

# 多色-FISH 技术的进展及其在分子生物学上的应用

徐月娟 沈 蕾<sup>1\*</sup> 赵鹏军

(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心, 上海 200127;

<sup>1</sup>上海交通大学医学院附属新华医院儿科医学研究所, 上海 200092)

**摘要** 传统显带分析技术以每条染色体独特的显带带型为依据, 提供染色体形态结构的基本信息, 用于染色体核型的初步分析。然而有些染色体重排由于涉及的片断太小或具有相似的带型, 用该方法难以探测或准确描绘。多元荧光原位杂交(M-FISH), 光谱核型分析(SKY), FISH- 显带分析技术是染色体特异的多色荧光原位杂交技术(mFISH)。它们能够探测出传统显带分析不能发现的染色体异常, 提供更准确的核型。M-FISH 和 SKY 均以组合标记的染色体涂染探针共杂交为基础, 二者的不同在于观察仪器和分析方法上。它们可对中期染色体涂片进行快速准确分析, 描绘复杂核型, 确认标记染色体, 主要用于恶性疾病的细胞遗传学诊断分析。FISH- 显带分析技术以 FISH 技术为基础, 能同时检测多条比染色体臂短的染色体亚区域。符合该定义的 FISH- 显带分析技术各有特点, 其共同特点是都能产生 DNA 特异的染色体条带。这些条带有更多色彩, 能提供更多信息。FISH- 显带分析技术已经成功地被用于进化生物学、放射生物学以及核结构的研究, 同时也被用于产前、产后以及肿瘤细胞遗传学诊断, 是很有潜力的工具。

**关键词** 多元荧光原位杂交; 光谱核型分析; FISH- 显带分析; 细胞遗传学

自 1981 年荧光原位杂交(*fluorescence in situ hybridization*, FISH)技术产生以来, 该技术不断发展, 衍生了一系列新的技术, 其中具有里程碑意义的有上世纪 80 年代末的染色体涂染(*chromosome painting*)技术, 它使人们可以在细胞标本中对整条染色体(染色体涂染)和染色体亚区域进行观察。此后, 随着新荧光染料 *cyanine* 的发现、探针标记技术以及图像获取和显微分析技术的发展, 1996 年开发出了最具有意义的多色-FISH(*multicolor-FISH*, *mFISH*)技术, 即多元荧光原位杂交(*multiplex-FISH*, *M-FISH*)<sup>[1]</sup>和光谱核型分析(*spectral karyotyping*, *SKY*)<sup>[2]</sup>。多色-FISH 技术是在试验中将多种不同基因定位, 并简化了实验程序, 它可以同时用不同的颜色描绘并观测人类 24 条染色体(22 条常染色体和 2 条性染色体)。随后, 人们在此基础上不断创新, 出现了灵敏度和分辨率更高的多色-FISH 技术, 即 FISH- 显带分析(*FISH-banding techniques*)。这些技术极大地推动了分子细胞遗传学的发展。

多色-FISH 技术原理与 FISH 技术相同, 是利用与待测的染色体相互补并经荧光染料标记的核酸探针进行染色体水平的原位杂交。区别在于多色-FISH 技术的试剂盒中含有可分别与人类 24 条染色体结合的组合标记的染色体涂染探针(用于 M-FISH 和

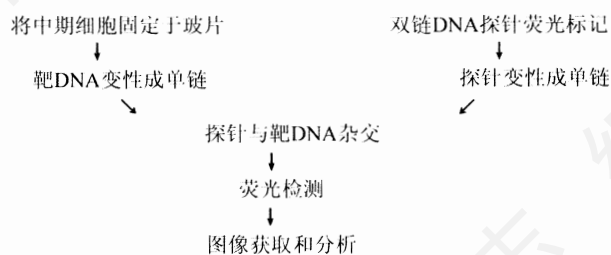


图 1 多色-FISH 实验流程

SKY)或染色体亚区域探针(用于 FISH- 显带分析), 这些探针一般应用简并寡核苷酸引物-PCR(DOP-PCR)过程制得。多色-FISH 技术流程如图 1 所示。

## 1 多色-FISH 技术的发展

### 1.1 M-FISH

M-FISH 技术是 FISH 技术发展过程中的一大进步。它应用 5 种荧光染料, 通过组合标记, 使用全染色体涂染探针, 结合特殊的滤色片及数字化成像技术, 经过荧光显微镜及专门的计算机分析系统, 分离和确

收稿日期: 2007-05-28 接受日期: 2007-08-09

上海市科委基金资助项目(No.05ZR14067)

\* 通讯作者。Tel: 021-65790000, Fax: 021-65153984, E-mail: shenlei801@126.com

认所有的荧光染料,最终为人类24条染色体(22条常染色体和2条性染色体)分别标上不同的颜色<sup>[1]</sup>。M-FISH的主要特点有:第一,准确校准了单个荧光染料平面;第二,减少(消除)了染色质串扰现象;第三,量化了每个荧光染料的强度。

起初的M-FISH技术的分辨率在320 kb~2.6 Mb之间<sup>[3]</sup>,为提高M-FISH技术的分辨率,科学家相继开发出了染色体臂特异性探针、端粒特异性探针、着丝粒特异性探针及亚着丝粒探针,并出现了相应的臂特异性FISH(armFISH)<sup>[4]</sup>、端粒M-FISH(telomere M-FISH, M-TEL FISH)<sup>[5]</sup>、亚着丝粒M-FISH(subcen M-FISH)<sup>[6]</sup>、着丝粒特异性M-FISH(cenM-FISH)<sup>[7]</sup>等技术,使M-FISH技术分辨率进一步提高,拓展了其在临床和科研中的应用。

## 1.2 光谱核型分析(SKY)

SKY也是以荧光标记的染色体涂染探针的共杂交为基础的。该技术利用傅立叶频谱、电荷耦合设备成像和光学显微方法,同时计量样本在可见光和近红外范围内所有点的发射频谱,因而可以使用多个频谱重叠的荧光染料探针<sup>[8]</sup>,与M-FISH的区别仅在于分析方法上。M-FISH使用电感耦合装置(charge coupled device, CCD)摄像机分别为5种荧光染料进行数字成像,然后通过计算机软件对图像进行分析,最终合成一个图像,在这个合成图像中,每条染色体依据与其杂交的探针所带荧光染料不同,而显示不同色彩<sup>[9]</sup>。SKY是将CCD成像与Fourier光谱学结合起来,利用一个干涉仪来分析CCD芯片上每个像素荧光色素波长光谱。然后通过计算机程序确定这些光谱组成,最后使每一条染色体显示特有色彩<sup>[2,9,10]</sup>。

SKY能较全面的显示染色体结构和数目改变,特别是可以确定较小或复杂的畸变,并能标记染色体的来源,可用于肿瘤细胞染色体畸变的分析,在比较细胞遗传学研究中是一种较有用的工具<sup>[8]</sup>。

## 1.3 FISH-显带分析技术

尽管SKY以及M-FISH技术可以探测出传统染色体显带分析技术所不能发现的隐匿或复杂染色体突变,但是这些方法均不能探测出染色体内畸变,如臂间转位和臂内转位,倒位,重复,或末端及间隙缺失,并且不能精确地确定染色体的断裂点,对于微小易位探测能力也有限<sup>[3,9,11]</sup>。而且对染色体片段起源的确认也只能以染色体为单位,分辨率低于G-显带分析技术。为此,科学家们在已有的多色-FISH基础上开发出新的染色体显带技术——FISH-显带分析

技术。该技术根据其探测范围可分为两类:(1)对核型整体筛查的FISH-显带分析技术,这些技术的发展已经比较完善,包括多色染色体条带码技术、交叉核素色带分析技术、多重彩色显带分析技术;(2)对单条染色体分析的高分辨FISH-显带分析技术,这些技术仅能用于单条染色体分析,它们还在发展中,有多色显带分析技术、光谱色带分析。

1.3.1 多色染色体条带码技术(multicolor chromosome bar code) 多色染色体条带码技术是较早出现的一种多色-FISH显带技术,它使用亚区域DNA探针,将这些探针用荧光染料进行差异标记后混合在一起,再与染色体标本进行原位杂交,最终可得到多种不同颜色的条带<sup>[12]</sup>。其探针来源于酵母人工染色体(YAC)克隆或杂交片段(fragment hybrids)的Alu-PCR产物。其与G-显带分析相比,有很多的优点:第一,条带码的带型以DNA序列为基础,按照序列的不同显示不同的颜色,而不是以传统的染色体显带带型为基础;第二,条带码可通过选择不同的DNA探针得到任一想要得到的带型;第三,每增加一种颜色,就可增加显带信息,也就提高了带型的分辨率。一个多色显带带型根据所用的显微设备不同,可以含有2~7种不同的颜色<sup>[13]</sup>。

条带码技术易化了染色体的辨认,并且可以用于确认染色体间和染色体内的重排,是多色-FISH技术的很好的补充。同时,由于其使用的是Alu重复序列探针,而Alu重复序列主要存在于灵长类动物DNA中,所以该技术可以很方便地用于比较细胞遗传学研究。Müller等<sup>[17]</sup>用该技术分析了人类、大猩猩和恒河猴的基因组,不仅证实了以前显带分析所发现的大量重排,并初步提出了灵长类动物进化过程中的进化次序。

1.3.2 交叉核素色带分析技术(cross-species color banding, Rx-FISH) 交叉核素色带分析技术(早期也称为cross-species color segmenting<sup>[18]</sup>)是一种使用长臂猿染色体涂染探针分析人类染色体核型的分析方法。长臂猿DNA和人类DNA有98%的同源序列,但是相对于人类染色体,长臂猿染色体有广泛的重排<sup>[20~22]</sup>。3种荧光染料以不同的结合方法标记26条长臂猿染色体,和人类染色体杂交,可呈现7种颜色。该技术的分辨率为每组人类染色体单倍体核型80~90条带,在进一步的发展后,分辨率达到了100~200条带<sup>[21]</sup>。与传统的以灰阶值为基础的显带分析相比,Rx-FISH分析中的色彩使染色体的确认变得简单,而

且彩色区段可以提供明显的界标,从而较易得到准确的核型分析结果<sup>[18]</sup>。而且,由于该技术所用的探针边界是由进化过程中发生的易位确定的,与微切割技术产生的亚区域探针相比,它们的边界更加精确<sup>[18]</sup>。

Rx-FISH 鉴别不同染色体之间易位不如 M-FISH/SKY 灵敏,但如果重排区域内有两条或更多的色带,Rx-FISH 鉴别染色体内部重排有独特的优势。该技术已广泛用于临床细胞遗传学及肿瘤细胞遗传学研究,并可用于人类及长臂猿染色体的比较分析<sup>[18]</sup>。

### 1.3.3 多色显带分析技术(multicolor chromosome banding, MCB)

多色显带分析技术(也称为 mBAND)<sup>[23,24]</sup>可以在条带的水平上对染色体区域中特异的区段进行区分。该技术是以重叠微切割文库为基础,从中选择需要的 DNA 序列作为探针,用荧光染料对其进行不同的标记,然后与染色体标本进行杂交,利用特殊的软件分析系统,根据染色体上荧光强度的改变为每一段染色体区域分配不同的色彩。Chudoba 等<sup>[23]</sup>运用该技术分析了 5 号染色体,得到了大约 23 个条带,分辨率范围达到了 500-band 水平。

该技术与染色体条带码相比,后者产生的条带分辨率很低,而且所用探针系统并没有包含全套染色体。Rx-FISH 技术使用来自两个不同种系长臂猿染色体探针进行 FISH 实验,可以得到含有人类全部染色体彩色显带带型,但是也只能得到 81 个分段,远远低于多色显带技术所能达到的分辨率。

当然,多色显带分析技术也有其局限,如分辨率不高,产生条带并不是与 G-显带带型完全一致,荧光信号相接处的荧光闪耀现象(fluorescence flaring)给分析带来一定的困难等。但是,多色显带分析技术为分析确认高度重复性的染色体畸变开辟了一条新途径。它在特异性要求较高的诊断中,特别是肿瘤细胞遗传学诊断中具有很大潜力。染色体凝缩并不影响其分辨率,所以它可以精确地确认染色体畸变所累及的断裂点。

### 1.3.4 多重彩色显带分析技术(multitude multicolor chromosome banding, mMCB)

多重彩色显带分析技术是在多色显带分析技术(multicolor chromosome banding, MCB)的基础上发展起来的<sup>[25]</sup>。该技术将 138 个可得的区域特异性人类染色体微切割文库混合在一起,构成一个探针系统,用 5 种荧光染料标记后进行 FISH 杂交,显带并分析。它可在一次操作中对复杂的染色体畸变进行全面快速的分析,特别适用于那些有复杂核型或发现有隐匿重排的病例。

### 1.3.5 光谱色带分析(spectral color banding, SCAN)

SCAN 是利用微切割技术从 G-显带染色体上切除条带一致的染色体区域,并加以收集,然后再从基因组 DNA 中抽提和纯化这些片段,利用 DOP-PCR 反应对这些片段进行扩增同时进行标记,将其作为染色体条带特异性涂染探针,进行 FISH 实验。SCAN 所用的光谱分析原理与 SKY 相同,由于每个条带荧光染料组合是唯一的,最终产生的光谱信号也将是唯一的,这样,将 SKY 所用的光谱图形分析方法用于 SCAN,就可以自动分辨出产生某个特定信号的染色体条带<sup>[26]</sup>。

Kakazu 等<sup>[26,27]</sup>用该技术分析了 G-显带或 SKY 没有完全确定的肿瘤组织染色体异常,发现该技术可以:第一,探测出染色体内部畸变;第二,以条带为单位确认异常片段的起源;第三,精确地确定复杂重排的断裂点。而且,不管染色体是否发生了凝缩及其凝缩水平如何,SCAN 的分辨率均恒定地处于 400-band 水平上。即使是 G-显带分析不清的染色体样本,SCAN 也可以探测出明显的彩色条带带型。更为重要的是该技术可产生与 G-显带带型一致的条带,可直接在图像上进行核型分析,这是其明显优于前三者之处<sup>[26,27]</sup>。

不过,SCAN 也不能完全取代传统的显带分析技术,它将作为传统显带分析技术的一个重要补充,为细胞遗传学家提供更全面的遗传信息。

## 2 多色-FISH 技术的应用

### 2.1 多元-FISH 和 SKY 的应用

如今,M-FISH 已被广泛应用于血液恶性肿瘤复杂核型分析的研究。在心血管系统,Milen 等<sup>[28]</sup>用该技术分析一例左心发育不良女婴,准确判断出其核型为 46,XX,der(21)t(4;21)(q25;q22.3).ish(wcp4+;wcp21+)。此外,它作为一项研究工具日益受到细胞遗传学家的青睐,已用于很多需要对复杂畸变进行准确分析的案例中,如研究肿瘤或细胞系的细胞遗传学演化特点,研究相互易位的形成机制,以及确定来自微小转移灶细胞系的特点等<sup>[3,29,30]</sup>。目前,在基因研究领域,科学家倾向于将 M-FISH 与微阵列-比较基因组杂交(array-CGH)技术结合起来,分别利用其优势,如将 M-FISH 在探测复杂核型中的易位和标记染色体方面,CGH 在探测不平衡区域,发现隐匿缺失和扩增方面结合起来,给研究提供更大便利<sup>[31]</sup>。

SKY 与 M-FISH 技术由于原理和所得图像结果均相同,二者应用有很多交叉。M-FISH 和 SKY 技

术虽已广泛应用到细胞遗传学各个领域,但它们仍不能取代传统的显带分析技术,而将作为传统显带分析技术(如G-显带分析)的一项重要补充,使得核型分析结果更加准确、全面<sup>[3,31]</sup>。考虑到它们的优缺点,人们现在倾向于将其与其他细胞遗传学技术结合起来应用,尤其在临床细胞遗传学中<sup>[32-34]</sup>。Heng等<sup>[35]</sup>将G-显带分析与SKY及FISH技术组成一个体系用于分析标记染色体。在该体系中,当得到一个染色体标本时,首先要进行G-显带分析,如G-显带分析结果显示有复杂的易位或标记染色体时,则进一步进行SKY分析。大多数情况下,SKY分析可揭示出标记染色体的来源。但当出现较小的插入或易位片段,及较小的标记染色体或是带有臂间片段的标记染色体时,SKY可能会出现误判甚至会忽略,这时就需要进行单色或双色FISH分析来验证SKY分析结果。在该体系中,必须要遵循两个原则:首先,当G-显带分析已可以清楚地显示一个额外标记染色体时,应该直接进行FISH分析来判断G-显带分析的结果,SKY分析过程则应省略;其次,当FISH分析结果与SKY分析结果不一致时,应以FISH分析结果为准。这一系统分析结果的可靠性得到了很好的证实,更为重要的是,当依照该过程进行核型分析时,病人可以免除不必要的费用。

## 2.2 FISH-显带分析技术的应用

FISH-显带分析技术已广泛应用于临床与科学研究领域,每一项技术都有各自不同的应用范围。在临床基因组诊断及肿瘤细胞遗传学中它们可用于分析标记染色体和衍生染色体;在研究领域它们可以用来阐明核内结构,分析细胞系,应用于放射性物质对人类染色体影响及比较细胞遗传学的研究。但是,到目前为止,FISH-显带分析技术仅有人类染色体特异性探针系列,并没有鼠类染色体特异性探针,所以并未应用于研究鼠类染色体。表1显示了几种FISH-显带分析技术目前的应用范围。

表1 FISH-显带技术在人类基因诊断和研究中的应用范围

技术	细胞遗传学诊断		细胞系分析	核结构	放射性研究	染色体着色
	临床	肿瘤				
多色染色体条带码	+	+	+	+	-	-
交叉核素色带分析	+	+	+	-	-	+
多色显带技术	+	+	+	+	+	+
光谱色带分析	+	+	+	-	-	-

染色体着色(zoo-FISH),即从一个种类的单个染色体上分离得到的DNA被扩增,用荧光探针标记后,与另一种类的中期染色体进行原位杂交。可用于脊椎动物低解析度的比较基因组作图

## 3 多色-FISH技术的优缺点

### 3.1 多元-FISH和SKY技术的优缺点

经典的显带分析方法根据每条染色体独特的显带带型为我们提供了染色体特征和结构的信息。M-FISH及SKY,通过提供更多的核型信息及畸变染色体更全面的特征(这些畸变染色体内的DNA序列不能用传统的显带分析方法辨认出),进一步完善了恶性疾病的细胞遗传学评估。M-FISH和SKY技术的优点有:第一,快速分析中期染色体,即使是有多个染色体重排的复杂案例;第二,确认标记染色体。这些技术还被扩展到其他物种,如鼠类。而且,在M-FISH中,除了有涂染探针,还有各种的区域特异性探针。近来,M-FISH技术还用于三维研究,以分析人类染色体在完整保存的间期核中的分布<sup>[36]</sup>。所以,M-FISH和SKY技术已成为临床诊断和基础研究的不可缺少的工具。

在M-FISH和SKY技术的操作过程中,高质量的染色体标本制备是该技术成功的关键,如果染色体标本制备的质量不高(比如玻片陈旧或者在染色体周围有很多的细胞质),M-FISH和SKY分析就不能得到最佳的结果。所以,M-FISH和SKY分析的优点和局限性的体现在某种程度上取决于操作者的技术,当操作者有较全面的细胞遗传学知识,熟悉所分析物种的染色体显带带型,并且理解分析软件的工作原理时,就可能从实验所得图像中发现更多的信息<sup>[37]</sup>。

M-FISH和SKY技术的缺点有:第一,较传统显带分析技术所需费用多,因该技术需要昂贵的实验材料(探针)、实验设备和分析软件;第二,不能探测出染色体内畸变;第三,不能精确地确定染色体的断裂点;第四,对于微小易位探测能力也有限。此外,其对染色体片段起源的确认也只能以染色体为单位,分辨率低于G-显带分析技术。其中该技术费用昂贵是其最大的缺点,在一定程度上限制了其在临床诊断方面的应用。

### 3.2 FISH- 显带技术的优缺点

FISH- 显带技术是一系列发展中的分辨率更高的显带技术, 其在一定范围内克服了 M-FISH 技术的局限性, 可以用于更精确的染色体分析和基因定位, 是分子生物学家和分子遗传学家及细胞遗传学家有力的工具。但是由于其费用昂贵, 操作精细, 对实验仪器要求高, 目前还主要应用于研究领域。由于目前还未开发出其他物种的标记探针, 该技术的应用现在多集中于对人类染色体的分析上。

总之, 近几年来以 FISH 技术为基础的多色显带分析技术有了较大发展, 人们曾预测 Rx-FISH 技术和 MCB 技术将会是近几年来发展最快的技术<sup>[27]</sup>, 它们与其他的探针或探针系统结合将会获得更大的发展空间。随着 FISH- 显带分析技术的发展, 将会有越来越多的探针用于该技术领域, 将会需要更多计算机软件来判断可疑的异常 FISH- 显带带型。随着计算机辅助系统的发展, FISH- 显带分析技术将可能彻底改变细胞遗传学面貌, 新的间期 FISH- 显带分析技术也将会被开发成功, 并将作为一项常规诊断方法应用于临床, 从而使疾病的诊断更加准确。

#### 参考文献(References)

- [1] Speicher MR *et al.* *Nat Genet*, 1996, **12**: 368
- [2] Schrock E *et al.* *Science*, 1996, **273**: 494
- [3] Keamey L. *Cytogenet Genome Res*, 2006, **114**: 189
- [4] Karhu R *et al.* *Genes Chromosomes Cancer*, 2001, **30**: 105
- [5] Brown J *et al.* *Nat Med*, 2001, **7**: 497
- [6] Starke H *et al.* *Hum Genet*, 2003, **114**: 51
- [7] Nietzel A *et al.* *Hum Genet*, 2001, **108**: 199
- [8] Ried T *et al.* *Hum Mol Genet*, 1998, **7**: 1619
- [9] Lichter P. *Trends Genet*, 1997, **13**: 475
- [10] Macville M *et al.* *Histochem Cell Biol*, 1997, **108**: 299
- [11] Azofeifa J *et al.* *Am J Hum Genet*, 2000, **66**: 1684
- [12] Müller S *et al.* *Hum Genet*, 1997, **100**: 271
- [13] Müller S *et al.* *Cytogenet Genome Res*, 2006, **114**: 245
- [14] Liehr T *et al.* *Cytogenet Genome Res*, 2002, **97**: 43
- [15] Lee C *et al.* *Am J Hum Genet*, 2001, **68**: 1043
- [16] Lehrer H *et al.* *Cytogenet Genome Res*, 2004, **105**: 25
- [17] Müller S *et al.* *Hum Genet*, 2001, **109**: 85
- [18] Müller S *et al.* *Cytometry*, 1998, **33**: 445
- [19] Teixeira MR *et al.* *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, **119**: 94
- [20] Harrison CJ *et al.* *Genes Chromosomes Cancer*, 2001, **30**: 15
- [21] Liehr T *et al.* *Cytogenet Genome Res*, 2006, **114**: 240
- [22] Zhao L *et al.* *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, **118**: 108
- [23] Chudoba I *et al.* *Cytogenet Cell Genet*, 1999, **84**: 156
- [24] Chudoba I *et al.* *Cytogenet Genome Res*, 2004, **104**: 390
- [25] Weise A *et al.* *Cytogenet Genome Res*, 2003, **103**: 34
- [26] Kakazu N *et al.* *Cytogenet and Genome Res*, 2006, **114**: 250
- [27] Kakazu N *et al.* *Genes Chromosomes Cancer*, 2003, **37**: 412
- [28] Velinov M *et al.* *Am J of Med Genet*, 2002, **107**: 330
- [29] Elis R *et al.* *Cytogenet Cell Genet*, 1998, **82**: 160
- [30] Uhrig S *et al.* *Am J Hum Genet*, 1999, **65**: 448
- [31] Langer S *et al.* *Chromosome Res*, 2004, **12**: 15
- [32] Une T *et al.* *Acta Med Okayama*, 2006, **60**: 279
- [33] Langer S *et al.* *Am J Med Genet*, 2006, **4017**: 764
- [34] Aamot HV *et al.* *Br J of Haematol*, 2005, **130**: 809
- [35] Heng HH *et al.* *Clin Genet*, 2003, **63**: 358
- [36] Geigl JB *et al.* *Nat Protoc*, 2006, **1**: 1172
- [37] Padilla-Nash HM *et al.* *Nat Protoc*, 2006, **1**: 3129

## The Progress in M-FISH and Its Applications in Molecular Biological Medicine

Yue-Juan Xu, Lei Shen<sup>1\*</sup>, Peng-Jun Zhao

(Shanghai Children Medical Center, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China;

<sup>1</sup>Institute for Pediatrics, Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200092, China)

**Abstract** Classical banding methods, such as G-banding, provide basic information about the identities and structures of chromosomes on the basis of their unique banding patterns; remain the techniques of choice for the initial screening for karyotypic abnormalities. However, sometimes chromosomal rearrangements involves segments too small or too similarly banded to be detected or described adequately by these techniques. Multiplex fluorescence in situ hybridization (M-FISH), spectral karyotyping (SKY), and related FISH-banding techniques are chromosome-specific multicolor FISH techniques (mFISH) that augment cytogenetic evaluations by providing additional information and improved characterization of aberrant chromosomes that contain DNA sequences not identifiable using conventional banding methods. M-FISH and SKY are based on cohybridization of combinatorially labeled chromosome painting probes with unique fluorochrome signatures onto human metaphase chromosome

preparations. The difference between them is the image acquisition and analysis. They can give rapid analysis of metaphase spread even in complex cases with multiple chromosomal rearrangements, and identification of marker chromosomes. FISH-banding techniques were recently defined as “any kind of FISH technique, which provide the possibility to characterize simultaneously several chromosomal subregions smaller than a chromosome arm. FISH-banding methods fitting that definition may have quite different characteristics, but share the ability to produce a DNA-specific chromosomal banding”. While the standard chromosome banding techniques like GTG lead to a protein-related black and white banding pattern, FISH-banding techniques are DNA-specific, more colorful and, thus, more informative. FISH-banding methods have successfully been applied in research in evolution- and radiation-biology, as well as in all studies on the nuclear architecture. Moreover, their suitability for diagnostic purposes has been proven in prenatal, postnatal and tumor cytogenetics, indicating that they are important tool with potential to partly replace the conventional banding techniques in the future.

**Key words** M-FISH; SKY; FISH-banding; cytogenetics

---

Received: May 28, 2007 Accepted: August 9, 2007

This work was supported by Shanghai Municipal Science and Technology Commission (No.05ZR14067)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-65790000, Fax: 86-21-65153984, E-mail: shenlei801@126.com