

THE FREQUENCY IN JAPANESE OF GENETIC VARIANTS OF 22 PROTEINS

日本人における22種の蛋白質の遺伝的変異体とその頻度

II. CARBONIC ANHYDRASE I, CARBONIC ANHYDRASE II,  
LACTATE DEHYDROGENASE, MALATE DEHYDROGENASE,  
NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE, TRIOSE PHOSPHATE ISOMERASE,  
HEMOGLOBIN A, AND HEMOGLOBIN A<sub>2</sub>

NAOKI UEDA, M.D. 上田尚紀

CHIYOKO SATOH, Ph.D. 佐藤千代子

ROBERT J. TANIS, Ph.D.

ROBERT E. FERRELL, Ph.D.

SHINYA KISHIMOTO, M.D. 岸本真也

JAMES V. NEEL, Ph.D., M.D., Sc.D.

HOWARD B. HAMILTON, M.D.

KIMIKO BABA, M.D. 馬場輝実子



RADIATION EFFECTS RESEARCH FOUNDATION  
財団法人 放射線影響研究所

A cooperative Japan - United States Research Organization

日米共同研究機関

## ACKNOWLEDGMENT

### 謝 辞

We are indebted to Dr. Donald L. Rucknagel and Mrs. Floretta Reynolds for the electrophoretic studies shown in Figures 4B and 4C.

著者らは、図4Bおよび図4Cの電気泳動法検査を行っていただいたことに関して Dr. Donald L. Rucknagel および Mrs. Floretta Reynolds に対し感謝の意を表する。

A paper based on this report was published in the following journal:

本報告に基づく論文は下記の雑誌に掲載された。

*Annals of Human Genetics (London) 41:43, 1977*

## RERF TECHNICAL REPORT SERIES

### 放射線影響研究所業績報告書集

The RERF Technical Reports provide the official bilingual statements required to meet the needs of Japanese and American staff members, consultants, and advisory groups. The Technical Report Series is in no way intended to supplant regular journal publication.

放射線影響研究所業績報告書は、日米専門職員、顧問、諮問機関の要求に応えるための日英両語による公式報告記録である。業績報告書は決して通例の誌上発表論文に代わるものではない。

---

*The Radiation Effects Research Foundation (formerly ABCC) was established in April 1975 as a private nonprofit Japanese Foundation, supported equally by the Government of Japan through the Ministry of Health and Welfare, and the Government of the United States through the National Academy of Sciences under contract with the Energy Research and Development Administration.*

放射線影響研究所(元ABCC)は、昭和50年4月1日に公益法人として発足した。その経費は日米両政府の平等分担とし、日本は厚生省の補助金、米国はエネルギー研究開発局との契約に基づく米国学士院の補助金とをもって充てる。


**THE FREQUENCY IN JAPANESE OF GENETIC VARIANTS OF 22 PROTEINS**

日本人における22種の蛋白質の遺伝的変異体とその頻度

**II. CARBONIC ANHYDRASE I, CARBONIC ANHYDRASE II,  
 LACTATE DEHYDROGENASE, MALATE DEHYDROGENASE,  
 NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE, TRIOSE PHOSPHATE ISOMERASE,  
 HEMOGLOBIN A, AND HEMOGLOBIN A<sub>2</sub>**

NAOKI UEDA, M.D. (上田尚紀)<sup>1</sup>; CHIYOKO SATOH, Ph.D. (佐藤千代子)<sup>1</sup>;  
 ROBERT J. TANIS, Ph.D.<sup>2</sup>; ROBERT E. FERRELL, Ph.D.<sup>2</sup>;  
 SHINYA KISHIMOTO, M.D. (岸本真也)<sup>1</sup>; JAMES V. NEEL, Ph.D., M.D., Sc.D.<sup>2</sup>;  
 HOWARD B. HAMILTON, M.D.<sup>1</sup>; KIMIKO BABA, M.D. (馬場輝実子)<sup>1</sup>

*Department of Clinical Laboratories, Radiation Effects Research Foundation<sup>1</sup>*  
*Department of Human Genetics, University of Michigan<sup>2</sup>\**

放射研臨床検査部,<sup>1</sup> および Michigan 大学人類遺伝学教室<sup>2</sup>\*

**SUMMARY**

This paper presents the results of a survey of Japanese for electrophoretic variants of CA I, CA II, LDH, MDH, TPI, NP, HB A, and HB A<sub>2</sub>, the number of determinations per system ranging from 738 to 4029. Four similar variants of CA I (designated CA I<sub>HIR1</sub>), one of LDH (designated LDH<sub>NGS1</sub>), one of MDH (designated MDH<sub>S7HIR1</sub>), two of HB A (one a reascertainment of HB Hijiya, the other not characterized), and one characterized by the absence of HB A<sub>2</sub> ( $\delta$ -thalassemia) were observed and are described. The CA I<sub>HIR1</sub>, LDH<sub>NGS1</sub>, and MDH<sub>S7HIR1</sub> variants have not been previously observed in Japan. No electrophoretic variants were found in the TPI and NP systems.

**INTRODUCTION**

The present paper will describe the electrophoretic variants encountered in Japanese adults from Hiroshima and Nagasaki with respect to the following erythrocyte enzymes and hemoglobins: carbonic anhydrase I (CA I, EC 4.2.1.1), carbonic anhydrase II (CA II, EC 4.2.1.1),

**要約**

本報では日本人におけるCA I, CA II, LDH, MDH, TPI, NP, HB A と HB A<sub>2</sub>の電気泳動上の変異体について実施した調査の結果を報告した。1種当たりの検査数は738例から4029例であった。この検査でCA Iによく似た変異体を4例(CA I<sub>HIR1</sub>と命名), LDHの変異体1例(LDH<sub>NGS1</sub>と命名), MDHの変異体1例(MDH<sub>S7HIR1</sub>と命名), HB Aの変異体2例(HB Hijiyaを再確認した1例と鑑別不能の1例), HB A<sub>2</sub>の欠如を特徴とするもの( $\delta$ -サラセミア)1例を認めこれを記述した。CA I<sub>HIR1</sub>, LDH<sub>NGS1</sub>およびMDH<sub>S7HIR1</sub>と命名された変異体は日本ではいまだ観察されていない。TPIおよびNPには、電気泳動上の変異体は認められなかった。

**緒言**

本報では、広島および長崎の日本人成人を対象者とする研究において、以下に述べる赤血球酵素およびヘモグロビン中に発見された電気泳動上の変異体について報告する。赤血球酵素は、carbonic anhydrase I (CA I, EC 4.2.1.1), carbonic anhydrase II (CA II, EC 4.2.1.1), lactate dehydrogenase

\*Financial support derived from Contract E(11-1)-1552, Energy Research and Development Administration, Washington, D.C.

Washington, D.C. のエネルギー研究開発庁との契約E(11-1)-1552号に基づく支援研究費による。

lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27), malate dehydrogenase (MDH<sub>S</sub>, EC 1.1.1.37), nucleoside phosphorylase (NP, EC 2.4.2.1), triose phosphate isomerase (TPI, EC 5.3.1.1), hemoglobin A (HB A), and hemoglobin A<sub>2</sub> (HB A<sub>2</sub>). The circumstance under which the collections were made and the nature of the population were described in the first paper of the series.<sup>1</sup> As before, the convention in naming variants which do not clearly correspond to known types will be by city and order of discovery, abbreviating Hiroshima as HIR and Nagasaki as NGS.

## MATERIALS AND METHODS

In the preparation of hemolysates for electrophoresis, blood obtained by venipuncture was collected in a sterilized tube containing ammonium-potassium oxalate as an anticoagulant. The cells were separated from the plasma by centrifugation and washed three times with 0.85% NaCl. After the final wash an equal volume of distilled water was added to the packed cells and the mixture agitated. A half-volume of toluene was then added and after agitation for 1 minute the mixture was again centrifuged for 20 minutes at 2500 X g. The toluene layer was discarded and the solution centrifuged for 20 minutes at 30,000 X g to remove cellular debris, after which the supernatant hemolysate was carefully collected. In addition aliquots of washed packed red cells were stored at -70°C and in liquid nitrogen, and processed as described above when needed.

Vertical starch gel electrophoresis was performed using the method of Smithies,<sup>2</sup> employing the conditions developed by Tashian<sup>3</sup> for CA I and CA II, Fildes & Harris<sup>4</sup> for LDH and MDH<sub>S</sub>, Smithies<sup>2</sup> for HB A and A<sub>2</sub>, Edwards et al<sup>5</sup> for NP, and Shaw & Prasad<sup>6</sup> for TPI, respectively. Electrophoresis was carried out at 4°C ± 0.5°C except for NP which was run at room temperature. CA I and CA II were concentrated prior to electrophoresis by the chloroform-ethanol extraction method.<sup>7</sup> After electrophoresis the gel was sliced and one-half stained with Amido Black 10B and the other with α-naphthyl acetate. MDH<sub>S</sub>, NP, and TPI were stained and typed according to the methods of Leakey et al,<sup>8</sup> Edwards et al,<sup>5</sup> and Peters et al,<sup>9</sup> respectively. Lactate dehydrogenase was detected by the method of Davidson et al.<sup>10</sup> Hemoglobin was stained for protein with Amido Black 10B,

(LDH, EC 1.1.1.27), malate dehydrogenase (MDH<sub>S</sub>, EC 1.1.1.37), nucleoside phosphorylase (NP, EC 2.4.2.1), triose phosphate isomerase (TPI, EC 5.3.1.1)であり、ヘモグロビンは、hemoglobin A (HB A)とhemoglobin A<sub>2</sub> (HB A<sub>2</sub>)である。検体の収集方法および対象集団の特徴については、この一連の報告書の第1報<sup>1</sup>に記述した。既知の型と明確には一致しない変異体を命名する場合には、第1報で用いたと同様な規定に従って、都市名(HiroshimaをHIR, NagasakiをNGSと略す)と発見の順位をつけて記載することにした。

## 材料および方法

電気泳動法検査に用いる溶血液は次の方法で調製した。抗凝固剤としてシユウ酸アンモニウム・シユウ酸カリウム混合物を入れた滅菌試験管に、静脈穿刺によって採取した血液を集めた。血球は遠心分離法によって血漿から分離し、0.85%食塩水で3回洗浄した。最後の洗浄後、血球と同容積の蒸留水を加え、攪拌した。次にその2分の1の容積のトルエンを加え、1分間攪拌し、次いで2500×gで、20分間遠心分離した。トルエン層を除いた後、30,000×gで、20分間遠心分離し細胞残屑を除去し、上澄みの溶血液を注意深く集めた。洗浄した赤血球の一部は-70°Cに、他の一部は液体窒素中に貯え、必要に応じ上述の方法で処理した。

垂直澱粉ゲル電気泳動はSmithies<sup>2</sup>の方法に従って行った。その際CA IおよびCA IIについてはTashian<sup>3</sup>が、LDHおよびMDH<sub>S</sub>については、FildesとHarris<sup>4</sup>が、HB AおよびHB A<sub>2</sub>についてはSmithies<sup>2</sup>が、NPについてはEdwardsら<sup>5</sup>が、またTPIについてはShawとPrasad<sup>6</sup>がそれぞれ開発した条件を用いた。電気泳動は、4°C ± 0.5°Cで実施したが、NPについては室温で行った。CA IとCA IIは電気泳動を行う前にクロロホルム-エタノール抽出法<sup>7</sup>によって濃縮し、電気泳動後、ゲルを薄層に切断し、1枚はアミドブラック10Bで、残りの1枚は、α-ナフチルアセテートで染色した。MDH<sub>S</sub>、NPおよびTPIは、各々Leakeyら<sup>8</sup>、Edwardsら<sup>5</sup>およびPetersら<sup>9</sup>の方法によって染色し型の決定を行った。LDHは、Davidsonら<sup>10</sup>の方法によって検出した。ヘモグロビンはアミドブラック10Bで蛋白質として

and for peroxidase activity with o-dianisidine. LDH and MDH<sub>S</sub> were typed from slices of the same gel, as were TPI, PGM<sub>1</sub>, and PGM<sub>2</sub> (Sato et al<sup>11</sup>). Throughout the course of this study the biochemicals and reagents used in the buffers and stain solutions were obtained from the Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo., USA) except for xanthine oxidase and nucleoside phosphorylase which were obtained from the Boehringer Mannheim Corp. (New York, N.Y., USA).

In any study of this nature, there will be a few isozyme patterns which for a variety of reasons, even with repeated runs, will not yield patterns which can be typed with confidence. We omit these from the figures for 'number typed', recognizing that this group has a disproportionately high probability of containing poorly resolved variants.

## RESULTS

### Lactate Dehydrogenase

Only one electrophoretic variant of LDH was encountered among 4028 determinations (2652 in Hiroshima and 1376 in Nagasaki). This variant was designated as LDH<sub>NGS 1</sub> according to our practice of designating variants by the city and order of discovery; the pattern is shown in Figure 1A. In the variant phenotype the LDH 1 band exhibited a faster mobility and appeared slightly broader than normal. The LDH 2, 3, and 4 regions each had components moving faster than normal. The LDH 2 region had four bands close together; the slowest band appeared to exhibit the same mobility as normal. In the LDH 3 position, three components were detected, the first two faster than normal; the middle band showed a significantly greater intensity of staining than the other two bands. The LDH 4 region of this variant consisted of two bands with almost equal intensity of staining, one in the normal position, the other moving slightly toward the anode. These findings indicate the variant involves the B subunit, and the shifts in migration of the extra bands are consistent with an increase in the net negative charge of the variant molecules. A family study was carried out; the same variant pattern was observed in a daughter of the propositus (Figure 1A, Table 1). Thus far only one other LDH variant has been reported in Japan, a slow-moving type involving the B subunit.<sup>12</sup> Our variant clearly differs from their variant.

の染色を行い、ペルオキシダーゼ活性をo-ジアニシジンで染色した。LDHとMDH<sub>S</sub>はTPI、PGM<sub>1</sub>、PGM<sub>2</sub>の3酵素系の場合(Satoら<sup>11</sup>)に準じて1枚のゲルを薄層に切断して2枚のスライスを作り、各々型の決定を行った。本研究において、緩衝液や染色液に使用した生化学製品および試薬は、Sigma Chemical Co. (米国 Missouri州 St. Louis市)から入手した。ただし、xanthine oxidaseと nucleoside phosphorylaseは、Boehringer Mannheim Corp. (米国 New York州 New York市)から入手した。

この種の調査においては、再検査を行ってもいろいろな理由で確信をもって型の決定ができないようなアイソザイムパターンを得ることがある。こういうパターンを示すものには移動度の差を明確にすることのできなかった変異体が含まれる可能性が非常に高いので、「型の決定された検体数」の中には含めなかった。

## 結果

### Lactate dehydrogenase

4028例(広島2652例, 長崎1376例)を検査して, LDHの電気泳動上の変異体をただ1例認めた。都市別, 発見順位別に変異体を命名するという我々の慣習に従ってこの変異体をLDH<sub>NGS 1</sub>と命名し, そのパターンを図1Aに示した。この変異体の表現型を見ると, LDH 1のバンドは, 正常のものより移動度が速く, かつわずかに幅広く見えた。LDH 2, 3, 4 アイソザイムでは, いずれの場合にも正常よりも速く移動するバンドが認められた。LDH 2は互いに近接する4本のバンドからなり, 最も遅いバンドが正常と同じ移動度を示していた。LDH 3では, 3本のバンドが認められ, そのうちの2本は正常の位置よりも速く移動し, 中央のバンドは他の2本よりも強く濃く染色された。この変異体のLDH 4は, ほとんど同じ濃度に染色された2本のバンドからなり, その1本の位置は正常で他の1本はわずかに陽極寄りに動いていた。これらの所見は, 変異がLDHを構成する蛋白質のうち, Bサブユニットに生じていることを示し, さらに正常バンド以外のバンドがより陽極側に移動していることは変異蛋白質分子全体として, 負の荷電が増加していることを示している。家族調査を実施したところ, 発端者の娘ひとりに同じ変異体パターンが観察された(図1A, 表1)。現在までのところ日本では, LDHの変異体は他に1例のみ報告されている。これはBサブユニットの移動度が遅い変異体である。<sup>12</sup> 我々の発見した変異体は, 明らかにこれと

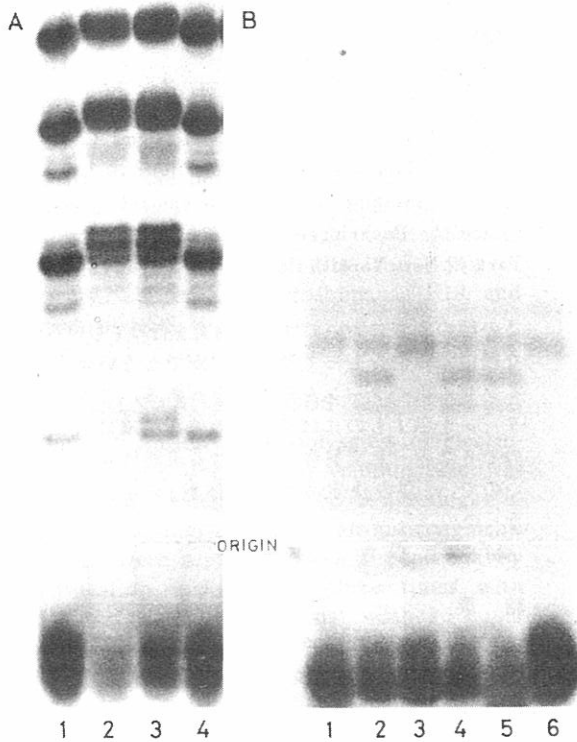


Figure 1. A. Starch gel electrophoresis patterns of the lactate dehydrogenase variant. Wells 1 & 4, normal LDH; well 2, proband LDH<sub>NGS 1</sub>; well 3, daughter of proband (LDH<sub>NGS 1</sub>). B. Starch gel electrophoresis of malate dehydrogenase variant observed in this study. Wells 1 & 6, normal MDH<sub>S</sub>; well 2, MDH<sub>S 1-7HIR 1</sub> (proband); well 3, the second daughter of proband; well 4, the first daughter of proband; well 5, younger brother of proband.

図1A. LDH変異体の澱粉ゲル電気泳動像。試料溝1, 4, 正常LDH; 試料溝2, 発端者LDH<sub>NGS 1</sub>; 試料溝3, 発端者の娘(LDH<sub>NGS 1</sub>)。B. 本調査で観察されたMDH変異体の澱粉ゲル電気泳動像。試料溝1, 6, 正常MDH<sub>S</sub>; 試料溝2, MDH<sub>S 1-7HIR 1</sub>(発端者); 試料溝3, 発端者の次女; 試料溝4, 発端者の長女; 試料溝5, 発端者の弟。

TABLE 1. SUMMARY OF THE FAMILY STUDIES FOR THE RARE ELECTROPHORETIC VARIANTS OF CA I, LDH, MDH<sub>S</sub>, HB A, AND HB A<sub>2</sub>

表1 CA I, LDH, MDH<sub>S</sub>, HB A およびHB A<sub>2</sub>の稀有な電気泳動上の変異体に関する家族調査の要約

System	Variant	City	Proband MF No.	Sex	Family Studies			
					Mother	Father	Sibs	Children
Carbonic Anhydrase	CA I <sub>HIR 1</sub>	H	215321	F	-	-	-	*○○
	CA I <sub>HIR 1</sub>	H	326310	F	-	-	○	*□
	CA I <sub>HIR 1</sub>	H	333701	F	-	-	*●○○●●	-
	CA I <sub>HIR 1</sub>	H	352003	M	-	-	-	*□○
Lactate Dehydrogenase	NGS 1	N	001422	M	-	-	-	*●
Malate Dehydrogenase	2 <sub>HIR 1</sub>	H	214549	F	-	-	-	*○●
Hemoglobin A <sup>†</sup>	Hijiyama	H	243765	F	-	-	-	-
Hemoglobin A <sub>2</sub> (F)	δ-thalassemia	N	037528	F	-	-	-	*●■

<sup>†</sup>Reascertainment of a variant reported by Miyaji et al.<sup>24</sup> (family studies positive)

\*First family member tested. ○ - no variant, ● - variant.

LDH<sub>NGS 1</sub> appears to be the first example of a fast-moving variant of the B subunit detected in Mongoloids.

### Malate Dehydrogenase

A single MDH<sub>S</sub> variant was observed, in a Hiroshima resident, among 4029 individuals (2653 from Hiroshima and 1376 from Nagasaki). The zymogram of the common type of malate dehydrogenase has three components, one broad main band and two additional weakly stained bands, the latter two nearer to the anode than the main band. The variant MDH<sub>S</sub> found in this study consists of three distinct bands, one of which corresponds to the normal major band and the other two of which migrate slightly cathodal to the normal major band. The middle band shows the greatest staining intensity.

We are indebted to Dr. N. M. Blake\* for a comparison of this variant with several at his disposal; he reports as follows: "... your variant is not as slow as the reference sMDH but in fact has the same band spacing as a variant we have found in Chinese from Singapore and which we propose to call sMDH 7-1. However, there is a difference in the relative activities of the three bands between your variant and our sMDH 7-1. In yours, the slowest band is very weak compared to the other two which are of approximately equal intensity." Since the weakness of our slowest band is reproducible, we propose to designate the phenotype as 1-7<sup>HIR</sup> 1. In a limited family study, the same type of variant was detected in a daughter and a brother of the proposita (Figure 1B and Table 1). Although Shinoda & Matsunaga<sup>13</sup> have screened for MDH<sub>S</sub> variants in Central Japan and Omoto & Harada<sup>14</sup> in the Ainu from Hokkaido, no previous MDH<sub>S</sub> variants have been reported in Japan.

The first genetic variant of MDH<sub>S</sub> was reported by Davidson & Cortner<sup>15</sup> in a single Negro woman among a sample of 1440 North American Whites and 1479 North American Negroes in Buffalo. Leakey et al<sup>8</sup> have summarized the investigation of more than 9000 people from many populations. Their work showed that Davidson's Buffalo variant migrates to the same position as a variant which they designated 2 (observed in 3 persons during a survey of 298 Ethiopians).

は異なる。LDH<sub>NGS 1</sub>は黄色人種に検出された移動の速い変異体の最初の例と考えられる。

### Malate dehydrogenase

4029名(広島2653名, 長崎1376名)のうち, 広島の住民に一つのMDH<sub>S</sub>変異体が観察された。Malate dehydrogenaseの正常型のザイモグラムには三つの成分がある。すなわち1本の幅広い主バンドと2本の染色度の弱いバンドで, 後二者は主バンドより陽極側にある。本調査で発見された変異体MDH<sub>S</sub>は, 三つのはっきりしたバンドから成り, その1本は正常な主バンドに相当し, 他の2本はそれよりも陰極側に移動している。中央バンドが最も強く染色されていた。

Dr. N. M. Blake\*の申し出に従って, その研究室でこの変異体と他の変異体との比較を行ってもらったことを我々は感謝しているが, その報告は次のようなものであった。「この変異体は比較に用いた変異体sMDHほどは遅くはないが, 我々がシンガポールの中国人に発見し, sMDH 7-1と呼ぶことを提案している変異体と実際に同じバンド間隔を示している。しかしながら, 貴方の変異体と我々のsMDH 7-1とは三つのバンドの相対的活性に差があります。貴方の変異体では, 最も遅いバンドが, ほぼ同等の強さをもつ他の二つと比較して非常に弱いことです。」我々の変異体の最も遅いバンドは何度泳動を行っても常に弱い活性を示すので, 我々はその表現型を1-7<sup>HIR</sup> 1と命名することを提案する。限られた範囲で家族調査を行ったところ発端者の娘1人と兄弟の1人に同種の変異体が検出された(図1Bおよび表1)。MDH<sub>S</sub>変異体に関してはShinodaとMatsunaga<sup>13</sup>は中部日本において, OmotoとHarada<sup>14</sup>は北海道のアイヌ族において調査したが, 日本ではこれまでにMDH<sub>S</sub>変異体の報告例はない。

Buffaloにおける北米白人1440人と北米黒人1479人を対象に研究したDavidsonとCortner<sup>15</sup>は, 1人の黒人婦人にMDH<sub>S</sub>の最初の遺伝的変異体を発見し報告した。Leakeyら<sup>8</sup>は種々の集団に属する9000人以上の人々の調査結果を集約した。これによれば, Davidsonが報告したBuffalo変異体はLeakeyらが2と命名した変異体(エチオピア人298名中3人に発見したもの)と移動度が同一であった。

\*Department of Human Biology, John Curtin School of Medical Research, Canberra, Australia.

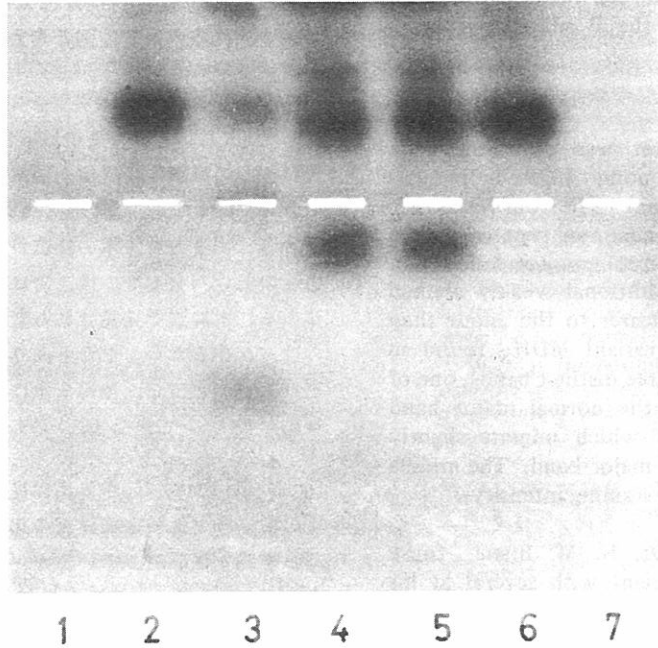


Figure 2. Starch gel electrophoresis comparison of the Japanese carbonic anhydrase variants with CA I<sub>f</sub> London. Wells 2 & 6, normal CA I; well 3, CA I<sub>f</sub> London; well 4, CA I<sub>HIR 1</sub>; well 5, CA I<sub>HIR 1</sub>.

図2. 日本人のCA変異体とCA I<sub>f</sub> Londonとの澱粉ゲル電気泳動法による比較. 試料溝2, 6, 正常CA I; 試料溝3, CA I<sub>f</sub> London; 試料溝4, CA I<sub>HIR 1</sub>; 試料溝5, CA I<sub>HIR 1</sub>.

### Carbonic Anhydrase I

Four variants of CA I were observed in Hiroshima residents in a survey of 3969 persons (2604 from Hiroshima and 1365 from Nagasaki). In addition, there were 3 untypable specimens. The first two variants to be encountered were electrophoretically identical and have been briefly described under the designation of CA I<sub>h</sub> Hiroshima.<sup>16</sup> Figure 2 illustrates a comparison of the two additional examples of the variant, now termed CA I<sub>HIR 1</sub> with normal and CA I<sub>f</sub> London.<sup>17</sup> All the Japanese variants appear to have the same electrophoretic mobility, migrating in this system close to the position of CA II. Family study has confirmed the genetic nature of the variant in one case (Table 1). CA I<sub>HIR 1</sub> moved significantly slower than CA I<sub>London</sub>, as shown in Figure 2. In another comparison CA I<sub>HIR 1</sub> migrated slightly slower than CA I<sub>Michigan</sub>.<sup>16</sup> CA I<sub>HIR 1</sub> appears identical in mobility to the CA I<sub>Guam</sub> first described in a Micronesian in Guam<sup>18</sup> although a direct comparison could not be carried out because the

### Carbonic anhydrase I

3969名(広島2604名, 長崎1365名)の検査によって広島の居住者4人に, CA Iの変異体が観察された. この外に型の決定できない検体が3例あった. 最初の2人に認められた変異体は, 電気泳動的には同一であって, CA I<sub>h</sub> Hiroshimaと命名されて, 小論文が既に発表されている.<sup>16</sup> 図2は, その後に発見されたCAの変異体と正常型, CA I<sub>f</sub> London<sup>17</sup>と呼ばれる変異型とを比較したものであるが, CA I<sub>h</sub> Hiroshimaは今では命名の規約に従ってCA I<sub>HIR 1</sub>と称される. 今回, 日本人に発見されたこの変異体はいずれも電気泳動的には同じ移動度を示し, この緩衝液を用いた場合はCA IIの位置の近くに移動している. 家族調査において変異体1例が遺伝的なものであることを確認した(表1). CA I<sub>HIR 1</sub>は, 図2に示すようにCA I<sub>London</sub>よりも有意に遅く移動した. この外に比較を行った例では,<sup>16</sup> CA I<sub>HIR 1</sub>がCA I<sub>Michigan</sub>よりもわずかに遅く移動した. CA I<sub>HIR 1</sub>は, Guamのミクロネシア人に最初発見されたCA I<sub>Guam</sub><sup>18</sup>と移動度が同一のようであったが, CA I<sub>Guam</sub>のサンプルが



original sample of CA I<sub>Guam</sub> has been exhausted. Variants with very similar mobility have been described in Filipinos<sup>19</sup> and Indonesians.<sup>20</sup> The reader is referred to a comprehensive review by Tashian & Carter<sup>7</sup> for details regarding the relative electrophoretic mobility of several of the rare carbonic anhydrase I variants.

It is noteworthy that no variants have been found among the Nagasaki residents. This contrast between the two cities is heightened by the findings of a small pilot study on the children of atomic bomb survivors and controls, concerned with the measurement of mutation rates at the protein level. Thus far 884 persons have been examined in Hiroshima and 658 in Nagasaki. There are three additional cases of CA I<sub>HIR 1</sub> in the Hiroshima samples and none in Nagasaki. Family studies have revealed an affected parent in two of the three cases; in the other instance it was not possible to examine both parents. The fact that the variant was shown to be inherited where suitable studies could be carried out of course eliminates the possibility of radiation-induced mutation. Genealogies covering at least the proximal three generations have been constructed for all seven of these propositi. No ancestor common to any two families has been detected. Suyama & Umeda<sup>21</sup> have also examined 2034 Nagasaki individuals without finding any electrophoretic variants of CA I. There are no other reports from Japan. As will be discussed later in this series (Neel et al<sup>22</sup>), this appears to be the type of variant which should be useful in reconstructing population movements within Japan. Because of the similar electrophoretic behavior between CA I<sub>HIR 1</sub> and CA I<sub>c Guam</sub> additional biochemical characterization has been undertaken.

CA I<sub>HIR 1</sub> was subjected to tryptic digestion and fingerprinting with the finding, to be reported in detail elsewhere,<sup>23</sup> of an additional peptide fragment. Inspection of the amino acid sequence of normal CA suggests a Trp-Arg substitution at position 16 in CA I<sub>HIR 1</sub>. Thus, despite the electrophoretic similarity, this is a different variant from CA I<sub>c Guam</sub>. The latter results from a Gly-Arg change at position 252.<sup>18</sup> It will be of interest to determine whether the variants encountered in Indonesians and Filipinos correspond to the Guam or to the Hiroshima variant or if they result from yet a different substitution.

既に使い尽くされていたので直接比較することはできなかった。フィリピン人<sup>19</sup>やインドネシア人<sup>20</sup>中にも移動度の非常によく似た変異体が報告されている。CA Iのまれな変異体の数種について、それらの相対的な移動度の詳細なデータがTashianとCarter<sup>7</sup>の総説にあるので参照されたい。

長崎の居住者に変異体が検出されなかったことは注目に値する。蛋白質レベルにおける突然変異率の測定をするために行われた被爆者とその対照者の子供らに対する小規模な試験調査の結果はこの広島・長崎両市間の相違を、さらに強調することになった。すなわち今日まで広島では884名、長崎では658名を検査したのであるが、広島では、CA I<sub>HIR 1</sub>をさらに3例発見し、長崎では1例も発見されなかった。家族調査の結果その3例中2例の親に変異体を検出し、他の1例については両親を検査することができなかった。このように適切な家族調査が行われ、遺伝的な変異体であることが確認されたので、放射線によって誘発された突然変異である可能性が除去された。これら7人の発端者全員の少なくとも3世代にわたる系図を作成したが、いずれの二つの家系にも共通の祖先は発見されなかった。須山および梅田は、<sup>21</sup>長崎住民の2034名を調べたが、CA Iの電気泳動上の変異体を認めなかった。CA Iについては日本ではこの外に報告はない。この一連の報告書において別に報告するように(Neelら<sup>22</sup>)、CA Iの変異体は日本国内での人口の流れを推定する上に役立つようなタイプの変異体であると考えられる。CA I<sub>HIR 1</sub>とCA I<sub>c Guam</sub>は電気泳動的には類似しているので、生化学的特性的究明をさらに行った。

CA I<sub>HIR 1</sub>をトリプシン消化して、そのフィンガープリントを見ると、新しい1個のペプチドの断片が観察された。この実験の詳細については別に報告する。<sup>23</sup> 正常なCAのアミノ酸の配列順序から考えると、CA I<sub>HIR 1</sub>の16番目のTrpがArgに置換されていることが示唆される。したがって電気泳動上では類似しているが、CA I<sub>HIR 1</sub>は、CA I<sub>c Guam</sub>とは異なる変異体である。後者は252番目のGlyがArgに置換された変異体<sup>18</sup>である。インドネシア人やフィリピン人に発見された変異体がGuam型の変異体であるか、広島型の変異体であるか、それともまた他の異なった置換の結果によってもたらされたものか否かを決定することは興味深いことである。

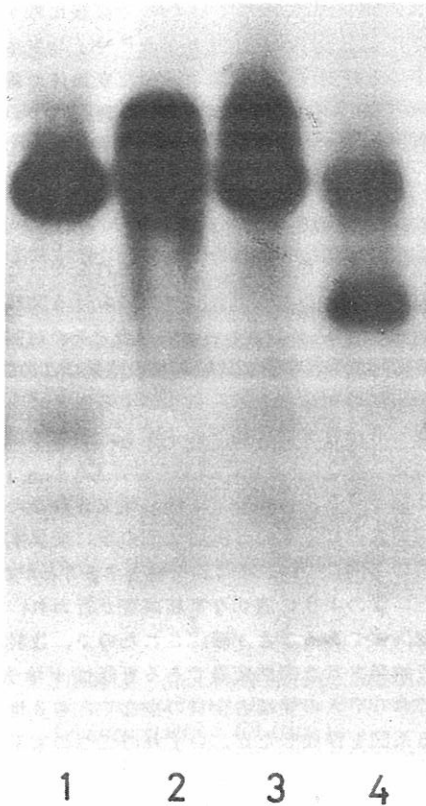


Figure 3. Starch gel electrophoresis of the HB A variant found in this survey. Well 1, normal HB A; well 2, HB Hiroshima; well 3, HB A variant; well 4, HB AS.

図3. 本調査で検出したHB A変異体の澱粉ゲル電気泳動像。試料溝1, 正常HB A; 試料溝2, HB Hiroshima; 試料溝3, HB A変異体; 試料溝4, HB AS.

### Carbonic Anhydrase II

No variants of CA II were encountered in a total of 3969 samples (2604 from Hiroshima and 1365 from Nagasaki). There are no other studies of CA II variants in Japanese.

### Hemoglobin A

We have encountered two variants of HB A, both in Hiroshima residents, among the 4029 Japanese surveyed (2653 from Hiroshima and 1376 from Nagasaki). One variant had been observed in an earlier survey and designated HB Hijiya ( $\beta^{120} \text{Lys} \rightarrow \text{Glu}$ ) by Miyaji et al.<sup>24</sup> They found the variant in one relative of the propositus. The propositus was reascertained during the course of this study.

The other hemoglobin variant had a mobility slightly faster than HB A, migrating anodally between the position of A and the J variants. An electrophoretic comparison of this variant with HB AS and Hiroshima ( $\beta^{146} \text{His} \rightarrow \text{Asp}$ ), which was also found in the Hiroshima area,<sup>25,26</sup> is shown in Figure 3. Our variant shows

### Carbonic anhydrase II

検体総数3969(広島2604, 長崎1365)において, CA IIの変異体は発見できなかった。CA IIの変異体を日本人で調べた例はほかにない。

### Hemoglobin A

検査した4029名の日本人(広島2653名, 長崎1376名)のうち, 広島の住民にHB Aの二つの変異体を認めた。このうちの一つはMiyajiら<sup>24</sup>の以前の調査で観察され, HB Hijiya ( $\beta^{120} \text{Lys} \rightarrow \text{Glu}$ )と命名されたものであった。その際の家族調査において発端者の親族の1人にも同じ変異体が検出された。本調査においてもこの発端者を再確認した。

他のヘモグロビン変異体は, HB Aよりも移動度が速く, AとJ変異体との間を陽極側に移動していた。この変異体とHB ASと同じく広島地区で発見された<sup>25,26</sup> HB Hiroshima ( $\beta^{146} \text{His} \rightarrow \text{Asp}$ )との電気泳動法による比較を, 図3に示した。我々の変異体は, HB

essentially the same mobility as HB Hiroshima, but is much slower than HB AS. The appropriate genealogy failed to reveal any genetic relationship between our propositus and the family in which HB Hiroshima was found. Unfortunately, further studies were impossible since the individual and his family moved out of the city shortly after ascertainment. The question of whether this is a further ascertainment of HB Hiroshima or whether this is a different variant must thus be left open. From the results of this survey, the phenotype frequency of variants of HB A is 0.050% in the Hiroshima and Nagasaki residents. Iuchi<sup>27</sup> has summarized the results of the extensive screening for abnormal hemoglobins carried out in Japan: 35 variants have been found in 279,680 examinations (0.015%), and detailed biochemical studies have shown 26 different amino acid substitutions among these 35 variants.

#### Hemoglobin A<sub>2</sub>

Although no electrophoretic variants of HB A<sub>2</sub> were observed, one Nagasaki resident, among 4029 individuals (2653 from Hiroshima and 1376 from Nagasaki), was observed upon electrophoresis (pH 8.6) to lack A<sub>2</sub>, apparently completely. This woman exhibited an increased component in the position of hemoglobin F. Only two relatives were available for study, a daughter and a son; both exhibited a decreased amount of A<sub>2</sub> and a lesser increase in the component migrating as F. These results, including a comparison with a normal, are shown in Figure 4A. There were no significant hematological abnormalities in the proposita at the time the specimen was obtained (RBC, 5,020,000/mm<sup>3</sup>; Hgb, 14.9 g/100ml; Ht, 44.0%; MCV, 87.7 microns<sup>3</sup>; MCHC, 33.9%; MCH, 29.7 micrograms; and blood film appeared normal). A second hematological examination yielded essentially similar results. No consanguinity of the parents of the proposita has been established.

Additional hematological studies of the proposita gave a fetal hemoglobin level, by alkaline denaturation, of 7.8%. Figure 4B illustrates a comparison of the propositus with a subject with hereditary persistence of fetal hemoglobin (electrophoresis carried out in EDTA-borate buffer, pH 8.6, on cellulose acetate, staining with Ponceau S). The component in the position of F in the proposita comprises 7.5% of the total. Note again the absence of A<sub>2</sub>. The

Hiroshima と本質的に同じ移動度を示しているが、HB AS よりはその移動度は著しく遅い。家系を調べたが、我々の発端者と HB Hiroshima が見出された家族との間に、遺伝的な関係を認めることはできなかった。変異体の発見後間もなく本人およびその家族が転出したので、追究は果たし得なかった。これが HB Hiroshima の再確認か、全く異なった変異体であるかどうかという問題は、したがって、未解決のまま残されている。この調査の結果から、HB A の変異体の表現型頻度は、広島・長崎の居住者で 0.050% である。井内<sup>27</sup> は、日本で実施された異常ヘモグロビンに関する広範囲な調査結果を集約した。これによると、279,680 検体のうち変異体 35 例が検出され (0.015%)、詳細な生化学検査の結果、これらの変異体 35 例中、26 例では各々異なったアミノ酸の置換が生じていることを示した。

#### Hemoglobin A<sub>2</sub>

HB A<sub>2</sub> の電気泳動上の変異体は認められなかったが、被検者 4029 名 (広島 2653 名、長崎 1376 名) のうち、長崎の居住者 1 名に電気泳動法検査 (pH 8.6) で A<sub>2</sub> が全く欠如している例が観察された。この婦人では、ヘモグロビン F の位置のバンドが強く認められた。家族調査を行えたのは、娘と息子各 1 名であって、両者とも A<sub>2</sub> 量は減少し、F の位置のバンドは増大しているが、母親に比べると少なかった。これらの結果は、正常例を含めて、図 4A に示した。採血の時点では、発端者に血液学的な異常は認められなかった (赤血球数 5,020,000/mm<sup>3</sup>; ヘモグロビン 14.9 g/100 ml; ヘマトクリット 44.0%; 平均血球容量 87.7 μ<sup>3</sup>; 平均血球色素濃度 33.9%; 平均血球色素量 29.7 μg; 血液フィルム像正常)。第 2 回の血液検査でも本質的に同じ結果が見られた。発端者の両親には血族性はなかった。

発端者についてさらに血液学的検査を行ったところ、胎児ヘモグロビン値は、アルカリ変性試験において 7.8% を示した。図 4B は、遺伝性の胎児ヘモグロビン持続症例と発端者との比較を示した。(電気泳動法検査は、EDTA-ホウ酸ソーダ緩衝液, pH 8.6, セルロースアセテートを用いて実施し、ボンソー S で染色した。) 発端者の F バンドの位置にある成分は、全体の 7.5% である。A<sub>2</sub> の欠如に注目したい。図 4C

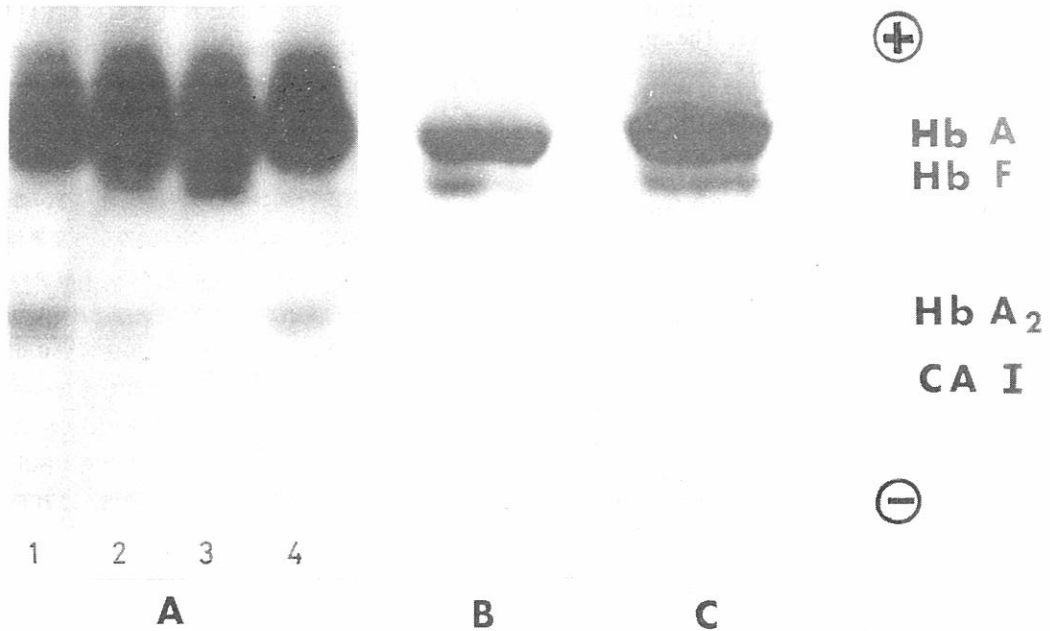


Figure 4. Electrophoretic characterization of the combination of absent HB A<sub>2</sub> - high hemoglobin F. A. A comparison by starch gel electrophoresis of the proposita, her daughter, & two normal individuals. Wells 1 & 4, normal; well 3, the proposita; well 2, daughter of proposita. Note diminished A<sub>2</sub> and slight increase F in the daughter. B. Electrophoresis of specimen from propositus on cellulose acetate, pH 8.6, benzidine stain. Note absence of A<sub>2</sub>. C. Electrophoretic comparison (cellulose acetate, pH 8.6, Ponceau S stain) of proposita with an individual with hereditary persistence of hemoglobin F (25% hemoglobin F); proposita on right.

図4. HB A<sub>2</sub>欠如—高ヘモグロビンFの組み合わせられた例の電気泳動像の特徴. A. 発端者, その娘および正常者2名の澱粉ゲル電気泳動像の比較. 試料溝1, 4, 正常; 試料溝3, 発端者; 試料溝2, 発端者の娘. 娘ではA<sub>2</sub>の減少とFのわずかな増強がある. B. 発端者より採取した血液標本のセルロース アセテート上の電気泳動法検査(pH 8.6, ベンジジン染色) A<sub>2</sub>の欠如に注目. C. 発端者と遺伝性ヘモグロビンF持続症者(ヘモグロビンF 25%)との電気泳動的比較(セルロース アセテート, pH 8.6, ポンソーS染色); 右側が発端者.

absence of A<sub>2</sub> is also illustrated in Figure 4C, a benzidine stain of a specimen treated as described for Figure 4B.

We interpret the proposita as resulting from homozygosity for the  $\delta$ -thalassemia trait, as described by Ohta et al.<sup>28</sup> Our proposita has slightly more hemoglobin F than the average of the five cases described by the Japanese group (3.7%). It is in this connection noteworthy that their proposita resided in Fukuoka whereas, as noted above, ours was a resident of Nagasaki. These are both cities on Kyushu, the southwesternmost of the main Japanese Islands. Thus far no relationship between the two families has been established.

にもA<sub>2</sub>の欠如が示されている. これは図4Bの条件で泳動を行った後ベンジジン染色をしたものである.

我々は, Ohtaら<sup>28</sup>が記述しているように, 発端者を $\delta$ -サラセミア形質についての同形接合に起因するものであると解釈する. 我々の発端者では, 日本人研究グループが記述した5例の $\delta$ -サラセミアのヘモグロビンF平均値(3.7%)よりもわずかに高い. この点で, 彼らの発端者が福岡に居住していたのに対して, 今回の発端者は上記のとおり, 長崎の居住者であったのは注目に値する. 両市とも日本列島の最南西にある九州にある. 今日までのところ二つの家系の間に血族関係は立証されていない.

In the strict sense, this is not an electrophoretic variant as the term has been used throughout the paper, and we shall not score it as such. On the other hand, in a system less well understood than the hemoglobin complex, a variant of this type might be confused with an electrophoretic variant.

#### Nucleoside Phosphorylase

No NP variants were observed among 738 individuals (538 from Hiroshima and 200 from Nagasaki). Shinoda & Matsunaga,<sup>13</sup> in reporting the results of a survey in Central Japan, mention, but do not describe in detail, a single NP variant.

#### Triose Phosphate Isomerase

During this survey, no variants of TPI were encountered in a sample of 738 (538 from Hiroshima and 200 from Nagasaki). There are no previous studies of TPI in Japan.

#### DISCUSSION

The most interesting fact to emerge from this survey of six erythrocyte enzymes and the two adult hemoglobins is the finding of four similar variants of CA I (now designated CA I<sub>HIR 1</sub>) in 2653 samples from Hiroshima residents, but none in 1376 observations on Nagasaki residents. This contrast is heightened by the finding, in a small pilot study of children born to survivors of the atomic bomb and controls, of three additional cases of this variant in 884 children in Hiroshima but again, none in 658 Nagasaki children. As we have noted earlier, the presence of the variant in one of the parents of these children, in the two instances where parental studies were possible, essentially eliminates the possibility of a radiation effect. By chance, the only other study of CA I variants in Japanese was also carried out in Nagasaki. Suyama & Umeda<sup>21</sup> examined 2034 residents of that city without finding any electrophoretic variants. Thus far no genetic relationship has been established between the seven persons with the CA I<sub>HIR 1</sub> variant. Although this variant has the same apparent electrophoretic mobility as CA I<sub>Guam</sub>, detailed biochemical studies have revealed that the amino acid substitutions differ in the two variants (see above). This degree of regional localization in a country as homogeneous as Japan was unexpected; further studies to define the precise pattern of geographic variation will be of importance.

この変異体は厳密に言えば本報に用いた定義では、電気泳動上の変異体ではないので、変異体として記録しない。しかしながら、ヘモグロビンに比べて、十分に理解されていないものでは、この種の変異体と電気泳動上の変異体とが混同されるかも知れない。

#### Nucleoside phosphorylase

738名中(広島538名, 長崎200名), NP変異体は認められなかった。Shinoda & Matsunaga<sup>13</sup>は, 中部日本における調査結果を報告するに当たり, NPの変異体を1例発見したことを述べているが, その詳細については報告していない。

#### Triose phosphate isomerase

本調査を実施した738名のサンプル(広島538例, 長崎200例)のうちTPIの変異体は認められなかった。日本では, TPIについて調査研究されていない。

#### 考 察

6種の赤血球酵素および2種の成人ヘモグロビンについて行われた本調査研究の結果のうち, 最も興味ある事実は, 広島居住者から入手した2653検体からは類似した4例のCA I変異体(現在, CA I<sub>HIR 1</sub>と命名されている)を発見したにもかかわらず, 長崎居住者の1376検体では変異体が1例も認められなかったことである。この著しい差異は, 原爆被爆者とその対照者の子供らに対する試験的な小規模な調査においても認められたことで更に強調された。すなわち, 広島では884名の子供のうちこの変異体を3例発見したが, 長崎では, 658名のうちこの変異体は1例も認められなかった。先に述べたように, 両親についての調査が可能であった2例では両親の一方に変異体を認めたが, このことは, 変異が放射線の影響によってもたらされたという可能性を本質的に除去している。日本人について行われた他の唯一のCA I変異体に対する調査研究が偶然にも長崎で行われている。須山および梅田は,<sup>21</sup> 長崎市の居住者2034名を調べたが, 電気泳動上の変異体を認めていない。今日までのところCA I<sub>HIR 1</sub>変異体を有する者7名の間に遺伝的な関係は立証されていない。この変異体はCA I<sub>Guam</sub>と電気泳動上同じ移動度を有するが, 詳細な生化学的研究で, 二つの変異体においてアミノ酸置換に差があることが判明した(上記を参照)。日本のように遺伝的に均質な国でこのような地域性があることは, 予測されなかった。地理的にどのような変化があるかを正確にする更に進んだ調査研究が重要である。

Of the five remaining variants, two involved HB A: one was a previously described beta-chain mutant, but the other has not been characterized biochemically. In addition, an instance of delta-thalassemia was discovered. The remaining two variants, one of LDH and one of MDH, appear to be previously undescribed.

残る5例の変異体のうち、2例はHB Aの変異体である。1例は、以前に報告された $\beta$ -鎖突然変異体であったが、他の1例については生化学的な特性は明らかにされていない。なお、 $\delta$ -サラセミア1例が発見された。他の2例の変異体、すなわち、LDHとMDHの変異体は、記述されていないものと思われる。

## REFERENCES

### 参考文献

1. FERRELL RE, UEDA N, SATOH C, TANIS RJ, NEEL JV, HAMILTON HB, BABA K: The frequency in Japanese of genetic variant of 22 proteins. I. Albumin, ceruloplasmin, haptoglobin, and transferrin. *Ann Hum Genet* 40:407, 1977 (RERF TR 3-76)
2. SMITHIES O: An improved procedure for starch gel electrophoresis: Further variations in the serum proteins of normal individuals. *Biochem J* 71:585, 1959
3. TASHIAN RE: The esterases and carbonic anhydrases of human erythrocytes. In *Biochemical Methods in Red Cell Genetics*, Chap. 12. Ed by J.J. Yunis. New York, Academic Press, 1969
4. FILDES RA, HARRIS H: Genetically determined variants of adenylate kinase in man. *Nature* 209:261, 1966
5. EDWARDS YH, HOPKINSON DA, HARRIS H: Inherited variants of human nucleoside phosphorylase. *Ann Hum Genet* 34:395, 1971
6. SHAW CR, PRASAD R: Starch gel electrophoresis -- a compilation of recipes. *Biochem Genet* 4:297, 1970
7. TASHIAN RE, CARTER WD: Biochemical genetics of carbonic anhydrase. In *Advances in Human Genetics*. Ed by K. Hirschhorn & H. Harris. New York, Plenum Press, 1976.
8. LEAKEY TEB, COWARD AR, WARLOW A, MOURANT AE: The distribution in human populations of electrophoretic variants of cytoplasmic malate dehydrogenase. *Hum Hered* 22:542, 1972
9. PETERS J, HOPKINSON DA, HARRIS H: Genetic and non-genetic variation of triose phosphate isomerase isozymes in human tissues. *Ann Hum Genet* 36:297, 1973
10. DAVIDSON RG, FILDES RA, MARY GLEN-BOTT A, HARRIS H, ROBSON EB, CLEGHORN TE: Genetical studies on a variant of human lactate dehydrogenase (Subunit A). *Ann Hum Genet* 29:5, 1965
11. SATOH C, FERRELL RE, TANIS RJ, UEDA N, KISHIMOTO S, NEEL JV, HAMILTON HB, BABA K: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. III. Phosphoglucomutase-1, phosphoglucomutase-2, 6-phosphogluconate dehydrogenase, adenylate kinase, and adenosine deaminase. *Ann Hum Genet* 41:169, 1977 (RERF TR 5-76)
12. SUGANO G, KANO S, SAGA M, IRIHISA T, IWAGAKI H, NAZAKI U: A family of LDH H-subunit variant. *Igaku no Ayumi - Strides Med* 87:621, 1973
13. SHINODA T, MATSUNAGA E: Studies on polymorphic types of several red cell enzymes in a Japanese population. *Jpn J Hum Genet* 15:133, 1970
14. OMOTO K, HARADA S: The distribution of polymorphic traits in the Hidaka Ainu. II. Red cell enzyme and serum protein groups. *J Fac Sci Univ Tokyo Sect V*, 4:171, 1972

15. DAVIDSON RG, CORTNER JA: Genetic variant of human erythrocyte malate dehydrogenase. *Nature* 215:761, 1967
16. UEDA N: New Japanese variant of human erythrocyte carbonic anhydrase. *Jpn J Hum Genet* 19:161, 1974
17. CARTER ND, TANIS RJ, TASHIAN RE, FERRELL RE: Characterization of a new variant of human red cell carbonic anhydrase I, CA If London (Glu-102→Lys). *Biochem Genet* 10:399, 1973
18. TASHIAN RE, RIGGS SK, YU Y-S: Characterization of a mutant human erythrocyte carbonic anhydrase: carbonic anhydrase Ic Guam. *Arch Biochem Biophys* 117:320, 1966
19. LIE-INJO LE: Red cell carbonic anhydrase Ic in Filipinos. *Am J Hum Genet* 19:130, 1967
20. LIE-INJO LE, POEY-OEY HG: Phosphoglucomutase, carbonic anhydrase and catalase in Indonesians. *Hum Hered* 20:215, 1970
21. SUYAMA H, UMEDA K: Some variants of the red cell carbonic anhydrase in Japanese. *Jpn J Legal Med* 24:391, 1970
22. NEEL JV, UEDA N, SATOH C, FERRELL RE, TANIS RJ: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. V. Summary and comparison with data on Caucasians from the British Isles. *Ann Hum Genet*, in press. (RERF TR 7-76)
23. TANIS RJ, OSBORNE WR, UEDA N, TASHIAN RE: Biochemical characterization of the human carbonic anhydrase variant CA Ih Hiroshima. *Hum Genet* 34:29, 1976
24. MIYAJI T, OBA Y, YAMAMOTO K, SHIBATA S, IUCHI I, HAMILTON HB: Hemoglobin Hijiya: A new fast-moving hemoglobin in a Japanese family. *Science* 159:204, 1968
25. HAMILTON HB, IUCHI I, MIYAJI T, SHIBATA S: Hemoglobin Hiroshima ( $\beta^{143}$  Histidine→Aspartic Acid): A newly identified fast moving beta chain variant associated with increased oxygen affinity and compensatory erythremia. *Clin Invest* 48:525, 1969
26. PERUTZ MF, PULSINELLI DEL, TEN EYCK L, KILMARTIN JV, SHIBATA S, IUCHI I, MIYAJI T, HAMILTON HB: Hemoglobin Hiroshima and the mechanism of the alkaline Bohr effect. *Nature New Biol* 232:147, 1971
27. IUCHI I: Abnormal hemoglobin in Japan. Biochemical and epidemiologic characters of abnormal hemoglobin in Japan. *Acta Haemat Jpn* 31:218, 1968
28. OHTA Y, YAMAOKA K, SUMIDA I, FUJITA S, FUKIMURA T, YANASE T: Homozygous delta-thalassemia first discovered in Japanese family with hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Blood* 37:706, 1971