

## Imunofluorescência – beta-tubulina

1. Lavar com PBS 5 min.
2. Fixar as células com PFA 4% 20min;
3. Lavar com PBS 5 min.
4. Permeabilizar as células com Triton X-100, um detergente forte, diluído a 1% em PBS (PBStx) 5 min.
5. Lavar com PBS/0,1% tween-20 (PBSt) 5 min.
6. Bloquear as ligações não específicas com 10% de NGS diluído em PBSt durante 1h, RT.
7. Incubar com o anticorpo primário anti- $\beta$ -tubulina (goat-anti-rabbit) 1:1000 em solução de bloqueio O.N. a 4°C.
8. Lavar com PBSt 4x5'.
9. Incubar com anticorpo secundário anti-rabbit Alexa®488 diluído 1:1000 em solução de bloqueio, 1h, RT (a partir deste ponto, proteger da luz).
10. Lavar com PBSt 4x5'.
11. Incubar os cortes com DAPI uns segundos para a marcação nuclear.
12. Lavar com PBSt.
13. Montar as lamelas em lâminas com uma solução de Glicerol-PBS (3:1).

