

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

III. PHOSPHOGLUCOMUTASE-1, PHOSPHOGLUCOMUTASE-2,  
6-PHOSPHOGLUCONATE DEHYDROGENASE, ADENYLATE  
KINASE, AND ADENOSINE DEAMINASE

CHIYOKO SATOH, Ph.D. 佐藤千代子  
ROBERT E. FERRELL, Ph.D.  
ROBERT J. TANIS, Ph.D.  
NAOKI UEDA, M.D. 上田尚紀  
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

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) 41:169, 1977*

#### RERF TECHNICAL REPORT SERIES

#### 放影研業績報告書集

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.

放影研業績報告書は、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

 III. PHOSPHOGLUCOMUTASE-1, PHOSPHOGLUCOMUTASE-2,  
 6-PHOSPHOGLUCONATE DEHYDROGENASE, ADENYLATE  
 KINASE, AND ADENOSINE DEAMINASE

 CHIYOKO SATOH, Ph.D. (佐藤千代子)<sup>1</sup>; ROBERT E. FERRELL, Ph.D.<sup>2</sup>;  
 ROBERT J. TANIS, Ph.D.<sup>2</sup>; NAOKI UEDA, M.D. (上田尚紀)<sup>1</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

Five enzyme systems, PGM<sub>1</sub>, PGM<sub>2</sub>, ADA, 6-PGD, and AK, were examined by electrophoresis in over 4000 samples from Hiroshima and Nagasaki for the frequencies of common and rare variants. In the PGM<sub>1</sub> system, the PGM<sub>1</sub><sup>2</sup> allele and PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> allele were found in polymorphic proportions. In addition, five kinds of slow variants and three types of fast variants of PGM<sub>1</sub> were detected. The PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> NGS<sup>1</sup> allele was found in five individuals from Nagasaki, but was not observed in samples from Hiroshima. There were no variants of PGM<sub>2</sub>. Three kinds of fast variants of 6-PGD were detected. No variation in AK was observed. The 6-PGD<sup>C</sup> allele had a frequency of 0.084 in Hiroshima and 0.093 in Nagasaki. There were no rare variants of ADA, but the ADA<sup>2</sup> allele had a frequency of 0.025 in Hiroshima and 0.032 in Nagasaki.

## INTRODUCTION

The present paper will describe the variants encountered in Japanese adults from Hiroshima and Nagasaki with respect to the following five erythrocyte enzymes: phosphoglucomutase-1

## 要 約

多型として通常認められる変異体, およびまれな変異体の頻度を調べるために, 広島および長崎において4000例以上の集団を対象に, PGM<sub>1</sub>, PGM<sub>2</sub>, ADA, 6-PGD および AK の5種類の酵素の電気泳動検査を行った. PGM<sub>1</sub>では, PGM<sub>1</sub><sup>2</sup>およびPGM<sub>1</sub><sup>7</sup>対立遺伝子が多型と言える頻度で認められた. さらに PGM<sub>1</sub>では, 移動度の遅い変異体5種類と移動度の速い変異体3種類が発見された. PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> NGS<sup>1</sup>対立遺伝子は, 長崎の対象者5例に認められたが, 広島では認められなかった. PGM<sub>2</sub>の変異体はなかった. 6-PGDでは, 移動度の速い変異体が3種類発見された. AKには変異体は認められなかった. ADAのまれな変異体はなかった. 6-PGD<sup>C</sup>対立遺伝子の頻度は, 広島で0.084, 長崎で0.093, ADA<sup>2</sup>対立遺伝子の頻度は, 広島で0.025, 長崎で0.032であった.

## 緒 言

本報では, 広島および長崎の日本人成人に認められた蛋白質の変異体のうち, 次の5種類の赤血球酵素, すなわち, phosphoglucomutase-1 (PGM<sub>1</sub>, EC

\* 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.

(PGM<sub>1</sub>, EC 2.7.5.1), phosphoglucomutase-2 (PGM<sub>2</sub>, EC 2.7.5.1), 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD, EC 1.1.1.43), adenylate kinase (AK, EC 2.7.4.3), and adenosine deaminase (ADA, EC 3.5.4.2). The first paper in this series described the nature of the population and the circumstances under which the collections were made.<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

The preparation of the hemolysates for electrophoresis has been described in the second paper of the series.<sup>2</sup> Vertical starch gel electrophoresis at 4°C employing Electrostar (13.3%, lot Nos. 146, 371, & 303) was used for the routine typing of all systems. The histidine-sodium citrate discontinuous buffer system, pH 7.0, of Fildes & Harris,<sup>3</sup> originally developed for the study of AK, was used for the AK, ADA, and 6-PGD determinations. For the routine typing of these systems electrophoresis was at 9 V/cm for 4 hours; comparison of the rare variants of 6-PGD was at 5 V/cm for 20 hours. The citrate buffer system, pH 5.0, of Spencer et al.<sup>4</sup> was used to confirm the ADA 2 phenotype. During the first half of this study (2134 samples), PGM<sub>1</sub> and PGM<sub>2</sub> were also typed using the histidine-sodium citrate buffer system mentioned above, with electrophoresis at 5 V/cm for 20 hours. This permitted acid phosphatase determinations from a slice of the same gel. However, a tris-maleic acid buffer, pH 7.4, was found to give superior resolution of the fast variants of PGM<sub>1</sub> and was employed for the last 1895 determinations.<sup>5</sup> The resolution was further improved by using a 1:15 dilution of bridge buffer as the gel buffer at 7 V/cm for 23 hours. The results of the two PGM<sub>1</sub> methods will be presented separately.

Staining of the isozymes of PGM was performed according to the method of Spencer et al.<sup>5</sup> ADA, 6-PGD, and AK were typed from three slices of a single gel using the staining methods of Spencer et al.,<sup>4</sup> Fildes & Parr,<sup>6</sup> and Fildes & Harris,<sup>3</sup> respectively. For the typing of ADA, a cellulose acetate overlay technique was used instead of an agar overlay technique.

Some comparison runs of PGM<sub>1</sub> variants were also carried out with horizontal electrophoresis

2.7.5.1), phosphoglucomutase - 2 (PGM<sub>2</sub>, EC 2.7.5.1), 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD, EC 1.1.1.43), adenylate kinase (AK, EC 2.7.4.3) および adenosine deaminase (ADA, EC 3.5.4.2) に関するものについて述べる. この一連の報告書の第1報<sup>1</sup>においてすでに, 血液標本の収集が行われた集団の性質および採血の状況について述べられている. 前の場合と同様に, 既知の型と明確には一致しない変異体の命名は, 通常, 都市別および発現順序別に行い, 広島は HIR, 長崎は NGS の略称を付すことにする.

#### 材料および方法

本シリーズの第2報<sup>2</sup>で, 電気泳動検査に用いる溶血液の作成方法が述べられている. 5種類の酵素のすべてにおいて, 通常, 型の決定は Electrostar (13.3%, ロット番号 146, 371 および 303) を用いて 4°C で垂直澱粉ゲル電気泳動法によって行われた. 元来は AK の泳動のために Fildes と Harris<sup>3</sup> が開発した pH 7.0 のヒスチジーンクエン酸ナトリウム不連続緩衝液法を用いて, AK, ADA および 6-PGD の検査を行った. 通常型の決定のためには 9 V/cm で 4 時間, 電気泳動を行った. まれな 6-PGD 変異体の比較のためには, 5 V/cm で 20 時間泳動した. ADA 2 表現型を確認するためには, Spencer, Hopkinson および Harris<sup>4</sup> の pH 5.0, クエン酸緩衝液法を用いた. 本調査(対象者 2134 人)の前半では, 上記のヒスチジーンクエン酸ナトリウム緩衝液を用いて, 5 V/cm で 20 時間の泳動を行い PGM<sub>1</sub> および PGM<sub>2</sub> の分類をも行った. この場合, 同一のゲルをスライスして, もう 1 枚の薄片を得て, 酸性フォスファターゼの検査を行うことができた. しかし, トリス-マレーン酸緩衝液, pH 7.4<sup>5</sup> を用いると, PGM<sub>1</sub> の速い変異体の分離がよいことが分かったので, 残りの 1895 例の検査はこの緩衝液で行った. ゲル緩衝液として, ブリッジ緩衝液の 1:15 希釈のものを用い, 7 V/cm で 23 時間泳動したところ, 変異体の分離がさらによくなった. 2 種類の緩衝液を用いて得られた PGM<sub>1</sub> に関する結果は, おのおの別に述べることにする.

PGM のアイソザイムの染色には Spencer, Hopkinson, Harris<sup>5</sup> の方法を用いた. ADA, 6-PGD, AK は同一ゲルを 3 枚の薄片にスライスして, それぞれ Spencer, Hopkinson, Harris の方法,<sup>4</sup> Fildes と Parr の方法,<sup>6</sup> ならびに Fildes と Harris の染色法<sup>3</sup> を用いて型の決定を行った. ADA の型の決定には, 寒天オーバーレー(上乘せ)法の代わりに酢酸セルローズオーバーレー法を用いた.

PGM<sub>1</sub> 変異体の比較検査のために, Connaught starch

TABLE 1 THE DIFFERENT PHENOTYPES OBSERVED IN THE PGM<sub>1</sub> SYSTEM BY CITY AND BUFFER SYSTEM EMPLOYED表1 PGM<sub>1</sub>に認められた各種の表現型。資料は都市別および用いた緩衝液別に示した

Phenotype	Hiroshima		Nagasaki		Combined	
	His	Tris	His	Tris	His	Tris
1	1078	497	222	592	1300	1089
2-1	594	293	114	338	708	631
2	103	52	12	52	115	104
1-7	0	23	0	16	0	39
2-7	0	4	0	9	0	13
7	0	0	0	2	0	2
1-3 <sub>NGS</sub> 1	0	0	0	4	0	4
2-3 <sub>NGS</sub> 1	0	0	0	1	0	1
1-3 <sub>NGS</sub> 2	0	0	0	1	0	1
1-6 <sub>HIR</sub> 1	1	1	0	0	1	1
1-6 <sub>HIR</sub> 2	1	0	0	2	1	2
2-6 <sub>HIR</sub> 2	0	0	0	1	0	1
1-6 <sub>NGS</sub> 2	0	0	1	2	1	2
1-6 <sub>NGS</sub> 1	0	0	0	1	0	1
1-8 <sub>NGS</sub> 1	1	0	2	0	3	0
1-9 <sub>NGS</sub> 1	0	0	0	1	0	1
No type	3	2	2	1	5	3
Total	1781	872	353	1023	2134	1895
	2653		1376		4029	

See text for details regarding the differences between the histidine-sodium citrate and tris-maleic acid buffer systems.

ヒスチジン-クエン酸ナトリウム緩衝液法とトリス-マレイン酸緩衝液法との差に関する詳細については本文を参照。

using Connaught starch gels (13.3%, lot No. 314-2); the gel buffer was made by diluting the bridge buffer in a 1:15 ratio. In comparisons of variant zymograms of PGM<sub>1</sub> a gel buffer made by a 1:10 dilution of the bridge buffer was also used for both kinds of starch gel.

In any study of this nature, there are always a few isozyme patterns which for a variety of reasons (low enzyme activity, indistinct patterns which may be due to degradation, etc.) cannot be typed with confidence. We omit these from the figures for 'number typed', recognizing that this group has a disproportionately high frequency of containing poorly resolved variants.

## RESULTS

### Phosphoglucomutase-1

With respect to PGM<sub>1</sub>, the results obtained with the two different buffer systems are presented separately (Table 1). There were 8 specimens not typed in the total of 4029. We consider the

ゲル(13.3%, ロット番号314-2)を用いて水平電気泳動法を行った場合もある。この場合ブリッジ緩衝液を1:15の割合で希釈してゲル緩衝液を作った。PGM<sub>1</sub>変異体のザイモグラム(泳動像)比較のためには、どちらの澱粉ゲルの場合にもブリッジ緩衝液の1:10希釈で作られたゲル緩衝液を用いた場合もある。

この種の調査では、酵素活性が低いことや、蛋白質の分解によると思われる不明瞭なパターンなどのいろいろな理由により、確信をもって分類できないようなアイソザイムパターンが、わずかながら認められるのが常である。このようなものの中には、分離のよくない変異体が不釣合に高い頻度で含まれていると認められるので、これらを「型の決定された検体数」の中には入れないことにする。

## 結果

### Phosphoglucomutase - 1

PGM<sub>1</sub>については、2種類の緩衝液を用いて得た結果を別々に示す(表1)。合計4029検体のうち、型を決定することのできなかったものは8検体であった。我々は、ヒスチジン-クエン酸ナトリウム緩衝液を

TABLE 2  $PGM_1$  GENE FREQUENCIES IN 1892 JAPANESE BLOOD SPECIMENS (TRIS-MALEIC ACID BUFFER SYSTEM)表2 1892人の日本人の血液にみられた $PGM_1$ 遺伝子の頻度(トリス-マレイン酸緩衝液法)

Gene	Hiroshima	Nagasaki
$PGM_1^1$	0.7534	0.7578
$PGM_1^2$	0.2305	0.2216
$PGM_1^3$ NGS 1	0.0000	0.0024
$PGM_1^3$ NGS 2	0.0000	0.0005
$PGM_1^7$	0.0155	0.0142
$PGM_1^6$ HIR 1	0.0006	0.0000
$PGM_1^6$ HIR 2	0.0000	0.0015
$PGM_1^6$ NGS 2	0.0000	0.0010
$PGM_1^6$ NGS 1	0.0000	0.0005
$PGM_1^9$ NGS 1	0.0000	0.0005

histidine-sodium citrate system sufficiently unsatisfactory that although we describe the variants detected by its use, the calculation of variant frequencies is based solely on the results of the tris-maleic acid system.

**The  $PGM_1$  polymorphisms.** Two alleles occur in polymorphic proportions,  $PGM_1^2$  and  $PGM_1^7$ . There are over 20 reports which describe the  $PGM_1$  polymorphism of Japanese; total samples examined amounted to 11,680 from 26 different populations.<sup>7</sup> The gene frequencies for  $PGM_1^2$  are in the range of 0.191 to 0.249 except in a few isolated populations. The values obtained in our studies fall on the high side of that range (Table 2).

The frequencies of the  $PGM_1^7$  gene were 0.016 and 0.014 for the Hiroshima and Nagasaki residents, respectively. Two persons with the  $PGM_1$  7 phenotype were found in Nagasaki residents. No presumptive homozygotes for the  $PGM_1^7$  allele were found in the routine samples comprising the population study in Hiroshima. However, in the course of a family study of a middle aged, healthy woman who showed the  $PGM_1$  1-7 phenotype, the  $PGM_1$  7 phenotype was found in her first son, the  $PGM_1$  type of her husband, and that of the second son was 1-7. In addition to this family, limited genetic studies were undertaken on 31 propositi who showed the  $PGM_1$  1-7 and  $PGM_1$  2-7 phenotypes. The results are shown in Table 3. In 23 cases other members of the family were found to have the

用いた場合は十分に満足に結果が得られないと考えるので、この系を用いて検出した変異体について記述はするが、変異体の頻度はもっぱらトリス-マレイン酸緩衝液を用いて得た結果に基づいて算定する。

**$PGM_1$ の多型.** 二つの対立遺伝子,  $PGM_1^2$ および $PGM_1^7$ は, 多型と呼ばれる頻度で認められる. 日本人における $PGM_1$ の多型について述べた報告は20報以上に及び, 調べられた対象者総数は26集団で11,680人へのぼる.<sup>7</sup> 少数の隔離された集団を除いて, $PGM_1^2$ の遺伝子頻度は, 0.191から0.249までの範囲内である. 本調査で得られた値は, その範囲内で高い方に属していた(表2).

$PGM_1^7$ の遺伝子頻度は, 広島・長崎住民で, それぞれ0.016および0.014であった.  $PGM_1$  7表現型を有する者が, 長崎居住者に2人認められた.  $PGM_1^7$ 対立遺伝子のホモ接合体と推定されるものは, 広島の調査対象者中には認められなかった. しかし,  $PGM_1$  1-7表現型を示した中年の健康な女性1例の家族調査において,  $PGM_1$  7表現型が長男に認められた. 夫および次男の $PGM_1$ 型は1-7であった. この家族のほか,  $PGM_1$  1-7および $PGM_1$  2-7表現型を示した31例の発端者について, 限られた遺伝学的調査が行われた. その結果を表3に示す. 23例において他の家族員にも変異体が認められた. 変異体が他

TABLE 3 SUMMARY OF THE RESULTS OF FAMILY STUDIES ON VARIANTS OF PGM<sub>1</sub> AND 6-PGD

表3 PGM<sub>1</sub>および6-PGDの変異体に関する家族調査結果

System	Variant	City	Propositus MF No.	Sex	Family Studies			
					Mother	Father	Sibs	Children
PGM <sub>1</sub>	3NGS 1	N		M	-	-	-	*○□
	3NGS 1	N		M	○	-	-	*■●●
	3NGS 1	N		F	-	*■	-	□
	3NGS 1	N		M	-	-	□	*□○
	3NGS 1	N		F	-	-	-	*●■
	6NGS 2	N		F	-	-	-	*■
	6NGS 2	N		M	-	-	-	*○■
	6HIR 1	H		M	-	-	*□	-
	6HIR 1	H		F	-	-	-	*■
	6HIR 2	N		M <sup>1</sup>	-	-	-	■
	6HIR 2	N		F	-	-	-	*○○●●
	6HIR 2	N		M <sup>2</sup>	-	*■	-	-
	6HIR 2	H		M	-	-	-	*●
	8NGS 1	N		M	-	-	-	*■□●■●
	8NGS 1	N		M	-	-	-	*●□□
	9NGS 1	N		M	-	-	-	*■□■
	7	H		F	-	-	-	*□●
	7	H		M	-	-	-	*□●
	7	H		M	*○	-	□	-
	7	H		F	-	-	-	*●
	7	H		F	-	-	-	*●
	7	H		F	-	-	-	*■■
	7	H		F	-	-	-	*□
	7	H		M	-	-	-	*○
	7	H		F	-	-	-	*■
	7	H		M	-	-	-	*○○
	7	H		F	-	-	-	*□■○
	7	H		F	-	-	-	*□
	7	H		F	-	-	-	*●
	7	H		F	-	-	-	*□
	7	N		F	-	-	-	*□○
	7	N		F	-	-	●	*□○□
	7	N		F	-	-	-	*○■
	7	N		M	-	■	○	*□□
	7	N		M	-	-	-	*○■□
	7	N		F	-	-	-	*●
	7	N		F	-	-	-	*○□●
	7	N		F	-	-	□□●	*○
	7	N		F	-	-	■□○	*□○○
	7	N		M	-	-	-	*□●
	7	N		F	-	-	●	*□□○
	7	N		F	●	□	-	*○■
	7	N		F	-	-	*●●	○□

TABLE 3 Continued 表 3 続き

System	Variant	City	Propositus MF No.	Sex	Family Studies			
					Mother	Father	Sibs	Children
6-PGD	7	N	██████████	F	●	—	○	* □ □
	7	N	██████████	M	—	—	—	* ○
	7	N	██████████	F	—	—	* ● ●	—
	7	N	██████████	M	—	—	—	* ○ □
	NGS 1	N	██████████	M	—	—	—	* ● ○
	HIR 1	H	██████████	F	—	—	—	* ● □
	HIR 2	H	██████████	F	—	—	—	* ● □

\*First family member tested. 家族調査で調べた最初の1親等者を示す。○- No variant, ● Variant

Although the type 7 variant of PGM<sub>1</sub> has the frequency of a polymorphism, this was not apparent in the first portion of the investigation, and the family studies of this variant are included.

PGM<sub>1</sub>の7型変異体は、多型と認められる頻度であったがこの事実は、調査の初期には不明であったので、この変異体に関する家族調査の結果も本表に表示する。

1 - Father of ██████████ 2 - Son of ██████████ 1. ██████████の父親, 2. ██████████の息子

variant. In most instances when the presence of the variant was not confirmed, the number of first degree relatives examined was quite small (average 1.5).

In the studies of 26 populations throughout Japan referred to earlier, the PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> gene frequency ranged from 0.0010 to 0.0026.<sup>7</sup> The present frequency is approximately ten times greater. The difference could stem from the nature of the populations sampled or from technical reasons. In this connection we note that Ishimoto et al,<sup>8,9</sup> on the basis of 526 determinations, reported the PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> allele to have a frequency of 0.0019 in Hiroshima and, on the basis of 608 determinations, a frequency of 0.0016 in Nagasaki. Although real differences in the populations being sampled cannot be excluded, the discrepancy between the results of Ishimoto et al and ourselves forces us to consider technical factors carefully. With respect to the possibility that the difference rests in technique, most investigators, especially Japanese, employ Connaught starch and a gel buffer derived from a 1:10 dilution of bridge buffer, according to the original paper of Spencer et al.<sup>5</sup> We have used Electrostarch with the gel buffer a 1:15 dilution of the bridge buffer.

When zymograms obtained with gels prepared from Electrostarch and the Connaught starch were compared, both made with a 1:10 dilution of the bridge buffer, the separation of the a, b, c, and d bands associated with the PGM<sub>1</sub><sup>1</sup> and PGM<sub>1</sub><sup>2</sup> alleles and those produced by the PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> and PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> alleles was better on Electrostarch.

の家族中に検出されなかった例では、ほとんどの場合、調べられた1親等の人数はごくわずかであった(平均1.5人)。

上記の日本全国にわたる26集団についての調査<sup>7</sup>では、PGM<sub>1</sub><sup>7</sup>遺伝子頻度は0.0010-0.0026であった。我々の調査で得た頻度はこの値の約10倍の大きさである。この差は、対象集団の性質または技術的理由に由来するのかも知れない。この点については、石本ら<sup>8,9</sup>が広島において526検体を調べた際PGM<sub>1</sub><sup>7</sup>対立遺伝子の頻度は0.0019であり、また長崎で608検体を調べてPGM<sub>1</sub><sup>7</sup>の遺伝子頻度は0.0016であると報告していることを述べておきたい。対象集団に実際に差がある可能性を除外はできないが、石本らの得た値と我々の得た値との間にみられる差については、技術的要因を慎重に考慮しないわけにはゆかない。この差が技術的要因に由来するかも知れない可能性に関しては、ほとんどの研究者、特に日本の研究者は、Connaught starchを用いること、Spencerら<sup>5</sup>の最初の論文に述べてあるようなブリッジ緩衝液の1:10希釈液をゲル緩衝液として用いていることをあげておきたい。一方、我々はElectrostarchおよびブリッジ緩衝液の1:15希釈で作ったゲル緩衝液を用いている。

ブリッジ緩衝液の1:10希釈液をゲル緩衝液としてConnaught starchまたは、Electrostarchから作ったゲル上でのザイモグラムを比較すると、PGM<sub>1</sub><sup>1</sup>およびPGM<sub>1</sub><sup>2</sup>対立遺伝子に由来するa, b, c, dバンドならびにPGM<sub>1</sub><sup>3</sup>およびPGM<sub>1</sub><sup>7</sup>対立遺伝子に由来するバンド相互間の分離は、Electrostarchの方がよかった。



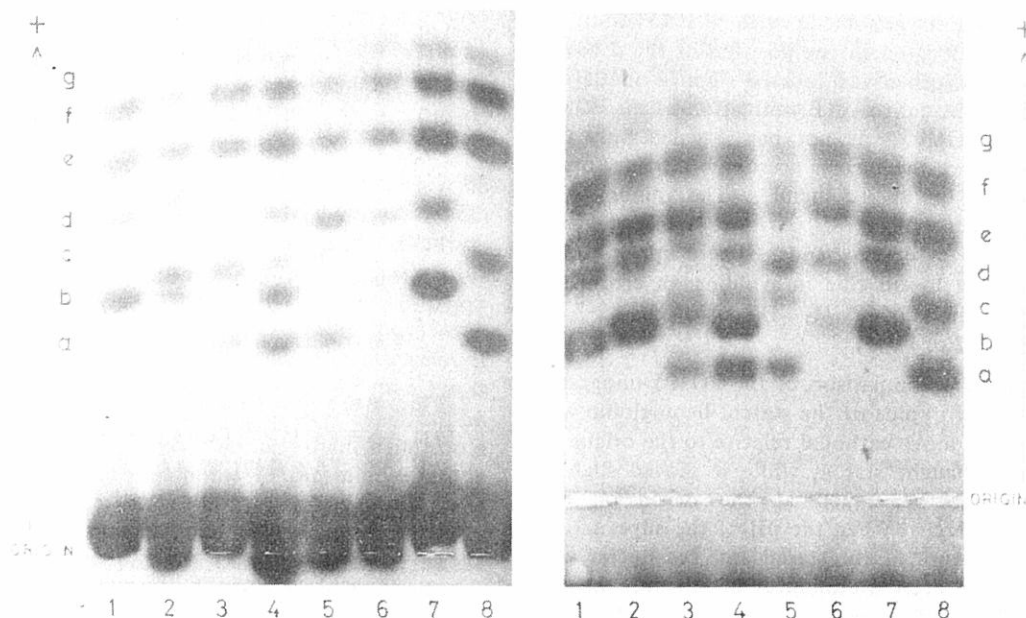


Figure 1. Starch gel electrophoresis of phosphoglucumutase: A. Zymogram of PGM on the Electrostarch gel (left) and B. Zymogram of PGM on the Connaught starch gel (right). Well 1,  $PGM_1 2$ ; well 2,  $PGM_1 2-7$ ; well 3,  $PGM_1 1-7$ ; well 4,  $PGM_1 1-2$ ; well 5,  $PGM_1 1-3$ ; well 6,  $PGM_1 2-3$ ; well 7,  $PGM_1 2$ ; well 8,  $PGM_1 1$ .

図1 Phosphoglucumutase の澱粉ゲル電気泳動像: A) Electrostarch ゲル上の PGM のザイモグラム(左), B) Connaught starch ゲル上の PGM のザイモグラム(右). 試料溝 1,  $PGM_1 2$ ; 試料溝 2,  $PGM_1 2-7$ ; 試料溝 3,  $PGM_1 1-7$ ; 試料溝 4,  $PGM_1 1-2$ ; 試料溝 5,  $PGM_1 1-3$ ; 試料溝 6,  $PGM_1 2-3$ ; 試料溝 7,  $PGM_1 2$ ; 試料溝 8,  $PGM_1 1$ .

The area between components *d* of  $PGM_1$  and *e* of  $PGM_2$  is wider on Electrostarch, so that the variant bands determined by the  $PGM_1^7$  allele are more easily distinguished. Furthermore, a 1:15 gel buffer dilution results in clearer separation between the variant bands and the normal *b*, *c*, and *d* bands on Electrostarch as shown on the left of Figure 1. Blake & Omoto<sup>10</sup> also recommended a 1:15 dilution of the bridge buffer for the gel buffer on the Connaught starch to produce better separation of the  $PGM_1 1-7$  isozymes. However, shown on the right of Figure 1, using a 1:15 buffer dilution, are the results obtained with Connaught starch, clearly the  $PGM_1 2-7$  phenotype is difficult to distinguish from the  $PGM_1 2$  phenotype on Connaught starch, while these two phenotypes are easily distinguishable from one another on the Electrostarch gel.

In the case of the  $PGM_1 1$  and  $PGM_1 1-3$  phenotypes two very faintly staining bands in addition to the usual bands were found on

$PGM_1$  の *d* バンドと  $PGM_2$  の *e* バンドとの間は, Electrostarch の方が広いので,  $PGM_1^7$  対立遺伝子に由来する変異体バンドはより容易に識別できる. さらに, 図1左に示すように, Electrostarch 上では, 1:15 に希釈したゲル緩衝液を用いると, 変異体のバンドと正常の *b*, *c*, *d* バンドとの分離がより明瞭となる. Blake と Omoto<sup>10</sup> もまた  $PGM_1 1-7$  のアイソザイムの分離をよくするために, ゲル緩衝液としてブリッジ緩衝液の 1:15 希釈を用いることを Connaught starch を用いてはいるが, 勧めている. しかし, 図1の右に示したように, 1:15 希釈の緩衝液を用いても, Connaught starch 上では  $PGM_1 2-7$  表現型と  $PGM_1 2$  表現型とを判別することは明らかに困難である. 一方, Electrostarch ゲルではこれら二つの表現型を互いに見分けることは容易である.

1:15 希釈の緩衝液で作られた Electrostarch ゲルを用いると,  $PGM_1 1$  および 1-3 表現型では, 通常

Electrostarch gels made with a 1:15 dilution. One was located in the position of the *d* band, while the other was located slightly anodal to *d* and cathodal to *e*. Examination of the PGM<sub>1</sub> 1-2 or PGM<sub>1</sub> 2 phenotypes revealed only the latter band, the former presumably being superimposed on the *d* band. The minor band associated with PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> is located intermediate between these two bands. These minor bands provide a useful clue in avoiding an erroneous classification of PGM<sub>1</sub> 1-7 or PGM<sub>1</sub> 2-7 as PGM<sub>1</sub> 1-2 or PGM<sub>1</sub> 2.

During the comparison of the PGM zymograms on the two kinds of the starch, hemoglobin was found to move cathodal relative to the origin on the Connaught starch, while it moved slightly anodal to or stayed at the origin on the Electrostarch. When the pH of the supernatant of a mixture of the starch and the buffer was examined after 30 minutes of stirring, the pH was 7.25 and 7.20 when Electrostarch (lot No. 371) was employed, at buffer dilutions of 1:10 and 1:15, respectively; however, it was 7.05 and 6.90 at the same dilutions when Connaught starch (lot No. 311-1) was used. This suggested that the difference in the zymograms obtained with the two types of starch might have arisen from the different pH of the starch gels. After adjustment of the pH of the mixture to 7.25, the PGM zymogram on the Connaught starch was similar to that on Electrostarch. PGM<sub>1</sub> 2-7 showed four distinct isozyme bands even though hemoglobin migrated cathodally. The acidity of the Connaught starch was found to differ from lot to lot (pH range 6.8 to 7.05 with the 1:15 gel buffer dilution). PGM<sub>1</sub> was the most sensitive protein to the properties of the starch gel used to screen the 22 systems examined in our study. We believe that these slight technical differences (i.e., the kind and lot of starch, the pH, and the concentration of the gel buffer) are a principal reason why we found the PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> allele more frequently than it has been reported elsewhere in Japan (except in Okinawa, where the gene frequency for the PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> allele was found to be 0.015 among a sample of 647 Ryukyuan<sup>11</sup>).

Frequencies of the PGM<sub>1</sub><sup>7</sup> allele comparable to those of this paper have been encountered in several other populations in the Western Pacific Region: a frequency of 0.059 among 382 Micronesians in the Western Caroline Islands, a lesser frequency of 0.011 among 88 Chinese-

のバンドのほかに、極めて弱く染色されたバンドが2本認められた。1本は*d*バンドの位置にあり、他の1本は*d*よりもやや陽極寄り、*e*よりもやや陰極寄りにあった。PGM<sub>1</sub> 1-2またはPGM<sub>1</sub> 2表現型について調べると、後者のバンドのみが認められ、前者はおそらく*d*バンドの上に重なっているものと思われた。PGM<sub>1</sub><sup>7</sup>に由来する2本のバンドのうち、活性の弱い第2のバンドはこれら2本のサブバンドの中間に位置している。これら2本のサブバンドは、PGM<sub>1</sub> 1-7または2-7を1-2または2と誤認することを避ける上で有用な手がかりとなる。<sup>\*</sup>

2種類の澱粉を用いてPGMのザイモグラムを比較した時に、ヘモグロビンがConnaught starch上ではオリジン(サンプルを最初に置いた位置)よりも陰極側へ移動しているが、Electrostarch上では、やや陽極寄りかまたは、オリジンにとどまっていることが認められた。澱粉と緩衝液を混合し、30分間攪拌した後、その上澄のpHを調べたところ、Electrostarch(ロット番号371)の場合は、1:10の希釈緩衝液を用いた場合は7.25、1:15の場合は7.20であったが、Connaught starch(ロット番号311-1)を用いた場合は、同じ希釈度でそれぞれ7.05および6.90であった。このことから、2種類の澱粉によって得られたザイモグラムの差は、澱粉ゲルのpHの差によって生じているのではないかと考えられた。混合液のpHを7.25に調整したところ、Connaught starch上のPGMのザイモグラムはElectrostarch上のものに近似した。ヘモグロビンは陰極側へ移動したにもかかわらず、PGM<sub>1</sub> 2-7は、4本の明瞭なアイソザイムバンドを示した。Connaught starchの酸性度は、ロットごとに異なることが認められた(1:15希釈ゲル緩衝液の場合pH範囲は6.8から7.05)。今回の調査で検査した22種の蛋白質のうちでPGM<sub>1</sub>は、スクリーニングに用いた澱粉ゲルの性質に対して最も敏感であった。我々がPGM<sub>1</sub><sup>7</sup>対立遺伝子を、今まで日本で報告されたどの地域よりも高い頻度(例外は、沖縄島<sup>11</sup>の例で、ここでは647人の琉球人中にPGM<sub>1</sub><sup>7</sup>対立遺伝子が、0.015という遺伝子頻度で発見されている。)で発見した主な原因は、上述の技術上のわずかな差、すなわち、澱粉の種類やロットの違い、ゲル緩衝液のpHや濃度の違いなどによるものと考えている。

本報の所見に匹敵するPGM<sub>1</sub><sup>7</sup>対立遺伝子の頻度は、西太平洋地域の他の数集団にも認められている(BlakeとOmoto<sup>10</sup>)。すなわち、西キヤロライン島<sup>12</sup>のミクロネシア人382人中の頻度0.059、それより低いインドネシア<sup>13</sup>の中国系インドネシア人88人

\* PGM<sub>1</sub>では、いずれの型においても、そのアイソザイムバンドは通常2本認められる。活性のより強いアイソザイムを主アイソザイム(バンド)、それよりも活性の弱いバンドを第2のバンドと訳す。

Indonesians in Indonesia, and of 0.010 among 920 aborigines from the west of Malaysia.<sup>10,12-14</sup> Thus the allele, if it is identical throughout its distribution, appears to be widespread in the Pacific Islands and of considerable antiquity.

**The PGM<sub>1</sub> rare variants.** Six samples from Nagasaki showed a variant band on Electrostarch gel, the electrophoretic mobility of which was similar to that of the major isozyme of the PGM<sub>1</sub> 3 phenotype found by Hopkinson & Harris,<sup>15</sup> that is, slightly cathodal to the *d* band. For five of these six samples, the intensity of the major variant band was stronger than bands *a* and *c*. When the specimens were examined on Connaught starch gel, a minor variant band could be seen slightly cathodal to the middle of the area between bands *e* and *f*. Although gels made from Electrostarch have been found to be better than those made from Connaught starch for the detection of variant isozymes which appear around band *d*, the minor isozyme band mentioned above could not be seen when these five samples were processed on an Electrostarch gel. We suspect this minor band is superimposed on isozyme *e* in the Electrostarch preparations. The minor isozyme band was also not seen in runs on gels made from certain lots of Connaught starch. On the other hand, the sixth sample, even when it was very fresh, showed weak activity of the major variant band in combination with normal activity of *a* and *c* isozymes, but the minor band described above could not be recognized at all, even on a Connaught starch gel. After one week of storage at -70°C the major variant band of the sixth sample could not be seen, although it still showed strong activity in the other five samples. Although it has the same electrophoretic mobility, this labile variant seems different from the five other stable variants.

Studies on the families of two propositi who showed the stable phenotype in combination with the PGM<sub>1</sub> 1 phenotype and one propositus who exhibited the stable phenotype in combination with the PGM<sub>1</sub> 2 phenotype confirmed that this phenotype has a genetic basis (Figure 2 and Table 3). We propose to designate this phenotype as PGM<sub>1</sub> 3<sub>NGS 1</sub> and the responsible allele as PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> NGS<sub>1</sub>. Family studies have not been performed on the labile variant, which we shall designate as PGM<sub>1</sub> 3<sub>NGS 2</sub>. Since in any case it is an activity (rather than additional electrophoretic) variant, we shall not count it as

中の頻度 0.011, およびマレーシア西部<sup>14</sup>の原住民 920 人中の頻度 0.010 である。従って、もし報告された全ての地域において、この対立遺伝子が全く同一物であるとすれば、PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> という対立遺伝子は、太平洋の諸島に広く分布しており、しかも相当古くからあったものと考えられる。

**PGM<sub>1</sub>のまれな変異体.** 長崎の対象者 6 人が、Electrostarch ゲル上で変異体バンドを示し、その電気泳動上の移動度は、Hopkinson および Harris<sup>15</sup> が認めた PGM<sub>1</sub> 3 表現型の主アインザイムバンドのそれと近似していた。すなわち、*d* バンドよりもやや陰極側であった。これら 6 例の検体中の 5 例では、変異体の主バンドは、*a* バンドや *c* バンドよりも濃く染色される。これらの検体を Connaught starch ゲルを用いて調べると、活性の弱い第 2 バンドが *e* バンドと *f* バンドとの中間よりもやや陰極寄りに認められた。*d* バンドの周囲に現われる変異アインザイムを検出するためには、Electrostarch で作られたゲルは、Connaught starch で作られたゲルよりもよいことが認められているが、これら 5 検体を Electrostarch ゲルで泳動した場合は、上記の活性の弱い第 2 のアインザイムバンドは認められなかった。この活性の弱い第 2 のバンドは、Electrostarch を用いた場合には、アインザイム *e* の上に重なっているのではないかと思われる。この第 2 のアインザイムバンドは、Connaught starch で作られたゲルを用いて泳動を行っても、Starch のロットによっては認められなかった。一方、第 6 番目の検体では、検体が非常に新鮮であり、*a* および *c* アインザイム活性は正常であったにもかかわらず、主要変異体バンドの活性が弱かった。また、上記の活性の弱い第 2 のバンドは Connaught starch ゲルを用いた場合でも全然認められなかった。-70°C で 1 週間貯蔵した後では、ほかの 5 検体では依然として強い活性が認められたにもかかわらず、第 6 の検体では主要変異体バンドが認められなかった。電気泳動上の移動度は同じであっても、この不安定な変異体はほかの 5 例の安定な変異体とは異なるものと思われる。

安定な表現型の変異体と PGM<sub>1</sub> 1 表現型とをもつ発端者 2 人と、安定な表現型の変異体と PGM<sub>1</sub> 2 表現型とを有する発端者 1 人について家族調査を行ったところ、この表現型が遺伝的なものであることが確認された(図 2 および表 3 参照)。この表現型を PGM<sub>1</sub> 3<sub>NGS 1</sub>、原因となる対立遺伝子を PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> NGS<sub>1</sub> と命名する。不安定な変異体については、PGM<sub>1</sub> 3<sub>NGS 2</sub> と命名するつもりであるが、その家族調査は行っていない。PGM<sub>1</sub> 3<sub>NGS 2</sub> は、活性上の変異体であり、別種の電気泳動上の変異体ではないので、最終の要

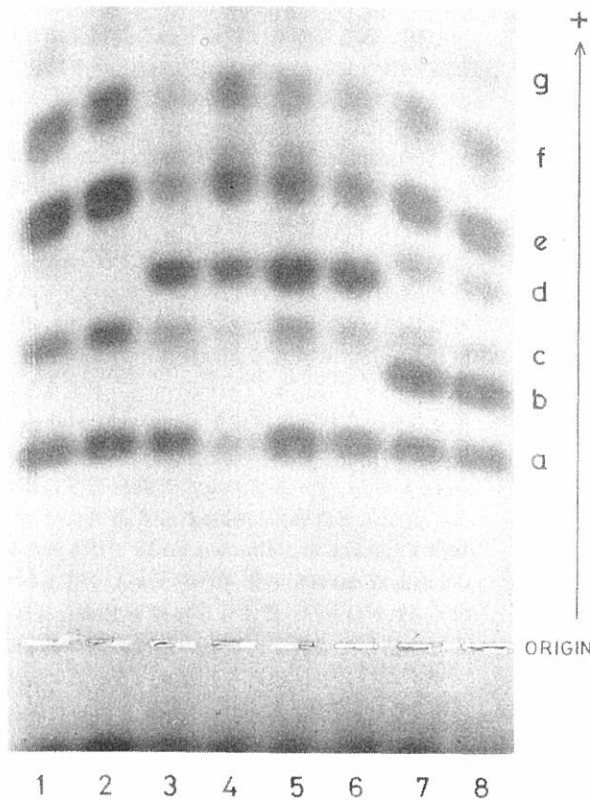


Figure 2. Starch gel electrophoretic patterns of normal and variant phosphoglucomutase on Connaught starch gel. Wells 1 & 2,  $PGM_1 1$ ; well 3,  $PGM_1 1-3_{NGS 1}$  (propositus); wells 4, 5, & 6,  $PGM_1 1-3_{NGS 1}$  (first daughter, second daughter, and first son of propositus); wells 7 & 8,  $PGM_1 1-2$ .

図2 Connaught starch ゲル上の Phosphoglucomutase の正常型および変異型の電気泳動像、試料溝 1 および 2,  $PGM_1 1$ ; 試料溝 3,  $PGM_1 1-3_{NGS 1}$  (発端者); 試料溝 4, 5 および 6,  $PGM_1 1-3_{NGS 1}$  (発端者の長女, 次女および長男); 試料溝 7 および 8,  $PGM_1 1-2$ .

an additional variant in the statistical considerations of our summary paper.<sup>16</sup>

Hopkinson & Harris<sup>15</sup> first encountered the rare  $PGM_1 1-3$  phenotype in a single individual in a sample of 2115 English persons; another rare phenotype,  $PGM_1 2-5$ , was found in a single individual in this same sample. The major isozyme of  $PGM_1 3$  had a mobility slightly slower than  $d$  and the minor isozyme had a mobility slightly faster than  $e$ . On the other hand, one of the isozymes of  $PGM_1 5$  had a mobility intermediate between  $c$  and  $d$  and the other a mobility intermediate between  $d$  and  $e$ . There is in our opinion some uncertainty in the identification of the  $PGM_1 1-3$  and  $PGM_1 1-5$  phenotypes reported for the Japanese populations. Ishimoto & Yada,<sup>17</sup> Ishimoto,<sup>18</sup> Omoto & Harada,<sup>19</sup> Shinoda & Matsunaga,<sup>20</sup> and Harada et al<sup>21</sup> have all reported low frequencies of the  $PGM_1^5$  allele in the central and eastern part of Japan (0.0007-0.0010). Shinoda & Matsunaga<sup>22</sup> reported the  $PGM_1^3$  allele to occur

約報告書<sup>16</sup>の統計的考察においては、それを別個の変異体としては、数えないことにしている。

Hopkinson および Harris<sup>15</sup> は、2115人の英国人からなる集団中で、1人だけに珍しい  $PGM_1 1-3$  を初めて認めた。同じ集団中にもう一つのまれな表現型  $PGM_1 2-5$  も1例認められている。 $PGM_1 3$  の主アイソザイムは、 $d$  よりもやや遅く、活性の弱い第2のアイソザイムは、 $e$  よりもわずかに速く移動した。それに対し、 $PGM_1 5$  のアイソザイムの一つは、 $c$  と  $d$  の中間まで移動し、他のアイソザイムは  $d$  と  $e$  の中間まで移動した。日本人集団について報告されている  $PGM_1 1-3$  および  $PGM_1 1-5$  表現型の判別には、不明確な点があると我々は考えている。Ishimoto と Yada,<sup>17</sup> Ishimoto,<sup>18</sup> Omoto と Harada,<sup>19</sup> Shinoda と Matsunaga,<sup>20</sup> ならびに Harada ら<sup>21</sup> のすべては、日本の中央部および東部では、 $PGM_1^5$  対立遺伝子の頻度が全て低い (0.0007-0.0010) と報告している。Shinoda と Matsunaga<sup>22</sup> は、東京と静岡に

in low frequency (0.0005 and 0.0003) in Tokyo and Shizuoka. Finally, Omoto et al<sup>11</sup> found a  $PGM_1^3$  gene frequency of 0.0039 in Okinawa. When the diagrams or the photographs presented by these authors were compared, the position of the major isozyme band in the pattern identified as  $PGM_1^5$  was similar to that of  $PGM_1^3$  while the position of the minor band was not clearly shown.

Recently, Blake & Omoto<sup>10</sup> have discussed the possibility of heterogeneity in the  $PGM_1^3$  alleles which have been detected in different populations. They proposed that the  $PGM_1^3$  allele found in Okinawa should be named  $PGM_1^3$  Okinawa because the major and minor isozyme bands associated with it were located slightly cathodal to those associated with the  $PGM_1^3$  allele found in New Guinea. They also proposed that the  $PGM_1^5$  allele type found in Japan should be named  $PGM_1^5$  Japan because the minor isozyme band associated with it was located in the *e* position, thus distinguishing it from the  $PGM_1^5$  allele reported in an English person by Hopkinson & Harris.<sup>15</sup> The gene frequency of  $PGM_1^3$  NGS 1 in Nagasaki was found to be 0.0024. This value is less than that found for  $PGM_1^3$  Okinawa, but higher than that obtained in the central to eastern parts of Japan for the  $PGM_1^3$  or  $PGM_1^5$  alleles. A precise comparison of the several kinds of  $PGM_1^3$  and  $PGM_1^5$  phenotypes occurring in Japan will be presented in a separate paper.<sup>23</sup>

A phenotype similar to that of  $PGM_1^{1-7}$  was encountered in a single individual in Nagasaki. After repeated electrophoresis, it was concluded that the major isozyme in this pattern moved slower than the *c* band but faster than the major isozyme of the  $PGM_1^7$  phenotype whereas the intensity of the minor isozyme was so weak that it could hardly be recognized (Figure 3). The phenotype is designated  $PGM_1^{9_{NGS 1}}$ . One of the daughters of the propositus showed the same phenotype,  $PGM_1^{1-9_{NGS 1}}$ , as that of the propositus and another daughter showed a  $PGM_1^{2-9_{NGS 1}}$  phenotype (Table 3). The allele which can be inferred from these studies is designated  $PGM_1^9$  NGS 1.

Five kinds of slow  $PGM_1$  variants, in which the major variant band migrates cathodal to band *a*, were found in a total of 4029 samples from Hiroshima and Nagasaki (Table 1). As mentioned earlier, 1895 samples (872 from Hiroshima and

oite  $PGM_1^3$  の遺伝子頻度が低い (おのおの 0.0005 と 0.0003) ことを報告した。また, Omoto ら<sup>11</sup> は,  $PGM_1^3$  の遺伝子頻度が沖縄において 0.0039 であることを認めた。上述の報告書に掲載されている模式図または写真を比較してみると,  $PGM_1^5$  とされている型の主アイソザイムバンドの位置は,  $PGM_1^3$  の主アイソザイムバンドの位置と近似している。一方, 活性の弱い第 2 のバンドの位置については, 明確に示されていない。

最近, Blake と Omoto<sup>10</sup> は, それぞれ異なった集団に発見され, 報告された  $PGM_1^3$  対立遺伝子は, 同一物ではない可能性があることを検討している。彼らは, 沖縄で認められた  $PGM_1^3$  対立遺伝子は, その遺伝子に由来する 2 本のアイソザイムバンドが, いずれもニューギニアで認められた  $PGM_1^3$  対立遺伝子に由来する 2 本のアイソザイムバンドよりも, わずかに陰極寄りに位置していたところから  $PGM_1^3$  Okinawa と命名することを提案した。彼らはまた, 日本で認められた  $PGM_1^5$  対立遺伝子は, その遺伝子によって作られた活性の弱い第 2 のバンドが *e* の位置にあったので  $PGM_1^5$  Japan と命名することによって, Hopkinson および Harris<sup>15</sup> が英国人に認めたと報告した  $PGM_1^5$  対立遺伝子と区別することを提案した。長崎における  $PGM_1^{3_{NGS 1}}$  の遺伝子頻度は, 0.0024 であった。この値は  $PGM_1^3$  Okinawa の遺伝子頻度よりも少ないが, 日本の中央部から東部にかけて得られた  $PGM_1^3$  または  $PGM_1^5$  対立遺伝子頻度よりも大きかった。日本で認められる数種類の  $PGM_1^3$  および  $PGM_1^5$  表現型については, 別の報告<sup>23</sup> で詳しく検討する予定である。

$PGM_1^{1-7}$  によく似た表現型を 1 例長崎で認めた。電気泳動検査をくり返し行った後に, この変異型では, 主アイソザイムは *c* バンドよりも遅く,  $PGM_1^7$  表現型の主バンドよりも速く移動すること, 第 2 のアイソザイムバンドは, 活性が非常に弱いために (バンドとして) 認めることができないことを確認した (図 3)。この表現型を  $PGM_1^{9_{NGS 1}}$  と命名した。発端者の娘の 1 人は, 発端者と同じ  $PGM_1^{1-9_{NGS 1}}$  表現型を示し, もう 1 人の娘は  $PGM_1^{2-9_{NGS 1}}$  表現型を示した (家族調査に関する表 3)。これらの調査から推定できる対立遺伝子を  $PGM_1^9$  NGS 1 と命名した。

広島・長崎の対象者合計 4029 人中に, 主変異体バンドが *a* バンドよりも陰極寄りに移動する  $PGM_1$  の遅い変異体を 5 種類認めた (表 1)。さきに述べたように, 1895 例の対象例 (広島 872 例, 長崎 1023 例) につ

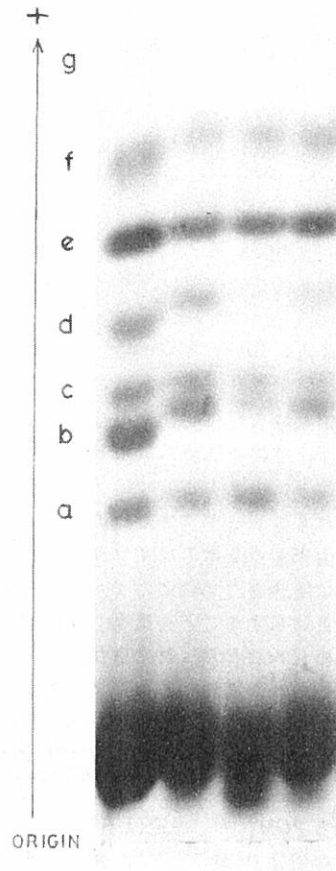


Figure 3. Starch gel comparing the phenotypes of  $PGM_1 1-9_{NGS 1}$  &  $PGM_1 1-7$ : well 1,  $PGM_1 1-2$ ; wells 2 & 4,  $PGM_1 1-7$ ; well 3,  $PGM_1 1-9$ .

図3  $PGM_1 1-9_{NGS 1}$ と $PGM_1 1-7$ の表現型の比較を行った澱粉ゲル: 試料溝1,  $PGM_1 1-2$ ; 試料溝2および4,  $PGM_1 1-7$ ; 試料溝3,  $PGM_1 1-9$ .

1023 from Nagasaki) were examined in the tris-maleic acid buffer of Spencer et al.<sup>5</sup> The remaining 2134 samples (1781 from Hiroshima and 353 from Nagasaki) were examined in the discontinuous histidine-sodium citrate buffer of Fildes & Harris<sup>3</sup> as described in the section on Materials and Methods. Although we found this latter system unsatisfactory for the detection of fast variants, it did yield a number of slow variants, all of which could also be seen with the tris-maleic acid system. The slow variants found in both buffer systems were tentatively designated as  $PGM_1 8_{NGS 1}$ ,  $PGM_1 6_{HIR 2}$ ,  $PGM_1 6_{HIR 1}$ ,  $PGM_1 6_{NGS 2}$ , and  $PGM_1 6_{NGS 1}$ , listed in the sequence of the delay in the migration of the main isozyme band in tris-maleic acid buffer at pH 7.4. The corresponding allele symbols would be  $PGM_1^8_{NGS 1}$ ,  $PGM_1^6_{HIR 2}$ ,  $PGM_1^6_{HIR 1}$ ,  $PGM_1^6_{NGS 2}$ , and  $PGM_1^6_{NGS 1}$ . The patterns are shown diagrammatically in Figure 4 and photographs of typical determinations of the various phenotypes are shown in Figure 5.

いては Spencer ら<sup>5</sup> のトリス-マレイン酸緩衝液で検査を行った。残り2134例(広島1781例, 長崎353例)については, 材料および方法の項で述べたように, Fildes および Harris<sup>3</sup> のヒスチジーン-クエン酸ナトリウム不連続緩衝液で検査した。後の方法は, 速く移動する変異体を検出するにはよい方法ではないが, それでも遅い変異体を相当数検出することができた。これらの遅い変異体はすべてトリス-マレイン酸法でも検出することができた。上記の2種類の緩衝液を用いて検出された遅い変異体をトリス-マレイン酸緩衝液 pH 7.4 で泳動したときの主アイソザイムバンドの位置で, 遅い順から  $PGM_1 8_{NGS 1}$ ,  $PGM_1 6_{HIR 2}$ ,  $PGM_1 6_{HIR 1}$ ,  $PGM_1 6_{NGS 2}$ ,  $PGM_1 6_{NGS 1}$  と暫定的に命名した。これに相応する対立遺伝子の記号は,  $PGM_1^8_{NGS 1}$ ,  $PGM_1^6_{HIR 2}$ ,  $PGM_1^6_{HIR 1}$ ,  $PGM_1^6_{NGS 2}$ ,  $PGM_1^6_{NGS 1}$  となる。そのパターンダイアグラム(模式図)を図4に示し, 各種表現型の典型的な泳動像の写真を図5に示した。

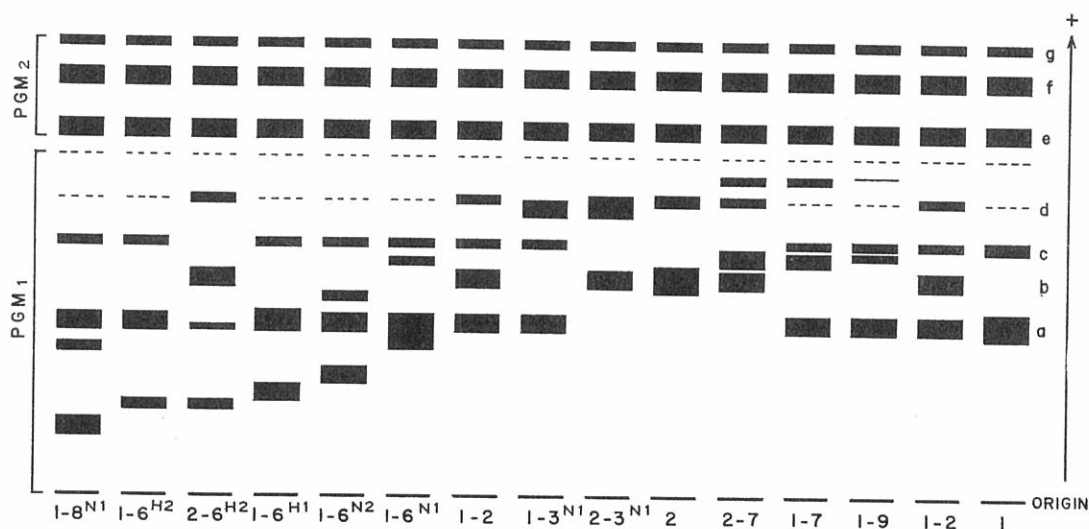


Figure 4. Diagram of a composite starch gel showing the various phenotypes of  $PGM_1$  found in the present study (NGS and HIR are abbreviated as N and H).

図4 本調査で発見された $PGM_1$ の各表現型の模式図; 異なった澱粉ゲル上に得られたものを合成して示したもの (NGSおよびHIRはそれぞれNおよびHと略した)。

The minor isozyme band of the  $PGM_1 8_{NGS 1}$  pattern clearly migrated cathodally to the *a* band in tris-maleic acid buffer, while that of the  $PGM_1 6_{NGS 1}$  and  $PGM_1 6_{NGS 2}$  patterns clearly moved faster than *a* band. The minor isozyme of the  $PGM_1 6_{HIR 1}$  phenotype migrated slightly anodally to the *a* band and that of the  $PGM_1 6_{HIR 2}$  phenotype overlapped the *a* band.

When the electrophoretic resolution of a  $PGM_1 2-6_{HIR 2}$  phenotype was particularly sharp, the minor isozyme associated with the  $PGM_1^6_{HIR 2}$  allele could be seen to be very slightly slower than band *a*. The minor isozyme bands associated with  $PGM_1^6_{NGS 2}$  and  $PGM_1^6_{HIR 1}$  alleles could not be recognized in a 1:10 dilution of bridge buffer. As reported previously, the mobility of the isozymes associated with the  $PGM_1^8_{NGS 1}$  and  $PGM_1^6_{HIR 2}$  alleles changed in the histidine-sodium citrate buffer.<sup>24,25</sup> In that system the order of the migration of the isozymes from the cathodal side is  $PGM_1 6_{HIR 2}$ ,  $PGM_1 8_{NGS 1}$ ,  $PGM_1 6_{HIR 1}$ ,  $PGM_1 6_{NGS 2}$ , and  $PGM_1 6_{NGS 1}$ . This phenomenon is useful for the characterization of  $PGM_1 6_{HIR 2}$  and

トリス-マレイン酸緩衝液を用いた時、第2のアイソザイムバンドは $PGM_1 8_{NGS 1}$ 型では、明らかに*a*バンドよりも陰極寄りに移動したが、 $PGM_1 6_{NGS 1}$ および $PGM_1 6_{NGS 2}$ 型では、明らかに*a*バンドよりも速く移動した。 $PGM_1 6_{HIR 1}$ 表現型の第2アイソザイムは*a*バンドよりやや陽極寄りに移動し、 $PGM_1 6_{HIR 2}$ 表現型のそれは*a*バンドと重なった。

$PGM_1 2-6_{HIR 2}$ 表現型の電気泳動で、バンドの分離が非常によい場合には、 $PGM_1^6_{HIR 2}$ 対立遺伝子に由来する第2のアイソザイムバンドは*a*バンドよりもごくわずかに遅いことが認められた。ブリッジ緩衝液の1:10希釈液をゲル緩衝液として用いた場合は、 $PGM_1^6_{NGS 2}$ および $PGM_1^6_{HIR 1}$ 対立遺伝子に由来する第2のアイソザイムバンドを認めることはできなかった。さきに報告したように、<sup>24,25</sup>  $PGM_1^8_{NGS 1}$ および $PGM_1^6_{HIR 2}$ 対立遺伝子に由来するアイソザイムの移動度は、ヒスチジン-クエン酸ナトリウム緩衝液を用いると変化した。この緩衝液を用いると、アイソザイムの移動する順序は、陰極側から、 $PGM_1 6_{HIR 2}$ 、 $PGM_1 8_{NGS 1}$ 、 $PGM_1 6_{HIR 1}$ 、 $PGM_1 6_{NGS 2}$ および $PGM_1 6_{NGS 1}$ となる。この移動順が逆転する現象は、 $PGM_1 6_{HIR 2}$ と $PGM_1 8_{NGS 1}$ を識別する

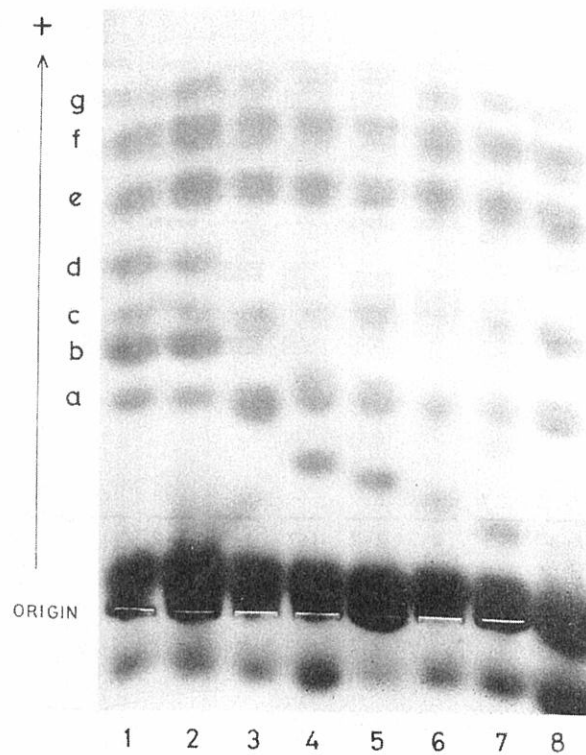


Figure 5. Starch gel showing the  $PGM_1$  phenotypes which have a major isozyme band slower than the a band. Wells 1 & 2,  $PGM_1$  1-2; well 3,  $PGM_1$  1-6 $_{NGS}$  1; well 4,  $PGM_1$  1-6 $_{NGS}$  2; well 5,  $PGM_1$  1-6 $_{HIR}$  1; well 6,  $PGM_1$  1-6 $_{HIR}$  2; well 7,  $PGM_1$  1-8 $_{NGS}$  1; well 8,  $PGM_1$  1.

図5 aバンドよりも主アイソザイムバンドを有する数種の遅い $PGM_1$ 表現型を示す澱粉ゲルの写真。試料溝1および2,  $PGM_1$  1-2; 試料溝3,  $PGM_1$  1-6 $_{NGS}$  1; 試料溝4,  $PGM_1$  1-6 $_{NGS}$  2; 試料溝5,  $PGM_1$  1-6 $_{HIR}$  1; 試料溝6,  $PGM_1$  1-6 $_{HIR}$  2; 試料溝7,  $PGM_1$  1-8 $_{NGS}$  1; 試料溝8,  $PGM_1$  1.

$PGM_1$  8 $_{NGS}$  1. The validity of the distinction between the phenotypes attributed to the  $PGM_1$  8 $_{NGS}$  1,  $PGM_1$  6 $_{HIR}$  2,  $PGM_1$  6 $_{HIR}$  1, and  $PGM_1$  6 $_{NGS}$  2 alleles has been confirmed by family studies. A family study for the  $PGM_1$  6 $_{NGS}$  1 allele has not been carried out.\* A detailed comparison of the differences and the similarities of these slow variants with the other slow variants reported thus far in Japanese is presented in a separate paper.<sup>26</sup>

#### Phosphoglucomutase-2

No variants of  $PGM_2$  were detected in the total of 4029 samples examined with either histidine-sodium citrate discontinuous buffer or tris-maleic acid buffer, the actual numbers being as shown in Table 1 for  $PGM_1$ . None of the other studies in Japan have detected variants of  $PGM_2$ .<sup>7</sup>

#### 6-Phosphogluconate Dehydrogenase

The prevalence among 4014 samples (2648 from

のに有用である。 $PGM_1$  8 $_{NGS}$  1,  $PGM_1$  6 $_{HIR}$  2,  $PGM_1$  6 $_{HIR}$  1 および  $PGM_1$  6 $_{NGS}$  2 対立遺伝子に由来する各表現型をおのおの区別することは妥当であることが家族調査によって確認されている。 $PGM_1$  6 $_{NGS}$  1 対立遺伝子に関する家族調査は行われていない。\* これらの移動度の遅い変異体と、これまで日本人に報告されているその他の遅い変異体との間の差および類似性に関しては、別の報告<sup>26</sup>で詳しく比較する予定である。

#### Phosphoglucomutase - 2

ヒスチジン-クエン酸ナトリウム不連続緩衝液またはトリス-マレイン酸緩衝液のいずれかによって検査した合計4029人の対象群中には、 $PGM_2$ の変異体は認められなかった。詳細な数は $PGM_1$ として表1に示したものと同一である。日本における他の調査でも $PGM_2$ の変異体は発見されていない。<sup>7</sup>

#### 6 - Phosphogluconate Dehydrogenase

本調査の対象者4014例(広島2648例, 長崎1366例)に

\*The second son of the proband who showed  $PGM_1$  1-6 $_{NGS}$  1 had the same variant pattern.

最近になって $PGM_1$  1-6 $_{NGS}$  1を示した発端者の次男に同じ変異体パターンが認められた。



TABLE 4 PHENOTYPES AND GENE FREQUENCIES FOR THE 6-PGD POLYMORPHISM IN HIROSHIMA AND NAGASAKI

表4 広島と長崎における多型を示す6-PGDの表現型および遺伝子頻度

Phenotype	Hiroshima	Nagasaki	Combined
A	2213	1117	3330
A-C	419	242	661
C	14	6	20
Variants	2	1	3
No type*	5	10	15
Total	2653	1376	4029
-----			
PGDA**	0.916	0.907	0.913
PGDC	0.084	0.093	0.087
$\chi^2$	1.534	3.483	
P	.20 < P < .30	.05 < P < .10	

\*These samples gave a 6-PGD pattern which could not be typed accurately.

これらの標本は、正確には型の決定ができないような6-PGDパターンを示した。

\*\*Calculation of gene frequencies excludes "no types" and variants.

遺伝子頻度の算定には、「型の決定ができないもの」と変異体は除外した。

Hiroshima and 1366 from Nagasaki) of the phenotypes of the A-C polymorphism of 6-PGD obtained in the present study, and the gene frequencies, are summarized in Table 4. There were, in addition, 15 untypable specimens. The frequencies for the  $PGD^C$  allele were 0.084 and 0.093 in Hiroshima and Nagasaki residents, respectively. Ishimoto et al<sup>8</sup> reported a  $PGD^C$  frequency of 0.11 among 526 samples in Hiroshima and Ishimoto & Kuwata<sup>9</sup> observed a value of 0.10 among 608 samples in Nagasaki. In a recent review by Ishimoto,<sup>7</sup> the gene frequency of the  $PGD^C$  allele in 7221 Japanese is estimated to be 0.086, when all the data except for the isolates and the Ainu are combined. Thus, the allele frequency values obtained in the present study fall very close to the mean value for the Japanese.

We have encountered three different fast variants of 6-PGD, each in a single individual, one in Nagasaki and two in Hiroshima, all three in combination with the normal A phenotype. As shown diagrammatically in Figure 6 each of the variant patterns consisted of three bands; the slowest band of the triplet was seen at the position of the normal  $a$  band, and the middle band was placed in the center between the  $a$  band and the most anodal band. As we have not yet compared these variants with any other

おける6-PGDのA-C表現型間の多型現象、および遺伝子頻度は表4に要約してある。そのほかに型の決定できない検体が15あった。広島および長崎の居住者における $PGD^C$ 対立遺伝子の頻度は、それぞれ0.084および0.093であった。石本ら<sup>8</sup>の報告では、広島の対象者526人中における $PGD^C$ の頻度は0.11であり、Ishimoto およびKuwata<sup>9</sup>によれば長崎の対象者608人中でその値は0.10であった。最近のレビュー<sup>7</sup>によれば、隔離集団とアイヌを除いた者についての資料すべてを合計した場合、日本人7221人について $PGD^C$ 対立遺伝子の頻度は0.086と算定されている。従って本調査で得られた対立遺伝子の頻度は、日本人の平均値に極めて近いものである。

6-PGDの変異体としては、移動度の速いものを3例発見したが、1例は長崎、2例は広島で認められ、いずれも正常のA型と変異型とを併せもつことを示していた。図6にみられるように、変異体パターンは、3本のバンドから成り、そのうちの最も遅いバンドは正常の $a$ バンドの位置にみられ、中間のバンドは $a$ バンドと最も陽極側のバンドとの中間に位置していた。これらの変異体は、まだ他の既知の変異体と比較していないので、陽極側への移動の速い

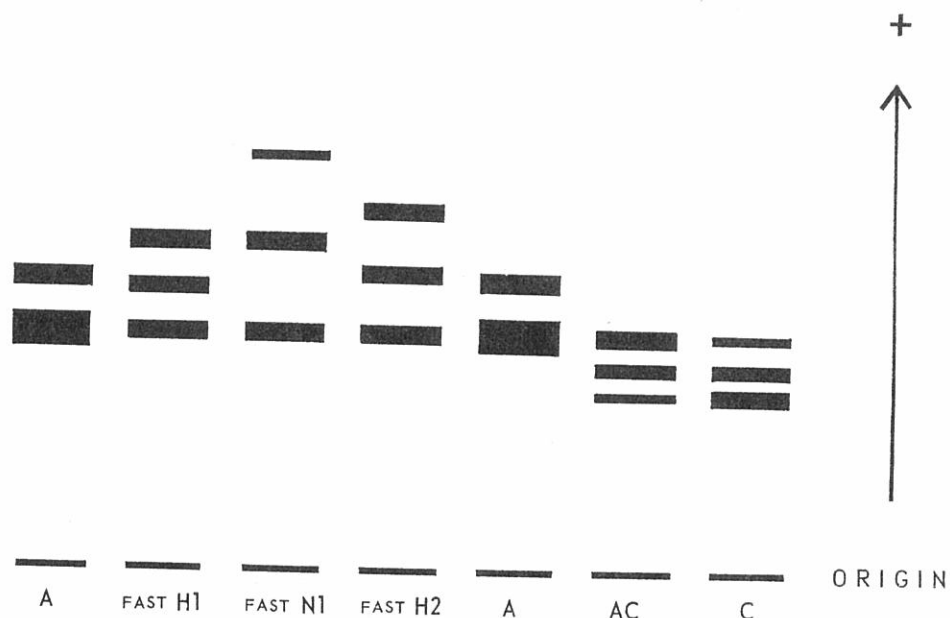


Figure 6. Diagram of a starch gel showing phenotypes of 6-PGD variants. Electrophoresis was carried out for 20 hours in the histidine-sodium citrate discontinuous buffer system.

図6 数種の6-PGD変異体の表現型を示す澱粉ゲルの模式図。電気泳動はヒスチジン-クエン酸ナトリウム不連続緩衝液法により、20時間行われた。

known variants, they are tentatively named as 6-PGD NGS 1, 6-PGD HIR 2, and 6-PGD HIR 1 in the order of the migration toward anode. With respect to the intensity of the three bands, in the 6-PGD A-NGS 1 pattern, in which the variant band is the most rapidly migrating observed in the present study, the intensity of the *a* and the middle bands was equal, while the most anodal band stained only faintly. In the 6-PGD A-HIR 2 and 6-PGD A-HIR 1 patterns, the three bands stained with equal intensity after gel electrophoresis for 20 hours, but the *a* band stained most intensely when electrophoresis was limited to 4 hours. Under either electrophoretic condition, all three of these variants differed from the intensity pattern of the C phenotype of the common polymorphism (the "Canning" variant), in which the most cathodal, *c*, band is the most intense, the middle band is intermediate in intensity and the *a* band is faint. No change was observed in the pattern when these three variants were treated with 2-mercaptoethanol.

The distance between the *a* band and the most anodal band of 6-PGD A-HIR 1 is slightly

順に、暫定的に6-PGD NGS 1, 6-PGD HIR 2 および6-PGD HIR 1と命名した。6-PGD A型と本調査で発見された変異体の中で、最も速く移動するバンドを示す6-PGD A-NGS 1からなるパターンで、その3本のバンドの濃度についていうならば、*a*バンドと中間のバンドの濃度は等しく、最も陽極側のバンドは、ごく薄かった。6-PGD A-HIR 2および6-PGD A-HIR 1のパターンでは、20時間電気泳動を行った場合は、3本のバンドは同じ濃度を示したが、電気泳動を4時間に限定した場合は、*a*バンドが最も濃く染った。上記のいずれの条件においても、これら3種の変異体の濃度パターンは、通常、多型としてみられるC表現型("Canning"変異体)の濃度パターンとは異なっている。C表現型では、最も陰極寄りの*c*バンドが最も濃く、中間のバンドは中間の濃さで、*a*バンドはごく薄く染色される。これら3種の変異体を2-メルカプトエタノールで処理しても、パターンに変化はみられなかった。

*a*バンドと6-PGD A-HIR 1の最も陽極側のバンドとの間隔は、*a*バンドと通常の変異体(表現型は

greater than that between the *a* band and the most cathodal band of the common variant (phenotype 6-PGD AC). The mobility of the most anodal band of 6-PGD A-HIR 1 is the same as that of the middle band of 6-PGD A-NGS 1. In the photographs of Blake et al<sup>27</sup> and Blake & Kirk,<sup>28</sup> the same relationship between the "Richmond" variant and the "Elcho" variant can be seen. Nevertheless, we are reluctant to classify the variants we have designated as 6-PGD A-HIR 1 and 6-PGD A-NGS 1 as electrophoretically identical to the "Richmond" and "Elcho" variants respectively until confirmed by a direct comparison. Limited family studies for these variants showed the same variant pattern in a child of each propositus (Table 3).

Neither rare electrophoretic variants nor patterns with a deficiency in the activity of 6-PGD have been reported in the Japanese populations listed in the review of 6-PGD in Japanese.<sup>7</sup>

#### Adenosine Deaminase

The prevalence among 4021 samples (2651 from Hiroshima and 1370 from Nagasaki) of the phenotypes of the well-known polymorphism of ADA, and the gene frequencies for *ADA*<sup>1</sup> and *ADA*<sup>2</sup>, are summarized in Table 5. There were eight untypable samples. The frequencies for the *ADA*<sup>2</sup> allele were 0.025 and 0.032 for Hiroshima and Nagasaki residents, respectively. No rare variants of ADA were encountered.

Ishimoto & Kuwata<sup>29</sup> observed an *ADA*<sup>2</sup> frequency of 0.028 among 448 samples in Hiroshima, and these same investigators obtained a value of 0.021 among 608 samples in Nagasaki.<sup>9</sup> Ishimoto<sup>7</sup> concluded in his review of ADA that there are no marked regional differences in the frequencies for the *ADA*<sup>1</sup> and *ADA*<sup>2</sup> alleles in the Japanese. The estimated frequency for the *ADA*<sup>2</sup> allele from the combined total of 5754 non-Ainu Japanese is 0.024.

#### Adenylate Kinase

A total of 2250 samples (1098 from Hiroshima and 1152 from Nagasaki) were examined for AK. All the samples showed the AK 1 phenotype. All Japanese individuals so far examined are of phenotype 1.<sup>7</sup>

#### DISCUSSION

The principal finding of this paper is the high frequency of rare variants of the PGM<sub>1</sub> system,

6-PGD AC)の最も陰極側のバンドとの間隔よりもわずかに広い。6-PGD A-HIR 1の最も陽極側のバンドは、6-PGD A-NGS 1の真ん中のバンドと同じところまで移動する。Blakeら<sup>27</sup>、ならびにBlakeとKirk<sup>28</sup>の論文の写真を見ると"Richmond"変異体と"Elcho"変異体との間には、これと同じようなバンド間隔の関係が認められる。しかし、直接に比較を行うまでは、6-PGD A-HIR 1および6-PGD A-NGS 1と命名した我々の変異体と、"Richmond"および"Elcho"の各変異体とが電気泳動上同一であると分類しようとは思わない。これらの変異体について限られた範囲で行った家族調査では、各発端者の子供1人に同じ変異体パターンが認められた(表3)。

日本人における6-PGDについてのレビュー<sup>7</sup>によると6-PGDのまれな電気泳動上の変異体も、活性低下の認められるパターンも日本人集団中には報告されていない。

#### Adenosine Deaminase

対象者4021例(広島2651例、長崎1370例)中に認められた多型としてよく知られているADA表現型の存在する割合と、*ADA*<sup>1</sup>、*ADA*<sup>2</sup>の遺伝子頻度とを表5にまとめた。型の決定できない検体が8例あった。広島と長崎の居住者の*ADA*<sup>2</sup>対立遺伝子の頻度は、それぞれ0.025と0.032であった。ADAのまれな変異体は認められなかった。

IshimotoとKuwataは、*ADA*<sup>2</sup>の遺伝子頻度について広島の対象者448例では0.028と報告し、<sup>29</sup>長崎では608例中0.021と報告している。<sup>9</sup>Ishimotoは、ADAに関するレビュー<sup>7</sup>の中で、日本人における*ADA*<sup>1</sup>および*ADA*<sup>2</sup>対立遺伝子の頻度には、著しい地域差はないと結論している。アイヌを除く日本人合計5754人中の*ADA*<sup>2</sup>対立遺伝子の頻度は0.024と算定される。

#### Adenylate Kinase

合計2250人の対象者(広島1098人、長崎1152人)についてAK(Adenylate Kinase)を調べた。検体のすべては、AK 1表現型であった。これまでに調べられた日本人対象者は全て表現型は1であった。<sup>7</sup>

#### 考 察

本報で得られた最も重要な所見は、PGM<sub>1</sub>のまれな変異体が高い頻度で認められたことである。特にPGM<sub>1</sub>とは共通の起源から遺伝子の複製によって生

TABLE 5 PHENOTYPES AND GENE FREQUENCIES FOR THE ADA POLYMORPHISM IN HIROSHIMA AND NAGASAKI

表5 広島と長崎における多型を示すADAの表現型および遺伝子頻度

Phenotype	Hiroshima	Nagasaki	Combined
1	2523	1286	3809
2-1	126	79	205
2	2	5	7
No type*	2	6	8
Total	2653	1376	4029
-----			
ADA <sup>1**</sup>	0.975	0.968	0.973
ADA <sup>2</sup>	0.025	0.032	0.027
$\chi^2$	0.155	9.634	
P	.50 < P < .70	.001 < P < .01	

\*These samples gave an ADA pattern which could not be typed accurately.

これらの標本は、正確には型の決定ができないADAパターンを示した。

\*\*Calculation of gene frequencies excludes "no types."

遺伝子頻度の計算では、「型の決定ができないもの」を除外した。

especially in the face of a lack of variation in the PGM<sub>2</sub> system, despite their possible common origin through gene duplication.<sup>30</sup> Furthermore, a greater number of different PGM<sub>1</sub> variants, and a higher frequency for these variants, were encountered in the population of Nagasaki compared to the population of Hiroshima. Thus, in the tris-maleic acid buffer system, an allele designated PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> NGS 1, which produces isozymes electrophoretically similar if not identical with those produced by the PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> allele of other authors, was detected in five individuals in 1023 samples from Nagasaki though no such allele was detected in 870 samples from Hiroshima. The gene frequency for the PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> NGS 1 allele is 0.0024, which is at least five times higher than that for the PGM<sub>1</sub><sup>3</sup> allele observed in the central part of Japan (Tokyo 0.0005 & Shizuoka 0.0003). Furthermore, four kinds of rare alleles which are associated with slow variants, designated PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 2, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 2, and PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> NGS 1 totaling in number nine, were found in 1373 samples from Nagasaki. Two of these four kinds of rare alleles, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 1 and PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 2, were detected only in the Nagasaki population. In the population of Hiroshima, three kinds of alleles which produce slow variants, namely PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 2, and PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 1, totaling in number four, were detected in 2648 samples, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 1 being found only in Hiroshima. As mentioned pre-

じた可能性が考えられている<sup>30</sup> PGM<sub>2</sub>には、全く変異が認められなかったことを考える時これは重要である。さらに長崎では、対象者中に広島に比べて PGM<sub>1</sub>変異体が種類も頻度も多く発見された。他の報告においては、PGM<sub>1</sub><sup>3</sup>対立遺伝子の産物であるとされているアイソザイムと電気泳動的に同一物ではないかも知れないが、非常によく似たアイソザイムを合成する対立遺伝子があり、我々はこれをPGM<sub>1</sub><sup>3</sup>NGS 1と命名している。この対立遺伝子は、トリス-マレイン酸緩衝液を用いた場合には長崎の対象者1023例中5例に認められたが、広島の対象者870例中には全く認められなかった。PGM<sub>1</sub><sup>3</sup>NGS 1対立遺伝子の頻度は0.0024であるが、これは日本の中央部で認められたPGM<sub>1</sub><sup>3</sup>対立遺伝子の頻度(東京で0.0005, 静岡で0.0003)の少なくとも5倍は高いのである。さらに移動度の遅い変異体を産生する対立遺伝子PGM<sub>1</sub><sup>6</sup>NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup>NGS 2, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup>HIR 2, PGM<sub>1</sub><sup>8</sup>NGS 1の4種を合計9例、長崎の対象者1373例中に認めた。これらのまれな対立遺伝子のうちPGM<sub>1</sub><sup>6</sup>NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup>NGS 2は長崎でのみ認められた。広島集団では遅い変異体を産生する3種の対立遺伝子、すなわちPGM<sub>1</sub><sup>8</sup>NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup>HIR 2およびPGM<sub>1</sub><sup>6</sup>HIR 1が、対象者2648例中合計4例認められ、そのうちPGM<sub>1</sub><sup>6</sup>HIR 1は広島でのみ認められた。

viously, the calculation of the variant frequencies should be based on the results of the tris-maleic acid system. The combined frequency for the alleles associated with slow variants in Hiroshima is 0.0006 and that in Nagasaki is 0.0030. The value obtained in Nagasaki is about ten times higher than that (0.0003) which is calculated by us based on the review by Ishimoto<sup>7</sup> of a combined sample of 10,851 Japanese.

The occurrence of the  $PGM_1^7$  allele in polymorphic frequencies (0.016 for Hiroshima and 0.014 for Nagasaki populations) is reported. Although the frequencies for the allele  $PGM_1^3$  NGS 1 and the alleles which produce slow variants were different in Hiroshima and Nagasaki populations, the frequencies for the  $PGM_1^7$  are almost the same in the two populations. Though the  $PGM_1^7$  allele has been previously observed in the Japanese population, such a high frequency has not previously been encountered.

It should be mentioned that the Japanese studies have employed the tris-maleic acid buffer system, which we found best for the detection of fast variants. We believe the difference in our results with respect to fast variants is due to the starch and the gel buffer (a 1:15 dilution of the bridge buffer) employed. It will be interesting to extend the study of the  $PGM_1$  system to populations in the eastern part of Japan, in order to determine whether this high frequency is unique to these two populations.

前述のごとく、変異体の頻度はトリス—マレイン酸法の結果を基に計算すべきである。遅い変異体を産生する対立遺伝子の合計頻度は、広島では0.0006、長崎では0.0030である。長崎で得られた値は、日本人10,851人の合計集団についての Ishimoto<sup>7</sup> のレビュー<sup>7</sup> を基に我々が算定した値(0.0003)よりも約10倍高い。

$PGM_1^7$  対立遺伝子が多型と呼ばれるに値する頻度(広島で0.016, 長崎で0.014)で発見されたことも報告されている。対立遺伝子  $PGM_1^3$  NGS 1 および移動度の遅い変異体を産生するいくつかの対立遺伝子の頻度は、広島と長崎とは異なるが  $PGM_1^7$  の頻度は両集団ともほとんど同じである。 $PGM_1^7$  対立遺伝子は、従来より日本人集団中に発見されているが、このような高い頻度はこれまでに認められていない。

日本で行われた調査では、我々が移動度の速い変異体を発見するためには最適と認めたトリス—マレイン酸緩衝液が用いられていることを述べておく必要がある。移動度の速い変異体について認められたこの違いは、用いた澱粉およびゲル緩衝液(ブリッジ緩衝液の1:15希釈を用いたこと)によるものと考えている。 $PGM_1^7$  対立遺伝子の遺伝子頻度の高いことがこれら両市の集団に特有のものか否かを確認するために、 $PGM_1$  に関する調査を日本東部の集団にまで拡大することは興味あることである。

## 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 variants of 22 proteins. I. Albumin, ceruloplasmin, haptoglobin, and transferrin. *Ann Hum Genet* 40:407, 1977 (RERF TR 3-76)
2. UEDA N, SATOH C, TANIS RJ, FERRELL RE, KISHIMOTO S, NEEL JV, HAMILTON HB, BABA K: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. II. Carbonic anhydrase I, carbonic anhydrase II, lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase, nucleoside phosphorylase, triose phosphate isomerase, hemoglobin A, and hemoglobin A<sub>2</sub>. *Ann Hum Genet* 41:43, 1977 (RERF TR 4-76)
3. FILDES RA, HARRIS H: Genetically determined variation of adenylate kinase in man. *Nature* 209: 261, 1966
4. SPENCER N, HOPKINSON DA, HARRIS H: Adenosine deaminase polymorphism in man. *Ann Hum Genet* 32:9, 1968
5. SPENCER N, HOPKINSON DA, HARRIS H: Phosphoglucomutase polymorphism in man. *Nature* 204:742, 1964
6. FILDES RA, PARR CW: Human red cell phosphogluconate dehydrogenase. *Nature* 200:890, 1963
7. ISHIMOTO G: Red cell enzymes. Chap. 3 in *Human Adaptability*, Vol. 2: Anthropological and Genetic Studies on the Japanese, Ed by S. Watanabe, S. Kondo & E. Matsunaga. Tokyo, University of Tokyo Press, 1975. p 109
8. ISHIMOTO G, KUWATA M, KUBOTA S: Red cell enzyme polymorphism in Japanese populations: A study on distribution of the phenotypes and forensic use in paternity cases. *Jpn J Legal Med* 27:134, 1973
9. ISHIMOTO G, KUWATA M: Studies on the polymorphic types of ten blood proteins in Kyushu district, southwestern part of Japan. *Jpn J Legal Med.* 27:346, 1973
10. BLAKE NM, OMOTO K: Phosphoglucomutase types in the Asian-Pacific area: A critical review including new phenotypes. *Ann Hum Genet* 38:251, 1975
11. OMOTO K, ISHIZAKI K, HARADA S, AKAISHI S, KUDO T, TAKAHASHI K: The distribution of serum protein and red cell enzyme types among blood donors of Okinawa Island, the Ryukyus. *J Anthropol Soc Nippon* 81:159, 1973
12. BLAKE NM, OMOTO K, KIRK RL, GAJDUSEK DC: Variation in red cell enzyme groups among populations of the western Caroline Islands, Micronesia. *Am J Hum Genet* 25:413, 1973
13. LIE-INJO LE, POEY-OEY HG: Phosphoglucomutase, carbonic anhydrase and catalase in Indonesians. *Hum Hered* 20:215, 1970
14. WELCH QB, LIE-INJO LE, MOLTON JM: Phosphoglucomutase and carbonic anhydrase in western Malaysian aborigines. *Hum Hered* 22:28, 1972
15. HOPKINSON DA, HARRIS H: Rare phosphoglucomutase phenotypes. *Ann Hum Genet* 30:167, 1966
16. NEEL JV, UEDA N, SATOH C, FERRELL RE, TANIS RJ, HAMILTON HB: 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)
17. ISHIMOTO G, YADA S: Frequency of red cell phosphoglucomutase phenotypes in the Japanese population. *Hum Hered* 19:198, 1969

18. ISHIMOTO G: Further studies on the distribution of erythrocyte enzyme types in Japanese. *Jpn J Hum Genet* 15:26, 1970
19. OMOTO K, HARADA S: Frequencies of polymorphic types of four red cell enzymes in a central Japanese population. *Jpn J Hum Genet* 14:298, 1970
20. SHINODA T, MATSUNAGA E: Studies on polymorphic types of several red cell enzymes in Japanese population. *Jpn J Hum Genet* 15:133, 1970
21. HARADA S, AKAISHI S, KUDO T, OMOTO K: Distribution of phenotypes and gene frequencies of six red cell enzymes in the district of Tohoku, Northern part of Japan. *J Anthropol Soc Nippon* 79:356, 1971
22. SHINODA T, MATSUNAGA E: Polymorphism of red cell phosphoglucomutase among Japanese. *Jpn J Hum Genet* 14:316, 1970
23. OMOTO K, SATOH C, BLAKE NM: Further studies on the phosphoglucomutase-1 types in Japanese. 2. Problems in the  $PGM_1^3$  and  $PGM_1^5$  alleles. In preparation
24. SATOH C, UEDA N, KISHIMOTO S, HAMILTON HB: Polymorphisms of erythrocyte enzymes and serum proteins (Report 3). *Jpn J Hum Genet* 20:37, 1974 (Abstract)
25. 佐藤千代子, 木村康一, 山下順子, HAMILTON HB: 広島, 長崎在住者における赤血球 phosphoglucomutase の多型. *生物物理化学* 19: 402-4, 1975  
(SATOH C, KIMURA Y, YAMASHITA J, HAMILTON HB: Polymorphism of erythrocyte phosphoglucomutase among residents of Hiroshima and Nagasaki. *Physico-Chem Biol*)
26. SATOH C, UEDA N, HORAI S, OMOTO K: Further studies on the phosphoglucomutase-1 types in Japanese. 1. Comparison of "slow" variants. *Jpn J Hum Genet* 21:85-96, 1976 (RERF TR 9-76)
27. BLAKE NM, SAHA N, MCDERMID EM, KIRK RL, CRANE GG: Additional electrophoretic variants of 6-phosphogluconate dehydrogenase. *Humangenetik* 21:347, 1974
28. BLAKE NM, KIRK RL: New genetic variant of 6-phosphogluconate dehydrogenase in Australian aborigines. *Nature* 221:278, 1969
29. ISHIMOTO G, KUWATA M: Red cell adenosine deaminase types in Japanese. *Jpn J Hum Genet* 15:99, 1970
30. HOPKINSON DA, HARRIS H: Red cell acid phosphatase, phosphoglucomutase, and adenylate kinase. In *Biochemical Methods in Red Cell Genetics*, Ed by Yunis JJ. New York, Academic Press, 1969. pp 337-75