

RFLP als zusätzliche Systeme in der Abstammungsbegutachtung

E.Liebhardt, J.Teifel-Greding, E.Schuller, E.Tutsch-Bauer und E.Josephi

Prof.Dr.W.Spann, Institut für Rechtsmedizin der Universität München, Frauenlobstr.7a, 8000 München 2

SUMMARY

Four DNA-probes each detecting a two allele MspI-RFLP were used for paternity testing. This resulted in an increased plausibility of paternity in all the four cases tested.

In der Abstammungsbegutachtung werden am Institut für Rechtsmedizin München derzeit 28 Blutgruppensysteme routinemäßig eingesetzt. Wird die von den Unterhaltungsgerichten geforderte Vaterschaftswahrscheinlichkeit $W = 99,75 \%$ nicht erreicht, werden HLA-Merkmale in die Begutachtung einbezogen.

Bei 4 Paternitätsfällen, in denen der geforderte W-Wert erst nach HLA-Typisierung erreicht wurde (Tabelle 1), setzten wir Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP) als zusätzliche Systeme ein.

Tabelle 1. W(%) of cases selected for RFLP-analysis

	W(%) - HLA	W(%) + HLA
Case I	85.00	99.88
II	99.66	99.95
III	99.50	99.99
IV	98.80	99.99

Dazu wurden die in Tabelle 2 aufgelisteten DNA-Sonden verwendet, die uns ausschließlich für wissenschaftliche Untersuchungen überlassen wurden. Die Sonden greifen jeweils einen MspI-RFLP heraus, der in zwei Allelen auftritt. Die Ausschlußchance für einen Nichtvater beträgt bei Kombination der Systeme ca. 50 %. Weitere Charakteristika der Sonden sowie ihre Hersteller sind der Literatur zu entnehmen (Human Gene Mapping Conference 8 1985).

Tabelle 2. DNA-probes used for paternity testing

Probe	Allele	Frequ.	Chance of non-father exclusion (%)
p7G11	1	0.88	9.44
	2	0.12	
pRI2.21	1	0.33	17.22
	2	0.67	
pHF12-2	1	0.65	17.57
	2	0.35	
pCMI37	1	0.50	18.75
	2	0.50	
systems combined			49.80

MATERIAL UND METHODE

Aus den für die HLA-Untersuchungen gewonnenen EDTA-Bluten der Probanden wurden 1 bis 2 ml abgezweigt. Die DNA wurde aus den Lymphozyten nach Inkubation mit 0,5 % SDS und Proteinase K durch mehrmalige Behandlung mit Phenol extrahiert. Für die Spaltung mit dem Restriktionsenzym *MspI* wurden 5 Enzymeinheiten pro μg DNA eingesetzt. Die resultierenden Fragmente wurden elektrophoretisch im Agarose-Gel nach Länge aufgetrennt. Relevante Gel-Bereiche wurden herausgeschnitten, die Fragmente auf eine Nylon-Membran transferiert und mit den radioaktiv markierten DNA-Sonden hybridisiert. Für jede Sonde wurde ein eigener Filter verwendet. Die Filter wurden bei -80°C mit 2 Verstärkerfolien einem Röntgenfilm exponiert.

ERGEBNISSE

In Abb. 1 sind die Resultate der Hybridisierungen dargestellt. Auf jedem der Autoradiogramme sind zwei verschiedene Fragmentbanden zu erkennen. Sie entsprechen jeweils den zwei Allelen des polymorphen DNA-Locus, der durch die betreffende Sonde erkannt wird. Demnach tritt bei Homozygotie nur eine der zwei möglichen Banden auf. Bei Heterozygotie sind beide Banden zu erkennen. Mit keinem der vier verwendeten RFLP-Systeme wurde ein Putativvater ausgeschlossen.

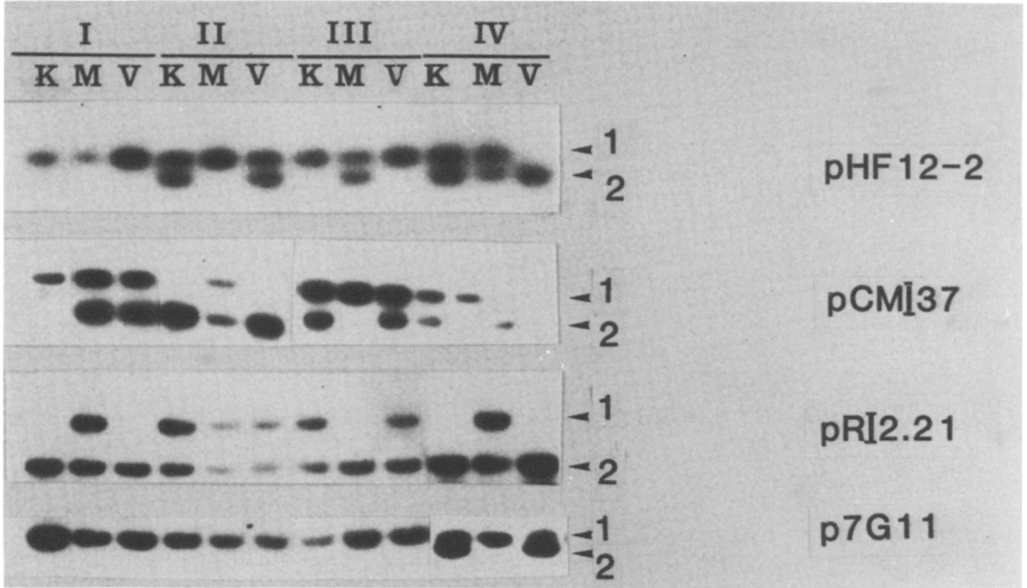


Abb.1. *Msp*I-digested DNAs from members of four cases (I,II,III, IV) of disputed paternity hybridized with DNA probes. K = child, M = mother, V = putative father. Fragment numbers (1,2) indicated by arrows correspond to the allele numbers. The constant band present in hybridization with probe pR12.21 is not shown.

Für jede KMV-Konstellation wurden die EM-Werte ermittelt (Essen-Möller 1938) und in die Berechnung der Vaterschaftswahrscheinlichkeit einbezogen. Die resultierenden W-Werte sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3. Plausibilities of paternity including the RFLP-systems

	W(%) - DNA-probes	W(%) + DNA-probes
Case I	85.00	94.00
II	99.66	99.93
III	99.38	99.70
IV	98.80	99.91

Es zeigte sich, daß bei zwei der vier untersuchten Paternitätsfälle durch den Einsatz der vier RFLP-Systeme die gerichtlicherseits geforderte Vaterschaftswahrscheinlichkeit von $W = 99,75\%$ ohne die Bestimmung der HLA-Merkmale erreicht werden konnte.

LITERATUR

Human Gene Mapping Conference 8: Cytogen. Cell Gen. 40 (1985)
Essen-Möller E (1938) Die Beweiskraft der Ähnlichkeit im Vaterschaftsnachweis; theoretische Grundlagen. Mitt anthrop Ges (Wien) 68:9