

Die Darstellung der Polymorphismen Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT, E. C: 2. 6. 1. 2) und Phosphoglucomutase (PGM₁, E. C: 2. 7. 5. 1) mittels horizontaler Stärkegelelektrophorese in einem Arbeitsgang

STEFFEN GUSSMANN und KAMEL RAMES

Institut für Anthropologie und Humangenetik der Universität München (BRD)

Eingegangen am 5. Januar 1972

Separating the Polymorphous Enzymes Glutamate Pyruvate Transaminase and Phosphoglucomutase by Horizontal Starch Gel Electrophoresis

Summary. A method of horizontal starch gel electrophoresis is described with which it is possible to separate the enzymes GPT and PGM. In a random sample of 289 persons the gene frequencies are as follows: $GPT^1 = 0.512$; $GPT^2 = 0.488$.

Zusammenfassung. Die Auftrennung der Isoenzyme der Glutamat-Pyruvat-Transaminase mittels der horizontalen Stärkegelelektrophorese wird beschrieben. An Hand einer Stichprobe von $N = 298$ berechnen sich die Genfrequenzen $GPT^1 = 0,512$ und $GPT^2 = 0,488$.

Key words: Isoenzym polymorphismus, GPT, PGM, Stärkegelelektrophorese.

Nachdem Chen u. Giblett 1971 der Nachweis mit der vertikalen Stärkegelelektrophorese gelungen ist, daß die Glutamat-Pyruvat-Transaminase einem Polymorphismus unterliegt, hat dieses Enzym auch das Interesse des Humangenetikern auf sich gelenkt. Das System basiert auf der Hypothese zweier Allele: GPT^1 und GPT^2 mit Genfrequenzen bei der weißen Bevölkerung um 50% [1]. Damit handelt es sich um den ersten Enzym polymorphismus, der die beiden dem Erbgangsmodell zugrundeliegenden Allele in der weißen Bevölkerung fast in gleicher Häufigkeit aufweist.

Da uns die Darstellung mittels vertikaler Elektrophorese umständlicher erscheint als die horizontale, möchten wir hier eine Routinemethode beschreiben, mit der die Pherogramme in der waagrechten Stärkegelelektrophorese sich ebenso gut darstellen lassen.

Materialien und Methode

Die Auftrennung gelingt mit der von Spencer et al. [4] beschriebenen Methode zur Darstellung der Isoenzyme der Phosphoglucomutase. Das Gel wird halbiert und auf der einen Hälfte PGM, auf der anderen GPT angefärbt. Zur Auftrennung wird das von Gußmann 1970 [2] beschriebene Gerät verwandt.

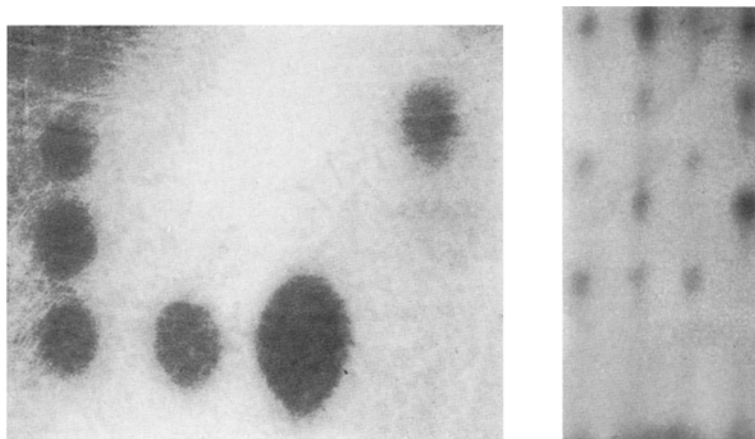


Abb. 1 u. 2. GPT: 2—1 1 1 2; PGM₁: 1 2—1 1 2.
Phänotypen von GPT und PGM₁ aus einem Stärkeblock

Bei der Puffer- und Gelherstellung empfiehlt sich folgendes:

Brückenpuffer: 0,1 M Trishydroxymethylaminomethan, 0,1 M Maleinsäure, 0,01 EDTA II, 0,01 M MgCl₂ mit NaOH auf pH 7,45 einstellen. Gelpuffer: 1:20 verdünnter Brückenpuffer. Elektrophoresedauer: 20 Std bei 4°C im Kühlschrank. Spannungsabfall im Stärkegel: 8 V pro Zentimeter. HämolySATgewinnung: Durch einfaches Einfrieren gewaschener Erythrocyten bis mindestens -20°C und anschließendes Auftauen. Beimpfung: Mit Filterpapier 2727/4 × 4, Schleicher und Schüll. Anfärben: Overlay-Technik, 0,5%iges Agargel in 0,1 M Tris-Citrat-Puffer, pH 7,6. Färbelösung: 50 ml für ein Gel enthalten: 30 mg NADH₂, 850 mg L-Alanin, 60 mg α-Ketoglutarinsäure, 0,1 ml LDH (15368 ELBO, Böhlinger, Mannheim). Inkubationsdauer: 3—5 Std bei 37°C im Brutschrank. Ablesen im UV-Licht.

Abb. 1 und 2 zeigen Enzymogramme von PGM₁ und GPT, wie sie mit dieser Methode erhalten werden. Die Genfrequenzen aus dem Bereich von München liegen bei GPT¹ = 0,512, GPT² = 0,488 (*N* = 289). Sie decken sich fast mit den von Chen u. Giblett mitgeteilten: GPT¹ = 0,496. Allerdings wurde bei der Untersuchung von einigen Stichproben aus dem süddeutschen Raum eine stärker nach oben und unten abweichende Verteilung beobachtet [3]. Dieser Befund soll Anlaß sein, eine populationsgenetische Untersuchung durchzuführen, deren Ergebnis an anderer Stelle mitgeteilt werden soll.

Literatur

1. Chen, Shi Han, Giblett, E. R.: Polymorphism of soluble glutamic-pyruvic transaminase: A new marker in man. *Science* **173**, 148 (1971).
2. Gußmann, St.: Apparatur zur Darstellung der Enzym polymorphismen. *Ärzt. Lab.* **15**, 333 (1969).
3. Gußmann, St.: Populationsgenetische Untersuchung des süddeutschen Raumes mit Hilfe des Systems GPT. (In Vorbereitung.)
4. Spencer, N., Hopkinson, D. A., Harris, H.: Phosphoglucose mutase polymorphism in man. *Nature (Lond.)* **204**, 742 (1964).

Dr. med. vet. Dr. rer. nat. Steffen Gußmann
cand. rer. nat. Kamel Rames
Institut für Anthropologie und Humangenetik
der Universität
D-8000 München 2, Richard-Wagner-Straße 10/I
Deutschland