

## **Protocolo Sulforodamina B p/ Amebas**

=> Após 24 horas de interação composto-amebas

1. Adicionar 50 uL (para volume final de 200uL) de ácido tricloroacético (TCA) 50% w/v gelado e incubar a 4°C por 1 hora.
2. Descartar o sobrenadante e lavar 3x com H<sub>2</sub>O. Secar a temperatura ambiente (aproximadamente 10 min).
3. Adicionar 25uL de SRD B (1% w/v em 1% ácido acético em H<sub>2</sub>O) e incubar por 15 min.
4. Remover a SRD B lavando 3x com ácido acético 1%. Secar a temperatura ambiente (aproximadamente 10 min.).
5. Adicionar 150uL de tris base (10mM, pH 10.5) e agitar levemente por 10 min.
6. Ler a 562 nm.

Tris base (PM 121,14)

Dissolver 240 mg em 200 mL de água destilada e ajustar o pH para 10.5