

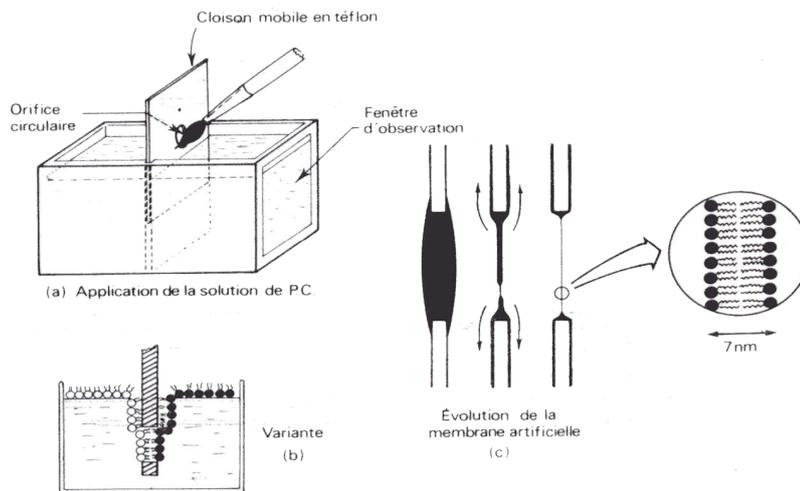
Figure 1 : concentration des mic et mec de cellule de Mammifère
(in Alberts, Med-Sciences, 1994)

Comparaison des concentrations ioniques à l'intérieur et à l'extérieur d'une cellule de mammifère typique		
Composant	Concentration intracellulaire (mM)	Concentration extracellulaire (mM)
Cations		
Na ⁺	5-15	145
K ⁺	140	5
Mg ²⁺	0,5	1-2
Ca ²⁺	10 ⁻⁴	1-2
H ⁺	7 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7,2} M ou pH 7,2)	4 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7,4} M ou pH 7,4)
Anions*		
Cl ⁻	5-15	110

* La cellule doit contenir autant de charges + que de charges - (c'est-à-dire être électriquement neutre). Donc, en plus des Cl⁻, la cellule contient de nombreux autres anions non listés dans ce tableau; en fait, la plupart des constituants cellulaires sont chargés négativement (HCO₃⁻, PO₄³⁻, protéines, acides nucléiques, métabolites portant des groupements phosphate et carboxyle, etc.). Les concentrations en Ca²⁺ et Mg²⁺ sont données pour les ions libres. Il y a au total environ 20 mM Mg²⁺ et 1-2 mM Ca²⁺ dans les cellules, mais ils sont principalement liés aux protéines et autres substances et, dans le cas du Ca²⁺, stockés dans divers organites.

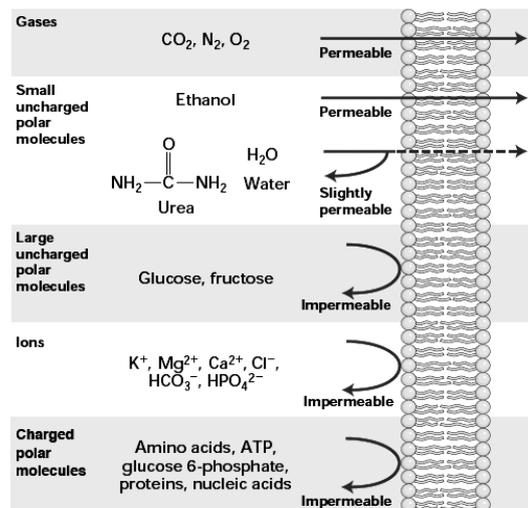
Figure 2a : Etude de la perméabilité membranaire sur des membranes artificielles

On fait glisser une solution de phosphatidyl-choline (phospholipide très abondant des membranes) sur une plaque de téflon percée, et on la trempe dans l'eau. La solution s'étale, 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



Résultats obtenus avec une membrane artificielle
(in Lodish, W.H.Freeman & Co 1999)

- perméable aux molécules apolaires = hydrophobes (O₂) **et CO2**
- perméable aux petites molécules polaires (H₂O, ~~CO₂~~, urée)
- imperméable aux grosses molécules polaires (glucose) → nécessité de **transporteurs**
- imperméable aux molécules chargées = ions (Na⁺) → nécessité de **canaux**



Relative permeability of a pure phospholipid bilayer to various molecules. A bilayer is permeable to small hydrophobic molecules and small uncharged polar molecules, slightly permeable to water and urea, and essentially impermeable to ions and to large polar molecules.

Figure 2b : Notion de coefficient de partage K

1. Détermination du coefficient de partage (K)

La plus classique et la plus fiable des méthodes de détermination du K est la méthode dite du "**flacon agité**". Cette méthode consiste à mélanger une quantité connue de soluté dans un volume connu d'octanol (alcool en C8) ou d'huile et d'eau, puis de mesurer la distribution du soluté dans chaque solvant (par spectroscopie ou par chromatographie liquide haute performance).

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

K élevé = hydrophobe

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.

2. Lien entre perméabilité membranaire et coefficient de partage

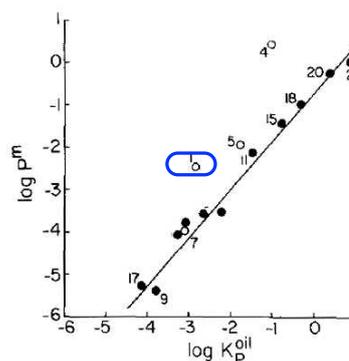
Par l'expérience de la membrane noire, on définit un **coefficient de perméabilité** pour chaque molécule, correspondant à la vitesse de traversée d'une l'interface par la molécule en cm/s.

Le document ci-dessous montre le lien entre K et la perméabilité :

Tableau : valeurs de perméabilité à travers une bicouche de phospholipides et de coefficient de partage huile d'olive/eau 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.

Compound	P^m (cm sec ⁻¹)	K_p^{oil}
1. water	3.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}
4. hydrochloric acid	2.9	9.0×10^{-2}
5. formic acid	7.3×10^{-3}	1.5×10^{-2}
9. urea	4.0×10^{-6}	1.5×10^{-4}
11. acetic acid	6.9×10^{-3}	3.0×10^{-2}
15. propionic acid	3.5×10^{-2}	1.5×10^{-1}
17. glycerol	5.4×10^{-6}	7.0×10^{-5}
18. butyric acid	9.5×10^{-2}	4.4×10^{-1}
20. benzoic acid	5.5×10^{-1}	2.2
21. hexanoic acid	1.1	6.8



Acide acétique (11)	Acide propionique (15)	Glycérol (17)	Acide butyrique (18)
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3 - \text{C} \\ \backslash \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{C} = \text{O} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{OH} \\ \\ \text{CH} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C} \\ \backslash \\ \text{OH} \end{array}$

Questions :

- Justifiez la valeur relative des coefficients de partition des composés 11, 15, 17, 18 à partir de leur formule chimique.
- Expliquer la relation de proportionnalité visible entre le coefficient de perméabilité et le coefficient de partition.
- Comment expliquer la position de l'eau, en dehors de la droite de régression ?

Figure 3 : Définition du potentiel hydrique

Le **potentiel hydrique** est une grandeur physique qui permet d'étudier les mouvements d'eau in vivo. En effet, en raison de la présence d'une paroi, d'un sol, les mouvements d'eau ds la plante ne dépendant pas uniquement de l'osmolarité de la cellule végétale. D'autres facteurs doivent être pris en compte.

D'une façon générale, le potentiel hydrique est une somme de potentiels (unité d'une pression).

$$\psi = \psi_s + \psi_p + \psi_g$$

ψ : potentiel hydrique

ψ_s : potentiel osmotique et $\psi_s = -\pi$

ψ_p : potentiel de pression hydrostatique = P : pression mécanique exercée par la paroi

ψ_g : potentiel de gravité (= ρgh)

Potentiel osmotique :

Toute substance en solution aqueuse (ion ou molécule), exerce sur les molécules d'eau une force d'attraction. Plus la solution est concentrée, plus cette force d'attraction y est forte, et moins les molécules d'eau ont le pouvoir de la quitter.

$$\psi_s = -\pi = -R \cdot T \cdot C_{osm}$$

avec R la constante des gaz parfaits, T la température en K et C_{osm} la concentration osmolaire.

L'osmolarité ou concentration osmolaire C_{osm} est le nombre de particules de soluté par unité de volume. Si l'on note C_m la concentration molaire, on obtient pour une solution de :

glucose : $C_{osm} = C_m$ (une seule particule en solution par glucose)

NaCl : $C_{osm} = 2 \cdot C_m$ (deux particules en solution pour une molécule de NaCl introduite : Na^+ et Cl^-)

ψ_s est nul pour l'eau pure et est toujours négatif dans une cellule.

Potentiel de pression :

L'eau du système peut également se trouver sous pression, ce qui aurait tendance à la faire sortir.

$$\psi_p = P - P_{atm}$$

Avec P la pression sous laquelle se trouve l'eau du système et P_{atm} la pression atmosphérique. Dans le cas d'une solution libre, ψ_p est nul. Dans une cellule, ψ_p est en général positif.

Potentiel gravitaire :

Il dépend de la position de l'eau dans le champ de gravité. Ce terme est négligeable sauf dans le cas des arbres qui atteignent une hauteur importante.

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 **le moins négatif vers le ψ le plus négatif.**

En effet, plus une solution possède de solutés dissous, plus la pression osmotique est élevée et donc plus ψ est négatif.

Figure 4 : Aspect énergétique des échanges transmembranaires

Transport passif $\rightarrow \Delta G < 0$

Il est spontané et libère de l'énergie (exergonique) \Leftrightarrow il s'accompagne d'une variation d'enthalpie libre négative $\Delta G < 0$

Transport actif $\rightarrow \Delta G > 0$

Il nécessite un apport d'énergie = endergonique (ATP ou gradient) \Leftrightarrow s'accompagne d'une variation d'enthalpie libre positive : $\Delta G > 0$.

Comment savoir si le transport est passif ou actif ? il faut s'intéresser aux gradients chimiques et électrochimiques.

Gradient de potentiel chimique/électrochimique

On caractérise l'énergie potentielle d'une substance par une grandeur : le **potentiel électrochimique** (= sa capacité à effectuer un travail)

$$\mu = \mu_0 + RT \ln C + z F V + A + B$$

μ_0 : potentiel électrochimique dans les conditions standards \rightarrow lorsqu'on s'intéresse à des différences de potentiel, ce terme s'annule

R : cste des gaz parfaits (8,31 J. mole⁻¹), T: température (K) et C : concentration molaire (mol.L⁻¹) \rightarrow prend en compte la contribution de la concentration

z = nombre de charges de l'ion (valence), F = constante de Faraday (coulombs) \rightarrow prend en compte la contribution de la charge

V : potentiel du compartiment

A : terme qui prend en compte l'effet de la pression : on le néglige en général dans les cellules

B : terme qui prend en compte l'effet de la gravité : on le néglige dans les cellules.

Pour une molécule non chargée :

$$\mu = \mu_0 + RT \ln C$$

La variation d'enthalpie libre de transport du compartiment au compartiment 2 est :

$$\Delta G = \mu_2 - \mu_1$$

$$\Delta G = R T \ln (C_2/C_1)$$

Le transport d'une molécule est **passif** s'il se fait dans le sens de son **gradient chimique = gradient de concentration** (dC/dx) \rightarrow du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré ($\Delta G < 0$ car $C_2 / C_1 < 1$)

Le transport d'une molécule est **actif** s'il se fait contre son gradient de concentration.

Pour une molécule chargée = ion :

$$\Delta G = R T \ln (C_2/C_1) + z F (V_2 - V_1)$$

$\Delta V = V_2 - V_1$ = différence de potentiel transmembranaire (ddp) = $V_{int} - V_{ext}$

Le **gradient électrochimique** comprend le **gradient chimique et le gradient électrique**.

Le transport d'un ion est **passif** s'il se fait dans le sens de son **gradient électrochimique**.

Le gradient électrique est la différence de potentiel transmembranaire, due à une inégale répartition des ions dans le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire (*voir partie sur Le potentiel de membrane*).

Cette inégale répartition des ions est responsable d'un léger excès de charges négatives face cytosolique

Le cytosol est globalement neutre. Le milieu extracellulaire aussi est neutre.

Bilan : la diffusion est un transport passif selon un gradient :

- **gradient de concentration** pour une **molécule non chargée** (urée, glucose)

- **gradient électrochimique** = gradient électrique et gradient de concentration pour un **ion**

Les transports contre ces gradients nécessitent de l'énergie

Figure 5 : Influence du potentiel hydrique du milieu extracellulaire sur les mouvements d'eau au niveau de la membrane plasmique

(in Segarra et al., à paraître)

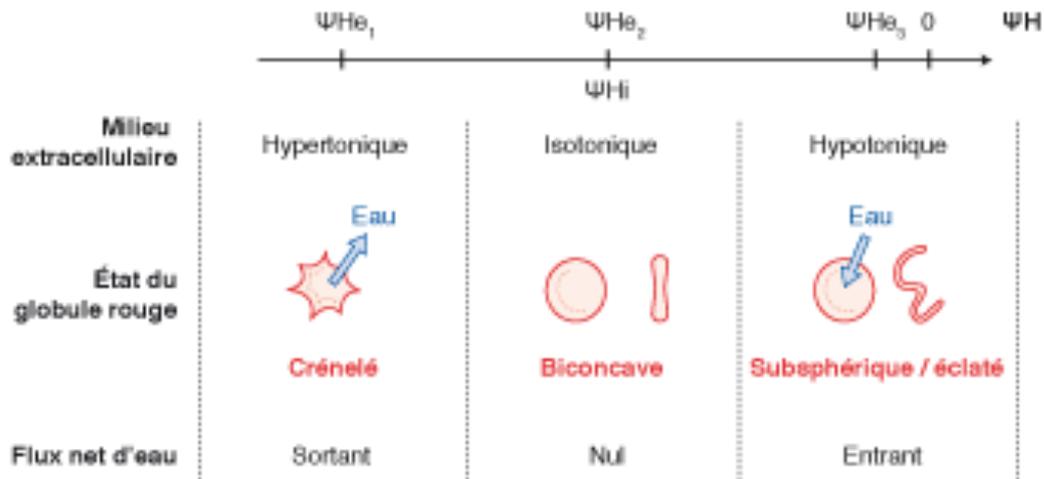
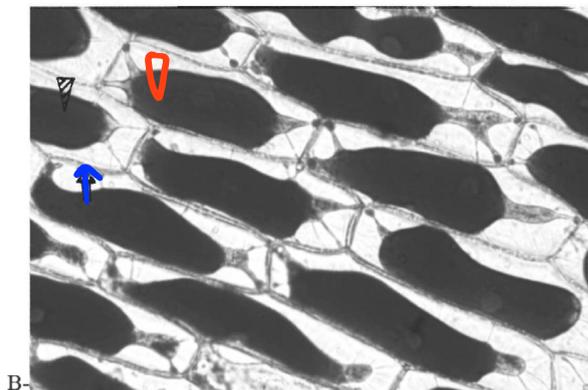
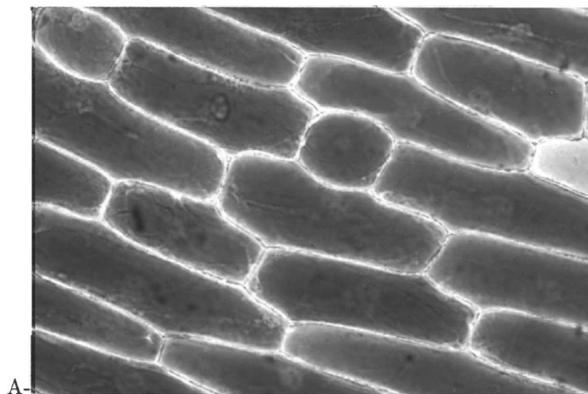


Figure 6 : cellules d'épiderme d'oignon plasmolysées

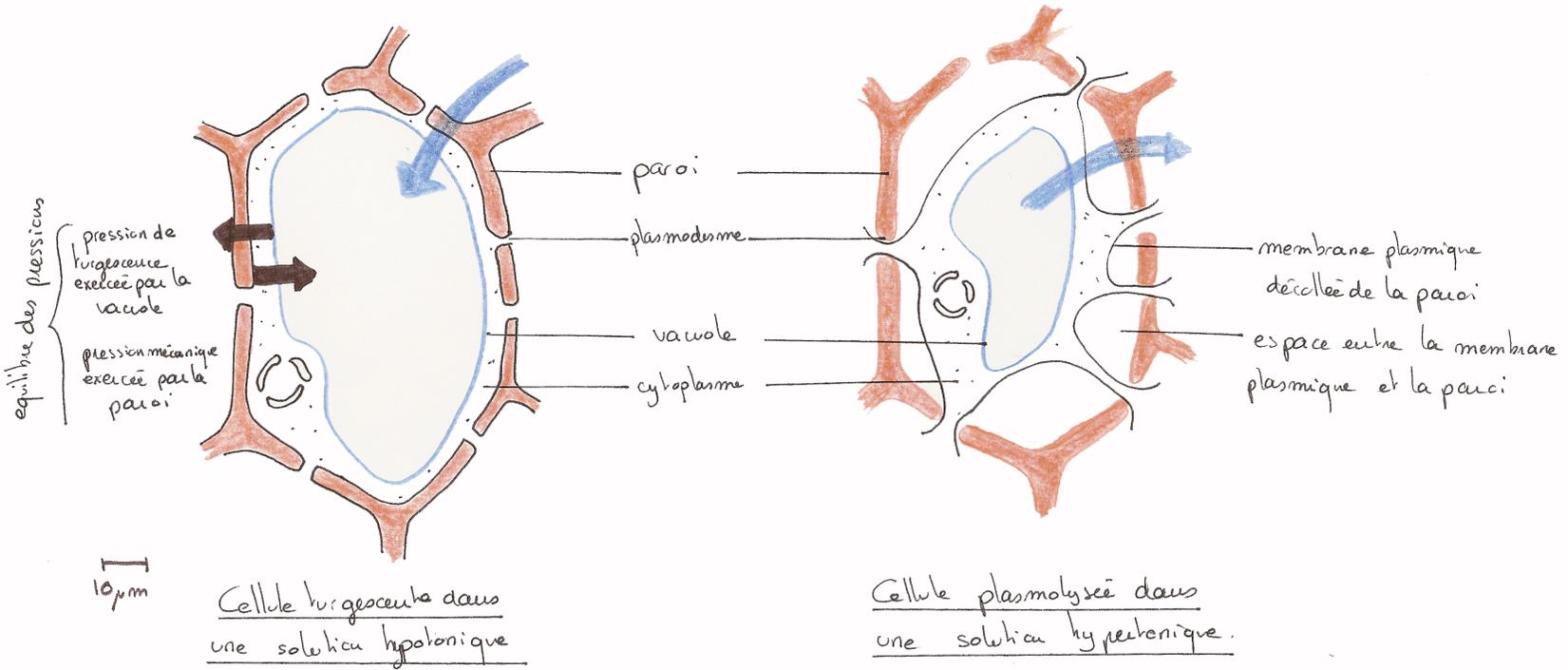
(avec l'autorisation d'A. Goudard)

Légendez les structures et les concentrations relatives. Indiquez les mouvements d'eau



20μm

Figure 7 : la plasmolyse limite permet de déterminer la pression osmotique d'une cellule végétale



Cellule dans une solution hypotonique (= eau distillée)

	Cellule turgescents	Milieu
Pot. hydrostatique	$P = 0,7 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$
Pot. osmotique	$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$	$-\pi = 0 \text{ MPa}$
Pot. hydrique	$\psi = 0 \text{ MPa}$	$\psi = 0 \text{ MPa}$

Plasmolyse limite

Cellule flasque	Milieu
<u>$P = 0 \text{ MPa}$</u>	$P = 0 \text{ MPa}$
$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$
$\psi = -0,7 \text{ MPa}$	$\psi = -0,7 \text{ MPa}$

pot hydrique = pot. osmotique

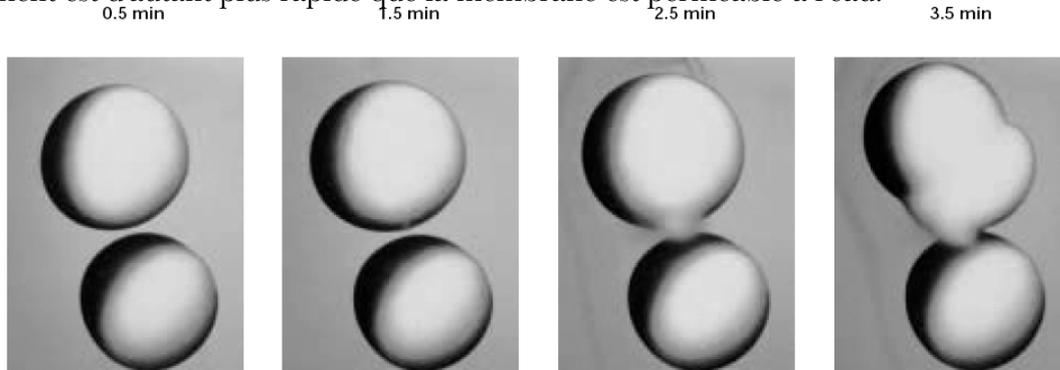
Cellule dans une solution de saccharose à $0,4 \text{ mol. L}^{-1}$

Cellule plasmolysée	Milieu
<u>$P = 0 \text{ MPa}$</u>	$P = 0 \text{ MPa}$
$-\pi = -0,9 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,9 \text{ MPa}$
$\psi = -0,9 \text{ MPa}$	$\psi = -0,9 \text{ MPa}$

Figure 8 : les aquaporines

Les aquaporines ont été identifiées au niveau des hématies par l'équipe de Peter Agre (Baltimore, 1988) qui a eu le Prix Nobel de chimie en 2003 pour avoir découvert l'aquaporine 1 chez le Xénope. Mise en évidence de leur rôle dans la perméabilité membranaire : **injection d'ARNm** dans des ovocytes de Xénope

L'ARNm codant pour AQP1 est injecté dans des ovocytes de Xénope. On soumet des ovocytes à un choc hypoosmotique et on mesure la vitesse de leur gonflement suite à la pénétration de l'eau. Le gonflement est d'autant plus rapide que la membrane est perméable à l'eau.



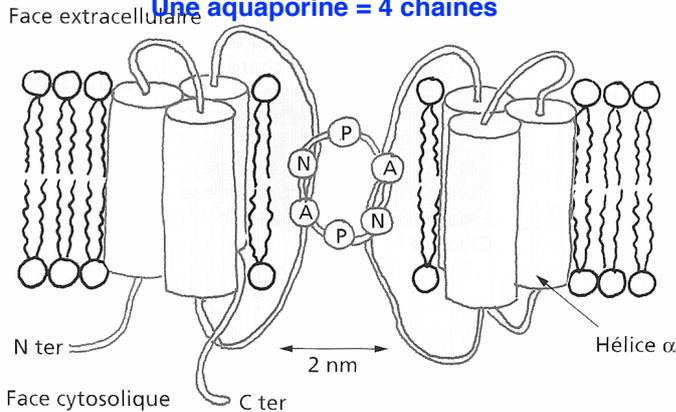
Expression of aquaporin by frog oocytes increases their permeability to water. Frog oocytes, which normally do not express aquaporin, were microinjected with mRNA encoding aquaporin. These photographs show control oocytes (bottom cell in each panel) and microinjected oocytes (top cell in each panel) at the indicated times after

transfer from an isotonic salt solution (0.1 mM) to a hypotonic salt solution (0.035 M). The volume of the control oocytes remained unchanged because they are poorly permeable to water. In contrast, the microinjected oocytes expressing aquaporin swelled because of an osmotic influx of water, indicating that aquaporin is a water-channel protein. [Courtesy of Gregory M. Preston and Peter Agre, Johns Hopkins University School of Medicine.]

Structure de la protéine :

L'AQP de l'érythrocyte est constituée 4 chaînes polypeptidiques chacune formée de 6 hélices transmembranaires. Ces hélices forment 2 groupes de 3 hélices reliées par 2 boucles formant un "lasso" central, sorte de pore de 0,15 à 0,2 nm qui laisse passer les molécules d'eau en file indienne (5 à 9 molécules dans l'épaisseur du canal). Ces AQP sont spécifiques de l'eau. On connaît plus de 200 aquaporines différentes, des plantes aux animaux (illustrations : Peycry et al, Lodish et al).

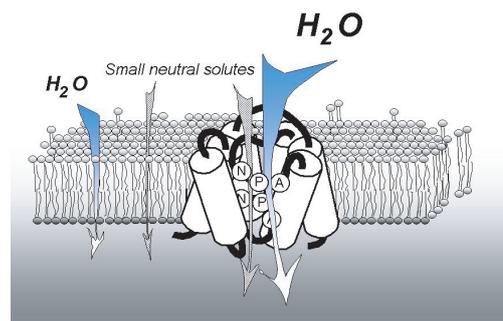
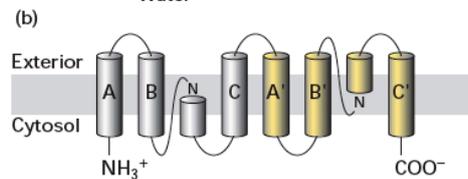
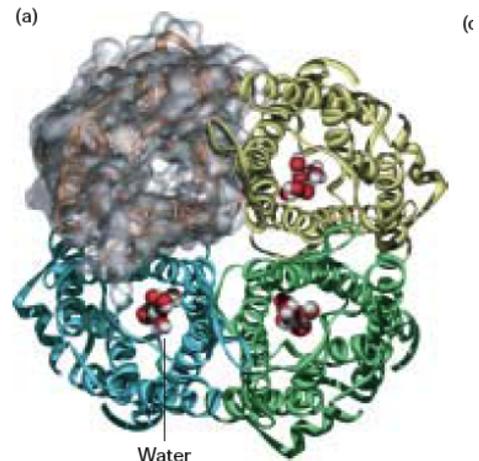
**Une chaîne de 6 hélices
Une aquaporine = 4 chaînes**



Modèle d'organisation de AQP 1

(D'après Durliat, Biochimie structurale, Diderot, 1997).

N : Asparagine ; I : Proline ; A : Alanine.



Modèle de fonctionnement des aquaporines (d'après Alberts 5ème Ed.)

Problème : les aquaporines doivent permettre le passage de molécules d'eau tout en bloquant le passage des ions (pour ne pas perturber le potentiel de membrane, le pH des compartiments etc...)

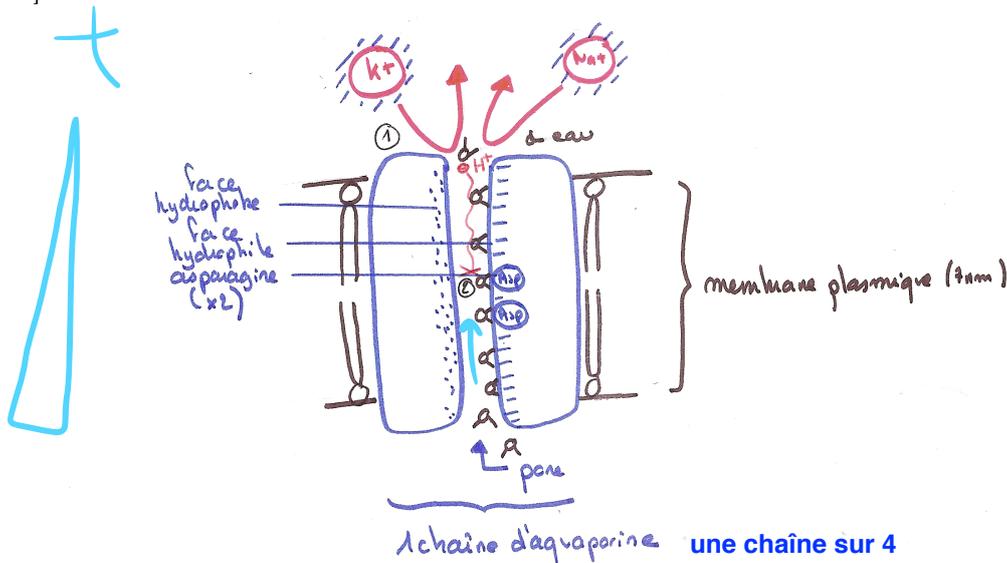
Modèle : Chaque aquaporine est formée de 4 chaînes et chaque chaîne contient un pore étroit qui permet le passage des molécules d'eau les unes derrière les autres.

Les études de cristallographie ont permis de montrer que le pore présente **deux faces** :

- l'une est **hydrophile**
- l'autre est **hydrophobe**

Les molécules d'eau glissent le long de la face hydrophile en se suivant les unes derrière les autres.

En ce qui concerne les **ions**, le pore est trop étroit pour permettre leur passage à l'état hydraté. La **déshydratation est impossible** ici (contrairement au canal K⁺) dans la mesure où la présence d'un côté hydrophobe dans le pore ne permet pas d'interactions avec les ions (la rupture des liaisons avec l'eau ne peut donc être compensée par des liaisons avec des acides aminés du pore).



- ① les ions hydratés sont trop gros pour passer par le pore
- ② les protons sont bloqués au niveau des 2 asparagines du pore

Modèle de fonctionnement d'une chaîne d'aquaporine

Et les **protons**? Les protons ont la faculté de glisser sur les molécules d'eau. Ce déplacement est bloqué par la présence de 2 asparagine au centre du canal. Pourquoi? L'eau qui passe dans le canal forme des liaisons hydrogènes avec ces 2 asparagines (groupement amide) et ne peut donc plus former de liaisons avec des protons, qui sont donc ainsi bloqués...malin non?

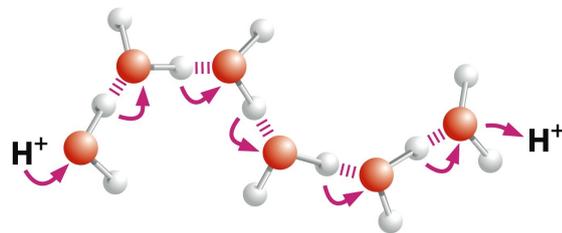


Figure 11-27c Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

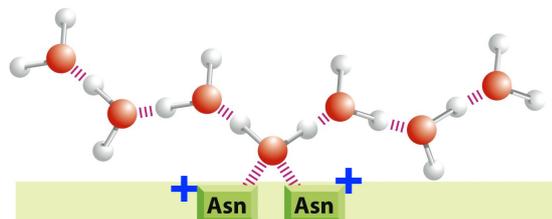
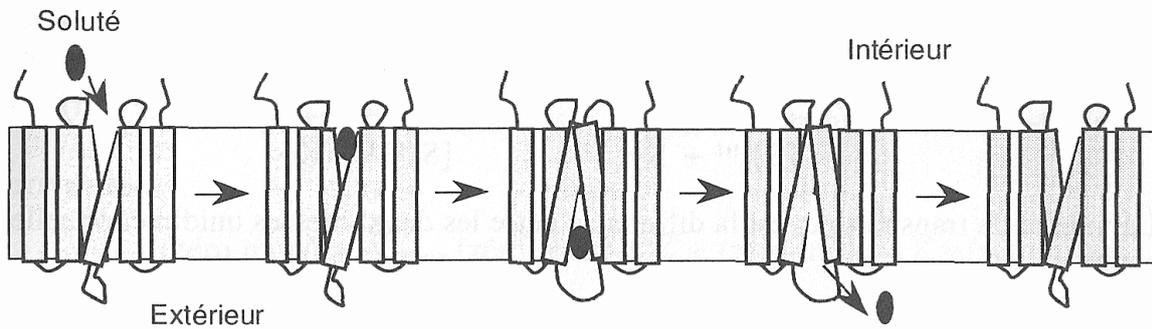


Figure 11-27d Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Figure 9 : diffusion facilitée du glucose grâce à la perméase

A : modèle du transport mettant en évidence les hélices transmembranaires

(in Shechter, Dunod)



Mécanisme du transport d'un soluté par l'intermédiaire d'un transporteur (diffusion facilitée).

On représente des segments en hélice α du transporteur. La topologie de la protéine est totalement arbitraire. Le transport est schématisé de l'intérieur vers l'extérieur.

B : modèle de fonctionnement simplifié

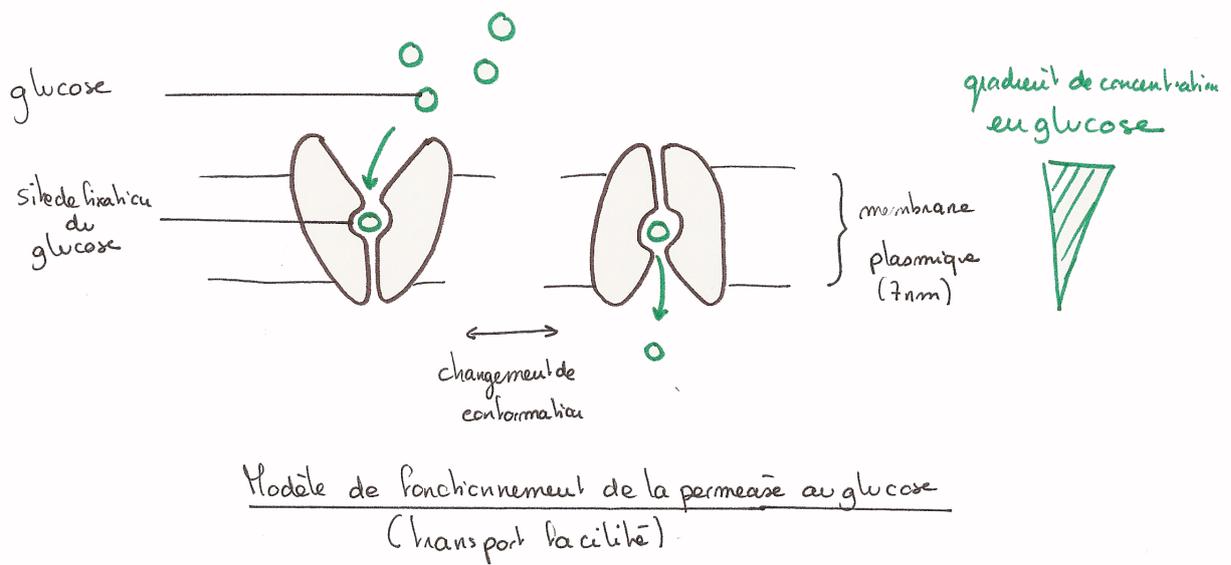


Figure 10 : Les perméases au glucose (à titre de document)

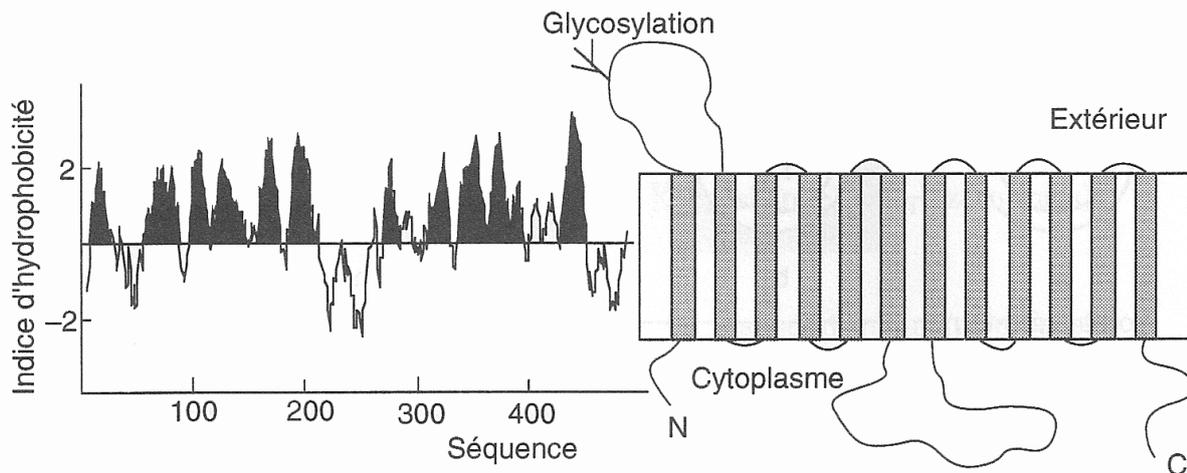
La perméase du glucose de l'érythrocyte a été isolée et clonée.

C'est une glycoprotéine de 55 KDa présentant 4 domaines:

1. Un faisceau de 12 hélices alpha qui traversent la membrane plasmique formant un cylindre hydrophobe entourant un canal hydrophile. La liaison du glucose aux acides aminés internes à ce pore entraînerait le passage du glucose.
2. Un domaine cytoplasmique fortement chargé entre les hélices 6 et 7
3. Un domaine externe plus petit, porteur d'oligosaccharides situé entre les hélices 1 et 2
4. Un domaine C-terminal cytoplasmique

On distingue **plusieurs formes de perméases** à glucose nommées **isoformes** dont la répartition tissulaire est spécifique :

- **GLUT 1** fait fonction de transporteur qui permet de répondre aux **besoins de base des cellules**.
- **GLUT2**, présent en grandes quantités dans les cellules **β -pancréatiques**.
- **GLUT3** est présent dans les tissus qui ont une forte demande en glucose comme le **cerveau**.
- **GLUT 4** est fortement stimulé par **l'insuline** qui provoque l'apparition à la surface de la cellule de transporteurs présents dans les structures intracellulaires.

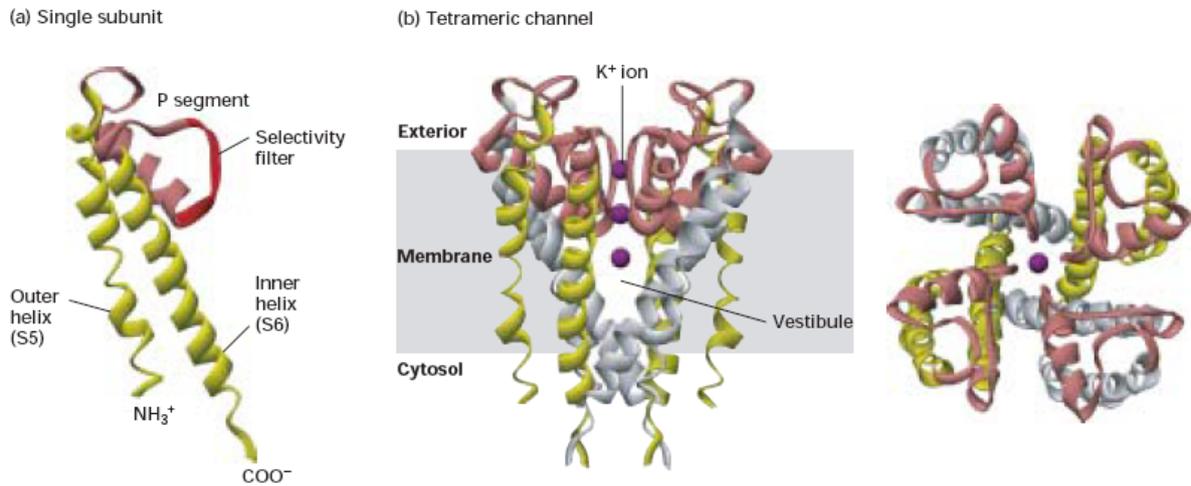


Profil d'hydrophobicité et modèle proposé du transporteur facilité du glucose.

Le profil d'hydrophobicité est obtenu en utilisant l'échelle Kyte et Doolittle en prenant une fenêtre de 11 résidus.

(D'après Mueckler, M., Caruso, C., Baldwin, S.A., Panico, M., Blench, I., Morris, R., Allard, W.J., Lienhard, E. et Lodish, H.F. (1985) *Science* **229**, 941-945.)

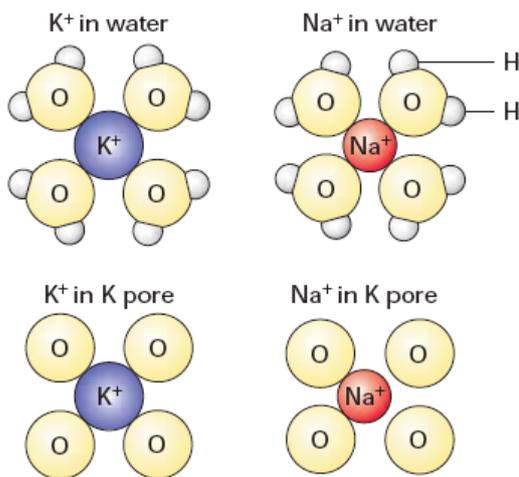
Figure 11 : structure du canal à potassium (in Lodish)



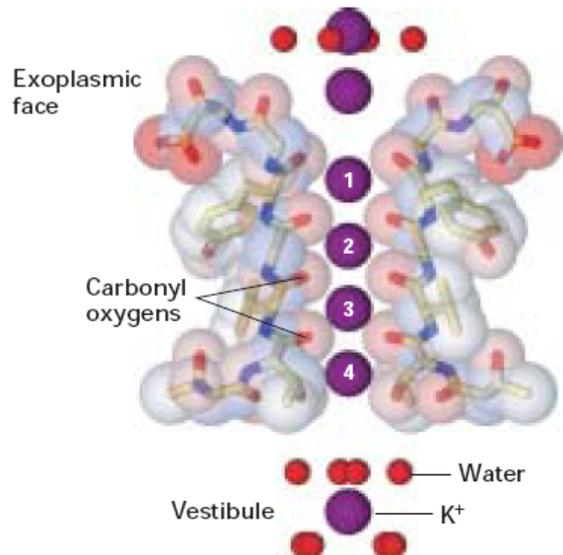
Structure of resting K⁺ channel from the bacterium *Streptomyces lividans*. All K⁺ channel proteins are tetramers comprising four identical subunits each containing two conserved membrane-spanning α helices, called by convention S5 and S6 (yellow), and a shorter P, or pore segment (pink). (a) One of the subunits, viewed from the side, with key structural features indicated. (b) The complete tetrameric channel viewed from the side (*left*) and the top, or extracellular, end (*right*). The P segments are located near the exoplasmic surface and connect the S5 and

S6 α helices; they consist of a nonhelical "turret," which lines the upper part of the pore; a short α helix; and an extended loop that protrudes into the narrowest part of the pore and forms the ion-selectivity filter. This filter allows K⁺ (purple spheres) but not other ions to pass. Below the filter is the central cavity or vestibule lined by the inner, or S6 α , helices. The subunits in gated K⁺ channels, which open and close in response to specific stimuli, contain additional transmembrane helices not shown here. [See Y. Zhou et al., 2001, *Nature* 414:43.]

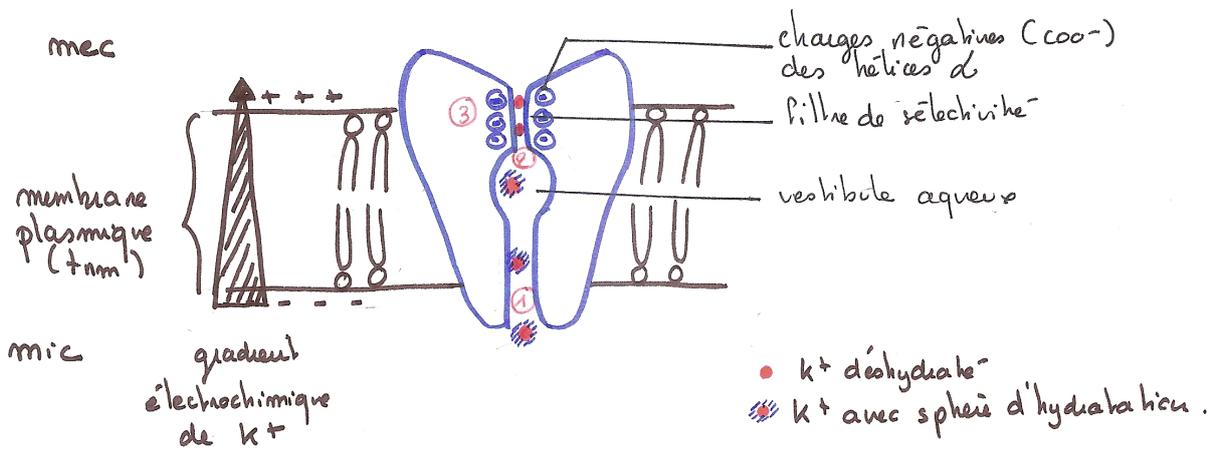
(a) K⁺ and Na⁺ ions in the pore of a K⁺ channel (top view)



(b) K⁺ ions in the pore of a K⁺ channel (side view)



Structure du canal K^+ bactérien.



- ① Entrée de l'ion hydraté dans le pore \rightarrow vestibule
- ② Le passage dans le filtre de sélectivité très étroit nécessite la déshydratation de l'ion K^+ . La rupture des liaisons avec l'eau est compensée par la formation de liaisons avec des charges \ominus au niveau des acides aminés formant le filtre.

Et Na^+ ? trop petit donc non stabilisé par les liaisons avec les charges \ominus du filtre de sélectivité

Et Cs^+ ? trop gros \Rightarrow ne franchit pas le filtre.

Figure 12 : mécanismes du contrôle de l'ouverture des canaux ioniques

Figure 12a : contrôle de l'ouverture des canaux Na⁺ voltage dépendants

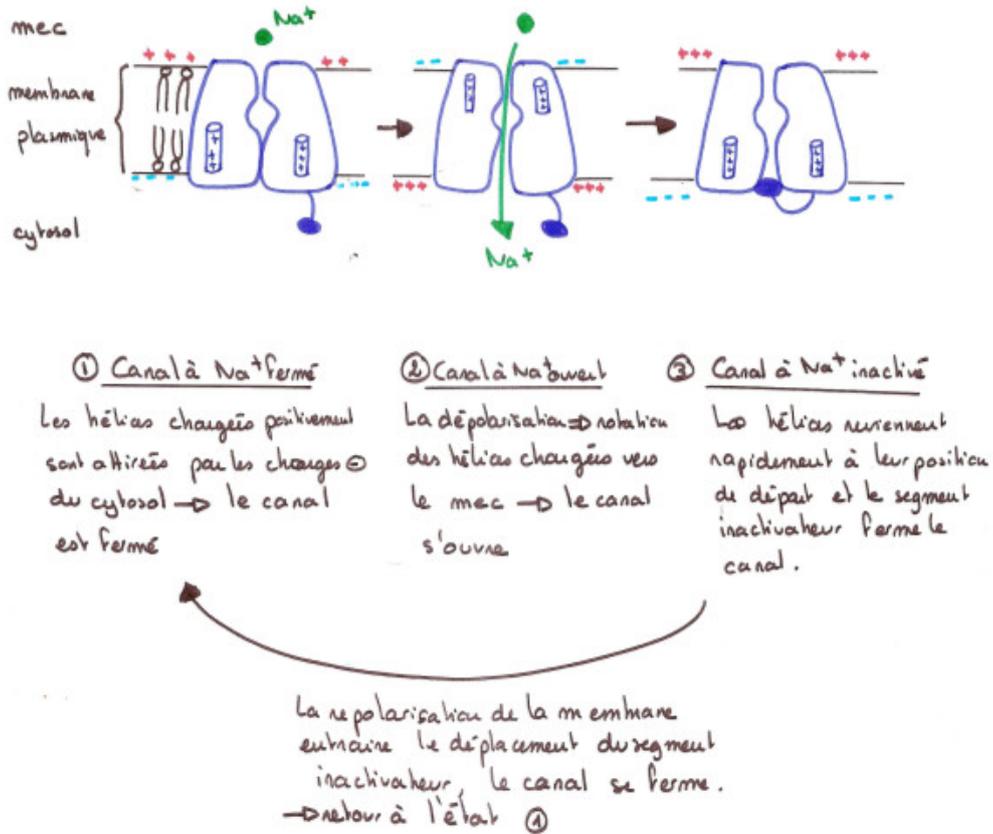


Figure 12b : généralisation

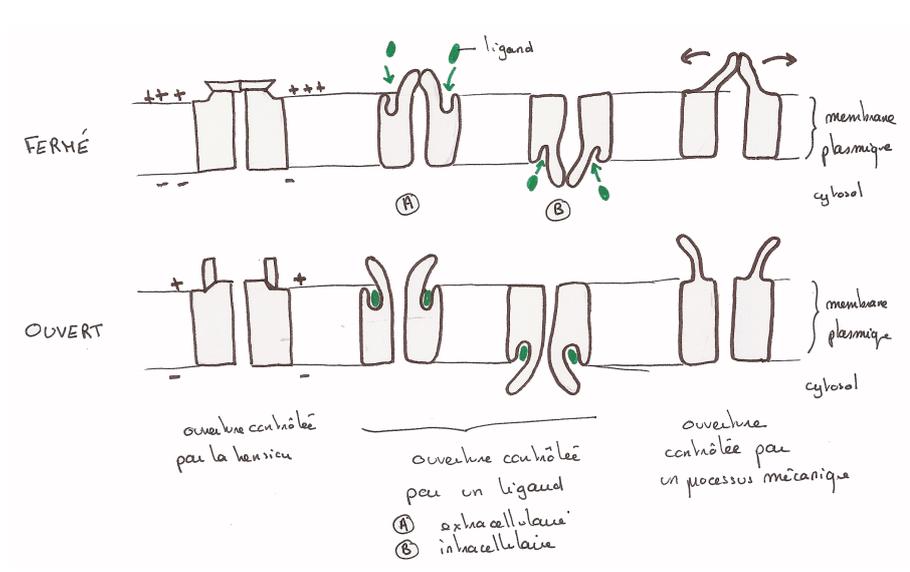


Figure 13a : porines et ionophores

Les **porines** sont des hétérodimères constitués de l'association de 3 chaînes de 36 à 38 Kda situés dans la **membrane externe** des bactéries Gram. Elles laissent passer des **ions** et des **petits solutés** organiques jusqu'à une masse moléculaire de 600 Daltons (0,6 Kda). Elles sont relativement **peu spécifiques**.

Les **ionophores** sont des molécules hydrophobes qui se dissolvent dans les membranes et augmentent la perméabilité à certains **ions**. Ils sont synthétisés par des microorganismes et leur servent d'armes pour franchir les membranes. C'est le cas de certains **antibiotiques**.

Figure 13b : protéines découplantes du tissu adipeux brun

Elle se trouve dans la membrane interne des mitochondries du tissu adipeux brun. Ce tissu se trouve par exemple chez le nouveau-né, mais également chez les espèces hibernantes : sa fonction est thermogénique (produire de la chaleur). Des travaux effectués chez des rongeurs exposés au froid, des lapins nouveau-nés et des hibernants au cours du réveil ont en effet démontré que la fonction du tissu adipeux brun est de produire de la chaleur pour maintenir (ou amener, dans le cas des animaux hibernants) la température du corps à 37°C.

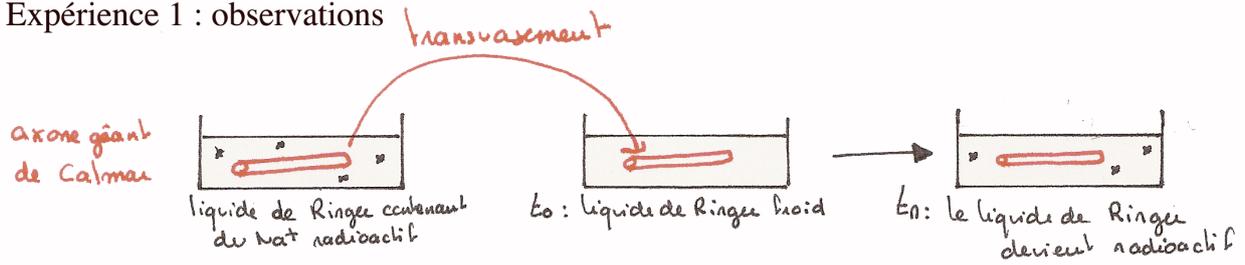
Le tissu adipeux brun est très riche en mitochondries qui possèdent dans leur membrane interne une protéine découplante : un canal à protons (protéine UCP1 : uncoupling protein 1). Ce canal est découplant dans la mesure où il découple le gradient de protons de la synthèse d'ATP.

Rappel : l'oxydation des nutriments permet de réduire des coenzymes : l'oxydation de ces coenzymes permettra de générer un gradient de protons utilisé pour la synthèse d'ATP. Il y a donc couplage entre oxydation des nutriments et synthèse d'ATP. Ce couplage est imparfait : une partie de l'énergie respiratoire est perdue sous forme de chaleur.

Le retour de protons par la protéine UCP1 permet de découpler fortement oxydation et synthèse d'ATP : les graisses sont oxydées rapidement et de la chaleur est produite (au lieu de synthétiser de l'ATP)

Figure 14 : étude du fonctionnement de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase

Expérience 1 : observations



Interprétations :

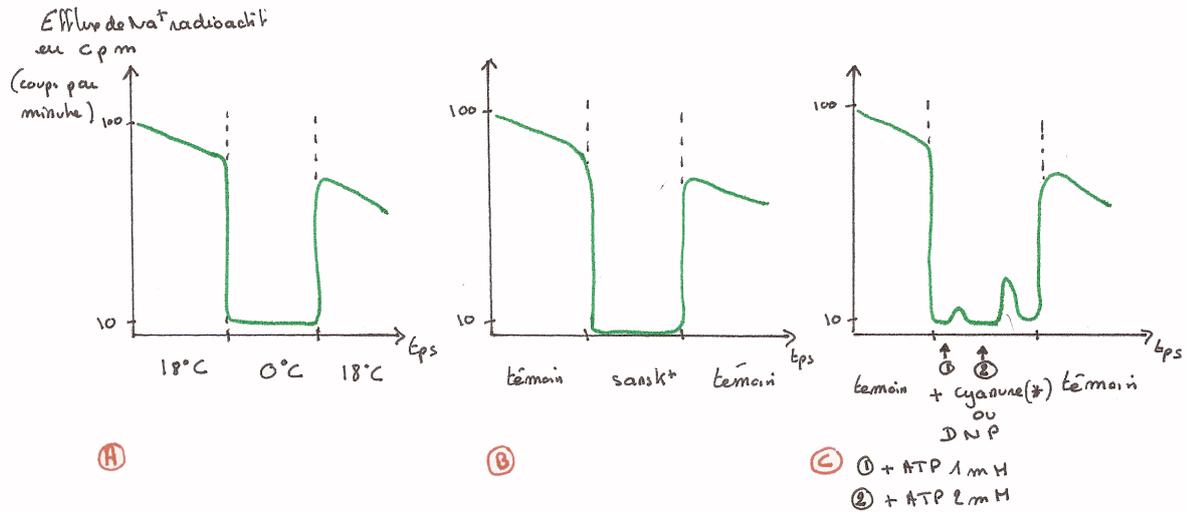
.....

.....

.....

.....

Expérience 2 : mesure de l'efflux de sodium radioactif



(*) { Le cyanure bloque la respiration cellulaire
 { le DNP (dinitrophénol) bloque la synthèse d'ATP

Interprétations :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

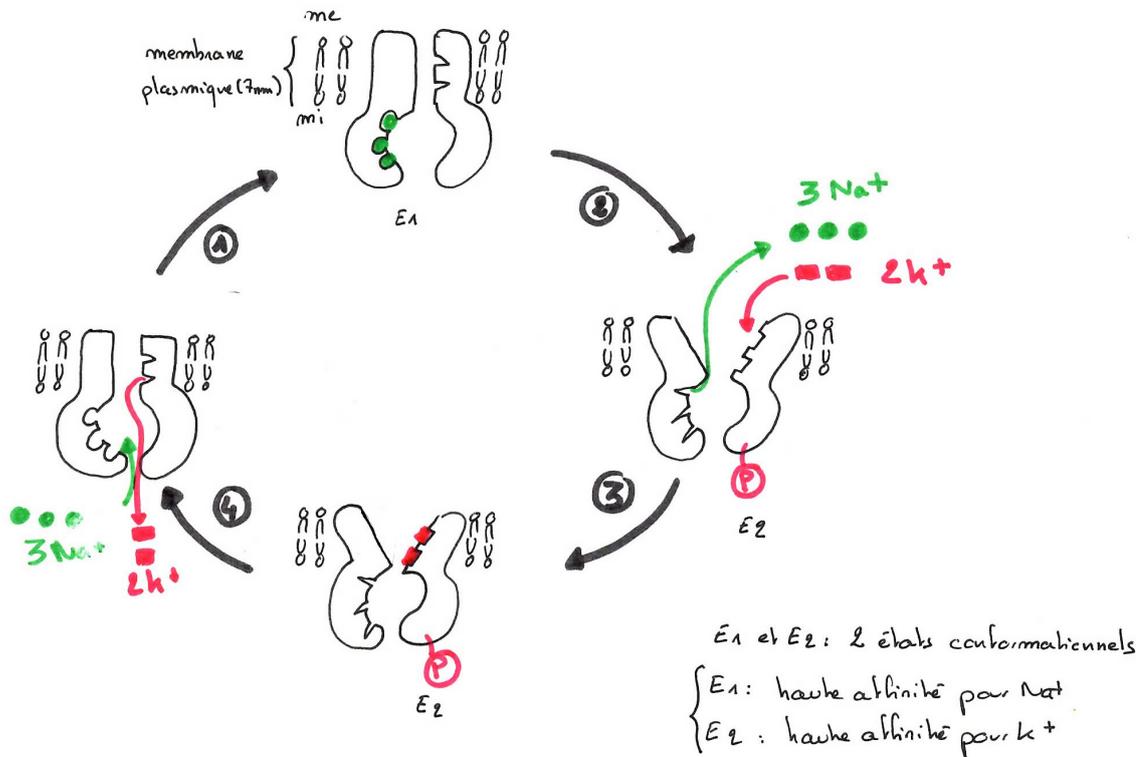
.....

.....

.....

.....

Figure 15 : fonctionnement de la pompe Na⁺ / K⁺



- ① Fixation de 3 Na⁺ sur E₁
- ② Phosphorylation de E₁ ⇒ changement de conformation E₁ → E₂
 ⇒ { libération vers me de 3 Na⁺
 +
 fixation de 2 K⁺ sur E₂
- ③ De phosphorylation de E₂ ⇒ changement de conformation E₂ → E₁
 ⇒ { entrée de 2 K⁺
 +
 fixation de 3 Na⁺ sur E₁

Figure 16 : transport du glucose dans l'entérocyte

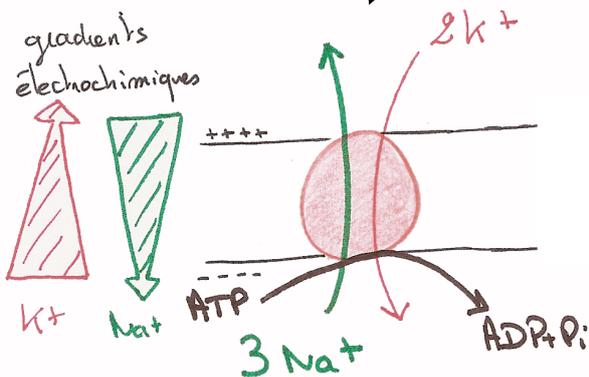
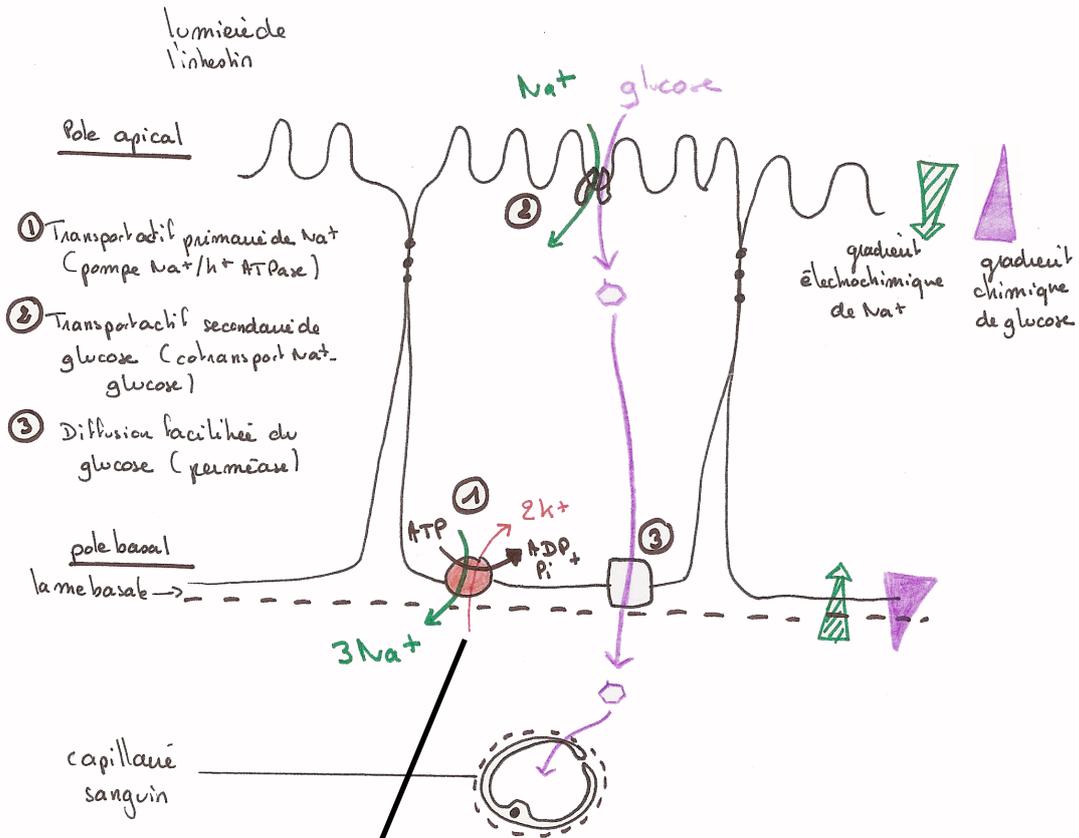
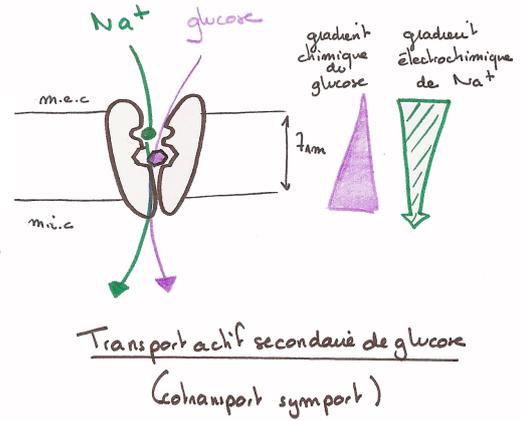
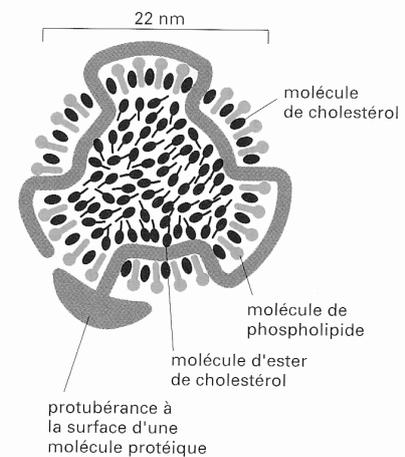


Figure 17 : Bilan sur les échanges membranaires

<p style="text-align: center;">TRANSPORTS NE NECESSITANT PAS D'ENERGIE METABOLIQUE</p>	<p>Diffusion simple</p> <p>Diffusion facilitée par un canal</p> <p>Diffusion facilitée par un transporteur</p>	<p>Eau (osmose) O₂, C O₂, glycérol (Dialyse)</p> <p>Eau (osmose par AQP) Ions (dialyse)</p> <p>Glucose (perméase)</p>
<p style="text-align: center;">TRANSPORTS NECESSITANT DE L'ENERGIE METABOLIQUE</p>	<p>Transport actif Iaire (couplage osmo-chimique)</p> <p>Transport actif IIaire (couplage osmo-osmotique)</p> <p>Exocytose et endocytose</p>	<p>Pompe Na⁺/K⁺ (Ax) Pompe H⁺ (Vgx) Pompe Ca⁺ (REL)</p> <p>Symport Na⁺/Glucose (entérocytes) Symport H⁺/Ac. aminés, lactose... (Bactéries) Symport H⁺/Saccharose (Charge du phloème) Antiport H⁺/Saccharose (Baie de raisin)</p>

Figure 18 : Structure d'une LDL (particule lipoprotéique de faible densité
(in Alberts)

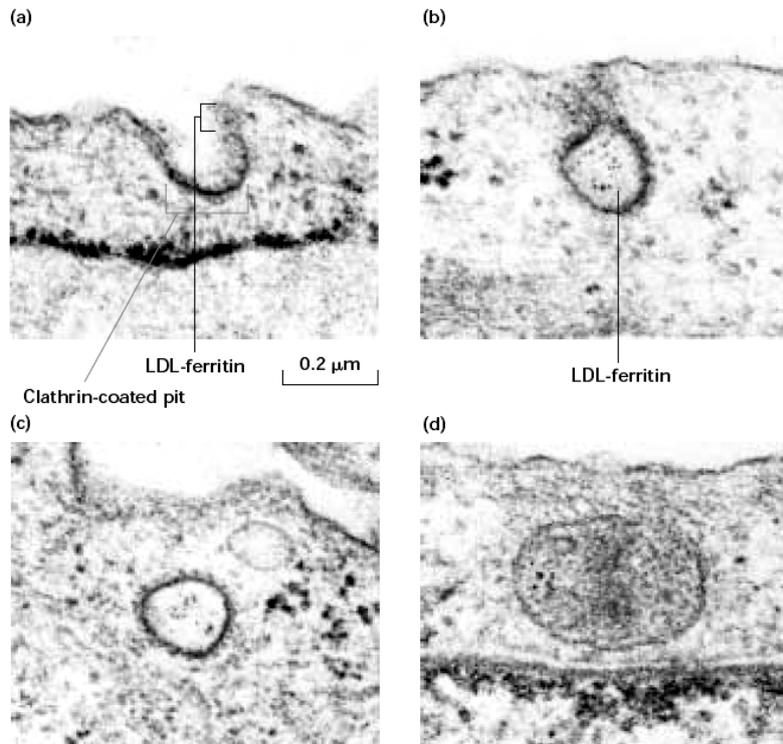


Une particule de lipoprotéine de faible densité (LDL).

Chaque particule sphérique a une masse de 3×10^6 daltons. Elle contient environ 1 500 molécules de cholestérol estérifiées en acides gras à longue chaîne dans sa partie centrale entourée par une monocouche lipidique composée d'environ 800 molécules de phospholipide et 500 molécules de cholestérol non estérifiées. Une seule molécule d'une protéine de 500 000 daltons organise la particule et est responsable de la fixation spécifique de LDL aux récepteurs protéiques de la surface cellulaire.

Figure 19 : Mise en évidence expérimentale du rôle des vésicules recouvertes de clathrine dans l'internalisation des LDL

The initial stages of receptor-mediated endocytosis of low-density lipoprotein (LDL) particles are revealed by electron microscopy. Cultured human fibroblasts were incubated in a medium containing LDL particles covalently linked to the electron-dense, iron-containing protein ferritin; each small iron particle in ferritin is visible as a small dot under the electron microscope. Cells initially were incubated at 4 °C; at this temperature LDL can bind to its receptor but internalization does not occur. After excess LDL not bound to the cells was washed away, the cells were warmed to 37 °C and then prepared for microscopy at periodic intervals. (a) A coated pit, showing the clathrin coat on the inner (cytosolic) surface of the pit, soon after the temperature was raised. (b) A pit containing LDL apparently closing on itself to form a coated vesicle. (c) A coated vesicle containing ferritin-tagged LDL particles. (d) Ferritin-tagged LDL particles in a smooth-surfaced early endosome 6 minutes after internalization began. [Photographs courtesy of R. Anderson. Reprinted by permission from J. Goldstein et al., *Nature* 279:679. Copyright 1979, Macmillan Journals Limited. See also M. S. Brown and J. Goldstein, 1986, *Science* 232:34.]



Principe de l'expérience :

Interprétation

Figure 20 : endocytose avec récepteurs : bourgeonnement de vésicules recouvertes de clathrine

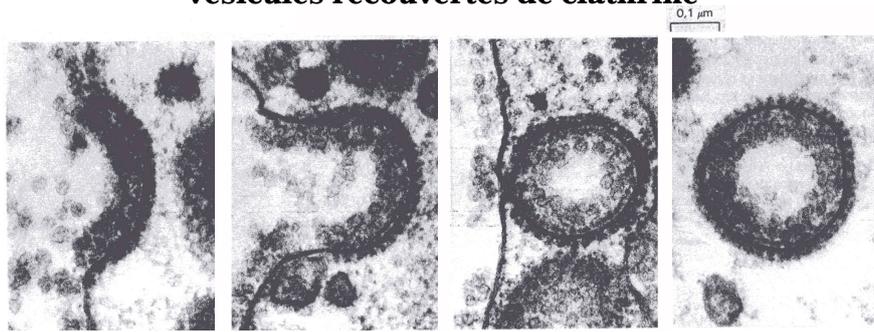
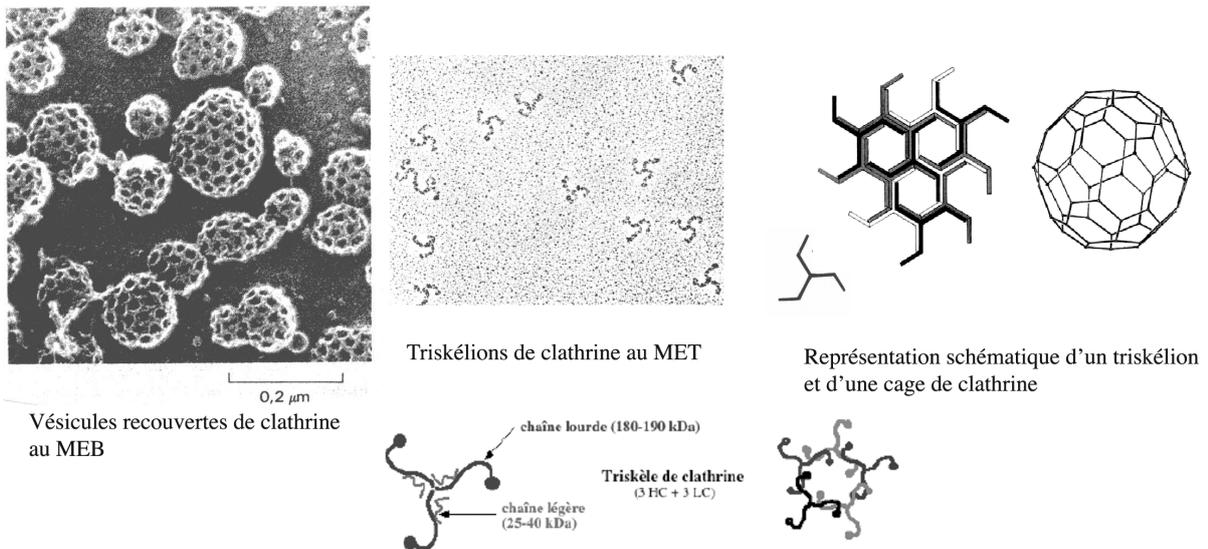
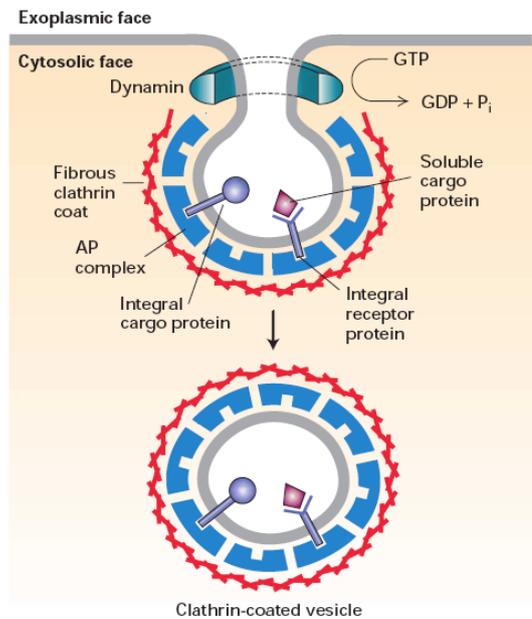
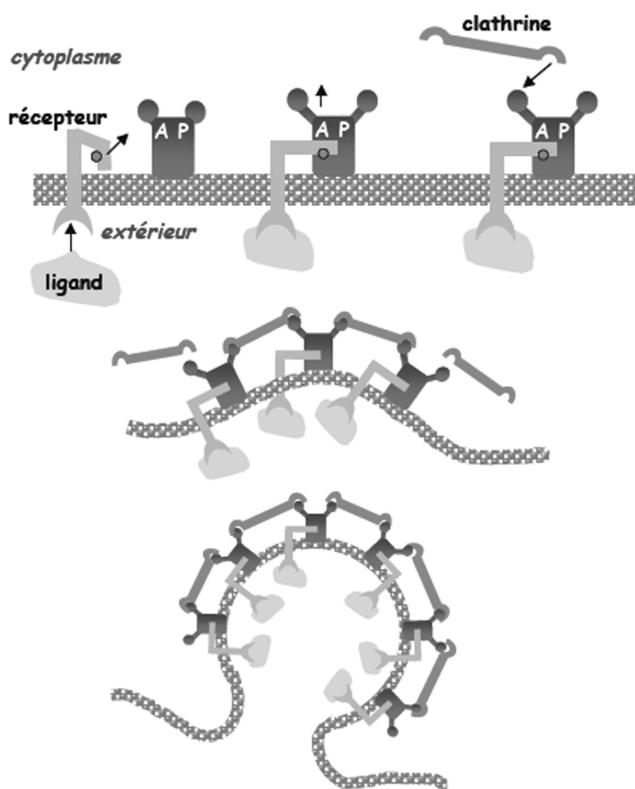


Figure 21 : structure des manteaux de clathrine



Formation de la cage de clathrine et de la vésicule



Model for dynamin-mediated pinching off of clathrin/AP-coated vesicles. After a vesicle bud forms, dynamin polymerizes over the neck. By a mechanism that is not well understood, dynamin-catalyzed hydrolysis of GTP leads to release of the vesicle from the donor membrane. Note that membrane proteins in the donor membrane are incorporated into vesicles by interacting with AP complexes in the coat. [Adapted from K. Takel et al., 1995, *Nature* 374:186.]

Figure 22 : étape du bourgeonnement d'une vésicule recouverte de clathrine (0,2µm)

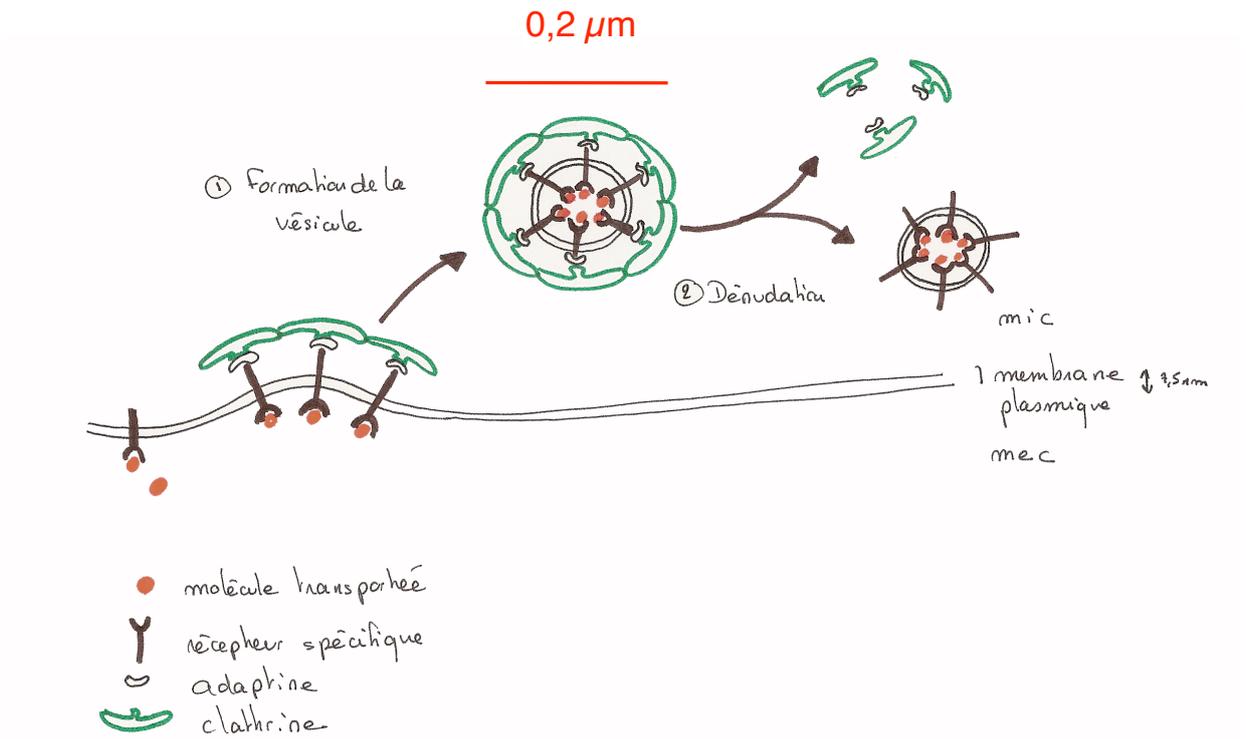


Figure 23 : les récepteurs sont recyclés

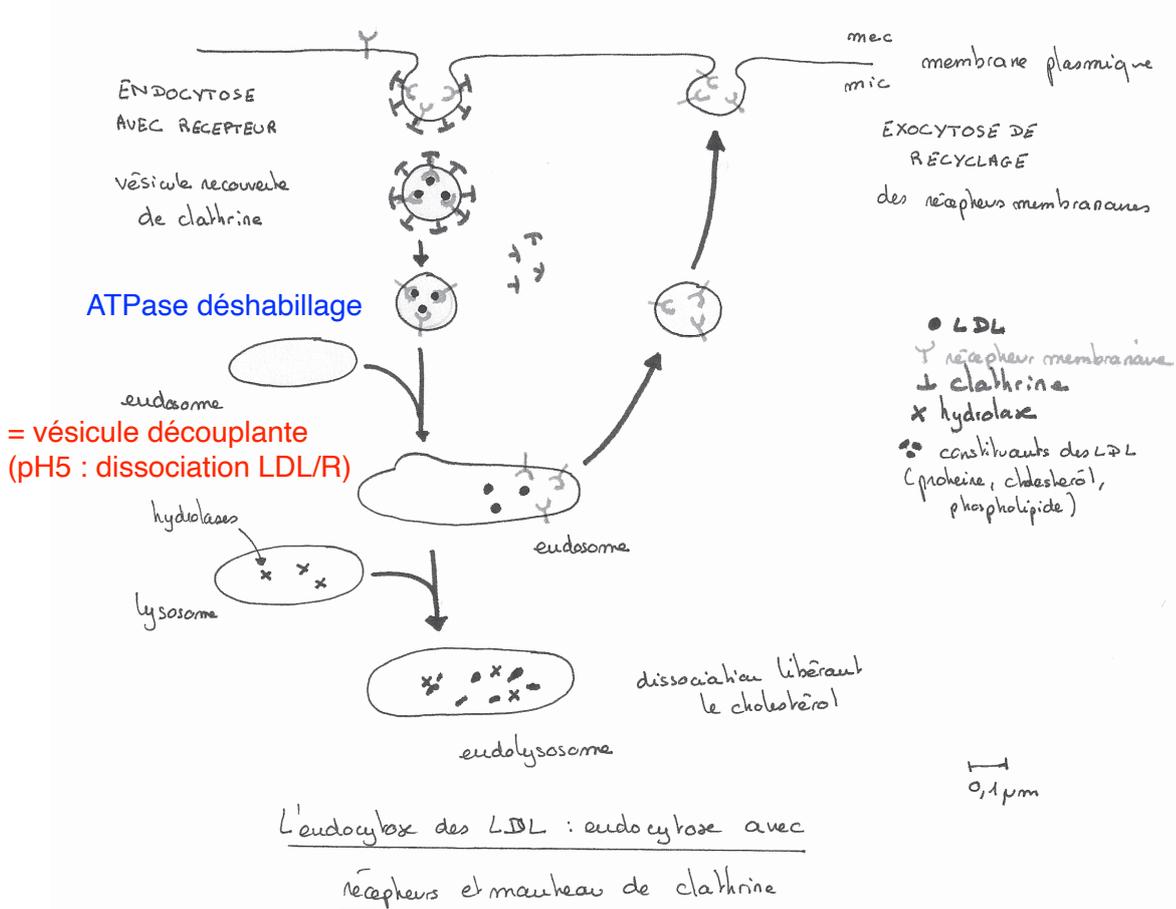


Figure 24 : modèle d'arrimage et de fusion d'une vésicule : rôle des protéines SNARE

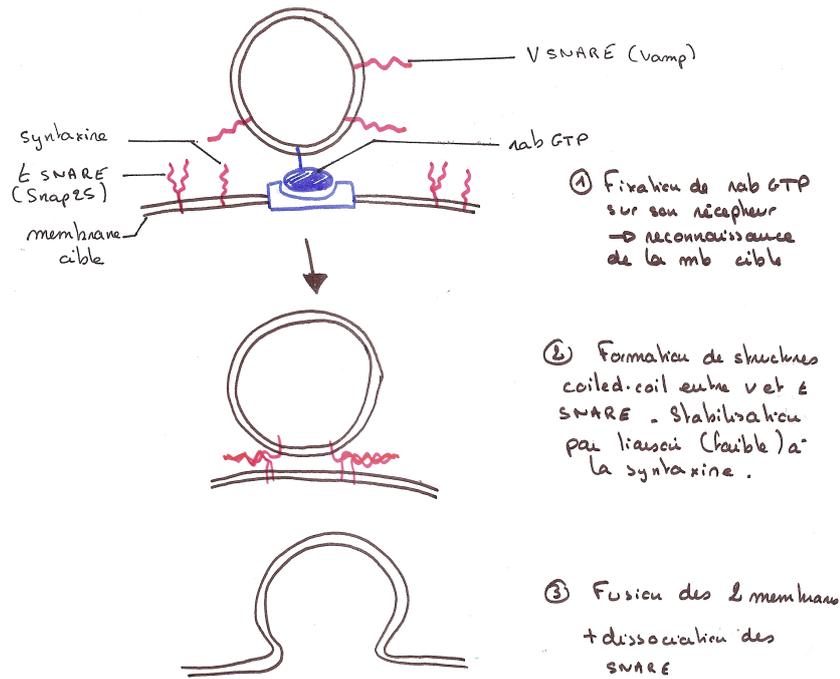


Figure 25 : voies d'endocytose et d'exocytose des protéines dans une cellule animale

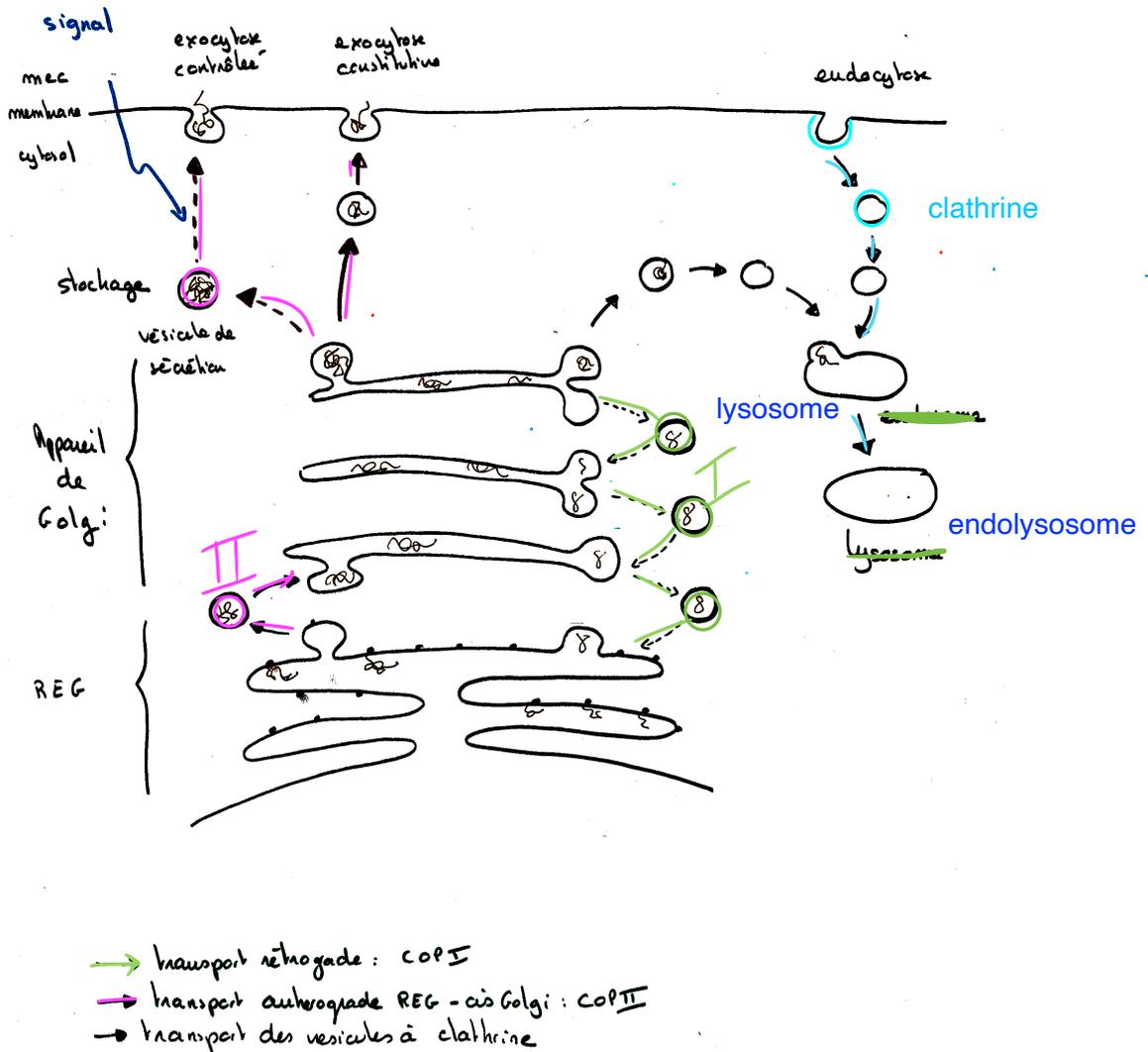
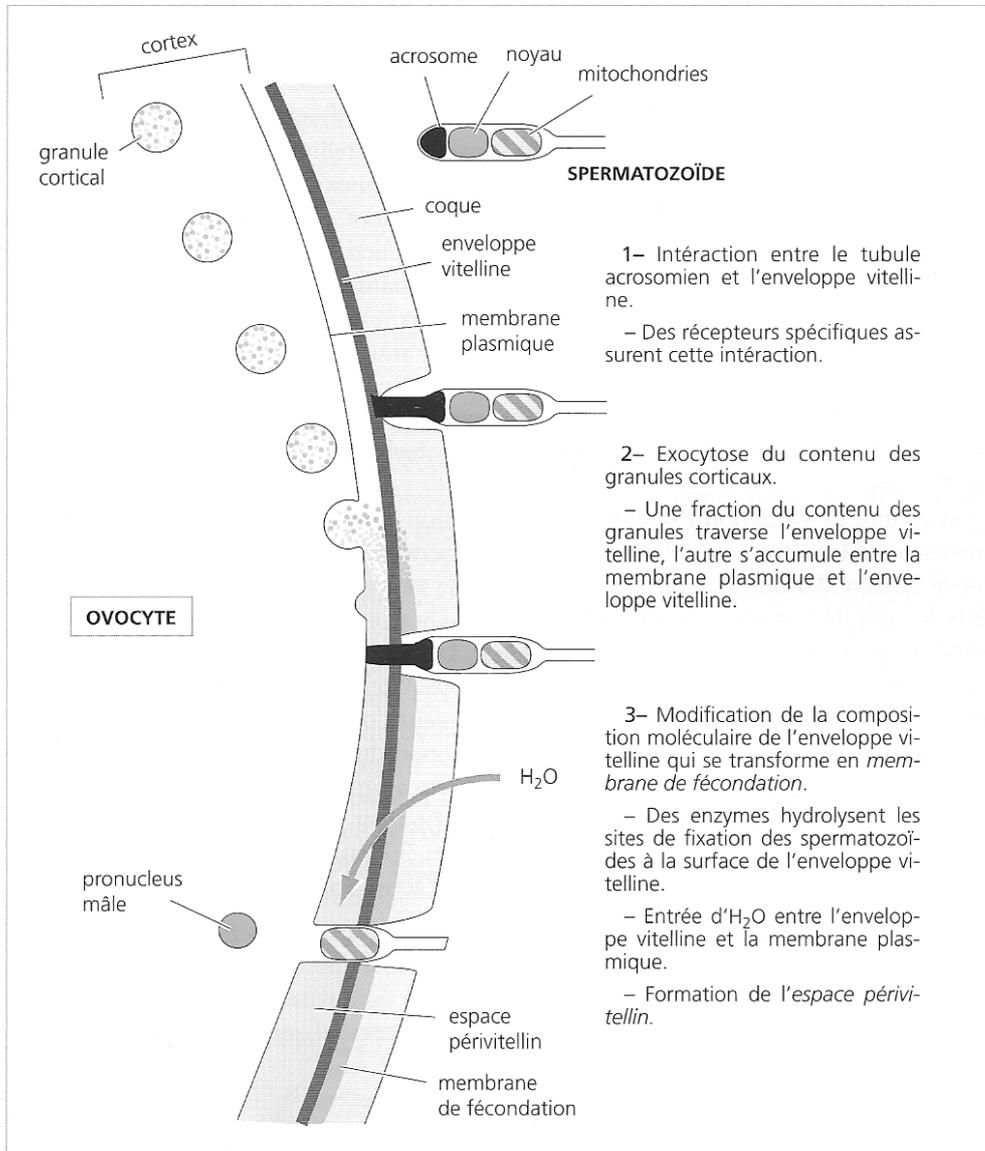


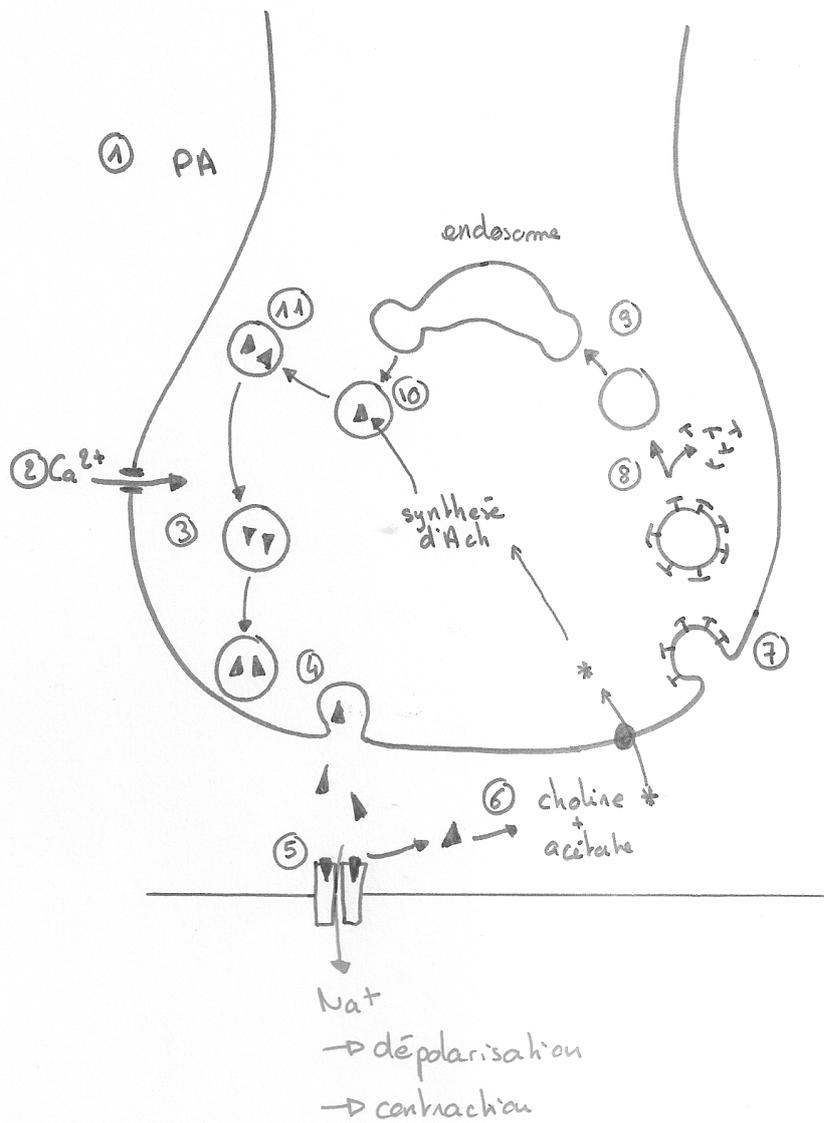
Figure 26 : deux exemples d'exocytose contrôlée

Exemple 1 : exocytose des granules corticaux au cours de la fécondation chez le Xénope



Représentation schématique de l'exocytose des granules corticaux. La fusion entre le spermatozoïde et l'ovocyte se réalise dans l'hémisphère animal. Dans le cortex, seuls les granules corticaux sont figurés. La formation de la membrane de fécondation et la création de l'espace périvitellin constituent une barrière physique à la polyspermie.

Exemple 2 : exocytose des vésicules contenant les neurotransmetteurs au niveau d'une synapse neuromusculaire

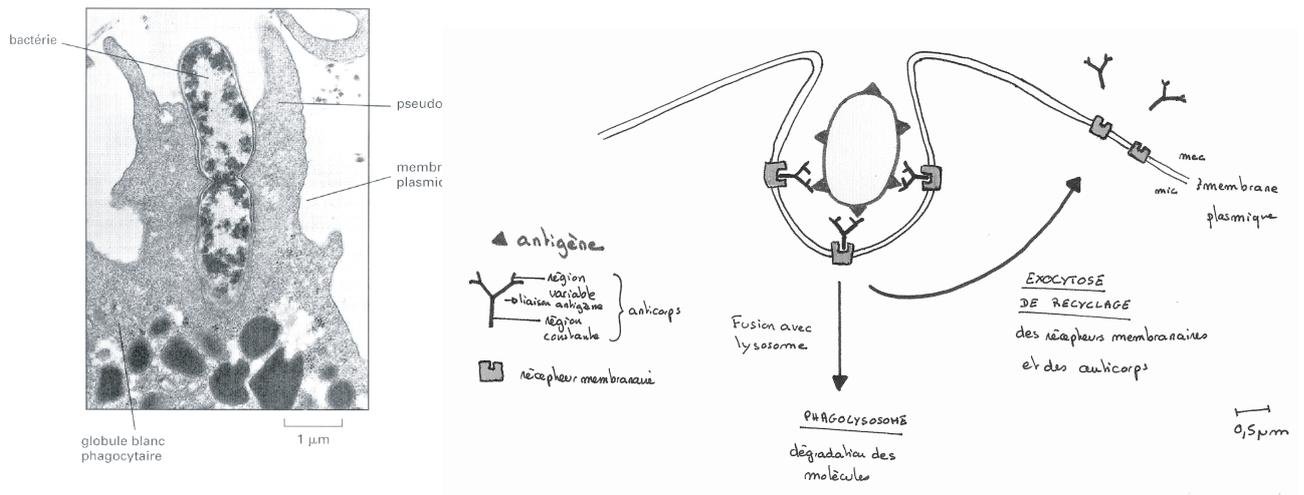


Terminaison axonale du motoneurone

} fente synaptique
membrane plasmique de la cellule musculaire

Na⁺
→ dépolariation
→ contraction

Figure 27 : la phagocytose permet la défense de l'organisme



Phagocytose de bactéries par une cellule phagocytaire (granulocyte neutrophile)

Modèle moléculaire de la phagocytose

Figure 28 : déplacement d'un fibroblaste sur sa matrice

