

FURTHER STUDIES ON PHOSPHOGLUCOMUTASE-1 PHENOTYPES IN JAPANESE  
1. COMPARISON OF "SLOW" VARIANTS

日 本 人 に お け る PHOSPHOGLUCOMUTASE-1 の 表 現 型 に つ い て  
1. い わ ゆ る “遅い” 変異型の比較研究

CHIYOKO SATOH, Ph.D. 佐藤千代子  
NAOKI UEDA, M.D. 上田尚紀  
SATOSHI HORAI, Ph.D. 宝来 聡  
KEIICHI OMOTO, Sc.D. 尾本恵市



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 grateful to Dr. Lie-Injo Luan Eng for kindly providing us a reference sample of PGM<sub>1</sub> 1-6 phenotype, and to Dr. D. A. Hopkinson for comparing our sample of PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NGS</sup> 1 phenotype with reference PGM<sub>1</sub> 8 variant. We are also indebted to Miss Junko Yamashita and Mr. Yasukazu Kimura for their excellent technique in performing electrophoresis. We are thankful to Dr. Hirozumi Katsura, Shibukawa City for collecting a fresh sample of PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>.

PGM<sub>1</sub> 1-6表現型の標準標本を快く提供下さった Dr. Lie-Injo Luan Eng と我々の PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NGS</sup> 1表現型の標本を PGM<sub>1</sub> 8変異型の標準標本と比較して下さった Dr. D. A. Hopkinson に対して心から謝意を述べたい。さらに、山下順子および木村康一両氏による卓越した電気泳動の技術援助に対してもここでお礼を述べておきたい。PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>の新鮮な標本を収集して下さった浜川市の Dr. Hirozumi Katsura に対しても深く感謝する。

## 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 Department of Energy.*

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、米国はエネルギー省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。



## FURTHER STUDIES ON PHOSPHOGLUCOMUTASE-1 PHENOTYPES IN JAPANESE

## 1. COMPARISON OF "SLOW" VARIANTS

日本人における PHOSPHOGLUCOMUTASE-1 の表現型について

## 1. いわゆる "遅い" 変異型の比較研究

 CHIYOKO SATOH, Ph.D. (佐藤千代子)<sup>1</sup>; NAOKI UEDA, M.D. (上田尚紀)<sup>1</sup>;  
 SATOSHI HORAI, Ph.D. (宝来聡)<sup>2</sup> and KEIICHI OMOTO, Sc.D. (尾本恵市)<sup>3</sup>
*RERF Department of Clinical Laboratories,<sup>1</sup> Department of Legal Medicine, Nara Medical University,<sup>2</sup>  
 and Department of Anthropology, Faculty of Science, University of Tokyo<sup>3</sup>*

 放影研臨床検査部,<sup>1</sup> 奈良県立医科大学法医学教室,<sup>2</sup> 東京大学理学部人類学教室<sup>3</sup>

## SUMMARY

Nine types of electrophoretic slow PGM<sub>1</sub> variants found in various Japanese populations by three different laboratories were compared with each other on the same gels using two buffer systems. The order of the electrophoretic mobilities in TEMM buffer system is as follows:

$$6\text{NGS } 1 > 6\text{NGS } 2 = 6 > 6\text{HIR } 1 = 6\text{JAPAN} > 6\text{HIR } 2 > 8\text{NGS } 1 = 8^* > 8\text{NARA}, 8\text{NARA } 2$$

At least six different kinds of slow PGM<sub>1</sub> variants exist in the Japanese, the slowest and the fastest of them being the slowest and the fastest of the slow variants hitherto reported in the world.

## INTRODUCTION

Erythrocyte phosphoglucomutase-1 (PGM<sub>1</sub>) is one of the most useful protein systems for studying genetic diversity in human populations. Besides the PGM<sub>1</sub><sup>1</sup> allele, the PGM<sub>1</sub><sup>2</sup> allele has been found in polymorphic frequencies in almost all populations hitherto investigated. Further, a number of other rare alleles originally described by Hopkinson and Harris<sup>1</sup> have been found in other populations as well. Variants with a pair of isozyme bands which migrate slower than those produced by the PGM<sub>1</sub><sup>1</sup> allele are called "slow" variants. In accordance with the original description by Hopkinson and Harris,<sup>1,2</sup> the "slow" variant alleles were usually classified as either PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> or PGM<sub>1</sub><sup>8</sup>.

## 要約

別個に3研究室が、日本各地の日本人集団中に発見した合計9種類の電気泳動上の遅い PGM<sub>1</sub> 変異型について、2種類の緩衝液を用いて各々同一のゲル上で比較検討を行った。TEMM 緩衝液を用いた場合の電気泳動上の移動度の順序は次の通りである。

日本人集団中には少なくとも6種類の電気泳動上の遅い PGM<sub>1</sub> 変異型のあることが確認され、これらのうち移動度の最も遅い型と最も速い型は、世界中でこれまでに発見された遅い変異型の中で最も遅い型でありまた最も速い型であった。

## 緒言

赤血球の phosphoglucomutase-1 (PGM<sub>1</sub>) はヒト集団の遺伝的変異を研究する際に最も有用な蛋白質の一つである。PGM<sub>1</sub><sup>1</sup> 対立遺伝子のほかに、PGM<sub>1</sub><sup>2</sup> 対立遺伝子も、これまでに調査された集団のほとんど全部に多型とされる頻度で認められている。さらに、Hopkinson および Harris<sup>1</sup> が初めて報告したいくつかのまれな対立遺伝子が他の集団にも認められた。PGM<sub>1</sub><sup>1</sup> 対立遺伝子から生産されるアイソザイムバンドよりも遅く移動するような一対のアイソザイムバンドを持った変異型は "遅い" 変異型と呼ばれる。Hopkinson と Harris<sup>1,2</sup> が最初に行った分類に従い、"遅い" 変異型を支配する対立遺伝子は、一般に、PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> または PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> のいずれかに分類された。

*This study was partly supported by a Grant in Aid for Scientific Research of the Ministry of Education, Science, and Culture; and a Grant of the Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo.*

本研究は文部省の学術研究助成金および日本学術振興会(東京)の助成金から一部援助を受けた。

Recently, Blake and Omoto<sup>3</sup> described heterogeneity in terms of electrophoretic mobility of slow-variant-producing alleles encountered in different populations from India. In Japan a total of 11,680 individuals in 26 different population groups were surveyed for phenotypes of PGM<sub>1</sub>, and slow variants were reported in several different areas.<sup>4</sup> Ishimoto and Yada<sup>5</sup> found the PGM<sub>1</sub> 1-6 phenotype in a single individual in a sample of 554 persons from Mie Prefecture. Ishimoto<sup>6</sup> reported one example of the PGM<sub>1</sub> 2-6 phenotype among 1740 persons from Mie and Nara Prefectures. Shinoda and Matsunaga<sup>7</sup> reported the PGM<sub>1</sub> 1-8 phenotype in two of 2642 persons from Tokyo and Shizuoka and they found a single example of the same phenotype, PGM<sub>1</sub> 1-8, among 586 persons from Nagoya, Aichi Prefecture.<sup>8</sup> A similar phenotype was reported by Omoto and Harada<sup>9</sup> in a single individual among 584 persons from Shibukawa, Gunma Prefecture. However, on the basis of a precise comparison of the Shibukawa PGM<sub>1</sub> 1-8 phenotype with the diagram of the original PGM<sub>1</sub> 1-8 phenotype reported by Hopkinson and Harris,<sup>2</sup> Blake and Omoto<sup>3</sup> concluded that the Shibukawa variant was different from PGM<sub>1</sub> 8 and named it PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>. In a review of PGM<sub>1</sub> in Japanese by Ishimoto,<sup>4</sup> all the slow variants originally classified either as PGM<sub>1</sub> 6 or PGM<sub>1</sub> 8 were reclassified as PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>, though as yet direct comparisons of them have not been performed. Recently, two kinds of slow variants, PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> and PGM<sub>1</sub> 8\*, were reported in residents of Nara Prefecture.<sup>10</sup> Satoh et al<sup>11</sup> found five kinds of slow variants in Hiroshima and Nagasaki inhabitants. With this proliferation of slow variants in Japan, it now seems necessary to compare all those found in this country with the standard "slow" variant. This paper is concerned with a comparison of the Japanese slow variants with a standard sample of the PGM<sub>1</sub> 1-6 phenotype.

## MATERIALS AND METHODS

Originals and the tentative names of the samples used in this study are summarized in Table 1. All the samples except for PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NARA</sup> and PGM<sub>1</sub> 1-8\* were kept as packed cells in liquid nitrogen and sent on dry ice to the Hiroshima RERF laboratory; the PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NARA</sup> and PGM<sub>1</sub> 1-8\* samples were sent as hemolysates on dry ice. Hemolysates were prepared by adding an equal volume of water to the packed cells

最近, Blake と Omoto<sup>3</sup> は, インドにおいて, 異なった集団中に発見された遅い変異型を作る対立遺伝子が, 変異型の電気泳動移動度に関して均一ではないことを発表した. 日本では, 異なる26集団からなる総計11,680名について PGM<sub>1</sub> の表現型の調査が行われ,<sup>4</sup> いくつかの地域で遅い変異型が報告された. Ishimoto および Yada<sup>5</sup> は, 三重県の調査対象者 554名のうち1名に PGM<sub>1</sub> 1-6 表現型を認めた. また, Ishimoto<sup>6</sup> は三重県および奈良県の対象者1,740名の中に PGM<sub>1</sub> 2-6 表現型1例を報告した. Shinoda および Matsunaga<sup>7</sup> は, 東京および静岡の調査対象者2,642名のうち2名に PGM<sub>1</sub> 1-8 表現型を報告し, 同じ表現型を愛知県の名古屋市の対象者 586名にも1例認めた.<sup>8</sup> これとよく似た表現型が Omoto および Harada<sup>9</sup> によって群馬県渋川の対象者 584名のうちの1名に発見された. しかしながら, Blake および Omoto<sup>3</sup> は, 渋川の PGM<sub>1</sub> 1-8 表現型と Hopkinson および Harris<sup>2</sup> が最初に報告した PGM<sub>1</sub> 1-8 表現型の模式図を詳細に比較した結果, 渋川の変異型は PGM<sub>1</sub> 8 とは異なるとの結論に至り PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> と命名した. 日本人の PGM<sub>1</sub> に関する概論の中で, Ishimoto<sup>4</sup> は, 最初 PGM<sub>1</sub> 6 または PGM<sub>1</sub> 8 のいずれかに分類されていた遅い変異型を, 直接的な比較はまだ行われていないにもかかわらず PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> に再分類した. 最近, 2種類の遅い変異型, すなわち PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> と PGM<sub>1</sub> 8\* が奈良県の住民中に報告された.<sup>10</sup> Satoh ら<sup>11</sup> は, 広島および長崎の在住者に5種類の遅い変異型を認めた. このように日本の各地で遅い変異型が発見されているので, 日本で認められたすべての遅い変異型を, "遅い" 変異型の標準標本と比較対照することが必要であると思われる. 本報告では, 日本人に発見されたいくつかの遅い変異型と PGM<sub>1</sub> 1-6 表現型の標準標本との比較について述べる.

## 資料および方法

この調査で使用した標本の出所および暫定的に付けられた名前を表1にまとめた. PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NARA</sup> ならびに PGM<sub>1</sub> 1-8\* を除く全標本は, 赤血球のみを液体窒素の中で保存してあったものをドライアイス詰めにして, 広島放影研の研究室に送られた. PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NARA</sup> および PGM<sub>1</sub> 1-8\* の標本は, 溶血液としてドライアイス詰めにして送られた. 溶血液は前報で詳細に

TABLE 1 SAMPLES EXAMINED IN THIS STUDY

表 1 調査対象の標本

Tentative name 暫定名	Locality 採出地	Reference 参考
6 6JAPAN	Shibukawa City, Gunma Prefecture	Lie-Injo et al <sup>16</sup> Omoto and Harada <sup>9</sup>
6NGS 1	Nagasaki City	Sato et al <sup>11</sup>
6NGS 2	Nagasaki City	
6HIR 1	Hiroshima City	
6HIR 2	Hiroshima City	
8NGS 1	Nagasaki City	
	Hiroshima City	
	Nagasaki City	
8NARA	Yoshino-cho, Nara Prefecture	Horai <sup>10</sup>
8*	Yoshino-cho, Nara Prefecture	
8NARA 2	Yoshino-cho, Nara Prefecture	

followed by treatment with toluene, the precise procedure being that previously reported.<sup>12</sup> Vertical starch gel electrophoresis was performed at RERF mainly on Electrostar (13.3%, lot No. 371) according to the method of Smithies<sup>13</sup> using the tris-EDTA-maleic acid-MgCl<sub>2</sub> (TEMM) buffer system (pH 7.4) of Spencer et al<sup>14</sup> at 7.0 V/cm for 23 hours at 4°C; a minor change was the use of a 1 in 15 dilution of bridge buffer as the gel buffer, according to the recommendation of Blake and Omoto.<sup>3</sup> The histidine-sodium citrate discontinuous buffer system (pH 7.0) of Fildes and Harris,<sup>15</sup> originally developed for the study of adenylate kinase was also used at 5 V/cm for 20 hours, for the characterization of certain kinds of slow variants. Visualization of the isozyme pattern was carried out by the method of Spencer et al.<sup>14</sup>

A sample of PGM<sub>1</sub> 1-6 phenotype was kindly provided by Dr. Lie-Injo, the electrophoretic identity of which was confirmed by Dr. D. A. Hopkinson.<sup>16</sup>

The genetic nature of the alleles, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 2, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 2, PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> JAPAN, PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> NARA has already been confirmed by family studies.<sup>9-11</sup>

報告したように,<sup>12</sup> 赤血球に対して同量の水を加え, さらに, トルエンで処理し調製した. 放影研では Smithies<sup>13</sup> の方法に従い, 主にエレクトロスターチ (13.3%ロット番号 371) を用いて, 垂直式澱粉ゲル電気泳動を行った. 使用した緩衝液は Spencer ら<sup>14</sup> の tris-EDTA-maleic acid-MgCl<sub>2</sub> (TEMM), pH 7.4 であり, 7.0 V/cm の割合で 23 時間 4°C で行った. ただし, Blake および Omoto<sup>3</sup> の推奨に従って, 1/15 に希釈したブリッジ緩衝液をゲル緩衝液として使用した. もともと adenylate kinase (アデニル酸キナーゼ) の研究のために Fildes と Harris<sup>15</sup> が開発した pH 7.0 の histidine-sodium citrate 不連続緩衝液も, ある種の遅い変異型の性質を確認するために, 5 V/cm で 20 時間使用した. アイソザイム・パターンを確認するための染色法としては Spencer ら<sup>14</sup> の方法を用いた.

PGM<sub>1</sub> 1-6 表現型の標本は, Dr. Lie-Injo のご好意により提供された. この標本の電気泳動による同定は Dr. D. A. Hopkinson によって行われた.<sup>16</sup>

対立遺伝子, すなわち PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> HIR 2, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> NGS 2, PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> NGS 1, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> JAPAN, PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> NARA の遺伝的性質は, すでに家族調査<sup>9-11</sup> によって確認されている.

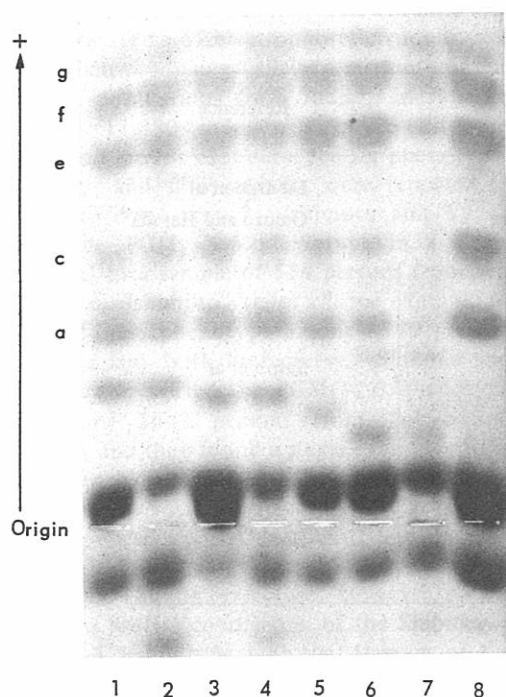


Figure 1. Photograph of an Electrostarch gel comparing the slow PGM<sub>1</sub> variants in TEMM buffer, pH 7.4.

図1 pH 7.4の TEMM緩衝液を用いた場合の遅い PGM<sub>1</sub> 変異型の比較を示すエレクトロスターチ・ゲルの写真。

Well 試料溝 1, 1-6<sup>NGS</sup> 2; well 2, 1-6; well 3, 1-6<sup>HIR</sup> 1; well 4, 1-6<sup>JAPAN</sup>; well 5, 1-6<sup>HIR</sup> 2; well 6, 1-8<sup>NGS</sup> 1; well 7, 1-8\*; well 8, 1.

## RESULTS

Nine out of the ten samples were examined in the same comparison run; PGM<sub>1</sub> 2-8<sup>NARA</sup> 2 was obtained after the comparison of the other nine samples was completed. The mobility of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2 could be compared with all of the slow variants except PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup>, since no more of the latter (PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup>) was available. In all the samples examined, the variant PGM<sub>1</sub> isozyme were easily identified as a set of two bands migrating more slowly than those of PGM<sub>1</sub> 1 (i.e., the *a* and *c* bands). The third band could sometimes be seen in a position between the *a* and *c* bands in the samples of PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NGS</sup> 1, 1-8\*, 1-8<sup>NARA</sup> and 2-8<sup>NARA</sup> 2; when present, its intensity was the weakest of the three variant bands. Whether there were two or three bands, the most cathodally migrating band showed the strongest intensity in all the variants examined and it was considered to be the major band.

As shown in Figure 1, when the mobility of the major bands of "slow" PGM<sub>1</sub> variants in TEMM buffer system were compared, 6<sup>NGS</sup> 2 migrated as far as 6, 6<sup>HIR</sup> 1 migrated as far as 6<sup>JAPAN</sup>, 8<sup>NGS</sup> 1 migrated as far as 8\*. The order of the

## 結 果

10標本のうち 9 標本は同時に泳動して比較検討した。

PGM<sub>1</sub> 2-8<sup>NARA</sup> 2は、ほかの 9 標本の比較が完了した後に入手された。PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2については、PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 以外のすべての遅い変異型と移動度の比較を行った。PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> は標本を既に使い尽くしていたため比較できなかった。検査した全標本において PGM<sub>1</sub> の変異型には、PGM<sub>1</sub> 1 のバンドすなわち、*a* および *c* バンドよりも遅く移動する 2 本のバンドが 1 組あるので、容易に検出できた。PGM<sub>1</sub> 1-8<sup>NGS</sup> 1, 1-8\*, 1-8<sup>NARA</sup>, および 2-8<sup>NARA</sup> 2 の標本では、*a* バンドと *c* バンドの間に、第 3 のバンドが見られることが時々あった。このバンドが認められた場合、その染色強度は 3 本の変異型のアイソザイムバンドの中で最も弱かった。バンドが 2 本の場合でも、3 本の場合でも、検査した全変異型において最も強く染色されたバンドは、最も陰極側へ移動したものであり、これが主バンドであると考えられる。

図 1 に示すように、TEMM 緩衝液を用いて "遅い" PGM<sub>1</sub> 変異型の主バンドの移動度を比較したところ、6<sup>NGS</sup> 2 と 6, 6<sup>HIR</sup> 1 と 6<sup>JAPAN</sup>, 8<sup>NGS</sup> 1 と 8\* は 各々、同じ位置まで移動した。これら変異型のアイ

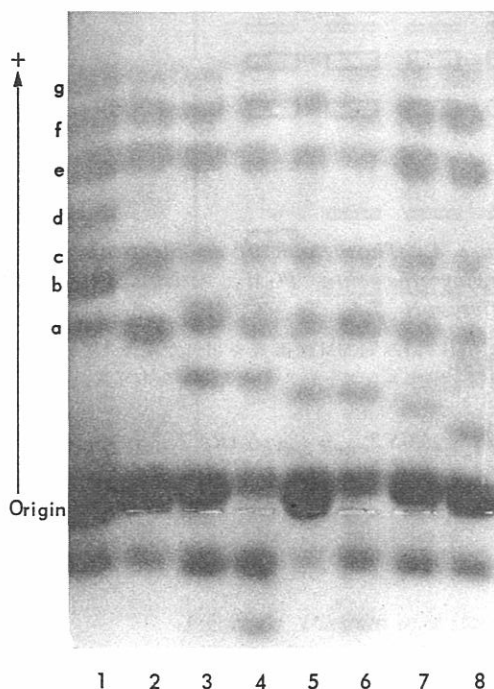


Figure 2. Photograph of an Electrostarch gel comparing the slow PGM<sub>1</sub> variants in TEMM buffer, pH 7.4.

図2 pH7.4の TEMM 緩衝液を用いた場合の遅い PGM<sub>1</sub> 変異型の比較を示すエレクトロスターチ・ゲルの写真.

Well 1, 1-2; well 2, 1-6<sup>NGS</sup> 1; well 3, 1-6<sup>NGS</sup> 2; well 4, 1-6; well 5, 1-6<sup>HIR</sup> 1; well 6, 1-6<sup>JAPAN</sup>; well 7, 1-6<sup>HIR</sup> 2; well 8, 1-8<sup>NGS</sup> 1.

mobility among these variant isozymes of this band was:

$$6^{\text{NGS} 2} = 6 > 6^{\text{HIR} 1} = 6^{\text{JAPAN}} > 6^{\text{HIR} 2} > 8^{\text{NGS} 1} = 8^*$$

A second comparison, shown in Figure 2 confirmed not only the electrophoretic identity of 6<sup>NGS</sup> 2 with 6, and 6<sup>HIR</sup> 1 with 6<sup>JAPAN</sup> but also the relative mobilities of the variants shown in Figure 1. Among the 10 samples of slow PGM<sub>1</sub> variants examined, 6<sup>NGS</sup> 1 migrated closest to the a band, and this is also apparent in Figure 2.

As reported previously,<sup>10</sup> and again shown in Figure 3, 8<sup>NARA</sup> migrated more slowly than 8\* or 8<sup>NGS</sup> 1. Thus the electrophoretic identity of the three pairs of PGM<sub>1</sub> variants and the order of the mobility among the nine samples

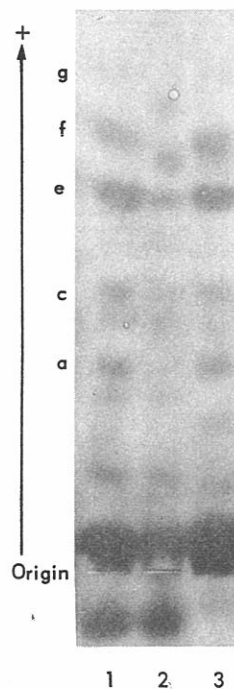


Figure 3. Photograph of an Electrostarch gel showing the slow PGM<sub>1</sub> variants in TEMM buffer, pH 7.4.

図3 pH7.4の TEMM 緩衝液を用いた場合の遅い PGM<sub>1</sub> 変異型を示すエレクトロスターチ・ゲルの写真.

Well 1, 1-8<sup>NGS</sup> 1; well 2, 1-8\*; well 3, 1-8<sup>NARA</sup>.

ソザイムのうち主バンドの移動度の順は次の通りであった.

図2に示すように、第2回目の比較では、6<sup>NGS</sup> 2と6、および6<sup>HIR</sup> 1と6<sup>JAPAN</sup>が電気泳動上、同一のものであると再確認されたばかりでなく、図1で示した変異型の相対的移動度も確認された。検査した遅い PGM<sub>1</sub> 変異型10標本の中で、6<sup>NGS</sup> 1が最もaバンドよりに移動したことが図2に示されている。

以前にも報告され、<sup>10</sup> 図3にも示されるように、8<sup>NARA</sup>は8\*または8<sup>NGS</sup> 1よりも遅く移動した。3組の PGM<sub>1</sub> 変異型が電気泳動上は各々同一物であるこ

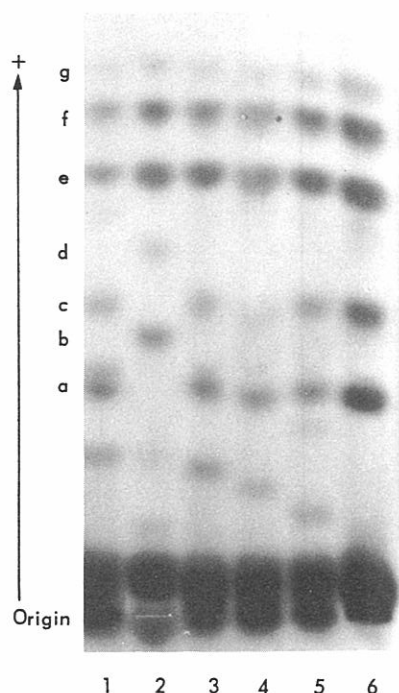


Figure 4. Photograph of an Electrostatic gel showing the slow PGM<sub>1</sub> variants in TEMM buffer, pH 7.4.

図4 pH 7.4の TEMM緩衝液を用いた場合の遅い PGM<sub>1</sub>変異型を示すエレクトロスタチ・ゲルの写真.

Well 1, 1-6<sup>NGS</sup> 2; well 2, 2-8<sup>NARA</sup> 2; well 3, 1-6<sup>HIR</sup> 1; well 4, 1-6<sup>HIR</sup> 2; well 5, 1-8<sup>NGS</sup> 1; well 6, 1.

confirmed by these comparison runs are summarized as follows:

$$6^{\text{NGS}} 1 > 6^{\text{NGS}} 2 = 6 > 6^{\text{HIR}} 1 = 6^{\text{JAPAN}} > 6^{\text{HIR}} 2 > 8^{\text{NGS}} 1 = 8^* > 8^{\text{NARA}}$$

It is clear then, that at least six kinds of slow variants are occurring in the central to western part of Japan. The migration of the major band of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2 (Figure 4) was slower than that of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1, the mobility of which is the same as that of PGM<sub>1</sub> 8\* (see above). The minor, more anodal band of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2 migrated as fast as the major band of PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 2, the mobility of which is the same as that of PGM<sub>1</sub> 6.

PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 1 showed the fastest mobility among the variants examined, and its major band is only slightly more cathodal to and not separated from the a band. The minor band of PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 2 and PGM<sub>1</sub> 6 clearly moved faster than the a band, while that of PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1 and PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> migrated slightly anodally to the a band, not being separated from the a band. PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2 showed a mobility slower than

と、ならびに9標本の移動度の順序が確認されたが、それは次のように要約できる。

したがって、日本の中央部から西の地方に少なくとも6種類の遅い変異型の存在することが明らかである。PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2 (図4)の主バンドの移動度は、PGM<sub>1</sub> 8\*と移動度が同一の PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1 (上記参照)の主バンドの移動度よりも遅い。PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2の副バンドで陽極側のバンドは、PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 2または PGM<sub>1</sub> 6の主バンドの位置まで移動した。

PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 1は、検査した変異型の中で最も速い移動度を示し、その主バンドはaバンドよりもやや陰極寄りであるが、aバンドから分離はしなかった。PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 2と PGM<sub>1</sub> 6の副バンドはaバンドよりも明らかに速く移動した。一方、PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1および PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>の副バンドはaバンドのやや陽極側に移動したが、aバンドから分離はしなかった。PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2の移動度は上記の変異型の移動度よりも



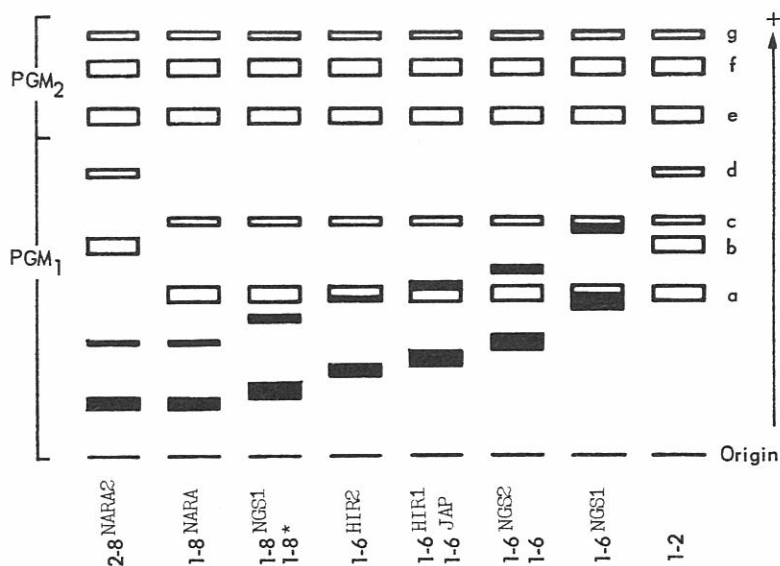


Figure 5. Diagram of a starch gel showing the various slow variants of  $PGM_1$  in TEMM buffer, pH 7.4

図5 pH 7.4の TEMM緩衝液を用いた場合の種々の遅い  $PGM_1$  変異型を示す澱粉ゲルの模式図。

those of the above mentioned variants, the minor band overlapping almost completely with the  $a$  band. The minor band of  $PGM_1 8^{NGS1}$  and  $PGM_1 8^*$  clearly migrated cathodally to the  $a$  band. The minor band of  $PGM_1 8^{NARA}$  migrated slower than that of  $PGM_1 8^{NGS1}$  or  $PGM_1 8^*$ . The intensity of the major bands of these slow variants was almost the same as that of the  $a$  band, except that the intensity of the major band of  $PGM_1 6^{HIR2}$ ,  $PGM_1 8^{NARA}$  and  $PGM_1 8^{NARA2}$  was slightly weaker than that of the  $a$  band. Nevertheless, in the photograph of Horai,<sup>10</sup> the intensity of the major variant band of  $PGM_1 8^{NARA}$  is observed to be stronger than that of the  $a$  band. Accordingly, a slightly weakened intensity of the variant band of  $PGM_1 8^{NARA}$  observed in the present examination may be caused by instability of the variant protein. It was usually observed that the distance between  $a$  and  $c$  is the same as that between the major and the minor bands of the slow variants, except for  $PGM_1 8^{NARA}$  and  $PGM_1 8^{NARA2}$  where the distance between the two bands of these variants was approximately 85% of that between  $a$  and  $c$  bands. The results obtained in TEMM buffer system are shown diagrammatically in Figure 5.

遅く、その副バンドは  $a$  バンドとほとんど完全に重なった。 $PGM_1 8^{NGS1}$  および  $PGM_1 8^*$  の副バンドは、明らかに  $a$  バンドより陰極側に移動した。 $PGM_1 8^{NARA}$  の副バンドは  $PGM_1 8^{NGS1}$  または  $PGM_1 8^*$  の副バンドよりも遅く移動した。これら遅い変異型の主バンドは  $a$  バンドとほとんど同程度の強さで染色された。ただし、 $PGM_1 6^{HIR2}$ 、 $PGM_1 8^{NARA}$ 、および  $PGM_1 8^{NARA2}$  の各主バンドは  $a$  バンドに比べてわずかに弱く染まった。しかしながら、Horai<sup>10</sup>の論文中的写真では  $PGM_1 8^{NARA}$  の主バンドの染色度が  $a$  バンドのそれよりも強い。したがって、今回の検査で観察された  $PGM_1 8^{NARA}$  の変異型バンドの染色度が若干弱いという現象は、変異型蛋白質の不安定性に起因するものかもしれない。 $a$  バンドと  $c$  バンドの距離は、通常遅い変異型の主バンドと副バンドの距離と同じであるが、 $PGM_1 8^{NARA}$  および  $PGM_1 8^{NARA2}$  の場合には、二つのバンドの間の距離が  $a$  バンドと  $c$  バンドの距離の約85%であった。図5には、TEMM緩衝液を用いて得られた結果が模式図として示してある。

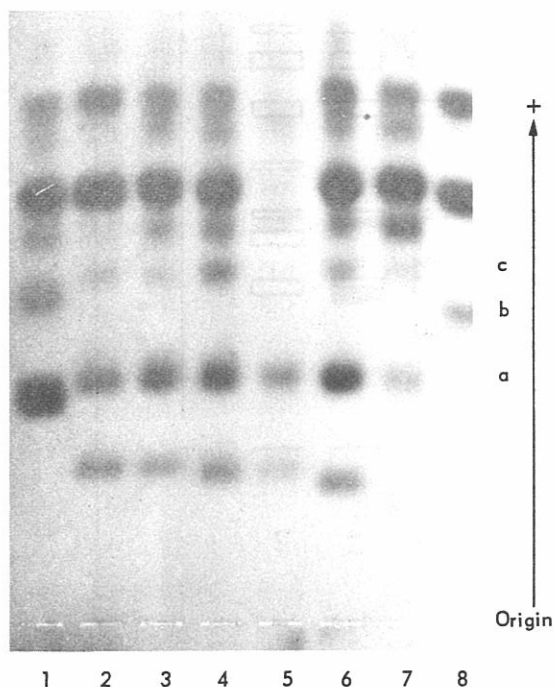


Figure 6. Photograph of an Electrostarch gel comparing the slow PGM<sub>1</sub> variants in histidine-sodium citrate discontinuous buffer, pH 7.0.

図6 pH 7.0の histidine-sodium citrate 不連続緩衝液を用いた場合の遅い PGM<sub>1</sub> 変異型の比較を示すエレクトロスターチ・ゲルの写真。

Well 1, 1-6<sup>NGS</sup> 1; well 2, 1-6; well 3, 1-6<sup>NGS</sup> 2; well 4, 1-6<sup>HIR</sup> 1; well 5, 1-6<sup>JAPAN</sup>; well 6, 1-8<sup>NGS</sup> 1; well 7, 1-6<sup>HIR</sup> 2; well 8, 1-8<sup>NARA</sup> 2.

When electrophoresis of these slow variants was carried out in the histidine-sodium citrate discontinuous buffer system, the electrophoretic identity of the three pairs of variants, PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 2 and PGM<sub>1</sub> 6, PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1 and PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>, and PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1 and PGM<sub>1</sub> 8\* was again confirmed by the run shown in Figure 6 and by another comparison run not shown here. On the other hand, the order of mobility of the six kinds of slow variants was different. The mobility of the bands of PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2 and PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1 changed (Figure 6) as reported previously.<sup>17,18</sup> PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2 migrated so slowly that its minor band clearly separated cathodally from the a band. The major band of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1 or PGM<sub>1</sub> 8\* migrated faster than that of PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2 and slightly slower than that of PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1 or PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>; it sometimes migrated slightly faster than that of PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1. PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> and PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2 migrated most slowly in this buffer system. Accordingly, the order of the mobility of the slow PGM<sub>1</sub> variants in histidine-sodium citrate discontinuous buffer was:

$$6^{\text{NGS}} 1 > 6^{\text{NGS}} 2 = 6 > 6^{\text{HIR}} 1 = 6^{\text{JAPAN}} > 8^{\text{NGS}} 1 = 8^* > 6^{\text{HIR}} 2 > 8^{\text{NARA}}, 8^{\text{NARA}} 2$$

Considering that the mobilities of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> and PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2 are the slowest of this

Histidine-sodium citrate 不連続緩衝液を用いて、これら遅い変異型の電気泳動を行ったところ、変異型のうちの3組、すなわち、PGM<sub>1</sub> 6<sup>NGS</sup> 2とPGM<sub>1</sub> 6、PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1とPGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>、およびPGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1とPGM<sub>1</sub> 8\*が電気泳動的には同一の変異型であることが図6に示したように確認され、さらに図示してはいないが、別に行った比較のための泳動においても再確認された。これに反し、6種類の遅い変異型の移動度の順序は異なっていた。PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2およびPGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1のバンドの移動度は(図6)、以前報告されたように変化した。<sup>17,18</sup> PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2の移動度が非常に遅いため、その副バンドはaバンドから完全に分離して陰極側にあった。PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS</sup> 1またはPGM<sub>1</sub> 8\*の主バンドはPGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 2の主バンドよりも速く移動し、PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1またはPGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup>の主バンドよりわずかに遅く移動した。場合によってはPGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR</sup> 1の主バンドよりもわずかに速く移動することもあった。この緩衝液で、PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup>とPGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2が最も遅く移動した。したがって、histidine-sodium citrate 不連続緩衝液を使用した場合の遅い PGM<sub>1</sub> 変異型の移動度の順序は次の通りである。

遅い変異型の中で PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> と PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> 2は、

group in both buffer systems, that the distance between the major and minor bands of them is narrower than that between *a* and *c*, and that both samples were collected from the same region of Nara Prefecture, it is possible that PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> and PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA 2</sup> are identical and possibly derived from the same mutation, although there was no evidence of relationship between two individuals from whom these samples were taken.

## DISCUSSION

Two alleles, PGM<sub>1</sub><sup>6</sup> and PGM<sub>1</sub><sup>8</sup>, which determine the slow PGM<sub>1</sub> variants were originally named by Hopkinson and Harris.<sup>1,2</sup> Since then, these alleles were reported to exist in many populations, mostly from Asia. Recently, Blake and Omoto<sup>3</sup> pointed out the heterogeneity of the slow PGM<sub>1</sub> variants. From direct comparisons of slow variants obtained from various populations with a reference sample of PGM<sub>1</sub> 6 provided by Dr. Lie-Injo, they concluded that the order of the mobility of the slow PGM<sub>1</sub> variants was as follows; 6<sup>KADAR</sup> > 6<sup>MAL</sup> > 6<sup>JAPAN</sup>. PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> was originally classified as PGM<sub>1</sub> 8 by Omoto and Harada<sup>9</sup> based on the position of the minor band; in the paper of Hopkinson and Harris<sup>2</sup> the minor isozyme band of PGM<sub>1</sub> 8 was illustrated in the position of the *a* band when the gel buffer was a 1 in 10 dilution of the bridge buffer. Similar slow variants were found in Tokyo, Shizuoka, and Nagoya.<sup>7,8</sup> Blake and Omoto<sup>3</sup> observed PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> to migrate slightly slower than the reference PGM<sub>1</sub> 6. Moreover, they concluded that PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> was different from PGM<sub>1</sub> 8. In the present comparison runs, the minor band of PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> migrated slightly anodally to the *a* band. The minor band of PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR 2</sup> usually overlapped the *a* band in our system. The minor band of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS 1</sup> or PGM<sub>1</sub> 8\* clearly migrated cathodally to the *a* band in our system where Electrostarch gel and a gel buffer made by a 1 in 15 dilution of the bridge buffer were employed. Though the electrophoretic mobility of a certain PGM<sub>1</sub> variant was different on Electrostarch gel compared with that on Connaught starch gel,<sup>11</sup> the relative mobilities of the nine slow variants examined did not change on Connaught starch gel; PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> could not be examined. Nevertheless, when a 1 in 10 dilution of the bridge buffer was used as the gel buffer, the minor band of PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS 1</sup> migrated slightly

2種類の緩衝液を用いたいずれの場合にもその移動度が最も遅いこと、主バンドと副バンド間の距離が *a* バンドと *c* バンド間の距離よりも狭いこと、両標本が奈良県の同地区から得られたことを考えると、PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> と PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA 2</sup> は同一物で、同じ突然変異に起因するものである可能性がある。ただしこれら2標本を与えた2人の間に、血縁関係があるという証拠はない。

## 考 察

遅い PGM<sub>1</sub> 変異型を決定する対立遺伝子は、Hopkinson と Harris によって、最初 PGM<sub>1</sub><sup>6</sup>, PGM<sub>1</sub><sup>8</sup> と命名された。<sup>1,2</sup> それ以来、これらの対立遺伝子は多くの集団、主としてアジア地域のものに存在すると報告されてきたが最近、Blake と Omoto<sup>3</sup> はこれら遅い PGM<sub>1</sub> 変異型が異質のものであることを指摘した。彼らは、種々の集団から入手した遅い変異型を Dr. Lie-Injo から提供された PGM<sub>1</sub> 6 の標準標本と直接比較した結果、次のように遅い PGM<sub>1</sub> 変異型の移動度の順序を決定した; 6<sup>KADAR</sup> > 6<sup>MAL</sup> > 6 > 6<sup>JAPAN</sup>. Omoto と Harada<sup>9</sup> は、初め、PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> をその副バンドの位置から PGM<sub>1</sub> 8 と分類していた。理由は Hopkinson と Harris<sup>2</sup> の報告では、ブリッジ緩衝液を 1/10 に希釈してゲル緩衝液とした場合、PGM<sub>1</sub> 8 の副バンドは *a* バンドの位置にあることが示されていたからである。類似の遅い変異型が Tokyo, Shizuoka および Nagoya で発見された。<sup>7,8</sup> Blake と Omoto<sup>3</sup> は、PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> が PGM<sub>1</sub> 6 の標準標本よりも若干遅く移動することを観察し、さらに、PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> は PGM<sub>1</sub> 8 とは異なるものであるとの結論に達した。今回の比較検査においては、PGM<sub>1</sub> 6<sup>JAPAN</sup> の副バンドは *a* バンドよりもやや陽極側に移動した。我々の方法では、PGM<sub>1</sub> 6<sup>HIR 2</sup> の副バンドは通常 *a* バンドと重なった。エレクトロスターチ (商品名) で作った澱粉ゲルとブリッジ緩衝液を 1/5 に希釈して作ったゲル緩衝液を用いた我々の方法では、PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS 1</sup> または PGM<sub>1</sub> 8\* の副バンドは明らかに *a* バンドより陰極側に移動した。PGM<sub>1</sub> の変異型のあるものは、エレクトロスターチで作った澱粉ゲルを用いた場合と、コンノート澱粉ゲルを用いた場合とでは異なった移動度を示したが<sup>11</sup> 検査した 9 種の遅い変異型では、相対的移動度は、コンノート澱粉ゲルを用いても、変化しなかった。PGM<sub>1</sub> 8<sup>NARA</sup> に関しては、澱粉ゲルによって移動度が変化するかどうかは検査できなかった。しかしながら、1/10 に希釈したブリッジ緩衝液をゲル緩衝液として使用した場合、どちらの澱粉で作ったゲルを用いても PGM<sub>1</sub> 8<sup>NGS 1</sup> の副バンドは *a* バンド

cathodal to but could not be separated from the  $a$  band and the minor bands of  $\text{PGM}_1 6^{\text{HIR } 1}$  and  $\text{PGM}_1 6^{\text{HIR } 2}$  were overlapped and obscured by the  $a$  band on both kinds of starch gel. Dr. D. A. Hopkinson confirmed 'the electrophoretic identity of  $\text{PGM}_1 8^{\text{NGS } 1}$  with  $\text{PGM}_1 8$ , when we sent him a blood sample containing the  $\text{PGM}_1 1-8^{\text{NGS } 1}$  phenotype.

From careful comparisons of  $\text{PGM}_1 6^{\text{NGS } 1}$ , the major band of which migrated very slightly cathodally to the  $a$  band, with the  $\text{PGM}_1 6^{\text{KADAR}}$  phenotype published by Blake and Omoto<sup>3</sup> and the  $\text{PGM}_1 6^{\text{AFRICAN}}$  phenotype<sup>†</sup> shown in the photograph of Hopkinson and Harris<sup>1</sup> it seems safe to say that among the slow variants hitherto reported,  $\text{PGM}_1 6^{\text{NGS } 1}$  migrates with the fastest mobility.  $\text{PGM}_1 8^{\text{NARA}}$  or  $\text{PGM}_1 8^{\text{NARA } 2}$  is the slowest variant of all reported until now. In conclusion, at least six different kinds of slow  $\text{PGM}_1$  variants occur in the Japanese, the fastest and the slowest variants of which are also the fastest and the slowest of all the slow  $\text{PGM}_1$  variants hitherto found in the world.

The combined frequencies of the slow variants in Hiroshima and Nagasaki populations were 0.0006 and 0.0030, respectively for 870 and 1022 persons.<sup>11</sup> The overall frequency of the alleles for the slow variants in Japanese is roughly estimated as 0.0003-0.0016.<sup>19</sup> These values are higher than that (0.00014) obtained in Caucasoids of the British Isles studied by Harris et al.<sup>20</sup>

We were able to identify six kinds of slow  $\text{PGM}_1$  variants found in Japanese using electrophoresis with TEMM buffer system. In a second buffer system, histidine-sodium citrate, the mobility of certain slow variants changed. This phenomenon is a useful aid in characterizing the variants. Nevertheless, in the future, for

よりもやや陰極側まで移動したが、 $a$  バンドからは分離せず、 $\text{PGM}_1 6^{\text{HIR } 1}$  と  $\text{PGM}_1 6^{\text{HIR } 2}$  の副バンドは、 $a$  バンドと重なったために移動度は、はっきりしなかった。 $\text{PGM}_1 1-8^{\text{NGS } 1}$  表現型を示す血液標本を Dr. D. A. Hopkinson に送り、 $\text{PGM}_1 8^{\text{NGS } 1}$  と  $\text{PGM}_1 8$  が電気泳動上同一のものであることを確認してもらった。

主バンドが  $a$  バンドよりわずかに陰極側に移動した  $\text{PGM}_1 6^{\text{NGS } 1}$  を、Blake と Omoto<sup>3</sup> が発表した  $\text{PGM}_1 6^{\text{KADAR}}$  表現型および Hopkinson と Harris<sup>1</sup> の写真に示されている  $\text{PGM}_1 6^{\text{AFRICAN}}$  表現型<sup>†</sup> と注意深く比較したところ、今までに報告された遅い変異型の中で、 $\text{PGM}_1 6^{\text{NGS } 1}$  は、最も速い移動度を有すると言っても差し支えないようである。 $\text{PGM}_1 8^{\text{NARA}}$  または  $\text{PGM}_1 8^{\text{NARA } 2}$  は、今までに報告された変異型の中で最も遅いものである。結論としては、少なくとも種類の異なる 6 種の遅い  $\text{PGM}_1$  変異型が日本人の間に認められ、そのうちで最も移動度の速い変異型も、最も遅い変異型も、現在までに世界で発見された遅い  $\text{PGM}_1$  変異型全部のなかで、最も速い変異型および最も遅い変異型である。

広島、長崎の集団にみられた遅い変異型の合計頻度は、それぞれ 870 名に対して 0.0006、1022 名に対して 0.0030 であった。<sup>11</sup> 日本人にみられる遅い変異型をもたらす対立遺伝子の総合頻度は、0.0003—0.0016 と概算されている。<sup>19</sup> これらの値は、Harris ら<sup>20</sup> が調査したイギリスの白人から得た値 (0.00014) よりも高い。

TEMM 緩衝液を用いた電気泳動によって、日本人にみられる 6 種類の遅い  $\text{PGM}_1$  変異型を確認することができた。第 2 の緩衝液、すなわち histidine-sodium citrate 緩衝液を使用した場合、ある種の遅い変異型の移動度が変化した。この現象は、変異型の性質を決定する際に有用な手段となる。しかしながら、将来、

<sup>†</sup> Blake and Omoto<sup>3</sup> introduced a personal communication of Dr. Hopkinson acknowledging that in his original paper,<sup>1</sup> two different kinds of slow variants were designated as  $\text{PGM}_1 6$ . He proposed that two separate designations be used for the alleles:  $\text{PGM}_1 6^{\text{AFRICAN}}$  for that shown in the photographic representation in the report of the 6-1 phenotype, and  $\text{PGM}_1 6$  for the diagrammatic 6-1 phenotype shown for a Turkish-Cypriot.

$\text{PGM}_1 6^{\text{AFRICAN}}$  migrated faster than  $\text{PGM}_1 6$ .

<sup>†</sup> Blake と Omoto<sup>3</sup> は Dr. Hopkinson の私信を紹介したその中で Dr. Hopkinson は、2 種類の異なった遅い変異型が 1966 年の最初の論文<sup>1</sup> の中では、 $\text{PGM}_1 6$  と命名されていることを認めた。彼はこれらの対立遺伝子に二つの異なる名称をつけるよう提案した。すなわち、6-1 表現型の報告の中に写真で示された (表現型に対する) 対立遺伝子を  $\text{PGM}_1 6^{\text{AFRICAN}}$ 、トルコ系キプロス人に認められ模式図中に示された 6-1 表現型を  $\text{PGM}_1 6$  と呼ぶことを提案した。 $\text{PGM}_1 6^{\text{AFRICAN}}$  は  $\text{PGM}_1 6$  よりも速い速度で移動した。

clearer identification of the variants, not only comparative electrophoretic mobility but also reaction constants and other biochemical characteristics of the isozymes should be determined.

さらに明確な変異型の確認を行うためには、電気泳動による移動度の比較だけでなく、アイソザイムの反応定数やその他の生化学的特性を決定する必要がある。

## REFERENCES

### 参考文献

1. HOPKINSON DA, HARRIS H: Rare phosphoglucomutase phenotypes. *Ann Hum Genet* 30:167, 1966
2. 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, London, Academic Press, 1969. p 354
3. BLAKE NM, OMOTO K: Phosphoglucomutase types in the Asian-Pacific area: A critical review including new phenotypes. *Ann Hum Genet* 38:251, 1975
4. ISHIMOTO G: Red cell enzymes. In *Human Adaptability, Vol. 2: Anthropological and Genetic Studies on the Japanese*, ed by WATANABE S, KONDO S, MATSUNAGA E. Tokyo, University of Tokyo Press, 1975. p 109
5. ISHIMOTO G, YADA S: Frequency of red cell phosphoglucomutase phenotypes in the Japanese population. *Human Hered* 19:198, 1969
6. ISHIMOTO G: Further studies on the distribution of erythrocyte enzyme types in Japanese. *Jpn J Hum Genet* 15:26, 1970
7. SHINODA T, MATSUNAGA E: Polymorphism of red cell phosphoglucomutase among Japanese. *Jpn J Hum Genet* 14:316, 1970
8. SHINODA T, MATSUNAGA E: Studies on polymorphic types of several red cell enzymes in Japanese population. *Jpn J Hum Genet* 15:133, 1970
9. 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
10. HORAI S: A new red cell phosphoglucomutase variant in the Japanese. *Jpn J Hum Genet* 20:175, 1975
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* 41:169-84, 1977
12. 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 and II, lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase, nucleoside phosphorylase, triosephosphate isomerase, hemoglobin A and hemoglobin A<sub>2</sub>. *Ann Hum Genet* 41:43-52, 1977
13. SMITHIES O: An improved procedure for starch-gel electrophoresis: Further variation in the serum proteins of normal individuals. *Biochem J* 71:585, 1959
14. SPENCER N, HOPKINSON DA, HARRIS H: Phosphoglucomutase polymorphism in man. *Nature* 204:742, 1964
15. FILDES RA, HARRIS H: Genetically determined variation of adenylate kinase in man. *Nature* 209:261, 1966

16. LIE-INJO LE, LOPEZ CG, POEY-OEY HG: Erythrocyte and leucocyte phosphoglucomutase in Chinese. *Am J Hum Genet* 20:101, 1968
17. SATOH C, UEDA N, KISHIMOTO S, HAMILTON HB: Polymorphisms of erythrocyte enzymes and serum proteins. Report 3. *Jpn J Hum Genet* 20:37, 1974
18. 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*)
19. OMOTO K, SATOH C, UEDA N, HORAI S: On the "slow" PGM<sub>1</sub> electrophoretic variants in Japanese. *Jpn J Hum Genet* 20:298, 1975
20. HARRIS H, HOPKINSON DA, ROBSON EB: The incidence of rare alleles determining electrophoretic variants: Data on 43 enzyme loci in man. *Ann Hum Genet* 37:237, 1974