

第一章 緒 言

1.1	引 言	52
1.2	工具書	52
1.2.1	生物化學技術	53
1.2.2	傳統免疫學技術	53
1.2.3	細胞培養及單株抗體生產技術	53
1.2.4	Methods in Enzymology	53
1.3	蔗糖合成酶研究實驗技術大綱	54

1.1 引 言

生物化學及免疫化學均為實驗科學，數據的取得或假設的證明，均有賴良好的實驗設計與操作。因此實驗技術在本論文裏佔着極重要角色。本論文所用到的實驗方法很多，除了一些傳統的生化技術以外，大多為較新穎的方法，都是從頭摸索，經不斷嘗試錯誤及練習後，才能達到滿意的結果。一些重要關鍵及易因疏忽而導致失敗的細節，在一般學報或專書上，均不易獲知，初次嘗試時也就格外辛苦。為了避免來者重蹈試誤過程，將論文中所用的實驗方法詳細寫出，做為這些年來實驗室工作心得的一個小段落。

論文中所用到的實驗方法大略可分成三類：(一)生物化學技術、(二)傳統免疫學技術、(三)細胞培養與單株抗體生產技術。其中有些已經非常成熟的分析技術，如 Lowry 蛋白質定量法等，一般

工具書上已有非常詳盡的說明與實驗步驟。為了不浪費篇幅，將只寫出最適用的參考處。硬體設備的使用雖亦很重要，但也因同樣的理由予以省略，何況一般儀器均有完備的操作說明書。只有由本實驗室自行開發或改良的技術，或是一些較難操作而特殊的實驗，才以詳盡的說明，一步步寫出做法及應注意的細節。其目的在希望他人能很快地依法做成功。

本章下節先將所有值得參考的工具書列出，忽視他們而閉門造車將是一件危險的事。然後，採列表方式，以蔗糖合成酶的研究為主流，把所有用到的技術串連在一起。俾以一較寬廣的角度，鳥瞰整個論文實驗的全貌。

1.2 工具書

坊間已有一些相當良好的工具書，我們的實

驗方法許多是源自於這些書上所載的。雖然如此，要把紙上的步驟真正地演習起來，還得加上許多修飾或改進。

1.2.1 生物化學技術：

(1) Cooper, T. G. (1977) *The Tools of Biochemistry*. (Wiley-Interscience) 一般基礎生化技術及原理均有詳盡說明，有一章免疫化學技術，最後一章總結蛋白質的純化過程，頗實用。

(2) Hames, B. D. 及 Rickwood, D. (1981) *Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach*. (IRL Press) 有關蛋白質電泳最詳盡的專書，作者們幾乎是傾囊相授。其中有一章免疫電泳技術。

(3) 瑞典 Pharmacia 公司的一套操作說明書。有關生化分析技術的小冊有：

(a) *Gel Filtration—theory and practice*

(b) *Ion Exchange Chromatography—principles and methods*

(c) *Affinity Chromatography—principles and methods*

(d) *Polyacrylamide Gel Electrophoresis—laboratory techniques*

(e) *Isoelectric Focusing—principles and methods*

許多廠商的目錄，印刷精美而且非常具有參考價值，不應忽視。

1.2.2 傳統免疫學技術：

(1) Hudson, L. 及 Hay, F. C. (1980) *Practical Immunology* (Blackwell) 是免疫學技術食譜式的專書，從動物免疫到球蛋白純化、親和層析法等，均有詳述。最後一章為融合瘤技術，亦相當可靠。

(2) Weir, D. M., ed. (1978) *Handbook of Experimental Immunology*, 3/e (Blackwell) 有關免疫化學、免疫細胞學及其運用，應有盡有。亦有一章有關融合瘤技術，較為簡略。

1.2.3 細胞融合及單株抗體生產技術：

雖然一般免疫學工具書均會列有一章關於細

胞融合的方法，但以這門技術而言，最具參考價值的專書為：

(1) Goding, J. W. (1983) *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*. 作者在這方面的經驗豐富，其廣度及深度均令人驚訝。事實上這本書的內容涵蓋了本論文大部分的實驗技術。

(2) Hurrell, J. G. R., ed. (1982) *Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications* (CRC Press Inc.) 其中第一章（作者 Zola, H. 及 Brooks, D.）詳細說明融合瘤技術上的種種問題，相當精闢。其他各章為此技術之各種應用。

值得一提的是，以上這些作者，均為澳洲人，在澳洲本土從事這方面的工作。本論文培養細胞所用的胎牛血清也是一家澳洲公司（Commonwealth Serum Laboratory）的產品，其品質極令人滿意。

另外，有關細胞培養的入門書有：

(1) Adams, R. L. P. (1980) *Cell Culture for Biochemists* (Elsevier/North-Holland Biomedical Press)

(2) Freshney, R. I. (1983) *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*. 由最基本的技術開始，非常適合剛要學習細胞培養技術或建立細胞培養室的人。

1.2.4 Methods in Enzymology:

對一個從事酵素純化、蛋白質化學及免疫學性質研究的工作者而言，這套書具有百科全書般的應用價值。在一百多卷書中，可供本論文實驗技術參考的有：

(1) 生化技術：

第 22 卷 (1971) 酵素純化與分析技術

第 34 卷 (1974) 親和層析法

第 104 卷 (1984) 較新的純化技術及電泳分析法

(2) 免疫學技術：

第 58 卷 (1978) 細胞培養方法

第 70 卷 (1980) 基本原理及方法、免疫分析法

1.3 研究技術大綱

- 第 73 卷 (1981) 抗體生產及酵素免疫分析法
- 第 74 卷 (1981) 其他免疫分析法及其應用
- 第 84 卷 (1982) 放射線免疫分析法
- 第 92 卷 (1983) 單株抗體及免疫分析法
- 第 93 卷 (1983) 傳統抗體及其他

1.3 蔗糖合成酶研究實驗技術大綱

圖 1.1 指出本論文所用到的各種實驗技術，在蔗糖合成酶研究上所扮演的角色。

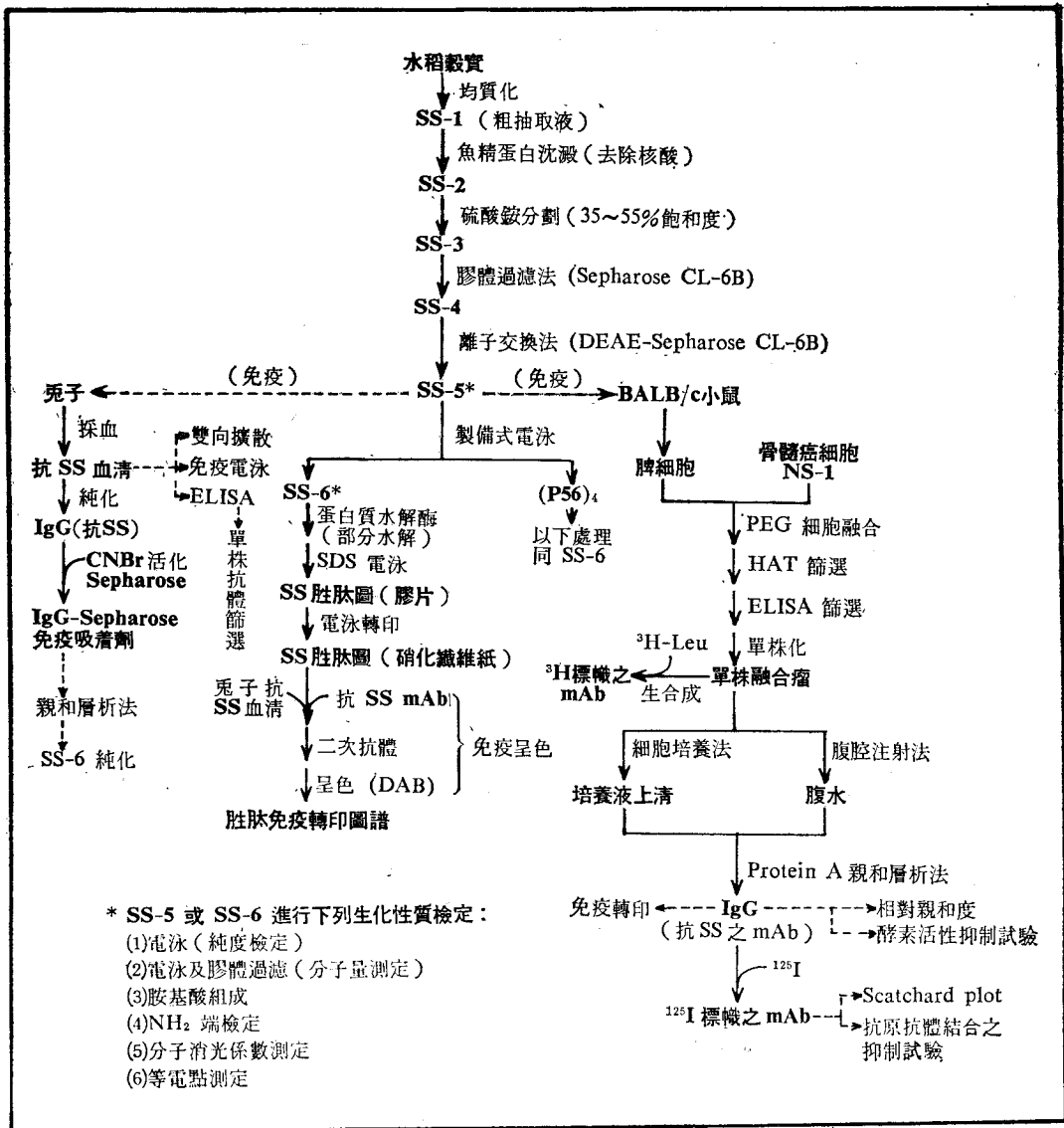


圖 1.1 蔗糖合成酶研究之實驗大綱