

---

# 研究報文

---

## 転写方程式の分子論的解釈

宮田 堅司

Molecular Interpretation of Equation for Transcription

Kenji Miyata

### Summary

Considering the molecular mechanism, the equation for transcription, which describes the ratio of any gene-transcripts, is derived. RNA polymerase II moves from transcriptional starting point along a gene under accelerative force  $F$  and resistant forces, both a frictional  $-r\dot{x}$  and  $-sx$  proportional to traveling distance  $x$ . Then the equation of motion of RNA polymerase II may be represented by the following,  $m\ddot{x} = F - r\dot{x} - sx$ . In this equation  $x$ , which means traveling distance of polymerase, may be considered as quantity of transcript, and that of inner standard gene is taken to be equal to unit, so that  $x$  can be regarded as the ratio of two gene-transcripts. Arranging the coefficients, the equation for transcription  $\ddot{x} + 2a\dot{x} + bx = bD$  is obtained, where  $a = r/2m$  is expected to be constant for any cases and  $D = F/bm$  to be almost same value for similar genes of same kinds of cell. These predictions are examined for 9 kinds of interleukin.

( Received September 12, 2012 )

### I. はじめに

組織中での 2 種類の遺伝子の転写量比は、リアルタイム PCR 法により容易に測定可能である。転写量比の加齢変化は単調に変化する場合が多く、その場合には速度式で説明可能である<sup>(1)</sup>。しかし、マウス胸腺での T 細胞受容体  $\beta$  鎖 ( $TCR \beta$ ) に対するインターロイキン 4 ( $IL4$ ) の転写量比の加齢変化には極大値が存在し、この場合には速度式では説明できない。加齢変化に極大値が存在する場合には、転写速度の時間変化項および濃度依存項も考慮し、転写量比  $x$  の経時変化を表す 2 階微分方程式①を提案し、測定結果を良く説明できることを示した<sup>(2)</sup>。

$$\ddot{x} + 2a\dot{x} + bx = bD \cdots \textcircled{1}$$

しかし、その場合に用いたパラメーターの物理化学的、生物学的意義は不明であった。本報では、RNA ポリメラーゼ II による転写現象に関して、分子レベルでの力学モデルを考察することにより転写方程式を導いた。また、その過程において転写方程式の係数の性質に関して考察した。

### II. 方法

コンベンショナルな条件下で飼育した BALB / c 雌マウスを用いた。胸腺の抽出、トータル RNA の抽出、逆転写反応およびリアルタイム PCR は前報と同様に行った<sup>(1,2)</sup>。T 細胞受容体  $\beta$  鎖 ( $TCR \beta$ ) および種々のインターロイキン ( $IL$ ) を検出するのに用いた PCR 用のプライマーを表 1 に示した。プライマーは、少なくとも一つのイントロン領域を間に含むエクソン領域に相補的に結合するように設定した。これらのプライマーにより、いずれの場合に

も 110 塩基対の DNA フラグメントが増幅される。

	For.	Rev.
TCR β	ACCCAAACCTGTACACAGA	CATAGAGGATGGTTGCAGAC
IL2	GCTTTCAATTGGAAGATGCT	TGCTGACTCATCGAATT
IL4	ATGTGCCAAAGCTCCTCACA	GCATGGAGTTTCCCATGTT
IL6	GAAAGACAAAGCCAGAGTCC	CATTGGAATTGGGGTAGGA
IL7	AACAGTATCACAAAGGCACAC	CTCTCAGTAGTCTCTTAGG
IL9	GCCACACAGAAATCAAGACT	TGGTTGCATGGCTTTTGCA
IL13	ATTGCATGGCTCTGTAACC	GTGTCTTTGTAGCTGAGC
IL5	TCACCGAGCTCTGTGACAA	TCTTCAGTATGCTAGCCTCC
IL10	TGAATTCCCTGGGTGAGAA	ATCACTTTCACCTGCTCCA
IL18	AAAGACACCTGTGTTGAG	AGCCAGTCTCTTACTTCAC

表 1 Realtime PCR で用いたプライマー

得られた増幅曲線より、蛍光強度が一定値 (相対強度 40) に達するまでに要した PCR のサイクル数  $n$  を読み取った。例えば、試料溶液中に存在した TCR β と IL2 とのコピー数比の常用対数値

$$\log \frac{IL2}{TCR \beta} \text{ は ② 式で求めた。} \quad (1)$$

$$\log \frac{IL2}{TCR \beta} = (n_{TCR \beta} - n_{IL2}) \log 2 \quad \dots \quad (2)$$

ここで、 $n_{TCR \beta}$  および  $n_{IL2}$  は TCR β および IL2 の増幅曲線が一定の相対蛍光強度に達するに要したサイクル数を表す。他の転写量比の場合にも同様にして求めた。

### Ⅲ. 転写方程式の分子レベルでの誘導

マウスでは RNA ポリメラーゼ II によりタンパク質をコードする遺伝子が転写される。

RNA ポリメラーゼ II はプロモーターを認識し、他の多くの因子の影響下に転写を開始する。RNA ポリメラーゼ II が遺伝子のプロモーター領域に結合すると、DNA 鎖がほどけ転写バブルが形成される<sup>(3)</sup>。

RNA ポリメラーゼ II はエネルギーを消費しながら DNA 鎖上を移動すると考える (図 1)。

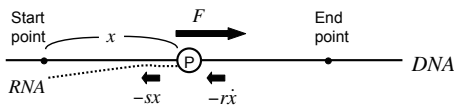


図 1 分子レベルでの転写モデル

RNA ポリメラーゼ II (ⓐ) は遺伝子 DNA 上を転写開始点 (start point) から終了点 (end point) まで、RNA を合成しながら移動する。この際の駆動力 ( $F$ ) はエネルギー消費に因る。また、移動速度に比例する抵抗力 ( $-rx$ )、および移動距離に比例する制動力 ( $-sx$ ) が働くとして仮定する。駆動力 ( $F$ ) は、抵抗力および制動力に比べて、十分大きいと考えられる。

いま、1 分子の RNA が転写される場合を考え、転写開始点を基準として質量  $m$  の RNA ポリメラーゼ II が移動した距離を  $x$  とすると、運動方程式は

$$m\ddot{x} = F \quad \dots \quad (3)$$

となる。ここで、 $F$  は RNA ポリメラーゼ II に作用するエネルギー消費に因る推進力を表す。さらに、DNA 鎖をほどきながら進む際には摩擦抵抗に相当する力  $-rx$  と、移動距離  $x$  に比例する抵抗力  $-sx$  が作用すると考えれば、運動方程式は

$$m\ddot{x} = F - rx - sx \quad \dots \quad (4)$$

となる。係数を整理し  $r/m = 2a$ ,  $s/m = b$ ,  $F/m = bD$  とおけば⑤式となる。

$$\ddot{x} + 2ax + bx = bD \quad \dots \quad (5)$$

いま、1 分子の RNA が転写される場合を考えているので、移動距離  $x$  が転写量であり、さらに内部基準とする遺伝子の転写量を 1 とおくと、 $x$  は転写量比を表すとみなすことができ、⑤式は①式と同一である。

摩擦抵抗力に関する係数  $r$  はどのような遺伝子の転写においても等しいと考えられるので、 $a (= r/2m)$  の値は遺伝子の種類、細胞の種類に関わらず一定になると予測される。移動距離、すなわち転写量に比例する抵抗力は、転写された RNA 鎖と遺伝子 DNA 鎖との相互作用などの存在を示唆しており、 $b (= s/m)$  の値は遺伝子毎に異なると考えられる。RNA ポリメラーゼ II の推進力  $F$  は、消費可能な ATP エネルギー量に依存すると考えれば、 $D (= F/bm = F/s)$  の値は、同一種の細胞、類似する遺伝子ではある程度近い値となることが予測される。

⑤式は減衰振動現象をあらわす式と類似しており、その実数の一般解は、

$b - a^2 > 0$  の場合、

$$x = Ce^{-at} \cos(\sqrt{b-a^2}t + \beta) + D \quad \dots \quad (6)$$

$b - a^2 < 0$  の場合、

$$x = Ae^{-(a+\sqrt{a^2-b})t} + Be^{-(a-\sqrt{a^2-b})t} + D \quad \dots \quad (7)$$

となる<sup>(4)</sup>。ここで、 $A$ ,  $B$ ,  $C$  および  $D$  は任意の定数、 $\beta$  は初期位相を表す。⑥式は経時的に振幅が減少しながら角振動数  $\sqrt{b-a^2}$  で振動し、時間  $t$  が大きい領域で一定値  $D$  に収束する減衰振動曲線を表し、⑦式は経時的に単調に増加あるいは減少し、時間  $t$  が大きい領域で  $D$  に漸近する。転写量比の加齢変化に極大値が存在する場合には⑥式を、転写量比の加齢変化が単調に変化する場合には⑦式を用いる。

#### IV. 結果および考察

同種の細胞が転写する類似した遺伝子として、主として T 細胞が発現する種々のインターロイキン (IL) について検討した。T 細胞が発現する  $TCR \beta$  の転写量を基準として、 $IL2$  および  $IL4$  (図 2)、 $IL6$  および  $IL7$  (図 3)、 $IL9$  および  $IL13$  (図 4)、 $IL5$  および  $IL10$  (図 5)、 $IL18$  (図 6) の転写量比の加齢変化を測定した。また、⑥式あるいは⑦式により計算した理論値も図に示した。計算に用いたパラメーターの値を表 2 に示した。

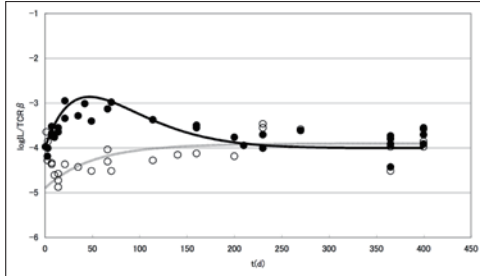


図 2  $\log \frac{IL2}{TCR \beta}$ 、 $\log \frac{IL4}{TCR \beta}$  の加齢変化

$\log \frac{IL2}{TCR \beta}$  (○) は生後徐々に増大し、その後一定値  $-3.9$  に漸近した。⑦式による理論値 (—) も示した。 $\log \frac{IL4}{TCR \beta}$  (●) は 7 週齢前後で極大となり、その後緩やかに低下し一定値  $-4$  に収束した。⑥式による理論値 (—) も示した。

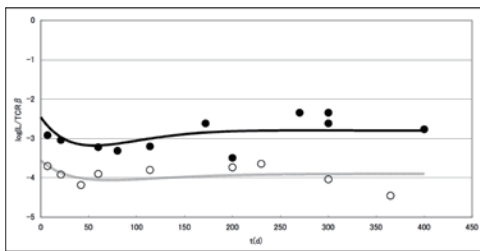


図 3  $\log \frac{IL6}{TCR \beta}$ 、 $\log \frac{IL7}{TCR \beta}$  の加齢変化

$\log \frac{IL6}{TCR \beta}$  (○) は 7 週齢前後で極小となり、その後一定値  $-3.9$  に収束した。⑥式による理論値 (—) も示した。 $\log \frac{IL7}{TCR \beta}$  (●) は 7 週齢前後で極小となり、その後一定値  $-2.8$  に収束した。⑥式による理論値 (—) も示した。

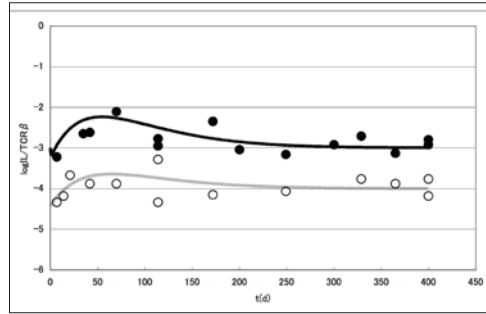


図 4  $\log \frac{IL9}{TCR \beta}$ 、 $\log \frac{IL13}{TCR \beta}$  の加齢変化

$\log \frac{IL9}{TCR \beta}$  (○) は 7 週齢前後で極大となり、その後一定値  $-4$  に収束した。⑥式による理論値 (—) も示した。 $\log \frac{IL13}{TCR \beta}$  (●) も 7 週齢前後で極大となり、その後一定値  $-3$  に収束した。⑥式による理論値 (—) も示した。

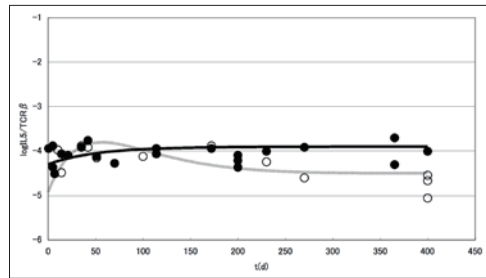


図 5  $\log \frac{IL5}{TCR \beta}$ 、 $\log \frac{IL10}{TCR \beta}$  の加齢変化

$\log \frac{IL5}{TCR \beta}$  (○) は 7 週齢前後で極大となり、その後一定値  $-4.5$  に収束した。⑥式による理論値 (—) も示した。 $\log \frac{IL10}{TCR \beta}$  (●) は生後徐々に増大し、その後一定値  $-3.9$  に漸近した。⑦式による理論値 (—) も示した。

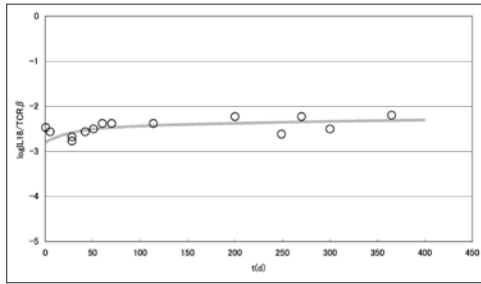


図 6  $\log \frac{IL18}{TCR \beta}$   
 $\log \frac{IL18}{TCR \beta}$  (○) は生後徐々に増大し、その後一定値 -2.2 に漸近した。⑦式による理論値 (—) も示した。

	$a$ (1/d)	$b$ (1/d <sup>2</sup> )	$\beta$	A	B	C	D	計算式
$\log IL2/TCR\beta$	0.02	0.00038		-0.5	-0.5		-3.9	⑦
$\log IL4/TCR\beta$	0.02	0.00048	$\pi/2$			-7	-4	⑥
$\log IL6/TCR\beta$	0.02	0.00045	$\pi/2, 2$			2	-3.9	⑥
$\log IL7/TCR\beta$	0.02	0.0006	$\pi/2, 2$			2	-2.8	⑥
$\log IL9/TCR\beta$	0.02	0.00042	$\pi/2$			-6	-4	⑥
$\log IL13/TCR\beta$	0.02	0.00045	$\pi/2$			-12	-3	⑥
$\log IL5/TCR\beta$	0.02	0.00046	$\pi/2$			-6	-4.5	⑥
$\log IL10/TCR\beta$	0.02	0.00038		-0.2	-0.2		-3.9	⑦
$\log IL18/TCR\beta$	0.02	0.0001		-0.3	-0.3		-2.2	⑦

表 2 ⑥あるいは⑦式での計算に用いたパラメータの値

$a$  は摩擦係数  $r$  と質量  $m$  とで決める係数であり、どんな遺伝子の場合でも同じ値となると予測されるので、ここでは、前報の  $IL4$  の場合と同じ  $0.02$  (1/d) とした<sup>(2)</sup>。他のパラメータ値を調節することで、すべての場合の実験値とよく一致する理論値を得ることが可能であった。

実験値は 300 日齢以降ほぼ一定となり、この値を表す  $D$  ( $= F/bm$ ) は、主として細胞が転写に利用するエネルギーによって決まると考えられ、T細胞が発現する遺伝子である  $IL2$ ,  $IL4$ ,  $IL5$ ,  $IL9$  および  $IL10$  の場合に  $-3.9 \sim -4.5$  となり、近似した値となった。しかし、主として間質細胞が発現する  $IL7$  では  $-3$ 、活性化したマクロファージが発現する  $IL18$  では  $-2$  となり異なる値となった。また、主に活性化した T細胞が発現する  $IL13$  では  $-3$  となった<sup>(5)</sup>。⑤式にしたがえば、この活性化された状態とは、 $IL2$  や  $IL4$  等を発現する T細胞よりも転写に消費するエネルギーが大きい状態であることを示唆して

いる。

### 文献

- 1) 清水里枝, 竹内亜里沙, 田中麻由里, 玉井千晶, 中西美貴, 西尾依里奈, 二田智恵子, 宮崎木綿子, 山口文乃, 宮田堅司: 本誌, **64**, 11 (2009)
- 2) 野々垣智美, 森瀬美由紀, 近藤美美, 須田温子, 長尾香奈, 長谷川千幸, 廣瀬友紀, 藤井愛美, 宮田堅司: 本誌, **66**, 7 (2011)
- 3) B.Lewin: GENES VII (Oxford University Press and Cell Press); 菊池韶彦, 榊佳之, 水野猛, 伊庭英夫 訳: 遺伝子, 第 7 版 (東京化学同人), 223 (2002)
- 4) 星崎憲夫, 町田茂: 基幹物理学 第 2 版 (てらべいあ), 254 (2009)
- 5) I. Roitt, J. Brostoff and D. Male: Immunology, 5th ed. (Mosby), 402 (1998)