

F317Molecular Cloning and DNA Sequencing of Polyamine-Inducible *paiA* of *Escherichia coli*.

성원근, 유재연, 이종호

성균관대학교 이과대학 생물학과

λ placMu53을 이용한 operon fusion 방법으로 본 연구실에서 확인한 polyamine(PA)에 의해서 전사유도되는 유전자들중 아직 그 염기서열이 보고되지 않은 새로운 유전자인 *paiA*의 대장균 염색체상의 physical map 위치와 그 인접지역을 포함한 염기서열을 분석하였다. *paiA28::\lambdaplacMu53의 genetic mapping결과에 의거하여 대장균 염색체의 29분 위치에 해당하는 Kohara clone #253 - #257의 phage DNA를 *EcoRI*으로 절단하여 전기영동하고 fusion을 포함하는 specialized transducing phage로부터 구한 *paiA* 유전자의 일부인 fusion junction region을 포함하는 3.2 Kb *EcoRI-HindIII* DNA 절편을 labelling하여 probe로 이용함으로써 Southern hybridization한 결과 Kohara clone #256과 #257의 각각 14 Kb와 9.7 Kb 절편에 반응하였다. 이들 중 overlapping되는 부위인 9.7 Kb 절편을 정제하여 이 부위를 절단하는 수종의 제한효소로 처리한 후 동일한 probe로 Southern hybridization을 수행하였다. 이 결과 *paiA*는 대장균 염색체 DNA 1367.7 Kb에 위치하는 *PvuII-EcoRI* 1.7 Kb DNA 절편에 포함됨을 알 수 있었다. 이 지역에는 아직 DNA 염기서열이 보고된 유전자는 없으며, 바로 아래쪽에 *paiA*와 같은 전사방향의 ORF인 aldehyde dehydrogenase 유전자 *aldH*가 보고되어 있다. 또한 해당유전자를 클로닝하고 그 염기서열을 분석하기 위하여 specialized transducing phage로부터 fusion junction을 포함하고 있는 3.2 Kb *EcoRI-HindIII* DNA절편과 Kohara clone #257로부터 *paiA* 전체를 포함하는 *EcoRI-SalI* 절편(2.9 Kb)을 각각 pBluescript SK 및 pBR322에 sub-cloning하여 serial deletion 및 합성 primer를 이용하여 염기서열을 분석한 결과, 약 1.6 Kb의 대장균 염색체 염기서열과 3.2 Kb 절편내에 존재하는 Mu S end sequence와 *paiA* 유전자와의 junction point 그리고 λ DNA와의 연결부위 염기서열을 규명하였다.*