

ニコチン酸投与による植物の生育促進および乾燥ストレス耐性の向上

戸高 大輔¹
 バシル クラーム^{1,2}
 関 原明^{1,3,4,5}

はじめに

昨今の気候変動により、干ばつの発生頻度が増加している。干ばつは作物の生育に大きなダメージを与え作物生産性を著しく低下させる。これに対抗するためさまざまな取り組みがなされている。その取り組みには、野生株や突然変異系統を利用した交配による育種、ゲノム編集技術による分子育種などがある。一方、栽培方法に視点を置いた取り組み、即ち、栽培方法を工夫することによる作物の環境ストレス耐性を向上させるアプローチも近年精力的におこなわれている。その一つにケミカルプライミングと呼ばれる手法がある。ケミカルプライミングは、対象生物を予め何らかの化合物で処理しその生体内の生理状態を変化させストレスなどの外的因子に適切に対処できるようにすることである (Sako ら 2021; Gohari ら 2024; Bashir ら 2025)。例えば、実験植物であるシロイヌナズナを低濃度のエタノール水溶液で前処理すると、その後の生育段階において高塩・高温・乾燥ストレス条件下に曝された際にそれらのストレス耐性が向上する (Nguyen ら 2017; Matsui ら 2022; Bashir ら 2022)。

本稿では、生体内の電子伝達反応を担うニコチンアミドアデニンジヌクレ

オチド (NAD) という化合物の代謝経路に着目し、関連代謝産物であるニコチン酸 (NA) を植物体に予め投与することにより植物のバイオマス生産性および乾燥ストレス耐性が向上することを紹介する。導入として植物における NAD および NA の生合成経路に関して説明する。

植物における NAD および NA の生合成経路

NAD は、ほぼ全ての生物種において補酵素としてエネルギー生成やさまざまな代謝プロセスの制御に関与している。酸化型 (NAD⁺) および還元型 (NADH) として細胞内の酸化還元反

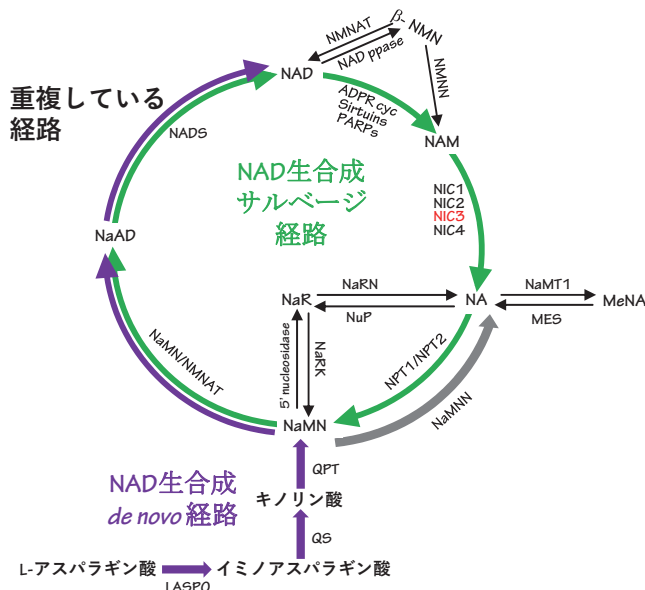


図-1 植物における NAD および NA の生合成経路

植物における NAD および NA の生合成経路には、アスパラギン酸を出発材料とする *de novo* 経路と NAM を利用するサルベージ経路の二つがある。NAD, ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド; NMN, ニコチンアミドモノヌクレオチド; NAM, ニコチンアミド; NA, ニコチン酸; MeNA, ニコチン酸メチル; NaMN, ニコチン酸モノヌクレオチド; NaR, ニコチン酸リボシド; NaAD, ニコチン酸アデニンジヌクレオチド; NMNAT, ニコチンアミド/ニコチン酸モノヌクレオチドアデニル酸転移酵素; NMNN, ニコチンアミドモノヌクレオチドヌクレオシダーゼ; NaMT1, ニコチン酸メチル転移酵素; ADPR cyc, ADP リボシルシクラーゼ; PARP, ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼ; NIC, ニコチンアミダーゼ; NPT, ニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ; NADS, NAD シンセターゼ; LASPO, L-アスパラギン酸オキシダーゼ; QS, キノリン酸シンセターゼ; QPT, キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ; MES, メチルエステラーゼ; NuP, ヌクレオシドホスホリラーゼ; NaRN, ニコチン酸リボシドヌクレオシダーゼ; NaRK, ニコチン酸リボシドキナーゼ; NAD ppase, NAD ピロホスファターゼ; NaMNN, ニコチン酸モノヌクレオチドヌクレオシダーゼ。

1. 理化学研究所 環境資源科学研究センター 植物ゲノム発現研究チーム
2. ラホール経営科学大学 サイエド・ババール・アリ理工学部
3. 理化学研究所 開拓研究本部 関植物エビゲノム制御研究室
4. 横浜市立大学 木原生物学研究所 植物ゲノム発現制御システム科学部門
5. 埼玉大学大学院 理工学研究科

応を担っている。例えば、解糖系のバランスを取る重要な反応の一つであるピルビン酸と乳酸間の変換プロセスにおいて働く乳酸脱水素酵素の補酵素として機能している。また、脱アセチル化やアデノシン二リン酸 (ADP) リボシル化といったタンパク質の翻訳後修飾にも関わっており、エネルギー代謝にとどまらず、分化・増殖といったさまざまな細胞内機能の調節をおこなっている。植物における NAD の生合成経路には、アスパラギン酸を出発材料とした *de novo* 経路 (図-1, 紫の経路) とニコチンアミド (NAM) を利用するサルベージ経路 (図-1, 緑の経路) の2種類の経路が存在する。NA はこのサルベージ経路において NAM がニコチンアミダーゼ (NIC) によって加水分解されることにより生成される (図-1)。また、NA はニコチン酸モノヌクレオチド (NaMN) からニコチン酸モノヌクレオチドヌクレオシダーゼ (NaMNN), 5'ヌクレオシダーゼ, ニコチン酸リボシドヌクレオシダーゼ (NaRN) によっても生成される (図-1) (Matsui・Ashihara 2008; Hashida ら 2010; Gakière ら 2018)。NA の誘導体であるニコチン酸メチル (MeNA) はニコチン酸メチルトランスフェラーゼ 1 (NaMT1) によって生成され、MeNA はメチルエステラーゼ (MES) によって逆に NA に転換される。この NA の可逆的なメチル化は、細胞内における量的調節や器官間移動などの NAD の動態制御機構において重要な役割を果

たしている (Gakière ら 2018; Wu ら 2018)。なお、NaMN からニコチン酸アデニンジヌクレオチド (NaAD) を経て NAD に至る部分は、アスパラギン酸を出発材料とした *de novo* 経路と NAM を利用するサルベージ経路において重複している (図-1)。

NIC3 遺伝子過剰発現シロイヌナズナの乾燥ストレス耐性およびバイオマス生産性

前述のように NA 関連の代謝経路には MeNA との経路以外に、NAD サルベージ経路中の NAM からの NIC による加水分解反応が知られている。シロイヌナズナのゲノム中には4つの *NIC* 遺伝子がコードされている。我々はそれらの一つである *NIC3* 遺伝子 (図-1 中の赤字) が乾燥ストレス処理により根において強く発現誘導されること (Ahmad ら 2021) に興味を抱き、この遺伝子の過剰発現シロイヌナズナを作出した。作出後、その植物の乾燥ストレス耐性を調べたところ、乾燥ストレス耐性が強化されることが示された (Ahmad ら 2021)。さらに、この植物を通常生育条件下で生育させたところ、バイオマス生産性の向上も認められた (Ahmad ら 2021)。これらの結果より、*NIC3* 遺伝子の過剰発現によって作られた NA が乾燥ストレス耐性やバイオマス生産性の向上に関与していることが示唆された。

NIC3 遺伝子過剰発現シロイヌナズナを用いたトランスクリプトーム解析およびメタボローム解析

次に、*NIC3* 遺伝子の過剰発現シロイヌナズナの乾燥ストレス耐性とバイオマス生産性の向上を司る分子機構を解明するため、*NIC3* 遺伝子の過剰発現シロイヌナズナおよび野生型のシロイヌナズナを用いてトランスクリプトーム解析およびメタボローム解析をおこなった。トランスクリプトーム解析は、コントロール条件下および乾燥ストレス条件下で5日間処理を施した植物体を用いておこなった (Ahmad ら 2021)。コントロール条件下で生育させた *NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナにおいて野生型のシロイヌナズナと比べ高発現していた発現変動遺伝子群には、栄養素のセンシングに重要な *NRT1.1* (Bouguyon ら 2015) や *NIGT1* (Maeda ら 2018)、根の発達に関与している *MYB68* (Feng ら 2004) や *WAG1* (Santner and Watson 2006)、ジャスモン酸やオーキシンのシグナリングやホメオスタシスに関わっている *YUCCA5* (Challa ら 2016) や *YUCCA9* (Hentrich ら 2013)、ROS の除去や ABA 応答のようなストレス耐性やストレス応答に関わる遺伝子である *WRKY33* (Jiang and Deyholos 2009; Li ら 2011)、*MAPKKK18* (Matsuoka ら 2015)、酸化ストレスの影響を軽減することが示されている *AOX1D* (Kim ら 2005;

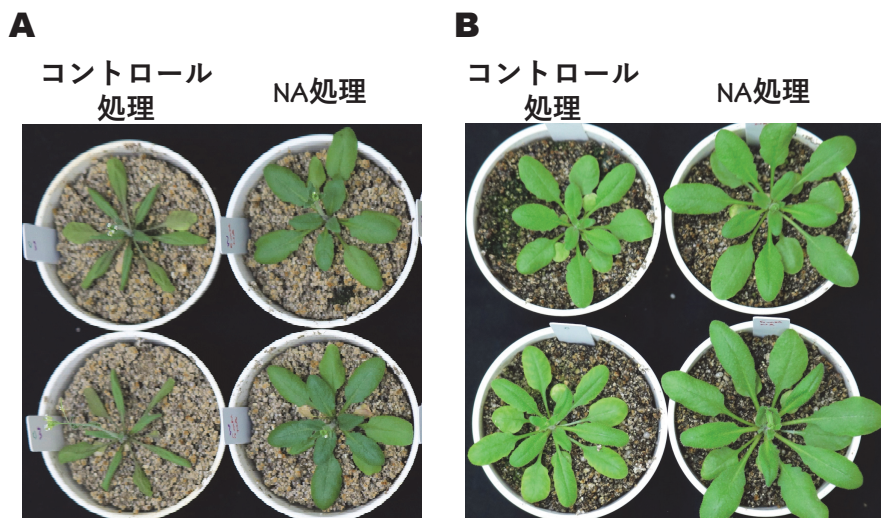


図-2 NA 処理による乾燥ストレス耐性およびバイオマス生産性に対する影響
 (A) シロイヌナズナ野生株にコントロール処理または NA 処理を 3 日間行った後、コントロール処理の植物体が永久萎れ点に達した日数の乾燥ストレス処理を施した時点での植物体の様相。
 (B) 通常条件下で生育させた植物体の様相。

Selinski ら 2018), *Thioredoxin* (Seki ら 2002; Giraud ら 2008) が含まれていた。一方、乾燥ストレス処理を施した *NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナにおいては、スクロースとプロトンの共輸送体をコードする遺伝子である *SUC6*, *SUC7*, *SUC8* (Sauer ら 2004), 酸化ストレスの影響を軽減することが示されている *AOX1D* (Kim ら 2005; Selinski ら 2018), ROS 依存的な経路に関与している *CYP96A5* (Wu ら 2016; Yu ら 2017) の発現量が野生型のシロイヌナズナと比べ高かった。

さらに *NIC3* 遺伝子を過剰発現させた際の細胞内の代謝産物量への影響を明らかにするため、キャピラリー電気泳動・飛行時間型質量分析計 (CE-TOFMS) によるメタボローム解析を行った。その結果、*NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナにおいて野生型のシロイヌナズナと比べ NA の高蓄積がみられた (Ahmad ら 2021)。また、環境ストレス耐性、成長などに関与する代謝産物量も増加していた (Ahmad ら 2021)。これらの結果より、NA の高蓄積および植物のバイオマス生産性やストレス応答、ストレス耐性に関わ

る遺伝子の発現量や代謝物の蓄積量の変化が *NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナのバイオマス生産性の促進およびストレス耐性の強化に貢献していることが示唆された。また、分光光度分析により、通常の条件下で生育させた *NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナにおいて NAD の還元型と酸化型の比 (NADH/NAD) が野生型のシロイヌナズナと比べ減少していることが示された。NADH/NAD の減少は乾燥ストレス時と類似した状態であることから、この減少が乾燥ストレスに対する適応力の向上に寄与していることが示唆された。

ニコチン酸を投与したシロイヌナズナの乾燥ストレス耐性およびバイオマス生産性

前述の通り NA は NAM から NIC によって生成される直接の代謝物である。そして、乾燥ストレス耐性およびバイオマス生産性が向上した *NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナでは NA が高蓄積していた。これらの結果より、植物体へ NA を投与するとその植物の乾燥ストレス耐性およびバイオマス

生産性を向上させることができるのではないかと考えた。そこで、NA を野生型のシロイヌナズナに投与し、乾燥ストレス耐性およびバイオマス生産性を調べた (Ahmad ら 2021)。その結果、乾燥ストレス耐性とバイオマス生産性が両者共に向上した (図-2)。また、NA 投与された野生型のシロイヌナズナでは、*NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナにおいて高発現していた *AOX1D*, *CYP96A5* の発現量も増加していた。このように *NIC3* 遺伝子過剰発現シロイヌナズナで得られた結果と同様の結果が NA を投与した野生型のシロイヌナズナにおいても得られた。これらの結果より、NA の細胞内における高蓄積は乾燥ストレス耐性およびバイオマス生産性の両者を向上させる働きが示唆された。

おわりに

本研究により、NAD 生合成サルベージ経路を操作することにより、乾燥ストレス耐性およびバイオマス生産性を両者とも向上できる可能性が示された。特に NAM から NIC によって生成される直接の代謝物である NA を

植物細胞内で高蓄積させることが重要であることが示唆された。この NA による作用機序はまだ不明な点が多く今後研究が必要である。ストレス耐性とバイオマス生産性は一般的にはトレードオフの関係にある。従って、このトレードオフを打破できる可能性を有する NA のポテンシャルは魅力的である。本研究成果を将来応用することにより、農作物を乾燥ストレスに強くし且つ収量を増産させることができるブライミング剤の開発が期待される。

【謝辞】

本稿は、科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (CREST) 「エピゲノム制御ネットワークの理解に基づく環境ストレス適応力強化および有用バイオマス産生 (研究代表者: 関原明)」, JST 先端国際共同研究推進事業 (ASPIRE) —米国 NSF Global Centers バイオエコノミー領域「グローバルセンター: 植物のレジリエンスを強化する国際研究センター (日本側研究代表者: 関原明) (JPMJAP24A3)」, JST 革新的 GX 技術創出事業 (GteX) バイオものづくり領域植物グループ「先端的植物バイオものづくり基盤の構築 (研究代表者: 大熊 盛也) (JPMJGX23B0)」による支援を受けて執筆した。

【引用文献】

Ahmad Z., Bashir K., Matsui A. *et al.* 2021. Overexpression of nicotinamidase 3 (NIC3) gene and the exogenous application of nicotinic acid (NA)

enhance drought tolerance and increase biomass in Arabidopsis. *Plant Mol Biol* 107:63–84. <https://doi.org/10.1007/s11103-021-01179-z>.

Bashir K., Todaka D., Rasheed S. *et al.* 2022. Ethanol-Mediated Novel Survival Strategy against Drought Stress in Plants. *Plant Cell Physiol* 63:1181–1192. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcac114>.

Bashir K., Todaka D., Seki M. *et al.* 2025. Chemical Application Improves Stress Resilience in Plants. *Plant Mol Biol* (in press).

Bouguyon E., Brun F., Meynard D. *et al.* 2015. Multiple mechanisms of nitrate sensing by Arabidopsis nitrate tranceptor NRT1.1. *Nat Plants* 1:15015. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.15>.

Challa KR., Aggarwal P., Nath U. 2016. Activation of YUCCA5 by the transcription factor TCP4 integrates developmental and environmental signals to promote hypocotyl elongation in arabidopsis. *Plant Cell* 28:2117–2130. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00360>.

Feng C., Andreasson E., Maslak A. *et al.* 2004. Arabidopsis MYB68 in development and responses to environmental cues. *Plant Sci* 167:1099–1107. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2004.06.014>.

Gakière B., Hao J., de Bont L. *et al.* 2018. NAD + Biosynthesis and Signaling in Plants. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 37:259–307.

Giraud E., Ho LHM., Clifton R. *et al.* 2008. The absence of Alternative Oxidase1a in Arabidopsis results in acute sensitivity to combined light and drought stress. *Plant Physiol* 147:595–610. <https://doi.org/10.1104/pp.107.115121>.

Gohari G., Jiang M., Manganaris GA. *et al.* 2024. Next generation chemical priming: with a little help from our nanocarrier friends. *Trends Plant Sci* 29:150–166. <https://doi.org/10.1016/>

[j.tplants.2023.11.024](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2023.11.024).

Hashida SN., Itami T., Takahashi H. *et al.* 2010. Nicotinate/nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase-mediated regulation of NAD biosynthesis protects guard cells from reactive oxygen species in ABA-mediated stomatal movement in Arabidopsis. *J Exp Bot* 61:3813–3825. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq190>.

Hentrich M., Böttcher C., Dücking P. *et al.* 2013. The jasmonic acid signaling pathway is linked to auxin homeostasis through the modulation of YUCCA8 and YUCCA9 gene expression. *Plant J* 74:626–637. <https://doi.org/10.1111/tbj.12152>.

Jiang Y. and Deyholos MK. 2009. Functional characterization of Arabidopsis NaCl-inducible WRKY25 and WRKY33 transcription factors in abiotic stresses. *Plant Mol Biol* 69:91–105. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9408-3>.

Kim HS., Yu Y., Snesrud EC. *et al.* 2005. Transcriptional divergence of the duplicated oxidative stress-responsive genes in the Arabidopsis genome. *Plant J* 41:212–220. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02295.x>.

Li S., Fu Q., Chen L. *et al.* 2011. Arabidopsis thaliana WRKY25, WRKY26, and WRKY33 coordinate induction of plant thermotolerance. *Planta* 233:1237–1252. <https://doi.org/10.1007/s00425-011-1375-2>.

Maeda Y., Konishi M., Kiba T. *et al.* 2018. A NIGT1-centred transcriptional cascade regulates nitrate signalling and incorporates phosphorus starvation signals in Arabidopsis. *Nat Commun* 9. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03832-6>.

Matsui A. and Ashihara H. 2008. Nicotinate riboside salvage in plants: Presence of nicotinate riboside kinase

- in mungbean seedlings. *Plant Physiol Biochem* 46:104–108. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2007.10.008>.
- Matsui A., Todaka D., Tanaka M. *et al.* 2022. Ethanol induces heat tolerance in plants by stimulating unfolded protein response. *Plant Mol Biol* 110:131–145. <https://doi.org/10.1007/s11103-022-01291-8>.
- Matsuoka D., Yasufuku T., Furuya T., Nanmori T. 2015. An abscisic acid inducible Arabidopsis MAPKKK, MAPKKK18 regulates leaf senescence via its kinase activity. *Plant Mol Biol* 87:565–575. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0295-0>.
- Nguyen HM., Sako K., Matsui A. *et al.* 2017. Ethanol enhances high-salinity stress tolerance by detoxifying reactive oxygen species in Arabidopsis thaliana and rice. *Front Plant Sci* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01001>.
- Sako K., Nguyen HM., Seki M. 2021. Advances in Chemical Priming to Enhance Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Plant Cell Physiol* 61:1995–2003. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa119>.
- Santner AA, and Watson JC. 2006. The WAG1 and WAG2 protein kinases negatively regulate root waving in Arabidopsis. *Plant J* 45:752–764. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02641.x>.
- Sauer N., Ludwig A., Knoblauch A. *et al.* 2004. AtSUC8 and AtSUC9 encode functional sucrose transporters, but the closely related AtSUC6 and AtSUC7 genes encode aberrant proteins in different Arabidopsis ecotypes. *Plant J* 40:120–130. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02196.x>.
- Seki M., Narusaka M., Ishida J. *et al.* 2002. Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *Plant J* 31:279–292. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2002.01359.x>.
- Selinski J., Hartmann A., Deckers-Hebestreit G. *et al.* 2018. Alternative oxidase isoforms are differentially activated by tricarboxylic acid cycle intermediates. *Plant Physiol* 176:1423–1432. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01331>.
- Wu R, Zhang F., Liu L. *et al.* 2018. MeNA, Controlled by Reversible Methylation of Nicotinate, Is an NAD Precursor that Undergoes Long-Distance Transport in Arabidopsis. *Mol Plant* 11:1264–1277. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2018.07.003>.
- Wu YR., Lin YC., wen Chuang H. 2016. Laminarin modulates the chloroplast antioxidant system to enhance abiotic stress tolerance partially through the regulation of the defensin-like gene expression. *Plant Sci* 247:83–92. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2016.03.008>.
- Yü J., Tehrim S., Wang L. *et al.* 2017. Evolutionary history and functional divergence of the cytochrome P450 gene superfamily between Arabidopsis thaliana and Brassica species uncover effects of whole genome and tandem duplications. *BMC Genomics* 18. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4094-7>.