

Problématique	Méthodologie	Résultats- Observations	Conclusion
<b>Comment se fait l'intégration des protéines dans le Réticulum Endoplasmique ?</b>	On synthétise un ADNc codant pour une protéine radioactive s'intégrant en temps normal dans le RE. On fait 2 cultures.	On effectue une centrifugation. La protéine est marquée à la radioactivité. Comme le RE est plus dense que le cytosol, il se situe dans le culot, le cytosol dans le surnageant	<b>Les protéines sont incapables de s'intégrer dans le RE après la fin de leur traduction pour des ribosomes libres. <u>L'intégration dans la membrane du RE pour des protéines transmembranaires est donc co-traductionnelle</u> et ce par des ribosomes associés à la membrane du RE.</b>
	Culture A : On retire les réticulums de la cellule. On enclenche la synthèse protéique par des <b>ribosomes libres</b> , on rajoute les réticulums ensuite	La radioactivité se situe dans le surnageant	
	Culture B : Culture témoin, avec les réticulums. La synthèse s'effectue par des ribosomes associés au réticulum (REG)	La radioactivité se situe dans le culot	
<b>Est ce que les deux protéines ont la même structure, lorsqu'elles sont synthétisées en présence ou sans RE?</b>	On récupère les protéines et on effectue une électrophorèse sur PAGE-SDS qui permet une migration <b>en fonction de la taille seulement</b> .	La protéine cytosolique (Culture A) migre <b>moins</b> loin que la protéine synthétisée avec le RE (Culture B). Ces deux protéines ont cependant été synthétisées à partir du même ADNc, mais la protéine A est <b>plus grosse</b> .	<b>La protéine du RE a été maturée par le RE. On SUGGERE que les protéines transmembranaires contiennent un peptide signal clivé lors de l'insertion co-traductionnelle.</b>
<b>Le peptide signal est-il nécessaire à l'intégration dans le RE ?</b>	In vitro, on supprime au niveau de l'ADN la séquence qui code pour le peptide signal. On effectue la traduction en présence du REG	Les protéines synthétisées restent cytosoliques	<b>Le peptide signal est donc nécessaire à l'intégration dans la membrane du RE.</b>
<b>Le peptide signal est-il suffisant à l'adressage co traductionnelle?</b>	On utilise l'ADNc de la GFP (protéine non membranaire qui ne possède donc aucune propriétés pouvant l'aider à être adressée dans le RE). On crée in vitro un hybride avec un peptide signal.	La fluorescence se situe dans le Réticulum et non dans le cytoplasme	<b>Le peptide signal est suffisant à l'insertion co traductionnelle.</b>
<b>Quelle est la différence entre une protéine soluble dans le RE et une protéine insérée dans la membrane du RE?</b>	On utilise notre GFP hybride soluble dans la lumière du RE et une protéine X dans la membrane du RE  Protéine Soluble (GFP) On compare 4 électrophorèses a) La protéine + RE seule b) La protéine + RE avec une peptidase seule c) La protéine + RE avec un détergent seul d) La protéine + RE avec une peptidase + un détergent	On observe pour les Exp a) et b) une protéine à la même hauteur. On émet plusieurs hypothèse : 1) La peptidase est trop vieille et ne fonctionne pas 2) La protéine (GFP) est très résistante à la peptidase 3) La GFP se trouve enfermée dans le RE et la peptidase ne lui est pas accessible.	<b>L'Exp c) donne le même résultat que les E a) et b)</b> le détergent n'a donc pas d'action sur la GFP. L'Exp d) ne révèle aucune trace de protéines. Il y a donc eu digestion par la peptidase de la GFP. Ceci invalide les hypothèses 1) et 2). Le détergent est nécessaire pour détruire la membrane plasmique et rendre accessible à la protéase la GFP, complètement soluble dans la lumière du RE.
	Protéine membranaire. Même protocole.	L'Exp b) révèle la présence d'une protéine plus petite que dans l'E a)	<b>Les protéines membranaires sont intégrées dans la membrane du RE laissant une partie extra réticulum.</b>
	Cela permet de définir une deuxième séquence qui implique l'arrêt de transfert de la protéine à travers la membrane, c'est la <b>séquence stop transfert</b> . <b>Conclusion : Les protéines transmembranaires ont une séquence signal et une séquence stop transfert</b>		