

## NACHWEIS DES "STUMMEN GEN" PGP<sup>O</sup> AM PHOSPHOGLYCOLAT- PHOSPHATASE-LOCUS

W. Weber

Institut für Blutgruppenforschung Köln  
Olpener Str. 110, D-5000 Köln 91

Der Polymorphismus der Phosphoglycolat-Phosphatase (PGP), wie er von Barker und Hopkinson (1978) beschrieben wurde, besitzt drei Allele, PGP\*1, PGP\*2 und PGP\*3. Nach Gal, Reeders, Waldherr und Schmidt (1986) ist der PGP-Locus auf dem Chromosom 16 (16pter-p11) eng mit dem Gen für die polycystische Nierenerkrankung (PKD1) gekoppelt.

### METHODE

(n. Barker und Hopkinson, 1978 mod. von Martin, 1981)

Gelherstellung: 50 g Toronto-Stärke (Biomol 07378) wird in 30 ml Brückenpuffer und 140 ml Aqua dest. suspendiert, in 250 ml kochendem Aqua dest. eingerührt und auf die Glasplatte (18-22 cm) gegossen.

Brückenpuffer (pH 7,2): 30,0g Tris 20,0g Maleinsäure, 4,0g NaOH ad 2000 ml Aqua dest.

Probenauftrag: 4 cm von der Kathode entfernt werden 2 Schlitzreihen im Abstand von ca. 8 cm gestanzt und 10x8 mm große hämolytatgetränkte Filterpapiere eingelegt.

Elektrophorese: 15 Std. bei 120 V, 30mA in der Desaphor-Kammer bei 4°C.

Färbung: Das Gel wird aufgeschnitten, die untere Hälfte auf eine Glasplatte gelegt und das Overlay daraufgegossen. Es folgt eine Inkubation von ca. 3,5 Std. bei 37°C, dann wird das Overlay entfernt und die Färbelösung auf das Gel verteilt; weitere 30 Min. bei 37°C inkubiert. Die überschüssige Färbelösung wird mit Zellstoff abgenommen.

Overlay (pro Reihe): 150 mg Agarose Seakem ME (FMC 62626), 15 ml Entwicklerpuffer, 50 mg Glycolat-2-Phosphat (BM 127167).

Entwicklerpuffer: 6,0g Tris, 05,g MgCl<sub>2</sub>x6 H<sub>2</sub>O, 0,2g NaN<sub>3</sub> ad 500 ml Aqua dest. (mit 10% HCl pH 7,3 einstellen).

Färbelösung: 60 mg Ammoniummolybdat in 5 ml 4 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> lösen, 75 mg Ascorbinsäure zugeben.

### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Abb.1 zeigt die Trennung von 5 PGP-Phänotypen im Stärkekegel und die Abb.2 die schematische Darstellung aller bisher beobachteten Phänotypen. Die einzige Beobachtung einer Variante stammt von Henke et al. (1985) bei einer indonesischen Frau und ihrem Kind. Die Variante wurde vorläufig mit PGP 1-Sumatra bezeichnet, wobei das variante Isoenzym anodisch von dem des normalen PGP 1 gelegen ist.

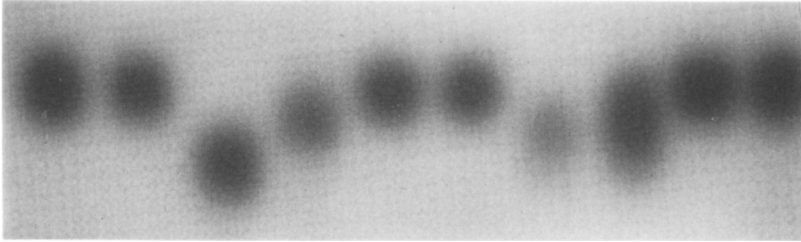


Abb. 1 PGP Phänotypen im Stärkegel  
 von li. n. re.: PGP 1-1 1-1 2-2 3-3 1-1 1-1 3-2 2-1 1-1 1-1

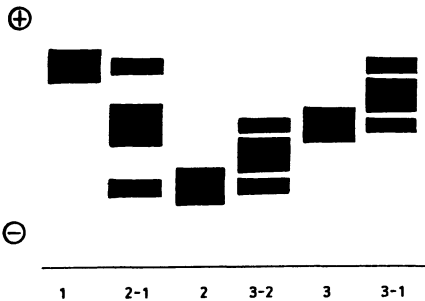


Abb. 2  
 Schematische Darstellung  
 der bisher beobachteten  
 PGP-Phänotypen  
 (n. Barker u. Hopkinson)

Bei einem 13-jährigen deutschen Mädchen (Proposita), das anamnestisch und klinisch unauffällig war, beobachteten wir ein ungewöhnliches Zymogramm. Wie aus Pos.6 der Abb.3 ersichtlich, handelt es sich um ein PGP 3 mit sehr starker Verminderung der Enzymaktivität. In Pos.7 befindet sich eine reinerbige Kontrolle PGP 3-3. Die daraufhin durchgeführten Familienuntersuchungen ergaben bei der Kindesmutter (Pos.5) eine noch stärkere Reduktion der Aktivität des Typs PGP 1, sodaß eine scheinbare Unverträglichkeit zwischen Mutter und Kind gegeben war. Weitere schwache PGP 1-Isoenzyme konnten wir bei der Großmutter (Pos.4) und bei einem Onkel (Pos.11) feststellen. Die Verhältnisse werden durch die reinerbigen PGP 1-1 Kontrollen in Pos. 1-3 bzw. 8-10 deutlich.

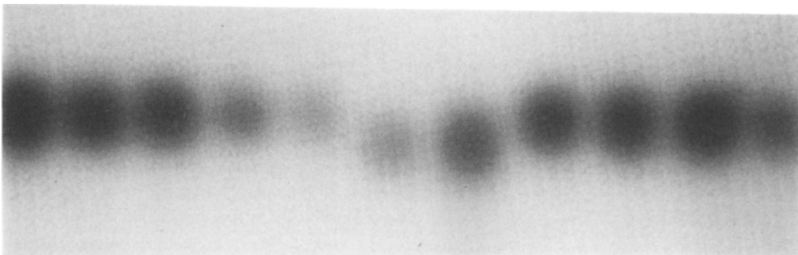


Abb. 3 PGP<sup>O</sup>-Blute  
 Pos.1-3 und 8-10 1-1 Kontrolle  
 Pos.4,5 und 11 PGP 1-0 (Großmutter, Mutter, Onkel)  
 Pos. 6 PGP 3-0 (Proposita)

Die Abb.4 zeigt das Ergebnis der semiquantitativen Untersuchungen der auf Hgb eingestellten Proben; in Pos.1 und 2 die Kindesmutter, in Pos.3 und 4 das Kind, jeweils mit einfacher und doppelter Dosis. In Pos.5 und 6 unverdünnte PGP 1-1 und in Pos. 7,8 und 9 unverdünnte PGP 2-2, 3-2 und 2-1 Typen.

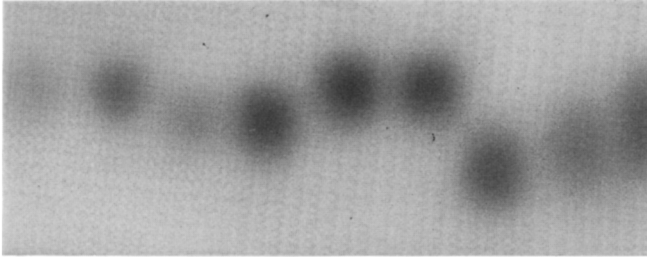


Abb. 4 Dosisuntersuchungen  
 Pos.1 und 2 1-0 einfach 1-0 zweifach (Mutter)  
 Pos.3 und 4 3-0 einfach 3-0 zweifach (Proposita)  
 Pos.5-9 1-1 2-2 3-2 und 2-1 Kontrollen

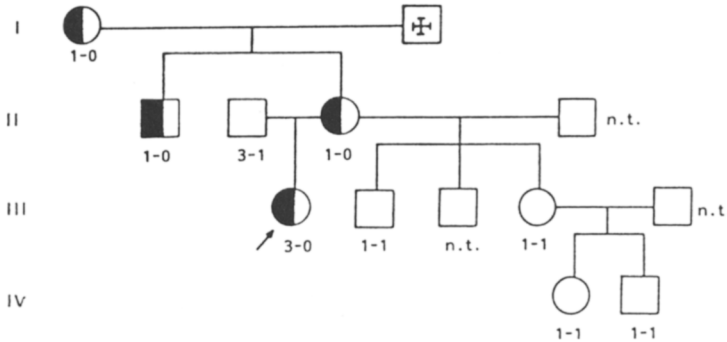


Abb. 5  
 Stammbaum der  
 Familie M.

Nach unserer Kenntnis gibt es noch keine quantitative Untersuchungsmethode zur Differenzierung der phänotypischen Expression der PGP-Allele. Aufgrund der geschilderten Ergebnisse gehen wir jedoch davon aus, daß in der Familie M das "stumme Gen" PGPO in drei Generationen segregiert.

Phänotyp	beobachtet		erwartet	
	n	%	n	%
1	3660	73,20	3645	72,90
2-1	867	17,34	888	17,76
2	59	1,18	54	1,08
3-1	351	7,02	360	7,21
3-2	55	1,10	44	0,88
3	8	0,16	9	0,18
total	5000	100,00	5000	100,01

Genfrequenzen: PGP<sup>1</sup> = 0.8538       $\chi^2 = 0,0582298$ ; 0,99 < P(df=3)  
 PGP<sup>2</sup> = 0.1040      AVACH = 12,15 %  
 PGP<sup>3</sup> = 0.0422

Die Tab.1 zeigt die Phänotyp- und Genfrequenzen aus dem westdeutschen Raum (NRW) aufgrund der Untersuchung von 5000 nichtverwandten Erwachsenen. Die isolierte Vaterschaftsausschlußchance beträgt für das PGP-System 12,15 %.

Tab. 1 PGP-Phänotypen in Nordrhein-Westfalen

Km	Kd	1	2-1	2	3-1	3-2	3
1		1406	153		65		
2-1		159	173	12	6	11	
2			38				
3-1		65	9		67	8	5
3-2			7	2	10	1	2
3					1		
total		1630	380	14	149	20	7

Die Tab.2 gibt Auskunft über 2200 Mutter-Kind-Paare. Die Zahl der "kritischen" Mutter/Kind-Verbindungen beträgt 1663. Danach dürfte international die Mindestzahl von 2200 "kritischen" Mutter/Kind-Paaren (Nullergebnisrechnung) für die Sicherheitsgrenze von 99,8 % deutlich überschritten sein, sodaß in der Abstammungsbegutachtung einem Merkmalsausschluß volle Beweiskraft zuzumessen ist.

Tab. 2 2200 Mutter-Kind-Paare

Die Tatsache, daß in Vaterschaftsgutachten das PGP-System rel. selten anzutreffen ist, ist offensichtlich dadurch begründet, daß die Färbemethode keine umschriebenen Enzymspots liefert und die Trennung des homozygoten Typs PGP 1-1 vom Typ PGP 3-1 bei mangelnder Übung oft nicht gelingt.

#### Literatur

1. Barker Rf, Hopkinson DA (1978). Am Hum Genet 42: 143-151
2. Gal A, Zerres K, Reeders ST, Waldherr R, Hogenkamp T, Schmidt W, Uhlhaas S, Davies KE, Propping P (1986). Poster-Session 7. Intern. Congress of Human Genetics Berlin
3. Henke J, Schweitzer H, Sachs V (1985). HumGenet 70: 86
4. Christoph HJ, Brinkmann B (1984). Z.Rechtsmed 91: 215-223
5. Prokop D, Göhler W(1986). Gustav Fischer Verlag Stuttgart