

• 計畫中文名稱	利用動力素蛋白質馬達與雙價性 DNA Aptamer 來達到在微流道中單方向地運輸特定分子的目的(III)		
• 計畫英文名稱	Vectorial Transportation of Specific Analytes in Micro Channels by Using Kinesin Motor Protein and Bi-Functional DNA Aptamer(III)		
• 系統編號	PB9609-4043	• 研究性質	技術發展
• 計畫編號	NSC96-2221-E038-005	• 研究方式	學術補助
• 主管機關	行政院國家科學委員會	• 研究期間	9608 ~ 9707
• 執行機構	臺北醫學大學生化學科		
• 年度	96 年	• 研究經費	785 千元
• 研究領域	生物科學類		
• 研究人員	郭泰志		
• 中文關鍵字	--		
• 英文關鍵字	--		
• 中文摘要	在發展小巧又靈敏的生醫檢測儀器上所面臨的兩項挑戰是如何能有效又具專一性地在微 流道中輸送所欲的檢測分子，以及如何能夠偵測濃度極為微量的檢測物。其實，在生物的世 界裡，這兩項問題已經透由演化的過程而獲得解決。本計畫是想利用傳統動力素馬達蛋白質（conventional kinesin motor protein）、微管束(microtubules)以及人工篩選創造的雙價性單股 DNA (ssDNA) aptamers 來解決上述問題。 動力素馬達蛋白質的主要功能是將細胞內的分子或胞器沿著微管束的負端輸送到正端； 馬達蛋白質將 ATP 的能量轉換成機械動能來輸送所載運的貨物分子。有趣的是，動力素必得 在已經載著貨物分子同時又有微管束可供為輸送道路的情況下才會啟動其馬達功能。傳統動 力素馬達蛋白質是由兩條重鍊(kinesin heavy chain)與兩條輕鍊(kinesin light chain)組成；具有 馬達功能的部分是位在重鍊 N 端的區團，而具有辨識及與貨物分子結合的部分是在輕鍊的 TRP(tetratricopeptide)區團上。事實上，已經有文獻報導利用動力素馬達蛋白質與微管束能建 構簡單分子輸送載具(molecular shuttles)，但是現階段的分子載具由於不能與非天然(non-native)的貨物分子結合而且又不能隨操作者所欲地將貨物分子載上及卸下，因此幾乎沒有實際用 處。本計畫的重點在於找到（或創造）一種能夠一端連接檢測物分子而另一端能夠與 TRP 區 團結合的雙價性連接器(bi-functional adapter)分子。如此檢測物分子便能透由連接器而與動力 素馬達蛋白質結合並且被運送。更重要的是，由於動力素是消耗能量來載運貨物分子，因此 即便是濃度很稀的檢測物也可以靠著主動運輸（active transportation）所造成的濃縮效果而被 偵測到。這種連接器是由稱為單股 DNA 核酸(ssDNA) aptamers 所構成的；aptamers 具有複雜 的立體結構因此能如同抗體一般地與標的物分子(例如我們所欲檢測的某蛋白)形成專一而 緊密的結合。ssDNA aptamers 是利用一種稱為 SELEX 的技術，從一群至少含有 10¹⁴ 種不同 序列的 ssDNA 分子中經由反覆的篩選所得到的。使		

	用 aptamers 的好處是我們可以利用與 aptamer 序列互補的單股核酸使 aptamers 喪失原有立體結構，進而將貨物分子由動力素馬達上卸下。FY96 的計畫提案是根據本研究現況而作展望。爲了備齊實驗所需材料，我們已經將人類 傳統動力素重鍊蛋白質(KIF5A)，輕鍊蛋白質(KLC2)以及 TRP 區團的基因分別選殖到基因表現載體內；我們也已經將大腸桿菌所生產的 TPR 蛋白質予以純化。目前我們正在調整使細菌 大量生產 KIF5A 以及 KLC2 蛋白質的條件；從豬腦中純化備製微管束所需的 tubulin，以及篩選 TRP 的 aptamers 的工作也都在進行中。因此，FY96 我們將進行完成這個計畫所需的另一個重點，亦即從我們所製備的微管束、KIF5A 以及 KLC2 來建構分子輸送載具。我們會以生化分析的方法來研究這個分子載具的動力學參數，並且用顯微鏡以及分子光鉗(optical tweezers)來觀察與研究其運動時的生物物理特性。此外，我們也會製備所需的雙價性 aptamers。在 FY97，我們要進行的是用雙價性 aptamers 來控制馬達蛋白質的運動，並且使馬達蛋白質在佈滿具有相同排列方向的微管束的微流道中進行分子運輸。
• 英文摘要	查無英文摘要