

水稻蔗糖合成酶之研究

博 士 論 文

水稻蔗糖合成酶之研究

其純化、生物化學及免疫學研究

指導教授：蘇 仲 卿 博 士

研 究 生：莊 榮 輝

國立臺灣大學農業化學研究所

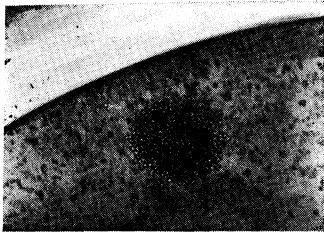
中華民國七十四年六月

中華民國七十四年六月

本論文 水稻蔗糖合成酶之研究 係由國立臺灣大學農業化學研究所 莊榮輝 所提，作為
審查授予農學博士之一部分。本論文承蒙下列考試委員審查通過：

- 董大成 教授 臺北醫學院教授兼院長
楊振忠 教授 國立清華大學分子生物所教授
陳懋良 教授 國防醫學院生化科教授
陳慶三 教授 中央研究院植物所研究員兼所長
羅銅壁 教授 國立臺灣大學理學院教授兼教務長
林榮耀 教授 國立臺灣大學醫學院教授
宋賢一 教授 國立臺灣大學農業化學系教授
蘇仲卿 教授 國立臺灣大學農業化學系教授（本論文指導教授）

本論文接受國科會補助計畫：NSC72-0409-B002-07
NSC73-0409-B002-09
NSC74-0409-B002-22
NSC74-0409-B002-39



封面照片：脾細胞與骨髓癌細胞融合，大約一或二週後可長成細胞羣落。

印刷所：大進印刷有限公司

臺北市西藏路 251 巷 8 號（電話：3031449, 3039249）

前 言

在那些最艱難的日子裡，於深夜中摸索走出三號館，漆黑中覺得像是夜航於大海中的船，只有把握住遠方微弱的燈光，才不致於跌下樓梯，或被滅菌釜絆倒。五年來載著滿籬筐的感想，和數不盡的感激。

感謝農化系師長、前輩和同仁們的指導與照顧。

指導老師蘇仲卿教授、導師蘇遠志教授及張為憲教授、系主任洪崑煌教授，於德業術業之策勵與關懷；生化研究室宋賢一教授多年的支持與鼓勵，丁一倪、李平鷺兩位教授及余榮修先生在生化實驗課程上的合作與幫忙，均令我難以回報。論文之研究經費，前後承國科會補助三年，特此致謝。其間共事的張元蒂、王澣卿及蕭如容三位助理小姐，若沒有她們早出晚歸的努力工作，論文將不可能順利完成。

研究的路子，是漫長的考驗，像是攀登未知的山峯。在旅途上，有各方的朋友同行，或共赴急難，或共享峰頂朝陽。在試管與培養皿的叢林裡，自惕不要迷失方向，不要成為孤獨的旅者。有了真摯的朋友，我們將倍感溫暖。

要謝謝幫助我的師長和朋友們。

生化所呂勝春教授慨允見習及嘗試細胞融合技術；農藝系劉麗飛博士在水稻原生質體技術上的幫忙；李昭銓博士及周德源博士在基因重組技術方面的指點迷津；許文輝博士慨允見習質體抽取技術；永進公司黃俊明博士代為檢定單株抗體屬別；動物系陳秀男教授慨借酵素免疫分析光度計。以上諸位先進的宏雅之量，尤令我覺得感激與敬佩。生化所陳義雄教授及醫學院湯淑英老師不時給予關懷與鼓勵；還有植物系潘素美老師，新竹食品研究所張長泉博士，淡水家畜衛生試驗所費昌勇博士，以及生化研究室的年輕朋友們，大家熱烈的討論亦是我奮發的動力。

承蘇老師力薦，得以擠身農化系服務，同時就學博士班；論文進行期間，復於迷離之際，給予明燈指針；言教身教，均深銘寸心。另一方面，父母親默默的支持與關愛，使我在沒有後顧之憂下，得竟全程教育。這兩端，又豈是一個謝字可以了得的？

目 錄

前 言	v
目 錄	vii
縮寫表	viii

本 文

第一章 緒論	1
第二章 蔗糖合成酶之純化與生化性質檢定	7
第三章 蔗糖合成酶之免疫學研究	17
第四章 單株抗體之製備及檢定	23
第五章 水稻及玉米蔗糖合成酶之比較	35
第六章 結論與展望	43
參考文獻	48

實驗方法

第一章 緒言	52
第二章 酵素純化與生化檢定法	55
第三章 免疫學方法	76
第四章 細胞培養及單株抗體製備法	88
參考文獻	106

中文摘要	107
英文摘要	108
索引	110

縮寫表

Ab	antibody
ADP	adenosine 5'-diphosphate
ADPG	adenosine 5'-diphosphoglucose
APS	ammonium persulfate
ATP	adenosine 5'-triphosphate
Bis	N, N'-methylene-bis-acrylamide
CBR	Coomassie Brilliant Blue R
CP	citrate-phosphate buffer
DAB	diaminobenzidine
DMSO	dimethyl sulfoxide
EEO	electroendosmosis
EIA	enzyme immunoassay
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
FCS	fetal calf serum
G-1-P	glucose-1-phosphate
HAT	hypoxanthine, aminopterin and thymidine
HMW	high molecular weight (calibration kit)
HRP	horse radish peroxidase
HRP-2nd Ab	HRP conjugated with second Ab
HRP-GAM	HRP conjugated with goat anti-mouse Ab
HRP-GAR	HRP conjugated with goat anti-rabbit Ab
HRP-IgG	HRP conjugated with Immunoglobulin G
HRP-Pro A	HRP conjugated with Protein A

縮寫表

HT	hypoxanthine and thymidine
IEF	isoelectric focusing
Ig	immunoglobulins
IgG	immunoglobulin G
LMW	low molecular weight (calibration kit)
NAD ⁺	β -nicotinamide adenine dinucleotide
NADH	β -nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form
NDP	nucleoside diphosphate
NDPG	nucleoside diphosphoglucose
NET	sodium chloride, EDTA, Tween and Tris buffer
OD	optical density
OPD	<i>o</i> -phenylene diamine
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
PB	phosphate buffers
PBS	phosphate buffered saline
PBST	PBS containing Tween-20
PEG	polyethylene glycol
PPi	pyrophosphate
PS	polystyrene
PV	polyvinyl chloride
RIA	radioimmunoassay
RO	reverse osmosis
RPMIX	RPMI 1640 with fresh glutamine, pyruvate, and 10% FCS
RZ	Reinheitzahl value
SDS	sodium dodecyl sulfate
SS	sucrose synthetase
TCA	trichloroacetic acid
Tris	tris(hydroxymethyl) aminomethane
UDP	uridine 5'-diphosphate
UDPG	uridine 5'-diphosphoglucose
UTP	uridine 5'-triphosphate
Vo	void volume

