OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Molecular Mechanisms of Energy Allocation: Identification and Functional Characterization of DNA Methyltransferase 3.1 in Daphnia Magna under Starved Conditions
Author(s)	Nguyen, Duc Nhan
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/85254
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name （NGUYEN DUC NHAN）

Title: Molecular Mechanisms of Energy Allocation: Identification and Functional Characterization of *DNA Methyltransferase 3.1 in Daphnia magna* under Starved Conditions (エネルギー分配の分子機構：飢餓条件下におけるオオミジンコにおけるDNAメチル化転移酵素の同定と機能解析)

Life-history theory predicts that individuals should trade-off energy allocation between reproduction and somatic growth or even survival to maximize lifetime reproductive success. These traits are known to be negatively related to each other, and these antagonistic relationships are called trade-offs. Reproduction fundamentally compromises survival due to trade-offs, and with limited resources, organisms are coped with decisions on whether to invest in maintenance, growth, or reproduction. *Daphnia* has long been a model of energy allocation studies due to its important position in the trophic cascade of freshwater ecosystems. *Daphnia* also allocates energy with various amounts of algae. Under caloric restriction conditions, daphnids use less energy for growth and reproduction and more for maintenance (respiration and carapace formation). Recent whole-genome bisulfite sequencing efforts have revealed that DNA methylation in *Daphnia magna* changes in response to different conditions, including caloric restriction. However, the role of *DNA (cytosine-5) methyltransferases* in *Daphnia magna* for controlling energy allocation between life-history traits in response to caloric restriction remains unknown. This work firstly examined two DNMT3 orthologs in *Daphnia magna*. I found that DapmaDNMT3.1 (DNMT3.1) and DapmaDNMT3.2 (DNMT3.2) lack the conserved methyltransferase motifs in the catalytic domain and the PWWP domain, respectively. Following up, I profiled the expression of the two orthologs during embryogenesis and under various feeding levels. Interestingly, In nutrient-rich condition, both genes were lowly expressed, whereas *DNMT3.1* was upregulated at the lower food levels, suggesting a potential role of *DNMT3.1* in gene regulation in response to caloric restriction After the characterizations, I generated a targeted mutant of DNMT3.1 by CRISPR/Cas-mediated target mutagenesis. The biallelic mutant is viable and did not show any change in growth rate, reproduction, and longevity under nutrient-rich conditions. However, the growth rate of this DNMT3.1 mutant was increased. Still, its reproduction was reciprocally reduced compared to the wild type when the growth and reproduction activities competed from instar 4 to 8. We also compared transcriptomes between DNMT3.1 mutant and wild type under nutrient-rich and starved conditions. Consistent with the DNMT3.1 mutant phenotypes, the starved condition led to changes in the mutant's transcriptomes. These results establish DNMT3.1 as a key regulator for life span and energy allocation between growth and reproduction during caloric restriction. I anticipate that this work will contribute to understanding the molecular mechanisms underlying energy allocation in the ecologically important *Daphnia* species.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（　NGUYEN DUC NHAN　）		
論文審査担当者		(職)	氏　名
	主 査	教授	渡邉　肇
	副 査	教授	大政　健史
	副 査	教授	本田　孝祐
	副 査	教授	福﨑　英一郎
	副 査	教授	内山　進
	副 査	教授	紀ノ岡　正博
	副 査	教授	村中　俊哉
	副 査	教授	藤山　和仁
	副 査	教授	永井　健治
	副 査	教授	栗栖　源嗣

論文審査の結果の要旨

本論文は、生態系において重要な位置を占める動物プランクトンの１種であるオオミジンコ(*Daphnia magna*)を用いて、飢餓条件下でのエネルギー配分に関する研究をまとめたものであり、緒言、総括を含む４章から構成される。

緒言となる第１章では、本研究の背景と目的、およびその意義について記述している。

第 2 章では、環境変化の適応などにおいて重要な働きをしていると考えられるエピジェネティックな制御の中でも中心的な役割を担っていると考えられる DNA メチル化酵素に着目している。オオミジンコのゲノム情報から DNA メチル化転移酵素(DNMT3.1 および 3.2)を同定し、その遺伝子発現状態を解析している。その中で飢餓条件下で DNMT3.1 の遺伝子発現が上昇することを見出している。

第３章では、飢餓条件下で発現が上昇する DNMT3.1 遺伝子の機能を解析するために、CRISPR/Cas9 を用いて当該遺伝子を破壊したオオミジンコの系統を作製している。この変異系統は、エサが十分に存在する場合には DNMT3.1 遺伝子を破壊していない通常の野生型との差がないことを明らかにしている。これに対して飢餓条件下では産仔数の減少が見られる一方で成長速度は野生型よりも早くなり、寿命が短くなることを見出している。このことは、飢餓条件下において利用可能なエネルギーが減少した場合、限られたエネルギーを仔を多く残すために利用する機構が存在することを示唆しており、DNMT3.1 遺伝子を破壊することでこのエネルギー配分のバランスが壊れたことを意味している。さらにこのエネルギー配分に直接的に関与している可能性のある遺伝子を明らかにするために網羅的な遺伝子発現解析を行っている。

第４章では、これら得られた知見を総括し、今後の展望について総括している。

以上のように、本論文は生態系でも重要な位置を占める動物プランクトンについて、そのエネルギー配分の分子機構を明らかにするものである。動物プランクトンは、環境変化に応じた生殖戦略をとっていることは古くから知られていたが、本論文ではこの環境変化に対して重要な役割を担っている DNMT の機能を明らかにしており、水生動物の利用に大きく貢献するものである。生態系を構成する種々の生物の中で、一次消費者である動物プランクトンは重要な位置を占めていることから、動物プランクトンの個体群動態に影響を与える生殖戦略の分子メカニズムを明らかにすることは、環境保全や環境影響評価などにおいても非常に重要であり、本論文の意義は大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。