

## 簡介

### 染色體與端粒(Chromosome and telomere)

人類細胞中染色體的尾端，具有一段(TTAGGG) $n$ 的重複 DNA 序列，稱為端粒<sup>(1)</sup>。這樣的 DNA 序列會隨著細胞分裂而逐漸縮短，當端粒縮短到一定的長度，很有可能造成細胞老化，導致細胞凋亡 (Apoptosis)。然而在癌細胞中，具有一種能夠延長端粒長度的酵素，稱為端粒酶，可以延長端粒造成癌細胞可以不斷增生。

端粒的最後 100~200 個核苷酸是屬於單股的 DNA 序列，這些序列中的鳥糞嘌呤鹼基(G base)會彼此以氫鍵鍵結，形成四股平面結構<sup>(2)</sup>，如圖一 A。這種四股平面結構可以嵌入陽離子，造成 DNA 序列折疊並且形成 G-四股結構。而 DNA 結構本身就具有旋光性質，因此利用旋光光度儀(CD)觀察試管中(*in vitro*)的 DNA 序列旋光性，實驗結果顯示 d(TTAGGG) $_4$  的 DNA 序列在鈉離子和鉀離子的環境下，CD 圖譜有很大的不同，如圖一 B，因此推測四股結構會隨著不同離子環境而有不同的結構。

這種不同是由於 d(TTAGGG) $_4$  的單股 DNA 序列有很多種組合的可能性，圖一 C 提出了兩種較常被討論的組合形式：右邊的圖形是由 NMR 證明 d(TTAGGG) $_4$  (H24)序列在鈉離子的環境下<sup>(3~4)</sup> 的 anti-parallel basket-type 四股結構形狀；而左側的則是在鉀離子中用

X-ray 繞射光譜得到的結構圖<sup>(5~6)</sup>，這種結構是在晶體繞射實驗所得到的結果，因此該結構在溶液中的存在仍具有較多爭議。

四股結構受到很多的科學家所重視，主要是由於四股結構 DNA 會讓端粒酶無法接上 DNA 結構，因而失去延長端粒的 DNA 長度，於是在癌症細胞中，端粒酶就無法發生作用，導致癌細胞失去活性，然後死亡，這樣的特性可以讓我們朝抗癌的藥物方向進行研究。

如果發展藥物分子能夠讓癌細胞染色體尾端的端粒形成穩定的 G 四股結構，便會造成端粒酶無法延長端粒的長度，達到抑制癌細胞持續增生的效果，進而達成治療癌症的目標，因此 G-四股結構的研究在治療癌症領域上的重要議題。

### **3,6-雙(4-甲基化吡定烯基)吡啶(BMVC)：**

BMVC 是由 3,6 雙溴化吡啶(3,6 dibromocarbazole)經過黑克反應(Heck reaction)接上烯基吡啶(vinyl pyridine)，最後將兩端的吡定甲基化，形成帶正電荷的取代基，如圖二<sup>(7)</sup>。

因為甲基化造成分子在兩端帶正電荷，造成分子結構上形成 Carbazole 的電子供給者(electron donor)以及兩端帶正電荷的電子接收者(electron acceptor)的組合，這樣的組合造成 BMVC 具有分子內電荷轉換(intramolecule charge transfer)的效應。

另外甲基化後分子會具有正電荷，能使 BMVC 具有水溶性的性

質，並且易於接近帶負電的 DNA 結構，使此分子更容易被應用在生物化學實驗研究上。

BMVC 分子在 3,6 兩端為單鍵結構，可以推測 BMVC 為一種分子轉子(molecule rotor)<sup>(8-13)</sup>。因為單鍵結構的旋轉自由度可以造成分子具有很多種不同的構型，當分子受到光激發而到激發態時，能夠以改變構形回到原本的基態，這樣的鬆弛過程分子就不會放出光子，於是螢光的產率很低，若在高黏度的環境下，單鍵旋轉的自由度就會被限制，激發態的分子只能以放出光子的方式回到基態，於是分子的螢光強度會隨著環境的黏度上昇而增加<sup>(14)</sup>，如圖三 A。同理螢光強度也會受到低溫環境下造成的剛性影響而增強。

而 BMVC 分子在 DNA 環境下螢光也大幅增強，而且螢光強度和在甘油環境下接近，如圖三 B。這是由於 BMVC 的 vinyl group 受到 DNA 的限制，旋轉的自由度下降，因此和高黏度的環境類似，導致 BMVC 分子和 DNA 作用時候會有高的螢光強度。

利用 DNA 解旋溫度( $T_m$ )可以證明 BMVC 分子是否具有穩定端粒四股結構的能力。在旋光光譜中我們可以知道四股螺旋結構在 295nm 的波長有很強的正吸收，這個吸收峰的強度會隨著溫度的增加而降低，這是因為四股結構受到溫度的影響而逐漸鬆解，因此追蹤在 295nm 的訊號隨溫度的變化，即可得到一個逐漸下降的曲線，經由微

分求吸收峰最大變化量相對的溫度，這個溫度即為 DNA 解旋的溫度。由實驗可知，在鈉離子中的 H24 之四股結構解旋溫度大約在 55°C 左右，而加入 BMVC 後約升高 12°C，這証明了 BMVC 的確能夠穩定 DNA 四股結構<sup>(7)</sup>。

推測 BMVC 分子的 carbazole 部份會和 G 四股結構的 G 平面發生  $\pi$ - $\pi$  interaction，兩端的正電荷會和 DNA 的磷酸根互相吸引，造成分子嵌在四股結構之中，這樣和 DNA 的作用會增加四股結構的穩定性，於是可以從 Tm 的結果得知，加入 BMVC 會改變 DNA 解旋的溫度。

由於 BMVC 和 DNA 作用後產生很高的螢光強度<sup>(14)</sup>，因此 BMVC 可以應用為螢光染劑。將 BMVC 分子和細胞一起培養，再使用螢光顯微鏡觀察，可以發現 BMVC 在癌細胞的細胞核內有很強的螢光，但是在正常細胞中卻沒有這樣的現象，這樣的選擇性也証明了 BMVC 可以用來分辨癌細胞與正常細胞的探針分子。因此進行不同的修飾將有助於設計更有效的螢光探針或者藥物分子。