

# 葉酸欠乏によって起こる複製依存的 DNA 低メチル化と DNA 損傷との関連性

(2020年11月4日受付)

(2020年12月9日受理)

生野彰宏、南川佑太、竹林慎一郎、奥村克純

三重大学大学院生物資源学研究科

## The relationship between replication-dependent DNA hypomethylation and DNA damage caused by folate deficiency

(Received November 4, 2020)

(Accepted December 9, 2020)

Akihiro Ikuno, Yu-ta Minamigawa, Shin-ichiro Takebayashi, Katsuzumi Okumura

Graduate School of Bioresources, Mie University

### Abstract

Many studies have shown that folate deficiency induces DNA hypomethylation and DNA damage. DNA hypomethylation is thought to occur during DNA replication through deficiency of the DNA methylation donor synthesized using folate. However, the relationship between DNA hypomethylation and DNA damage caused by folate deficiency is not well understood. Here, we analyzed DNA damage caused by folate deficiency during the cell cycle S phase in which DNA hypomethylation occurs. Using HeLa cells, we first detected accumulation of intranuclear  $\gamma$ -H2A.X, a DNA double strand break marker, by immunofluorescent staining. We found that DNA damage occurs primarily during S phase, and that folate deficiency enhanced S phase-dependent DNA damage. We also found that folate deficiency caused slowing of the DNA replication fork and a delay in the onset of middle-late S phase. Detailed analyses of DNA damage in S phase progression suggested that the folate deficiency-induced DNA damage increased in all stages of S phase, particularly in middle-late S phase cells. To examine the relationship between DNA damage and DNA hypomethylation, we analyzed the methylation state of the promoter region of the human *LINE1* repetitive sequence, where heterochromatin is formed and replicated during middle to late S phase. We found that DNA methylation decreased by about 10% under the folate deficiency condition. Taken together, our results suggest that DNA hypomethylation is associated with DNA damage caused by folate deficiency.

**Keywords** : 葉酸、DNA メチル化、DNA 損傷、DNA 複製、複製ストレス  
folate, DNA methylation, DNA damage, replication, replication stress

## I 緒言

葉酸はビタミン B9 とも呼ばれる水溶性ビタミンの一種で、主に緑黄色野菜に含まれる食品栄養成分である<sup>1)</sup>。葉酸は総称であり細胞内では多くの誘導体として存在するが、哺乳類では腸内細菌叢による新規合成を除き葉酸を生産することはできない<sup>1)</sup>。そのため葉酸は食品からの摂取が必須な栄養成分であり、食品添加物や栄養補助サプリメントとしてモノグルタミン酸型の葉酸が用いられている。葉酸は生体内で一炭素転移反応に必要であり、チミジンやプリン環などの核酸新規合成経路に用い

られるほか、DNA メチル化などのエピジェネティック修飾にも用いられる<sup>2,3)</sup>。DNA メチル化においてメチル基供給源となる S-adenosylmethionine (SAM) は、メチオニンと Adenosine triphosphate (ATP) から合成される。SAM は DNA メチル化等に基質として用いられ脱メチル化した後、加水分解を受けてホモシステインとなる。メチオニン代謝経路によって、ホモシステインは葉酸から合成される 5'-methyl-tetrahydrofolate (5-MTHF) をメチル基供給源としてメチオニンへと戻され、再び SAM の合成に用いられる<sup>3-5)</sup>。そのため葉酸は生体内の反応におけるメチル基供給源として非常に重要な栄養素である。

連絡先: 〒515-8507 三重県津市栗真町屋町 1577 三重大学大学院生物資源学研究科 奥村克純

Corresponding author: Katsuzumi Okumura, Graduate School of Bioresources, Mie University,  
Tsu, Mie 514-8507, Japan