

## 十二、研究計畫內容：

- (二) 研究計畫之背景及目的。請詳述本研究計畫之背景、目的、重要性及國內外有關本計畫之研究情況、重要參考文獻之評述等。本計畫如為整合型研究計畫之子計畫，請就以上各點分別述明與其他子計畫之相關性。
- (三) 研究方法、進行步驟及執行進度。請分年列述：1.本計畫採用之研究方法與原因。2.預計可能遭遇之困難及解決途徑。3.重要儀器之配合使用情形。4.如為整合型研究計畫，請就以上各點分別說明與其他子計畫之相關性。5.如為須赴國外或大陸地區研究，請詳述其必要性以及預期成果等。
- (四) 預期完成之工作項目及成果。請分年列述：1.預期完成之工作項目。2.對於學術研究、國家發展及其他應用方面預期之貢獻。3.對於參與之工作人員，預期可獲之訓練。4.本計畫如為整合型研究計畫之子計畫，請就以上各點分別說明與其他子計畫之相關性。

### 二、研究計畫之背景及目的

巨觀平均測量過程常會造成微觀資訊的流失，因此經由研究單一分子特性來探討分子和其奈米局部環境之作用不但可補強巨觀平均測量結果，在某些情況下甚至是必須採用的研究策略[1]。這可從下列幾項事實得知：

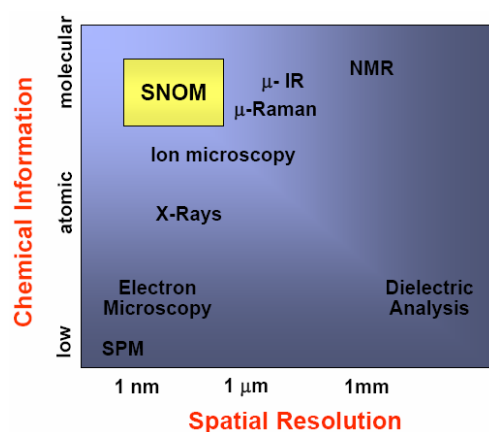
(A)、若微觀事件僅能存在兩種狀態，例如細胞離子通道僅能是開或關閉，巨觀平均測量過程會產生既不是開也不是關的結論，顯然的這不會是微觀事件的本質。

(B)、巨觀平均測量過程反映整體內之主要成分，一些在空間或時間分佈較為局限的成份就常被忽略。

(C)、巨觀平均測量過程不能適當反映微觀事件發生之時間前後次序。例如每一分子的狀態可隨時間而指數型衰退；或每一分子的狀態可突然改變，但每一分子改變發生的時間在整體內呈指數型分佈。這兩類微觀狀況會導致同一巨觀平均測量結果。

過去十年單分子螢光技術[2]已被廣泛應用於探討生物體系之異質性(heterogeneity)、動力學(kinetics)、分子方向(local orientation)、與能量轉移(energy transfer)等課題。一般典型的螢光基團尺寸約 1 nm，因此若能偵測到單分子狀態即可反映材料分子與

奈米局部環境之作用狀況。此概念已被發展成應用極為廣泛之螢光顯微術[3]，其可淬取的參數包括螢光基團的位置、螢光亮度、螢光極化、生命期、螢光強度變動、螢光光譜、和 Förster 共振能量轉移程度等。然此研究面臨之主要挑戰是如何進一步延伸這些研究至活細胞次繞射極限之造影與奈米尺度定位[4]。



由於對光束對樣品具最低程度的干擾，加上人類眼睛和大腦對光學影像的親和性，因此儘管電子顯微術(EM)和掃描探測顯微術(SPM)近年來的發展能提供更高的解析力，光學顯微術在日常研究方面(尤其是生命科學)之使用率仍佔80%。然而光學顯微術受限於光波繞射行為，其影像解析在可見光區僅達200 nm。而一般生物分子的尺度約2 nm，兩者相差約兩個數量級。因此如何改善光學顯微術之解析力至10 nm [5]，以彌補存在於傳統光學顯微術(>200 nm)和電子顯微術(<1nm)之間的影像解析間隙長久以來一直是科學家努力的目標。的確任何前瞻科研工具的發展使得科學家能從事以前無法進行觀測的研究而造成革命性科學突破的例子不勝枚舉。

目前遠場光學顯微術中已成功展示可達到 50-nm次波長影像解析的技術大約可分成下述三類：

(一)、可逆光飽和躍遷技術(reversible saturable optical transitions RESOLFT)[6]/刺激放射導致能階佔據數消耗之螢光顯微術(Stimulated emission depletion fluorescence microscopy STED)[7] 此類型技術利用螢光基團之光控螢光放射特性加上飽和躍遷等非線性光學響應達到次波長影像解析。在實際操作上，使用一高斯光束來激勵螢光基團，再使用一中空之donut mode光束進行刺激放射，導致雙光束重疊之激態佔據數銳減，因此僅中心點附近之螢光基團能進行螢光放射，而達到次波長影像解析。飽和吸收程度愈高，影像解析力愈好。

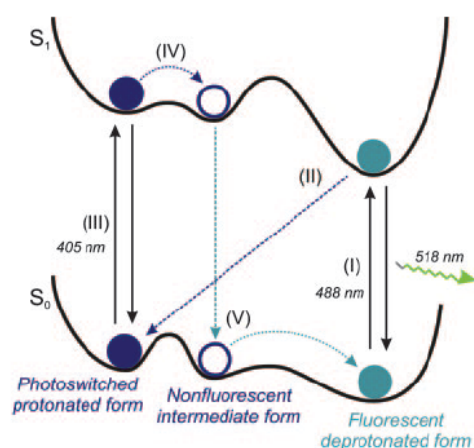
(二)、結構光飽和照射顯微術(Saturated structured-illumination microscopy SSIM)[8] 以結構光源照射待測物，其待測物之精細光學特徵(高空間頻率)將以低空間頻率之More pattern形式經由光學顯微鏡收集分析成次波長解析影像。結構光飽和照射吸收程度愈高，影像解析力愈好。此技術不必掃描，故具廣視域(wide field)和影像收集效率高之優點。

(三)、光活化定位顯微術(Photo-activated localisation microscopy PALM)[9]/隨機光影像重建顯微術(Stochastic optical reconstruction microscopy STORM)[10] 光活化定位顯微術使用螢光基團的光控亮暗態序列的(sequentially)記錄待測物特徵，再使用數學技術對螢光基團精確定位。因此只要確保在每一影像收集時間，在每一繞射極限區域內只有一個光學可分辨的螢光基團被光活化，即可產生次波長解析影像。

一般所瞭解之突破繞射極限顯微術是指超越Rayleigh-Abbe兩人依物理光學原理所立下的光學系統影像解析極限。Stelze [11]注意到使用遠場非線性光學螢光技術，如刺激放射導致能階佔據數消耗之螢光顯微術(STED)，所達到之次繞射極限造影實際上不能視為其影像解析突破繞射極限，而應該是屬於更精確的分子定位。突破繞射極限之思維也不能延伸至基於結構光源(structured

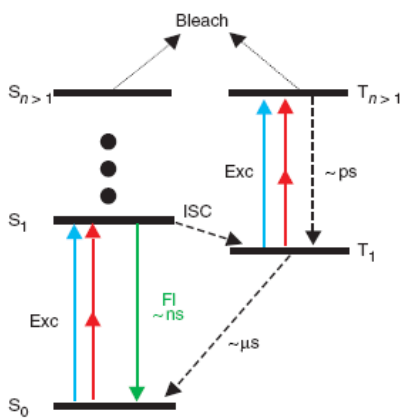
light)之顯微術，因為其工作原理乃基於光之干涉，並沒有突破Rayleigh-Abbe之繞射極限。光活化螢光基團定位顯微術(photoactivated localization microscopy PALM)採用數學技巧以更精確對螢光基團定位而達到次繞射極限造影也並未真正突破Rayleigh-Abbe之繞射極限。

S. W. Hell[5]在研究次繞射極限造影時指出突破Rayleigh-Abbe之繞射極限必須是能分辨在繞射極限區域內彼此緊密堆疊的螢光分子。過去兩年來有一些方法的確已達到上述要求。例如使用光活化螢光基團的光控亮態與暗態來序列的記錄待測物特徵以突破 Rayleigh-Abbe之繞射極限。此一新造影方法運用 不同波長、強度、或照射時間之光源參數照射 螢光蛋白質(photoactivatable fluorescent proteins, PA FPs)以產生顯著的光譜特徵改變。在適當波長光源照射下螢光蛋白質可從螢光很弱的暗態轉變成螢光很強的亮態(光活化行為photoactivation)[12]；或有些螢光蛋白質會因光照而改變螢光放射波長(光開關行為photoswitching)[13]。利用螢光分子探針我們可在不同時間改變螢光基團的螢光放射特性，使得每瞬間只有可分辨的少量螢光基團被光活化，如此這些被活化的螢光基團就可被精確定位。所以光活化螢光蛋白質能賦予活細胞動態顯微術另一應用維度，也可能發展成具有精確光學標識與對次細胞結構進行追跡(tracking)之工具[14]。



分子光開關指具備能被選擇性設定的 雙狀態(螢光態與非螢光態)分子。以常用 光活化螢光蛋白質 DRONPA (Dron: Vanishing; PA: Photoactivation)為例[15]，此蛋白質呈現兩個可見 - 紫外光吸收峰：包括來自 DRONPA 之去質子型態(deprotonated form)位於503 nm之主峰，和來自DRONPA之質子化型態(protonated form)之次峰(388 nm)。DRONPA之去質子型態呈現相當強(量子效率0.85)之螢光放射(518 nm)；而質子化DRONPA (暗態)之電子激發態僅能以非輻射方式衰退。因此電子激發態間質子交換過程可能是賦予DRONPA分子光活化性能的主要原因。研究單DRONPA分子在不同激發條件下之螢光特徵可釐清其光活化性能之光物理機制。更精細的光活化物理機制相關知識是進一步改進或發展新型光活化螢光基團探針的基礎。發展完善的光活化螢光基團目前僅在起步階段。所有已知之螢光基團在被光漂白而永遠喪失螢光放射功能前僅能進行有限次光吸收與放射週期，而被放射出之螢光光子總數約 $10^6$ /分子，因此在生物分子次繞射極限造影與定位應用方面最大的瓶頸是光活化螢光基團。

過去五年科學文獻上有關光活化螢光基團的光漂白現象研究，綜合如下：



1. Rob Zondervan等人[16]發現R6G染料分子光漂白包括主次要兩階段光漂白過程。第一階段主漂白過程包含一個三重態(triplet state)和一個陰離子根(radical anion)的兩個暗亞穩態(metastable dark states)。氧分子與這些亞穩態作用，可產生光反應物而喪失螢光放射能力或回至分子基態繼續光吸收與放射週期。因此視實驗條件氧分子實際上可增強或減弱R6G染料分子光漂白作用。

2. P. Didier等人[17]發現螢光基團在完全被光漂白前僅能進行有限次數之光吸收與放射週期。綠色螢光蛋白質GFP之電子激發態受熱驅動克服能障到達一光漂白先驅態。此光漂白過程遵循Le'vy statistics。

3. Hoogenboom等人[18]研究perylene trimer發現其電子激發態能經由電子穿隧而形成一陽離子根(radical)，造成光漂白反應。因此若能修改螢光基團結構或其環境以排除電子激發態之電子穿隧效應應該可有效減弱光漂白反應。

4. Gerald Donnert等人[19]研究螢光蛋白質Atto532 和 GFP發現其光漂白先驅態為一三重態。若增加激發光脈衝之周期，讓三重態充分衰退回歸至分子基態，以降低三重態佔據數和進一步被激發的機率，可大幅增加每一螢光蛋白質之螢光放射總光子數。

5. Widengren等人[20]發現染料分子之光游離與形成自由根是造成其光漂白的主要因素。抗氧化劑可還原光游離態至螢光基團之基態，而有效緩解光漂白效應。

綜上所述可知造成螢光基團光漂白現象大略可歸納為因三重態或光游離態之產生，再進一步激發造成光漂白現象。至於其詳細機制與緩解光漂白現象之有效方案尚付闕如。解決方案之一為使用光漂白效應較弱之材料，如銀奈米基團。最近 Tom Vosch 等人[21]的研究顯示銀奈米基團的確可產生明亮穩定之螢光放射，在其生命期內總放射光子數約為  $10^9$ /銀基團，是一般螢光蛋白質或染料分子的一千倍。據研究無機銀奈米基團光物理特性較為穩定，且銀的重原子效應可在氧分子澆息銀奈米基團之光激狀態前有效消除暗態之產生，造成銀奈米基團之光穩定性與螢光放射效率大幅改善。

有鑑於單分子光譜顯微術對單分子生物物理未來發展之重要性，而此發展最大的瓶頸在光活化螢光基團，因此本研究計畫以探討光活化螢光基團之光物理機制與其次繞射極限造影定位之應用為目標。希望能對相關主題提出有效解決方案，進而對活細胞內重要生物分子之奈米造影與定位應用建立相關前瞻研究工具。詳細研究與應用主題請參閱計畫執行內容之說明。



## References

- [1]. F Ritort, J. Phys.: Condens. Matter 18, R531–R583 (2006), *Single-molecule experiments in biological physics: methods and applications*.
- [2]. Xavier Michalet,\* Shimon Weiss, and Marcus Jaeger, Chem. Rev. 106, 1785-1813 (2006), *Single-Molecule Fluorescence Studies of Protein Folding and Conformational Dynamics*.
- [3]. Reiner Peters, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 36, 371–394 (2007), *Single-Molecule Fluorescence Analysis of Cellular Nanomachinery Components*.
- [4]. James H. Rice, The Royal Society of Chemistry: Mol. Biosyst. 3, 781–793 (2007), *Beyond the diffraction limit: far-field fluorescence imaging with ultrahigh resolution*.
- [5]. Stefan W. Hell, Science 316, 1153 (2007), *Far-Field Optical Nanoscopy*.
- [6]. M. A. SCHWENTKER, H. BOCK, M. HOFMANN, S. JAKOBS, J. BEWERSDORF, C. EGGELING, and S. W. HELL, MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE 70, 269–280 (2007), *Wide-Field Subdiffraction RESOLFT Microscopy Using Fluorescent Protein Photoswitching*.
- [7]. Stefan Bretschneider, Christian Eggeling, and Stefan W. Hell, PRL 98, 218103 (2007), *Breaking the Diffraction Barrier in Fluorescence Microscopy by Optical Shelving*.
- [8]. Mats G. L. Gustafsson, PNAS 102, 13081–13086 (2005), *Nonlinear structured- illumination microscopy: Wide-field fluorescence imaging with theoretically unlimited resolution*.
- [9]. Eric Betzig, George H. Patterson, Rachid Sougrat, O. Wolf Lindwasser,<sup>3</sup> Scott Olenych, Juan S. Bonifacino, Michael W. Davidson, Jennifer Lippincott-Schwartz, Harald F. Hess, SCIENCE 313, 1462-1465 (2006), *Imaging Intracellular Fluorescent Proteins at Nanometer Resolution*.
- [10]. Mark Bates, Bo Huang, Graham T. Dempsey, Xiaowei Zhuang, Science 317, 1749 (2007), *Multicolor Super-Resolution Imaging with Photo-Switchable Fluorescent Probes*.
- [11]. E. H. K. Stelzer, Nature, 417, 806–807 (2002).
- [12]. R. Ando, H. Mizuno, & A. Miyawaki, Science **306**, 1370–1373 (2004).
- [13]. S. Habuchi, R. Ando, P. Dedecker, W. Verheijen, H. Mizuno, A. Miyawaki, & J. Hofkens, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 9511–9516 (2005).
- [14]. Erdal Toprak<sup>1</sup> and Paul R. Selvin, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. **36**, 349–369 (2007), *New Fluorescent Tools for Watching Nanometer-Scale Conformational Changes of Single Molecules*.
- [15]. Markus Sauer, PNAS 102, 9433–9434 (2005), *Reversible molecular photoswitches: A key technology for nanoscience and fluorescence imaging*.
- [16]. Rob Zondervan, Florian Kulzer, Mikhail A. Kol'chenko, and Michel Orrit, J. Phys. Chem. A108, 1657-1665 (2004), *Photobleaching of Rhodamine 6G in Poly(vinyl alcohol) at the Ensemble and Single-Molecule Levels*.
- [17]. P. Didier, L. Guidoni, and F. Bardou, PRL 95, 090602 (2005), *Infinite Average Lifetime of an Unstable Bright State in the Green Fluorescent Protein*.
- [18]. Jacob P. Hoogenboom, Erik M. H. P. van Dijk, Jordi Hernando, Niek F. van Hulst, and Maria F. Garcia-Parajo, PRL **95**, 097401 (2005), *Power-Law-Distributed Dark States are the Main Pathway for Photobleaching of Single Organic Molecules*.
- [19]. Gerald Donnert, Christian Eggeling & Stefan W Hell, NATURE METHODS 4, 81(2007), *Major signal increase in fluorescence microscopy through dark-state relaxation*.
- [20]. Jerker Widengren, Andriy Chmyrov, Christian Eggeling, Per-Ake Lofdahl, and Claus A. M. Seidel, J. Phys.

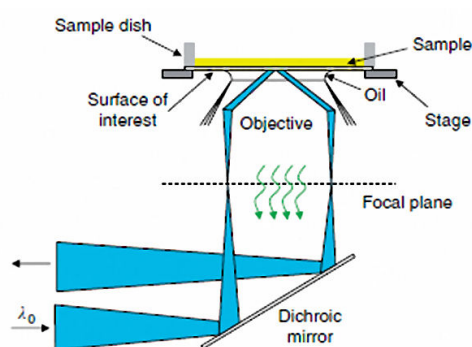
Chem. A111, 429-440 (2007), *Strategies to Improve Photostabilities in Ultrasensitive Fluorescence Spectroscopy*.  
[21]. Tom Vosch, Yasuko Antoku, Jung-Cheng Hsiang, Chris I. Richards, Jose I. Gonzalez, and Robert M. Dickson, PNAS 104, 12616–12621 (2007), *Strongly emissive individual DNA-encapsulated Ag nanoclusters as single-molecule fluorophores*.

### 三、研究方法、進行步驟及執行進度

本計畫特規劃一些研究主題，以達前述研究目標。分年詳述如下：

#### 第一年 1st Year

##### (1) 建立全內反射式單分子光學顯微鏡系統

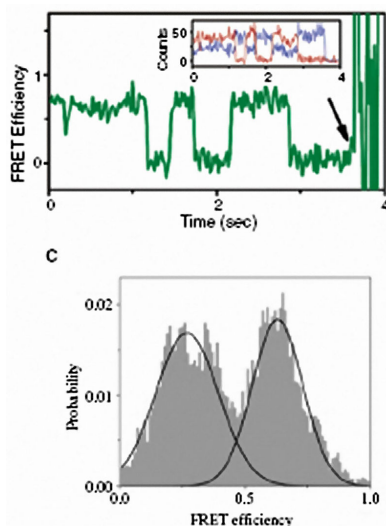


配合本計畫執行，我們將首先改進前期研究所建立之倒立式光學顯微鏡系統，包括螢光光子分辨與收集效率和系統機台以達到單分子偵測靈敏度與奈米穩定性。光信號偵測靈敏度是本計畫執行成功的要素，因為偵測單分子是後續研究之基礎，需要本系統有極佳的光信號偵測靈敏度才能達成。因此我們將以設計新的光路架構並搭配一電子增益CCD和單光子偵測計數器來符合需求。

##### (2) 探討光活化螢光基團之光物理機制

本研究目標在探討一些光活化螢光基團如 KFP-Red (for example, see <http://www.evrogen.com/>) 和自行合成之銀奈米基團之光物理機制。本項研究結論除可提供進一步改進或發展新型光活化螢光基團探針的基礎外(Evrogen 公司也提供研究結果回饋與折扣辦法)，並將作為下階段活細胞內重要生物分子之次繞射極限造影與定位研究之需。

所用之光學探測技術包括螢光強度變動相關函數  $g^{(2)}(\tau)$  和螢光即時信號  $N(t)$  之量測。為淬取



螢光基團之光物理機制，首先必須建立螢光基團之光激能階模型，導出能階佔據數之速率微分方程(rate equation)，再引入自發輻射之隨機理論(stochastic model of spontaneous emission)，應可得出如左下圖所示之螢光即時信號強度分佈圖(histogram)。此分佈圖代表分子螢光放射啟動(on)和關閉(off)之或然率分佈。與實驗量測結果  $N(t)$  分析比較後，應可驗證或排除此螢光基團之光激能階模型。同時螢光強度變動相關函數量測也可進一步驗證模型之正確性。

在不同位置，因奈米局佈環境不同將導致束縛能不

同。生物分子因熱擾動產生之螢光動態自相關函數可寫成：

$$g^{(2)}(t) = \int f[\tau(\epsilon_b)] e^{-[t/\tau(\epsilon_b)]} d\tau.$$

我們可從量測結果  $g^{(2)}(t)$  反求分子束縛能分佈函數

$f[\tau(\epsilon_b)]$ ，但此為 ill-posed 的逆轉換問題。我們將使用

Maximum Entropy Method (MEM) 經由量測數據逆轉換，得

到被探測層之分子束縛能分佈函數。

我們已初步建立螢光強度變動相關函數量測(fluorescence correlation spectroscopy，數據如上圖所示)，和相關 MEM 數據淬取技術。本期研究重點在結合全反射式單分子光學顯微系統，以應用此技術於單螢光基團之光物理機制研究。

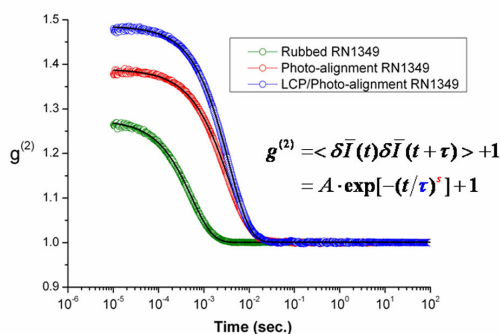
## 第二年 2nd Year

研究具侵入細胞能力之縮氨酸(cell-penetrating peptides)與脂質雙分子層(lipid bilayer)之相互作用

具侵入細胞能力之縮氨酸(cell-penetrating peptides, CPP)可發展成可將生物活性分子非破壞性的送入活細胞的技術，因此吸引相當大注意。近十五年的研究主要著重在三方面：(一)找出CPP之所以能穿越細胞膜障壁之分子結構特徵；(二)使用各種分析工具，找出CPP進入細胞之機制；(三)利用CPP將各式非滲透性高分子(macromolecules)送入細胞以改變細胞功能等。然而儘管近十五年的努力，CPP如何能被細胞內在化仍然是尚未解決的問題。主要因素在用於研究此問題之分析工具僅能記錄細胞對CPP的總攝取量，無法直接量測CPP穿越細胞膜之效率。

CPP也具備抗菌功能，其主要作用對象是細胞膜而非蛋白質受體，因此微生物較不易發展成抗藥性。細胞膜之脂質雙分子層如何與抗菌縮氨酸分子(antimicrobial peptides, AMP)作用，也是尚待解決的問題。主要因素也是缺乏能探測細胞膜和AMP分子作用的分析工具。

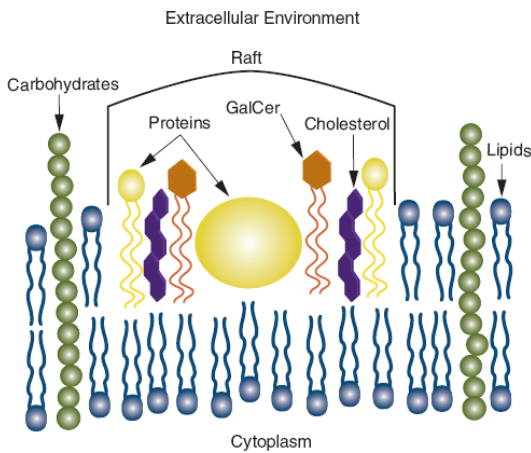
因此我們將使用兼具表面與分子靈敏性之非線性光學和頻光譜技術分析 CPP分子在模型細胞膜之分子振動光譜，以探討CPP與脂質雙分子層之相互作用狀況。Zhan Chen (J. AM. CHEM. SOC. 2006, 128, 2711-2714) 等人發現和頻光譜技術的確非常適於研究細胞膜活性分子與細胞膜之交互作用。AMP分子像分子刀一樣以平面結構垂直切入脂質雙分子層，導致脂質雙分子層之有序性劇烈改變。本實驗室也具備相當成熟的非線性光學和頻光譜技術，相信在具侵入細胞能力之縮氨酸與脂質雙分子層之相互作用也會得出有意義的結論，作為進一步釐清CPP進入細胞之機制的基



礎。樣品將以派遣研究生至校內生科系所和國家衛生研究院合作教授實驗室製備解決。

### 第三年 3rd Year

#### 細胞膜磷脂筏結構之次繞射極限造影與奈米定位追蹤

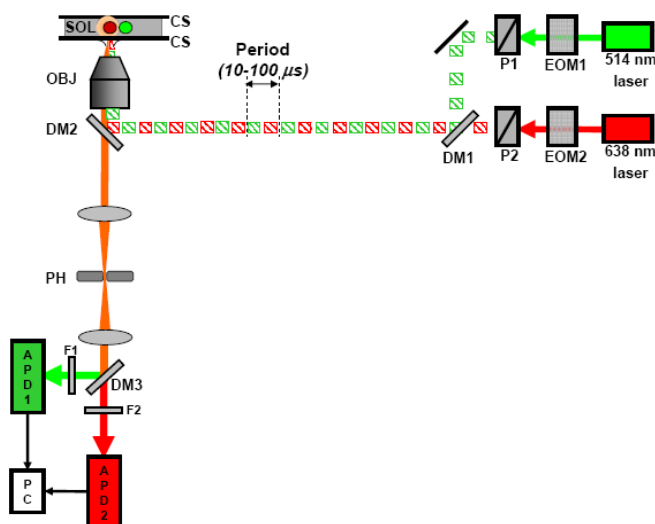


如前項所述，CPP分子主要作用對象是細胞膜而非鑲於其上之蛋白質受體。生物細胞膜是相當異質性(heterogeneous)之多成份薄膜，且易相分離成富含膽固醇之磷脂凝膠相和富含膽固醇之磷脂之液相(如左圖所示)。近細胞膜處之細胞骨架結構如肌動蛋白纖維(actin filaments)，也會影響細胞膜導致其被劃分成許多區塊，限制各成份的自由移動。

富含膽固醇之磷脂凝膠相稱為磷脂筏(lipid raft)，一般尺寸從10 nm 至500 nm不等，具有細胞傳訊(cell signaling)功能，也可能也是病毒最易侵入之處。每一細胞膜有數千個磷脂筏不斷分裂、形成、和重組，然而其詳細結構仍不為人所知。

因此本研究目的在探討脂筏形成與成長，和其奈米尺度之動力行為。因為脂筏尺寸極為微小，且其在細胞膜上之擴散頗為迅速(約msec)，對細胞膜內外微小變化之反應也難以預測，都造成脂筏的動態演化的研究工作相當困難。

共焦顯微術之影像解析度無法觀查察到磷脂筏分佈，電子顯微術由於過於侵入性，易干擾細胞膜熱平衡結構，因此我們將使用螢光強度變動相干光譜技術研究細胞膜上之磷脂FL-G<sub>M1</sub> (脂筏的一種標識)和橫跨細胞膜之蛋白質TfR-GFP的擴散動力行為。我們將選擇COS-7細胞株為研究體系，利用脂分子交換程序將FL- G<sub>M1</sub> (Molecular Probes)代換入細胞膜。將細胞短暫和質體和ExGen 500



試劑混合液接觸造成轉染以獲得 TfR-GFP 表現。樣品將置於全內反射倒立式光學顯微鏡內之3D壓電控制樣品平移台，精確調節細胞膜樣品在顯微鏡焦平面上，再以功率約3.5 μW的適當波長雷射照射，進行研究。對此主題而言單分子造影與追蹤也是相當有用之工具。

左圖所示為將採用之光學系統示意圖，以測量光活化螢光基團標識之細胞膜蛋白質之動



態位置(see Dmitriy M. Chudakov, *et al.*, Traffic 7, 1304–1310 (2006), *Fast and Precise Protein Tracking Using Repeated Reversible Photoactivation*), 藉以分析研究磷脂筏在細胞膜上之擴散機制 (diffusion mechanism)。

#### **四、預期完成之工作項目及成果**

本研究計畫預期完成之工作項目及成果，分年詳述如下：

##### **第一年 1st Year**

###### **(1) 建立全內反射式單分子光學顯微鏡系統**

結合全內反射式單分子光學顯微鏡系統和螢光強度相干光譜技術目前還是相當前瞻之科研工具，在單分子生物物理研究領域也是頗有用之工具。參與研究之學生將可獲得相當寶貴的經驗，本系統也將作為下階段不可或缺之研究工具。

###### **(2) 探討光活化螢光基團之光物理機制**

我們將使用單分子 螢光強度相干光譜技術釐清 在次繞射極限造影極為重要的一些光活化螢光基團，如 KFP-Red (for example, see <http://www.evrogen.com/>) 和自行合成之銀奈米基團，的光物理機制。本項研究結論除了可提供改進或發展新型光活化螢光基團探針的基礎外(Evrogen 提供研究結果回饋與折扣辦法)，並將作為下階段活細胞內重要生物分子之次繞射極限造影與定位研究之需。

##### **第二年 2nd Year**

###### **研究具侵入細胞能力之縮氨酸(cell-penetrating peptides)與脂質雙分子層(lipid bilayer)之相互作用**

我們將使用兼具表面與分子靈敏性之非線性光學和頻光譜技術分析 CPP分子在模型細胞膜之分子振動光譜，以探討CPP與脂質雙分子層之相互作用狀況。本實驗室具備相當成熟的非線性光學和頻光譜技術，相信在具侵入細胞能力之縮氨酸與脂質雙分子層之相互作用會得出結論，作為釐清CPP進入細胞之機制的基礎。參與研究之學生可培養非線性光學和頻光譜技術，和製備”具侵入細胞能力之縮氨酸”和脂質雙分子層樣品的雙重專長。

##### **第三年 3rd Year**

###### **細胞膜磷脂筏結構之次繞射極限造影與奈米定位追蹤**

我們將使用單分子螢光光譜顯微術測量光活化螢光基團標識之細胞膜蛋白質之動態位置。參與研究

之學生可培養單分子螢光顯微術之奈米定位技術,和分析研究磷脂筏在細胞膜上之擴散機制的跨領域雙重專長。