

medgen 2008 · 20:374–378
 DOI 10.1007/s11825-008-0133-8
 Online publiziert: 29. Oktober 2008
 © Springer Medizin Verlag 2008

T. Liehr

Institut für Humangenetik und Anthropologie, Jena

Vielfarben-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Molekulare Zytogenetik in der heutigen Diagnostik und Forschung

Aus der Zytogenetik (Wissenschaft von den Chromosomen) ist heute die so genannte molekulare Zytogenetik nicht mehr wegzudenken. Dies gilt sowohl für die Forschung in allen Bereichen der Biologie (Zoologie, Botanik, Mikrobiologie, Medizin) als auch für die zytogenetische Diagnostik menschlicher Chromosomen. Die molekulare Zytogenetik arbeitet in erster Linie mit der Technik der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Das Prinzip der FISH-Technik beruht auf der Hybridisierung zweier DNA Moleküle, wobei eines der beiden Moleküle auf einem Objektträger (Ziel-DNA) und das andere markiert und nicht an ein Substrat gebunden sind. Die Entwicklung der molekularen Zytogenetik ist untrennbar mit der der Zytogenetik an menschlichen Chromosomen verbunden. Im Wesentlichen geht es hierbei immer um die Charakterisierung „normaler Chromosomen“ einer bestimmten Spezies, sowie um Abweichungen von dieser Norm – also um chromosomale Umbauten [9].

Widmung. Diese Arbeit ist Herrn Professor Dr. med. Uwe Claussen gewidmet. Insbesondere durch seine jahrelange Unterstützung wurden die dieser Publikation zugrunde liegenden Arbeiten ermöglicht.

Die aus der eigenen Gruppe referierten Arbeiten wurden u. a. durch die Dr. Robert Pflieger-Stiftung, die DFG (436 RUS 17/22/06 LI820/11-1, LI820/17-1) und die Wilhelm Sander-Stiftung (99.105.1-2) unterstützt.

Von der Zytogenetik zur FISH

Man kann die Geschichte der Zytogenetik in 3 zeitlich klar definierte Abschnitte unterteilen: die Zeit der reinen klassischen, der Bänderungs- und der molekularen Zytogenetik [6, 7]. Mit den Färbemethoden der *klassischen Zytogenetik* (im Wesentlichen Orcein- und Giemsa-Färbung) war es lediglich möglich, die Chromosomen mehr oder weniger einheitlich dunkel anzufärben und der Größe nach zu ordnen. Mit den relativ begrenzten Mitteln der klassischen Zytogenetik konnten bereits numerische und strukturelle chromosomale Umbauten beschrieben werden. Die Entwicklung der *Bänderungszytogenetik* durch Lore Zech [16] eröffnete die Möglichkeit, Chromosomen eindeutig zu identifizieren. Hierdurch können neben den numerischen Chromosomenaberrationen auch intra- und interchromosomale Rearrangements sichtbar gemacht werden. Jedoch ist selbst bei hoher Bandenauflösung eine eindeutige Charakterisierung aller Chromosomenveränderungen nicht möglich. Die Lücken in der bänderungszytogenetischen Diagnostik können jedoch bereits seit über 20 Jahren mit Hilfe der FISH-Technik, also der *molekularen Zytogenetik*, geschlossen werden [6, 7, 8].

Bei der FISH-Technik werden markierte DNA-Sonden eingesetzt, von welchen 4 Grundtypen unterschieden werden:

1. DNA-Banken, die ein gesamtes Chromosom abdecken („whole chromosome painting“, wcp),

2. DNA-Banken, die nur Teilbereiche eines Chromosoms markieren („partial chromosome painting“, pcp).

Für die gezielte Anfärbung bestimmter Chromosomenbanden bedient man sich außerdem heute

3. in erster Linie künstlicher Vektoren wie künstliche Bakterienchromosomen (BAC) und daneben
4. einem Sondentyp mit repetitiven Zielsequenzen, den telomer- bzw. zentromerspezifischen Sonden.

Für die Sondentypen 1–3 ist die Zugabe von unmarkierter repetitiver DNA nötig, um in einer so genannten CISS („chromosome in situ suppression“-)Hybridisierung repetitive Sequenzen in der Sonden-DNA zu blockieren [6].

Nichtradioaktive In-situ-Hybridisierungsmethoden wurden Anfang bis Mitte der 1980er Jahre entwickelt [6, 7, 8] und 1986 erstmals an menschlichen Chromosomen angewandt [11]. FISH-Techniken können für eine Vielzahl von Fragestellungen verwendet werden: zum Erstellen physikalischer Karten von Chromosomen – auch an DNA-Fäden (Fiber-FISH), zum Nachweis chromosomaler Veränderungen wie Translokationen, Mikrodeletionen oder Mikroduplikationen, Amplifikationen oder numerischen Aberrationen. Kurz nachdem Pinkel et al. [11] 1986 die ersten erfolgreichen FISH-Experimente an menschlichen Chromosomen beschrieben hatten, wurden auch schon die ersten 2-Farben-FISH-Versuche publiziert [2]. 1992 veröffentlichten Kallio-

niemi et al. [3] eine Methodik, die vergleichende Genomhybridisierung („comparative genomic hybridization“, CGH) genannt wird, welche ebenfalls mit 2 Farbstoffen auskommt und es ermöglicht, chromosomale Imbalancen einer Probe in einem einzigen Experiment darzustellen. Vorher der zytogenetischen Analyse unzugängliche Tumorproben können seitdem mit dieser Technik erfolgreich untersucht werden. Nachdem die CGH Anfang der 2000er Jahre bereits wieder an Bedeutung verloren hatte oder zumindest stagnierte, erlebte sie in den letzten Jahren in Form der Array-CGH-basierten Methoden eine Renaissance [1]. CGH und Array-CGH weisen aber im Prinzip dieselben Restriktionen auf: Beide können keine Aussage über das Vorhandensein balancierter Translokationen machen, beide sind anfällig bezüglich einer Kontamination des Untersuchungsgewebes mit Normalgewebe und beide untersuchen in der Regel nicht, wie in der Zytogenetik sonst üblich, einzelne Zellen, sondern ein Zellgemisch [7].

Prinzipien der Vielfarben-FISH

Es gibt grundsätzlich 2 Möglichkeiten, durch eine begrenzte Anzahl an Fluorochromen möglichst viele verschiedene Farben zu erzeugen:

- die kombinatorische Fluorochromkombination und
- das so genannte Ratio-Labeling [6].

Letzteres bietet im Prinzip nahezu unbegrenzte Farbkombinationsmöglichkeiten, ist aber in höchstem Maß abhängig von einer sehr reproduzierbaren Fluorochrommarkierung der verwendeten DNA Sonden und einem exakten Mischungsverhältnis derselben. Daher wird diese Art der Markierung nur von wenigen spezialisierten Arbeitsgruppen angewendet – im Wesentlichen in der so genannten COBRA („combined binary ratio labeling“)-FISH-Technik [6]. Die überwiegende Mehrzahl der Anwender arbeitet mit der verlässlicheren und leichter reproduzierbaren kombinatorischen Markierungstechnik. Hierbei gilt die Formel $2^{\text{Anzahl der verwendeten Fluorochrome}} - 1 = \text{Anzahl der möglichen Farbkombinationen}$.

Also 3 Fluorochrome führen zu maximal 7 Farbkombinationen, 5 Fluorochrome zu maximal 31, 6 zu maximal 63, 7 zu maximal 127 Farbkombinationen usw. (Übersicht bei [6]).

Die Vielfarben-FISH-Technik wurde zunächst mit dem Ziel eingesetzt, jedem menschlichen Chromosom eine eigene Farbe zuzuordnen; hierzu wurde mit „whole chromosome painting“ (wcp)-Sonden gearbeitet. Die gleichzeitige Darstellung aller 24 Chromosomen mit nur einer einzigen Hybridisierung gelang erstmals 1996 [6, 7, 8, 12, 13]. Die Auswertung der Signale erfolgt über eine CCD-Kamera in Verbindung mit einem geeigneten Auswertungsprogramm am Computer, um auch Farbstoffe, die für das menschliche Auge nicht sichtbar sind, darstellen zu können (z. B. Infrarotfarbstoffe wie Cy 5.5). Während die eine Arbeitsgruppe ein Spektralphotometer zur Erfassung der Daten in einem Schritt verwendete [12], benutzte die andere Gruppe ein auf 6 Filter gestütztes, 6 überlagerte Teilbilder produzierendes Bilderfassungssystem [13]. Eine mehr oder weniger künstliche Unterscheidung der beiden, im Prinzip gleichen Vielfarben-FISH-Methoden unter Verwendung von wcp-Sonden wurde im Folgenden nur aufgrund dieser beiden Bildverarbeitungsmethoden etabliert. Die erstgenannte Methodik wird als „spectral karyotyping“ (SKY) [12], Letztere als „multiplex-FISH“ (M-FISH) [13] bezeichnet. Beide Methoden ermöglichen es, in nur einer Hybridisierung die chromosomale Herkunft von Derivatvchromosomen zu bestimmen [4, 13]. Allerdings ist eine Darstellung von intrachromosomalen Veränderungen mittels M-FISH/SKY/COBRA nicht in jedem Fall möglich. Da jedes Chromosom mit nur einer einzigen Farbe dargestellt wird, bleiben z. B. para- und perizentrische Mutationen ohne Verschiebung des Zentromerindexes oder Inversionen genauso unerkannt wie kleine Duplikationen oder Deletionen. Aus diesem Grund wurde eine Vielzahl von weiteren Vielfarben-FISH-Verfahren für die klinisch wichtige, genauere Charakterisierung von Derivatvchromosomen erdacht [9]. Diese werden im Folgenden zusammengefasst und deren Anwendungen in Diagnostik und Forschung aufgezeigt.

medgen 2008 · 20:374–378
DOI 10.1007/s11825-008-0133-8
© Springer Medizin Verlag 2008

T. Liehr

Vielfarben-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung. Molekulare Zytogenetik in der heutigen Diagnostik und Forschung

Zusammenfassung

Die molekulare Zytogenetik ist ein wesentliches Instrument der Diagnostik und Forschung an menschlichen Chromosomen. Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) ist hierbei die maßgebliche Technik. Seit Mitte der 1990er Jahre wurde eine Vielzahl verschiedener Vielfarben-FISH-Sondensets für unterschiedliche Fragestellungen etabliert und verfügbar gemacht. Im vorliegenden Beitrag wird diese Entwicklung aufgezeigt und dargestellt. Die der Vielfarben-FISH zugrunde liegenden Prinzipien, deren vielfältigen Spielarten und Anwendungen werden zusammengefasst. Schließlich wird eine Prognose bezüglich der Bedeutung der molekularen Zytogenetik im künftigen Zusammenspiel mit den Chiptechnologien getroffen.

Schlüsselwörter

Vielfarben-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung · Chromosomen · Molekulare Zytogenetik · Einzelzellanalyse · Chiptechnologien

Multicolor-fluorescence in situ hybridization. Molecular cytogenetics in current diagnostics and research

Abstract

Molecular cytogenetics is a major instrument for diagnostics and research in human chromosomes. Fluorescence in situ hybridization (FISH) is the most significant technique applied. Since the mid 1990s a multitude of multicolor-FISH probe sets suitable for different investigations have been established and made available. The current article presents and describes these developments. The underlying principles of multicolor-FISH, its wide variety and its applications are summarized. Finally, a prognosis on the relevance of molecular cytogenetics in the future interplay with chip technologies is made.

Keywords

Multicolor-fluorescence in situ hybridization · Chromosomes · Molecular cytogenetics · Single cell analysis · Chip technologies

Tab. 1 Anzahl der Publikationen (fast 1000) unter Verwendung von Vielfarben-FISH-Sondensets. (Nach [4])

| Vielfarben-FISH-Sondenset | Klinische Genetik | Tumorgenetik | | Sonstige Studien (Zellkernarchitektur, Evolution, Mutagenese) |
|--|-------------------|------------------------|-------------------------------|---|
| | | Leukämien und Lymphome | Solide Tumoren und Zelllinien | |
| M-FISH/SKY | 109 | 226 | 350 | 53 |
| M-FISH-Weiterentwicklungen | 6 | 6 | 2 | 1 |
| „chromosome bar codes“ | 10 | 2 | 12 | 2 |
| „cross-species color banding“ (Rx-FISH) | 5 | 9 | 12 | 9 |
| „multicolor-banding“ (MCB/m-band)/multitude MCB (mMCB) | 63 | 34 | 23 | 28 |
| SCAN und CRP | 1 | 1 | 1 | 1 |

Heute verfügbare Vielfarben-FISH-Verfahren und ihre Anwendungen

In **Tab. 1** sind die heute verfügbaren Vielfarben-FISH-Verfahren zusammengefasst. Dabei wurden nur diejenigen berücksichtigt, welche für die Anwendung beim Menschen geeignet sind. Als Maß der Häufigkeit ihrer Verwendung kann die Anzahl der Publikationen unter Einbeziehung der jeweiligen Techniken herangezogen werden (nach [4]). Hieraus geht klar hervor, dass das am häufigsten verwendete Vielfarben-FISH-Verfahren M-FISH bzw. SKY ist – also Vielfarben-FISH unter Verwendung von Ganzchromosomensonden (**Abb. 1a**). Zwar lässt sich aus **Tab. 1** nicht der qualitative Einfluss der Vielfarben-FISH auf die Grundlagenforschung ableiten, dennoch ergibt sich ein Eindruck, wie weit verbreitet und wie hilfreich dieses Verfahren offenbar ist.

M-FISH-Weiterentwicklungen

Neben dem Standardverfahren Vielfarben-FISH unter Verwendung von Ganzchromosomensonden findet man in der Literatur eine Reihe von weiteren Ideen zum Erreichen einer größeren Informativität [4]. Zu nennen ist hier beispielsweise die 41-Farben-FISH. Dieses mehrfach vorgeschlagene Verfahren verfolgt die Idee, zusätzlich zu den wcp- noch pcp-Sonden einzusetzen, welche spezifisch für die kurzen Arme aller menschlichen Chromosomen sind, mit Ausnahme der akrozentrischen kurzen Arme. Auch wurden

dem Standard-M-FISH-/COBRA-Sondenmix locuspezifische Sonden beige-mischt, um beispielsweise papillomvirus-spezifische DNA nachzuweisen.

Eine besondere Idee ist auch, eine dem GTG-Muster analoge Bänderung in das M-FISH-Muster einzuführen – dies wurde unter der Bezeichnung IPM-FISH (IRS-PCR multiplex FISH; IRS: „interspersed polymerase chain reaction“) publiziert [10]. All diese sehr speziellen Verfahren konnten sich jedoch in der Praxis nicht durchsetzen (**Tab. 1**; [4]).

FISH-Bänderungstechniken

FISH-Bänderungstechniken sind wie folgt definiert:

„any kind of FISH technique, which provide the possibility to characterize simultaneously several chromosomal subregions smaller than a chromosome arm (excluding the short arms of the acrocentric chromosomes). FISH banding methods fitting that definition may have quite different characteristics, but share the ability to produce a DNA-specific chromosomal banding“ [8]

Derartige Verfahren sind für menschliche und für murine Chromosomen verfügbar [10]. Sie wurden entwickelt, um chromosomale Umbauten detailliert analysieren zu können und Bruchpunktregionen genauer einzugrenzen.

Es gibt FISH-Bänderungsverfahren, welche einzelne Chromosomen anfärben und solche, die alle menschlichen Chromosomen auf einmal bändern. Erstere können dann eingesetzt werden, wenn nach GTG- oder M-FISH/SKY-Analyse spezifische Umbauten an einzelnen Chromosomen weiter charakterisiert werden sollen.

Eine ganzgenomisch orientierte FISH-Bänderung ist dann sinnvoll, wenn ein komplex rearrangierter Karyotyp vorliegt und/oder wenn kryptische Umbauten nachgewiesen werden sollen [10].

Es ist eine ganze Reihe von FISH-Bänderungsverfahren beschrieben:

Die früheste Idee war, einen Vielfarbenstrichcode entlang eines Chromosoms zu erzeugen („chromosome bar code“). Dabei wurden verschiedene Vorschläge gemacht, unter Verwendung von „radiation hybrids“, „human-hamster somatic cell hybrids“, Cosmiden, BAC („bacterial artificial chromosome“) und YAC („yeast artificial chromosome“) [10].

RX-FISH („cross-species color banding“) ist ein Verfahren, das eine gesamtgenomische FISH-Bänderung erzeugt. Es basiert auf durch „flow-sorting“ gewonnenen Gibbonchromosomen, welche in 1–5 Fluorochromen markiert sind [10].

Eine ganze Reihe von Vorschlägen wurde gemacht, eine auf mikrosezierten regionspezifischen pcp-Sonden basierende FISH-Bänderung zu erstellen. Diese wurden „spectral color banding“ (SCAN), „M-FISH using chromosome region specific probes“ (CRP) und „multicolor banding“ (MCB oder m-band) genannt. Letztere sind die einzigen dieser Sondensets, die für alle menschlichen Chromosomen zur Verfügung stehen – als chromosomenspezifische Sondensets. MCB wurde kürzlich zum gesamtgenomisch, in einem einzigen Experiment für alle menschlichen Chromosomen einsetzbaren, multitude MCB (mMCB) weiterentwickelt [10]. Aufgrund der höchsten möglichen Auflösung aller genannten FISH-Bänderungsverfahren hat sich MCB/m-band als Standardverfahren in diesem Bereich des Vielfarben-FISH-Sondensets durchgesetzt (**Tab. 1**, **Abb. 1b**; [4]).

Zentromerorientierte Vielfarben-FISH-Verfahren

Durch den Einsatz der CISS-Hybridisierung bei der Verwendung von Teil- und Ganzchromosomensonden ist mit diesen Sondensets technisch bedingt keinerlei Aussage über die Zentromerregion möglich. Die aus repetitiven Sequenzen bestehenden Zentromere des Men-

schen entziehen sich also somit einer aussagekräftigen Diagnostik. In den allermeisten Fällen ist dies relativ bedeutungslos und rechtfertigt somit die bei den M-FISH- und SKY-Pseudofarbenbearbeitung übliche Durchfärbung der ganzen Chromosomen (unter Einschluss der Zentromerregion – in **Abb. 1a** ist eine „Echtfarbenbearbeitung“ zu sehen). Ausnahmen bestehen allerdings dann, wenn es darum geht, Heteromorphismen im Zentromerbereich größerer Derivativchromosomen (einschließlich der kurzen Arme der Akrozentrischen), und kleiner überzähliger Markerchromosomen zu charakterisieren. In beiden Fällen müssen heterochromatische, oft in der CISS-Hybridisierung „abgeblockte“ Bereiche beurteilt werden. Für diese beiden speziellen Fragestellungen wurden so genannte zentromerspezifische SONDENSETS etabliert. Zum einen das zur gleichzeitigen Charakterisierung aller menschlichen Zentromersequenzen geeignete „centromere-specific multicolor“-FISH (cenM- oder CM-FISH) sowie zum anderen die nur gegen akrozentrische Chromosomen gerichteten acroM-FISH- und acroM-FISH-Verfahren [9]. Beide finden breite Anwendung v. a. bei der Charakterisierung kleiner überzähliger Markerchromosomen (**Abb. 2**; [5]).

Vielfarben-FISH-Verfahren unter Verwendung locuspezifischer Sonden

Außer den oben angeführten wcp-, pcp- und zentromerspezifischen Sonden kommen heute auch locuspezifische Sonden in Vielfarben-FISH-Verfahren zum Einsatz. Es gibt eine Reihe solcher, auch kommerziell erhältlicher SONDENSETS, die z. T. locuspezifische mit zentromerischen Sonden kombinieren. Als wesentlichster Einsatzbereich ist die Pränatal- und Präimplantationsdiagnostik zum Nachweis der häufigsten numerischen Aberrationen in der Interphase zu nennen. Aber auch die Tumorgenetik kennt, z. B. in der Urologie, solche spezifisch zusammengestellten Vielfarben-FISH-Verfahren [6].

In der Forschung wurden locuspezifische Sonden zusammengestellt und mit bis zu 5 Fluorochromen gleichzeitig markiert, um mittels Ganzchromosomenson-

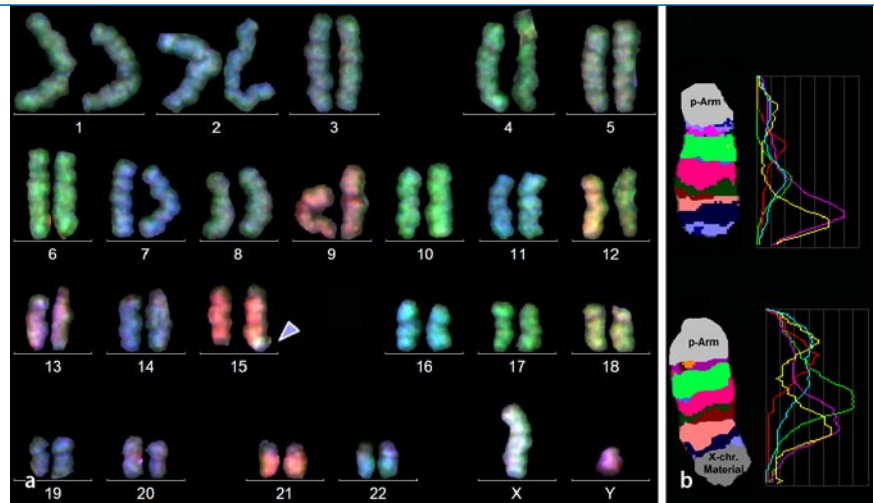


Abb. 1 ▲ **a** Pränataler Fall: Charakterisierung eines Karyotyps 46,XY,der(15)t(X;15) mittels M-FISH (*Pfeilspitze*), Darstellung durch Überlagerung von 3 der 5 Farbkanäle, **b** Pseudofarbenbänderung und Fluorochromprofile des derivativen Chromosoms der(15)t(X;15)(q26;q26) laut MCB

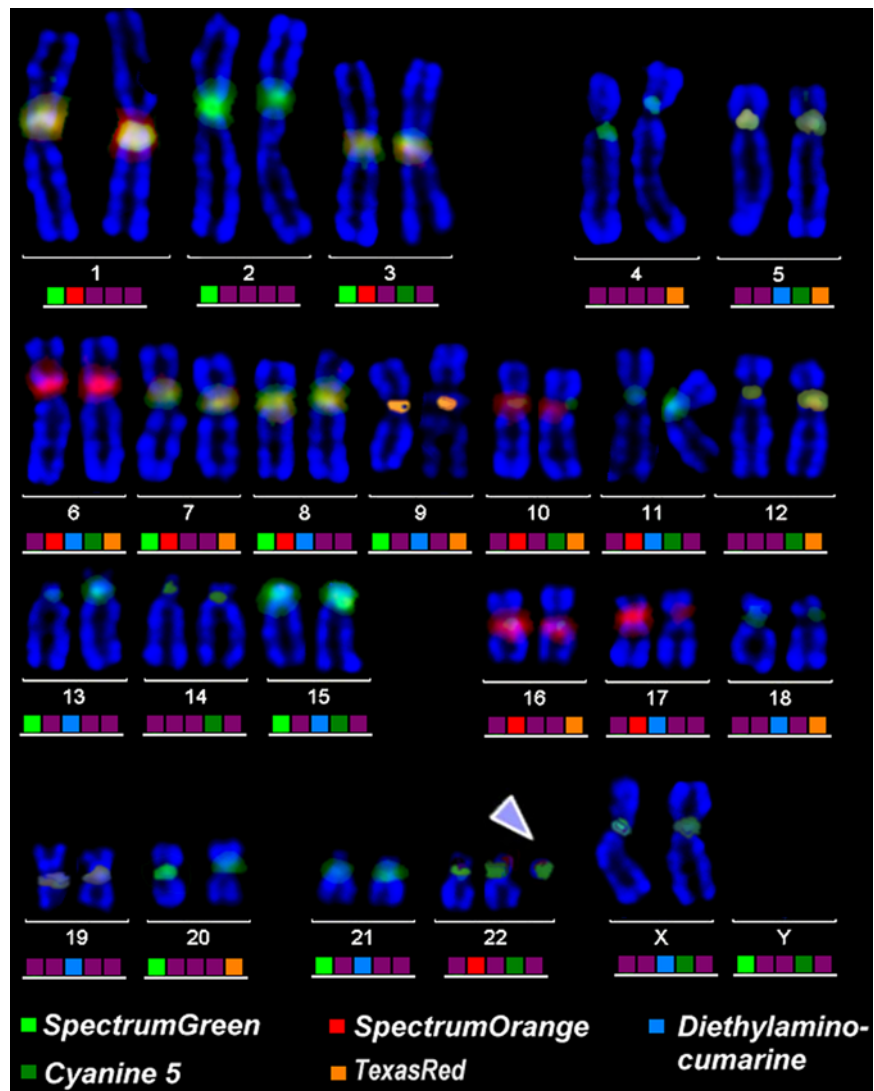


Abb. 2 ▲ Charakterisierung eines kleinen überzähligen Markerchromosoms mittels cenM-FISH als Derivatives von Chromosom 22 (*Pfeilspitze*), Markierungsschema für jede zentromerspezifische Sonde unter dem jeweiligen Chromosom angegeben

den und FISH-Bänderung nicht eindeutig untersuchbare Regionen darstellen und bestimmten Fragestellungen zugänglich machen zu können. Dies waren zunächst die Subtelomerregionen, für die so genannte M-TEL-FISH-Sondensets kreiert wurden. Hiermit wurde es möglich, kryptische Umbauten an den Enden der Chromosomen in einem FISH-Experiment nachweisbar zu machen. Insbesondere bei Fällen mit unklarer mentaler Retardierung ist M-TEL-FISH von Bedeutung – wenn auch nicht kommerziell erhältlich [6]. Anschließend wurde ähnliches für die zentromernahe Regionen der menschlichen Chromosomen etabliert – ein subcenM-FISH-Sondenset. Hiermit sind der Nachweis von Euchromatin auf kleinen überzähligen Markerchromosomen, die Detektion von zuvor nicht nachweisbaren, kryptischen Mosaiken der Markerchromosomen [5] sowie die exaktere Bruchpunktbestimmung bei zentromernahen Rearrangements möglich [9]. Auch wurden Anstrengungen für die Zusammenstellung eines „multi-FISH assay“ zum gleichzeitigen Nachweis mehrerer Mikrodeletionssyndrome unternommen [6]. Auch aufgrund der Entwicklungen der Array-CGH konnte sich dieser aber nicht durchsetzen.

Neuerdings wurde ein Vielfarben-FISH-Verfahren vorgestellt, das auf spezielle locuspezifische Sonden zurückgreift und sich alle einzigartigen Möglichkeiten der molekularen Zytogenetik zunutze macht. Es ist die so genannte „parental origin determination“ (pod)-FISH. Hiermit ist erstmals einzelspezifisch der Nachweis epigenetischer Veränderungen möglich. Als Sonden werden BAC verwendet, welche „copy number polymorphisms“ (CNV) überspannen und mehrere Megabasen euchromatische DNA umfassen. Die Einsetzbarkeit dieses neuen Verfahrens wurde am Beispiel des Nachweises einer uniparentalen Disomie bei einem Patienten mit Prader-Willi-Syndrom sowie zum Nachweis von Zellmosaikern eingesetzt.

Mit diesen neuen Möglichkeiten, die elterliche Herkunft von Chromosomen auf Einzelzellniveau zu unterscheiden, werden neue Gebiete für die Diagnostik (klinische Genetik sowie Tumorgenetik) und Grundlagenforschung eröffnet [14].

Ausblick

Die Vielfarben-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung ist heute nicht nur ein fester Bestandteil der pränatalen, postnatalen und tumororientierten zytogenetischen Diagnostik. Sie findet auch breite Anwendung in der klinischen sowie der Grundlagenforschung [4, 9, 10]. Die Vielfarben-FISH-Technik, die molekulare Zytogenetik insgesamt, hat, wie am Beispiel der pod-FISH aufgezeigt, ein nach wie vor großes Entwicklungspotenzial [14].

Die molekulare Zytogenetik macht das gesamte menschliche Genom „in situ“ direkt und auf Einzelzellniveau sichtbar. Somit sind hierdurch ganz andere Fragestellungen bearbeitbar als mit den oft als Konkurrenz dargestellten, neuen Chip-basierten Technologien, wie Array-CGH oder SNP-Chips. In Zukunft werden sich die Verfahren und Sondensets der Vielfarben-FISH und die Möglichkeiten der Array-Plattformen ideal ergänzen. Die Chip- oder Array-basierten Methoden bringen dem Anwender zwar die Möglichkeit, eine große Menge an Proben mit relativ geringem personellem Aufwand untersuchen zu können. Die gewonnenen Daten müssen aber, und das wird oft unterschätzt, anschließend nicht nur von einem Computer, sondern in letzter Konsequenz doch auch wieder von menschlichen Spezialisten zeitaufwändig bewertet werden. Insofern geht aus Sicht des Autors die Argumentation, Zytogenetik und molekulare Zytogenetik seien aufgrund der Personalkosten zu teuer, und molekulare Zytogenetik könnte künftig die Zytogenetik vollkommen ersetzen, ins Leere. Auch ermöglicht die (molekulare) Zytogenetik, wie oben erwähnt, die Möglichkeit einer individuellen Einzelzellanalyse; somit kann ein niedriggradiges Mosaik erfasst werden [15], was Chiptechnologien mit ihrem aus vielen Zellen gemischten Untersuchungsgut nicht leisten können. Letztendlich ist im Hinterkopf zu behalten, dass in der Diagnostik sowie in der Forschung nicht die eingesetzten Verfahren im Mittelpunkt stehen, sondern die Fragestellungen, welche damit bearbeitbar sind.

Korrespondenzadresse

Dr. T. Liehr

Institut für Humangenetik und Anthropologie,
Kollegiengasse 10, 07743 Jena
i8lith@mti.uni-jena.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Bejjani BA, Theisen AP, Ballif BC et al. (2005) Array-based comparative genomic hybridization in clinical diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 5: 421–429
2. Hopman AH, Wiegant J, Raap AK et al. (1986) Bicolor detection of two target DNAs by non-radioactive in situ hybridization. *Histochemistry* 85: 1–4
3. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D et al. (1992) Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 258: 818–821
4. Liehr T (2008) Multicolor FISH literature. Friedrich-Schiller-Universität Jena, <http://www.med.uni-jena.de/fish/mFISH/mFISHlit.htm>
5. Liehr T (2008) Small supernumerary marker chromosome (sSMC). Friedrich-Schiller-Universität Jena, <http://www.med.uni-jena.de/fish/sSMC/00START.htm>
6. Liehr T, Claussen U (2002) Multicolor-FISH approaches for the characterization of human chromosomes in clinical genetics and tumor cytogenetics. *Curr Genomics* 3: 213–235
7. Liehr T, Claussen U (2002) Current developments in human molecular cytogenetic techniques. *Curr Mol Med* 2: 283–297
8. Liehr T, Heller A, Starke H et al. (2002) Fluorescence in situ hybridization (FISH) banding methods – applications in research and diagnostic. *Expert Rev Mol Diagn* 2: 217–225
9. Liehr T, Starke H, Weise A et al. (2004) Multicolor FISH probe sets and their applications. *Histol Histopathol* 19: 229–237
10. Liehr T, Starke H, Heller A et al. (2006) Multicolor fluorescence in situ hybridization (FISH) applied for FISH-banding. *Cytogenet Genome Res* 114: 240–244
11. Pinkel D, Straume T, Gray JW (1986) Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 2934–2938
12. Schröck E, Du Manoir S, Veldman T et al. (1996) Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 273: 494–497
13. Speicher MR, Gwyn Ballard S, Ward DC (1996) Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genet* 12: 368–375
14. Weise A, Gross M, Mrasek K et al. (2008) Parental origin-determination fluorescence in situ hybridization distinguishes homologous human chromosomes on a single-cell level. *Int J Mol Med* 21: 189–200
15. Yurov YB, Vorsanova SG, Iourov IY et al. (2007) Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy. *J Med Genet* 44: 521–525
16. Zech L (1979) Chromosome banding methods. *Acta Histochem Suppl* 20: 121–125