



## Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal

### Protocolo para ND-FISH

Adaptado de Cuadrado *et al.* (2009) *Chromosome Research* 17:755-762

1. Preparar lâminas como para FISH
2. Adicionar 30  $\mu$ l da solução de hibridização contendo 2 pmol (25 ng) de cada sonda em 2 $\times$  SSCe cobrir com lamínula.
3. Manter as lâminas em câmara úmida por 2h à temperatura ambiente, protegidas da luz.
4. Retirar lamínula com um jato de 2 $\times$  SSC e colocar as lâminas em um borel com 4 $\times$  SSC/0.2% Tween20, à temperatura ambiente por 10 min.
5. Montar lâminas em DAPI/Vectashield e analisar no microscópio.

Obs. 1: As lâminas podem ser reibridizadas utilizando a mesma técnica ou com a técnica tradicional

Obs. 2: Para coloração CMA/DAPI simultânea, inserir a colocação com CMA antes da etapa 5, após envelhecer a lâmina por 3 dias, e guardando-a por 3 dias antes de fotografar.