

SV-C-3 poly 01

Membranes et échanges membranaires

Fig. 1. Rappel : quelques lipides membranaires. ★★★

Phosphatidylcholine (un glycérophospholipide), Sphingomyéline (un sphingolipide) Cholestérol

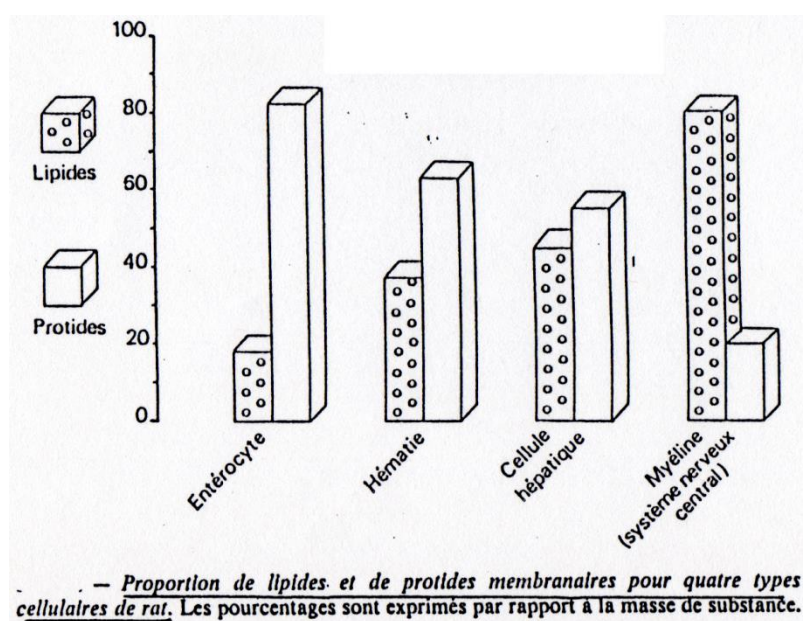
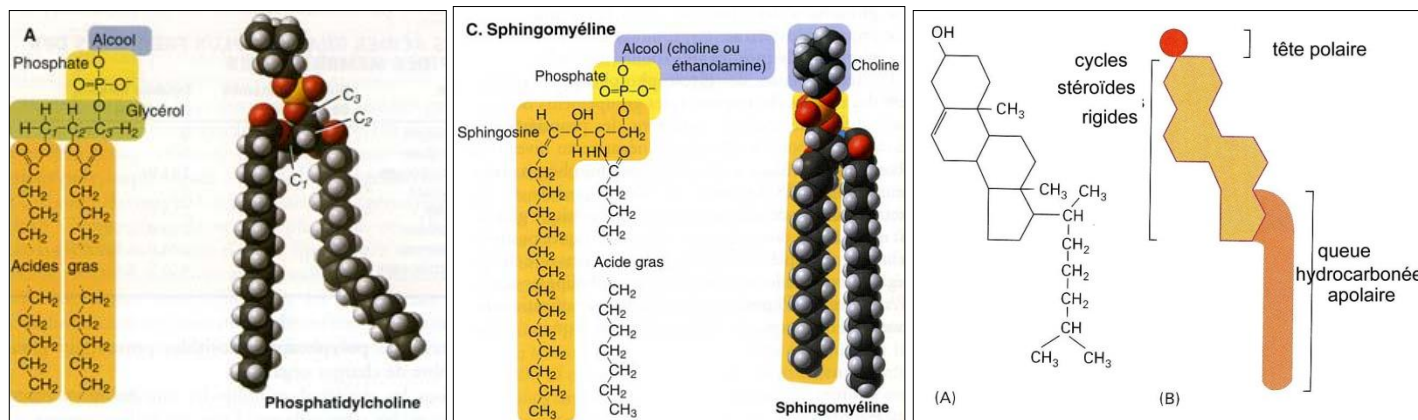


Fig. 2. Composition lipidique et protéique de différentes membranes plasmiques ★★

Fig. 3. Deux exemples de protéines transmembranaires ★★★ [2]

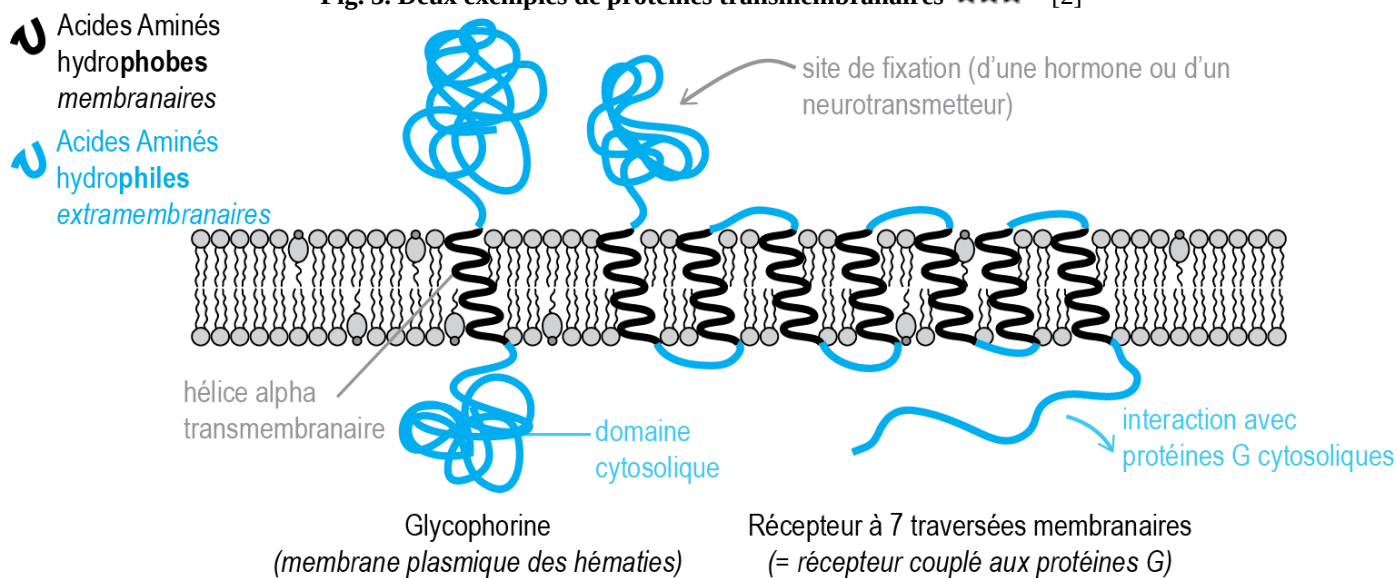
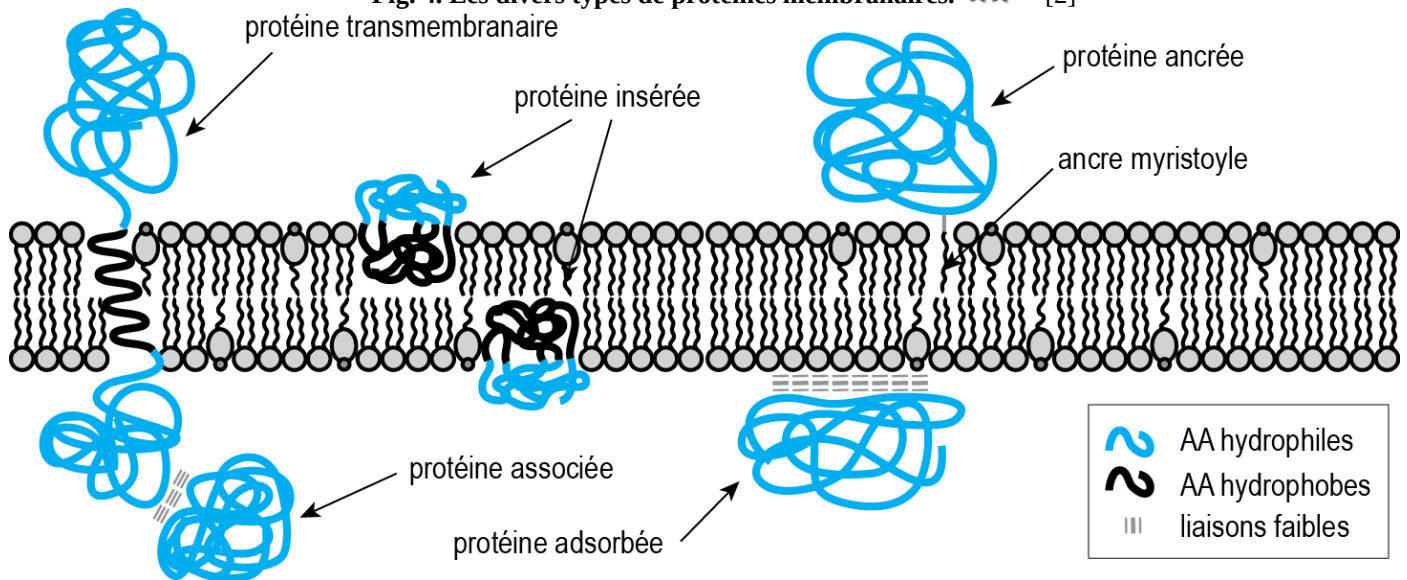


Fig. 4. Les divers types de protéines membranaires. ★★ [2]

Lipides (distribution en %)	Membrane plasmique	
	Face externe	Face interne
Phosphatidyléthanolamine	10	90
Phosphatidylsérine	0	100
Phosphatidylcholine	90	10
Glycolipides	100	0
Cholestérol	75	25

Fig. 5. Composition lipidique des faces externe et interne d'une membrane plasmique (cellule humaine). ★**Compositions Lipidiques Approximatives de Différentes Membranes Cellulaires**

	Pourcentage des Lipides Totaux en Poids					
	Membrane plasmique hépatique	Membrane plasmique des érythrocytes	Myéline	Mitochondrie (membranes interne et externe)	Réticulum endoplasmique	E. coli
Cholestérol	17	23	22	3	6	0
Phosphatidyl- éthanolamine	7	18	15	35	17	70
Phosphatidylsérine	4	7	9	2	5	traces
Phosphatidyl- choline	24	17	10	39	40	0
Sphingomyéline	19	18	8	0	5	0
Glycolipides	7	8	28	traces	traces	0
Autres	22	13	8	21	27	30

Fig. 6. Composition lipidique de différentes membranes, plasmiques ou non.

(La myéline est formée de cellules enroulées plusieurs fois autour de certains neurones : elle forme une gaine isolante, interrompue seulement au niveau des nœuds de Ranvier)

★[savoir expliquer l'idée générale à partir d'un exemple]

Fig. 7. Mise en évidence de la fluidité membranaire. ★★★**Fig. 7-A. Suivi de lipides membranaires individuels.**

On marque des lipides membranaires grâce à des anticorps couplés à une bille d'or, ce qui permet un suivi en vidéomicroscopie au MET. On peut ainsi quantifier le mouvement, qui est rapide, de l'ordre de 2 $\mu\text{m/s}$.

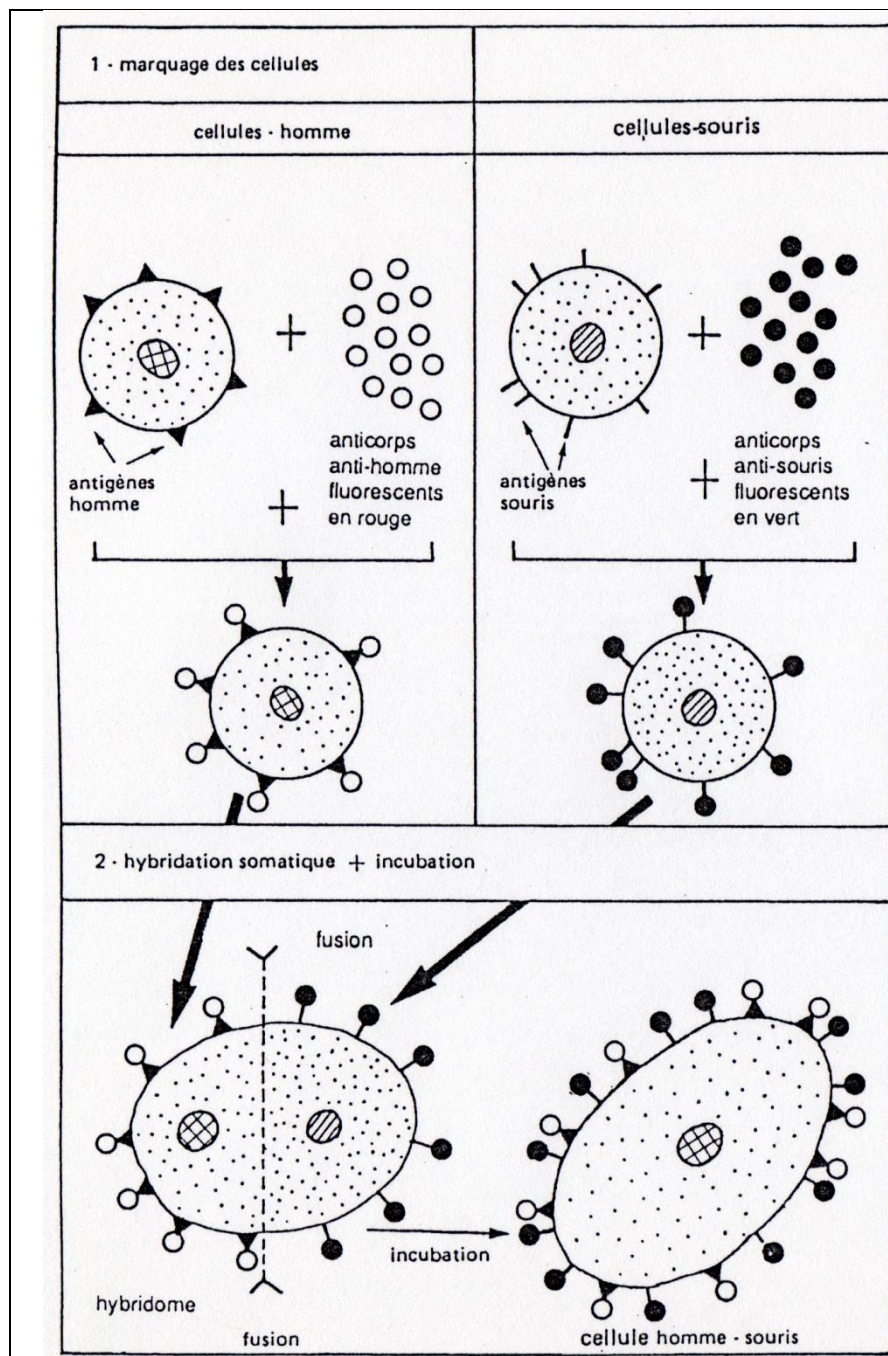


Fig. 7-B. Hétérocaryons homme-souris

On procède à la fusion de deux cellules dont des antigènes membranaires ont été préalablement marqués par des anticorps fluorescents. Les deux fluorescences se mêlent de manière progressive, ce qui montre la diffusion latérale des antigènes marqués au sein de la membrane plasmique.

Fig. 7-C. Mise en évidence du flip-flop, ou mouvement lipidique entre les deux feuillets membranaires.

On mesure un signal paramagnétique (RPE) émit par des lipides formant un liposome. On élimine ensuite ce signal du côté de l'hémimembrane externe (passage du signal de 1 à 0,5). On note ensuite une décroissance correspondant à l'élimination du signal des lipides qui se trouvaient du côté interne de la membrane : ceci correspond au passage de ces lipides de la face interne vers la face externe. On peut noter que le $t_{1/2}$ de ces mouvements verticaux est de 5 heures. Ces mouvements (aussi appelés « flip-flop ») sont donc rares.

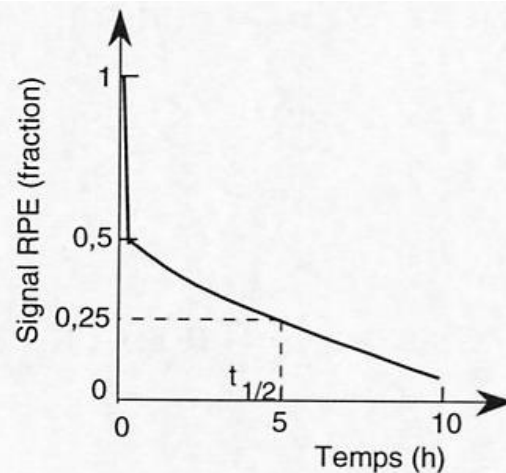


Fig. 8. Les mouvements lipidiques à l'origine de la fluidité membranaire. ★★★ [2]

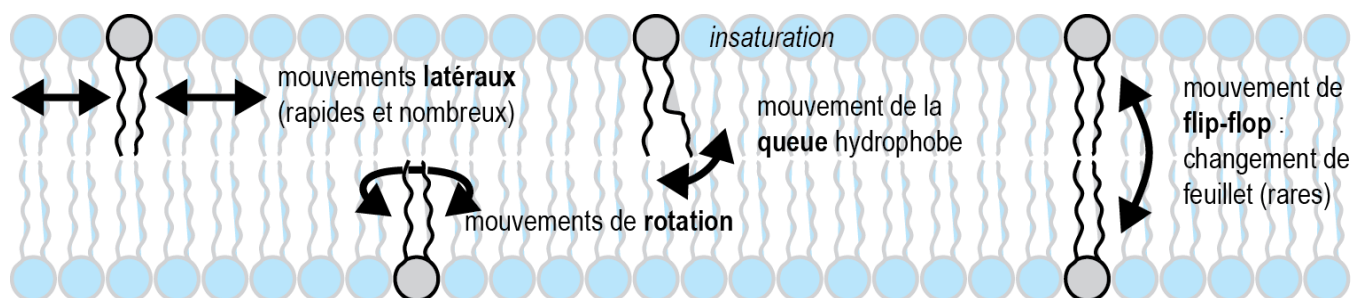
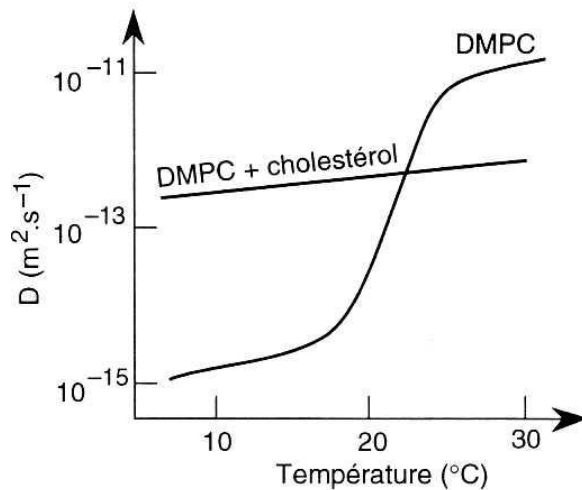
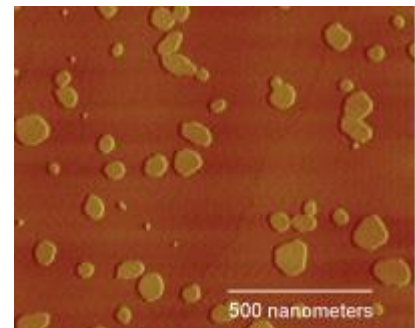


Fig. 9 Influence du cholestérol sur la fluidité membranaire. ★★

DMPC : liposomes constitués uniquement d'un phospholipide.
 DMPC + cholestérol : liposomes avec une membrane comportant un phospholipide **et** du cholestérol.

**Fig. 10. Observation de radeaux lipidiques dans une bicouche lipidique artificielle. ★**

Observation menée au microscope à force atomique, qui permet de distinguer, dans une bicouche lipidique artificielle, des zones en relief : ce sont des radeaux lipidiques, correspondant à des portions membranaires avec un comportement de type gel (= peu de mobilité), au contraire du restant de la membrane qui présente un comportement plus fluide

**Fig. 11. Jonction serrée. ★★★ [2]**

Cette jonction cellulaire est composée de protéines transmembranaires, appartenant aux **claudines** et aux **occludines**. L'association se réalise entre deux protéines identiques, portées par deux cellules voisines : elle permet un fort rapprochement des membranes plasmiques, d'où une séparation entre deux milieux extracellulaires. De plus, la présence de ces protéines bloque la fluidité membranaire à ce niveau.

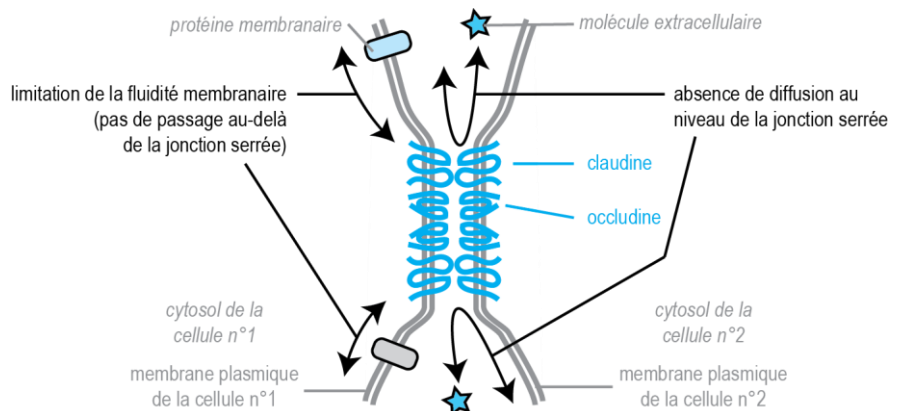
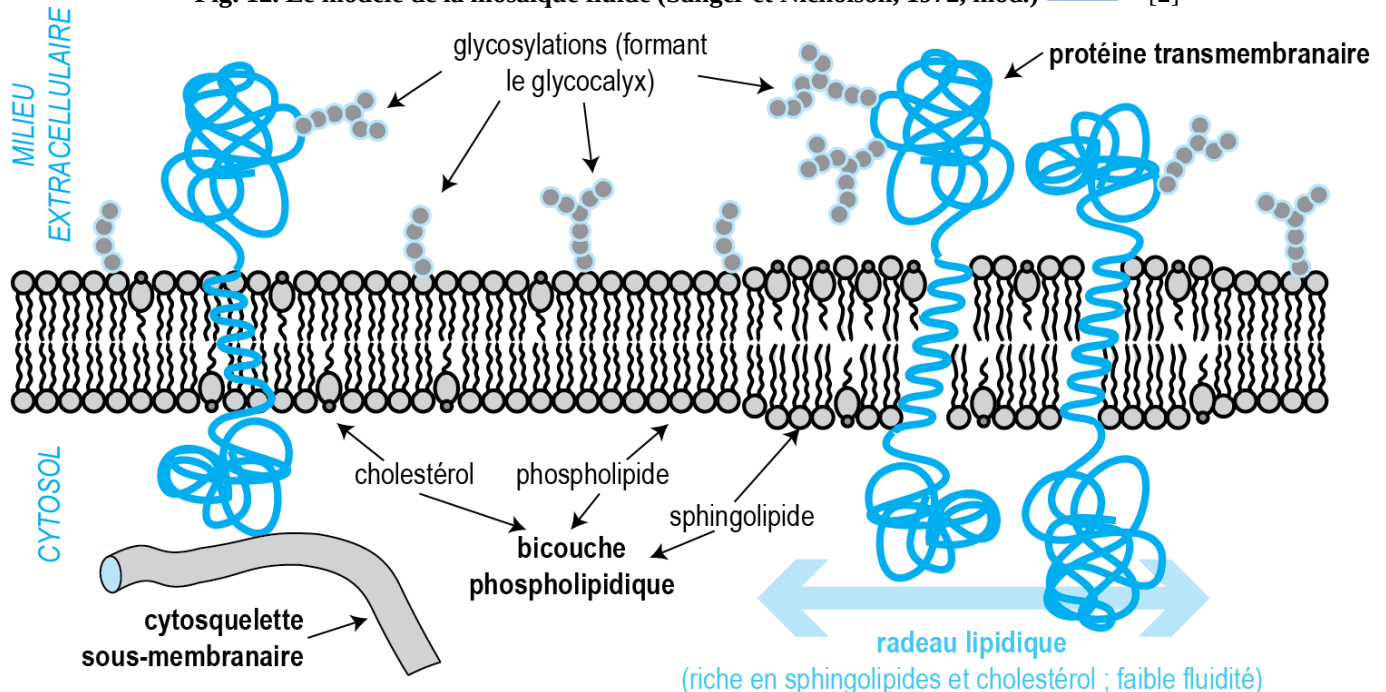
**Fig. 12. Le modèle de la mosaïque fluide (Sanger et Nicholson, 1972, mod.) ★★★ [2]**

Fig. 13. La loi de Fick. ★★★

La loi de Fick permet de calculer le flux d'une **molécule non chargée** entre deux compartiments, séparés par une membrane perméable à la molécule considérée.

$$J_{1 \rightarrow 2} = \frac{\partial N}{\partial t} = -DS \frac{\Delta C_{2-1}}{e}$$

$J_{1 \rightarrow 2}$: flux du compartiment 1 vers le compartiment 2
 ΔC_{2-1} : $C_2 - C_1$ (mol/m³)
 D : constante de diffusion, dépendant du milieu (m²/s)
 e : épaisseur de la membrane (m)
 S : surface de la membrane (m²)

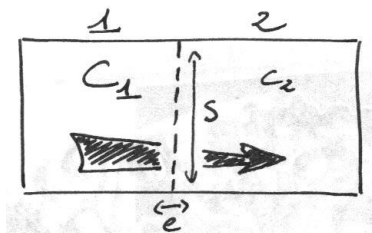


Fig. 14. Le potentiel électrochimique. ★★★

Le potentiel électrochimique est le potentiel chimique d'un **composé chargé électriquement**. Comme tout potentiel chimique, il s'agit de la dérivée partielle de l'enthalpie libre par rapport à la quantité de matière, les autres paramètres (P et T en particulier) étant considérés comme constants.

Pour nous, dans le cadre du cours de BCPST sur les flux membranaires, le potentiel électrochimique est donc une mesure de la variation d'enthalpie libre correspondant aux mouvements d'un composé ionisé de part et d'autre d'une membrane.

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{P,T}$$

Ce qui permet d'en déduire l'enthalpie libre :

$$G_{(T,P)} = \sum_i n_i \cdot \mu_i$$

Le potentiel électrochimique d'un ion permet donc de déterminer :

- Le **sens de diffusion passive** de cet ion, dans le sens des potentiels électrochimiques décroissants.
- La quantité de chaleur dégagée par le flux ionique, mesurée par la **variation d'enthalpie libre ΔrG** .

Les molécules considérées étant chargées, leur potentiel électrochimique dépend de deux termes :

Un potentiel **chimique**, dû uniquement à la **concentration C** :

$$\mu_{chimique} = RT \cdot \ln C$$

Un potentiel **électrique**, dû uniquement au **potentiel E** :

$$\mu_{électrique} = zF \cdot E$$

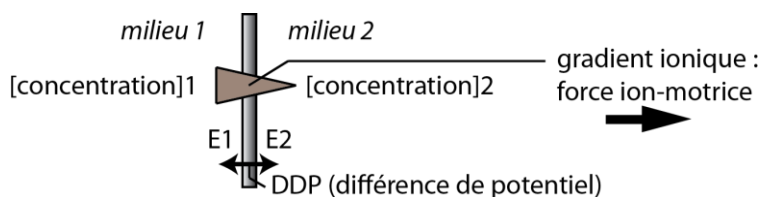
R = constante des gaz parfaits
 8.31 J/mol/K
 T = température absolue
 z = valence de l'ion considéré
 F = constante de Faraday
 96 500 C/mol

Le potentiel électrochimique peut donc s'exprimer comme la somme des potentiels chimique et électrique :

$$\mu = RT \cdot \ln C + zF \cdot E$$

Fig. 15. La force ion-motrice. ★★★

Dans le cas de deux compartiments séparés par une membrane, avec une concentration C_1 d'un ion dans le compartiment 1 et une concentration C_2 du même ion dans le compartiment 2, alors on peut calculer la variation d'enthalpie libre correspondant au flux ionique du compartiment 1 vers le compartiment 2, en fonction de la différence de potentiel électrique de part et d'autre de la membrane. Cette différence d'enthalpie libre correspond à une **force ion-motrice**, c'est-à-dire à l'énergie potentielle de la différence de concentrations ioniques de part et d'autre de la membrane.



$$\Delta rG_{1 \rightarrow 2} = \mu_2 - \mu_1 = RT(\ln C_2 - \ln C_1) + zF(E_2 - E_1) = RT \ln \frac{C_2}{C_1} + zF(E_2 - E_1)$$

$$\Delta rG_{1 \rightarrow 2} = zF(E_2 - E_1) - RT \ln \frac{C_1}{C_2} = zF(\text{ddp}) - RT \ln \frac{C_1}{C_2}$$

Avec 'ddp' la différence de potentiel électrique transmembranaire, mesurable à l'aide d'un voltmètre.

Fig. 16. Equation de Nernst ★★★

On rappelle que la force ion-motrice d'un gradient ionique peut être exprimée par :

$$\Delta rG_{1 \rightarrow 2} = zF(E_2 - E_1) - RT \ln \frac{C_1}{C_2} = zF(ddp) - RT \ln \frac{C_1}{C_2}$$

A l'équilibre, le flux ionique net est nul ; $\Delta rG = 0$. Ceci permet de calculer, pour un ion donné, quelle valeur de différence de potentiel électrique transmembranaire est atteinte lorsque cet ion se trouve à l'équilibre, entre deux compartiments A et B :

$$ddp_{A/B} = E_A - E_B = \left(\frac{-RT}{zF} \right) \ln \left(\frac{[ion]_A}{[ion]_B} \right)$$

C'est l'équation de Nernst.

Le passage d'un ion de part et d'autre d'une membrane chargée électriquement (ce qui est toujours le cas dans les cellules vivantes) se fera donc toujours dans le sens tendant à faire rapprocher la ddp membranaire du potentiel d'équilibre de l'ion (cf. DDP transmembranaire).

Si on se place dans le cas d'un ion au niveau de la membrane plasmique, on peut donc calculer le potentiel d'équilibre de cet ion, en fonction des concentrations observées :

$$E_{ion} = \left(\frac{-RT}{zF} \right) \ln \left(\frac{[ion]_{intracellulaire}}{[ion]_{extracellulaire}} \right) = \left(\frac{RT}{zF} \right) \ln \left(\frac{[ion]_{extracellulaire}}{[ion]_{intracellulaire}} \right)$$

Fig. 17. Potentiel hydrique Ψ ★★★

Le transfert d'eau se réalise spontanément dans le sens des potentiels hydriques décroissants.

$\Psi(\text{eau pure}) = 0$ MPa

Le potentiel hydrique dépend de plusieurs paramètres :

Potentiel osmotique Ψ_O

$\Psi_O = -\Pi$ (pression osmotique)

$\Psi_O = -RTC$

C étant la concentration totale en solutés : plus C est élevé, moins il y a d'eau « libre », non liée aux solutés $\rightarrow$ l'eau « libre » a tendance à diffuser vers ce compartiment

Potentiel gravitaire P_g

Pression due à la hauteur de la colonne d'eau. Il est négligeable en-dessous d'une hauteur de 10 m.

Au niveau cellulaire : $P_g = 0$

Potentiel hydrostatique P

Il s'agit de la pression exercée par les molécules d'eau sur les surfaces délimitant le compartiment.

Il peut s'agir, par exemple, de la pression de turgescence, dans le cas d'une cellule animale.

Dans les cellules animale, $P \approx 0$, du fait de la faible résistance de la MEC animale.

Potentiel matriciel P_m

Il s'agit des forces de rétention exercées par la matrice.

$\rightarrow$ à l'échelle cellulaire, P_g et P_m sont négligeables

$$\Psi = P + \Psi_O + P_g + P_m \approx P + \Psi_O$$

$$\Psi = P - RTC$$

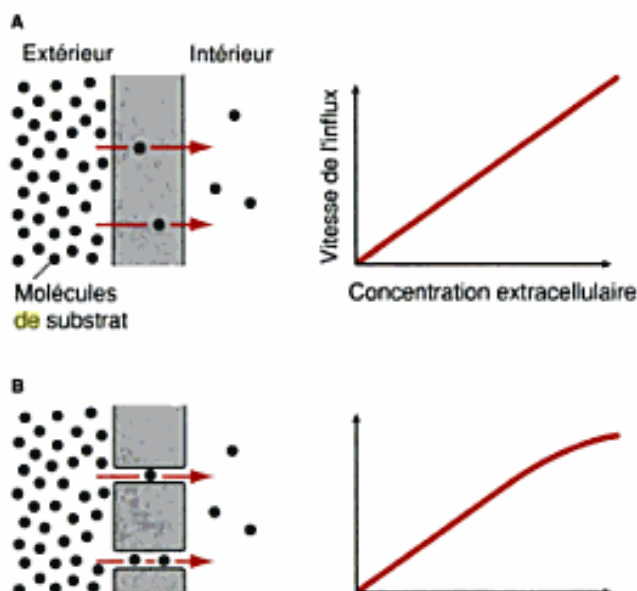


Fig. 18. Cinétiques de diffusion à travers une membrane. ★★★

A. Diffusion de molécules directement à travers les lipides membranaires : cinétique linéaire.

La pente est proportionnelle à la constante de diffusion de la molécule à travers la bicouche lipidique.

B. Molécules diffusant par un canal (permanent ou temporaire) : cinétique linéaire mais saturation à fortes concentrations.

C. Molécules passant par l'intervention d'un transporteur (passif ou actif) : cinétique hyperbolique montrant la saturation des sites de fixation des transporteurs au-delà d'une certaine concentration.

Le pallier atteint est proportionnel au nombre de sites de fixation présents, donc à la concentration en transporteur.

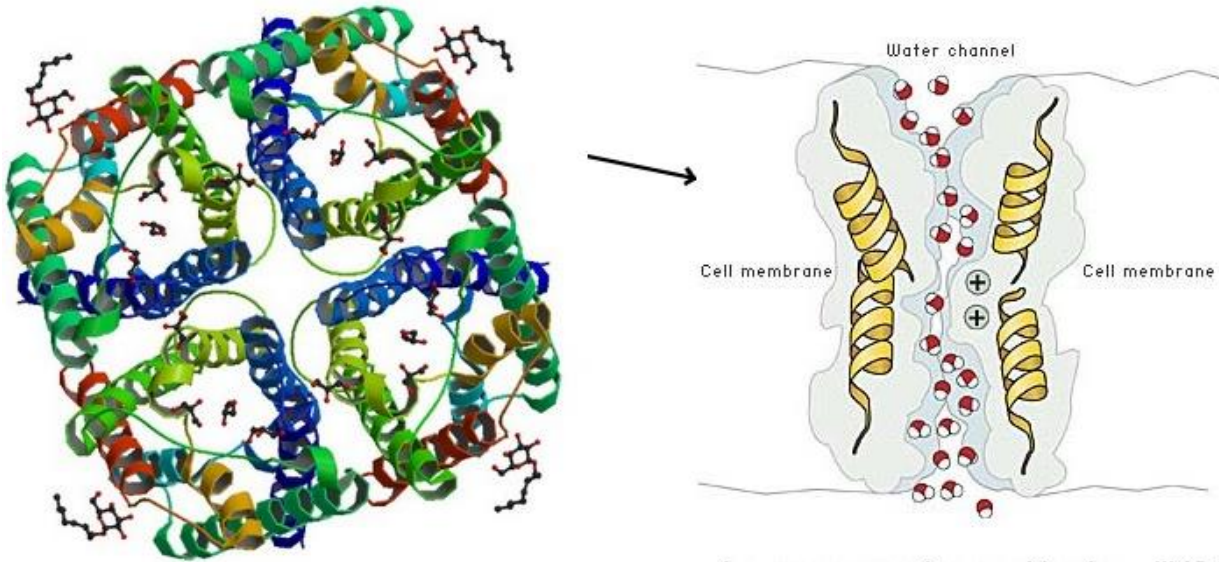


Fig. 20. L'aquaporine, canal à eau. ★★

A gauche : vue « du dessus » d'une aquaporine, formée de 4 sous-unités transmembranaires. A droite : vue en coupe d'une sous-unité, montrant le canal laissant passer les molécules d'eau mais pas les ions.

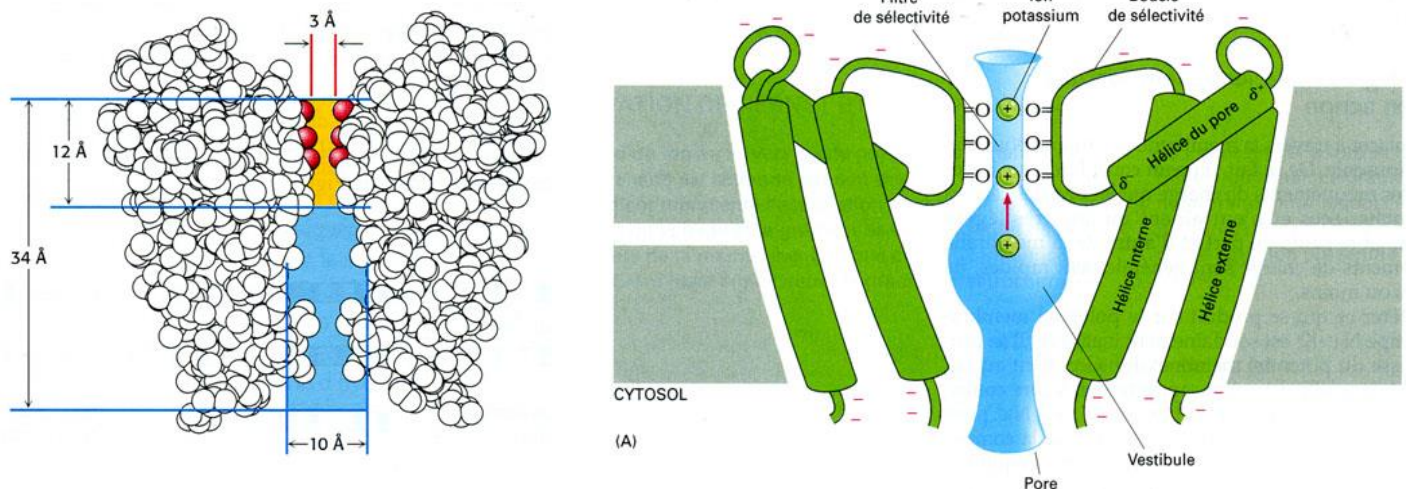


Fig. 21. Le canal de fuite au potassium K^+ . ★★

Noter le filtre de sélectivité : électronégatif (fonctions $C=O$) et d'une diamètre de 0,3 nm.

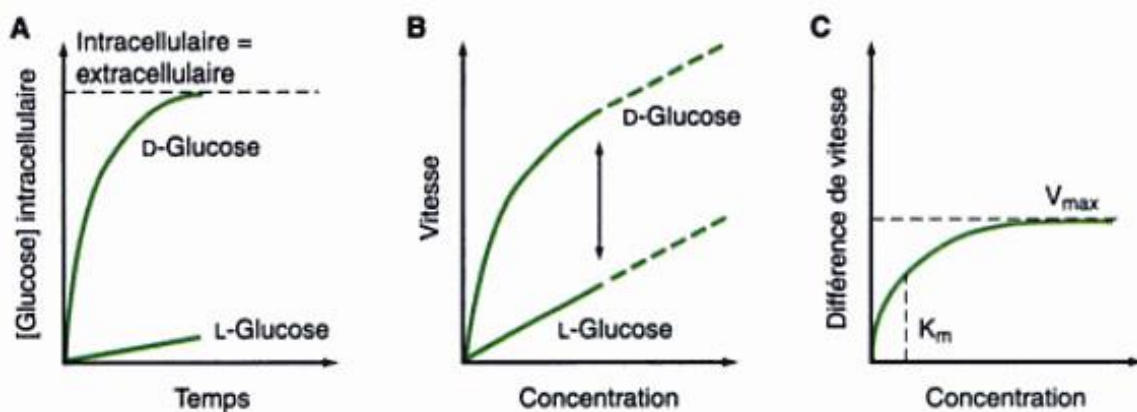
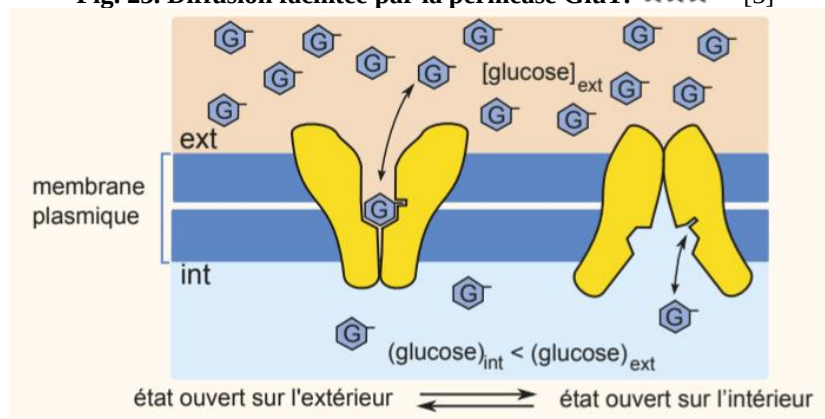


Fig. 22. Mesure de la diffusion du glucose : mise en évidence d'un transporteur. ★★★

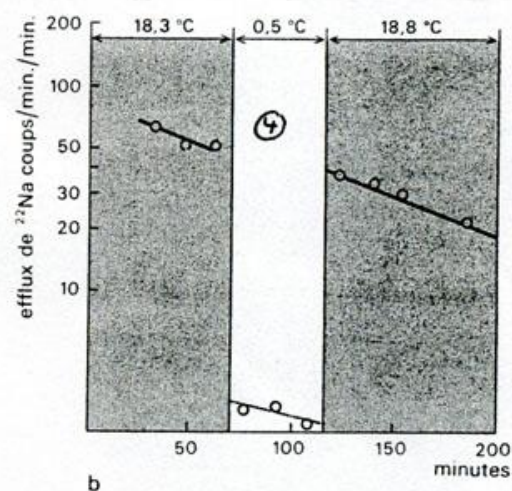
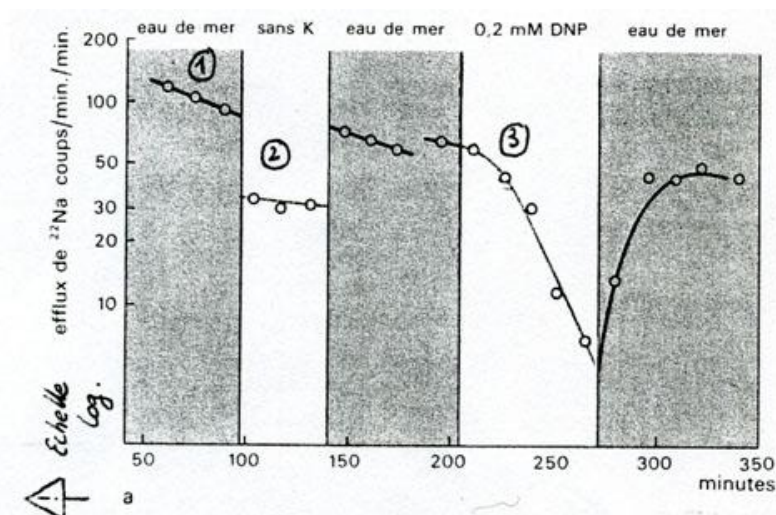
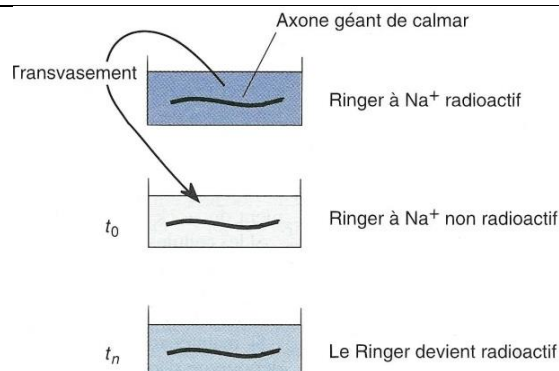
A. Mesure de l'internalisation du D-glucose ou du L-glucose en fonction du temps. Ces mesures permettent de déterminer une vitesse d'internalisation. **B.** Vitesses d'internalisation du D-glucose et du L-glucose en fonction de leur concentration. Le L-glucose ne passe la membrane que par diffusion simple, obéissant à la loi de Fick. La vitesse plus élevée pour le D-glucose suggère l'existence d'un transporteur accélérant sa diffusion. **C.** Courbe de vitesse obtenue par différence entre la vitesse d'internalisation de D-glucose (transporteur + diffusion simple) et du L-glucose (diffusion simple seule), montrant les vitesses d'internalisation du glucose due au transporteur au glucose.

Fig. 23. Diffusion facilitée par la perméase GluT. ★★★ [3]

Fig. 24. Etude expérimentale de la pompe Na^+/K^+ ATPase. ★★★

On étudie l'efflux de Na^+ sur un axone géant de Calmar. Pour cela, on incube un axone dans un milieu contenant du Na^+ radioactif, puis après passage dans du Ringer froid, on mesure l'efflux de radioactivité.

L'efflux (= flux sortant) de Na^+ est ainsi mis en évidence et quantifiable.



Effet de l'ATP sur la fraction des ions $^{22}\text{Na}^+$ perdue par minute par un axone empoisonné par du cyanure (CN^-). L'axone a été chargé en ions $^{22}\text{Na}^+$ pendant 12 minutes. Son immersion pendant 60 à 90 minutes dans une solution contenant 2 mmoles/l de CN^- provoque la disparition de l'ATP cytoplasmique, et une diminution de l'efflux des ions $^{22}\text{Na}^+$, (exprimé par k : fraction des ions $^{22}\text{Na}^+$ perdue par minute). Dans ces conditions, l'efflux des ions $^{22}\text{Na}^+$ peut être restauré partiellement par l'injection d'ATP dans l'axone (flèche). L'application d'ATP à l'extérieur de l'axone, ou l'injection d'ATP hydrolysé par ébullition n'ont pas d'effet sur l'efflux des ions $^{22}\text{Na}^+$.

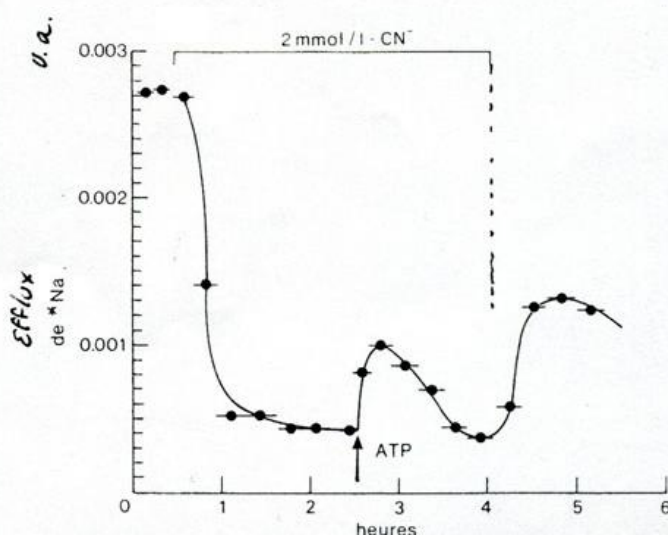


Fig. 25. Modèle du fonctionnement cyclique de la pompe Na/K ATP-dépendante. ★★★

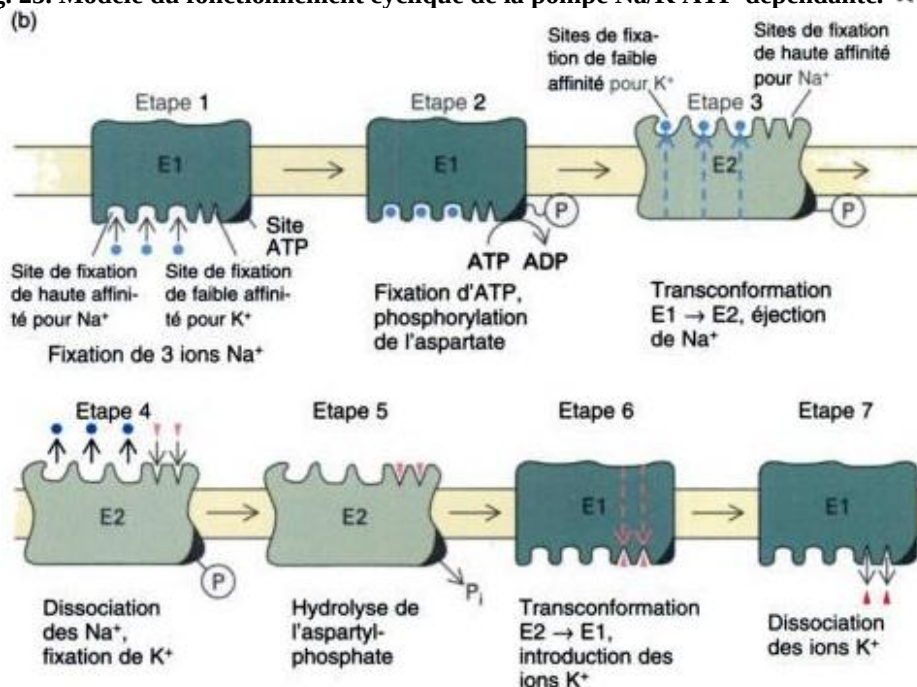
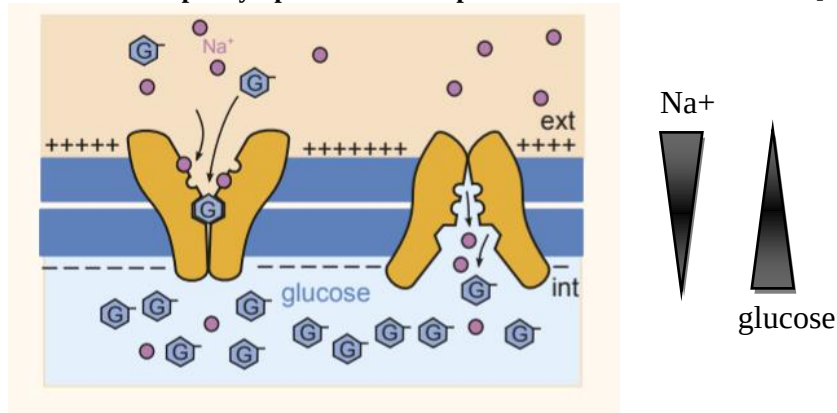
Fig. 26. Transport actif secondaire par symport : le cotransporteur $\text{Na}^+/\text{Glucose}$. ★★★ [3]

Fig. 27. Bilan : la diversité des flux transmembranaires. ★★★ [2]

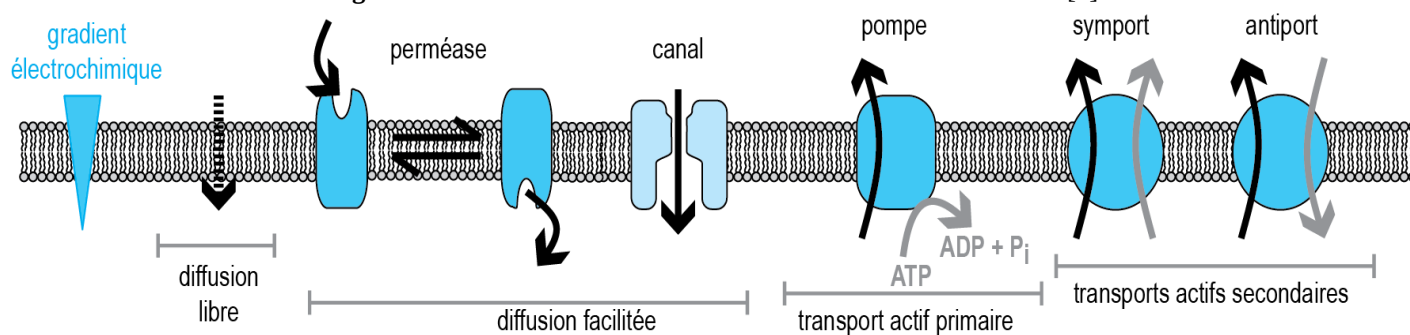


Fig. 28. Concentrations ioniques pour une cellule de Mammifère ★★

Ions	Cytosol axone (mM)	Milieu extracellulaire (mM)	Potentiel d'équilibre (mV)	$\Rightarrow$ Flux spontané
K^+	140	5	-83	Sortant
Na^+	14	140	+58	Entrant
Ca^{2+}	0,0001	1	+348	Entrant
Cl^-	14	147	-59	$\sim$ Nul

A savoir :
ions plus concentrés :

K^+ : dans le milieu intracellulaire
 Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- : dans le milieu extracellulaire

Fig. 29. Mesure de la DDP membranaire. ★★

Il est possible de **mesurer expérimentalement** la DDP transmembranaire, en particulier sur un axone géant de Calmar (mesure facilitée par la grande taille de la cellule) :

- L'axone géant est placé dans un liquide physiologique (Ringer par exemple), qui reproduit les concentrations ioniques du milieu intérieur de l'animal.
 - Une électrode est placée dans le liquide, et sert de référence.
- Une deuxième électrode est approchée de l'axone : à la pénétration dans le cytoplasme, on observe une **différence de potentiel de -60 mV** : la face cytoplasmique de la membrane plasmique est chargée négativement par rapport au milieu extracellulaire.

a : principe et mesure

b : axone géant de calmar avec électrode de verre de 0,1 nm

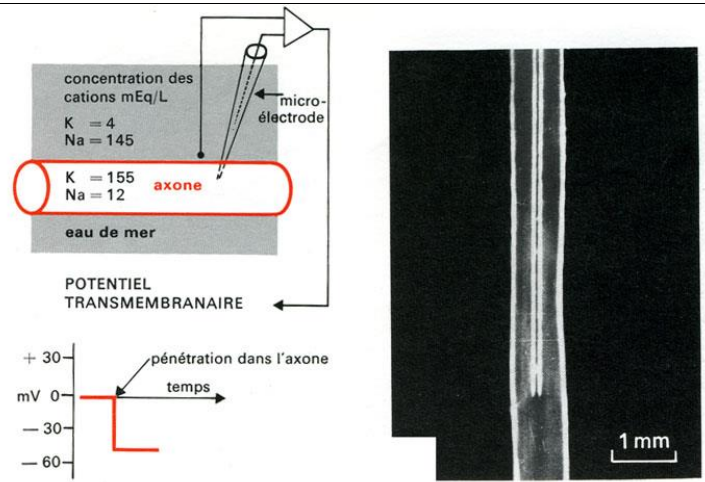


Fig. 29. Flux ioniques et flux hydrique au niveau des poils absorbants de la racine des Angiospermes. ★★★ [3]

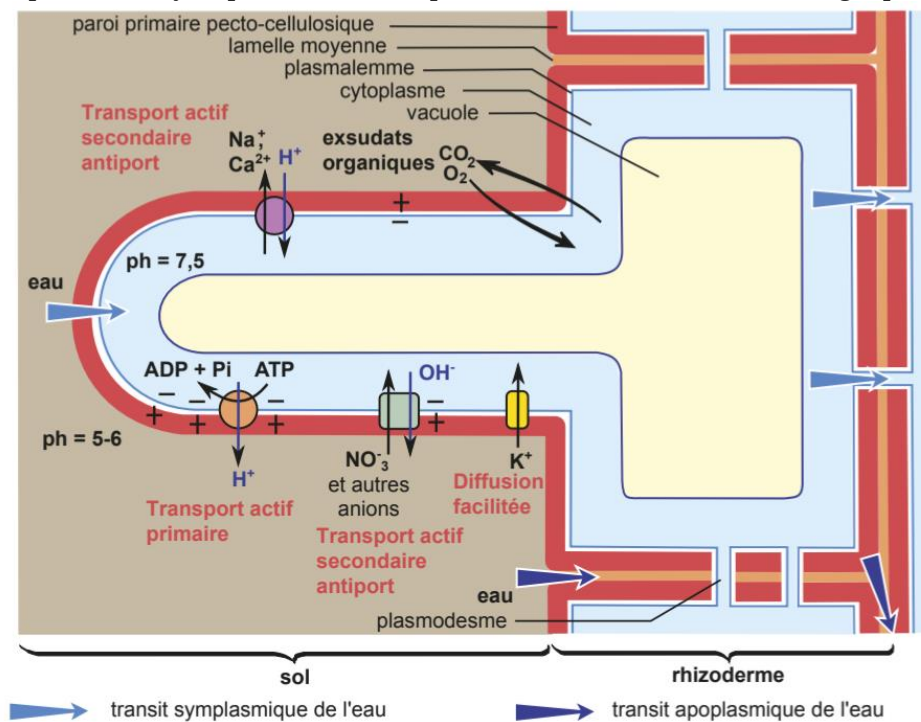


Fig. 30. Observation au MEB de la face intracellulaire d'une membrane plasmique montrant le regroupement des triskelions de Clathrine et la formation de puits recouverts.

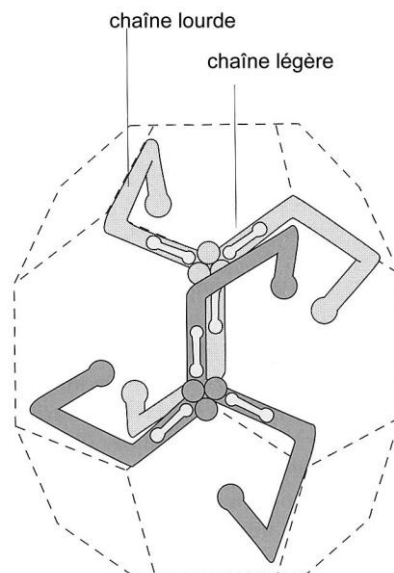
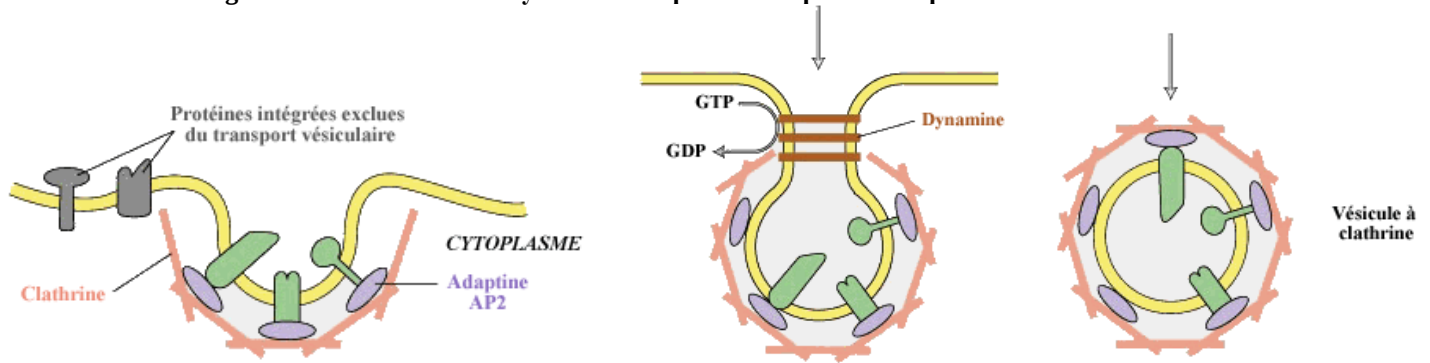
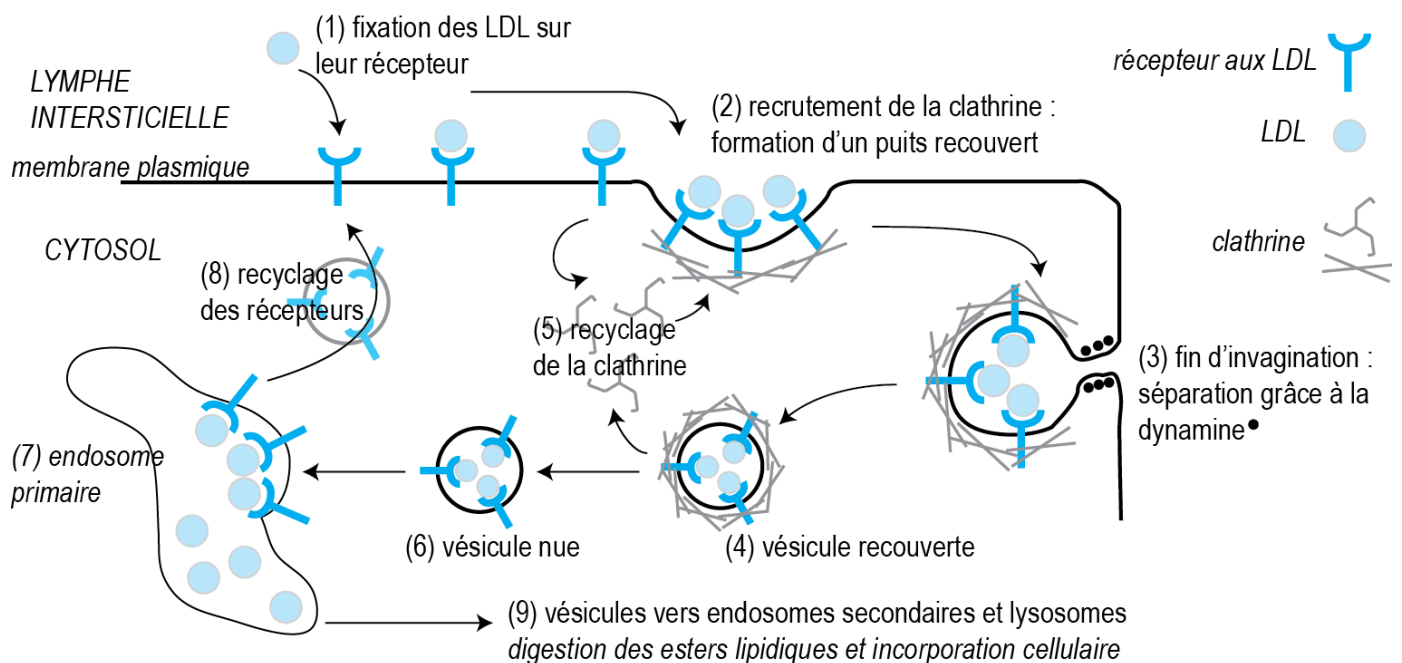


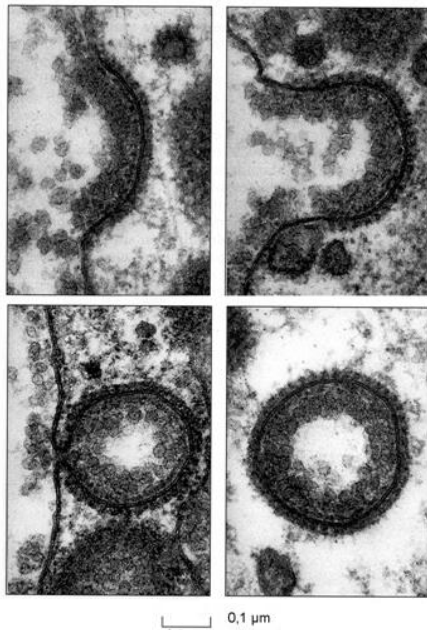
Fig. 31. Deux triskelions de Clathrine. ★★

Fig. 32. Initiation de l'endocytose médiée par un récepteur avec puits de Clathrine. ★★★**Fig. 33. L'endocytose médiée par récepteur des LDL. ★★★ [2]****Fig. 34. Résumé des divers phénomènes d'internalisation impliquant des flux membranaires**

Phénomène	Cavéoles ★	Micropinocytose ★	Vésicules de Clathrine ★★★	Phagocytose ★★	Macropinocytose ★
Taille des vésicules formées	~ 50-80 nm	~ 80-100 nm	~ 100-150 nm	0,1 – 10 µm	50 – 1000 nm
Modalité de formation	Vésicules recouvertes de cavéoline	Vésicules non recouvertes	Vésicules recouvertes de clathrine	Expansions cellulaires soutenues par des filaments d'actine	Vésicules non recouvertes, formées par expansions cellulaires (avec actine)
remarque	Via radeaux lipidiques ?	Non spécifique : pas de récepteur	Récepteurs spécifiques Ex : Récepteur des LDL	Récepteurs spécifiques Ex : Récepteur des lymphocytes T	Non spécifique : pas de récepteur

En fonction de la présence ou de l'absence de récepteurs spécifiques, de la taille des vésicules formées et des éventuelles protéines impliquées dans la vésicularisation, on distingue plusieurs types d'endocytose (tableau figure 9).

En particulier, la pinocytose est une endocytose non spécifique, qui permet donc l'internalisation de gouttelettes de liquide extracellulaire. La phagocytose est réalisée en particulier par les cellules du système immunitaire et permet l'internalisation de structures de grandes tailles : bactéries, virus, fragments cellulaires, etc. L'émission de pseudopodes permet d'entourer la structure à phagocyter et ainsi de l'internaliser.

Fig. 35. Observations de cytosés au MET. ★★

Exocytose →

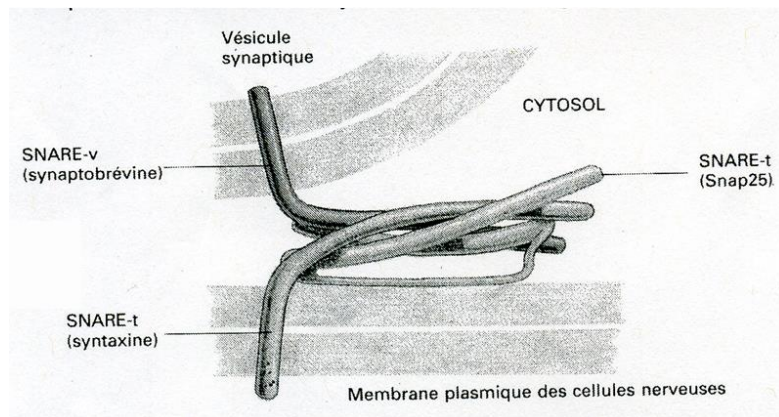
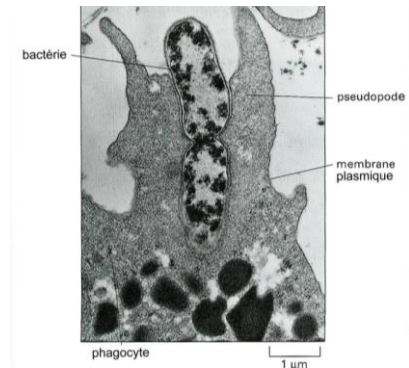
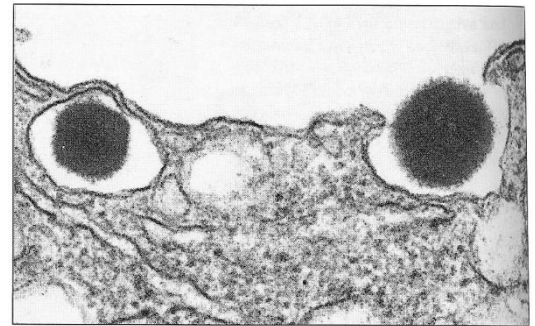
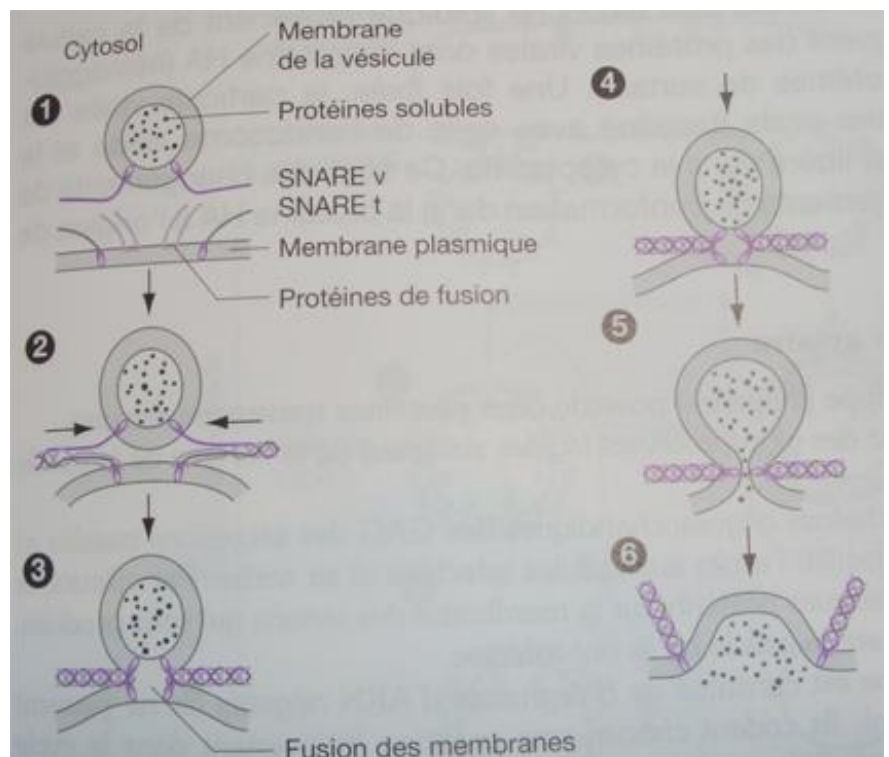
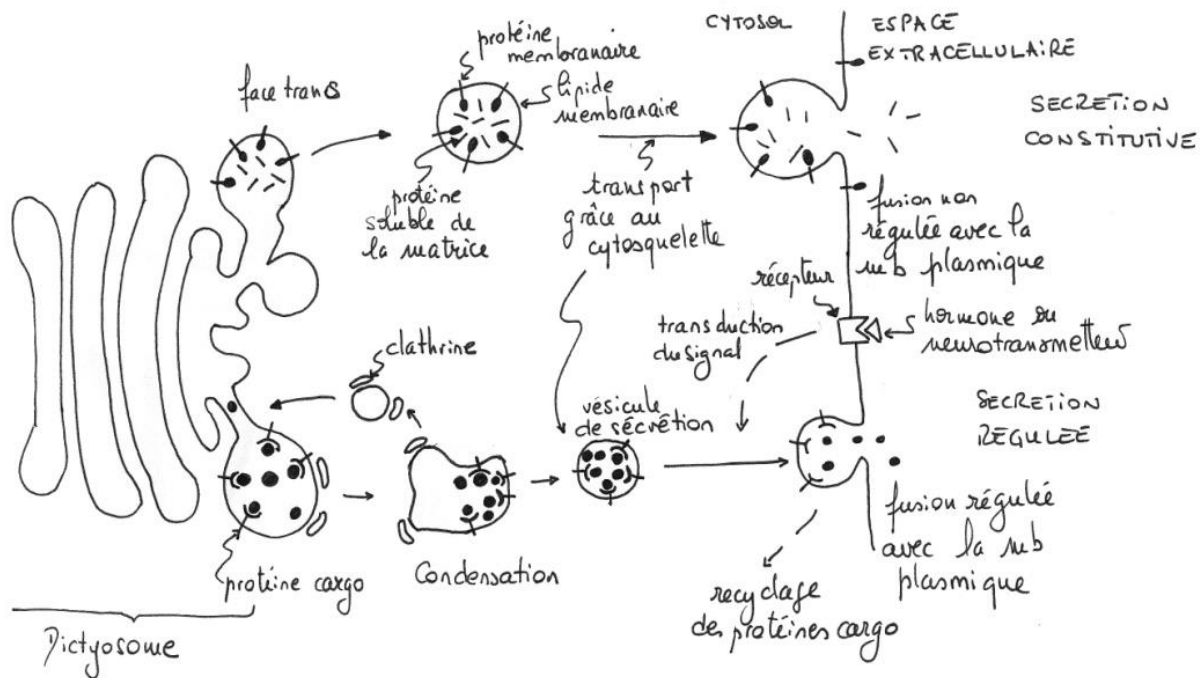
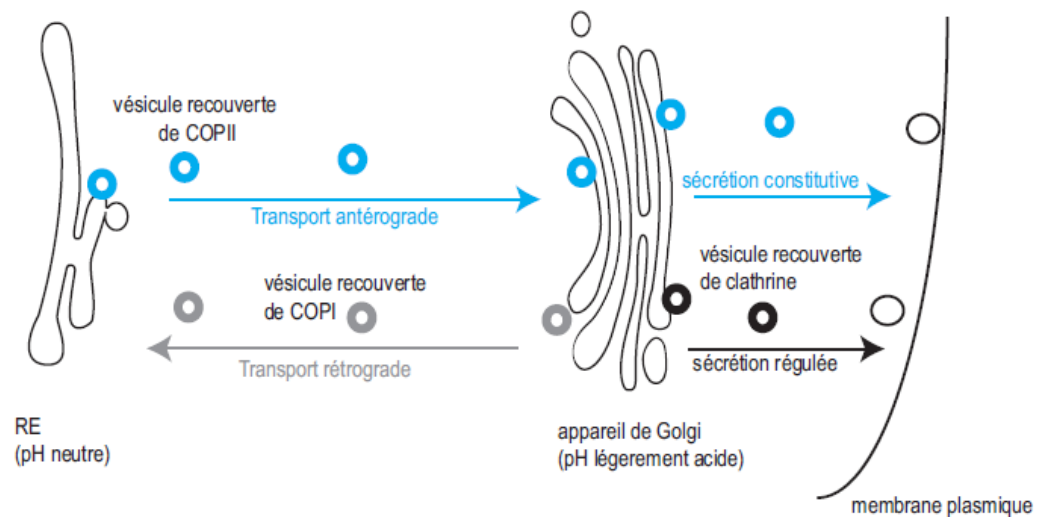
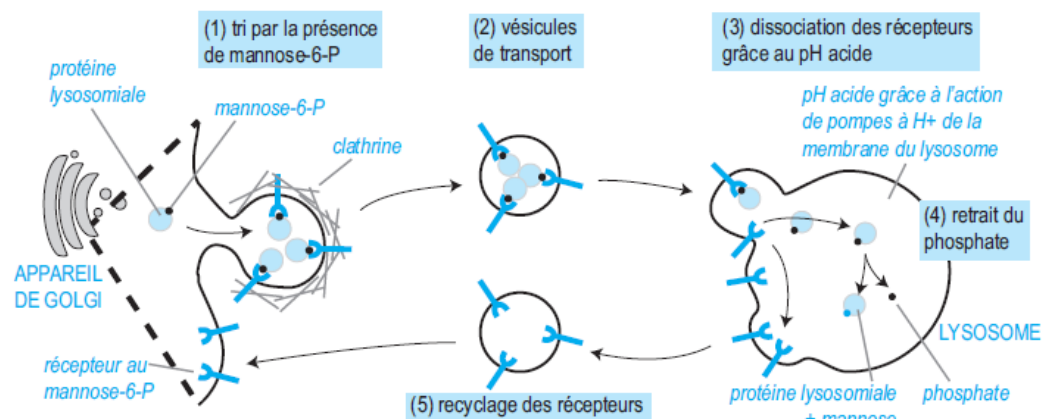
← quatre étapes d'une
endocytose de LDLPhagocytose d'une
bactérie →**Fig. 36. Un modèle montrant l'association des protéines SNARE. Les noms indiqués (synaptobrevine ; syntaxine) sont ceux des protéines impliqués dans les neurones. ★★****Fig. 37. Mécanisme d'une fusion membranaire impliquant les protéines V-SNARE et T-SNARE. ★★★**

Fig. 38. Exocytose constitutive et exocytose régulée. ★★★**Fig. 39. Exemple de flux intracellulaire : les flux entre le RE et l'appareil de Golgi. ★ [2]**

Le flux antérograde et le flux rétrograde mettent en jeu des protéines recouvrant les vésicules, différentes entre les deux flux et différentes de la clathrine : Il existe une diversité de protéines permettant la vésicularisation.

**Fig. 40. Exemple de flux intracellulaire : le flux du Golgi au lysosome. ★★★ [2]**

Les vésicules à destination des lysosomes contiennent les protéines lysosomiales, isolées par des protéines transmembranaires fixant le groupement mannose-6-P



Références	[1] ou absence de numéro : Ouvrage ou page Internet non précisé
	[2] A Fradagrada et G Furelaud. Biologie cellulaire PASS. Ediscience
	[3] C. Perrier et al. Biologie BCPST1 tout-en-un. Dunod
	[4] H Schatten et QY S, <i>Histo. Cell. Biol.</i> 150 : 303-325 (2018)