



**Universidade Federal de Viçosa**  
**Departamento de Genética e Melhoramento**  
**FIT 798 – Seminários em Genética e Melhoramento**  
**Seminário de Projeto**

**Prelecionista:** Paulo Zanchetta Passamani

**Orientador:** Prof. Carlos Roberto de Carvalho

**Metodologia para a Construção de Sondas Cromossomo-Específicas Utilizando DOP-PCR**

A micromanipulação cromossômica tem sido muito utilizada em pesquisas na área de citogenética molecular para a obtenção de sondas cromossomo-específicas em estudos de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). Essas sondas podem ser empregadas para estudos de homologia e rearranjos cromossômicos. A maioria dos trabalhos envolvendo essa técnica utiliza uma grande quantidade de cromossomos microdissectados, o que se torna um empecilho para o caso de estudos em plantas, uma vez que a maioria das espécies apresentam cariótipos homomórficos e a obtenção de uma grande quantidade de metáfases por lâminas é laboriosa. Estudos envolvendo a obtenção de sondas cromossomo-específicas têm demonstrado melhores resultados em humanos. Porém com a utilização de um número grande de cromossomos micromanipulados (10 a 20 cromossomos). Assim, é necessário o estabelecimento de uma metodologia adequada para a obtenção de sondas cromossomo-específicas a partir de um único molde microdissectado. Este trabalho tem como objetivo a padronização de uma metodologia para construção de sondas cromossomo-específicas a partir de um único cromossomo microdissectado de metáfases de humanos, para posterior aplicação em plantas de interesse agrônomico, filogenético e evolutivo. As metáfases serão obtidas a partir de cultura de linfócitos humanos. As lâminas contendo os cromossomos humanos serão submetidas a uma reação de polimerização *in situ* (PRINS), amplificando a quantidade de molde de cada cromossomo. Esses moldes para as sondas serão microdissectados por meio de um sistema de micromanipulação acoplados a um microscópio invertido. Após a obtenção do cromossomo microdissectado, será realizada uma amplificação utilizando iniciadores degenerados (DOP-PCR). Em paralelo, será realizada a micromanipulação de cromossomos a partir de lâminas que não foram tratados com a reação de PRINS. Estes cromossomos serão submetidos a duas reações de DOP-PCR, sendo a primeira idêntica à reação de PRINS. O material amplificado será marcado por meio de uma terceira reação de DOP-PCR, utilizando nucleotídeos marcados com fluorocromos. A sonda obtida será utilizada na técnica de FISH para

verificar a eficiência da metodologia na marcação de um par de homólogos. Após o estabelecimento desta técnica, ela será aplicada em cromossomos de plantas.

---

Paulo Zanchetta Passamani  
(Prelecionista)

---

Prof. Carlos Roberto de Carvalho  
(Orientador)