

PROGRAMA DE CURSO DE CURTA DURAÇÃO

CÓDIGO		CURSO	
-		HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA <i>IN SITU</i>	
CRÉDITOS	CARGA HORÁRIA	PROFESSOR	
Teóricos	-	DR. CLÁUSIO ANTÔNIO FERREIRA DE MELO BAL. OHANA LUIZA SANTOS DE OLIVEIRA	
Práticos	-		
Total	12		

EMENTA

Introdução a citogenética molecular. Aplicação da técnica Hibridização Genômica *in situ* (GISH) em plantas. Princípios práticos da GISH: definição e escolha do DNA de bloqueio, extração, quantificação e purificação de DNA genômico para bloqueio e preparo de sondas; elaboração de sondas genômicas; preparo e tratamento de lâminas pós-hibridização; preparo e escolha do mix de hibridização; variações de mix de hibridização; estringência e banhos pós-hibridização; detecção e escolha de fluorocromos; banhos pós-deteção; escolha de meios de montagem. Observação, registro e análise dos resultados de GISH.

OBJETIVOS

- 1) Introduzir os princípios e fundamentos teóricos da citogenética molecular.
- 2) Discutir as aplicações da técnica de hibridização genômica *in situ* (GISH) em plantas.
- 3) Discutir os passos e as práticas laboratoriais necessárias para a aplicação da GISH.
- 4) Indicar as principais dificuldades e os pontos de checagem necessários para a aplicação da técnica.
- 5) Discutir os modos de observação, registro e análise dos resultados.

METODOLOGIA

Será realizada a exposição dos tópicos referentes ao tema com o recurso multimídia (projeter). Os principais passos práticos serão expostos em laboratório de citogenética.

CONTEÚDO PROGRAMÁTICO**1. INTRODUÇÃO A CITOGENÉTICA MOLECULAR**

Abordar a citogenética molecular em plantas, Hibridização *in situ* Fluorescente e a Hibridização Genômica *in situ*.

2. APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA *IN SITU*

Discutir a aplicação da GISH no estudo citotaxonômico, filogenético e no melhoramento de plantas.

3. PRINCÍPIOS PRÁTICOS DA HIBRIDIZAÇÃO GENÔMICA *IN SITU*

Considerações sobre o DNA de bloqueio, elaboração de sondas genômicas, preparo e tratamento de lâminas, mix de hibridização, estringência e banhos pós-hibridização, fluorocromos e detecção, banhos pós-deteção, meios de montagem.

4. OBSERVAÇÃO DE LÂMINAS E ANÁLISE DOS RESULTADOS.

Escolha de filtro de fluorescência, sobreposições de imagens sonda/contra coloração, *software* para a exposição dos resultados.

CRONOGRAMA

13/10/2015

Teoria:

- Introdução a citogenética molecular.
- Aplicação da hibridização genômica *in situ*.
- Considerações sobre o DNA de bloqueio.
- Preparo de sondas genômicas.
- Preparo e tratamento de lâminas.

14/10/2015

Prática:

- Extração de DNA.
- Quebra do DNA genômico para bloqueio e para a elaboração de sondas genômicas.
- Quantificação e cálculos de concentração do DNA de bloqueio.
- Precipitação e diluições do DNA de bloqueio.

15/10/2015

Teoria:

- Mix de hibridização.
- Estringência e condução de processos pós-hibridização
- Fluorocromos de deteção.
- Processos pós-deteção.
- Meios de montagem.

16/10/2015

Prática:

- Observação de lâminas e análise dos resultados.
- Computação gráfica para a exposição dos resultados.