

Originalarbeiten · Original Papers

Der Polymorphismus der Adenylatkinase (EC: 2.7.4.3.) Genfrequenzen und Anwendbarkeit in der forensischen Serologie

B. BRINKMANN, M. BAHMANN und G. THOMA

Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Hamburg (BRD)

Eingegangen am 9. September 1970

Adenylate Kinase Polymorphism (EC: 2.7.4.3.) Gene Frequencies and Practicability in Forensic Serology

Summary. Adenylatekinase phenotypes of 1136 unrelated individuals from Hamburg were tested using starch electrophoresis. The following gene frequencies were determined: Adenylatekinase¹ = 0.964, Adenylatekinase² = 0.036. Furthermore, 492 mother-child cases were tested. The phenotypes of the children approach the expected distribution according to Hardy-Weinberg.

The applicability in paternity proceedings is discussed.

In exclusion cases it is suggested that the term "paternity is evidently impossible" be used.

Key-Words: Adenylatkinase—Polymorphismus, Adenylatkinase—Genfrequenzen, Adenylatkinase.

Zusammenfassung. AK-Phänotypen von 1136 unverwandten Personen aus Hamburg wurden stärkegelelektrophoretisch untersucht. Als Genfrequenzen wurden gefunden: AK¹ = 0,964, AK² = 0,036. Weiterhin wurden 492 Mutter-Kind-Paare untersucht. Die gefundene Kinderphänotypenverteilung ähnelt — unter Panmixie-Voraussetzung — der erwarteten.

Anwendbarkeit und Beweiswert im Paternitätsverfahren werden diskutiert. In Ausnahmefällen erscheint das Prädikat „offenbar unmöglich“ zulässig.

Fildes und Harris [1] beschrieben 1966 einen Polymorphismus der Isoenzyme der Adenylatkinase (AK). Drei Phänotypen wurden beobachtet und der Wirkung zweier autosomaler, kodominanter Gene (AK¹ und AK²) zugeordnet: AK 1, AK 2, AK 2-1. Nach elektrophoretischer Auftrennung von Hämolysaten wurden je nach Typ zwischen 4 und 5 Banden gefunden. Die Typen unterschieden sich durch Größe und Wanderungsgeschwindigkeit der kathodischen Fraktion (-en; s. Abb. 1). In der Folgezeit wurden zwei weitere, seltene Allele (AK³ und AK⁴) in Kombination mit AK¹ beschrieben ([2, 3], s. auch Abb. 1).

Ein kompletter Verlust nahezu aller AK-Banden wurde ebenfalls beschrieben [4]. Durch Aktivitätsbestimmungen und Erbgangsanalysen ließ sich Homozygotie für das Zustandekommen des AK-Verlustes (Gendeletion?, Suppression?) wahrscheinlich machen. Eine chromosomale Koppelung mit dem AB0-Locus erscheint möglich [3].

Nach säulenchromatographischen Untersuchungen waren Bowman et al. [2] der Ansicht, daß die schwachen anodischen Banden keine AK-Orte darstellen, sondern durch die Wirkung der dort liegenden Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und 6-Phosphogluconatdehydrogenase entstehen. Dieser Annahme wurde durch Rapley et al. [3] widersprochen, die beim Typ

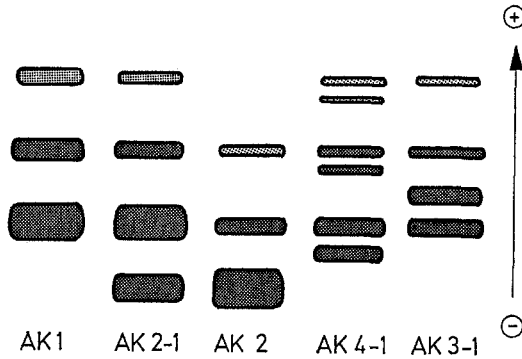


Abb. 1. AK-Phänotypen nach Rapley et al. [3], ergänzt durch Verfasser

AK 4-1 eine Doppelung des Gesamtzymogramms und damit auch der anodischen Fraktionen beschrieben.

Weiterhin wurde diskutiert und angenommen, daß die AK mit der Pyruvatkinase eine Polypeptidkette gemeinsam habe [5]. Diese Hypothese ließ sich durch subtile elektrophoretische Studien mit selektiver AK-Inhibition widerlegen [6].

Die AK, welche in vivo als Phosphotransferase agiert ($2 \text{ ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$), besitzt ein Molekulargewicht von ca. 24000 [2]. Sie ist lagerungs- [7] und säurestabil [2] und läßt sich aus Blutspuren noch nach Wochen [8] und nach eigenen Untersuchungen [9] noch nach Monaten nachweisen.

Bei Anwendung in der Paternitätsserologie bietet die AK je nach Genfrequenz eine Ausschlußchance zwischen 3,2 und 3,5% [10, 11].

Frequenzanalysen und Erbgangsuntersuchungen haben das angenommene Genmodell bisher bestätigt. Sie sollen zusammen mit den vorliegenden Untersuchungen zur Frage des Beweiswertes zusammengefaßt und diskutiert werden.

Materialien und Methoden

Hämolyse wurden durch 1:2-Verdünnung von Erythrocytensediment mit Aqua dest. hergestellt.

Ein Teil der Blutproben wurde in enger Anlehnung an eine von Radam und Strauch [12] entwickelte und in dieser Zeitschrift beschriebene Methode aufgetrennt. In einigen Punkten erfolgte eine geringe Modifizierung: Gelpuffer: 0,01 m Phosphatpuffer, pH 6,5. Brückenpuffer: Phosphatpuffer, pH 6,15, an der Anode 0,1 m, an der Kathode 0,3 m.

Ein weiterer Teil der Hämolyse wurde in einer hier entwickelten „Kombinationsmethode“ analysiert, die den parallelen Nachweis der 6-PGD [13] und neuerdings zweier weiterer Enzyme ermöglicht.

Ergebnisse und Diskussion

1. Genfrequenzen. Aus einer Stichprobe von 1136 nicht miteinander verwandten erwachsenen Personen beiderlei Geschlechts (etwa gleicher Anteil) wurden die Phänotypen bestimmt und die Genfrequenzen berechnet (s. Tabelle 1). Bei nahezu 100%iger Übereinstimmung zwischen Beobachtungs- und Erwartungswerten erübrigte sich eine Signifikanzberechnung.

Bei Vergleich mit anderen europäischen Frequenzanalysen (s. Tabelle 2, A) ergibt sich eine auffällig gute Übereinstimmung. Bei Festlandeuropäern schwankt die Häufigkeit von AK^2 zwischen 0,031 und 0,037.

Tabelle 1. *Stichprobe Hamburg*

	AK 1	AK 2-1	AK 2	n
Gefunden	1056	79	1	1136
Erwartet	1055,7	78,8	1,5	1136

AK¹: 0,964; AK²: 0,036.

Signifikante Unterschiede findet man bei einem Frequenzvergleich mit anderen Rassen (s. Tabelle 2), von denen nur einige der untersuchten aufgeführt werden. Bei Negern (afrikanischen) [2] und Chinesen [14] besitzt das Gen AK¹ eine Häufigkeit von praktisch 1,0, bei Pakistani und Indern [3] besitzt das Gen AK² eine Häufigkeit von 0,1—0,13. Durch Frequenzanalysen ließ sich so der Durchmischungsgrad der amerikanischen Neger relativ gut bestimmen [2].

2. *Familienuntersuchungen.* 492 Mutter-Kind-Paare, hierunter 452 „kritische“ (homozygote Mütter) wurden auf ihre AK-Phänotypen untersucht. Genetische Inkompatibilitäten wurden nicht gefunden. Ein Vergleich der gefundenen Kinderphänotypenverteilung mit der erwarteten (nur Zahlen > 5 wurden getestet) — unter Panmixievoraussetzung — ergibt eine gute Übereinstimmung.

Aus der Literatur (s. Tabelle 4) ergeben sich weitere Familienuntersuchungen. Entsprechend den Mendelschen Gesetzen findet sich eine nahezu ideale Aufspaltung der Phänotypen in der Filialgeneration. Untersucht man auch diese Fälle auf „kritische“ Erbgänge — jedes Kind stellt *einen* Erbgang dar, der bei Homozygotie der Mutter als „kritisch“ zu bezeichnen ist — so ergeben sich zusammen mit den vorliegenden Untersuchungen $n=1184$ „kritische“ Erbgänge.

3. *Beweiswert.* Es stellt sich die Frage, mit welchem Sicherheitsgrad ein isolierter Ausschluß im AK-System zu bewerten ist. Herbieh [18] weist darauf hin, daß es nach dem Grundsatzgutachten des Robert-Koch-Institutes zur Qualifikation von Ausschlüssen [19] offen sei, ob man die „kritischen“ Erbgänge in der „Fallzahlrechnung“ oder die Gesamtzahl der Erbgänge in der „Null-Ergebnis-Rechnung“ berücksichtigt. Zur Qualifizierung mit „offenbar unmöglich“ wären nach der „Fallzahlrechnung“ 370—500 „kritische“ Familienverbindungen, nach der „Null-Ergebnis-Rechnung“ 2301—3107 KM-Kd-Verbindungen nötig. Für einen AK-Ausschluß mit „offenbar unmöglich“ stehen ausreichend „kritische“ Verbindungen zur Verfügung. Zu berücksichtigen ist weiterhin, daß im Gegensatz zu den klassischen Blutgruppen durch die direkte „Sichtdiagnostik“ der Genprodukte kleinste Abweichungen im Genotyp erkennbar sind. Selbst Gendeletionen, wenn sie heterozygot vorliegen, sind durch Aktivitätsanalysen erkennbar. Hierin liegen — optimale Techniken vorausgesetzt — erhebliche Sicherheitsvorteile gegenüber den klassischen Blutgruppen.

Die Bewertung eines Ausschlusses mit dem höchsten Prädikat halten wir für angemessen.

Wir danken Herrn Prof. Dr. K. Thomsen, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Hamburg, für die Bereitstellung eines Teils der untersuchten Blutproben.

Fräulein Thiel und Frau Iwanoff sei für sorgfältige, technische Assistenz gedankt.

Tabelle 2

Origo	Autoren	n	AK ¹	AK ²	AK ³	AK ²	AK ³
A							
Europide:							
England	Rapley et al. (1967) [3]	1887	0,955	0,0405			
USA	Bowman et al. (1967) [2]	1315	0,9525	0,0471	0,0004		
Norwegen	Berg 1969 [7]	377	0,9562	0,04338			
Italien	Modiano et al. (1969) [15]	841	0,963	0,037			
Türkei	Hummel et al. (1970) [17]	274	0,958	0,042			~0,04
Deutsch(sprachig)							
Österreich	Mayr u. Pausch (1970) [10]	407	0,9656	0,0344			
Süd-Westdeutschland	Wille u. Ritter (1968) [16]	407	0,969	0,031			
Süd-Westdeutschland	Hummel et al. (1970) [17]	970	0,965	0,035			
Berlin	Radam u. Strauch (1968) [11]	2008	0,9626	0,0358	0,0015		
Hamburg	diese Untersuchung	1136	0,964	0,036			
B							
Chinesen:							
Taiwan	Shih et al. (1968) [14]	110	1,000	0,000			<0,01
Festland	Shih et al. (1968) [14]	117	0,996	0,004			
Neger:							
Westafrika	Bowman et al. (1967) [2]	800	1,000	0,000			
Amerika	Bowman et al. (1966) [2]	380	0,986	0,004			
Lappen	Rapley et al. (1967) [3]	307	0,995	0,005			
C							
Pakistani	Rapley et al. (1967) [3]	54	0,87	0,13			≥0,1
Inder	Rapley et al. (1967) [3]	132	0,902	0,098			

Tabelle 3. Mutter-Kind-Paare, Hamburg

Mutter	Kind			
	AK 1	AK 2-1	AK 2	<i>n</i>
AK 1	429 (434,76) $\chi^2 = 0,076$	22 (16,23) $\chi^2 = 2,051$	0 (0)	451 (450,99)
AK 2-1	23 (19,28) $\chi^2 = 0,717$	17 (20,0) $\chi^2 = 0,450$	0 (0,75)	40 (40,03)
AK 2	0 (0)	1 (0,93)	0 (0,07)	1 (1,0)
				492

$\Sigma \chi^2 = 3,30$, FG = 2, p = 0,808.

Tabelle 4. Familienuntersuchungen AK

Vater × Mutter	<i>n</i> Familien	Kd 1	Kd 2-1	Kd 2	<i>n</i> Kinder	<i>n</i> „krit.“ KM- Kd-Paare	Autoren
1 × 2-1	28	40	30	0	70	0	Fildes u. Harris (1966) [1]
2-1 × 1	26	32	34	0	66	66	
1 × 2-1	66	90	74	0	164	0	Rapley et al. (1967) [3]
2-1 × 1	53	54	63	0	117	117	
2-1 × 2-1	8	5	7	3	15	0	
	131	—	—	—	131	120	Mayr u. Pausch (1970) [10]
1 × 1	83	392	0	0	392	392	Berg (1969) [7]
1 × 2-1	4	13	8	0	21	0	
2-1 × 1	8	18	19	0	37	37	
2-1 × 2-1	1	2	2	1	5	0	
1	451	427	24	0	451	451	diese Unter- suchung
2-1	40	25	15	0	40	0	
2-2	1	0	1	0	1	0	
					1510	1184	

Literatur

1. Fildes, R. A., Harris, H.: Genetically determined variation of adenylate kinase in man. *Nature (Lond.)* **209**, 261—263 (1966).
2. Bowman, J. E., Frischer, H., Ajmar, F., Carson, P. E., Gower, M. K.: Population, family and biochemical investigation of human adenylate kinase polymorphism. *Nature (Lond.)* **214**, 1156—1158 (1967).
3. Rapley, S., Robson, E. B., Harris, H.: Data on the incidence, segregation and linkage relations of the adenylate kinase polymorphism. *Ann. hum. Genet.* **31**, 237—242 (1967).

4. Szeinberg, A., Gavendo, S., Cahane, D.: Erythrocyte adenylate-kinase deficiency. *Lancet* **1969 I**, 315—316.
5. Böckelmann, W., Wolf, V., Ritter, A.: Polymorphism of the phosphotransterases adenylate kinase and pyruvate kinase. Existence of a common subunit? *Hum. Genet.* **6**, 78—83 (1968).
6. Brock, D. J. H.: Evidence against a common subunit in adenylate kinase and pyruvate kinase. *Hum. Genet.* **10**, 30—34 (1970).
7. Berg, K.: Genetic studies of the adenylate kinase (AK) polymorphism. *Hum. Hered.* **19**, 239—248 (1969).
8. Culliford, B. J., Wraxall, B. G. D.: Adenylate kinase types in bloodstains. *J. For. Sci.* **8**, 79—80 (1968).
9. Brinkmann, B., Thoma, G.: Forensische Verwertbarkeit weiterer Enzym polymorphismen: Adenylatkinase, 6-Phosphogluconatdehydrogenase und Adenosindeaminase. Vortrag 49. Jahrestagg d. Dtsch. Ges. f. Rechtsmedizin, Bern, September 1970.
10. Mayr, W. R., Pausch, V.: Die Adenylatkinasegruppen. Verteilung in Wien und Anwendung in der Paternitätsserologie. *Ärztl. Lab.* **16**, 53—54 (1970).
11. Radam, G., Strauch, A.: Populationsgenetik der Adenylatkinase (EC 2.7.4.3.). *Hum. Genet.* **6**, 90—92 (1968).
12. — — Bestimmung der Adenylatkinase-Varianten beim Menschen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **63**, 166—170 (1968).
13. Brinkmann, B., Thoma, G.: Kombinierte elektrophoretische Darstellung der Adenylatkinase (AK) und der 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGD). *Hum. Genet.* (im Druck).
14. Shih, L.-Y., Hsia, D. Y.-Y., Bowman, J. E., Shih, S.-C., Shih, P.-L.: The electrophoretic phenotypes of red cell 6-phosphogluconate dehydrogenase and adenylate kinase in chinese populations. *Amer. J. hum. Genet.* **20**, 474—477 (1968).
15. Modiano, G., Scozzari, R., Gigliani, F., Santolamazza, C.: Gene frequencies of adenylate-kinase polymorphism in the Roman population. *Hum. Genet.* **8**, 253—254 (1969).
16. Wille, B., Ritter, A.: Zur Populationsgenetik der Adenylatkinase: Genhäufigkeit in einer südwestdeutschen Stichprobe. *Hum. Genet.* **5**, 278—280 (1968).
17. Hummel, K., Pulverer, G., Schaal, K. P., Weidtmann, V.: Häufigkeit der Sichttypen in den Erbsystemen Haptoglobin, Gc, saure Erythrocytenphosphatase, Phosphoglucomutase und Adenylatkinase sowie den Erbeigenschaften Gm (1), Gm (2) und Inv (1) bei Deutschen (aus dem Raum Freiburg i. Br. und Köln) und bei Türken. *Hum. Genet.* **8**, 330—333 (1970).
18. Herbich, J.: Sicherung des Erbgangs serologischer Merkmale. *Ärztl. Lab.* **15**, 69—73 (1969).
19. Sachverständigenberatung über die Frage des Beweiswertes der Blutgruppenbestimmung vom 6. 12. 1939 — Gutachten des Robert-Koch-Institutes v. 12. 1. 1939 und 9. 8. 1941. *Zit. nach Hennig, W., Hoppe, H. H.: Blut* **10**, 361—367 (1964).

Dr. med. B. Brinkmann
Institut für gerichtliche Medizin
und Kriminalistik der Universität
D-2000 Hamburg 54, Butenfeld 34