

벼 Rubisco activase(RCA) isoform 특이 유전자 분리 및 효소특성 검정

구현정^{*1,2}, 이근표¹, 박범석¹, 권무식², 김동현¹

¹농업생명공학연구원, ²성균관대학교 유전공학과

Alternative splicing을 통하여 생성되는 Rubisco activase(RCA) isoform은 그 효소활성 조절 기능이 서로 다르다 [Zhang and Portis (1999) PNAS 96: 9438 - 9443]. 본 연구에서는 벼 RCA isoform의 효소활성 조절 메커니즘을 규명하고자 45kDa(RCAII)와 41kDa(RCAI)의 RCA를 encoding 하는 2종의 RCA cDNA를 제작하였다. 대장균 BL21(DE3)pLysS 균주에서 생성된 GST-RCA 융합단백질은 20°C 정도의 저온에서 유전자를 발현시킬 경우 수용성을 보였으며 RCA의 ATP가수분해활성을 측정한 결과 활성을 보였다. 효소의 specific activity는 RCAI이 RCAII비하여 매우 높았으며 이는 RCAII의 C 말단 37aa. fragment에 있는 cysteine residue에 의하여 활성이 조절되는데 기인하는 것으로 생각된다. RCAI의 ADP/ATP 비율 증가에 따른 활성변화를 측정한 결과 예기장대의 RCA small isoform에 비하여 매우 급격한 활성감소를 보여 ADP/ATP 비율=0.33에서는 최대활성의 30%이하의 활성을 보였고 ADP 증가에 따른 효소활성 측정의 결과 ADP는 RCA의 경쟁적저해제로 작용함을 알 수 있었다.