

# Leitlinien für die molekulare und cytogenetische Diagnostik bei Prader-Willi-Syndrom und Angelman-Syndrom

## 1. Klinischer Hintergrund

Das Prader-Willi-Syndrom (PWS) und das Angelman-Syndrom (AS) sind distinkte neurogenetische Erkrankungen, die durch den Funktionsverlust elternspezifischer Gene im Bereich 15q11-q13 hervorgerufen werden. Neugeborene mit PWS haben oft ein etwas geringeres Geburtsgewicht und zeigen eine ausgeprägte muskuläre Hypotonie und Trinkschwäche. Im Säuglingsalter bessert sich die Störung der Nahrungsaufnahme und geht im Kleinkindalter in eine Hyperphagie über, die zu massiver Adipositas führen kann. Weitere Kennzeichen sind ein Hypogonadismus, Kleinwuchs, kleine Hände und Füße, eine meist moderate mentale Retardierung sowie Verhaltensprobleme. Patienten mit AS zeigen eine verzögerte Entwicklung, eine schwere mentale Retardierung, eine Ataxie und entwickeln in der Regel keine aktive Sprache. Weitere Symptome sind eine Mikrozephalie, spezifische EEG-Veränderungen, häufige Lachanfalle und ein ausgeprägtes freundliches Verhalten.

## 2. Wissenschaftlicher Hintergrund

Ein ca. 2 Mbp großer Bereich in 15q11-q13 (Abb. 1) unterliegt einer elternspezifischen Prägung (*genomic imprinting*). Infolge der Prägung unterscheiden sich die väterliche

und mütterliche Kopie dieses Bereichs in der DNA-Methylierung, der Histonmodifikation und der Genexpression. Die Prägung wird durch ein zweiteiliges *imprinting center* (IC) kontrolliert, das mit dem *SNRPN*-Gen überlappt. *SNRPN* und mehrere andere Gene werden nur vom väterlichen Chromosom 15 exprimiert. Der 5' Bereich dieser Gene ist auf dem väterlichen Chromosom unmethyliert und auf dem mütterlichen Chromosom methyliert. In Introns des *SNRPN*-Gens liegen zwei C/D box snoRNA-Gencluster (*SNORD115* und *SNORD116*, früher *HBII-52* und *HBII-85* genannt) sowie Einzelkopien weiterer snoRNA-Gene. Das *UBE3A*-Gen wird in den meisten Zellen bi-allelisch, im Gehirn aber nur vom mütterlichen Chromosom exprimiert.

## 3. Ätiologie von PWS und AS

PWS wird durch den Funktionsverlust von Genen hervorgerufen, die nur auf dem väterlichen Chromosom 15 aktiv sind. Der Funktionsverlust ist in mehr als 99% aller Patienten Folge einer 3-4 Mbp großen Deletion auf dem väterlichen Chromosom 15, einer maternalen uniparentalen Disomie (UPD) oder eines Imprintingfehlers (mütterliche Prägung des väterlichen Chromosoms). Ungefähr 10% der Imprintingfehler sind auf eine 8-200 kb große IC-Deletion zurückzuführen, die immer Exon 1

von *SNRPN* mit einschließt. Punktmutationen im IC wurden bislang nicht identifiziert. Kürzlich wurden zwei Patienten mit einer Deletion des *SNORD116*-Clusters beschrieben, die viele Merkmale des PWS zeigen (Sahoo et al., 2008; de Smith et al., 2009). In sehr seltenen Fällen wurde eine balancierte Translokation mit Bruchpunkt in 15q11-q13 beobachtet, wobei aber kein typisches PWS vorlag. Die Häufigkeit der verschiedenen Ursachen und das Wiederholungsrisiko sind in **■ Tabelle 1** angegeben.

AS wird durch den Funktionsverlust des mütterlichen Allels von *UBE3A* hervorgerufen. Neben einer 3-4 Mbp Deletion auf dem mütterlichen Chromosom 15, einer paternalen UPD 15 und eines Imprintingfehlers (väterliche Prägung des mütterlichen Chromosoms) kann *UBE3A* auch durch eine Genmutation und andere, bislang nicht geklärte Mechanismen inaktiviert werden (**■ Tabelle 2**). In einem Fall wurde eine auf *UBE3A* begrenzte Deletion nachgewiesen. Ungefähr 10% der Imprintingfehler sind auf eine 5-80 kb große IC-Deletion stromaufwärts von *SNRPN* Exon 1 zurückzuführen; in einem Fall wurde eine 1,5 Mbp große paracentrische Inversion mit Bruchpunkt im IC nachgewiesen. Punktmutationen im IC wurden bislang nicht identifiziert.

Generell ist das Wiederholungsrisiko für PWS und AS gering. Die 3-4 Mbp

Tabelle 1 Molekulare Klassen bei PWS						
Ätiologie	Paternale Deletion 15q11q13	Maternale UPD	Imprintingfehler		Paternale Deletion SNORD116	Balancierte Translokation
			IC Deletion	keine IC Deletion		
Häufigkeit	≈ 70 %	≈ 25–30 %	≈ 0.1 %	≈ 0.8 %	sehr selten	sehr selten
WR*	< 1%	< 1%	< 50 %	< 1 %	< 1% wenn <i>de novo</i>	< 1%

\* Wiederholungsrisiko bei normalen elterlichen Chromosomen

Tabelle 2 Molekulare Klassen bei AS						
Ätiologie	Maternale Deletion 15q11q13	Paternale UPD	Imprintingfehler		UBE3A Mutation	Andere
			IC Deletion Rearrangement	keine IC Deletion		
Häufigkeit	≈ 70 %	≈ 1 %	≈ 0.5 %	≈ 3.5 %	≈ 5 %	≈ 20 %
WR*	< 1%	< 1%	< 50 %	< 1 %	< 50 %	?

\* Wiederholungsrisiko bei normalen elterlichen Chromosomen

große Deletion und die UPD treten fast immer sporadisch auf. Bestimmte Chromosomenaberrationen bei einem Elternteil (z.B. eine Translokation unter Beteiligung des Chromosoms 15) können aber das Wiederholungsrisiko für eine dieser Aberrationen erhöhen. Imprintingfehler ohne IC-Deletion oder Rearrangement scheinen sporadisch zu sein. IC- und UBE3A-Mutationen können sporadisch und familiär auftreten. Bei familiärem Auftreten besteht ein Wiederholungsrisiko von 50%. Es ist zu beachten, dass IC- und UBE3A-Mutationen durch Nichterkrankte vererbt werden und auch bei entfernt verwandten Familienmitgliedern vorliegen können. Bei *de novo* IC- und UBE3A-Mutationen kann ein Keimbahnmosaik und damit ein eventuell erhöhtes Wiederholungsrisiko nicht ausgeschlossen werden.

#### 4. Diagnostische Strategie

Da erfahrungsgemäß bei den meisten Proben kein PWS oder AS vorliegt, beginnt die Diagnostik in der Regel mit der Methylierungsanalyse des SNRPN-Gens. Dieser Test ist auffällig bei einer Deletion 15q11q13, einer uniparentalen Disomie sowie einem Imprintingfehler, unterscheidet aber nicht zwischen den drei Ursachen. Kleine Deletionen (z.B. begrenzt auf das SNORD116 Gencluster bei Verdacht auf PWS oder das UBE3A-Gen bei Verdacht auf AS) werden mit einer methylspezifischen (MS) PCR nicht erfasst, können aber je nach Größe und Lokalisation mit einer MLPA-Analyse detektiert werden. Balancierte Translokationen

können molekulargenetisch nicht erfasst werden.

Der Methylierungstest identifiziert fast alle Patienten mit PWS und die meisten Patienten mit AS. Bei einem normalen Testergebnis ist deshalb ein PWS mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen. Dies trifft für AS nicht zu, da UBE3A-Mutationen und andere Mechanismen das Methylierungsmuster nicht verändern. Wird nach einem Normalbefund des Methylierungstests der klinische Verdacht auf AS aufrechterhalten, sollte eine UBE3A-Mutationsanalyse erfolgen. Wird bei dem Probanden eine UBE3A-Mutation nachgewiesen, wird auch der Mutter und gegebenenfalls weiteren Familienangehörigen die Untersuchung angeboten.

Ist der Methylierungstest auffällig und soll das Wiederholungsrisiko abgeschätzt werden, muss zwischen einer Deletion, einer uniparentalen Disomie und einem Imprintingfehler unterschieden werden. Wenn eine MLPA durchgeführt wurde, ist eine Deletion 15q11q13 schon nachgewiesen oder ausgeschlossen worden. Eine Deletion kann auch mittels Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH-Analyse) oder Mikrosatellitenanalyse nachgewiesen werden. Für die FISH-Analyse wird heparinisierendes Blut benötigt, für die Mikrosatellitenanalyse auch DNA der Eltern. Wird durch MLPA, FISH- oder Mikrosatellitenanalyse eine Deletion nachgewiesen, sollte bei PWS der Vater und bei AS die Mutter mittels FISH untersucht werden, um eine kryptische Translokation auszuschließen. Bei einem normalen FISH-Befund des Patienten muss mit Hilfe einer Mikrosatellitenanalyse zwischen

uniparentalen und biparentalen Chromosomen unterschieden werden.

Ein abnormaler Methylierungsbefund bei biparentalen Chromosomen ohne typische Deletion deutet auf einen Imprintingfehler hin. In diesem Fall sollte eine IC-Deletionsanalyse durchgeführt werden. IC-Deletionen werden durch die MLPA miterfasst. Wird bei dem Probanden eine IC-Deletion nachgewiesen, wird auch den Eltern (bei PWS dem Vater, bei AS der Mutter) und ggf. weiteren Familienangehörigen die Untersuchung angeboten.

Bei AS kann in einzelnen, seltenen Fällen eine schwache Methylierung zu sehen sein. Dies kann ein Hinweis auf ein somatisches Mosaik sein. Zur weiteren Abklärung ist eine Mikrosatellitenanalyse an DNA der Eltern und des Patienten erforderlich. Sollte diese ein biparentales Vererbungsmuster beim Patienten zeigen, deutet der Befund im Zusammenhang mit dem auffälligen Methylierungsmuster auf einen Imprintingdefekt im Mosaik hin.

Eine Chromosomenanalyse hat heutzutage keinen Stellenwert mehr für die primäre Diagnostik bei PWS und AS, ist aber als zusätzliche Untersuchungsmethode im Rahmen differentialdiagnostischer Überlegungen indiziert. Bei einer Deletion oder uniparentalen Disomie wird zur Abklärung einer Chromosomenaberration mit erhöhtem Wiederholungsrisiko die cytogenetische Untersuchung des Patienten und beider Eltern empfohlen.

Bei Vorliegen eines neu aufgetretenen überzähligen kleinen Markerchromosoms 15 muss an das zusätzliche Vorliegen einer Deletion auf einem der beiden Chromo-

mosomen 15 oder einer uniparentalen Disomie 15 gedacht werden (Liehr et al., 2005).

## 5. Testverfahren

### 5.1. MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification)

Mit der methylierungsspezifische (MS)-MLPA kann man das Methylierungsmuster an mehreren Stellen in 15q11q13 erfassen und eine Gendosisanalyse dieser Region durchführen. Das zur Zeit verfügbare MS-MLPA Kit (ME028-B1) enthält 32 Hybridisierungs sonden für die chromosomale Region 15q11q13 und 14 Referenzsonden aus anderen chromosomalen Bereichen, die als Kontrollsonden für die vergleichende Bestimmung der Gendosis dienen. Neun Hybridisierungs sonden sind methylierungssensitiv und enthalten eine *HhaI* Restriktionschnittstelle. Fünf dieser methylierungsspezifischen Sonden repräsentieren elternspezifisch methylierte Sequenzen aus der PWS/AS Region (vier für den *SNRPN* Promoter/ Exon 1/Intron 1 Bereich und eine für den *NDN* Locus. Zwei weitere Sonden aus dieser Region dienen als Methylierungskontrollen, eine aus den vollständig unmethylierten Promoterbereich des *UBE3A*-Gens und die andere vom vollständig methyliertem *SNORD116* Locus. Zusätzlich enthält das MLPA Kit noch zwei weitere methylierungssensitive Kontrollsonden für vollständig unmethylierte Sequenzen aus anderen chromosomalen Bereichen, die als Nachweis für eine vollständige *HhaI* Restriktion dienen. Die Methylierungsanalyse mittels MS-MLPA bietet gegenüber anderen Methoden, wie z.B. die MS-PCR, den Vorteil, dass die Methylierung an mehreren Stellen untersucht wird und deshalb das Risiko für ein falsch positives oder falsch negatives Ergebnis reduziert wird. Falls eine Sonde aufgrund eines Einzelnukleotidaustausches ausfällt, gibt es immer noch vier andere Sonden, die zur Auswertung genutzt werden können. Die Gendosisanalyse mittels MLPA lässt direkt erkennen, ob bei methylierungspositiven PWS- oder AS-Befunden eine *de novo* Deletion der PWS/AS Region vorliegt, was bei der Mehrzahl der Patienten (70%) der Fall ist. Weiterhin kann

man zwischen einer Klasse I und Klasse II Deletion unterscheiden. Auch atypische Deletionen können erkannt werden, sowohl atypisch kleine Deletionen, z.B. für das snoRNA Gencluster *SNORD116* als auch für die *UBE3A* Exons 1, 5, 6, 7, 8 und 13. Eine Dosisreduktion der Sonde für das telomerisch zur PWS/AS Region gelegene Gen *ABPA2*-Gen gibt einen Hinweis auf das Vorliegen einer atypisch großen Deletion.

Auch IC-Deletionen können mit der B1-Version des MLPA Kits detektiert werden. Das MLPA Kit enthält vier Sonden für die *SNRPN* Promoter, Exon 1 und Intron 1 Region, ein Bereich, der den kleinsten überlappenden Deletionsbereich bei PWS Patienten mit einer IC-Deletion repräsentiert (PWS-SRO). Weiterhin sind zwei weitere Sonden für Exon 3 und Exon 7 vorhanden, die in der Mehrzahl der IC-Deletionen ebenfalls deletiert sind. Es gibt zwei Sonden, die genutzt werden können, um IC-Deletionen bei Patienten mit AS und einem Imprintingfehler zu identifizieren. Beide Sonden liegen in dem kleinsten überlappenden Deletionsbereich von Patienten mit AS und einer IC-Deletion (AS-SRO).

Im Falle einer pränatalen Diagnostik sollte sich die Interpretation der Methylierungsergebnisse auf den *SNRPN* Locus beschränken. An diesem Locus ist die Methylierung in fetalem und extraembryonalen Geweben bereits vollständig etabliert. Für den *NDN* Locus wird zumindest in Chorionzotten bzw. kultivierten Chorionzellen eine Hypomethylierung beobachtet. Eine solche Hypomethylierung wird auch für eine sonst vollständig methylierte Sequenz am *SNORD116* Locus (Sonde: 12723-L13798) beobachtet.

### 5.2. Methylierungsspezifische PCR (MS-PCR)

Bei der Analyse wird die differentielle Methylierung am 5' Ende von *SNRPN* untersucht. Bei einer Normalperson ist das mütterliche Allel methyliert und das väterliche Allel unmethyliert. Für die Methylierungsanalyse eignet sich DNA aus EDTA-Blut, Chorionzotten und Amnionzellen des Probanden. *DI5S63* (PW71) sollte nicht mehr verwendet werden, da es ein Nullallel gibt und der Locus in Cho-

rionzotten und Amnionzellen untermethyliert sein kann. Für die Untersuchung wird eine methylspezifische PCR an bisulfitbehandelter DNA nach Kubota et al. (1997) oder Zeschnigk et al. (1997) empfohlen, in der das methylierte und das unmethylierte Allel getrennt dargestellt werden. Bei der PCR nach Kubota muss eine Duplex-PCR durchgeführt werden, da getrennte PCRs für das paternale und das maternale Allel bei somatischen Mosaiken zu falsch negativen Ergebnissen führen können. Bei der Bisulfitbehandlung ist darauf zu achten, dass die Lösungen arbeitstäglich frisch angesetzt werden. In jeder Bisulfit-Ansatzserie muss als Qualitätskontrolle der Bisulfitbehandlung eine Normalkontrolle mitgeführt werden. Die PCR muss so optimiert sein, dass die beiden Banden bei Normalkontrollen in annähernd gleicher Intensität vorhanden sind. In jeder PCR-Testreihe müssen eine Leerkontrolle, eine Normalkontrolle und eine Positivkontrolle für PWS sowie eine für AS mitgeführt werden. Ist sowohl eine methylierte als auch eine unmethylierte Bande vorhanden, handelt es sich um einen Normalbefund. Bei einer *de novo* Deletion 15q11q13, einer uniparentalen Disomie 15 oder einem Imprintingfehler fehlt entweder die mütterliche Bande (AS) oder die väterliche Bande (PWS).

Obwohl die DNA-Sequenz am 5' Ende des *SNRPN*-Gens hochkonserviert ist, gibt es einzelne sehr seltene Sequenzvarianten innerhalb der Primerbindungsstellen für beide genannten Testverfahren (Kubota et al. 1997 und Zeschnigk et al. 1997). Dies kann zu PCR Ausfällen für einzelne Allele und damit zu falsch positiven Ergebnissen führen.

### 5.3 Alternative Methoden zur Methylierungsuntersuchung am *SNRPN* Locus

Alternative Methylierungsanalysen sind

- i) eine PCR nach Restriktion mit einem methylierungssensitiven Enzym an genomischer DNA (Chotai et al., 2000),
- ii) eine methylierungssensitive Schmelzkurvenanalyse (White et al., 2007) sowie
- iii) eine speziellen Form der Sequenzierung (Pyrosequencing, White et al., 2007). Diese Methoden werden zwar nur wenig genutzt, sind aber in einigen Laboren er-

folgreich für die molekulargenetische Diagnostik etabliert worden.

#### 5.4. Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH)

Für die Präparation von Metaphase-Chromosomen wird Heparin-Blut benötigt. Als Sonden für die FISH-Analyse werden *SNRPN* und *UBE3A* empfohlen. Für den distalen Bereich von 15q11-q13 stehen auch andere Sonden zur Verfügung (z.B. *DI5S10* und *GABRB3*), mit denen aber eine auf *UBE3A* begrenzte Deletion übersehen würde. Zur Identifizierung des Chromosoms 15 wird eine Sonde für einen distal gelegenen Locus, z.B. *PML* verwendet. Ist ein Chromosom 15 negativ für *SNRPN* und *UBE3A*, liegt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit eine typische 3-4 Mbp Deletion vor. Ist nur *SNRPN* deletiert, kann es sich um eine größere PWS IC-Deletion handeln.

#### 5.5. Mikrosatellitenanalyse

Für die Mikrosatellitenanalyse wird DNA des Probanden und der Eltern benötigt. Es werden Loci innerhalb des typischen Deletionsbereichs („interne Marker“) und Loci außerhalb des typischen Deletionsbereichs („externe Marker“) untersucht. Als interne Marker werden *DI5S54I*, *DI5S817*, *DI5S128*, *DI5S122*, *DI5S986*, *DI5S1234* und *DI5S822* empfohlen. Als externe Marker werden *DI5S1007*, *CYP19*, *DI5S216*, *DI5S100* und *FES* empfohlen. Wegen möglicher Nullallele und anderer Probleme sollten *DI5S542* und *DI5S113* nicht benutzt werden. Beim Marker *DI5S817* können in einigen Fällen drei Allele beobachtet werden. Das kann man weitestgehend vermeiden, wenn man Primer verwendet, die in ihrer Sequenz von den ursprünglich beschriebenen Primern abweichen (siehe unten). Bei Nachweis eines abnormalen Methylierungsmusters sollte mindestens ein interner Marker und ein externer Marker informativ sein. Fehlt bei internen Markern ein elterliches Allel, während bei externen Markern Allele beider Eltern nachweisbar sind, handelt es sich um eine Deletion. Fehlt bei internen und bei externen Markern ein elterliches Allel, handelt es sich um eine UPD. Bei einer UPD können isodisome und hetero-

disome Bereiche vorkommen. Sind bei internen und externen Markern Allele beider Eltern nachweisbar, handelt es sich bei Vorliegen eines abnormalen Methylierungsmusters um einen Imprintingfehler.

Alternative Primer für *DI5S817*:

DI5S 817 rA2 5'-GGTCAGCCTC-CATAATCA-3'

DI5S 817 fB2 5'-TGGAACCAATAG-GATAGACAC-3'

#### 5.6. UBE3A Mutationsanalyse

Bei einem unauffälligen Methylierungstest können bei etwa 5% der Patienten mit einem Angelman-Syndrom Mutationen im *UBE3A*-Gen nachgewiesen werden. Das *UBE3A*-Gen besteht aus 16 Exons mit dem Translationsstartkodon in Exon 7. Für das *UBE3A*-Gen sind verschiedene Mutationstypen wie „missense“-Mutationen, „nonsense“-Mutationen, Spleißmutationen, kleine Deletionen, kleine Insertionen sowie eine Gendelektion beschrieben (The human gene mutation database, HGMD).

Die Mutationsanalyse im *UBE3A*-Gen erfolgt in der Regel durch eine Sequenzanalyse der kodierenden Bereiche einschließlich der angrenzenden Exon-Intronübergänge. Der Sequenzanalyse können auch Screeningverfahren wie beispielsweise eine DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) oder HRM (High resolution melting), die eine Sensitivität von über 95% ausweisen, vorangestellt werden. Andere Screeningverfahren wie z.B. eine SSCP-Analyse (single strand conformation polymorphism) sind aufgrund der deutlich geringeren Sensitivität nach jetzigem Stand der Technik nicht mehr geeignet. Exonübergreifende Deletionen können mit einer Sequenzanalyse und den genannten Screeningverfahren methodisch bedingt nicht erfasst werden.

Bei Nachweis einer bekannten Mutation sollte zur Bestimmung des Wiederholungsrisikos eine DNA-Untersuchung bei der Mutter durchgeführt werden. Ist die Mutation nicht bekannt, sollten zunächst zur Abklärung einer möglichen Pathogenität der Genveränderung beide Eltern und ggf. weitere Familienangehörige

untersucht werden. Dies ist insbesondere beim Nachweis einer „missense“-Mutation erforderlich. Bei vererbaren Mutationen im *UBE3A*-Gen ist ein Wiederholungsrisiko von 50% bei weiteren Nachkommen und möglicherweise ein erhöhtes Risiko für andere Familienangehörige gegeben. Im Rahmen einer Schwangerschaft kann bei bekannter Mutation eine pränatale Diagnostik angeboten werden. Dabei ist das Angebot einer humangenetischen Beratung verpflichtend.

## 6. Literatur

- Chotai, K.A., Payne, S.J. (1998) A rapid, PCR based test for differential molecular diagnosis of Prader-Willi and Angelman syndromes. *J Med Genet.* 35, 472-475. Erratum in: *J Med Genet* 37, 399.
- Kubota T, Das S, Christian SL, Baylin SB, Herman JG, Ledbetter DH (1997) Methylation-specific PCR simplifies imprinting analysis. *Nat Genet.* 16:16-17.
- Liehr T, Brude E, Gillissen-Kaesbach G, König R, Mrasek K, von Eggeling F, Starke H (2005) Prader-Willi syndrome with a karyotype 47,XY,+min(15)(pter->q11.1:) and maternal UPD 15-case report plus review of similar cases. *Eur J Med Genet.* 48:175-181
- Nygren, A.O., Ameziane, N., Duarte, H.M., Vijzelaar, R.N., Waisfisz, Q., Hess, C.J., Schouten, J.P., Errami, A. (2005). Methylation-specific MLPA (MS-MLPA): simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences. *Nucleic Acids Res.* 33, e128.
- Sahoo T, del Gaudio D, German JR, Shinawi M, Peters SU, Person RE, Garnica A, Cheung SW, Beaudet AL. (2008) Prader-Willi phenotype caused by paternal deficiency for the HBII-85 C/D box small nucleolar RNA cluster. *Nat Genet.* 40:719-21.
- de Smith AJ, Purmann C, Walters RG, Ellis RJ, Holder SE, Van Haelst MM, Brady AF, Fairbrother UL, Datani M, Keogh JM, Henning E, Yeo GS, O'Rahilly S, Froguel P, Farooqi IS, Blakemore AI. (2009) A deletion of the HBII-85 class of small nucleolar RNAs (snoRNAs) is associated with hyperphagia, obesity and hypogonadism. *Hum Mol Genet.* [Epub ahead of print].
- Zeschnick M, Lich C, Buiting K, Doerfler W, Horsthemke B (1997) A single-tube PCR test for the diagnosis of Angelman and Prader-Willi syndrome based on allelic methylation differences at the *SNRPN* locus. *Eur J Hum Genet.* 5:94-98.
- White, H.E., Hall, V.J., Cross, N.C. (2007) Methylation-sensitive high-resolution melting-curve analysis of the *SNRPN* gene as a diagnostic screen for Prader-Willi and Angelman syndromes. *Clin Chem.* 53, 1960-1962.
- White, H.E., Durston, V.J., Harvey, J.F., Cross, N.C.P. (2006) Quantitative Analysis of *SNRPN* Gene Methylation by Pyrosequencing as a Diagnostic Test for Prader-Willi Syndrome and Angelman Syndrome. *Clin Chem.* 52: 1005-1013.
- Malzac P, Webber H, Moncla A, Graham JM, Kukulich M, Williams C, Pagon RA, Ramsdell LA, Kishino T, Wagstaff J. (1998) Mutation Analysis of *UBE3A* in Angelman Syndrome Patients. *Am J Hum Genet.* 62: 1353-1360.

## Verfahren zur Konsensbildung

Die **Erstellung der vorangegangenen Version** dieser Leitlinie erfolgte 2001 durch folgende Personen:

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Horsthemke  
Institut für Humangenetik, Essen  
(Ringversuchsleiter Molekulare Diagnostik von PWS und AS)  
PD Dr. med. Oliver Bartsch  
Institut für Klinische Genetik, Mainz  
(Ringversuchsleiter Locus-spezifische FISH-Diagnostik)  
Dr. med. Joachim Bürger  
Institut für Humangenetik, Berlin  
Dr. rer. nat. Karin Buiting  
Institut für Humangenetik, Essen  
PD Dr. med. Gabriele Gillissen-Kaesbach  
Institut für Humangenetik, Lübeck  
Dr. rer. nat. Bart Janssen  
Institut für Humangenetik, Heidelberg

**Erstveröffentlichung:** medgen 13 (2001) 71-73

**Verabschiedung der aktualisierten Version nach Beendigung des Public Reviewing Verfahrens durch:**

**Deutsche Gesellschaft für Humangenetik (GfH)**

Vorsitzender: Prof. Dr. A. Reis  
Institut für Humangenetik  
Universität Erlangen-Nürnberg

**Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH)**

Präsident: Dr. Bernt Schulze, Hannover  
**Leitlinien-Kommission der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik**

Prof. Dr. Manfred Stuhmann-Spangenberg,  
Hannover (Sprecher)

PD Dr. Thomas Liehr, Jena  
PD Dr. Barbara Fritz, Marburg  
(Delegierte des BVDH)  
Dr. Dieter Gläser, Neu-Ulm  
(Delegierter des BVDH)

**1. Überarbeitung: 2009** durch Dr. rer. nat. Karin Buiting (Institut für Humangenetik, Essen) Dr. biol. hum. Dieter Gläser (Genetikum, Neu-Ulm) und Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Horsthemke (Institut für Humangenetik, Essen) unter Mitwirkung durch die GfH-Leitlinienkommission

**2. Überarbeitung im Online-Review-Verfahren:** 15.2.-15.4.2010 durch GfH-Mitglieder

**Verabschiedung:** 3.5.2010 durch den Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik

**Geplante Überprüfung: März 2015**

# Hier steht eine Anzeige.