

## ANEXOS

### **Tampão acetato 0,1M**

3,66 grs de acetato de sódio anidro

690 µl de ácido acético

500 ml de água destilada

### **Di-sódio-tartarate dihidratado 0,5M**

11,504 grs de di-sódio-tartarate dihidratado

100 ml de água destilada

### **Solução de pré-incubação**

27 ml do tampão acetato de sódio

3 ml de di-sódio-tartarate dihidratado

### **Base da solução de revelação**

24 ml do tampão acetato de sódio

6 ml de di-sódio-tartarate dihidratado

### **Solução de pararosaniline (PRS)**

1 grs de PRS

5,75 ml de ácido clorídrico

19,25 ml de água destilada

Dissolver aquecendo e guardar no escuro a 4°C.

### **Cloreto de Magnésio a 2%**

1 grs de MgCl<sub>2</sub>

50 ml de água destilada

### **Solução de Naphthol AS-TR Phosphate (N-AS-TR-P)**

2 mg de N-AS-TR-P

2 ml de dimetil formadida

Guardar no escuro a -20°C.

**Nitrato de sódio (NaNO<sub>2</sub>) a 4%**

2 grs de NaNO<sub>2</sub>

50 ml de água destilada

**PRS Hexazolizada**

1 ml de PRS

2 ml de NaNO<sub>2</sub> a 4%

Adicionar os compostos imediatamente antes de usar.

**Solução de revelação**

30 ml da base da solução de revelação

1 ml da PRS hexazolizada

600 µl da MgCl<sub>2</sub> a 2%

2 ml de N-AS-TR.P

**Working Solution**

5 ml de tampão fosfato

70 µl de 1×DAB

70 µl de 1×Níquel

70 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 0,3%

Agitar muito bem e colocar imediatamente sobre a lâmina.

**Paraformaldeído (PFA) 4% (1L)**

40g de PFA

100 µl de NaOH 5M

900 ml de água estéril

Aquecer com agitação a 65°C até dissolver completamente. Deixe arrefecer até à temperatura ambiente e adicionar 100 µl de tampão fosfato 1M. Acertar o pH a 7,4 e guardar, no máximo duas semanas, no frigorífico. Utilizar frio.

**Solução de PBS (1L)**

12,46 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 4,8 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 75,97 g NaCl

Dissolver em 800 ml de H<sub>2</sub>O DEPC. Ajustar o pH 7.0. Complementar até perfazer um litro e autoclavar. O PBS 1x é preparado através da diluição em água bi-destilada

**TCT (50 ML)**

50 ml de PBS, 0,3 g de carragenine e 250 µl de triton X-100.

Adicionar 25 ml de PBS aos restantes reagentes e guardar durante a noite. Ajustar o volume com o restante PBS, guardar a 4°C.