

カキ ‘富有’ の成熟に伴うカロテノイドの蓄積特性

新川 猛^{1*}・鈴木哲也²・尾関 健¹・加藤雅也^{3a}・生駒吉識³

¹岐阜県農業技術センター 501-1152 岐阜市又丸

²岐阜地域農業改良普及センター 500-8708 岐阜市司町

³農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所カンキョウ研究興津拠点 424-0292 静岡市清水区興津中町

Characteristics of Carotenoid Accumulation during Maturation of the Japanese Persimmon ‘Fuyu’

Takeshi Niikawa^{1*}, Tetsuya Suzuki², Takeshi Ozeki¹, Masaya Kato^{3a} and Yoshinori Ikoma³

¹Gifu Prefectural Agricultural Technology Center, Gifu 501-1152

²Gifu Region Agricultural Development Center, Gifu 500-8708

³Department of Citrus Research, National Institute of Fruit Tree Science, National Agriculture and Food Research Organization (NARO), Shizuoka 424-0292

Abstract

To investigate characteristics of carotenoid biosynthesis in the Japanese persimmon ‘Fuyu’ fruit during maturation, carotenoids and gene expression for phytoene synthase (DK-PSY), phytoene desaturase (DK-PDS), ζ-carotene desaturase (DK-ZDS), lycopene β-cyclase (DK-LCYb), β-ring hydroxylase (DK-HYb), zeaxanthin epoxidase (DK-ZEP) and lycopene ε-cyclase (DK-LCYe) were analyzed. In the skin, lutein was the main carotenoid at the green stage. The level of gene expression of DK-LCYe was constant throughout the experimental period. In contrast, the level of carotenoid-biosynthetic enzymes with the exception of DK-LCYe was lower in the green stage than in the coloring stage. These findings suggested that during the green stage, DK-LCYe played an important role in carotenoid biosynthesis and was responsible for massive accumulation of lutein. In the coloring stage after October, β-cryptoxanthin (β-CRY) and zeaxanthin were mainly accumulated. At this stage, simultaneous increase of the gene expression for carotenoid-biosynthetic enzymes with the exception of DK-LCYe was observed. It was thought that the change in expression profile of the genes accelerated the accumulation of β-CRY and zeaxanthin in this stage. In the flesh, β-CRY and zeaxanthin were mainly accumulated in October. Lycopene was mainly accumulated in November. The lycopene accumulation was accompanied by a massive increase in expression of genes at the later stages of lycopene biosynthesis (DK-PSY, DK-PDS and DK-ZDS). This finding suggested that lycopene accumulation was caused by massive increase in the expression of genes at the later stages of lycopene biosynthesis.

Key Words : carotene, fruit color, pigment, real-time PCR, xanthophylls

キーワード : カロテン, 果色, キサントフィル, リアルタイム PCR, 色素

緒 言

カロテノイドは、高等植物では果実や花に蓄積することによって黄色・オレンジ・赤色等を呈する色素である。カロテノイドは、抗酸化作用を持つことに加え、いくつかの種類ではプロビタミン A 活性を持つ機能性成分であり、近年発ガン抑制効果 (Nishino ら, 2000) を始めとして多くの生体調節機能に関して研究が進められている。

植物中のカロテノイド生合成系では、まず phytoene synthase (PSY) により無色のフィトエンが合成される。次に

phytoene desaturase (PDS) と ζ-carotene desaturase (ZDS) によりリコペンが合成される。その後合成経路は2つに分岐し、一方では lycopene ε-cyclase (LCYe) により α型カロテノイドである α-カロテンやルテインが合成される。もう一方では、lycopene β-cyclase (LCYb) により γ-カロテンを経て β-カロテンが合成され、β-ring hydroxylase (HYb) により β-クリプトキサントフェン (CRY), ゼアキサントフェンを順次合成し、Zeaxanthin epoxidase (ZEP) によりビオラキサントフェンが合成される (第1図)。ビオラキサントフェンからさらに代謝が進むと植物ホルモンの一種であるアブシジン酸が合成される。

植物種によってカロテノイド組成は異なり、アセロラではフィトエンが、トマトではリコペンが多く比率で含まれており、β-CRYはミカンやカキ等の限られた果実に多く、

2006年7月14日 受付。2006年10月22日 受理。

本報告の一部は平成17年園芸学会春季大会で発表した。

* Corresponding author. E-mail: niikawa-takeshi@pref.gifu.lg.jp

^a 現在: 静岡大学農学部

Table 1 TaqMan probes used for the mRNA detection and primers used for the amplification of cDNAs by Real-Time PCR.

Name	Accession number	TaqMan probe sequence	Primer sequence ^z	Identity on the level of Nucleotide Sequence with Satsuma mandarin (Accession No.)
DK-PSY	AB258435	TGCACCAGAATCACAGGCAACAACAGAG	CTGTTGGATTGATGAGTGTCCA GCCAAGGCAGCATTGTAGACA	85.3% (AB114648)
DK-PDS	AB258434	TGGCCCAAATCCCATTTAATGGTGC	CTCAGGCCAAGTAAGCATTTCATTA GCCGATTTGACTTTGCTGAAG	86.2% (AB114649)
DK-ZDS	AB258433	ACCTTGCACCTCGCATCCCCAGAAG	ATGCAGATTCTCGTGTTTTGCA AGCAATGAACCTTGTCCCTCA	84.3% (AB072343)
DK-LCYb	AB258436	TTATGCCCAAGGTGCCGTAATCGAGC	TCCTGGAGTACCTGTGGAAGATATT TCATCCTTCAATGCTCTTCACT	82.9% (AB114652)
DK-HYb	AB258438	TGGACGAACATGTAGGCCATCCCA	AGCCGGTCTTGGCATAACAG CTGCAGCGACTCTCCTGAAGT	88.0% (AB114653)
DK-ZEP	AB258454	CGGTGATGCAGCCAACCTGCATAA	CATGGCTGCTTTGGAAGCTAT GAAACACCGTCCACCAATCC	81.9% (AB114654)
DK-LCYe	AB258437	CCTGCATGGGACAACAACATCAGTCC	CTCCCGAAGCAACAGTAGCAA AACTACGAATGGGCAGAGTCTCAT	89.4% (AB114655)

^z Sense Primers (Upper) and Antisense Primers (Lower).

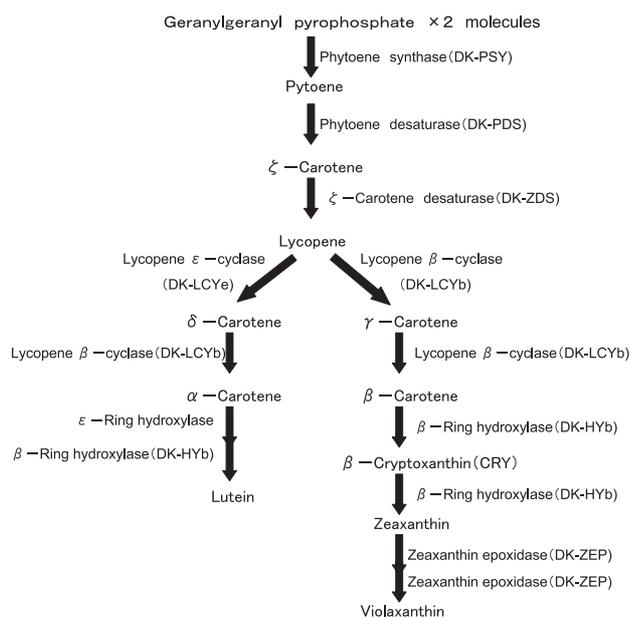


Fig. 1 Carotenoid biosynthetic pathway in plant. Seven cDNAs, DK-PSY, DK-PDS, DK-ZDS, DK-LCYb, DK-HYb, DK-ZEP, and DK-LCYe were cloned from Japanese persimmon 'Fuyu' and used for TaqMan probes for Real-Time PCR in this study.

供給源が限定される (Yano ら, 2005). トマトにおけるリコペンの集積は, PSY の遺伝子発現が上昇するのに対して, LCYe や LCYb の遺伝子発現が上昇しないことから起こる (Giuliano ら, 1993; Ronen ら, 1999). カンキツでは, PSY 以下一連の遺伝子群の発現上昇が一斉に起こり, β-CRY や β-Cryptoxanthin 等のキサントフィル類が多く蓄積する (Kato ら, 2004).

カキでは, リコペン含量が多くなると果皮の赤色が強くなり, 蓄積には秋季の気温と光が関与することが明らかとなっている (中條, 1982). また, 大部分の品種で果肉に蓄積するプロビタミン A 活性を有するカロテノイドは, その 60% 以上が β-CRY であるとされている (田中ら, 2002). 近年カキの生産現場では, 着色が遅れたり黄色のまま収穫期を迎える現象が多く認められ, 産地ではその対応に苦慮している. この現象は, 気候温暖化の影響を受けているものと推察されるが, 不明な点が多い. またカキには β-CRY が多く含まれていることから, 果肉中での含有量を高めることが可能となれば, 嗜好品から健康増進のための果実というイメージの転換により, 新たな需要の喚起が期待できる. 本研究では, これらの問題を解決するための基礎的知見を得るため, カキ '富有' を材料とし, 成熟に伴うカキのカロテノイド蓄積と生合成に関与する遺伝子発現の特徴について明らかにしたので報告する.

材料および方法

平成 15 年に岐阜県農業技術センター植栽の 45 年生 '富有' の果実を供試した. 果実は, 8 月 1 日から収穫最盛期の 11 月 15 日までの期間で毎月 1 日と 15 日に経時的に各 3 果ずつ採取した. よく水洗した後, ヘタと種子を取り除き, 果皮と果肉に分け, 果皮色ならびに果肉色を測定した後, それぞれを実験に用いるまで -80°C の超低温冷凍庫に保存した. なお, 果皮と果肉は, ピーラーで剥いた厚さの組織を果皮とし, それ以外を果肉として分類した. 果皮色ならびに果肉色の測定は, 色彩色差計 (CR-200: ミノルタ) を用い, 色相角度 (H°) を測定した後, 富有用カラーチャート値に変換した. カロテノイドの定量は, Kato ら (2004) の方法に準じて, アセトン:メタノール (7:3) で抽出し

20%KOH/MeOH でケン化処理した後, C30 カラム (Carotenoid S-5 4.6 × 250 mm : YMC) を装着した HPLC-DAD (MD-910 : Jasco) で行った. フィトエンおよびシスービオラキサンチンについては, ミカンの未熟果から抽出・精製したものを標品として使用した.

第 1 図に示したカロテノイド生合成に関与する酵素の内, phytoene synthase (DK-PSY), phytoene desaturase (DK-PDS), ζ-carotene desaturase (DK-ZDS), lycopene β-cyclase (DK-LCYb), β-ring hydroxylase (DK-HYb), zeaxanthin epoxidase (DK-ZEP), lycopene ε-cyclase (DK-LCYe) の cDNA 断片を '富有' 果実から Ready-To-Go First strand kit (アマシャムバイオサイエンス) を用いて合成した後, TA Cloning Kit (インビトロジェン) を用いてクローニングし, シーケンサー (ABI Prism Model 310 : アプライドバイオシステム) で塩基配列を決定した. cDNA 産物は, ウンシュウミカン '宮川早生' 由来の cDNA 産物との相同性を確認した後, Primer express (アプライドバイオシステム) を用いて Taq-Man プローブとプライマーを設計・合成した (第 1 表). カキの果皮及び果肉からの全 RNA は, Hot Borate 法 (Wan・Wilkins, 1994) に準じて行い, ランダムヘキサマーを用いた逆転写反応により cDNA を合成し, リアルタイム PCR (ABI Prism 7000: アプライドバイオシステム) により mRNA の発現量を求めた. なお, mRNA の発現量は, ribosomal RNA を内在性コントロールとして用い, 初期テンプレートの濃度を補正して相対値として示した.

結 果

成熟に伴う果色の推移

第 2 図にカキのカラーチャート値の推移を示した. 果皮色は, 10 月 1 日まではカラーチャート値 1 程度を示し, 緑色が強い未熟な時期であった. カラーチャート値は 10 月 15 日以降急速に高くなり, 11 月 15 日には 5.0 を越えて収穫適期となった. 果肉色は, 果皮色ほど顕著ではなかったが, 10 月 15 日以降カラーチャート値が上昇した.

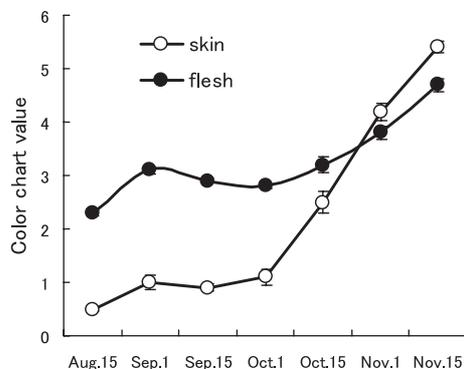


Fig. 2 Seasonal changes in the skin color on the equator portion and flesh color on the equator a cross section of Japanese persimmon 'Fuyu'. Vertical bars indicate SE (n = 5).

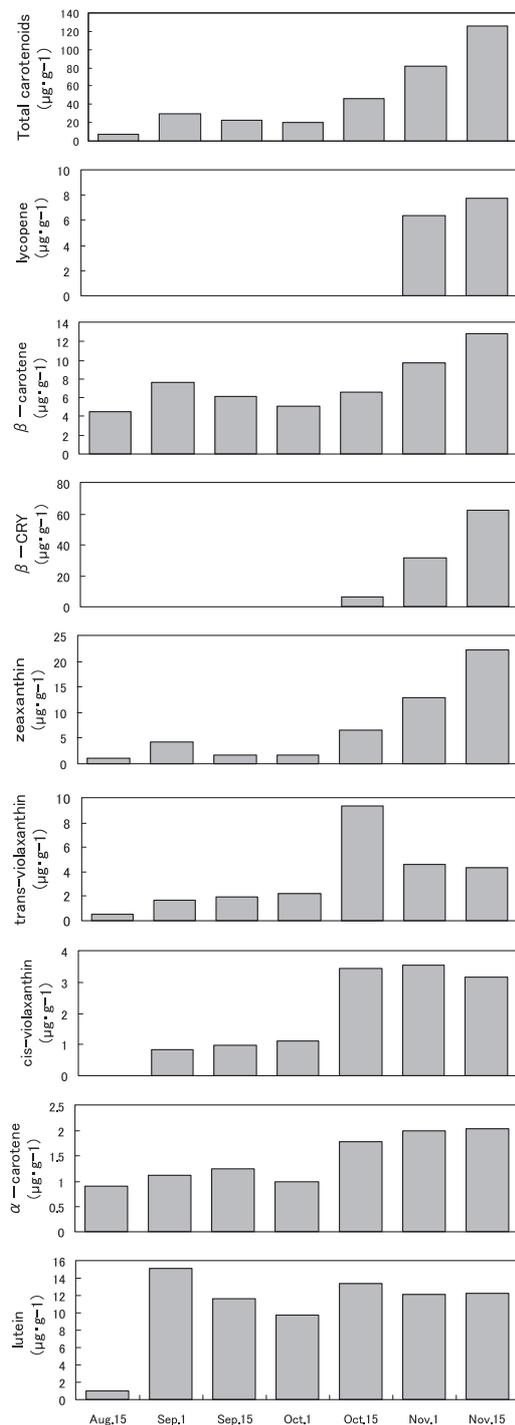


Fig. 3 Carotenoid concentration in the skin of Japanese persimmon 'Fuyu' during fruit maturation.

Phytoene was not detected. The value for total carotenoids was the sum of identified carotenoids (lycopene, β-carotene, β-CRY, zeaxanthin, trans-violaxanthin, cis-violaxanthin, α-carotene and lutein). A sample of three fruits was crushed in a food processor, then stirred, and extracted using 5 g.

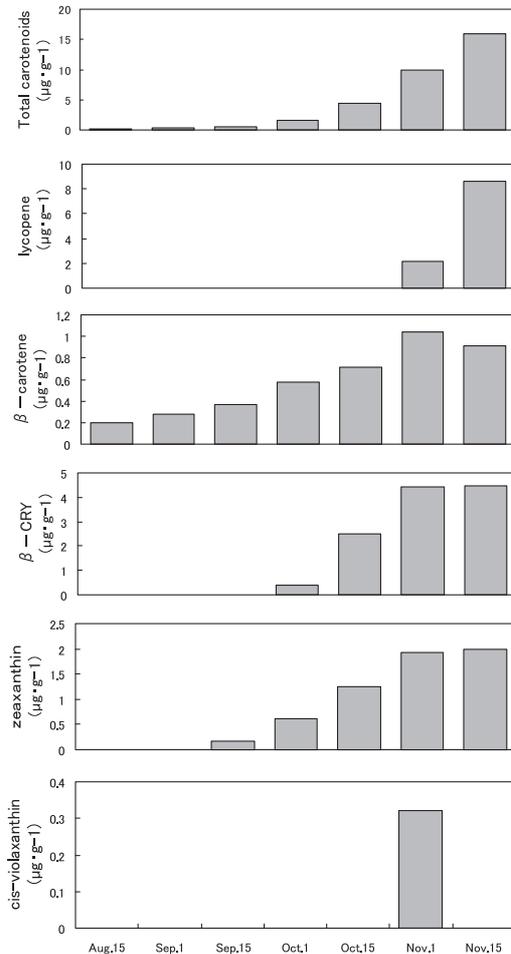


Fig. 4 Carotenoid concentration in the flesh of Japanese persimmon 'Fuyu' during fruit maturation. Phytoene, cis-violaxanthin, α -carotene and lutein were not detected. The value for total carotenoids was the sum of identified carotenoids (lycopene, β -carotene, β -CRY, zeaxanthin and trans-violaxanthin). A sample of three fruits was crushed in a food processor, then stirred, and extracted using 5 g.

果皮におけるカロテノイド蓄積と mRNA レベルの推移

果皮では、10月1日以前の緑色期では、 α 型カロテノイドであるルテインが蓄積しており、全カロテノイド（フィトエン、 ζ -カロテン、リコペン、 β -カロテン、 β -CRY、ゼアキササンチン、ビオラキササンチン、 α -カロテン、ルテイン）の内、50%以上を占めていた。10月15日以降、 β -CRYとゼアキササンチン等の β 型カロテノイドの蓄積が始まり、さらに11月以降リコペンが蓄積するにつれて、全カロテノイド中のルテインの比率は低下した。11月15日時点でのカロテノイド組成は、ルテイン9.7% ($12.28 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)、 β -CRY 49.0% ($62.23 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)、ゼアキササンチン 17.6% ($22.33 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)、リコペン 6.1% ($7.73 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)であった（第3図）。カロテノイド生成に関与する酵素遺伝子のmRNAレベルは、DK-LCYeでは全期間を通じてほぼ一定に推移していた。その他のカロテノイド生成系遺伝子については、10月以前は低い発現であったが、10月15日以降は急激に増加した（第5図）。

このように、DK-LCYeの発現レベルに明確な季節変化は認められないが、他の遺伝子の発現が10月以前には最低レベルにあったという生理的状态から考えると、10月以前には着色期に比べ相対的にDK-LCYeの役割が大きく、その結果としてLCYeを経由して合成されるルテインの組成比が高くなったと考えられた。一方、カロテノイドの活発な蓄積が起こる10月15日には、DK-LCYe以外の遺伝子のmRNAレベルの急激な上昇により、これらの酵素を経由して合成される β -CRYやゼアキササンチンといったキサントフィル類が蓄積されたものと考えられた。

果肉におけるカロテノイド蓄積と mRNA レベルの推移

果肉では、果皮色が緑色を示す10月1日以前には、ほとんどカロテノイドの蓄積が認められず、果皮の着色が始まる10月15日以降に急激に蓄積が始まった。まず β -CRYとゼアキササンチンの蓄積が始まり、半月後の11月1日からはリコペンが蓄積した。リコペンは11月15日には全カロテノイドの内54% ($8.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)を占め、最も高い比率であった。 β -CRYとゼアキササンチンの含有量は、11月1以降ほとんど増加せず、このため11月以降のカロテノイド量

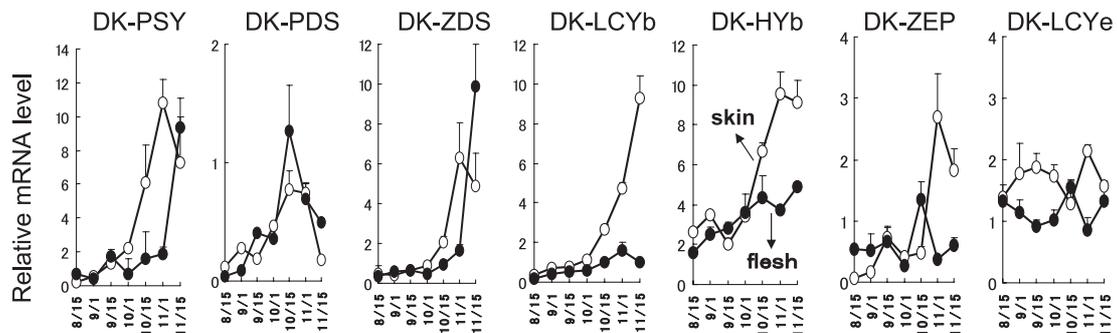


Fig. 5 Changes in mRNA levels for carotenoid biosynthetic genes in the skin and flesh of Japanese persimmon 'Fuyu' during fruit maturation. The levels of gene expression were normalized by the results of 18S ribosomal RNA. Vertical bars indicate SE ($n = 3$).

の増加は、ほとんどがリコペンによるものであった(第4図)。果肉のカロテノイド生合成系遺伝子の mRNA レベルをみると、DK-LCYe と DK-ZEP は全期間を通じて、ほぼ一定のレベルで推移したのに対して、その他のカロテノイド生合成系遺伝子は、成熟に伴って上昇する傾向を示した。特に、11月以降はリコペンの上部に位置する DK-PSY, DK-PDS, DK-ZDS の mRNA レベルは急激に上昇したが、果皮の場合とは異なりリコペンより下部に位置する各酵素遺伝子の mRNA レベルは漸増傾向にとどまった(第5図)。これらのことから、10月以降の mRNA レベルの上昇によって、キサントフィル類の蓄積が起こるが、11月以降には、リコペン生合成より上部に位置する酵素遺伝子の mRNA レベルの急激な上昇が、リコペンを特異的に蓄積させているものと考えられた。

考 察

中條・葦澤(1973)は‘富有’の果皮の朱色ならびにリコペンの発現に及ぼす温度の影響について採取果を用いて調査したところ、その好適温度は10月中下旬には25°C、11月上中旬では15°Cと果実の成熟に伴い適温は低くなること、カロテン、クリプトキササンチン、ゼアキササンチン含量は25°Cで最も増加したことを報告している。また、Ebert・Gross(1984)は、‘Triumph’では、リコペンは完熟直前に急激に増加すると報告している。今回の‘富有’のカロテノイドの蓄積パターンでも、平均気温の高い10月に β -CRYとゼアキササンチンが蓄積し、成熟が進み気温の低下した11月にリコペンが蓄積しており、それらとほぼ一致した結果が得られた。一方、カキの果皮中のルテインは、‘四ッ溝’において未熟期から完熟期の間常に存在しており、特に未熟期にその比率が高い(近・榛葉, 1987)。今回‘富有’でも同様な結果が得られたことから、ルテインはカロテノイドの中で最初に蓄積し、生育期間を通して常に一定量で保持されているものと考えられた。しかもその量は $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ を上回っており、カキの果皮を利用する際には、今後ルテインの挙動について注目する必要がある。一方、ルテインの蓄積にかわって、 β -CRYとゼアキササンチンが蓄積を始める変換点が10月15日前後であったが、ウンシュウミカンやトマトでも緑熟期から成熟期にかわる際に同様な変化が認められる。ウンシュウミカンではLCYbの発現量が増大しかつ、LCYeの発現の低下が認められ(Katoら, 2004)、トマトではLCYbとLCYeの両方の発現低下が認められている(Ronenら, 1999)。カキでは、DK-LCYbの発現量の増大は認められたものの、DK-LCYeの発現はほぼ一定で低下していなかった。果実の種類によりこのような差が認められる要因は不明であるが、各酵素の発現のバランスによって蓄積するカロテノイドの種類が制御されているという点は同じであった。なお、カキの果皮中にルテインが多く蓄積しているのは、DK-LCYeの発現量が低下しないことが要因となっている可能性も考えられた。

果肉では、果皮と比べて11月以降のリコペンの蓄積が特異的に起こった。これはリコペン上流の酵素遺伝子の mRNA レベルの急激な上昇によりリコペンの蓄積に適した発現パターンに変化したことに起因していると考えられた。このように、果皮でキサントフィル類の蓄積が増大している時期に果肉ではリコペンが増加するということは、果皮に比べて果肉の方が熟度が進んでいる可能性が考えられる。現地では果皮の着色が遅れ、果肉のみが成熟するいわゆる‘果肉先熟’現象が認められていることから、今回供試した果実にも同様の現象が起こっているのではないかと推察された。

カキはウンシュウミカンと並んで β -CRYの貴重な供給源である。カンキツでは、オレンジのようにHYbの発現が高くピオラキササンチンが集積するものと、ウンシュウミカンのようにHYbの発現が低くピオラキササンチンまで代謝が進まないため β -CRYを集積するものがあり、そのためウンシュウミカンで β -CRYが蓄積される要因は、HYb遺伝子の発現の低下によるものである(Katoら, 2004)。しかし、カキの果皮では、DK-LCYeを除く遺伝子群の一斉上昇に伴って β -CRYと同時にピオラキササンチンも増加していくが、収穫直前になるとDK-ZEPの発現が低下し、ピオラキササンチンの蓄積も停止した。また、果肉では成熟に伴ってDK-HYbが増加するのに対しDK-ZEPは増加せず、 β -CRYとゼアキササンチンが蓄積するもののピオラキササンチンの蓄積は認められない。このようにDK-HYbの発現が上昇してもピオラキササンチンの蓄積は起こらず、 β -CRYが蓄積することは、オレンジやウンシュウミカンと異なっている。これは、カキはDK-ZEPの発現が低調で、ピオラキササンチンを蓄積しにくいタイプの果実であることが要因ではないかと考えられる。

近年増加傾向にある秋季の高温年では、果皮の着色遅延や黄色のまま収穫期を迎えるという現象を引き起こしている。今回の研究からこのような現象は、高温によってキサントフィル類を蓄積しやすい条件が長く続き、リコペンを蓄積する条件に移行しないことから引き起こされているものと考えられる。今後 β -CRY等の機能性成分含量を高めた果実生産を目指す場合には、当地における10月の気象条件である20°C程度の平均気温を長く維持するような栽培技術確立に応用できるものと考えられる。

著者らは、今回の‘富有’に加えて成熟期の異なる‘刀根早生’ならびに‘早秋’においても同様な研究を行い、それぞれのカロテノイド蓄積パターンに加え、通常の果実では検出されないフィトエンは、軟化が始まった完熟状態の果実だけで蓄積が認められることから、カキのカロテノイドは生合成系の下流から順に蓄積するものと推察した(新川ら, 2005)。加えて両品種の比較においては、‘刀根早生’の方が相対的なカロテノイド生合成系酵素遺伝子の mRNA レベルが高いもののカロテノイドの蓄積量は少なく、‘刀根早生’がカロテノイドを分解しやすい品種ではな

いかとも推察した(新川ら, 2005). Katoら(2006)は, カンキツ果実のカロテノイド含量・組成の品種間差を決定する要因にカロテノイド分解に関わる CitNCED (citrus 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) が関与していることを示唆しており, カキにおいてもカロテノイド生合成のさらに下流のカロテノイド分解酵素の変動とその生成物由来のアブシジン酸の蓄積特性を明らかにすることで, カロテノイドを蓄積する要因や品種間差の解明が可能となるものと思われた.

摘 要

カキ‘富有’を用いて, 成熟に伴うカロテノイド蓄積と生合成に関与する phytoene synthase (DK-PSY), phytoene desaturase (DK-PDS), ζ -carotene desaturase (DK-ZDS), lycopene β -cyclase (DK-LCYb), β -ring hydroxylase (DK-HYb), zeaxanthin epoxidase (DK-ZEP), lycopene ϵ -cyclase (DK-LCYe) の発現の特徴について明らかにした. 果皮では, 緑色期の主要なカロテノイドはルテインであった. これは DK-LCYe の遺伝子発現が全期間ほぼ一定に推移したのに対して, 他の遺伝子は緑色期では最も低い発現レベルであったため, 緑色期の LCYe の役割が着色期に比べて相対的に大きくなり緑色期のルテインの蓄積に関与したためと考えられた. 着色が始まる 10 月以降には, β -CRY ならびにゼアキサントニンが蓄積した. これは DK-LCYe 以外の遺伝子発現の一斉上昇により, キサントフィル類が蓄積しやすい遺伝子発現パターンに変化したためと考えられた. 果肉では, 10 月に β -CRY ならびにゼアキサントニンが蓄積し, 11 月にはリコペンが蓄積した. 11 月のリコペンの蓄積は, リコペン生合成より上流に位置する DK-PSY, DK-PDS, DK-ZDS の急激な発現上昇によるものと考えられた.

引用文献

中條利明. 1982. 富有カキ果実の発育ならびに品質に及ぼす温度条件に関する研究. 香川大農学紀要. 37: 1-63.
 中條利明・葦澤正義. 1973. 富有カキの果色に関する研究 III 採取果における朱色の発現に及ぼす温度の影響. 香川大農学報. 24: 129-135.
 Ebert, G. and J. Gross. 1985. Carotenoid changes in the peel of ripening persimmon (*Diospyros kaki*) cv. Triumph. Phytochemistry 24: 29-32.

Giuliano, G., G. E. Bartley and P. A. Scolnik. 1993. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development. Plant Cell 5: 379-387.
 Kato, M., Y. Ikoma, H. Matsumoto, M. Sugiura, H. Hyodo and M. Yano. 2004. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. Plant Physiol. 134: 824-837.
 Kato, M., H. Matsumoto, Y. Ikoma, H. Okuda and M. Yano. 2006. The role of carotenoid cleavage dioxygenases in the regulation of carotenoid profiles during maturation in citrus fruit. J. Experiment. Botany 57: 2153-2164.
 近 雅代・榛葉良之助. 1987. 四ッ溝柿の成熟, 貯蔵および干し柿加工中のカロチノイド組成の変化. 日食工誌. 34: 155-162.
 新川 猛・尾関 健・加藤雅也・生駒吉識. 2005. カキのカロテノイド蓄積及び生合成酵素遺伝子発現の品種間差. 園学雑. 74 (別 2) : 356.
 Nishino, H., H. Tokuda, M. Murakoshi, Y. Satomi, M. Masuda, M. Onozuka, S. Yamaguchi, J. Takayasu, M. Okuda, F. Khachik, T. Narisawa, N. Takasuka and M. Yano. 2000. Cancer prevention by natural carotenoids. Biofactors 13: 89-94.
 Ronen, G., M. Cohen, D. Zamir and J. Hirschberg. 1999. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for lycopene epsilon-cyclase is down-regulated during ripening and is elevated in the mutant Delta. Plant J. 17: 341-351.
 田中敬一・佐藤明彦・朝倉利員・村松 昇・山田昌彦. 2002. カキ果実における α -カロテン, β -カロテン, β -クリプトキサントニン含量の品種間差異. 園学雑. 71 (別 1) : 198.
 Wan, C. Y. and T. A. Wilkins. 1994. A modified hot borate method significantly enhances the yield of high-quality RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Anal Biochem. 223: 7-12.
 Yano, M., M. Kato, Y. Ikoma, A. Kawasaki, Y. Fukazawa, M. Sugiura, H. Matsumoto, Y. Oohara, A. Nagao and K. Ogawa. 2005. Quantitation of carotenoids in raw and processed fruits in Japan. Food Sci. Tech. Res. 11: 13-18.