨床醫學研究上有潛力成為篩選疾病相關生物指標分子 （**biomarker**）的利器。

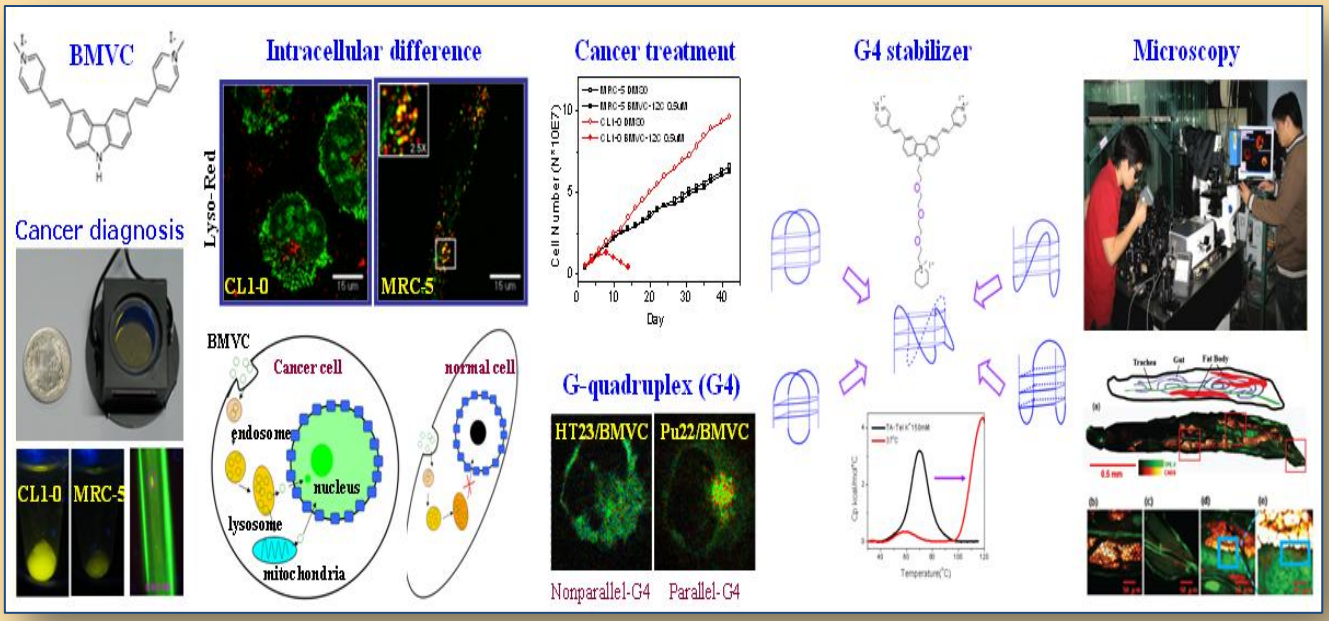
吸附了蛋白質的鑽石顆粒可以直接用凝膠電泳進一步分離、純化所吸附的蛋白質，或是直接用基質輔助雷射脫 附游離質譜術（**matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry**）進行餾分中蛋白質的快速鑑定。由於鑽石 顆粒表面同時具有疏水和親水的兩極性能，使得實驗人員可以透過調整溶液酸鹼值的方式達到控制蛋白質吸附或是 溶解的狀態。因此，若是要透過液相層析初步分離再做質譜分析的話，也只需要把吸附了蛋白質的鑽石顆粒，多加一步簡單的洗提（**elution**）操作，就可以輕易完成。至於要作蛋白酶（**protease**）消化處理後再透過胜肽質譜身份鑑定（**peptide mass fingerprinting**）來確認蛋白質組成的分析，則可直接對吸附了蛋白質的鑽石顆粒進行標準的蛋白酶消化反應，之後消化生成的胜肽片段會自動脫離鑽石表面而溶解出來。目前我們應用奈米鑽石晶粒從事蛋白質體分析的研發工作，是針對配合強大的質譜分析工具而進行，一般性的樣品操作流程能夠從尿液中鑑識出 **125** 種蛋白質。 **(**參考資料來源 中研院週報 **1064**期**)**

By 韓肇中教授

C. 張大釗老師實驗室

本實驗室致力研發可以穩定G-四股結構的系列螢光藥物分子，結合顯像技術，從事生物醫學相關研究。由於DNA G-四股結構具有穩定染色體與調控基因活性的功能，與癌症或神經疾病有重要關聯，我們以G-四股結構為目標。首先研究G-四股結構的構型與變化及相關的熱力學與動力學，一方面了解DNA構型變化的機制，同時成為藥物設計的依據。接著以G-四股結構作為藥物研發的對象，其中3,6-bis(1-methyl-4-vinylpyridinium) carbazole diiodide (BMVC) 不但可以穩定染色體端粒的G-四股結構，進而抑制癌細胞的增生；同時經由其螢光特質驗證G-四股結構在染色體端粒的存在。另外BMVC可進入癌細胞的細胞核，與DNA作用導致螢光大幅增強，但是進入正常細胞卻分佈在細胞質中，螢光微弱；BMVC可以點亮癌細胞，是國際上第一個可用來分辨癌細胞與正常細胞的螢光小分子。我們所研發的簡易BMVC檢測系統，確實有助於醫院病患的癌症檢測，目標是能應用在居家或遠端的癌症檢測。由於BMVC的同分異構物，鄰位的*o*-BMVC可以穩定G-四股結構，然而不具有抗癌功能；根據其螢光影像，得知*o*-BMVC主要聚集在粒線體。另外在*o*-BMVC的N9端鍵接不同碳鏈長度的衍生物，發現它們的抗癌功能與其在癌細胞粒線體的螢光強度成正比，主要是與粒線體DNA作用的差異而大不相同。因此利用具有螢光的藥物分子，從事活體細胞的研究，不但能指引藥物設計，同時能觀測螢光藥物小分子在活體細胞中輸送的路徑過程及其與標的物的作用。利用螢光藥物分子不但確定「四股結構在人類細胞中之存在」，探討四股結構在不同細胞中之差異；同時有利於研究不同細胞的胞器表現之異同。螢光藥物分子的相關研究，不僅在藥物研發扮演重要角色，同時可開啟生物細胞學研究的新方向。(參考資料來源中研院週報 1184期)

另外我們建立CARS分子影像技術平台，不需任何染色標定，透過無干擾性觀察活體生物內脂肪分布的變化，研究活體動物(線蟲及果蠅)中脂質調控的機制以及動脈硬化疾病與藥物的篩選。



上圖: 利用穩定G-四股結構的BMVC小分子來檢測並治療癌細胞---BMVC位於癌細胞的細胞核中，並且產生螢光訊號，本實驗室可藉由此特性，來直接檢測癌細胞，BMVC小分子可穩定G-四股結構並抑制癌細胞的增生，BMVC是第一個同時能抑制癌細胞生長並帶有螢光的腫瘤標記小分子。

By 張大釗教授

D. 楊大衍老師實驗室

主導理論計算與分子動態模擬研究，內容包括生物原型分子的特性與結構，多肽鍵上的電子與質子轉移，溶液中雙分子化學反應等，希望經由這些基礎研究來瞭解酵素與基質作用時之複雜反應機理與動態行為。

•生物物理方面:主要包括蛋白質分子, **DNA**模型及細胞分裂過程的運算

1. 蛋白質分子-主要集中於了解蛋白質分子的功能**(function),** 如:呼吸過程, 電子轉換過程, 分子機器**(molecular motor),** 蛋白質間的交互作用, 光合作用, 蛋白質分子折疊現象等。

2. DNA模型-主要是藉由簡單的模型計算**DNA**的**supercoiling**。

3. 細胞分裂-利用數值方法, 計算細胞膜的分裂**(fission)**及結合**(fusion)**過程是如何進行的。希望能了解癌細胞分裂過程的物理機制。

•其他:我們將利用蛋白質分子之計算方法於

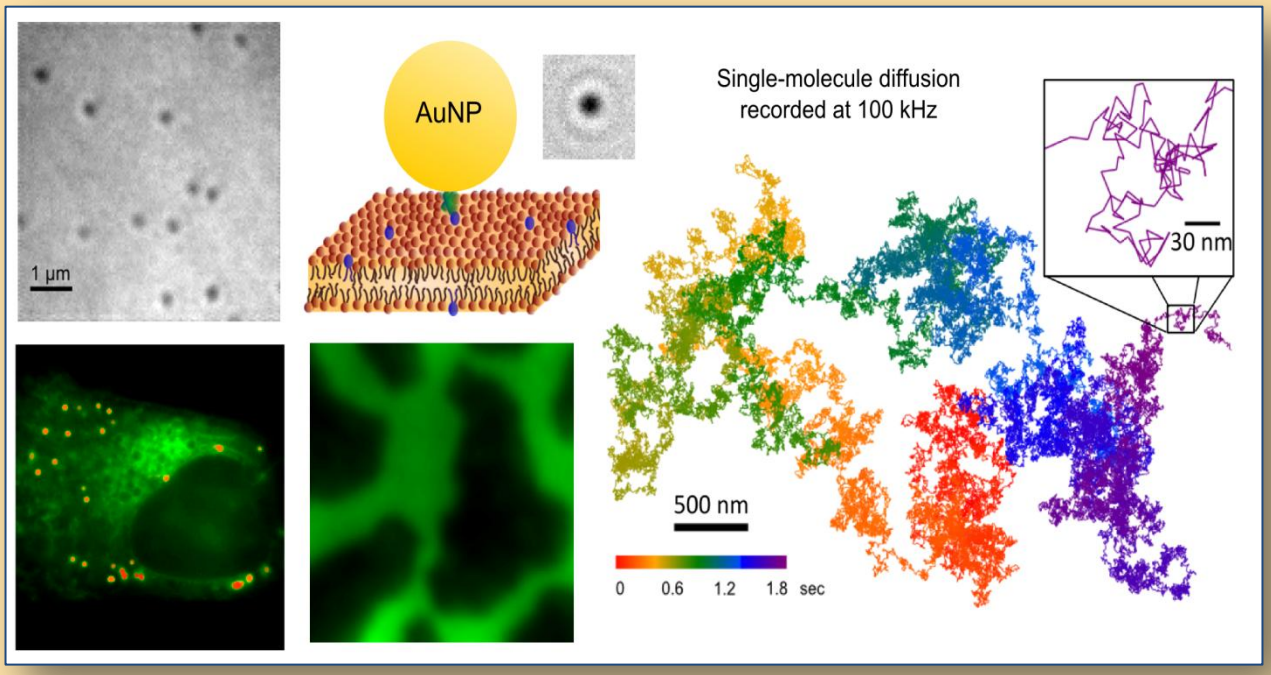
1. 設計分子導線**(molecular wire)** 所需的分子電子零件**(molecular electronics)**。

2. 設計原子機器**(atomic engine)** 的應用上。

By 楊大衍教授

E. 謝佳龍老師實驗室

生物細胞的運作既複雜又動態，包含大量快速且細微的事件，若想了解生物細胞的基本運作方式，需要高速且精準的研究觀察工具。中研院原分所的生物奈米光學實驗室致力於結合奈米科技以及開發新穎光學顯微技術，透過直接觀察的方法，探討生物系統裡分子尺度的的高速動態現象。我們在近年開發的超高速光學顯微攝影技術，可以在每秒數十萬張影像的超速度下，精準捕捉病毒顆粒和細胞胞器在活體細胞內的三維運動。這項新穎的技術的特別之處，在於使用穩定的散射光作為訊號，透過干涉的光學原理，達到螢光顯微鏡所無法提供的超高時間及空間解析度。我們使用這個超高速光學顯微影像工具，從全新的角度檢視生物細胞三度空間的複雜運作行為。近年研究主題包括細胞膜的奈米結構和功能性的關聯性、早期病毒入侵細胞的機制、以及細胞內部的主動運輸的調控。



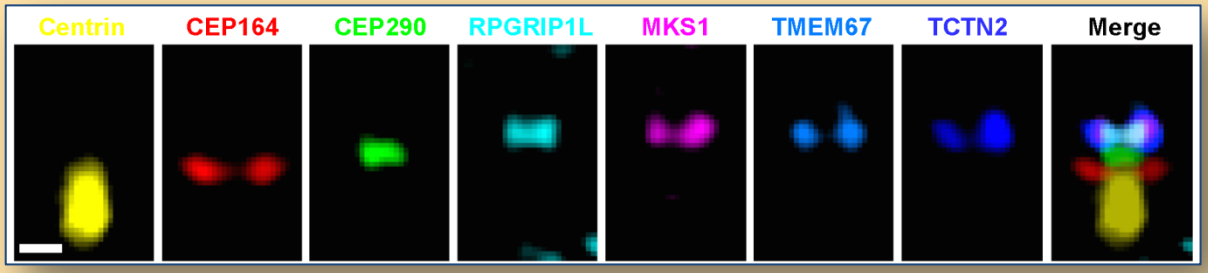
上圖: 超高速光學顯微影像技術解析生物系統中奈米尺度下的高速動態行為---中研院原分所奈米生物光學實驗室發展超高速精密顯微影像技術，觀察生物系統內奈米顆粒的運動。透過精準地追蹤金屬奈米分子、病毒顆粒及細胞胞器的運動行為，研究細胞膜的奈米結構和功能性、病毒入侵細胞、以及細胞內部的主動運輸等重要生物議題背後的分子機制。

By 謝佳龍教授

F. 廖仲麒老師實驗室

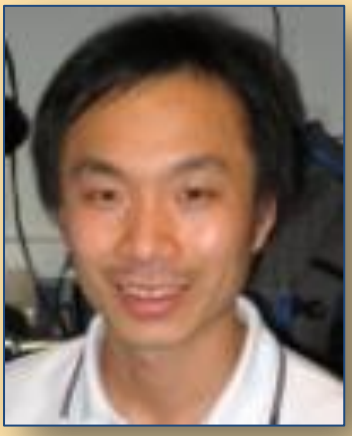
本實驗室專精於超高解析度顯微技術，運用超高解析度顯微系統研究細胞內的分子架構及動態變化。近年來，實驗室致力研究主纖毛**(primary cilia)**的結構。主纖毛是一個細胞表面上由微管組成的天線狀結構，主纖毛廣泛分佈在幾乎所有細胞中，若纖毛無法生成，會導致很多人類疾病如人類多囊腎臟病 **(polycystic kidney disease)** 的病徵。科學家開始推測主纖毛的功用類似細胞的天線，上面有各種受體感應器，用以檢測外界的環境與刺激，進而影響細胞的反應。

本實驗室的研究團隊利用轉錄等分生方法修飾不同的基因，並利用超高解析度顯微鏡觀察主纖毛內微管上許多不同的轉錄後修飾表現，進而推測其生理機制。目前實驗室的顯微系統已能達到**20**奈米的解析度，並已使用該系統來了解主纖毛、中心粒、**ER**、及神經元軸突起始段的分子建構（發表於**Scientific Reports, Cell Reports, Developmental Cell** 等）。



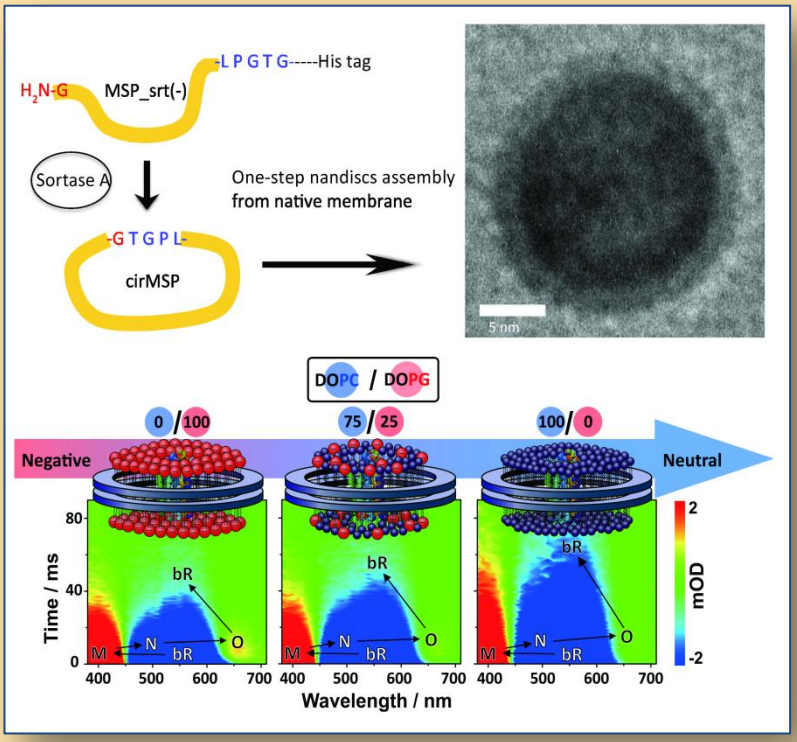
使用超高解析度顯微系統定出主纖毛底部各分子的相關位置，用一般光學顯微鏡是無法達到的。

By 廖仲麒教授



G. 余慈顏老師實驗室

本實驗室主要研究興趣為利用脂質奈米盤為平台，結合新開發的核磁共振技術，來研究膜蛋白在接近自然環境下的結構與動力學。百分之六十五的藥物標靶為膜蛋白，說明了膜蛋白的重要性。然而，膜蛋白必須處在膜的環境才會有功能。針對每個膜蛋白尋找適合的膜環境，往往是一個曠日廢時的工作。也因此，過去四十年左右，全世界解出的膜蛋白結構的數目不到六百個，小於所有蛋白質結構的百分之一。本實驗室利用脂質奈米盤的技術來提供脂雙層環境，得以在接近自然的環境下來研究膜蛋白。目前的研究方向，包括改良脂質奈米盤的技術，以及利用脂質奈米盤來研究膜蛋白功能對周遭脂質總類的依存性。



上圖:以相位差電子顯微鏡的技術來觀測，我們所發展的環化膜鷹架蛋白(membrane scaffold protein)，所製備脂質奈米盤。下圖:首次以光譜的方法，證實了膜蛋白功能對膜環境的依存性。

By 余慈顏教授