



PROGRAMA DE DISCIPLINA

CÓDIGO		DISCIPLINA	
CIB708		CITOGÉNÉTICA MOLECULAR EM PLANTAS	
CRÉDITOS	CARGA HORÁRIA	PROFESSOR (A)	
Teóricos	2	CLÁUSIO ANTÔNIO FERREIRA DE MEO	
Práticos	-		
Total	2		
	30h		
	-		
	30h		

EMENTA

Conceitos e aplicações de citogenética molecular. Características do cromossomo eucarioto. A técnica de hibridação fluorescente *in situ*. Prospecção de sequências de DNA para localização *in situ*. Aplicações das metodologias de FISH para estudos de diferenciação cariotípica e de GISH para identificação de genomas genitores em híbridos. Variações da metodologia de FISH e suas aplicações

OBJETIVOS

GERAIS:

- Fornecer ao aluno fundamentação teórica básica para a aplicação da metodologia de hibridação *in situ*.
- Possibilitar a discussão sobre as técnicas de FISH e GISH que auxiliem no entendimento para sua utilização.

ESPECÍFICOS:

- Analisar de forma crítica as aplicações da citogenética molecular.
- Compreender as metodologias de hibridação *in situ* fluorescente e suas variações.
- Compreender os princípios de prospecção, marcação e utilização de sondas de DNA (homólogas e heterólogas)
- Entender mecanismos de FISH heteróloga e cálculos de estringência.
- Identificar sequências de DNA aplicadas aos estudos de evolução cariotípica nas populações.
- Reconhecer a importância da citogenética molecular aplicada à citotaxonomia das espécies e diferenciação populacional.

METODOLOGIA

Aulas expositivas e participativas. Exploração de ilustrações e esquemas. Aplicação de exercícios. Leitura e discussão de artigos científicos. Discussão de temas.

AVALIAÇÃO

Realizada de forma qualitativa pela participação do aluno em seminários e discussão de textos científicos, e quantitativa pela correção de questões escritas.

CONTEÚDO PROGRAMÁTICO

CRÉDITO I:

- Princípios básicos da técnica de hibridação *in situ* e preparo adequado da lâmina com o DNA-alvo.
- Tipos de sondas: seqüências repetitivas organizadas em tandem, DNA repetitivo disperso, sondas de seqüências únicas ou de poucas cópias, DNA genômico total, cromossômica.
- Obtenção, tamanho e amplificação da sonda.
- Métodos de marcação da sonda: nick-translation e random primers.
- Hibridação *in situ*: mistura de hibridação.
- Níveis de estringência e lavagens pós-hibridação.
- Detecção dos sítios de hibridação: reconhecimento e sinalização.
- Fluorocromos utilizados em FISH e FGISH; amplificação do sinal.

CRÉDITO II:

- Marcação e detecção simultânea de duas ou mais sondas.
- Análise do(s) sinal(is) de hibridação.
- Hibridação *in situ* fluorescente genômica.
- Utilização de fibras distendidas para FISH de alta resolução.

Problemas que impedem a otimização dos resultados.

- Estrutura física e manutenção do laboratório para o emprego de citogenética molecular – condições de armazenamento de substâncias.

Riscos na manipulação de produtos químicos e biológicos e prevenção contra danos à saúde.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Bass, H.W; Birchler, J.A. **Plant Cytogenetics - Genome Structure and Chromosome Function**. New York: Springer. 345p. 2012.

Darby, I.A. ***In situ* hybridization protocols**. New Jersey: Munana Press. 343p. 2000.

Fukui, K.; Nakayama, S. **Plant chromosomes – laboratory methods**. Boca Raton: CRC Press, Inc. 274p. 1996.

Fukui, K.; Ushiki, T. **Chromosome nanoscience and technology**. Boca Raton: CRC Press, Inc. 267p. 2008.

Guerra, M. **FISH – conceitos e aplicações**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 176p. 2004.

Jauhar, P.P. **Methods of genome analysis in plants**. Boca Raton: CRC Press, Inc. 386p. 1996.

Rogatto, S.R. **Citogenética sem risco – biossegurança e garantia de qualidade**. Ribeirão Preto: FUNPEC-RP. 170p. 2000.

Schwarzacher, T.; Heslop-Harrison, P. **Practical *in situ* hybridization**. New York: Springer-Verlag New York Inc. 203p. 2000.

Sharma, A.K.; Sharma, A. **Plant chromosomes – analysis, manipulation and engineering**. Amsterdam: Harwood Academic Publishers. 371p. 1999.

Sumner, A.T. **Chromosomes - organization and function**. Malden: Blackwell Publishing. 287p. 2003.

Wilkinson, D.G. ***In situ* hybridization – a practical approach**. Oxford: Oxford University Press. 224p. 1998.

*Periódicos especializados na Área de Genética/Citogenética: Chromosome Research; Cytogenetic and Genome Research; Genética; Heredity, Genetics and Molecular Research; outros.

ORÇAMENTO (MATERIAL NECESSÁRIO)

Não há.

**PREVISÃO DE VIAGENS
(PERÍODO E ROTEIRO)**

Não há.