

## Übersichtsreferat — Review Article

# Erythrocytäre Enzypolymorphismen in der forensischen Serologie

B. BRINKMANN

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

Eingegangen am 24. Juni 1971

### Red Cell Enzyme Polymorphisms in Forensic Serology

*Summary.* It is reported on the use of five red cell enzyme polymorphisms in forensic serology.

*Acid Phosphatase.* Some electrophoretic methods are given, classifiable roughly into three categories of isozyme patterns. Available physico-chemical properties are reported. Recent data suggest that the two isozymes, produced by one allele are conformational isomers. Gene frequencies in european populations show certain north-to-south differences that could be accommodated on, if the probability of the paternity has to be calculated. From the present literature 4151 mother/child pairs are summarized without exception of the postulated gene model. The constellation of exclusion "child-homozygous, accused man—oppositely homozygous", should be reinvestigated by quantitative gene dosage measurements to exclude the existence of the P<sup>0</sup> allele.

Discrepant data are available on the literature about the use in identification cases of bloodstains and bloodsamples. These problems need further clarification by more sensitive procedures.

*Phosphoglucomutase.* Electrophoretic methods and physicochemical properties are reported. Gene frequencies in several populations are given. Certain north-to-south differences between european populations should be taken into account. 4966 mother/child pairs have been summarized from the literature without genetic incompatibility. The existence of the PGM<sub>1</sub><sup>0</sup> allele should be considered too when an opinion is given on exclusion cases with opposite homozygosis. There is a good chance in bloodstain and blood sample identification cases to determine this enzyme after considerable time of storage.

*6-Phosphogluconate-dehydrogenase.* A designation with letters only is used for the different genes and Phenotypes. Methods for the electrophoretic separation and enzyme's physico-chemical properties are given. Differences of gene frequencies between northern and southern european populations have to be considered in paternity proceedings. 933 mother/child pairs have been reported in the literature without any irregularities. As exclusion cases will occur mostly, when the child is heterozygous (AB) and the accused man homozygous (A), there is a high degree of reliability, when one has to give an opinion on this constellation. The identification in stored bloodstains is possible up to 4 weeks.

*Adenosine Deaminase.* Methods of determination and the physico-chemical properties are described. It is pointed out to the rather quick changes of patterns that occur on storage. For gene frequencies in european populations there seems to be present a north-to-south trend. 1600 mother/child pairs have been published without exception of the mendelian rules. According to the PGD-system the normal exclusion cases should be judged to be reliable. The determination of this enzyme in bloodstains is possible after considerable time of storage.

*Adenylate Kinase.* Some methods of determination and the properties of the enzyme are reported. Gene frequencies in most european populations are rather homogeneous. 1510 mother/child pairs are available on the literature. Normal exclusion cases (heterozygous

child, homozygous man) should be judged to be reliable. Identification in stored blood samples and in stains is possible after long time storage.

Some other red cell enzyme polymorphisms are shortly reported too.

*Zusammenfassung.* Es wird berichtet über die erythrocytären Enzym polymorphismen: saure Erythrocytenphosphatase, Phosphoglucomutase, 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase, Adenosindeaminase, Adenylatkinase. Die beobachteten Phänotypen einschließlich der seltenen Varianten werden beschrieben. Eine Beschreibung der physikochemischen Eigenschaften folgt. Die meisten der bisher mitgeteilten Genfrequenzen werden tabellarisch dargestellt. Eine tabellarisch zusammengefaßte Aufstellung der bisher publizierten Familiendaten erfolgt für jedes Enzym. Die Anwendbarkeit und der Sicherheitsgrad bei der Abstammungsbegutachtung werden diskutiert. Über die publizierten Nachweisgrenzen aus gelagerten Blutspuren und Blutproben wird ebenfalls berichtet.

*Key-Words:* Enzym polymorphismen, Erythrocyten — Vaterschaftsgutachten — Spurens-identifikation.

Mit der Entdeckung einer Reihe von erythrocytären, genetisch gesteuerten Enzym polymorphismen seit 1963 entstand für den forensischen Serologen ein neues Aufgabengebiet. Nicht nur die forensische Serologie im engeren Sinne, sondern auch eine Anzahl weiterer Wissenschaftszweige — von der Genetik bis zur klassischen Gerichtsmedizin — erhielten neue Impulse. So nahm und nimmt die Anzahl an Publikationen zu diesem Gebiet asymptotisch zu. Die Zahl der zur Verfügung stehenden Arbeiten erreicht die Zahl 500 und ist in einem Übersichtsreferat bereits nur noch stark komprimierend und unvollständig unterzubringen. Wenn dennoch der Versuch dazu gemacht werden soll, so muß eine Beschränkung auf das Wesentliche in Kauf genommen werden. Hieraus ergibt sich, daß nur forensisch relevante Polymorphismen ausführlich behandelt werden können, die übrigen nur streifend. Eine möglichst umfassende Übersicht über Genfrequenzen in den verschiedenen Populationen, ein umfangreiches Literaturverzeichnis soll unnötiges Nachsuchen erleichtern. Eine Erörterung der Beweissicherheit und der noch bestehenden Unklarheiten soll versucht werden. An dieser Stelle sei auf ausführliche Standardwerke hingewiesen: Giblett [1], Harris [2], Yunis [3].

### 1.1. Saure Erythrocytenphosphatase (EC 3.1.3.2.) SEP

Die saure Erythrocytenphosphatase ist eine Phosphohydrolase und -transferase, die sich in ihren biochemischen Eigenschaften von den Phosphatasen anderer Gewebe deutlich unterscheidet [4—7]. Es existieren zahlreiche synonyme Abkürzungen: P oder Ph für *phosphatas*, aP oder aPh für *acid phosphatas*, PHs für *phosphatas of the human species*, RBCAP für *red blood cell acid phosphatase*, EAP für *erythrocytic acid phosphatase* und SEP für saure Erythrocytenphosphatase, von denen u.E. nur die beiden letztgenannten den Begriff befriedigend definieren.

Ein genetisch determinierter Polymorphismus der Isoenzyme der SEP wurde 1963 beschrieben [8]. Bereits nach ersten Familienuntersuchungen wurde multiple Allelie an dem strukturellen Locus angenommen. Die zunächst gefundenen Gene wurden P<sup>a</sup>, P<sup>b</sup> und P<sup>c</sup> bezeichnet.

In der Folgezeit wurden weitere Phänotypen beschrieben und die entsprechenden Allele mit P<sup>r</sup> [9], P<sup>d</sup> [10], P<sup>o</sup> [11,12] bezeichnet. Die 6 Allelen können sich

theoretisch zu 21 Typen kombinieren, von denen 14 beschrieben wurden [8—13, 1]: A, B, C, BA, CA, CB, RA, RB, RC, DB, DA, OA, OB, OC. Wie erkenntlich, erfolgt die Schreibweise der Phänotypen entsprechend dem Genotyp, jedoch großbuchstabig, im Fall der Homozygotie einbuchstabig, im Fall der Heterozygotie unter Umkehrung der alphabetischen Reihenfolge, z. B.: A ( $=P^a/P^a$ ), BA ( $P^b/P^a$ ) etc.

### 1.2. Phänotypen-Methoden

Als Produkte jedes Allels (mit Ausnahme des  $P^0$ -Allels) sind nach elektrophoretischer Auftrennung zwei Isoenzyme nachweisbar, die sich bei Homozygotie zur doppelten Dosis, bei Heterozygotie und korrespondierender Wanderung zur entsprechenden Dosis addieren.

Die Genprodukte von  $P^b$  und  $P^c$  besitzen gleiche Motilität, jedoch umgekehrte Intensitätsrelationen ihrer Isoenzyme, die beiden A-Isoenzyme besitzen etwa gleiche Intensität jedoch andere Wanderungsgeschwindigkeit als die B- und C-Isoenzyme. Ähnliches gilt für die R- und D-Fractionen.

1.2.1. *Pherogramme*. Eine Beschreibung der Pherogramme erfolgt am besten in Anlehnung an das elektrophoretische System:

Pherogrammtyp I: Charakteristikum: Anodische Lage der A-Isoenzyme, korrespondierende der langsamen A- und der schnellen B-Bande (s. Abb. 1, I). Puffersysteme: a) Originalpuffer [8]: Diskontinuierliches System (Brücke: Citrat, Gel: Tris-Succinat; gemeinsamer pH: 6,0). b) Diskontinuierlicher Citrat-Phosphat-Puffer [14]: Führt zu einer besseren Trennung als der Originalpuffer, besonders in Deutschland häufig verwendet (Brücke: Citrat 0,4 m, Gel: Phosphat 0,012 m; gemeinsamer pH 6,0).

Pherogrammtyp II: Charakteristikum: Intermediäre Lage des langsamen A-spots ( $a_1$ ), anodische des schnellen ( $a_2$ ), (s. Abb. 1, II).

Systeme: a) Gemischter Citrat-Phosphat-Puffer [10]. Besonders gut reproduzierbare Auftrennungen; hat inzwischen den Originalpuffer im Ausland weitestgehend ersetzt (Brücke:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0,245 m und Na-Citrat, 0,15 m; pH 5,9. Gel: Brückenpuffer 1:100 verdünnen, pH 5,9).

b) Polyacrylamidgelsystem [15]. Führt zu scharfen, brillanten Trennergebnissen unter Verwendung 3—5%iger PAA-Gele. Puffer in Anlehnung an [14], jedoch mit EDTA-Zusatz. Details s. Originalarbeit [15].

Pherogrammtyp III: Charakteristikum: Kathodische Lage von  $a_1$ , intermediäre von  $a_2$ , s. Abb. 1, III.

System: Phosphatpuffer [10] mit diskontinuierlichem pH (Brücke: pH 6,05, Gel: pH 6,2). Besonders gut geeignet zur Differenzierung der Genprodukte von  $P^r$  und  $P^d$ .

1.2.2. *Technik* In Anlehnung an die beschriebenen, z.T. unter Verwendung neuer Puffersysteme wurden zahlreiche modifizierende Techniken beschrieben, die zu keinen wesentlich anderen Trennergebnissen führen und nur der Vollständigkeit halber erwähnt seien [1, 16—25].

Nur die wesentlichen Punkte der allgemeinen Technik seien nochmals erwähnt:

Trennmedium: In der Regel Stärkegel, 10—12%ig je nach Charge und Qualität.

Geldimensionen: L 20 × B 10 × H 0,7 cm.

Brückengefäße: Getrennte Kammern für Elektrode und Brückenfilter nach [14].

Hämolysate: Gewaschenes Erythrocytensediment 1:2 mit Aqua dest. verdünnt.

Verimpfung auf Filterpapiere 7 × 9 mm (Whatman No. 17; Schleicher und Schüll No. 2727).

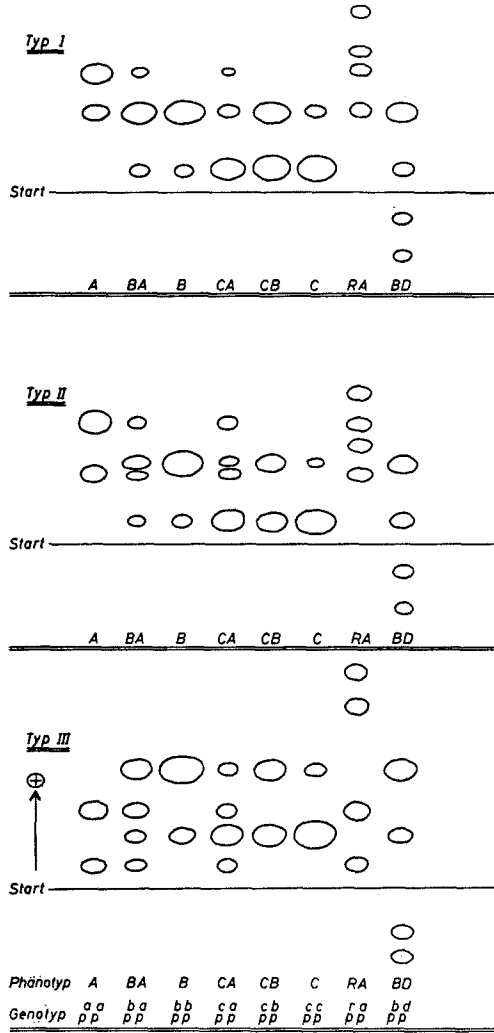


Abb. 1. Schematische Darstellung verschiedener SEP-Phänotypen nach Auftrennung in verschiedenen Puffersystemen, ergänzt nach [10, 73]. Einzelheiten s. Text 1.2.1.

Elektrophorese: 16—18 Std, 6 V/cm; Kühlung durch Kühlschrank mit Umluft oder direkte Flüssigkeitskühlung der Geltröge.

Anfärbung der Isoenzyme: Inkubation des horizontal durchtrennten Gels mit Phenolphthaleindiphosphat, 0,005 m in Citratpuffer, 0,05 m, pH 6,0 bei 37°C, 3 Std. Sichtbarmachung des freigesetzten schwer löslichen Phenolphthaleins durch Alkalisieren mit Ammoniak.

1.2.3. Spezialtechniken. Zum Erkennen des P<sup>o</sup>-Allels sind Spezialmethoden erforderlich [11, 12]. Es handelt sich um ein Allel ohne enzymatisch wirksames Produkt. Da es bisher nur in heterozygoter Form beobachtet wurde, sind Dosisuntersuchungen erforderlich:

a) Bestimmung der Gesamtaktivität im Hämolystat [26]. Die Methodik sollte in der Originalarbeit oder in einer der deutschsprachigen Beschreibungen nachgelesen werden [20, 24].

b) Densitometrische Bestimmung der Isoenzymaktivität nach quantitativer Verimpfung, elektrophoretischer Auftrennung und Anfärbung [11].

### 1.3. Physikochemische Eigenschaften

1.3.2. *Gesamtenzym.* Die Erythrocytenphosphatasen unterscheiden sich von den sauren Phosphatasen anderer Organe (z. B. Prostata, Leukocyten) durch unterschiedliche Inhibitoren [7] — SEP durch Formalin hemmbar, Prostataphosphatasen durch Tartrat (Austausch der Inhibitoren ohne Effekt) — und Substrataffinität [4—7]. Sie spalten keine Naphthylphosphate, dagegen aber z. B. Phenolphthaleinphosphat.

Als SH-Enzym [27] ist die SEP gegen oxydative Einflüsse empfindlich. Die freie SH-Gruppe reagiert mit Schwermetallionen unter Mercaptidbildung, mit SH-Reagenzien (Jodacetat, Jodacetamid) durch Alkylierung oder mit physiologisch vorhandenem, im alternden Erythrocyten zunehmendem oxydiertem Glutathion (GSSG) unter Bildung eines Disulfids [28]. Entsprechend gelten SH-Gruppen-schützende Reagenzien wie Mercaptoäthanol und reduziertes Glutathion (GSH) als Enzymaktivatoren bzw. -stabilisatoren. Eine wesentliche stabilisierende Wirkung besitzen auch Phosphationen [29].

1.3.2. *Isoenzyme.* Im Erythrocyten existieren zwei saure Phosphatasen mit unterschiedlichen pH-Optima, Inhibitionskonstanten und Aktivatoren. Ein Enzym ist von  $Mg^{++}$  abhängig, durch Fluorid hemmbar, besitzt ein höheres pH-Optimum und ist an dem genetisch determinierten Polymorphismus der Isoenzyme des anderen Enzyms nicht beteiligt [23, 30]. Die polymorphen Isoenzyme besitzen ein einheitliches Molekulargewicht von 14800 [31]; je nach Lage im elektrophoretischen Feld weisen sie unterschiedliche pH-Optima auf, und zwar die schnellen Isoenzyme höhere als die langsamen (z. B.  $a_1 \sim pH\ 4,6$ ,  $a_2 \sim pH\ 5,7$  [32]).

Die schnellen Isoenzyme der homozygoten Typen sind thermolabiler als die langsamen [30, 32], ihre spezifische Aktivität ist wesentlich geringer [32].

Isolierte Isoenzyme der Typen A und B gehen nach Lagerung bis zur Einstellung eines Gleichgewichtes in das homologe Isoenzym über (z. B.  $a_2 \rightleftharpoons a_1$ ), was daran denken läßt, daß es sich bei den Produkten eines Gens um zwei strukturelle Isomere handelt [32].

Mit den verschiedenen Phänotypen sind unterschiedliche mittlere Enzymaktivitäten korreliert, die sich A:B:C wie 2:3:4 verhalten, die heterozygoten Typen nehmen entsprechend intermediäre Stellungen ein [26, 33, 20, 24, 34—36].

Die Thermostabilität der einzelnen Phänotypen ist ebenfalls graduell — entsprechend der Enzymaktivität — unterschiedlich: Die Isoenzyme des Typs A sind am thermolabilsten, die des Typs CB am stabilsten [30]. Zwischen den Phänotypen bestehen keine Unterschiede hinsichtlich Substrataffinität und Affinität zu den Acceptormolekülen. Auch in den kinetischen Eigenschaften sind sie nahezu identisch [30, 38]. Somit ist es naheliegend, die gefundenen Aktivitätsdifferenzen in Analogie zu den Thermostabilitätsdifferenzen auf eine höhere Labilität der A-Isoenzyme *in vivo* zurückzuführen. Neuerdings wurde beschrieben, daß die schnelle A-Fraktion des Typs BA durch Suspension des Blutes in Liquoid (Behringswerke) bei einigen Individuen (reproduzierbar) verschwindet, bei einigen erhalten bleibt, während einige einen intermediären Effekt zeigen [37]. Die Befunde, die sicherlich noch abzuklären sind, lassen bei vorsichtiger Deutung zunächst an eine Mikroheterogenität des A-Isoenzym denken.

1.3.3. „Schnelle Fraktionen“. Die anfängliche Beobachtung, daß nach Lagerung zusätzliche, anodisch wandernde Fraktionen auftreten [8], wurde in der Folgezeit von zahlreichen Autoren bestätigt und unterschiedlich gedeutet [9, 13, 14, 25, 34, 39]. Durch verschiedene Untersuchungen scheint dieses Phänomen inzwischen ausreichend geklärt [29, 40—43]. Dem Redoxsystem:  $2\ GSH \rightleftharpoons GSSG + 2H$  kommt im Erythrocyten eine integrierende Bedeutung zu: GSSG agiert als Wasserstoffacceptor der Dehydrogenasen, ist nur in geringen Konzentrationen vorhanden und oxydiert SH-Enzyme zu Disulfidverbindungen, wenn die Konzentration zunimmt [28], was zu einer Ladungsveränderung, Motilitätsveränderung und Aktivitätsabnahme des betroffenen Enzyms führt [28, 42]. GSH (reduziertes Glutathion) hingegen schützt SH-Gruppen vor Oxydation.

Durch Zusammenbruch des Hexosephosphatcyclus (bei Zerstörung der Erythrocyten oder durch Lagerung), aber auch im alternden Erythrocyten [44] fällt die GSH-Konzentration ab. Durch die Zunahme der GSSG-Konzentration kommt es zu einer Veränderung des SH-Enzyms: 1. Aktivitätsabnahme, 2. Zunahme der Wanderungsgeschwindigkeit (Enzym-S-Glutathion). So wurde an Hämolysaten mit künstlichem GSSG-Zusatz eine Doppelung des Pherogramms beobachtet, die anodenvärts lag [43, 40, 29]. Die neuen Isoenzyme besaßen entsprechend ihren neuen Ladungen die gleichen Abstände wie die ursprünglichen, produ-

Tabelle 1. *SEP-Genfrequenzen in verschiedenen Populationen*<sup>a</sup>

Population	Genfrequenzen				n	Literatur
	P <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>	P <sup>c</sup>	seltene		
<b>Europäer:</b>						
Nord: Dänemark (Kopenhagen)	0,34	0,60	0,06		470	[45]
Mittel: England (London)	0,36	0,59	0,05		1 010	[46]
Deutschland (Hamburg)	0,35	0,58	0,06		7 059	[47]
(Berlin)	0,36	0,58	0,06		1 188	[48]
(Dortmund)	0,37	0,57	0,06		1 410	[49]
(Freiburg)	0,33	0,61	0,06		1 800	[50]
Schweiz (Bern)	0,34	0,61	0,05		1 365	[51]
Österreich (Wien)	0,36	0,57	0,06		410	[20]
Frankreich (Paris)	0,32	0,64	0,04		487	[52]
CSSR (Prag)	0,36	0,58	0,06		307	[53]
Süd: Italien (Rom)	0,26	0,66	0,08		417	[35]
(Sardinien)	0,27	0,64	0,09		365	[35]
Türken (Deutschland)	0,29	0,68	0,03		274	[54]
Andere: Tristan da Cunha	0,09	0,91	0,00		140	[26]
USA (Seattle)	0,39	0,55	0,06		193	[ 9]
<b>Neger:</b>						
Mozambique	0,16	0,81	0,00	Pr = 0,033	317	[1]
USA (Seattle)	0,25	0,72	0,014	Pr = 0,015 Pd = 0,003		[1]
USA (Texas)	0,21	0,70	0,015	Pr = 0,012 Pd = 0,003	429	[10]
Brasilien (Mischlinge)	0,20	0,77	0,03		369	[13]
<b>Asiaten:</b>						
Japaner (Tokio)	0,39	0,59	0,02		488	[55]
(Hokkaido)	0,40	0,60	0,00		178	[9]
Chinesen (Singapur)	0,22	0,78	0,00		620	[56]
(Taiwan)	0,19	0,74	0,05		100	[57]
Malayen (Singapur)	0,34	0,66	0,002		260	[56]
Thailänder	0,29	0,71	0,001	Pd = 0,001	446	[1]
Koreaner	0,23	0,77	0,00		115	[58]
Inder (Singapur)	0,25	0,75	0,00		116	[56]
Perser	0,30	0,67	0,03		449	[59]
<b>Ureinwohner:</b>						
Eskimos	0,56	0,44	0,00		264	[60] <sup>b</sup>
Neu Guinea	0,20	0,79	0,01		484	[61] <sup>b</sup>
Australien (Darwin)	0,02	0,98	0,00		153	[62] <sup>b</sup>
<b>Indianer:</b>						
Athabaskaner (Alaska)	0,67	0,33	0,00		118	[60] <sup>b</sup>
Hausteco (Mexico)	0,22	0,78	0,00		224	[1] <sup>b</sup>
Xavante (Brasilien)	0,19	0,81	0,00		376	[63] <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Aus Platzgründen sind aus dem deutschen Raum nur Frequenzen angegeben, die sich aus  $n > 1000$  rekrutieren. Weitere Frequenzanalysen s. Originalarbeiten [17, 34, 64—71].

<sup>b</sup> Weitere Frequenzen s. Originalarbeiten.

Tabelle 2. SEP-Phänotypen in 904 Familien<sup>a</sup>

Eltern- kombination	n Familien	Kinder						n Kinder
		A	BA	B	CA	CB	C	
A × A	18	32	—	—	—	—	—	32
A × BA	91	123	111	—	—	—	—	234
A × B	65	—	166	—	—	—	—	166
A × CA	13	20	—	—	15	—	—	35
A × CB	20	—	18	—	24	—	—	42
BA × BA	173	89	200	94	—	—	—	383
BA × B	264	—	318	358	—	—	—	676
BA × CA	27	18	14	—	13	7	—	52
BA × CB	33	—	22	15	18	20	—	75
B × B	133	—	—	396	—	—	—	396
B × CA	16	—	17	—	—	28	—	45
B × CB	39	—	—	66	—	54	—	120
CA × CB	7	—	4	—	3	4	2	13
CB × CB	4	—	—	1	—	4	1	6
CA × CA	1	—	—	—	1	—	—	1
Summe	904	282	870	930	74	117	3	2276

<sup>a</sup> Zusammenstellung aus [73, 71, 34, 9, 13, 52].

zierten selbst mit zunehmender Zeit Verdoppelungsprodukte, während die eigentlichen, die Phänotypen ausmachenden Fraktionen verschwanden [29].

Alle übrigen Beobachtungen stehen mit dieser Deutung in Einklang: Das Auftreten auch in frischen Hämolysaten [39, 24] (Alter der Erythrocyten!); Stabilisierung durch ACD-Zusatz [9], Zusatz von GSH [40] oder Mercaptoäthanol [8].

*1.4.1. Genfrequenzen.* Zum SEP-Polymorphismus sind zahlreiche Frequenzanalysen erschienen, daher mußte eine Auswahl getroffen werden, die dem Rahmen dieses Referates angepaßt ist (s. Tabelle 1). Die Genverteilung im europäischen Raum ist ziemlich homogen, lediglich im südeuropäischen Raum läßt sich eine Abnahme der P<sup>a</sup>-Frequenz erkennen.

Für negroide Rassen läßt sich eine deutliche Abnahme der P<sup>a</sup>-Frequenz sowie der P<sup>c</sup>-Frequenz erkennen. Dafür muß man häufiger mit P<sup>r</sup>- bzw P<sup>d</sup>-Genen rechnen.

Im asiatischen Raum ist die P<sup>a</sup>- und P<sup>b</sup>-Frequenz sehr wechselnd, das P<sup>c</sup>-Gen ist jedoch übereinstimmend selten.

Einige Frequenzen von Ureinwohnern und Indianerstämmen seien wegen ihrer (humangenetisch) interessanten Verteilungen aufgeführt.

Aus einigen, für den forensischen Serologen wichtigen Gebieten (Balkanländer, Iberische Halbinsel, Vorderer Orient) liegen u. E. noch keine Frequenzanalysen vor.

Für viele der publizierten Frequenzanalysen wurde (z. T. durch den Verf.) das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht geprüft. Wegen zu geringer absoluter Zahlen in der Gruppe der C-Typen konnte diese im allgemeinen in die Rechnung nicht einbezogen werden. Im Hamburger Material [47] lag eine ausreichende Anzahl vor, die bei Prüfung ein signifikantes Defizit an gefundenen C-Typen zeigte. Bei

Addition *aller* europäischen Daten ergaben sich gleiche Verhältnisse ( $n = 73$  „erwarteten“ stehen  $n = 38$  „beobachtete“ C-Typen gegenüber [72]).

1.4.2. *Familiendaten.* Aus der Literatur ergeben sich 904 untersuchte Elternkombinationen mit 2276 Kindern ohne Ausnahme vom postulierten Erbgang (s. Tabelle 2). Weiterhin wurden 1875 Mutter/Kind-Paare publiziert, ohne daß entgegengesetzte Reinerbigkeit auftrat [19, 51, 74, 24, 65, 64, 71]. Da jedes Kind *einen* Erbgang repräsentiert, wurden insgesamt 4151 Mutter/Kind-Erbgänge analysiert. Die tatsächliche Zahl untersuchter, jedoch nicht publizierter Erbgänge dürfte sich auf ein Mehrfaches belaufen.

### 1.5. Rechtsmedizinische Anwendungsgebiete

Für die Anwendung des SEP-Polymorphismus in der forensischen Medizin ergeben sich im wesentlichen drei Möglichkeiten:

1. serologisches Abstammungsgutachten,
2. Identitätssicherung von Blutproben,
3. Identitätsbestimmung von Blutspuren.

1.5.1. *Anwendung und Beweiswert im serologischen Abstammungsgutachten.* Der enorme Wert des SEP-Systems für die serogenetische Begutachtung ergibt sich aus der allgemeinen Ausschlußerwartung, die je nach Genfrequenzen mit 24,6% (Berlin — 48), 20,99% (Südwest-Deutschland — 75) und 23,94% (gemittelte Genfrequenzen — 75) angegeben wurden. Aufgrund der zahlreichen vorliegenden Familiendaten wurde bereits 1967 sowohl in der DDR [74] als auch in der BRD [66] der höchste Beweiswert zuerkannt.

Für die Berechnung der Vaterschaftswahrscheinlichkeit nach Essen-Möller liegen ebenfalls entsprechende Tabellen vor [76]. Zur Geburt sind die Phänotypen bereits voll entwickelt [85, 20].

Auch wenn sich der Sicherheitsgrad eines Ausschlusses durch weitere Familienuntersuchungen erhöht hat, sollten zumindest bei Ausschlüssen aufgrund entgegengesetzter Homozygotie wegen der Existenz des P<sup>o</sup>-Gens [11, 12] entsprechende Dosisuntersuchungen und Zweitbegutachtungen erfolgen.

1.5.2. *Identitätssicherung von Blutproben.* Die SEP-Bestimmung an Blutproben, deren Identität bezweifelt wird, erhöht den Individualitätsgrad nicht unerheblich.

Obwohl die Grundlagen des Pherogramm-Wandels durch Lagerung präzisiert wurden (s. 1.3.3.), bestehen in der Literatur recht einheitliche Angaben über obere Nachweisgrenzen aus gelagerten Blutproben [9, 8, 13, 21, 34, 39, 66, 67, 69, 77—81].

Die Angaben über die maximale Lagerungszeit (bei Kühlschranktemperatur) von Blutproben reichen von 10 Tagen [66] über 3—4 Wochen (mit ACD-Zusatz—9, 3 Monate [81], „Monate“ [77], 4 Monate [69] bis 12 Monate [79]. Übereinstimmung besteht darin, daß Hämolsate wesentlich instabiler sind [9, 8, 66]. Durch gezielte Reihenversuche an Blutproben aller 6 Typen konnte gezeigt werden, daß *steril* entnommenes und bei 4°C gelagertes Vollblut die besten Aussichten für einen späten Nachweis bringt [81]. Neuere Untersuchungen empfehlen erstaunlicherweise mehrwöchige Lagerung zur besseren Typendifferenzierung der Typen CA, CB, C [21, 78]. An Leichen soll bei Liegezeiten bis zu 7 Tagen [82] bzw. bis



zu 4 Monaten [80] noch der Nachweis gelingen. Auch hier sollte eine Überprüfung an Leichen mit vorher bestimmtem Phänotyp erfolgen.

*1.5.3. Nachweis aus Blutspuren.* Auch über die obere Grenze des zeitlichen Nachweises aus Blutspuren bestehen differierende Untersuchungsergebnisse: Die Angaben reichen von 16 Std (Raumtemperatur — 83) über 80 Std (Lagerung bei  $-40^{\circ}\text{C}$  — 83), 30 Std [79] bis zu 30 Tagen [80]. Eigene, noch nicht abgeschlossene Untersuchungen (alle 6 Phänotypen, Polyacrylamidgelelektrophorese, Raumtemperatur) lassen die obere Grenze bei 21 Tagen vermuten.

### 2.1. Phosphoglucomutase (EC 2.7.5.1.). PGM

Phosphoglucomutase ist ein wichtiges Enzym im KH-Stoffwechsel, welches den Weg vom Glucose-1-Phosphat zum Glucose-6-Phosphat katalysiert [86]. Das Enzym ist in nahezu allen Zellen nachweisbar.

Nach elektrophoretischer Auftrennung von Erythrocytenhämolysat und enzym-histochemischer Anfärbung wurden 1964 [87] Isoenzymmuster beschrieben, die aus bis zu 7 Isoenzymen bestanden und interindividuell variierten.

Nach ersten Familienuntersuchungen wurde angenommen, daß die zunächst beobachteten drei Phänotypen der Wirkung zweier autosomaler Gene zugrunde liegen [87]. Durch Auffindung neuer Phänotypen und entsprechende Familienanalysen und durch Untersuchung von weiteren Geweben (Placenta, Fibroblasten) wurde das Genmodell zunehmend erweitert. Inzwischen ist bekannt, daß drei strukturelle Loci existieren, die mit  $\text{PGM}_1$ ,  $\text{PGM}_2$  [88] und  $\text{PGM}_3$  [89] bezeichnet werden. An den Loci  $\text{PGM}_1$  und  $\text{PGM}_2$ , deren Produkte im Blut nachweisbar sind, besteht multiple Allelie [90—93]. Am Locus  $\text{PGM}_3$  existieren mindestens zwei kodominante Allele [89]. Alle Genorte sind nicht eng gekoppelt, sie liegen möglicherweise sogar auf verschiedenen Chromosomen [94].

### 2.2. Phänotypen

*2.2.1. Die Isoenzyme des  $\text{PGM}_1$ -Locus.* Nach elektrophoretischer Auftrennung liegen die Isoenzyme des  $\text{PGM}_1$ -Locus, welche die Norm-Phänotypen ausmachen, am weitesten kathodisch. Sie werden, kathodisch beginnend, a—d bezeichnet [87]. Das Gen  $\text{PGM}_1^1$  kontrolliert die Isoenzyme a und c, während b und d dem Allel  $\text{PGM}_1^2$  zuzuordnen sind. Die kathodischen Isoenzyme färben sich etwas intensiver an als die anodischen. Die quantitative Dosis von  $\text{PGM}_1^2$  und  $\text{PGM}_1^1$  wird als gleich bezeichnet [95, 96].

In den heterozygoten Kombinationen ist die einfache Gendosis, in den homozygoten die doppelte Gendosis im einzelnen Isoenzym erkennbar. Beim Phänotyp  $\text{PGM}_1^1$  ( $\text{PGM}_1^1/\text{PGM}_1^1$ ) ist häufig ein schwaches, zwischen der d- und der e-Linie liegendes Isoenzym erkennbar, es wird als d' bezeichnet und wird ebenfalls von  $\text{PGM}_1^1$  kontrolliert [9]. Außer den Normtypen (s. Abb. 2) wurde eine Anzahl seltener Phänotypen beschrieben [90, 1, 73], die, wie entsprechende Familienuntersuchungen zeigten, durch die Wirkung weiterer seltener Allele zustande kommen. Es handelt sich um die Gene  $\text{PGM}_1^3$  bis  $\text{PGM}_1^8$ . Sie sind dadurch zu erkennen, daß ihre Isoenzyme im gefärbten Stürkegel an atypischer Stelle liegen (s. Abb. 2), teilweise ist die Aktivität der korrespondierenden Isoenzyme wesentlich geringer als die der Normbanden (z. B.  $\text{PGM}_1^4$ , s. Abb. 1).

Die Existenz eines stummen Gens am  $\text{PGM}_1$ -Locus muß ebenfalls berücksichtigt werden [97, 98]. Entsprechend der Zygotie war am  $\text{PGM}_1$ -Ort entweder gar keine oder — bei Heterozygotie — nur reduzierte Aktivität zu erkennen. Ein weiteres Allel— $\text{PGM}_1^{\text{D}}$  [99] — ist für die Ausprägung erheblich reduzierter Aktivität der Isoenzyme a und c verantwortlich (ca. 10% der Norm). Der sichere Nachweis gelang erst im Polyacrylamidgel. Es kann hier nicht geklärt werden, ob eine beschriebene Mutter-Kind-Inkompatibilität aufgrund scheinbar entgegengesetzter „Reinerbigkeit“ auf ein  $\text{PGM}_1^0$  zurückzuführen ist, da entsprechende Untersuchungen noch ausstehen [100].

*2.2.2. Die Isoenzyme des  $\text{PGM}_2$ -Locus.* Der Locus  $\text{PGM}_2$  kontrolliert mit seinem Normgen  $\text{PGM}_2^1$  die Zonen e, f und g. Auch an diesem Locus existieren jedoch zahlreiche (z.T. sehr seltene) Gene, die ebenfalls atypische Pherogramme erzeugen (s. Abb. 2). Das Gen  $\text{PGM}_2^1$  macht ein weit anodisch wanderndes Muster von drei Isoenzymen [88, 90, 101, 102]. Die heterozygote Manifestation,  $\text{PGM}_2$  2-1, wurde früher als „Atkinson“-Typ bezeichnet. Es wurden zwei angebliche homozygote Manifestationen beschrieben [1, 103] und als  $\text{PGM}_2$  „Moz.“ (Mozambique) und  $\text{PGM}_2$  „C.T.“ (Cape Town) bezeichnet. Die abgebildeten Muster entsprechen sich jedoch nicht völlig. Weitere Allele wurden in der Folgezeit beschrieben:  $\text{PGM}_2^3$  [4],  $\text{PGM}_2^4$  [104, 94],  $\text{PGM}_2^5$  [93, 72] und  $\text{PGM}_2^6$  [14] (s. Abb. 2). Es ist anzunehmen, daß die von zwei Autoren [104, 94] etwa gleichzeitig entdeckten und  $\text{PGM}_2^4$  bezeichneten Allele identisch sind. Die Produkte aller Allele am  $\text{PGM}_2$ -Ort sind jeweils drei Isoenzyme, die zur Anode hin graduelle Intensitätsabnahme zeigen. Wahrscheinlich existiert auch am  $\text{PGM}_2$ -Ort ein  $\text{PGM}_2^0$ -Allel [106] ohne Expression von Aktivität im  $\text{PGM}_2$ -Bereich. Ein weiteres, wahrscheinlich sehr schwaches und noch nicht weiter charakterisiertes Allel wurde ebenfalls beschrieben [133].

*2.2.3. Die Isoenzyme des  $\text{PGM}_3$ -Locus.* Der  $\text{PGM}_3$ -Locus kontrolliert ein Muster, welches sich durch weit anodische Lage seiner Isoenzyme auszeichnet. Im Blut sind seine Isoenzyme nicht oder nur in geringen Konzentrationen [108, 109] nachweisbar.

Wegen der interessanten Verteilung seiner Gene sei dieser Locus kurz abgehandelt. Durch elektrophoretische Auftrennung von Placentaextrakten und Fibroblastenhomogenaten ließen sich drei Phänotypen nachweisen, die von 2 allelen autosomalen Genen kontrolliert werden [89]. Die Gene heißen  $\text{PGM}_3^1$  und  $\text{PGM}_3^2$ , die entsprechenden Phänotypen sinngemäß  $\text{PGM}_3$  1,  $\text{PGM}_3$  2 und  $\text{PGM}_3$  2-1.

Nach eigenen (bisher unpublizierten) Untersuchungen läßt sich dieser Polymorphismus relativ gut aus Spermazellhomogenaten nachweisen, was für die spurenkundliche Bedeutung evtl. von Interesse sein könnte. Die übrigen Isoenzyme aus Sperma wurden bereits beschrieben [110].

### 2.3. Methoden

Die in der Originalarbeit [87] beschriebene Methodik der Darstellung des Polymorphismus hat sich nicht wesentlich geändert. Das damals beschriebene TEMM (*T*ris, *E*DTA, *M*aleinsäure, *M*agnesiumchlorid) hat sich als hervorragendes Puffersystem bewährt.

*2.3.1. Die wesentlichen Daten seien kurz erwähnt.* Horizontale Stärkegelelektrophorese wie für die SEP beschrieben.

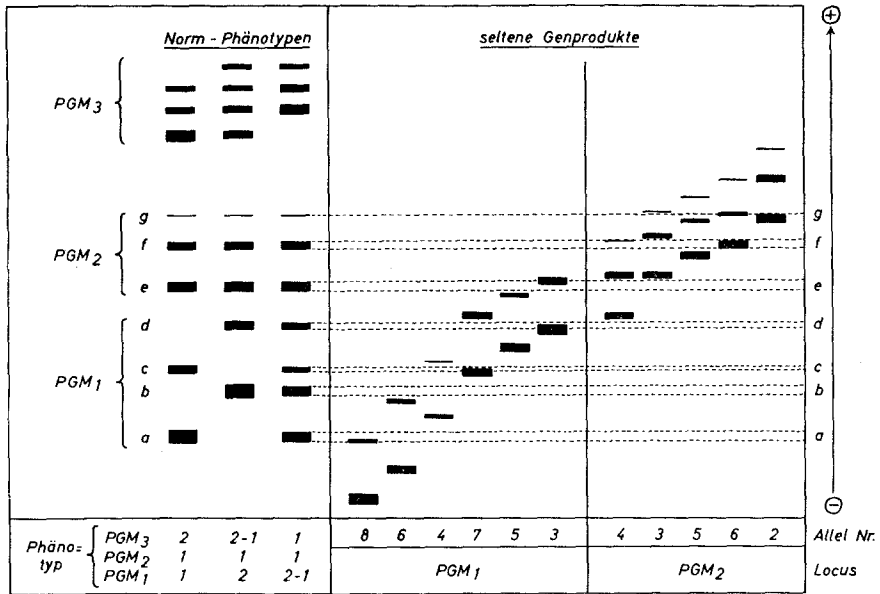


Abb. 2. Schematische Darstellung dreier verschiedener PGM-Normtypen. Die Kombination der PGM<sub>1</sub>-Typen mit den PGM<sub>3</sub>-Typen wurde willkürlich gewählt. Jede Typenkombination kommt vor. Um eine Zuordnung seltener Genprodukte zu erleichtern, wurden Fluchtlinien, entsprechend der Lage der Normisoenzyme, gezogen. Ergänzt nach [73]

Brückenpuffer: Tris, 0,1 m, Maleinsäure, 0,1 m, EDTA, 0,01 m, MgCl<sub>2</sub>, 0,01 m. Mit NaOH auf pH 7,4 einstellen.

Gelpuffer: Brückenpuffer 1:9 verdünnen.

Hämolyt: Konzentriertes Hämolyt; durch mehrmaliges Einfrieren und Auftauen gewaschener Erythrocyten. Verimpfen auf 7×9 mm Filterpapier (Whatman No. 3 oder Schleicher u. Schüll No. 598).

Nach 17stündiger Elektrophorese Anfärben der Isoenzyme durch Inkubation des Gels mit Färbelösung (Tris, 0,03 m, pH 8,0; MgCl<sub>2</sub>, 10<sup>-2</sup> m; Glucose-1-P, 5×10<sup>-3</sup> m; Glucose-1,6-di P, 5×10<sup>-5</sup> m; NADP, 1,2×10<sup>-4</sup> m; 0,04 Einheiten/ml Glucose-6-P-Dehydrogenase; 0,1 mg/ml PMS; 0,1 mg/ml MTT). Sichtbarwerden der Isoenzyme nach etwa 1 Std.

Diese Grundtechnik ist von mehreren Autoren modifiziert worden: Verwendung eines diskontinuierlichen Puffersystems und Inkubation mit einem Agarsandwich [111], Verwendung von Schwammbrücken und pH-Gradientenveränderung [112], Dünnschichtstärkegelelektrophorese [113]. Andere Untersucher verwenden andere Trägermedien: Durch Agarose-Gel-Elektrophorese [114, 115] wurde eine gute Mikroauftrennung erzielt, die sich evtl. für den Spurennachweis eignen könnte. Agarose-Acrylamidgel-Elektrophorese [107] soll ebenfalls gute Auftrennungen machen.

Am hiesigen Institut wird inzwischen ausschließlich Polyacrylamidgelelektrophorese durchgeführt, die u.E. zu den besten Trennergebnissen führt [99].

2.3.2. Spezialmethoden. Zur Darstellung der PGM<sub>3</sub>-Isoenzyme sind die Gellängen zu vergrößern (ca. 30 cm), zur Anfärbung wird die Agarsandwichtechnik vorgezogen [73]. Zur Erkennung von stummen Genen im heterozygoten Zustand sollte eine Kombination von Gesamtaktivitätsbestimmung im Hämolyt und densitometrischer Bestimmung der Isoenzymaktivität durchgeführt werden. Details der Methoden sind in den Originalarbeiten nachzulesen [97—99].

## 2.4. Physikochemische Eigenschaften

**2.4.1. Gesamtenzym.** Phosphoglucomutase kommt in zwei Formen vor: Phosphoenzym und Dephosphoenzym [86]. Die katalysierte Reaktion verläuft wahrscheinlich in zwei Schritten:  $G-1-P + P\text{-Enzym} \rightleftharpoons G-1,6\text{-di-P} + \text{Enzym} \rightleftharpoons G-6-P + P\text{-Enzym}$ . G-1,6-di-Phosphat hat coenzymähnliche Bedeutung, da es als Phosphatdonator agiert. Für die Funktion des Moleküls scheinen freie SH-Gruppen [116] wichtig zu sein. Das aktive Zentrum ist ein Pentapeptid mit Serin als wichtigem Baustein [117].

Über Aktivatoren und Inhibitoren der PGM liegen zahlreiche Untersuchungen vor:  $Mn^{++}$ ,  $Co^{++}$  und  $Mg^{++}$  aktivieren bis zu 15fach [118], die beste Wirkung wird  $Mg^{++}$  zugesprochen [119]. Weitere Aktivitätssteigerung wird durch Histidin, Cystein, Triäthanolamin und Imidazol erzielt, während EDTA kein eigentlicher Aktivator ist [118, 119], sondern das Enzym durch Bindung von Schwermetallionen schützt. Glucose-1,6-di-Phosphat muß in katalytischen Konzentrationen von  $1 \times 10^{-6}$  m [118] bis  $5 \times 10^{-5}$  m [87] anwesend sein.

Inhibitoren sind: Natriumfluorid, 6-Phosphogluconat, Citrat, Isocitrat [120].

Hormone können die Aktivität ebenfalls beeinflussen: Adrenalin wirkt aktivierend, Insulin hemmend [121].

Der färberische Nachweis gelingt durch gekoppelte Reaktionen in der „Färbelösung“ (s. 2.3.!), s. auch Originalarbeit [87] oder [122, 123, 112]:

Durch Wirkung der PGM entsteht aus G-1-P das G-6-P, welches durch die G-6-P-Dehydrogenase zum 6-P-Gluconat (über Zwischenstufe) oxydiert wird.

Die freigewordenen H-Ionen werden auf NADP übertragen und von diesem durch PMS auf das lösliche Salz MTT, welches in reduzierter Form zum blauen Formazan ausfällt.

**2.4.2. Isoenzyme.** Die Isoenzyme der verschiedenen Loci besitzen unterschiedliche Molekulargewichte [124]. Für die  $PGM_2$ -Isoenzyme wird das MG mit 61000 angegeben, für die  $PGM_1$ - und  $PGM_3$ -Enzyme mit 51000 bzw. 53000. Die Molekulargewichte aller Isoenzyme, die einem Locus entsprechen, sind gleich [124].

Die Produkte der einzelnen Loci sind unterschiedlich thermostabil: Die größte Stabilität besitzen die  $PGM_2$ -Enzyme, die geringste die  $PGM_3$ -Produkte, während  $PGM_1$  intermediär ist [125]. Zwischen den Allelen eines Locus bestehen keine Unterschiede [125].

Die prozentualen, quantitativen Anteile der drei Loci am Gesamtphorogramm variieren je nach Gewebe [107]: In den meisten Geweben stellen  $PGM_1$ -Isoenzyme 85–95% der Gesamtaktivität, während 2–15% der Aktivität durch die Isoenzyme des  $PGM_2$ -Locus gestellt werden. Der Anteil des  $PGM_3$ -Locus schwankt zwischen 1–3% bzw. 7% (Fibroblasten). In Erythrocyten dagegen verhält sich  $PGM_1:PGM_2$  wie 1:1 [107] bzw. 1,8:1 [99]. Die Verschiebung des Gleichgewichtes in Erythrocyten zugunsten  $PGM_2$  ist wahrscheinlich auf eine relativ größere Labilität der  $PGM_1$ -Enzyme auch in vivo zurückzuführen (in Analogie zur Thermolabilität). Wegen des hohen Alters der Erythrocyten und wegen ihrer Unfähigkeit zur Proteinsynthese manifestieren sich hier Stabilitätsunterschiede besonders deutlich [107]. Entsprechend ist das (labilsten)  $PGM_3$ -Muster nur in reticulocytenreichen Bluten nachweisbar [109]. Für Thrombocyten [139] und für Leukocyten [1] nähern sich die Intensitätsrelationen denen anderer Gewebe.

**2.5.1. Genfrequenzen.** Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, daß bereits in europäischen Populationen mit unterschiedlichen Genhäufigkeiten zu rechnen ist. Im südeuropäischen Raum beträgt die  $PGM_1^2$ -Frequenz um 0,3, im nordeuropäischen Raum um 0,2. Bei Negern sind die Genhäufigkeiten ähnlich wie bei den Europäern, nur daß hier  $PGM_2$ -Varianten wesentlich häufiger sind. Das Gen  $PGM_2^2$  ist ein typisches Negergen.

In einigen Populationen zeigt sich eine deutliche Abnahme der  $PGM_1^2$ -Frequenz: Koreaner [127], Ainu [84], Iren [127], in anderen eine Zunahme bis oder über 50%: Lappen [133], Juden [135].

Seltene  $PGM_1$ -Phänotypen wurden vermehrt bisher in wenigen Populationen gefunden: Chinesen [132], Engländer [90].

Tabelle 3. *PGM-Genfrequenzen ( $PGM_1^2$ ) und seltene Phänotypen in verschiedenen Populationen<sup>b</sup>*

Population	Gen- frequenz $PGM_1^2$	Seltene Typen $PGM_1$ und $PGM_2$	<i>n</i>	<i>n</i>	Literatur
<b>Europäer:</b>					
Nord: Norwegen	0,22	$PGM_1$ : 7-1	4	2674	[126]
Dänemark	0,19	—	—	475	[45]
Mittel: England	0,24	$PGM_1$ : 3-1, 4-2, 7-1, 7-2	—	—	
Irland	0,14	$PGM_2$ : 3-1	6	2115	[90]
Deutschland <sup>b</sup> (Hamburg)	0,22	—	—	106	[127]
		$PGM_1$ : 3-1 (2mal), 6-1	—	—	
		$PGM_1$ : V <sup>a</sup>	4	4403	[47]
(Berlin)	0,23	$PGM_1$ : O	1	860	[97]
(Dortmund)	0,25	—	—	837	[49]
(Frankfurt)	0,21	—	—	611	[128]
(Freiburg)	0,23	—	—	787	[54]
Schweiz (Bern)	0,18	—	—	300	[129]
Österreich (Wien)	0,21	—	—	220	[130]
Süd: Italien (Rom)	0,29	—	—	389	[131]
Griechenland	0,31	—	—	88	[90]
Türken (in Deutschland)	0,32	—	—	274	[54]
Zypern (türkisch)	0,30	$PGM_1$ : 6-1	1	243	[90]
Andere: USA (Seattle)	0,25	—	—	508	[1]
<b>Neger:</b>					
Nigeria	0,24	$PGM_2$ : 2-1	2	153	[90]
England	0,21	$PGM_2$ : 2-1	3	103	[90]
S.-Afrika (Bantus)	0,20	$PGM_2$ : 2-1	5	99	[90]
USA	0,19	$PGM_2$ : 2-1 (4mal) 3-1 (1mal)	5	654	[1]
<b>Asiaten:</b>					
Chinesen (verschiedener Herkunft)	0,24	$PGM_1$ : 6-1 (4mal) 6-2 (1mal)	—	—	
		$PGM_1$ : 7-1 (2mal)	7	417	[132]
Thailand	0,27	$PGM_1$ : 7-1	1	503	[1]
Japaner (USA)	0,26	—	—	84	[84]
(Ainu)	0,10	—	—	102	[84]
Koreaner	0,08	—	—	72	[127]
Inder	0,28	—	—	182	[73]
Indianer: Huasteco (Mexiko)	0,20	—	—	233	[84]
Eskimos: (Alaska)	0,18	—	—	299	[60]
Lappen: (Norwegen)	0,49	$PGM_2$ : V <sup>a</sup>	1	303	[133]

<sup>a</sup> Varianten, die noch nicht eindeutig charakterisiert sind.

<sup>b</sup> Von deutschen Stichproben wurden nur  $n > 500$  berücksichtigt; weitere s. [1, 49, 60, 68, 73, 84, 101, 122, 134-136].

Tabelle 4. *PGM<sub>1</sub>-Phänotypen in 1082 Familien<sup>a</sup>*

Eltern- kombination	n Familien	Kinderphänotypen			n Kinder
		1	2-1	2	
1 × 1	391	884	—	—	884
1 × 2-1	427	480	490	—	970
1 × 2	69	—	161	—	161
2-1 × 2-1	148	82	161	88	331
2-1 × 2	43	—	53	62	115
2 × 2	4	—	—	17	17
Summe	1082				2478

<sup>a</sup> Zusammenstellung aus [73, 128, 137, 138].

In den meisten Populationen findet sich eine gute Durchmischung der Normgene, die in Übereinstimmung mit dem Genmodell steht. Über Genhäufigkeiten am PGM<sub>3</sub>-Locus liegen bisher nur wenige Daten vor [89]. Bei Europäern ( $n = 583$ ) hat das Gen PGM<sub>3</sub><sup>1</sup> eine Häufigkeit von 0,74, das Allel PGM<sub>3</sub><sup>2</sup> von 0,26. Bei Negern ( $n = 235$ ) sind die Verhältnisse umgekehrt: PGM<sub>3</sub><sup>1</sup> = 0,34, PGM<sub>3</sub><sup>2</sup> = 0,66.

2.5.2. Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, daß bereits jetzt ein sehr großes Familienmaterial vorliegt. In 1082 Familien mit 2478 Kindern fand sich keine Ausnahme vom postulierten Erbgang und eine relativ gute Aufspaltung der Kinderphänotypen. Aus der Literatur ergeben sich weiterhin 2488 Mutter/Kind-Paare ohne Inkompatibilität (Zusammenstellung aus [115, 140, 68, 138].

Die Zahl untersuchter Erbgänge beläuft sich somit auf 4966.

## 2.6. Rechtsmedizinische Anwendungsgebiete

Auch für diesen Polymorphismus ergeben sich drei rechtsmedizinische Anwendungsgebiete:

1. Serogenetische Abstammungsbegutachtung,
2. Identifikation von Blutproben,
3. Identifikation von Spuren.

2.6.1. *Anwendung in der forensischen Serologie.* Die Ausschließungschance für zu Unrecht beschuldigte Väter ist mit ca. 14% für den mitteleuropäischen Raum anzugeben [115, 130]. Allein aus dieser Tatsache ergibt sich der hohe Wert für die forensische Serologie.

Bei dem zahlreichen vorliegenden Familienmaterial erübrigt sich die Frage, nach welchem Maßstab („Fallzahlrechnung“ oder „Null-Ergebnisrechnung“) man den Sicherheitsgrad eines Ausschlusses bewerten soll, da der höchste Sicherheitsgrad wohl auf jeden Fall erreicht ist. Ein isolierter Ausschluß aufgrund entgegengesetzter Reinerbigkeit sollte durch entsprechende Dosisuntersuchungen [10—12] erhärtet werden, um die Existenz eines PGM<sub>1</sub><sup>0</sup>-Gens [97, 98] oder eines abgeschwächten Gens [99] zu eliminieren.

2.6.2. *Identifikation von Blutproben.* Der Nachweis des PGM-Typs aus gelagerten Blutproben ist relativ unproblematisch und wird im Rahmen der Identitätsbegutachtung von gelagerten Blutalkoholproben hier routinemäßig durch-

geführt. Die obere zeitliche Nachweisgrenze wurde u. E. noch nicht eruiert, jedoch gelingt nach unserer Erfahrung der Nachweis aus bis zu 11 Monate gelagerten Proben.

*2.6.3. Identifikation von Blutspuren.* Über den Nachweis aus Blutspuren liegen verschiedene Untersuchungen vor: Zur Einsparung von Spurenmaterial wird Dünnschichtstärkegelelektrophorese empfohlen [113, 141, 142]. Die Grenze des zeitlichen Nachweises wird unterschiedlich, zwischen 7 Wochen [62], bei saugenden Spurenlägern 8—10 [113], vereinzelt 20 Wochen, angegeben. Wegen der günstigen Verteilung der Normtypen ergibt sich die Möglichkeit, den Individualitätsgrad einer Blutspur erheblich zu steigern.

Nach eigenen, noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen gelingt der PGM<sub>1</sub>-Nachweis mittels Spezialtechnik (Extraktion, Gefriertrocknung, Polyacrylamidgel — Elektrophorese) aus Spermaspuren.

### 3. 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.44.). PGD

#### 3.1.

Phosphogluconat-Dehydrogenase (PGD) katalysiert den Stoffwechselschritt vom 6-Phosphogluconat zum Ribulose-5-Phosphat und ist damit ein Schlüsselenzym des Pentosephosphatecyclus.

Ein elektrophoretisch determinierter Polymorphismus wurde 1963 beschrieben [144].

Durch anfängliche Unsicherheit bezüglich der Interpretation entstand zunächst eine rein deskriptive Nomenklatur. Die Phänotypen erhielten römische Ziffern oder Trivialnamen zur Bezeichnung.

Nachdem das Genmodell ausreichend gesichert ist, steht einer übersichtlichen Nomenklatur zur Charakterisierung der Phänotypen nichts mehr im Wege. Wir wählen daher die häufig benutzte A-B-Nomenklatur [145], für die Kennzeichnung der seltenen Typen die Anfangsbuchstaben der ehemaligen Trivialnamen [146]. Zwischenzeitliche Vorstellungen über ein anderes Genmodell — Zwei-Locus-Theorie [147] — dürfen als widerlegt angesehen werden [148].

Auch für diesen Polymorphismus besteht multiple Allelie an einem autosomalen Locus. Die kodominanten Allele PGD<sup>A</sup> und PGD<sup>B</sup> prägen über 99% der Muster. Die Schreibweise erfolgt entsprechend: A (PGD<sup>A</sup>/PGD<sup>A</sup>), AB (PGD<sup>A</sup>/PGD<sup>B</sup>), B (PGD<sup>B</sup>/PGD<sup>B</sup>). Unter den weiteren Allelen erfolgt eine Differenzierung hinsichtlich der Methoden, mit denen sie definierbar sind.

*3.2.1. Elektrophoretisch nachweisbare Phänotypen (Erythrocyten-Hämolyt).* Der Typ A kann nach längerer Inkubation zusätzliche feine, anodisch gelegene, sog. Satellitenbanden aufweisen, die besonders in NADP-inkorporierten Gelen stärker werden ([145, 149], s. Abb. 3).

Beim Typ AB besitzen die beiden anodischen Banden etwa gleiche Intensität, beim Typ B sind es die kathodischen. Die dritte Bande in beiden Typen ist schwach ausgeprägt. Außerdem kommen auch hier „Satellitenbanden“ vor.

*3.2.2. Seltene Muster.* Die seltenen Muster kommen als heterozygote Kombinationen mit PGD<sup>A</sup> vor. Wie durch Familienuntersuchungen gezeigt werden konnte [146, 148, 150—154], lassen sie sich zweifelsfrei durch die Wirkung seltener, kodominanter Allele erklären.

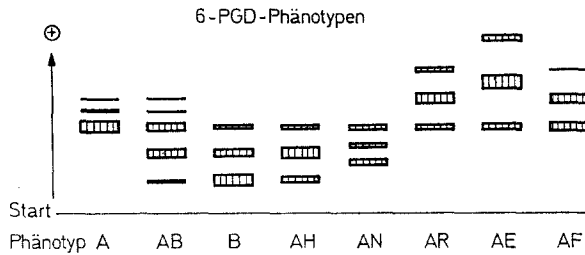


Abb. 3. Schematische Darstellung der PGD-Phänotypen, ergänzt nach [145, 150, 153, 152, 151]

Der Typ AR — „R“ für *Richmond* [150] — besitzt ein symmetrisches, anodisch verlagertes Muster, der Typ AH — „H“ für *Hackney* [150] — repräsentiert das kathodische Gegenstück (s. Abb. 3).

Der routine-elektrophoretische Phänotyp AF ist doppeldeutig — „F“ für *Friendship* [154] oder für *Freiburg* [148] —, da sich beide zunächst völlig gleichen. Erst wenn man das Stärkegel mit NADP versetzt, verändert sich der Friendship-Typ zu einem scheinbaren A-Typ, während der Freiburg-Typ unverändert bleibt. Es handelt sich also um zwei unterschiedliche Gene, die man daher besser mit PGD<sup>F</sup> (*Friendship*) und PGD<sup>F'</sup> (*Freiburg*) bezeichnen sollte.

An weiteren seltenen Mustern wurde beschrieben: PGD AE — „E“ für *Elcho* [152] —, der bei australischen Ureinwohnern vorkommt, und ein Typ AN — „N“ für *Neath* [155].

**3.2.3. Quantitative Varianten.** Zwei Gene sind für die Ausprägung von Phänotypen mit reduzierter Enzymaktivität verantwortlich: PGD<sup>0</sup> als stummes Gen, und PGD<sup>W</sup> — „W“ für *Whitechapel* — mit einem besonders labilen Genprodukt [146, 149]. Bei Vorliegen von PGD<sup>0</sup> in heterozygoter Kombination ist die Enzymaktivität des Phänotyps auf ca. 40–60% der Norm gesunken [146, 149, 156]. PGD<sup>W</sup> macht in heterozygotem Zustand (in Hämolytats) eine Reduktion der Gesamtaktivität auf  $\frac{3}{4}$  der Norm; beim homozygoten Merkmalsträger verbleibt eine Restaktivität von 1–5% [146]. Sowohl PGD<sup>0</sup> („silent gene“) als auch PGD<sup>W</sup> stellen Allele dar, wie entsprechende Familienuntersuchungen zeigten [146, 156].

Außerdem wurde über einen Fall von reduzierter Aktivität bei einem AB-Typ berichtet, in der Familie über weitere Fälle mit reduzierter Aktivität [157]. Obwohl die Befunde noch einer Präzisierung bedürfen (z. B. Inaktivierung), ist zunächst an einen zusätzlichen, übergeordneten Mechanismus zu denken.

### 3.3. Methoden

**3.3.1. Elektrophoretische Darstellung.** Die Methode der Darstellung ergibt sich aus der Literatur [1,6], nur die wesentlichen Daten seien wiedergegeben: Horizontale Stärkegelelektrophorese wie für die SEP beschrieben. Kühlung durch Wasserzirkulation durch Boden und Deckel des Geltroges. Feldstärke: 12–15 V/cm. Zeit: 4–5 Std.

Hämolytats: 1:1 verdünnter Erythrocytenbrei auf 7×10 bis 7×12 mm Filterpapier Whatman Nr. 3 oder Schleicher u. Schüll 598.

Puffer: Brücke: 0,2 m Phosphat, pH 6,8; Gel: 0,01 m Phosphat, pH 6,8.

Inkubation: Übersichtung der ersten drei anodischen cm (vom Startschlitz) mit Agarsandwich, bestehend aus 0,1 m Tris (enthaltend MgCl<sub>2</sub>, 0,03 m), pH 8,0, Agar 0,7%: erhitzen,



abkühlen auf 45° C, dann hinzufügen: MTT (0,2 mg/ml; Endkonzentration), PMS (0,05 mg/ml), NADP (0,1 mg/ml), 6-Phosphogluconat (1 mg/ml): Inkubation 20 min bei 37° C.

Es kann mehrreihig verimpft werden, die Agarüberschichtung kann sehr sparsam erfolgen. Neuerdings wird Aufpinseln des nicht agarhaltigen Substrates auf die Geloberfläche empfohlen [149].

3.3.2. *Quantitative Bestimmungsmethoden.* Die Methoden der quantitativen Bestimmung und der Differentialinhibition sind in den Originalarbeiten nachzulesen [1, 156—159]. Als mittlere Aktivität der PGD ergeben sich 3 Einheiten pro Gramm Hb.

### 3.4. Physikochemische Eigenschaften

Als unmittelbare Produkte der Gene entstehen „subunits“, die nach dem korrespondierenden Gen mit S<sup>A</sup>, S<sup>B</sup> etc. benannt werden. Sie besitzen ein Molekulargewicht von etwa 40000 und kombinieren sich beliebig zu dimeren Molekülen (MG: 80000), die die enzymatisch wirksamen Isoenzyme darstellen [146, 150, 160].

Somit können die homozygoten Typen A oder B nur ein Isoenzym besitzen, während die heterozygoten Typen, deren verschiedene subunits unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit besitzen, drei Banden aufweisen. Nach der binomischen Formel kombinieren sich z. B. S<sup>A</sup> und S<sup>B</sup> zu S<sup>A</sup>S<sup>A</sup>, S<sup>B</sup>S<sup>B</sup> und S<sup>A</sup>S<sup>B</sup>-Komplexen im Verhältnis 1:2:1 [146, 150]. Dieser Zustand ist in nahezu allen Körperzellen nachweisbar, d. h., der Typ B besitzt eine Bande wie auch der Typ A, während der AB-Typ ein symmetrisches Drei-Bandenmuster aufweist. Nur in Erythrocytenhämolysat sind die Relationen verändert (s. Abb. 3), was wohl mit dem Stoffwechsel des Erythrocyten, mit seiner Unfähigkeit zur Proteinsynthese, mit seinem hohen Alter und der Enzym labilität zusammenhängt. Die kernhaltigen Vorstufen des Erythrocyten besitzen dagegen Muster wie z. B. die Leukocyten [148].

Die Typen sind unterschiedlich stabil gegenüber verschiedenen Einflüssen: Nach Inkubation von Hämolysaten bei 37° C weist der B-Typ die größte Aktivitätsminderung auf, der A-Typ die geringste, während der AB-Typ intermediär labil ist. Ähnliche Verhältnisse findet man nach Zusatz von Jodacetat [158, 159]. Auch die Befunde an den verschiedenen Kombinationen von PGD<sup>o</sup> und PGD<sup>w</sup> finden eine ausreichende Deutung: Die subunit S<sup>o</sup> (wenn sie überhaupt existiert) ist nicht nur enzymatisch unwirksam, sondern auch unfähig zur Kombination mit anderen subunits. Denn durch Kombination entweder mit S<sup>A</sup> oder S<sup>B</sup> müßte ein zweibandiges Muster entstehen oder, wenn z. B. der S<sup>A</sup> S<sup>o</sup>-Komplex ebenfalls enzymatisch unwirksam wäre, die Enzymaktivität auf weniger als 50% reduziert (z. B. 25%) sein.

Das Produkt von PGD<sup>w</sup>, die subunit S<sup>w</sup>, ist in vivo außerordentlich labil: Homozygote Merkmalsträger besitzen im Hämolysat nur eine geringe Restaktivität, während (junge) Leukocyten nur eine geringe Abnahme zeigen. Dem Komplex S<sup>A</sup> S<sup>w</sup> scheint eine erhebliche Stabilisierung zuzukommen, da heterozygote Merkmalsträger noch 75% der ursprünglichen Aktivität besitzen, d. h., nur die 25% des S<sup>w</sup> S<sup>w</sup> Komplexes wurden inaktiviert. Der S<sup>A</sup> S<sup>w</sup>-Komplex besitzt die gleiche Motilität wie das A-Isoenzym [146].

3.5.1. *Genfrequenzen.* Bisher existierten nur wenige Daten aus dem europäischen Raum (s. Tabelle 5). In Südeuropa (evtl. auch in Südwestdeutschland) scheint die PGD<sup>B</sup>-Frequenz etwas höher als im Norden. Bei einigen Negerstämmen sowie Ostasiaten ist die PGD<sup>B</sup>-Frequenz deutlich höher. Die erhöhte PGD<sup>B</sup>-Frequenz bei USA-Weißen dürfte somit u. a. auf geringe Durchmischung mit Negern zurückzuführen sein.

3.5.1. *Familiendaten.* Aus den wenigen Literaturangaben über Familienuntersuchungen ergeben sich 259 Familien mit 649 Kindern ohne Ausnahme vom angenommenen Erbgang (Tabelle 6). Weiterhin wurden 284 Mutter/Kind-Paare mitgeteilt [153, 166]. Somit ergeben sich 933 untersuchte Mutter/Kind-Erbgänge.

### 3.6. Rechtsmedizinische Anwendungsgebiete

Neben der Anwendung in der Paternitätsserologie bietet sich auch dieser Polymorphismus für die Spurenkunde und Blutprobenidentifikation an.

Tabelle 5. *PGD-Genfrequenzen in verschiedenen Populationen*<sup>a</sup>

Population	PGD <sup>B</sup>	<i>n</i>	Literatur
Europäer:			
England	0,021	4 558	[150]
Deutschland			
(Hamburg)	0,020	1 162	[47]
(Berlin)	0,023	544	[153]
(Freiburg)	0,031	404	[161]
Griechenland	0,039	128	[149]
USA (Chicago)	0,039	600	[145]
(Buffalo)	0,036	1 226	[154]
Brasilien	0,03	468	[164]
Neger:			
Nigeria und Uganda	0,057	209	[150]
S. Afrika (Bantu)	0,152	200	[162]
Mozambique	0,091	318	[1]
USA (Buffalo)	0,036	1 226	[154]
Asiaten:			
Malayen	0,025	100	[162]
Chinesen	0,066	228	[163]
Japaner (Ainu)	0,069	180	[1]
Indianer:			
Brasilien	0,00	181	[63]

<sup>a</sup> Weitere Daten s. [1], Angaben über seltene Varianten s. [47, 146, 148, 150-157].

Tabelle 6. *PGD-Phänotypen in 259 Familien*<sup>a</sup>

Eltern- kombination	<i>n</i> Familien	Kinder			<i>n</i> Kinder
		A	AB	B	
A × A	226	569	—	—	569
A × AB	28	30	39	—	69
A × B	2	—	3	—	3
AB × AB	2	—	2	3	5
AB × B	1	—	2	1	3
Summe	259				649

<sup>a</sup> Zusammenstellung aus [145, 149, 165].

3.6.1. *Anwendung und Beweiswert im serologischen Abstammungsgutachten.* Die Ausschlußchance liegt je nach Genfrequenz im deutschen Raum zwischen 2% [47] und 3% [161].

Aus einem Material von 151 Paternitätsfällen [153] ergaben sich jedoch immerhin 4 PGD-Ausschlüsse und 6 hinweiskräftige Eventualvater/Kind-Konstellationen.

Für die Beurteilung eines Ausschlusses mit dem höchsten Sicherheitsgrad liegt wohl noch nicht ausreichend Familienmaterial und allgemeine Erfahrung mit diesem System vor.

Weit über 99% aller Ausschlußkonstellationen werden aber bei Heterozygotie des Kindes vorkommen. Bei entsprechender Erfahrung mit diesem System sollte eine derartige Konstellation u.E. bereits jetzt sicher beurteilbar sein.

3.6.2. *Identifizierung von Blutproben und Blutspuren.* Angaben über dieses Anwendungsgebiet aus der Literatur liegen u.E. noch nicht vor. Eigene Untersuchungen an Blutspuren, die bei Raumtemperatur gelagert waren, lassen als obere Grenze der Differenzierbarkeit der Typen A und AB 4 Wochen vermuten [167].

#### 4. Adenosindeaminase (ADA, EC 3.5.4.4.)

##### 4.1. Einleitung

Adenosindeaminase ist ein ubiquitäres Enzym, welches den Abbau des Nucleosids Adenosin einleitet, indem es vom Adeninanteil eine Aminogruppe abspaltet. Das Reaktionsprodukt: Hypoxanthin-ribosid (Inosin) wird durch Wirkung der Nucleosidphosphorylase hydrolysiert zu Ribose-5-P und Hypoxanthin, letzteres durch Xanthin-Oxydase zum Xanthin oxydiert, wobei zwei H-Ionen frei werden. Unter weiterer Ausnutzung des H<sup>+</sup>-Acceptor-Systems PMS-MTT gelang 1968 [168] die spezifische Anfärbung des Enzyms im Stärkegel und weiterhin der Nachweis eines neuen, genetisch determinierten Polymorphismus. Zunächst wurden drei Phänotypen gefunden, und man schloß — nach entsprechenden Familienuntersuchungen —, daß sie durch die Wirkung zweier autosomaler, kodominanter Gene zustande kommen. Entsprechend dem Genmodell erfolgte die Bezeichnung: ADA 1 (ADA<sup>1</sup>/ADA<sup>1</sup>), ADA 2 (ADA<sup>2</sup>/ADA<sup>2</sup>) und ADA 2-1 (ADA<sup>2</sup>/ADA<sup>1</sup>). Durch Auffinden atypischer Muster wurde die Existenz dreier weiterer Allele angenommen, die entsprechend ADA<sup>3</sup> [169], ADA<sup>4</sup> [170], ADA<sup>5</sup> [171] benannt wurden. Für zwei der Gene (ADA<sup>3</sup> und ADA<sup>4</sup>) ließ sich durch Familienuntersuchung der kodominante Erbgang nachweisen.

Für den Typ ADA 5-1 [171] steht der Nachweis des entsprechenden Allels noch aus. Das gleiche gilt für einen „Sondertyp“, der dem Typ 5-1 ähnelt [172]. Außerdem ist zu bedenken, daß durch Lagerung eines „Typ 1 — Hämolysates“ ein „5-1“ — ähnliches Bild produzierbar ist.

##### 4.2. Phänotypen

Die beiden homozygoten Muster weisen einen nach anodisch hin an Intensität abnehmenden Satz von drei Isoenzymen auf, wobei der Dreier-Satz des Typs 2 um ein Intervall kathodisch verschoben ist. Der Typ 2-1 kommt durch einfache Mischung der halben Intensität beider Ausgangsmuster zustande (s. auch Abb. 4).

Als weitere Muster wurden beschrieben: ADA 4-1 [170] mit zwei Isoenzymen, die relativ schwach angefärbt sind. Daher wurde vermutet, daß ein drittes Isoenzym sich wahrscheinlich dem Nachweis entzieht (s. Abb. 4). Der Typ 3-1 entspricht in der Lage seiner Isoenzyme dem Typ 2-1, jedoch ist das langsamste Isoenzym nur sehr schwach anfärbbar. Der Typ 3-2 ist vom Typ 2 elektrophoretisch nicht unterscheidbar, zum Nachweis des „versteckten“, schwachen

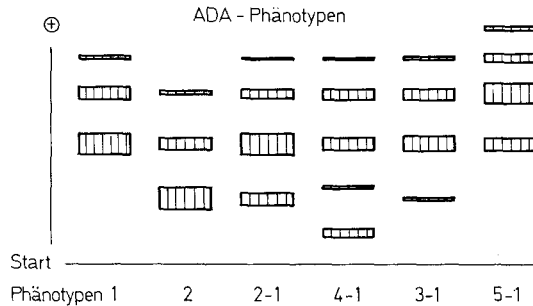


Abb. 4. Schematische Darstellung der ADA-Phänotypen, sinngemäß ergänzt nach [169—171]

Genproduktes von ADA<sup>3</sup> in dieser Kombination bedarf es einer Enzymaktivitätsbestimmung im Hämolytat [169].

#### 4.3. Methoden

Die elektrophoretische Darstellung ist einfach bei Anwendung eines der beiden in der Originalarbeit [158] angegebenen Systeme, von denen eins geschildert sei: Horizontale Stärkegelelektrophorese, wie für die SEP beschrieben. Feldstärke 4V/cm, Kühlung durch Luft von +4°C, Laufzeit 16 Std.

Puffer: Brücke: 0,1 m Phosphat, pH 6,5, Gel: 0,01 m Phosphat, pH 6,5.

Hämolytat: Durch Einfrieren + Auftauen von konzentriertem Erythrocytenbrei.

Inkubation der Gelschnittfläche mit Agarsandwich, bestehend aus: 50 ml 0,025 m Phosphatpuffer, pH 7,5, Agar 0,7%, erhitzen, abkühlen auf 40°C, dann hinzufügen: 20 mg Adenosin, 5 mg MTT, 3—5 mg PMS, 20 µl Xanthin-Oxydase (= 0,08 E), 20 µl Nucleosidphosphorylase (= 0,8 E). Entwicklung der spots bei 37°C nach 1—2 Std abgeschlossen.

Eine ausführliche, deutschsprachige Beschreibung einer modifizierten Technik s. auch [173]. Eine weitere Technik benutzt Cellulose-Acetat als Trägermedium [174], jedoch sind die in der entsprechenden Mitteilung aufgeführten Photographien nicht überzeugend. Dagegen erzielt man nach eigener Erfahrung sehr gute Trennergebnisse durch Elektrophorese in horizontalem Acrylamidgel, welches für densitometrische Messungen gut geeignet ist.

#### 4.4. Physikochemische Eigenschaften

Bereits in der Originalarbeit [168] wurde berichtet, daß nur aus frischen Hämolytaten die beschriebenen Muster nachweisbar sind und daß durch Lagerung eine Veränderung insofern eintritt, als die kathodischen Banden zugunsten der anodischen an Intensität abnehmen. Weiterhin kann sogar ein zusätzliches anodisches Isoenzym auftreten. Durch Zusatz von oxydiertem Glutathion (s. auch SEP-Kapitel) gelang es, den gleichen Effekt zu erzeugen, womit feststand, daß die bekannte Zunahme von oxydiertem Glutathion in Hämolytaten für diesen Isoenzymwandel verantwortlich ist. Der angenommene Mechanismus ist der gleiche wie für die SEP beschrieben. Der Effekt wurde in der Folgezeit mit einer Reihe von SH-Reagenzien systematisch untersucht [175]. Hierbei wurde festgestellt, daß jedes ADA-Isoenzym beider Phänotypen mindestens eine freie, reaktionsbereite SH-Gruppe besitzt. Die Bindung von Glutathion sowie einiger anderer SH-Reagenzien ist durch Dialyse gegen Mercaptoäthanol reversibel, d.h., die ursprünglichen Muster lassen sich restituieren.

4.5.1. *Genfrequenzen.* Die Frequenzen von ADA<sup>2</sup> im europäischen Raum sind heterogen (s. Tabelle 7). Einer hohen ADA<sup>2</sup>-Frequenz von 9% im Mittelmeerraum steht eine niedrige von 5—6% in Norddeutschland bzw. England gegenüber. Die

Tabelle 7. Genfrequenzen ADA<sup>2</sup> in verschiedenen Populationen

Population	ADA <sup>2</sup>	n	Literatur
Europäer:			
Dänemark	0,06	1164	[180]
England	0,05	1353	[169]
Deutschland			
(Hamburg)	0,06	1070	[47]
(Hamburg)	0,06	861	[68]
(Berlin)	0,06	500	[176]
(Frankfurt)	0,05	579	[172]
(Freiburg)	0,08	302	[177]
Griechenland	0,09	314	[171]
Italien (Rom)	0,09	320	[178]
USA (Seattle)	0,05	168	[171]
Neger:			
Mozambique	0,00	140	[172]
England	0,03	300	[169]
Seattle	0,02	186	[171]
Andere:			
Inder	0,12	460	[169]
Philipinos	0,12	100	[171]
Japaner (gemischt)	0,02	118	[171]

Tabelle 8. ADA-Phänotypen in 471 Familien<sup>a</sup>

Eltern- kombination	n Familien	Kinder			n Kinder
		1	2-1	2	
1 × 1	339	580	—	—	580
1 × 2-1	121	122	118	—	240
2-1 × 2-1	5	4	5	1	10
1 × 2	3	—	11	—	11
2-1 × 2	3	—	2	4	6
Summe	471				847

<sup>a</sup> Zusammenstellung aus [168, 169, 179].

intermediäre Stellung des Süd-West-deutschen Raums mit einer Häufigkeit von ca. 8% läßt einen Nord-Süd-Trend vermuten. Auffällig niedrige ADA<sup>2</sup>-Frequenzen werden bei Negern beobachtet, hohe bei Indern.

4.5.2. *Familiendaten.* Aus der Literatur ergeben sich 471 untersuchte Familien mit 846 Kindern ohne Ausnahme des angenommenen Erbgangs (s. Tabelle 8). Über weitere 754 Mutter/Kind-Paare wird berichtet [180]. Somit wären zum jetzigen Zeitpunkt 1600 Erbgänge publiziert.

#### 4.6. Rechtsmedizinische Anwendung

**4.6.1. Paternitätsserologie.** Die Ausschließungschance zu Unrecht beschuldigter Väter beträgt je nach Genfrequenz zwischen 5—6% im Norden [47, 88, 176] und 6,8% im Süden Deutschlands [8]. Es stellt sich bei dem vorliegenden Familienmaterial die Frage, mit welchem Sicherheitsgrad ein isolierter Ausschluß zu bewerten sei. Die nach den Kriterien der „Fallzahlrechnung“ erforderliche Zahl 500 wäre überschritten, die nach den Kriterien der „Null-Ergebnis-Rechnung“ erforderliche Zahl von 2301—3107 KM-Kd-Verbindungen noch nicht erreicht. Wie für die PGD beschrieben, kommt der Regelausschluß auch hier nur bei Heterozygotie des Kindes zustande.

Diese „klassische“ Ausschlußkonstellation ist u. E. bei den elektrophoretischen Polymorphismen mit einem hohen Sicherheitsgrad beurteilbar, da die Produkte beider Allele ablesbar sind und beim Vater bei entsprechender Konstellation auch vorhanden sein müssen. Ausschlüsse aufgrund entgegengesetzter Homozygotie sollten durch Dosisuntersuchungen erhärtet werden.

Für die X/Y-Tabellen zur Berechnung der Vaterschaftswahrscheinlichkeit nach Essen-Möller sollten die unterschiedlichen Genfrequenzen alternativ berücksichtigt werden.

**4.6.2. Blutprobenidentifikation — Spurenkunde.** Im Gegensatz zu den ersten Untersuchungen über eine relativ schnelle Änderung des Isoenzymusters durch Lagerung findet sich eine Angabe in der Literatur, daß die Bestimmung aus bis zu 6 Wochen bei +4°C gelagerten Blutproben einwandfrei gelingt [176]. Eigene Untersuchungen an bis zu 4 Monaten alten Alkoholblutproben brachten nur bis zu einem Probenalter von drei Wochen sichere Resultate.

Im Gegensatz dazu war mit konventionellen Methoden der ADA-Typ aus Blutspuren [166] noch nach 4—6 Wochen nachweisbar; unter Zuhilfenahme von Spezialtechniken (Extraktion-Gefriertrocknung-Reaktivierung) wurden sogar bis zu 5 Monaten sichere Resultate erzielt [167].

### 5. Adenylatkinase (AK; EC 2.7.4.3.)

#### 5.1. Einleitung

Adenylatkinase (AK) katalysiert die reversible Reaktion zwischen den Adenin-nucleotiden:  $2 \text{ADP} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{AMP}$ . AK findet sich in hohen Konzentrationen in Erythrocyten, Thrombocyten, Muskulatur und Leber [181].

1966 wurde ein elektrophoretisch nachweisbarer Polymorphismus der AK-Isoenzyme beschrieben [182]. Zunächst wurden drei Phänotypen gefunden und ein Zwei-Allelen-Modell postuliert. Die Typen wurden AK 1 (AK<sup>1</sup>/AK<sup>1</sup>), AK 2 (AK<sup>2</sup>/AK<sup>2</sup>) und AK 2-1 (AK<sup>2</sup>/AK<sup>1</sup>) benannt. Weitere Phänotypen wurden in der Folgezeit gefunden und als heterozygote Muster zwischen einem seltenen und einem der Normgene identifiziert. Die neuen Gene wurden AK<sup>3</sup> [183—185] und AK<sup>4</sup> [186] bezeichnet. Auch die Existenz eines stummen oder Supressor-Gens mit wechselnder Expressivität bei Heterozygoten erscheint wahrscheinlich [187, 188].

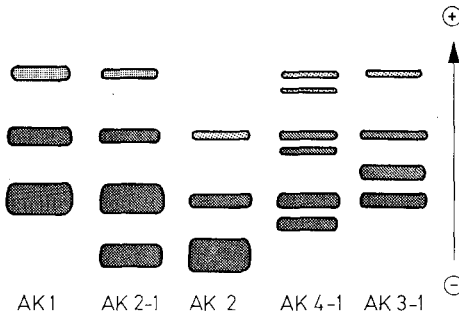


Abb. 5. Schematische Darstellung der AK-Phänotypen

### 5.2. Phänotypen

Die beschriebenen AK-Typen besitzen zwischen drei und sechs Isoenzyme (s. Abb. 5). Je nach elektrophoretischem System wandern einige [182, 189] oder alle [183] Isoenzyme kathodisch.

In einer Methode kommen die schwachen anodischen Banden nicht zur Darstellung [183], sonst bestehen die homozygoten Muster AK 1 und AK 2 aus je einem Satz von drei Isoenzymen, die nach anodisch stark an Intensität verlieren. Das AK 2-Muster ist um ein Intervall nach kathodisch verschoben, das Muster des Typs 2-1 entspricht einer Mischung aus beiden homozygoten Typen. Der Typ 4-1 weist neben dem AK 1-Muster einen zweiten Satz von drei Isoenzymen auf, der gering kathodisch verschoben ist. Der Typ AK 3-1 weist anodisch von der starken Bande des Typs AK 1 eine weitere intensive Bande auf. Der sehr seltene Phänotyp AK 3-2 wurde erst kürzlich beschrieben [185].

### 5.3. Methoden

In der Originalarbeit [182] wird ein diskontinuierliches Puffersystem verwendet (Brücke: Citrat, Gel: Histidin; pH 7,0). In einer anderen Methode (vertikale Stärkegelelektrophorese) wird ein Phosphatpuffersystem, pH 6,2., angegeben [183]. Eine sehr rationelle Methode erlaubt Verimpfung zahlreicher Filterpapiere (mehrrichtig) und Kurzzeitelektrophorese [189]. Sie sei kurz beschrieben:

Horizontale Stärkegelelektrophorese, Feldstärke: 7 V/cm, Laufzeit: 3 Std. Puffer: Brücke: 0,33 m Phosphat (Kathode); 0,066 m Phosphat (Anode), pH 6,5. Gel: 0,004 m Phosphat, pH 6,5.

Hämolsat: Konzentriert eingefroren und aufgetauter Erythrocytenbrei auf Filterpapier Whatman Nr. 1.

Inkubation der Gelschnittfläche mit Agarsandwich. Herstellung: 20 ml Tris, 0,1 m, enthaltend  $MgCl_2$ , 0,01 m, pH 8,0; mit Agar 0,5%, erhitzen, abkühlen auf 40°C, dann hinzufügen: 40 mg Glucose, 10 mg ADP, 2 mg NADP, 2 mg MTT, 2 mg PMS, 5  $\mu$ l Hexokinase (=1,4U), 5  $\mu$ l  $G^-6PD$  (=0,7 E). Nach 20 min ablesbare Banden.

In Anlehnung an diese Methode wurde eine dünnschichtelektrophoretische Technik zur Darstellung der AK-Typen aus Blutspuren angegeben [190].

### 5.4. Physikochemische Eigenschaften

Die Isoenzyme der Typen AK 2 und AK 1 besitzen ein Molekulargewicht von ca. 24000 [183]. Sie sind wohl die stabilsten von allen bisher beschriebenen Enzymen: Sie überstehen Erhitzen auf über 100°C bei einem pH von 1 [191] und langjährige Lagerung [181]. Die

Tabelle 9. *AK<sup>2</sup>-Genfrequenzen in verschiedenen Populationen*<sup>a</sup>

Population	AK <sup>2</sup>	<i>n</i>	Literatur
Europäer:			
Nord:			
Finnland	0,039	77	[186]
Norwegen (Oslo)	0,044	377	[192]
Irland	0,127	114	[127]
Mittel:			
England	0,045	1887	[186]
Deutschland			
(Hamburg)	0,034	2370	[47]
(Hamburg)	0,045	1090	[68]
(Berlin)	0,036	2008	[184]
(Freiburg)	0,035	970	[54]
Österreich (Wien)	0,034	407	[197]
Süd:			
Italien (Rom)	0,037	841	[198]
Sardinien	0,015	1033	[199]
Türken (Deutschland)	0,042	274	[54]
Andere:			
USA (Chicago)	0,047	1314	[183]
Neger:			
Mozambique	0,003	318	[1]
Nigeria	0,000	153	[186]
Ghana und Nigeria	0,000	800	[183]
USA (Chicago)	0,006	1062	[183]
Asiaten:			
China	0,002	227	[163]
Thailand	0,022	201	[1]
Inder (England)	0,098	132	[186]
Pakistani (England)	0,130	54	[186]
Indianer:			
Lacandon	0,000	150	[183]

<sup>a</sup> Weitere Daten aus dem deutschen Raum [49, 200], von anderen Populationen [1, 57, 105, 199, 183, 186].

Annahme, daß die anodischen Banden keine AK-Orte darstellen [183], sondern durch die dort liegenden Enzyme PGD und G-6-PD zur Anfärbung gelangen, erscheint durch die Auffindung des Typs AK 4-1 widerlegt, der eine Doppelung des Gesamtmusters — auch der anodischen Fraktionen — aufweist [186]. Eine weitere Hypothese, daß die AK mit der Pyruvatkinase eine „subunit“ gemeinsam habe [182], wurde durch elektrophoretische und biochemische Untersuchungen widerlegt [194].

Den elektrophoretischen Phänotypen sind unterschiedliche Enzymaktivitäten im Hämolyt assoziiert: Die Genexpressivitäten von AK<sup>2</sup> und AK<sup>1</sup> verhalten sich etwa wie 2:3 [195].

Die AK-Isoenzymmuster, die nach Auftrennung von verschiedenen Organhomogenaten desselben Individuums nachweisbar sind, unterscheiden sich quantitativ und qualitativ vom Muster aus Hämolyt [196].

Zum färberischen Nachweis nutzt man eine lange Reaktionskette (Schema s. [182, 189]): In der Ausgangsreaktion (s. 5.1.) entsteht durch die Wirkung der AK aus 2 Mol ADP 1 Mol



Tabelle 10. *AK-Phänotypen in 227 Familien*<sup>a</sup>

Eltern- kombination	<i>n</i> Familien	Kinder			<i>n</i> Kinder
		1	2-1	2	
1 × 1	83	392	—	—	392
1 × 2-1	185	247	228	—	475
2-1 × 2-1	9	7	9	4	20
Summe	277				887

<sup>a</sup> Zusammenstellung aus [182, 186, 192].

ATP. Unter Mitwirkung von ATP wird Glucose in der Hexokinase-reaktion zum Glucose-6-Phosphat phosphoryliert. In der weiteren Reaktionsfolge entspricht die Sequenz derjenigen, die auch zum PGM-Nachweis führt.

*5.4.1. Genfrequenzen.* Die AK<sup>2</sup>-Frequenz-Verteilung ist im mitteleuropäischen Populationen relativ homogen (s. Tabelle 9). Auffällig hohe AK<sup>2</sup>-Häufigkeit von ca. 13% wurde bei Iren gefunden ( $n = 114$ ), sehr geringe AK<sup>2</sup>-Frequenz von 1,5% bei Sarden. Diese Ausnahmen sollten bei entsprechenden Begutachtungen berücksichtigt werden.

Bei Negern, Chinesen und einigen Indianern (s. Tabelle 9) finden sich AK<sup>2</sup>-Gene selten oder gar nicht, bei Indern und Pakistani beträgt die AK<sup>2</sup>-Frequenz zwischen 10 und 13%.

*5.4.2. Familiendaten.* Aus der zugänglichen Literatur ergeben sich 277 Familien mit 887 Kindern ohne Ausnahme des postulierten Erbgangs (Tabelle 10). Die Aufspaltung der Kinderphänotypen bei der Paarung: 2-1 × 1 entspricht nahezu Mendelscher Erwartung. Weiterhin wurden 623 Mutter/Kind-Paare publiziert, bei denen sich keine genetische Inkompatibilität fand [197, 201]. Zusammen liegen somit 1510 analysierte Mutter/Kind-Erbgänge vor.

### 5.5. Rechtsmedizinische Anwendungsgebiete

*5.5.1. Paternitätsserologie.* Die Ausschlußchancen zu Unrecht beschuldigter Väter betragen je nach zugrunde gelegter Genfrequenz zwischen 3,1% [47] und 4,1% [68].

Die X/Y-Werte zur Berechnung der Vaterschaftswahrscheinlichkeit nach Essen-Möller wurden publiziert [76]. Zur Frage des Beweiswertes im Ausschlußfall wurde zweimal [197, 201] Stellung genommen, beide Male wurde der höchste Sicherheitsgrad postuliert.

Wie für die anderen Systeme sollte ein isolierter Ausschluß aufgrund entgegengesetzter Reinerbigkeit vorsichtig beurteilt werden.

*5.5.2. Blutprobenidentifikation — Spurenkunde.* Wegen seiner großen Stabilität eignet sich die AK hervorragend als Markierer bei Identifikationsproblemen. Über die Nachweisgrenze aus Blutproben liegt u. E. noch keine Literatur vor, jedoch wird, wie von verschiedenen Gutachtern bestätigt, der Nachweis der AK aus gealterten Blutproben bereits praktiziert.

Über den AK-Nachweis aus Blutspuren liegen verschiedene Untersuchungen vor: je nach angewandter Technik werden maximale Nachweisgrenzen von 3 Monaten [202], 5<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Monaten [190] und 6 Monaten [166] angegeben.

Nach eigenen Untersuchungen mit modifizierter Technik [167] an bis zu 5 Jahren alten Spuren gelingt hier der AK-Nachweis noch regelmäßig. Eine sichere Zuordnung zu den drei Phänotypen ist jedoch nur bis zu einem Spurenalter von 11 Monaten möglich.

## 6. Weitere Enzym polymorphismen — seltene Varianten

Eine Anzahl anderer erythrocytärer Enzym polymorphismen wurde publiziert. Sie können nur kurz erwähnt werden. Übersicht s. [1, 2] und entsprechende Literaturangaben.

### 6.1. Lactatdehydrogenase

In Erythrocyten kommen normalerweise 5 Isoenzyme vor, die jeweils tetramere Struktur besitzen. Die Synthese zwei verschiedener Polypeptide wird von zwei Loci kontrolliert. Bei Mutationen — durch die komplexe Struktur des Isoenzym s — entstehen Muster mit bis zu 20 Isoenzymen.

Die Häufigkeiten der einzelnen mutierten Gene sind geringer als 0,003. Übersicht s. [1, 2].

### 6.2. Malatdehydrogenase

Es existieren zwei biochemisch unterschiedliche Enzyme:

1. Cytoplasmatische Malatdehydrogenase. Dimere Struktur. Unter 2800 Individuen wurde eine Variante gefunden.

2. Mitochondriale MDH. Bis zu fünf Isoenzyme. Wahrscheinlich strukturelle Isomere (s. SEP). Unter 523 Individuen 5mal ein atypisches Muster.

### 6.3. Phosphohexoseisomerase

Normalerweise 2 Isoenzyme. Bei 20 von 3400 untersuchten Individuen wurden 9 Varianten gefunden, die PHI 1, PHI2-1 etc. bis PHI9-1 bezeichnet wurden. Höchste Variantenfrequenz bei Indern für den Typ 3-1 (ca. 1%).

### 6.4. Carboanhydrasen (CA)

Zwei biochemisch unterschiedliche Enzyme im Normfall: CA 1 und CA 2. Bisher wurden drei elektrophoretische Varianten gefunden, die erste nach Untersuchung von über 2600 Personen. Sehr selten auch quantitative Varianten.

### 6.5. Esterasen

Nach ihrer Substrataffinität unterscheidet man im wesentlichen zwei Esterasen im Hämolsat (A- und B-Esterasen).

A-Esterasen als multiple Banden. Unter 4100 Individuen drei Varianten des A-Musters.

### 6.6. Peptidasen

Je nach Substrataffinität (Dipeptide und Tripeptide unterschiedlicher Aminosäurezusammensetzung) unterscheidet man A-, B-, C-, D- und E-Peptidasen.

Die A-Peptidasen bestehen normalerweise aus drei Isoenzymen: Es existieren zahlreiche Varianten, die atypische Muster zeigen und Pep A 1, Pep A 2-1 etc. bis Pep A 6-1 genannt werden. Unter 2283 Europäern 4mal 1 Variante, unter 549 Negern 81 Varianten! Entsprechende Varianten von Pep B 1 bis 7-1, jedoch nur bei Europäern: z. B. 9 Varianten unter 2197 Personen.

Unter den D-Peptidasen existieren 4 Phänotypen: Pep D 1, 2-1, 2!, 3-1. Der Typ Pep D 2-1 ist der häufigste: bei Negern ca. 5%, bei Weißen 2,2% Häufigkeit.

### 6.7. *Glutathion — Reductasen*

Normalerweise eine elektrophoretische Zone. Unter 196 Negern fanden sich 6 mit einer anderen anodischen Zone und 40 mit einer diffusen Färbung zwischen beiden Orten. Die 40 sind wahrscheinlich Heterozygote, das seltenere Allel hat eine Häufigkeit von 0,13 bei Negern.

### 6.8. *NADH und NADPH — Diaphorase*

Das Enzym katalysiert die Reduktion von Methämoglobin. Neben quantitativen Defektvarianten [1], existiert für die NADH-Diaphorase ein elektrophoretischer Polymorphismus [203]: Der Typ Dia 1 besitzt eine Bande. Weiterhin zahlreiche Varianten- Dia 2-1 bis Dia 6-1 und Dia 2.

Unter 1975 Europäern insgesamt 20 Individuen mit Varianten.

### 6.9. *Nucleosid — Phosphorylase*

Wahrscheinlich trimere Struktur. Normtyp: NP 1. Unter 2174 Personen 4mal Varianten gefunden: NP 2-1, 3-1, 4-1 [204].

### 6.10. *Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase*

Über dieses Enzym existiert umfangreiche, Monographien füllende Literatur. Für serogenetische Abstammungsbegutachtung nicht geeignet (geringe Variantenzahl bei Europäern, x-chromosomale Koppelung etc.). Quantitative und qualitative Varianten. Übersicht s. [1—3].

### 6.11. *Galactose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase*

Drei Allele: Gt<sup>+</sup> (Normgen), gt (stummes Gen) und Gt<sup>D</sup> (D für Duarte, Häufigkeit von 0,06).

Nachweis quantitativ und elektrophoretisch.

### 6.12. *Indophenol-Oxydase*

Entspricht den ungefärbten spots in mit Tetrazolium gefärbten Gelen. 1 Variante unter Tausenden von Personen gefunden.

*Addendum.* Inzwischen wurde ein weiterer, vielversprechender Enzym polymorphismus beschrieben: Es handelt sich um die lösliche Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT). Drei Phänotypen: GPT 1, GPT 2 und GPT 2—1. Genfrequenzen (bei Europäern): Gpt<sup>1</sup> = 0,496, Gpt<sup>2</sup> = 0,504. Einzelheiten s. Originalarbeit [205].

## Literatur

1. Giblett, E. R.: Genetic markers in human blood, 1st ed. Oxford-Edinburgh: Blackwell Scientific Publications 1969.
2. Harris, H.: The principles of human biochemical genetics, 1st ed. Amsterdam-London: North-Holland Publishing Co. 1971.
3. Yunis, J. J.: Biochemical methods in red cell genetics, 1st ed. New York-London: Academic Press 1969.
4. Tsuboi, K. K., Hudson, P. B.: Acid phosphatase. I. Human red cell phosphomonoesterase; general properties. Arch. Biochem. **43**, 339 (1953).
5. — — Acid phosphatase. II. Purification of human red cell phosphomonoesterase. Arch. Biochem. **53**, 341 (1954).
6. — — Acid phosphatase. VI. Kinetic properties of purified yeast and red cell phosphomonoesterase. Arch. Biochem. **61**, 197 (1956).

7. Abul, M. A. M., King, E. J.: Properties of the acid phosphatase of erythrocytes and of the human prostate gland. *Biochem. J.* **45**, 51 (1949).
8. Hopkinson, D. A., Spencer, N., Harris, H.: Red cell acid phosphatase variants: A new human polymorphism. *Nature (Lond.)* **199**, 969—971 (1963).
9. Giblett, E. R., Scott, N. M.: Red cell acid phosphatase; Racial distribution and report of a new phenotype. *Amer. J. hum. Genet.* **17**, 425—432 (1965).
10. Karp, G. W., Sutton, H. E.: Some new phenotypes of human red cell acid phosphatase. *Amer. J. hum. Genet.* **19**, 54—62 (1967).
11. Herbich, J., Fisher, R. A., Hopkinson, D. A.: Atypical segregation of human red cell acid phosphatase phenotypes: Evidence for a rare 'silent' allele P<sup>o</sup>. *Ann. hum. Genet.* **34**, 145—150 (1970).
12. — Nachweis eines Gens P<sup>o</sup> im sauren Erythrocyten-Phosphatase-System. *Ärztl. Lab.* **15**, 381—391 (1969).
13. Lai, L., Nevo, S., Steinberg, A. G.: Acid phosphatases of human red cells: Predicted phenotype conforms to a genetic hypothesis. *Science* **145**, 1187—1188 (1964).
14. Radam, G., Strauch, H.: Elektrophoretische Darstellung der sauren Erythrocyten-phosphatase. *Z. klin. Chem.* **4**, 234—235 (1966).
15. Hennig, W., Hoppe, H. H., Kaifie, S.: Die elektrophoretische Bestimmung der sauren Erythrocytenphosphatasegruppen mit Polyacrylamid-Gel. *Ärztl. Lab.* **14**, 273—278 (1968).
16. Terfloth, H. P.: Modifizierte Technik zur elektrophoretischen Auftrennung der sauren Erythrocytenphosphatase. *Beitr. gerichtl. Med.* **24**, 186—190 (1969).
17. Richter, O.: Untersuchungen zur Typendifferenzierung der sauren Erythrocytenphosphatase. *Z. Immun.-Forsch.* **134**, 287—292 (1967).
18. Reimann, W., Heidel, G.: Zur Methode der Bestimmung der sauren Phosphatase der Erythrocyten. *Z. ärztl. Fortbild.* **61**, 1164—1167 (1967).
19. Klose, I.: Technik, Anwendung und Beweiswert der sauren Erythrocytenphosphatase in der Gutachtenpraxis. *Beitr. gerichtl. Med.* **25**, 213—215 (1969).
20. Speiser, P., Pausch, V.: Die saure Erythrocytenphosphatase des Menschen. *Wien. klin. Wschr.* **80**, 5—15 (1968).
21. Gussmann, S.: Beitrag zur Differentialdiagnose des Typs C der sauren Phosphatase der Erythrocyten des Menschen (EC 3.1.3.2). *Z. Rechtsmedizin* **67**, 227—229 (1970).
22. Tiesler, E.: Vertikale Säulenelektrophorese zur Trennung der sauren Erythrocyten-phosphatase (SEP) E 3.1.3.2. *Ärztl. Lab.* **15**, 328—333 (1969).
23. Georgatsos, J. G.: Acid phosphatases of human erythrocytes. *Arch. Biochem.* **110**, 354—356 (1965).
24. Brinkmann, B., Reich, K.: Saure Erythrocytenphosphatase. *Ärztl. Lab.* **13**, 346—351 (1967).
25. Fiedler, H., Niebuhr, R.: Die Untersuchung zweier erythrocytärer Enzym-Polymorphismen in einem Arbeitsgang. *Blut* **16**, 161—163 (1967).
26. Hopkinson, D. A., Spencer, N., Harris, H.: Genetical studies on human red cell acid phosphatase. *Amer. J. hum. Genet.* **16**, 141—154 (1964).
27. Valentine, W. N., Tanaka, K. R., Fredericks, R. E.: Erythrocyte acid phosphatase in health and disease. *Amer. J. clin. Path.* **36**, 328 (1961).
28. Rapoport, S. M.: *Medizinische Biochemie*, 4. Aufl. Berlin: VEB Verlag und Volk 1966.
29. Fisher, R. A., Harris, H.: Studies on the purification and properties of the genetic variants of red cell acid phosphohydrolase in man. *Ann. N. Y. Sci.* **166**, 380—391 (1969).
30. Luffman, J. E., Harris, H.: A comparison of some properties of human red cell acid phosphatase in different phenotypes. *Ann. hum. Genet.* **30**, 387—401 (1967).
31. Fisher, R. A., Harris, H.: Further studies on the molecular size of red cell acid phosphatase. *Ann. hum. Genet.* **34**, 449—453 (1971).
32. — — Studies on the separate isozymes of red cell acid phosphatase phenotypes A and B. II. Comparison of kinetics and stabilities of the isozymes. *Ann. hum. Genet.* **34**, 439—448 (1971).
33. Spencer, N., Hopkinson, D. A., Harris, H.: Quantitative differences and gene dosage in the human red cell acid phosphatase polymorphism. *Nature (Lond.)* **201**, 299—300 (1964).
34. Goedde, H. W., Ritter, H., Callsen, U., Flock, H.: Untersuchungen zum Polymorphismus der sauren Erythrocytenphosphatase (EC 3.1.3.2). *Hum. Genet.* **3**, 113—120 (1966).

35. Modiano, B., Filippi, G., Brunelli, F., Frattaroli, W., Siniscalco, M.: Studies on red cell acid phosphatase in Sardinia and Rome. Absence of correlation with past malarial morbidity. *Acta genet. (Basel)* **17**, 17—28 (1967).
36. Shinoda, T.: Studies on genetically different acid phosphatase of human red cells. *J. Biochem. (Tokyo)* **64**, 733—741 (1968).
37. Krauland, W., Smerling, M.: Isolierte Schädigung der A-Fraktion der sauren Erythrocytenphosphatase durch äußere Einflüsse (Liquoid). *Ärztl. Lab.* **17**, 129—131 (1971).
38. Scott, E. M.: Kinetic comparison of genetically different acid phosphatases of human erythrocytes. *J. biol. Chem.* **241**, 3049—3052 (1966).
39. Radam, G., Strauch, H.: Schnellwandernde Zonen der sauren Erythrocytenphosphatase und ihre Beziehungen zu den Phänotypen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **60**, 39—41 (1967).
40. Bottini, E., Modiano, G.: Effect of oxidized glutathione on human red cell acid phosphatase. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **17**, 260—264 (1964).
41. — — On the effect of oxidized Glutathione and acetylphenylhydrazine on red cell acid phosphatase. *Blood* **27**, 281—282 (1966).
42. Hopkinson, D. A.: The investigation of reactive sulphhydryls in enzymes and their variants by starch gel electrophoresis: Studies on the PHI 5-1. *Ann. hum. Genet.* **34**, 79—84 (1970).
43. Bottini, E., Modiano, G., Businco, L., Filippi, G.: Differential effect of oxidized glutathione or acetylphenylhydrazine on individual electrophoretic components of red cell acid phosphatases. *Experientia (Basel)* **23**, 107—109 (1967).
44. Löhr, G. W.: Die Fermente des Erythrocyten und ihre funktionelle Bedeutung. *Folia haemat. (Frankfurt)* **9**, 240—258 (1964).
45. Lamm, L. U.: Red cell phosphoglucomutase and acid phosphatase types among Danish blood donors. *Acta genet. (Basel)* **18**, 386—393 (1968).
46. Hopkinson, D. A.: Genetical and biochemical studies on human red cell acid phosphatase in health and disease. M. D. Thesis, Cambridge University (1966).
47. Brinkmann, B., Hoppe, H. H., Hennig, W., Koops, E.: Red cell enzyme polymorphisms in a northern german population. *Hum. Hered. (im Druck)*.
48. Radam, G., Strauch, H.: Populationsgenetik der sauren Erythrocytenphosphatase. *Hum. Genet.* **2**, 378—380 (1966).
49. Adamek, H., Orth, G.-W., Kneiphoff, H., Nagel, V.: Die Isoenzym polymorphismen. Saure Erythrocytenphosphatase, Phosphoglucomutase, Adenylatkinase und Adenosin-desaminase. *Ärztl. Lab.* **17**, 132—139 (1971).
50. Pulverer, G., Hummel, K., Weidman, V.: Verteilung der Typen der sauren Erythrocytenphosphatase in der deutschen Bevölkerung. *Z. Immun.-Forsch.* **138**, 475—479 (1969).
51. Pflugshaupt, R., Scherz, R., Trautwein, M., Richiger, U., Bütler, R.: Polymorphism of the red cell acid phosphatase in the Swiss population. *Hum. Genet.* **8**, 354—356 (1970).
52. Van Cong, N., Moullec, J.: Les types de phosphatase acide des globules rouges. Etude de 134 Familles. *Rev. franç. Étud. clin. biol.* **12**, 574—576 (1967).
53. Herzog, P., Bohatova, J.: Zur Populationsgenetik der sauren Phosphatase der Erythrocyten (EC: 3.1.3.1): Phänotypen- und Allelhäufigkeiten in der CSSR. *Hum. Genet.* **7**, 183—184 (1969).
54. Hummel, K., Pulverer, G., Schaal, K. P., Weidman, V.: Häufigkeit der Sichttypen in den Erbsystemen Hp, Ge, SEP, PGM und AK sowie den Erbeigenschaften Gm(1), Gm(2) und Inv(1) bei Deutschen (Freiburg/Br., Köln) und bei Türken. *Hum. Genet.* **8**, 330—333 (1970).
55. Shinoda, T.: Red cell acid phosphatase types in a Japanese population. *Jap. J. hum. Genet.* **11**, 252—256 (1967).
56. Lai, L. Y. C., Kwa, S. B.: Red cell acid phosphatase types in some populations of South-East Asia. *Acta genet. (Basel)* **18**, 45—54 (1968).
57. Shih, L.-Y., Hsia, D. Y.-Y.: The distribution of genetic polymorphisms among Chinese in Taiwan. *Hum. Hered.* **19**, 227—233 (1969).
58. Bajatzadeh, M., Neumann, S., Walter, H.: Pseudocholesterases and human red cell acid phosphatases in Koreans. *Hum. Genet.* **7**, 91 (1969).

59. Walter, H., Bajatzadeh, M.: Studies on the distribution of the human red cell acid phosphatase polymorphism in Iranians and other populations. *Acta genet. (Basel)* **18**, 421—428 (1968).
60. Scott, E. M., Duncan, J. W., Ekstrand, V., Wright, R. C.: Frequency of polymorphic types of red cell enzymes and serum factors in Alaskan Eskimos and Indians. *Amer. J. hum. Genet.* **18**, 408—411 (1966).
61. Lai, L. Y. C.: Hereditary red cell acid phosphatase types in Australian white and New Guinea native populations. *Acta genet. (Basel)* **16**, 313—320 (1966).
62. — Unusual distribution of red cell acid phosphatase among aborigines of Australia. *Nature (Lond.)* **217**, 1186 (1968).
63. Tashian, R. E., Brewer, G. J., Lehmann, H., Davies, D. A., Rucknagel, D. L.: Further studies on the Xavante Indians. V. Genetic variability in some serum and erythrocyte enzymes, hemoglobin and the urinary excretion of  $\beta$ -Aminoisobutyric acid. *Amer. J. hum. Genet.* **19**, 524—531 (1967).
64. Krüger, J., Fuhrmann, W., Lichte, K.-H., Steffens, C.: Zur Verwendung des Polymorphismus der sauren Erythrocytenphosphatase bei der Vaterschaftsbegutachtung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **64**, 127—146 (1968).
65. Jarosch, K.: Die Phänotypenfrequenz der sauren Erythrozytenphosphatasen und die Bedeutung im Vaterschaftsprozeß. *Wien. med. Wschr.* **118**, 329 (1968).
66. Fiedler, H.: Das Isoenzymssystem der sauren Erythrocytenphosphatasen und seine Verwendung in der forensischen Vaterschaftsbegutachtung. *Ärztl. Lab.* **13**, 507—511 (1967).
67. Fuhrmann, W., Lichte, K.-H.: Human red cell acid phosphatase polymorphism. A study on gene frequency and forensic use of the system in cases of disputed paternity. *Hum. Genet.* **3**, 121—126 (1966).
68. Goedde, H. W., Benkmann, H.-G., Christ, I., Singh, S., Hirth, L.: Gene frequencies of red cell adenosine deaminase, adenylate kinase, phosphoglucomutase, acid phosphatase and Serum  $\alpha$ -antitrypsin (Pi) in a German population. *Hum. Genet.* **10**, 235—243 (1970).
69. Reimann, W., Willner, G.: Identifizierung gelagerter Alkoholblutproben durch Bestimmung der Typen der sauren Erythrocytenphosphatase (sEPH). *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **64**, 33—38 (1968).
70. Wille, B., Bender, K., Wolf, U., Ritter, H.: Zur Populationsgenetik der sauren Phosphatase der Erythrocyten (EC: 3.1.3.2): Phänotypen- und Allelhäufigkeiten in Südwestdeutschland. *Hum. Genet.* **5**, 274—277 (1968).
71. Dürwald, W., Hunger, H.: Populationsgenetische und formalgenetische Untersuchungen zum Polymorphismus der sauren Erythrozytenphosphatase. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* **22**, 2368—2370 (1967).
72. Brinkmann, B., Koops, E., Hoppe, H. H.: Disagreements between observed and expected data in erythrocyte acid phosphatase polymorphism. (In Vorbereitung.)
73. Hopkinson, D. A., Harris, H.: Red cell acid phosphatase, phosphoglucomutase, and adenylate kinase, chapt. 13 in: *Biochemical methods in red cell genetics*, 1st ed. New York-London: Academic Press 1969.
74. Prokop, O.: Zum Beweiswert der sauren Erythrocyten-Phosphatase. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **61**, 59—61 (1967).
75. Wichmann, D.: Die Typen der sauren Erythrozytenphosphatase in der Vaterschaftsbegutachtung: Ausschlussverfahren, Sicherheitsgrad und Mutmaßlichkeitswerte der Vaterschaft. *Anthrop. Anz.* **31**, 46—50 (1968).
76. Hummel, K., Schmidt, V., Ihm, P.: Weitere Ergänzungen der Ig Y/X-Tabellen zur Berechnung der Vaterschaftswahrscheinlichkeit aus serologischen Befunden. *Z. Immun.-Forsch.* **137**, 320—332 (1969).
77. Richter, O.: Systematische Altersuntersuchungen der sauren Erythrocytenphosphatase. *Arb. Gem. Blutgruppensachverst.*, 6. Tagg, 5./6. 4. 1968 in Mainz.
78. Rose, D.: SEP-Bestimmung an älteren Blutproben. Vorwiegend verbesserter Nachweis der Phänotypen BC und AC. *Ärztl. Lab.* **17**, 140—143 (1971).
79. Smerling, M.: Bestimmung der sauren Erythrocytenphosphatase an alten Blutalkoholproben und in Blutspuren. *Arch. Kriminol.* **144**, 161—166 (1968).
80. Heidel, G.: Die spurenkundliche Bedeutung der Typen der sauren Erythrocytenphosphatase. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **63**, 37—43 (1968).

81. Koops, E.: Saure Erythrocytenphosphatase: Populationsgenetik und vergleichende Untersuchungen zum Nachweis an gelagerten Blutproben. Diss. Universität Hamburg (1970).
82. Heidel, G., Reimann, W.: Bestimmung der sauren Phosphatase der Erythrocyten im Leichenblut. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **62**, 207—211 (1968).
83. Nagata, T., Dotzauer, G.: Nachweis und Typenbestimmbarkeit der sauren Erythrocytenphosphatase in Blutspuren. Z. Rechtsmedizin **67**, 359—363 (1970).
84. Lisker, R., Giblett, E. R.: Studies on several genetic hematological traits of mexicans. XI. Red cell acid phosphatase and phosphoglucomutase in three Indian groups. Amer. J. hum. Genet. **19**, 174—177 (1967).
85. Reimann, W., Rönisch, P.: Die Bestimmbarkeit der Typen der sauren Erythrozytenphosphatase beim Neugeborenen. Z. Immun.-Forsch. **136**, 383—389 (1968).
86. Najjar, V. A., Pullmann, M. E.: The occurrence of a group transfer involving enzyme (phosphoglucomutase) and substrate. Science **119**, 631—634 (1954).
87. Spencer, N., Hopkinson, D. A., Harris, H.: Phosphoglucomutase polymorphism in man. Nature (Lond.) **204**, 742—745 (1964).
88. Hopkinson, D. A., Harris, H.: Evidence for a second "structural" locus determining human phosphoglucomutase. Nature (Lond.) **208**, 410—412 (1965).
89. — — A third phosphoglucomutase locus in man. Ann. hum. Genet. **31**, 359 (1968).
90. — — Rare phosphoglucomutase phenotypes. Ann. hum. Genet. **30**, 167—181 (1966).
91. Harris, H.: Enzyme polymorphisms in man. Proc. roy. Soc. B **164** 298—310 (1966).
92. Monn, E.: Application of the phosphoglucomutase (PGM) system of human red cells in paternity cases. Vox Sang. (Basel) **16**, 211—221 (1969).
93. Hopkinson, D. A.: Genetically determined polymorphisms of erythrocyte enzymes in man. Clin. Chem. **11**, 21—79 (1968).
94. Parrington, J. M., Cruickshank, G., Hopkinson, D. A., Robson, E. B., Harris, H.: Linkage relationship between the three phosphoglucomutase loci PGM<sub>1</sub>, PGM<sub>2</sub>, and PGM<sub>3</sub>. Ann. hum. Genet. **32**, 27—34 (1968).
95. Terrenato, L., Santolamazza, C., Scozzari, R., Gigliani, F., Modiano, G.: Red cell phosphoglucomutase polymorphism. II. Densitometric studies. Hum. Hered. **20**, 94—103 (1970).
96. Modiano, G., Scozzari, R., Gigliani, F., Santolamazza, C., Afeltra, P., Frattaroli, W.: Red cell phosphoglucomutase polymorphism. I. Enzyme activity of different red cell PGM phenotypes. Hum. Hered. **20**, 86—93 (1970).
97. Fiedler, H., Pettenkofer, H.: Ein "neuer" Phänotyp im Isoenzymssystem der Phosphoglucomutasen des Menschen (PGM<sub>1</sub>O). 1. Mitt. Blut **18**, 33—34 (1968).
98. — — Ein „neuer“ Phänotyp im Isoenzymssystem der Phosphoglucomutasen des Menschen (PGM<sub>1</sub>O). 2. Mitt. Blut **18**, 358—362 (1969).
99. Brinkmann, B., Koops, E., Klopp, O., Heindl, K., Rüdiger, H. W.: Inherited partial deficiency of the PGM<sub>1</sub> gene, biochemical and densitometric studies. Ann. hum. Genet. (im Druck).
100. Wendt, G. G., Kirchberg, G., Rube, M.: Problematischer Mutter-Kind-Ausschluß mit PGM<sub>1</sub>. Hum. Genet. **11**, 171—174 (1971).
101. Benerecetti, S. A. S., Modiano, G.: Studies on african pygmies. II. Red cell phosphoglucomutase studies in babinga pygmies: A common PGM<sub>2</sub> variant allele. Amer. J. hum. Genet. **21**, 315—321 (1969).
102. Lie-Injo, L. E.: Phosphoglucomutase polymorphism: an unusual type in negroes. Nature (Lond.) **210**, 1183—1184 (1966).
103. Gordon, H., Kersaan, M. M., Woodburne, V., Sophangisa, E.: Further studies of genetical variation in human red-cell enzymes. S. Afr. med. J. **1242—1243** (1968).
104. Monn, E.: A new red cell phosphoglucomutase phenotype in man. Acta genet. (Basel) **18**, 123—127 (1968).
105. Gordon, H., Vooijs, M., Keraan, M. M.: Genetical variation in some human red cell enzymes: an interracial study. S. Afr. med. J. **40**, 1031 (1966).
106. Smerling, M.: Persönliche Mitteilung.
107. McAlpine, P. J., Hopkinson, D. A., Harris, H.: The relative activities attributable to the three phosphoglucomutase loci (PGM<sub>1</sub>, PGM<sub>2</sub>, PGM<sub>3</sub>) in human tissues. Ann. hum. Genet. **34**, 169—173 (1970).

108. Murray, R. F.: Persönliche Mitteilung. zit. nach Hopkinson [93].
109. Detter, J.: Persönliche Mitteilung; zit. nach Giblett [1].
110. Renninger, W., Sina, D.: Isoenzymmuster der Phosphoglucomutase der menschlichen Spermien (Sp-PGM<sub>1</sub>). *Hum. Genet.* **10**, 85—87 (1970).
111. Radam, G., Strauch, H.: Die Darstellung der Phosphoglucomutase-Varianten. *Ärztl. Lab.* **15**, 7—12 (1969).
112. Brinkmann, B., Fritz, E.: Elektrophoretische Darstellung der Isoenzyme der Phosphoglucomutase. *Ärztl. Lab.* **14**, 15—18 (1968).
113. Oepen, I.: Dünnschicht-Stärkegel-Elektrophorese zur Bestimmung der Phosphoglucomutase-Typen an Blutspuren. *Z. Rechtsmedizin* **67**, 309—312 (1970).
114. Monn, E.: Phosphoglucomutase (PGM) type determination by agar gel electrophoresis. *Vox Sang.* (Basel) **14**, 70—78 (1968).
115. Kneiphoff, H., Nagel, V.: Bestimmung der Phosphoglucomutase. *Ärztl. Lab.* **16**, 354—360 (1970).
116. Bocchini, V., Alioto, M. R., Najjar, V. A.: The sulfhydryl groups of rabbit muscle phosphoglucomutase. *Biochemistry* **6**, 313 (1967).
117. Handler, P., Hashimoto, T. A., Joshi, J. G., Dougherty, H., Hanbusa, K., DelRio, C.: Phosphoglucomutase: evolution of an enzyme. *Israel J. med. Sci.* **1**, 1173 (1965).
118. Bergmeyer, H. V.: Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie 1962.
119. Harshman, S., Robinson, J. P., Bocchini, V., Najjar, V. A.: Activation of phosphoglucomutase. *Biochemistry* **4**, 396—400 (1965).
120. Zwarenstein, H., Schyff, van der: Inhibition of phosphoglucomutase by citrate. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **26**, 372—375 (1967).
121. Hashimoto, T., Sasaki, H., Yoshikawa, H.: Hormonal control of phosphoglucomutase activity. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **27**, 368—371 (1967).
122. Radam, G., Strauch, H.: Die Darstellung der Phosphoglucomutase-Varianten. *Ärztl. Lab.* **15**, 7—12 (1969).
123. Fritz, E., Brinkmann, B.: Zum Beweiswert der Phosphoglucomutase im Vaterschaftsverfahren. *Beitr. gerichtl. Med.* **25**, 216—221 (1969).
124. McAlpine, P. J., Hopkinson, D. A., Harris, H.: Molecular size estimates of the human phosphoglucomutase isozymes by gel filtration chromatography. *Ann. hum. Genet.* **34**, 177—185 (1970).
125. — — — Thermostability studies on the isozymes of human phosphoglucomutase. *Ann. hum. Genet.* **34**, 61—71 (1970).
126. Monn, E.: Human red cell phosphoglucomutase (PGM) types in Norway. *Hum. Hered.* **19**, 274—282 (1969).
127. Bajatzadeh, M., Walter, H., Palsson, J.: Phosphoglucomutase (EC 2.7.5.1.) and adenylate kinase (EC 2.7.4.3.) typings in Koreans and Irish. *Hum. Genet.* **7**, 353—355 (1969).
128. Renninger, W., Spielmann, W.: Beitrag zur Genetik der Erythrocyten-Phosphoglucomutase. *Hum. Genet.* **8**, 64—66 (1969).
129. Büttler, R.: Frequenzen der Phosphoglucomutase. *Tagg. Ges. forens. Blutgruppenkunde*, Travemünde 1969.
130. Herbich, J., Pesendorfer, F.: Anwendung des Enzymsystems der Erythrocyten-Phosphoglucomutase bei der Vaterschaftsbegutachtung. *Wien. klin. Wschr.* **38**, 661—667 (1969).
131. Modiano, G.: *Atti Ass. Genet. Ital.* **13**, 104—106 (1968).
132. Lie-Injo, L. E., Lopez, C. E., Poey-Oey-Hoey, G.: Erythrocyte and leucocyte phosphoglucomutase in chinese. *Amer. J. hum. Genet.* **20**, 101 (1968).
133. Monn, E.: Red cell phosphoglucomutase (PGM) types of norwegian lapps (characteristic gene frequencies and variant types). *Hum. Hered.* **19**, 264—273 (1969).
134. Wille, B., Schmidt, E., Ritter, H.: Population genetics of red cell phosphoglucomutase (EC 2.7.5.1.): gene frequencies in southwestern Germany. *Hum. Genet.* **5**, 271—273 (1968).
135. Mourant, A. E., Tills, D.: Phosphoglucomutase frequencies in habbanite jews and Icelanders. *Nature* (Lond.) **214**, 810 (1967).
136. Brewer, G. J., Bowbeer, D. R., Tashian, R. E.: The electrophoretic phenotypes of red cell phosphoglucomutase, adenylate kinase and acid phosphatase in the american negro. *Acta genet.* (Basel) **17**, 97—103 (1967).



137. Wille, B., Schmidt, E., Ritter, H.: Zur formalen Genetik der Phosphoglucomutasen (EC: 2.7.5.1.); Untersuchung von 366 Familien. *Hum. Genet.* 8, 67—68 (1969).
138. Monn, E.: Genetics of the phosphoglucomutase (PGM) system of human red cells. *Hum. Hered.* 19, 365—374 (1969).
139. Renninger, W.: Isozymmuster der Phosphoglucomutase der menschlichen Thrombocyten (Thr.-PGM<sub>1</sub>). *Hum. Genet.* 8, 255—257 (1969).
140. Arndt-Hanser, A.: Frequenzen der Phosphoglucomutase. *Tagg. Ges. forens. Blutgruppenkunde Travemünde* 1969.
141. Wraxall, B., Culliford, B.: A thin-layer starch gel method for enzyme typing of bloodstains. *J. forensic Sci. Soc.* 8, 81—82 (1968).
142. Culliford, B.: The determination of phosphoglucomutase types in bloodstains. *J. forensic Sci. Soc.* 7, 131—133 (1967).
143. Brinkmann, B.: Bestimmung der Phosphoglucomutase-Typen aus Blutspuren. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 66, 31—34 (1969).
144. Fildes, R. A., Parr, C. W.: Human red cell phosphogluconate dehydrogenases. *Nature (Lond.)* 200, 890—891 (1963).
145. Bowman, J. E., Carson, P. E., Frischer, H., Garay, A. L.: Genetics of starch-gel electrophoretic variants of human 6-PGD: population and family studies in the United States and in Mexico. *Nature (Lond.)* 210, 811—813 (1966).
146. Parr, C. W., Fitch, L. I.: Inherited quantitative variations of human phosphogluconate dehydrogenase. *Ann. hum. Genet.* 30, 339—350 (1967).
147. Ritter, H., Baitsch, H., Wolf, U.: Zur formalen Genetik von Isoenzymen, dargestellt am Beispiel der 6-PGD (EC: 1.1.1.44). *Hum. Genet.* 7, 1—4 (1969).
148. Ropers, H., Op't Hof, J.: On the genetic interpretation of the 6-phosphogluconate-dehydrogenase-isozymes in man. *Vox Sang. (Basel)* 18, 244—250 (1970).
149. Carter, N. D., Fildes, R. A., Fitch, L. I., Parr, C. W.: Genetically determined electrophoretic variations of human phosphogluconate dehydrogenase. *Acta genet. (Basel)* 18, 109—122 (1968).
150. Parr, C. W.: Erythrocyte phosphogluconate dehydrogenase Polymorphism. *Nature (Lond.)* 210, 487—489 (1966).
151. Tariverdian, G., Ropers, H., Op't Hof, J., Ritter, H.: Zur Genetik der 6-Phosphogluconatdehydrogenase (EC: 1.1.1.44): Eine neue Variante F (Freiburg). *Hum. Genet.* 10, 355—357 (1970).
152. Blake, N. M., Kirk, R. L.: New genetic variant of 6-phosphogluconate dehydrogenase in Australien aborigines *Nature (Lond.)* 221, 278 (1969).
153. Smerling, M.: Phosphogluconat-Dehydrogenase (PGD). Stichprobe aus der Berliner Bevölkerung. *Z. Rechtsmedizin* 68, 20—26 (1971).
154. Davidson, R. G.: Electrophoretic variants of human 6-phosphogluconate dehydrogenase: population and family studies and description of a new variant. *Ann. hum. Genet.* 30, 355—360 (1967).
155. Parr, C. W.: Persönliche Mitteilung: zit. nach Smerling [153].
156. — Fitch, L. I.: Hereditary partial deficiency of human erythrocyte phosphogluconate dehydrogenase. *Biochem. J.* 93, 28C—30C (1964).
157. Dern, R. J., Brewer, G. J., Tashian, R. E., Shows, T. B.: Hereditary variation of erythrocytic 6-phosphogluconate dehydrogenase. *J. Lab. clin. Med.* 67, 255—264 (1966).
158. Carter, N. D., Gould, S. R., Parr, C. W., Walter, P. H.: Differential inhibition of human red cell phosphogluconate-dehydrogenase variants. *Biochem. J.* 97, 17—18P (1966).
159. Parr, C. W., Parr, B.: Stability differences of inherited variants of human red cell phosphogluconate dehydrogenase. *Biochem. J.* 97, 16P (1966).
160. Kazazian, H. H. Jr.: Molecular size studies on 6-phosphogluconate dehydrogenase. *Nature (Lond.)* 212, 197—198 (1966).
161. Op't Hof, J., Wolf, U., Ritter, H.: Zur Populationsgenetik der 6-Phosphogluconat-dehydrogenasen (EC: 1.1.1.44): Genhäufigkeit in einer südwestdeutschen Stichprobe. *Hum. Genet.* 6, 338—339 (1968).
162. Gordon, H., Keraan, M. M., Vooijs, M.: Variants of 6-phosphogluconate dehydrogenase within a community. *Nature (Lond.)* 214, 466—467 (1967).

163. Shih, L.-Y., Hsia, 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).
164. Azevedo, E. S.: Adenylate kinase and phosphogluconate dehydrogenase polymorphisms in northeastern Brazil. *Amer. J. hum. Genet.* **21**, 1—6 (1970).
165. Ropers, H., Ritter, H.: Zur formalen Genetik der 6-Phosphogluconatdehydrogenasen (EC: 1.1.1.44), Untersuchung von 220 Familien. *Hum. Genet.* **8**, 69—70 (1969).
166. Brinkmann, B., Thoma, G.: Forensische Verwertbarkeit weiterer Enzym polymorphismen: Adenylatkinase, 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase und Adenosin-Deaminase. *Beitr. gerichtl. Med.* **29**, (im Druck).
167. — Dirks, J., Koops, E.: Identification and demonstration of three enzyme polymorphisms from blood stains by simultaneous electrophoresis. (In Vorbereitung.)
168. Spencer, N., Hopkinson, D. A., Harris, H.: Adenosine deaminase polymorphism in man. *Ann. hum. Genet.* **32**, 9—14 (1968).
169. Hopkinson, D. A., Cook, P. J. L., Harris, H.: Further data on the adenosine deaminase (ADA) Polymorphism and a report of a new phenotype. *Ann. hum. Genet.* **32**, 361—367 (1969).
170. Dissing, J., Knudsen, J. B.: A new red cell adenosine deaminase phenotype in man. *Hum. Hered.* **19**, 375—377 (1969).
171. Dettler, J. C., Stamatojannopoulos, G., Giblett, E. R., Motulsky, A. G.: Adenosine deaminase: racial distribution and report of a new phenotype. *J. med. Genet.* **7**, 356—357 (1970).
172. Renninger, W., Bimboese, Ch.: Zur Genetik der Erythrocyten-Adenosindesaminase. *Hum. Genet.* **9**, 34—37 (1970).
173. — — Adenosindesaminase-Isoenzym system. *Ärztl. Lab.* **16**, 139—143 (1970).
174. Sonneborn, H.-H., Renninger, W.: Bestimmung der Adenosindesaminase- Isoenzyme mittels Celluloseacetat folien-Elektrophorese. *Ärztl. Lab.* **16**, 291—294 (1970).
175. Hopkinson, D. A., Harris, H.: The investigation of reactive sulphhydryls in enzymes and their variants by starch gel electrophoresis. *Studies on red cell adenosine deaminase. Ann. hum. Genet.* **33**, 81—87 (1969).
176. Lefevre, H., Niebuhr, R.: Polymorphismus der Adenosindesaminase (Untersuchung an einer Stichprobe aus der Berliner Bevölkerung). *Hum. Genet.* **10**, 88—90 (1970).
177. Tariwerdian, G., Ritter, H.: Population genetics of adenosine deaminase (EC: 3.5.4.4): gene frequencies in southwestern Germany. *Hum. Genet.* **7**, 179 (1969).
178. Scozzari, R., Santolamazza, C.: Studies on the red cell adenosine deaminase polymorphism in Rome. *Hum. Genet.* **8**, 364—365 (1970).
179. Tariwerdian, G., Ritter, H.: Adenosine deaminase polymorphism (EC: 3.5.4.4): formal genetics and linkage relations. *Hum. Genet.* **7**, 176—178 (1969).
180. Dissing, J., Knudsen, J. B.: Human erythrocyte adenosine deaminase polymorphism in Denmark. *Hum. Hered.* **20**, 178—181 (1970).
181. Todd, J. K., Bell, J. L., Baron, D. N.: Assay and distribution of adenylate kinase in human tissues. *Biochem. J.* **90**, 7P—8P (1964).
182. Fildes, R. A., Harris, H.: Genetically determined variation of adenylate kinase in man. *Nature (Lond.)* **209**, 261—263 (1966).
183. 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).
184. Radam, G., Strauch, H.: Populationsgenetik der Adenylatkinase (EC: 2.7.4.3.) *Hum. Genet.* **6**, 90—92 (1968).
185. — — Ein sehr seltener Phänotyp im Isoenzym system der Adenylatkinase des Menschen: AK 3-2. *Hum. Genet.* **11**, 264—265 (1971).
186. Rapley, S., Robson, E. B., Harris, H.: Data on the incidence, segregation and linkage relations of the adenylate kinase (AK) polymorphism. *Ann. hum. Genet.* **31**, 237—242 (1967).
187. Szeinberg, A., Gavendo, S., Cahane, D.: Erythrocyte adenylate-kinase deficiency. *Lancet* **1969I**, 315—316.
188. — Kahana, D., Gavendo, S., Zaidman, J., Ben-Ezzer, J.: Hereditary deficiency of adenylate kinase in red blood cells. *Acta haemat. (Basel)* **42**, 111—126 (1969).

189. Radam, G., Strauch, H.: Bestimmung der Adenylatkinase-Varianten beim Menschen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **63**, 166—170 (1968).
190. Oepen, I., Dure, V.: Dünnschicht-Stärkegel-Elektrophorese zur Bestimmung der Adenylatkinasetypen an Blutspuren. Ärztl. Lab. **16**, 383—387 (1970).
191. Dixon, M., Webb, E. C.: Enzymes. New York: Academic Press 1964.
192. Berg, K.: Genetic studies of the adenylate kinase (AK) polymorphism. Hum. Hered. **19**, 239—248 (1969).
193. Böckelmann, W., Wolf, V., Ritter, H.: Polymorphism of the phosphotransferase adenylate kinase and pyruvate kinase. Existence of a common subunit? Hum. Genet. **6**, 78—83 (1968).
194. Brock, J. H.: Evidence against a common subunit in Adenylate kinase and pyruvate kinase. Hum. Genet. **10**, 30—34 (1970).
195. Modiano, G., Scozzari, R., Gigliani, F., Santolamazza, C., Spennati, G. F., Saini, P.: Enzyme activity in two red cell adenylate kinase phenotypes. Amer. J. hum. Genet. **22**, 292—297 (1970).
196. Böckelmann, W., Ritter, H.: Tissue variability of the phosphotransferases adenylate kinase (EC 2.7.4.3.) and pyruvate kinase (EC 2.7.1.40) Hum. Genet. **6**, 373—376 (1968).
197. Mayr, W. R., Pausch, V.: Die Adenylatkinasegruppen (Verteilung in Wien und Anwendung in der Paternitätsserologie). Ärztl. Lab. **16**, 53—54 (1970).
198. Modiano, G., Scozzari, R., Gigliani, F., Santolamazza, C., Frattaroli, W.: Gene frequencies of adenylatekinase polymorphism in the roman population Hum. Genet. **8**, 253—254 (1969).
199. — — — Filippi, G., Latte, B.: Studies on red cell phosphoglucomutase and adenylate kinase polymorphisms in Sardinia. Acc. Naz. Lincei **42**, 906—915 (1967).
200. Wille, B., Ritter, H.: Zur Populationsgenetik der Adenylatkinase: Genhäufigkeit in einer südwestdeutschen Stichprobe. Hum. Genet. **5**, 278—280 (1968).
201. Brinkmann, B., Bahmann, M., Thoma, G.: Der Polymorphismus der Adenylatkinase (EC 2.7.4.3) Genfrequenzen und Anwendbarkeit in der forensischen Serologie. Z. Rechtsmed. **68**, 73—78 (1971).
202. Culliford, B. J., Wraxall, B. G. D.: Adenylate kinase (AK) types in bloodstains. J. forensic Sci. Soc. **8**, 79—80 (1968).
203. Hopkinson, D. A., Corney, G., Cook, P. J. L., Robson, E. B.: Genetically determined electrophoretic variants of human red cell NADH diaphorase. Ann. hum. Genet. **34**, 1—10 (1970).
204. Edwards, Y., Hopkinson, D. A., Harris, H.: Inherited variants of human nucleoside phosphorylase. Ann. hum. Genet. **34**, 395—408 (1971).
205. Chen, S.-H., Giblett, E. R.: Polymorphism of soluble glutamic-pyruvic-transaminase: A new genetic marker in man. Science **173**, 148—149 (1971).

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