

難^{なん}
波^ば
成^{しげ}
任^{とう}



專攻學科目 植物病理學

植物病理学

生年 月 昭和二六年 八月

昭和二六年

略 歴 昭和五年 三月

歷

昭和五年

同 五七年 三月

同
五
七
年

同 五七年 三月

同
五
七
年

同 五七年 四月

同
五
七
年

同 六〇年二月

同
六〇年

平成元年五月

平成
元年

同
四年
四月

同
四年

同 七年 六月

同
七年

同
一
年
四
月

同
一
年

同 一 六 年 六 月

同
一
六
年

同 二九年 四月

同
二
九
年

東京大学農学部農業生物学科卒業

東京大学大学院農学系研究科博士課程修了

農學博士

日本學術振興會獎勵研究員

東京大学農学部助手

米国コーネル大学客員研究員（平成二年一月まで）

東京大学農学部助教授

東京大学農学部教授

東京大学大学院新領域創成科学研究科教授

東京大学大学院農学生命科学研究科教授

東京大学大学院農学生命科学研究科特任教授（現在に至る）

農学博士難波成任氏の「植物病原性細菌 ファイトプラズマに関する分子生物学的 研究」に対する授賞審査要旨

ファイトプラズマは、植物細胞内に寄生する微小病原細菌の一群で、ヨコバイを媒介昆虫として、〇〇〇種類以上の植物に感染し、黄化病・萎縮病・天狗巣病・葉化病などの病気を引き起こすことにより、国内外で農業生産から環境問題に及ぶ甚大な被害をもたらしている。かつてこれらの病気はウイルスによると考えられていたが、一九六七年に土居養二らは電子顕微鏡を用いて、桑萎縮病に感染した植物の篩部細胞内に、直径約〇・一マイクロメートルの細胞壁を欠く微小な微生物を発見し、動物に寄生するマイコプラズマに形状が類似し、テトラサイクリンにより症状が軽減することから、マイコプラズマ様微生物「mycoplasma-like organism (MLO)」と命名した。しかし単独培養が不可能なために研究は進展せず、四半世紀にわたり形態観察の域を出なかった。難波成任氏は、このMLO研究に初めて分子生物学のメスを入れて状況を打開し、その全容解明に大きな貢献を行った。

まず培養出来ないMLOを検出する手法として、RNA遺伝子をPCR法により特異的に増幅する技術を植物病原体で初めて確立し、引き続いて、増幅されたRNA遺伝子領域の塩基配列を直接決定することを実現した。これにより感染植物からMLOの簡易迅速な検出が実現し、内外で報告された多数のファイトプラズマ株について分子系統解析を行った結果、MLOがマイコプラズマと異なる新たな細菌群であることを突き止め、それらを四四種からなるファイトプラズマ (*Phytoplasma*) 属にまとめた。さらに、これらの解析を通じて明らかになった構造遺伝子の配列から、マイコプラズマ同様に変則的と思われるファイトプラズマの翻訳終止コドンが、一般細菌や植物などと共通であることを見出し、ファイトプラズマ遺伝子のクローニングとその発現による機能解析を進めた。これらのゲノム解析の成果を土台に、二〇〇四年には世界に先駆けてファイトプラズマ *Phytoplasma asteris* M株の全ゲノム解読に成功した。八六万塩基対、七九二遺伝子よりなるそのゲノムサイズは、細胞生物で最少とされるマイコプラズマの約一・五倍であるが、大幅なゲノム縮退の結果としてマイコプラズマと同様に必須代謝系の大半を欠いているほか、マイコプラズマとは異なり、ペントースリン酸回路関連酵素や、さらには生命の定義の一つとされる膜ATP合成酵素をも欠損していることが明らかになった。

次いでこれらのゲノム情報をもとに、植物に対するファイトプラズマの病原性遺伝子と、病徴発現の分子機構を解明した。まず、「黄化・萎縮症状」が、ファイトプラズマゲノムに多コピー存在する金属イオン輸送系や解糖系酵素による、微量元素や代謝中間体の宿主植物からの収奪に起因することを示した。また、植物の枝葉が異常に密生する「天狗巣症状」が、ファイトプラズマの産生する七〇アミノ酸よりなる分泌タンパク質から生成する三八アミノ酸のペプチド TENGU によることを発見し、それが植物細胞内でさらに一二アミノ酸のペプチドに切断・輸送されて成長点に達し、そこでオーキシン生合成系を阻害するためであることを明らかにした。さらに、花が葉に置き換わる「葉化症状」が、別の分泌タンパク質「ファイロジェン (PHYLOGEN)」によることを発見し、それが植物の花形成を司る MADS ドメイン転写因子群に結合し、プロテアソームを介してそれらを分解するためであることを突き止めた。

一方、ファイトプラズマ遺伝子の網羅的発現解析を可能にする DNA マイクロアレイを開発し、それを用いて、わずか七〇〇余りのファイトプラズマ遺伝子のうち少なくとも約三分の一が、植物から媒介昆虫へと宿主が切り替わる際に大幅に発現が変化し、その切り替えには、RpoD と Flia の二種類の転写制御因子と多数のノンコーディング RNA が関与していることを見出した。これにより、

ゲノム縮退の一方で、複雑な発現制御機構を共進化させて宿主に適応しているファイトプラズマの巧妙な生存戦略を解き明かした。また、ヨコバイの特定種を媒介宿主にする種特異性が、ファイトプラズマ菌体表面タンパク質とヨコバイ腸管壁タンパク質との結合の特異性により決定されることを明らかにした。

難波氏は、これらの成果とは別に、広範なゲノム解析によって全てのファイトプラズマに共通する特異的塩基配列を見出し、ファイトプラズマ属のあらゆる種を簡易、迅速、高感度、安価に検出し、診断でき、試薬等を冷凍・冷蔵保管なしに持ち運びできる、ユニバーサルな等温遺伝子増幅法 (LAMP 法) を開発・実用化した。現在この方法は、東南アジア各国において拡大しつつある各種の作物、果樹等のファイトプラズマ感染の根絶事業、ならびに健全作物遺伝資源の保全事業に広く導入されて成果を挙げている。一方、ファイトプラズマの増殖を阻害する薬剤のスクリーニング系の確立にも成功し、これまでに複数の有効な殺菌剤を見出している。

難波氏のこれらの業績は、半世紀前に我が国で初めて発見されながら謎に包まれていたファイトプラズマとファイトプラズマ病の全容を解明し、その診断・治療・予防への道を拓いたもので、その独創的な研究成果は国の内外で極めて高く評価され、日本植物病理学会賞 (二〇〇二年)、日本マイコプラズマ学会北本賞 (二〇〇四年)、

国際マイコプラズマ学会（ノー・クラインバーガー・ノーベル賞（二〇一〇年）‘紫綬褒章（二〇一三年）’、日本農学賞・読売農学賞（二〇一四年）などを受賞・受章）、米国微生物アカデミー会員（二〇一五年）に選出された。

主要論文

1. Namba S, Oyaizu H, Kato S, Iwanami S, and Tsuchizaki T. Phylogenetic diversity of phytopathogenic mycoplasma-like organisms. **International Journal of Systematic Bacteriology** 43: 461–467, 1993.
2. Namba S, Kato S, Iwanami S, Oyaizu H, Shiozawa H, and Tsuchizaki T. Detection and differentiation of plant-pathogenic mycoplasma-like organisms using polymerase chain reaction. **Phytopathology** 83: 786–791, 1993.
3. Kuboyama T, Huang C-C, Lu X, Sawayanagi T, Kanazawa T, Kagami T, Matsuda I, Tsuchizaki T, and Namba S. A plasmid isolated from phytopathogenic onion yellows phytoplasma and its heterogeneity in the pathogenic phytoplasma mutant. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 11: 1031–1037, 1998.
4. Nishigawa H, Miyata S, Oshima K, Sawayanagi T, Komoto A, Kuboyama T, Matsuda I, Tsuchizaki T, and Namba S. *In planta* expression of a protein encoded by the extrachromosomal DNA of a phytoplasma and related to geminivirus replication proteins. **Microbiology** 147: 507–513, 2001.
5. Oshima K, Kakizawa S, Nishigawa H, Kuboyama T, Miyata S, Ugaki M, and Namba S. A plasmid of phytoplasma encodes a unique replication protein having both plasmid- and virus-like domains: Clue to viral ancestry or result of virus/plasmid recombination? **Virology** 285: 270–277, 2001.
6. Kakizawa S, Oshima K, Kuboyama T, Nishigawa H, Jung H.-Y, Sawayanagi T, Tsuchizaki T, Miyata S, Ugaki M, and Namba S. Cloning and expression analysis of *Phytoplasma* protein translocation genes. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 14: 1043–1050, 2001.
7. Oshima K, Shiomii T, Kuboyama T, Sawayanagi T, Nishigawa H, Kakizawa S, Miyata S, Ugaki M, and Namba S. Isolation and characterization of derivative lines of the onion yellows phytoplasma that do not cause stunting or phloem hyperplasia. **Phytopathology** 91: 1024–1029, 2001.
8. Nishigawa H, Oshima K, Kakizawa S, Jung H.-Y, Kuboyama T, Miyata S, Ugaki M, and Namba S. Evidence of intermolecular recombination between extrachromosomal DNAs in phytoplasma: a trigger for the biological diversity of phytoplasma? **Microbiology** 148: 1389–1396, 2002.
9. Jung H.-Y, Sawayanagi T, Kakizawa S, Nishigawa H, Miyata S, Oshima K, Ugaki M, Lee J.-T, Hibi T, and Namba S. ‘*Candidatus* Phytoplasma castaneae’, a novel phytoplasma taxon associated with chestnut witches’ broom disease. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 52: 1543–1549, 2002.
10. Miyata S, Oshima K, Kakizawa S, Nishigawa H, Jung H.-Y, Kuboyama T, Ugaki M, and Namba S. Two different thymidylate kinase gene homologues, including one that has catalytic activity, are encoded in the onion yellows phytoplasma genome. **Microbiology** 149: 2243–2250, 2003.
11. Jung H.-Y, Sawayanagi T, Kakizawa S, Nishigawa H, Wei W, Oshima K, Miyata S, Ugaki M, Hibi T, and Namba S. ‘*Candidatus* Phytoplasma ziziphi’, a novel phytoplasma taxon associated with jujube witches’ broom disease. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 53: 1037–1041, 2003.
12. Jung H.-Y, Sawayanagi T, Wongkaew P, Kakizawa S, Nishigawa H, Wei W, Oshima K, Miyata S, Ugaki M, Hibi T, and Namba S. ‘*Candidatus* Phytoplas-

- ma oryzae', a novel phytoplasma taxon associated with rice yellow dwarf disease. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 53: 1925–1929, 2003.
13. Kakizawa S., Oshima K., Nishigawa H., Jung H.-Y., Wei W., Suzuki S., Tanaka M., Miyata S., Ugaki M. and Namba S. Secretion of immunodominant membrane protein from onion yellows phytoplasma through the Sec protein-translocation system in *Escherichia coli*. **Microbiology** 150: 135–142, 2004.
14. Oshima K., Kakizawa S., Nishigawa H., Jung H.-Y., Wei W., Suzuki S., Arashida R., Nakata D., Miyata S., Ugaki M. and Namba S. Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma. **Nature Genetics** 36: 27–29, 2004.
15. Wei W., Kakizawa S., Suzuki S., Jung H.-Y., Nishigawa H., Miyata S., Oshima K., Ugaki M., Hibi T. and Namba S. In planta dynamic analysis of onion yellows phytoplasma using localized inoculation by insect transmission. **Phytopathology** 94: 244–250, 2004.
16. The IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team - Phytoplasma taxonomic group. 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 54: 1243–1255, 2004.
17. Suzuki S., Oshima K., Kakizawa S., Arashida R., Jung H.-Y., Yamaji Y., Nishigawa H., Ugaki M. and Namba S. Interaction between the membrane protein of a pathogen and insect microfilament complex determines insect-vector specificity. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 103: 4252–4257, 2006.
18. Kakizawa S., Oshima K. and Namba S. Diversity and functional importance of phytoplasma membrane proteins. **Trends in Microbiology** 14: 254–256, 2006.
19. Kakizawa S., Oshima K., Jung H.-Y., Suzuki S., Nishigawa H., Arashida R., Miyata S., Ugaki M., Kishino H. and Namba S. Positive selection acting on a surface membrane protein of the plant-pathogenic phytoplasmas. **Journal of Bacteriology** 188: 3424–3428, 2006.
20. Oshima K., Kakizawa S., Arashida R., Ishii Y., Hoshi A., Hayashi Y., Kagiwada S. and Namba S. Presence of two glycolytic gene clusters in a severe pathogenic line of *Candidatus Phytoplasma asteris*. **Molecular Plant Pathology** 8: 481–489, 2007.
21. Hogenhout S. A., Oshima K., Ammar El-D., Kakizawa S., Kingdom H. N. and Namba S. Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. **Molecular Plant Pathology** 9: 403–423, 2008.
22. Hoshi A., Oshima K., Kakizawa S., Ishii Y., Ozeki J., Hashimoto M., Komatsu K., Kagiwada S., Yamaji Y. and Namba S. A unique virulence factor for proliferation and dwarfism in plants identified from a phytopathogenic bacterium. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106: 6416–6421, 2009.
23. Oshima K., Ishii Y., Kakizawa S., Sugawara K., Neruya Y., Himeno M., Minato N., Miura C., Shiraishi T., Yamaji Y. and Namba S. Dramatic transcriptional changes in an intracellular parasite enable host switching between plant and insect. **PLoS ONE** 6: e23242, 2011.
24. Himeno M., Neruya Y., Minato N., Miura C., Sugawara K., Ishii Y., Yamaji Y., Kakizawa S., Oshima K. and Namba S. Unique morphological changes in plant pathogenic phytoplasma-infected petunia flowers are related to transcriptional regulation of floral homeotic genes in an organ-specific manner. **The Plant Journal** 67: 971–979, 2011.
25. Sugawara K., Honma Y., Komatsu K., Himeno M., Oshima K. and Namba S. The alteration of plant morphology by small peptides released from the proteolytic processing of the bacterial peptide TENGU. **Plant Physiology** 162: 2005–2014, 2013.
26. Sugawara K., Shiraishi T., Yoshida T., Fujita N., Netsu O., Yamaji Y. and Namba S. A replicase of *potato virus X* acts as the resistance-breaking determinant for JAXI-mediated resistance. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 26:

- 1106–1112, 2013.
27. Himeno M., Kitazawa Y., Yoshida T., Maejima K., Yamaji Y., Oshima K. and Namba S. Purple top symptoms are associated with reduction of leaf cell death in phytoplasma-infected plants. **Scientific Reports** 4: 4111, 2014.
28. Maejima K., Iwai R., Himeno M., Komatsu K., Kitazawa Y., Fujita N., Ishikawa K., Fukuoka M., Minato N., Yamaji Y., Oshima K. and Namba S. Recognition of floral homeotic MADS domain transcription factors by a phytoplasmal effector, phyllogen, induces phyllody. **The Plant Journal** 78: 541–554, 2014.
29. Minato N., Himeno M., Hoshi A., Maejima K., Komatsu K., Takebayashi Y., Kasahara H., Yusa A., Yamaji Y., Oshima K., Kaniya Y. and Namba S. The phytoplasmal virulence factor TENGU causes plant sterility by downregulating of the jasmonic acid and auxin pathways. **Scientific Reports** 4: 7399, 2014.
30. Miura C., Komatsu K., Maejima K., Nijo T., Kitazawa Y., Tomomitsu T., Yusa A., Himeno M., Oshima K. and Namba S. Functional characterization of the principal sigma factor RpoD of phytoplasmas *via an in vitro* transcription assay. **Scientific Reports** 5: 11893, 2015.