

**TP 3 : DOSAGE DES PROTEINES PAR LA METHODE DE LOWRY****1- Principe**

La protéine réagit tout d'abord avec réactif cuivrique alcalin puis un second réactif dit phosphotungstomolybdique. Il est composé d'un mélange de tungstate de sodium et de molybdate de sodium dans l'acide phosphorique et de l'acide chlorhydrique. Ce réactif permet la réduction des acides aminés aromatiques, conduisant à la formation d'un complexe coloré bleu foncé dont on mesurera l'absorbance à 750nm.

**2- Matériel et méthodes**

- Cu SO<sub>4</sub>
- Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub>
- Citrate de sodium
- Na OH
- Folin-Ciocalteu
- BSA

**3- Mode opératoire****3-1 -Préparation des réactifs**

**Réactif A** : dissoudre 0,5g de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O et 1g de Citrate de Sodium dans 100ml d'eau distillée.

**Réactif B** : dissoudre 20g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> et 4g de NaOH dans 1l d'eau distillée.

**Réactif C** : ajouter 1ml de réactif A à 50ml de réactif B.

**Réactif D** : diluer 1 volume de réactif de Folin-Ciocalteu par 1 volume d'eau distillée.

**3-2- Préparation de B S A**

1mg de BSA dans un 1ml d'eau distillée.

**3-3- Manipulation**

Le tableau ci-dessous représente les concentrations et les quantités des réactifs nécessaires au dosage des protéines.

	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	échantillon
BSA (µl)	200	400	600	800	1000	-
eau distillée (µl)	800	600	400	200	-	-
échantillon (µl)	-	-	-	-	-	500
R C (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
R D (µl)	250	250	250	250	250	250

- Lire l'absorbance de chaque tube à une longueur d'onde 750nm.
- Tracer la gamme d'étalonnage.
- Calculer la concentration des protéines au niveau d'échantillon à partir de la gamme d'étalonnage.