

# GÉNIE ENZYMATIQUE

## TP 2

**Dr. Amari Salima**

**Master II Microbiologie appliquée**

Méthode de biuret 1949 (liaisons peptidiques)

Méthode de Lowry (1951)

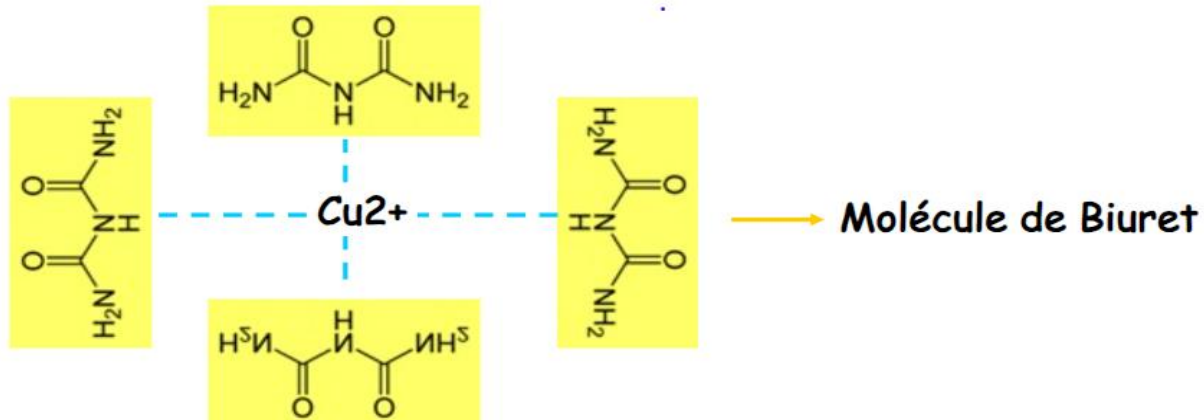
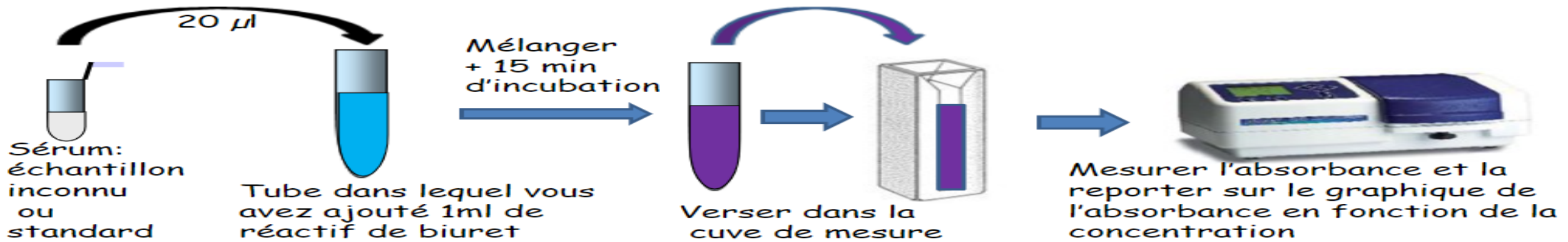
Méthode de Bradford

Méthode de BCA (dosage avec l'acide bicinchonique)

Absorption UV à 280 nm



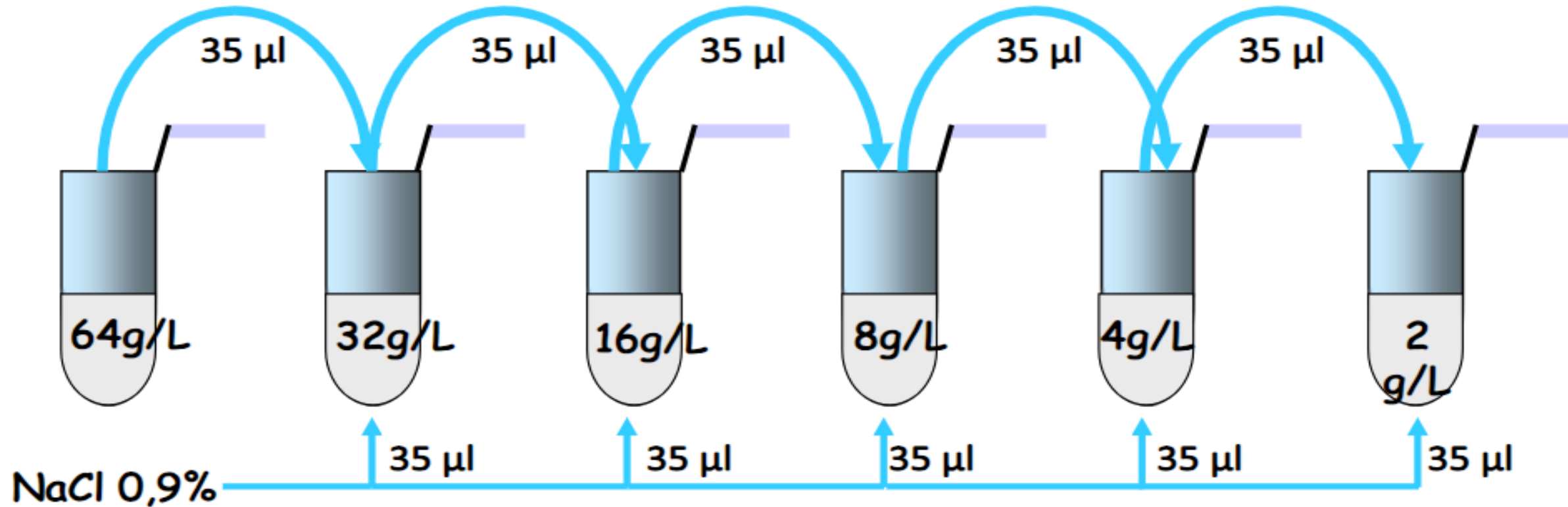
Schéma global



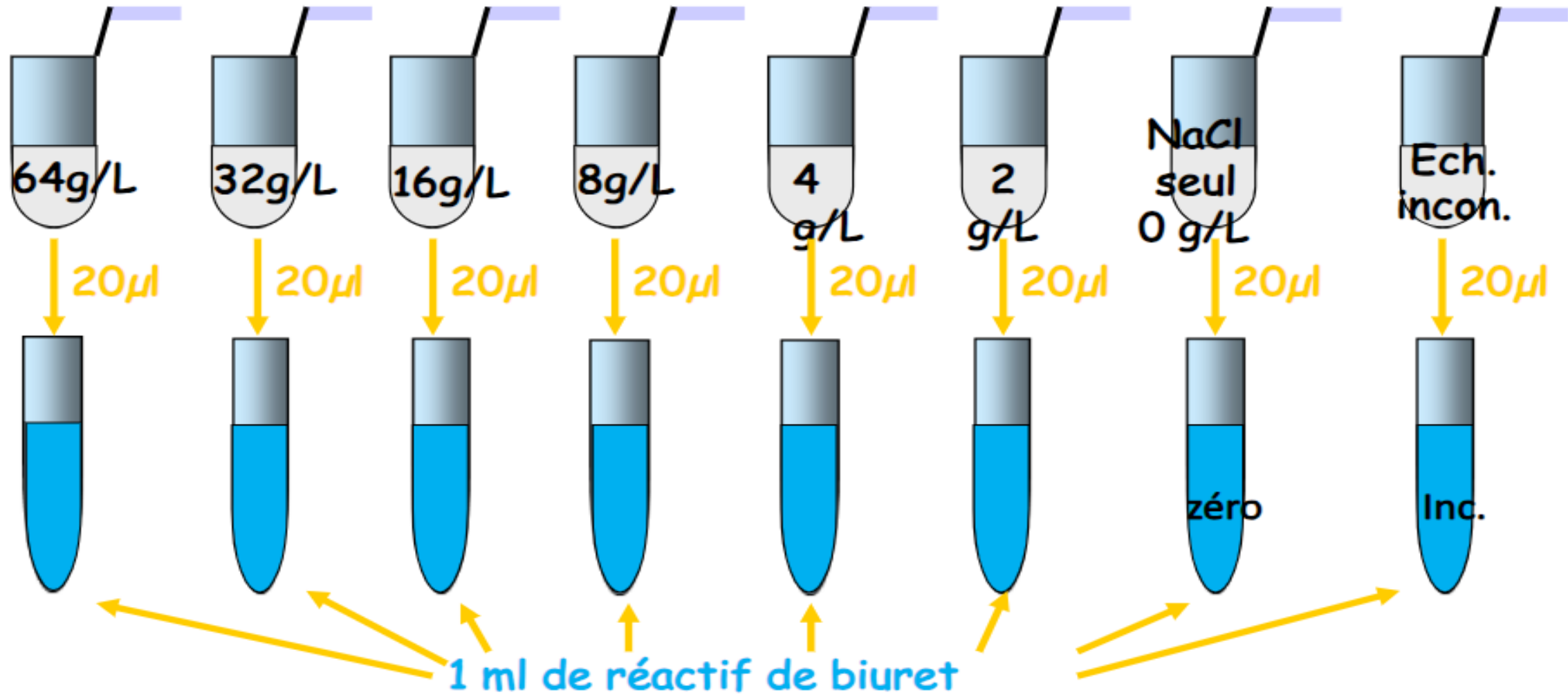
La méthode de Biuret basée sur la réaction entre les liaisons peptidiques des protéines et un métal de transition pour former un complexe coloré sable. Les ions  $\text{Cu}^{2+}$  (ajoutés sous forme de sulfate de cuivre) se lient aux atomes d'azote de ces liaisons dans des conditions de pH alcalin, produisant ainsi un complexe de couleur mauve avec absorption maximale à 540-550 nm

Première partie de la manipulation: réalisation des dilutions pour la courbe standard.

On va faire des dilutions de 2 en 2 avec du NaCl 0,9% à partir de l'échantillon standard de départ.

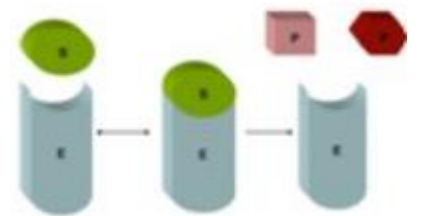
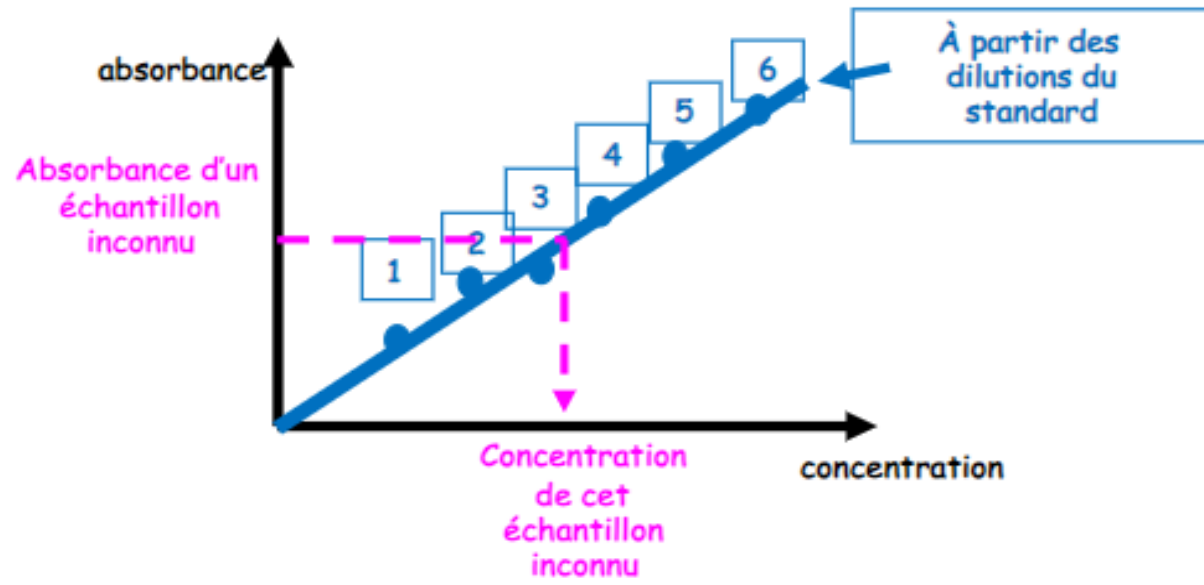
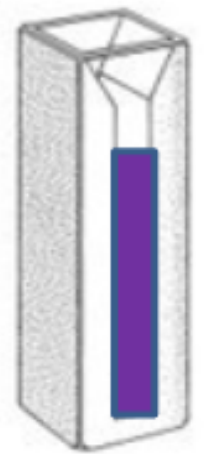


Deuxième partie de la manipulation: réalisation de la réaction de Biuret pour la courbe standard, le blanc et les échantillons inconnus.



→ 15 minutes d'incubation

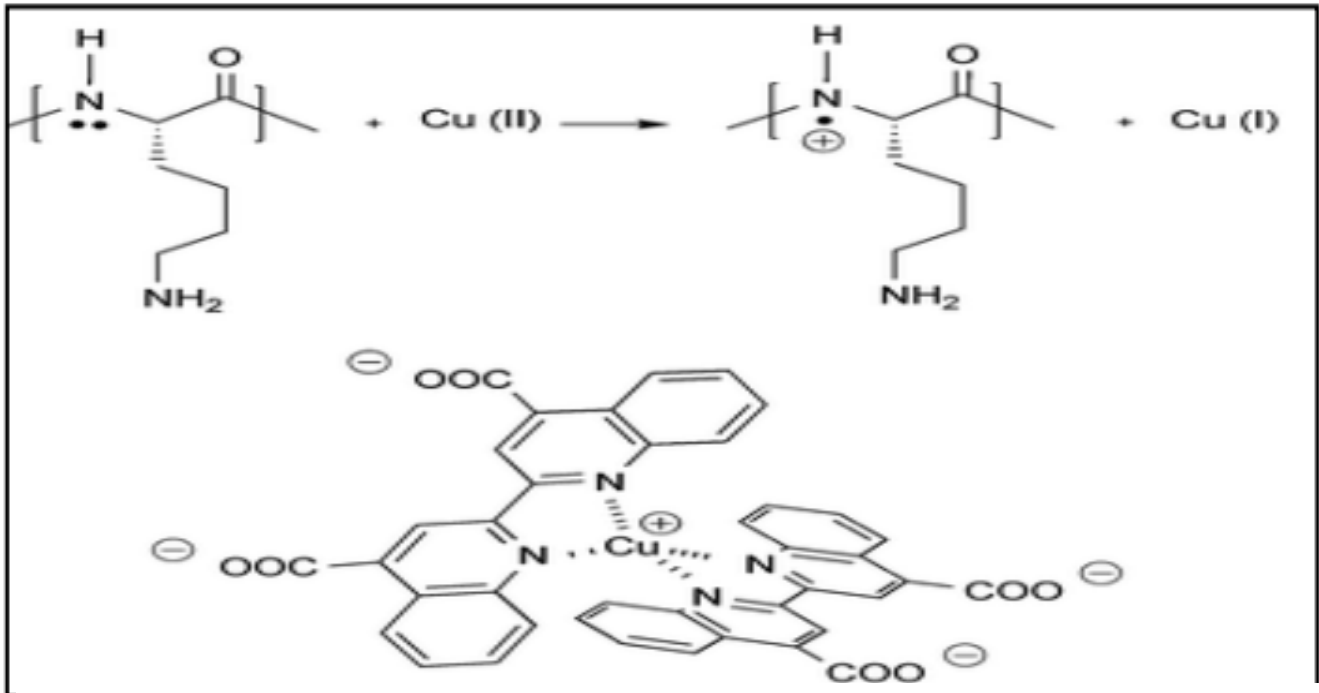
Troisième partie de la manipulation:



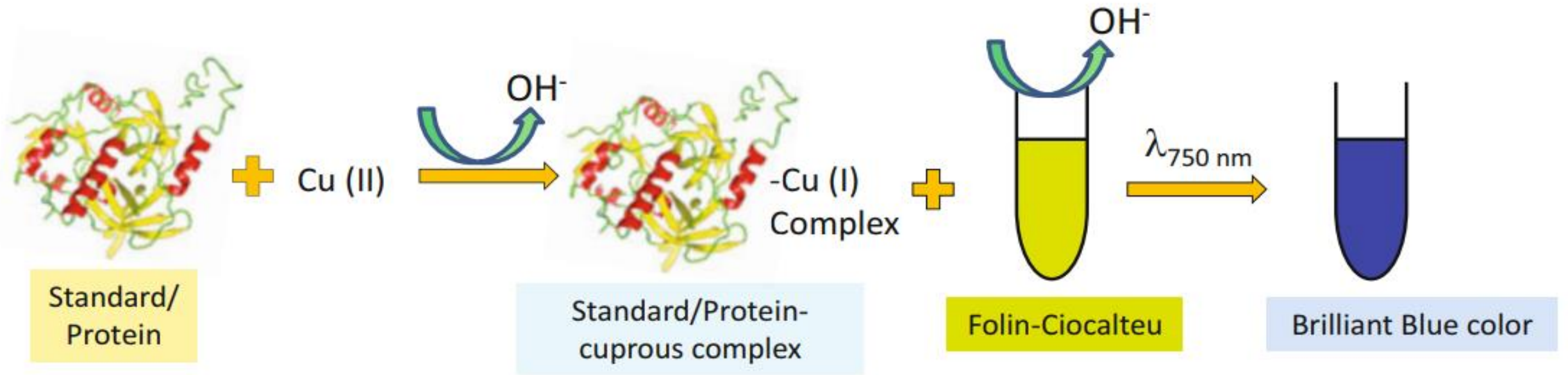
Sur papier millimétré

- Réaliser la courbe standard comme montré au TP précédent
- Déduire la concentration en protéines des échantillons inconnus

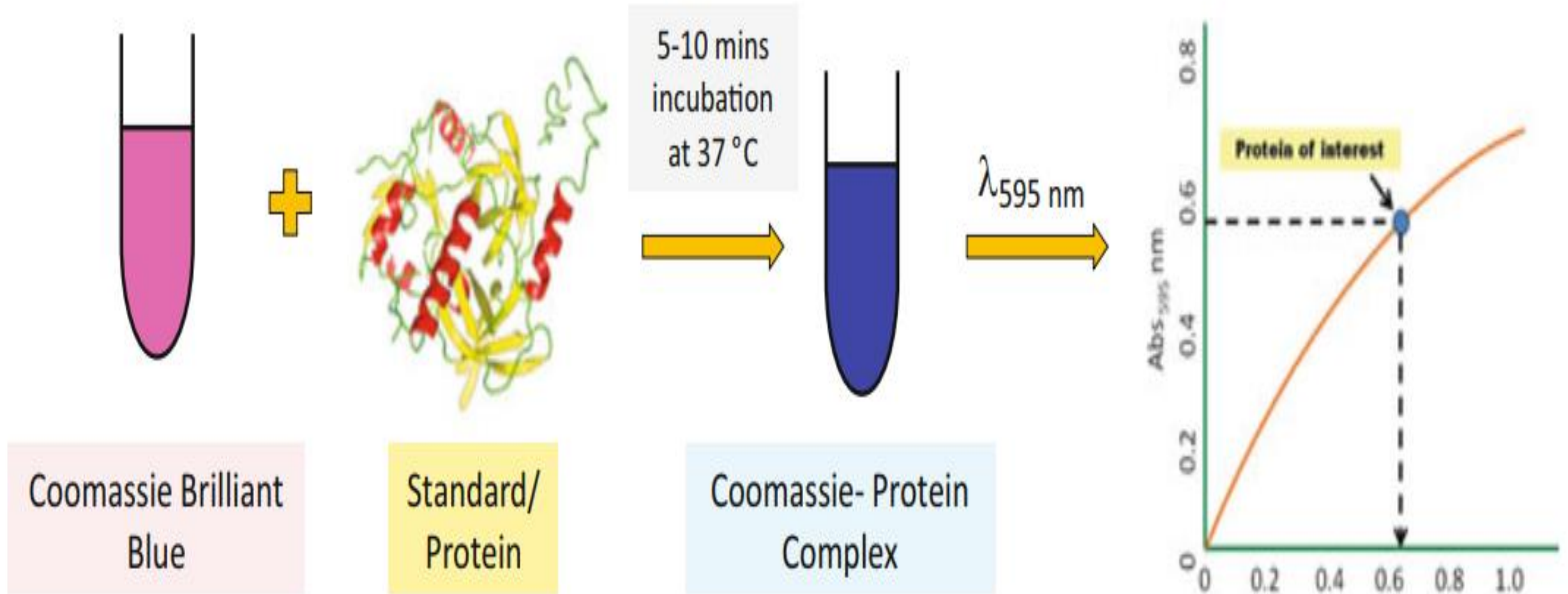




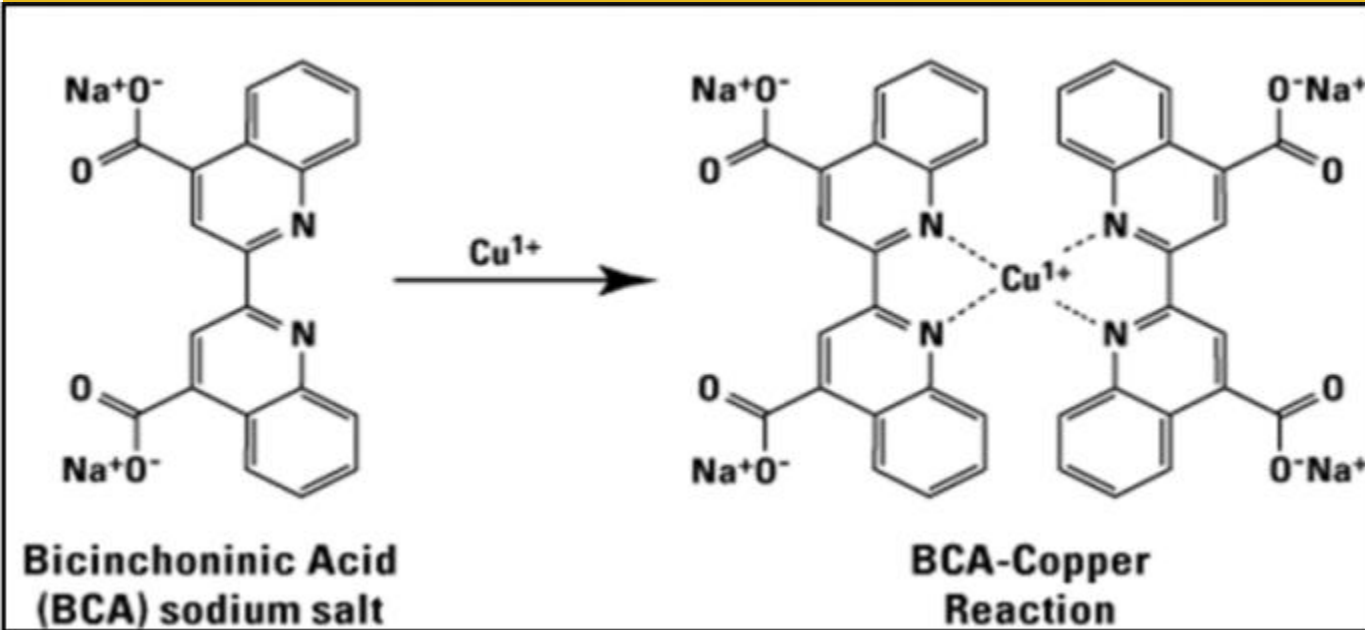
Cette méthode est basé sur l'obtention d'un composé chromogène par la réaction d'oxydoréduction, cette dernière a lieu d'une part des groupements de protéines notamment les groupements phényliques du tryptophane, de la tyrosine et de la cystéine et histidines et d'autre part, le réactif de Folin-Ciocalteu. Cette réaction donne naissance à une coloration en bleu dont l'intensité est mesurée à 750 nm



Le Coomassie Blue, se lie préférentiellement à certains acides aminés présents dans le protéine (arginine, histidine, phénylalanine, tryptophane et tyrosine)







Cette méthode est basée sur des réactions chimiques à l'aide de BCA qui met en jeu deux solutions commercialisées. Une l'acide bicinchonique et une autre de sulfate de cuivre. Les ions  $\text{Cu}^{2+}$  sont réduits en  $\text{Cu}^+$  en présence de protéines, cela induit un virage dans la solution au pourpre donc ; les protéines en suspension peuvent être dosé à 562nm

