

Nachweis von Esterase D (EsD) und Glyoxalase I (GLO) an menschlichen Haarwurzeln mittels Agarosegel-Dünnschichtelektrophorese*

A. Gertler und T. Nagai

Institut für Gerichtliche Medizin des Bereichs Medizin (Charité) der Humboldt-Universität Berlin,
Hannoversche Str. 6, DDR-1040 Berlin

Examination of Esterase D (EsD) and Glyoxalase I in Human Hair Roots

Summary. The authors describe the examination of esterase D and glyoxalase I in human hair roots that showed evidence also in using a single hair root.

Key words: Esterase D, in human hair roots – Glyoxalase I, in human hair roots

Zusammenfassung. Esterase D und Glyoxalase I sind mittels Agarosegel-Dünnschichtelektrophorese an Haarwurzeln zweifelsfrei nachweisbar. Die Darstellung gelingt auch am Einzelhaar.

Schlüsselwörter: Esterase D, in Haaren – Glyoxalase I, in Haaren

Einleitung

In den letzten Jahren konnten zahlreiche Enzyme an menschlichen Haaren nachgewiesen werden, so die Adenylatkinase (AK), die Phosphoglukomutase (PGM), die 6-Phosphoglukonat-Dehydrogenase (6-PGD), die Adenosindesaminase (ADA), die Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PD), die Phosphohexose-Isomerase (PHI) (Literatur in Burgess und Twibell 1979; Oepen et al. 1981), weiterhin die Alkoholdehydrogenase (ADH) und die Aldehyddehydrogenase (ALDH) (Goedde et al. 1980) sowie die Glyoxalase I (GLO) (Burgess und Twibell 1979). Über die Nachweisbarkeit der Esterase D (EsD) liegen unterschiedliche Mitteilungen vor: Während Yoshida et al. (1979) den Enzymnachweis an Haarwurzeln führte, kamen Twibell und Whitehead (1978) und Oepen et al. (1981) mit anderer Technik zu negativen Resultaten.

Die Autoren untersuchten beide Enzyme mit Hilfe der Agarosegel-Dünnschichtelektrophorese.

* Herrn Prof. Dr. F. Schleyer zum 70. Geburtstag gewidmet

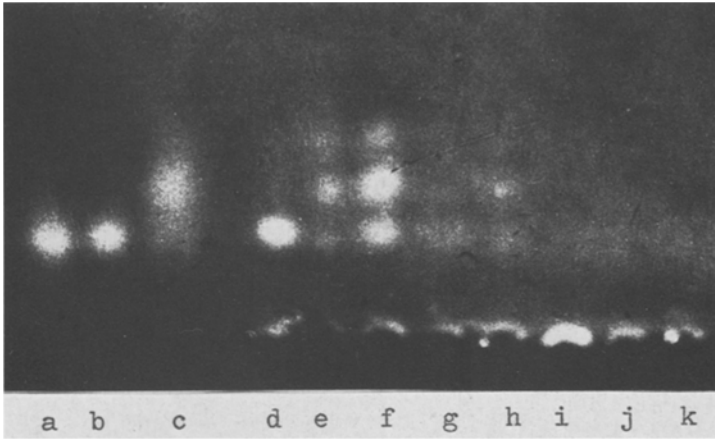


Abb. 1a-k. Darstellung der Esterase D an Lysaten (20 Haarwurzeln). a-c Positivkontrollen (Hämolyse); d-f Haare von Lebenden; g-k Leichenhaare: g = 3 h alt (EsD 2-1), h = 1 d alt (EsD 2-1), i = 4 d alt (EsD 1), j = 6 d alt (EsD 1), k = 13 d alt (EsD 1)

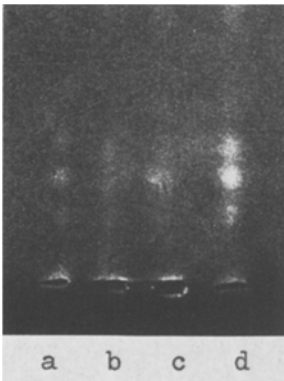


Abb. 2a-d. Darstellung der Esterase D an Haarwurzeln unmittelbar. a Einzelhaar, in den Impfschlitz verbracht (lebendes Individuum, EsD 2-1); b-d Haarwurzeln derselben Person, in Filterpapier in den Impfschlitz verbracht: b = eine, c = zwei, d = drei Haarwurzeln

Material und Methoden

Es wurden die Haarwurzeln menschlicher Kopfhare von 15 Lebenden und 8 Leichen (Deutsche, Berlin) untersucht. Folgende Präparationsmethoden wurden angewandt:

1. Sofort nach Epilation wurden jeweils 20 vollständig erhaltene Haarwurzeln zu 0,1 ml Aqua dest. in ein Polystyrolröhrchen gegeben, anschließend erfolgte dreimaliges alternierendes Einfrieren und Auftauen.

2. Eine, zwei bzw. drei Haarwurzeln jedes Individuums wurden in ein gefalztes Filterpapierstückchen (FN 1) eingelegt, kurz in Flüssigstickstoff verbracht und danach mit einem kleinen Hammer geklopft.

3. Eine einzelne unbehandelte Haarwurzel jedes Individuums wurde unmittelbar in einen Impfschlitz im Gel verbracht.

Die elektrophoretische Auftrennung der Proben erfolgte in einprozentigem Agarosegel (modifiziert nach Martin und Ott 1975). Die Enzymdarstellung folgte für EsD und GLO der Technik von Kühnl et al. (1977). Als Positivkontrollen wurden Hämolyse mitgeführt.

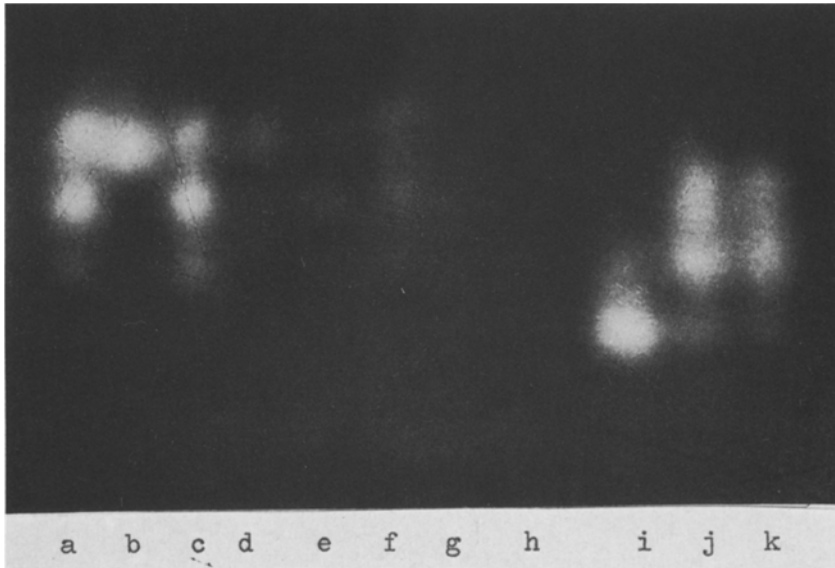


Abb. 3a-k. Darstellung der Glyoxalase I an Lysaten (20 Haarwurzeln). a-c Haare von Lebenden; d-h Leichenhaare: d = 3 h alt, e = 1 d alt, f = 4 d alt (alle GLO 2-1), g und h nicht ablesbar (Leichenalter 6 und 13 d); i-k Positivkontrollen (Hämolysate)

Ergebnisse und Diskussion

Sowohl Esterase D als auch Glyoxalase I waren an Haarwurzeln Lebender und Verstorbener nachweisbar. Bei Verwendung von Lysaten von 20 Haarwurzeln war die Intensität der Spots nur wenig schwächer als die der Hämolysate, wenn Haare Lebender untersucht wurden (vgl. Abb. 1 und 3), bei Leichenhaaren wurde die Intensität mit zunehmender Liegezeit deutlich schwächer. Weitere Untersuchungen an einer geringeren Anzahl von Haarwurzeln zeigten, daß für eine hinreichend exakte Ablesbarkeit mindestens zehn frische Haare erforderlich sind.

Bei kombinierter kryothermischer und mechanischer Zerstörung der Haarwurzeln konnten bereits an einem Haar Enzymspots nachgewiesen werden, die Darstellung gelang jedoch am besten bei Einbringen eines unbehandelten Haares unmittelbar in den Impfschlitz (s. Abb. 2).

Die Tatsache, daß bereits am Einzelhaar der Nachweis von EsD und GLO gelingt, favorisiert — unter Berücksichtigung der kurzen Untersuchungszeit von insges. 3 h bei Verwendung der Agarosegel-Dünnschichtelektrophorese — die Anwendung dieser Methode für spurenkundliche Fragestellungen.

Literatur

- Burgess RM, Twibell J (1979) The typing of human hair sheath cells in the glyoxalase system using cellogel membranes. *J Forensic Sci Soc* 19:283
 Goedde HW, Agarwal DP, Harada S (1980) Genetic studies on alcohol-metabolizing enzymes: Detection of isozymes in human hair roots. *Enzyme* 25:281

- Kühnl P, Schwabenland R, Spielmann W (1977) Investigation on the polymorphism of glyoxalase I (E.C. 4.4.1.5) in the population of Hessen, Germany. *Hum Genet* 38:99
- Martin W, Ott A (1975) Glyoxalase I — Darstellung in der Agarosegel-Dünnschichtelektrophorese und Genfrequenzen in Berlin (West). Vortrag auf der 6. Internationalen Tagung der Gesellschaft für forensische Blutgruppenkunde e.V. Innsbruck, 1.–5. Oktober 1975
- Oepen I, Wirtz M, Häuser E (1981) Zum Typennachweis der Phosphoglukomutase₁ (PGM₁) und der Esterase D (EsD) an Wurzeln von menschlichen Kopf-, Achsel- und Schamhaaren. Otto Prokop zum 60. Geburtstag. Festschrift. *Fresenius Z Anal Chem* 105
- Twibell J, Whitehead PH (1978) Enzyme typing of human hair roots. *J Forensic Sci* 23:356
- Yoshida H, Abe T, Nakamura F (1979) Studies on the frequencies of PGM₁, PGM₃ and Es-D types from hair roots in Japanese subjects and the determination of these types from old hair roots. *Forensic Sci Int* 14:1

Eingegangen am 6. Juli 1982