

In situ Hybridisierung in der Infektionsdiagnostik

M. DÜNSER

Die Anwendung molekularbiologischer Verfahren gewinnt immer größere Bedeutung in vielen Bereichen der medizinischen Diagnostik. Vor allem im Bereich der Infektionsdiagnostik eröffnen Methoden wie die PCR (Polymerasekettenreaktion), Sequenzierverfahren aber auch die Hybridisierungstechniken völlig neue Perspektiven im Nachweis und in der Erforschung von Krankheitserregern.

Hybridisierungstechniken basieren auf der grundlegenden Eigenschaft der Nucleinsäuren, sich zu Doppelsträngen zusammenzufügen, sofern beide Einzelmoleküle über komplementäre Basensequenzen verfügen. Während bei Verfahren wie Slot/Dot-Blot, Southern- und Northern-Blot die Hybridisierungsreak-

tion auf Membranen durchgeführt wird, erfolgt diese bei der *in situ* Hybridisierung (ISH) direkt im biologischen Präparat. Damit kann Nucleinsäure gewissermaßen *in vivo* lokalisiert werden.

Mit dieser Technik lassen sich nicht nur grundlegende Untersuchungen und Analysen an Chromosomen anstellen, sondern auch Krankheitserreger (Viren, Bakterien, Pilze, Protozoen) in Geweben und Zellen lokalisieren.

So konnte bereits 1971 die DNA eines Papillomavirus *in situ* nachgewiesen werden. Durch ISH lässt sich ermitteln, ob Virussequenzen getrennt vom Genom der Wirtszelle, im Zytoplasma oder im Kern vorliegen, aber auch wie Virussequenzen repliziert, exprimiert und verbreitet werden.

Bei fehlenden immunologischen Nachweisverfahren kann in der Diagnostik auf die ISH zurückgegriffen werden.

Im Rahmen der Präsentation werden die methodischen Schritte der ISH am Beispiel eigener Laboranwendungen (*Lawsonia intracellularis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Porcines Circovirus) dargestellt.

Weiterführende Literatur

- LEITCH, A.R., SCHWARZACHER, T., JACKSON, D., LEITCH, I.J., 1994: *In situ* Hybridisierung, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- ROCHE, 1996: Nonradioactive *In Situ* Hybridization - Application Manual, Eigenverlag
- WILKINSON, D.G., 1998: *In Situ* Hybridization - a Practical Approach, Oxford University Press