

p 53 遺伝子多型解析による動物種の
分子系統進化に関する研究

(課題番号 16590543)

平成 16 年度～平成 17 年度 科学研究費補助金

基盤研究 (C)

研究成果報告書

平成 18 年 5 月

研究代表者 安 積 順 一

(旭川医科大学・医学部・助教授)

は し が き

法医鑑定の業務において物体検査は重要な検査項目の1つである。物体検査におけるDNA分析は近年重要な位置を占めるようになってきているが、その主流はDNA多型分析による個人識別であり、その前提としての人獣鑑別については、今なお血清学手法に依存している。

PCR法による人獣鑑別法として、ヒト性別判定用に用いられるアメロゲニン遺伝子や筋肉内タンパク質の一種であるミオグロビン遺伝子による検討もなされているが、動物種の特異性、特に霊長類間においては類似性がタンパク質およびDNAレベルのいずれにおいてもきわめて高いため、ヒトとサル類との識別が問題点とされてきた。本研究に用いたp53遺伝子は、1986年DNA腫瘍ウイルス、SV40の遺伝子によりトランスフォームさせたマウスのガン細胞でSV40 large T抗原と複合体を形成する細胞側の蛋白質の遺伝子として単離された。その後のこの遺伝子の機能が調べられ、ガン抑制遺伝子と考えられている。ヒトp53遺伝子はヒト染色体17p13に局在する。p53遺伝子はさまざまな細胞ストレスによって活性化され、四量体からなる転写因子として、その下流の生物学に重要ないくつかの分子、特に細胞周期、細胞死、DNA修復に寄与するものを制御することにより、細胞を正常に保つ役割を果たしている。p53遺伝子は様々な癌腫において変異や欠失が認められ、これに伴い半減期が長くなり、結果として癌細胞において変異p53蛋白が高発現している。

ヒトp53遺伝子は、活性化ドメインを含むアミノ酸1から101番目のN末端ドメイン、中央部の102～292番目のコアドメイン、293～393番目の四量体形成ドメインからなっており、アフリカツメガエル以上の脊椎動物に存在し、図示したI～Vの領域（アミノ酸13～19番目、117～142番目、171～181番目、234～258番目、270～286番目）は、特にその構造がアフリカツメガエルからヒトまで種属を超えて高度に保存されている。現在までに、イカや二枚貝を含む24種の動物からp53遺伝子のcDNA、ゲノムDNAの全部あるいはその一部の塩基配列が明らかにされている。この遺伝子の塩基配列には動物種によって保存されている領域と種属によって異なる領域があることが分かっている。

この研究により、由来の不明の組織から DNA を抽出し、PCR 法などによりこの p53 遺伝子の動物種によって異なる領域を増幅し、増幅産物の大きさや塩基配列を決定することで、動物種の由来が不明な組織や骨から人獣を鑑別することができる。このことが強く期待されるので本研究を行った。

ヒト p53 遺伝子には一塩基多型 (SNP) がエクソンで 5 か所、イントロンで 12 か所あることが報告されているが、その頻度は人種によって異なっており民族特性があることが知られている。しかし、霊長類以外の動物に関してエクソンあるいはイントロン配列に多型が存在するか否かについては明らかにされていない。われわれはヒトと霊長類 15 種類の p53 遺伝子解析を行い、霊長類の進化・分岐に関する新しい知見を得ており、さらにこの研究を進展させ、霊長類以外の魚類、鳥類、両生類など、p53 遺伝子が存在する動物種について多型の検索を行い、動物の分子系統進化と分岐について明らかにする事を目的とした。また、p53 遺伝子の塩基配列を解析することによって、鑑別が困難とされているヒトとサル類、特に非ヒト類人猿の鑑定が可能となり、さらにヒトの進化や分岐に関する研究にも大きく寄与できるものと考えられる。これらの p53 遺伝子をはじめその他が関連の遺伝子に注目し動物種の同定および動物の分子系統進化と分岐に関する研究は、法医学の分野では初めてのことである。この研究によって、法医鑑定業務の一つである人獣鑑別法の新たな知見が得られ、この領域の研究が大きな進歩のステップになることが強く期待される。



【研究組織】

研究代表者： 安 積 順 一 （旭川医科大学・医学部・助教授）

研究分担者： 浅 利 優 （旭川医科大学・医学部・助手）

松 本 博 志 （札幌医科大学・医学部・教授）

【研究経費】

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合 計
平成16年度	2,300	0	2,300
平成17年度	1,100	0	1,100
総 計	3,400	0	3,400

【研究発表】

（1）学会誌等

1. 安積順一，魏慧玲，藤井裕人，松本博志，玉木敬二：日本人集団における p53 遺伝子の DNA 多型解析—第7イントロンの多型性— DNA 多型，12, 111—113, 2004.
2. 安積順一，浅利優，塩野寛：ヒト p53 遺伝子プライマーを用いた動物種の鑑別．DNA 多型，13, 201—203, 2005.
3. 浅利優，安積順一，塩野寛，松原和夫：ABC トランスポーターABCG2/BCRP の遺伝子多型解析． DNA 多型，13, 232—235, 2005.

(2) 口頭発表

4. 浅利優, 安積順一, 清水恵子, 塩野寛: AmpFISTR Identifier Kit を用いた炭化およびミイラ化した死体からの個人識別の2例. 犯罪学雑誌 71 (4), 111-114, 2005
5. 吉田将理, 須野学, 浅利優, 小川研人, 栗屋敏雄, 清水恵子, 松原和夫, 北進一, 塩野寛: 陳旧化した歯牙からのDNAを用いた性別判定. 北海道医誌, 80 (2), 191-199, 2005
6. 安積順一, 浅利優, 清水恵子, 塩野寛: ヒト p53 遺伝子解析による法医試料からの動物種の鑑別. DNA 多型, 14, 241-244, 2006.

1. 安積順一, 松本博志, 西谷陽子, 玉木敏二: p53 遺伝子解析による人獣鑑別. 各種動物の第7イソトロプの比較分析—第87次日本法医学会総会. 富山. 2003年4月.

2. 安積順一, 魏慧玲, 藤井裕人, 玉木敏二, 松本博志: 日本人集団における p53 遺伝子の多型解析. 第12回DNA多型学会. 東京. 2003年12月.

3. 安積順一, 西谷陽子, 松本博志: ヒト p53 遺伝子プライマーを用いた哺乳類以外の動物種の鑑別. 第88次日本法医学会総会, 旭川. 2004年6月

4. 安積順一, 浅利優, 清水恵子, 塩野寛, 青柳みのり, 松本博志: p53 遺伝子解析による獣肉片の動物種の鑑別. 第5回日本法医学会北日本地方会 秋田, 2004年9月

5. 安積順一, 浅利優, 塩野寛: ヒト p53 遺伝子プライマーを用いた動物種の鑑別.

日本DNA多型学会第13回学術集会. 横浜. 2004年12月

6. 浅利優, 安積順一, 松原和夫, 塩野寛: ABC トランスポーター-ABCG2/BCRP の遺伝子多型解析. 日本DNA多型学会第13回学術集会. 横浜. 2004年12月

7. 浅利優, 安積順一, 清水恵子, 梅津和夫, 塩野寛: ミトコンドリア DNA HV1, 2領域多型検出とハプログループ判定による頻度解析. 第89次日本法医学会

総会, 高松. 2005年4月

8. 安積順一, 浅利優, 清水恵子, 塩野寛, 松原和夫: 日本人集団における p53 遺伝子コドン 72 およびイントロン 7 の多型. 第 89 次日本法医学会総会, 高松. 2005 年 4 月
9. 浅利優, 安積順一, 清水恵子, 塩野寛: AmpFISTR Identifiler Kit を用いた身元確認のための DNA 鑑定 2 例. 第 6 回日本法医学会北日本地方会 山形. 2005 年 10 月
10. 安積順一, 浅利優, 清水恵子, 塩野寛: p53 遺伝子解析による法医試料からの動物種の鑑別. 日本 DNA 多型学会第 14 回学術集会. 前橋. 2005 年 11 月
11. 浅利優, 安積順一, 清水恵子, 塩野寛: 同一母系内での mtDNA length heteroplasmy 解析. 第 90 次日本法医学会総会, 福岡. 2006 年 4 月
12. 安積順一, 浅利優, 清水恵子, 塩野寛: 霊長類の p53 遺伝子イントロン 7 多型の比較検討. 第 90 次日本法医学会総会, 福岡. 2006 年 4 月

【研究成果の概要】

1) p53 遺伝子解析による人獣鑑別

(1) 試料および DNA の抽出 :

ヒトの DNA は、健康人の末梢血から DNA Extractor WB Kit (和光純薬) にて抽出した。非ヒト霊長類の DNA は、京都大学霊長研究所共同利用研究により供与していただいた、類人猿 (チンパンジー、ピグミーチンパンジー、ゴリラ、オランウータン、フクロテナガザル、シロテナガザル)、旧世界ザル (ヒヒ、ニホンザル、アカザル、アフリカミドリザル)、新世界ザル (リスザル、キヤプチン、クタボウシタマリノ)、原猿類 (ギヤラコ、ウオキツネザル) の 15 種類を用いた。11 種類の哺乳動物 (ウシ、ウマ、ヒツジ、シカ、ゾウ、イヌ、ネコ、ラット、マウス、モルモット、クジラ)、鳥類 (ニワトリ)、両生類 (アフリカツメガエル)、魚類 (サケ、マス、マグロ、タイ、サメ)、軟体動物 (イカ、タコ) の DNA は、肝臓または筋肉から Sepa Gene (三光純薬) にて抽出した。

(2) p53 遺伝子 PCR 増幅による人獣鑑別 :

ヒトの p53 遺伝子のアミノ酸配列は、第 4 エクソンにおいて、他の動物とは差異が認められる。Soussi ら (1996) の報告をもとに、アミノ酸配列から塩基配列を推定したうえで、ヒトが各種動物と異なった塩基を有するところが 3' 末端になるようにプライマーを設計して PCR 増幅を行った。試料 DNA (100ng) を鋳型とし、プライマー (p53-E4-F : 5'-GACGATATTGAACAATGGTTC-3' , p53-E4-R : 5'-CGTGCAAGTCACAGACTTGGC-3') および AmpliTaq (Applied Biosystems) を使用して、全量 25 μ l の反応液で、94°C 1 分、60°C 1 分、72°C 1 分で 30 サイクル、さらに 72°C で 10 分間 PCR を行った。増幅産物は、4% アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色後、UV 存在下で増幅産物の有無を観察した。ヒトおよび非ヒト霊長類 15 種類のうち 9 種類 (チンパンジー、ピグミーチンパンジー、ゴリラ、オランウータン、フクロテナガザル、シロテナガザル、リーフモンキー、リスザル、キヤプチン) では予測された 234bp のところに増幅バンドがみられ

た。その他の動物では増幅バンドがみられずヒトとの識別は可能であった。増幅バンドがみられなかった非ヒト霊長類 5 種類は塩基配列の分析から上流プライマーの 3' 末端部に塩基転換 (C→A 又は G) が認められ、本法による種特異性は上流プライマーによって決定されるものと思われた。

PCR 法による人獣鑑別法として、ヒト性別判定用に用いられるアメロゲニン遺伝子や筋肉内タンパク質の一種であるミオグロビン遺伝子による検討がなされているが、種属の確定、特にヒトと非ヒト霊長類の識別が困難であった。

今回増幅した領域でも、霊長類とその他の動物の識別は可能であったが、ヒトと非ヒト霊長類の識別は困難であった。そこで、第 4 エクソンの他の領域についても塩基配列の解析を行い、ヒトと非ヒト霊長類の塩基配列の違いについて検討した。

(3) 霊長類の p 53 遺伝子第 4 エクソンの塩基配列の比較：

ヒト p 53 遺伝子第 3 イントロンの下流域と第 4 イントロンの上流域にプライマー (p53-I3-F : 5' -CTCTGACTGCTCTTTTCACC-3' , p53-I4-R : 5' -TGAAGTCTCATGGAAGCCAG- 3') を設計し、94°C30 秒, 58°C30 秒, 72°C30 秒で 30 サイクル, さらに 72°C で 5 分間 PCR を行った。PCR 産物はカラム精製し, ABI BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit によりシーケンス後, ABI PRIZM 310 により解析した。

ヒトと非ヒト霊長類の識別の可能性を探る目的で、ヒト p 53 遺伝子の第 3 インترونと第 4 インترونにプライマーを設定し、ヒトと非ヒト霊長類の第 4 エクソンの全塩基配列を調べた。今回設計したプライマー (p53-I3-F, p 53-I4-R) で PCR 増幅を行ったところ、ヒト、類人猿、旧世界ザルおよび新世界ザルの一部に増幅バンドが認められたが、原猿類およびその他の動物には増幅バンドが認められなかった。

増幅バンドが確認された、ヒト、チンパンジー、ピグミーチンパンジー、ゴリラ、オランウータン、フクロテナガザル、シロテナガザル、ヒヒ、ニホンザル、アカゲザル、リーフモンキー、リスザル、キャプチン、ワタボウシタマリン 14 種について p 53 遺伝子第 4 エクソンの全塩基配列を決定し、ヒトの塩基配列およびアミノ酸配列と比較した (表 1-2)。

a) ヒトとチンパンジー、ピグミーチンパンジーおよびゴリラの p 53 遺伝子第 4 エクソンの塩基配列の比較：

ヒトで塩基多型がみつかっているコドン 36 (CCG→CCA), コドン 47 (CCG→TCG), コドン 72 (CGC→CCC) を除き第 4 エクソンの配列は同じであった. チンパンジー, ピグミーチンパンジーにおいて第 4 エクソンの 12 番目の塩基(コドン 36) が A に置換していた. このことは, これらの部位にヒト同様の多型が類人猿にもあることを示唆している.

b) ヒトと非ヒト霊長類(上記の 3 種類を除く)の p53 遺伝子第 4 エクソンの塩基配列の比較:

オランウータンには 12 ヲ所で塩基の置換があり, 塩基転位が 9 ヲ所, 塩基転換が 3 ヲ所であった. アミノ酸置換は 8 ヲ所あった. フクロテナガザル, シロテナガザル, リーフモンキーでは, 12 ヲ所で塩基の置換があり, 塩基転位が 8 ヲ所, 塩基転換が 4 ヲ所であった. アミノ酸置換は 6 ヲ所あった. 分類学上フクロテナガザル, シロテナガザルは類人猿に属し, リーフモンキーは旧世界ザルに属しているが, この 3 種類間での塩基配列の違いがなかったのは非常に興味深いことである.

旧世界ザルにおいては, ヒヒとニホンザルでは 16 ヲ所で塩基の置換があり, 塩基転位が 11 ヲ所, 塩基転換が 5 ヲ所であった. アミノ酸置換はヒヒで 9 ヲ所, ニホンザルで 8 ヲ所あった. アカゲザルでは, 15 ヲ所で塩基の置換があり, 塩基転位が 10 ヲ所, 塩基転換が 5 ヲ所であった. アミノ酸置換は 8 ヲ所であった.

ヒヒ, ニホンザルおよびアカゲザルの違いは, ヒヒにあったヒトの 112 番目の塩基転位 (G→A) がニホンザルとアカゲザルではなかったのと, ヒヒとアカゲザルにはなかった 150 番目の塩基転位 (G→A) がニホンザルにはあったことである.

3 種類の新世界ザルのうち, リスザルでは 14 ヲ所で塩基の置換があり, 塩基転位が 9 ヲ所, 塩基転換が 5 ヲ所であった. アミノ酸置換は 8 ヲ所あった. キャプチン, およびワタボウシタマリンでは, 49 番目から 54 番目の塩基配列 (GACATT) がくり返し挿入されていた. この挿入はリスザルをはじめ他の霊長類にはなかった.

今回分析した非ヒト霊長類(チンパンジー, ピグミーチンパンジーおよびゴリラを除く)ではヒトに対する共通の塩基置換が, 56 番目 (A→C), 103 番目 (C→T), 199 番目 (T→C) の 3 ヲ所にあった.

(4) p53 遺伝子によるヒトと非ヒト霊長類の鑑別:

ヒト p53 遺伝子第 4 イントロンの下流域と第 6 イントロンの上流域にプライマー

(p53-I4-F : 5' -CTGTTCACTTGTGCCCTGACT -3' , p53-I6-R : 5' -ACCC CAGTTGCAAACCAGAC- 3')を設計した. 試料 DNA (100ng) を鋳型とし, Ex-Taq (TaKaRa) を使用して, 全量 25 μ l の反応溶液で, 95°C 3 分熱変性後, 94°C 30 秒, 58°C 30 秒, 72°C 30 秒で 30 サイクル, さらに 72°C で 5 分間 PCR 増幅を行った. 増幅産物は, 2%アガロースゲルで電気泳動し, エチジウムブロマイドで染色後, UV 存在下で増幅産物の有無を観察した. PCR 産物はカラム精製し, ABI BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit によりシーケンス後, ABI PRIZM 310 により塩基配列を解析した.

霊長類では予測された 449bp のところに増幅バンドがみられた. 霊長類以外の動物では 449bp のところに増幅バンドがみられなかったが, 数本から十数本の増幅バンドがみられ, これらのバンドパターンは動物種によって異なっていた.

法医学領域で扱う試料は, 腐敗などにより DNA が低分子化おり, 増幅産物がみられなかったとってヒト由来ではないと断定はできない. また, 霊長類間では塩基配列の相同性が高く, PCR 産物の大きさの違いからではヒトとサル類 (特にゴリラ, チンパンジー) 鑑別は困難であった. 本法では, ヒトとサル類の鑑別はできないが, 霊長類では 1 本の増幅バンドが, 霊長類以外の動物ではパターンが異なる複数の増幅バンドがみられることから, 各動物種の増幅バンドパターンの解析を行うことにより動物種の鑑別が可能性であった.

PCR により得られた 449bp の増幅産物の内, p 53 遺伝子第 5 エクソン, 第 5 インtron および第 6 エクソンの 378bp の塩基配列を決定し, ヒトと 15 種類のサル類の塩基配列およびアミノ酸配列とを比較した (表 3-6).

チンパンジー, ピグミーチンパンジーにおいて第 5 エクソンの 81 番目 (G→A) と 84 番目 (C→T) の 2 ヲ所に塩基置換があり, ゴリラでは第 5 エクソンの 10 番目 (G→A) と 114 番目 (C→T) の 2 ヲ所に塩基置換がありコドン 129 にアミノ酸置換 (Ala→Thr) があつた. 塩基置換があつた部位には制限酵素で切断される箇所がなく, 種族の鑑別には塩基配列を調べる必要はあるが, 今まで困難であるとされていた, ヒトとチンパンジーおよびゴリラとの鑑別が可能であつた. 上記の 3 種類を除く 12 種類のサル類においても塩基置換が 6 ヲ所から 63 ヲ所あり, ヒトとの鑑別は可能であつた.

(5) p 53 遺伝子解析による霊長類の進化および分岐：

今回決定したヒトとサル類における p 53 遺伝子の塩基配列の相同性を比較したところ、ヒトとチンパンジー、ピグミーチンパンジー、ゴリラでは 99.5%、オランウータンでは 98.4%、シロテナガザルでは 97.6%、フクロテナガザルでは 98.1%となり、ヒトと類人猿の平均相同性は約 98.8%であった。旧世界ザルでは、ヒトとヒヒで 96.6%、ニホンザル、アカゲザルおよびアフリカミドリザルでは 96.3%、平均約 96.4%の相同性を示した。新世界ザルではヒトとリスザルで 93.4%、キャプチン、ワタボウシタマリンでは 94.4%、平均約 94.1%の相同性を示した。原猿類ではギャラゴで 83.3%、ワオキツネザルで 89.2%、平均約 86.2%の相同性を示した。GENETYX ソフトウェアの平均距離法(UPGMA)で分子系統樹を作成して、霊長類 16 種類の系統関係を解析したところ、従来の分類とは矛盾しなかった (図 1)。

以上のことから、各種動物における p53 遺伝子の塩基配列の解明は、ヒトと非ヒト霊長類の鑑別に対する新たな知見を与えるだけでなく、霊長類の進化や分岐の解明に有効であることが明らかになった。

(6) p53 遺伝子を用いた動物種の鑑別：

動物種属間で p53 遺伝子のアミノ酸が共通して保存されている領域 (IVとV) のヒト p 53 遺伝子第 7 エクソンの下流域と第 8 エクソンの上流域にプライマー (p53-I7-F : 5' -ATCCTCACCATCATCACA CTG -3' , p53-I7-R : 5' -AGGCAC AAACACGCACCTCAA- 3')を設定し PCR 法で増幅後、PCR 増幅産物に含まれる第 7 イントロンの大きさと塩基配列を明らかにした。

今回用いたヒト p53 遺伝子プライマーにおいて、使用した哺乳動物サンプル全てで PCR による増幅産物が認められた。霊長類の第 7 イントロンの大きさは、ヒト、ゴリラ、チンパンジー、ピグミーチンパンジー、ヒヒ、アカゲザルでは 343bp、オランウータン 328bp、フクロテナガザル、シロテナガザル、ニホンザル、リスザルでは 342bp、キャプチン、ワタボウシタマリンでは 344bp、ギャラゴ 330bp、ワオキツネザル 308bp であった。類人猿では、オランウータンを除き増幅産物の大きさの違いからヒトとサル類とを鑑別するのは困難であった。しかし、ヒトとサル類の第 7 イントロンの塩基配列を比較したところ、チンパンジー、ピグミーチンパンジーにおいて 131 番目 (C→T) と 283 番目 (T→C) に、ゴリラにおいて 144 番目 (T→C) と 283

番目 (T→C) の 2 ヲ所に塩基置換が認められた。上記以外のサル類においてもヒトとの塩基の違いが 6 ヲ所以上ありヒトとサル類との鑑別は可能であった。霊長類以外の哺乳類では動物種間において増幅産物の大きさおよび塩基配列が異なることから動物種の特特定が可能であった (表 7)。

霊長類以外の 11 種類の哺乳動物の第 7 イントロンの大きさはウシ 329bp, ウマ 341bp, シカ 328bp, ヒツジ 326bp, ブタ 318bp, ネコ 267bp, イヌ 393bp, ラット 311bp, マウス 322bp, モルモット 294bp, クジラ 340bp であった (表 8)。

哺乳動物以外の動物では、ニワトリ、アフリカツメガエル、サケ、マス、マグロにおいて増幅産物が認められたが、その他の動物種では増幅産物が認められなかった。増幅産物の大きさはニワトリ 320bp, アフリカツメガエル 490bp, サケ 286bp, マス 451bp, マグロ 290bp であった。アフリカツメガエルは 490bp の他に数本のエキストラバンドが検出された (表 9)。哺乳動物における増幅産物の大きさは 346~422bp であったので増幅産物の大きさから哺乳類と哺乳類以外の動物の識別は可能であり、また、塩基配列を調べることによって哺乳動物以外においても動物種の特特定が可能であった。

PCR 法による人獣鑑別法としては、ヒト特異的配列を推定したうえでプライマーを作成し、PCR によって、鋳型 DNA がヒト由来であれば増幅産物みられ、その他の動物由来であれば増幅産物がみられないことに基づく方法が報告されている。しかし、法医学領域で扱う試料は、腐敗などにより DNA が低分子化おり、増幅産物がみられなかったと断定はできない。特に、霊長類間では塩基配列の相同性が高く、PCR 産物の大きさの違いからではヒトとサル類との鑑別は困難であった。ミトコンドリア DNA の D-Loop や Cytochrome b 遺伝子内にある塩基配列の違い、 β -Actin や 28S rRNA の増幅産物の大きさの違いを利用しての動物種の鑑別が試みられているが、動物種によって異なるプライマーを作成しなければならないという欠点がある。しかし、p53 遺伝子においてはアミノ酸が動物種によって高度に保存されている領域に 1 種類のプライマーを作成するだけで PCR 増幅が可能であり、特に第 7 イントロンは動物種間で異なる大きさの増幅産物を形成し、塩基配列も異なるため、動物種の鑑別には有効であると思われる。

(7) p53 遺伝子多型と民族特異性 :

a) 日本人の p53 遺伝子第 4 エクソン (コドン 72) の多型頻度 :

日本人集団の p53 遺伝子コドン 72 多型は, CCC(Pro)/CCC(Pro), CGC(Arg)/CGC(Arg), CCC(Pro)/CGC(Arg)の 3 型が検出され, 各々の頻度は 16.2, 40.0, 43.8%であり, またアリルの頻度は CCC(Pro):0.364, CGC(Arg):0.636 であった (表 10).

報告されている世界の異なる集団のコドン 72 の多型頻度を表 11 に示す.

ヨーロッパ人およびアメリカ人集団においては、アジア人集団よりも明らかに Pro のアリル頻度が少なく、民族差が認められた。コドン 72 の多型はアミノ酸置換をおこなうため、ガンへの関与について報告が多くなされている。特に、Arg/Arg の女性は Arg/Pro の女性よりヒトパピローマウィルス (HPV) の E6 タンパク質による分解を受けやすく、HPV が引き起こす子宮頸ガンに 7 倍なり易いとの報告がなされたが、その後の遺伝疫学的研究において否定されており、ガンとの関係については明らかではない。

エクソン 4 にはコドン 72 以外にコドン 36 (CCG→CCA) およびコドン 47 (CCG→TCG) に多型が報告されているが、今回解析した日本人においては多型がみつからなかった。

b) 日本人の p53 遺伝子第 7 イントロンの多型頻度 :

ヒト p53 遺伝子 14181 番目とその 20bp 下流の 14201 番目に相等する第 7 イントロンの 72 番目(C→T)と 92 番目 (T→G) の塩基に多型が認められた。72 番目で C/T は 92 番目で T/G であり, C/C は T/T, T/T は G/G であった。この事から 72 番目と 92 番目は完全連鎖不平衡の状態にあり, ハプロタイプは C-T ; T-G であった。その頻度は C-T ホモが 57.14%, T-G ホモが 7.62%, C-T /T-G ヘテロが 35.24%であり, さらにこの頻度から計算したアリルの頻度は C-T : 0.748, T-G : 0.252 であった (表 12)。

第 7 イントロン 72 番目の多型(C/T)は、民族によって出現頻度が異なることが報告されている。ヨーロッパ人のアリル頻度 (フィンランド人 0.949/0.051, スウェーデン人 0.923/0.077, ポーランド人 0.927/0.073, ハンガリー人 0.909/0.091, イタリア人 0.879/0.121) とアジア人の頻度 (インド人 0.769/0.231, 中国人 0.673/0.327, 日本人 0.744/0.245) では明らかに有意差があり、民族特異性があるものと考えられる (表 13)。一方、Qihua らは中国人のアリル頻度は 0.570/0.430 であったとの報告も

あり，同一国内においてもアリル頻度の違いが認められた．また，日本人のアリル頻度は中国人よりもインド人に近かった．

ヒトに多型が認められる第7イントロンの72番目の塩基は6種類の類人猿はすべてにおいてC/Cホモであり，また92番目はT/Tホモであった．この事からヒトで見つかったC→TおよびT→Gの塩基置換は，類人猿からヒトに進化，分岐した後に起こったものと考えられる．

表1 ヒトおよび非ヒト霊長類の p 53 遺伝子第 4 エクソンの塩基配列の比較

		*			*	
ヒト	1:	TCCCCCTTGC	CGTCCCAAGC	AATGGATGAT	TTGATGCTGT	CCCCGGACGA TATT.....G
チンパンジー	1:	-----	-A-----	-----	-----	-----
ピグミーンパンジー	1:	-----	-A-----	-----	-----	-----
ゴリラ	1:	-----	-----	-----	-----	-----
オランウータン	1:	-----	-----	GG-----	-C-----	-----
フクロテナガザル	1:	-----	-----	G-----	-----	-A-----
シロテナガザル	1:	-----	-----	G-----	-----	-A-----
ヒヒ	1:	-----	-----	-G-----	-----	-T-A-----C-----
ニホンザル	1:	-----	-----	-G-----	-----	-T-A-----C-----
アカゲザル	1:	-----	-----	-G-----	-----	-T-A-----C-----
リーフモンキー	1:	-----	-----	G-----	-----	-A-----
リスザル	1:	-----	-----	G-----	-----	-A-----
キャプチン	1:	-T-C-T-----	C-GG-----	-----	A-A-----	T-C-GACATT-
ワタボウシタマ	1:	-----	C-T-----	C-GG-----	-----	A-G-A-T-C-GACATT-

ヒト	56:	AACAATGGTT	CACTGAAGAC	CCAGGTCCAG	ATGAAGCTCC	CAGAATGCCA GAGGCTGCTC
チンパンジー	56:	-----	-----	-----	-----	-----
ピグミーンパンジー	56:	-----	-----	-----	-----	-----
ゴリラ	56:	-----	-----	-----	-----	-----
オランウータン	56:	C-----	-T-----	-----	-----	-T-----T
フクロテナガザル	56:	C-----	-----	-----	C-----	-T-----
シロテナガザル	56:	C-----	-----	-----	C-----	-T-----
ヒヒ	56:	C-----	A-----	-----	-----	G-T-----A-----
ニホンザル	56:	C-----	A-----	-----	-----	G-T-----
アカゲザル	56:	C-----	A-----	-----	-----	G-T-----
リーフモンキー	56:	C-----	-----	-----	C-----	-T-----
リスザル	56:	C-----	-----	-----	C-----	-T-----
キャプチン	62:	C-----	-G-C-----	-G-T-----	-----	A-C-G-AT-----C-----
ワタボウシタマリ	62:	C-----	G-G-C-----	-G-T-----	-----	-C-G-AT-----C-----

*

ヒト	116:	CCCGCGTGGC	CCCTGCACCA	GCAGCTCCTA	CACCGGCGGC	CCCTGCACCA	GCCCCCTCCT
チンパンジー	116:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
ピグミーチンパンジー	116:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
ゴリラ	116:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
オランウータン	116:	---T---G	---C---	-----	T-----	-----	-----
フクロテナガザル	116:	---A---	---C---	-----	---T---	G-----	-----
シロテナガザル	116:	---A---	---C---	-----	---T---	G-----	-----
ヒヒ	116:	---A---	---CA---	-----	-----	-----	-----
ニホンザル	116:	---A---	---CA---	-----	---A---	-----	-----
アカゲザル	116:	---A---	---CA---	-----	-----	-----	-----
リーフモンキー	116:	---A---	---C---	-----	---T---	G-----	-----
リスザル	116:	---A---	---C---	-----	---T---	G-----	-----
キャプチン	123:	-AA-----	-AG-T-G-	-----	-T-A-----	-CA-----	-----
ワタボウシタマリン	123:	-TG-A-----	-AG-----G	-----	-TTA-----	-CA-A-----	-----

ヒト	176:	GGCCCCTGTC	ATCTTCTGTC	CCTTCCCAGA	AAACCTACCA	GGGCAGCTAC	GGTTTCCGTC
チンパンジー	176:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
ピグミーチンパンジー	176:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
ゴリラ	176:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
オランウータン	176:	-----	---C---	-----	-----	-----	-----
フクロテナガザル	176:	-----	---C---	-----	-----	-----	-----
シロテナガザル	176:	-----	---C---	-----	-----	-----	-----
ヒヒ	176:	-----	---C---	-----	-----	-----	-----
ニホンザル	176:	-----	---C---	-----	-----	-----	-----
アカゲザル	176:	-----	---C---	-----	-----	T-----	-----
リーフモンキー	176:	-----	---C---	-----	-----	-----	-----
リスザル	176:	-----	---C---	-----	-----	T-TGA	-----
キャプチン	183:	-----	---C---	-----	-----	G T-TGA	-----
ワタボウシタマリン	183:	-----	---C---	-----	-----	T-TGA	-----

ヒト	236:TGGGCTTCTT	GCATTCTGGG	ACAGCCAAGT	CTGTGACTTG	CACG	279
チンパンジー	236:-----	-----	-----	-----	---	279
ピグミーチンパンジー	236:-----	-----	-----	-----	---	279
ゴリラ	236:-----	-----	-----	-----	---	279
オランウータン	236:-----	-----	-----	-----	---	279
フクロテナガザル	236:-----	-----	A -G	-----	---	279
シロテナガザル	236:-----	-----	A -G	-----	---	279
ヒヒ	236:-----	C- -----	A -----	-----	---	279
ニホンザル	236:-----	C- -----	A -----	-----	---	279
アカゲザル	236:-----	C- -----	A -----	-----	---	279
リーフモンキー	236:-----	-----	A -G	-----	---	279
リスザル	236:-----	-----	-----	-----	---	279
キャプチン	242:-----	-----	-----	-----	---	285
ワタボウシタマリン	242:-----	-----	-----	-----	---	285

・は欠失，- はヒトと同じ配列を示す。

* はヒトにおいて塩基の多型見つかっている箇所。

表2 ヒトおよび非ヒト霊長類の p53 遺伝子第 4 エクソンのアミノ酸配列の比較

(アミノ酸番号)	33	40	50	60	70	80	90
ヒト	SPLPSQAMDDLMLSPDDI··EQWFTEDPGPDEAPRMPEAAPPVAPAPAAPTPAAPAPAPS						
チンパンジー	-----						
ピグミーチンパンジー	-----						
ゴリラ	-----						
オランウータン	-----	V--L-----	··A--I-----	-----	S--S--G-----	-----	I-----
フクロテナガザル	-----	-----	E··A-----	-----	H--S--M-----	-----	L-----
シロテナガザル	-----	-----	E··A-----	-----	H--S--M-----	-----	L-----
ヒヒ	-----	V-----	L··A--L-----	-----	-----	S--T--M--T-----	-----
ニホンザル	-----	V-----	L··A--L-----	-----	-----	S--M--T-----	-----
アカゲザル	-----	V-----	L··A--L-----	-----	-----	S--M--T-----	-----
リーフモンキー	-----	-----	E··A-----	-----	H--S--M-----	-----	L-----
リスザル	-----	-----	E··A-----	-----	H--S--M-----	-----	L-----
キャプチン	---SL---PV-----	-----	DIA--SQ--V--D-TGS--P-T--Q-----	-----	-----	-----	S--T-----
ワタボウシタマリン	---SL---PV-----	-----	A--DIA--LSQ--V-----	-----	TGS--P-AM-Q-----	-----	L--TQ---

(アミノ酸番号)	91	100	110	125
ヒト	WPLSSSVPSQKTYQGSYGFRGLHSGTAKSVTCT			
チンパンジー	-----			
ピグミーチンパンジー	-----			
ゴリラ	-----			
オランウータン	-----			
フクロテナガザル	-----			
シロテナガザル	-----			
ヒヒ	-----	-----	H-----	-----
ニホンザル	-----	-----	H-----	-----
アカゲザル	-----	-----	H-----	-----
リーフモンキー	-----			
リスザル	-----	-----	H-D-----	-----
キャプチン	-----	-----	R-D-----	-----
ワタボウシタマリン	-----	-----	H-D-----	-----

・ は 欠失, - はヒトと同じ配列を示す

表3 ヒトおよび非ヒト霊長類の p53 遺伝子第5エクソンの塩基配列の比較

ヒト	1:	TACTCCCCTG	CCCTCAACAA	GATGTTTTGC	CAACTGGCCA	AGACCTGCCC	TGTGCAGCTG
チンパンジー	1:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
ピグミーチンパンジー	1:	-----	-----	-----	-----	-----	-----
ゴリラ	1:	-----	A-----	-----	-----	-----	-----
オランウータン	1:	-----	-----	-----	-G-----	-----	-----
フクロテナガザル	1:	-----	-----	-----	-G-----	-----	-----
シロテナガザル	1:	-----	-----	-----	-G-----	-----	-----
ヒヒ	1:	-----	A-----	-----	-G-----	-----	C-----A
ニホンザル	1:	-----	A-----	-----	-G-----	-----	C-----A
アカゲザル	1:	-----	A-----	-----	-G-----	-----	C-----A
アフリカミドリザル	1:	-----	A-----	-----	-G-----	-----	C-----
リスザル	1:	-----	-----	-----	-G-----	-----	C-----
キャプチン	1:	-----	A-----	-----	-G-----	-----	C-----
ワタボウシタマリン	1:	-----	-----	-----	-G-----	-----	C-----
ギャラゴ	1:	-T-T-	T-G-	-----	-G-G-	-----	-A-
ワオキツネザル	1:	-----	-T-	-----	-G-G-	-----	-----

ヒト	61:	TGGGTTGATT	CCACACCCCC	GCCCGGCACC	CGCGTCCGCG	CCATGGCCAT	CTACAAGCAG
チンパンジー	61:	-----	-----	A-T-----	-----	-----	-----
ピグミーチンパンジー	61:	-----	-----	A-T-----	-----	-----	-----
ゴリラ	61:	-----	-----	-----	-----	-----	-T-----
オランウータン	61:	-----	-----	A-T-----	-----	-----	-----
フクロテナガザル	61:	-----	-----	-G-----	-T-----	-----	-----
シロテナガザル	61:	-----	-----	T-----	-T-----	-----	-----
ヒヒ	61:	-----	-----	-----	G-----	-----	-----
ニホンザル	61:	-----	-----	A-----	G-----	-----	-----
アカゲザル	61:	-----	-----	A-----	G-----	-----	-----
アフリカミドリザル	61:	-----	-----	-----	G-----	-----	-----
リスザル	61:	-----	C-----	-GT-----	-----	-T-----	-----
キャプチン	61:	-----	C-----	-GT-----	-----	-----	-----
ワタボウシタマリン	61:	-----	-----	-GT-----	-----	-----	-T-----
ギャラゴ	61:	-T-C-C-	-----	A-A-GT	-A-T-	-----	-T-A
ワオキツネザル	61:	-----	G-C-TG	A-A-G-	-A-----	-----	-----

ヒト	CACAGCACA TGACGGAGGT TGTGAGGCGC TGCCCCCACC ATGAGCGCTG CTCAGATAGC GATG	184
チンパンジー	-----	184
ピグミーチンパンジ	-----	184
ゴリラ	-----	184
オランウータン	----- C ----- T -----	184
フクロテナガザル	----- A C -----	184
シロテナガザル	-----	184
ヒヒ	----- C ----- C -----	184
ニホンザル	----- C ----- C -----	184
アカゲザル	----- C ----- C -----	184
アフリカミドリザル	----- T C ----- C -----	184
リスザル	----- C -----	184
キャプチン	----- A C -----	184
ワタボウシタマリン	-----	184
ギャラゴ	----- A ----- A A G ----- A T -----	184
ワオキツネザル	----- A ----- C ----- G A -----	184

— はヒトと同じ配列を示す。

表4 ヒトおよび非ヒト霊長類の p 53 遺伝子第 5 イントロンの塩基配列の比較

ヒト	1: GTGAGCAGCT GGGGCTG·GAG AGACGACAGG GCTGGTTGCC CAGGGTCCCC AGGCCTCTGA
チンパンジー	1: ----- ·-----
ピグミーチンパンジー	1: ----- ·-----
ゴリラ	1: ----- ·-----
オランウータン	1: ----- ·----- T-----
フクロテナガザル	1: -A----- A----- ·----- T-----
シロテナガザル	1: -A----- A----- ·----- T-----
ヒヒ	1: ----- A----- ·----- ----- A-----
ニホンザル	1: ----- A----- ·----- ----- A-----
アカゲザル	1: ----- A----- ·----- ----- A-----
アフリカミドリザル	1: ----- C----- ·----- ----- A-----
リスザル	1: ----- T----- ·AG- C-CA-TG----- C----- C-----
キャプチン	1: ----- T----- ·----- -CG-TG----- C----- C-----
ワタボウシタマリン	1: ----- T----- ·----- -CA-TG----- C-A----- T----- T-----
ギャラゴ	1: ----- TGA----- AAGCTG----- AGG----- G AA----- C-AT----- C----- T T-----
ワオキツネザル	1: ----- C A-A-GCCA----- GG----- G A----- C-T----- C-----
ヒト	TTCCTCACTG ATTGCTCTTA G :81
チンパンジー	----- - :81
ピグミーチンパンジー	----- - :81
ゴリラ	----- - :81
オランウータン	----- - :81
フクロテナガザル	----- - :81
シロテナガザル	----- - :81
ヒヒ	----- T----- - :81
ニホンザル	----- T----- - :81
アカゲザル	----- T----- - :81
アフリカミドリザル	----- T----- - :81
リスザル	C----- C----- T----- - :81
キャプチン	C----- T----- - :81
ワタボウシタマリン	C----- T----- - :81
ギャラゴ	----- CT----- G----- - :81
ワオキツネザル	----- G----- ·----- C----- - :80

・は欠失, - はヒトと同じ配列を示す.

表5 ヒトおよび非ヒト霊長類の p 53 遺伝子第 6 エクソンの塩基配列の比較

ヒト	1: GTCTGGCCCC TCCTCAGCAT CTTATCCGAG TGGAAGGAAA TTTGCGTGTG GAGTATTTGG
チンパンジー	1: -----
ピグミーチンパンジー	1: -----
ゴリラ	1: -----
オランウータン	1: -----
フクロテナガザル	1: -----C-----
シロテナガザル	1: -----C-----
ヒヒ	1: -A-----C-----C--
ニホンザル	1: -A-----C-----C--
アカゲザル	1: -A-----C-----C--
アフリカミドリザル	1: -A-----A-----C--
リスザル	1: -----A-A--A-----
キャプチン	1: -----A-A--A-----
ワタボウシタマリン	1: -----A-A--A-----
ギャラゴ	1: -----C--G-----
ワオキツネザル	1: -----T-----G--G--A-----C--

ヒト	ATGACAGAAA CACTTTTCGA CATAGTGTGG TGGTGCCCTA TGAGCCGCCT GAG 113
チンパンジー	----- 113
ピグミーチンパンジー	----- 113
ゴリラ	----- 113
オランウータン	----- 113
フクロテナガザル	----- 113
シロテナガザル	----- 113
ヒヒ	----- 113
ニホンザル	----- 113
アカゲザル	----- 113
アフリカミドリザル	----- 113
リスザル	-----A----- 113
キャプチン	-----A----- 113
ワタボウシタマリン	-----A-----A----- 113
ギャラゴ	-----T-A-----C-----A-T----- 113
ワオキツネザル	-----C-C-----A----- 113

— はヒトと同じ配列を示す。

表 6

ヒトおよび非ヒト霊長類の p 53 遺伝子第 5, 第 6 エクソンのアミノ酸配列の比較

(アミノ酸番号)	126	140	150	160	170	180
ヒト	YSPALNKMFCQLAKTCPVLWVDSTPPPGTRVRAMAIYKQSQHMTEVVRRCPHHERCSDS					
チンパンジー	-----					
ピグミーチンパンジー	-----					
ゴリラ	---T-----					
オランウータン	-----					
フクロテナガザル	-----					
シロテナガザル	-----					
ヒヒ	---D-----				S-----	
ニホンザル	---D-----				S-----	
アカゲザル	---D-----				S-----	
アフリカミドリザル	---D-----				S-----	
リスザル	-----				R-----	
キャプチン	---D-----				R-----	
ワタボウシタマリン	-----				R-----	
ギャラゴ	---V-----		F-----		S-I-----E-	
ワオキツネザル	-----			M-S-I-----		N-----

	190	200	210	224
ヒト	DGLAPPQHILIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVVPYEPPE			
チンパンジー	-----			
ピグミーチンパンジー	-----			
ゴリラ	-----			
オランウータン	-----			
フクロテナガザル	-----			
シロテナガザル	-----			
ヒヒ	-----			S-----
ニホンザル	-----			S-----
アカゲザル	-----			S-----
アフリカミドリザル	-----			S-----
リスザル	-----		H-----	K-----
キャプチン	-----		H-----	K-----
ワタボウシタマリン	-----		H-----	K-----
ギャラゴ	-----		K-----	
ワオキツネザル	E-----	H-----		-----

- はヒトと同じ配列を示す

表 7 霊長類の p53 遺伝子第 7 イントロンの大きさおよび塩基配列

ヒト (343bp)

GTCAGGAGCC ACTTGCCACC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCACCTCT
TACCGATTTC TTCCATACTA CTACCCATCC ACCTCTCATC ACATCCCCGG CGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCAGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAA CCTGTGGCTT CTCCTCCACC TACCTGGAGC TGGAGCTTAG GCTCCAGAAA
GGACAAGGGT GGTGGGAGT AGATGGAGCC TGGTTTTTTA AATGGGACAG GTAGGACCTG ATTCCTTAC TGCTCTTGC
TTCTCTTTTC CTATCCTGAG TAG

チンパンジー (343bp)

GTCAGGAGCC ACTTGCCACC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCACCTCT
TACCGATTTC TTCCATACTA CTACCCATCC ACCTCTCATC ACATCCCCGG TGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCAGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAA CCTGTGGCTT CTCCTCCACC TACCTGGAGC TGGAGCTTAG GCTCCAGAAA
GGACAAGGGT GGTGGGAGT AGATGGAGCC TGGTTTTTTA AACGGGACAG GTAGGACCTG ATTCCTTAC TGCTCTTGC
TTCTCTTTTC CTATCCTGAG TAG

ピグミーチンパンジー (343bp)

GTCAGGAGCC ACTTGCCACC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCACCTCT
TACCGATTTC TTCCATACTA CTACCCATCC ACCTCTCATC ACATCCCCGG TGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCAGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAA CCTGTGGCTT CTCCTCCACC TACCTGGAGC TGGAGCTTAG GCTCCAGAAA
GGACAAGGGT GGTGGGAGT AGATGGAGCC TGGTTTTTTA AACGGGACAG GTAGGACCTG ATTCCTTAC TGCTCTTGC
TTCTCTTTTC CTATCCTGAG TAG

ゴリラ (343bp)

GTCAGGAGCC ACTTGCCACC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCACCTCT
TACCGATTTC TTCCATACTA CTACCCATCC ACCTCTCATC ACATCCCCGG CGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCAGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAA CCTGTGGCTT CTCCTCCACC TACCTGGAGC TGGAGCTTAG GCTCCAGAAA
GGACAAGGGT GGTGGGAGT AGATGGAGCC TGGTTTTTTA AACGGGACAG GTAGGACCTG ATTCCTTAC TGCTCTTGC
TTCTCTTTTC CTATCCTGAG CAG

オランウータン (328bp)

GTCAGGAGCC ACTTGCCACC CTGCACACTG ACCTGCTGTG CCCGAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCACCTCT
TACTGATTTC TTCCATACTA CTACCCATCC ACCTCTCATC ACATCCCCAG TGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCGGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAC CTGTGACTTC TCCTCCACTT ACCTGGAGCT GGAGCTTAGG CTCCAGAAAG
GACAGGGGTA GTTGGGAGTA GATGGAGCCT GGTTTTTGAA ACGGGACAGG TAGGACCTGA TTTCTTACT GTTTC CTGAG
CTATCTAG

フクロテナガザル (342bp)

GTCAGGAGCC ACGTGCCGCC CTGCACACTG GCCTGCTGTA CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCCACCTCT
TACTGATTTT TTCCATACTA CTACCCATCC GCCTCTCATC ACATCCCCAG TGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCGGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAC CTGTGGCTTC TCCTCCACCT ACCTGGAGCT GGAGCTTAGG CTCCAGAAAG
GGCAAGGGTG GTTGGGAGTA GATGGAGCCT GGTTTTTTAA ACAGGACAGG TAGGATCTGA TTTCTTACT GCCTCTTGCT
TCTCTTTTCC TATCCTGAGT AG

シロテナガザル (342bp)

GTCAGGAGCC ACGTGCTGCC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCCACCTCT
TACTGATTTT TTCCATACTA CTACCCATCC ACCTCTCATC ACATCCCCAG TGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCAGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAC CTGTGGCTTC TCCTCCACCT ACCTGGAGCT GGAGCTTAGG CTCCAGAAAG
GGCAAGGGTG GTTGGGAGTA GATGGAGCCT GGTTTTTTAA ACAGGACAGG TAGGACCTGA TTTCTTACT GCCTCTTGCT
TCTCTTTTCC TATCCTGAGT AG

ヒヒ (343bp)

GTCAGGAGCC ACGTGCCGCC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCCACCTCT
TACTGATTTT TCCATACTA CTACCCATCC GCCTCTCATC ACATCCCCAG TGGGGAATCT CCTTACTGTT CCCACTCGGT
TTCTTTTCT CTGGCTTTGG GATCCATTAC CTGTGACTTC TCCTCCACTC TACCTAGAGC TGGAGCTTAG GCTCCAGAAA
GGACAAGGGT GGTGGGAGT AGATGGAGCC TGTTTTTTTA AACGCAACAG GTAGGACGTG ATTCCTTAC TGCTCCTGC
TTCTCTTTC CTATCCTGAG TAG

ニホンザル (342bp)

GTCAGAAGCC ATGTGCCACC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCCACCTCT
TACTGATTTT TACCATACTA CTACCCATCC GCCTCTCATC ACATCCCCAG TGGGGAATCT CCTTACTGTT CCCACTCGGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCCGTTAC CTGTGACTTC TCGTCCACCT ACCTAGAGCT GGAGCTTAGG CTCCAGAAAG
GACAAGGGTG GTTGGGAGTA GATGGAGCCT GTTTTTTTAA ATGGGACAGG TAGGACGTGA TTTCTTACT TCCTCCTGCT
TCTCTTTCC TATCCTGAGT AG

アカゲザル (343bp)

GTCAGGAGCC ACTTGCCACC CTGCACACTG GCCTGCTGTG CCCCAGCCTC TGCTTGCCTC TGACCCCTGG GCCCACCTCT
TACCGATTTT TACCATACTA CTACCCATCC ACCTCTCATC ACATCCCCGG CGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCAGT
TTTCTTTTCT CTGGCTTTGG GACCTCTTAA CCTGTGGCTT CTCCTCCACC TACCTGGAGC TGGAGCTTAG GCTCCAGAAA
GGACAAGGGT GGTGGGAGT AGATGGAGCC TGGTTTTTTA AATGGGACAG GTAGGACCTG ATTCCTTAC TGCTCTTGC
TTCTTTTTT CTATCCTGAG TAG

リスザル (342bp)

GTCGGGAGCC ACATGCTGCC CTGCACGCTG GCCTACTCCT CCCCAGCCTC TGCCTGCCTC TGACCCCTGG ACCCACTTCT
TACTGATTTT TTCCATACTA CTACCCATCC TCTCATCACA TCCCAGAGG GGAATCTCCT TACCGCTCCC GCTCTGTTGG
CTTTTCTCTC ACTTGGGAGA CCTCTCTTAC CTGTGGTTTC TCCTCCACCT ACCTGGAGCT GGAGCTTAGG CTCCAGAAAG
GACAAGGGTG GTTGGGAGTA GATGGAGCCT GGTTTTTTCA ACAGGACAGG TAGGACCTGA TTTCTTAATT GCCTTCTGCT
TCTGTCTTCC TATCCTGAGT AG

チャプチン (344bp)

GTCGGGAGCC ACATGCTGCC CTGCACACTG GCCTACTCCT CCCCAGCCTC TGCCTGCCTC TGACCCCTGG ACCCACTTCT
TACTGATTTT TTCTATACTA CTACCCATCC TCCTTCTATC ACATCCCCAG AGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCACTCTGT
TTGCTTTTCT CTCACTTGGG GACCTCTCTT ACCTGTGGTT TCTCCTCCAC CTACCTGGAG CTGGAGCTTA GGCTCCAGAA
AGGACAAGGG TGGTTGGGAG TAGATGGAGC CTGCTTTTTT CAACAGGACA GGTAGGACCT GATTTCTTTA TTGCCTCCTG
CTTCTCTCTT CCTATCCGGA GTAG

ワタボシタマリン (344bp)

GTCGGGAGCC ACATGCTGCC CTGCACACTG GCCTACTCCT CCCCAGTCTC TGCCTGCCTC TGACCCCTGG ACCCACTTCT
TACTGATTTT TTCCATACTA CTACCCATCC TCCTTCTATC ACATCCCCAG AGGGGAATCT CCTTACTGCT CCCGCTCTGT
TTGCTTTTCT CTCACTTTGG GACCTCTCTT ACCTGTGGTT TCTCCTCCAC CTACCTGGAG CTGGAGCTTA GGCTCCAGAA
AGGACAAGGG TGGTTGGGAG TAGATGGAGC CTGGTTTTTT CAACAGGACA GGTAGGACCT GATTTCTTTA TTGCCTCCTG
CTTCTCTCTT CCTATCCTGA GTAG

ギャラゴ (330bp)

GTAAGGAGCC ACATGCCACC CTTTACACCC CAGCCTCTGC TCATCTCTGC ACCTGCCCAG AGGCTATAACC TCTGGGCCTG
CCCTATACCA CTTCCCTTCA TGCCTCCCC CAACCCACA CAGGACATCT CTCTTGCTCT CTTTTGGTTT TCTTTTCTCT
GGCTTTGGGT TCTGTCTCTT ACCTGTAGCT TCTCTTTTGT CTACCTAGAG CTGGAGCTTA GGATCCAGTT AGGACAAAGG
CAATTGGGTA TAGGTGGGCC TAGATTGTAA AATATGGTAG GTAGAACCCA ATTTCTTAC TGCCTCCTGC TTCTCTCTTA
CGCTTGGTAG

ワオキツネザル (308bp)

GTAGGGAGCC ACAGGCCACC CTTTACACCC CAGCCTCTGT CACCTGGGCC TGCCCCACAC CATTTTCTTC CATACTACCC
CCAATCCCCA CACAGGGCAT CTCCTCTACT GCTGCCTTTC AGTTTTCTTT TCTCTGGCTT TGGGACCTCT CTCTTACCTG
TAGCTTCTCT TCCATATAACC TGGAGCTGGA GCTTAGGCTC CAGCTAGGAC AAGGGCAGTT GGGAGTGGGT GGACCTAGTT
TGAAAAGAG GGCAGGTAGG ACCCAACTTC CTTAATGCTT CCTGCTTCTC CTTCTTACC CTGGGTAG

表 8 霊長類以外の哺乳類の p53 遺伝子第 7 イントロンの大きさおよび塩基配列

ウシ (329bp)

GTAGGGACCA CACACCACCC TCCACTCTAG CTTGCTCCCT AATCTCCGCC TGCCTGTCCC CGGGACCCCG CCCCTCACCA
CATTCTCCCA CACTACCAGC CAGCGTCCC TCTCTCTGCA TTCCCTTTAT GGA CTCTCT GTCCTCCCT CCCTCCTTTC
TCCAGCTTTG GGACCTCTCT TGCTGGGGTC TTCTCAATCT GGAGCTGGCG CTCAGGCTCC CCTTGGGATG GGGGTGGTTG
GGAGTAGGTG GGGCCTGGTT CACAGGAGAA CACAGAGACA GGGTCCCCCT TTCTGATTGC CTCCTGCTTC CCTCTTCCTA
CCCTGGTAG

ウマ (341bp)

GTAGGAACTC AGGTGCCGCC CTCACACTG GCACACTCTT CCCCAGCCTC TGCCTGTCTG TCCCCTGGGC CCTGCCCCC
AGCACTTTCT CCCATGCTCC CACCCGCTGT CCCTCTCACT GTCATCGCTT TGTTAGAATC TCCTCTGCTG CTTCTCCCA
CTTTGCTGTT CTCTGGCTGT GGGACCTGTC TTA CTGGCAG CTCCTCAGTA TGCCTAGAGC TGGA ACTTAG GCTCCACACA
GGATGAGGGT GGTGGGAGT AGATGGGCCT GGCTCACAGG AGAGCAGGGA GCTAGGGCCC ACCTTCCTTA CTGCTCCCG
CTCCCCTTCT TACCTGGGTA G

ヒツジ (326bp)

GTAGGGACCA CACACCACCC TCCACGCTAG CTTCCCTCAC CTCGCTGC CTGTCCCCGC GGCCCCGCC CTCATCACAT
TCTCTCACGC TACCAGCCAT CGTTCCTCT CGCTGCATTC CCTTTGTGGA CTTCTCTGCT GCTCTCTTCC TCCTTTCTCC
GGCTTTGGGA CCTCTCTGCG TGGGGTCTTC TCAATCTGGA GCTGGAGCTC AGGCTCCCCT TGGGATGGAG GTGGTTGGGA
GTAGGTGGGA CCTGGTTCAC AGGAGAACAC AGAGACAGGG TCCCCCTTCC TGATTGCCTC CTGCTTCCCT CTTCTACCC
TGGTAG

ブタ (318bp)

GTAGGGGCG CACGCCGCC TCCACGCTGG CGGGCCCTC CTCAGCCTCT GCCTGTCTCC ATGGCCCTGC CGCTCATCCC
CTTCTCCCG GCTTCCAGCC ATCCTTCCCT CTGGCTGCAG CCACTTTGCG TCCCTCTGCT GTCCTCCCTCC AGTGCCCTTT
TCCCCGGCTT TGGCACCCCT CTTACCTGTG GCTTCTTGAT CAGCTGGAGC TGAGGCTCCT CGTAGGATGC GGGGGATGGG
GAGGGGTGG GGCCCCGCTC ACAGAGCAGG GAGGCCGGC TGGCTTCTCT CACTGCCTCC TACTTCCCC CGGGGTAG

シカ (328bp)

GTAGGGACCA CACACCACCC TCCACGCTAG CTTGCTCCCT AACCTCTGCC TGCCTGTCCC CGGGGCCCTG CCCCTCACCA
CATTCTCCCA CACTACCAGC CATCGTCCC TCTCACTGCA TTCCCTTTGT GGACGTCTC TGCTGCTCCC TCCCTCCTTT
CTCCAGCTTT GGGACCTCTC TTGCCAGGGT CTTCTCAATC TGGAGCTGGA GCTCAGGCTC CCCTTGGGAT GGGGGTGGTT
GGGAGTAGGT GGGCCTGGT TCACAGGAGA ACACAGACAG CGTCCCCCTT TCTGATTGCC TCCTGCTTCC CTCTTCTAC
CCTGGTAG

イヌ (261bp)

GTAGGGACCT GCCTGCCACC CTGCTCCTGG CCACTTCCTT ACTGTACCCC CCTCCATCCT TCCCATCCAT TCCTGTCCCA
ATGTGGAATC TCCTCTGCCA TCCGCCTCCC CTGGTTTTCT TTCCTCTGGC TTTGGGACCT CCCTGACCTG TGGCTTCTCA
ATAGTCTGTA GGCTTTGGCT CTACGTAGGA TGAGGGTGGC TAGGAGTCAG TGGGGCCAC CACCCTCAG GCCCCCTGCT
TCTCTTCT CACCTGGGTA G

ネコ (267bp)

GTAGGGACCC GCACGCCACC CTGCCCCAGG CCACTCTCTC CCGTGCTACC GCCCATCCCG CCTGTGGAAT CCCC GCCTGT
GGAATCTCCT CTGCTGTCCC CCACCCTCCG CCTCCAAGTT TTCTTTTCTC TGGCTTTGGG ACCTTCTCTT ACCCGGCTTC
TCGATACTCC TTAGGCTTTT AGGCTCCACA TAGGATGAAG GAGGTGGGGA GTAAGGGGG CCCCATCTCC CTCACTGCCT
CCAGCTTCTG TCTTCTTACG TGGGTAG

ラット (311bp)

GTAGGAAGCT GTGTGCCAGG TTGGGCTGGC ACCGGTCCTC CCCAGCCTCG GCCTGTTTTT GTTCCATGAG CCCC GCCCCT
ACCACAGGCC CAGCCCTCTT TACCCTACCC TATCTACATA AATGAAGTCT CCTCTGTCC CTGGTGGTCT TAGGGACATC
TCTTATCTGT GGCATCTTGG GTTCCCTATA ACCGGAGCTT CAGCTCCAG TAGGACAAGA GGAGTTGGGA ACAGGTAGGG
CCTGGTTTAC AGTCAGGATG GAGCCCAGCT TTCTTACTGC CTTGTGCTGT GCCTCCTCTT GTCCCGGGTA G

マウス (322bp)

GTAGGAAGGC GCGTGGTAGG TTAGGTTAGC CTGTTTCTTC CCCAGCTTCT GCCTGTTTCT GTTCCACGAG TCCCGCCCC
TACCACATGC CCAACGCTCT TTGGTTCTTA CCCTATCTAC CTAATGAAG TCTCCTCCTC TGTTTCTCT TGGGCTTAGG
GACGTCTCTT ATCTGTGGCT TCTCGGGGTT CCTGTAAGT GACCTTTGGC TGCAGATATG ACAAGAGGGG TTGGGAACAG
GTGGGGGCCT AGTTTACACA CAGTCAGGAT GGGGCCAGC TTTCTTACTG CTTGTGCTG GTCCTTTTCT TGTCGGGAT
AG

モルモット (294bp)

GTCGGCAGCC ATCGTGCTCC TCCTCCCCC TGCCTGTGCC TATCGCTTGG ATCCTGCTCT TTACCACATT ACTGCCATC
CCTAGTCCAC ACACCATGCA AATGAGTGGG CTCTCCTCTG CTGTTACCT CAGTTTCTT CTTTTCTGAC TTTGGGGCCT
TTCGCTCTGC CTGTGGGTGC TCCCTGGTGT CCGTGGAGCT GGAGCTTAGA TACCTCGAAG GACAAGAGCA GCTGGGAGAA
AGTGGGGCAA GTAGGCCTGA CTGCCTCCG TTTCTTCTT CGCTTCTGG CTAG

クジラ (340bp)

GTAGGGACAA CACACGCCC TCCACGCTGG CATGCTCCTC CCTAACCTCC ACCTCTCTGT CCCCTGGGCT CTGCCCTTCA
CCACTTCTT CTGTGCTACC AGCTGTCTT TCCTCACTGC ATCCCCTTAG TAGACTTCTT CTGCTGCTCC CTCCCAGTTC
TCTTTTCTCC AGCTTTGGGA TCTCTTAGC CTGTGGCTTC TCAATCTTCC TGGAGCTGGA CCTTAGGGTC CATGTAGGAT
GGGGTGGTT GGGAGTAGGT GGGCCCTGGT TTACAGGAGA ACAGGGAGGC GGGGCCACC TTCCTTACTG CTTTCTGCTT
CCCTCTTCTT ACCTGGGTAG

表9 哺乳動物以外の動物の p53 遺伝子第7イントロンの大きさおよび塩基配列

ニワトリ (241bp)

GTGGGGCTTC CATTGAAATA TTAGCCGTGA TGAGAGGTAC ACCTGAATTT CAGGTTAAGT GACTCCGAAT CCCATTCCCT
TTGGTCACAT CAGTGTAATG GGAAAGCATT GGGCTCTCGA AGCCCAGTCT TTATTTTACA GCACGGAGCT GCTTGCTGCG
GGTTGTGCCT GGAGCCAGGT GGCCGGCATC TGCTTGGGGT TTGTCACATT ATCCTGTCCT CTGGGGCAGC CTGAGCAGCA
G

サケ (205bp)

GTGAGTGTC TCTAATAATC CATTTTAGAC TGTGCTCCA TTGATTGTTT TTGATTTAGT CTTTCTTCT TCATTTTACT
AATTATAAAA GCATCATTTG ACTGAATTAA AATAGAATTG ACCCCAACCC TGGTCCTGGG TTGACCCCA ACTAATGTCT
TGTCATAGTA TGACAGTGGT GGGAACCTCC TCTCCCGTTC TGCAG

マス (370bp)

GTGAGTGTC TCTAATAATC CATTTTAGAC TGTGCTCCA TTGATTGTCT TTGATTTGTC TTCTCTTTTT CTCATTTTA
CTAATTAATA TAATAATAAT ATATGCCATT TAGCAGACGC TTTTATCCAA AGCGACTTAC AGTCATGTGT GCATACATTC
TACGTATGGG TGGTCCCGGG AATCGAACCC ACTACCCTGG CGTTACAAGC GCCATGCTCT ACCAACTGAG CTACAGAAGG
ACCACAATTA GAAAAGCATC ATTTGACTGA ATTAAAATAG AATTGACCCC AACCCCTGGTC CTGGGTTGAC CCCCAACTAA
TGTCTTGTC TAGTATGACA GTGGTGGGAA CTCCTCTCC CGTTCTGCAG

表 10 日本人集団の p53 遺伝子コドン 72 の多型頻度

遺伝子型	例数(105)	頻度 (%)
CCC(Pro)/ CCC(Pro)	17	16.20
CCC(Pro)/ CGC(Arg)	42	40.00
CGC(Arg)/ CGC(Arg)	46	43.80

アリル頻度 (Pro 0.364 : Arg 0.636)

表 11 世界の異なる集団の p53 遺伝子コドン 72 の多型頻度

Population	CCC	CGC	CCC/CGC	アレル頻度 (%)	
	(Pro)	(Arg)	(Pro/Arg)	Pro	Arg
American	7 (%)	55 (%)	38 (%)	0.260	0.780
English	4	59	36	0.225	0.775
German	6.6	55.7	37.7	0.255	0.745
Polish	3.8	73.1	23.1	0.154	0.846
Italian	5	37	58	0.340	0.660
Czech	11	53.5	35.5	0.288	0.712
Korean	19	40	41	0.395	0.605
Taiwanese	19.7	30.9	49.3	0.445	0.555
Japanese	16.2	40.0	43.8	0.364	0.636
(this study)					

表 12 日本人集団の p53 遺伝子イントロン 7 の多型頻度

イントロン 7 の部位				
72 番目	92 番目	ハプロタイプ	例数(105)	頻度 (%)
C/C	T/T	C-T	60	57.14
T/T	G/G	T-G	8	7.62
C/T	T/G	C-T/T-G	37	35.24

アレル頻度 (C-T型 0.748 : T-G型 0.252)

表 13 世界の異なる集団の p53 遺伝子イントロン 7 の多型頻度

Population	ハプロタイプ型			アレル頻度	
	C-T	T-G	C-T/T-G	C-T	T-G
Finn	90.06 (%)	0.26 (%)	9.68 (%)	0.949	0.051
Swede	85.19	0.59	14.22	0.923	0.077
Hungarian	82.63	0.83	16.54	0.909	0.091
Polish	85.93	0.53	13.54	0.927	0.073
Italian	77.26	1.47	21.27	0.879	0.121
Indian	59.13	5.34	35.53	0.769	0.231
Chinese	45.30	10.69	44.01	0.673	0.327
Japanese	57.14	7.62	35.24	0.748	0.252
(this study)					

図1 UPGMA法による霊長類の分子系統樹

