

## 異常血色素

魯 一 協

(Received June 12, 1974)

Ihl-Hyeob Ro: Abnormal Hemoglobin

Hemoglobin (以下 Hb 라고 略稱함)은 肺에서 組織으로 酸素를 운반하는 生理的機能을 나타내는 一種의 色素蛋白質이다. Hb은 分子量 6萬8千이며 heme와 globin으로 되어 있고 Hb의 接合分子인 heme의 構造는 일찌기 1928年<sup>1)</sup>Fisher에 의하여 밝혀졌으나 蛋白部分인 globin의 化學構造에 대한 研究가 本格的인 進行을 보게 된 것은 1955年以後의 일이다. Globin은 두 種類의 polypeptide 즉  $\alpha$ -chain 및  $\beta$ -chain이  $\alpha_2\beta_2$ 와 같이 結合한 回轉橢圓狀 蛋白體이며 heme은 各各의 polypeptide에 한個씩 分配되어 있다.

$\alpha$ -Chain 및  $\beta$ -chain의 生成은 各各 固有의 遺傳子의 支配를 받으며 正常人은 父母로부터 正常的인  $\alpha$ -chain 및  $\beta$ -chain을 만드는 遺傳子를 받는다. 兩親의 한쪽에서 非正常的인 polypeptide를 만드는 遺傳子를 받은 사람은 正常 및 非正常的의 두 種類의 chain을 生成하므로 正常 Hb 外에 異常 Hb을 가지게 된다. 또 兩親雙方으로부터 非正常的인 polypeptide를 만드는 遺傳子를 받은 사람은 正常 peptide를 만들지 못하므로 全的으로 非正常的인 Hb을 產出한다. 非正常的인 peptide 組成을 가진 globin을 保有하고 있는 Hb을 異常 Hb이라 하고 이것의 生成으로 因하여 正常 Hb의 生成이 部分的으로 (또는 全的으로 抑制된 遺傳的인 狀態를 異常血色素症이라고 한다.

이 疾患의 代表的인 것은 鎌狀赤血球貧血 및 地中海貧血이다. 鎌狀赤血球貧血은 鎌狀의 特異한 赤血球가 나타나는 一種의 溶血性貧血로서 1945年 Pauling<sup>1)</sup>에 의하여 이 貧血患者의 赤血球가 HbS라고 불리우는 異常 Hb을 가진 것이 밝혀졌다. HbS는 酸素를 放出하여 還元型이 되면 溶解도가 1/200로 激減되어 sickling을 일으켜 일찌기 死亡하게 된다.

地中海貧血은 鐵劑도 治療효과가 없는 小血球性貧血로서 그 重症은 심한 骨變化를 일으키며 그 名稱이 뜻하는대로 地中海沿岸의 民族間에 볼수 있는 遺傳的인 疾患이다.

$\alpha$ -Chain과  $\beta$ -chain의 一次構造는 1961年 Braunitzer<sup>2)</sup>에 의하여  $\gamma$ -chain의 構造는 1962年 Schroeder<sup>3)</sup>에 의하여 完全히 밝혀졌으며 또  $\delta$ -chain의 構造도 거의 밝혀져 있다. 異常 Hb의 代表的인 HbS에 있어서 141個로 된  $\alpha$ -chain은 normal  $\alpha^A$ -chain과 構造가 같고 146個로

된  $\beta$ -chain만 normal  $\beta^A$ -chain과 다르다 ( $\alpha^A_2\beta^S_2$ )  $\beta^A$ -chain에서는 N-terminal로부터 6 번째 amino acid가 glutamic acid인데 HbS의  $\beta$ -chain의 것은 中性인 valine으로 바뀌어 있음이 Ingram<sup>4)</sup>에 의하여 밝혀졌다( $\alpha^A_2\beta^S_2$  Glu $\rightarrow$ Val). Amino acid 하나의 바뀌임이  $\alpha$ -chain 및  $\beta$ -chain을 構成하는 血色素의 物理的 性狀(荷電·溶解度·易變性·沈澱生成·O<sub>2</sub>抱合能·色調)에 決定的인 影響을 주며 나아가서는 血色素를 包藏하는 赤血球의 壽命을 短縮시켜 溶血性貧血을 일으키게 하는 것이다.

最近 Ingram의 finger printing technique<sup>5,6)</sup>를 비롯한 여러가지 分析手段의 發展으로 Hb에 관한 研究는 急速度로 發展되었으며 이 研究의 動向은 새로운 異常 Hb의 發見, 그 構造의 分析과 臨床的 症狀과의 關係, 民族移動의 推移에 關係있는 民族分布等을 밝히는데 큰 도움을 주고 있다.

### 正常 Hb의 分子構造

正常成人의 Hb는 보통 HbA (A-adult)라고 부르며 HbA로부터 heme을 除去시킨 globin을 DNP化시켜 鹽酸으로 加水分解시키면 DNP-Val.-Leu.과 DNP-Val-His-Leu이 生成된다. 이 結果로 보아 同 globin은 Val-Leu을 N-末端으로 하는  $\alpha$ -chain과 Val-His-Leu을 N-末端으로 하는  $\beta$ -chain으로 되어 있음을 알수있다.

$\alpha$  및  $\beta$ -chain의 分離法은 acetone-HCl<sup>7,8)</sup> 混合液에 의한  $\beta$ -chain의 分別沈澱法, 尿素解裂電氣泳動法<sup>9)</sup> 및 A.I. Chernoff法<sup>10)</sup> 등 여러가지 方法이 考案되었다. 이와 같은 方法에 따라 分離된  $\alpha$ -chain의 分子量은 大略 15,000~16,000,  $\beta$ -chain은 16,000~18,000정도임이 아미노酸分析結果 알려져 있다.

HbA는  $\alpha$ -chain 2個와  $\beta$ -chain 2個로 이루어진  $\alpha_2\beta_2$ 라는 polypeptide chain 組成을 가진 globin에 heme이 4個 結合된 것이므로 그 分子量은 64450 이다. 따라서 Hb은 tetramer로서 어떠한 條件에서는 解離되어 dimer 또는 monomer로 된다. 즉  $\alpha_2\beta_2 \rightleftharpoons 2\alpha\beta \rightleftharpoons 2\alpha + 2\beta$  처럼 tetramer, dimer (symmetrical)와 monomer는 相互平衡狀態에 있으며 pH 6.5~10.5에서는 주로 tetramer로 存在하고 pH 4.7~6.5 또는 pH 11에서는 주로 dimer로 pH 3.5 以下나 11.5 以上에서는 Hb은 變性을 하게된다. 또한 酸에 의하여 解離되었던 것을 中性으로 하면 다시 tetramer로 再結合된다.

正常成人 Hb의  $\alpha$ -와  $\beta$ -chain의 아미노酸配列順序를 比較하여 보면 서로 비슷하다.  $\alpha$ -,  $\beta$ -chain間 같은 位置에 같은 아미노酸으로 된것이 66군데가 있고 構造가 꼭같은 部位가 全體의 45%이다. 또  $\begin{matrix} \text{Ala} \\ \text{Gly} \\ \text{Ser} \end{matrix}$  Thr, Arg $\rightarrow$ Lys, Val $\rightarrow$ Leu, Phe $\rightarrow$ Tyr 처럼 서로 비슷한 아미노酸으로 代置된 部分이 23% (30군데)이며 나머지는 전연 다른 아미노酸으로 되어있거나(43군데) 어느한쪽이 결여되어 있다(9군데).

이와같이  $\alpha$ 와  $\beta$ 가 서로 비슷한 化學構造를 가지고 있다는 것은 heme와 結合하여 酸素를 運搬하는 Hb 本來의 使命을 이룬다는 共同의 機能上 당연하다고 할수 있다.

한편 Hb와 色素蛋白質이 그 機能을 이룩하는데 있어서 꼭 一定한 化學構造를 가져야 할 必要는 없으며 多少 그 構造가 變型되었다고 하더라도 機能發揮에 있어서는 큰 지장이 없는 것 같다. 그러므로 各種 動物의 Hb은 아미노酸配列이 同一하지 않으면서도 다같이 酸素運搬機能을 가지고 있다. 換言하면 同一한 機能을 發揮한다고 만드시 同一한 化學構造를 가졌다고 볼 수 없으므로 動物의 種類에 따라 또 個體에 따라 다른 化學構造와 다른 Hb을 가질

수 있으며 또 그런것이 存在할수 있다.

### 異常 Hb의 命名法<sup>11)</sup>

1960年 Journal of Hematology에 發表된 바와같이 alphabet A에서 Q까지의 것(但 B는 除外)과 S (Sickle cell anemia)는 이미 命名되어 發表된 것이므로 그대로 認定하기로 하고 當分間 새로 發見된 異常 Hb일지라도 나머지 alphabet를 充當하지 않고 우선 그것의 發見地名, 研究所名을 붙이도록 하고있다. 둘째 電氣泳動, chromatography, absorption spectrum, alkali 變性試驗 및 溶解度等の 一般의 方法에 의하여 어떠한 異常 Hb가 既知의 것으로 同定되었을 때 이미 容認된 alphabet 符號를 부치도록 되어 있다.

셋째 異常 Hb의 peptide chain의 異常이 同定되었을 때는 그 chain符號를 記하고 아미노酸의 構造가 完全히 解明될 때까지는 符號뒤에 發見地名을 記錄하도록 하고 있다.

이밖에 電氣泳動 또는 chromatography結果의 移動도로 보아 Hb의 것을 基準으로 하여 이것보다 빠른 移動도의 것을 fast-Hb, 反對로 느린것을 slow-Hb이라고 呼稱하는데 이 경우에는 分離方法 및 이때 사용한 緩衝液의 種類를 記錄하여야 한다.

### 主要 異常血色素와 그 特徵

HbF(胎兒 Hb)— 胎兒는 妊娠초기부터 3個月까지는 HbP<sup>12)</sup>(primitive)를, 3~4個月부터 出生後 1~2個月까지는 HbF를 그리고 出生後 約 3個月이면 大部分 正常成人이 가지는 HbA로 轉換된다. 이러한 觀點으로 볼때 어린애의 百日과 壽의 祝賀는 그 基源이 어디 있는지는 몰라도 偶然한 일은 아닌것 같다.

HbF는 HbA에 比하여 酸素에 對한 親和力이 크기 때문에 胎盤呼吸에 適當하며 胎兒가 이런 性質의 Hb를 가진다는 것은 合理的이라고 할수있다. HbF는 1866年 Körber<sup>13)</sup>에 의하여 alkali에 對한 抵抗性이 크다는 것이 立證되었으며  $\alpha_2\alpha_2$ 의 tetramer<sup>14)</sup>의 組成을 가지고 있다.  $\gamma$ -Chain은 glycine을 N末端으로 한 것이며 Schroeder 및 Matsude에 의하여 chain의 構造가 밝혀졌다.

HbF는 正常成人의 血液中에는 거의 存在하지 않지만 앞에서 설명한 鎌狀赤血球貧血地中海貧血患者의 血液中에 含有될 때가 있다. 그러나 이것이 含有되었다고 반듯이 臨床的으로 特異病狀이 나타나는 것은 아니다. 예를 들면 high fetal Hb病의 遺傳子를 가진 사람은 成人이 되어도 HbF의 産出이 계속되어 HbF가 全 Hb의 9~10%를 차지하지만 이밖의 다른點에서는 正常이고 또 健康에 何等 支障이 없는 경우도 있다. High fetal Hb病은 血液中에 HbF가 正常人보다 많이 含有되므로 thalassemia와 混同되는 경우가 있다.

HbS (Sickcell anemia)— HbS를 含有하는 赤血球는 sickling(鎌狀化)를 이르게 sickle cell anemia를 가져오기 때문에 오래前부터 注目을 받은 異常 Hb이다<sup>15,16)</sup> 約 50年前에 發見된 것이며 아라비아에서 始發하여 黑人種에 依하여 世界各地에 전파된 遺傳病이다. 1945年 Pauling은 HbS<sup>1)</sup>라고 命名하였다. 앞에서 설명한 바와같이 化學的으로 볼때  $\alpha$ -chain은 正常이지만  $\beta$ -chain에 있어서 6位置의  $\text{Glu} \rightarrow \text{Val}$ 으로 置換된 것이며 正常의 것은 glutamic acid인데 HbS의  $\beta$ -chain의 것은 中性의 valine으로 置換되어 있는 것이다. 1949年 Pauling, Itano<sup>17)</sup>는 sickle cell anemia는 Hb의 mutation에 因한 疾患이며 分子構造의 異常이 病因이 되기 때문에 “分子病”이라고 呼稱하였다.

Sickle cell anemia는 Mendel 法則에 따라 優性遺傳을 하므로 兩親中 한쪽에서만 異常遺傳子를 받은 異型接合狀態에서는 赤血球內에 正常成人의 것 HbA와 異常成分 HbS가 共存하여

sickle cell trait 狀態이지만 貧血은 이러나지 않는다. 그러나 兩親으로 부터 異常遺傳子를 받은 homozygot 즉 同型接合狀態의 患者는 HbS 만을 保有하기 때문에 成人이 되기 前에 死亡하게 된다. 여기서 하나 興味로운 사실은 HbS의 異型接合狀態 即 heterozygot인 HbS의 分布地域은 주로 malaria가 많은 地域, 特히 아프리카의 中東地方인데 HbS를 含有하는 赤血球에서는 malaria原蟲의 寄生이 抑制되므로 malaria에 對한 抵抗力이 強하다는 事實<sup>18,19)</sup>을 強調하는 바이다.

**Thalassemia** — Thalassemia는 1925年 Coolley에 依하여 報告된 溶血性貧血을 同伴하는 遺傳性疾患이며 一名 Coolley's anemia라고 한다.

Thalassemia를 支配하는 遺傳子는 주로 伊太利를 中心으로한 地中海地方, 中東地方에 많이 流布되어 있으므로 地域名을 따라 地中海貧血이라고도 부르고 있다.

Thalassemia major는 同型接合狀態이며 甚한 溶血性貧血 때문에 이 患者는 일찍 死亡하며 minor는 異型接合狀態를 말한다.<sup>20,21)</sup>

現在 thalassemia는  $\alpha$ -thalassemia와  $\beta$ -thalassemia로 區別되는데 前者는  $\alpha$ -chain生合成障害에基因된 것으로 成人에게서 보는 HbH( $\beta_4$ )症<sup>22)</sup> 또는 Hb Barts ( $\gamma_4$ )가 이에 屬한다. 이들은 胎兒時에 HbF의 合成이 不可能하므로 어려서 死亡하는 수가 많고  $\beta$ -thalassemia는  $\beta$ -chain 生合成障害가 原因이 되는데 胎兒時는 HbF를 正常的으로 만들어 異常없이 出生되므로 出産後에 혼히들 볼수 있는 것이다. 이 患者가 成人이 되었을때 HbA의 生合成이 안되어 이를 代償하기 위하여  $\beta$ -chain을 갖지않은 HbF (F-thalassemia)와 HbA<sub>2</sub>( $\alpha_2\delta_2$ ) (A<sub>2</sub>-thalassemia)가 만들어져 이들의 含量이 增加된다. 甚한 경우는 HbA<sub>2</sub>含量이 5~7%까지 增加된다고 하며  $\alpha$ -thalassemia에서는 HbA<sub>2</sub>는 存在할수 없기 때문에 HbA<sub>2</sub>의 存在與否로서  $\alpha$ ,  $\beta$ -thalassemia를 區別할 수 있다.

**HbM (黑血病)** — HbM는 自家酸化를 하여 methemoglobin이 되기 쉬우므로 酸素와의 結合機能을 喪失한다. 이와같은 Hb變異型을 總稱하여<sup>23,24)</sup> HbM라고 하며 이 Hb을 가진 血液은 초코렛드黑色을 나타내기 때문에 一名 黑血病<sup>25,26)</sup>이라고 하는데 貧血을 나타내는 異常 Hb들이다.

美國에서 發見된 HbM KANTAKEE<sup>26-29)</sup> (HbM IWATE)는 前記한 黑血病의 一種이며  $\alpha$ -chain의 87位置의 histidine이 tyrosine으로 置換된 것이며  $\alpha_2^{87Tyr} \beta_2^A$ 라고 表示할수 있다. 一方 隣接國家인 日本의 異常Hb 研究動向을 살펴보면 1945年 以後 先進外國에서는 異常 Hb의 typing, amino acid sequence 등의 研究가 盛行될때 他山之石같이 別로 興味를 갖지 않고 있던 次 偶然한 機會가 動機가 되어 日本의 岩手縣에서 160~170年동안 地方病으로만 생각되어 오던 遺傳病의 本態가 HbM임이 1960年 柴田等에 依하여 밝혀짐으로써 日本內의 異常 Hb 研究는 活氣를 띄게 된 것이다.

HbM IWATE는 HbA보다 負荷電이 多少 크지만 元來 그 差가 적기 때문에 普通 paper나 starch gel에서 兩者를 區別하기 어렵고 Hb-O<sub>2</sub>로 하여 pH 7에서 agar gel electrophoresis 하면 HbA보다 陽性으로 좀 빨리 移動하기 때문에 分離檢出할수 있다. 이 밖에 이스라엘에서도 이와같은 變異型이 發見되었다고 報告되어 있다.

HbM KURUME<sup>30)</sup>는 1960年 日本國 久留米에서 처음으로 發見되었으며 이것은 Hb-O<sub>2</sub>型으로서 agar gel electrophoresis에 依하여 HbA와 分離할 수 없으므로 HbM IWATE와 다른 것으로 取扱되었지만 아미노酸構造를 보면 다같이  $\beta$ -chain의 63位置의 His→Tyr로 置換되어 있음

이 밝혀졌다. 이것은 1963年 Canada에서 發見된 HbM SASKATON과 同一物일이 밝혀졌다.

1958年 美國에서 發表된 HbM BOSTON<sup>31)</sup>은  $\alpha$ -chain의 58位置의 His→Tyr로 置換된 것이다. 1960年 Sweden에서 發見된 HbM GOTHENBERG 또는 같은 해 日本國 大阪의 紫藍症患者로 부터 分離된 HbM OSAKA들은 다들 같은 것 들이다.

其他 異常 Hb—HbC<sup>32)</sup>는 HbS 다음에 發見된 것으로 아프리카, 가나地方에 특히 많이 分布되어 있으며 地方에 따라 20%의 保有頻度を 나타내고 있다. HbC의 化學構造는  $\beta$ -chain의 6位置의 Glu→Lys로 置換된 것이며 酸性인 glutamic acid가 鹽基性인 lysine으로 바뀌었기 때문에 HbA보다 移動도가 느리다.

HbE<sup>33)</sup>는  $\beta$ -chain의 26位置의 Glu→Lys으로 置換되어 있고 pH 8.6에서 HbC와 비슷한 移動도를 나타내고 있다. 異常 Hb中에는 臨床적으로 볼 때 異常이 없는 것들도 있다. Hb C, D, E 등은 臨床적인 異常症狀이 없는 것 들이며 Swiss에서 發見된 Hb ZÜRICH<sup>34, 35)</sup>는 그 自體는 臨床的인 異常症狀이 없으나 sulfon劑의 內服에 의하여 심한 溶血性貧血을 일으키는 妙한 異常 Hb인데 現在로서는 그 原因을 알 수 없다.

#### 韓國人的 異常 Hb

近來크게 發展되고 있는 Hb에 關한 研究의 世界的趨勢와 그 重要性으로 미루어 볼때 韓國人에 關한 研究가 切實히 要望된다. 지금 東洋에 있어서 異常 Hb의 分布를 살펴보면 Thailand, Burma, Cambodia 等地는 HbE 가 높은 比로 分布되어 있고 中國大陸에는 HbH가, 또 北方大陸에는 HbM이 많다는것은 널리 알려져있는 일이고 隣接國家인 日本은 그 先祖가 南方 또는 北方에서 日本列島에 渡來하였으리라는 人類學的인 解釋이 있다. 따라서 異常 Hb의 保有頻度は 낮지 않을 것이 豫想된다.

이와같이 隣接해 있는 兩國間的 地理的 또는 歷史的交流 또는 6·25動亂을 契機로 HbS, HbC의 保有頻도가 높은 黑人兵士와 韓國女性間的 混血兒의 出生 등으로 異常 Hb의 screening test가 切實히 要望되어 오던차 著者는 美國海軍第二醫學研究所 (U.S. Naval Medical Research Unit-2)의 Dr. R.Q. Blackwell와 screening test를 共同研究하기로 合意 보아 1966年 8月 第1次로 大邱地區의 軍人 2,110名에 대하여 screening test한 結果 1名의 異常 Hb 保有者를 發見하여 發見地名 및 澱粉電氣泳動實驗結果에 의하여 HbG TAEGU라고 命名하여 報告<sup>36, 37)</sup> 한바 있다. 1967年 6月 第2次로 서울 및 大田地區의 男女學生 4,590名에 대하여 異常 Hb 保有者(서울에서 男女 各 1名, 大田에서 男子 1名)을 檢索하였다.

이때까지 韓國人을 對象으로 한 異常 Hb에 關한 研究는 이것이 始初였으며 1963年 山岡<sup>38)</sup>와 1964年 花田<sup>39)</sup>에 의하여 在日僑胞中에서  $\alpha$ -chain變異型인 Hb FUKUOKA 및 Hb KAGOSHIMA가 報告된 바 있었을뿐 이다.

그後 著者는 獨自的으로 HbG TAEGU의 本態를 究明코자 basorption spectrum, alkali denaturation, chain anomaly 및 proband의 家族調查를 통한 遺傳經路等에 關하여 報告<sup>40)</sup> 한 바 있다. HbG TAEGU는 heterozygot이며  $\beta$ -chain anomaly임이 밝혀졌으며 계속하여 HbG TAEGU의 化學構造를 報告<sup>41)</sup> 한 바 있다. 이에 의하면  $\beta$ -chain의 22位置의 glutamic acid가 alanine으로 置換되었음이 ( $\alpha_2\beta_2$  <sup>22Glu→Ala</sup>) 밝혀졌다.

韓國에서 첫發見 實例인 異常 HbG TAEGU에 대하여 다음과같이 關聯部分을 綜合結論하는 바이다.

1. 總對象 67004名中 4名の 異常 Hb保有者를 檢索하였으므로 이 結果에 의하면 과히 높지 않은 0.06%의 異常血色素 保有頻度를 나타내고 있다.
2. Tris-EDTA-borate (pH 8.6)를 사용한 vertical starch gel electrophoresis에서 HbG T<sub>AEGU</sub>의 移動度는 HbA,보다 느리나 HbA<sub>2</sub>보다는 빠르며 HbF보다는 약간 느린 移動度를 나타내고 있다.
3. Tris-EDTA-borate buffer (pH 8.6)로 pevikon block electrophoresis를 실시하여 HbA<sub>1</sub>과 HbG T<sub>AEGU</sub>를 分離하였으며 異常 Hb은 總量 Hb의 約 50% 였다.
4. HbG T<sub>AEGU</sub>의 病的異常鑛決定을 urea-starch gel electrophoresis 및 canine-Hb과의 hybridization test (雜種化試驗)로 檢討한 結果  $\beta$ -chain anomaly임을 밝혔다.
5. HbG T<sub>AEGU</sub> 溶血液의 alkali變性에 대한 抵抗力 및 absorption spectrum를 調査한바 正常이었다.
6. HbG T<sub>AEGU</sub> 保有者의 全家族 (5名)에 대하여 異常 Hb를 調査한바 父親도 HbG T<sub>AEGU</sub> 를 가진 heterozygote임을 알아 냈다.
7. 異常 HbG T<sub>AEGU</sub>의 異常 globin 成分을 分離하고 다시 Wilson & Smith法에 따라  $\alpha$ - 및  $\beta$ -chain을 分離後 Ingram의 finger print technique를 거쳐 amino acid sequence를 決定 한 바  $\beta$ -chain의 22位置의 glutamic acid가 alanine으로 置換된 것이다<sup>41)</sup> ( $\alpha_2\beta_2$  <sup>22A1a</sup>).
8. HbG T<sub>AEGU</sub>를 除外한 3 case의 異常 Hb도 역시  $\beta$ -chain 變異型였으며 또 家族調査結果 父母의 한쪽에서 遺傳된 heterozygot 임이 밝혀졌다.
9. 東南亞等地에서 흔히 있는 異常 HbE 型은 韓國等地에서는 檢出되지 않으리라는 豫想을 뒷받침 한다고 볼수 있다.

## 文 獻

1. L. Pauling, H. A. Itano, S.J. Singer and I. C. Wells, *Science*, **110**, 543 (1949)
2. G. Braunitzer, R. Gehring-Muller, N. Hilschmann, K. Hilse, G. Hobom, V. Rudloff and B. Wittmann-Liebold, *Z. Physiol. Chem.*, **325**, 283 (1961)
3. W. A. Schroeder, J. R. Shelton and J. Cormick, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **48**, 284 (1962)
4. V. M. Ingram, *Biochim. Biophys. Acta*, **36**, 402 (1959)
5. V. M. Ingram, *Ibid.*, **28**, 539 (1958)
6. C. Baglioni, *Ibid.*, **48**, 392 (1961)
7. S. Wilson, B. D. Smith, *Canada J. Biochem. Physiol.*, **37** 405 (1957)
8. M. L. Anson and A. F. Mirsky, *J. Chem. Physiol.*, **13**, 469 (1930)
9. T. Take, *J. Biochem.*, **49**, 206 (1961)
10. A. I. Chernoff and N. M. Pettit Jr., *Blood*, **24**, No.6, (1964)
11. P. S. Gerald, and V. M. Ingram, *J. Biol. Chem.*, **236**, 2155 (1961)
12. E. A. Butler, F. V. Flyun, and E. R. Heuhns, *Acta*, **5**, 571 (1960)
13. E. Körber, *Zent. Med. Wiss.*, **117**, 1867 (1866)
14. W. A. Schroder, *Conf. Hemoglobin*, Arden House Columbia Univ., New York, 1962
15. J. B. Herrick, *Arch. Internat. Med.*, **6**, 517 (1916)
16. J. V. Neel, *Science*, **110**, 64 (1949)
17. H. A. Itano, *Adv. Prot. Chem.*, **12**, 216 (1957)

18. P. Brain, *Brit. Med. J.*, **2**, 880 (1962)
19. 松田, 蛋白質核酸・酵素, **7**, 743 (1962)
20. H. Lehmann and J.A.M. Ager, *In the Metabolic Basis of Inherited Disease*, New York, MacGraw Hill
21. L. Bianco, G. Montalenti, E. Silvestroni and M. Siniscalco, *Annals of Eugenics*, **16**, 297 (1952)
22. A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **38**, 187 (1953)
23. P. S. Gerald, and P. Geogl, *Science*, **129**, 393 (1949)
24. P. S. Gerald, and L. K. Dianend, *Blood*, **13**, 61 (1958)
25. A. Tamura, M. Takahashi, H. S. Ishii, and S. Akashi, *J. Tohoku Exptl. Med.*, **64**, 333 (1956); 田村彰, 診療, **16**, 212 (1963)
26. S. Shibata, A. Tamura, I. Iuchi, and H. Takahashi, *Acta Haem. Jap.*, **23**, 96 (1960)
27. S. Shibata, A. Tamura, I. Iuchi, and T. Miyaji, *Proc. Jap. Acad.*, **40**, 220 (1964)
28. T. Miyaji, I. Iuchi, S. Shibata, I. Takeda, and A. Tamura, *Acta Haem. Jap.*, **27**, 13 (1964)
29. P. Heller, G. Weinstein, V. J. Yakulis and I.M. Rosenthal, *Blood*, **20**, 287 (1962)
30. S. Shibata, T. Miyaji, I. Iuchi, S. Ueda, I. Takeda, N. Kinura and S. Kodama, *Acta Haem. Jap.*, **25**, 690 (1962)
31. P. S. Gerald and M.L. Efron, *Proc. Natl. Acad. Soc.*, **47**, 1758 (1961)
32. H. A. Itano and J. V. Neel, *ibid.* **36**, 613 (1950)
33. H. A. Itano, W. R. Bergren and P. Sturgeon, *J. Am. Med. Soc.*, **76**, 2278 (1954)
34. P. G. Frick, W. H. Hitzig and K. Betke., *Blood*, **29**, 261 (1962)
35. C. J. Muller and S. Kingma, *Biochem. Biophys. Acta*, **50**, 595 (1961)
36. R. Q. Blackwell, I. H. Ro, J.J-H. Huang and L. C. Chien, *J. Formosan Med. Assoc.*, in press, 1966
37. R. Q. Blackwell. I. H. Ro and J. J-H. Huang., *Science*, **158**, 1056 (1967).
38. 山岡憲二, 診療, **10**, 181 (1963)
39. 花田基典, 日本臨床血液協會 Symposium, 1964
40. 魯一協, 漱大論文集, **7**, 377 (1968)
41. R. Q. Blackwell, I. H. Ro, C. S. Liu, H. J. Yang, C. C. Wang and J. T-H. Huang, *Am. J. Phys. Anthropol.*, **30**, 389 (1970)