

Zur forensischen Anwendung des Polymorphismus des Gerinnungsfaktors XIII B

Ch. Pytlik, A. Gansz und B. Brinkmann

Institut für Rechtsmedizin der Universität Münster,
Von-Esmarch-Straße 86, D-4400 Münster, Bundesrepublik Deutschland

Forensic Application of the Polymorphism of Coagulation Factor XIII B

Summary. Gene frequencies of coagulation factor XIII B polymorphism were determined in a random population sample of east Westphalia ($n = 417$). Furthermore, mendelian inheritance of alleles was examined in 60 families. Determinations were made after treatment of serum samples with neuraminidase by immunofixation on agarose gels. All six phenotypes were observed in our population sample. The gene frequencies were: $FXIII B^1 = 0.71$, $FXIII B^2 = 0.11$, $FXIII B^3 = 0.18$. The family data confirm the hypothesis of autosomal inheritance of three common alleles and disprove the two-allele model of Kera et al. [5].

Key words: FXIII B polymorphism, agarose electrophoresis – Blood groups, factor XIII B

Zusammenfassung. Die Gen-Frequenzen des Polymorphismus des Gerinnungsfaktors XIII B wurden in einer Bevölkerungsstichprobe von Ost-Westfalen bestimmt ($n = 417$). Zusätzlich wurde der Erbgang der Allele in 60 Familien untersucht. – Die Bestimmungen wurden nach Behandlung der Serumproben mit Neuraminidase durchgeführt, ferner durch die Methode der Immunofixation auf Agarosegelen. Alle 6 Phänotypen wurden in unserer Bevölkerungsstichprobe beobachtet. Die Genfrequenzen waren: $FXIII B^1 = 0,71$, $FXIII B^2 = 0,11$, $FXIII B^3 = 0,18$. – Die Familiendaten bestätigen die Hypothese des autosomalen Erbgangs dreier Allelen und widersprechen dem Zwei-Allelen-Modell von Kera et al. [5].

Schlüsselwörter: FXIII B-Polymorphismus, Agarosegel-Elektrophorese – Blutgruppen, Faktor XIII B

Der Gerinnungsfaktor XIII liegt im Plasma als ein komplexes Molekül vor, das aus zwei identischen A-Untereinheiten (Mg jeweils 75000) und 2 identischen B-

Sonderdruckanfragen an: Ch. Pytlik (Adresse siehe oben)

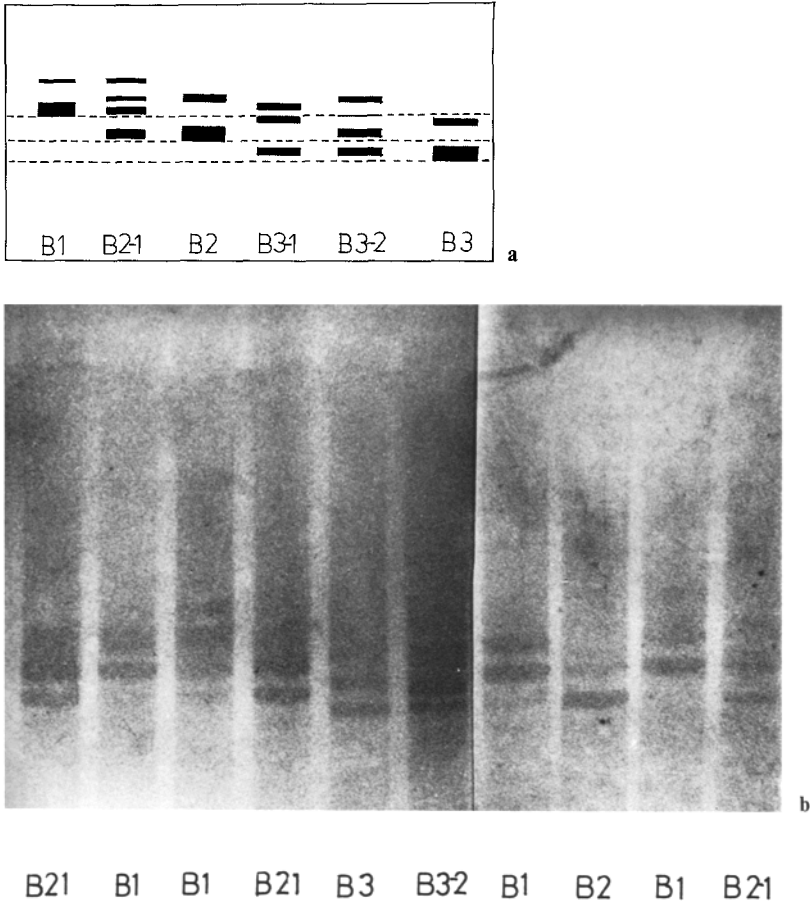


Abb. 1a, b

Untereinheiten (Mg 88000) besteht [7]. Die B-Untereinheit ist dabei Trägerprotein für die enzymatisch aktive A-Untereinheit [4, 8]. – Ein genetischer Polymorphismus des Faktors B wurde erstmals von Board (1980) mittels Agarose-Immunofixations-Elektrophorese beschrieben. Der Autor fand fünf Phänotypen und postulierte ein zugrundeliegendes 3-Allelenmodell sowie einen autosomal-kodominanten Erbgang [3]. Aber erst 1982 gelang Kreckel und Kühnl die Darstellung aller sechs Phänotypen. Erstmals wurde der homozygote Typ XIII B2 unter 178 Blutspendern nachgewiesen [6]. Kera und Mitarbeiter (1981), welche eine abweichende Nomenklatur verwenden, postulieren hingegen ein 2-Allelen-Modell (vgl. Abb. 1a und Tabelle 1). – Zur Biochemie und zum Polymorphismus des Faktors XIII A siehe auch Rittner und Wolf (1984).

Neueste Untersuchungen geben Hinweise auf die Existenz zusätzlicher seltener FXIII B-Allele. So fand Kühnl unter 64 Phänotypen 2-1 dreimal den Phänotyp 4-1, bei dem die 4er Bande einen engeren „Korridor“ zur 1er-Bande bildet. Mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung konnte er ferner weitere Phänotypen bis zu 6-1 differenzieren. Diese Subtypen sind allerdings bei

Tabelle 1. Das 2 Allelen- und das 3 Allelen-Modell des Blutgruppenfaktors XIII B

Board (1980)	Kera et al. (1981)	
1	F ₃	
2-1	F ₁ of F ₂	F
3-1	FS	
2	S ₃	
3-2	S ₂	S
3	S ₁	

Europiden nicht polymorph (Kühnl, persönliche Mitteilung). Vorliegende Untersuchungen sollten dazu dienen, das bisher vorliegende, nicht allzu umfangreiche Datenmaterial zur Populations- und Formagenetik zu erweitern und neben Fragen des Genmodells – der forensischen Anwendbarkeit nachzugehen.

Materialien und Methodik

Plasma von 417, nicht miteinander verwandten Spendern und von 60 Familien aus dem ostwestfälischen Raum wurde verwendet. Für die Auftrennung des mit Neuraminidase behandelten Plasmas (10U/ml; 2 Teile Plasma + 1 Teil Neuraminidase) wurde ein diskontinuierliches Puffersystem verwendet [1, 2]: 29mM Lithiumhydroxid (= 0,69g/l) und 191mM Borsäure (= 11,81g/l) für den Brückenpuffer, pH 8,0. Der Gelpuffer setzt sich zusammen aus: 1 Teil Brückenpuffer + 9 Teile eines Tris-Citrat-Puffers (52mM Tris = 6,3g/l und 7,62mM Citronensäure = 1,6g/l). Herstellung des Agarose-Gels wie üblich (1%, „C“-Agarose, Pharmacia). 20 × 20cm Glasplatten wurden vor dem Ausgießen des Gels erwärmt. Applikation der Proben (10ml) erfolgte in 1–1,5cm breite Schlitze. Auftrennung erfolgte bei einer Kühlwassertemperatur von 10°C, bei einer Feldstärke von 30V/cm; die Trenndauer betrug 3h.

Die Immunofixation erfolgte mit einem monospezifischen Anti-Human FXIII B-Antiserum (Clotimmun-Faktor XIII B, Behringwerke AG). Dabei wurden für ca. 10 Proben 0,2ml Antiserum und 0,2ml Aqua dest. gemischt und vom Rande her mit einer Glaspipette auf einer Fläche von 4–11 cm vom Start aus vorsichtig verteilt. Nach 1½–2 h Inkubation bei 37°C wurde das Gel mit Wasser gespült, anschließend gepreßt, über Nacht in physiologischer 0,9%iger NaCl-Lösung gewässert, nochmals gepreßt, getrocknet und schließlich mit Coomassie Blau R 250 für ca. 30 min gefärbt.

Ergebnisse und Diskussion

Die mit Neuraminidase behandelten Proben ließen gegenüber unbehandelten Proben eine deutliche Spreizung der Pherogramme erkennen. Die Homozygoten: 1, 2, 3 zeigten jeweils eine intensive Hauptbande und eine mehr anodenwärts liegende dünnere, nicht so intensive Minorbande. Die Heterozygoten hingegen ließen zwei gleich starke intensive Majorbanden erkennen und entsprachen in der Lage der Banden den korrespondierenden Homozygoten (s. Abb. 1a, b). Als wichtiges Unterscheidungskriterium zwischen den Phänotypen 3-2 und 3 sei darauf hingewiesen, daß beim Typ 3 die Minorbande

Tabelle 2. Häufigkeiten der FXIII B Phänotypen und errechnete Genfrequenzen

	1	2-1	2	3-1	3	3-2	n. Ges.
n (beobachtet)	209	70	1	103	15	19	417
% (beobachtet)	50,12%	16,79%	0,24%	24,70%	3,6%	4,56%	100%
n (erwartet)	209,42	64,51	5,00	107,75	13,84	16,6	17,12
% (erwartet)	50,22%	15,47%	1,2%	25,84%	3,32%	3,98%	100,0%

$$FXIII B 1 = 0,70865 \quad FXIII B 2 = 0,10915 \quad FXIII B 3 = 0,1823$$

Tabelle 3. Familiendaten

Elter × Elter	Familie	Kind					
	n	1	2-1	2	3-1	3-2	3
1 × 1	12	12	–	–	–	–	–
1 × 2-1	10	5	5	–	–	–	–
1 × 2	1	–	1	–	–	–	–
1 × 3-1	16	10	–	–	6	–	–
1 × 3-2	4	–	2	–	2	–	–
1 × 3	3	–	–	–	3	–	–
2-1 × 2-1	1	–	1	–	–	–	–
2-1 × 3-1	6	–	–	–	3	3	–
2-1 × 3	5	–	–	–	5	–	–
3-1 × 3-2	2	–	2	–	–	–	–
Summe	60	27	11	–	19	3	–

1	(F ₃)	× 2	(S ₃)	=	2-1	(F ₁ or F ₃)	Tabelle 4. Folgende Elternkombinationen und jeweilige Phänotypenausprägung der Kinder sind nach Keras Hypothese nicht plausibel
1	(F ₃)	× 3-2	(S ₂)	=	2-1	(F ₁ or F ₃)	
2-1	(F ₁ or F ₃)	× 3-1	(F _S)	=	3-2	(S ₂)	
3-1	(F _S)	× 3-2	(S ₂)	=	2-1	(F ₁ or F ₃)	

über der Majorbande des Typs 2 liegt, aber unter der Majorbande des Typs 1 (asymmetrisch, etwas näher an der 2er-Bande). Der Typ 3-2 liegt hingegen mit seiner weiter kathodenwärts gelegenen Bande unter der Minorbande des Typs 3, korrespondierend zur Majorbande des Typs 2.

In der untersuchten Bevölkerungstichprobe (Tabelle 2) war das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vorhanden. Signifikante Differenzen zwischen beobachteten und erwarteten Zahlen waren nicht festzustellen. Das Defizit beobachteter Phänotypen 2 in Verbindung mit einem Überschuss des Typs 2-1 läßt z. Zt. noch keine Interpretation zu. Sollten sich entsprechende Differenzen bei größeren Stichproben wiederholen bzw. verstärken, so wäre hier an differentialdiagnostische Schwierigkeiten in der Abgrenzung zwischen beiden Typen zu denken.

Tabelle 5. Vergleich populationsgenetischer Daten*

Populationen (Autoren)	n	Allelfrequenzen		
		FXIII B1	FXIII B2	FXIII B3
Australien (Weiße) (Board 1980)	245	0,7469	0,0836	0,1693
Norwegen (Olaisen et al. 1983)	283	0,69	0,15	0,16
Hessen (Kreckel u. Kühnl 1982)	178	0,7080	0,1090	0,1830
Hessen (Kühnl et al. 1983)	236	0,7250	0,0950	0,1800
Süddeutschland (S. Weidinger und H.-J. Leifheit 1983)	156	0,7595	0,0930	0,1475
Nordrhein-Westfalen – Köln (Mauff et al. 1983)	334	0,7290	0,1033	0,1632
Ost-Westfalen – Münster (diese Studie 1984)	417	0,70865	0,10915	0,1823

* Seltene Allele sind aus den einzelnen Studien nicht berücksichtigt

Die untersuchten 60 Familien belegen den autosomal kodominanten Erbgang des Blutgruppenfaktors XIII B (s. Tabelle 3). In vier der zehn unterschiedlichen Elternkombinationen konnte eindeutig die 2-Allelen-Hypothese von Kera [5] anhand der aus der Verbindung hervorgehenden Phänotypenausprägung der Kinder widerlegt werden. Ein Vergleich der 3-Allelen-Hypothese mit Keras Klassifikation in Tabelle 4 mag dies verdeutlichen.

Der Polymorphismus des Faktors XIII B zeichnet sich zusätzlich durch einen hohen Informationswert – allgemeine Vaterschaftsausschlußchance = 23,7% [6] – aus. Das Modell dreier frequenter kodominanter Allele an einem autosomalen Locus scheint nicht nur aufgrund der vorliegenden, sondern auch aufgrund anderer Untersuchungen weitestgehend gesichert. Um höchsten forensischen Ansprüchen zu genügen, ist sicherlich die Untersuchung eines noch größeren Familienmaterials erforderlich. Im Hinblick auf die geringe Effizienz der seltenen Allele erscheint eine weitergehende Subtypisierung in der forensischen Praxis zum jetzigen Zeitpunkt nicht erforderlich.

Literatur

1. Ashton GC, Braden AWH (1961) Serum β -globulin polymorphism in mice. *Aust J Biol Sci* 14:248
2. Board PG (1979) Genetic polymorphism of the A subunit of human coagulation factor XIII. *Am J Hum Genet* 31:116–124
3. Board PG (1980) Genetic polymorphism of the B subunit of human coagulation factor XIII. *Am J Hum Genet* 32:348
4. Curtis CG, Brown KL, Credo RB, Domanik RA, Gray A, Stenberg P, Lorand L (1974) Calcium dependent unmasking of active center cysteine during activation of fibrin stabilizing factor. *Biochemistry* 13:3774–3780

5. Kera Y, Nishimukai H, Yamasawa K (1981) Genetic polymorphism of the B subunit of human coagulation factor XIII: Another classification. *Hum Genet* 59:360–364
6. Kreckel P, Kühnl P (1982) Improved coagulation Factor XIII B (FXIII B) phenotyping after neuraminidase treatment of plasma and first description of the FXIII B 2 phenotype. *Blut* 45:337–345
7. Mauff G, Schilling A, Pulverer G (1983) Coagulation factor XIII: Determination of the genetic polymorphism of subunits B (F13B) by immunoblotting in a west german population sample. 10. *Int Congr Soc Forensic Haemogenetics, München*, pp 453–458
8. Olaisen B, Sieverts A, Gedde-Dahl T, Jonassen R, Teisberg P (1983) Coagulation factor 13A and -B polymorphisms. 10. *Int Congr Soc Forensic Haemogenetics, München*, pp 459–465
9. Rittner C, Wolf T (1984) Zur Populationsgenetik des Gerinnungsfaktors XIII A Polymorphismus. *Z Rechtsmed* 91:225–229
10. Schwartz ML, Pizzo SV, Hill RL, McKee PA (1973) Human coagulation factor XIII from plasma and platelets. *J Biol Chem* 248:1395
11. Schwartz ML, Pizzo SV, Hill RL, McKee PA (1971) The subunit structure of human plasma and platelet factor XIII (fibrin stabilizing factor). *J Biol Chem* 246:5851–5859

Eingegangen am 1. Juni 1984