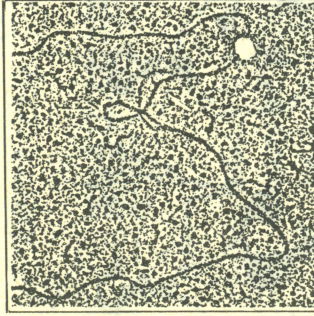
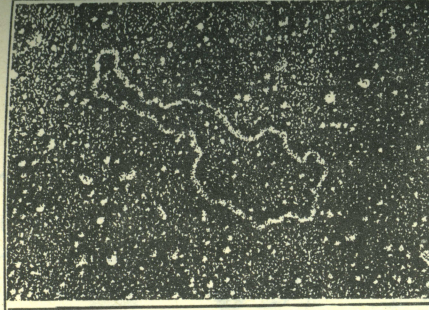


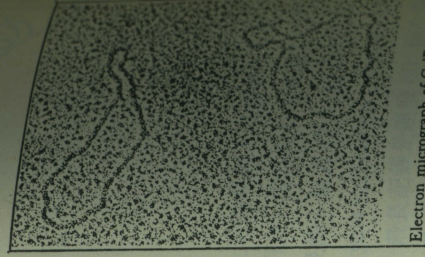
Electron micrographs of DNA molecules undergoing recombination



Electron micrograph of a hybrid between  $\beta$ -globin mRNA and a fragment of genomic DNA containing the  $\beta$ -globin gene.



Electron micrograph of pSC101, a plasmid vector used to clone DNA.



Electron micrograph of ColE1 plasmid.

## E. Coli 與我——李宏圖老師

何政道

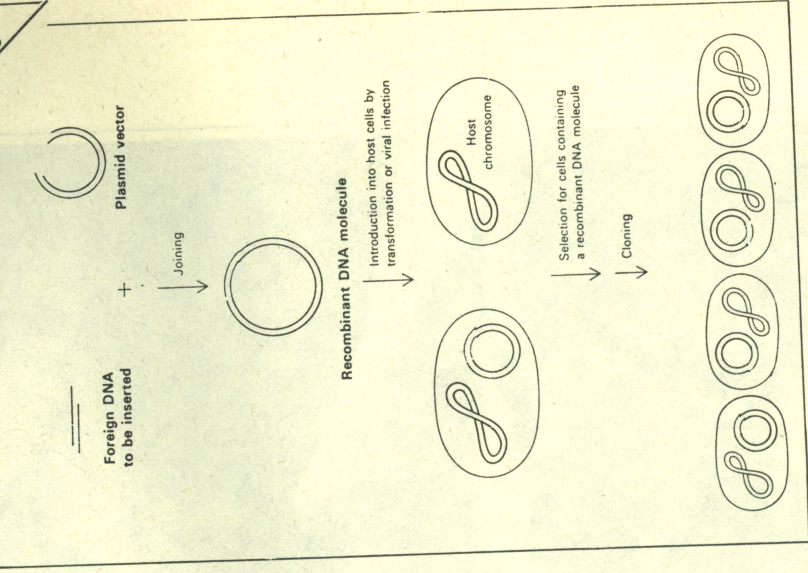
在日本二年期間

李教授曾前往日本研究二年（民國六十八年五月至七十年四月），其間與九州大學高木教授一起從事有關基因工程方面的研究歸國後，仍與高木教授保持聯絡，且有合作研究計畫。於是記者訪問了李教授在日本研究的情形與目前在學校個人研究方面的概況。

民國六十八年有一個機會到日本去研究，那時計畫做有關 DNA 代謝方面的研究，但到了日本九州大學後，發現那兒的研究情形完全改變了。高木教授他們正埋首於基因工程方面的研究，於是便“入境隨俗”與他們一起從事基因工程方面的研究，那時國內還沒有展開此方面的研究。而個人方面，開始時，首先接受為期約三個月 Technique Training，然後開始獨立做研究實驗，從事 Thermosensitive colicin E1 產生 COLE1

Mutants 之分離。經過三個月時間，完成了此工作，且發表於 Microbial Immunol. 25 1087 - 1090 (1981)。接下去的研究工作原定想將 Human placenta 中之某一 Gene cloning 到某一 plasmid 中，再 transform 至 E. coli 看其 Gene expression 的情形，其方法是先由 placenta 抽取出某一 m-RNA，再用 Reverse transcriptase 將之轉變為 complementary DNA，而後再 cloning，但此工作恐怕在一年之內無法完成。因此高木教授要我改題目，從事 Shigella Sonnei 內 plasmid 之研究。首先分離出此 plasmid，命名為 pky1，然後將之 transform 到 E.





Synthesis and cloning of recombinant DNA molecules.

此時發現可產生大量之 Bacteriocin，並且也發現含有 pKY1 *E. coli* cells，其不但對於本身 express 出之 Bacteriocin 有免疫現象，且對於 Colicin E1 也有此現象，反之，含有 col E1 之 *E. coli* 對於 pKY1 上所 code 之 Bacteriocin 也有免疫 (col E1 為 code Colicin E1 之 plasmid DNA) 亦即二者之間有 Cross immunity，因此我們將 pKY1 上所 code 之 Bacteriocin 稱為 Colicin E1\*。下去的工作是此 plasmid DNA 的 cleavage map，發現對於 Six - base recognizing restriction endonucleases 祇能使 PstI, AccI, Hinc II 三種 cleavage，此其 Col E1 完全不同，並求出 pKY1 DNA 之大小為 4.7 Kilobases，約為 Col E1 之 3/4。且利用 *In vivo* genetic engineering 的技術將 Tn3 (一種 transposon) 插入 pKY1 DNA 上。並分離種種的 Tn3 - inserted, kyl mutants，再利用 Restriction endonucleases 的 cleavage 找出 Pky1 DNA 之 Genetic map，並發現此 pKY1 DNA 上，並無 mobility) gene 之存在。並利用 Southern blotting 與 nick translation 的方法，證明出 pKY1 DNA 和 Col E1 DNA 之 structural gene. (cea) 與 immunity (imm) gene 有部份 DNA homology 情形存在。此外在含有 pKY1 DNA 之 *E. coli* cells 的一些性質。得知 pKY1 與 col E1 是 compatible 的，pKY1 的複製也是 DNA polymerase I dependent 的，與 col E1 一樣所以在 Chloramphenicol 的存在下，pKY1 的 replication 仍能繼續進行，並做出其他一些性質後，即將此 pKY1 DNA 研究完畢，部份發表於 J. Biochemistry 91, 1155 - 1162 (1982)。因為 pKY1 與 Col E1 能共存於 *E. coli* cells 中，且與 Col E1 DNA

經過三個月的前且發表於 Microbiology 105, 1087 - 1090 去的研究工作 *S. pneumoniae* 中之某一 Gene 在 plasmid 中，再 *in vitro* 看其 Gene expression 的方法是先用 *in vitro* RNA，再用 *in vitro* RNA 將之轉錄成 DNA，而後再 *in vitro* 怕在一年之內無法授要我改題目，授 *S. pneumoniae* 內 plasmid 之研究 plasmid，命名 *in vitro* transformant *E.*

具有部份之 DNA homology，因此我們相信，此 pKY1 DNA 可被用來作為 Colicin E1 Action modes 之 Comparative Study 與在 *E. coli* cells multicopy plasmids 的 replication 與 maintenance mechanism 之研究。

目前研究情形

由於學校設備與經費的問題，DNA 及 Gene engineering 方面之研究可能有困難，因此從事從日本帶回之 *E. coli* (pKY1) 菌種所 express 出之 Bacteriocin - Colicin E1\* 之研究，首先分離 Colicin E1\* 經類精二講師一年來之日夜努力，於今年七月終將此 Colicin E1\* 分離出，現在從事一些 physical 和 Chemical Characters 之研究，將在今年 10 月 16 日在化學會上發表。

第二個實驗研究是與高木教授，和附設醫院林院長三個人合作的  $\beta$  - Thalassemia 之 Globin gene analysis 之研究，由林院長尋找病例，抽血

之後送到生化研究室來進行 Globin Gene 之 Partially Purification 然後寄往日本高木教授那兒進行進一步研究。部份病例之分析結果，將在今年 11 月 13 日台灣醫學會上由高木教授親自發表。

第三個實驗研究是由林院長委託的，有關 Methemoglobinemia 之研究，這個病主要是 NADH - Methemoglobin reductase activity 降低  $Hb^3 + NADH \rightarrow Hb^2 + NAD$  (Methemoglobin reductase) 增會引起 Hb<sup>3</sup> (Methemoglobin) 增多，而使病人有 Cyanosis 的現象。

學生參與情形

李教授於北醫執教十五年，於教學與研究方面十分熱衷且有心得，因此當記者問及學生參與實驗工作方面。李教授表示歡迎學生加入，但要有耐心與恒心。