

202 *Aspergillus niger* 由来アルコールアセチルトランスフェラーゼ (AATase) の精製と性質

(大関総合研究所) ○石川有紀子、坊垣隆之、峰時俊貴、
広常正人、熊谷知栄子

【目的】 AATaseはアルコール類とアセチルCoA を縮合させて酢酸エステルを生成する酵素である。酵母では清酒の重要な香気成分である酢酸イソアミルの生産を行うことが知られており、我々はこれまでに *Saccharomyces cerevisiae* 協会7号からのAATaseの単離・クローニングに成功している。今回、糸状菌 *A. niger* のリパーゼ製剤中に本酵素活性の存在を確認したことから、その酵素学的諸性質を明らかにするために実験を行った。

【方法及び結果】 アマノLipaseA原末を蒸留水に懸濁して粗酵素液とし、イオン交換クロマトグラフィー及び疎水クロマトグラフィーに供試した。SDS-ポリアクリルアミド電気泳動の結果、得られた精製品は分子量約30kDa の単一バンドであることが確認された。反応至適条件は30°C・pH8-9であり、DTT, DEP, NBS, DFPの添加によって酵素活性は阻害されるが、SH試薬や各種の金属イオンの影響は認められなかった。本酵素はこれまでに報告されている酵母AATaseに較べて非常に高い安定性を示し、広範囲なpHや高温下でも活性を保持した。

Purification and characterization of alcohol acetyltransferase from *Aspergillus niger*.

○Yukiko Ishikawa, Takayuki Bogaki, Toshitaka Minetoki, Masato Hirotsune,
Chieko Kumagai (General Research Laboratory, Ozeki Co.)

【Key Words】 transferase, isoamyl acetate, *Aspergillus niger*, acetyl-CoA, purification

203 白麹菌 *Aspergillus kawachii* が生産する
耐酸性 α -アミラーゼの多様性

(*三和酒類・研究所, **九工研)

○梶原康博*, 下田雅彦*, 大庭英樹**, 大森俊郎*

【目的】 白麹菌 *A. kawachii* は固体培養(麹)を行うと、生デンプン吸着能を持つ耐酸性 α -アミラーゼ(asA-1)と吸着能を持たない耐酸性 α -アミラーゼ(asA-2)の2種類の耐酸性 α -アミラーゼ(asAA)を生産することが知られている。我々は焼酎もろみにおけるこれらのasAAの役割と挙動を理解することを目的として実験を行っている。今回は、製麹におけるasAAの生産様式について検討を行った結果について報告する。

【方法】 1) 製麹中のasAA生産様式の検討 *A. kawachii* IFO4308を用いて大麦麹を製造し、経時的にasAA及び酸性プロテアーゼ(APase)活性を分析した。

2) asA-1のAPase処理試験 精製したasA-1にAPaseを作用させ、SDS-PAGE及びN末端アミノ酸配列を比較した。

【結果】 1) asAAは製麹18時間目以降に生産が開始され、全asAAに対するasA-1の割合は製麹が進むに従って減少した。 2) asA-1をAPaseで処理したところ、asA-2とほぼ同じ分子量を持つタンパク質が新たに生成された。このタンパク質は72時間反応させてもAPaseに対して安定であった。現在、asA-1, asA-2, 及びasA-1のAPase処理物のN末端アミノ酸配列を分析中である。

Multi form of acid-stable α -amylase produced by Shiro-koji mold *Aspergillus kawachii*.

○Yasuhiro Kajiwar*, Masahiko Shimoda*, Hideki Ohba**, Toshiro Omori*

(*Research Laboratory, Sanwa Shurui Co., Ltd., **Kyushu National Industrial Research Institute)

【Key Words】 acid-stable α -amylase, *Aspergillus kawachii*, shochu