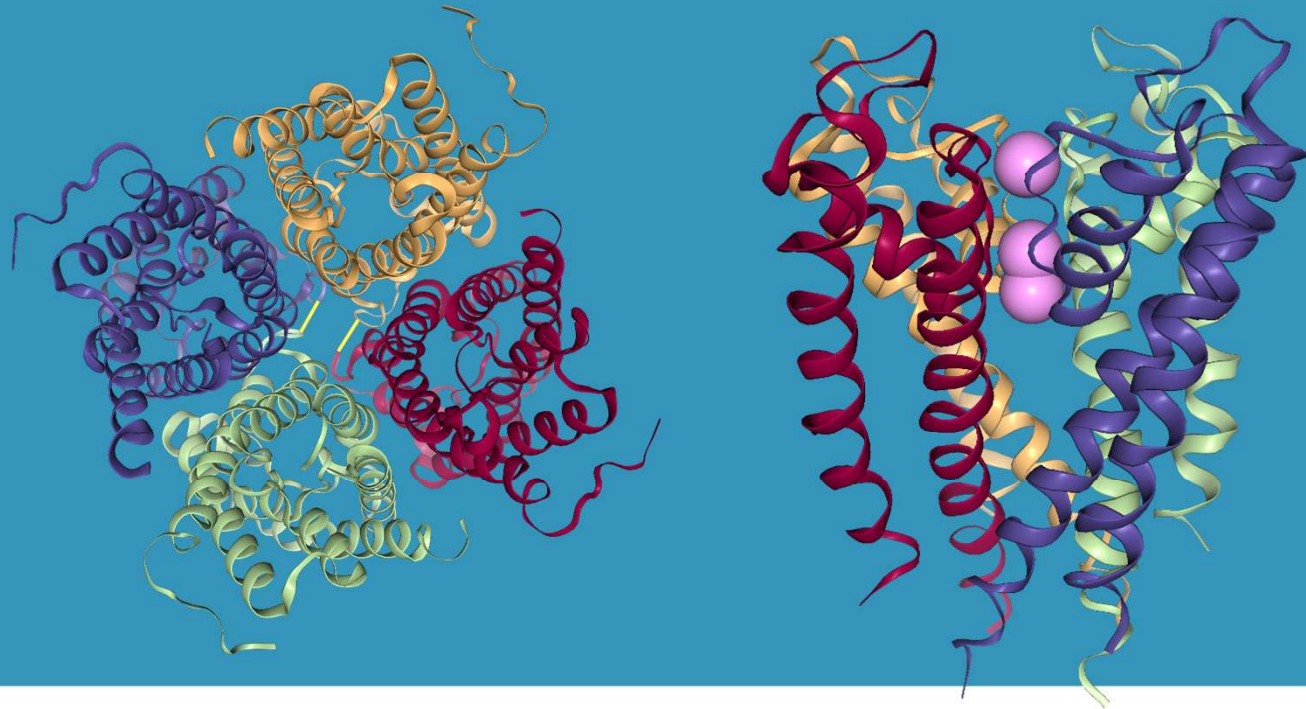
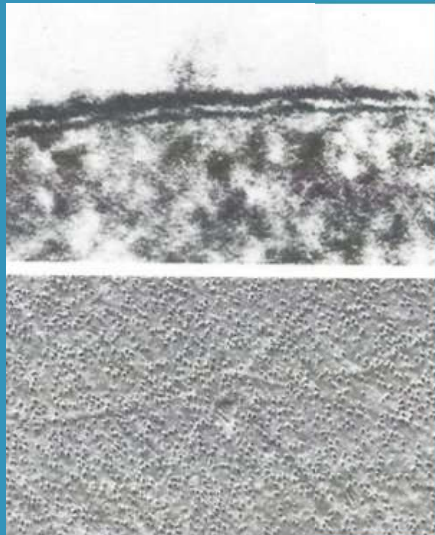


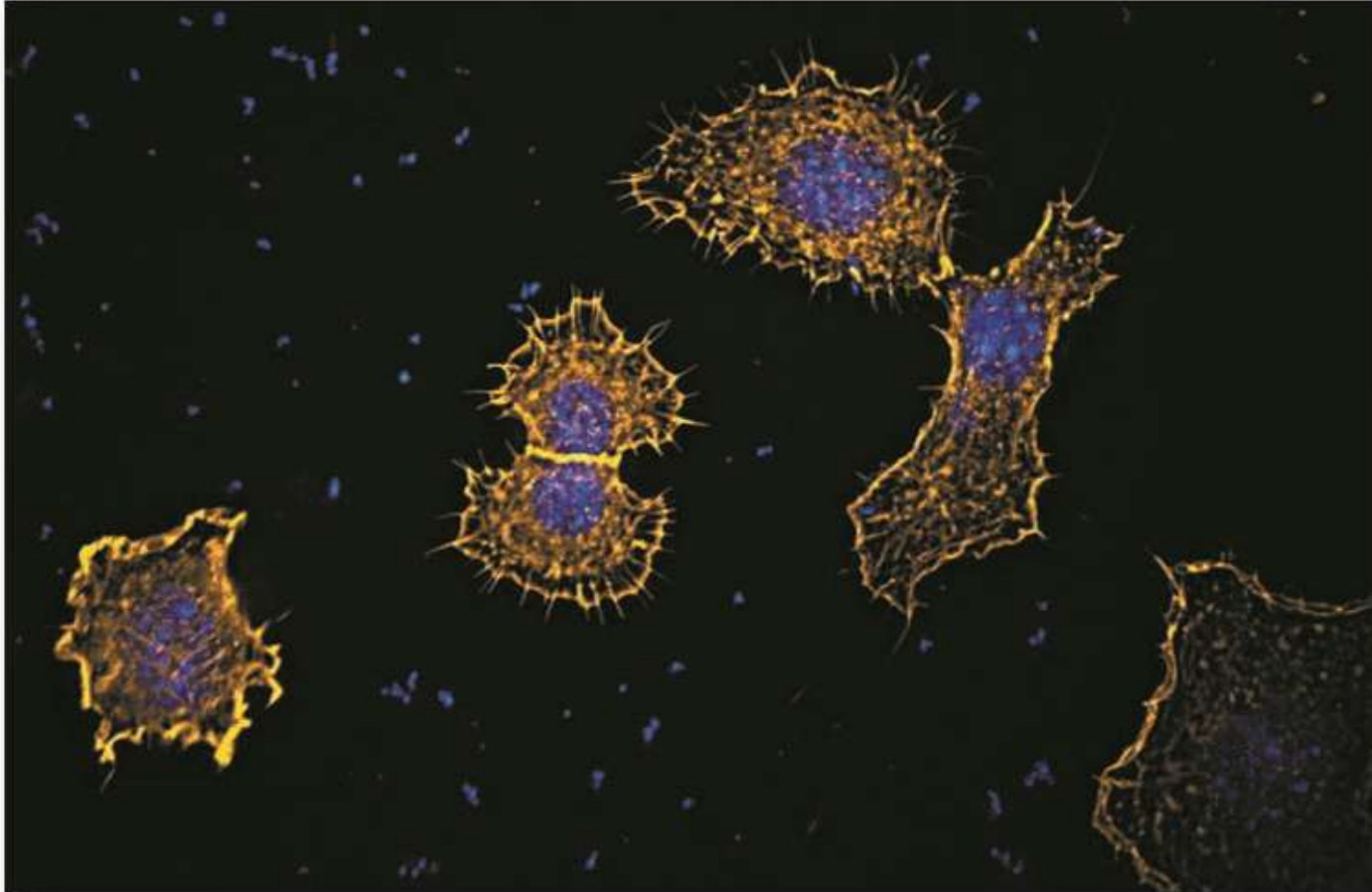
SV-C-3 MEMBRANES ET ÉCHANGES MEMBRANAIRES

SV-C-3 MEMBRANES ET ÉCHANGES MEMBRANAIRES

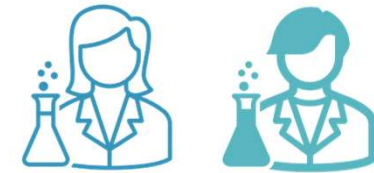


EXTRAIT DU B.O.

Savoirs visés	Capacités exigibles
<p>Les propriétés de fluidité, de perméabilité sélective, de spécificité reposent sur l'organisation de la membrane.</p> <p>Les membranes cellulaires sont des associations non covalentes de protéines et de lipides, parfois glycosylés, assemblés en bicouches.</p> <p>L'eau, les solutés neutres ou chargés et les gaz dissous peuvent traverser les membranes.</p> <p>La perméabilité de la membrane vis-à-vis d'une substance chimique dépend de ses propriétés physicochimiques et de celles de la substance considérée.</p> <p>Ces échanges transmembranaires sont régis par les différences de potentiel électro-chimique.</p> <p>Les flux de solutés s'effectuent dans le sens des potentiels électro-chimique décroissants par transport passif simple ou facilité ou dans le sens inverse par transport actif primaire ou secondaire (couplages énergétiques).</p> <p>Les flux transmembranaires sont une fonction linéaire (diffusion simple) ou une fonction présentant un plateau de saturation (échange assisté par un transporteur) de la concentration en molécule transportée.</p> <p>Des flux transmembranaires d'ions sont à l'origine d'un potentiel électrique appelé potentiel de membrane.</p> <p>Des transferts de matière entre les compartiments et avec le milieu extracellulaire (endocytose et exocytose) sont réalisés par l'intermédiaire de vésicules. Le bourgeonnement et la fusion des vésicules reposent sur les propriétés des membranes et l'implication des protéines. Le transport et le guidage des vésicules mettent en jeu le cytosquelette.</p>	<ul style="list-style-type: none">- Relier la fluidité membranaire à la composition de la membrane.- Relier la perméabilité membranaire à la composition de la membrane.- Exploiter la notion de potentiel électrochimique pour déterminer le caractère spontané ou non d'un échange.- Exploiter la relation de Nernst pour déterminer le potentiel d'équilibre d'un ion.- Exploiter la loi de Fick pour expliquer les caractéristiques cinétiques de certains échanges transmembranaires.- Exploiter la notion de potentiel hydrique pour déterminer le sens des flux d'eau.- Relier les caractéristiques des protéines membranaires (canal, transporteur) aux modalités d'échange.- Relier les échanges présentés à leurs fonctions biologiques.- Relier l'inégale répartition des ions et les flux transmembranaires à l'existence d'un potentiel de membrane.- Relier les échanges présentés à leurs fonctions biologiques



Immuno
détection



Cell membranes are not static structures. The membranes of these fibroblast cells show irregularities called ruffles and spikes. The ruffles and spikes are required for movement and phagocytosis. The nuclei are stained blue, and the actin component of the cytoskeleton is stained yellow. [Alex Gray/Wellcome Images.]

Stryer, 2010, p205

Ruffle: ébouriffement

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp

transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

Rappels de 1^{ère} Enseignement
scientifique



Bicouche lipidique (mise en évidence expérimentale
indirecte avec extraction de l'ADN d'oignon)

Structure délimitant une cellule

Surface d'échanges

- Cellule: **système thermodynamiquement ouvert**

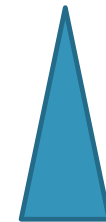
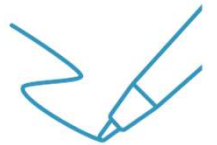
⇒ Échange de matière et d'énergie avec son environnement

- Cellule: unité structurale du vivant délimitée par une **membrane**

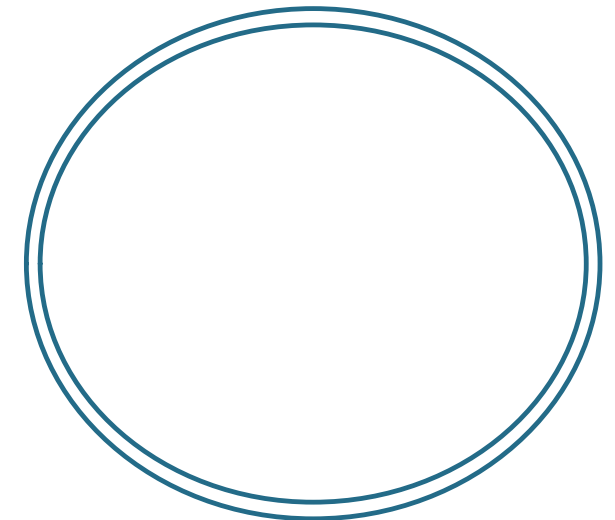


Comment la structure de la membrane plasmique permet-elle la réalisation des échanges nécessaires au fonctionnement de la cellule ?

D'autre part comment ces échanges sont-ils contrôlés ?

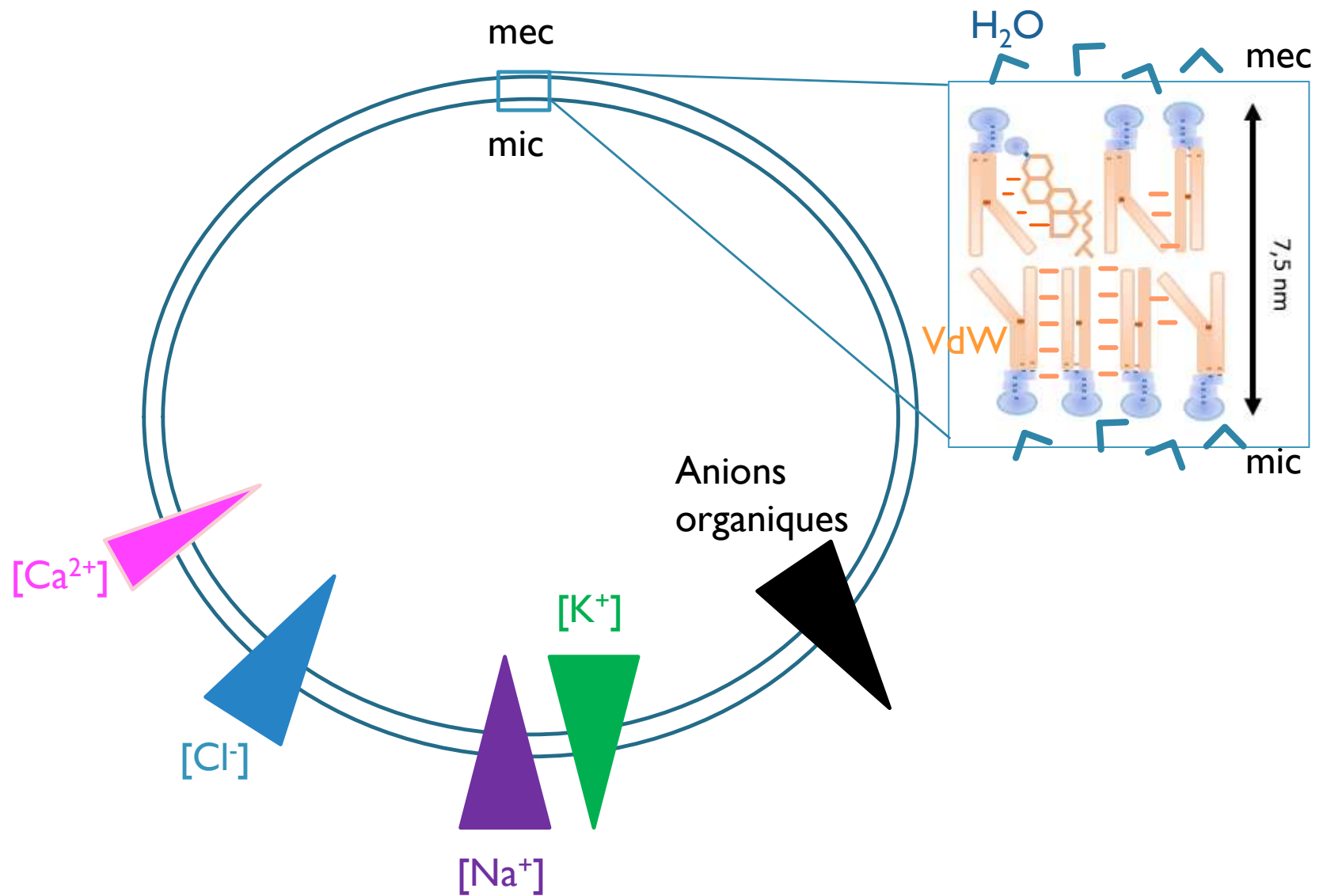


Gradient de concentration



constituants		Concentrations intracellulaires		Concentrations extracellulaires	
		En mmol.L ⁻¹	En mEq.L ⁻¹	En mmol.L ⁻¹	En mEq.L ⁻¹
cations	Na ⁺	14	14	140	140
	K ⁺	140	140	5	5
	Ca ²⁺	10 ⁻⁴	2.10 ⁻⁴	1	2
anions	Cl ⁻	14	-14	147	-147
	organiques	126	-140	0	0

Concentration des mic et mec de cellule de Mammifère



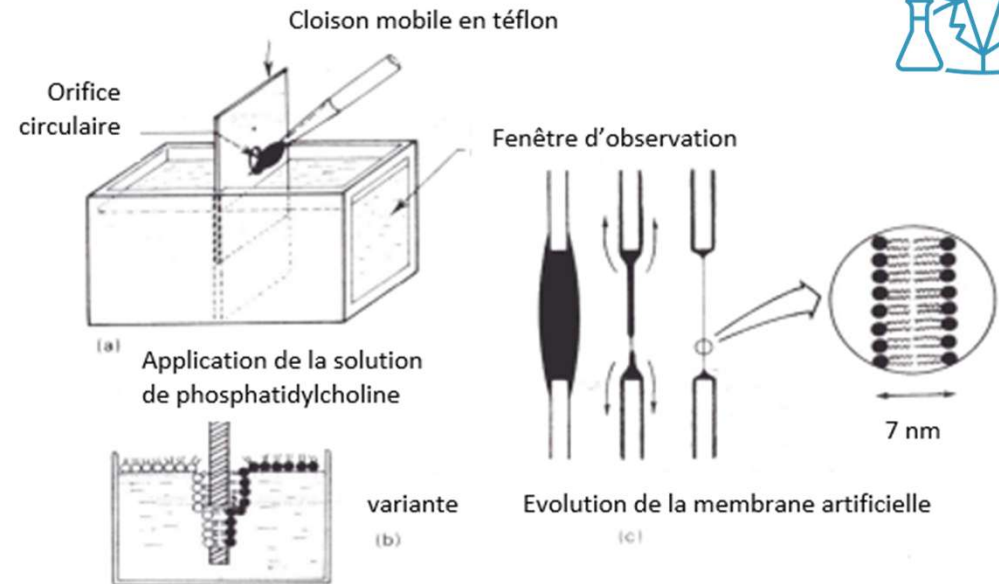
Gradients de concentrations des ions au sein d'une cellule délimitée par une membrane semi-perméable

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA PERMÉABILITÉ MEMBRANAIRE



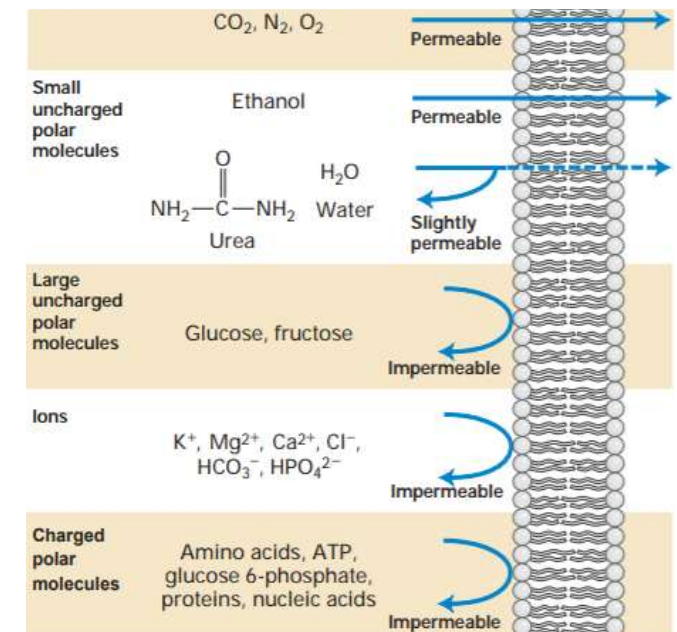
■ Protocole:

- On fait glisser une solution de **phosphatidylcholine** (glycérophospholipide très abondant des membranes) sur une plaque de téflon percée, puis on la trempe dans l'eau
- ⇒ La solution s'étale et son épaisseur diminue
- On mesure l'épaisseur au niveau du trou en étudiant la réflexion : lorsque la réflexion est nulle (« membrane noire »), on a atteint l'épaisseur minimale = **bicouche phospholipidique**



Etude de la perméabilité membranaire sur des membranes artificielles

- perméable aux gaz = O_2, CO_2, N_2
- perméable aux petites molécules (H_2O , urée)
- imperméable aux grosses molécules polaires (glucose) → nécessité de **transporteurs**
- imperméable aux molécules chargées = ions (Na^+) → nécessité de **canaux**





NOTION DE COEFFICIENT DE PARTAGE: K

- détermination du coefficient de partage **K** par méthode dite du "flacon agité":

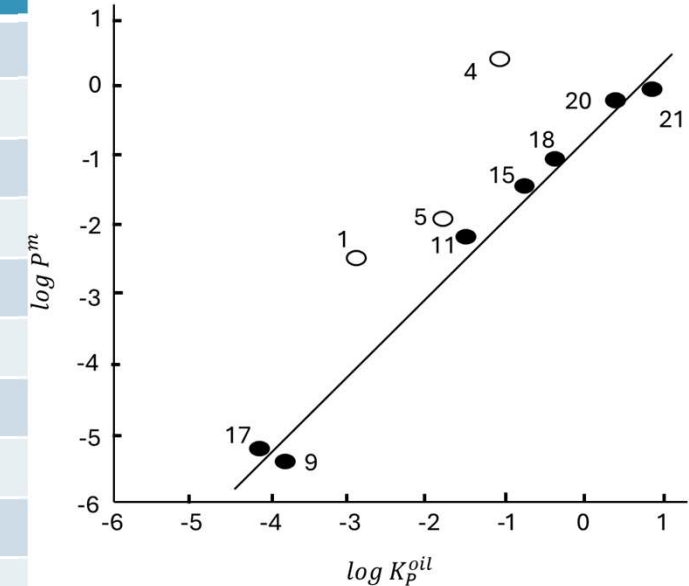
⇒ mélanger une quantité connue de soluté dans un volume d'huile et d'eau, puis mesurer la distribution du soluté dans chaque solvant (par spectroscopie ou par chromatographie liquide haute performance).

⇒ $K = \frac{[\text{soluté}]_{\text{huile}}}{[\text{soluté}]_{\text{eau}}}$

- Par l'expérience de la membrane noire, on définit un **coefficient de perméabilité** pour chaque molécule, correspondant à la **vitesse de traversée d'une interface par la molécule en cm/s**.

composants	P^m (cm.sec ⁻¹)	K_p^{oil}
1. Eau	$3,4 \cdot 10^{-3}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$
4. HCl	2,9	$9,0 \cdot 10^{-2}$
5. Acide méthanoïque	$7,3 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-2}$
9. Urée	$4,0 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
11. Acide acétique	$6,9 \cdot 10^{-3}$	$3,0 \cdot 10^{-2}$
15. Acide propionique	$3,5 \cdot 10^{-2}$	$1,5 \cdot 10^{-1}$
17. Glycérol	$5,4 \cdot 10^{-6}$	$7,0 \cdot 10^{-5}$
18. Acide butyrique	$9,5 \cdot 10^{-2}$	$4,4 \cdot 10^{-1}$
20. Acide benzoïque	$5,5 \cdot 10^{-1}$	2,2
21. Acide hexanoïque	1,1	6,8

Tableau : valeurs de perméabilité à travers une bicouche de phospholipides (coeff de perméabilité P^m) et de coefficient de partage huile d'olive/eau (K_p^{oil}) pour quelques composés.



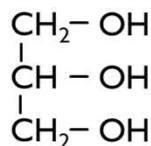
Graphique : représentation du log de la perméabilité à travers une bicouche en fonction du log du coefficient de partage huile (d'olive) eau.



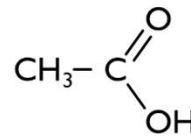
1- Sur tableur tracer $\log P^m = f(\log K_{eau}^{huile})$

afin d'obtenir le même graphique que celui en haut à droite de cette diapositive

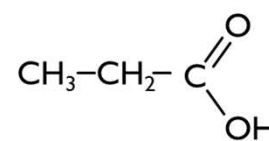
2- analyser le graphique obtenu à l'aide des formules proposées



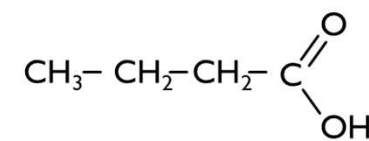
Glycérol (17)



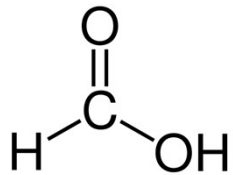
Acide acétique (11)



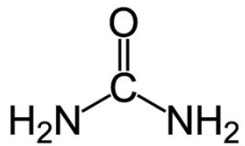
Acide propionique (15)



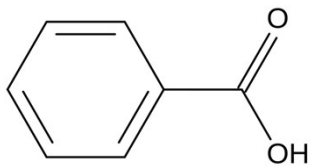
Acide butyrique (18)



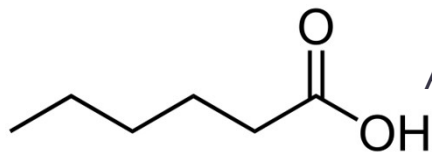
Acide méthanoïque



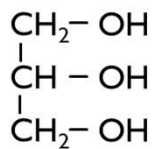
Urée



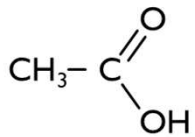
Acide benzoïque



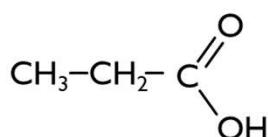
Acide hexanoïque



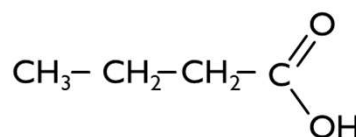
Glycérol (17)



Acide acétique (11)

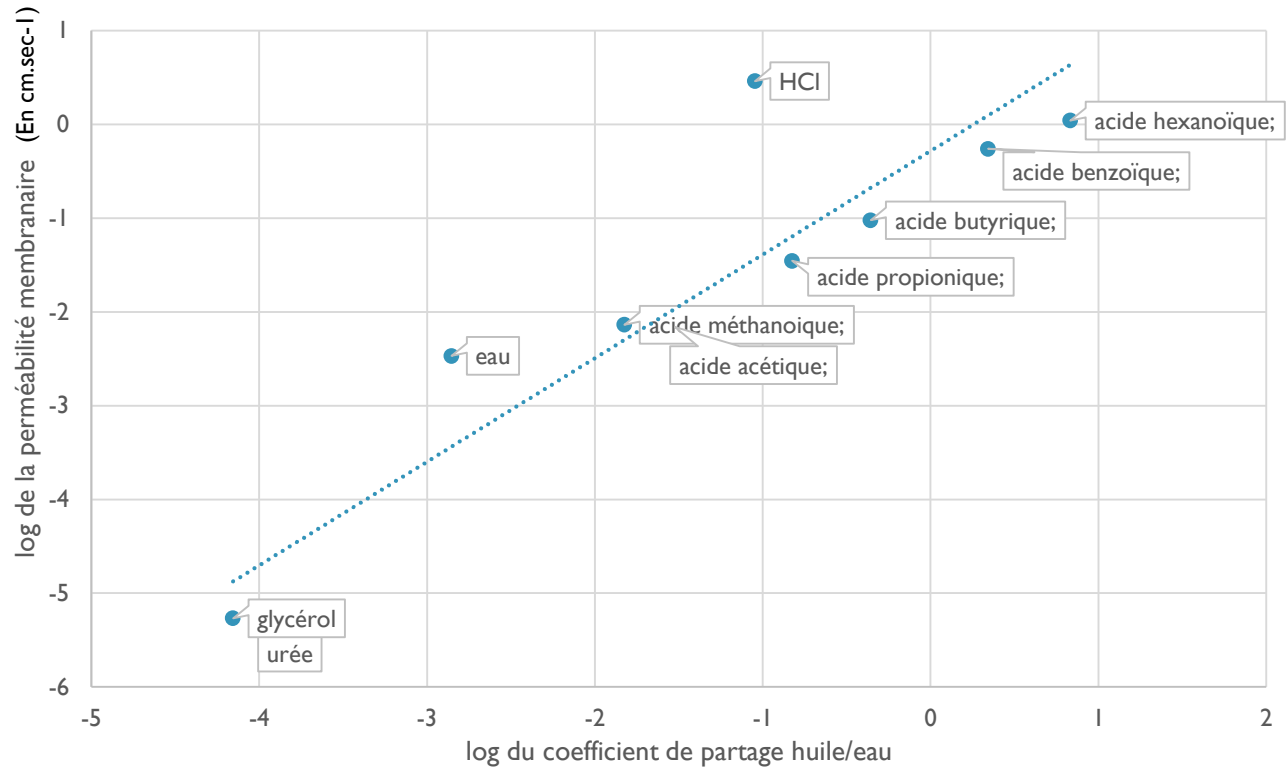


Acide propionique (15)



Acide butyrique (18)

Perméabilité en fonction du coefficient de partage pour différents composés



⇒ Plus un composé est hydrophile, plus son coefficient de partage sera faible. Inversement pour un composé hydrophobe. Cette méthode permet d'estimer la liposolubilité du soluté.

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

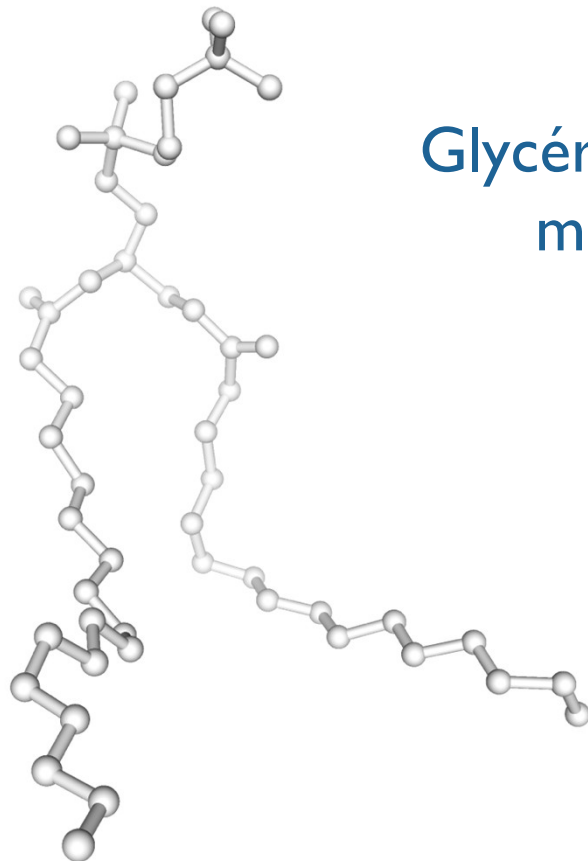
D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

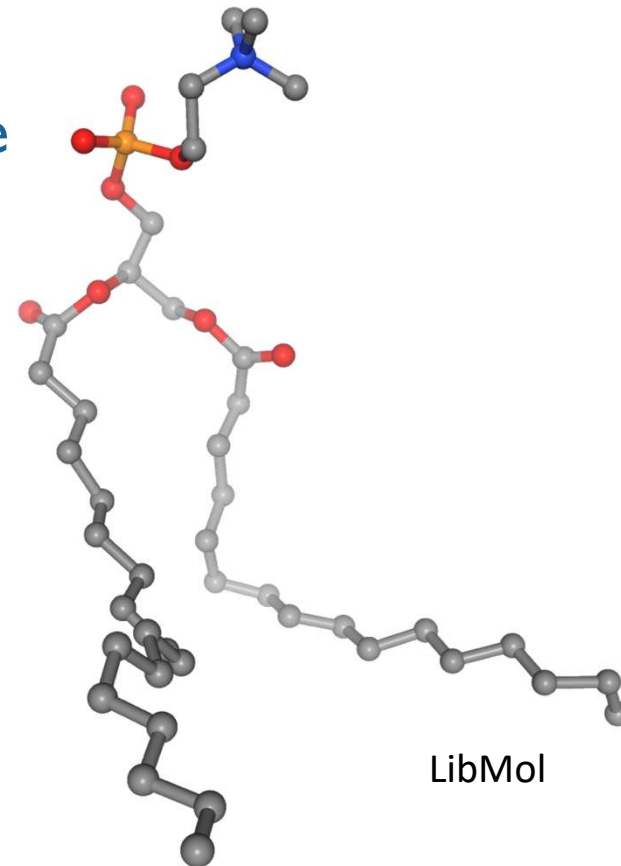
I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

A. LES MEMBRANES SONT DES MOSAÏQUES MOLÉCULAIRES

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière



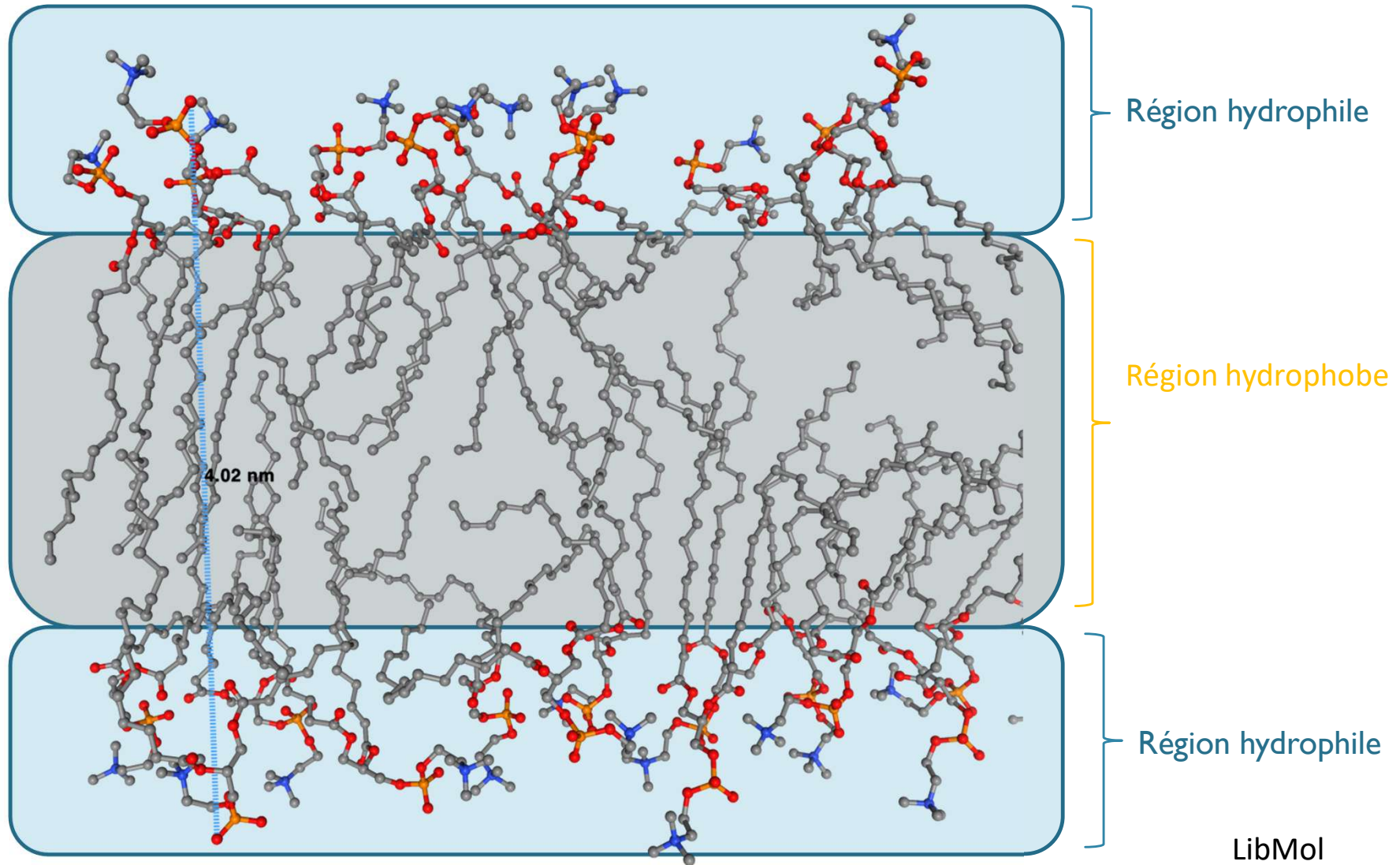
Glycérophospholipide
membranaire

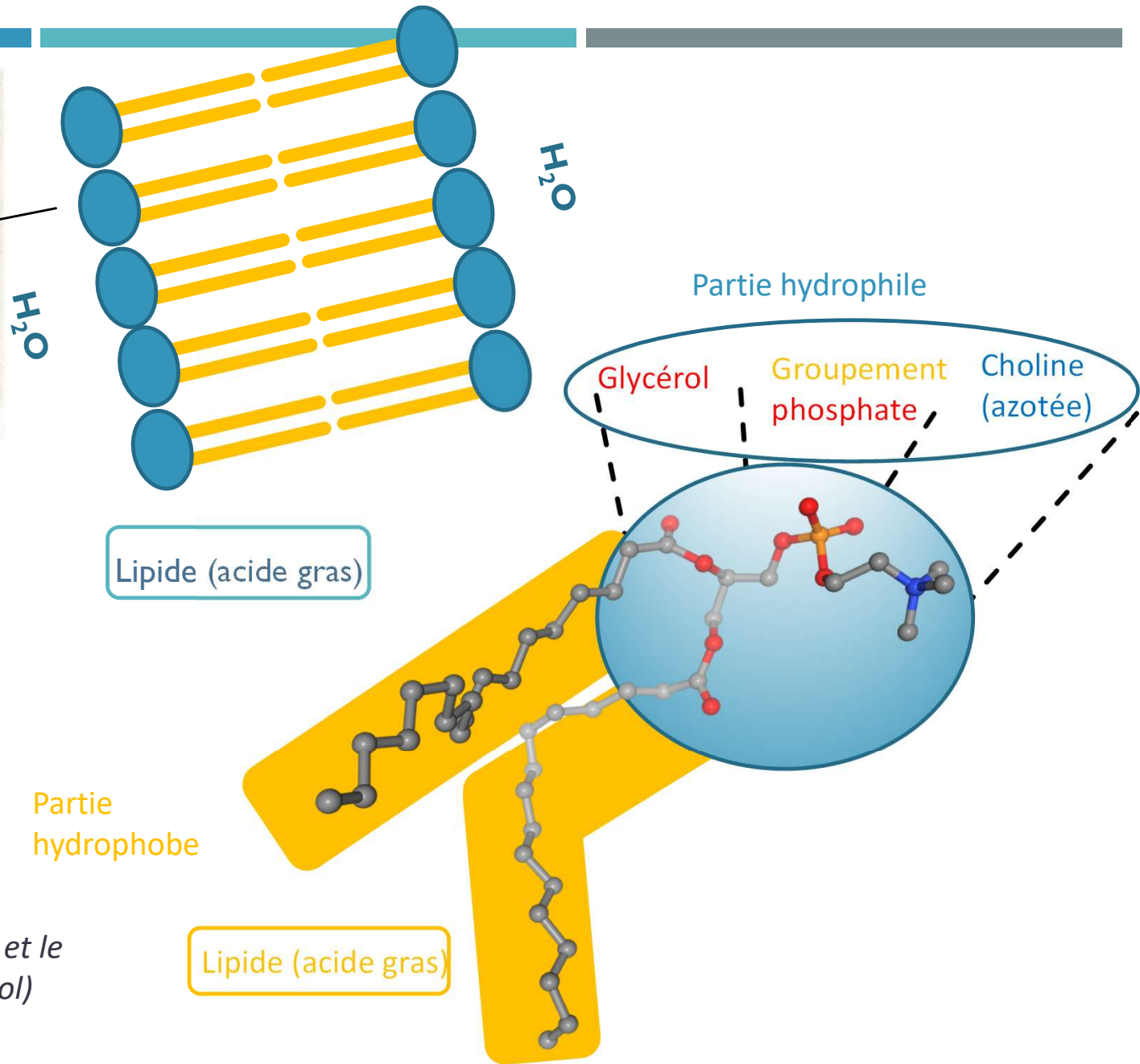
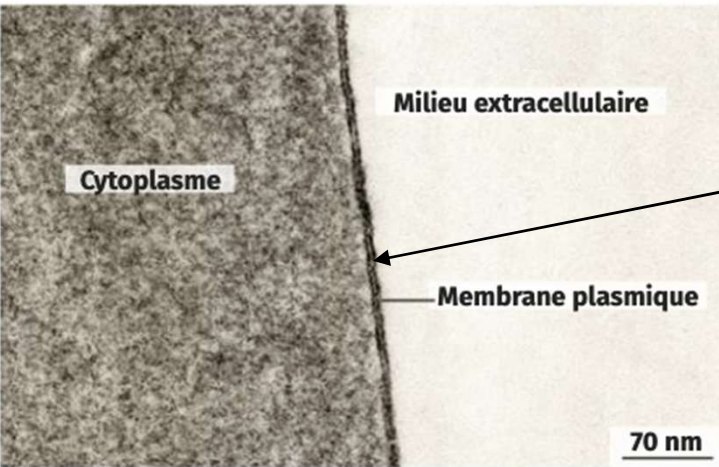


LibMol

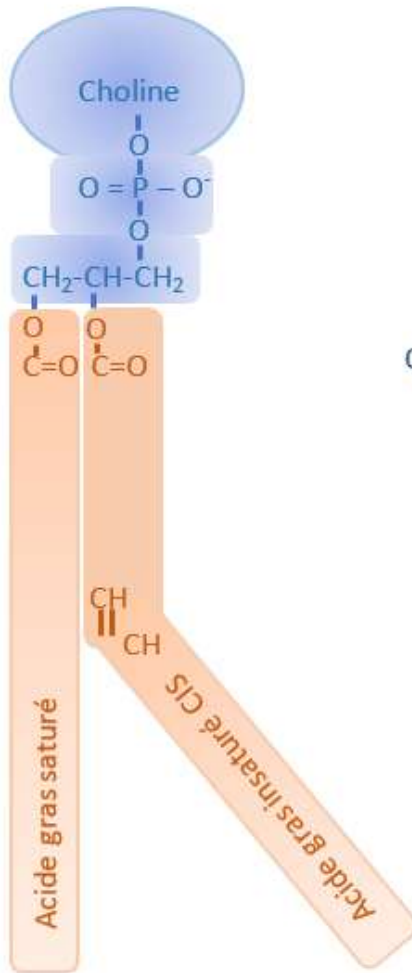
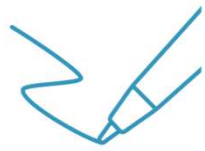


LA BICOUCHE LIPIDIQUE





Les glycérophospholipides membranaires et le cholestérol, stabilisateur de fluidité (Libmol)



- **Lipides amphiphiles**

- Lipides = 42% de la masse de la membrane = glycérophospholipides + glycolipides (exclusivement dans les membranes des cellules animales) + cholestérol

- ⇒ Interactions hydrophobes

- ⇒ Barrière semi perméable

- MET=> asymétrie membranaire

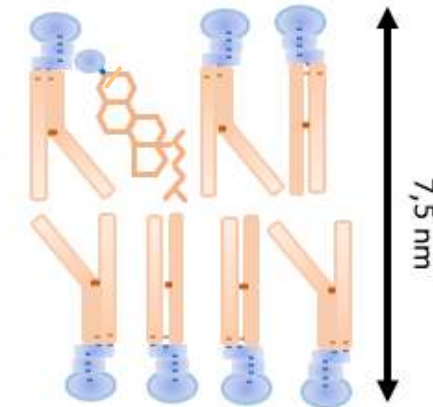
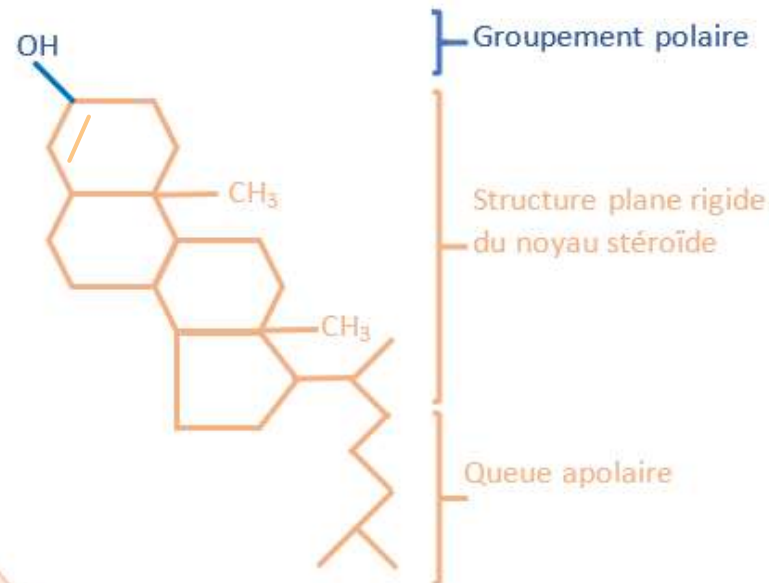


Schéma d'un glycérophospholipide et d'un cholestérol, lipides membranaires (S. Dalaine)

X: sérine, éthanolamine, choline, inositol

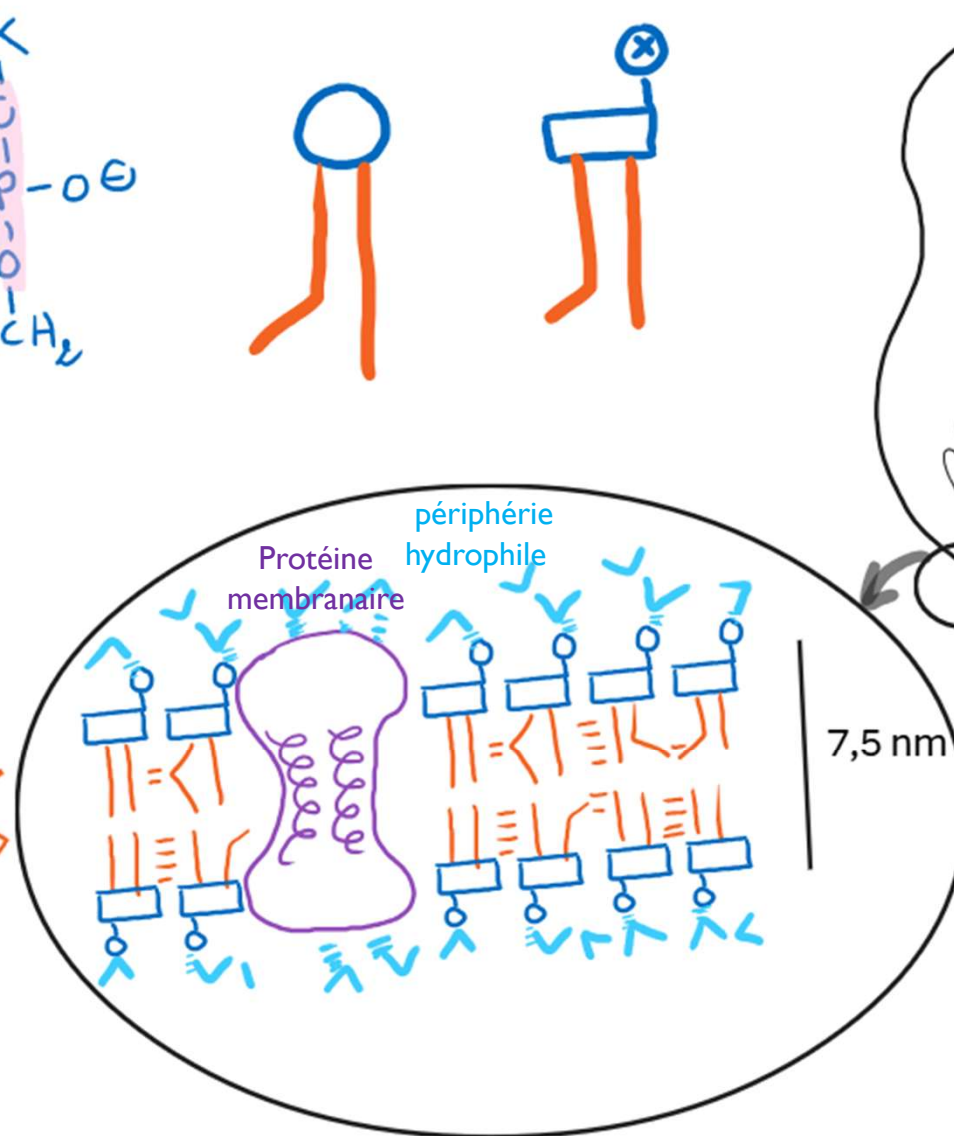
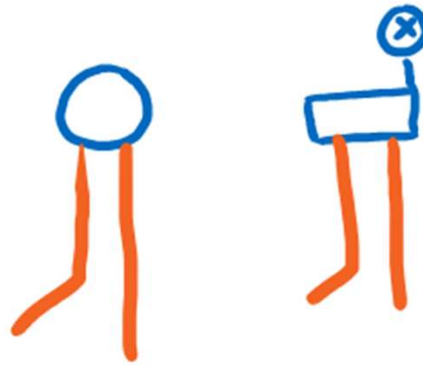
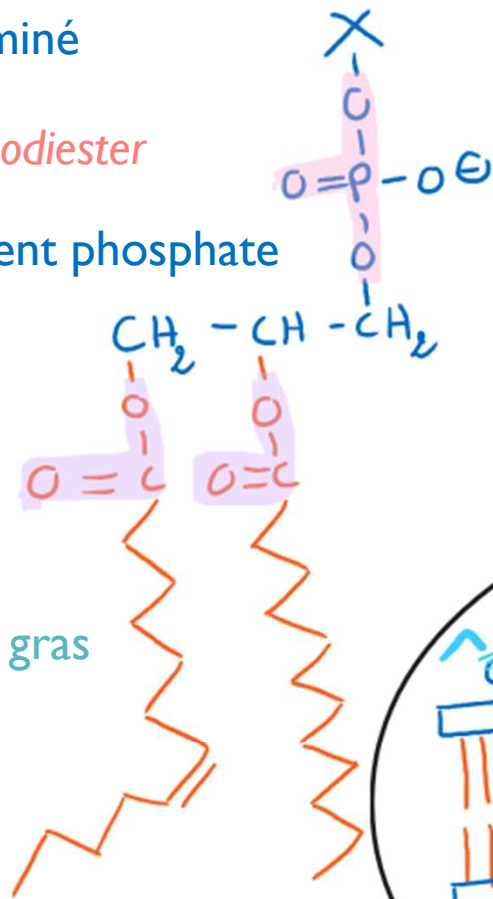
Alcool aminé
variable
phosphodiester

Groupe phosphate

Glycérol

ester

2 acides gras

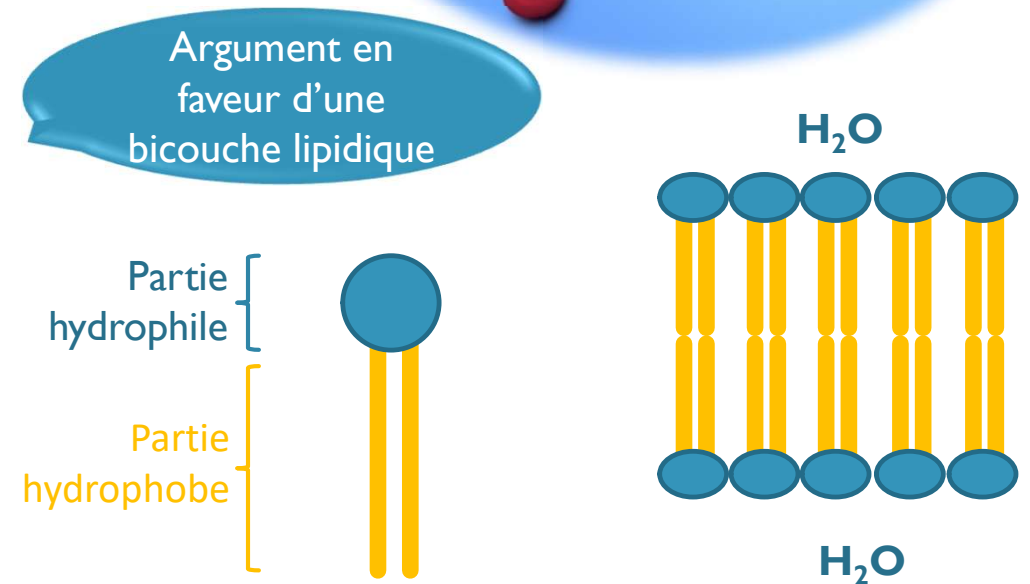


Membrane cellulaire: bicouche phospholipidique amphiphile

MISE EN ÉVIDENCE DE L'ORGANISATION DE LA BICOUCHE LIPIDIQUE



- Protocole:
 - En 1925, extraction des lipides membranaires de globules rouges
 - Étalement des lipides sur une surface aqueuse
 - ✓ surface occupée par lipides = **double** de surface des membranes des hématies
- ⇒ structure de base de la membrane = **bicouche lipidique**.

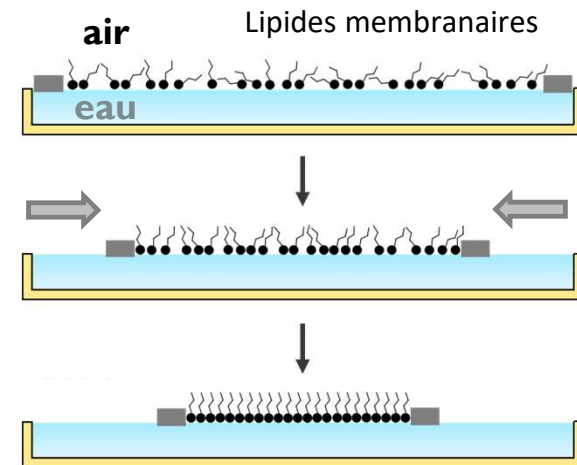
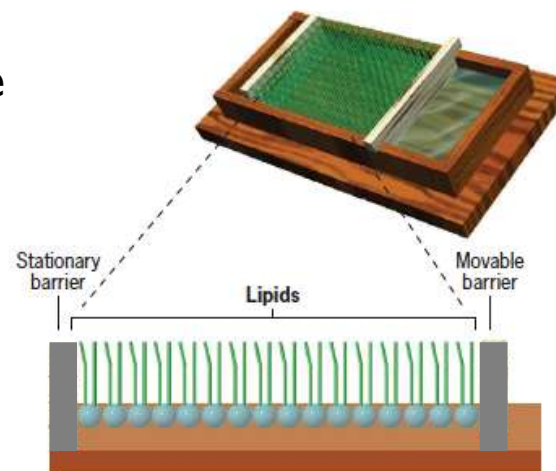
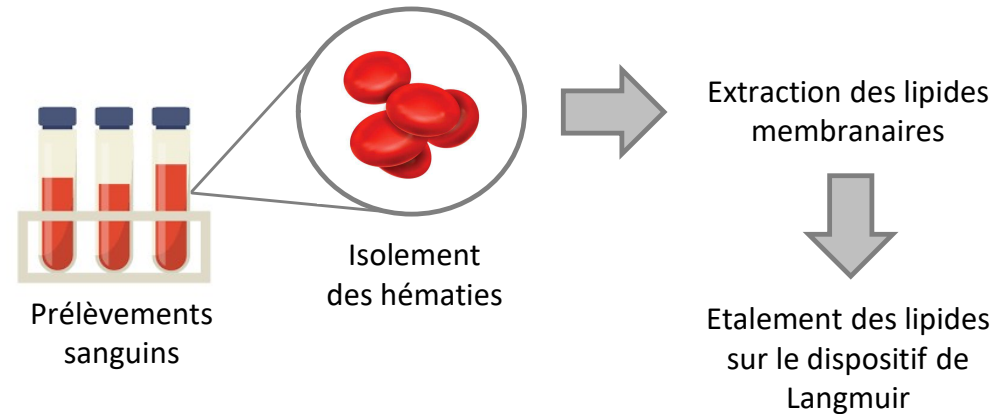


Cette organisation en bicouche lipidique est permise par le caractère **amphiphile** des lipides qui la constituent.

APPROCHE EXPÉRIMENTALE

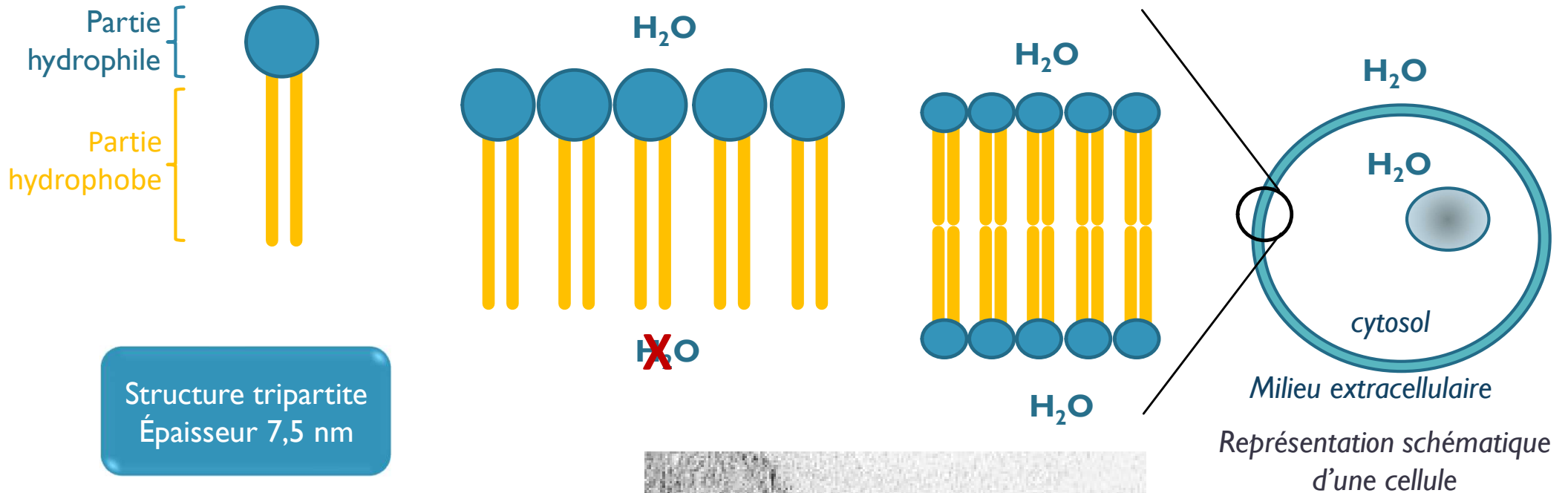


- Expérience de Gorter & Grendel (1925)
 - Extraction des lipides membranaires
 - Etalement sur le dispositif de Langmuir
 - Resserrement jusqu'à obtention d'une monocouche
 - ✓ Surface double de la surface théorique des hématies
 - ✓ Bicouche lipidique

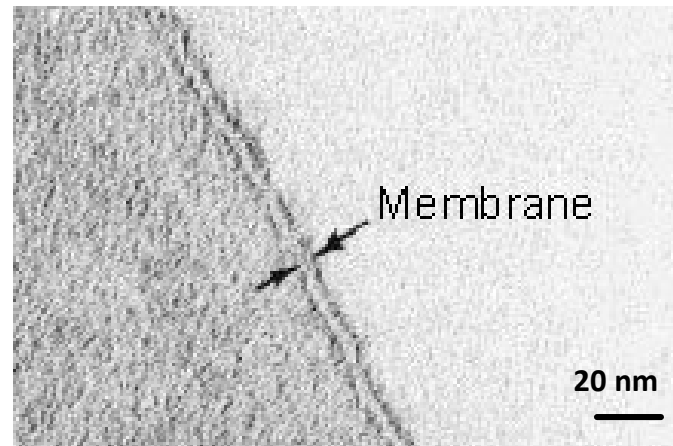


Dispositif de Langmuir pour étudier la structure de la membrane

L'ÉLECTRONOGRAPHIE CONFIRME LA STRUCTURE TRIPARTITE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE



- Observation d'une coupe transversale de membrane à un fort grossissement du (MET)
- structure continue
- constituée d'une zone claire entourée de deux bandes sombres.

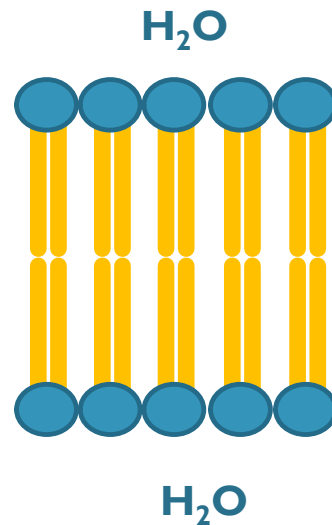


Membrane plasmique d'une membrane de GR (MET)

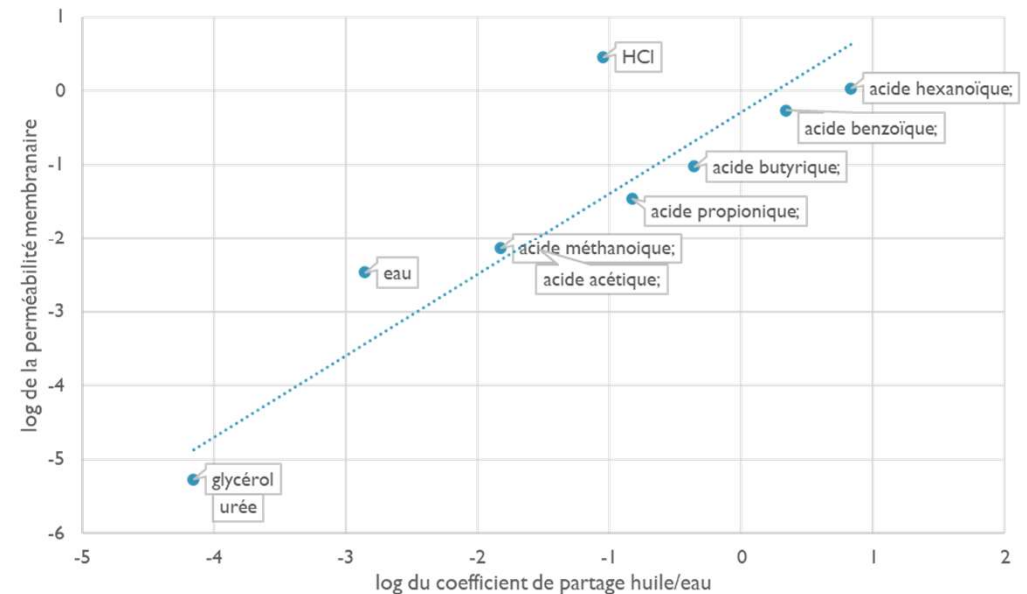
LES LIPIDES S'ORGANISENT EN BICOUCHE LIPIDIQUE



Les glycérophospholipides représentent 42% de la masse de la membrane



Perméabilité en fonction du coefficient de partage pour différents composés



- Des expériences (détermination du coefficient de partage, mesure du coefficient de perméabilité sur membrane artificielle) montrent que **plus un soluté est hydrophobe, plus il traverse rapidement la membrane**, ce qui permet de supposer l'intervention de lipides.



CLINICAL INSIGHT

Lipid Vesicles Can Be Formed from Phospholipids

The propensity of phospholipids to form membranes has been used to create an important experimental and clinical tool. *Lipid vesicles*, or *liposomes*, are aqueous compartments enclosed by a lipid bilayer (Figure 12.2). These structures can be used to study membrane permeability or to deliver chemicals to cells. Liposomes are formed by suspending a membrane lipid in an aqueous medium and then *sonicating* (i.e., agitating by high-frequency sound waves) to give a dispersion of closed vesicles that are quite uniform in size. Vesicles formed by this method are nearly spherical in shape and have a diameter of about 500 Å (50 nm). Ions or molecules can be trapped in the aqueous compartments of lipid vesicles if the vesicles are formed in the presence of these substances (Figure 12.3).

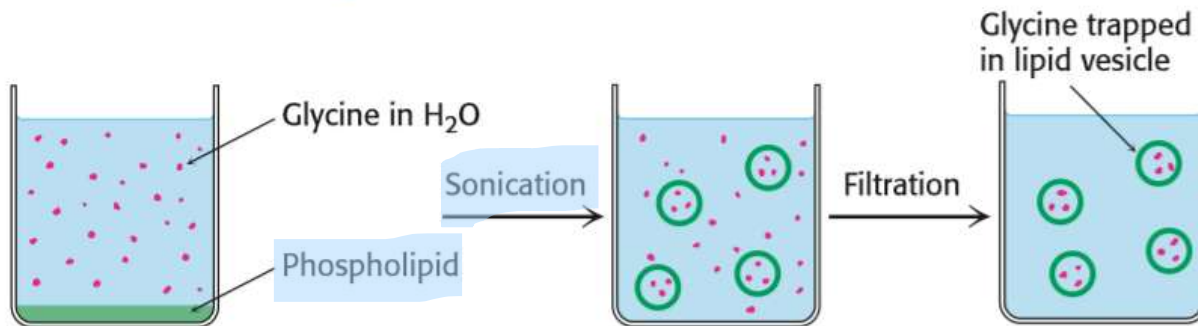


Figure 12.3 The preparation of glycine-containing liposomes. Liposomes containing glycine are formed by the sonication of phospholipids in the presence of glycine. Free glycine is removed by filtration.

Stryer, p 207

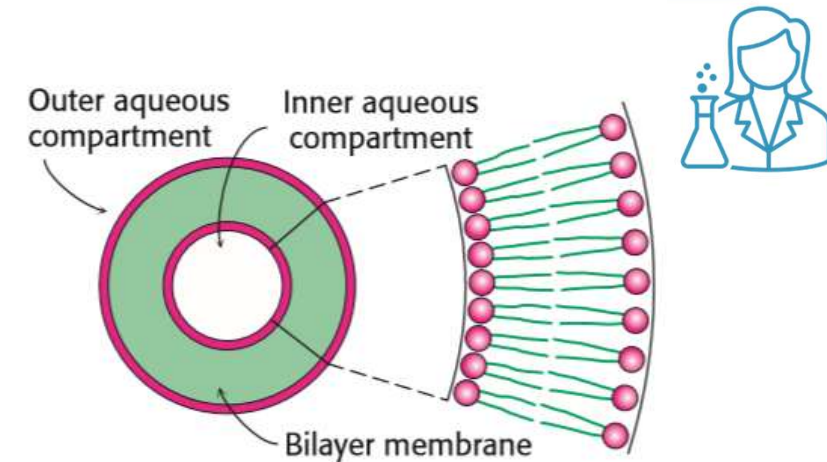


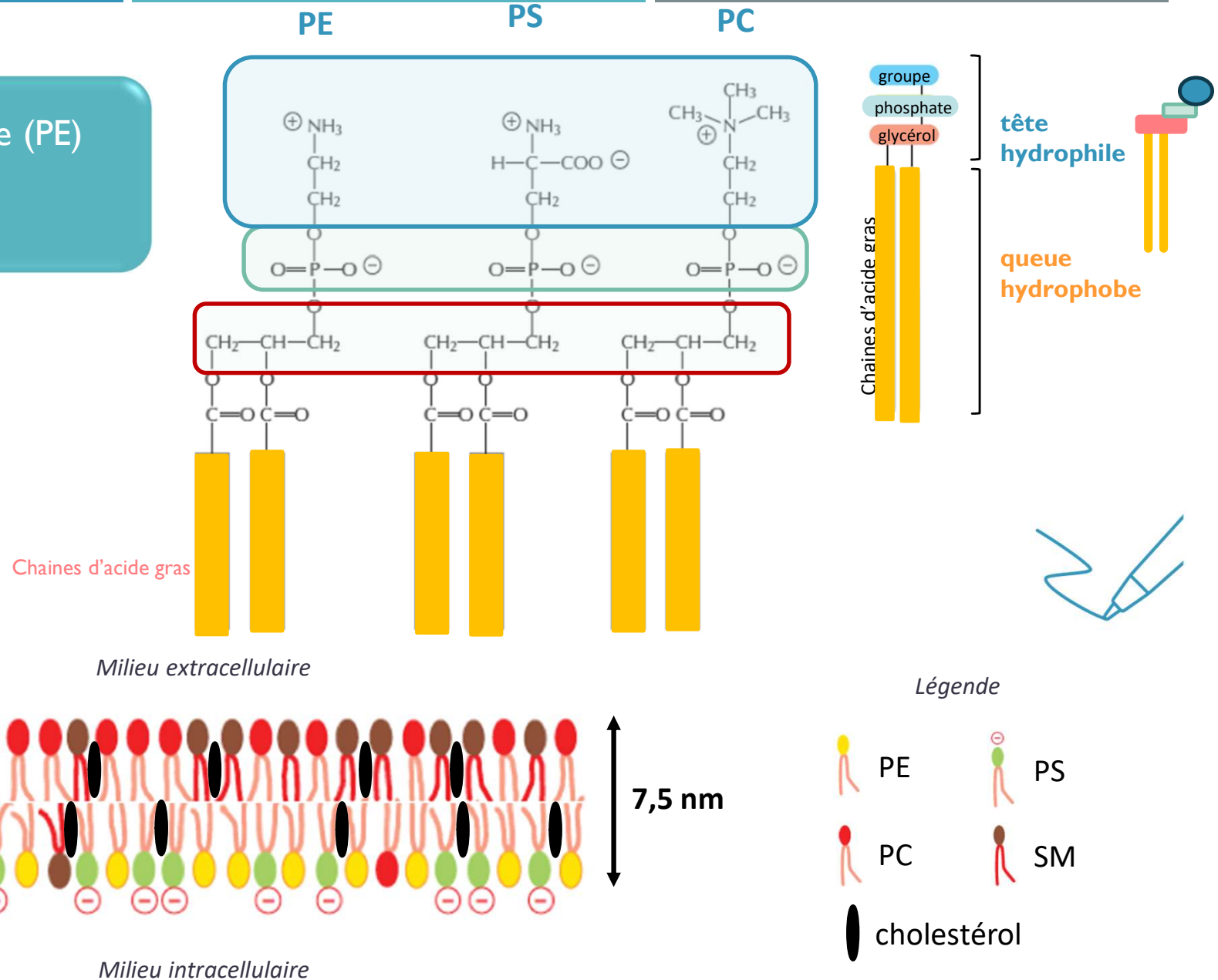
Figure 12.2 A liposome. A liposome, or lipid vesicle, is a small aqueous compartment surrounded by a lipid bilayer.



Assemblage spontané des glycérophospholipides amphiphiles en bicouche lipidique => Importance des liposomes en biotechnologies cf vaccins à ARN 😊

LES LIPIDES S'ORGANISENT EN BICOUCHE ASYMÉTRIQUE

Phosphatidyléthanolamine (PE)
Phosphatidylsérine (PS)
Phosphatidylcholine (PC)



L'asymétrie membranaire, dans la répartition des glycérophospholipides, du cholestérol et de la sphingomyéline (E. Bouguyon)



- PE et PS souvent côté hyaloplasmique
- PC et sphingomyéline souvent côté extracellulaire
- Cholestérol en quantité équivalente interne vs externe

Composition en lipides de la membrane des hématies en % des lipides totaux (in Voet)

Lipid	Human Erythrocyte
Phosphatidic acid	1.5
Phosphatidylcholine	19
Phosphatidylethanolamine	18
Phosphatidylglycerol	0
Phosphatidylinositol	1
Phosphatidylserine	8.5
Cardiolipin	0
Sphingomyelin	17.5
Glycolipids	10
Cholesterol	25

Composition en lipides de quelques biomembranes en % des lipides totaux (in Lodish)

PC = phosphatidylcholine ;
 PE = phosphatidyléthanolamine ;
 PS = phosphatidylsérine ;
 SM = sphingomyéline

Source/Location	Composition (mol %)			
	PC	PE + PS	SM	Cholesterol
Plasma membrane (human erythrocytes)	21	29	21	26
Myelin membrane (human neurons)	16	37	13	34
Plasma membrane (mung bean)	47	43	0	0
Inner mitochondrial membrane (cauliflower)	42	38	0	0
Outer mitochondrial membrane (cauliflower)	47	27	0	0
Plasma membrane (<i>E. coli</i>)	0	85	0	0
Endoplasmic reticulum membrane (rat)	60	25	3	7
Golgi membrane (rat)	51	26	8	13
Inner mitochondrial membrane (rat)	40	37	2	7
Outer mitochondrial membrane (rat)	54	31	2	11
Primary leaflet location	Exoplasmic	Cytosolic	Exoplasmic	Both

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

A. LES MEMBRANES SONT DES MOSAÏQUES MOLÉCULAIRES

2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines
modèle, théorie et mesure, les travaux de Davson et Danielli sur la tension superficielle



Tension superficielle : force qui rend une surface libre d'un liquide comparable à une membrane élastique. Elle est due aux forces intermoléculaires qui existent entre les molécules du liquide.



<https://www.youtube.com/watch?v=DZOB5GVAXJg>



Tension superficielle des membranes mesurée \ll tension superficielle théorique (si bicouche lipidique)

⇒ existence de molécules abaissant tension superficielle

⇒ Hypothèse d'un sandwich lipido-protéique de Davson et Danielli

1935 : modèle de Davson et Danielli = membrane : double couche lipidique recouverte d'une couche de protéines globulaires sur les faces internes et externes.

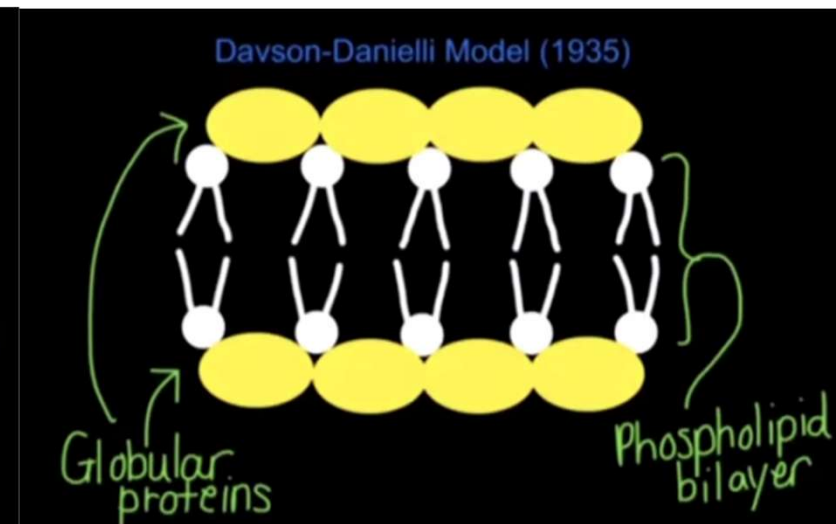
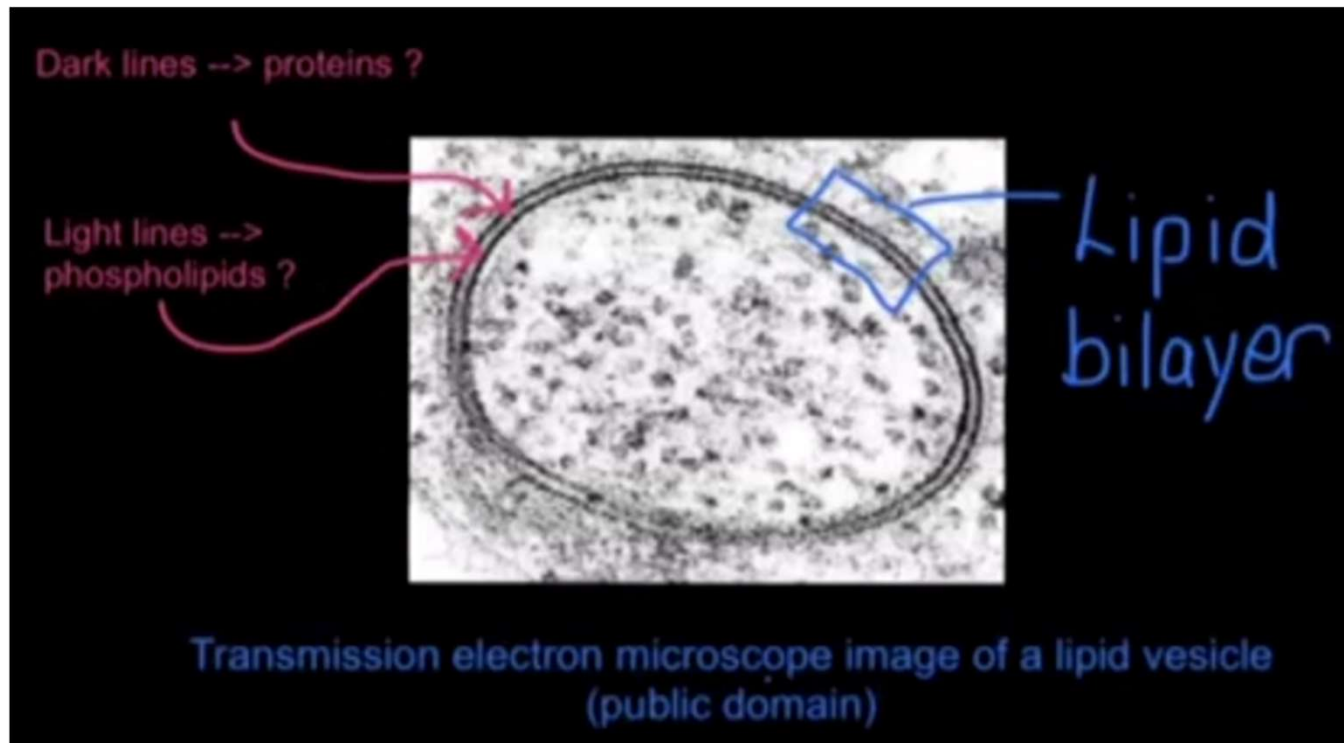
I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

A. LES MEMBRANES SONT DES MOSAÏQUES MOLÉCULAIRES

2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines

Modèle, théorie et mesure, les travaux de Davson et Danielli sur la tension superficielle



2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

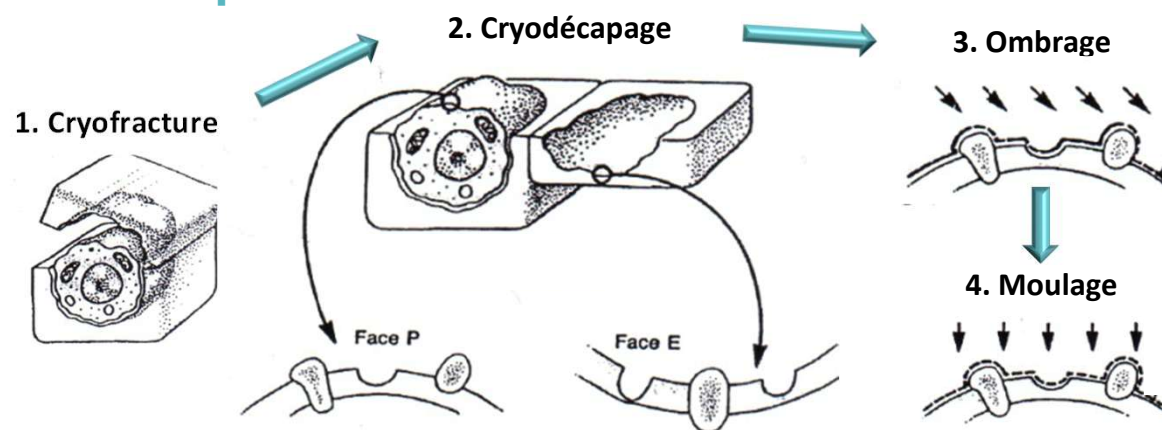


2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines

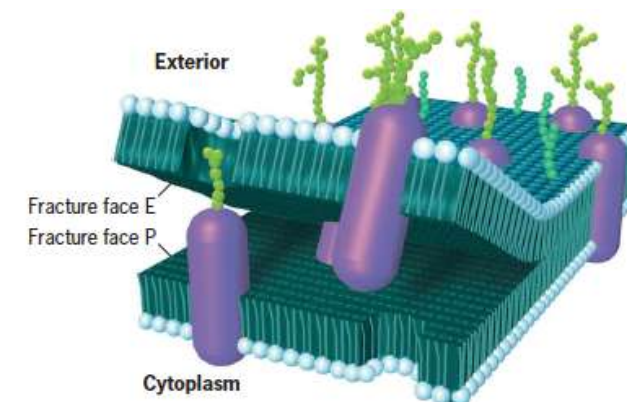
Étude de l'insertion de la disposition des protéines au sein de la membrane par cryofracture

- 1959 : électronographie par Robertson

Technique de **cryofracture** et de **cryodécapage** montre que la surface des membranes est très granuleuse
=> Protéines enchâssées dans la membrane



Membrane vue de face après cryofracture avec ombrage (Peyru, 2013)



Modèle d'interprétation des résultats de cryofracture

2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle



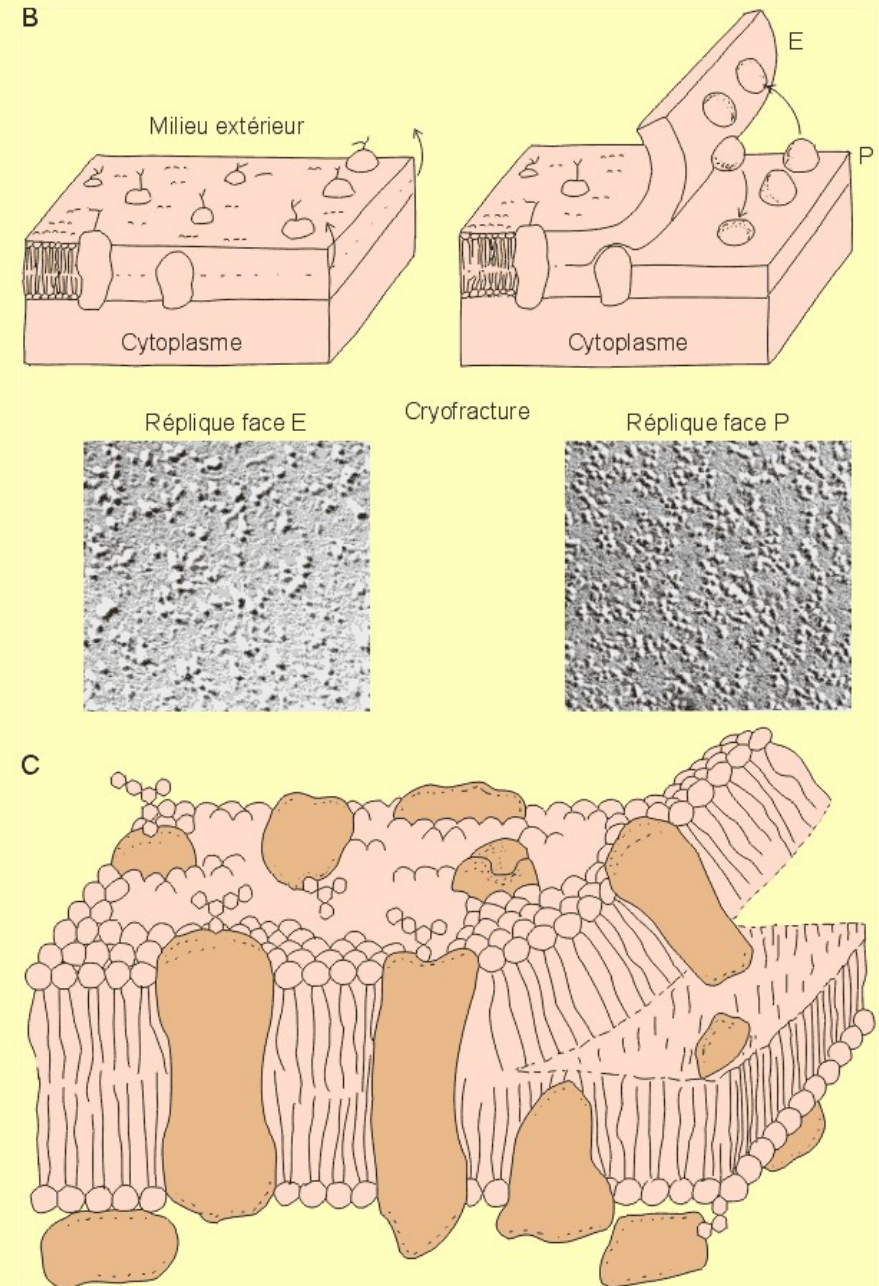
2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines Étude de l'insertion et de la disposition des protéines au sein de la membrane par cryofracture

B : Vue en microscopie électronique d'une réplique de **cryofracture** de membrane plasmique de globule rouge montrant des "particules associées" représentant la trace des **protéines ancrées** dans la couche protoplasmique ou exoplasmique (faces E et P des hémimembranes externe et interne).

C : Schéma conceptuel d'une membrane plasmique illustrant le modèle actuellement proposé dit en "**mosaïque fluide**". On y distingue des "particules associées"

- soit traversant la bicouche : **protéines intrinsèques**
- soit ancrées dans la bicouche : **protéines extrinsèques** externes ou internes.

EN % MASSIQUE:
PROTÉINES = 50% DE MASSE MEMBRANAIRE
(42% POUR LES LIPIDES ET 8 % POUR LES
GLUCIDES)



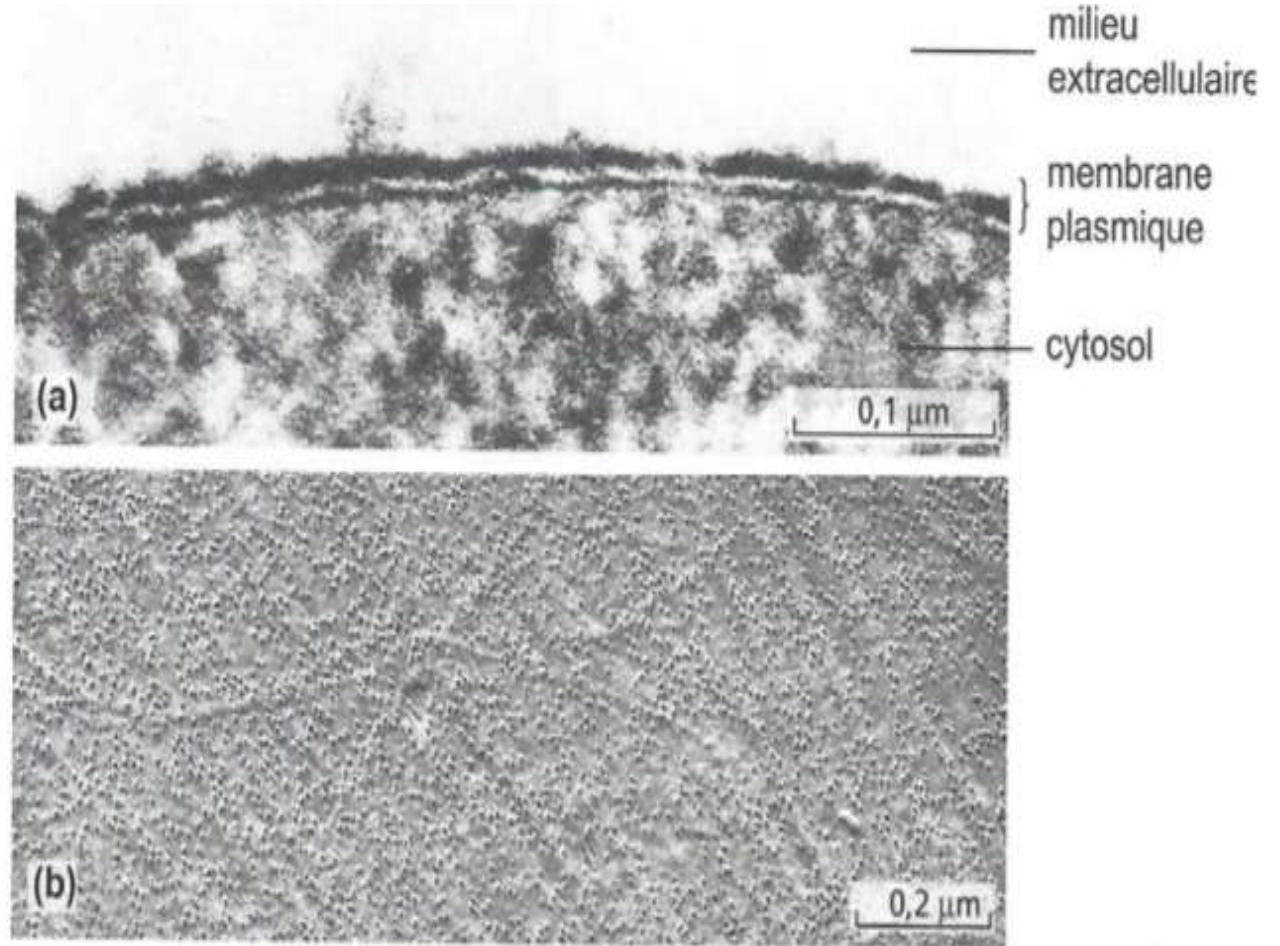
Étude de l'insertion de la disposition des protéines au sein de la membrane par cryofracture



Comment semble être organisée la membrane?
Quelle est l'épaisseur de la membrane ?

La structure de la membrane plasmique.

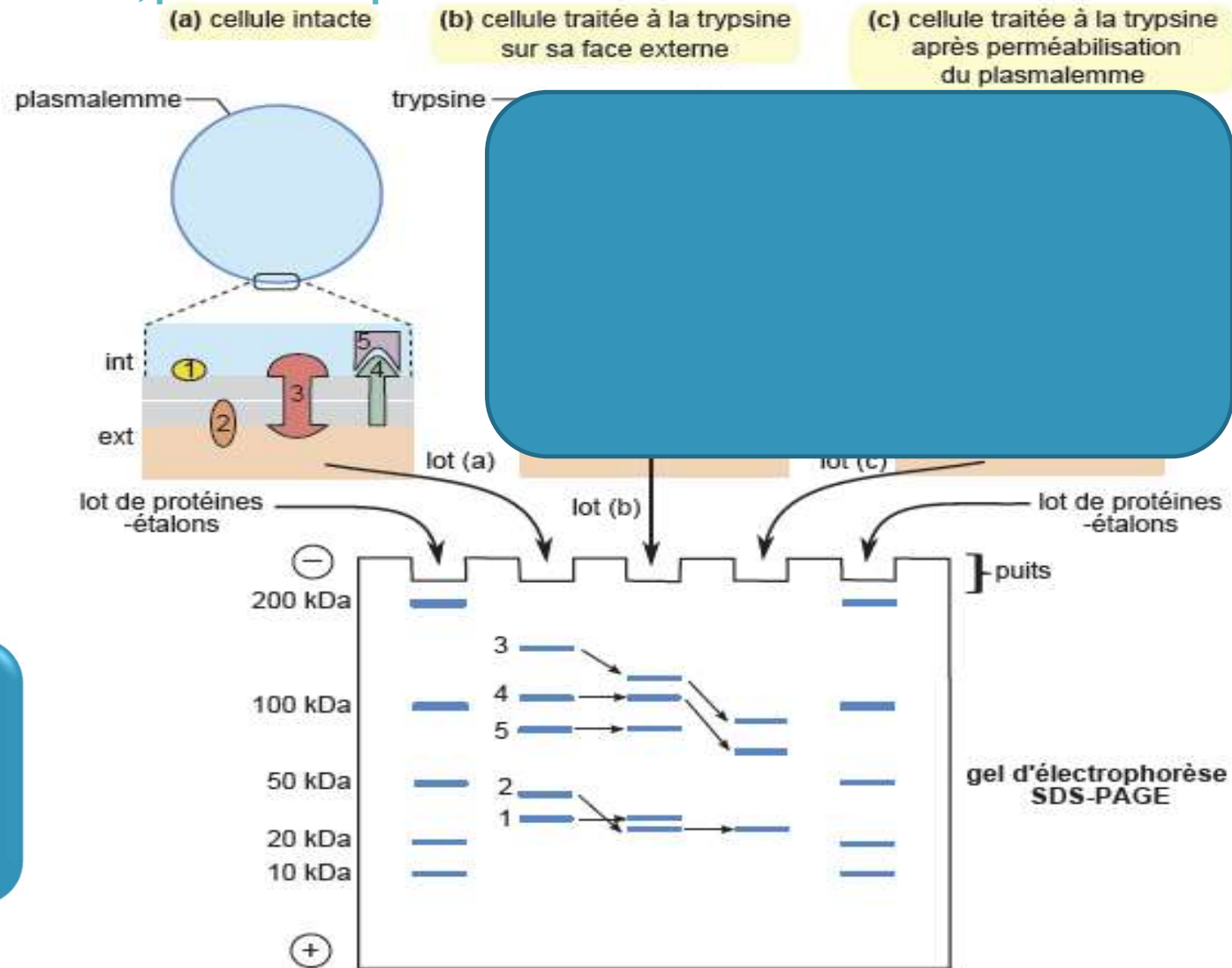
(a) structure tripartite de la membrane vue en coupe $\times 300\ 000$, on voit nettement les deux feuillets avec un espace au milieu, le feuillet interne étant le plus fin. (b) Vue de face révélant la structure particulière de la membrane $\times 75\ 000$. Le diamètre des particules est de 10 nm. (Cliché B. Vian, « Atlas de biologie cellulaire », J.-C. Roland, J.-C. Callen, A. et D. Szöllösi, 5^e éd. Dunod, 2001.)



Electronographie du **plasmalemme**, **structure tripartite** de la membrane plasmique (MET) (a), observation de la face après cryofracture-cryodécapage et ombrage métallique (Peycru, 2013)

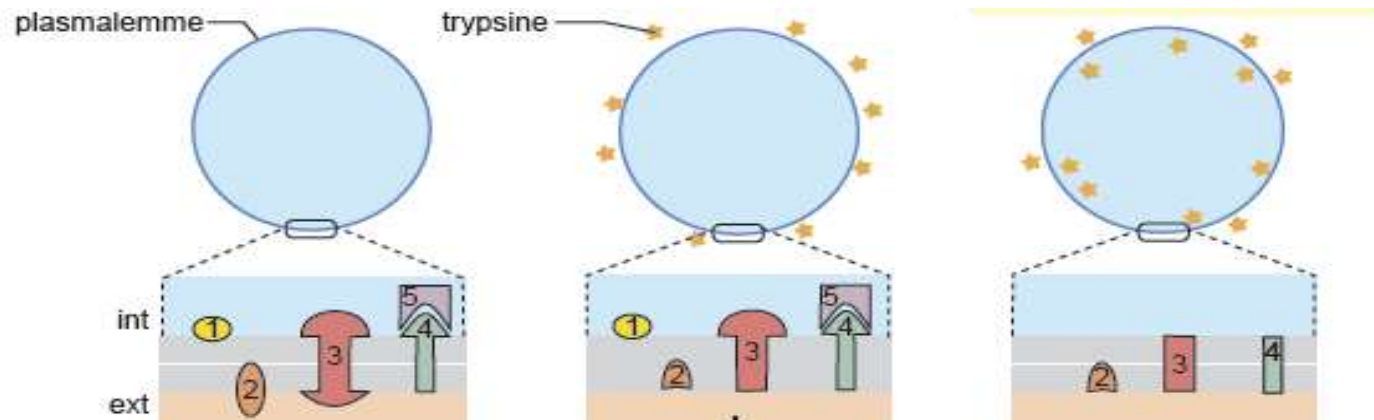
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines Par digestion sélective, puis électrophorèse



Trypsine:
protéase non
perméante

FIGURE 3.3 Protocole utilisé pour déterminer la situation des protéines membranaires.



Différents types de protéines

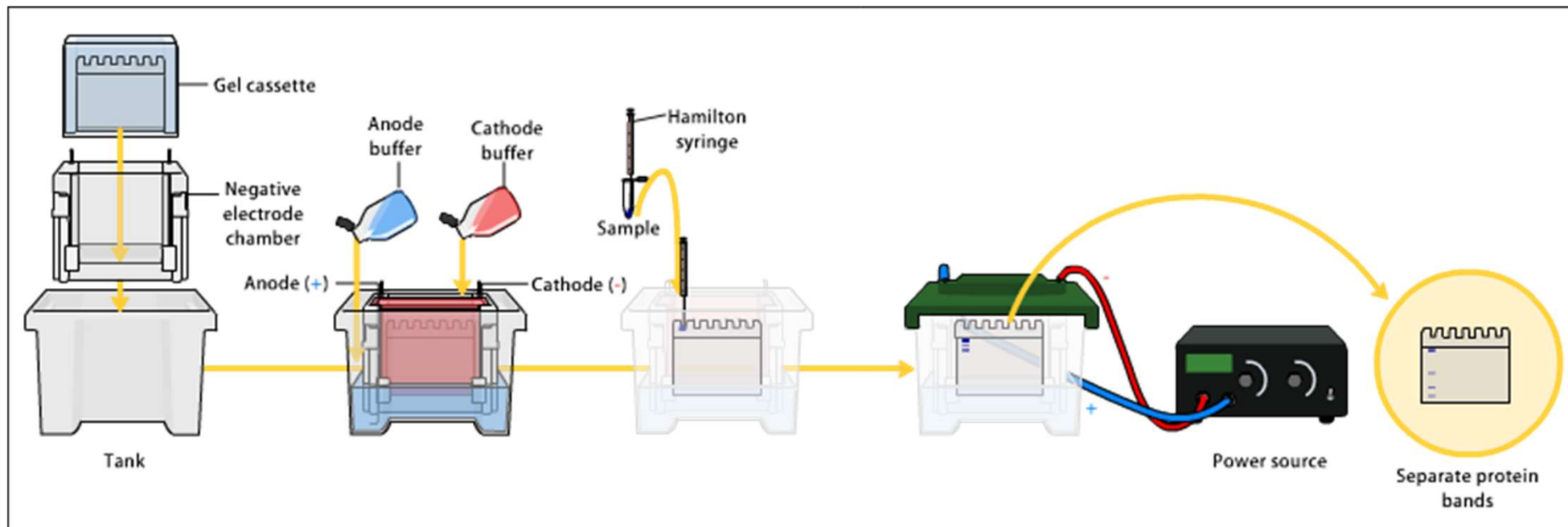
- 1) Transmembranaires (prot n°3 et 4)
- 2) Ancrées dans la membrane avec des domaines émergents seulement d'un côté (prot n°2 et 4)
- 3) Reliées à la membrane sans y être ancrées (prot n°1 et 5)



2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines

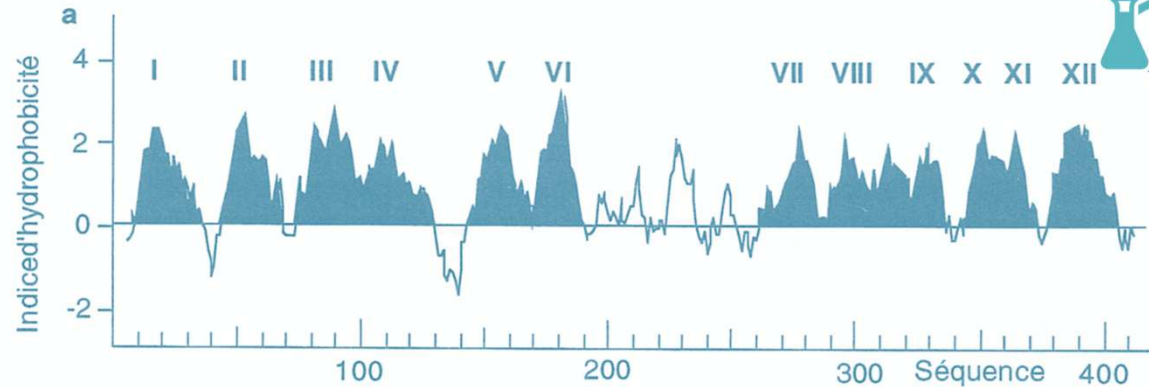
Electrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS (conditions dénaturantes)



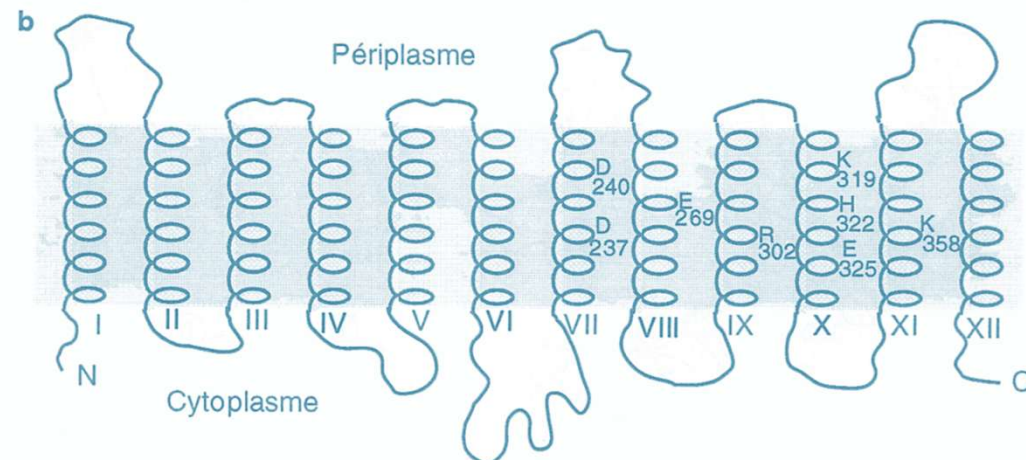
Par l'étude du profil d'hydrophobicité = hydropathie



Profil d'hydrophobicité:
Douze domaines
hydrophobes = 12 hélices α
transmembranaires
Echelle de Kyte et Doolittle

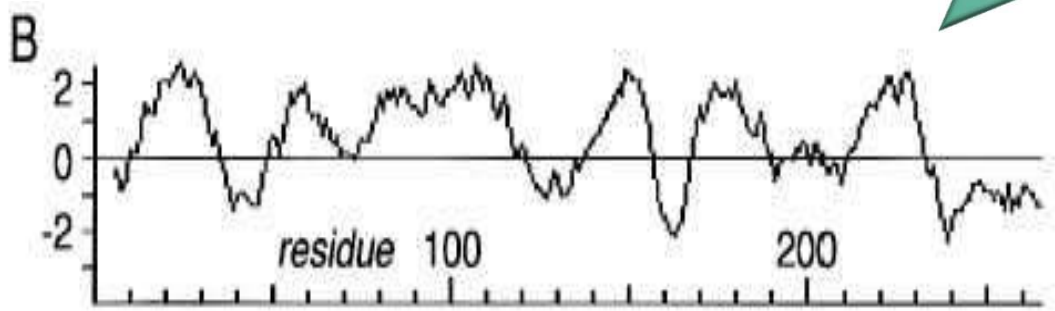
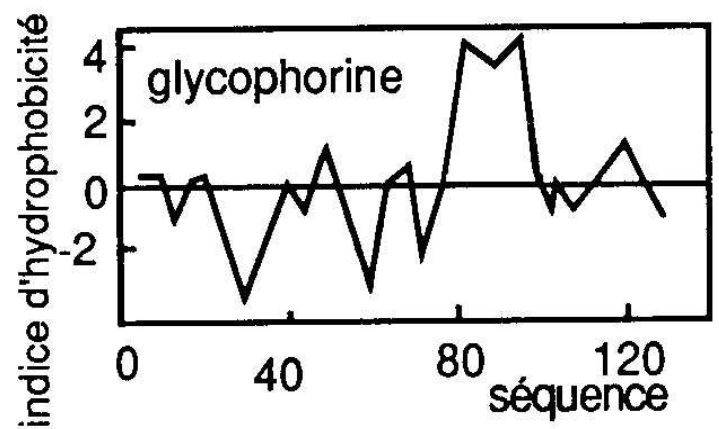


Topologie:
D (asp), E (glu), R (arg), K
(lys) et H (his) au sein des
hélices



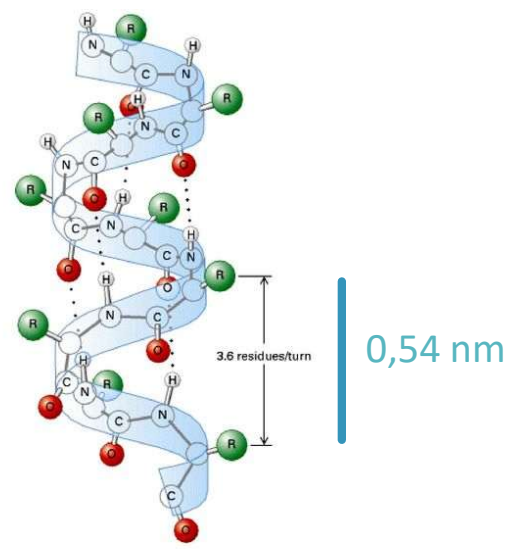
Profil d'hydrophobicité de la lactose perméase (Shechter, Dunod, 2000)

Les régions hydrophobes correspondent aux **segments transmembranaires** possibles et donc aux hélices alpha.

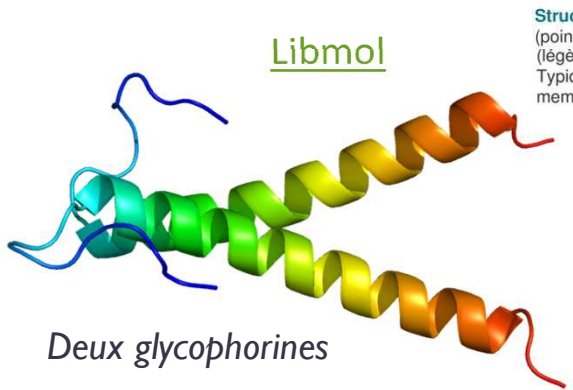
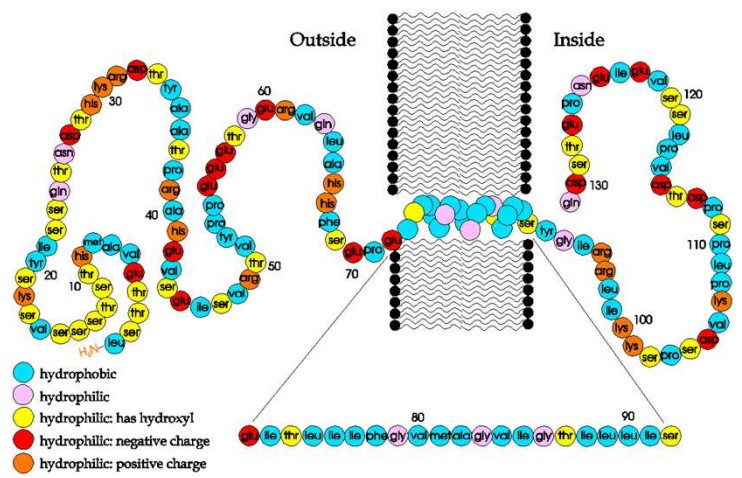


Aquaporine: 6 domaines transmembranaires

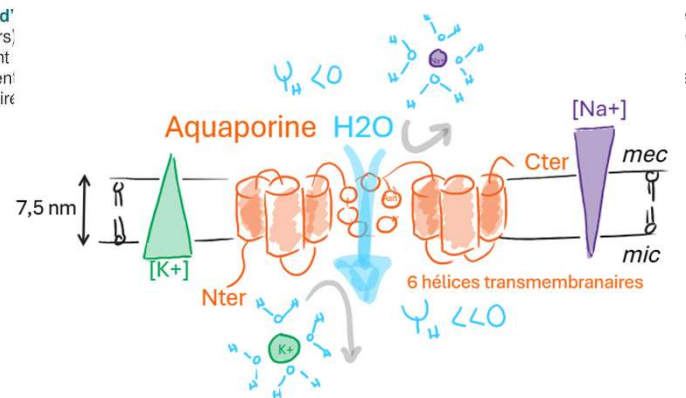
1. Identifier les portions hydrophiles et hydrophobes des protéines A (glycophorine) et B (aquaporine).
2. En supposant que le principal domaine hydrophobe identifié dans la glycophorine est une hélice α , calculer la hauteur de cette hélice.
3. Est-ce suffisant pour traverser la partie hydrophobe de la membrane ?
4. On rappelle les dimensions du pas d'une hélice α : 3,6 acides aminés – 0,54 nm.
5. A partir des profils d'hydropathie, proposer une disposition membranaire des 2 protéines glycophorine (A) et aquaporine (B).



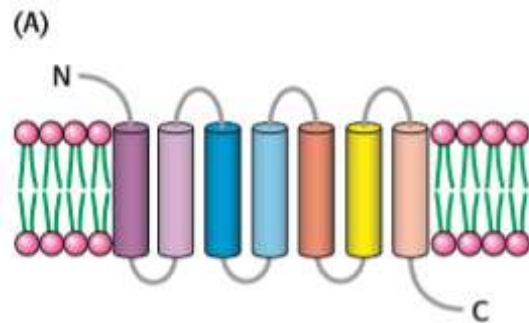
Primary Structure of Glycophorin A



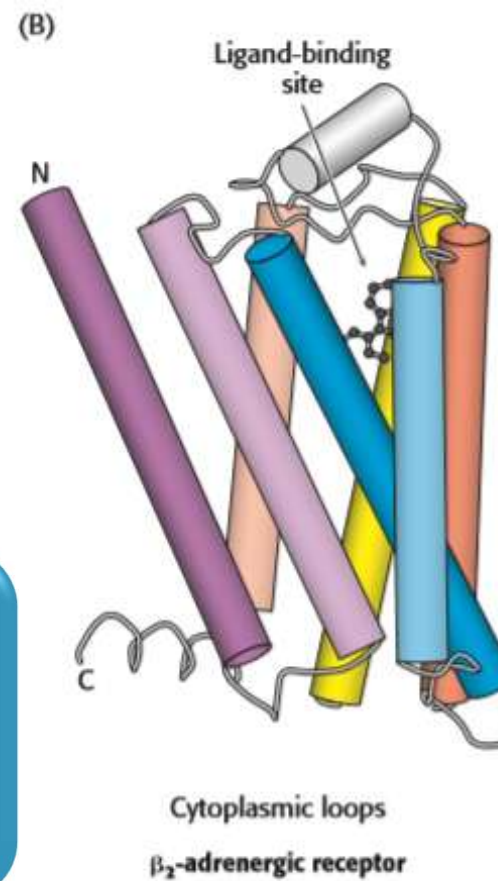
Structure d' (points noirs) (légèrement Typiquement membranaire



s liaisons s atomes des proté



Récepteur β
adrénergique à 7
domaines
transmembranaires
(donc à 7 hélices alpha)



Stryer, p 227

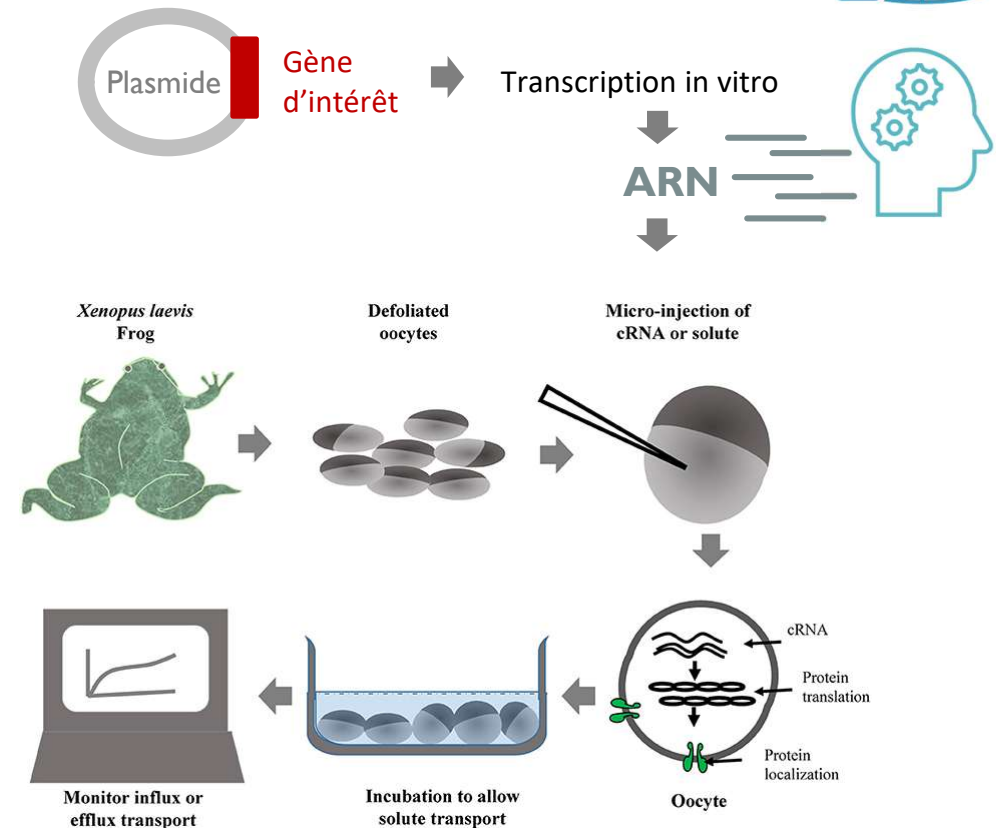
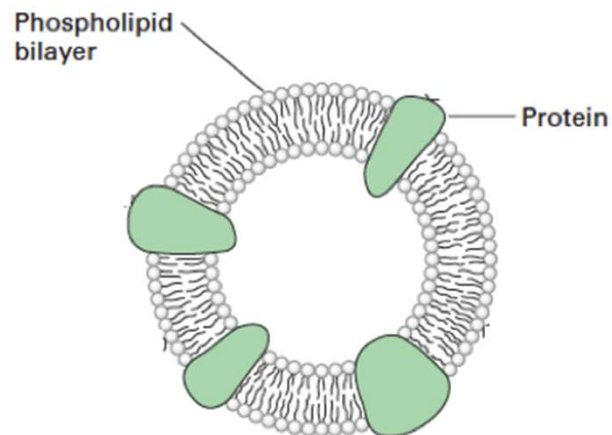
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines Par l'utilisation d'ovocytes de Xénope (étude des canaux ioniques)



Etude fonctionnelle d'une protéine membranaire

- Pour étudier spécifiquement la fonction d'une protéine, on peut :
 - faire exprimer la protéine dans un **ovocyte de Xénope**
 - ✓ (ex: études des canaux ioniques ou des transporteurs)
 - Intégrer la protéine à un **liposome**



ovocytes de Xénope = peu de canaux endogènes et de grande taille → bon système d'étude pour des transporteurs ou canaux

2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.1. Mise en évidence de la présence et des fonctions des protéines Par l'utilisation d'une protéine rapporteur (fusion de gène)

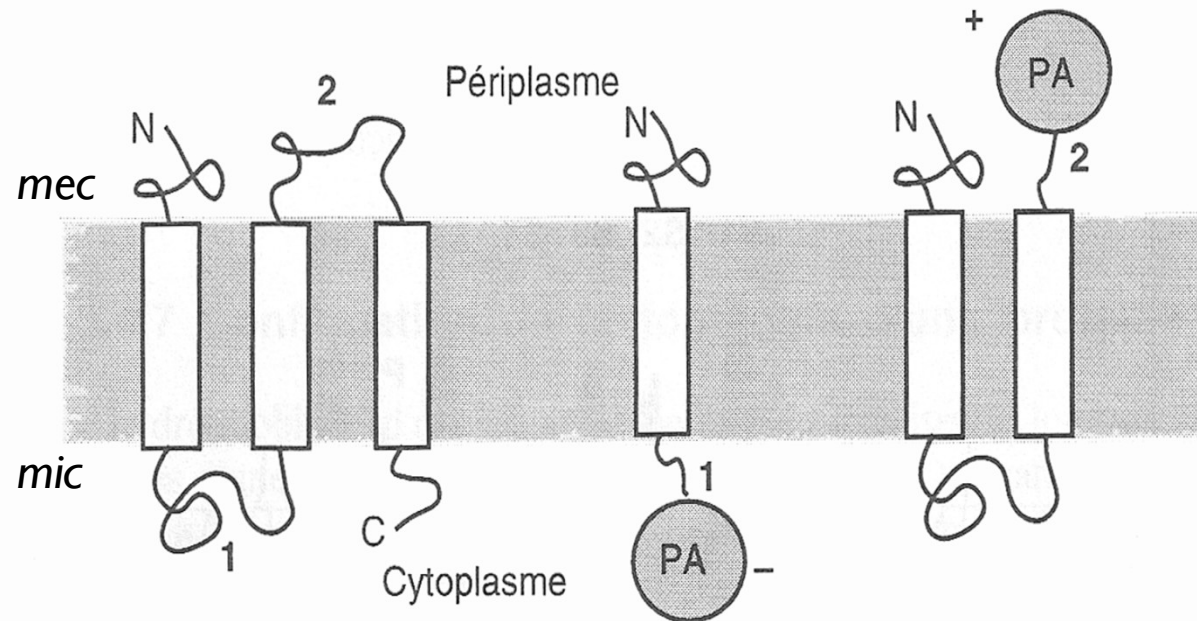


Prérequis : connaître le profil d'hydrophobicité
=> Identification de domaines extra-membranaires

Objectifs : identifier quels domaines extra membranaires sont intra vs extracellulaires

Principe : associer une protéine rapporteur, la PA (phosphatase alcaline) à différents segments de la protéine d'intérêt au préalable identifiés comme étant extra membranaires

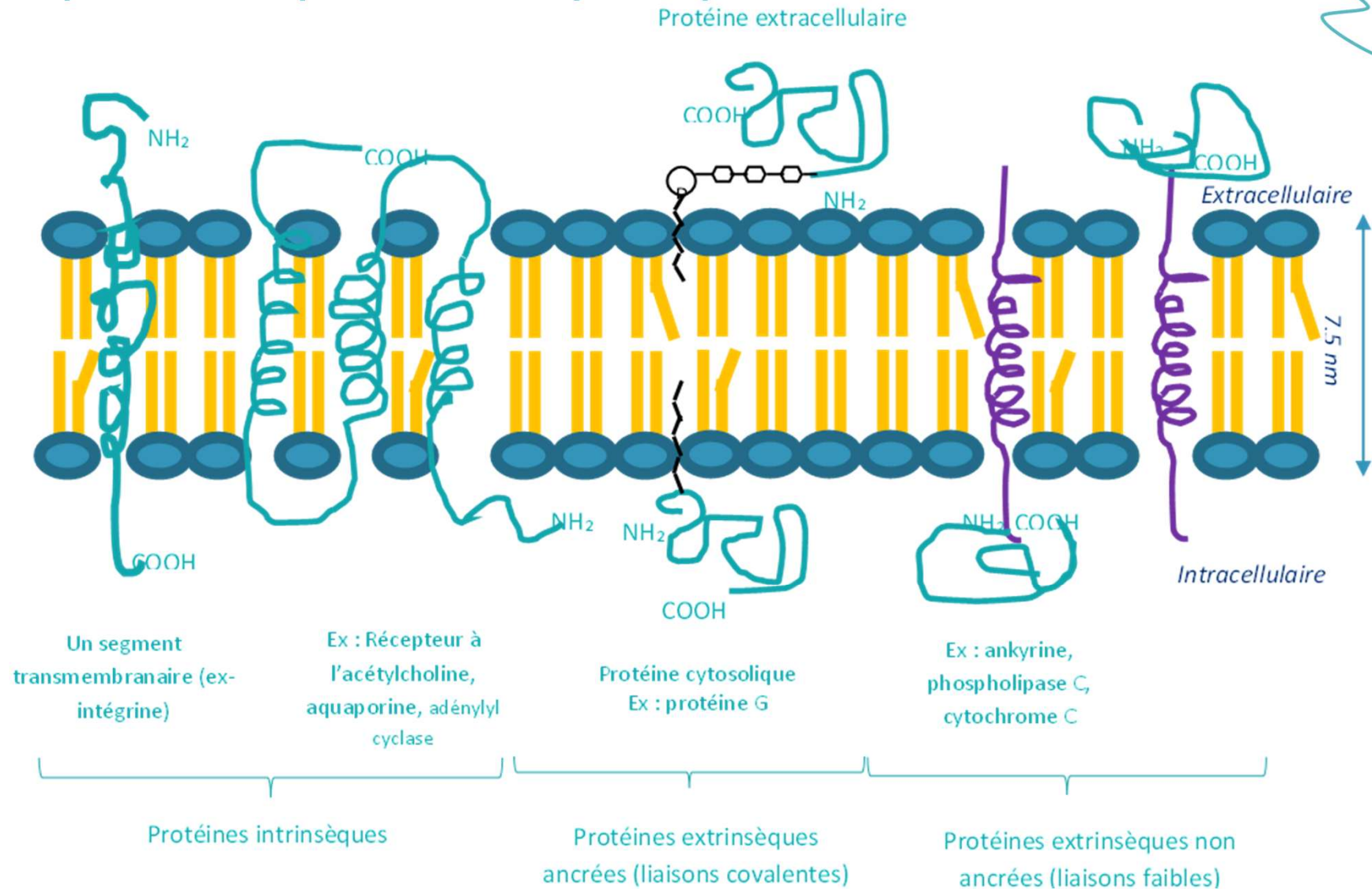
Phosphatase alcaline + substrat => produit coloré; or substrat ne passe pas la membrane bactérienne



Utilisation d'une protéine « rapporteur » (in Shechter, Dunod, 2000)

2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.2. La répartition des protéines est asymétrique



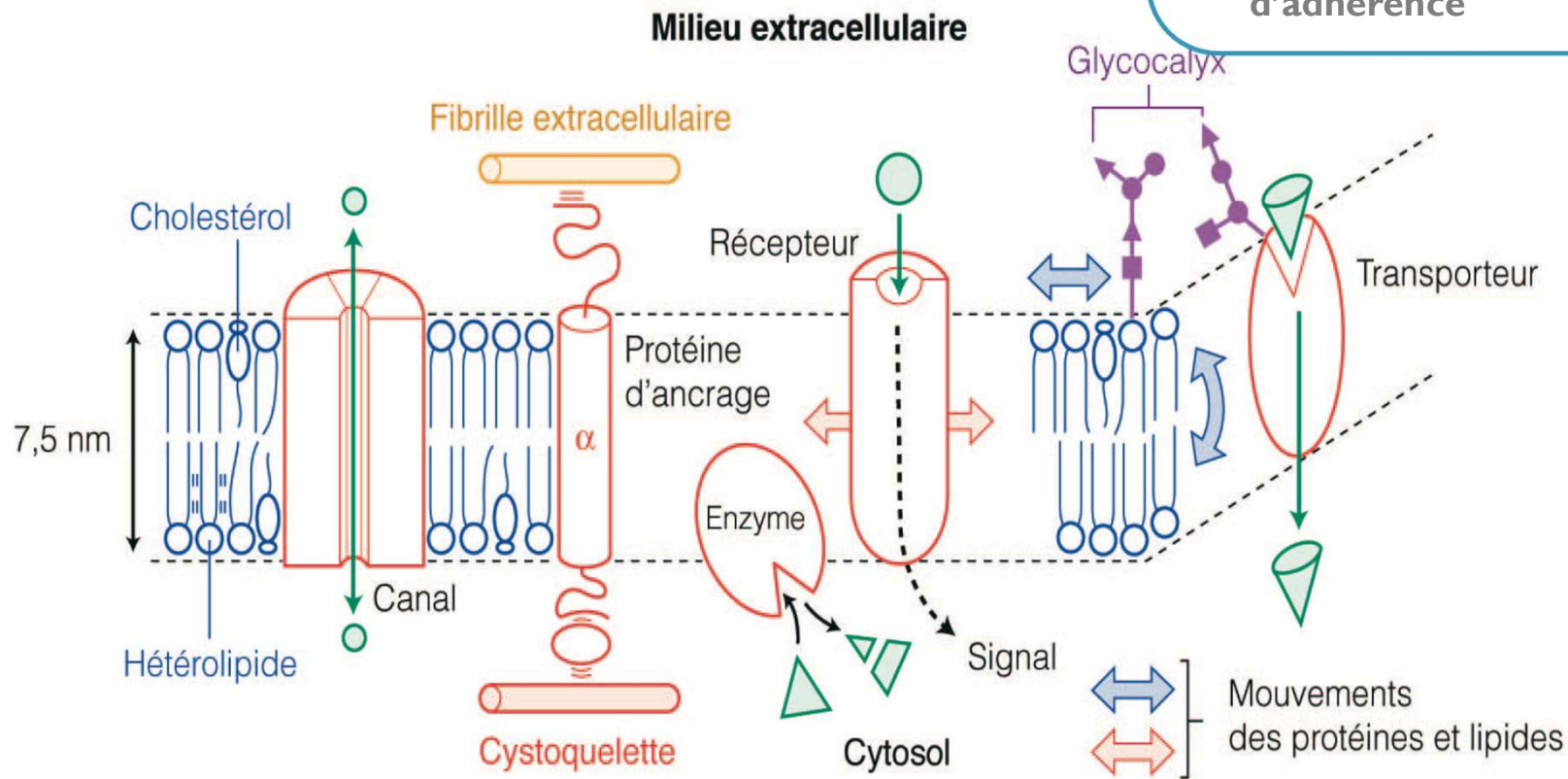
Les modes d'associations possibles des protéines à la bicouche lipidique (S. Dalaine)

2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle

2.3. Bilan : la diversité des fonctions de la membrane est due à la diversité des fonctions des protéines membranaires



- Rôles des protéines membranaires :
 - La **communication** : récepteur aux hormones, protéines G, marqueurs de l'identité cellulaire
 - Le **métabolisme** : enzymes comme l'ATP synthase
 - Les **échanges** : transporteurs, canaux ioniques
 - Les interactions mécaniques : **protéines d'adhérence**



Organisation fonctionnelle de la membrane (Segarra, 2014)

La cytochrome c oxydase de la chaîne mitochondriale: protéine extrinsèque non ancrée

Cf SV-E-2

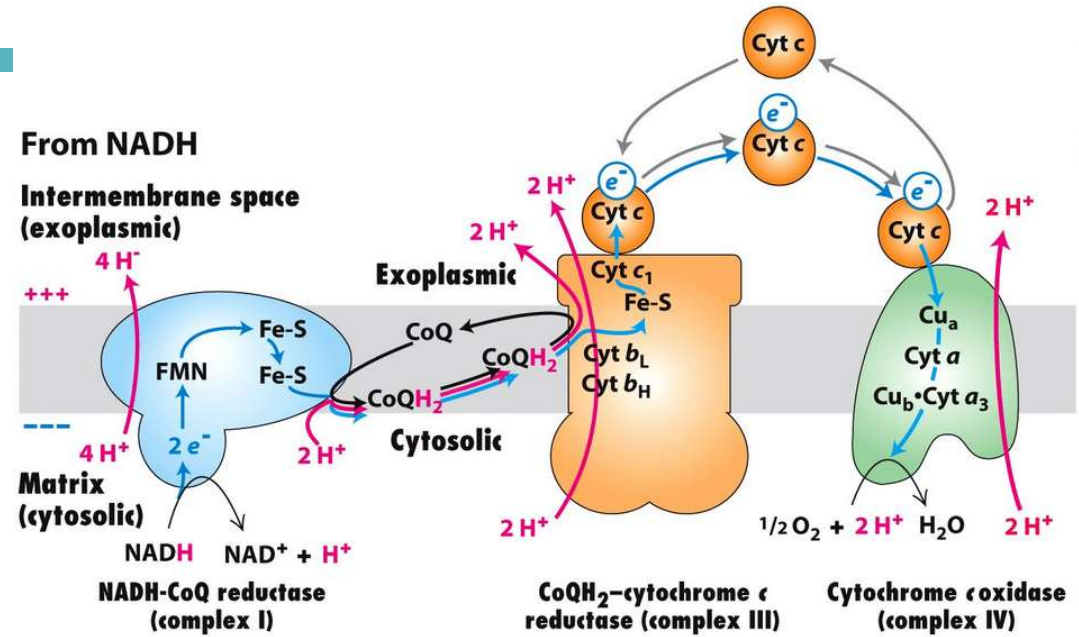
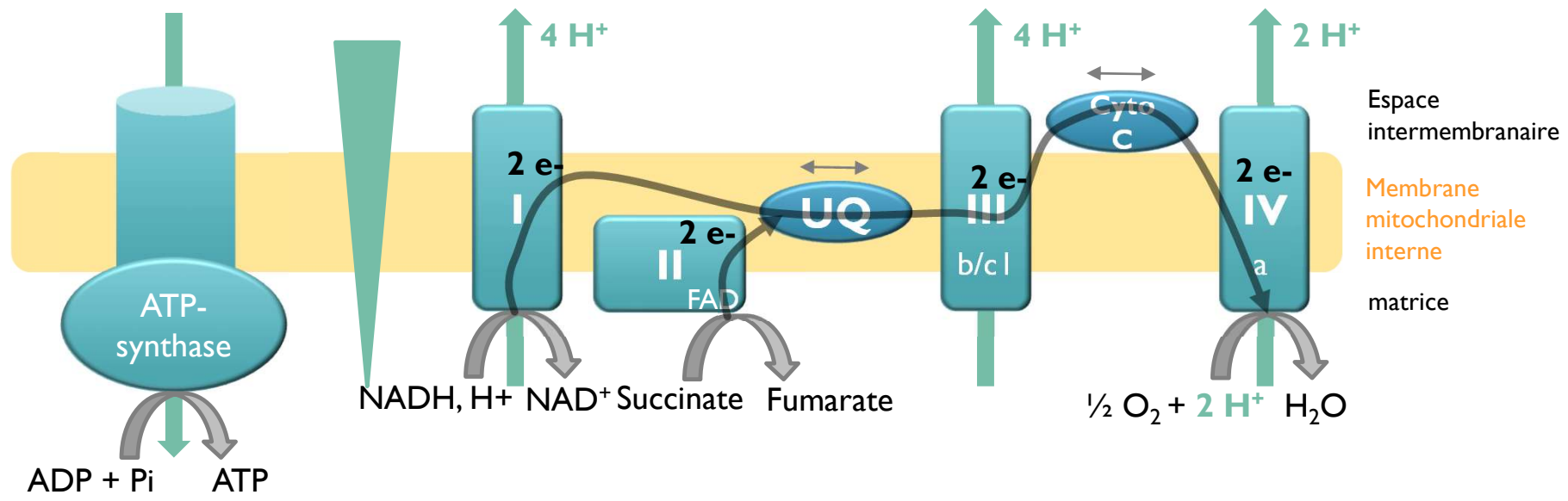


Figure 12-16a
 Molecular Cell Biology, Sixth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

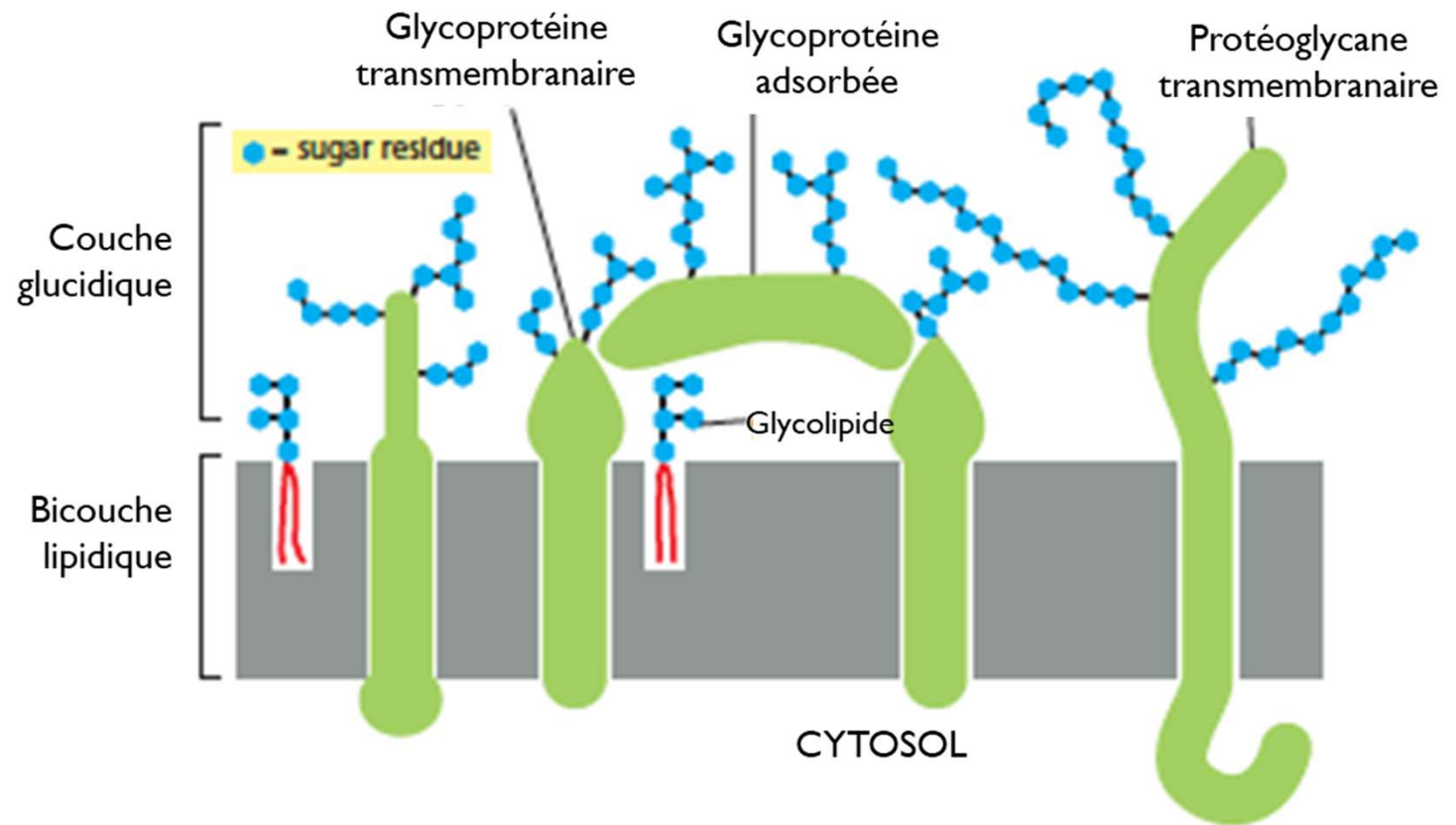
A. LES MEMBRANES SONT DES MOSAÏQUES MOLÉCULAIRES

3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire



■ Glycocalyx: Mise en évidence par immunomarquage :

- oses ou des oligosides attachés de façon covalente à des lipides (glycolipides) ou des protéines (glycoprotéines)
- uniquement sur la face externe de la membrane plasmique



Modèle du glycocalyx

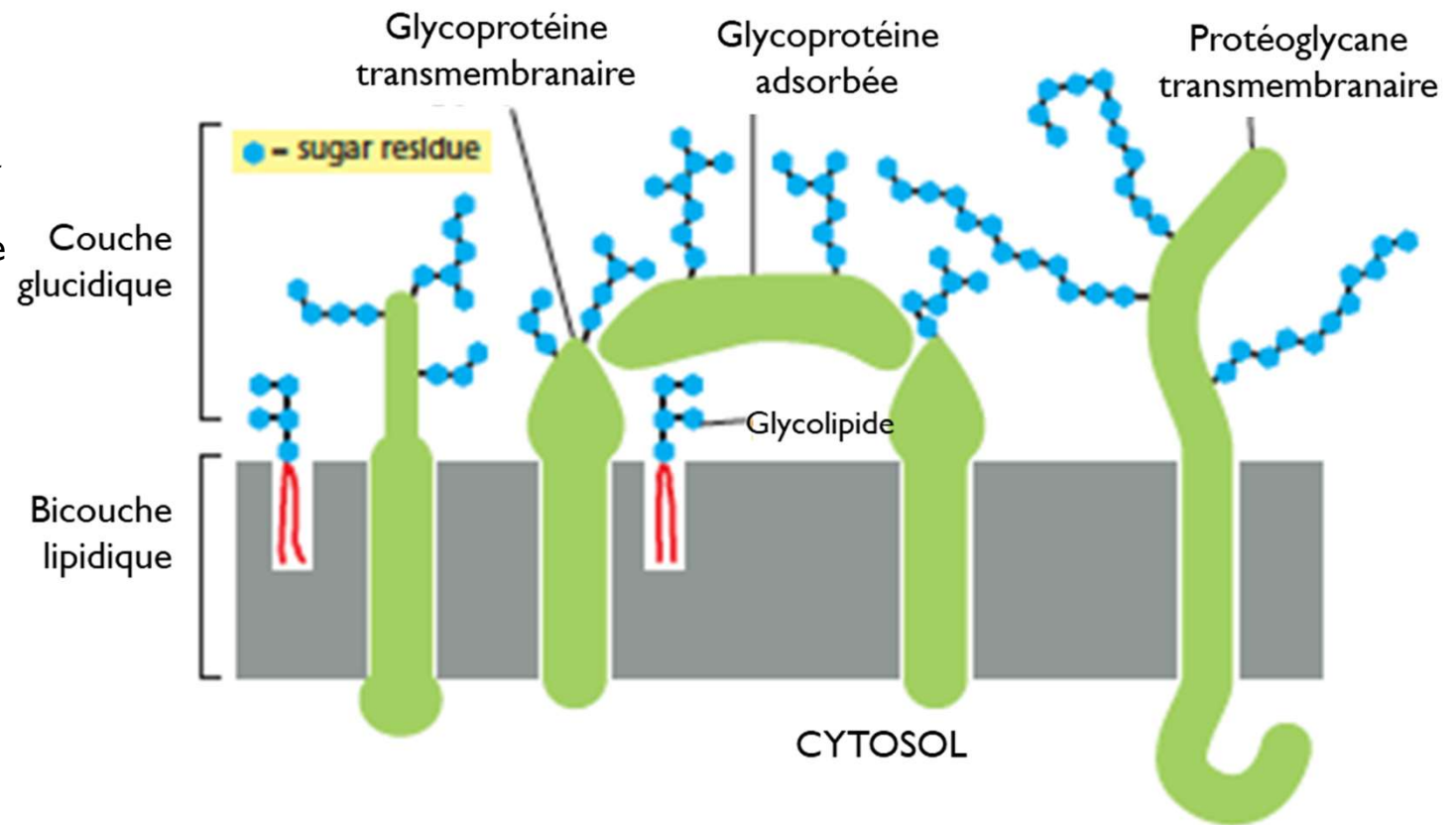
I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

A. LES MEMBRANES SONT DES MOSAÏQUES MOLÉCULAIRES

3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire



- Glycocalyx= ensemble des oses et osides de la face externe
 - Moins de 10% de la masse de la membrane
 - Impliqué dans la reconnaissance cellulaire
Ex: marqueurs des groupes sanguins
 - maintenir à distance les objets étrangers
 - Protection des agressions mécaniques et chimiques
 - rôles spécifiques de reconnaissance et de communication
Ex :interaction spermatozoïde (bêta 1,4 - galactosyltransférase) – ovule (ZP3), coagulation sanguine



Modèle du glycocalyx

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

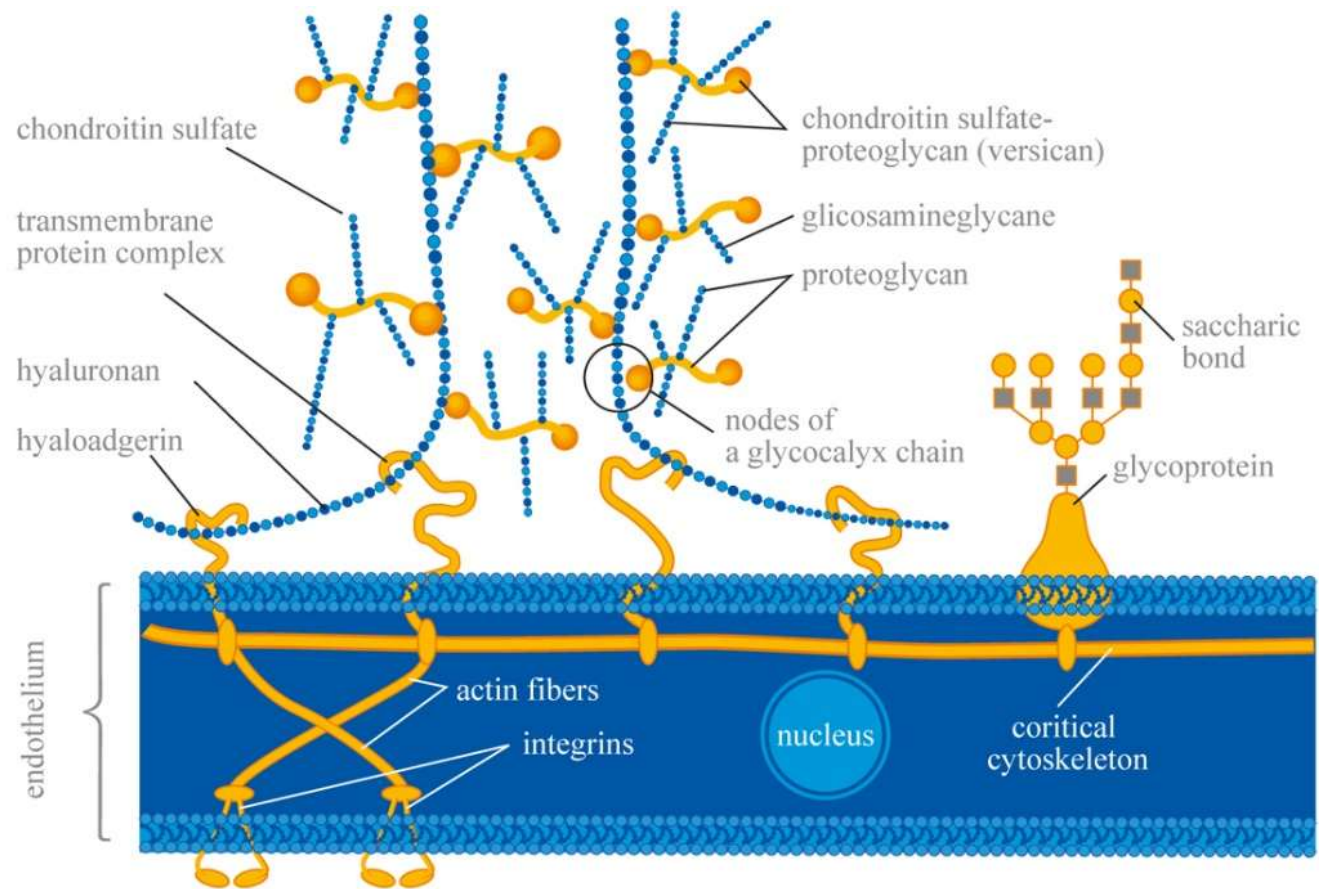
E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

A. LES MEMBRANES SONT DES MOSAÏQUES MOLÉCULAIRES

4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique

- Glycocalyx:
 - Glucides attachés aux molécules intrinsèques de la membrane
 - Glucides des glycoprotéines et des protéoglycanes sécrétés dans l'espace extracellulaire (MEC)
 - ⇒ limite entre membrane plasmique et MEC difficile à définir



La frontière entre membrane plasmique (et donc glycocalyx) et matrice extracellulaire est difficile à identifier

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

A. LES MEMBRANES SONT DES MOSAÏQUES MOLÉCULAIRES

5. Bilan sur la composition de la membrane: une mosaïque



Mosaïque = édifice multimoléculaire, stabilisé par des liaisons faibles

Analyse chimique, % **massique** :

- 42% lipides
- 50% protéines
- 8% glucides



👐👐 % massiques et non % de proportions relatives.... !!!

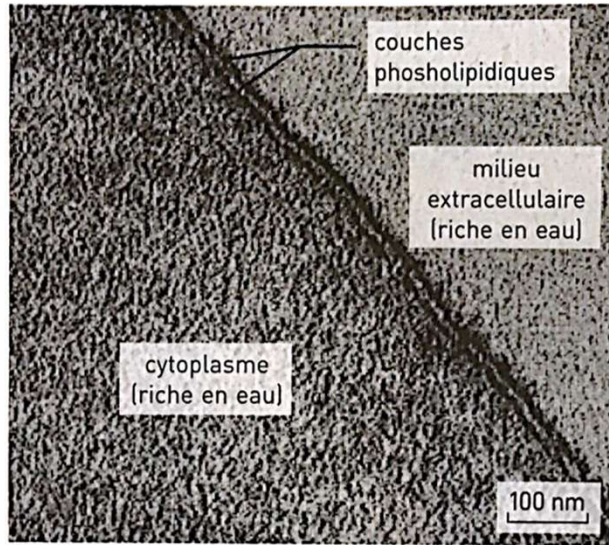
3 Les apports de la microscopie électronique

Au milieu du xx^e siècle, les observations de microscopie électronique à transmission (a) précisent les modèles précédents.

En 1972, Singer et Nicholson ont l'idée de comparer la surface de vésicules lipidiques artificielles (b) et celles de la surface de véritables cellules (c et d).

Grâce à leurs observations réalisées au microscope électronique à balayage, ils proposent alors un nouveau modèle, dans lequel les protéines sont dispersées et insérées dans la membrane plasmique.

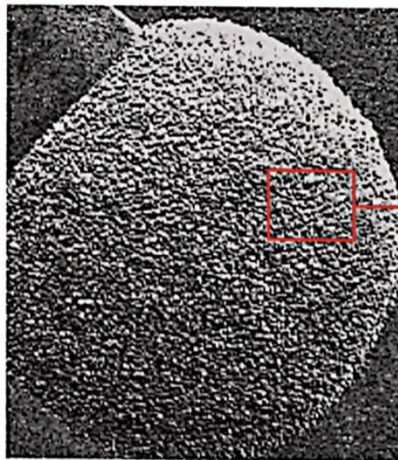
Certaines protéines traverseraient la membrane, alors que d'autres y sont simplement incluses, d'un côté ou de l'autre.



a Observation au MET d'une membrane plasmique.



b Observation au MEB de la surface d'une vésicule lipidique artificielle (grossissement $\times 80\ 000$).



c Observation au MEB de la membrane plasmique d'une cellule (grossissement $\times 50\ 000$).



d Observation au MEB d'une membrane plasmique (vue de détail, grossissement $\times 75\ 000$).



Limites de l'électronographie:
observation de cellules mortes

⇒ Impossible de mettre en évidence une éventuelle **fluidité**

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

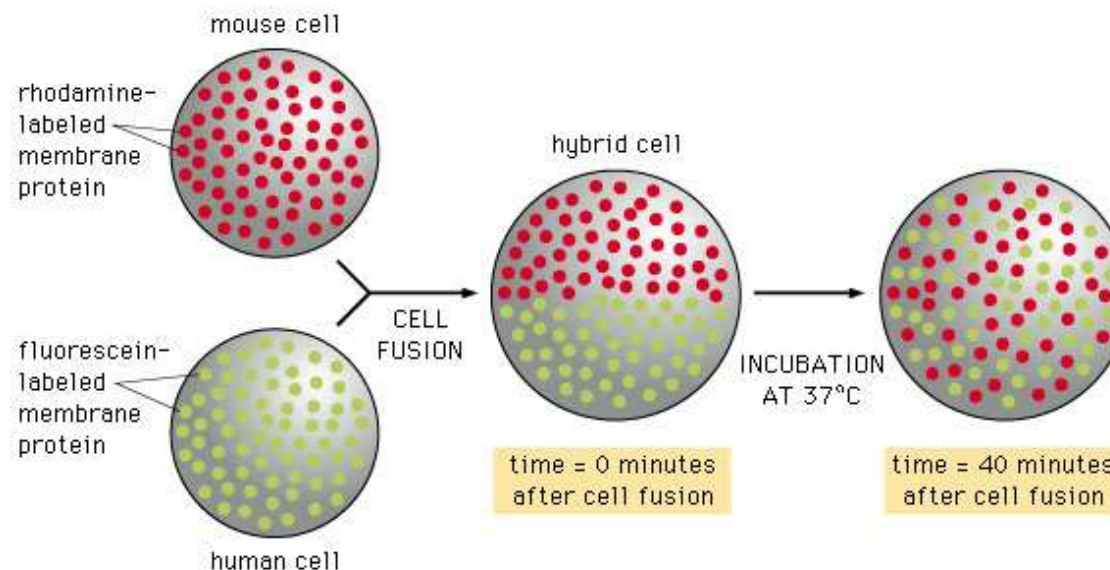
D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES

I. Mise en évidence de la mobilité latérale expérience de Frye et Edidin, 1970



©1998 GARLAND PUBLISHING

- **Virus Sendai** = augmente la fluidité membranaire, hétérocaryons de cellule murine vs humaine
- Au bout de 40 minutes, on observe que les fluorescences se sont mélangées et on n'observe plus de secteurs. On peut donc conclure qu'il y a eu une redistribution des antigènes de surface donc une **diffusion des protéines** à l'intérieur de la bicouche lipidique. Cette expérience montre que les **membranes biologiques sont fluides et permettent donc les mouvements latéraux des protéines.**



I. Mise en évidence de la mobilité latérale

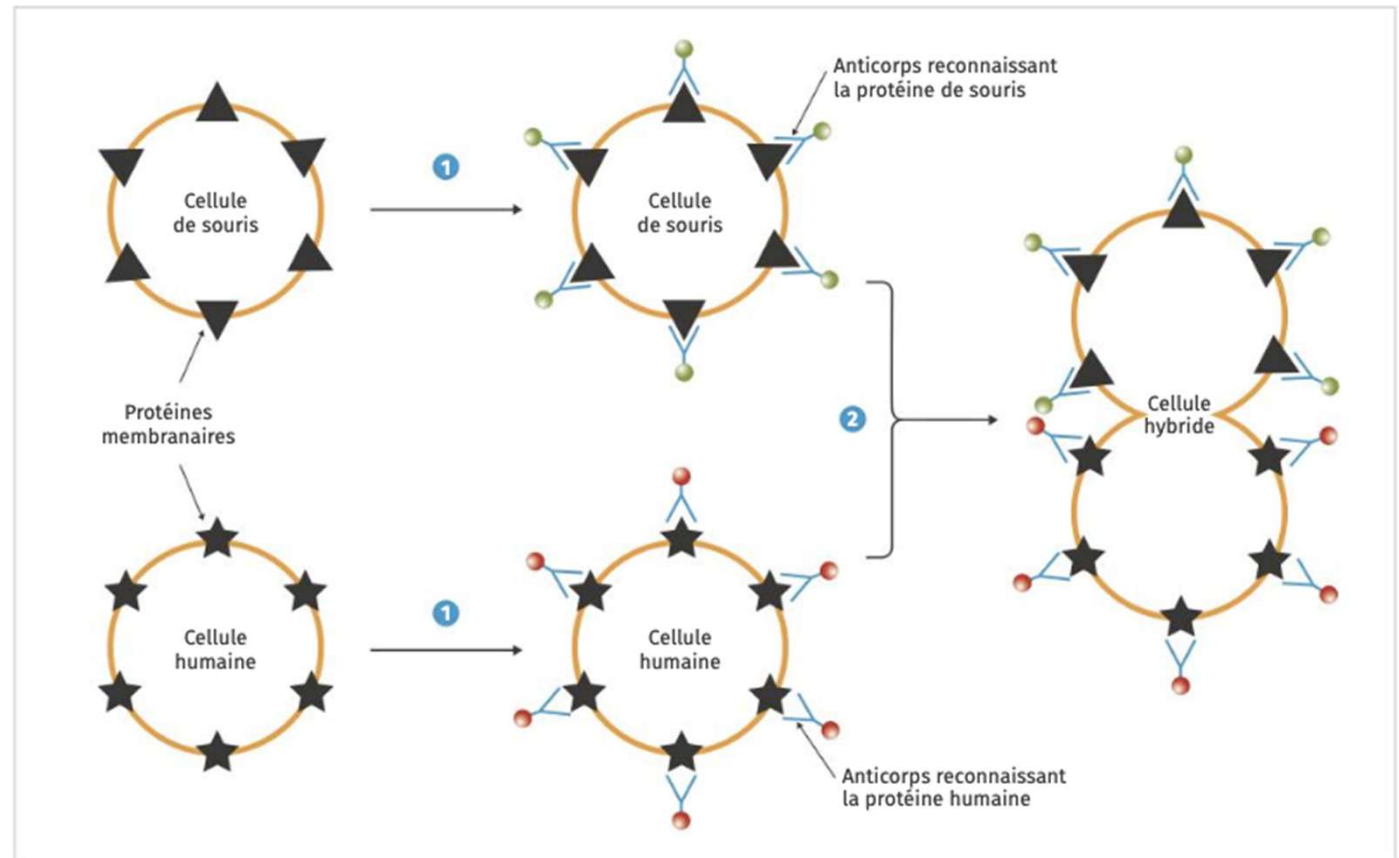
Expérience de Frye et Edidin, 1970

Technique d'immunofluorescence: anticorps couplés à deux fluorochromes différents

FLUIDITE MEMBRANAIRE PERMET MOUVEMENTS LATÉRAUX DES PROTEINES

Mise en évidence de la mobilité des protéines
Expérience de Frye et Edidin, 1970

La microscopie électronique a une résolution très élevée mais ne permet que d'observer des cellules mortes. Les membranes plasmiques étaient donc considérées comme des structures figées. En 1970, Larry Frye et Michael Edidin ont voulu vérifier cette hypothèse.

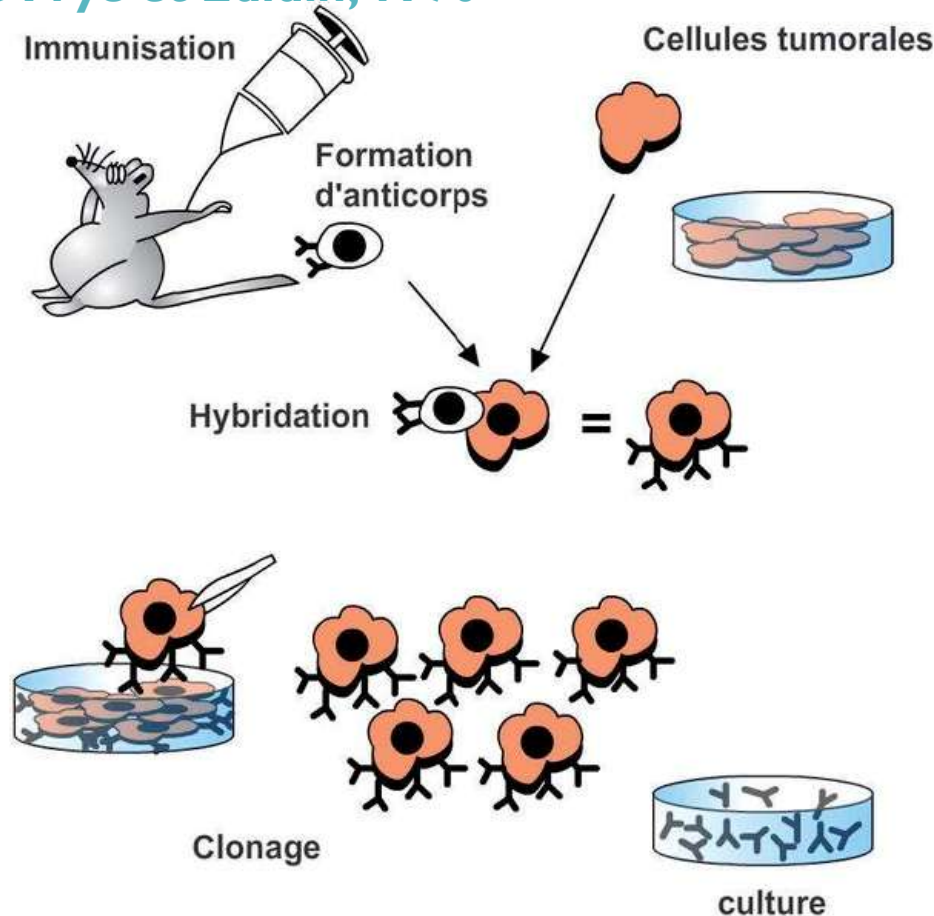


1 Principe de l'expérience. La technique d'immunofluorescence est utilisée. Elle consiste à rendre fluorescent un anticorps qui va se fixer sur une protéine spécifique. La fluorescence permettra ainsi de localiser la protéine d'intérêt. Les chercheurs ont ainsi marqué une protéine membranaire de souris en vert, et une protéine membranaire humaine en rouge (étape 1). Les deux cellules sont ensuite fusionnées (étape 2). Après 40 minutes, la cellule hybride est observée.

D'après 1^{ère} enseignement scientifique lelivrescolaire, ed2019, p56

I. Mise en évidence de la mobilité latérale

Expérience de Frye et Edidin, 1970



Parce que Sendai était déjà présent dans vos cours de lycée sur les anticorps monoclonaux...

La production d'anticorps monoclonaux, de façon simplifiée, consiste à faire produire des anticorps dirigés contre un antigène par exemple par une souris, puis à récupérer les cellules productrices que l'on **hybride** avec des cellules cancéreuses (pour bénéficier de leur capacité à se multiplier indéfiniment). De la sorte, les cellules obtenues produisent de nombreux anticorps, tous identiques : des **anticorps monoclonaux**.

© IOans-arronax

<https://www.pourlascience.fr/sd/medecine/covid-19-le-point-sur-les-traitements-21819.php>



I. Mise en évidence de la mobilité latérale

Expérience de Frye et Edidin, 1970

Expérience de fusion de
Frye et Edidin (1970)

A: fluorescence fibroblaste
murin (fluorescéine verte)

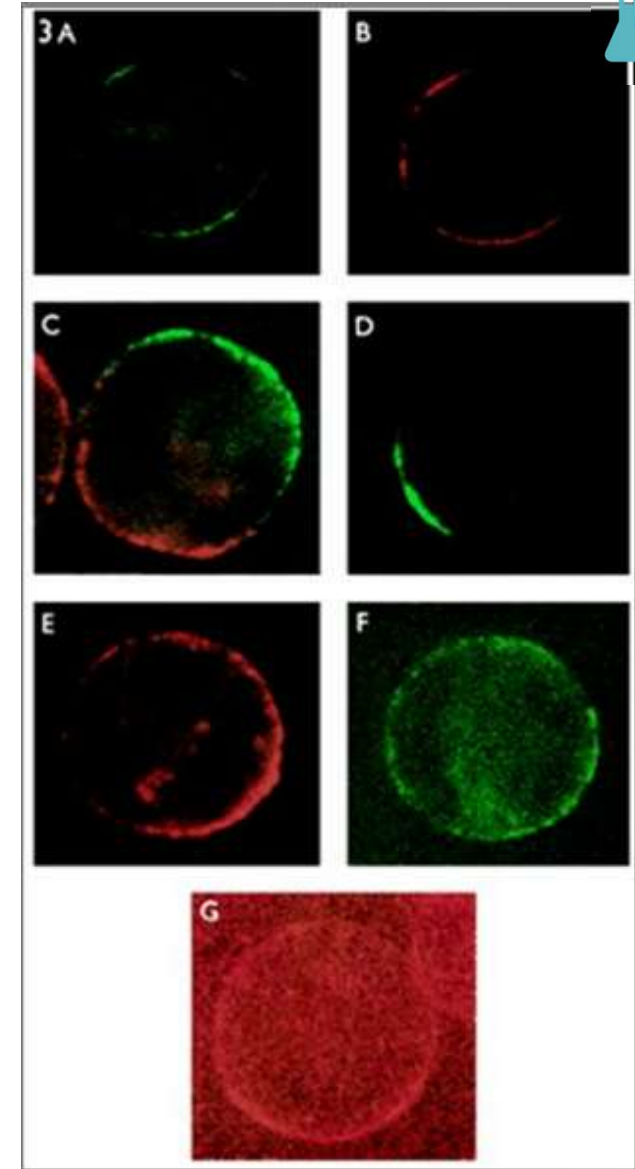
B: fluorescence fibroblaste
humain (rhodamine
rouge)

C: fluorescence juste
après l'hybridation des
deux fibroblastes grâce au
virus Sendai

D-E: fluorescence à $t= 20$ min

F-G: fluorescence à $t= 40$ min

NB: si ajout inhibiteur
d'ATP, déplacement
maintenu



<http://slideplayer.fr/slide/3194439/>



I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES

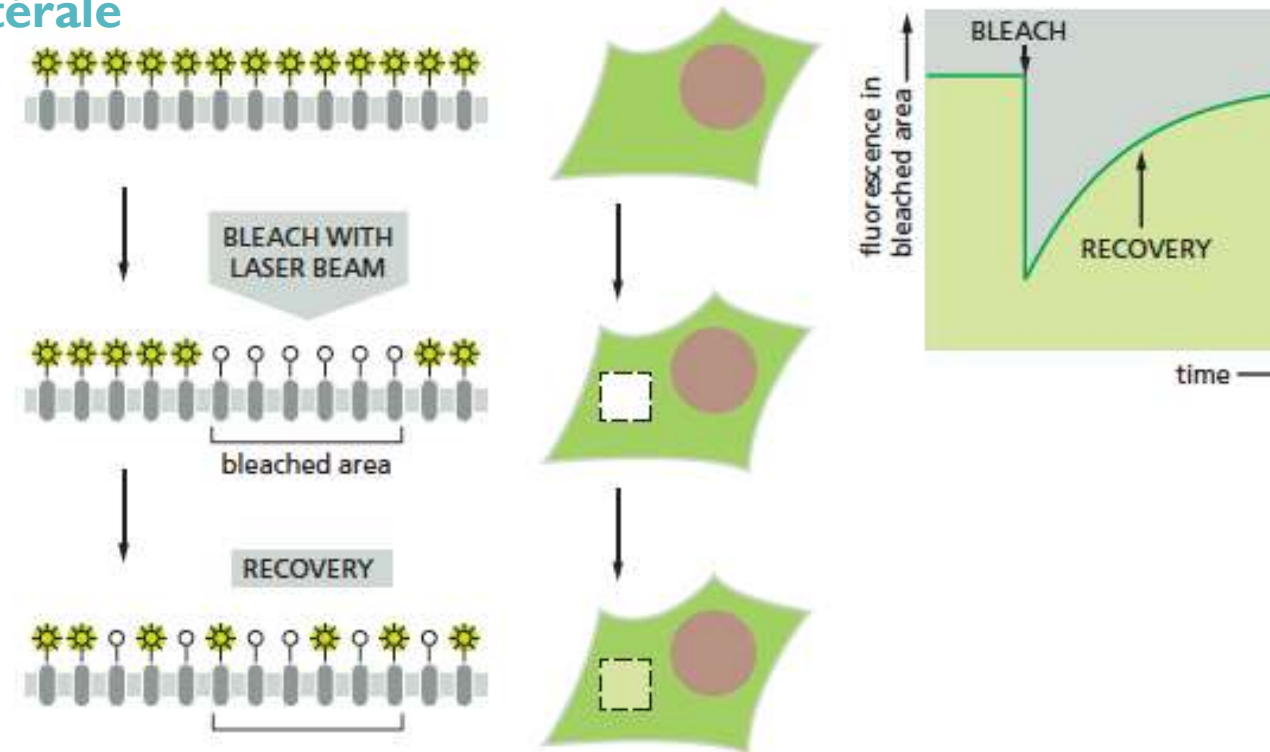
I. Mise en évidence de la mobilité latérale

Expérience de FRAP.

Fluorescence recovery after photobleaching

Principe

- **Marquage fluorescent des protéines membranaires**
- Bleaching (= « blanchiment ») au laser d'une petite zone de la membrane
- Mesure de la fluorescence dans la zone au cours du temps



Mise en évidence d'une fluidité membranaire des protéines

Mise en évidence d'une diffusion et évaluation de sa vitesse

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
3. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES



2. Importance biologique de la fluidité membranaire

Mobilité des protéines
augmentée avec \nearrow
T°C

Mobilité des protéines
sans apport
énergétique

Orientation des
protéines ne varie jamais
(pas de flip flop)

Plus une protéine est
petite plus elle se
déplace rapidement

L'environnement induit l'emplacement
de certaines protéines (cf récepteurs
aux neuromédiateurs)

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES

2. Importance biologique de la fluidité membranaire

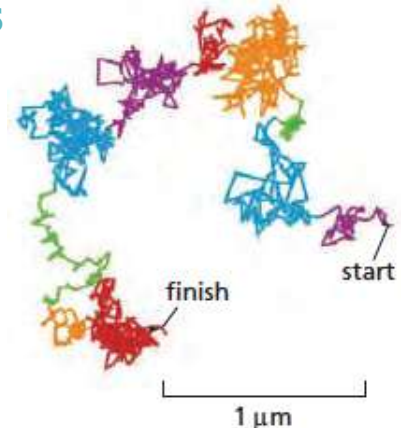
Modalités de déplacement des protéines

- les protéines peuvent se déplacer relativement vite dans la bicouche, uniquement **latéralement** (pas de flip-flop)

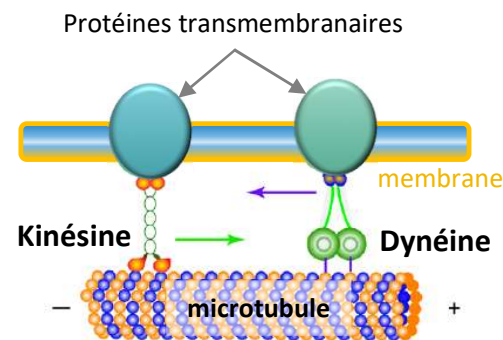
- Deux types de déplacements :

- **Mouvement passif**, aléatoire lié à l'agitation moléculaire (=diffusion)
→ plus la protéine est petite, plus elle se déplace vite
- **Mouvement actif**, orienté par des moteurs moléculaires liés, au cytosquelette

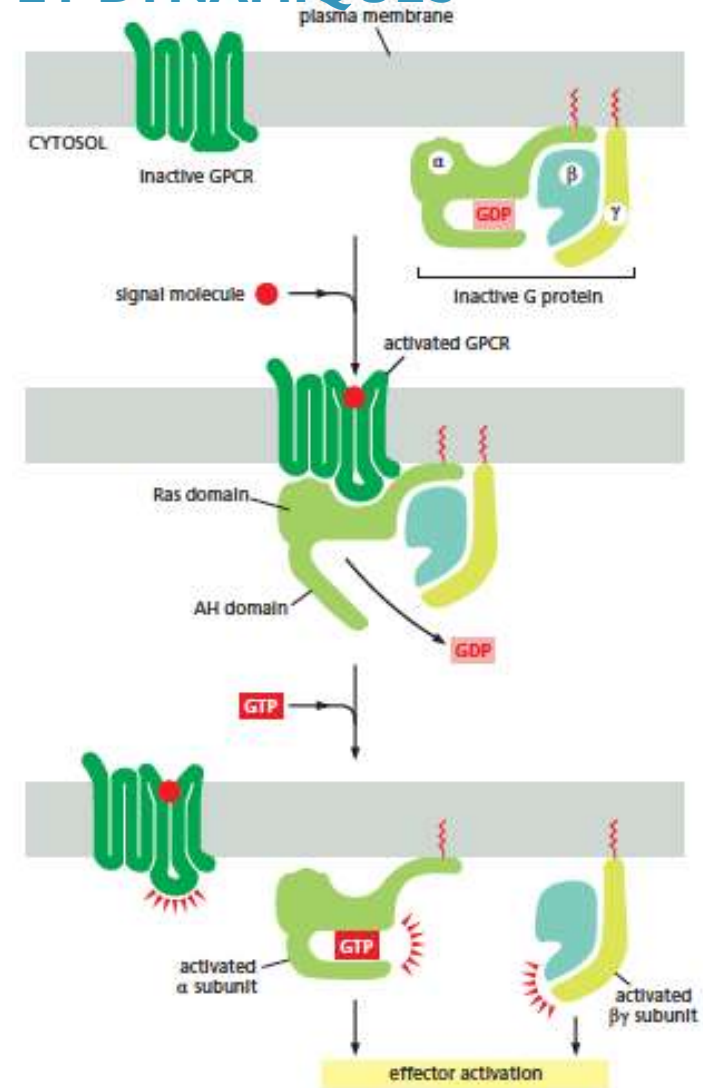
- Rôle : Pour certaines protéines, ces déplacements sont nécessaires à leur fonction (ex: protéine G, cytochrome C...)



Tracé du déplacement latéral aléatoire d'une protéine (via marquage fluo) dans une membrane



Déplacement latéral de protéines membranaires, orienté par des moteurs moléculaires



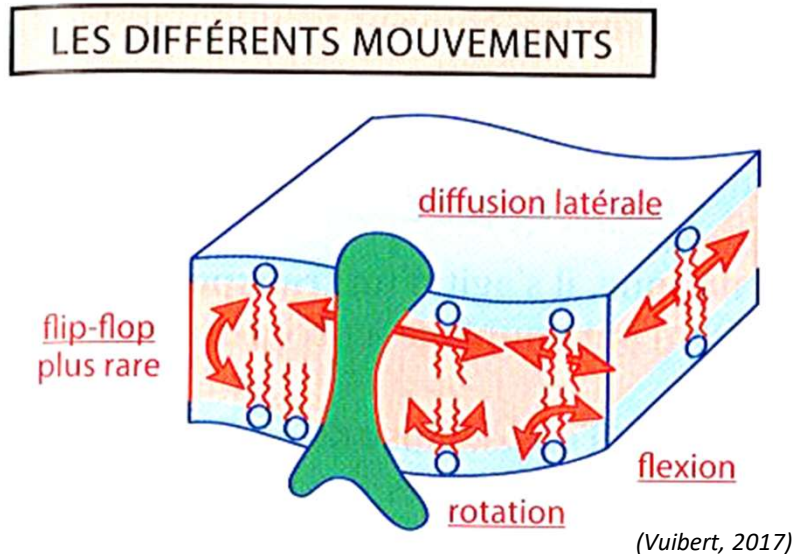
Importance des déplacements latéraux pour le fonctionnement des protéines G

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES



2. Importance biologique de la fluidité membranaire



- Flip-flop des lipides
 - Dans le RE
 - très lent → **catalysé** par 3 types de protéines transmembranaires
 - Rôle dans l'**asymétrie** des lipides membranaires

TOUS CES MOUVEMENTS =>
MEMBRANE PLASTIQUE

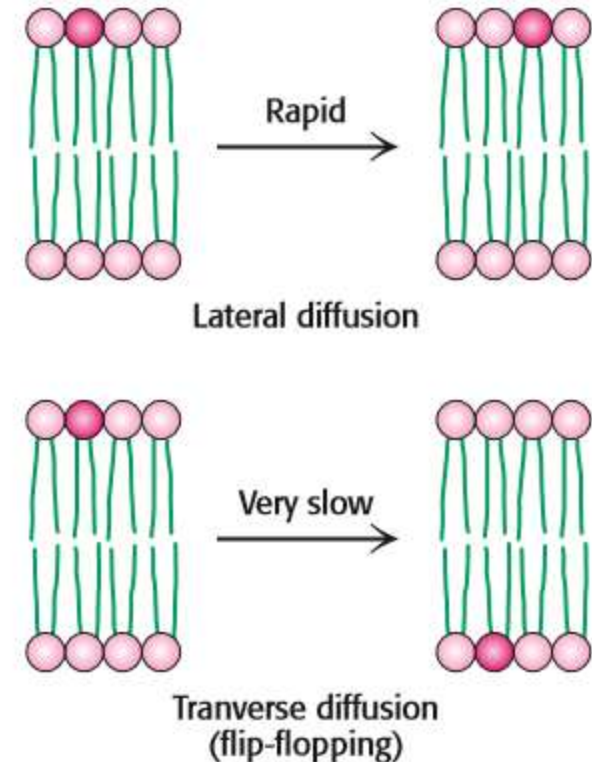


Figure 12.15 Lipid movement in membranes. Lateral diffusion of lipids is much more rapid than transverse diffusion (flip-flopping).

Stryer, 2015, p212

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES

Protéines permettant le flip-flop

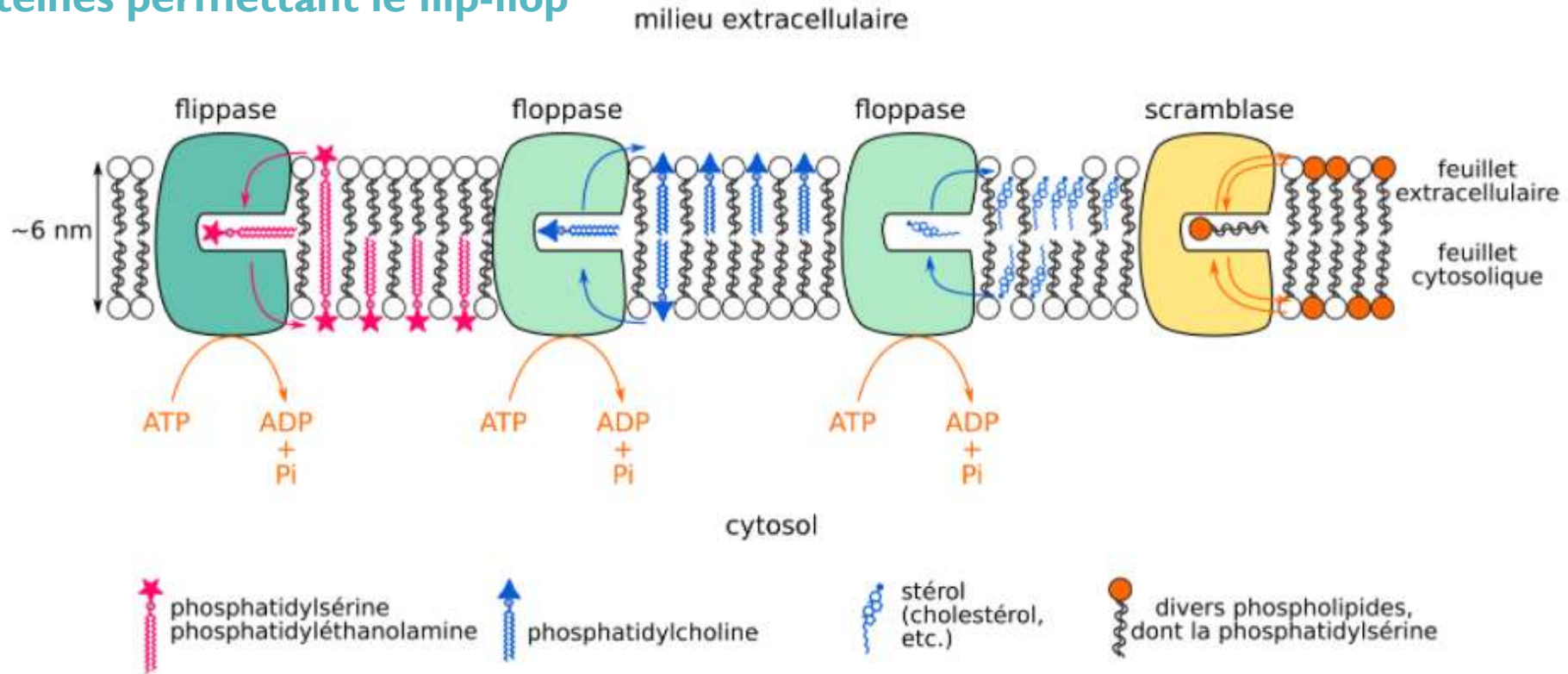


Figure 10 - Flippases, floppases et scramblases réalisent des flip-flops de lipides membranaires
Ces flip-flops sont directionnels et couplé à l'hydrolyse d'ATP, ou non directionnels.

Auteur : Mehdi Doumane
Licence : CC-BY-NC-SA

<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/membranes/les-membranes-biologiques-des-structures-dynamiques>

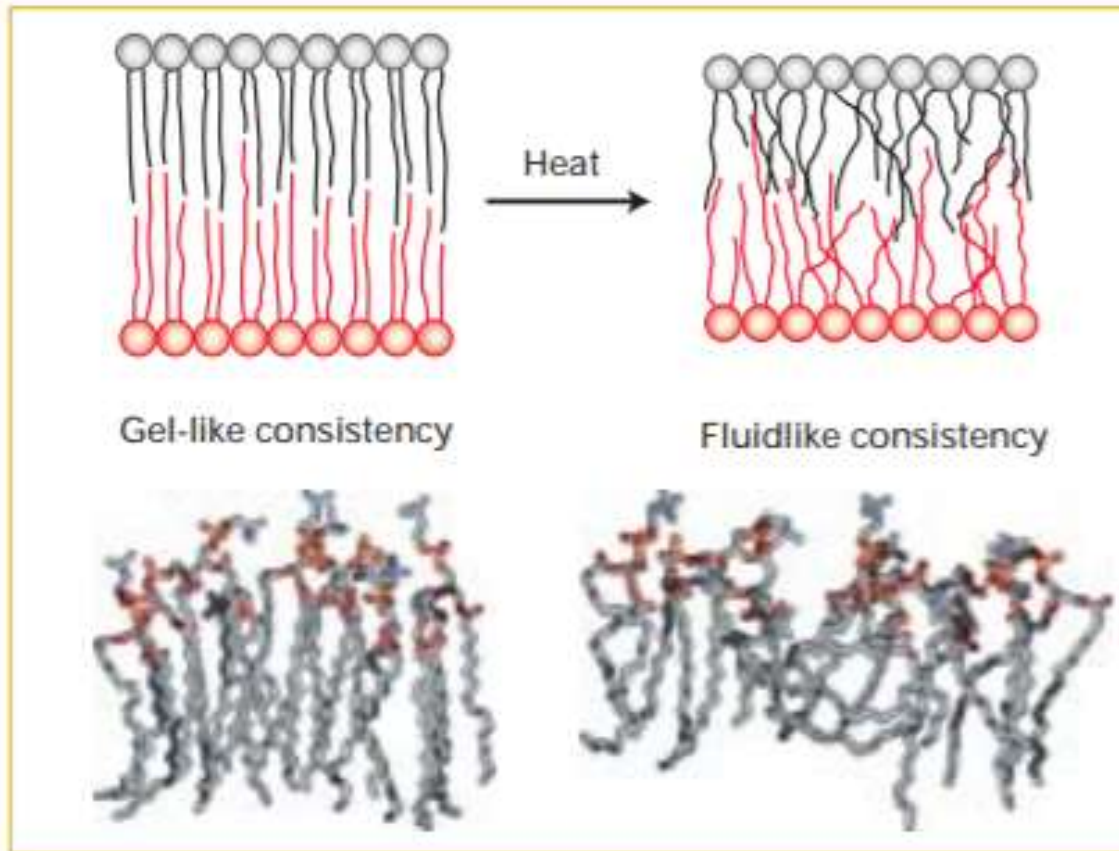
Importance dans l'asymétrie des lipides membranaires (PS, PE, PC...)

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES



Température et fluidité membranaire



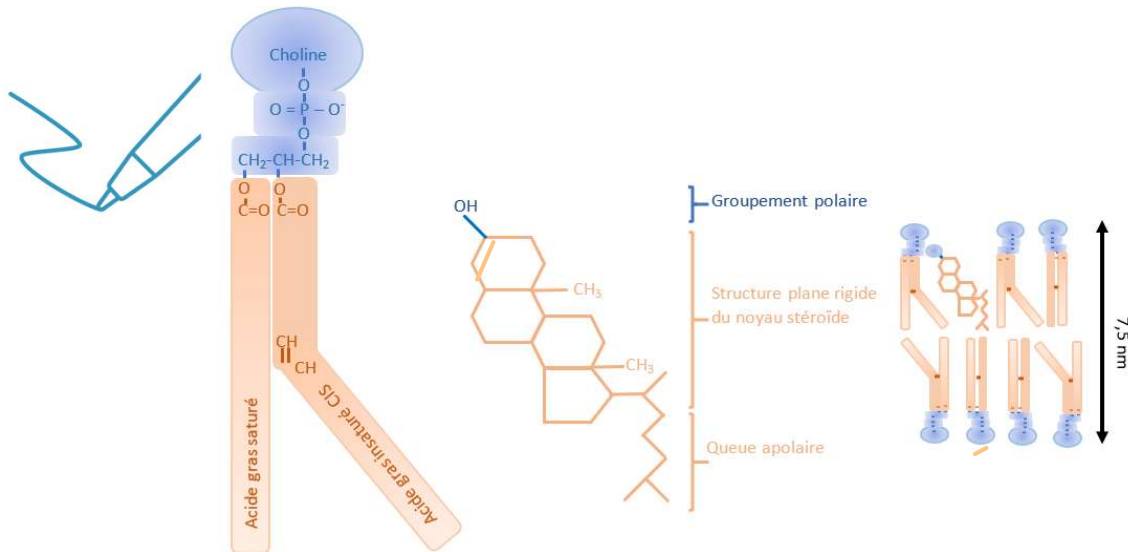
Lodish, 2008

Chaleur

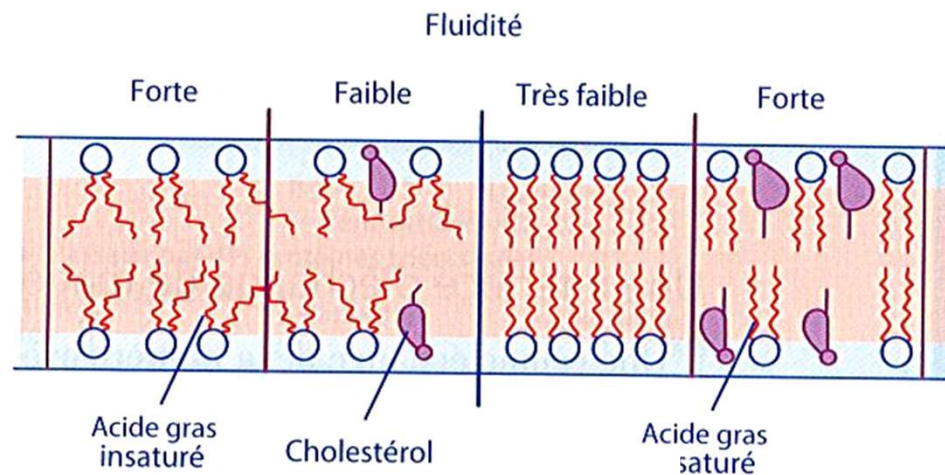
- ⇒ ↘ du recouvrement des chaînes aliphatiques
- ⇒ ↘ des interactions VdW entre les ag
- ⇒ ↗ fluidité membranaire
- ⇒ ↘ épaisseur membranaire

▲ **FIGURE 5-7 Gel and fluid forms of the phospholipid bilayer.** (Top) Depiction of gel-to-fluid transition. Phospholipids with long saturated fatty acyl chains tend to assemble into a highly ordered, gel-like bilayer in which there is little overlap of the nonpolar tails in the two leaflets. Heat disorders the nonpolar tails and induces a transition from a gel to a fluid within a temperature range of only a few degrees. As the chains become disordered, the bilayer also decreases in thickness. (Bottom) Molecular models of phospholipid monolayers in gel and fluid states, as determined by molecular dynamics calculations. [Bottom based on H. Heiler et al., 1993, *J. Phys. Chem.* **97**:8343.]

Rôle du cholestérol dans la fluidité membranaire



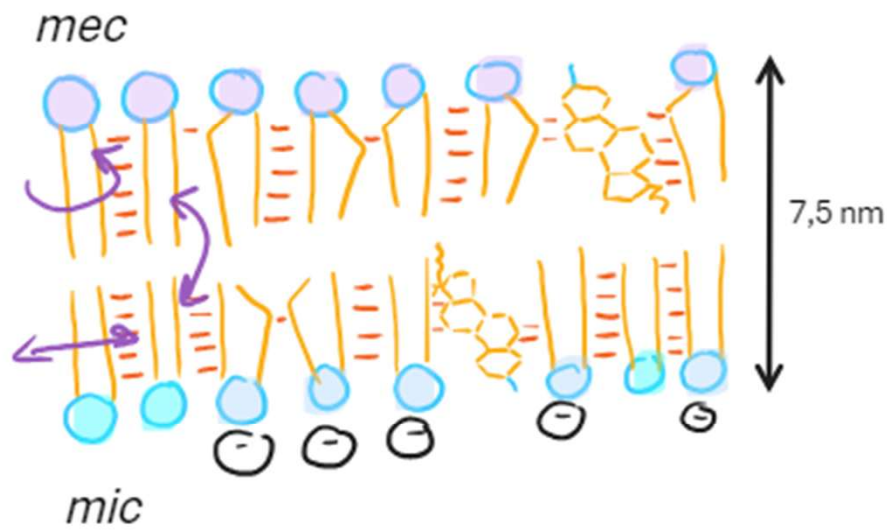
LES VARIATIONS DE LA FLUIDITÉ MEMBRANAIRE



↘ Fluidité membranaire ssi ag saturés, T°C froide

↗ Fluidité membranaire ssi ag insaturés, T°C chaude

Le cholestérol a donc un effet tampon sur fluidité membranaire



légende

-  glycérophospholipide (ag saturés)
-  glycérophospholipide (ag saturé et un ag insaturé conformation Z)
-  cholestérol (amphiphile)
-  liaison faible de Van der Waals (0,3 à 10 kJ.mol⁻¹)
-  phosphatidylsérine
-  phosphatidiléthanolamine
-  phosphatidylcholine

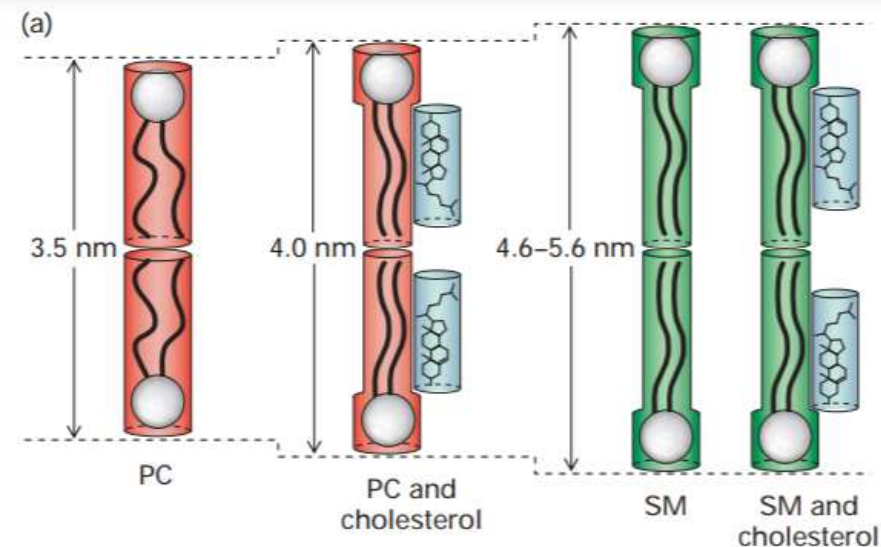
Fluidité membranaire: saturation des ag, cholestérol, température

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

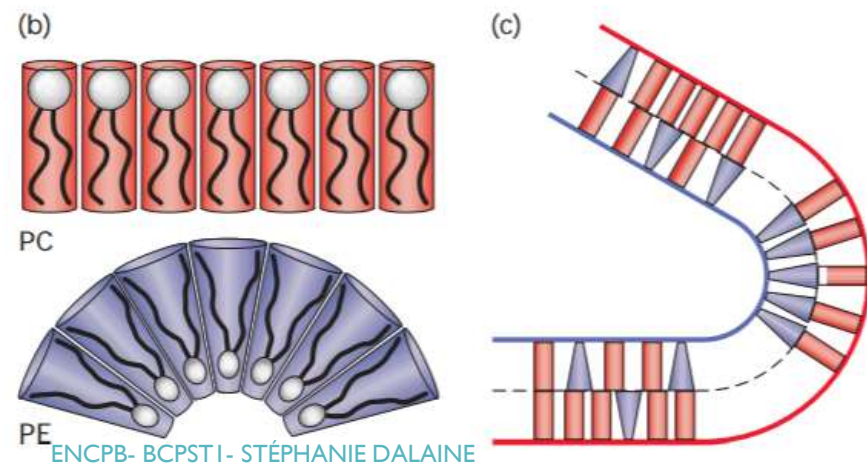
B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES

2. Importance biologique de la fluidité membranaire

Effet de la composition en différents glycérophospholipides sur la fluidité des héli membranes



- Si bicouche exclusivement formée de **SM** alors plus **épaisse** que si formée de PC
- Cholestérol dans bicouche PC
 - augmentation de l'épaisseur par **encombrement stérique**
- **PE forme conique** vs PC forme cylindrique
 - **courbure possible** de la membrane



▲ **FIGURE 5-8 Effect of lipid composition on bilayer thickness and curvature.**

(a) A pure sphingomyelin (SM) bilayer is thicker than one formed from a phosphoglyceride such as phosphatidylcholine (PC). Cholesterol has a lipid-ordering effect on phosphoglyceride bilayers that increases their thickness but does not affect the thickness of the more ordered SM bilayer. (b) Phospholipids such as PC have a cylindrical shape and form more or less flat monolayers, whereas those with smaller head groups such as phosphatidylethanolamine (PE) have a conical shape. (c) A bilayer enriched with PC in the exoplasmic leaflet and with PE in the cytosolic face, as in many plasma membranes, would have a natural curvature. [Adapted from H. Sprong et al., 2001, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2:504.]

I. LES MEMBRANES CELLULAIRES, DES BICOUCHES FLUIDES ET ASYMÉTRIQUES

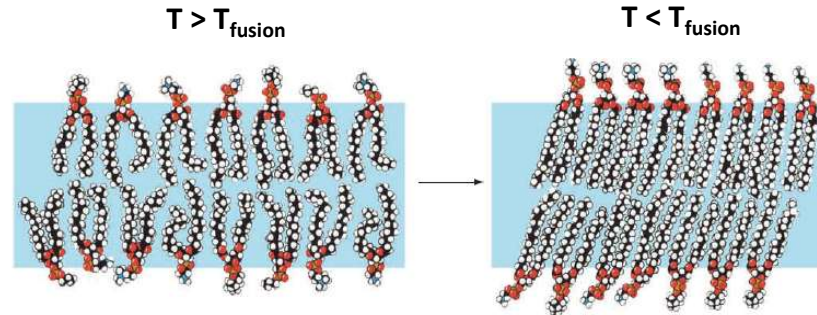
B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES



2. Importance biologique de la fluidité membranaire

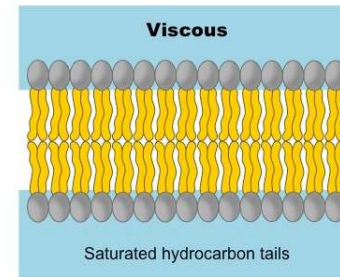
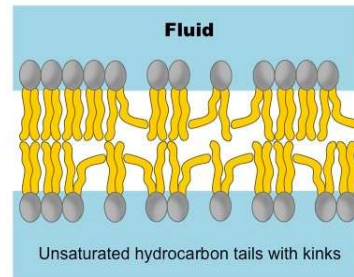
Bilan sur la fluidité membranaire

La température avec seuil critique (point de fusion)

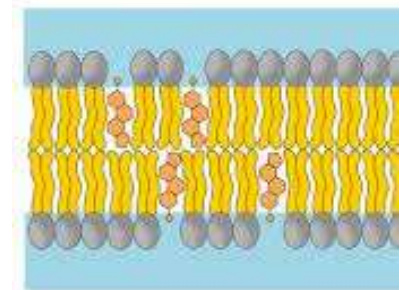


Effet de la température sur la structure de la membrane

La saturation des AG

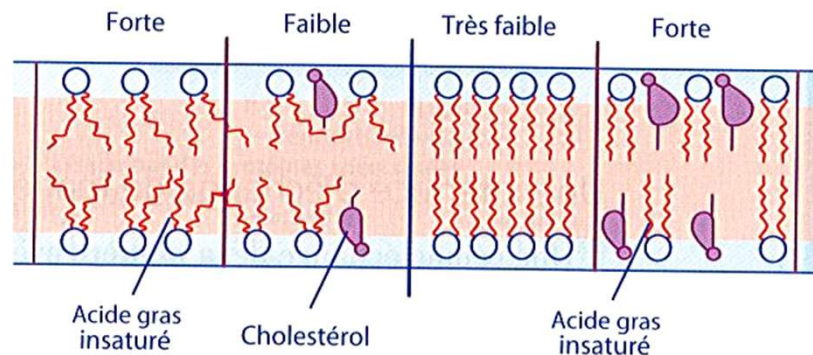


Effet de la saturation des AG sur la structure de la membrane Fluidité



Effet du cholestérol sur la structure de la membrane

Le cholestérol



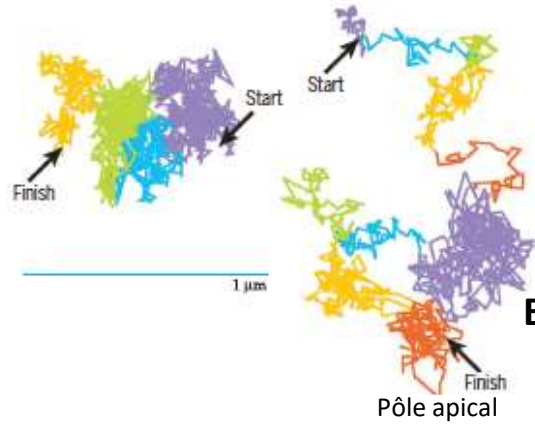
Effet du cholestérol et de la saturation des acides gras sur la fluidité membranaire (Vuibert, 2017)

B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES

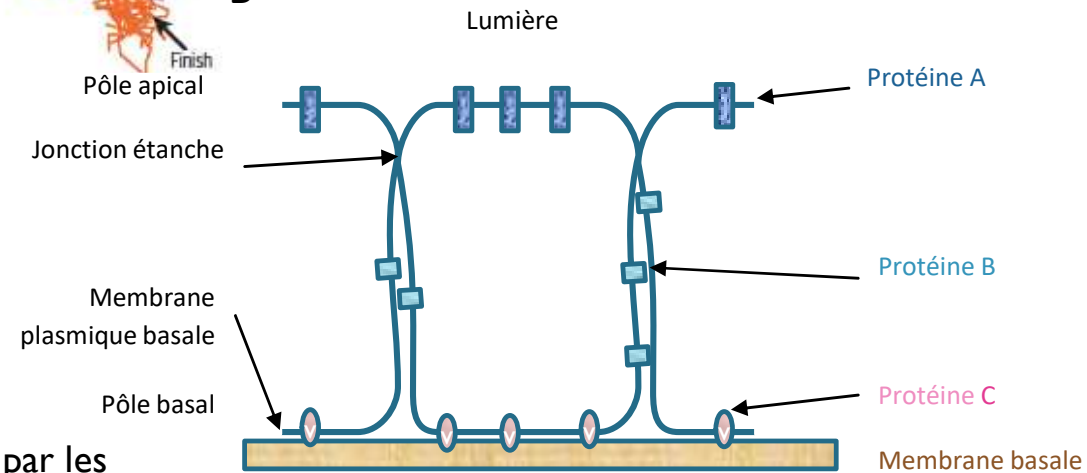
2. Importance biologique de la fluidité membranaire

Les restrictions au sein de cette fluidité membranaire

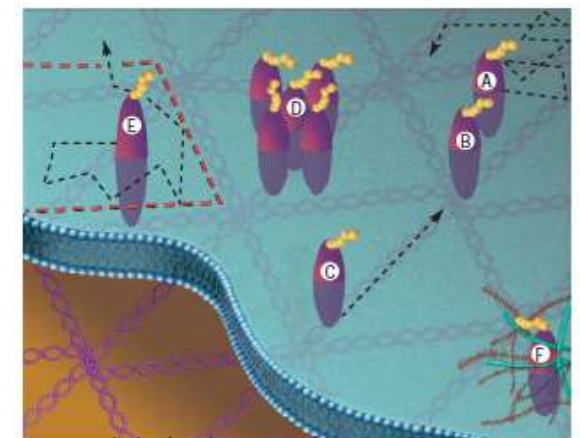
- Le déplacement des biomolécules membranaires n'est **pas complètement libre**
- Il est contraint par des **domaines membranaires** définis par les protéines membranaires elles-mêmes.
- Modalités de contrôle de la diffusion des protéines :
 - Restriction de diffusion dans un espace délimité par le cytosquelette ou des protéines membranaires (cf. **A** et **E**)
 - Immobilisation par le cytosquelette ou des protéines membranaires (cf. **B** et **D**)
 - Immobilisation par des composants extracellulaires (cf. **F**)
- Intérêt :
 - **Polarisation des cellules**
 - **Etanchéité des tissus**
 - **Ancrage et adhérence cellulaires**



Tracé du déplacement latéral d'un lipide (via marquage fluo) dans une biomembrane (A) et dans un liposome (B) Chaque couleur indique un compartiment différent (réel en A, ou fictif en B)



les jonctions étanches empêchent la diffusion latérale des protéines membranaires dans les cellules épithéliales



Modalités de contrôle du déplacement des protéines dans une membrane

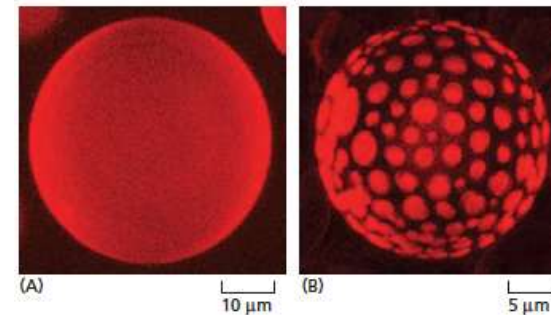
B- LES MEMBRANES SONT DES STRUCTURES FLUIDES ET DYNAMIQUES

2. Importance biologique de la fluidité membranaire



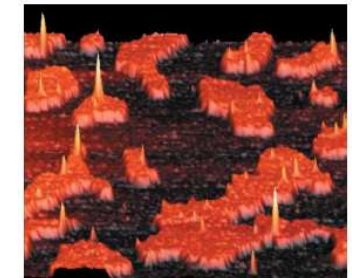
Les radeaux lipidiques forment des structures cohérentes en mouvements latéraux au sein de la membrane

- Au sein de la membrane, des microdomaines lipidiques rigides et compacts s'organisent spontanément (30 à 70 nm) → **rafts lipidiques**
- Ces propriétés physiques sont dues à la **composition** biochimique **particulière** et **asymétrique** des rafts
 - Riche en **AG saturé** et en certaines protéines (Ex: récepteurs à l'insuline)
 - Feuillet externe riche en SM, cholestérol, protéines à ancre GPI (Glycosylphosphatidylinositol = glycolipide)
 - Feuillet interne riche glycérophospholipide et en protéines associées à des lipides
- **Rôle** : les rafts lipidiques seraient impliqués dans la **signalisation cellulaire** et le **transport** de protéines.



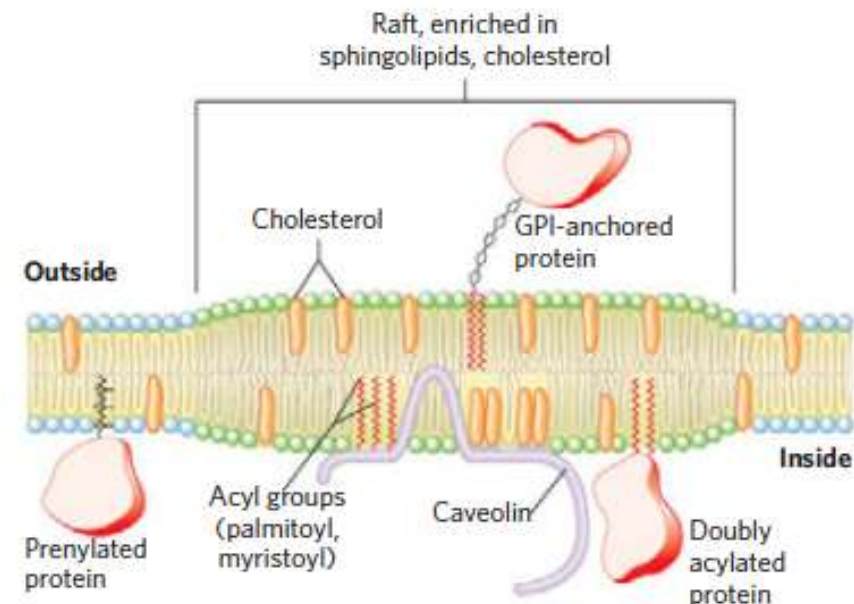
½ PC + ½ SM

1/3 PC + 1/3 SM
+ 1/3 cholestérol



Topographie de la surface d'un liposome (par AFM)

Organisation des lipides à la surface de liposomes en fonction de leur composition biochimique

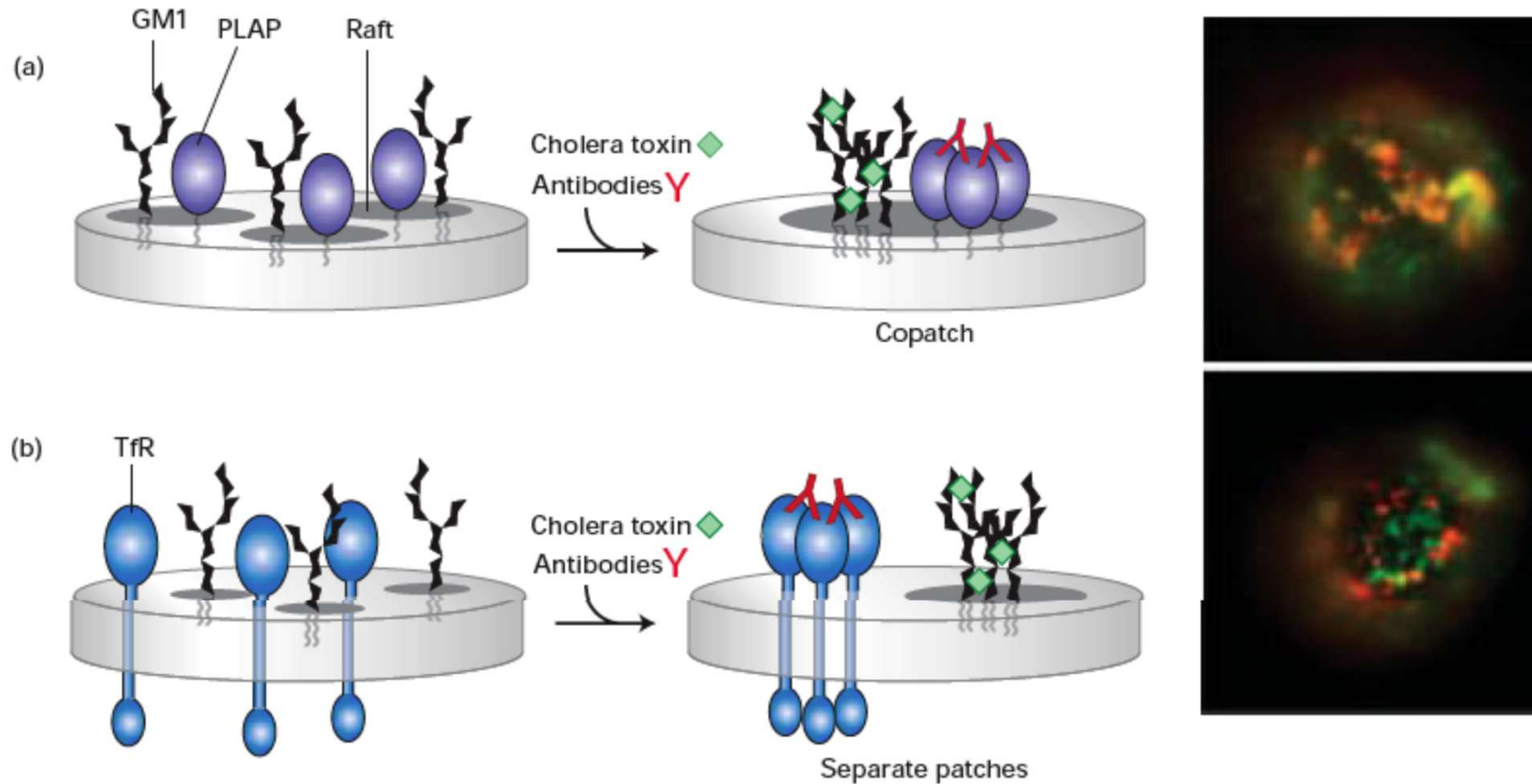


Modèle de la structure d'un raft lipidique

2. Importance biologique de la fluidité membranaire

Les radeaux lipidiques (Lodish, 2008)

Les radeaux lipidiques sont considérés comme des phases liquides ordonnées



GM1 (glycosphingolipide) et PLAP (phosphatase alcaline) sont dans le même radeau, mais TfR (récepteur à la transferrine), tombe à l'eau...

2. Importance biologique de la fluidité membranaire

Les radeaux lipidiques forment des structures cohérentes en mouvements latéraux au sein de la membrane



- Composition biochimique particulière et **asymétrique** des rafts
 - Riche en AG saturé et en certaines protéines
 - Feuillet externe riche en SM, cholestérol, protéines à ancre GPI
 - Feuillet interne riche glycérophospholipide et en protéines associées à des lipides

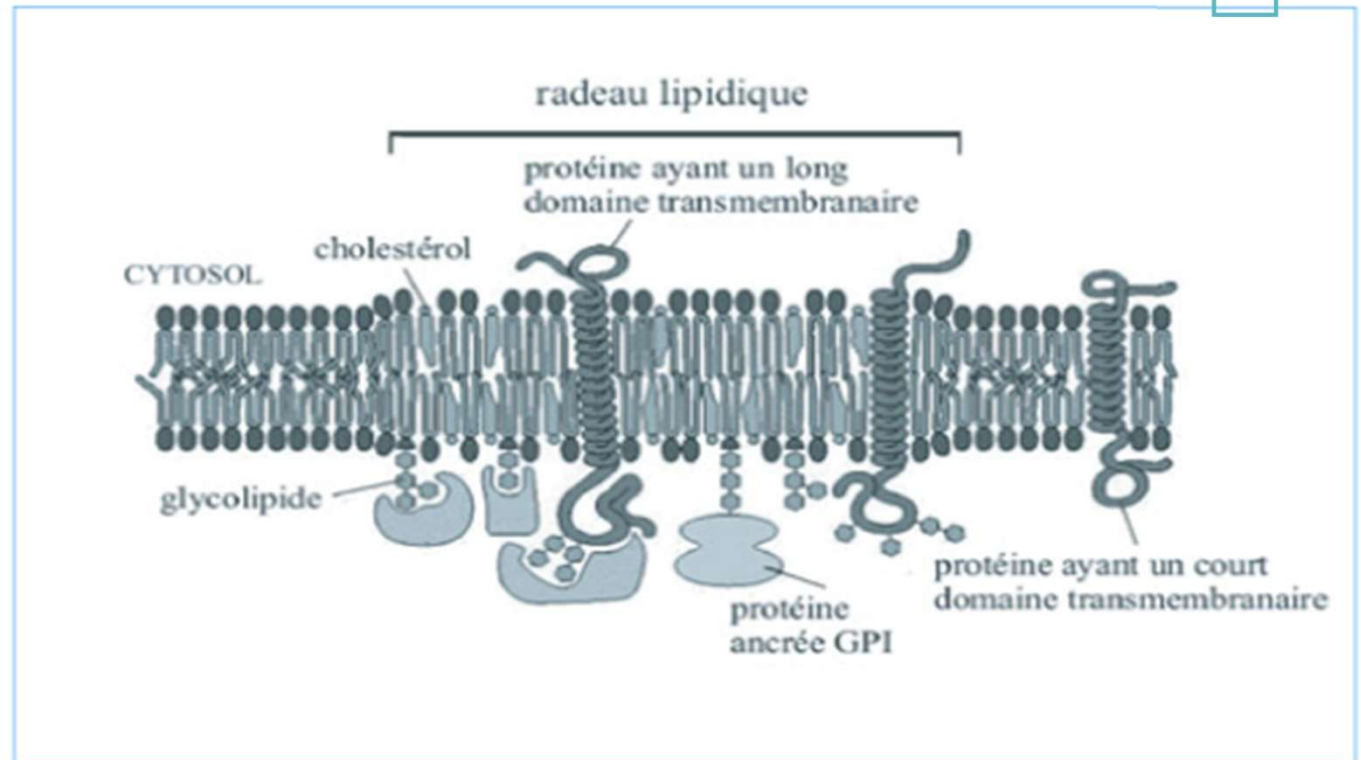


Figure 1 – Schéma de radeau lipidique ou « raft », et des molécules qui sont supposées s'y regrouper préférentiellement. D'après le livre de B. Alberts *et al.*, *Molecular biology of the cell* (Garland Publishing, New York, 2002).

Radeaux lipidiques, plateformes de tri et de signalisation protéique

BILAN PARTIE I

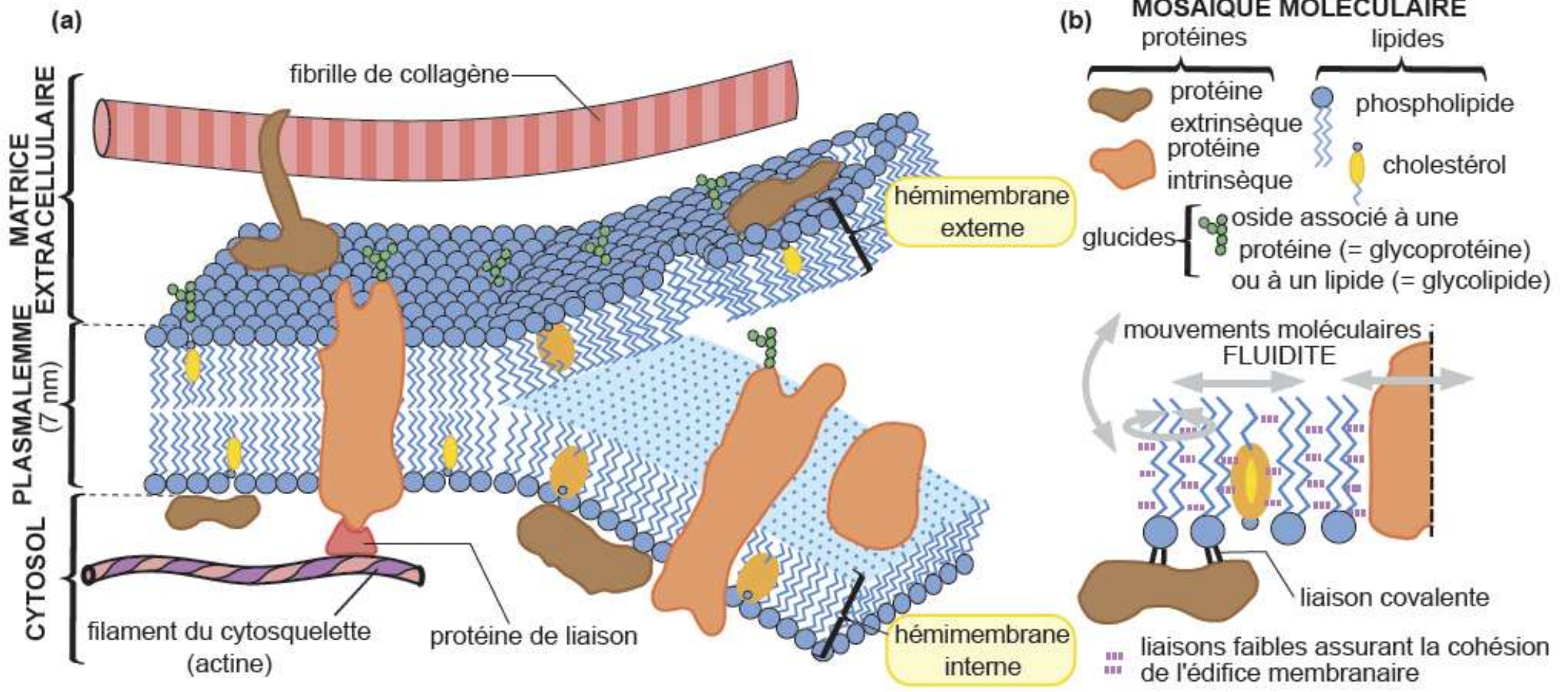

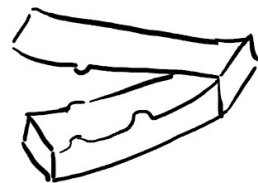


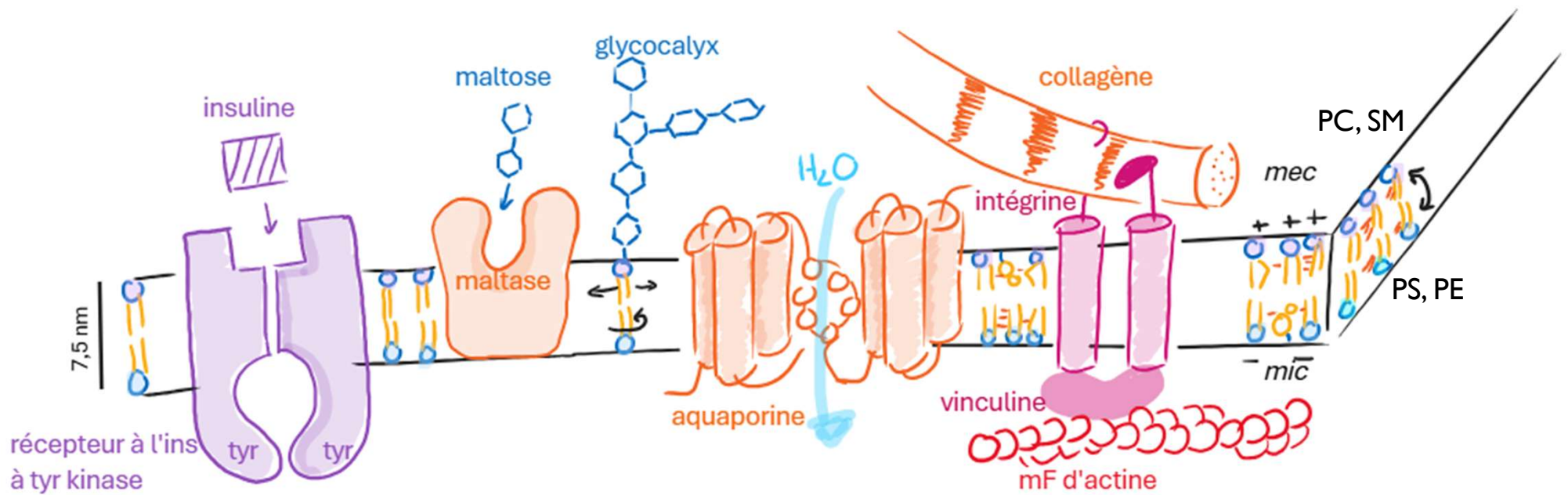
Schéma bilan de la membrane plasmique



Technique	MET	MEB	FRAP	
Observations/ modèle				Test de perméabilité Profil 'hydrophobicité' Immunomarquage Protéines rapporteurs
Propriétés	Hydrophobicité (centrale)	Hétérogénéité (mosaïque)	Fluidité AGS:AGI, cholestérol	Nature et propriétés des protéines membranaires

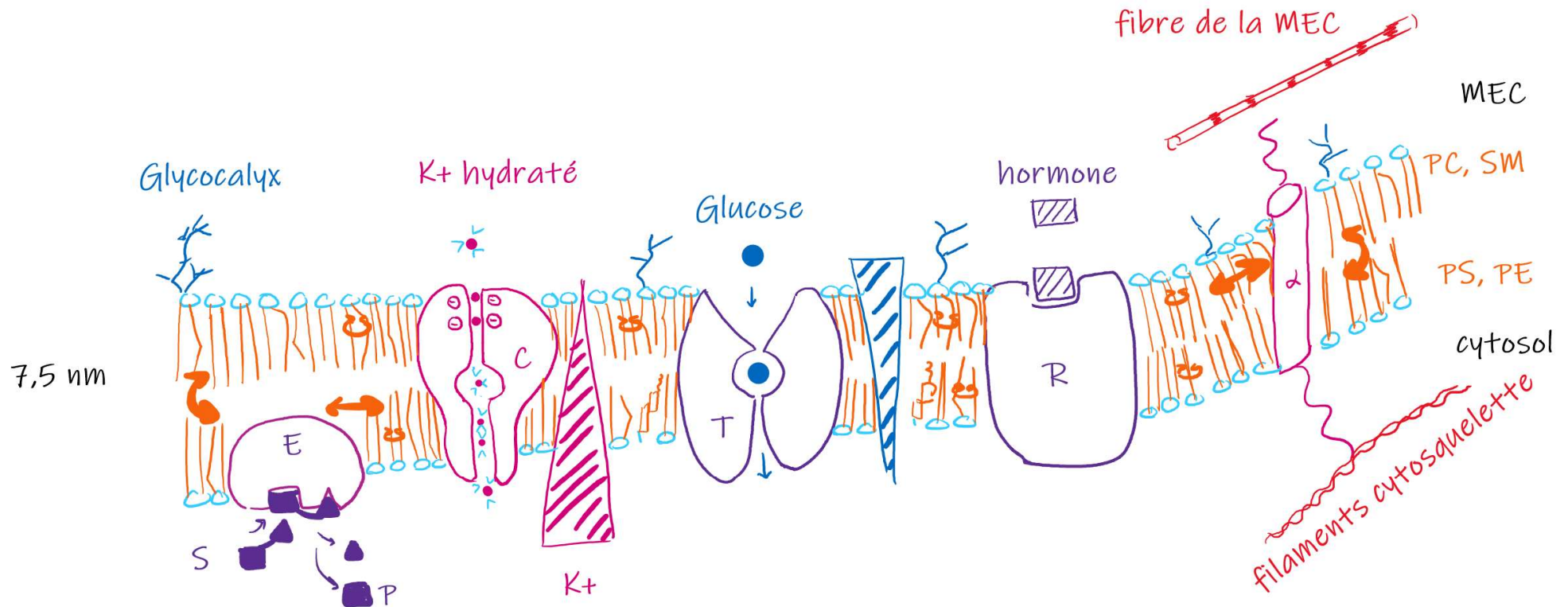
Organisation et propriétés des membranes cellulaires

S. Dalaine



S. Dalaine

La membrane plasmique, bicouche lipidique riche en protéines, modèle de la mosaïque fluide



La membrane: une bicouche lipidique avec des protéines, modèle de la mosaïque fluide

S. Dalaine

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGONIQUES



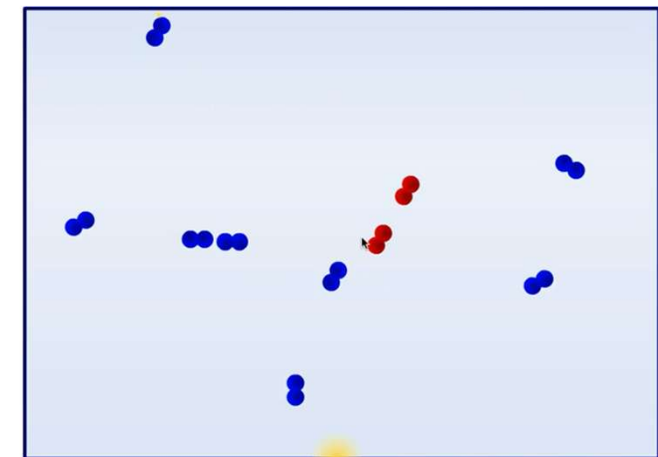
Diffusion

Diffusion* (n.f.) : Déplacement spontané de molécules selon leur **gradient*** de concentration.

- La diffusion résulte de **l'agitation moléculaire**
- C'est un phénomène **spontané** (au sens thermodynamique)
 - sans consommation d'énergie
- La diffusion permet au système étudié de tendre vers **l'équilibre** thermodynamique
 - homogénéisation



Mise en évidence expérimentale



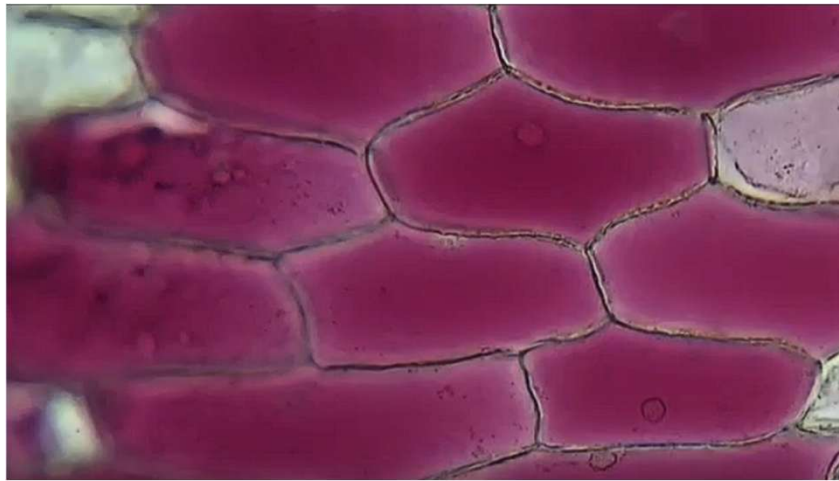
L'agitation moléculaire (modélisation)

II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGONIQUES

I. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

I.1. Mise en évidence expérimentale de mouvements d'eau



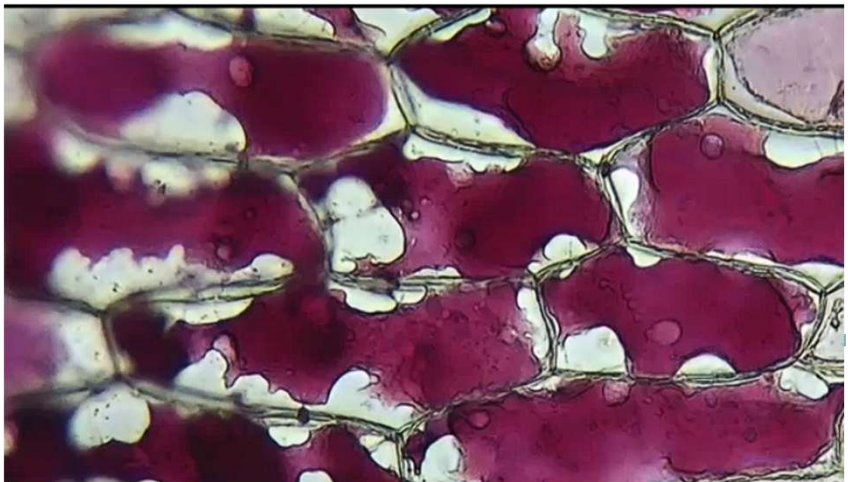
Si concentration en solutés du milieu extérieur $<$ à celle de la cellule

- ⇒ l'eau pénètre dans la cellule
- ⇒ la cellule est dite **turgescence**.
- ⇒ Le milieu extérieur est dit **hypotonique**.

Si concentration en solutés du milieu extérieur $>$ à celle de la cellule

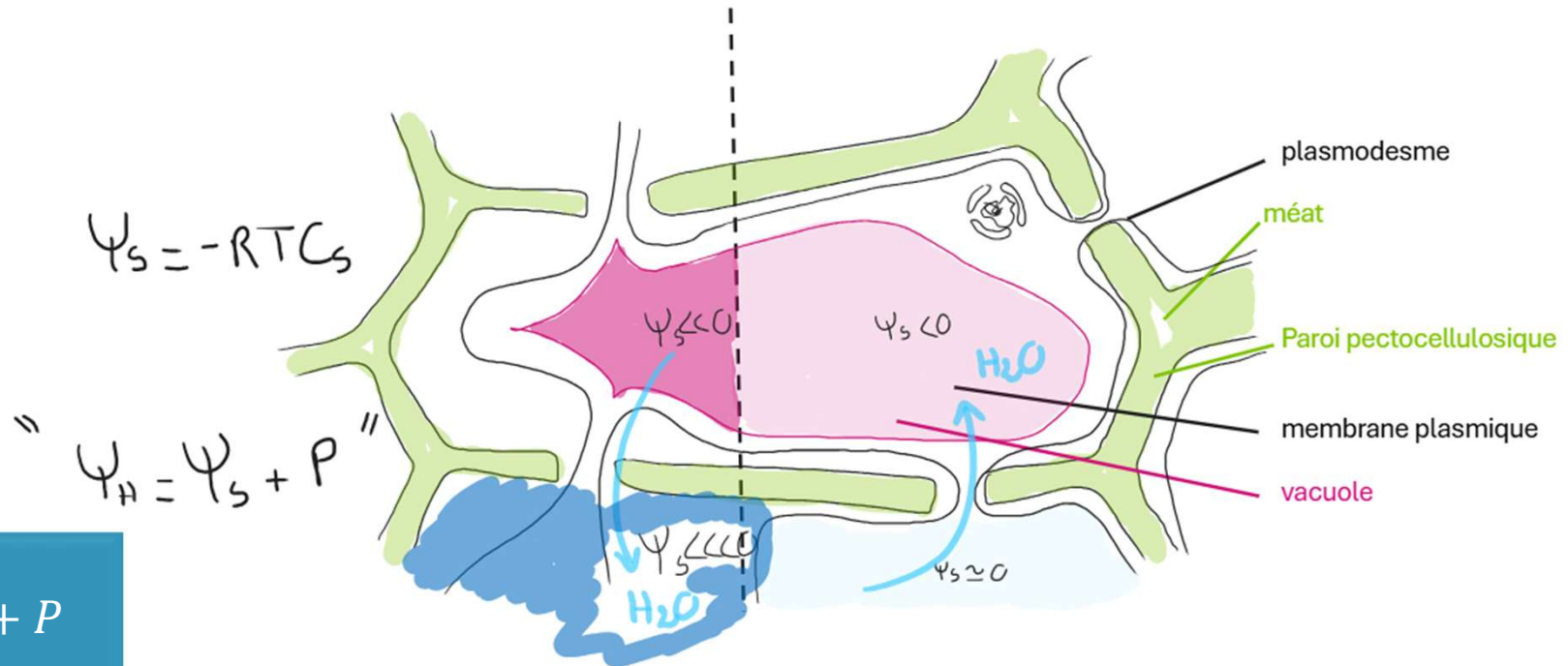
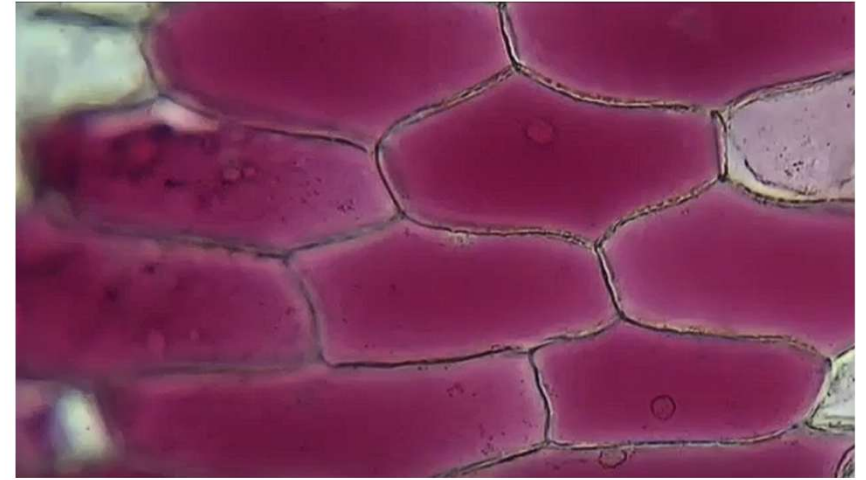
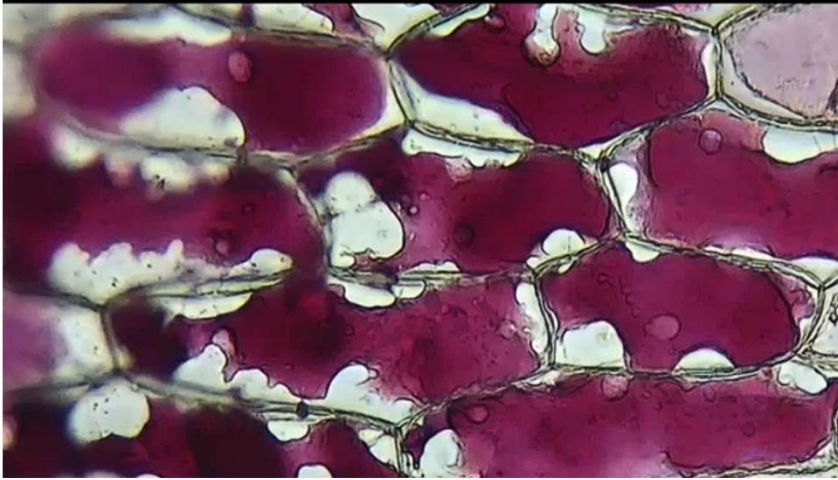
- ⇒ l'eau sort de la cellule
- ⇒ La cellule est dite **plasmolysée**.
- ⇒ Le milieu extérieur est dit **hypertonique**.

Quand les 2 concentrations sont égales, les milieux sont dits **isotoniques**.



20 μ m

Cellules d'épiderme d'oignon De la turgescence à la plasmolyse. Vidéo de cellules d'oignon rouge au microscope x400 - Sciences &



$$\psi_H = \psi_s + P$$

Milieu hypertonique: cellule en plasmolyse

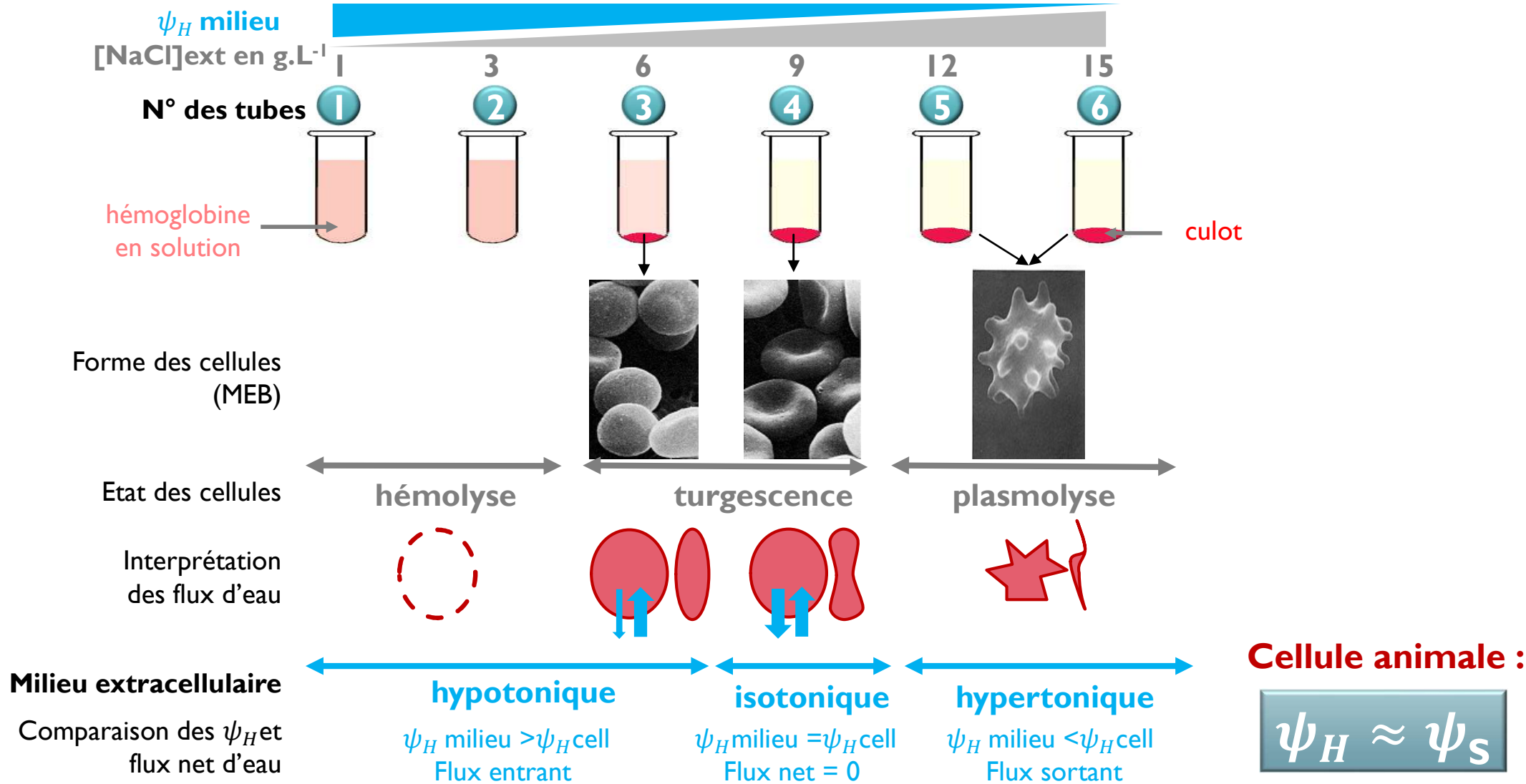
Milieu hypotonique: cellule en turgescence

II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGONIQUES

I. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

I.1. Mise en évidence expérimentale de mouvements d'eau

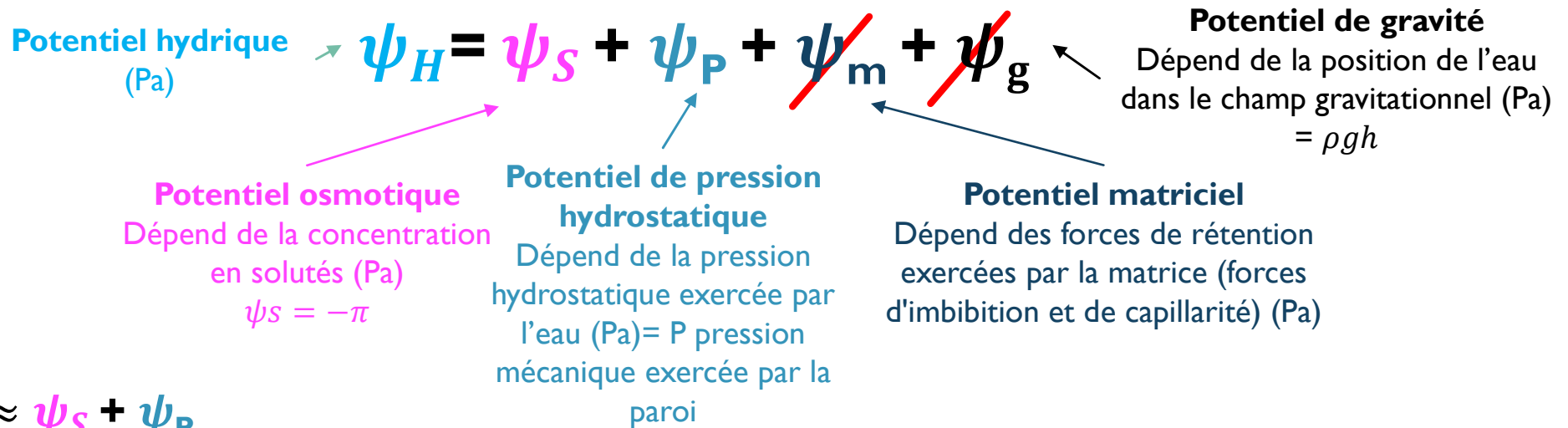


I. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

I.2. Définition et utilisation du potentiel hydrique pour déterminer la pression osmotique d'une cellule



- Le **potentiel hydrique** permet de déterminer le sens des déplacements d'eau
- Il est équivalent à une **pression** → unité : **Pa**



$$\psi_H \approx \psi_S + \psi_P$$

$$\psi_H \approx -\pi + P$$

π : Pression osmotique
 P : Pression mécanique exercée par la paroi

C_o : osmolarité → quantité de particules de solutés par litre (osmomol.L⁻¹)
 P : pression reçue par l'eau du système (Pa)
 P_{atm} : pression atmosphérique (Pa)

$$-R.T.C_{osm} \cdot 10^3 \quad P - P_{atm}$$

$$1 \text{ L} = 10^{-3} \text{ m}^3$$

- Eau pure** : $\psi_H = 0$
→ Les potentiels hydriques sont **toujours < 0**
- L'eau se déplace toujours selon les **potentiels hydriques décroissants**
→ mouvement spontané

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

1.2. Définition et utilisation du potentiel hydrique pour déterminer la pression osmotique d'une cellule



$$\psi_S = -\pi = -R.T.C_{osm}$$

L'**osmolarité** ou concentration osmolaire C_{osm} est le nombre de particules de soluté par unité de volume

- 1) Quelle est l'osmolarité d'une solution à 1 M de glucose ?
- 2) Quelle est l'osmolarité d'une solution à 1 M de NaCl ?
- 3) Quel est le potentiel osmotique de la solution à 1 M de glucose ?

DONNEES

$$R = 8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$$

$$T = 37^\circ\text{C}$$

$$(1) \quad C_{osm} = 1 \text{ osmol.L}^{-1}$$

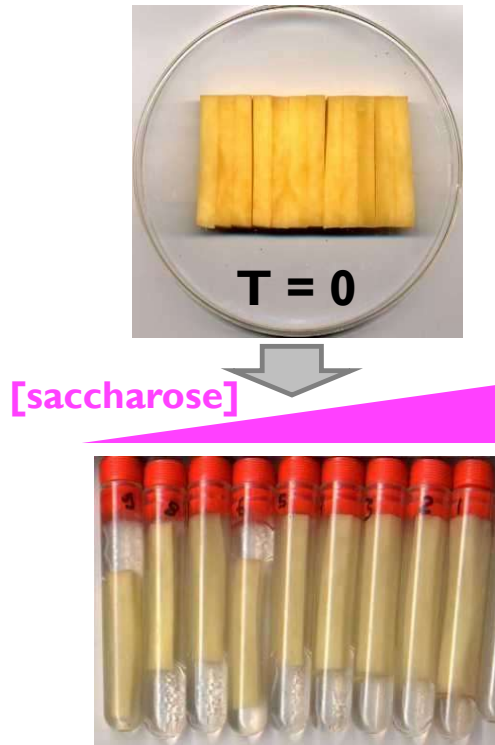
$$(2) \quad C_{osm} = 2 \text{ osmol.L}^{-1}$$

$$\begin{aligned} (3) \quad \psi_S &= -R.T.C_{osm} \cdot 10^3 \quad \text{Kelvin} \\ &= -8,314 \times 310 \times 1 \times 10^3 \\ &= -2\,576\,100 \text{ Pa} \\ &= -2,6 \text{ MPa} \end{aligned}$$

Osmose



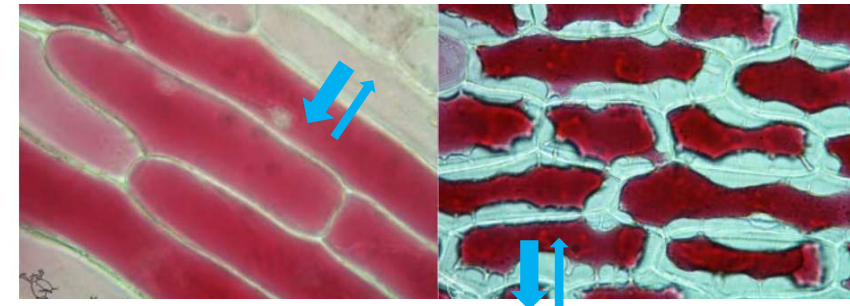
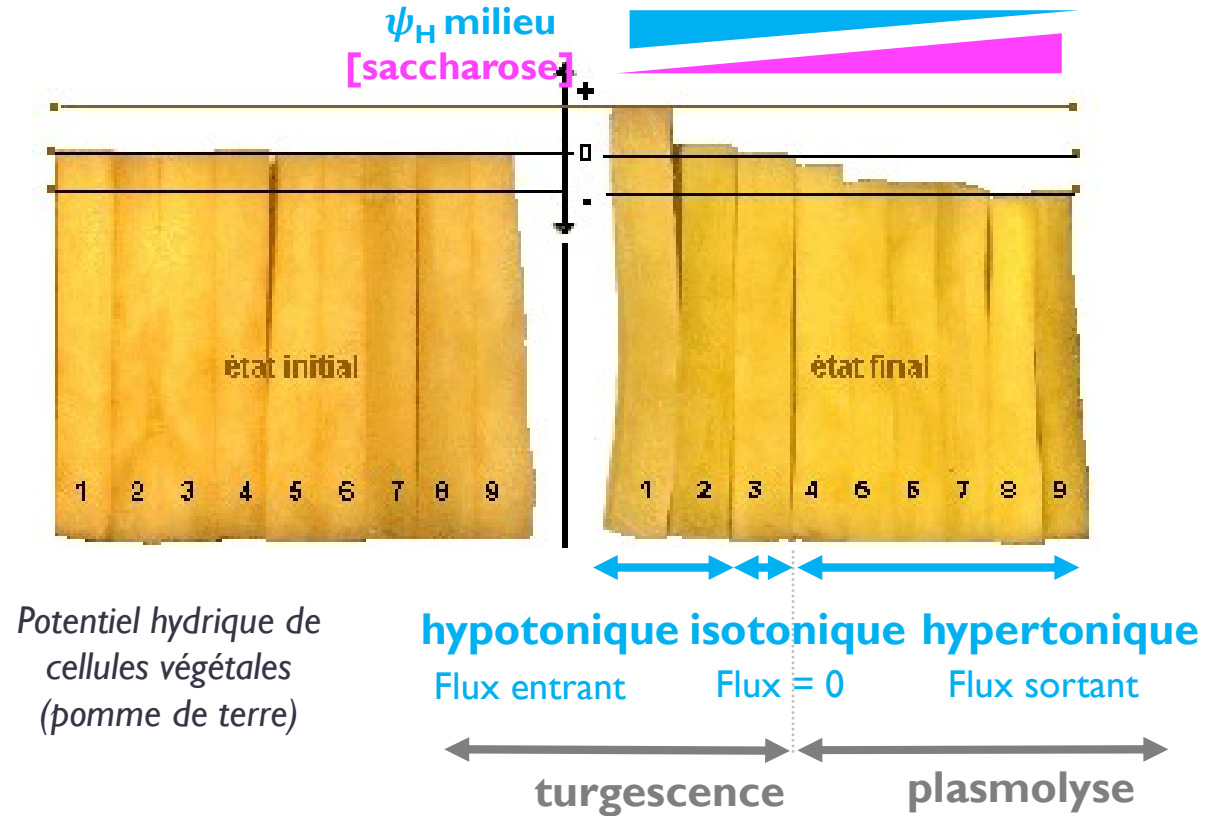
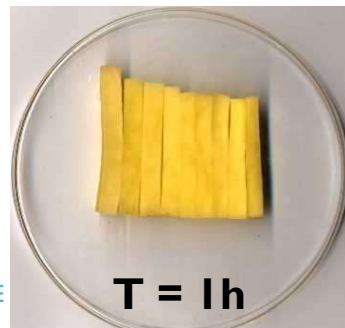
Définition de l'osmose : **diffusion des molécules d'eau** à travers une membrane à perméabilité sélective, **selon le gradient de potentiel hydrique** = dans le sens des **potentiels hydriques décroissants** = du ψ_H le moins négatif vers le ψ_H le plus négatif. En effet, plus une solution possède de solutés dissous, plus la pression osmotique est élevée et donc plus ψ est négatif.



Cellule végétale :

$$\psi_H \approx \psi_S + \psi_P$$

ENCPB- BCPSTI - STÉPHANIE DALAINE



I. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

I.2. Définition et utilisation du potentiel hydrique pour déterminer la pression osmotique d'une cellule

Osmose

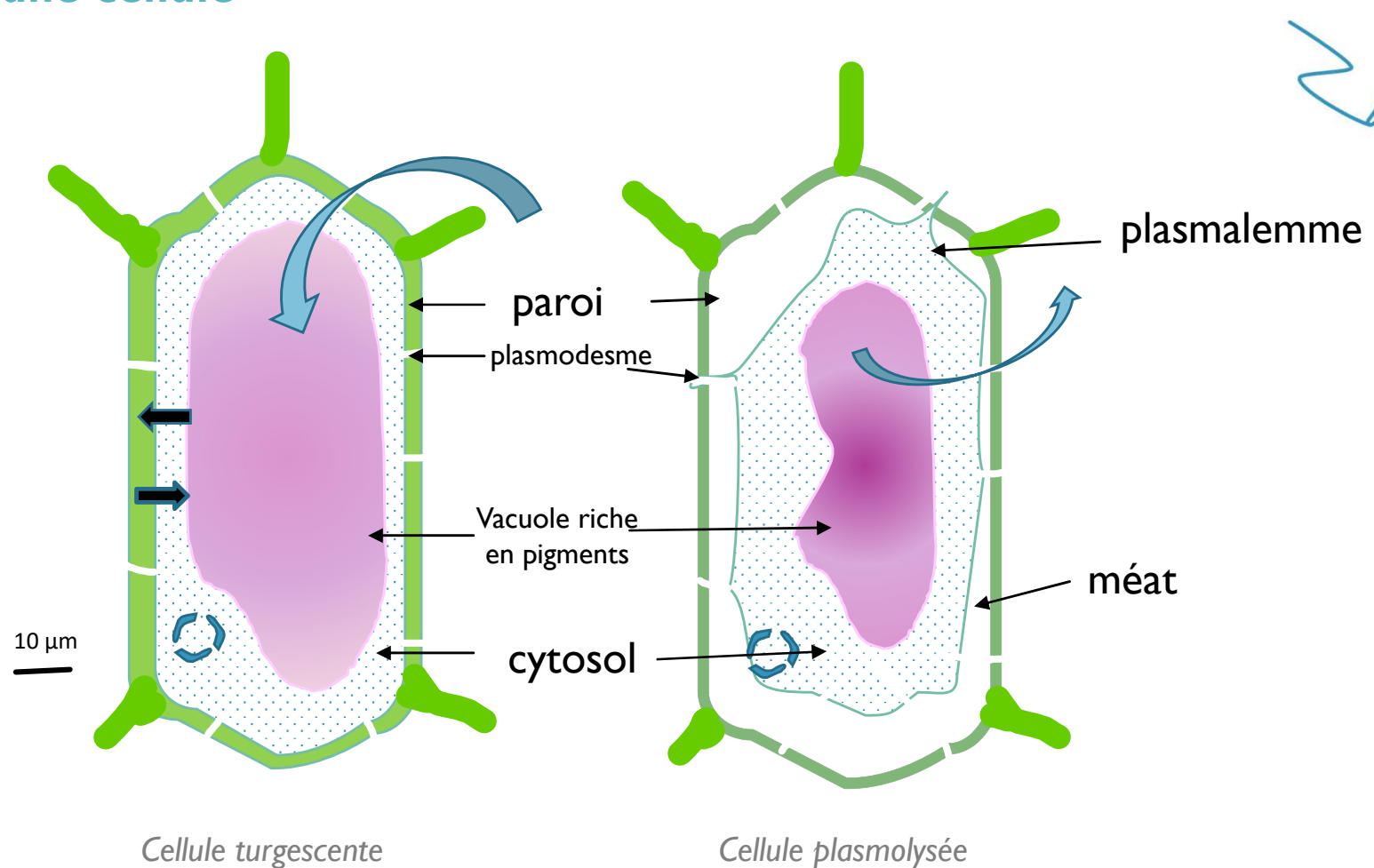


Schéma des flux d'eau au sein d'une cellule végétale placée dans un milieu hypotonique (gauche) et hypertonique (droite)

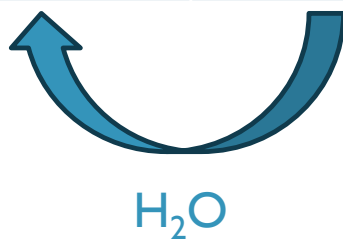
I. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

I.2. Définition et utilisation du potentiel hydrique pour déterminer la pression osmotique d'une cellule



Osmose

	Cellule dans une solution hypotonique (eau distillée par ex)		Plasmolyse limite: la cellule turgescente est placée dans un milieu isotonique		Cellule dans une solution de saccharose à 0,4 mol. L ⁻¹	
	Cellule turgescente	Milieu	Cellule flasque	Milieu	Cellule plasmolysée	Milieu
ψ_P	$P = 0,4 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$
ψ_S	$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$	$-\pi = 0 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,9 \text{ MPa}$
ψ_H	$\psi_H = -0,3 \text{ MPa}$	$\psi_H = 0 \text{ MPa}$	$\psi_H = -0,7 \text{ MPa}$	$\psi_H = -0,7 \text{ MPa}$	$\psi_H = -0,7 \text{ MPa}$	$\psi_H = -0,9 \text{ MPa}$



Retrouvez la valeur du potentiel osmotique du milieu à 0,4 M de saccharose à 20°C

Cas d'une cellule animale : démonstration

- $\Delta\psi_H$ permet de déterminer le sens des déplacements d'eau :

$$\Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} \approx \psi_2 - \psi_1$$

$$\Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} \approx (\psi_{S_2} + \psi_{P_2}) - (\psi_{S_1} + \psi_{P_1})$$

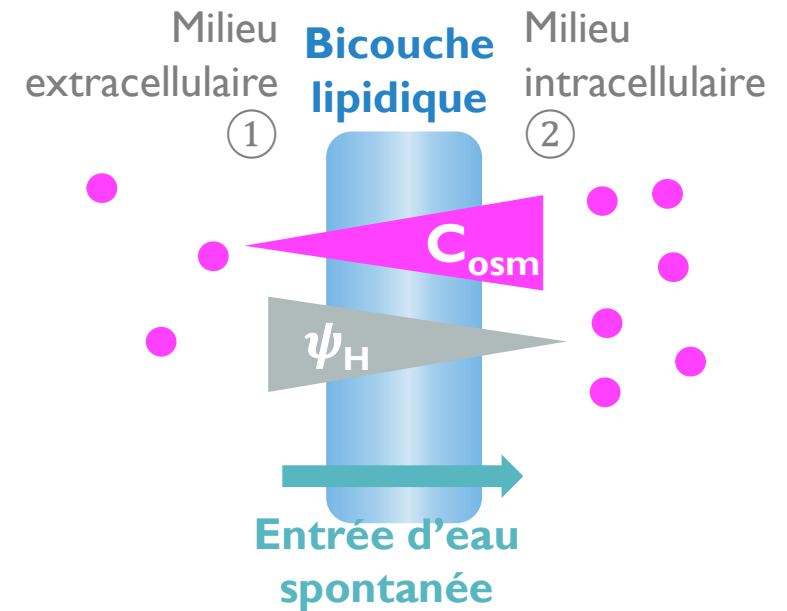
$$\Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} \approx (\psi_{S_2} - \psi_{S_1}) + (\psi_{P_2} - \psi_{P_1})$$

$$\Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} \approx \Delta\psi_{S\ 1\rightarrow 2} + \Delta\psi_{P\ 1\rightarrow 2}$$

- Pour une cellule animale, on a $\psi_P = 0$

$$\Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} \approx -R.T. (C_{osm2} - C_{osm1}) \cdot 10^3 + (\cancel{P_2} - \cancel{P_1})$$

$$\Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} \approx -cte (C_{osm2} - C_{osm1})$$



$$\text{Si } C_{osm\ 2} - C_{osm\ 1} > 0$$

$$\text{Alors } \Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} < 0$$

→ Flux d'eau spontané **entrant**

$$\text{Si } C_{osm\ 2} - C_{osm\ 1} < 0$$

$$\text{Alors } \Delta\psi_{H\ 1\rightarrow 2} > 0$$

→ Flux d'eau spontané **sortant**

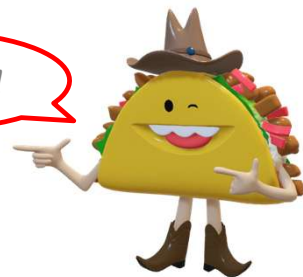
Solution hypertonique et nez bouché

- Comment ça marche ?
- C'est une solution à 22g/L de sels soit 2,2 % (moins que la mer : 35 g/L) donc hypertonique (rappel : 0,9 % serait isotonique).
- Elle provoque donc une sortie d'eau des cellules.
- L'eau va diluer le mucus nasal qui devient plus fluide et s'écoule : le nez se débouche !



Et le sérum physiologique?

Isotonique!



Produits contre la sécheresse oculaire



- Ce sont des solutions hypotoniques : l'eau de la solution pénètre dans les cellules oculaires et les réhydrate.

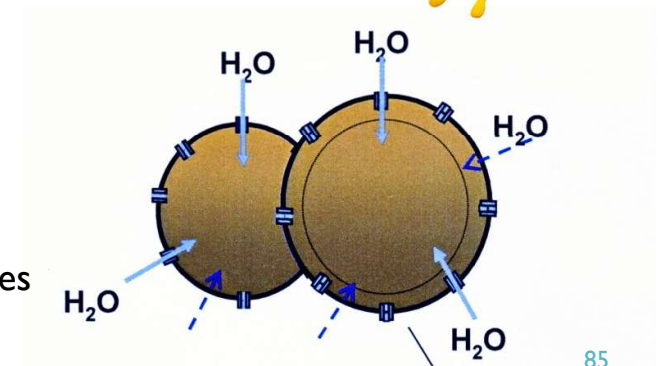
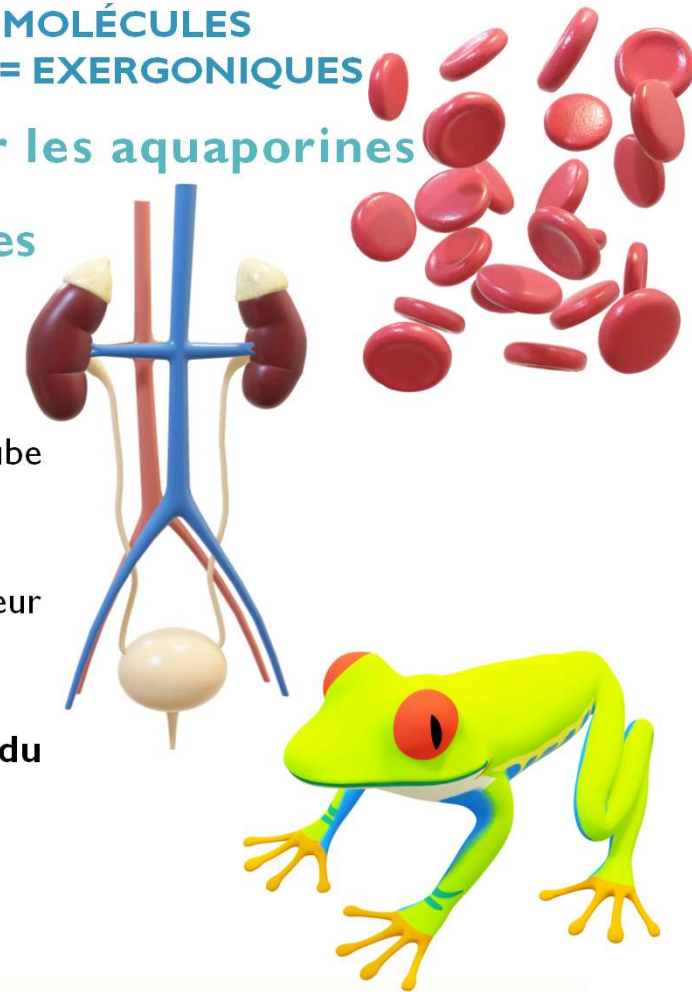
II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGONIQUES

I. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

I.3. La diffusion de l'eau peut être facilitée par les aquaporines

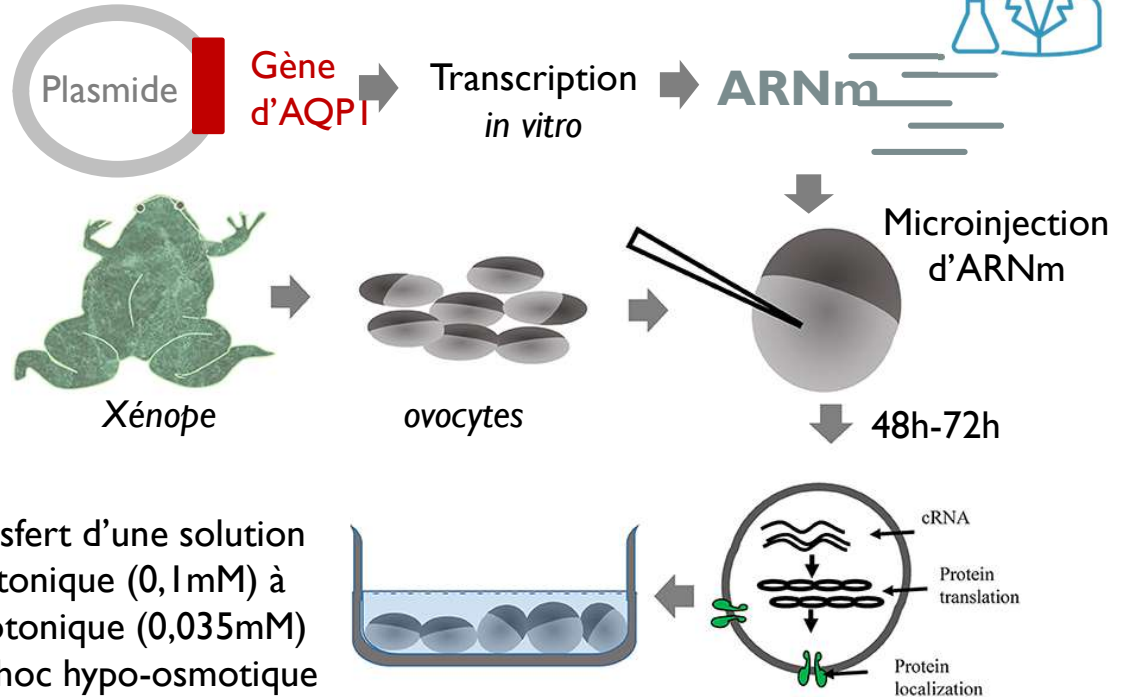
- **Eau = molécule polaire** or eau traverse les membranes biologiques aisément...
- certaines membranes comme celle des **hématies** ou celle des cellules du tube proximal du néphron montrent une **grande perméabilité à l'eau**
- Etude de la vessie de Grenouille: Les amphibiens récupèrent de l'eau au niveau de leur vessie (→ vers le sang ensuite).
 - **Des mesures montrent que le flux d'eau est supérieur à celui attendu par simple osmose**
 - **hyp : il existe un mécanisme supplémentaire de passage de l'eau**
- L'observation par **cryodécapage** de la membrane plasmique au :
 - l'existence de protéines intramembranaires
 - la stimulation par l'ADH (hormone antidiurétique) provoque la formation d'agrégat de protéines membranaires
 - la perméabilité à l'eau est proportionnelle au nombre d'agrégats de protéines membranaires .



I.3. La diffusion de l'eau peut être facilitée par les aquaporines

Protocole et résultats
de l'expérience
(Agre et al. 1992)

Découverte des aquaporines



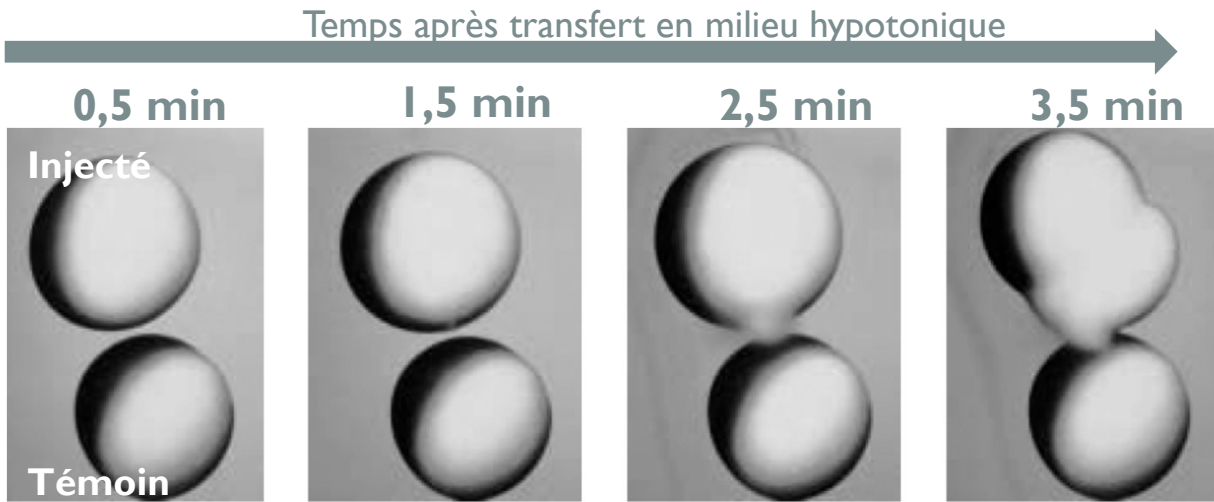
Expérience d'Agre, 1992 (Nobel 2003) : Expression d'AQPI en ovocytes Xénope



- Obtention d'ARNm d'aquaporine (AQPI) par transcription in vitro
- Injection des ARNm d'aquaporine dans des ovocytes de Xénope
- Transfert vers un milieu hypotonique
Choc hypo-osmotique
→ Test de perméabilité

Rem : les ovocytes de Xénope ne sont pas (peu) perméables à l'eau → pas de transporteur d'eau
En effet, comme ils sont pondus dans l'eau douce, ils « exploseraient ».

→ Les aquaporines permettent les échanges transmembranaires d'eau



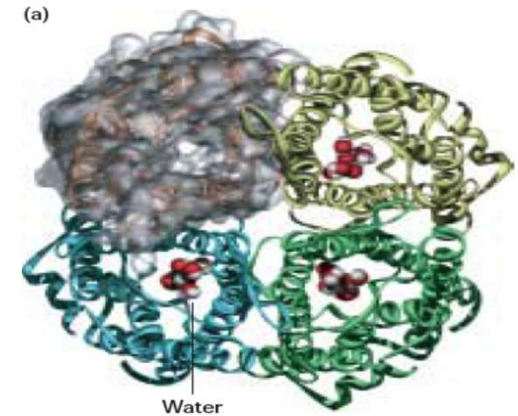
1.3. La diffusion de l'eau peut être facilitée par les aquaporines

Structure

- Les aquaporines forment des tétramères

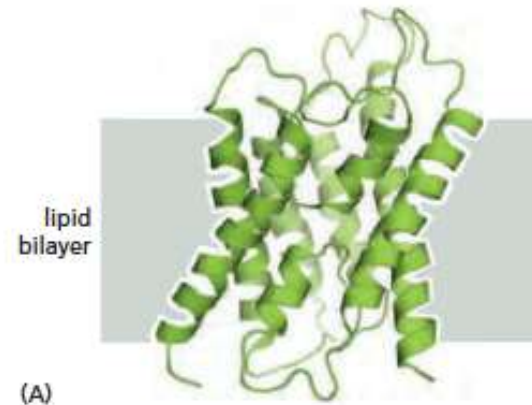


Structure des aquaporines AQPI. Incorporation de l'AQPI dans un protéoliposome puis cryofracture et observation au MET

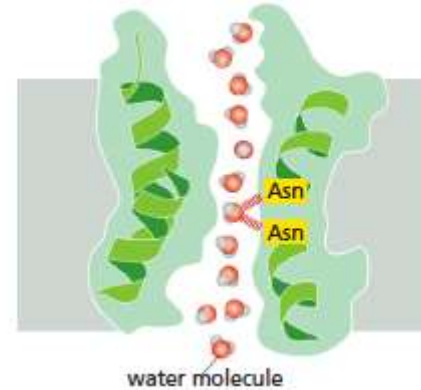


Modèle d'organisation de l'aquaporine

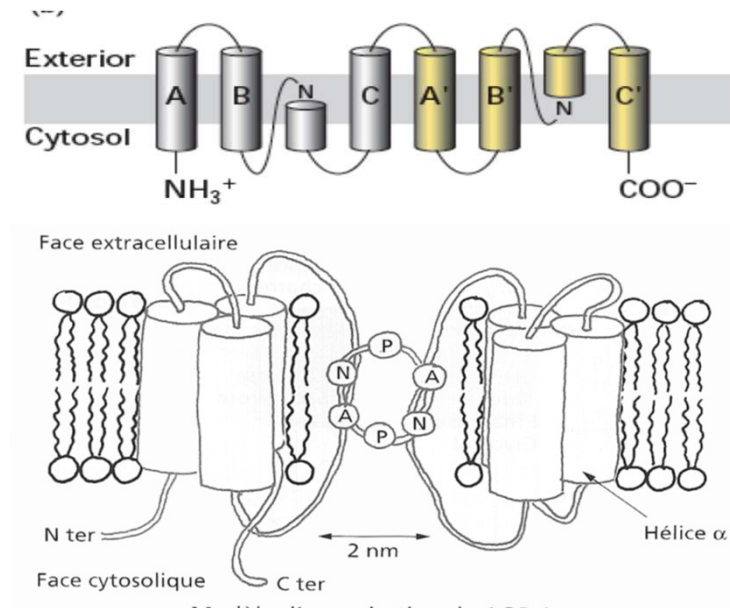
- Chaque monomère est constitué de :
 - 6 hélices alpha transmembranaires
 - Une boucle formée de 2 séquences NPA (Asn, Pro, Ala)
- Les hélices alpha d'un monomère forment un **pore** ($\varnothing = 2$ nm)
 - Les AA tournés vers le pore sont hydrophiles
 - Canal hydrophile
 - Transport d'eau



(A)



(B)



Modèle d'organisation d'un monomère

→ Les aquaporines sont des canaux à eau



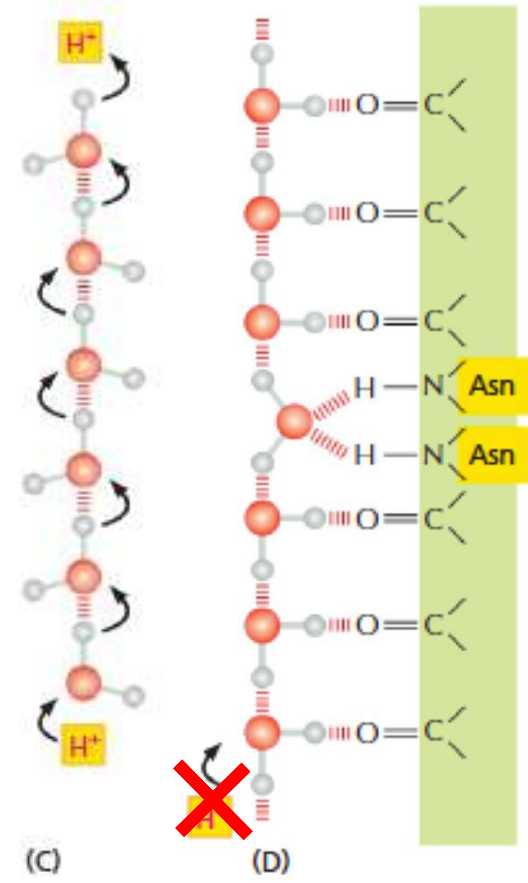
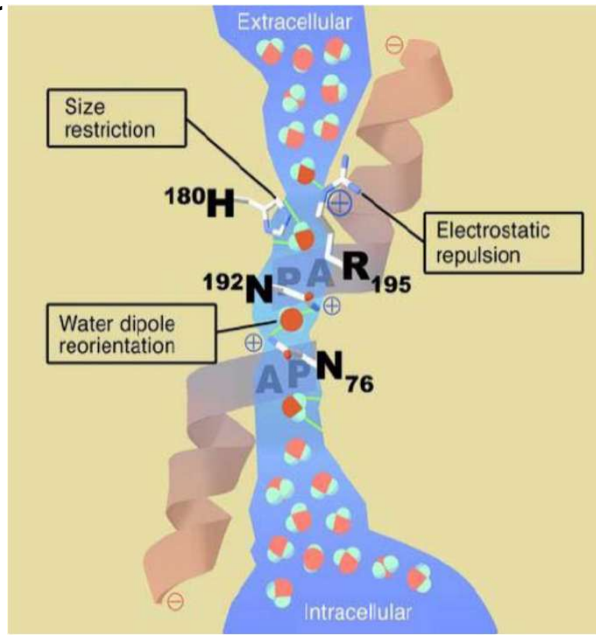
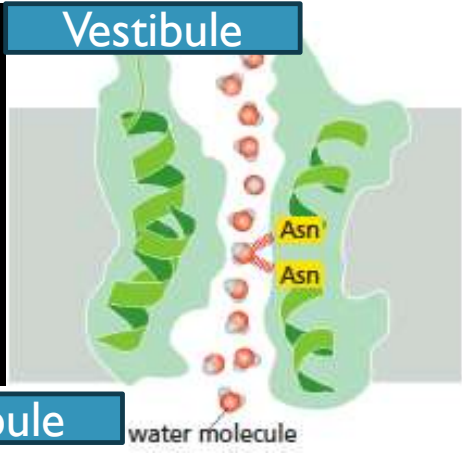
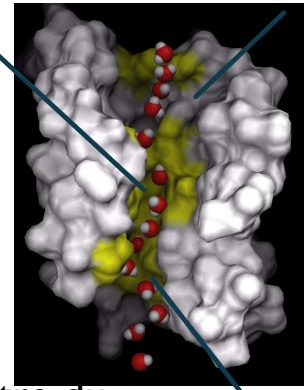
I.3. La diffusion de l'eau peut être facilitée par les aquaporines

Col de restriction

Passage de l'eau dans le pore, en files de molécules

Fonctionnement

- L'eau passe dans le pore sous la forme d'une **file de molécules d'eau** alignées.
 - Les AA hydrophiles orientés vers le centre du pore forment des liaisons H transitoires avec l'eau (via groupement carbonyle et amide)
 - Stabilisation et alignement des molécules
 - Les Asn des boucles NPA au milieu du canal mobilise une molécule d'eau → polarisation de toute la file d'eau
- Le pore est **imperméable à H⁺**
 - L'organisation des molécules d'eau alignées et liées par liaisons H bloque le passage de H⁺ (≠ eau libre)
- Le pore est **imperméable aux ions** hydratés (trop gros)
- Transport par **diffusion**, dans le sens des ψ_H décroissants



Vitesse de transport : 10⁹ molécules d'eau par sec et par AQP (tétramère)

II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGONIQUES



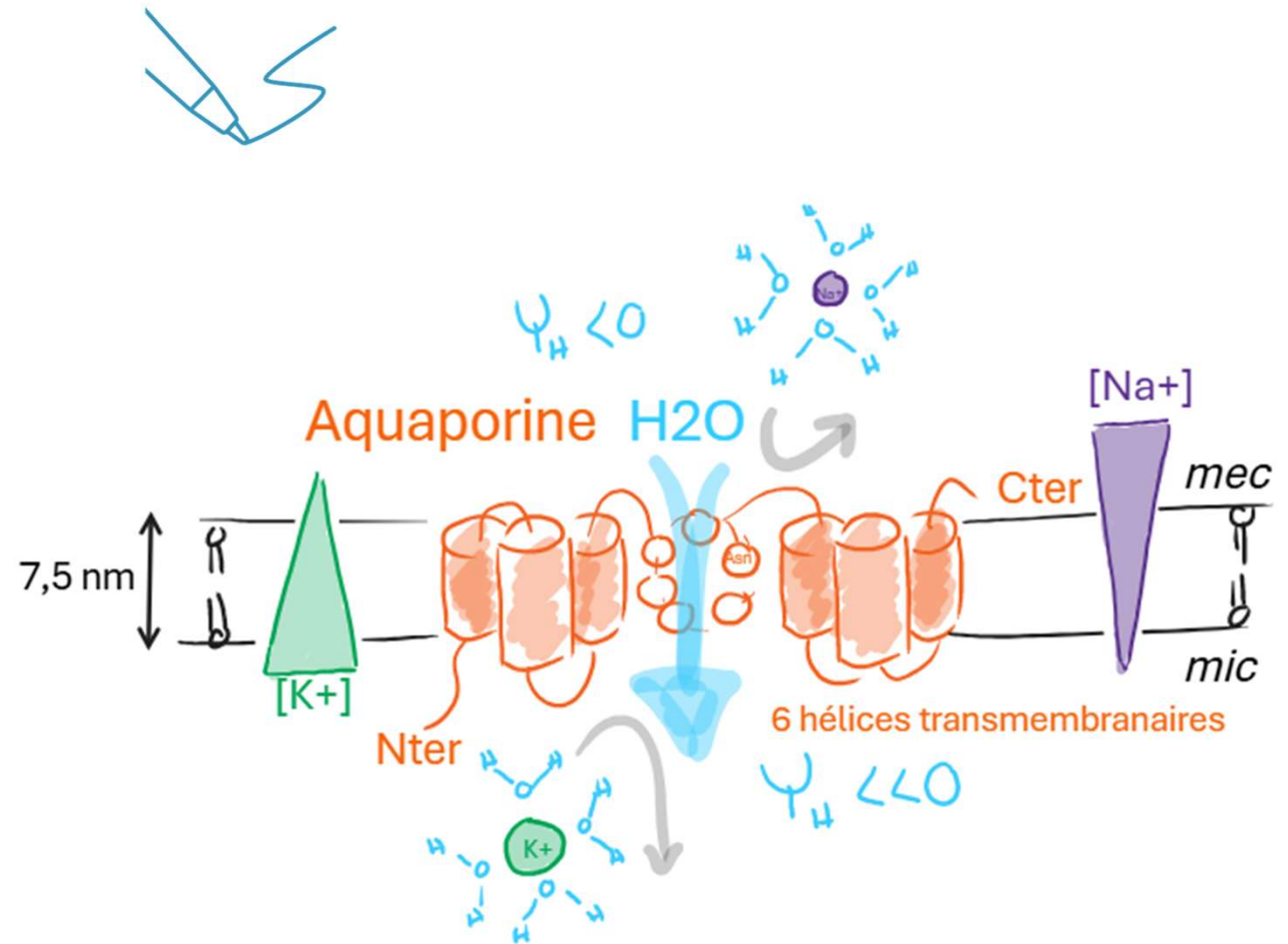
I. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines

Bilan

- Les AQP sont **spécifiques** à l'eau
- Transport d'eau dans un sens ou dans l'autre, **par diffusion selon le gradient de potentiel hydrique**
- Plus de 200 aquaporines différentes, des plantes aux animaux

Elles interviennent dans l'approvisionnement en eau des cellules, dans les processus de turgescence donc de croissance cellulaire des végétaux par ex.

Régulation de la présence des aquaporines : hormone antidiurétique
Phosphorylation



Modèle de fonctionnement d'une aquaporine (ex: cellule d'une vessie de grenouille) (S. Dalaine)

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
4. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
5. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
4. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

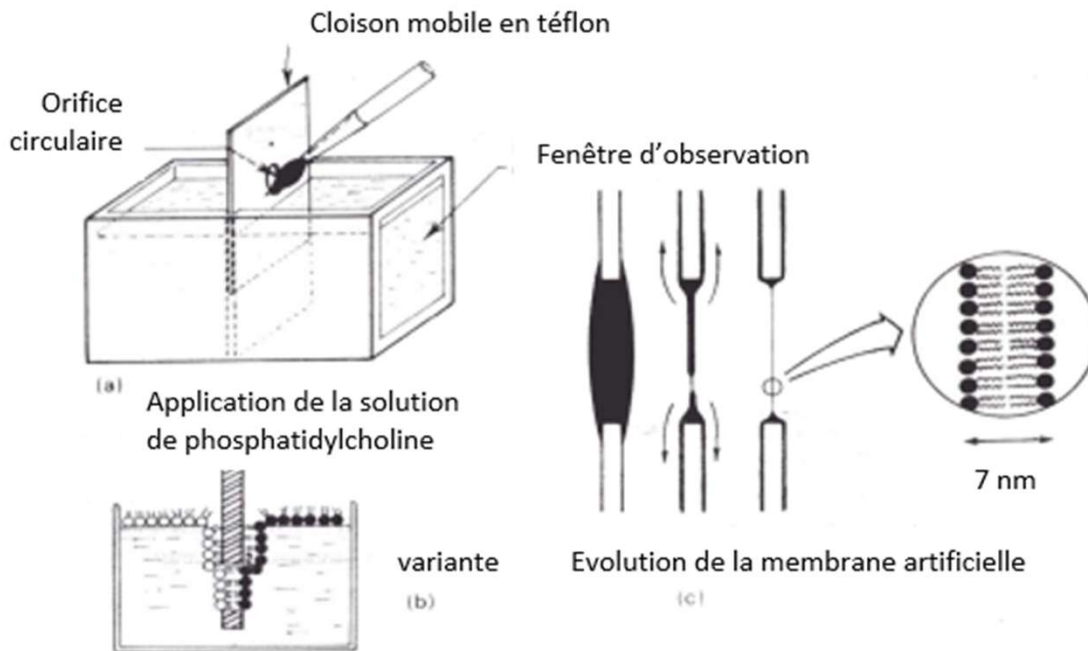
D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

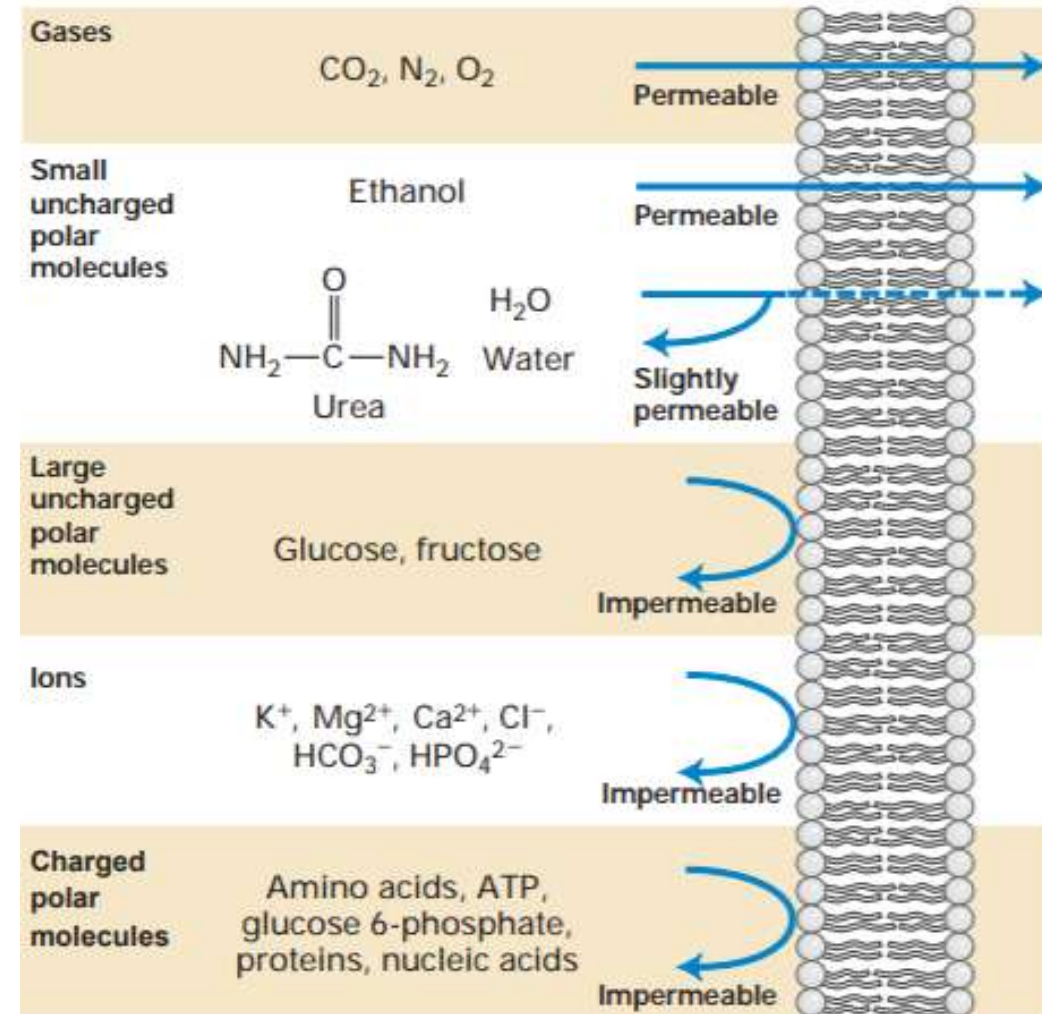
A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGIQUES

2. Approche thermodynamique des échanges individuels



Dispositif expérimental

Pour qu'une molécule puisse traverser la membrane, il faut que la membrane lui soit perméable



II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGONIQUES



2. Approche thermodynamique des échanges individuels

2.1. Approche thermodynamique d'un échange de solutés chargés

Introduction

- L'étude thermodynamique des échanges permet de déterminer :
 - Le **sens de déplacement spontanément** d'une molécule à la travers la membrane
 - La **quantité d'énergie** échangée (dissipée ou consommée) lors de ce déplacement
- Pour étudier les aspects thermodynamiques d'un échange, on définit le **potentiel électro-chimique** ($\tilde{\mu}$)

Conditions standard :

- pH = 7,
- T = 298 K,
- P = P_{atm}
- C = 1 mol.L⁻¹ (pour toutes molécules)

Rem : Des grandeurs dérivées de $\tilde{\mu}$ seront utilisées selon le type de molécule (ion, molécule non chargée)

$$\tilde{\mu} = \mu_0 + R.T.\ln(C/C^\circ) + z.F.E$$

$\tilde{\mu}$: potentiel électrochimique (en J.mol⁻¹)

μ_0 : potentiel électrochimique dans les conditions standard (cte qui dépend T, P, nature de la molécule)

R : cte des gaz parfaits (8,314 J.mol⁻¹.K⁻¹)
T : la température (en Kelvin)

C : concentration de l'ion (en mol.L⁻¹)

z : charge de l'ion étudié (avec le signe + ou -)

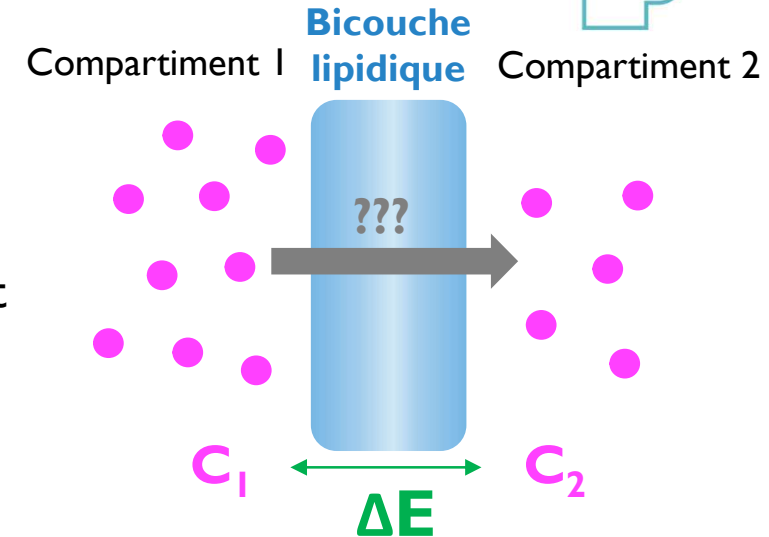
F : cte de Faraday (96 500 C.mol⁻¹)

E : le potentiel électrique (en V)

2.1. Approche thermodynamique d'un échange de solutés chargés



- Il existe un lien entre enthalpie libre et **potentiel électrochimique (μ)**.
- C'est la **différence de potentiel électrochimique ($\Delta \tilde{\mu}$)** qui est informative



Equation de Nernst

$$\Delta G^{\circ'}_{1 \rightarrow 2} = \Delta \tilde{\mu} = \tilde{\mu}_2 - \tilde{\mu}_1 = R.T.\ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right) + z.F.(\Delta E)$$

$\Delta G^{\circ'}$: Variation d'enthalpie libre (en J.mol⁻¹)
 $\Delta \tilde{\mu}$: Différence de potentiel électrochimique (en J.mol⁻¹)
 R : cte des gaz parfaits (8,314 J.mol⁻¹.K⁻¹)
 T : la température (en Kelvin)
 $\frac{C_2}{C_1}$: Rapport des concentrations de l'ion (en mol.L⁻¹)
 z : charge de l'ion étudié (avec le signe + ou -)
 F : cte de Faraday (96 500 C.mol⁻¹)
 ΔE : $\Delta E = E_2 - E_1$: ddp membranaire (en V)

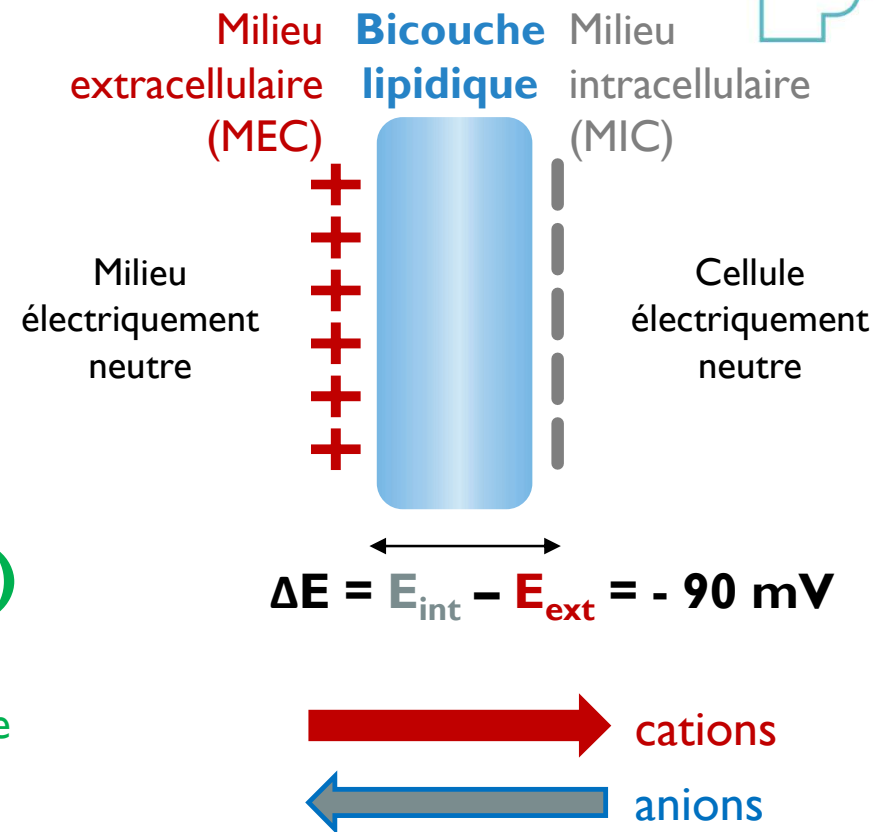
- ✓ Si $\Delta G = 0 \rightarrow$ pas de déplacement net \rightarrow **équilibre**
- ✓ Si $\Delta G < 0 \rightarrow$ déplacement spontané (qui libère de l'énergie) \rightarrow **diffusion**
- ✓ Si $\Delta G > 0 \rightarrow$ déplacement non spontané (qui nécessite un apport d'énergie)

2.1. Approche thermodynamique d'un échange de solutés chargés



- Déplacement d'un ion à travers la membrane dépend de 2 paramètres
 - énergie potentielle chimique
 - énergie potentielle électrique
 - leurs effets peuvent s'ajouter ou s'annuler

$$\Delta \tilde{\mu}_{\text{ext} \rightarrow \text{int}} = \underbrace{R.T.\ln\left(\frac{C_{\text{int}}}{C_{\text{ext}}}\right)}_{\text{Énergie potentielle chimique}} + \underbrace{z.F.(E_{\text{int}} - E_{\text{ext}})}_{\text{Énergie potentielle électrique}}$$



- La bicouche lipidique est imperméable aux ions
- Des protéines membranaires, appelées « canaux », permettent le passage des ions à travers la membrane en fonction de $\Delta \tilde{\mu}$

2.1. Approche thermodynamique d'un échange de solutés chargés

Une cellule animale présente une concentration en Na^+ de 5 mmol/L tandis que le milieu extracellulaire a une concentration de 150 mmol/L.

Le potentiel de membrane (= différence de potentiel électrique de part et d'autre de la membrane plasmique = $E_{\text{int}} - E_{\text{ext}}$) est de -90 mVolt.

La cellule est à 37°C.

1. Calculez $\Delta G'_{\text{int} \rightarrow \text{ext}}$ et qualifiez la sortie (efflux) de sodium de la cellule.

A l'équilibre thermodynamique : $\Delta G'_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = \Delta \tilde{\mu}_{\text{int} \rightarrow \text{ext}}$

$$\Delta \tilde{\mu}_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = \tilde{\mu}_{\text{ext}} - \tilde{\mu}_{\text{int}} = R.T.\ln\left(\frac{C_{\text{ext}}}{C_{\text{int}}}\right) + z.F.(E_{\text{ext}} - E_{\text{int}})$$

$$\text{A.N. } \Delta \tilde{\mu}_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = 8,314 \times (273 + 37) \times \ln(150/5) + 1 \times 96\,500 \times 90.10^{-3}$$

$$\Delta \tilde{\mu}_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = + 17,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

La sortie (l'efflux) de Na^+ est donc endergonique (non spontané).

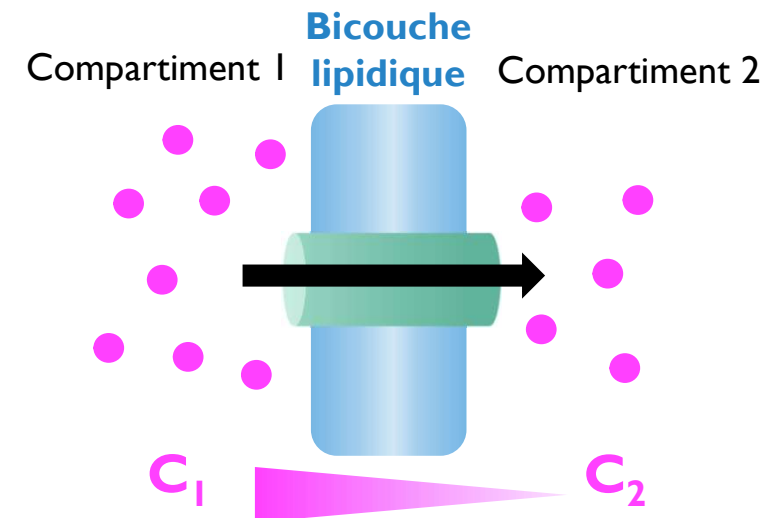
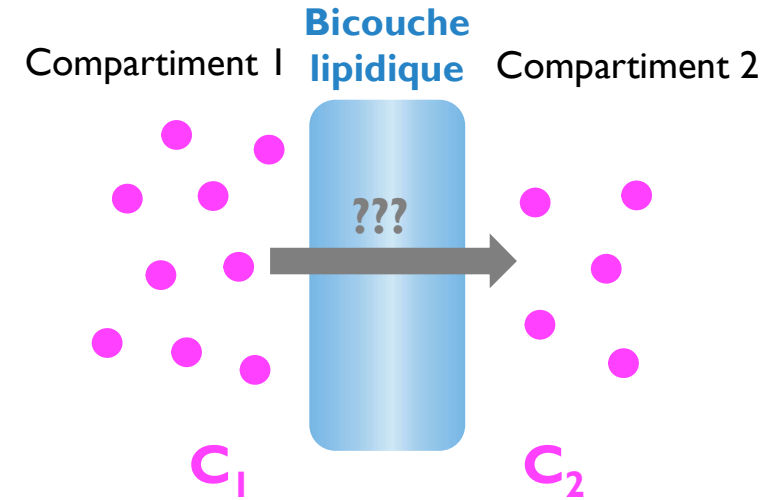
2.2. Approche thermodynamique d'un échange de solutés non chargés

- Le déplacement d'un soluté non chargé ne dépend que de sa concentration → diffusion

$$\Delta \tilde{\mu}_{1 \rightarrow 2} = R.T.\ln \left(\frac{C_2}{C_1} \right) + z.F.(\Delta E)$$

$$\Delta \mu_{1 \rightarrow 2} = R.T.\ln \left(\frac{C_2}{C_1} \right)$$

- Cependant, pour que la diffusion puisse se faire, il faut que la **membrane soit perméable** au soluté
- Or la bicouche lipidique est un peu perméable aux petites molécules non chargées
- Des protéines membranaires forment des voies de passage pour les solutés → notion de **transporteur**
→ **diffusion facilitée**



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

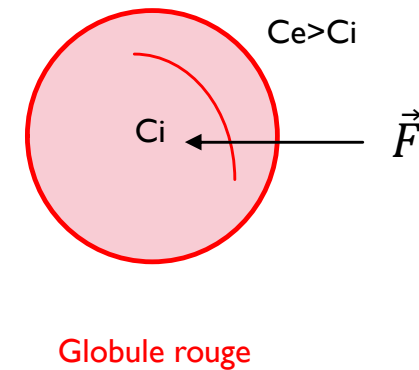
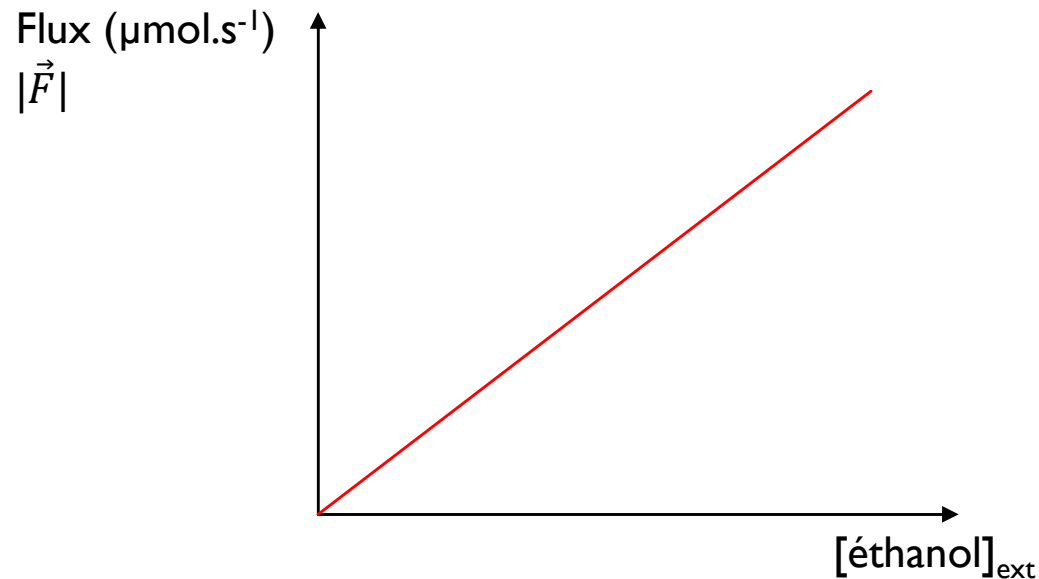
1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)

3.1. Approche expérimentale



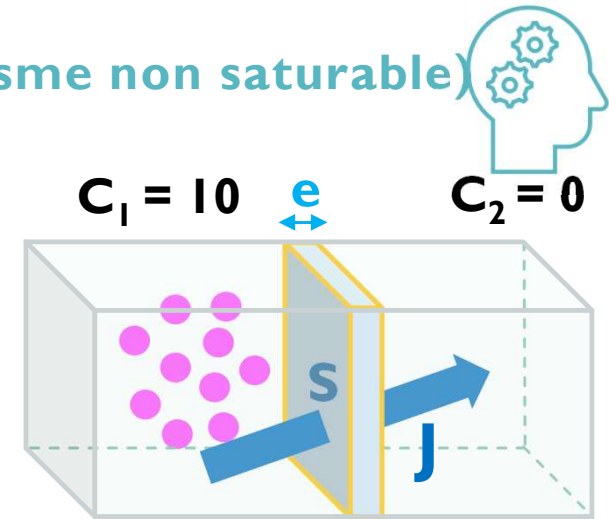
Etude du flux d'éthanol radiomarqué au travers de la membrane d'hématies

Le flux entrant est proportionnel à la concentration en éthanol dans le milieu extracellulaire. Il s'agit donc d'un mécanisme de **diffusion** purement physique, **non saturable**, à travers la bicouche lipidique.

3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)

3.2. La diffusion simple est contrôlée par la loi de Fick

- La **loi de Fick** permet de déterminer le **flux net** associé au transport d'une molécules par **diffusion**, à travers une « barrière » (ici : membrane).
- Ce flux correspond à une **quantité de molécules** traversant la membrane **par unité de temps** (~débit)
- La loi de Fick donne :
 - L'intensité** du flux (~vitesse)
 - Le **sens** du flux → sens du gradient de [C]



$$\text{Gradient de } [C] = \frac{\Delta C}{e}$$

DIFFUSION

$$\text{Flux net de diffusion (g.s}^{-1} \text{ ou mol.s}^{-1}) \longrightarrow \mathbf{J} = -\mathbf{D} \times \frac{\mathbf{S}}{\mathbf{e}} \times \mathbf{\Delta C}$$

Coefficient de diffusion
(dépend de la molécule, du milieu, des interactions avec la barrière) ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)

Surface de la barrière (m^2)

Epaisseur de la barrière (m)

Différence de concentration de part et d'autre de la membrane (g.m^{-3} ou mol.m^{-3})

3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)

3.2. La diffusion simple est contrôlée par la loi de Fick



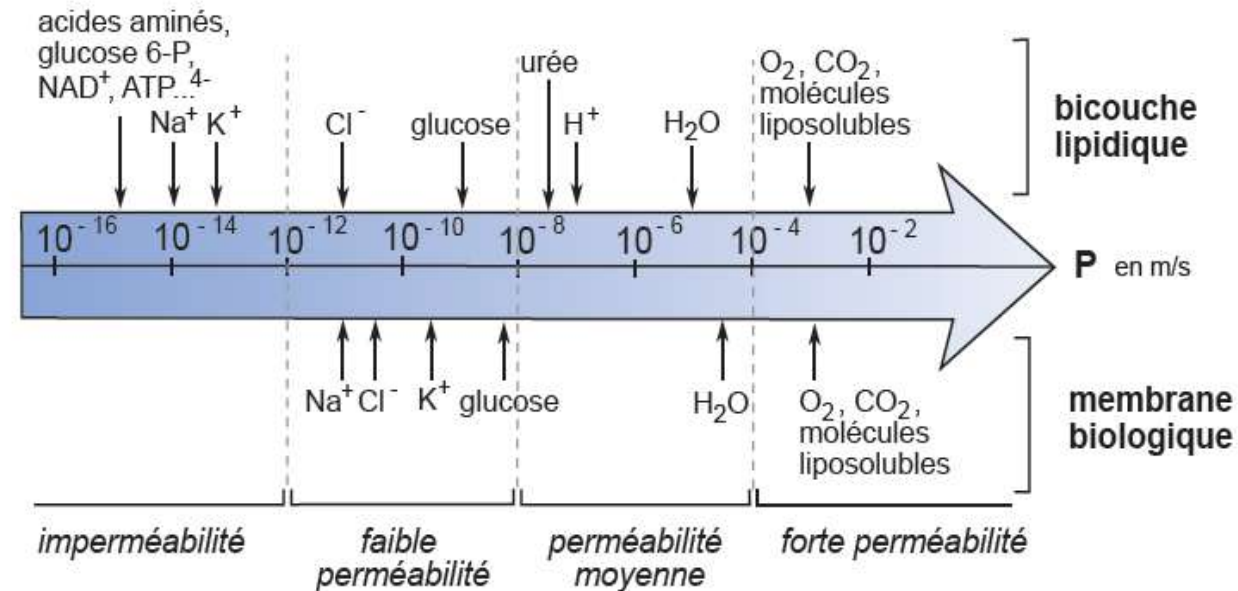
Le coefficient de diffusion (**D**)

$$J = -D \times \frac{S}{e} \times \Delta C$$

- Coeff de diffusion $D \sim$ perméabilité
- D dépend surtout de l'état de la barrière (membrane)
- Or une membrane n'est ni liquide ni solide \rightarrow **bicouche fluide poreuse** (les molécules se fauillent entre les lipides et les protéines)
- Pour les membranes biologiques :
 $D \sim 10^{-14} - 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

Phase de diffusion	Gaz	Liquide	Solide
Ordre de grandeur de D ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	10^{-5}	$10^{-11} - 10^{-9}$	10^{-30}

Ordre de grandeur des coefficients de diffusion de différents milieux



Comparaison de la perméabilité (P) d'une bicouche lipidique et d'une membrane biologique à différentes substances

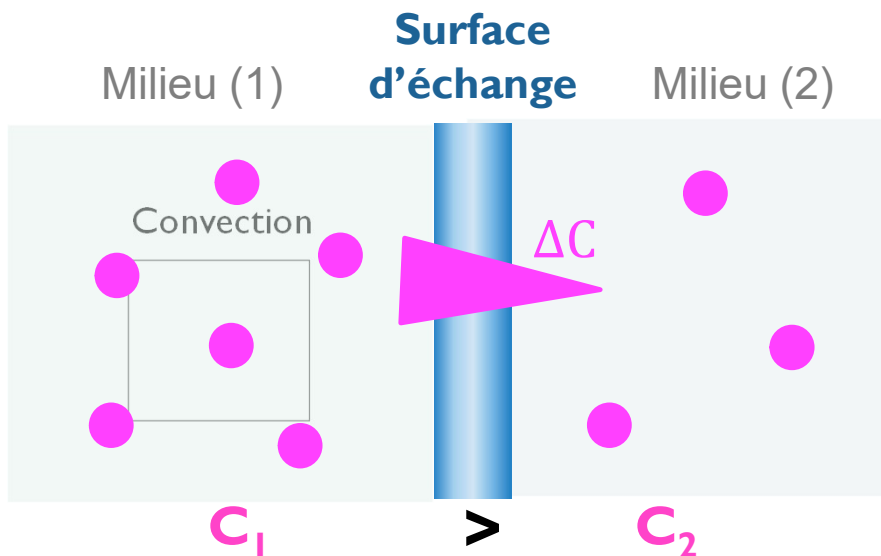
Les membranes biologiques sont plus perméables que les bicouches lipidiques
 \rightarrow **Rôle de protéines**

3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)

3.2. La diffusion simple est contrôlée par la loi de Fick

La différence de [C] (ou de P)

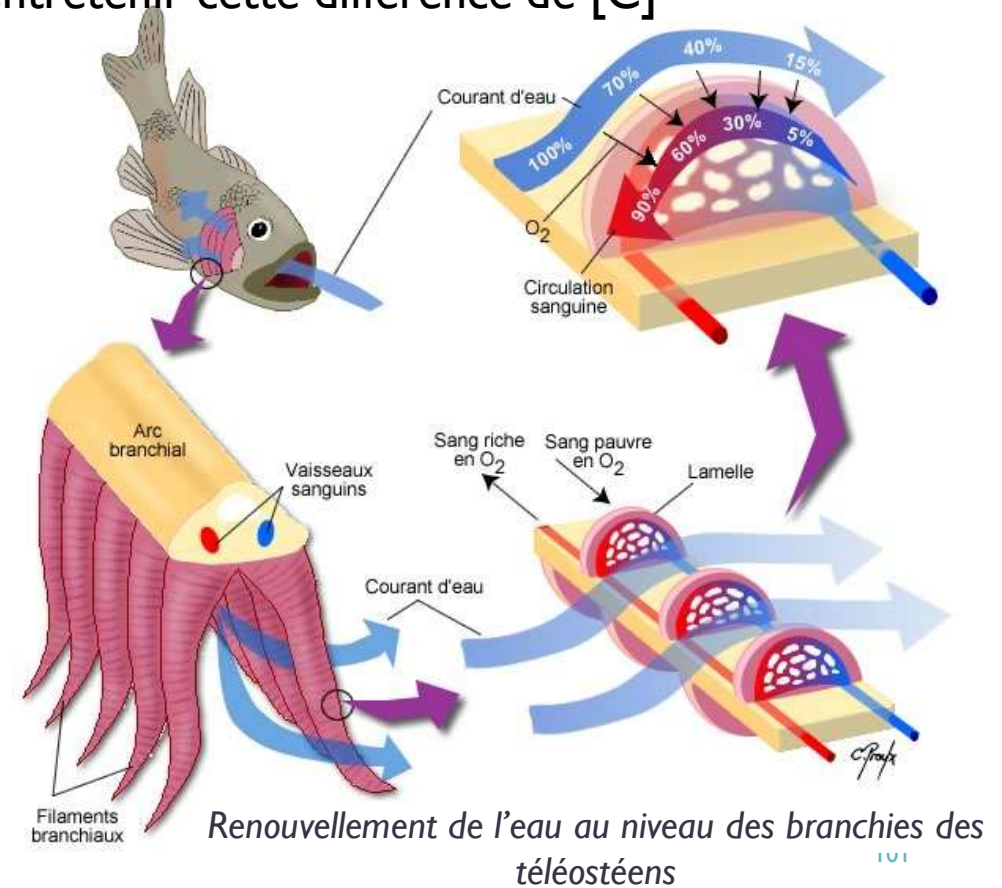
- Pour une membrane donnée, ΔC est le seul paramètre susceptible de varier rapidement



$$J = -D \times \frac{S}{e} \times \Delta C$$



- La **différence de [C]** est le **moteur** de la diffusion
Diffusion \uparrow quand $\Delta C \uparrow$
- Pour assurer une diffusion continue, il faut entretenir cette différence de [C]



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

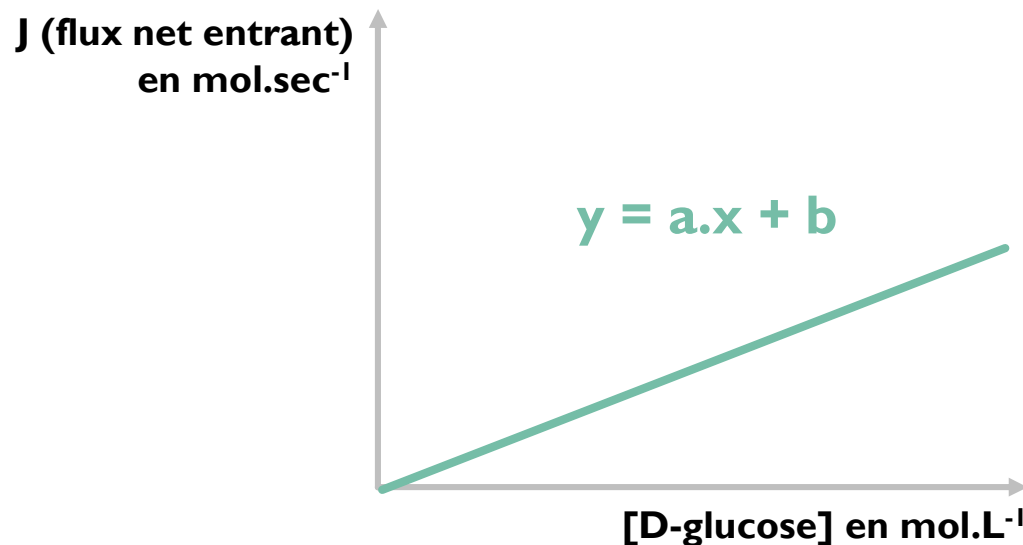
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs



4.1. La diffusion facilitée repose sur un mécanisme saturable

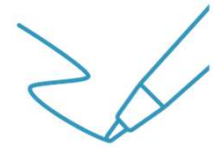
Mise en évidence

- Les bicouches lipidiques sont peu perméables au glucose (petite molécule polaire non chargée)
- On peut néanmoins mesurer la vitesse à laquelle le glucose les traverse.
 - Si flux linéaire proportionnel à [glucose], alors diffusion simple ...
 - ... mais



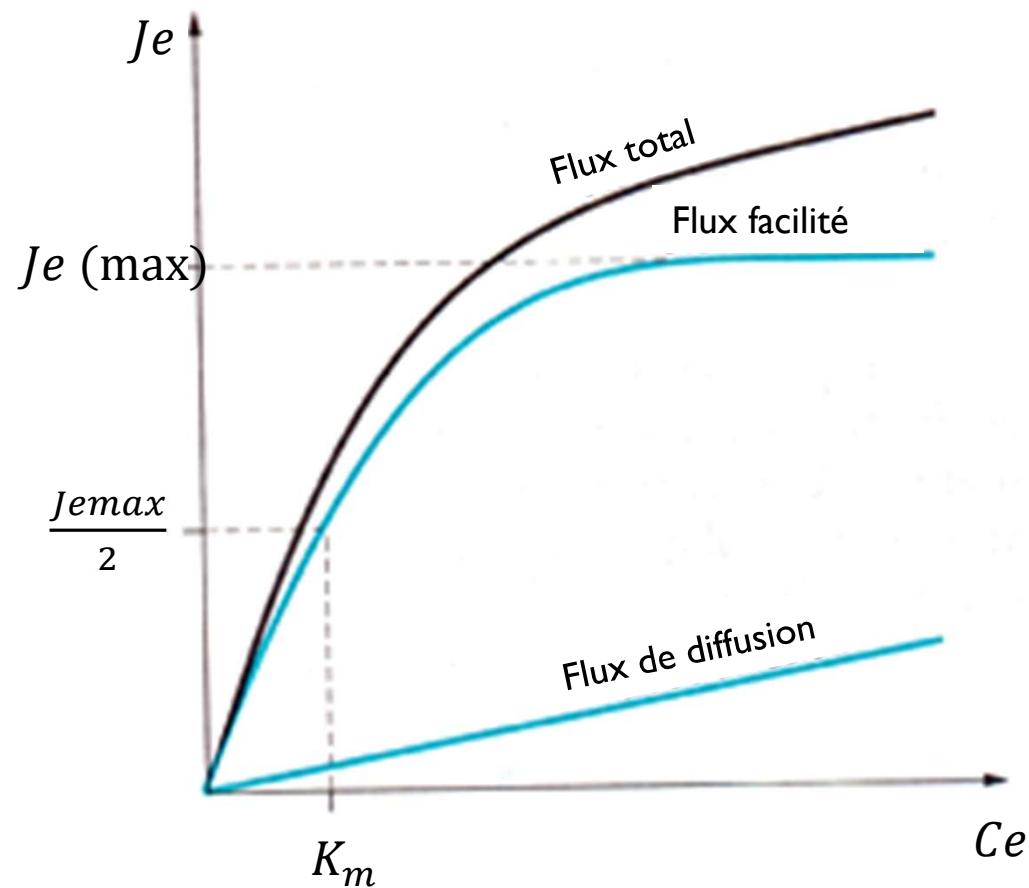
Forme 3D du D-glucose

4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs



4.1. La diffusion facilitée repose sur un mécanisme saturable

Mise en évidence



Mesure du flux entrant (J_e) de D-glucose en fonction de sa concentration à l'extérieur des hématies en présence ou non de sels de mercure (agents dénaturant les protéines)



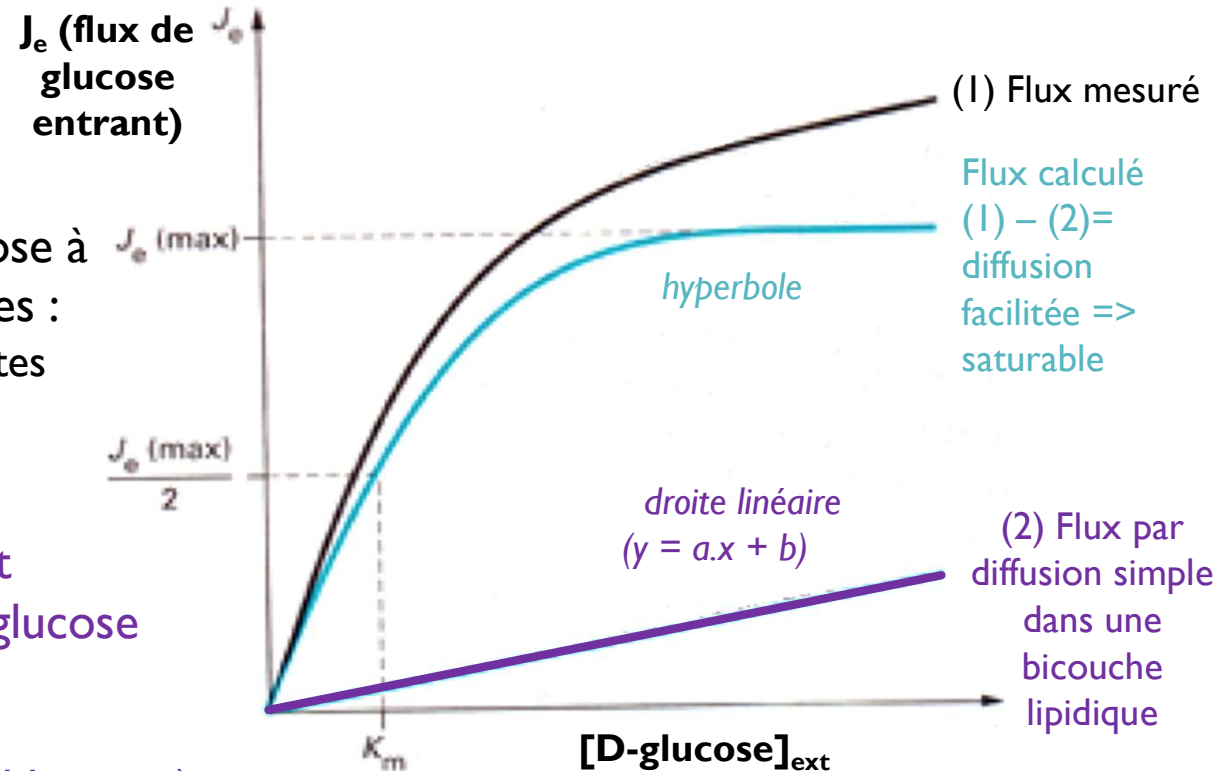
4.1. La diffusion facilitée repose sur un mécanisme saturable

Approche expérimentale

- Etude expérimentale des échanges de glucose à travers la membrane plasmique des hématies : mesure du flux entrant de glucose pour différentes [glucose] dans le milieu extérieur :
Flux mesuré > Flux par diffusion simple
- Même expérience + sels de mercure (agent dénaturant des protéines) ou analogue du glucose
→ Flux mesuré = Flux par diffusion simple
- Même expérience + analogue du glucose (phlorizine)
→ Flux mesuré = Flux par diffusion simple

→ Le transport transmembranaire de glucose fait intervenir des protéines membranaires : diffusion facilitée

→ Leur activité est saturable au-delà d'un seuil de [glucose]



Mesure du flux entrant de D-glucose dans des hématies, en fonction de [glucose]_{ext}

Détermination des coefficients de perméabilité pour le glucose :

- ✓ Bicouche lipidique : $10^{-7} \text{ cm.s}^{-1}$
- ✓ Membrane plasmique des hématies : $> 10^{-6} \text{ cm.s}^{-1}$

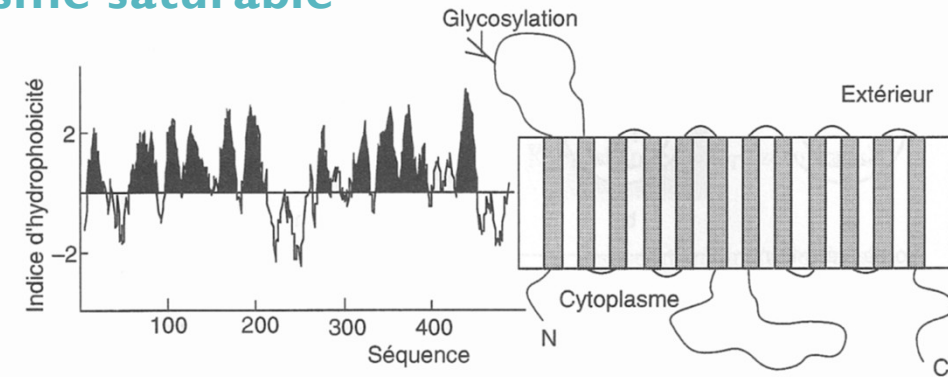
4.1. La diffusion facilitée repose sur un mécanisme saturable

Perméase à glucose

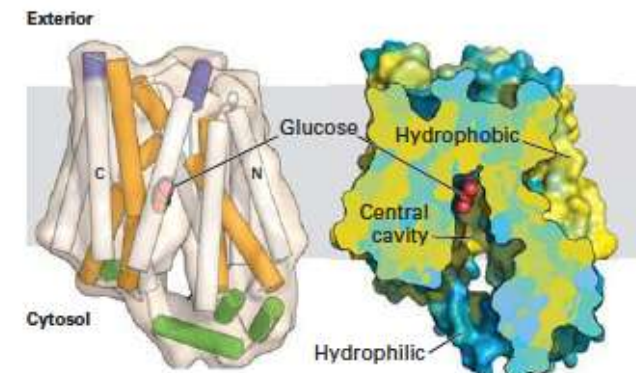
Lien structure-fonction

- Le transport du glucose est assuré par des protéines, **transporteurs de type perméase** (familles GLUT, SWEET)

- Protéines glycosylées
- 12 hélices alpha transmembranaires
- pore central hydrophile

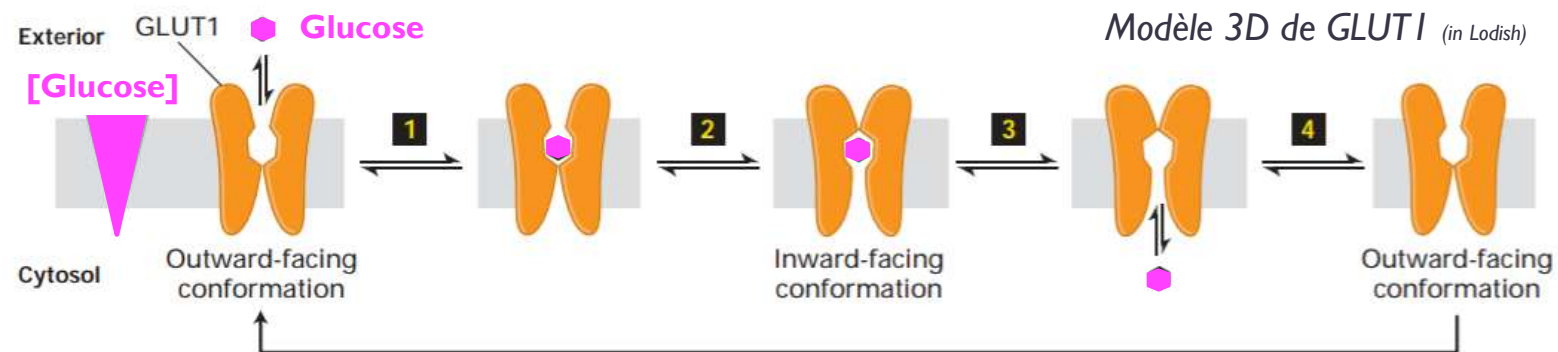


Profil d'hydrophobicité et modèle pour une perméase au glucose (GLUT1)



Modèle 3D de GLUT1 (in Lodish)

- Le glucose se déplace selon son gradient de $[C]$
 - transport passif
 - **diffusion facilitée**

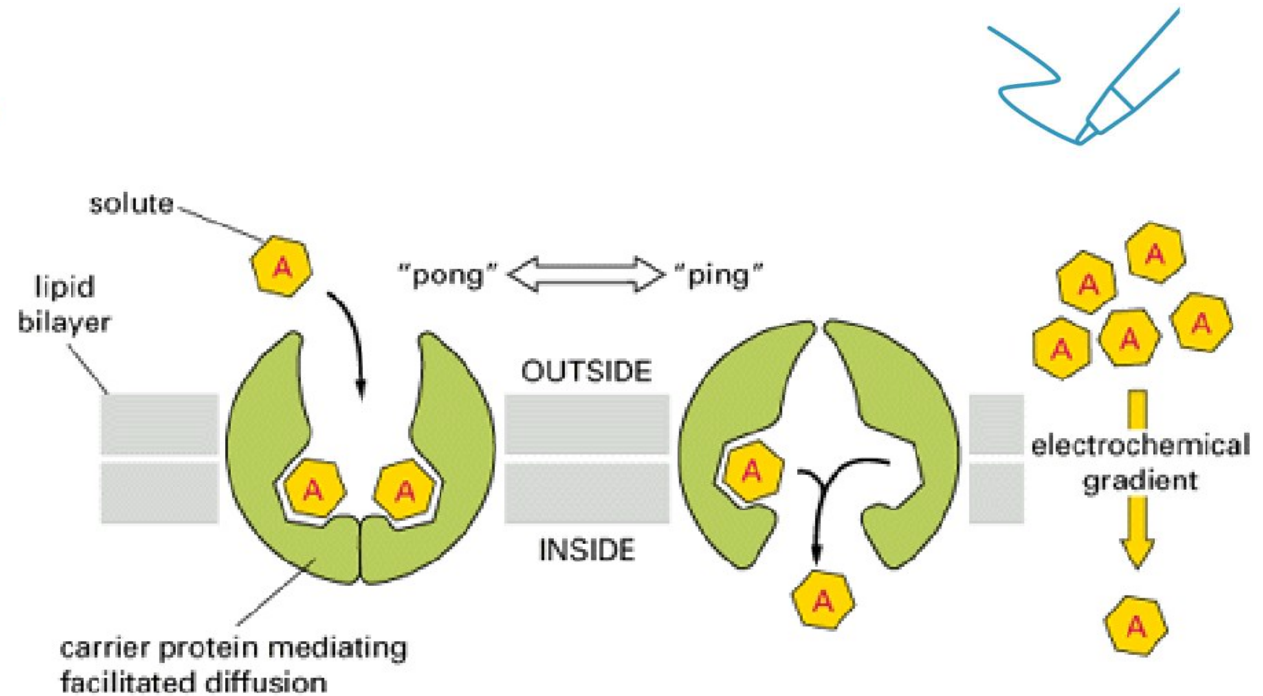


Fonctionnement de GLUT1 : modèle à soupape ou ping-pong (in Lodish)

4.1. La diffusion facilitée repose sur un mécanisme saturable

Généralisation

- Le transport facilité fait intervenir des **protéines** porteuses **transmembranaires**.
- Elles ont la particularité de **changer** spontanément de **conformation** permettant ainsi le passage de molécules d'un côté à l'autre de la membrane **selon** leurs **gradients** (électro)chimique.
- Elles sont **saturables**
- Il existe de nombreuses perméases qui sont toutes très **spécifiques** d'un ligand donné
 - site de reconnaissance spécifique
 - Fonctionnement similaire à celui des enzymes mais pas de transformation de la substance transportée
 - L'interaction est **réversible**



Modèle de fonctionnement en ping-pong d'une perméase

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeu de canaux ioniques

5.1. Aspect énergétique : un transport exergonique selon le gradient de potentiel électrochimique



- Il existe un lien entre énergie libre et **potentiel électrochimique (μ)**.
- C'est la **différence de potentiel électrochimique ($\Delta \tilde{\mu}$)** qui est informative

Equation de Nernst

Variation d'énergie libre (en J.mol^{-1}) $\leftarrow \Delta G^{\circ\prime}_{1 \rightarrow 2} = \Delta \tilde{\mu} = \tilde{\mu}_2 - \tilde{\mu}_1 = R.T.\ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right) + z.F.(\Delta E) \rightarrow \Delta E = E_2 - E_1 : \text{ddp membranaire (en V)}$

$\Delta G^{\circ\prime}$: Différence de potentiel électrochimique (en J.mol^{-1})
 $\tilde{\mu}_2 - \tilde{\mu}_1$: Différence de potentiel électrochimique (en J.mol^{-1})
 R : cte des gaz parfaits ($8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$)
 T : la température (en Kelvin)
 $\ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$: Rapport des concentrations de l'ion (en mol.L^{-1})
 z : charge de l'ion étudié (avec le signe + ou -)
 F : cte de Faraday ($96\,500 \text{ C.mol}^{-1}$)

- Si $\Delta G = 0 \rightarrow$ pas de déplacement \rightarrow **équilibre**
- Si $\Delta G < 0 \rightarrow$ déplacement spontané (qui libère de l'énergie) \rightarrow **diffusion**
- Si $\Delta G > 0 \rightarrow$ déplacement non spontané (qui nécessite un apport d'énergie)

canaux à Na^+ : entrée de Na^+ dans le sens du **gradient chimique** et du **gradient électrique** $\rightarrow \Delta G < 0$

canaux à K^+ : sortie de K^+ dans le sens du **gradient chimique** ($R T \ln (C_2/C_1) < 0$) et contre le **gradient électrique** ($z F \Delta V > 0$), mais $|R T \ln (C_2/C_1)| > |z F \Delta V| \rightarrow \Delta G < 0$.

5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeu de canaux ioniques

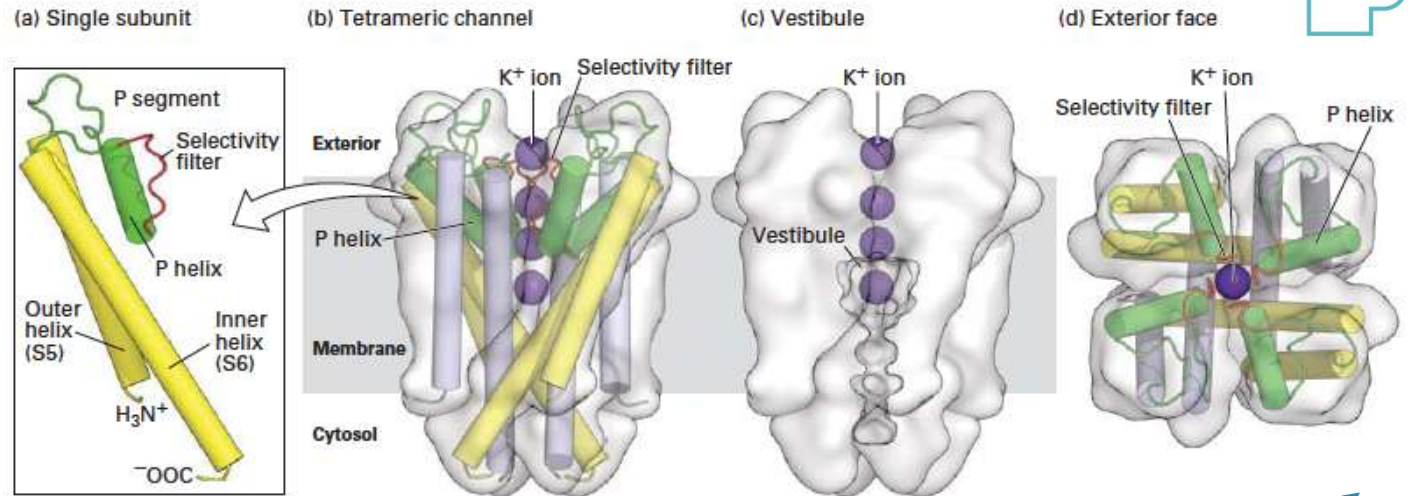
5.2. Un transport spécifique et non saturable



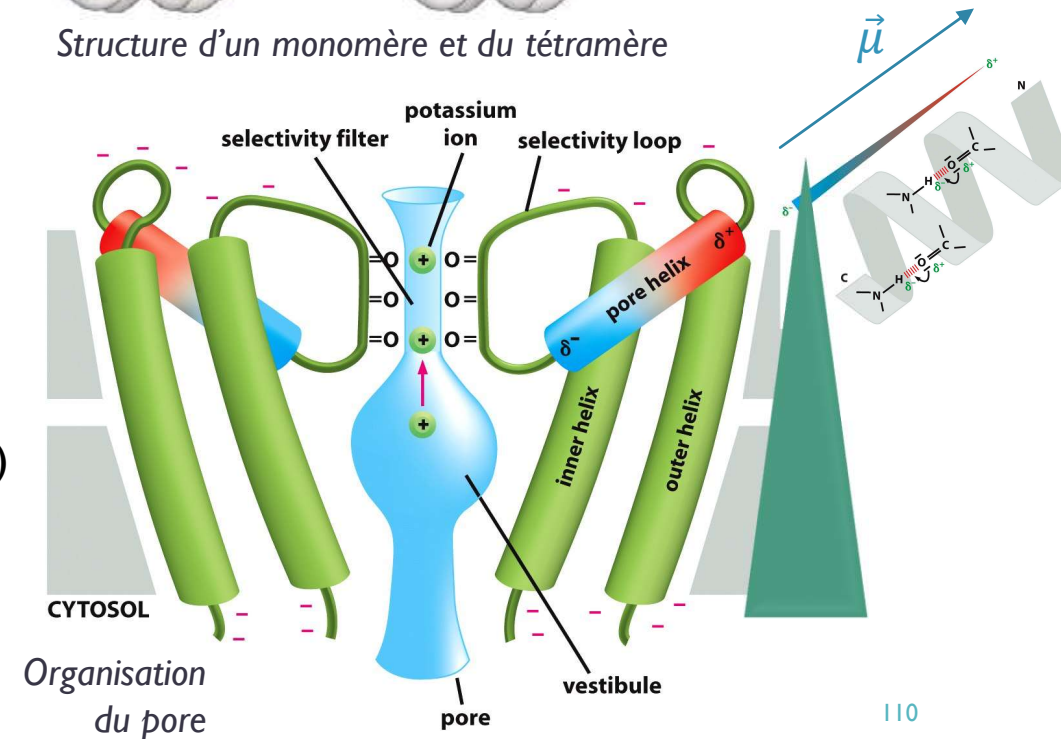
Canal K⁺ bactérien

Structure

- Le canal K⁺ bactérien est un **homotétramère**
- Chaque monomère est fait de 2 hélices alpha reliées par un **segment P** qui contribue à former le **pore**
- Le pore est fait de 2 parties :
 - **Vestibule** côté cytosol, assez large
 - Le **filtre de sélectivité** vers l'extérieur, étroit
 - ✓ définit par une séquence conservée (GYGVT)
 - ✓ Fait de 5 rangs de 4 atomes O (1 O/monomère)



Structure d'un monomère et du tétramère



→ Transport par diffusion facilitée

5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeu de canaux ioniques

5.2. Un transport spécifique et non saturable

Canal K⁺ bactérien

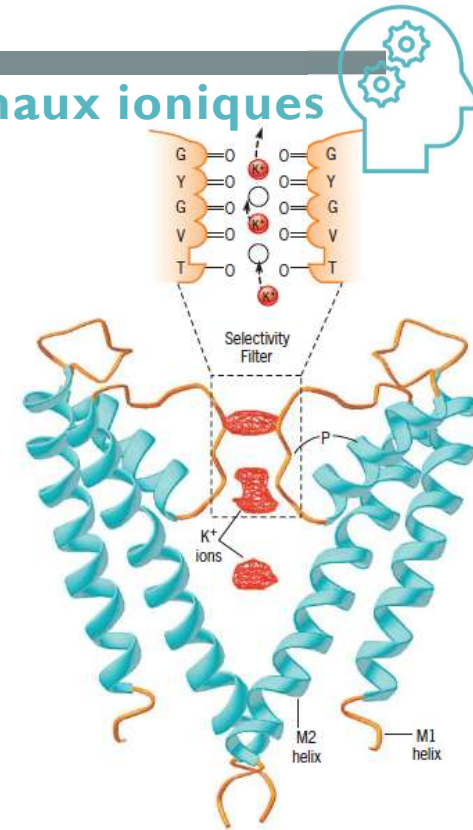
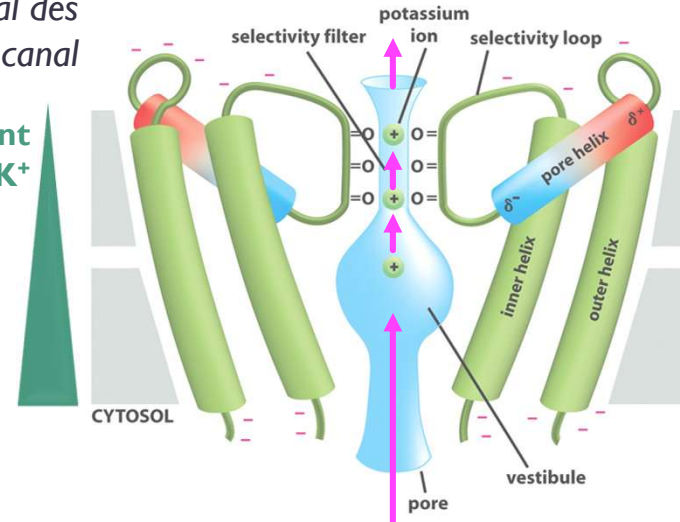
Fonctionnement

- Entrée de l'ion hydraté dans le pore jusqu'au **vestibule**
- Passage dans le **filtre de sélectivité** très étroit
 - déshydratation de l'ion K⁺
 - compensé par la stabilisation des K⁺ via liaisons faibles avec AA chargés (-) du filtre de sélectivité
 - 8 atomes O (à la place de l'eau) pour 1 ion K⁺
- Le canal est **imperméable à Na⁺**
 - Trop petit → non stabilisé par les AA

Vitesse de transport (conditions physiologiques) : 10⁷ - 10⁸ ions.s⁻¹

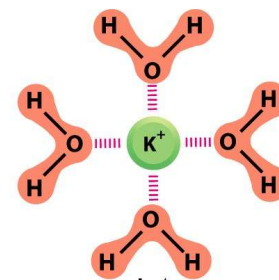
Mouvement global des ions dans le canal

Gradient K⁺

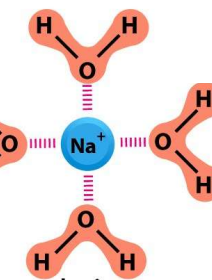


Passage des ions dans le filtre de sélectivité

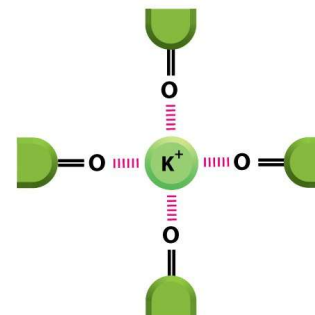
(A) ion in vestibule



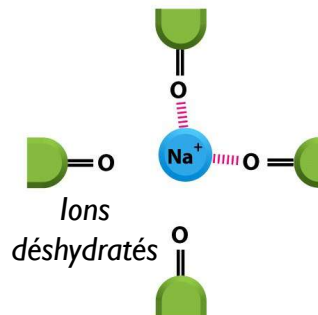
ions hydratés



(B) ion in selectivity filter



ions déshydratés



Sélection des cations par le filtre de sélectivité

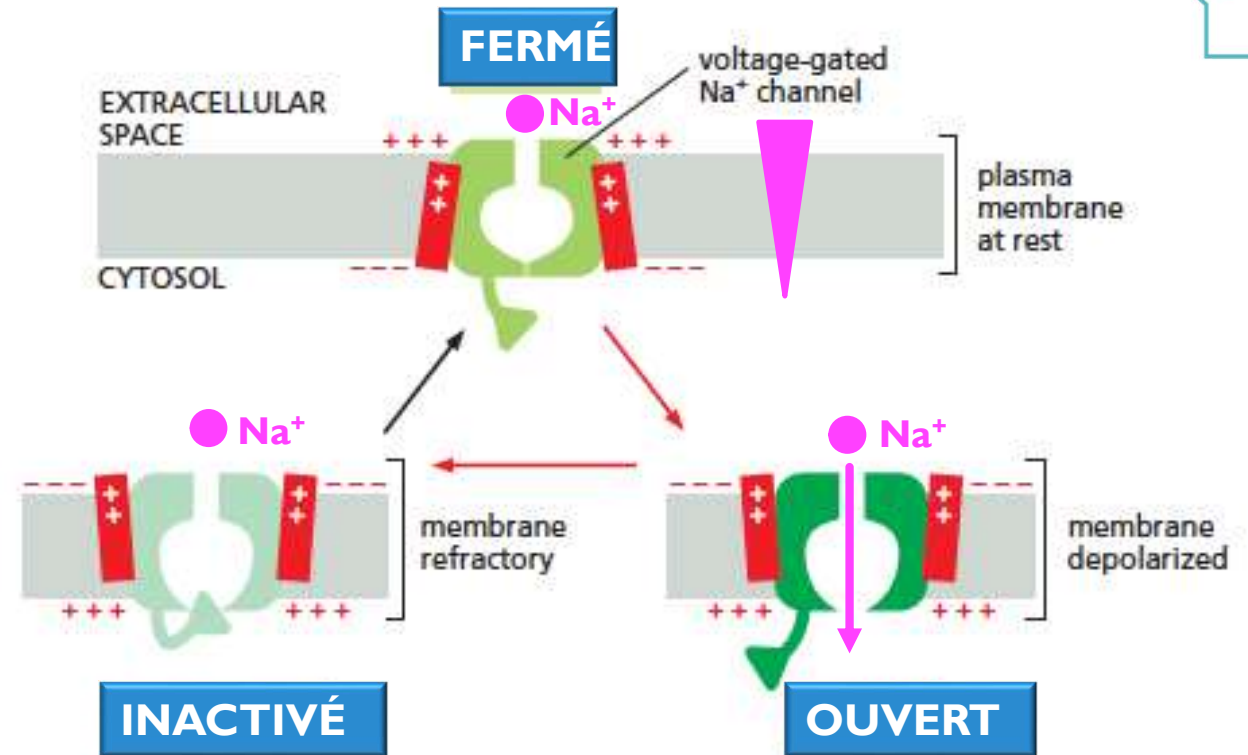
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeu de canaux ioniques

5.3. Un transport contrôlé ou non



Canal Na⁺ voltage-dépendant

- Le canal Na⁺ voltage dépendant existe sous **3 états (conformations)**
 - fermé
 - ouvert
 - inactivé
- Le canal s'ouvre uniquement s'il reçoit un **stimulus électrique** (dépolérisation membranaire)
 - Notion de **période réfractaire**



Contrôle de l'ouverture des canaux Na⁺ voltage-dépendants

→ Canal à ouverture
régulée par des signaux
électriques

5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeu de canaux ioniques

5.3. Un transport contrôlé ou non

Généralisation



- Les canaux ioniques définissent un **pore** au sein de la bicouche lipidique
→ **Diffusion facilitée, transport passif**

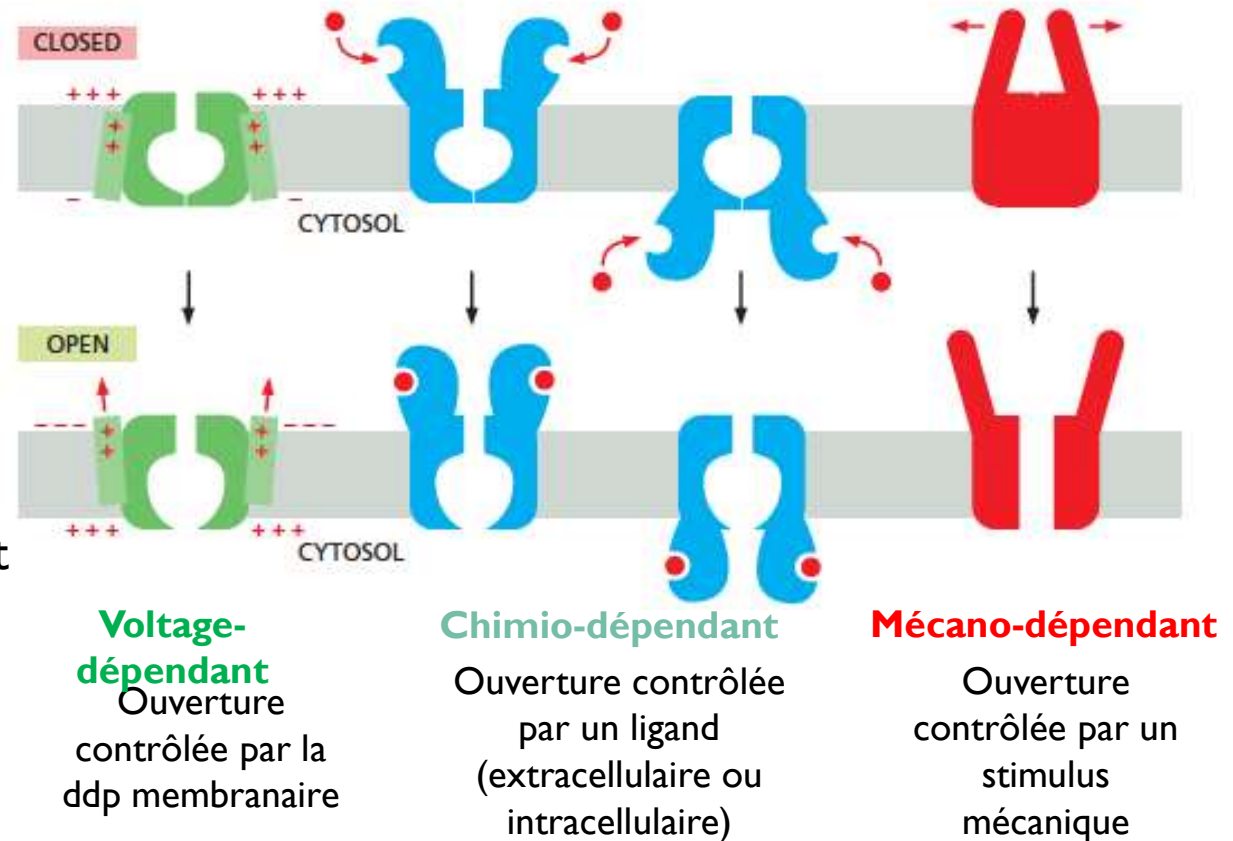
- Ils comprennent un **filtre de sélectivité**, plus étroit, qui permet de transporter **spécifiquement** un type d'ions
 - tri sur la taille des ions
 - Interactions avec des AA particuliers

- Certains canaux sont **ouverts en permanence**, d'autres canaux ont une **ouverture contrôlée** par un changement de conformation

- Voltage-dépendant
- Chimio-dépendant
- Mécano-dépendant

Structure générale d'un canal ionique

Bicouche lipidique



Types de canaux ioniques à ouverture contrôlée

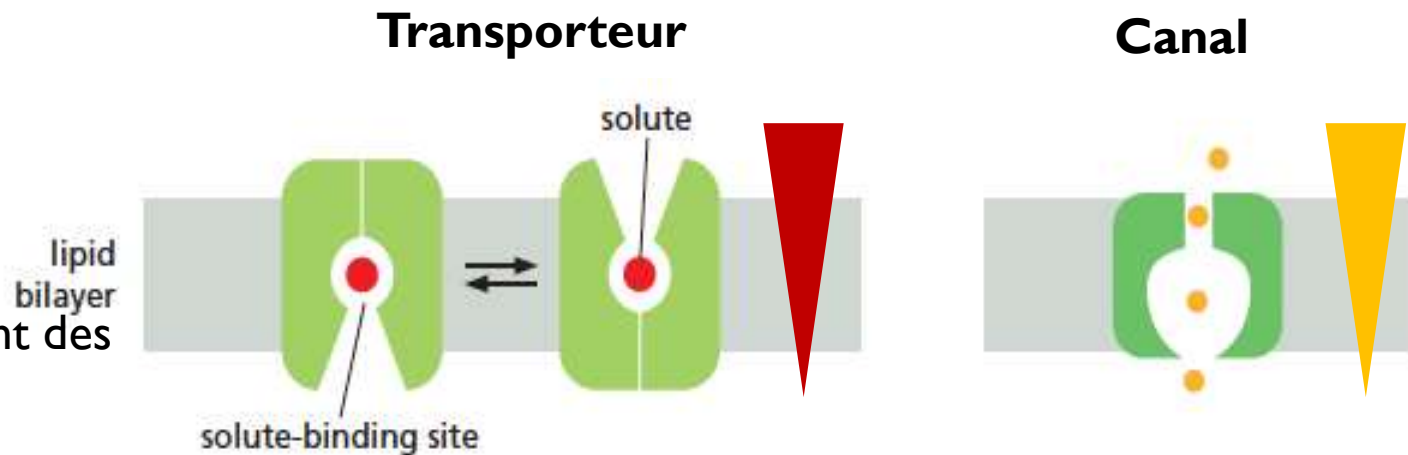
II. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES CONCERNENT LES PETITES MOLÉCULES

A. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES PASSIFS SONT SPONTANÉS = EXERGONIQUES



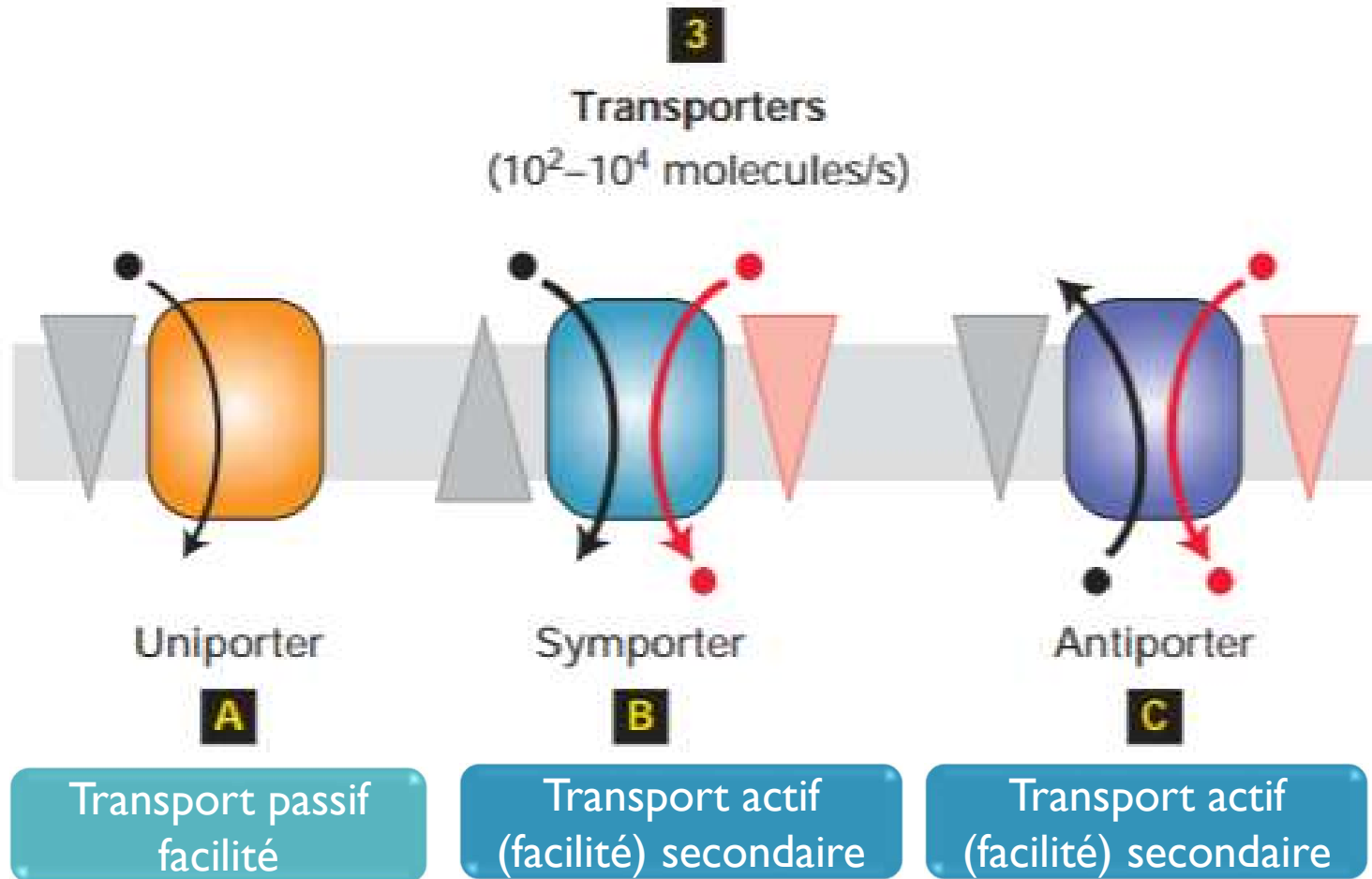
BILAN

- Le transport par **diffusion facilitée** se fait selon le **gradient de concentration** de la molécule transportée
 - transport passif
- Il repose sur des **protéines transmembranaires** qui forment des **pores** à l'intérieur de la bicouche lipidique
- On distingue 2 grands types de transporteurs :
 - Les **canaux à ouverture +/- contrôlée, non saturables**
 - ✓ *Transport d'ions*
 - Les **perméases** qui changent de conformation, **saturables**
 - ✓ *Transport de molécules neutres (ex: glucose)*



Deux types de protéines transmembranaires assurant le transport facilité de molécules dans la membrane

TRANSITION



Trois types de transport : uniport, antiport, symport (Lodish, 2008)

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

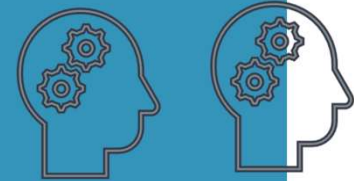
1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

B. LES ÉCHANGES TRANSMEMBRANAIRES ACTIFS NÉCESSITENT DE L'ÉNERGIE (ENDERGONIQUES)

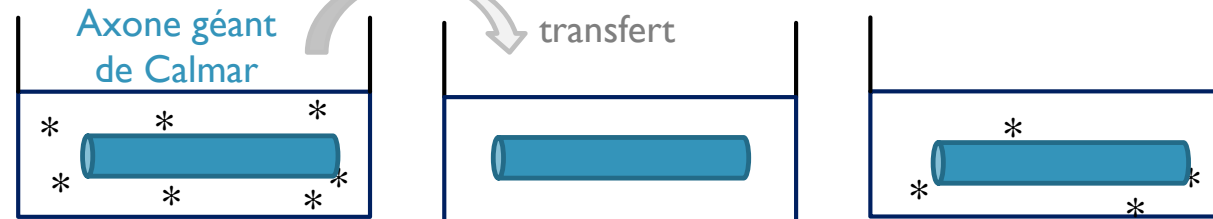
I. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'atp
 I.1. Etude de la pompe Na⁺/K⁺ (spécifique des animaux)
 mise en évidence expérimentale : Hodgkin et Keynes (1955)



Expériences de Hodgkin et Keynes (1955)

Résultats expérimentaux : Mesure de l'efflux de Na⁺ radioactif hors de l'axone

Dispositif expérimental



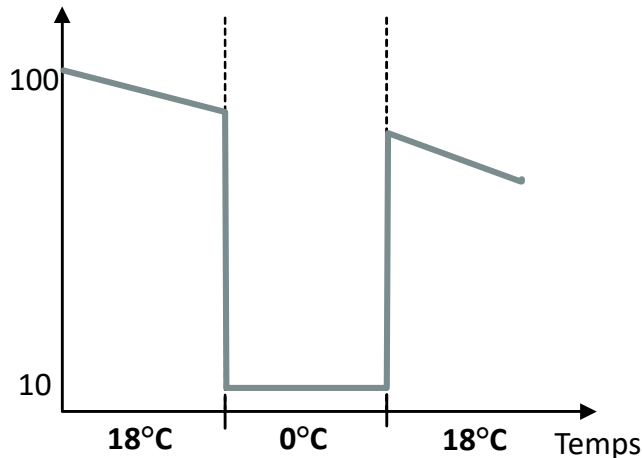
T₀: Incubation dans du liquide de Ringer contenant du Na⁺ radioactif

T₁: Transfert dans du liquide de Ringer froid

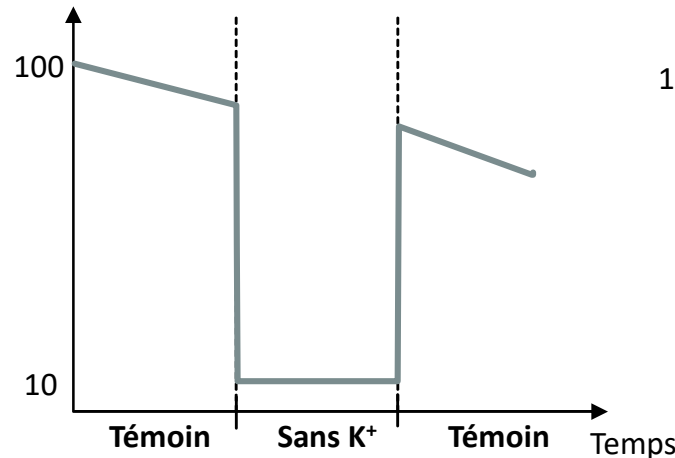
T₂: le liquide de Ringer devient radioactif

Efflux de Na⁺ radioactif en cpm (coup par min)

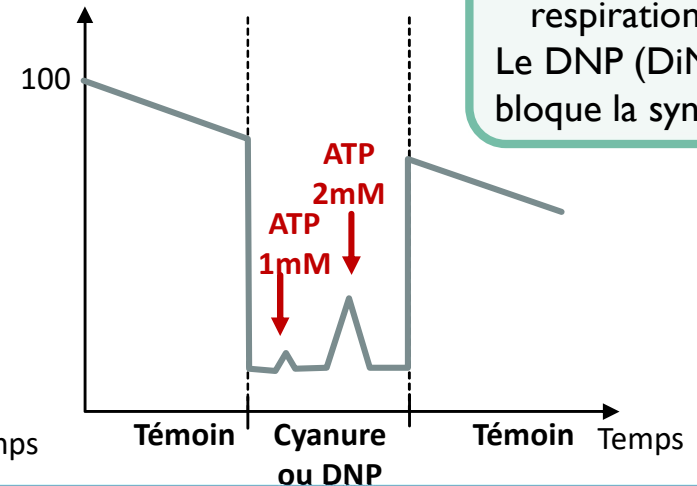
1



2



3



Le cyanure bloque la respiration cellulaire. Le DNP (DiNitroPhénol) bloque la synthèse d'ATP.

→ Le transport de Na⁺ est dépendant de la température, de K⁺ et nécessite de l'énergie (transport actif)

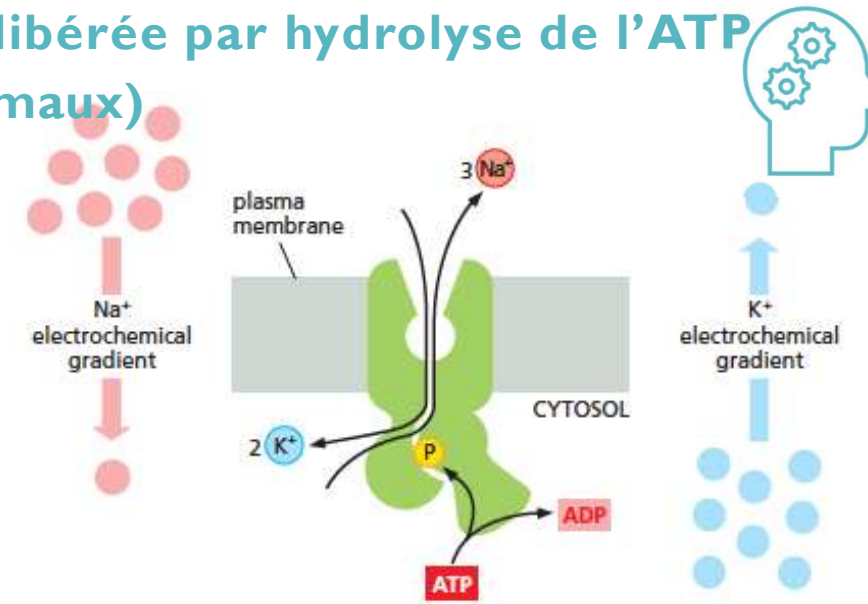
I. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP

I.1. Etude de la pompe Na⁺/K⁺ (spécifique des animaux)

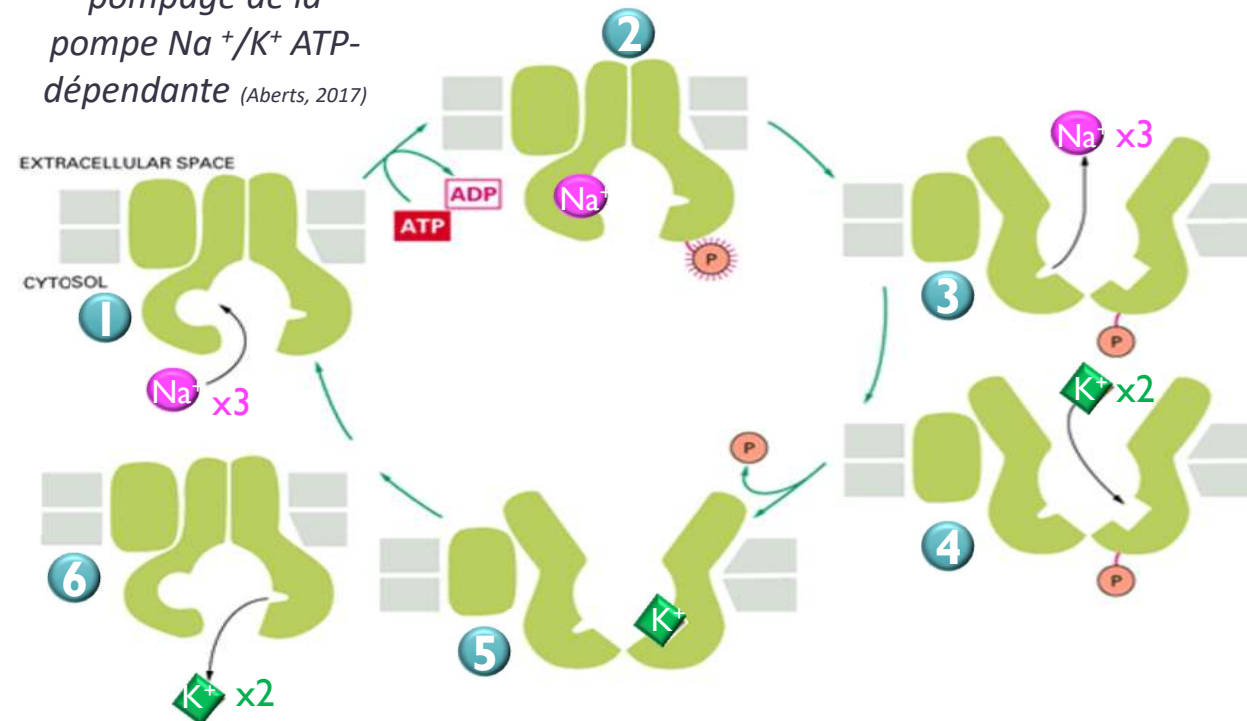
Fonctionnement

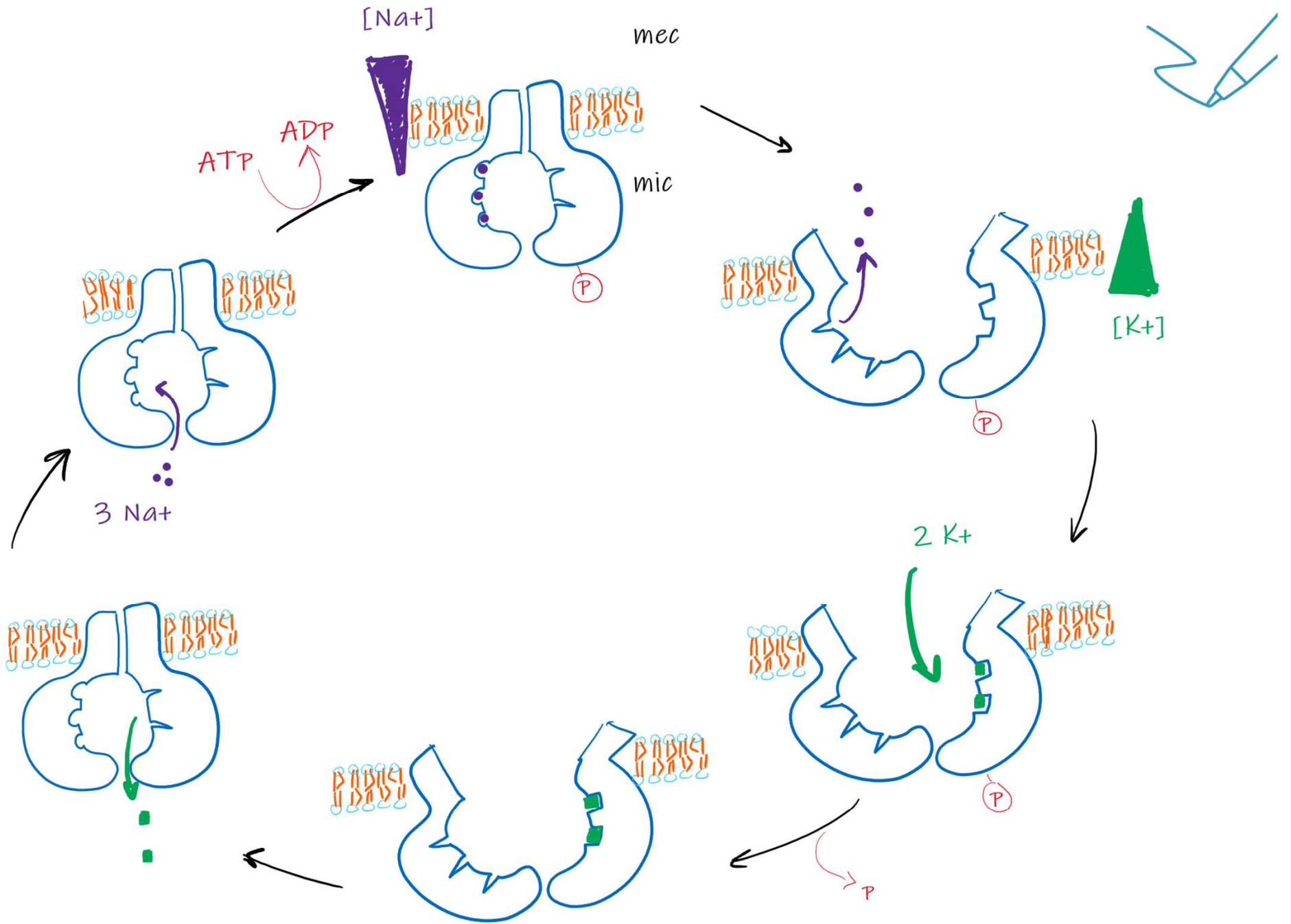
- La pompe Na⁺/K⁺ transporte **Na⁺ (x3)** et **K⁺ (x2)** à l'encontre de leurs gradients électrochimiques → **Transport non spontané, actif**
- L'énergie requise provient de l'**hydrolyse de l'ATP**
- Cycle de pompage de la pompe Na⁺-K⁺ ATP-dépendante

1. Fixation de 3 Na⁺
2. Phosphorylation de la pompe → changement de conformation → libération de 3 Na⁺
3. Fixation de 2 K⁺
4. Déphosphorylation de E2 → changement de conformation → entrée de 2 K⁺



Modèle du cycle de pompage de la pompe Na⁺/K⁺ ATP-dépendante (Aberts, 2017)





Modèle du cycle de pompage de la pompe Na/K ATP dépendante

I. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP

I.1. Etude de la pompe Na⁺/K⁺ (spécifique des animaux)

Rôle biologique

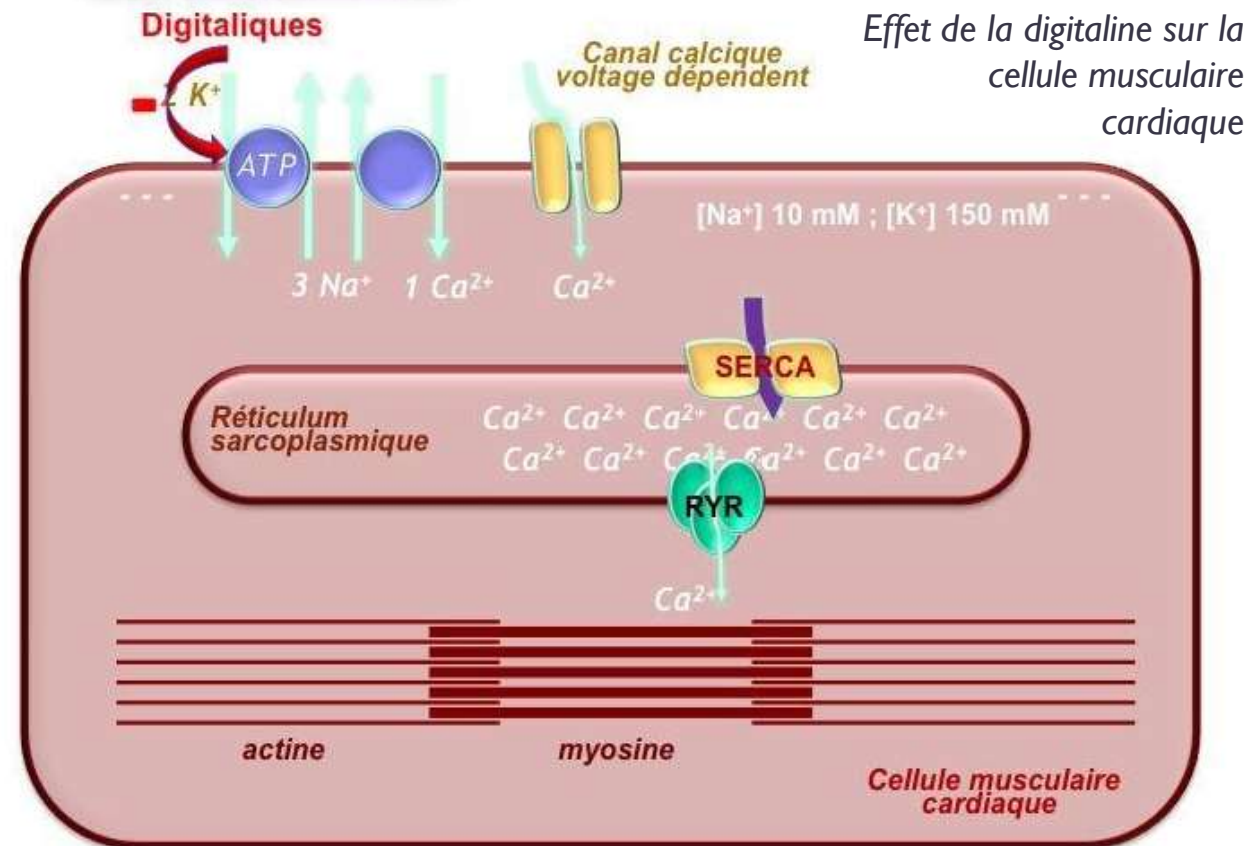
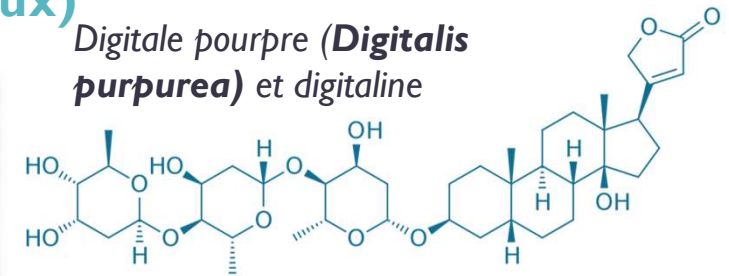
- Rôle central dans la **mise en place** et le **maintien** du **potentiel de membrane** (ou de repos) des cellules animales :

- La pompe Na⁺/K⁺ est **électrogénique** (sortie de 3 Na⁺ pour l'entrée de 2 K⁺ → ddp)
- Elle **entretient** des **gradients** de Na⁺ et K⁺ qui représentent une **source d'énergie** pour les transports actifs secondaires

- Inhibition par les stéroïdes glycosides cardiotoniques (digitaline, ouabaïne)
 - Effet toxique (hyperkaliémie)
 - Médicament (ex: insuffisance cardiaque)



Digitale pourpre (**Digitalis purpurea**) et digitaline



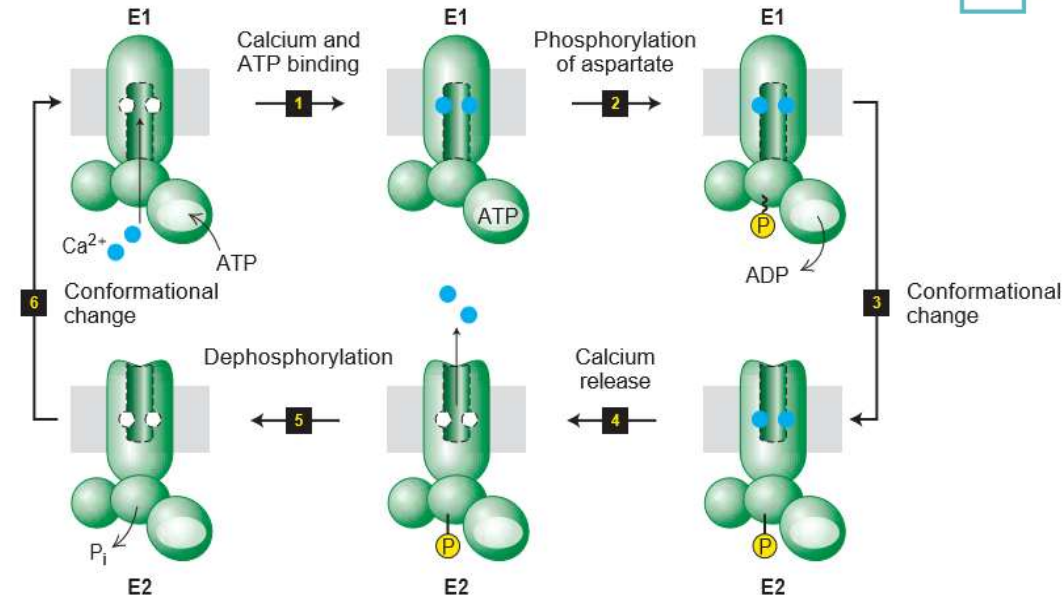
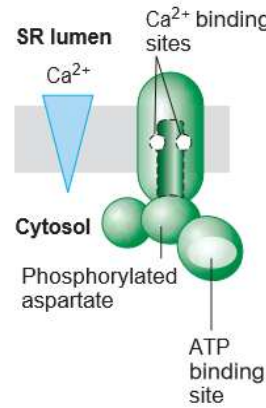
I. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP

I.2. Il existe d'autres pompes membranaires

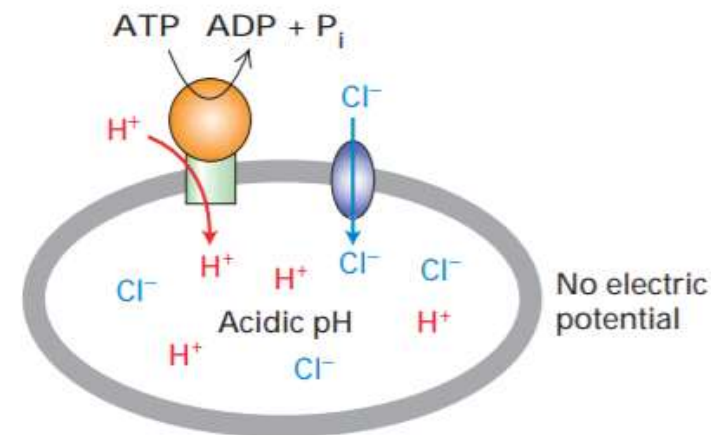


Autres pompes

- Pompe Ca^{2+} de la membrane du RE**
 - Pompage du Ca^{2+} cytosolique vers le RE
 - Maintien de $[\text{Ca}^{2+}]$ faible \rightarrow important pour son rôle de 2nd messager
- Pompe à protons (H^+) des végétaux**
 - Equivalente à la pompe Na^+/K^+ des animaux : électrogénique et génératrice de gradients de H^+
- Pompes à protons des chloroplastes et mitochondries**
 - couplées à des réactions rédox et non à l'hydrolyse d'ATP
- Pompes à protons de lysosomes ou pompe H^+/K^+ de la muqueuse gastrique \rightarrow pH acide**



Fonctionnement de la pompe Ca^{2+} ATP-dépendante



Génération d'un pH acide dans un compartiment électriquement neutre par une pompe à proton couplée à un canal à Cl^-

I. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP

I.3. Bilan

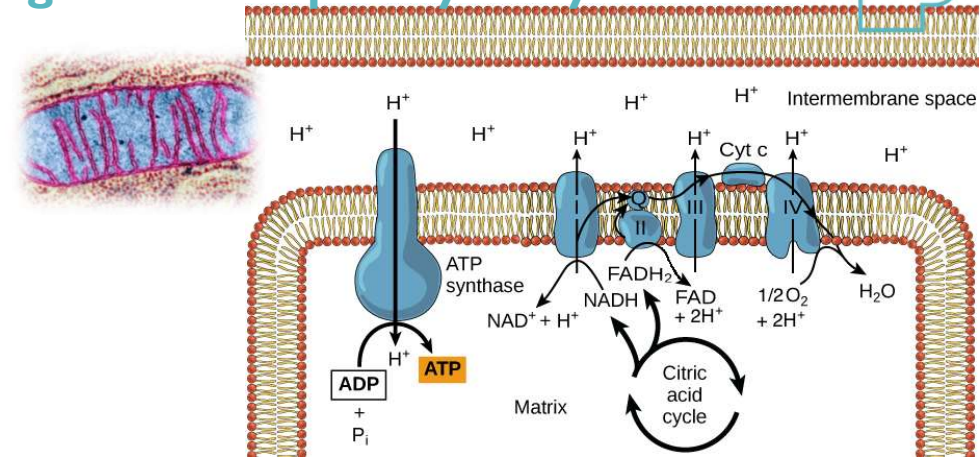
- Les pompes **utilisent l'énergie** libérée par l'hydrolyse de l'ATP ou par des réactions rédox pour transporter des ions à l'**encontre** de leurs **gradients** électrochimiques

- transport non spontané = **transport actif**
- **Couplage chimio-osmotique**

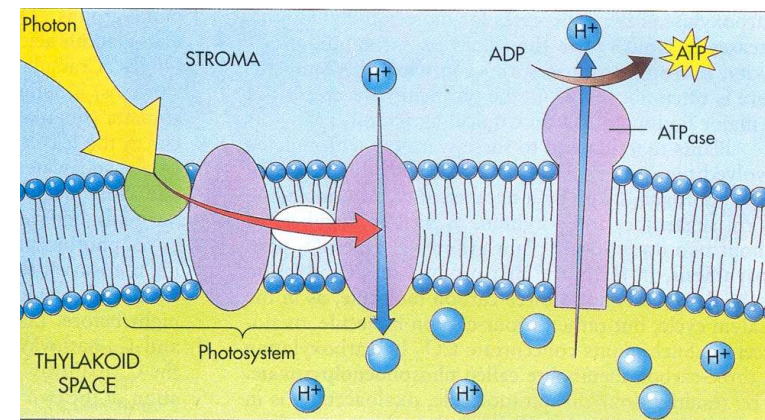
- Elles génèrent et maintiennent ainsi des gradients électrochimiques qui représentent une **énergie potentielle**

- Cette énergie potentielle des gradients peut être utilisées de 2 façons :
 - Synthèse d'ATP (couplage osmo-chimique)
 - Transports actifs secondaires (couplage osmo-osmotique)

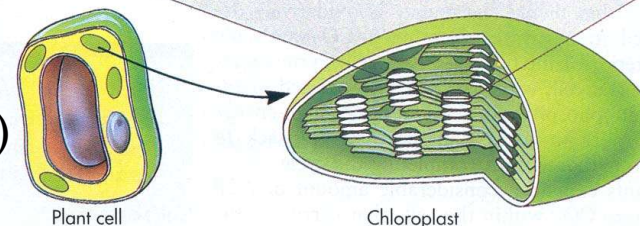
- Cette énergie potentielle est libérée lorsque les ions retraversent la membrane (via des canaux, transporteurs...)



ATP synthase des mitochondries (couplage osmo-chimique)



ATP synthase des chloroplastes (couplage osmo-chimique)



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

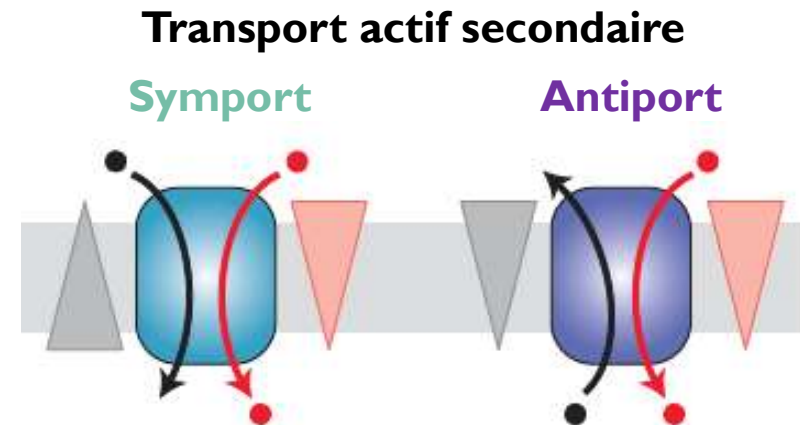
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

2.1. Etude de la pénétration du glucose dans l'entérocyte



Généralités

- Les **transporteurs actifs secondaires** permettent le **transport simultané** de 2 molécules
 - une molécule selon son gradient (électro-)chimique → libération d'énergie
 - L'autre molécule à l'encontre de son gradient (électro-)chimique → consommation d'énergie
 - **couplage osmo-osmotique**
 - **Co-transport**
- Deux types de co-transport :
 - **Symport** (=transport dans le même sens)
 - **Antiport** (=transport en sens opposé)



Deux types de transports actifs secondaires (co-transports)

Transport la **molécule rouge** → libération d'énergie
+ Transport de la molécule noir → consommation d'énergie
= COUPLAGE **OSMO-OSMOTIQUE**

Exemples :

- Symports Na⁺/glucose et Na⁺/AA des entérocytes
- Antiports H⁺/ions de la vacuole des végétaux

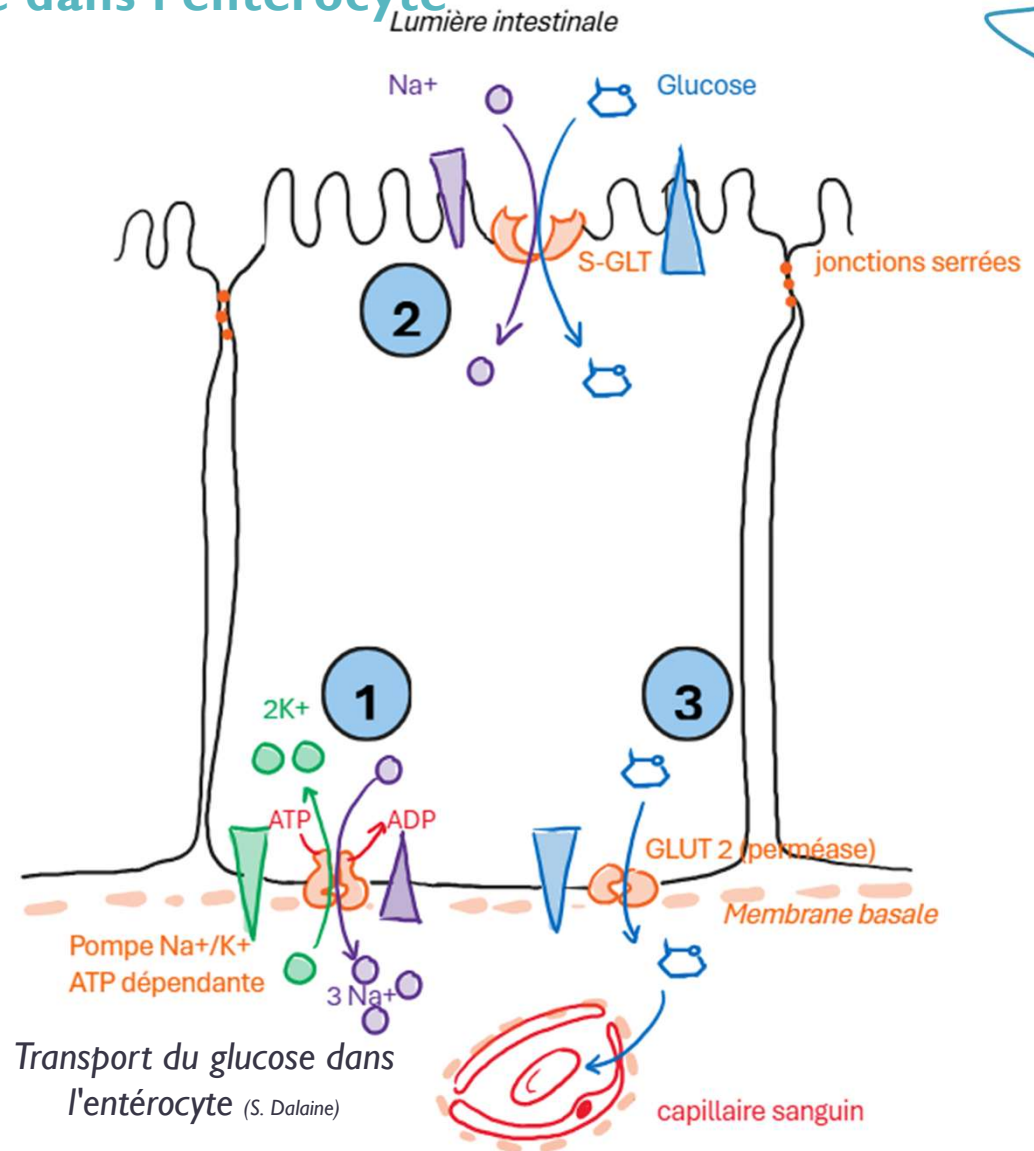
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

2.1. Etude de la pénétration du glucose dans l'entérocyte

Un exemple intégré

- L'absorption du glucose au niveau des entérocytes (cellules épithéliales de l'intestin grêle) fait intervenir :

- ① La pompe Na^+/K^+ ATP-dépendante
Transport actif primaire : génération d'un gradient de Na^+
- ② Un symport glucose/ Na^+ (S-GLT = Sodium-dépendant GLT)
Transport actif secondaire : utilisation du gradient de Na^+ pour transporter le glucose contre son gradient
- ③ Une perméase (GLUT)
→ **Transport passif facilité**



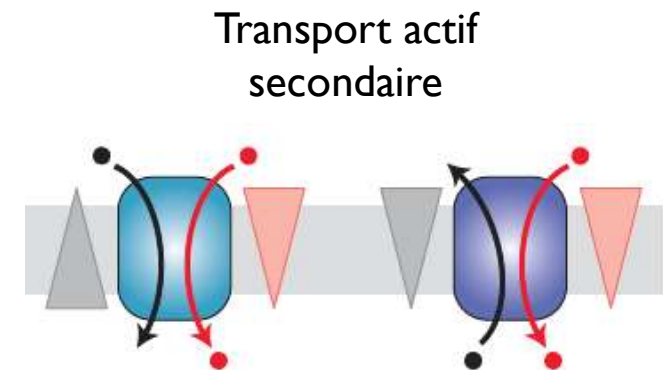
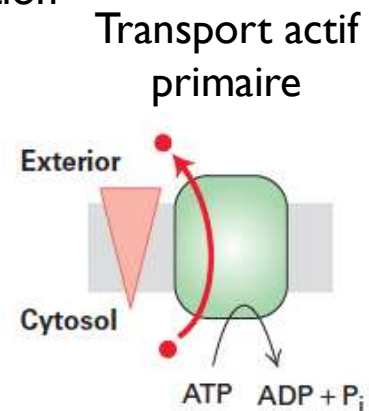
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

2.1. Etude de la pénétration du glucose dans l'entérocyte



BILAN

- Les **transporteurs actifs** assurent le transport de molécules **à l'encontre** de leurs **gradients** (électro)chimiques en consommant de l'énergie :
 - Énergie issue de **l'hydrolyse de l'ATP** ou de réaction rédox (cf SV-E)
 - ➔ Transport **actif primaire**
 - ➔ **Couplage chimio-osmotique**
 - **Énergie potentielle** contenue dans un **gradient** (électro)chimique
 - ➔ Transport **actif secondaire**



- On parle de **couplage énergétique**
 - Transport **actif primaire** : **couplage chimio-osmotique** **pompe** ou **photo-osmotique**
 - Transport **actif secondaire** : couplage **osmo-osmotique**

- Ils sont **saturables**

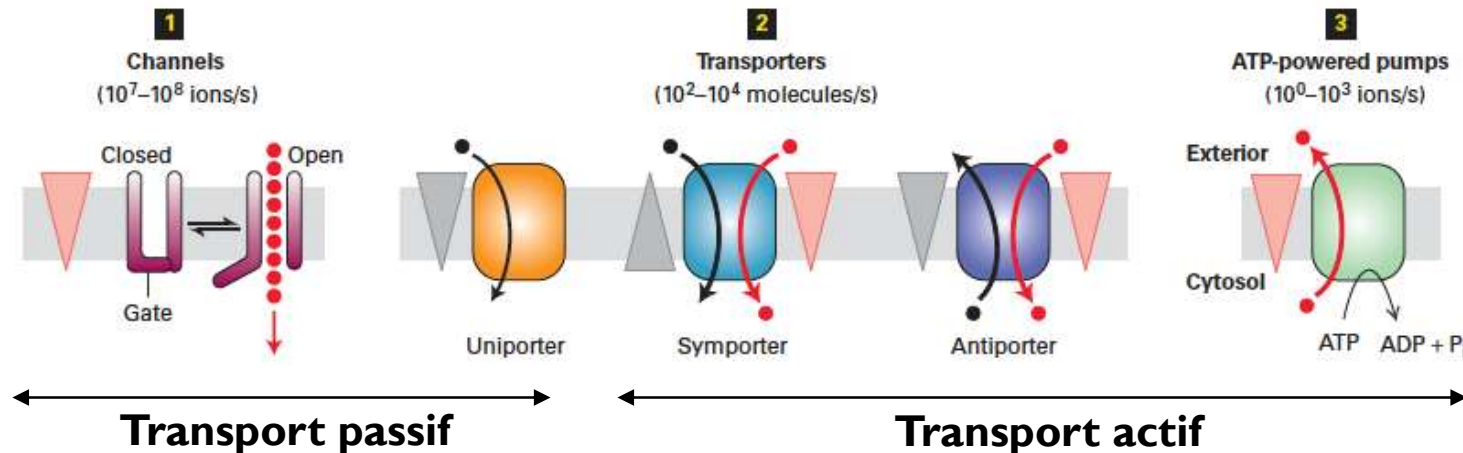
- cinétique avec un plateau de saturation (hyperbole) comparable à celle des perméases



BILAN SUR LES TRANSPORTS PASSIFS ET ACTIFS

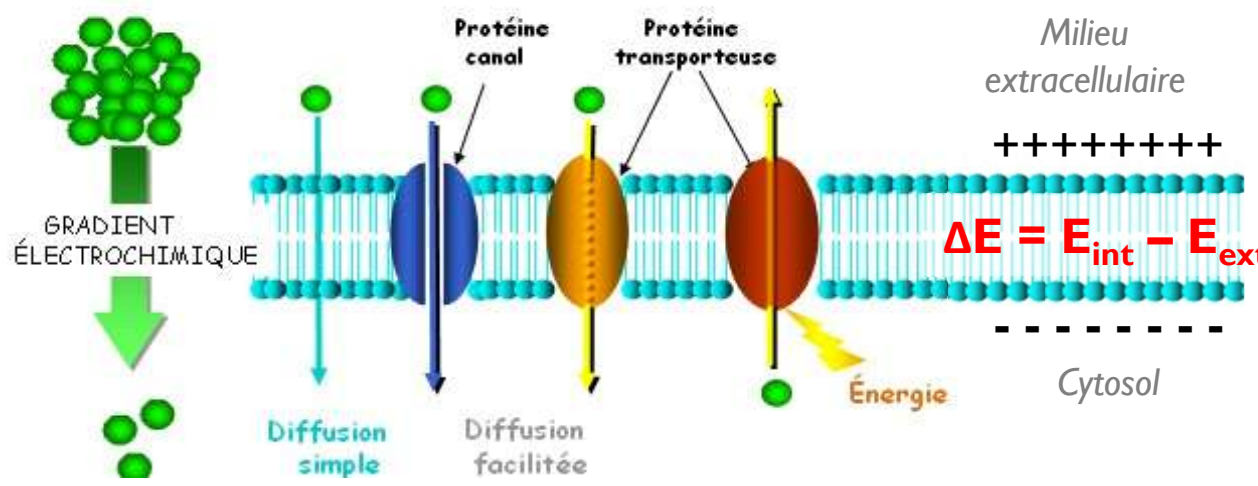
<p>Transports passifs, ne nécessitant pas d'énergie (loi de Fick) $\Delta G' < 0$</p>	<p>Diffusion simple</p> <p>Diffusion facilitée par un canal</p> <p>Diffusion facilitée par un transporteur (perméase)</p>	<p>Eau (osmose) O_2, CO_2, glycérol Eau (osmose par AQP) Ions Glucose (perméase)</p>
<p>Transports actifs, nécessitant un couplage (énergie de réaction ou énergie potentielle de gradient) $\Delta G' > 0$</p>	<p>Transport actif primaire (couplage chimio-osmotique)</p> <p>Transport actif secondaire (couplage osmo-osmotique)</p>	<p>Pompe Na^+/K^+ ATP dépendante Pompe Ca^{2+} ATP dépendante Pompe H^+ ATP dépendante Symport Na^+/Glucose ou Na^+/AA Symport H^+/AA (bactéries)</p>

Modes de transports individuels transmembranaires



INTRODUCTION

- Les membranes sont des bicouches lipidiques contenant de nombreuses protéines enchâssées.
- Les **bicouches lipidiques** sont **imperméables** aux ions.
- En revanche, les membranes **biologiques** peuvent être **perméables** aux ions grâce à certaines **protéines transmembranaires** :
 - Canaux
 - Pompes
- D'autre part, les membranes biologiques présentent une **différence de potentiel (ddp) membranaire**.



D'où provient cette ddp membranaire ? Quel lien avec le transport d'ions ?

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire



INTRODUCTION

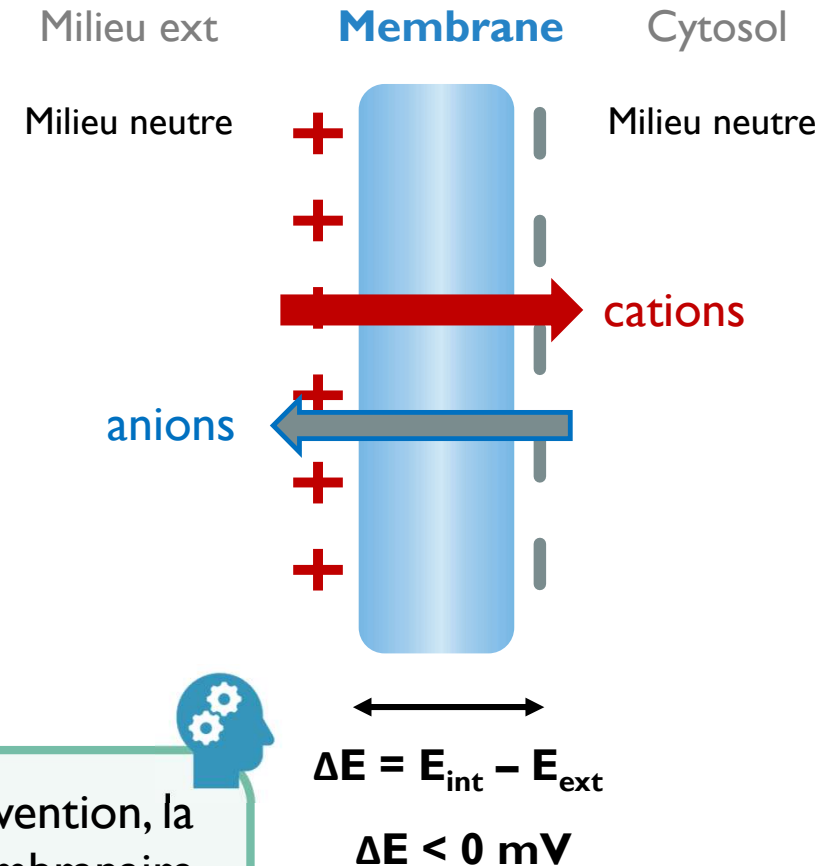
- Le **transport** transmembranaire d'un **ion** via un **canal** se fait par **diffusion facilitée**.
- Ce déplacement se fait selon le gradient électrochimique de l'ion ($\Delta\tilde{\mu}$), qui comprend 2 composantes :

$$\Delta \tilde{\mu}_{1 \rightarrow 2} = \underbrace{R.T.\ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right)}_{\text{Énergie potentielle chimique}} + \underbrace{z.F.(\Delta E)}_{\text{Énergie potentielle électrique}}$$

- Du fait de la ddp membranaire la **composante électrique de $\Delta\tilde{\mu}$** favorise :
 - ✓ L'entrée des cations
 - ✓ La sortie des anions

Par convention, la ddp membranaire est exprimée par :

$$\Delta E = E_{\text{int}} - E_{\text{ext}}$$



D'où provient cette ddp membranaire ? Quel lien avec le transport d'ions ?

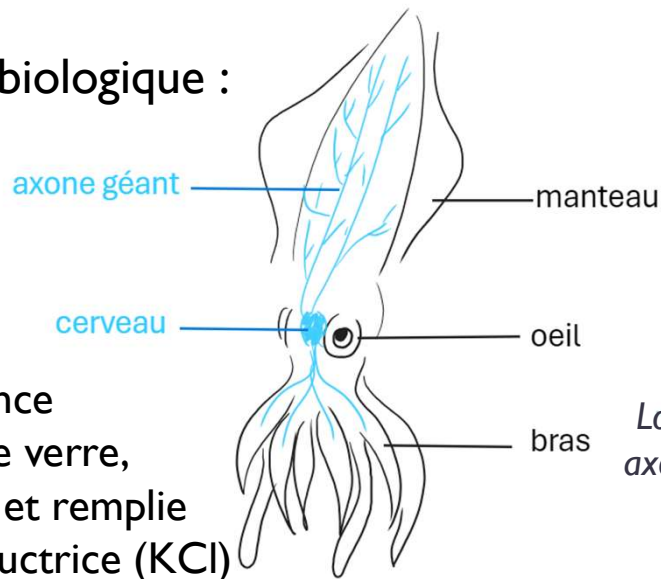


C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

I. Mise en évidence d'une ddp transmembranaire

I.1. Dispositif expérimental

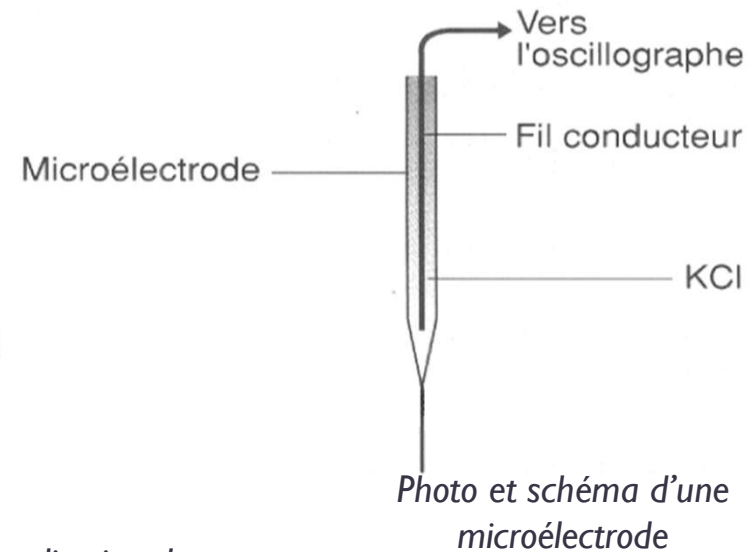
- Modèle de membrane biologique : axone géant de calmar



Le Calmar

- Appareil de mesure :

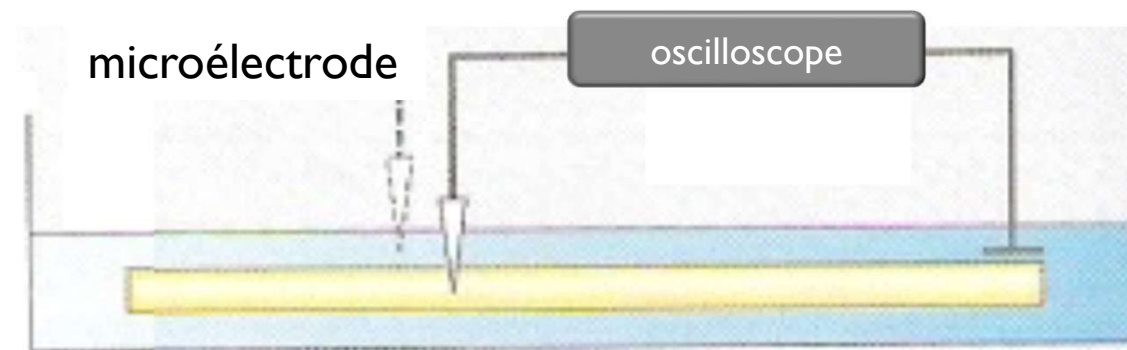
- Oscilloscope
- Electrode de référence
- **Microélectrode** de verre, étirée ($\varnothing = 0,5 \mu\text{m}$) et remplie d'une solution conductrice (KCl)



Localisation des axones géants de calmar

- Procédure :

- La microélectrode est introduite à l'intérieur de la cellule
- L'électrode de référence reste à la surface
- Mesure de la ddp entre les 2 électrodes par oscilloscope



Dispositif de mesure de ddp membranaire 131

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

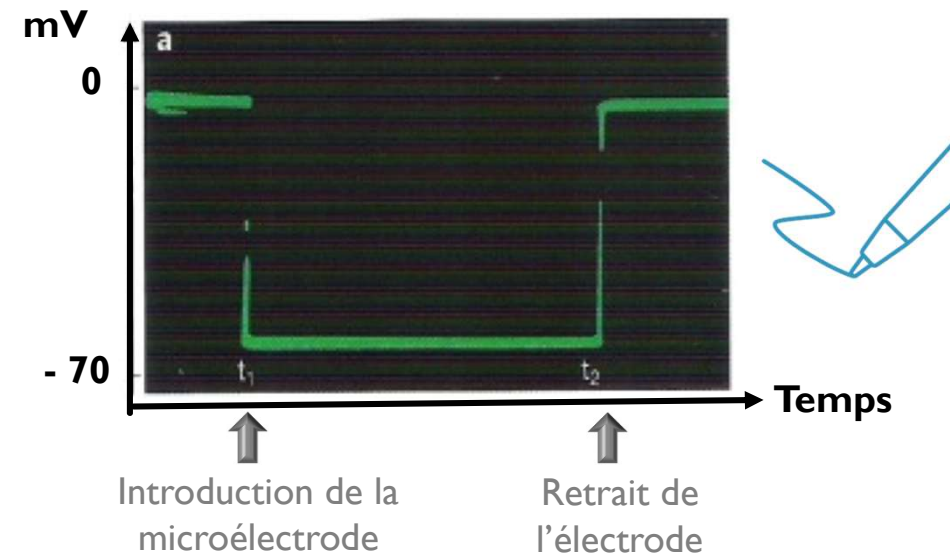
I. Mise en évidence d'une ddp transmembranaire

I.2. Résultats

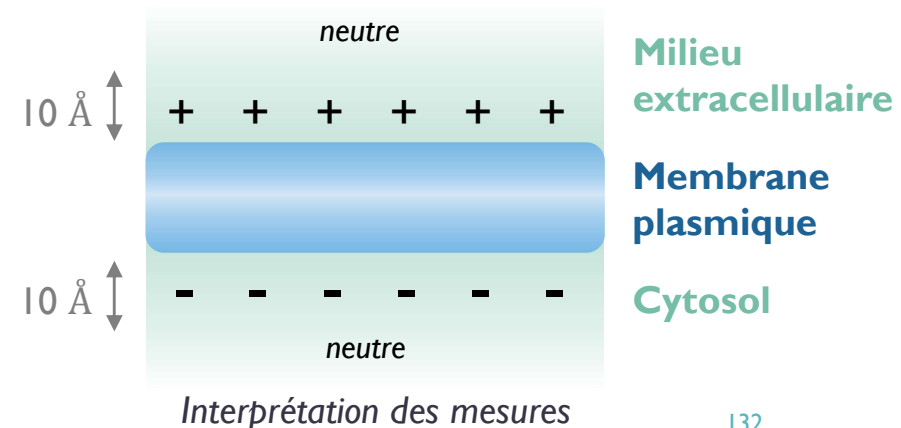
- Il existe une **ddp** entre la face interne et externe de la membrane plasmique, de **valeur négative**.
 - Soit excès de charges (-) à l'intérieur
 - Soit excès de charges (+) à l'extérieur
- Cette ddp existe pour **toutes les cellules vivantes** mais **valeur variable** selon le type de cellule.
- La ddp ne concerne que les abords de la membrane ($\sim 10 \text{ \AA}$)
- Le **cytosol** et **milieu** extracellulaire sont électriquement **neutres**.

Pour toutes les cellules vivantes, il existe une différence de potentiel de membrane (ou de repos).

Comment expliquer cette ddp ?



Oscillogramme : mesure de la ddp membranaire



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

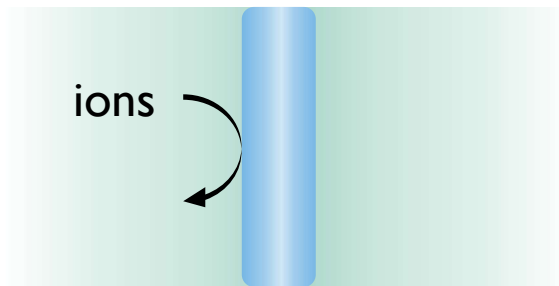


C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

2. Étude expérimentale de la ddp

2.1. Effet de la perméabilité aux ions

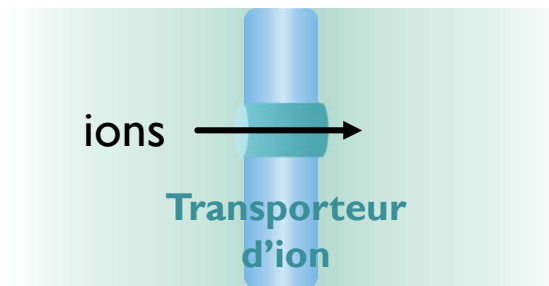
Bicouche lipidique



~~ddp~~

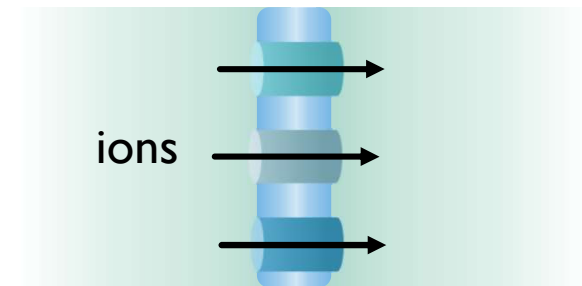
Membrane artificielle :

bicouche lipidique +
transporteur d'ions



ddp
(dans certaines circonstances)

Membrane biologique



ddp
(dans cellules vivantes)

→ Les **bicouches lipidiques** sont **isolantes** car elles ne peuvent laisser passer les ions

→ Les **membranes** artificielles et biologiques sont **conductrices** car elles laissent passer les ions

→ **Une ddp n'est possible que si la membrane est perméable à des ions**

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

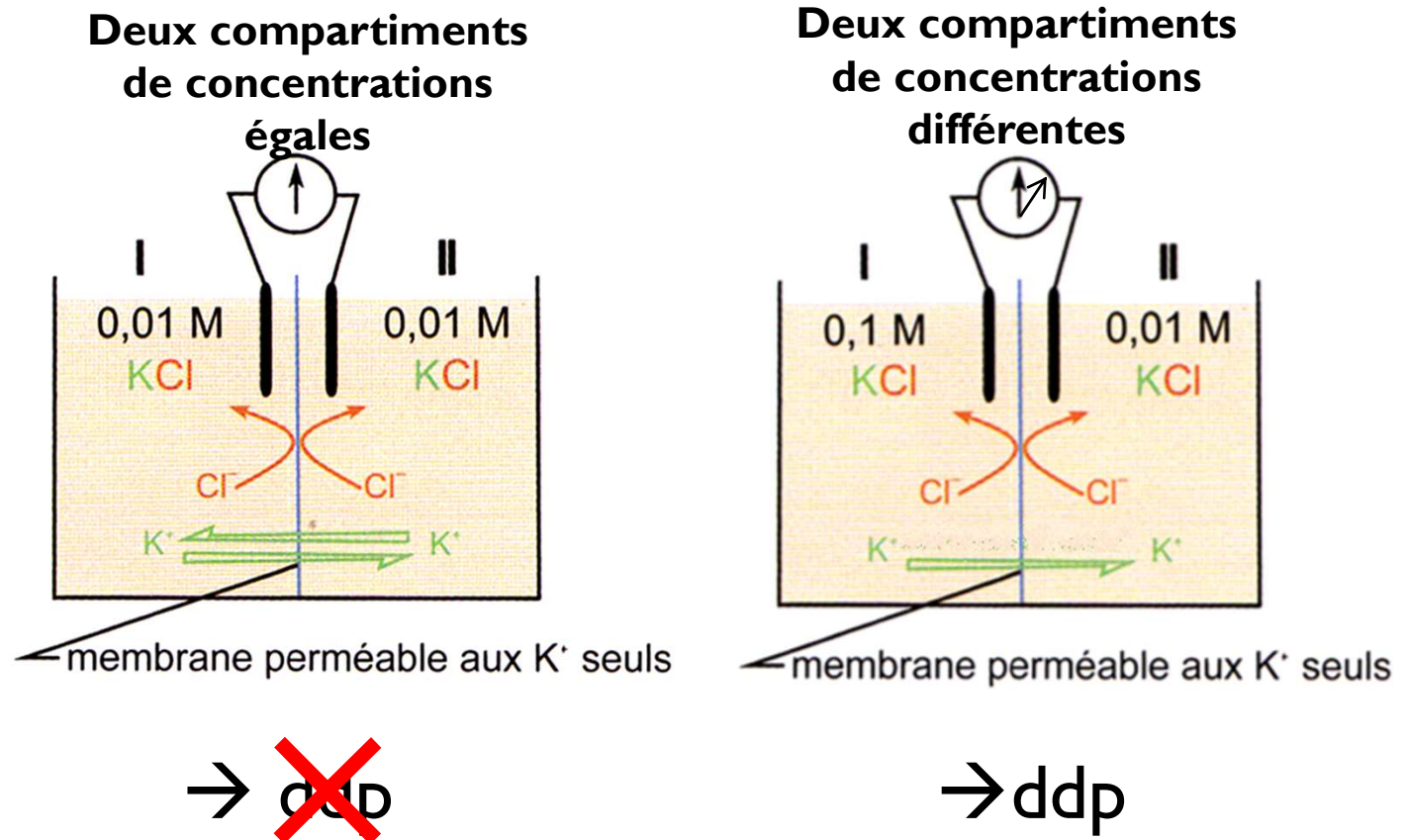


2. Étude expérimentale de la ddp

2.1. Effet de la perméabilité aux ions

Dispositif expérimental :

- Deux compartiments séparés par une **membrane perméable à un seul ion (K^+)**
- On fait varier la $[K^+]$ de part et d'autre de la membrane.
- Mesure de la ddp membranaire



→ Une ddp apparaît s'il existe une différence de concentration de part et d'autre de la membrane

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

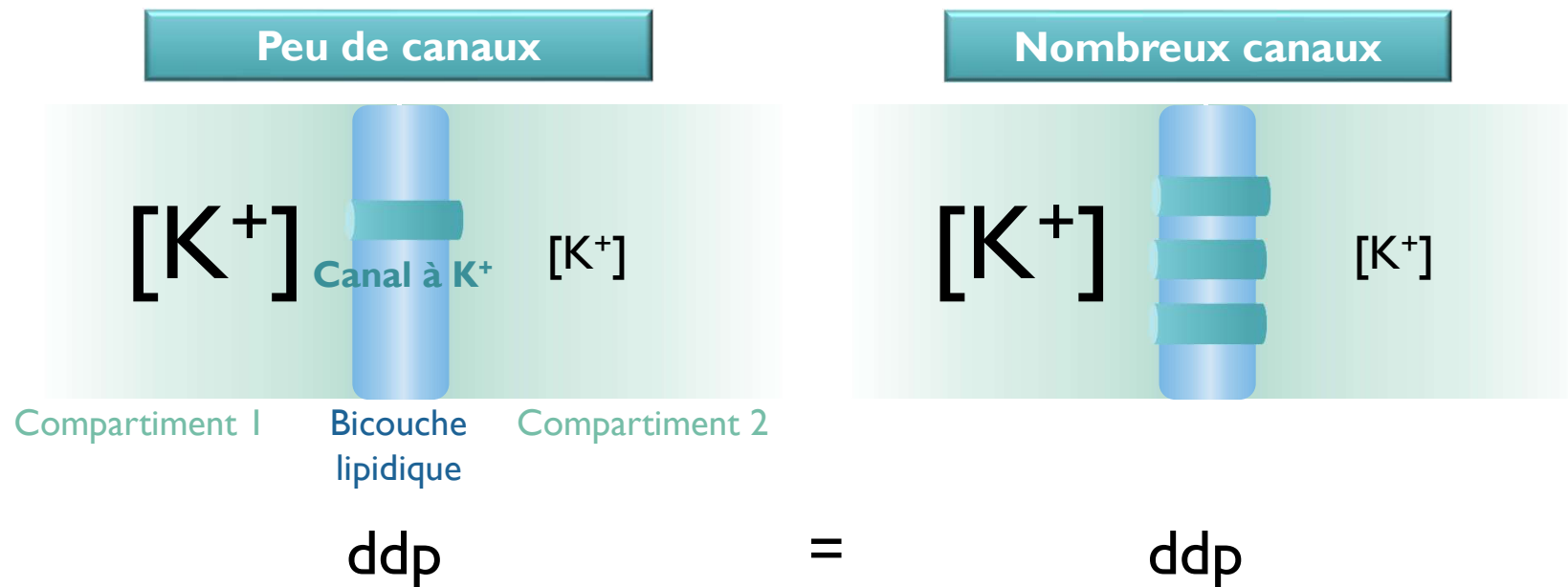
2. Étude expérimentale de la ddp

2.2. Effet du nombre de transporteurs



▪ Dispositif expérimental :

- Deux compartiments séparés par une **bicouche lipidique** contenant plus ou moins de canaux sélectifs à K^+
- Concentrations différentes dans les 2 compartiments
- Mesure de la ddp membranaire (via un oscillographe)



La quantité de transporteurs d'ions ne modifie pas la ddp

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP

3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire

4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

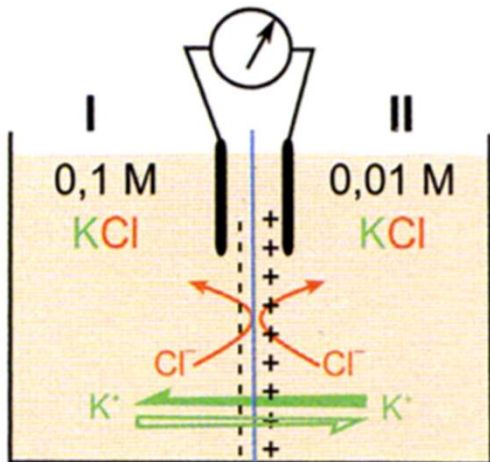
E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP Transmembranaire

3. Interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire

3.1. Polarisation d'une membrane

Equilibre électrochimique



$$\Delta \tilde{\mu}_{\text{K}^+} = R.T. \ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right) + z.F.(E_2 - E_1)$$

À l'équilibre

$$\Delta \tilde{\mu}_{\text{K}^+} = 0$$

$$z.F.(E_2 - E_1) = - R.T. \ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$$

$$E_2 - E_1 = - \frac{R.T}{z.F} \cdot \ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$$

$$E_2 - E_1 = - \frac{8,314 \cdot (293)}{z \cdot 96500} \cdot 2,3 \cdot \log_{10}\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$$

Equation de Nernst (à 20°C)

$$\Delta E = E_2 - E_1 = \frac{-0,058}{z} \cdot \log_{10}\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$$

R : cte des gaz parfaits

$$R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$$

T : température en K

$$T (\text{K}) = 273 + T(^{\circ}\text{C})$$

$$T (\text{K}) = 273 + 20 = 293 \text{ K}$$

F : constante de Faraday

$$F = 96\,500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$\log_{10}(x) = \frac{\ln(x)}{\ln(10)}$$

$$\ln(x) = \ln(10) \cdot \log_{10}(x)$$

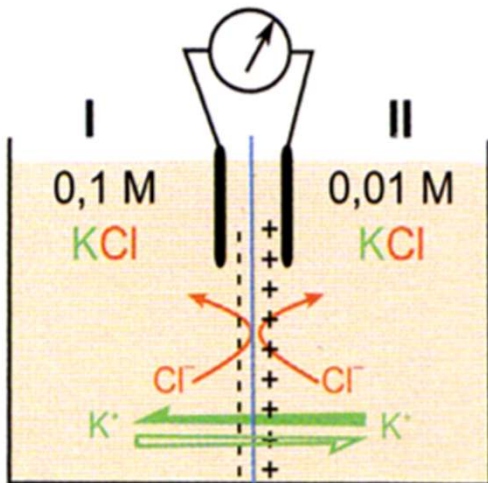
$$\ln(x) = 2,3 \cdot \text{Log}_{10}(x)$$

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

3. Interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire

3.2. Application de l'équation de Nernst pour évaluer la ddp

Equilibre électrochimique



Equation de Nernst (à 20°C)

$$\Delta E = E_2 - E_1 = \frac{-0,058}{z} \cdot \log_{10}\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$$

R : cte des gaz parfaits
 $R = 8,31 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$

T : température en K

z : valence de l'ion avec
signe (+ ou -)

F : constante de Faraday
 $F = 96\,500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$

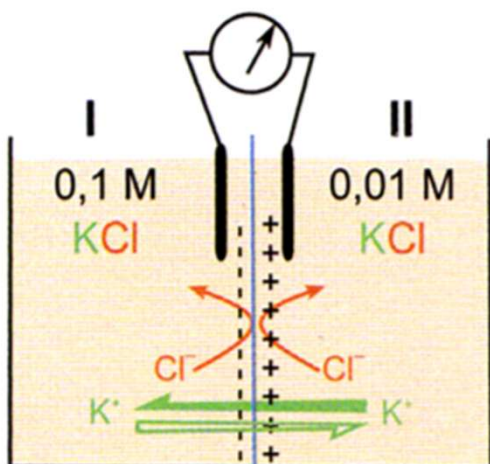
Dans la situation représentée par le schéma, calculez la différence de potentiel de membrane, lorsque K^+ est à l'équilibre.

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

3. Interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire

3.2. Application de l'équation de Nernst pour évaluer la ddp

Equilibre électrochimique



Equation de Nernst (à 20°C)

$$\Delta E = E_2 - E_1 = \frac{-0,058}{z} \cdot \log_{10}\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$$

R : cte des gaz parfaits
R = 8,31 J K⁻¹.mol⁻¹

T : température en K

z : valence de l'ion avec
signe (+ ou -)

F : constante de Faraday
F = 96 500 C.mol⁻¹

$$\Delta E_{\text{éq}} = E_2 - E_1 = \frac{-0,058}{(+1)} \cdot \log_{10}\left(\frac{0,01}{0,1}\right)$$

$$\Delta E_{\text{éq}} = + 0,058 \text{ V}$$

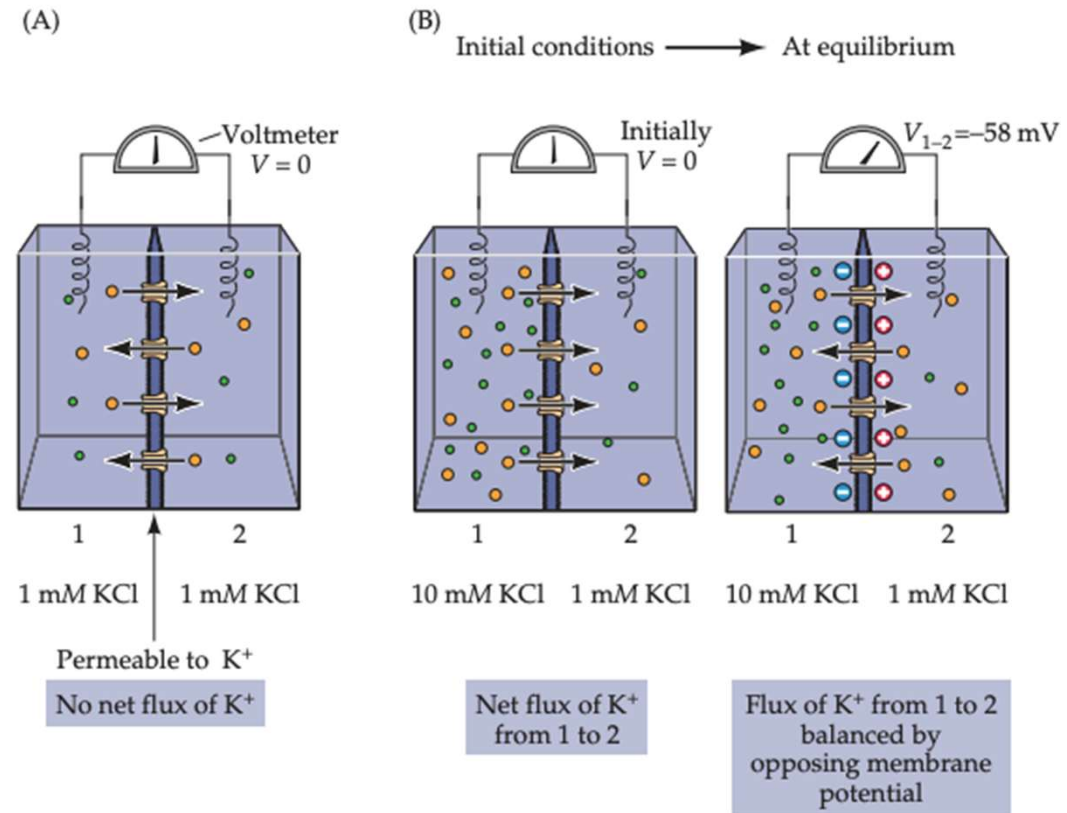
$$\Delta E_{\text{éq}} = + 58 \text{ mV}$$

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

3. Interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire

3.3. Conclusion

- Un « **potentiel de membrane** » est une différence de potentiel électrique (**ddp**) de part et d'autre d'une membrane.
 - C'est le passage des ions à travers la membrane qui crée un courant électrique et donc une ddp
- Un « **potentiel de membrane** » apparaît ssi :
 - La membrane présente une **perméabilité sélective aux ions**
 - Il existe une **différence de concentration** de part et d'autre de la membrane
- Les ions se déplacent jusqu'à atteindre l'équilibre électrochimique où **flux net = 0** (mais les ions franchissent la membrane dans les 2 sens).
- La ddp ne concerne que les abords de la membrane ; les **compartiments** sont électriquement **neutres**



In vivo, quel(s) ion(s) détermine(nt) la ddp des cellules animales ?

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire

4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

5. réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE



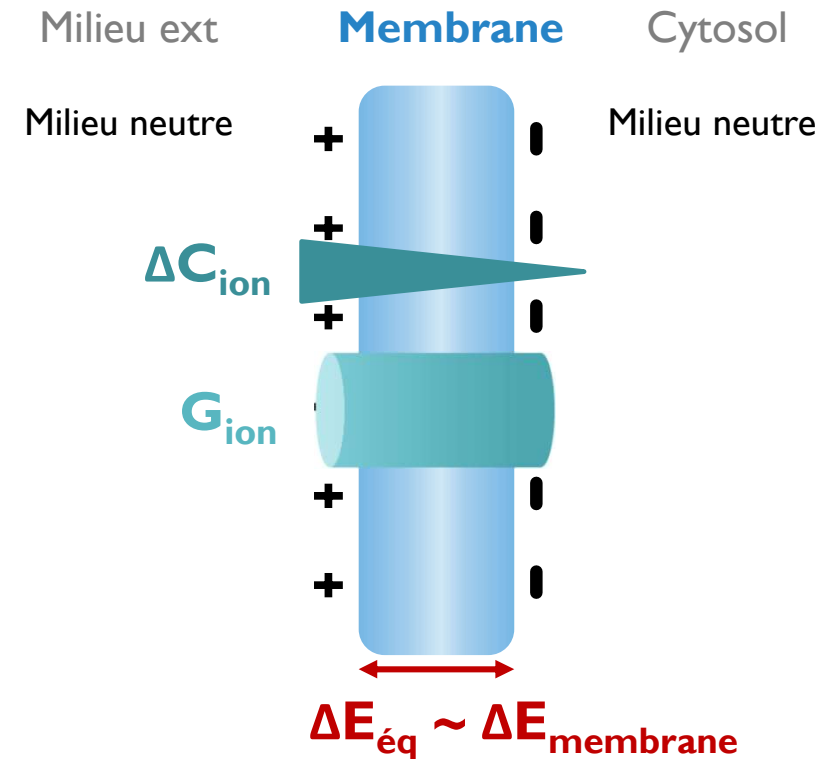
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

4.1. Profil de l'ion candidat

- L'ion impliqué dans l'apparition de la ddp membranaire doit remplir les conditions suivantes :
 - concentrations inégales de part et d'autre de la membrane
→ $\Delta C_{\text{ion}} \gg 0$
 - capable de traverser la membrane (perméabilité)
 $G_{\text{ion}} \gg 0$
 - proche de l'équilibre (flux net = 0)
→ La ddp d'équilibre de l'ion est proche de la ddp membranaire

Quelles sont les ΔC des différents ions ?

Les différents ions sont-ils à l'équilibre dans la cellule ?



$$I = G \cdot \Delta E$$

Conductance $G = \frac{1}{R}$
en siemens (S)

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

4.1. Profil de l'ion candidat

Ions	[ion] milieu extracellulaire (mM)	[ion] cytosol (mM)	ddp membranaire (mV)	Potentiel d'équilibre (mV)
Na⁺	140	14	- 60	
K⁺	5	140		
Cl⁻	147	14		
Ca²⁺	1	10 ⁻⁴		
Autres	0	125		

- ✓ Les ions sont présents en concentrations variables dans la cellule et le milieu extracellulaire
- ✓ Tous les ions présentent un gradient de concentration transmembranaire

Concentrations des principaux ions dans le cytosol d'un neurone de mammifère et dans le milieu extracellulaire

→ **Tous ces ions pourraient intervenir dans la ddp membranaire**

Les différents ions sont-ils à l'équilibre dans ces conditions ?

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

4.1. Profil de l'ion candidat

$$\Delta E = E_{\text{int}} - E_{\text{ext}} = \frac{-0,058}{z} \cdot \log_{10}\left(\frac{C_{\text{int}}}{C_{\text{ext}}}\right)$$

Ions	[ion] milieu extracellulaire (mM)	[ion] cytosol (mM)
Na ⁺	140	14
K ⁺	5	140
Cl ⁻	147	14
Ca ²⁺	1	10 ⁻⁴
Autres	0	125

Calcul des potentiels d'équilibre pour un neurone de mammifère :

$$E_{K^+} = -0,058/(1) \times \log(140/5) = -0,084 \text{ V} \rightarrow E_{K^+} = -84 \text{ mV}$$

$$E_{Na^+} = -0,058/(1) \times \log(14/140) = 0,058 \rightarrow E_{Na^+} = +58 \text{ mV}$$

$$E_{Cl^-} = -0,058/(-1) \times \log(14/147) = -0,058 \rightarrow E_{Cl^-} = -58 \text{ mV}$$

$$E_{Ca^{2+}} = -0,058/(2) \times \log(10^{-4}/1) = 0,116 \rightarrow E_{Ca^{2+}} = +116 \text{ mV}$$

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

4.1. Profil de l'ion candidat

Ions	[ion] milieu extracellulaire (mM)	[ion] cytosol (mM)	ddp membranaire (mV)	Potentiel d'équilibre (mV)
Na⁺	140	14	- 60	58
K⁺	5	140		-84
Cl⁻	147	14		-58
Ca²⁺	1	10 ⁻⁴		116
Autres	0	125		—

Na⁺ et Ca²⁺ tels que potentiel d'équilibre \gg ddp
→ Pas à l'équilibre
→ pas impliqués dans la ddp

K⁺ et Cl⁻ tels que potentiel d'équilibre \sim ddp
→ proches de l'équilibre
→ potentiellement impliqués dans la ddp

Concentrations des principaux ions dans le cytosol d'un neurone de mammifère et dans le milieu extracellulaire

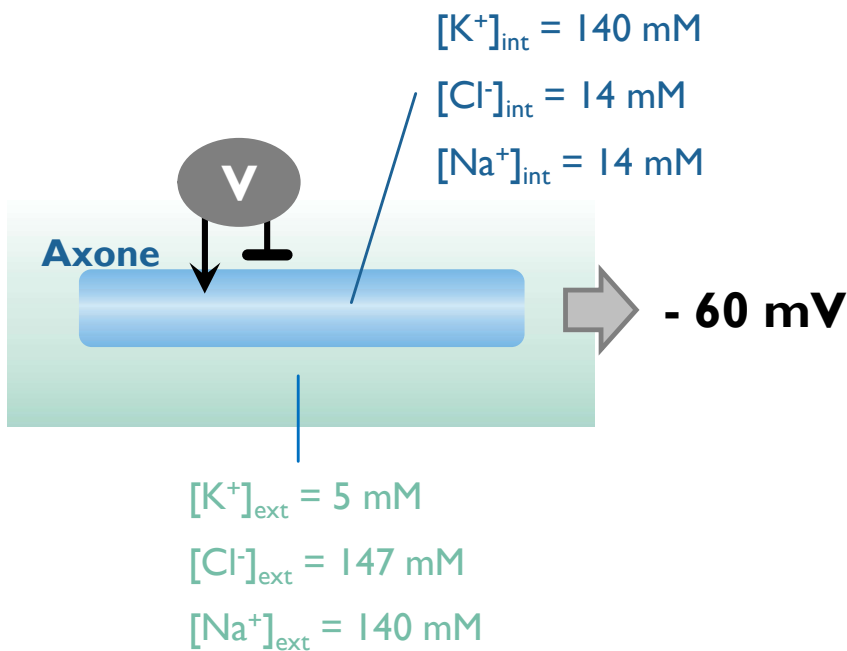
→ **K⁺ et Cl⁻ pourraient être impliqués dans la ddp membranaire**

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

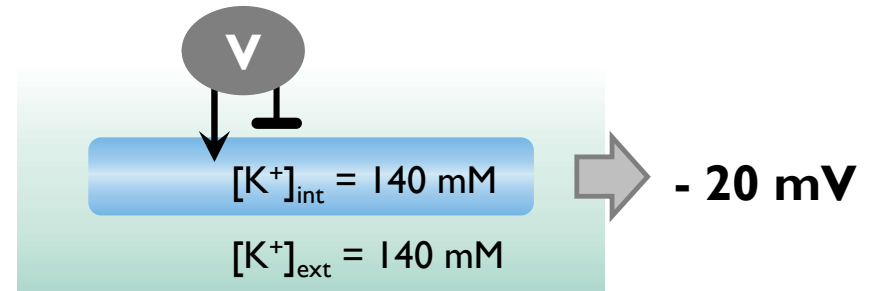
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

4.2. Influence des différents ions sur la ddp membranaire

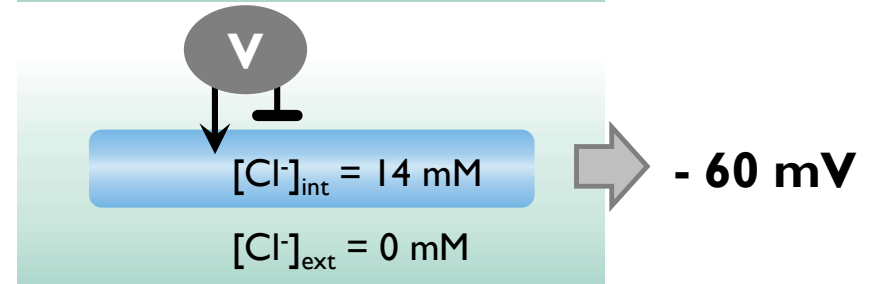
Conditions physiologiques



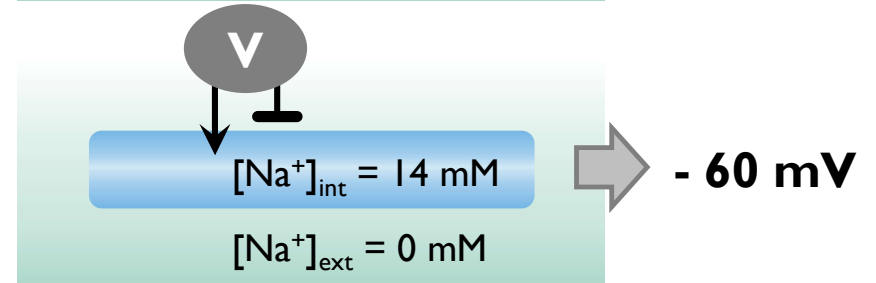
Effet de K^+



Effet de Cl^-



Effet de Na^+



→ K^+ (pas Cl^- ni Na^+) influence la ddp membranaire des cellules animales

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

4.2. Influence des différents ions sur la ddp membranaire

- La perméabilité d'une membrane à un ion dépend de la **présence de canaux** transmembranaires pour cet ion

→ La perméabilité est mesurée par la conductance de l'ion : G_{ion} $I = G \cdot U$

- Si le **nombre de transporteurs** est élevé

→ G élevée

→ I élevée

- Les membranes biologiques animales contiennent peu de canaux/transporteurs pour Na^+ ou Cl^-

→ **Perméabilité à Na^+ et Cl^- faible**

$$\begin{array}{l} G_{\text{Na}^+} \sim 0 \longrightarrow I_{\text{Na}^+} \sim 0 \\ G_{\text{Cl}^-} \sim 0 \longrightarrow I_{\text{Cl}^-} \sim 0 \end{array}$$

- En revanche, les cellules possèdent de nombreux **canaux de fuite au K^+** (toujours ouverts)

⇒ **Grande perméabilité au K^+**

$$G_{\text{K}^+} \gg 0 \longrightarrow I_{\text{K}^+} \gg 0$$

→ K^+ joue un rôle prépondérant dans la ddp car les membranes lui sont très perméables

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

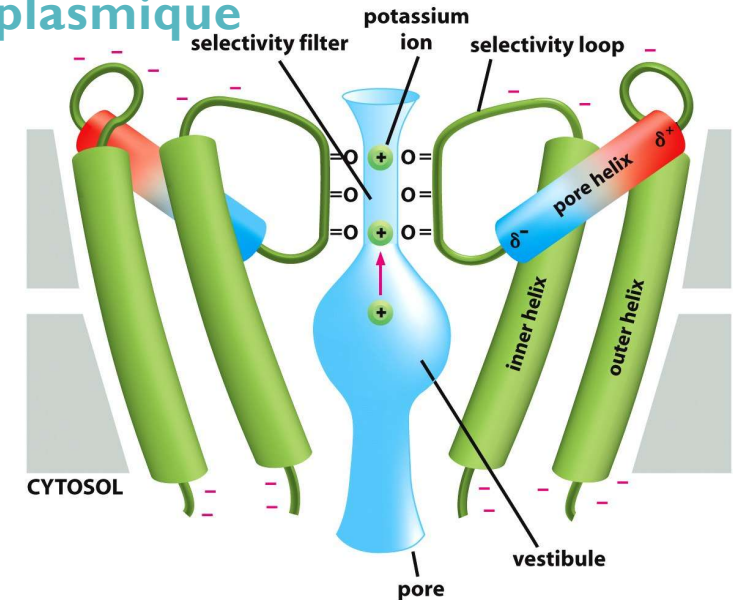


4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

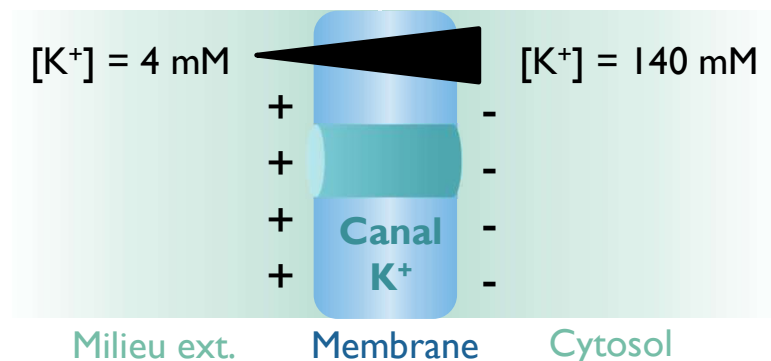
4.3. Les canaux de fuite au potassium de la membrane plasmique

- Les **canaux de fuite au K⁺** des cellules de mammifères ressemblent au canaux K⁺ des bactéries.
 - Mais fonctionnement dans les deux sens, donc deux pores
- **Canal sélectif, spécifique de K⁺**
 - Les charges négatives des extrémités des hélices alpha du pore guident les ions K⁺.
- **Pas de système de contrôle de l'ouverture**
 - Ouverture permanente permettant la diffusion des ions selon $\Delta\tilde{\mu}_{K^+}$
 - Sortie de K⁺
 - « canaux de fuite »

Comment sont établies les différences de concentrations transmembranaires ?



Canaux potassiques des bactéries



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales

5. réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

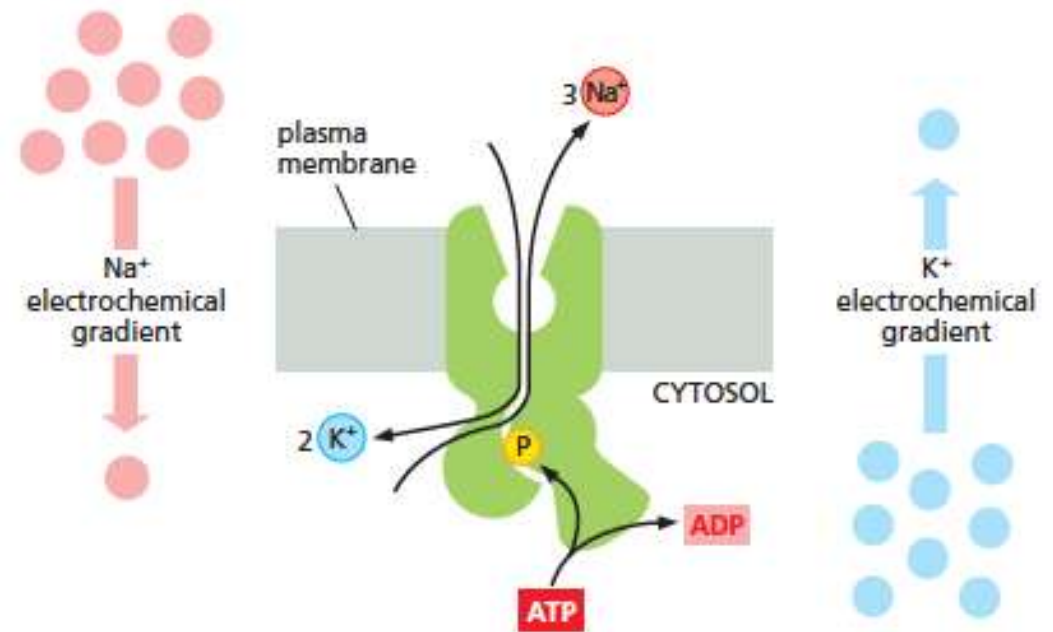
C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE



5. Réalisation de gradients de concentrations

5.1. La pompe Na⁺/K⁺

- La **pompe Na⁺/K⁺** utilise l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP pour **transporter** ces ions à l'encontre de leur potentiel électrochimique.
- Elle **compense** ainsi la **sortie des K⁺** via les canaux de fuite.
- Elle entretient les gradients de concentration de Na⁺ et K⁺
 - *N.B.: chez les végétaux la ddp transmembranaire est de -100 à -200 mV*
 - ✓ *Importance de la pompe H⁺-ATP dépendante*
- C'est une **pompe électrogénique**
 - échange de 3 Na⁺ contre 2 K⁺ → pas électriquement neutre



→ La pompe Na⁺/K⁺ - ATPase crée et entretient les gradients ioniques de Na⁺ et K⁺

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE



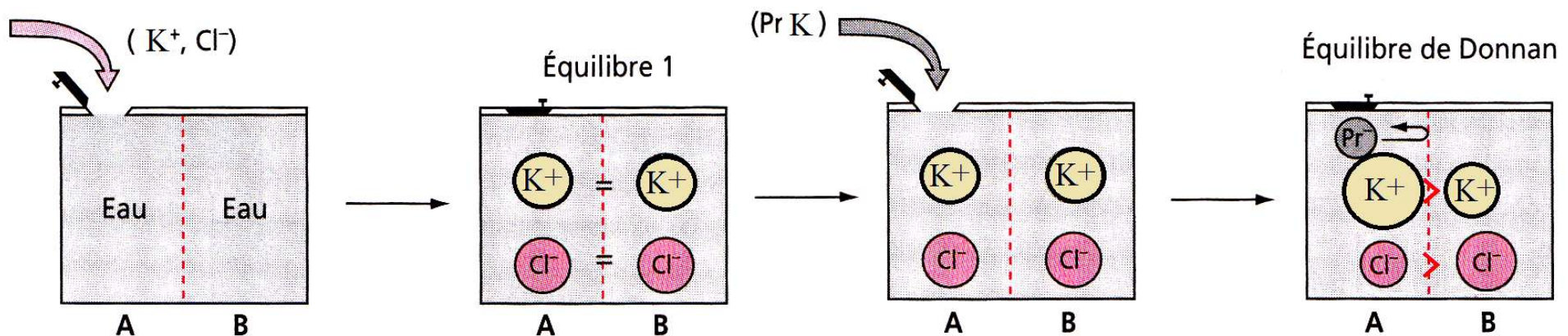
5. Réalisation de gradients de concentrations

5.2. Les protéines cytosoliques

- Contrairement au milieu extracellulaire, le cytosol est riche en protéines, **majoritairement anioniques** (notées Pr^-).
- Ces protéines Pr^- influencent la distribution des ions pour lesquels il existe des canaux de fuite :
 - opposition à la fuite des cations (K^+)
 - facilitation de la fuite des anions (Cl^-)

→ Les protéines cytosoliques contribuent à la mise en place de gradients ioniques transmembranaires

→ **Nouvel équilibre : l'équilibre de Donnan**



Effet des protéines cytosoliques anioniques sur la distribution des ions de part et d'autre de la membrane

C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE

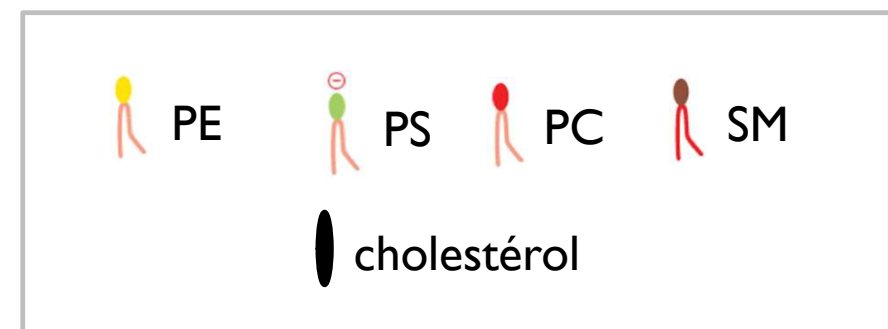
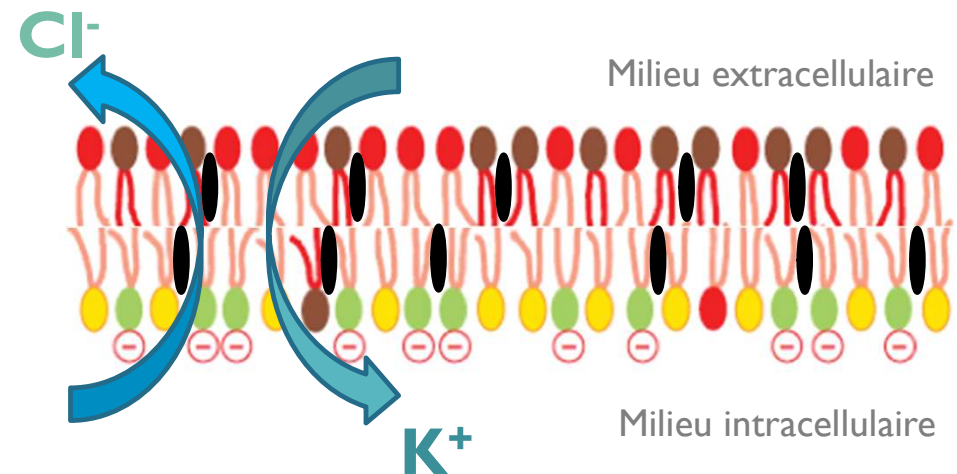


5. Réalisation de gradients de concentrations

5.3. L'asymétrie des lipides membranaires

- L'hémi-membrane cytosolique de la membrane plasmique est riche en **phosphatidylsérines (PS)** qui portent de **charges (-)**.
- Les PS contribuent à la ddp membranaire et influencent la répartition des ions de part et d'autre de la membrane.
 - entrée de K^+
 - sortie de Cl^-

→ L'asymétrie des lipides membranaires contribue à la mise en place de gradients ioniques transmembranaires



Distribution asymétrique des lipides dans la membrane induisant une asymétrie de charge 153

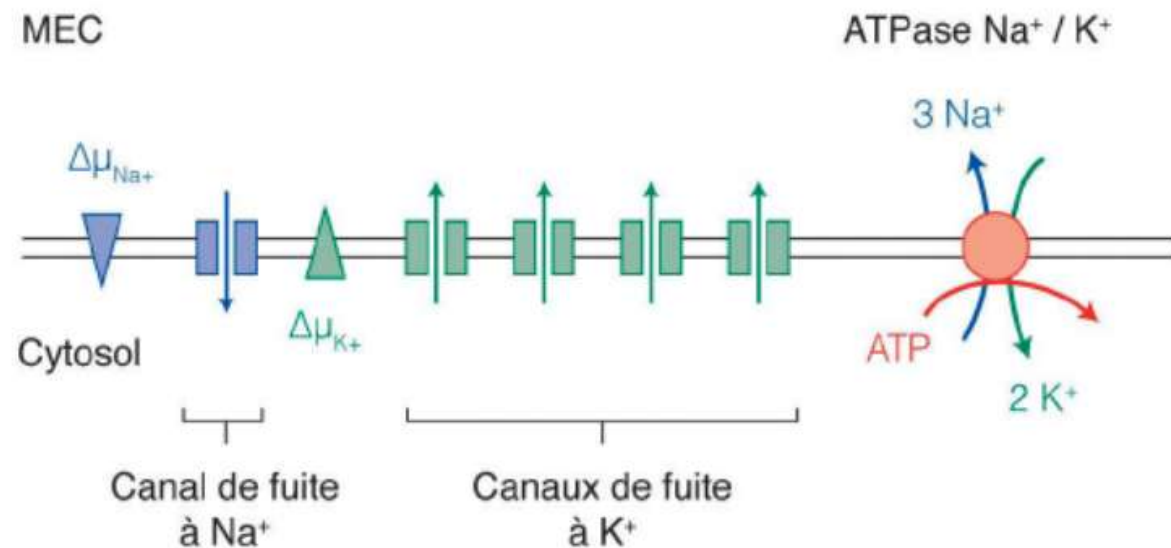
C. CONSÉQUENCES DES ÉCHANGES IONIQUES (PASSIFS ET ACTIFS) : FORMATION D'UNE DDP TRANSMEMBRANAIRE



BILAN

- Il existe une **inégaie répartition des ions** de part et d'autre de la membrane, due à :
 - L'action de la pompe Na^+/K^+
 - La présence de protéines anioniques dans le cytosol
 - L'asymétrie de charge due aux lipides membranaires
- Cette inégale répartition ionique induit des courants transmembranaires au travers de canaux ioniques.
→ génération d'un **potentiel de membrane**
- Le « potentiel de membrane » (ddp transmembranaire) est dû essentiellement à un **flux d'ions K^+** car les membranes contiennent de nombreux canaux de fuite au K^+ .
- Ce **flux** dissipe le gradient de concentration de K^+ qui est **entretenu** en permanence par la **pompe Na^+/K^+**

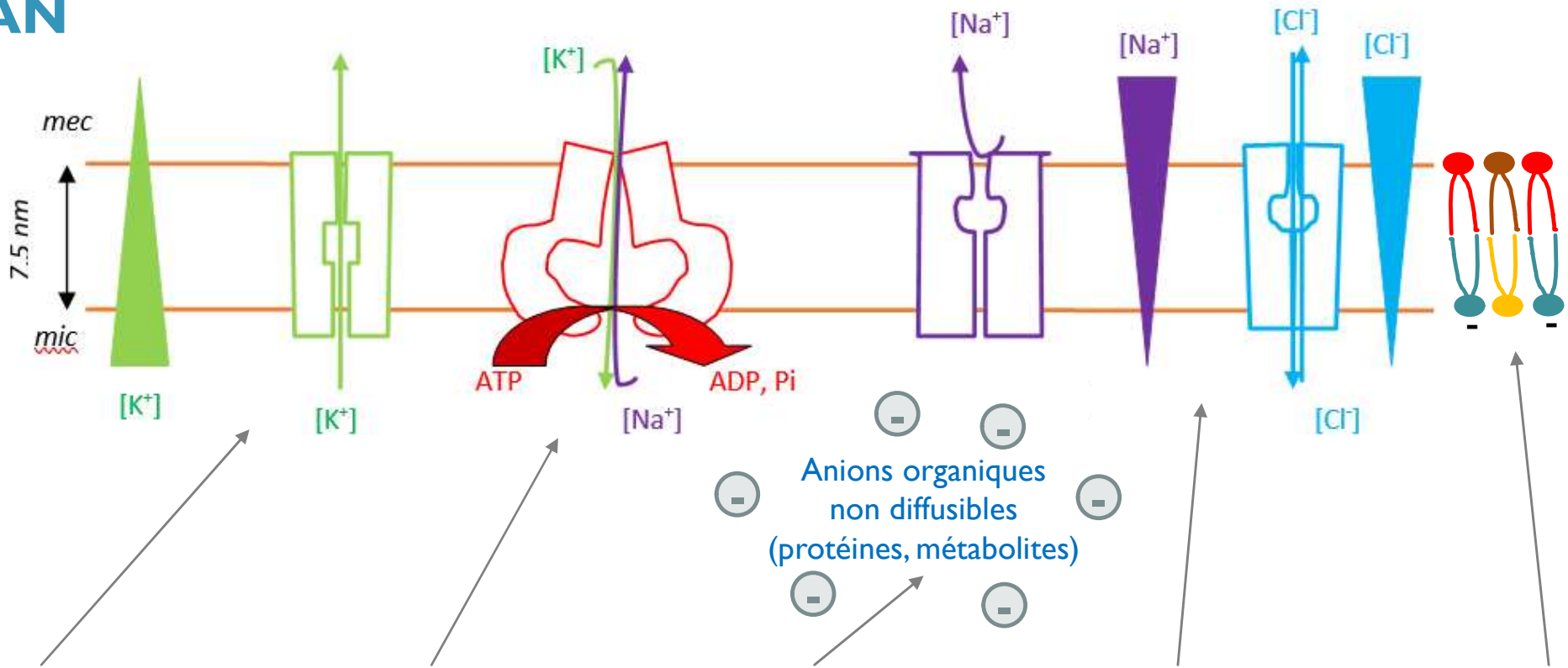
- Le **potentiel de membrane** est permis par les **propriétés** de la **membrane** biologique :
 - Perméabilité sélective aux ions,
 - Haute résistance électrique (isolant)
 - Présence de canaux de fuite et pompe
 - Asymétrie dans la répartition de phosphatidylsérine.





Les acteurs moléculaires du potentiel de repos (S. Dalaine)

BILAN



Efflux permanent de K^+ selon $\Delta\mu_{K^+}$ via de nombreux canaux de fuite, toujours ouverts

→ Création d'une ddp

Maintien du gradient de $[K^+]$ par la pompe Na^+/K^+ ATPase

→ Part faible dans la ddp

Effet des polyanions organiques non diffusibles sur l'entrée/sortie d'ions

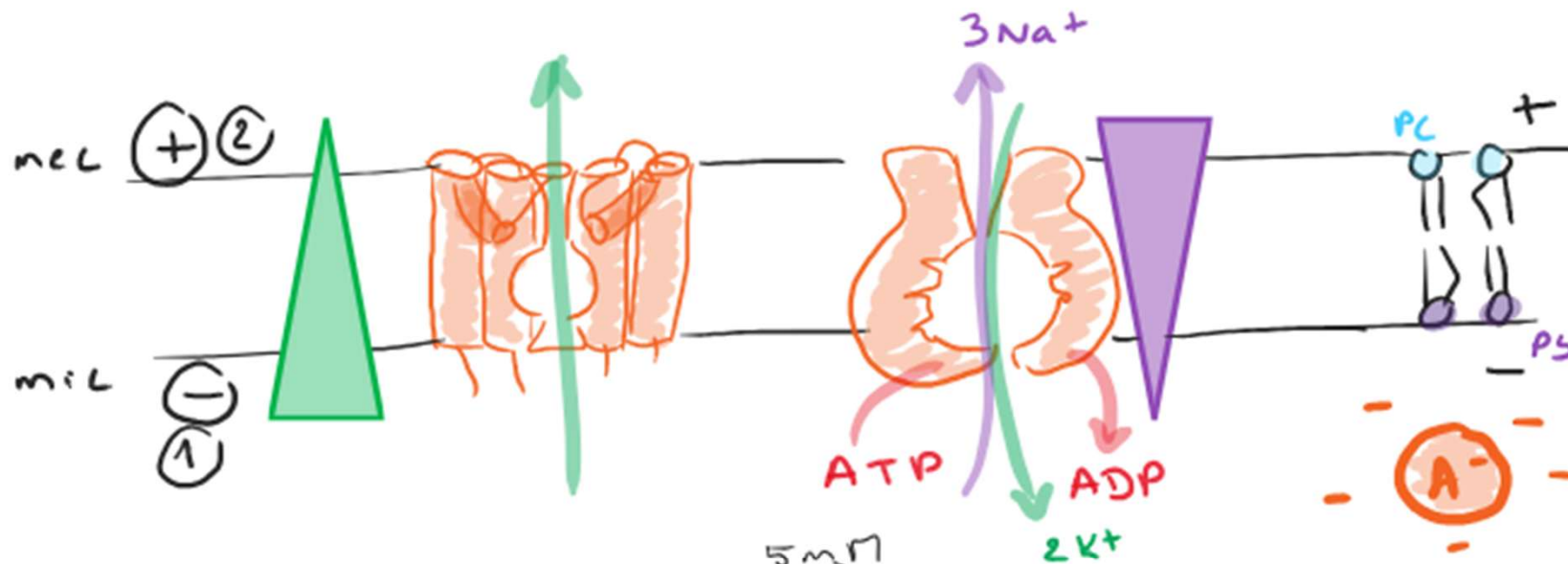
→ Part faible dans la ddp

Peu de flux de Na^+ et Cl^- car peu de canaux et/ou peu ouverts

→ Part faible dans la ddp

Effet des phosphatidylsérine chargées du feuillet interne de la membrane

→ Part faible dans la ddp



$$\Delta E = -70 \text{ mV}$$

$$\Delta G_{1 \rightarrow 2 \text{ de } K^+} = RT \ln\left(\frac{C_2}{C_1}\right) + z F (E_2 - E_1) \approx 0$$

\swarrow 5 mV \swarrow 140 mV $\underbrace{\hspace{2cm}}_{+70 \text{ mV}}$

Le potentiel d'équilibre met en jeu un faible nombre d'ions



PROBLÈME

Quelle est la part des ions K^+ totaux d'une cellule qui est réellement impliquée dans la mise en place de la ddp membranaire ?

Pour répondre à cette question, il faut :

- 1) Déterminer le nombre total d'ions K^+ dans une cellule
- 2) Déterminer le nombre d'ions K^+ qui, en sortant de la cellule, sont responsables de la mise en place d'une ddp

Données :

On considère que la membrane est uniquement perméable à K^+

Soit une cellule animale assimilable à une sphère d'environ $20 \mu\text{m}$ de diamètre, telle que $[K^+]_{\text{intracell}} = 160 \text{ mM}$ et $\text{ddp} = -70 \text{ mV}$.

On sait que la quantité de K^+ sortant de la cellule peut s'exprimer par : $N = \frac{\text{charge totale}}{\text{charge d'un ion}} = \frac{Q_{\text{tot}}}{Q_{\text{ion}}}$

On donne :

$$Q_{\text{ion}} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$$

$$Q_{\text{tot}} = C_{\text{tot}} \cdot V$$

avec V , ddp membranaire (en V)

Q_{tot} , charge totale de la cellule (en C)

C_{tot} , capacité totale de la membrane (en F)

On donne par ailleurs la **capacité surfacique** de la membrane : $C_{\text{surfacique}} = 0,01 \text{ pF}/\mu\text{m}^2$



PROBLÈME

Quelle est la quantité totale d'ions K^+ (N_{tot}) dans une cellule ?

$$N_{tot} = C.V.N_A$$

avec :

C : concentration en ions

V : volume de la cellule

$N_A = 6,022.10^{23}$: nombre d'Avogadro

$$C = 160 \text{ mM} = 160.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$$

$$C = 160.10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$$

$$C = 160 \text{ mol.m}^{-3}$$

$$V = \frac{4}{3} \times \pi \times r^3$$

$$V = \frac{4}{3} \times 3,14 \times (10.10^{-6})^3$$

$$V = 4,2.10^{-15} \text{ m}^3$$

$$N_{tot} = C.V.N_A$$

$$N_{tot} = 160 \times 4,2.10^{-15} \times 6,022.10^{23}$$

$$N_{tot} = 4047.10^8 \text{ ion}$$

$$N_{tot} = 4,047.10^{11} \text{ ion}$$



PROBLÈME

Combien d'ions K^+ sortent de la cellule ?

$$N = \frac{Q_{tot}}{Q_{ion}}$$

$$Q_{ion} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$$

$$Q_{tot} = C_{tot} \cdot V$$

$$C_{tot} = C_{surfacique} \times S_{cell}$$

$$S_{cell} = 4 \times \pi \times r^2 = 4 \times 3,14 \times (10)^2 \sim 1260 \mu\text{m}^2$$

$$C_{surfacique} = 0,01 \text{ pF}/\mu\text{m}^2$$

$$\rightarrow C_{tot} = 0,01 \times 1260 = 12,6 \text{ pF}$$

$$Q_{tot} = C_{tot} \cdot V$$

$$Q_{tot} = 12,6 \cdot 10^{-12} \times 70 \cdot 10^{-3} = 8,82 \cdot 10^{-13} \text{ C}$$

$$N = \frac{Q_{tot}}{Q_{ion}} = \frac{8,82 \cdot 10^{-13}}{1,6 \cdot 10^{-19}}$$

$$N = 5,5 \cdot 10^6 \text{ ions}$$

LE POTENTIEL D'ÉQUILIBRE MET EN JEU UN FAIBLE NOMBRE D'IONS

PROBLÈME



Quelle proportion des ions K^+ de la cellule sort de la cellule ?

$$P = N/N_{\text{tot}}$$

$$P = 5,5 \cdot 10^6 / 4,047 \cdot 10^{11}$$

$$P = 1,4 / 1 \cdot 10^5$$

→ Moins de 2 K^+ sur 100 000 sont responsables de la ddp mesurée.

→ Cet excès de charge est très localisé au niveau de la membrane ainsi l'électroneutralité de la cellule est respectée.

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

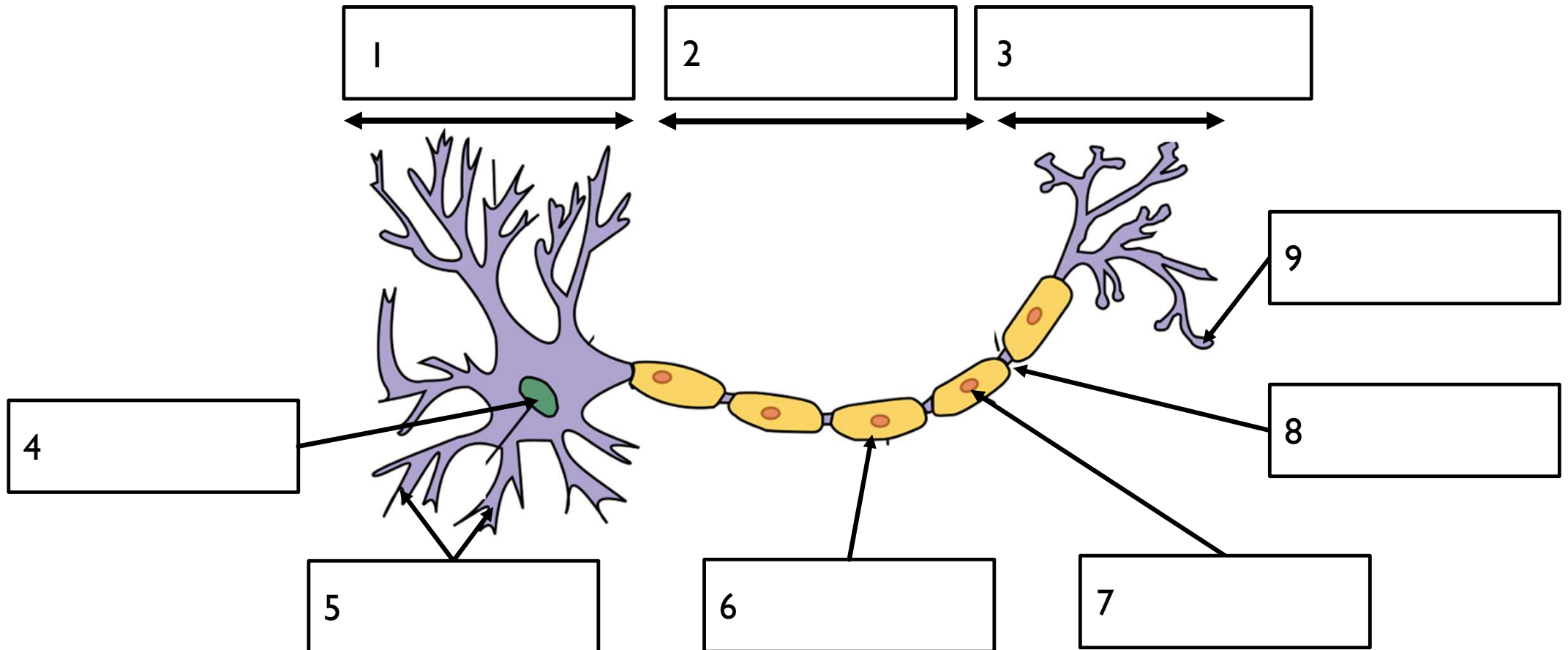
1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

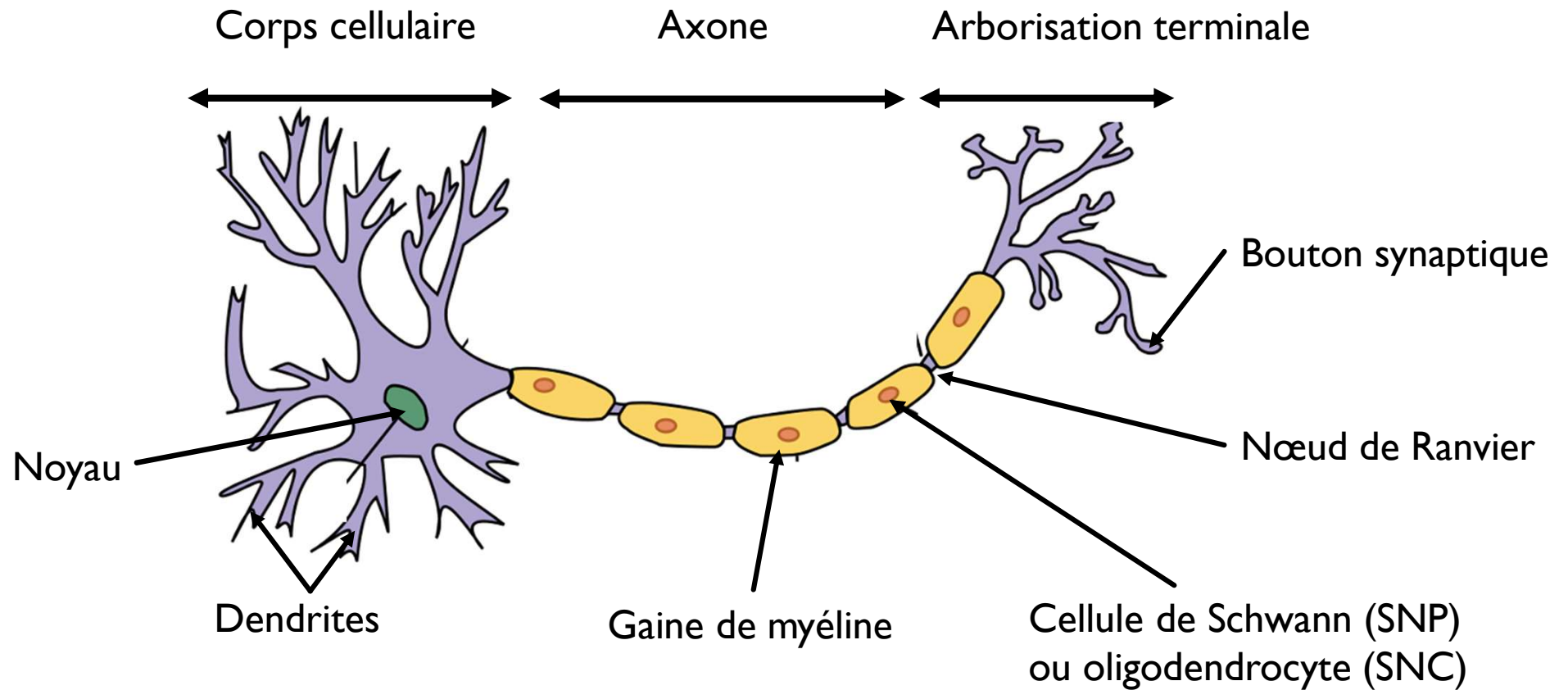
E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

INTRODUCTION

Complétez les légendes de ce schéma



INTRODUCTION



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

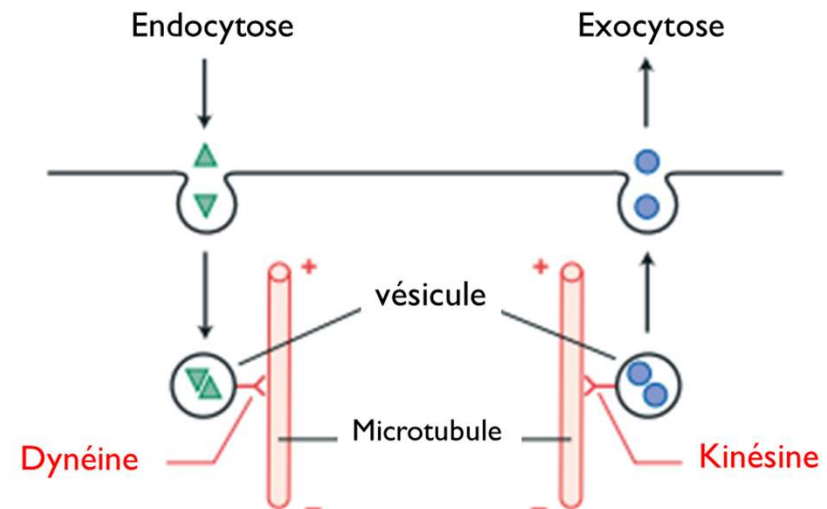
E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire



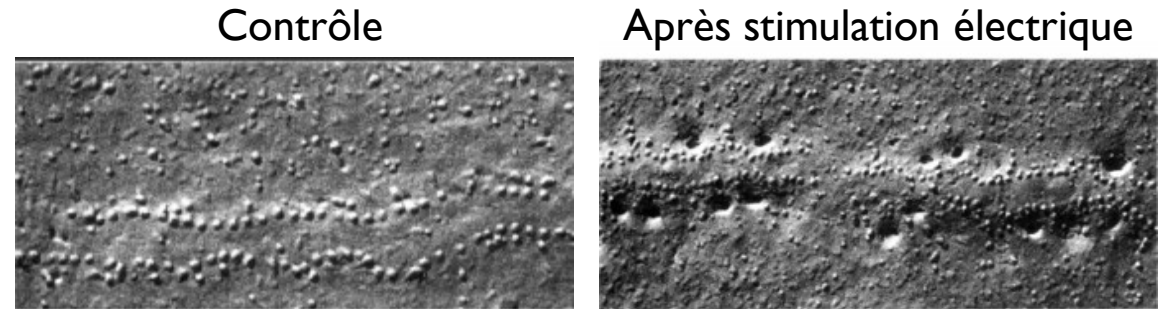
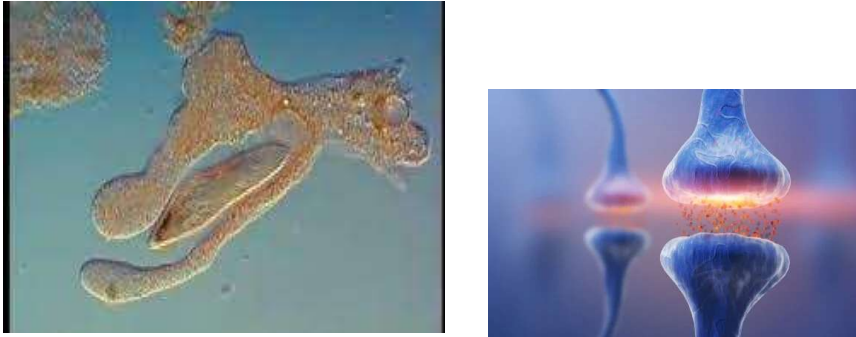
CLASSIFICATION DES MODALITÉS D'ÉCHANGE

- On peut définir plusieurs grandes modalités de transport de molécules à travers la membrane :

Transports individuels transmembranaires	PASSIF $\Delta G' < 0$ selon le gradient (électro)chimique	Via la bicouche lipidique. Diffusion simple (loi de Fick)	Canal
		Via une protéine membranaire Diffusion facilitée	Perméase
Transports en masse	ACTIF $\Delta G' > 0$	Via une protéine membranaire	Transporteur
			Pompe
	$\Delta G > 0$ Ils requièrent toujours une dépense énergétique	Via des vésicules closes	Endocytose Exocytose Transcytose



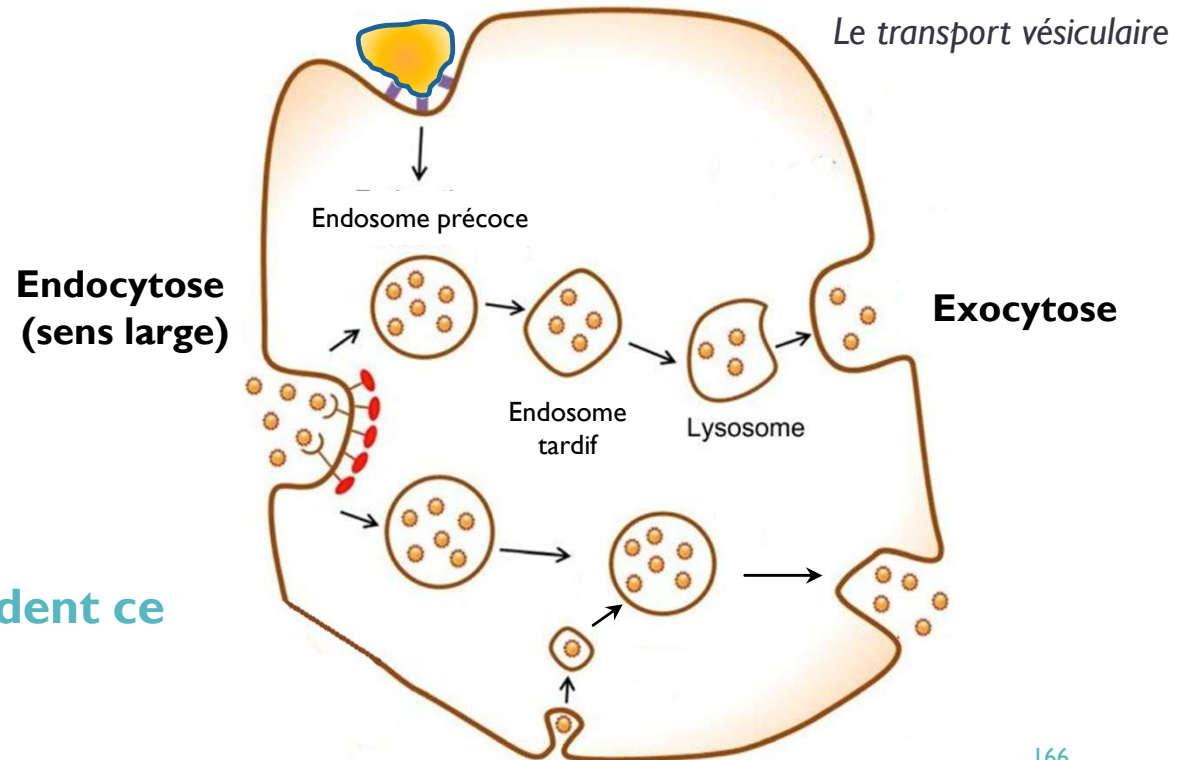
INTRODUCTION



Membrane plasmique d'un neurone pré-synaptique (vue depuis l'espace intersynaptique), Cryofracture et MEB

- Mise en évidence expérimentale de cytosexes
- Il existe des flux de vésicules permettant de faire entrer ou sortir des substances de la cellule
→ Transport vésiculaire en masse

Qu'est-ce qui est transporté ?
Quels sont les mécanismes qui sous-tendent ce flux ?



III. LES TRANSFERTS DE PARTICULES VOLUMINEUSES SONT COUPLÉS À DES FLUX DE MEMBRANE

A. ENDOCYTOSE ET EXOCYTOSE REPOSENT SUR DES FLUX DE MEMBRANE

- On distingue 3 types d'endocytoses :

Phagocytose :

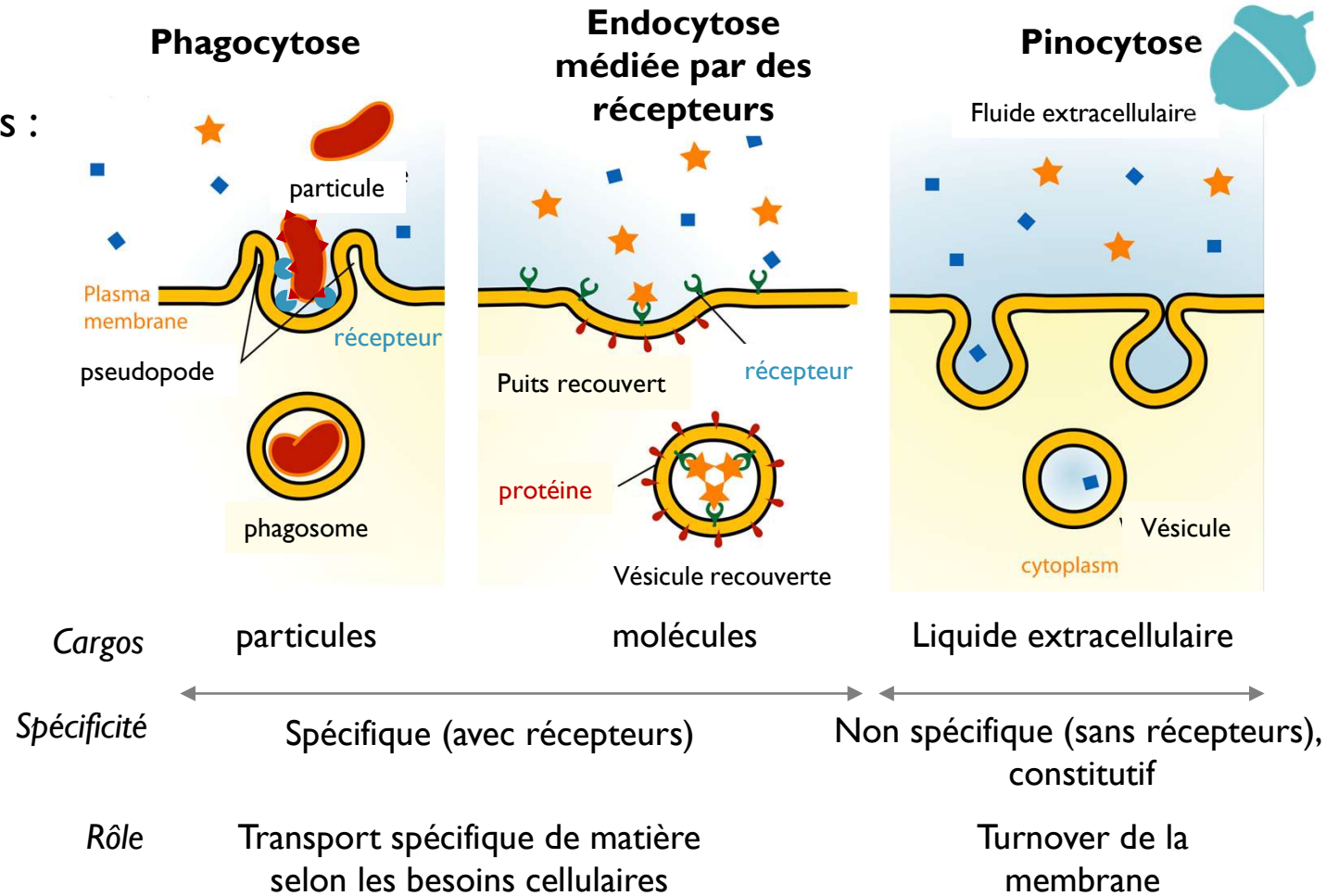
Processus d'internalisation de particules spécifiques par englobement

Endocytose médiée par des récepteurs :

Processus d'internalisation de molécules spécifiques par formation de vésicules

Pinocytose :

Processus constitutif d'internalisation de fluide extracellulaire par formation de vésicules



Les 3 types d'endocytoses

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

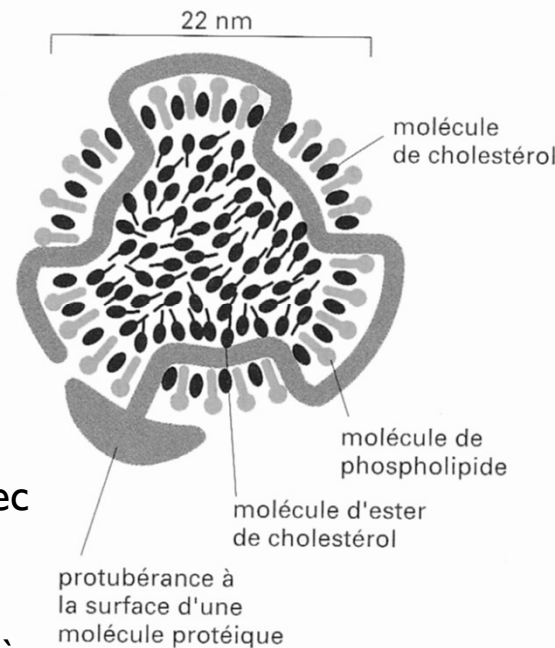
D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

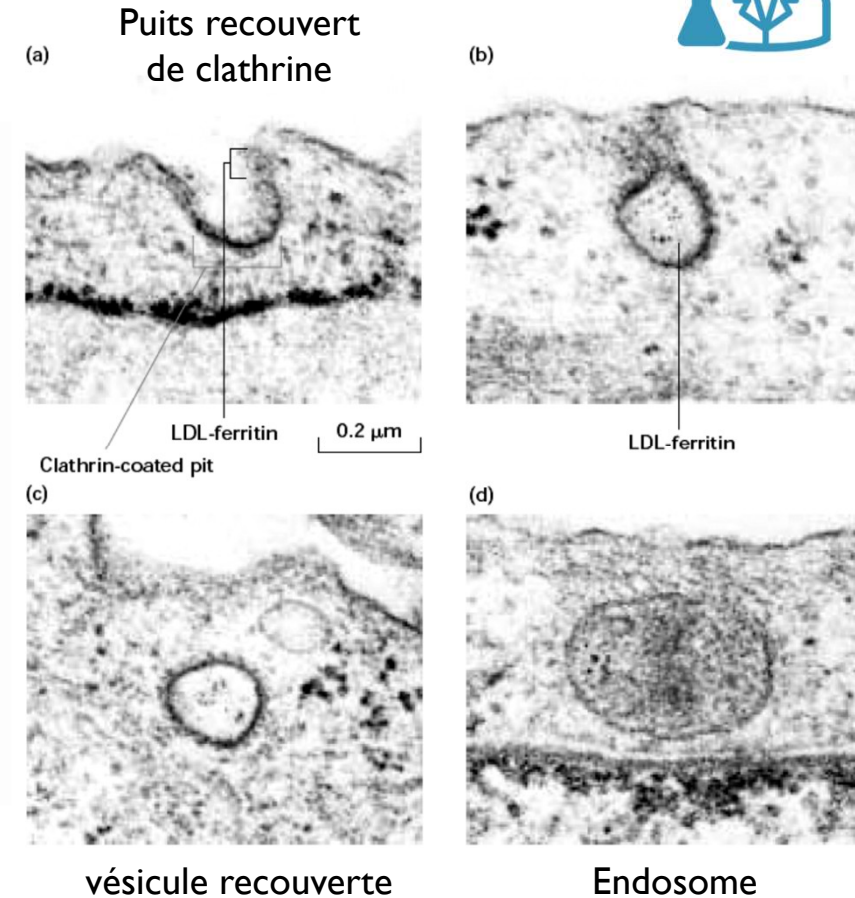
B. L'ENDOCYTOSE ASSURE L'ENTRÉE DE MOLÉCULES DE GRANDE TAILLE DANS LA CELLULE

I. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol

- Exemple de l'endocytose des LDL (low density lipoprotein) = forme de transport des lipides dans le sang
- Protocole :
 1. marquage des LDL par la ferritine (protéine avec ion Fe^{2+} , opaque aux électrons)
 2. Incubation de fibroblastes humains avec les LDL à $4^{\circ}C$ → saturation des récepteurs sans endocytose
 3. Lavage → élimination des LDL en excès
 4. Chauffage à $37^{\circ}C$ → début endocytose
 5. Préparation pour observation au MET à différents temps



Structure d'une LDL (Albets, 1994)



Mise en évidence expérimentale du rôle des vésicules recouvertes de clathrine dans l'internalisation des LDL



La clathrine permet la formation d'un puits recouvert devenant une vésicule recouverte, puis elle se détache

B. L'ENDOCYTOSE ASSURE L'ENTRÉE DE MOLÉCULES DE GRANDE TAILLE DANS LA CELLULE

I. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol

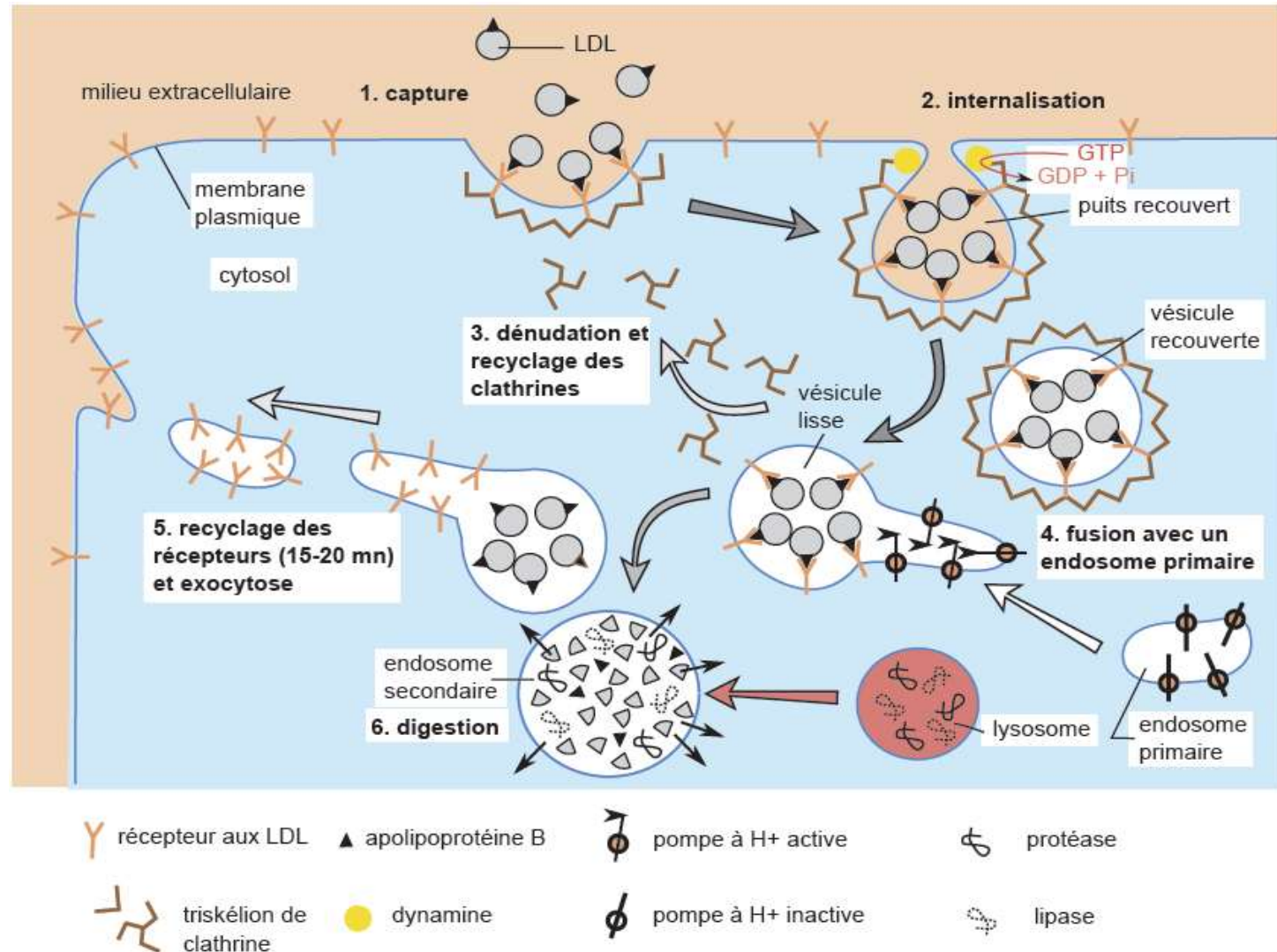


Schéma général d'une endocytose spécifique – exemple du LDL

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol

2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

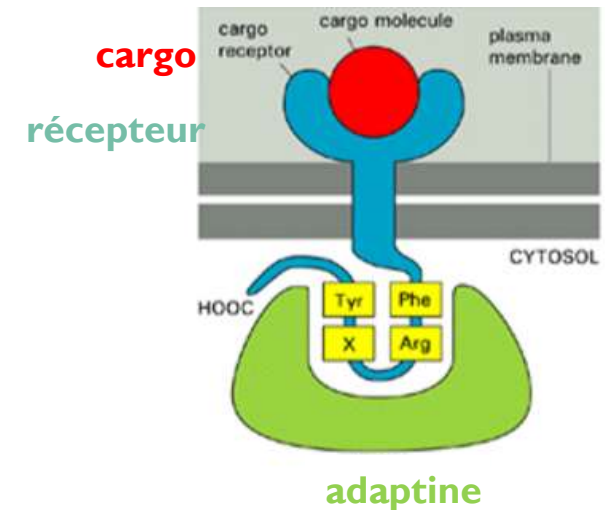
E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

B. L'ENDOCYTOSE ASSURE L'ENTRÉE DE MOLÉCULES DE GRANDE TAILLE DANS LA CELLULE

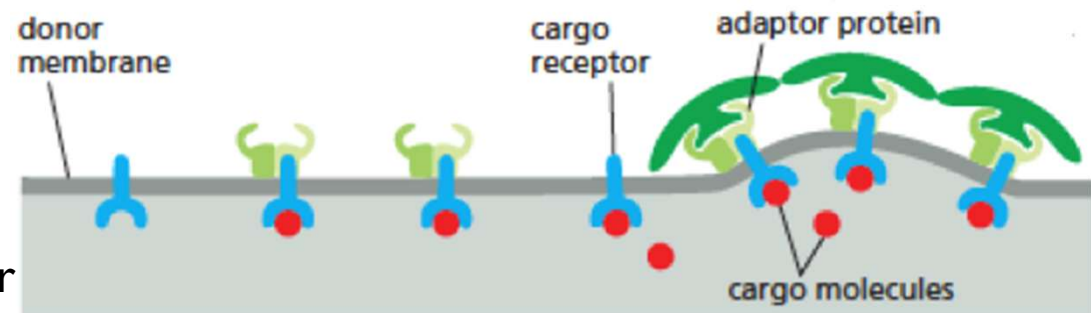
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique



- L'endocytose fait intervenir des **récepteurs spécifiques** de la molécule à internaliser
 - Ex : récepteur au LDL :
 - Glycoprotéine transmembranaire à 3 domaines fonctionnels
 - Les récepteurs sont produits selon les besoins de la cellule en lipides
- Plusieurs **récepteurs différents** peuvent être regroupés dans un même puits
- Ces récepteurs possèdent un motif C-ter conservé **signal peptide** pour l'endocytose
- Le peptide signal est reconnu par les **adaptines** qui assurent la liaison physique entre le récepteur (lié à son cargo) et la clathrine → recrutement au niveau des puits recouverts



Structure des récepteurs d'endocytose et liaison à l'adaptine

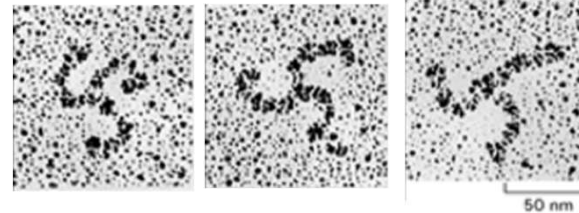


Rôle de l'adaptine dans la formation des puits recouverts de clathrine

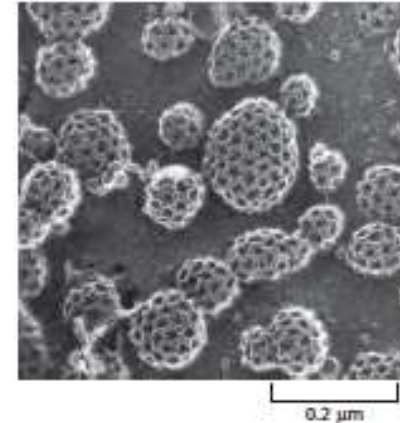
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

■ Clathrine :

- **protéine fibreuse**
- faite de 6 chaînes polypeptidiques :
- 3 chaînes lourdes + 3 chaînes légères
- Forme de triskel, non plane



Molécules de Clathrine (MET)



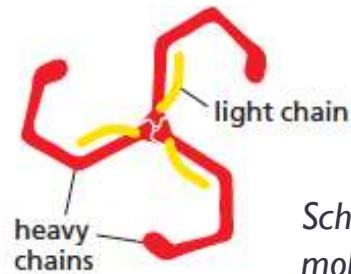
Vésicules recouvertes de clathrine sous la membrane d'un fibroblaste (cryofracture avec cryodécapage, MEB) (in Alberts)

- Les **bras** flexibles de plusieurs clathrines se **superposent** pour former des **pentagones** ou des **hexagones**

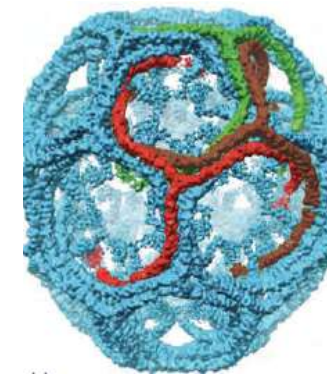
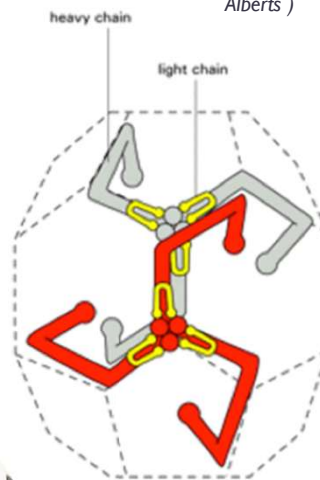
→ force mécanique et flexibilité

- La forme des clathrines impose une **courbure** à la membrane plasmique

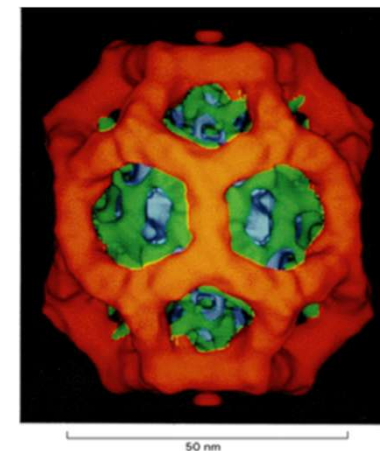
→ formation d'un puit recouvert (corbeille) puis d'une vésicule recouverte (cage), $\varnothing = 0,2 - 0,5 \mu\text{m}$

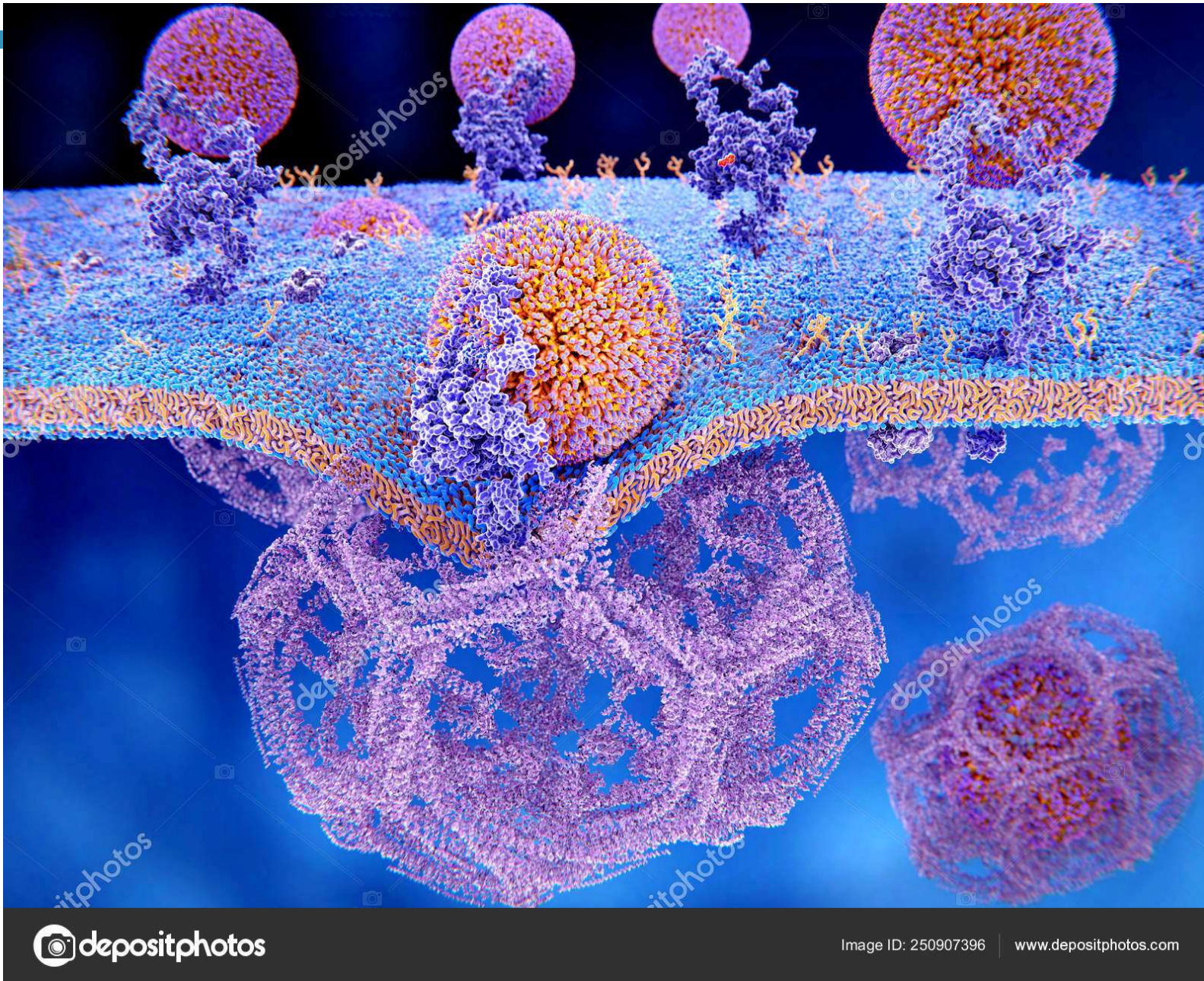


Schématisation de la molécule de clathrine (in Alberts)



Structure des manteaux de clathrine (in Alberts)

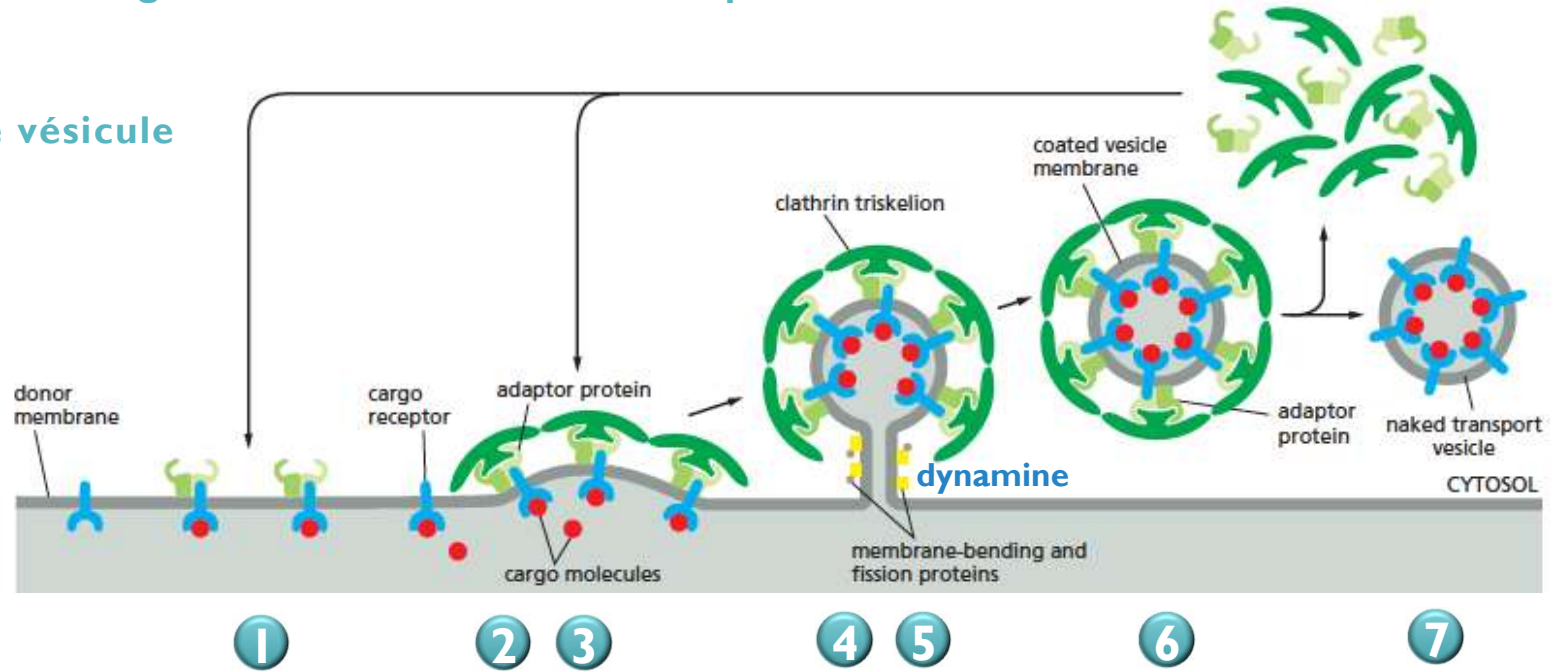




https://st4.depositphotos.com/23962648/25090/i/1600/depositphotos_250907396-stock-photo-ldl-particles-binding-ldl-receptors.jpg

2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

2.2. Bourgeonnement d'une vésicule



Schématisation du processus de formation des vésicules recouvertes de clathrines

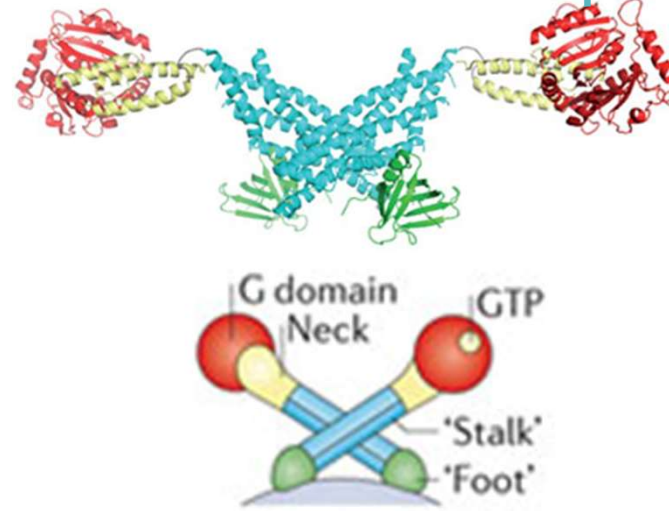
1. Fixation du cargo à son récepteur
2. Assemblage du manteau de clathrine et sélection par l'**adaptine**
3. Formation d'un puits recouvert de **clathrine** et bourgeonnement
4. Formation de la vésicule recouverte de clathrine
5. Fission des membranes par la dynamine
6. Libération de la vésicule
7. Détachement du manteau de clathrine (endosome) et recyclage

Formation de vésicules recouvertes de clathrine (MET)

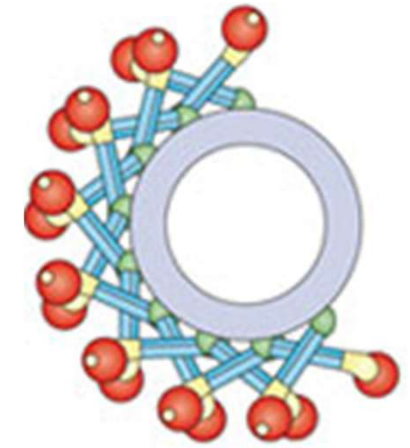
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

2.3. Libération de la vésicule

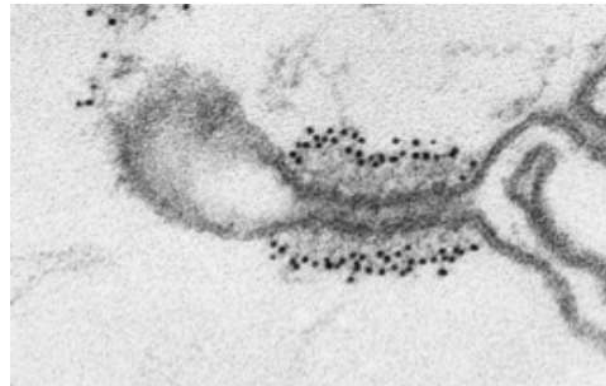
- Détachement de la vésicule recouverte de clathrine de la membrane = **processus actif** (consommateur d'énergie)
 - ⇒ intervention de la **dynamine** (GTPase)
 - ✓ Après bourgeonnement, la dynamine **polymérise** autour du cou qui relie la vésicule à la membrane
 - ✓ Dynamine utilise **l'énergie** libérée par l'hydrolyse du **GTP** pour **séparer les membranes**



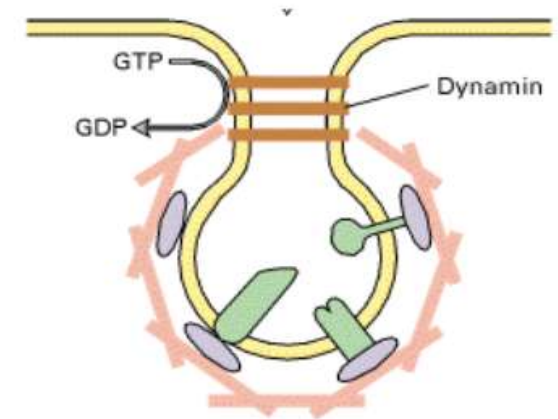
Modèle moléculaire et interprétation d'un dimère de dynamine



Polymérisation de la dynamine



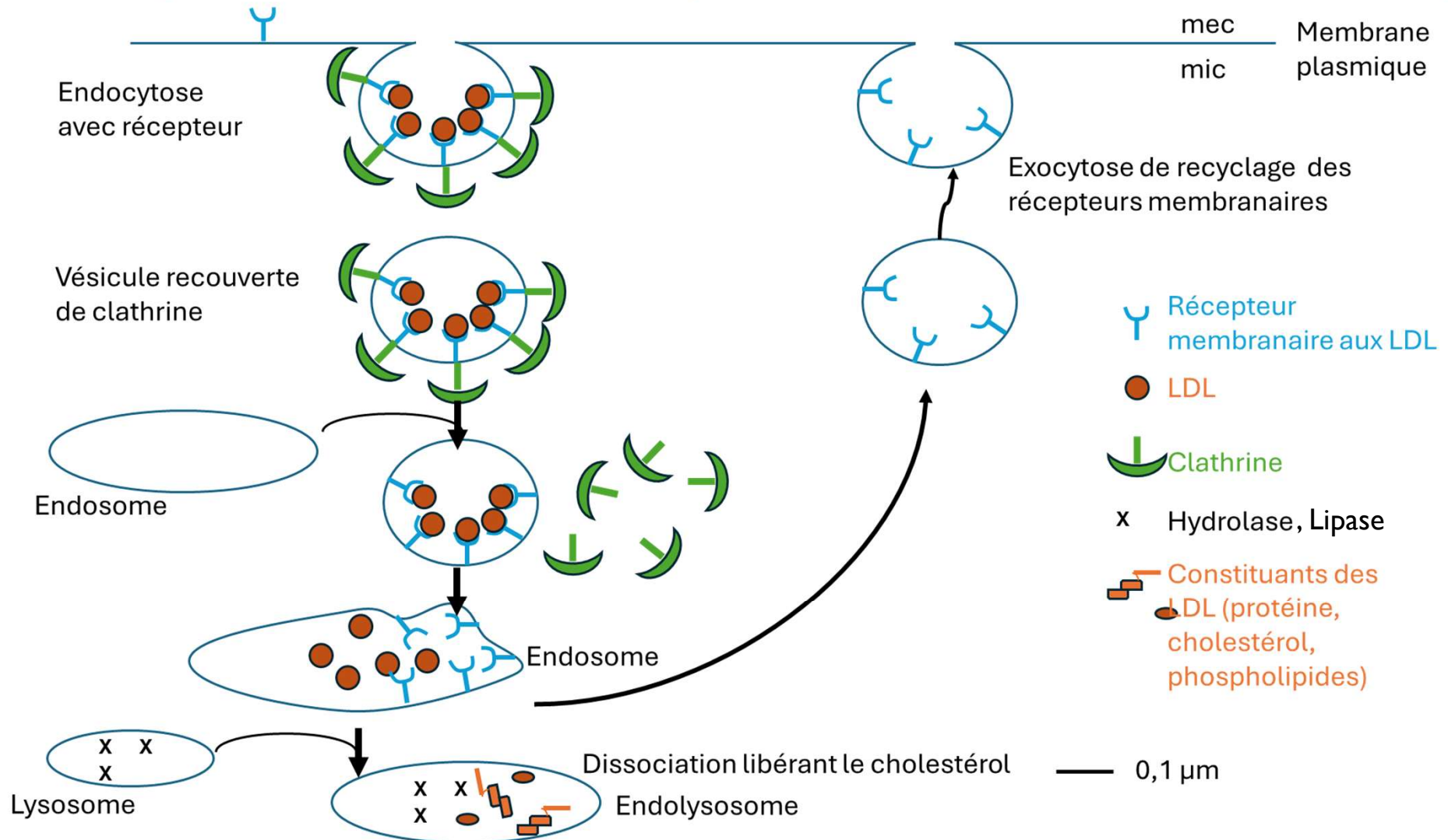
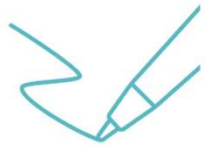
Polymérisation dynamine au tour du « cou » d'une vésicule (ME)



Polymérisation de la dynamine et séparation des membranes

2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

2.4. Les récepteurs et la clathrine sont recyclés



Le recyclage de la clathrine et des récepteurs membranaires

2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

2.4. Les récepteurs et la clathrine sont recyclés

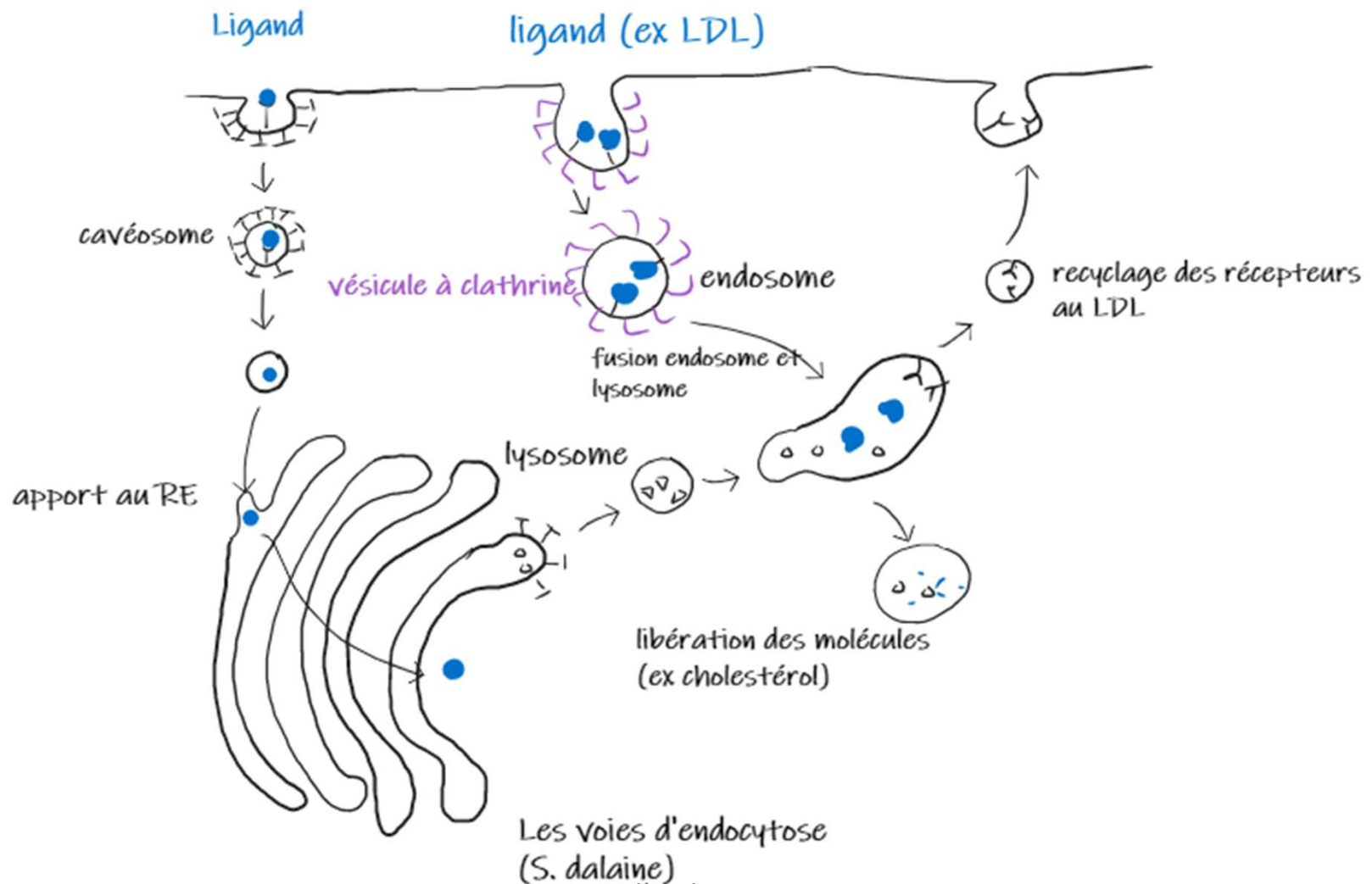


Figure 61 : Les voies d'endocytose

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible

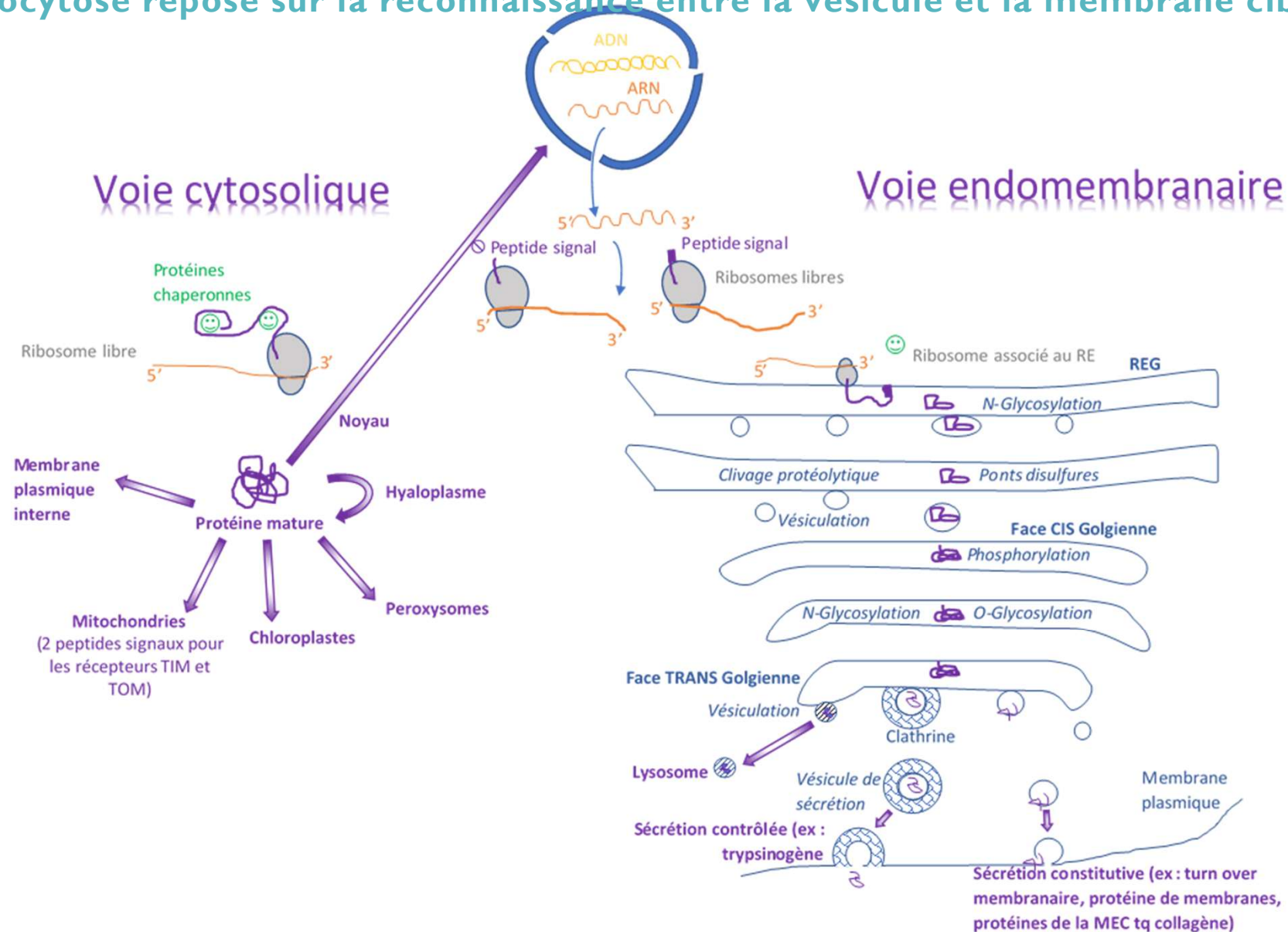
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

C. L'EXOCYTOSE ASSURE LA LIBÉRATION DE MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES PAR LA CELLULE

I. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible



C. L'EXOCYTOSE ASSURE LA LIBÉRATION DE MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES PAR LA CELLULE

I. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible



- L'adressage de protéines vers un compartiment donné nécessite des **étiquettes**

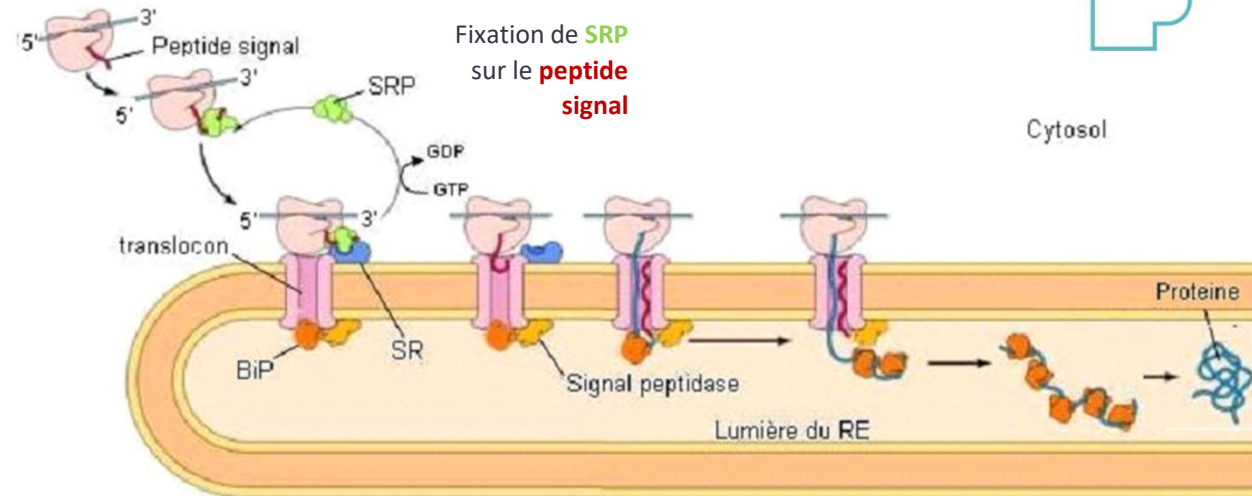
✓ Ex1 : **séquence peptidique KDEL** (lys asp glu leu) = **signal de rétention** dans le REG (protéines résidentes du RE).

⇒ protéines reconnues par un récepteur KDEL

⇒ A pH neutre, récepteur KDEL a très peu d'affinité pour la séquence KDEL. Or dans le REG puis dans le Golgi: **acidification du lumen**,

⇒ Récepteur KDEL a meilleure affinité pour la séquence KDEL, et donc une recapture des protéines portant ce signal.

✓ Ex2 : Les protéines dans l'appareil de Golgi portant le sucre **mannose-6-phosphate** sont destinées à un stockage dans le **lysosome**. Cette séquence est reconnue par un récepteur qui permet son acheminement vers les lysosomes.



Fixation de SRP sur son récepteur (SR)
→ ancrage du ribosome au REG

Prise en charge de la séquence signal par le translocon
→ libération de SRP et poursuite de traduction

Clivage du peptide signal et libération de la protéine

Repliement protéique assisté par des chaperonnes

Translocation co-traductionnelle dans le RE d'une protéine soluble (Alberts)

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

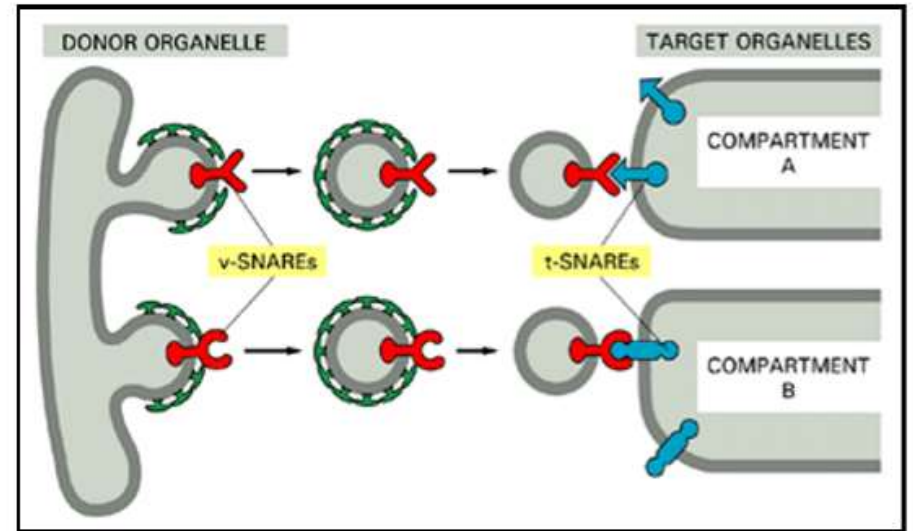
D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

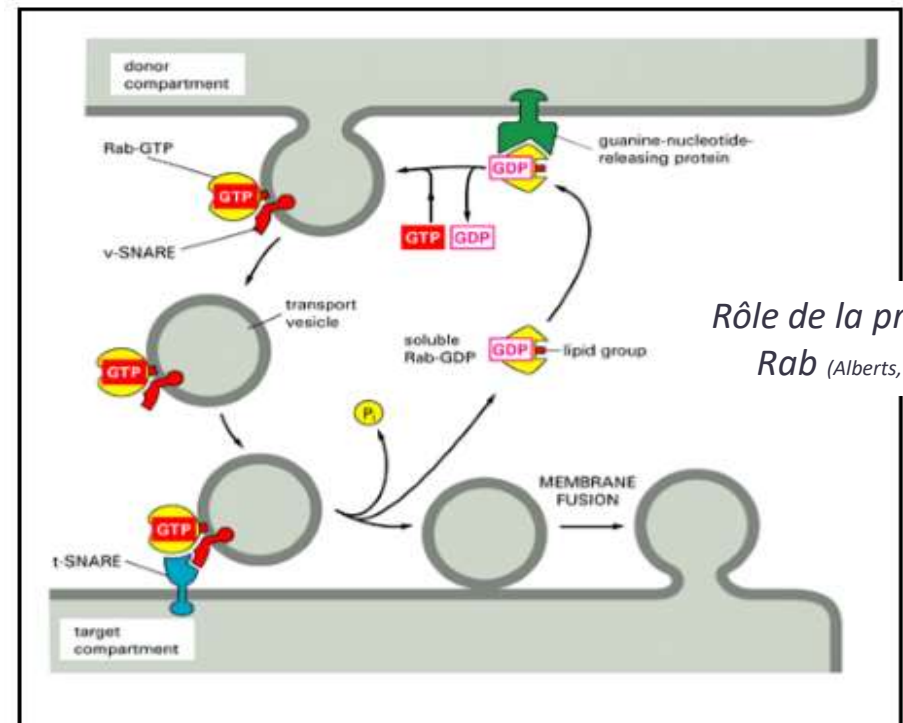
C. L'EXOCYTOSE ASSURE LA LIBÉRATION DE MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES PAR LA CELLULE

2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

- **v-SNARE** (v pour « vesicle ») = protéines transmembranaires présentes sur les vésicules
 - intégrées au moment du bourgeonnement
- Interaction de façon **spécifique** avec les t-SNARE (t pour « target ») présentes sur les membranes cibles
 - Grande diversité : 1 par type d'organite → > 20 dans les cellules animales
 - sélectivité d'interaction
 - adressage des vésicules
- Les Rab, petites protéines G, participent à la **spécificité** d'interaction et **ancrent** la vésicule à la membrane receveuse en hydrolysant le GTP



Rôle des v-SNARE et t-SNARE dans l'adressage des vésicules (Alberts, 2017)



Rôle de la protéine Rab (Alberts, 2017)

C. L'EXOCYTOSE ASSURE LA LIBÉRATION DE MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES PAR LA CELLULE

2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

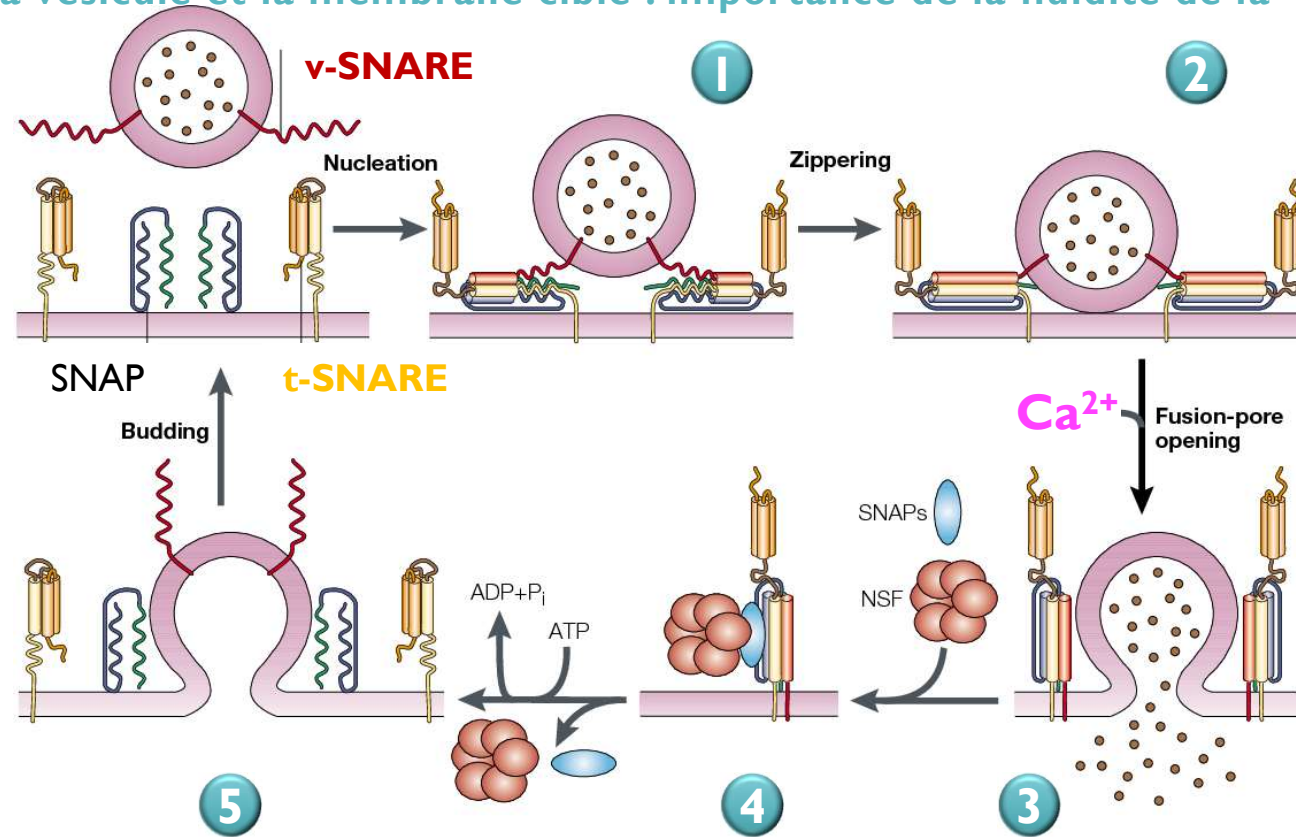
1. **Accostage** : les **v-SNARE** et **t-SNARE** ainsi que d'autres molécules (SNAP) s'assemblent

2. **Arrimage** : la vésicule se rapproche de la membrane plasmique

3. **Fusion** : la membrane de la vésicule fusionne avec la membrane plasmique (+/- régulation)

4. **Dissociation** : des protéines (NSF, SNAP) permettent la séparation du complexe SNARE/SNAP

5. **Recyclage** : une vésicule avec v-SNARE bourgeonne et se détache.



Dans le cas de la voie de **sécrétion régulée**, l'exocytose est **contrôlée** par des signaux

Ex : Exocytose au niveau d'une synapse

L'arrivée d'un signal électrique induit l'ouverture de canaux à Ca^{2+}

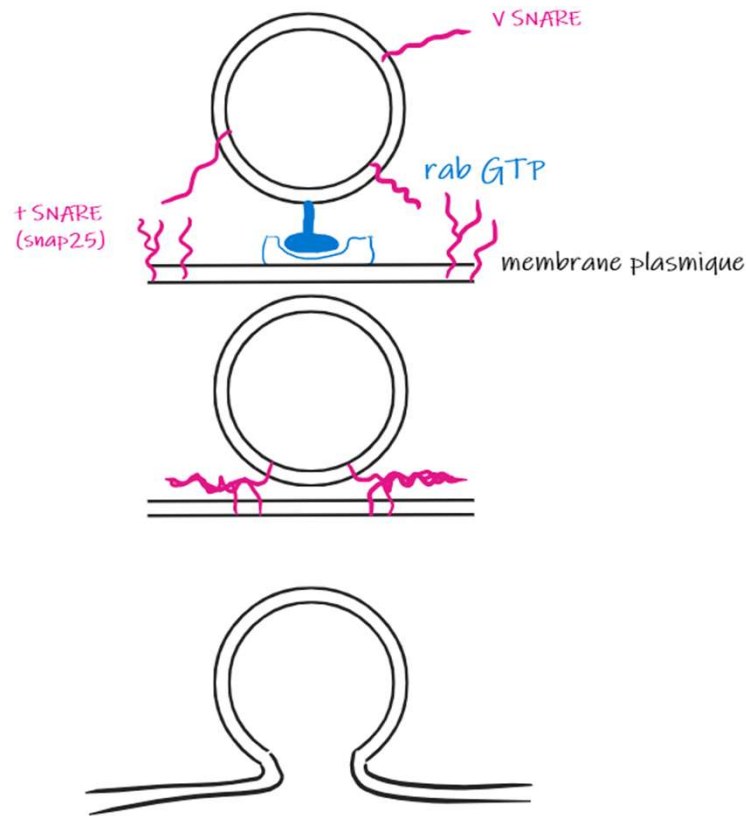
→ exocytose

C. L'EXOCYTOSE ASSURE LA LIBÉRATION DE MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES PAR LA CELLULE

2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

- Dans le cas de l'exocytose, l'arrimage et la fusion font intervenir les v-SNARE et t-SNARE mais également :

- Les SNAP
- Les NSF, ATPase solubles qui déstabilisent le complexe des SNARE



1- Fixation du rab GTP sur son récepteur
=> reconnaissance de la membrane cible

2- Formation de structures coiled-coil entre v et + SNARE
stabilisation par des liaisons faibles à la syntaxine

3- Fusion des deux membranes + dissociation des SNARE

Modèle d'arrimage et de fusion d'une vésicule : rôle des protéines SNARE

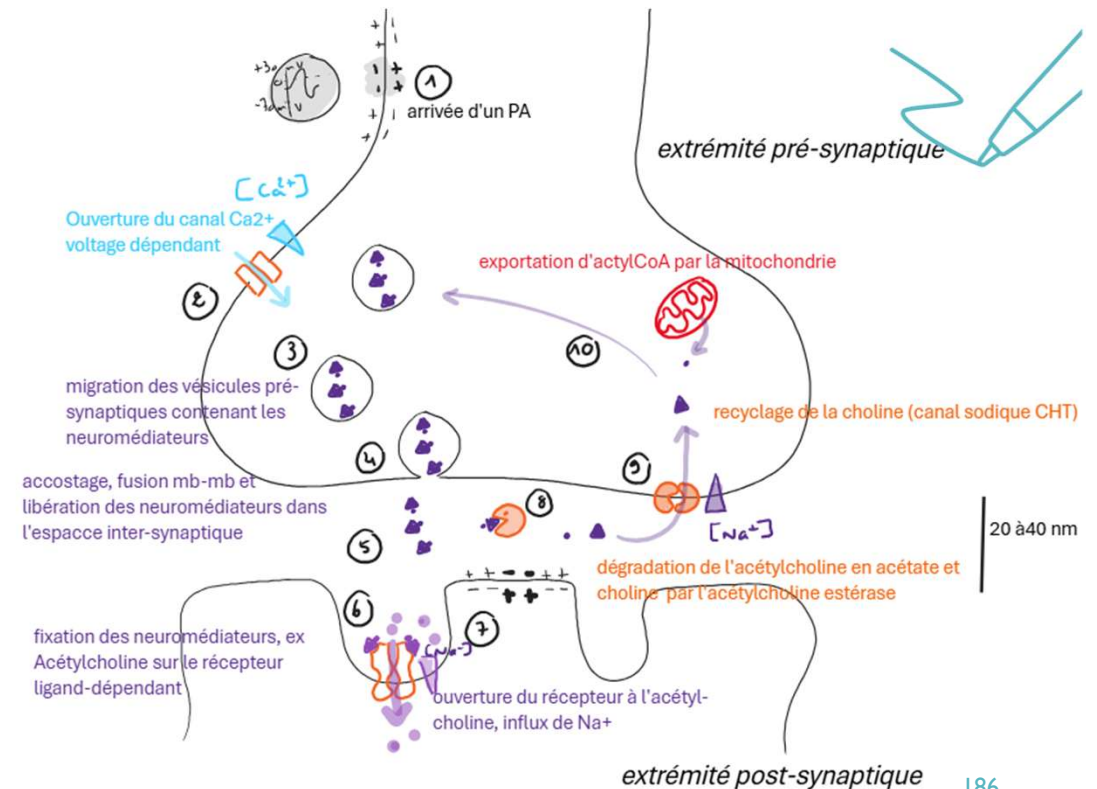
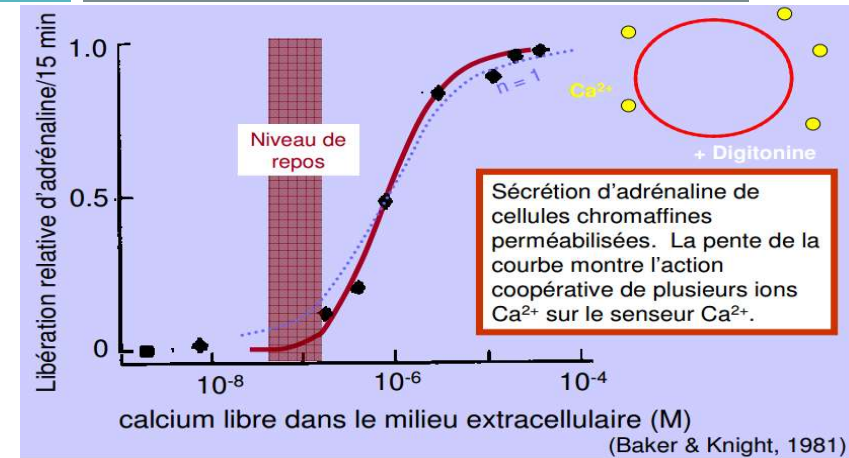
C. L'EXOCYTOSE ASSURE LA LIBÉRATION DE MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES PAR LA CELLULE

2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

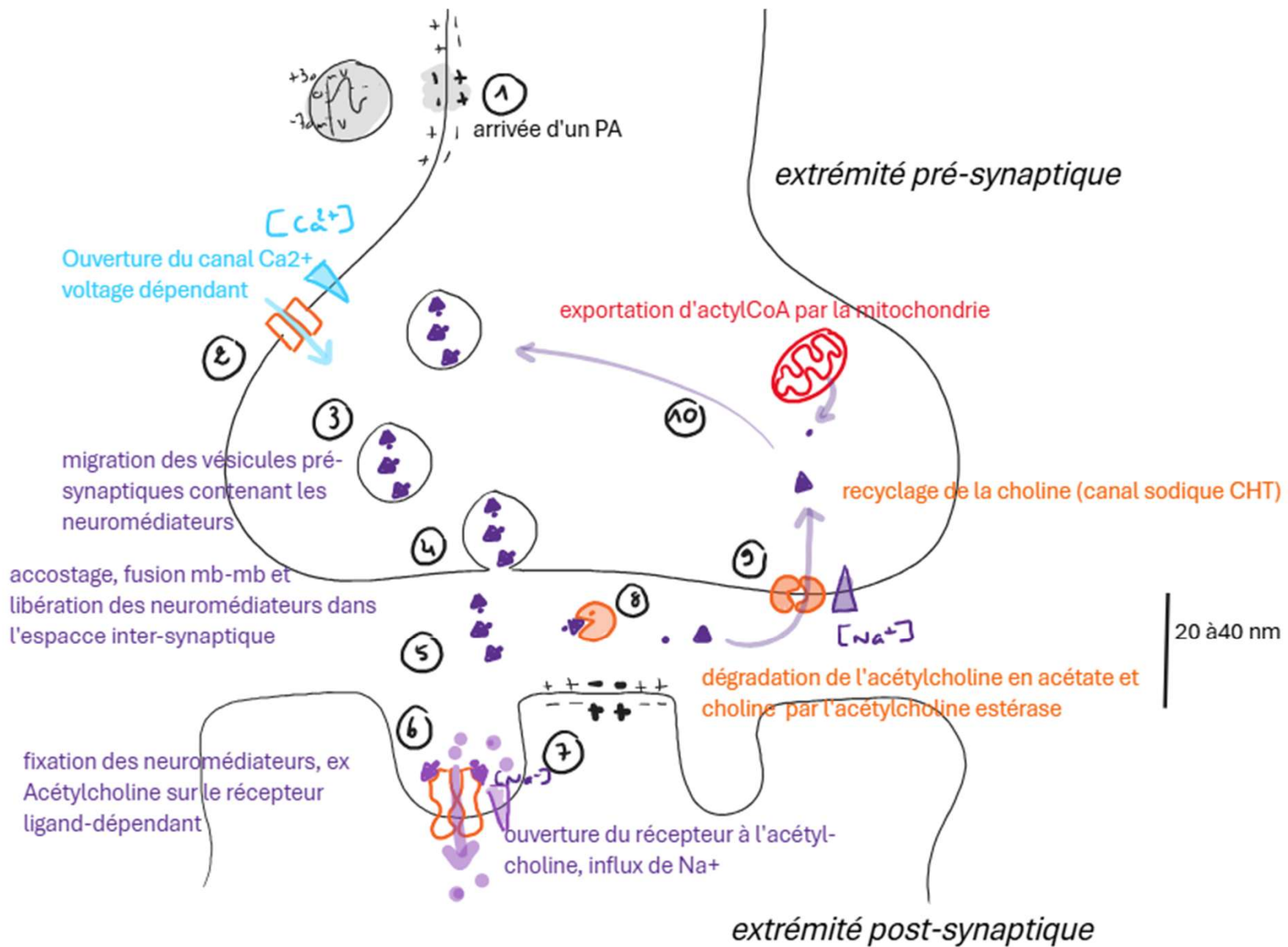
Arrimage et fusion

- Dans le cas de l'exocytose il peut y avoir un contrôle du déplacement près de la membrane plasmique.
- Le contrôle se fait via un signal intracellulaire qui relaie un signal extracellulaire nerveux ou hormonal → **second messenger (ex: Ca^{2+})**
- Exemple : décharge des vésicules contenant de l'acétylcholine/adrénaline en fonction de la concentration en Ca^{2+} .

Effet du calcium sur la sécrétion d'adrénaline



Exocytose des vésicules contenant les neurotransmetteurs au niveau d'une



Exocytose des vésicules contenant les neurotransmetteurs au niveau d'une synapse neuro neuronique ou neuromusculaire (S. Dalaine)

I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

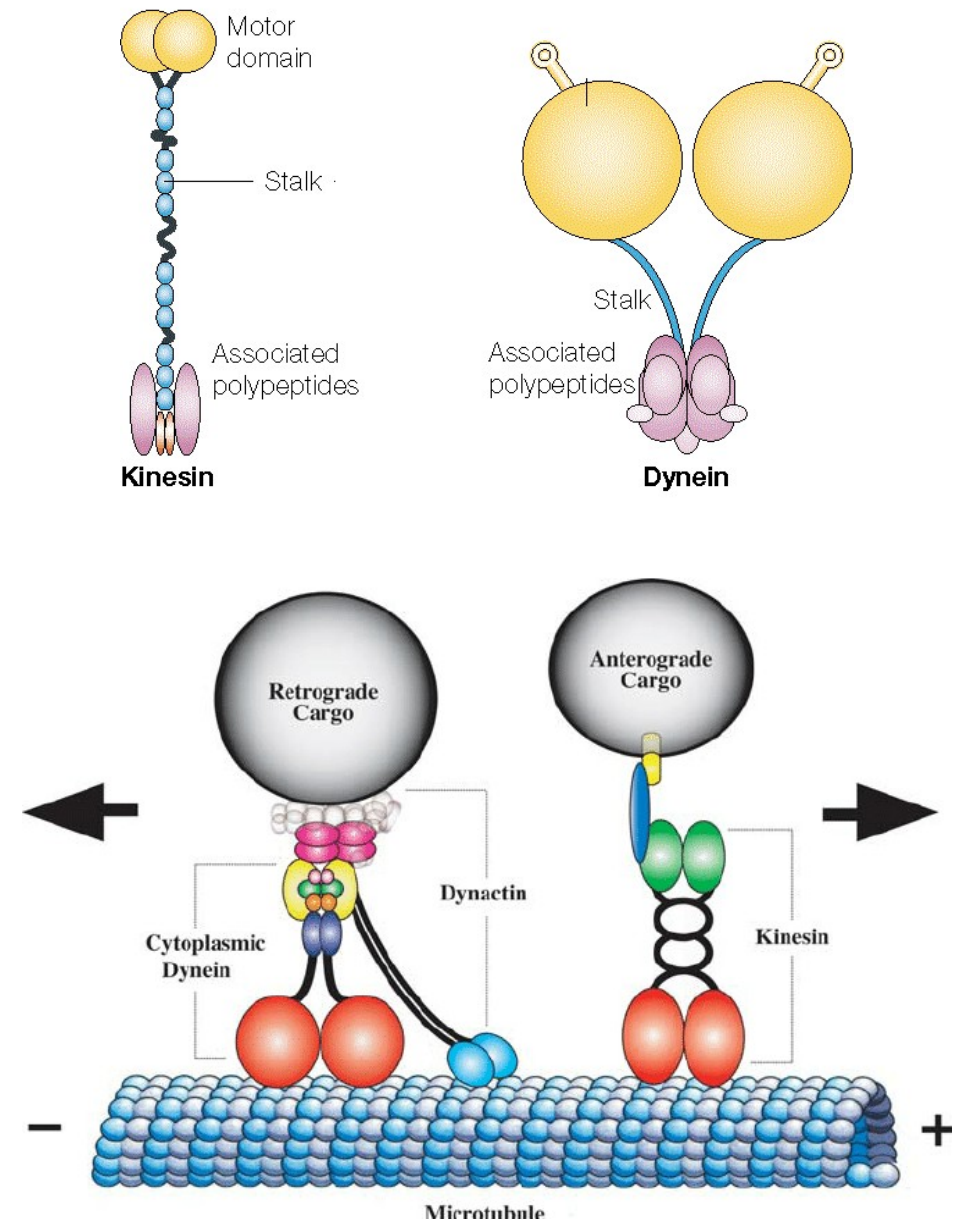
1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

D. LE TRANSPORT DES VÉSICULES SUR LE CYTOSQUELETTE NÉCESSITE DES MOTEURS MOLÉCULAIRES

- Dynéine et Kinésine sont des moteurs moléculaires associés aux microtubules (MAPS)
- Elles utilisent l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP pour se déplacer le long des microtubules
- La dynéine se déplace vers le pôle (-) des microtubules (donc vers le MTOC, souvent proche du noyau)
- La kinésine se déplace vers le pôle (+) des microtubules



I. Les membranes cellulaires, des bicouches fluides et asymétriques

A- Les membranes sont des mosaïques moléculaires

1. La fraction lipidique confère fondamentalement un rôle de barrière
2. Les protéines membranaires sont responsables de la spécialisation fonctionnelle
3. La fraction glucidique permet la reconnaissance cellulaire
4. L'asymétrie des glucides au niveau de la membrane plasmique
5. bilan sur la composition moléculaire de la membrane plasmique

B- Les membranes sont des structures fluides et dynamiques

1. Mise en évidence de la mobilité latérale
2. Importance biologique de la fluidité membranaire
3. Facteurs influençant la fluidité membranaire

II. Les échanges transmembranaires concernent les petites molécules

A. Les échanges transmembranaires passifs sont spontanés = exergoniques

1. La diffusion simple de l'eau et la diffusion facilitée par les aquaporines
2. Approche thermodynamique des échanges individuels
3. La diffusion des solutés par diffusion simple (mécanisme non saturable)
4. La diffusion des grosses molécules polaires par diffusion facilitée (mécanisme saturable) : nécessité de transporteurs
5. La diffusion des ions par diffusion facilitée : mise en jeux de canaux ioniques

B. Les échanges transmembranaires actifs nécessitent de l'énergie (endergoniques)

1. Transports actifs primaires : utilisent l'énergie libérée par hydrolyse de l'ATP
2. Transports actifs secondaires : utilisent l'énergie d'un gradient électrochimique

C. Conséquences des échanges ioniques (passifs et actifs) : formation d'une ddp transmembranaire

1. mise en évidence d'une ddp transmembranaire
2. Etude expérimentale de la DDP
3. interprétation thermodynamique de la mise en place d'une ddp transmembranaire
4. Origine du potentiel de membrane des cellules animales
5. Réalisation de gradients de concentration

III. Les transferts de particules volumineuses sont couplés à des flux de membrane

A. Endocytose et exocytose reposent sur des flux de membrane

B. L'endocytose assure l'entrée de molécules de grande taille dans la cellule

1. Etude d'un exemple : l'absorption du cholestérol
2. L'endocytose repose sur le bourgeonnement de vésicules : importance de la fluidité de la membrane plasmique

C. L'exocytose assure la libération de molécules synthétisées par la cellule

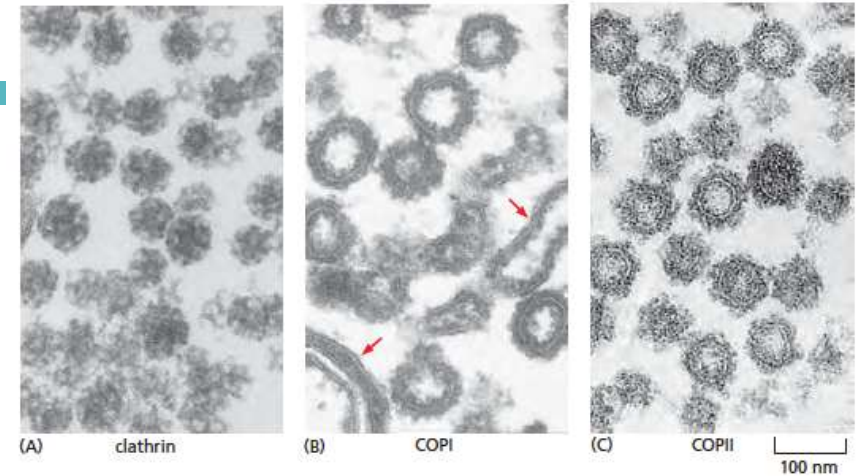
1. L'exocytose repose sur la reconnaissance entre la vésicule et la membrane cible
2. L'exocytose repose sur la fusion entre la vésicule et la membrane cible : importance de la fluidité de la membrane plasmique

D. Le transport des vésicules sur le cytosquelette nécessite des moteurs moléculaires

E. Les flux de membranes se compensent en maintenant la surface membranaire et la composition membranaire

E. LES FLUX DE MEMBRANES SE COMPENSENT EN MAINTENANT LA SURFACE MEMBRANAIRE ET LA COMPOSITION MEMBRANAIRE

- Les transports vésiculaires au sein du REG font intervenir différents types de vésicules



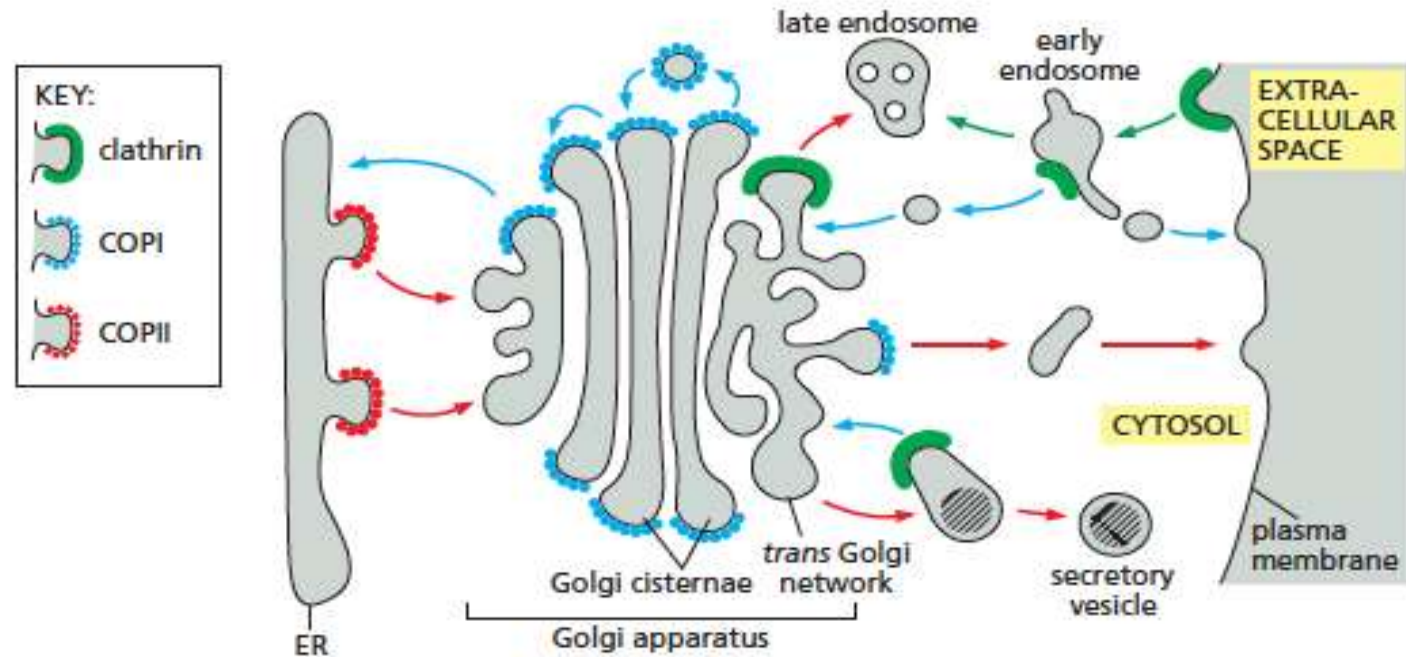
- Ils se font dans les 2 sens : antérograde, rétrograde

Trois types de vésicules recouvertes au sein du REG (in Alberts)

- Les vésicules issues du bourgeonnement du Golgi ont plusieurs devenir : exocytose, transport rétrograde, fusion avec d'autres vésicules...

- Dans le cas de l'exocytose, c'est la **sécrétion**

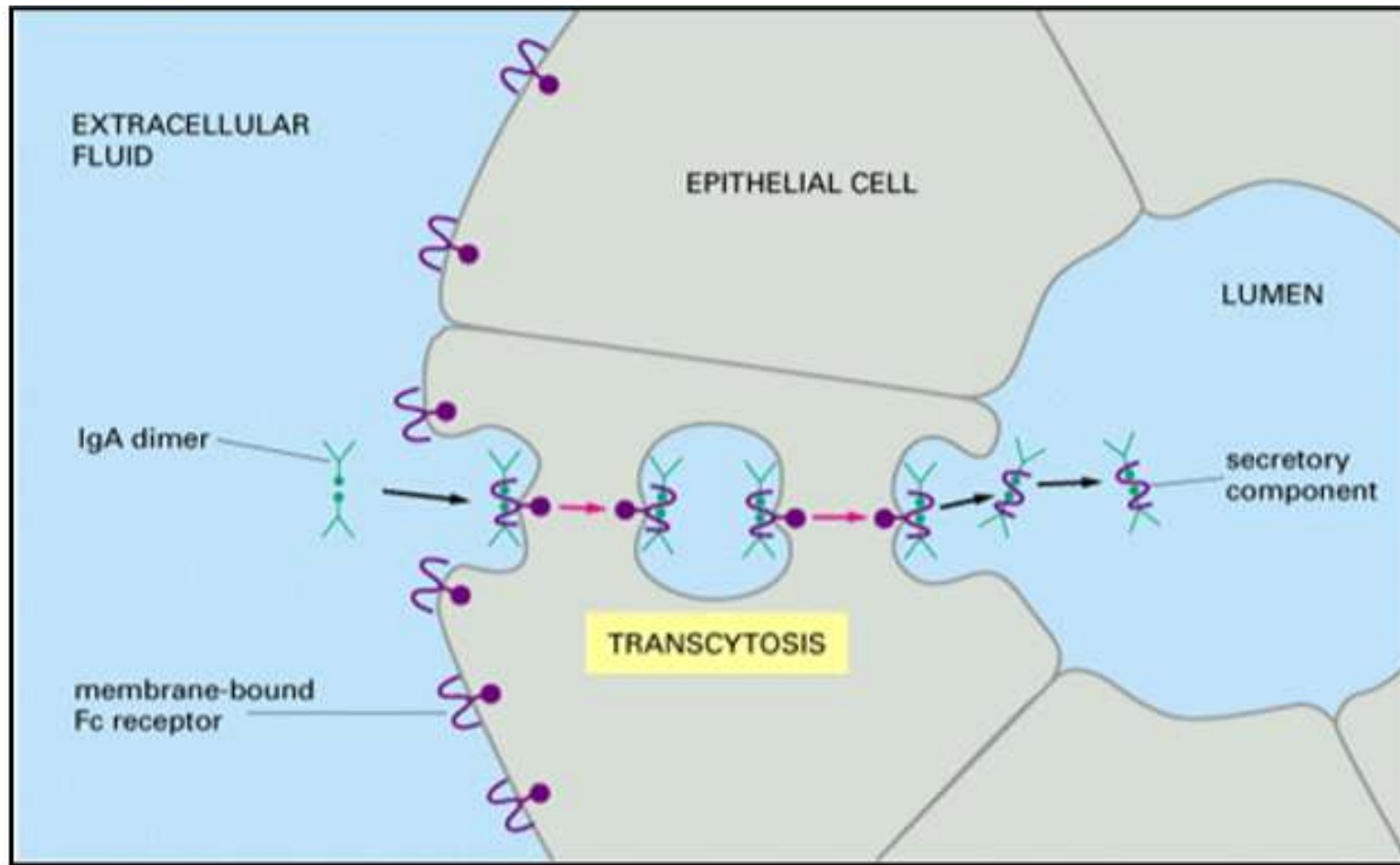
- Si sécrétion régulée (ex : sécrétion d'insuline) → des vésicules recouvertes de **clathrine**.
- Si sécrétion non régulée → vésicules recouvertes de **coatomère (COP I)**



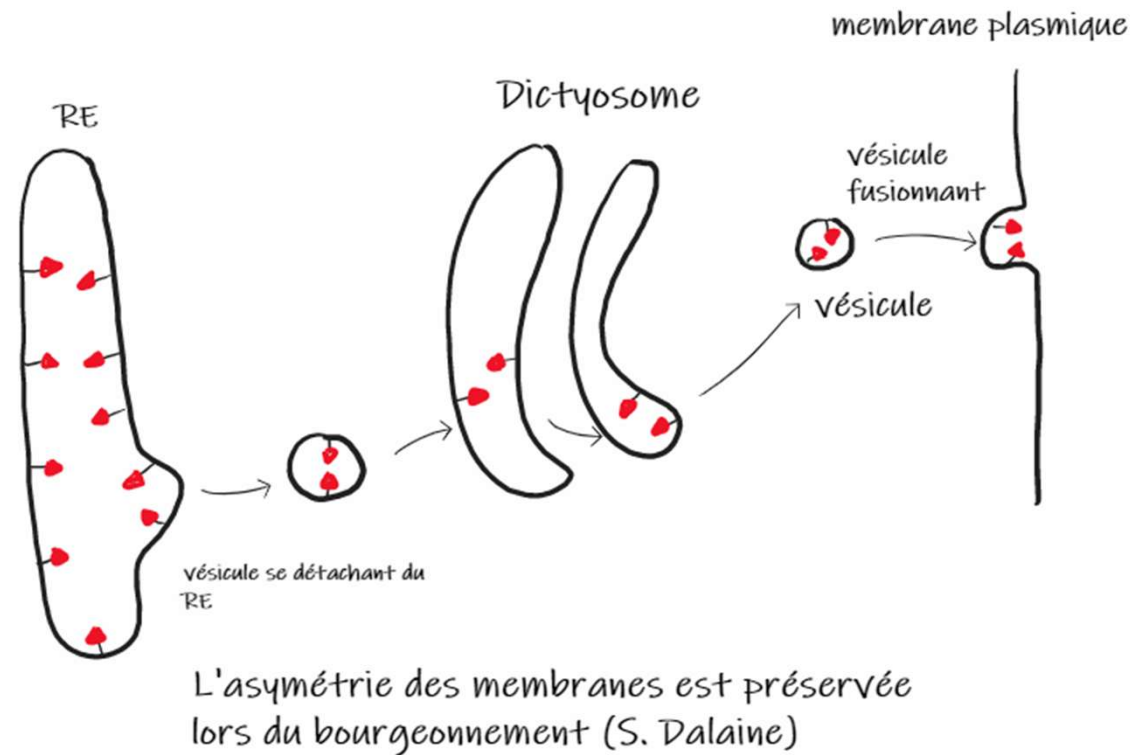
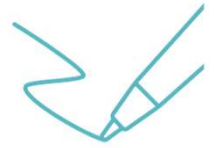
Différents types de vésicules et leurs devenir à la sortie du Golgi (in Alberts)

BILAN FONCTION DES CYTOSES

- Il peut y avoir un flux continu de l'endocytose à l'exocytose : c'est la **transcytose**
Ex : IgA du lait maternel



BILAN FONCTION DES CYTOSES



- Les vésicules transférées entre les membranes préservent leur **asymétrie**.
 - La face **luminale du RE** et d'autres organites correspond à la face **extracellulaire de la membrane plasmique**.
 - L'intérieur des vésicules est assimilable au milieu extracellulaire
- L'asymétrie membranaire d'une vésicule golgienne de sécrétion est directement à l'origine de celle observée pour la membrane plasmique.

BILAN FONCTION DES CYTOSES

- **On a pu observer que des fibroblastes en culture intègrent le double de la surface de leur membrane plasmique en 1 heure ! Pourtant, ils n'augmentent pas de taille.**
- L'exocytose et l'endocytose sont donc des phénomènes qui se compensent et qui recyclent en permanence les composants intacts des membranes cellulaires.
- C'est un équilibre dynamique.



BILAN

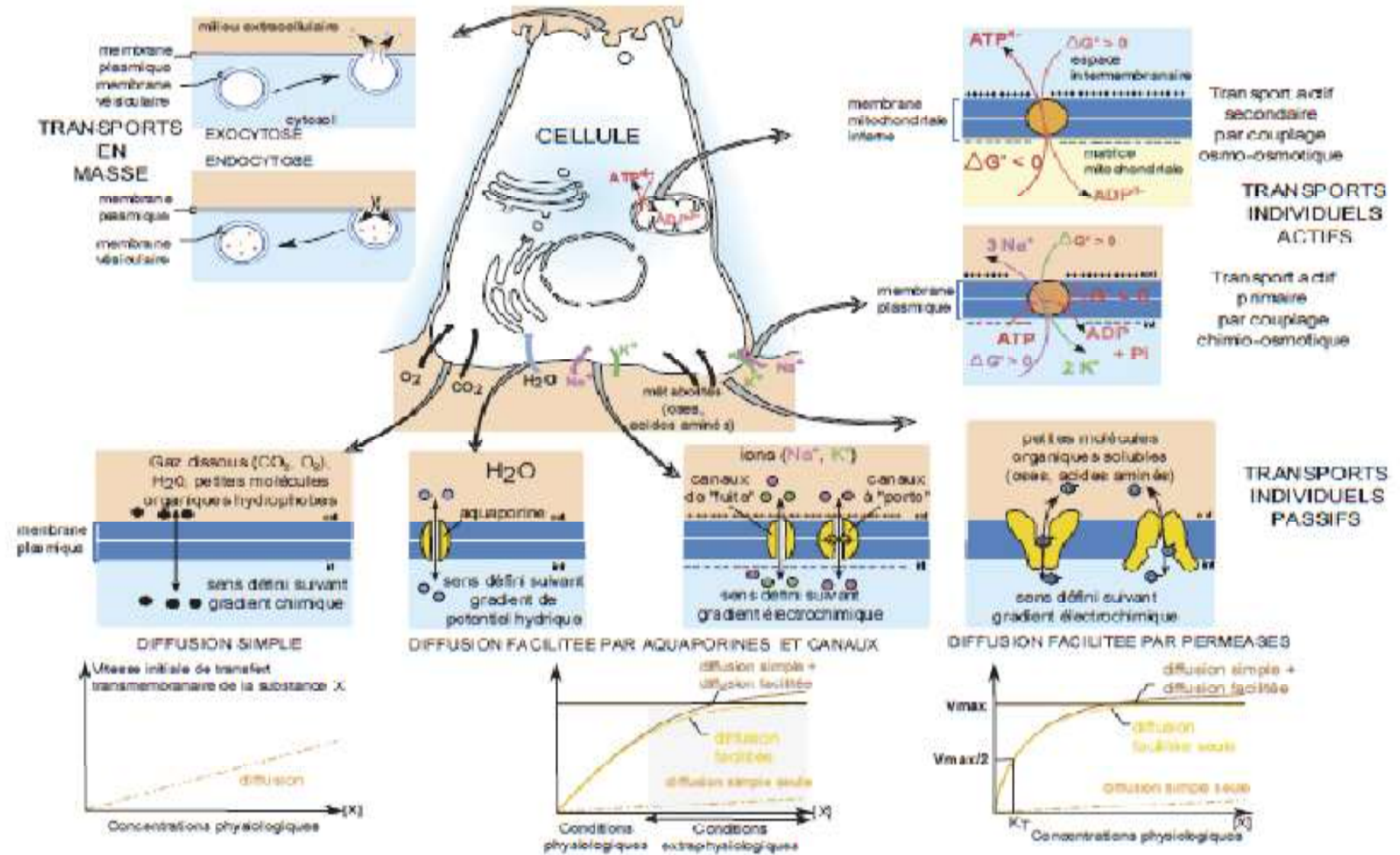


FIGURE DE SYNTHÈSE Échanges et membranes chez une cellule eucaryote.

Le schéma s'appuie sur l'exemple d'une cellule pancréatique exocrine de mammifère qui produit et libère vers la lumière des canalicules pancréatiques des précurseurs d'enzymes.

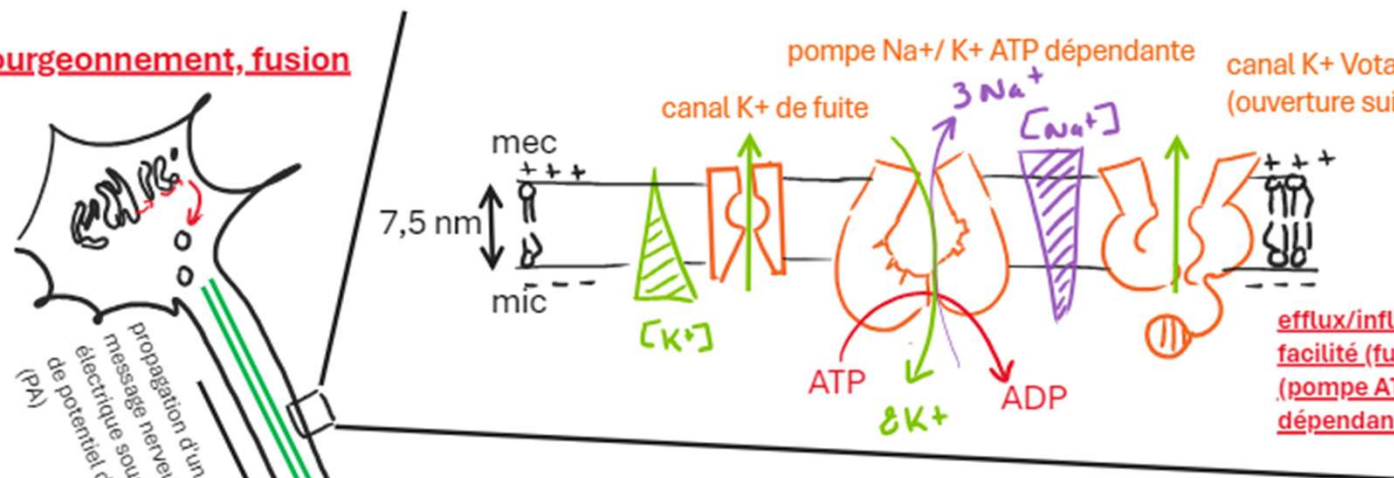
CONCLUSION GÉNÉRALE

Transports individuels transmembranaires	PASSIF $\Delta G' < 0$ selon le gradient (électro)chimique	Via la bicouche lipidique. Diffusion simple (loi de Fick)		cinétique linéaire Non saturable
	ACTIF $\Delta G' > 0$ selon le gradient (électro)chimique	Via une protéine membranaire Diffusion facilitée	Canal Perméase	cinétique linéaire Non saturable
Via une protéine membranaire		Transporteur Pompe	Cinétique hyperbolique saturable	
Transports en masse	$\Delta G > 0$ Ils requièrent toujours une dépense énergétique	Via des vésicules closes	Endocytose Exocytose Transcytose	—



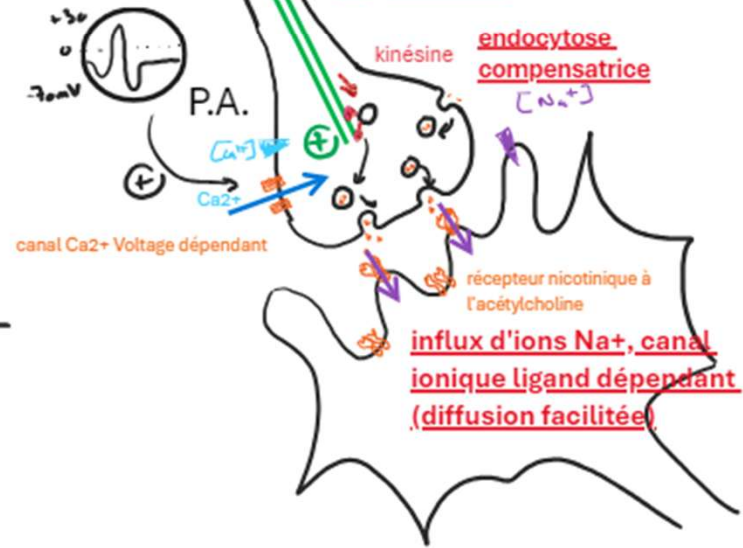
Entraînez-vous à schématiser les échanges de matière au sein d'un neurone ou d'un entérocyte. A vos plumes!

bourgeoisement, fusion



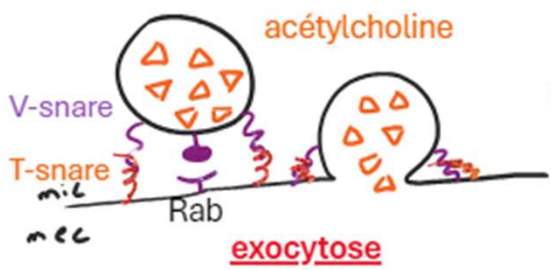
efflux/influx de K+: transport facilité (fuite), actif primaire (pompe ATP dép), voltage dépendant

transport vésiculaire le long de l'axone



endocytose compensatrice

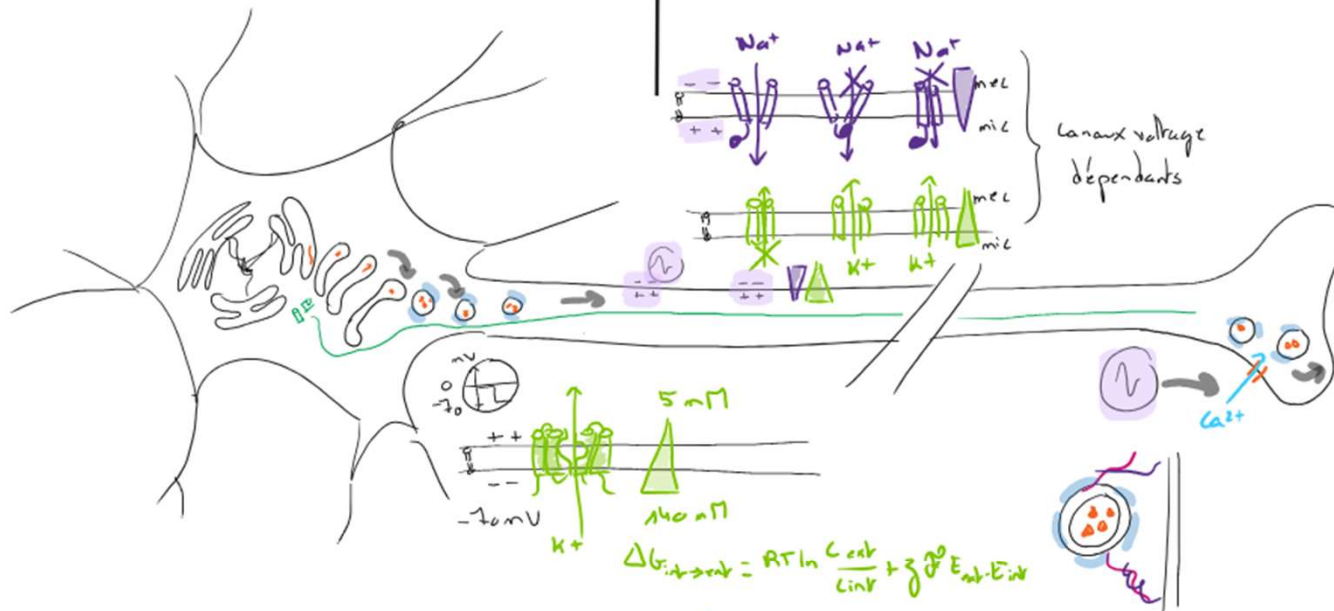
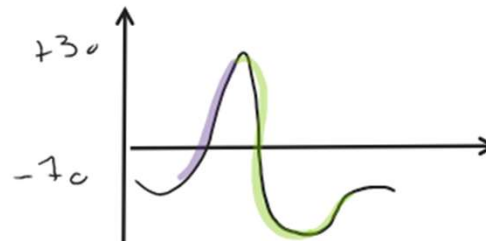
influx d'ions Na+, canal ionique ligand dépendant (diffusion facilitée)



exocytose

Transports individuels et de masse dans un neurone

$$E_{int} - E_{ext} = \Delta \phi \text{ (mV)}$$



À l'équilibre

$$\Delta G_{int \rightarrow ext} = 0$$

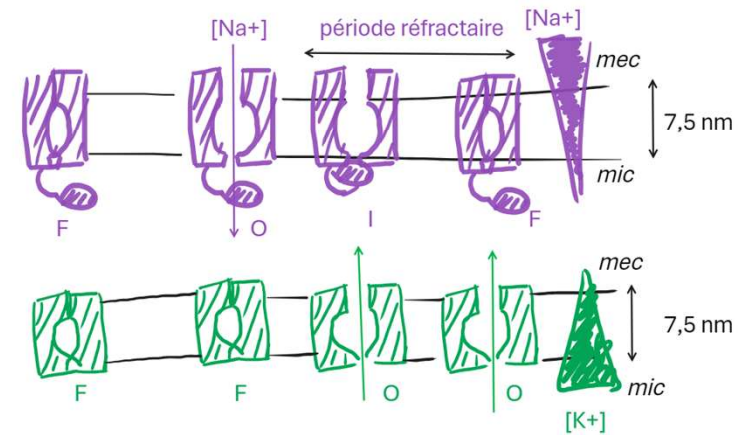
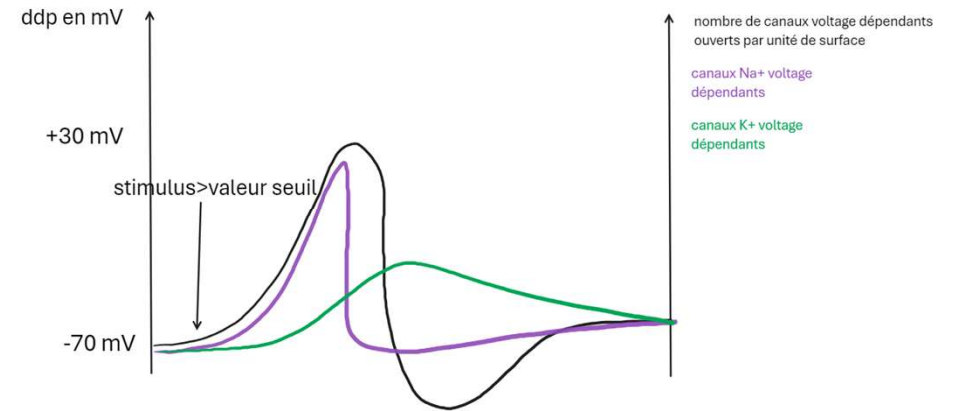
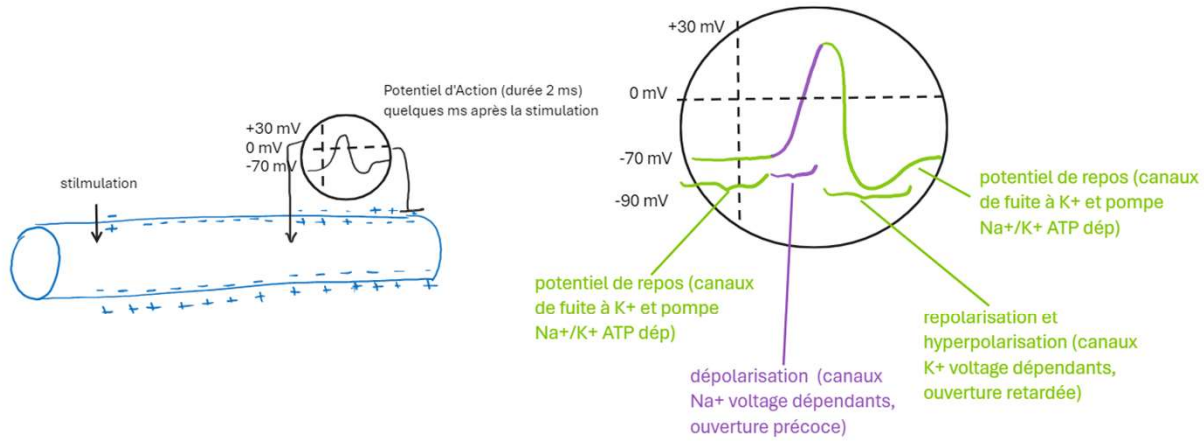
$$\Leftrightarrow RT \ln \frac{C_{ext}}{C_{int}} - z \int E_{ext} - E_{int}$$

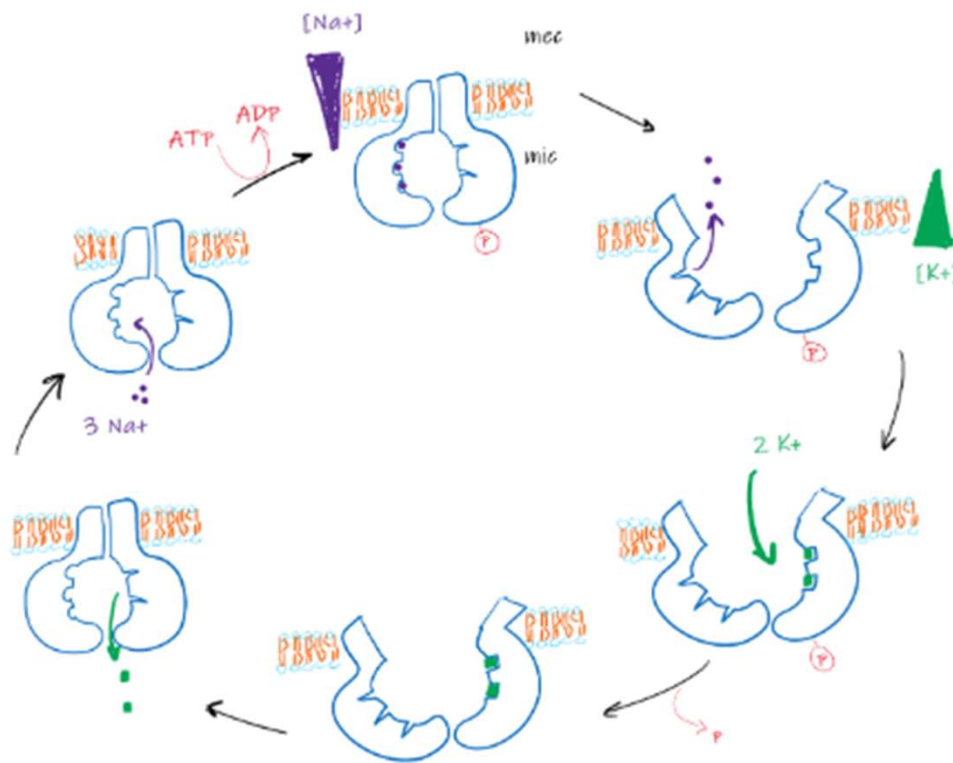
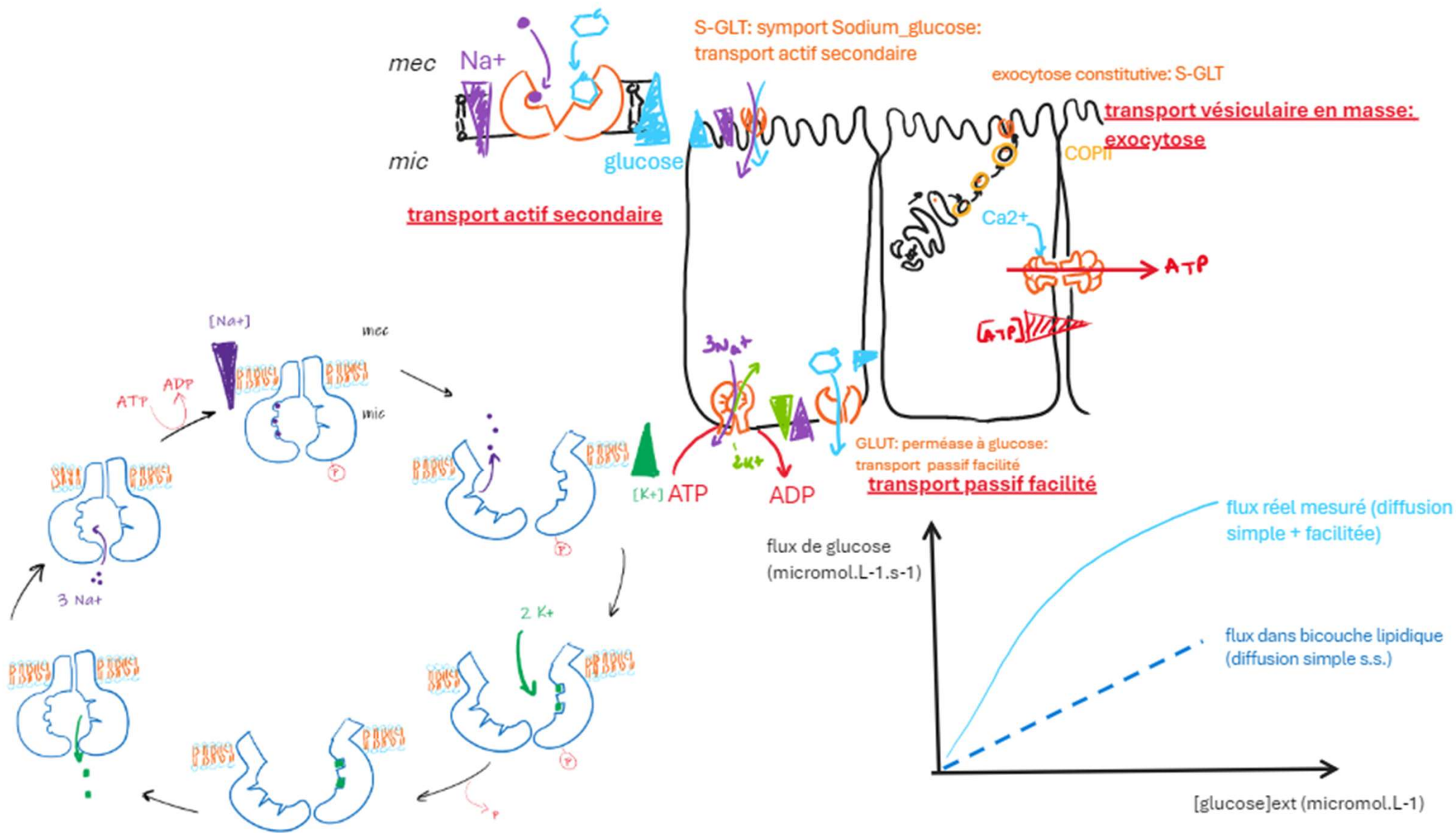
$$A.N \quad \frac{RT}{z \int} \ln \frac{C_{ext}}{C_{int}} = \frac{8.314 \times 310}{1 \times 96500} \ln \left(\frac{5}{140} \right) = E_{ext} - E_{int}$$

$$\text{À l'équilibre de } H_2O \text{ sur } K^+, \Delta E_{ext \rightarrow int} = +90 \text{ mV} \quad \text{--- } (-90) \text{ mV}$$

$$\text{soit } \Delta E_{int \rightarrow ext} = -90 \text{ mV}$$

axone géant de Calmar

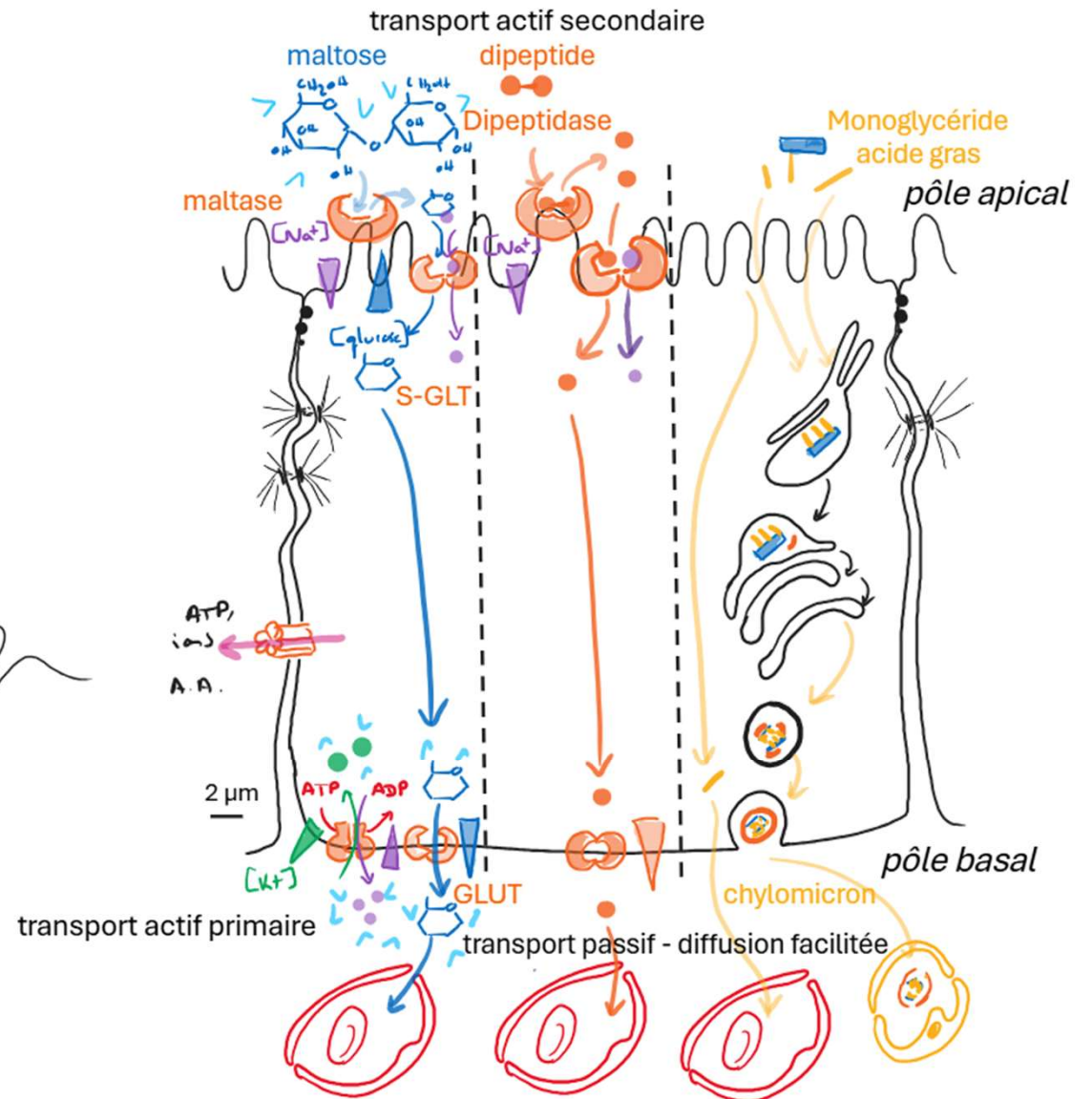
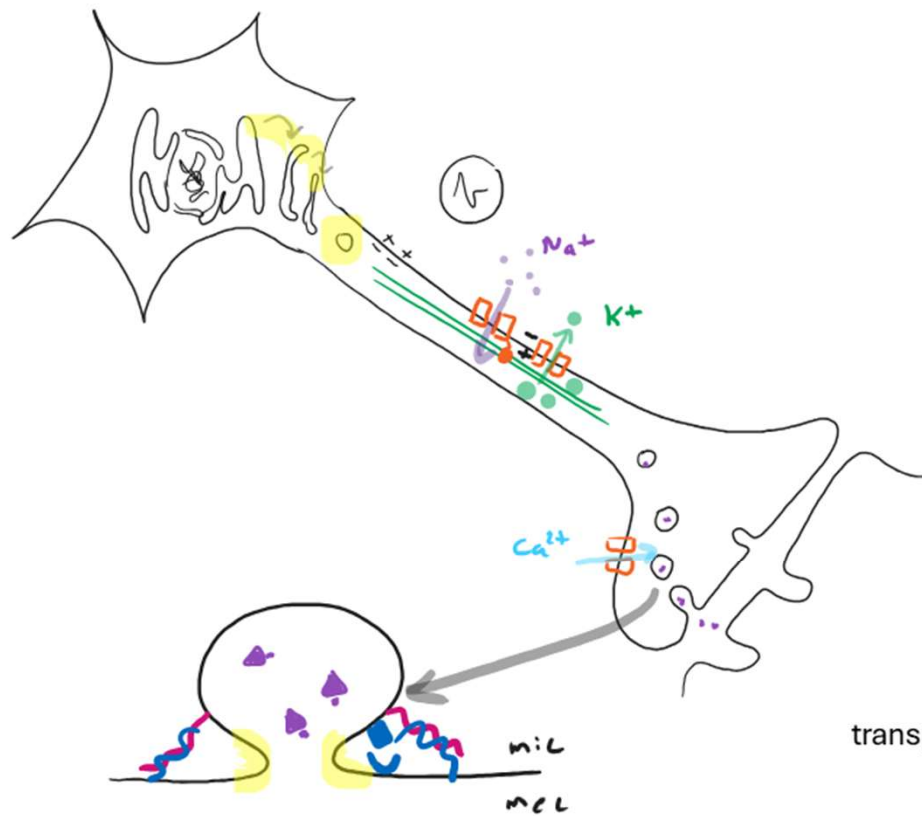




Modèle du cycle de pompage de la pompe Na/K ATP dépendante

transport actif primaire

Les flux de matière au sein d'un entérocyte



bourgeoisement fusion



(1) trains de potentiel d'action

canal ionique (Na⁺)
voltage dépendant
⇒ propagation des PA

(2) libération de neurotransmetteur (ex. ACh)

exocytose

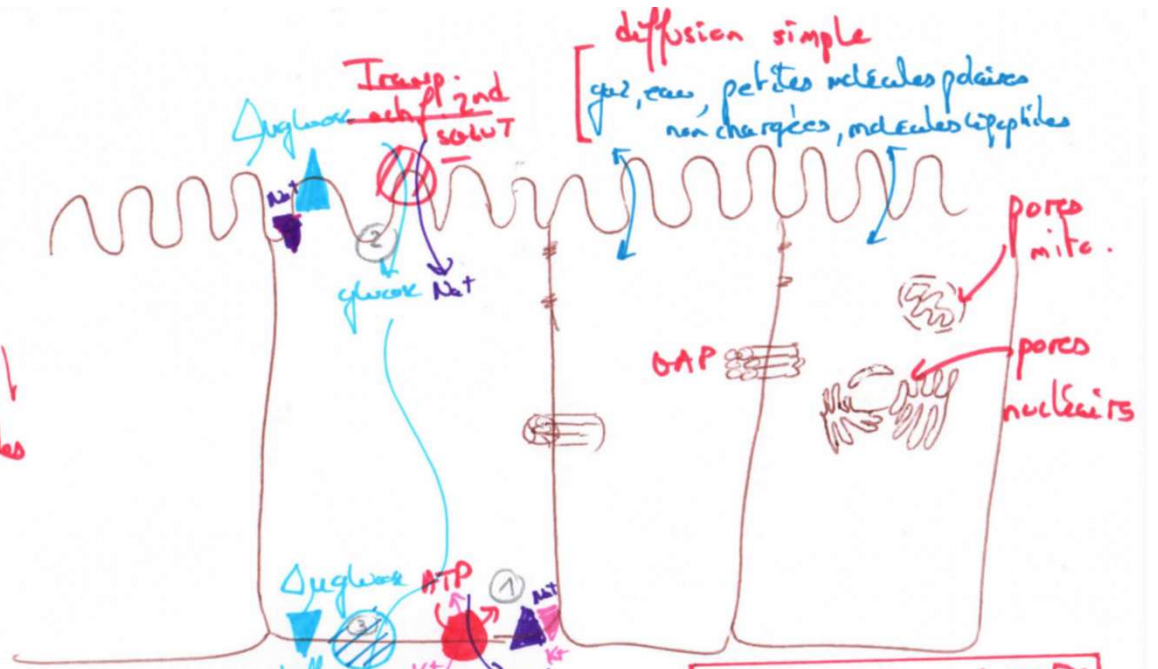


endocytose compensatoire

ECHANGES VESICULAIRES

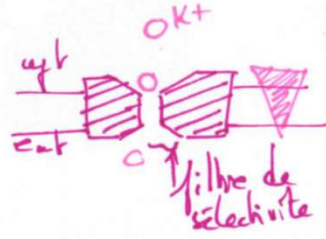
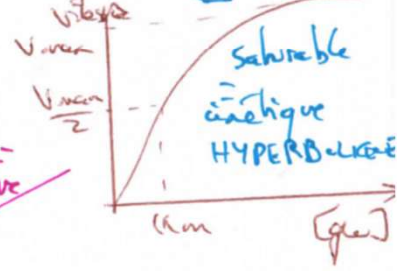
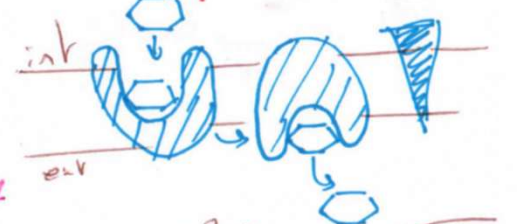
(3) Naissance d'un nouveau message électrique

DIFFUSIONS



TRANSPORTS ACTIFS

Transport facilité = perméase GLUT
GLUCOSE



non saturable - cinétique linéaire

transp. facilité = canal ionique de fuite ⇒ potentiel de repos

SUJETS DE SYNTHÈSE

Les membranes
l'asymétrie membranaire
les lipides membranaires
Rôles biologiques des lipides
Les membranes, des structures dynamiques
La membrane plasmique, une structure fluide
La membrane plasmique : une mosaïque fluide : justifiez, discutez Endocytose et exocytose
Les flux membranaires
Les transporteurs membranaires
Le potentiel transmembranaire
Les canaux ioniques
Les échanges d'ions de part et d'autre d'une membrane
La perméabilité membranaire
Les transports actifs
Les transports passifs
Endocytose et exocytose
Diffusion simple et diffusion facilitée à travers la membrane plasmique
Le passage des ions minéraux à travers les membranes
Le passage du glucose à travers les membranes
Les transports actifs à travers la membrane plasmique
Le transport passif des solutés
Transports actifs primaires et secondaires
Les membranes et les ions
La membrane plasmique, une surface d'échanges

