

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06279

研究課題名(和文)液胞型アントシアニン・アシルグルコース依存糖-糖転移酵素の解明

研究課題名(英文)Elucidation of vacuolar-type acyl-glucose dependent anthocyanin glucosyltransferase

研究代表者

小関 良宏(Ozeki, Yoshihiro)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50185592

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文):デルフィニウムおよびアントシアニン合成変異ニンジン培養細胞において、アントシアニンを修飾している糖に糖を結合させる液胞内アシルグルコース依存型糖転移酵素の存在を明らかにした。デルフィニウムの様々な変異花色品種に含まれるアントシアニン分子種を解析した結果、アントシアニンの7位のグルコースに分岐する形でグルコースが結合している変異品種が存在することを見出し、この品種においてはグルコースの後にグルコースを逐次的に結合させる酵素活性が欠損していると推定された。アントシアニン合成変異ニンジン培養細胞からその酵素を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動上で単一バンドにまで精製した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

液胞はこれまで二次代謝産物や老廃物を蓄積している静的な場であるとされてきたが、当研究者はアントシアニンへの糖修飾反応が液胞内で行われることを示し、液胞は糖修飾反応が起こる動的な場であることを示してきた。本研究においてアントシアニンに結合している糖にさらに糖を付加する反応もアシルグルコースを糖供与体とする液胞内酵素が機能していることを示した点において学術的意義がある。また医薬品の糖付加による親水性化において当酵素反応が利用できれば、天然に大量に含まれるアシルグルコースを糖供与体として用いることができることから、医薬品製造の酵素合成法の1ステップとして産業的に利用できることが期待される。

研究成果の概要(英文): Modification mechanism of glycosyl moieties of anthocyanins with glucose was studied in sepals of delphinium mutants and anthocyanin-synthesizing carrot cultured cells. The analysis of structures of anthocyanin molecules in sepals of delphinium varieties suggested that glucosylation might occur step-by-step reaction to the glucosyl residue at the 7 position of anthocyanin by acyl-glucose dependent anthocyanin-acylglucoside glucosyltransferases (AAGT) in vacuole. The AAGT enzyme activity attaching a glucose to galactosyl residue of anthocyanin using acyl-glucose as a donor detected in the crude extract prepared from the anthocyanin-synthesizing carrot cultured cells. The enzyme protein for AAGT was purified from the crude extract of the carrot cells using column chromatography to be a single band on SDS-polyacrylamide electrophoresis.

研究分野：植物細胞分子生物学

キーワード：アントシアニン アシルグルコース依存糖転移酵素 液胞 デルフィニウム ニンジン

1. 研究開始当初の背景

アントシアニン分子は疎水性のアグリコンに対し、糖および有機酸が結合して水溶性になり、弱酸性から中性の液胞内に蓄積されて多種多様な花色として安定して発色している。その修飾はアグリコンもしくは有機酸の水酸基に糖が結合している場合と、糖の水酸基に糖が結合している場合がある。これまで糖に糖を修飾する酵素は細胞質内 UDP-glucose (Glc) 依存型糖転移酵素であるとされてきた。これに対し、当研究者は UDP-Glc を糖供与体とせず、acyl-Glc を糖供与体とし、それまで未知であったカーネーションにおけるアントシアニンのアグリコンの 5 位の OH 基に Glc を結合する新規修飾酵素として液胞内アントシアニン アシルグルコース依存型糖転移酵素 (acyl-Glc-dependent anthocyanin 5-O-glucosyltransferase; AA5GT) を発見した¹⁾。この AA5GT は、glycosyl hydrolase family 1 (GH1) に属するものであった。さらにデルフィニウム、アガパンサスなどの青色花に特徴的に含まれ、その青色発色に重要な役割を果たしているとして古くから知られていたアントシアニンの 7 位に glucose を結合させる酵素も GH1 に属する液胞型の acyl-Glc-dependent anthocyanin 7-O-glucosyltransferase (AA7GT) であることを世界で初めて発見した²⁾。デルフィニウムなどの青色花において、その青色を呈するのはアントシアニンのアグリコンに他のベンゼン環化合物がスタッキングすることによることが知られている²⁾。これは 1 つのアントシアニン分子の中において結合しているアシル基のベンゼン環とアグリコンとの間に生じる分子内スタッキングと、アントシアニンとは別の液胞内のベンゼン環化合物とアントシアニンのアグリコンの間で生じる分子間スタッキングによる場合が知られている。デルフィニウムにおいては、アグリコンである delphinidin (Del) の 7 位の Glc の先に *p*-hydroxybenzyl (pHB) 基が結合し、さらにその先にもう 1 つ Glc と pHB が結合した直鎖状に結合した violdelphin (Viol)³⁾ を合成蓄積している花があり、これは青紫色を呈している。さらに真青色のデルフィニウム花においては、Viol の 7 位の Glc に分枝する形で Glc が 2 つ結合し、その先に pHB 基と Glc、さらにもう 1 つ pHB 基が結合した cyanodelphin (Cyano)⁴⁾ となり、これにより分子内スタッキングが完成して鮮やかな真青色を呈している。このことから、7 位の Glc の先に Glc を結合させる酵素が真青色花を生み出す Cyano の合成の上で重要な役割を果たしていると考えられた。この酵素は 7 位の Glc が AA7GT により液胞内で結合した後、結合すると考えられることから、やはり液胞内酵素により Glc の転移反応が起きていると考えられた。また、その他の植物種における青色から紫色を発色する植物種におけるアントシアニンにおいても糖に糖が結合したアントシアニンが知られており、その多くは UDP-sugar を糖供与体とする細胞質糖転移酵素によるものとされていたが、これまでのアントシアニン合成変異ニンジン培養細胞における当研究者の研究により、ニンジンにおいてはアグリコンの cyanidin (Cya) の 3 位に galactose (Gal) が結合し、これにさらに xylose (Xyl) が転移する反応は各々の UDP-sugar を糖供与体とする細胞質内糖転移酵素であることを見出ししていた⁵⁾。しかし、そこで合成された Cya 3-Xyl-Gal の Gal に Glc を結合させる酵素活性は UDP-Glc では検出されなかった。これまでの当研究室の研究により、ニンジンおよびその近縁種であるハマボウフウにおいて蓄積しているアントシアニンは、ニンジンでは Glc の先に sinapoyl 基、ハマボウフウでは feruloyl 基を結合した Cya 3-Xyl-sinapoyl-Glc-Gal もしくは Cya 3-Xyl-feruloyl-Glc-Gal であり、この acyl 基を転移する酵素は液胞内に存在する sinapoyl-Glc および feruloyl-Glc を acyl 基供与体とする serine carboxypeptidase-like (SCPL) 酵素であることが見出ししている⁵⁾ ことから、この Gal に Glc を結合する酵素も UDP-Glc を糖供与体とする細胞質内糖転移酵素ではなく、acyl-Glc を糖供与体とする液胞内糖転移酵素である可能性が考えられた。

これらのことから、アントシアニンに結合した Glc に Glc を付加する液胞内 AAGT が存在すると推定されてきたが、それについては未解明のままであった。

2. 研究の目的

本研究において、アントシアニンの Glc に Glc を結合する液胞内糖転移酵素を明らかにするため、デルフィニウムにおける花色変異体において蓄積されているアントシアニン分子種の構造解析からの Glc 転移反応のステップの推定と、その糖転移反応を司る酵素活性の検出を粗酵素抽出液において試み、さらに RNA-seq により変異体の発現遺伝子解析からその糖転移酵素候補の探索を試みた。またアントシアニン合成変異ニンジン細胞において蓄積されているアントシアニンの構造から sinapoyl 基の結合における acyl 基供与体として sinapoyl-Glc が蓄積していることから、これが Cya 3-Xyl-Gal に Glc を結合する糖供与体となっているのか、その酵素活性を検出するとともに、その酵素タンパク質を精製することを目的とした。

3. 研究の方法

デルフィニウムの赤色花色を示す野生種、紫色から青色の花色を示す育種中間母本群の萼片からアントシアニンを抽出し、そこに含まれるアントシアニン分子種を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分離しその分子構造を質量分析機により推定した。さらにデルフィニウム花卉より粗酵素抽出液を得て、Viol を糖受容体とし acyl-Glc を糖供与体として糖転移酵素活性

の検出を試みた。アントシアニンを常に合成蓄積する変異ニンジン培養細胞より、そこに蓄積している Cya 3-Xyl-sinapoyl-Glc-Gal を精製した。これを部分加水分解することにより、この合成の中間体でありまた酵素活性測定の際の糖受容体である Cya 3-Xyl および Cya 3-Xyl-Gal を調製した。また糖供与体として市販の UDP-Xyl とともにアマランサス (*Gomphrena globosa*) より単離した sinapate glucosyltransferase cDNA (GsSGT) を大腸菌タンパク質発現系により合成させた組換え GsGT1 タンパク質にシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) より得た sucrose synthase 1 (AtSUS1) cDNA 由来の組換えタンパク質による UDP-Glc 再生系をカップルさせた系⁵⁾ により sinapoyl-Glc を合成した。これら糖受容体と糖供与体を用いて、アントシアニン合成変異ニンジン培養細胞から得た粗タンパク質抽出液における糖転移活性を測定した。さらに大量の粗タンパク質抽出液から硫酸アンモニウム沈殿によりタンパク質を沈殿させ、これを Butyl-650 C、ハイドロキシアパタイト・ゲルクロマトグラフィー、HiTrap Q、さらに HiTrap Butyl を通し、活性画分を集めて酵素タンパク質の精製を行った。

4. 研究成果

(1) デルフィニウム花色変異体におけるアントシアニン変異体の構造決定

さまざまな花色を示す商業品種、中間母本および野生種の花からアントシアニンを抽出し、その構造を決定したところ、紫色花においては Viol、青色花においては Cyano が主要色素として蓄積しているのに対し、青紫色を示す中間母本において Viol の 7 位の Glc に分岐する形で Glc が 2 分子結合し、その先に pHB が結合していないアントシアニンを主要色素として蓄積している品種が見出された (図 Viol+2Glc)。さらにマイナー成分として、分岐した形で Glc を 1 分子のみ有するアントシアニンを蓄積している中間母本もあることが明らかになった。このことは、おそらく Viol の 7 位の Glc に Glc を一分子分岐するように結合し、さらにもう一分子の Glc が逐次的に結合されていくこと、すなわち Viol + 1Glc、Viol + 2Glc のように順々に Glc を結合していることが示唆された。Viol を含む品種は商業品種として主力品種であるが、このような配糖化中間体を合成・蓄積している品種が存在していることは、Viol を含む商業品種においては Viol に分岐した形で Glc を結合する acyl-Glc 依存型糖転移酵素が欠失していると考えられた。そこで Cyano を蓄積している花の萼片から粗酵素抽出液を得て、Viol を糖受容体とし pHBG を糖供与体として反応させたが Glc が 1 分子結合した Viol+1Glc の生成は見られなかった。このためこの反応においては pHBG が Glc 供与体ではなく、未知の Glc 供与体がある可能性が考えられた。そこで Viol 合成蓄積花においては Viol に Glc を分岐させる形で転移させる酵素活性が欠損し、その Glc 転移に関わる未知の Glc 供与体が蓄積している可能性が考えられたので、Viol を蓄積している花から低分子画分を抽出し、この転移の糖受容体となる候補化合物を HPLC で探索したが見出せなかった。そこで、Viol 蓄積品種においてはこの Glc に分岐させる形で Glc を転移する酵素に対する遺伝子発現が欠失していると考えられたため、Viol を蓄積している萼片と Cyano を蓄積している萼片との間で RNA-seq による遺伝子発現解析を行なったが、GH1 ファミリーに属する遺伝子発現において有意に差異のある遺伝子は発見できなかった。

一方で、さまざまな花色のデルフィニウムに含まれるアントシアニンの構造を決定していった時、白色花品種のアリエルホワイトにおいて、白色であるにもかかわらず、酸を含む溶媒で抽出すると赤紫色になり、そこには delphinidin 3-rutinoside-7-glucoside (Del 3-Rut-7-Glc) が多量に含まれていることが明らかになった。このことから、この品種においてはスイートピーにあるような何らかの消色化合物が液胞内に共存する可能性が考えられたため、その消色化合物候補をアリエルホワイト萼片から探索したが得られなかった。一方で、酸を含む有機溶媒で抽出してカラ

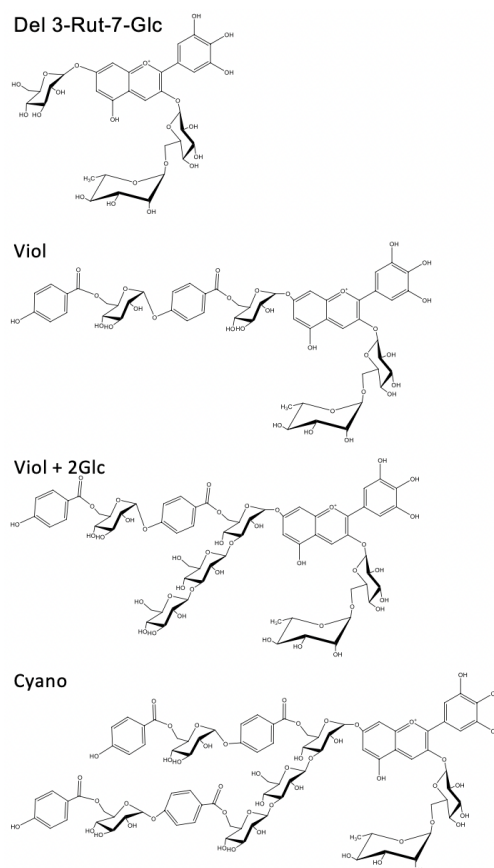


図. 様々な花色のデルフィニウム品種の萼片に含まれるアントシアニンの構造

Del 3-Rut-7-Glc, delphinidin 3-O-rutinoside-7-glucoside; Viol, delphinidin 3-O-rutinoside-7-O-(6-O-(4-O-(6-O-(p-hydroxybenzoyl)-glucosyl)-oxybenzoyl)-glucoside (violdelphin); Viol + 2Glc, delphinidin 3-O-rutinoside-7-O-[3-O-(3-O-(6-O-glucosyl)-glucosyl)-6-O-(4-O-(6-O-(p-hydroxybenzoyl)-glucosyl)-oxybenzoyl)-glucoside]; Cyano, delphinidin 3-O-rutinoside-7-O-[3-O-(3-O-(6-O-(4-O-(6-O-(p-hydroxybenzoyl)-glucosyl)-oxybenzoyl)-glucosyl)-glucosyl)-6-O-(4-O-(6-O-(p-hydroxybenzoyl)-glucosyl)-oxybenzoyl)-glucoside] (cyanodelphin).

ムクロマトグラフィーおよび HPLC により精製した Del 3-Rut-7-Glc を弱酸性から中性の水溶性緩衝液に溶解したところ、色が消失して無色となった。これは中性条件で Del の構造がアンヒドロベースになって分解したと推定されたが、この中性水溶液で 5 日間室温に放置した後に、これに酸を加えたところ赤紫色に変化し、さらにこれを HPLC 解析したところ、Del 3-Rut-7-Glc は分解していないことが明らかになった。このことは Del 3-Rut-7-Glc は中性水溶液で安定であり、かつ発色しなくなることを示したものであり、アリエルホワイトの白色（無色）薄片という *in vivo* のみならず、*in vitro* でも Del 3-Rut-7-Glc は弱酸性から中性の水溶液中において無色であることが示された。またデルフィニウム野生種において濃赤色を呈している花が見られ、そこに含まれているのはアグリコンとして pelargonidin であるとともに 3 位が rutinoside ではなく glucoside になっていることから、アントシアニンの発色にはポリアシル化とともに 3 位に Glc とともにその先に rhamnose (Rham) が結合していることが重要であることが示唆された。これらのことからデルフィニウムにおけるアントシアニンによる花色発色において、この 3 位の Rham を結合させる酵素遺伝子が重要な役割を果たしていると考えられ、今後、この Rham 転移酵素の同定と遺伝子の塩基配列の決定を行い、さらにすでにデルフィニウムにおいては遺伝子導入と個体再生系が本研究の分担研究者の廣瀬らにより確立されている⁶⁾ ことから、これを利用してその塩基配列をもとに作成した CRISPR/cas9 コンストラクトを導入して、この遺伝子を破壊することにより、基礎科学面からは Rham がアントシアニンの発色と構造の安定性に関わる役割を明らかにするとともに、応用面からは新たな赤紫色のデルフィニウムの作出が期待される。

(2) アントシアニン合成変異ニンジン培養細胞からの液胞内糖-糖転移酵素の精製

アントシアニン合成変異ニンジン培養細胞において蓄積されているアントシアニンは Cya 3-Xyl-sinapoyl-Glc-Gal である⁷⁾。この修飾において、まず Cya の 3 位に Gal を結合する酵素 UDP-Gal 依存型糖転移酵素については中国の研究グループにより同定されていた⁸⁾。そこでアントシアニン合成変異ニンジン培養細胞から粗酵素抽出液を調製し、これに UDP-Xyl を糖供与体、Cya 3-Gal を糖受容体として反応させたところ Cya 3-Xyl-Gal の生成が見られたことから、この糖転移反応は細胞質内 UDP-Xyl 依存型糖転移酵素 (XylT) であることが示された。そこでアントシアニン合成変異ニンジン培養細胞における RNA-seq 解析と系統樹解析を行い、XylT をコードしていると推定される遺伝子 DcXylT1 を特定した。この cDNA をアントシアニン合成変異ニンジン培養細胞から単離し、これを大腸菌タンパク質発現系に導入して組換え酵素タンパク質を作製し酵素活性を確認したところ、XylT 酵素活性が検出されたことから、DcXylT1 が XylT 活性をコードしていることが示された。この大腸菌組換えタンパク質 DcXylT 粗抽出液を用いて諸性質を調べたところ、その活性の至適 pH は 7.5、至適温度は 45°C であることが明らかになった。また、DcXylT は糖供与体への特異性は高いのに対し、糖受容体への特異性は低いことが示された。

Cya 3-Xyl-Gal の Gal に Glc を結合させる酵素活性を検出するために、Cya 3-Xyl-Gal を Glc 受容体として、UDP-Glc を Glc 供与体としてアントシアニン合成変異ニンジン培養細胞由来の粗酵素抽出液に加えて反応させたが Cya 3-Xyl-Glc-Gal の生成は見られなかった。そこで次に Glc 供与体として sinapoyl-Glc を加えたところ、Cya 3-Xyl-Glc-Gal の生成が見られ、このことから、この糖転移は細胞質型ではなく液胞型の acyl-Glc 依存型 Cya 3-Xyl-Gal Glc 転移酵素 (AXGalGT) であることがわかった。そこで、大量のアントシアニン合成変異ニンジン培養細胞からタンパク質を抽出し、この酵素活性をもつタンパク質の精製を行った。まず粗タンパク質抽出液に硫酸アンモニウムを加え 20-35% の条件で沈殿してくるタンパク質を分画した。これを Butyl-650 C カラムクロマトグラフィー、ハイドロキシアパタイト・カラムクロマトグラフィー、HiTrap Q、さらに HiTrap Butyl にて順次活性のある画分を回収して精製を行なった。最終的に得られた活性画分を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動によって調べたところ単一バンドであることが確認され、AXGalGT を精製することに成功した。精製 AXGalGT を使用して諸性質を調べたところ、その活性の至適 pH は 5.5、至適温度は 30°C であることが明らかになった。また、幅広い acyl-Glc 分子種を Glc 供与体として反応する一方で、受容体に対する基質特異性は厳密に決定されていることが示された。この酵素は sinapoyl-Glc よりも feruloyl-Glc の方が酵素に対する親和性が高いことが明らかとなったが、ニンジン変異培養細胞内では feruloyl-Glc は蓄積しておらず sinapoyl-Glc が蓄積されている。このことから *in vivo* での反応は酵素の親和性に関わらず細胞内に合成蓄積されている Glc 供与体分子種によって決定されると示唆された。これは、アントシアニン合成変異ニンジン培養細胞に蓄積されている最終産物は Cya 3-Xyl-sinapoyl-Glc-Gal であるのに対し、この最後のステップを司る SCPL 型酵素においても、その酵素の親和性は sinapoyl-Glc よりも feruloyl-Glc の方が高いのにもかかわらず、最終産物としては Cya 3-Xyl-feruloyl-Glc-Gal ではなく Cya 3-Xyl-sinapoyl-Glc-Gal であるのは、その酵素の親和性が決定しているのではなく、液胞内に蓄積されている acyl 基供与体の分子種により決定していることと合致している。

今後、ここで AXGalGT 精製条件を決定できたので、このタンパク質のアミノ酸配列を決定し、このアミノ酸配列に合致するタンパク質および遺伝子をデータベースから同定し、その遺伝子 cDNA をクローニングして組換えタンパク質を合成してそこにおける酵素活性を明らかにするとともに、ニンジン植物体における遺伝子発現プロファイルを明らかにしていく必要がある。

<引用文献>

- 1) Matsuba Y., Sasaki N., Tera M., Okamura M., Abe Y., Okamoto E., Nakamura H., Funabashi H., Takatsu M., Saito M., Matsuoka H., Nagasawa K., Ozeki Y. A novel glucosylation reaction on anthocyanins catalyzed by acyl-glucose-dependent glucosyltransferase in the petals of carnation and delphinium. *Plant Cell* 22: 3374-3389 (2010).
- 2) Yoshida K., Mori M., Kondo T. Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Nat. Prod. Rep.* 26: 884-915 (2009).
- 3) Kondo T., Oki K., Yoshida K., Goto T. Structure of violdelphin, an anthocyanin from violet flower of *Delphinium hybridum*. *Chem. Lett.* 19: 137-138 (1990).
- 4) Kondo T., Suzuki K., Yoshida K., Oki K., Ueda M., Isobe M., Goto, T. Structure of cyanodelphin, a tetra-*p*-benzoated anthocyanin from blue flower of *Delphinium hybridum*. *Tetrahedron Lett.* 32: 6375-6378 (1991).
- 5) Matsuba Y., Okuda Y., Abe Y., Kitamura Y., Terasaka K., Mizukami H., Kamakura H., Kawahara N., Goda Y., Sasaki N., Ozeki Y. Enzymatic preparation of 1-*O*-hydroxycinnamoyl- β -D-glucoses and their application to the study of 1-*O*-hydroxycinnamoyl- β -D-glucose-dependent acyltransferase in anthocyanin-producing cultured cells of *Daucus carota* and *Glehnia littoralis*. *Plant Biotechnol.* 25: 369-375 (2008).
- 6) Hirose Y., Aida R., Shibata M. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Delphinium* spp. *Plant Biotechnol.* 19: 377- 382 (2002).
- 7) Abe Y., Sawada A, Momose T, Sasaki N, Kawahara N, Kawamura H, Goda Y, Ozeki Y. Structure of an anthocyanin-anthocyanin dimer molecule in anthocyanin-producing cells of a carrot suspension culture. *Tetrahedron Lett.* 49: 7330-7333 (2008).
- 8) Xu. Z.-S., Ma J., Wang F., Ma H.-U., Wang Q.-X., Xiong A.-S. Identification and characterization of DcUCGalT1, a galactosyltransferase responsible for anthocyanin galactosylation in purple carrot (*Daucus carota* L.) taproots. *Sci. Rep.* 6: 27356 (2016).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyahara Taira, Sugishita Natsu, Ishida-Dei Madoka, Okamoto Emi, Kouno Takanobu, Cano Emilio A., Sasaki Nobuhiro, Watanabe Aiko, Tasaki Keisuke, Nishihara Masahiro, Ozeki Yoshihiro	4. 巻 68
2. 論文標題 Carnation I locus contains two chalcone isomerase genes involved in orange flower coloration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 481 ~ 487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbs.18029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakaguchi Kimitoshi, Isobe Chisato, Fujita Kazuyoshi, Ozeki Yoshihiro, Miyahara Taira	4. 巻 88
2. 論文標題 Production of novel red-purple delphinium flowers containing cyanidin-based anthocyanin using hybridization breeding.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 514 ~ 520
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.UTD-100	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Luna Iijima, Sanae Kishimoto, Akemi Ohmiya, Masafumi Yagi, Emi Okamoto, Taira Miyahara, Takashi Tsujimoto, Yoshihiro Ozeki, Nahoko Uchiyama, Takashi Hakamatsuka, Takanobu Kouno, Emilio A Cano, Motoki Shimizu, Masahiro Nishihara	4. 巻 10
2. 論文標題 Esterified carotenoids are synthesized in petals of carnation (<i>Dianthus caryophyllus</i>) and accumulate in differentiated chromoplasts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-72078-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 飯島瑠菜, 戸塚茜, 宮原平, 河野宇伸, EMILIO A.Cano, 小関良宏
2. 発表標題 白色カーネーションにおけるアントシアニン合成の抑制機構解明
3. 学会等名 日本植物細胞分子生物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮原平、坂口公敏、磯部知里、藤田和義、小関良宏
2. 発表標題 シアニジンを蓄積するデルフィニウムの育種
3. 学会等名 日本植物細胞分子生物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京農工大学工学研究院小関山田研究室ホームページ
<http://web.tuat.ac.jp/~ozeky/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	廣瀬 由紀夫 (Hirose Yukio) (40504147)	愛媛県農林水産研究所・企画戦略部・農業研究部・主任研究員 (86302)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------