

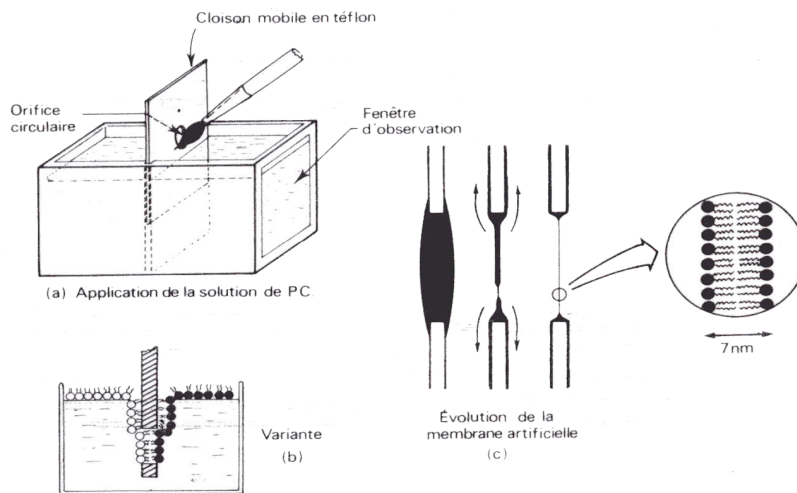
Figure 1 : concentration des mic et mec de cellule de Mammifère
(in Dunod, 2021)

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

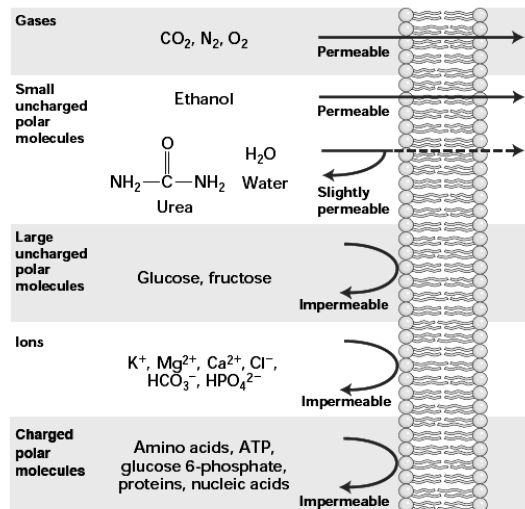
1 équivalent (Eq) correspond à une mole de charges.

Figure 2 : 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)



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.

diffusion simple

- perméable aux molécules apolaires = hydrophobes (O₂, CO₂)

diffusion simple / facilitée

- perméable aux petites molécules polaires (H₂O, urée)

diffusion facilitée obligatoire

- imperméable aux grosses molécules polaires (glucose) → nécessité de transporteurs

- imperméable aux molécules chargées = ions (Na⁺) → nécessité de canaux

Figure 3 : 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).

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

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

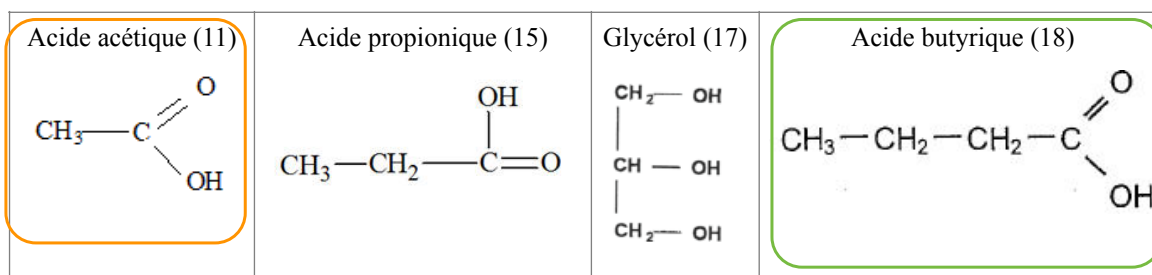
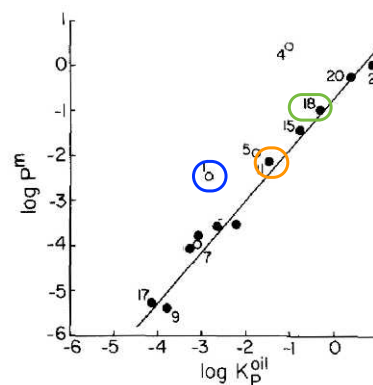
Par l'expérience de la membrane noire, on définit un **coefficient de perméabilité** pour chaque molécule, correspondant à la vitesse de traversée d'une l'interface par la molécule en cm/s.

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. **= membrane artificielle**

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



Questions :

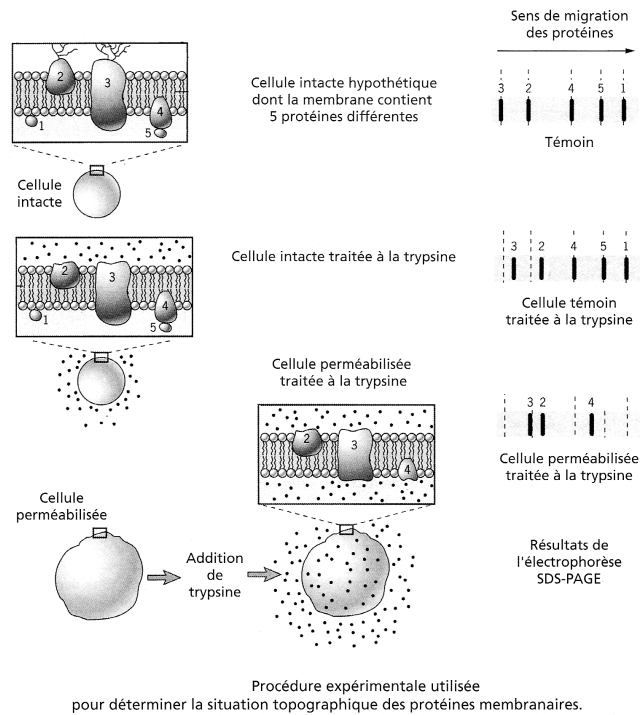
- Justifiez la valeur relative des coefficients de partition des composés 11, 15, 17, 18 à partir de leur formule chimique.
- Expliquer la relation de proportionnalité visible entre le coefficient de perméabilité et le coefficient de partition.
- Comment expliquer la position de l'eau, en dehors de la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

Figure 4 : étude des protéines membranaires par digestion sélective
(in Pécrú et al, Dunod, 2006)

On réalise une **digestion sélective** des protéines membranaires par la **trypsine**, une protéase (enzyme hydrolysant les protéines). La trypsine est une molécule non perméante = qui ne traverse pas la membrane.

On **extraît** ensuite les protéines et on les sépare par **électrophorèse** = migration des protéines dans un champ électrique (sur gel de polyacrylamide SDS : **SDS-PAGE**).

Puis on réalise la **même expérience** en rendant la **membrane perméable** : l'enzyme est alors localisée dans le milieu extracellulaire et dans le milieu intracellulaire.



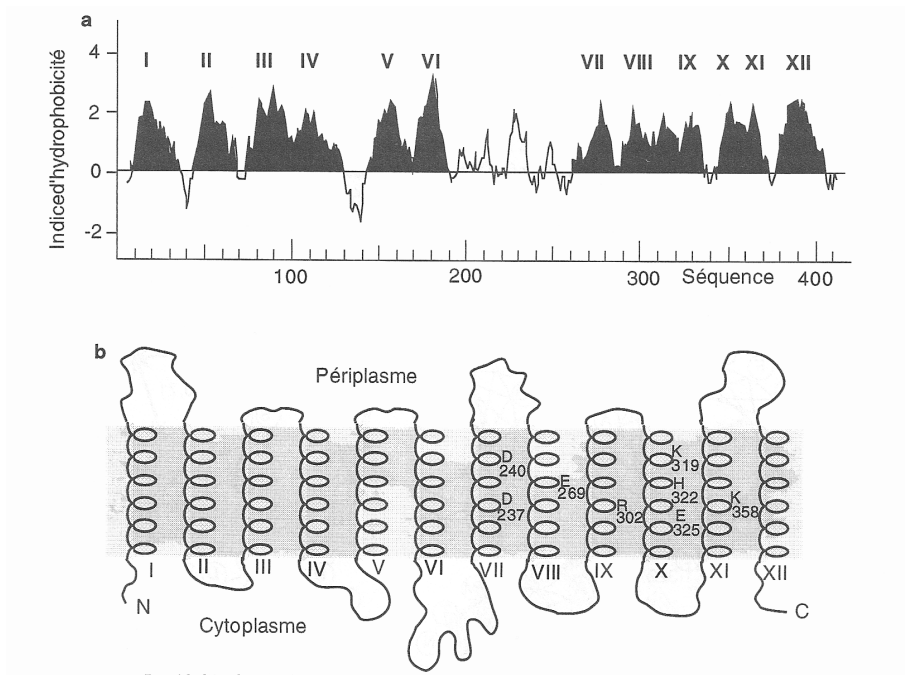
Analyse des résultats :

➤ Avant la digestion sélective :

➤ Digestion sélective de la membrane intacte :

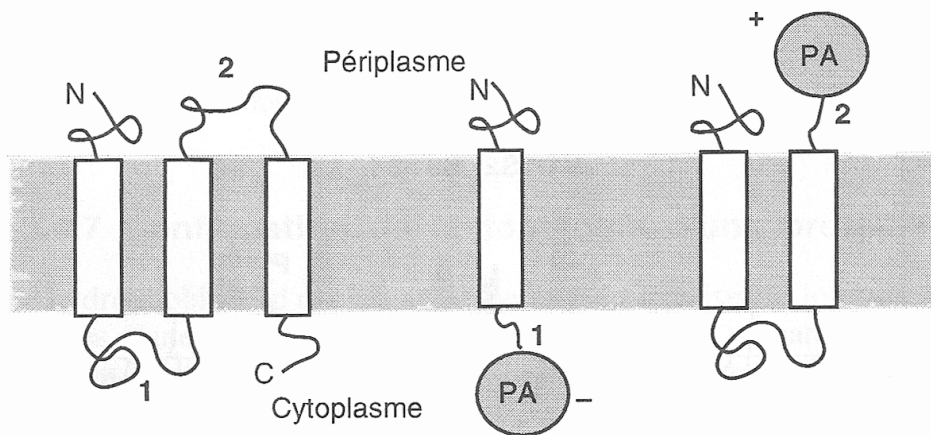
➤ Digestion sélective de la membrane perméabilisée :

Figure 5 : profil d'hydrophobicité de la lactose perméase
(in Shechter, Dunod, 2000)



Profil d'hydrophobicité et topologie de la lactose perméase de Escherichia coli.
 a : profil. Il est obtenu en utilisant une fenêtre de 11 acides aminés. L'échelle d'hydrophobicité utilisée est celle de Kyte et Doolittle. Les douze domaines hydrophobes correspondant à autant de segments transmembranaires en hélice α sont dénotés de I à XII.
 b : topologie. La position de certains acides aminés chargés est représenté au sein des hélices. On note que certains domaines extramembranaires reliant deux hélices successives dans la séquence sont relativement courts (hélice III à IV, hélices V à VI, hélices IX à X).
 (D'après Jung, K., Jung, H., Wu, J., Privé, G.G. et Kaback, H.R. (1993) *J. Bioener. Biomemb.* 25, 627-635.)

Figure 6 : utilisation d'une protéine rapporteur
(in Shechter, Dunod, 2000)



Principe de la détermination de la topologie d'une protéine membranaire exprimée chez Escherichia coli par la technique de la fusion de gène avec la phosphatase alcaline.
 La protéine membranaire hypothétique est constituée de 3 segments transmembranaires, d'un domaine périplasmique et d'un domaine cytoplasmique. Aucune activité phosphatase alcaline (ou une activité faible) n'est détectée si la fusion a lieu en 1 au niveau du domaine cytoplasmique ; une activité élevée est détectée si la fusion a lieu en 2 au niveau du domaine périplasmique.
 (D'après Manoil, C., Boyd, D. et Beckwith, J. (1988) *TIG* 4, 223-226.)

Figure 7 : organisation fonctionnelle de la membrane

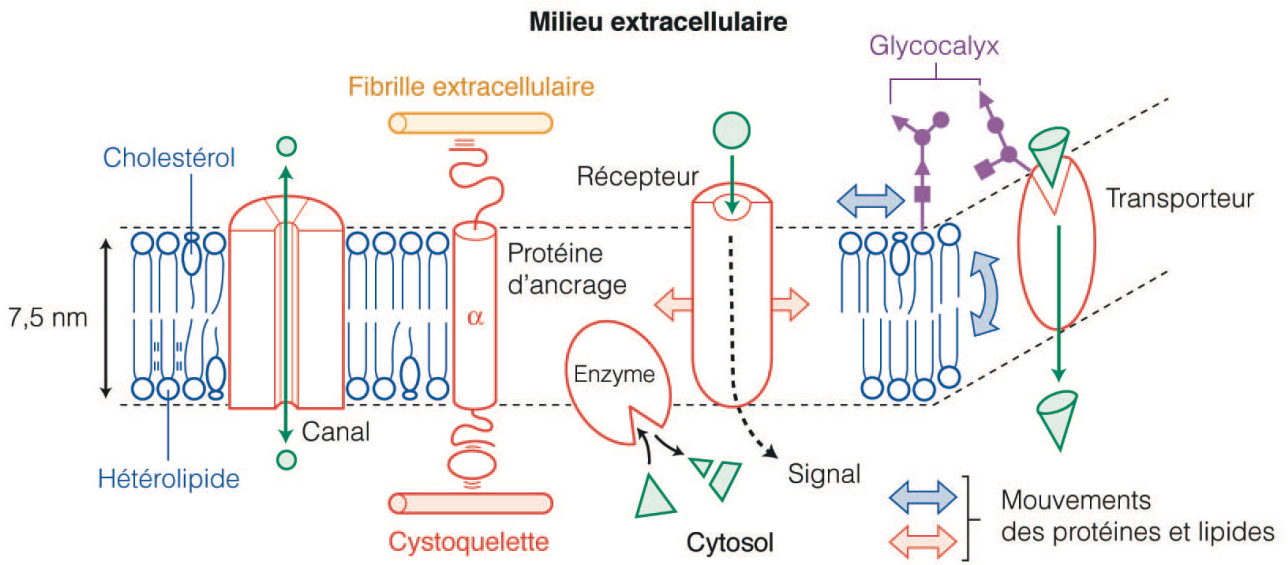


Figure 8 : les jonctions étanches empêchent la diffusion latérale : principe
 Ne PAS RETENIR ce dessin, prendre l'exemple de l'entérocyte avec les différents transporteurs

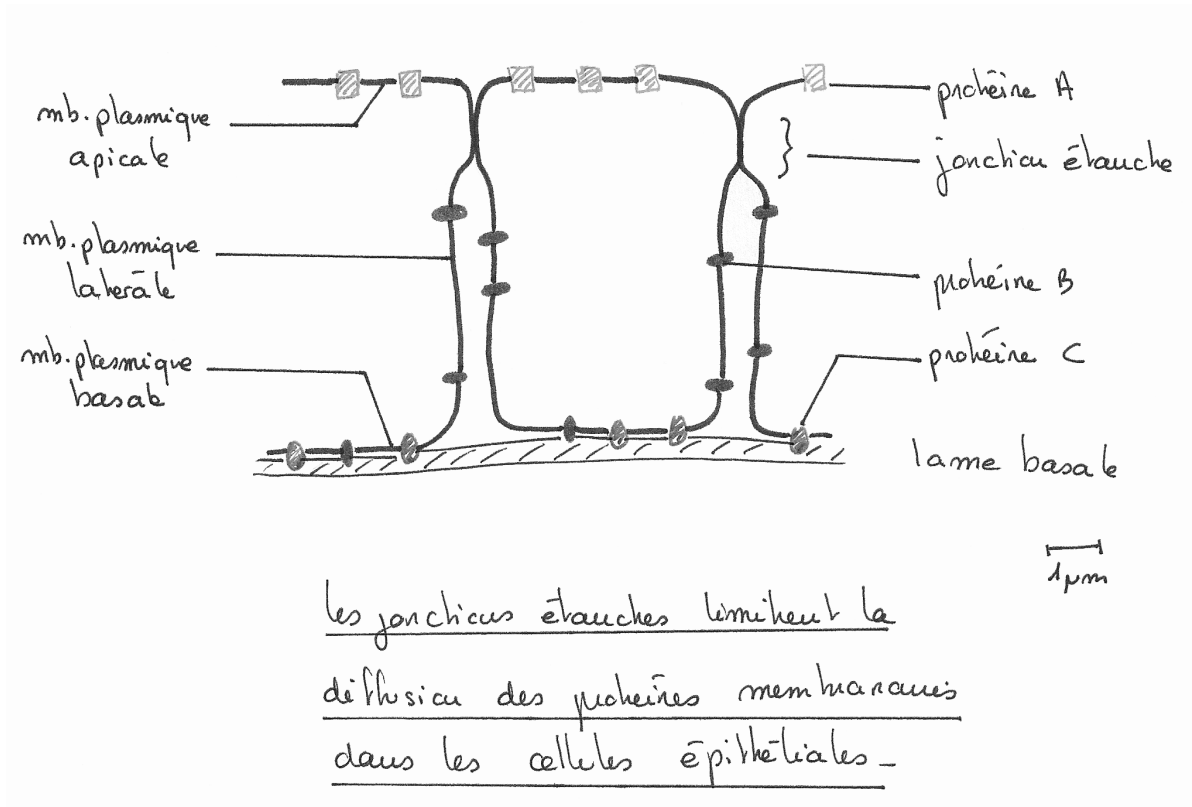


Figure 9 : schéma bilan sur la membrane plasmique

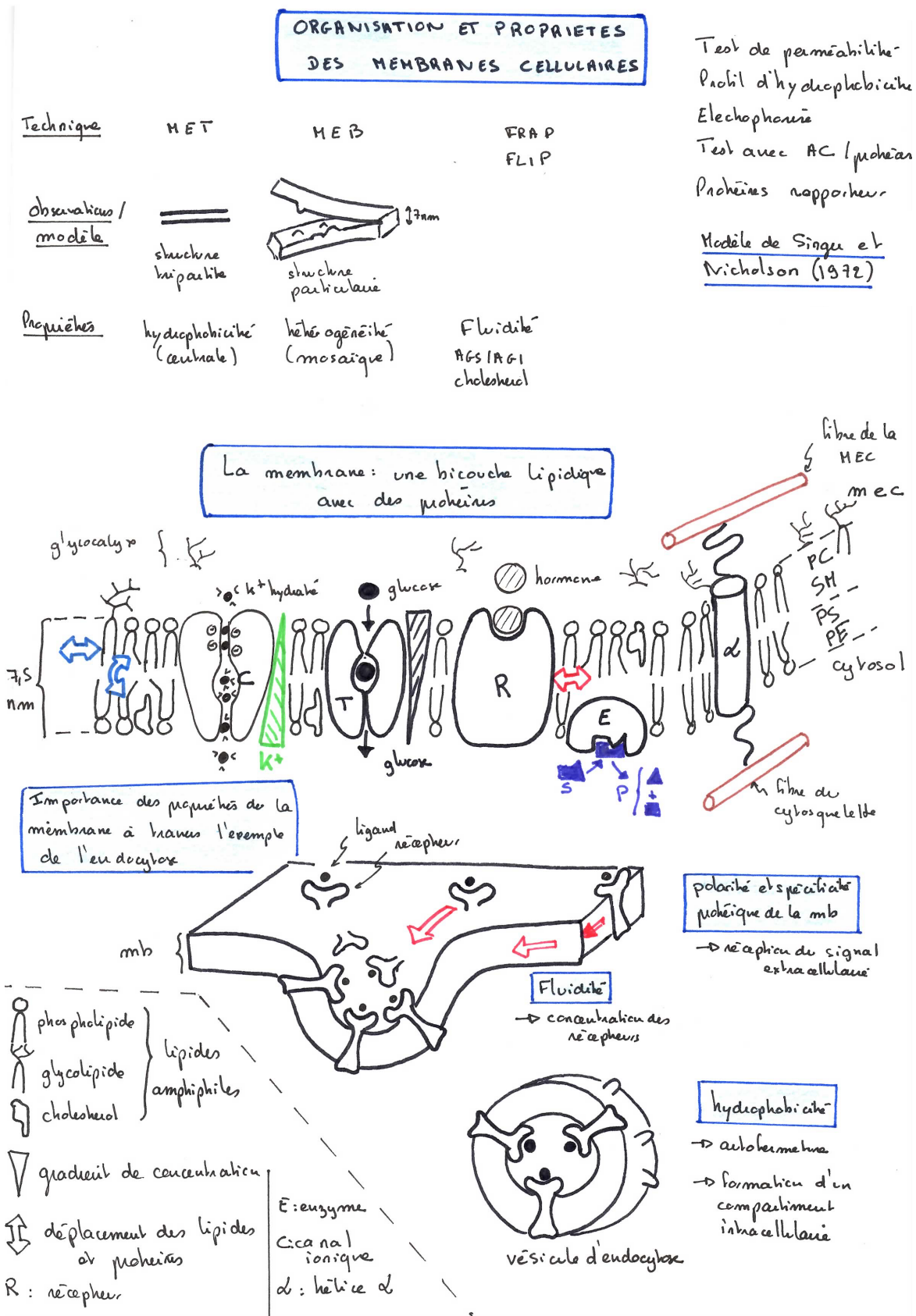


Figure 10 : Définition du potentiel hydrique

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.

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

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 : $C_{osm} = 2.C_m$ (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 11 : Aspect énergétique des échanges transmembranaires

ΔG : énergie disponible pour un travail = part de l'énergie d'un système qui produit un travail

Transport passif $\rightarrow \Delta G < 0$

Il est spontané et libère de l'énergie (exergonique) \rightarrow 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) \rightarrow il 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 1 au compartiment 2 est :

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

$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1)$$



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 :

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



$\Delta V = V_2 - V_1$ = 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 12 : Influence du potentiel hydrique du milieu extracellulaire sur les mouvements d'eau au niveau de la membrane plasmique
(in Segarra et al.,)

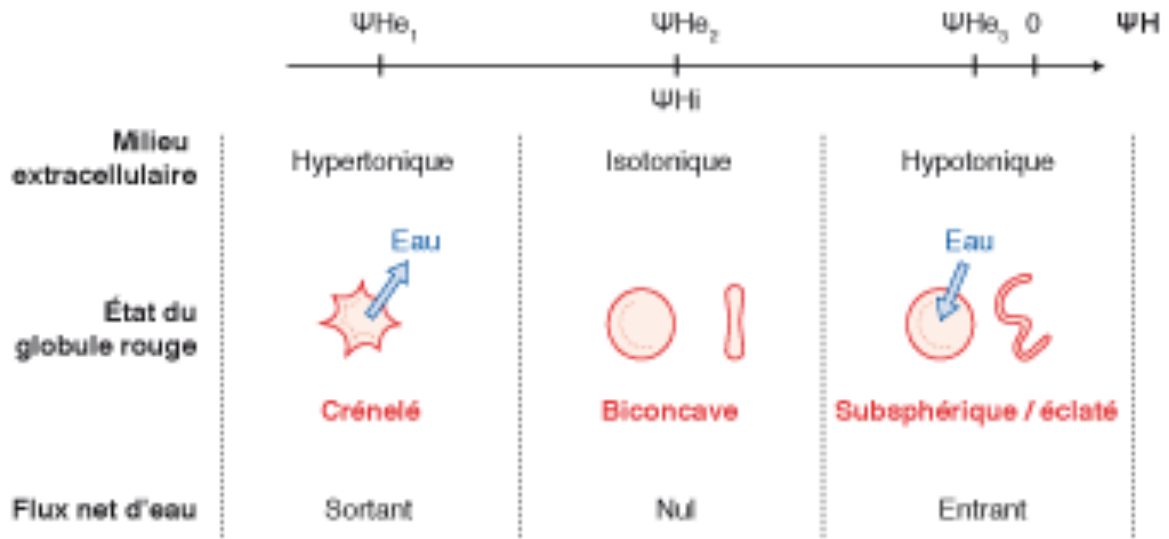


Figure 13 : cellules d'épiderme d'oignon plasmolysées
<http://www.svtaucclairjj.fr/>

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

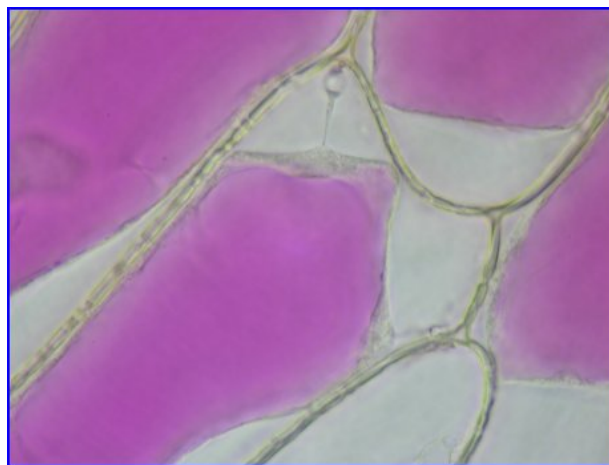
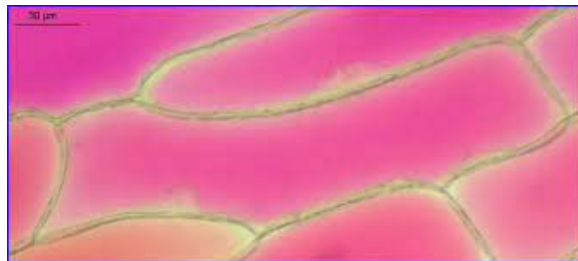
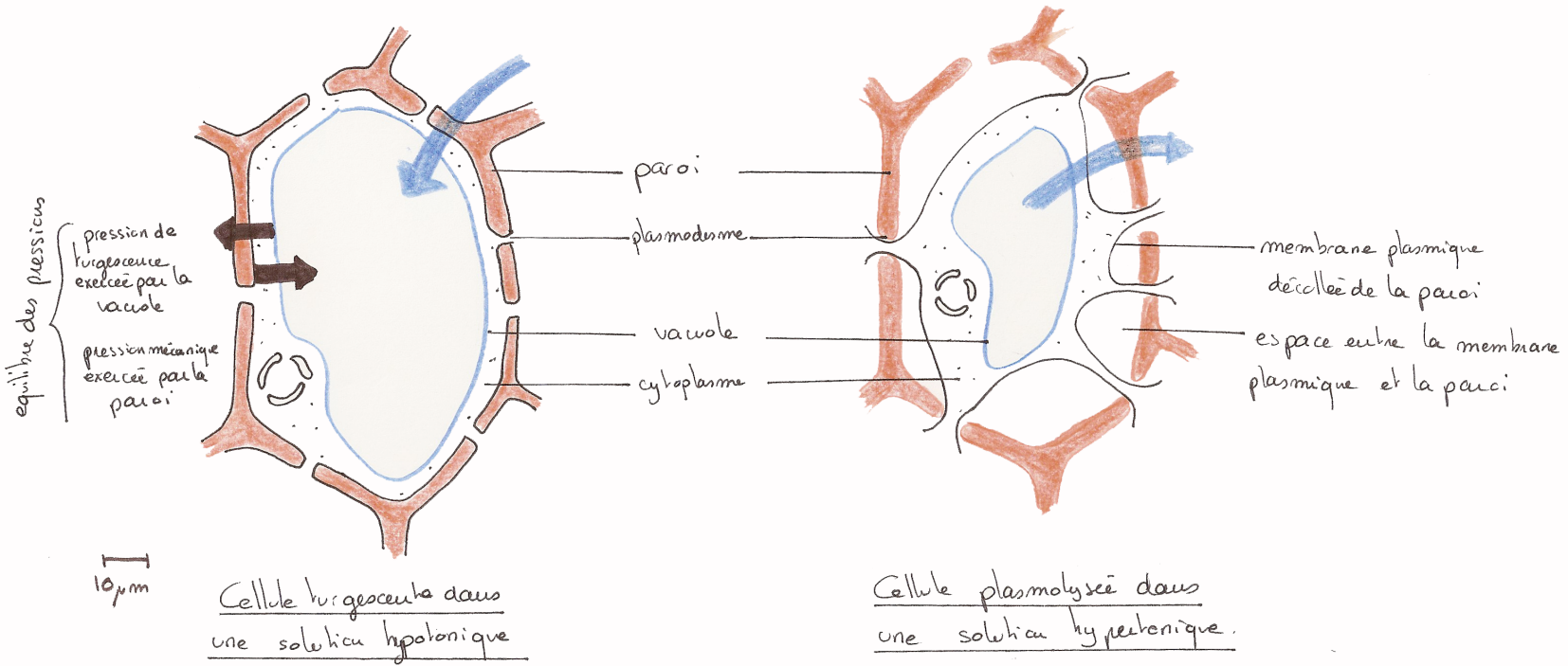


Figure 14 : la plasmolyse limite permet de déterminer la pression osmotique d'une cellule végétale



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
$P = 0 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$
$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,7 \text{ MPa}$
$\psi = -0,7 \text{ MPa}$	$\psi = -0,7 \text{ MPa}$

= car à l'équilibre

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

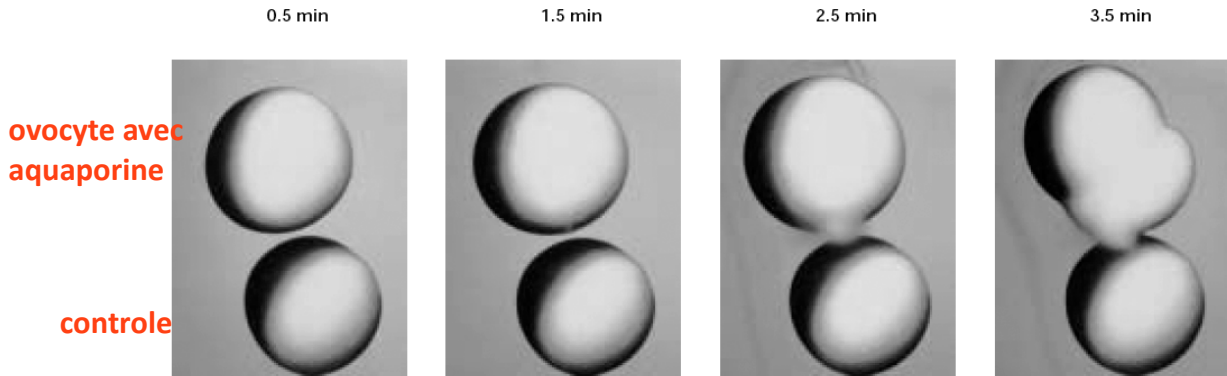
Cellule plasmolysée	Milieu
$P = 0 \text{ MPa}$	$P = 0 \text{ MPa}$
$-\pi = -0,9 \text{ MPa}$	$-\pi = -0,9 \text{ MPa}$
$\psi = -0,9 \text{ MPa}$	$\psi = -0,9 \text{ MPa}$

Figure 15 : 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'aquaporine1 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

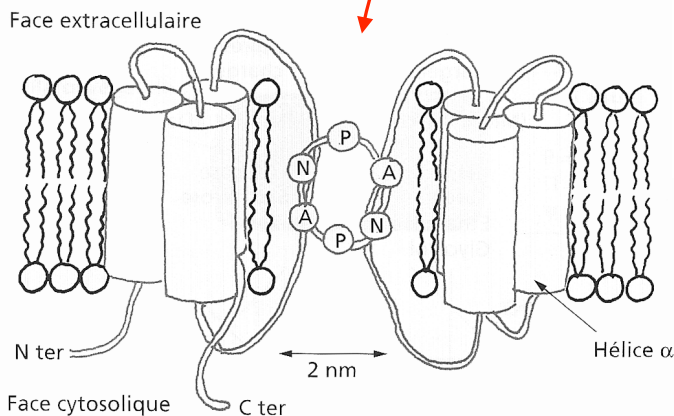
transfer from an isotonic salt solution (0.1 mM) to a hypotonic salt solution (0.035 M). The volume of the control oocytes remained unchanged because they are poorly permeable to water. In contrast, the microinjected oocytes expressing aquaporin swelled because of an osmotic influx of water, indicating 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 :

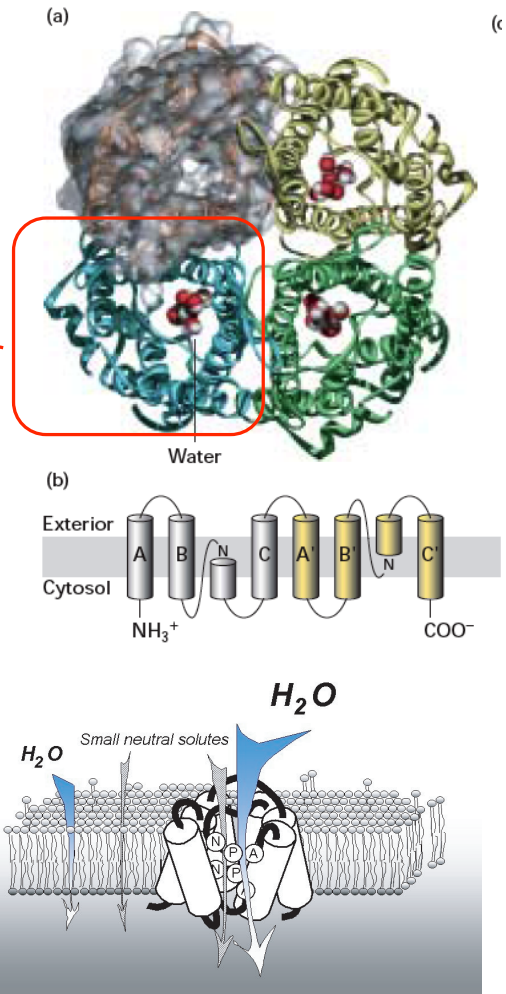
L'AQP de l'érythrocyte est constituée 4 chaînes polypeptidiques chacune formée de 6 hélices transmembranaires. Ces hélices forment 2 groupes de 3 hélices reliées par 2 boucles formant un "lasso" central, sorte de pore de 0,15 à 0,2 nm qui laisse passer les molécules d'eau en file indienne (5 à 9 molécules dans l'épaisseur du canal). Ces AQP sont spécifiques de l'eau.

On connaît plus de 200 aquaporines différentes, des plantes aux animaux (illustrations : Peycru et al, Lodish et al).

1 chaîne



Modèle d'organisation de AQP 1 (D'après Durliat, Biochimie structurale, Diderot, 1997).
N : Asparagine ; l : 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.

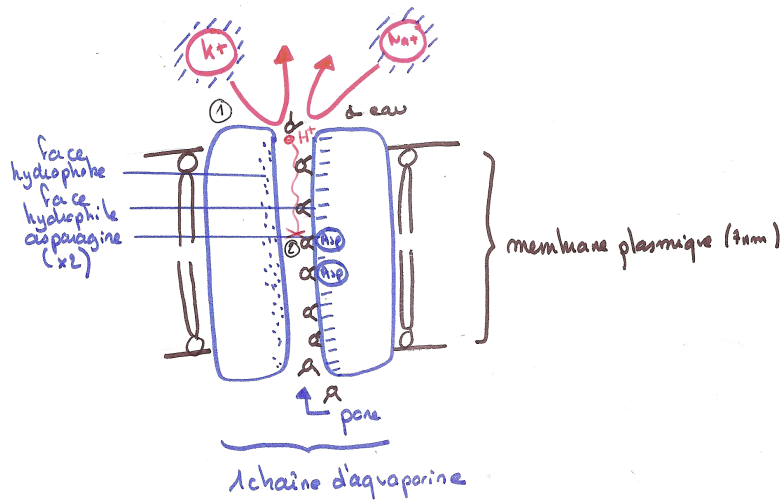
Les études de cristallographie ont permis de montrer que le pore présente **deux faces** :

- 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 chaîne



- 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?

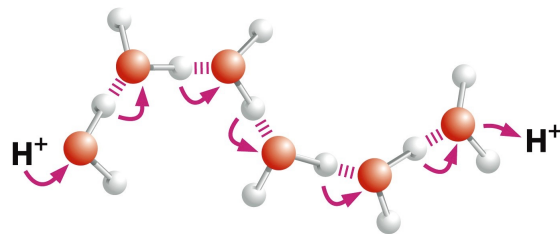


Figure 11-27c Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

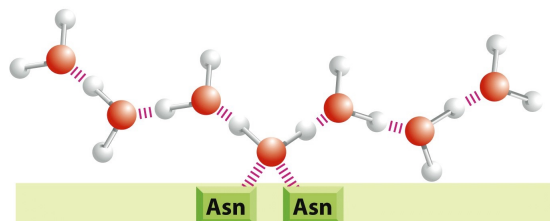
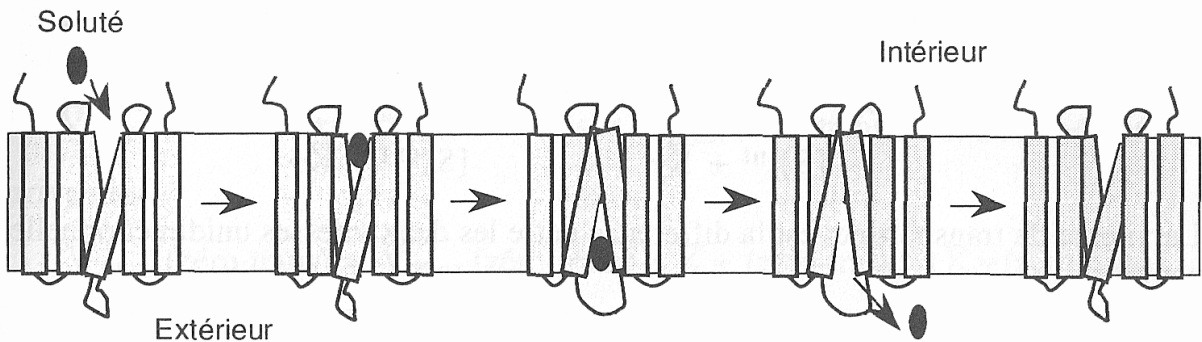


Figure 11-27d Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Figure 16 : diffusion facilitée du glucose grâce à la perméase

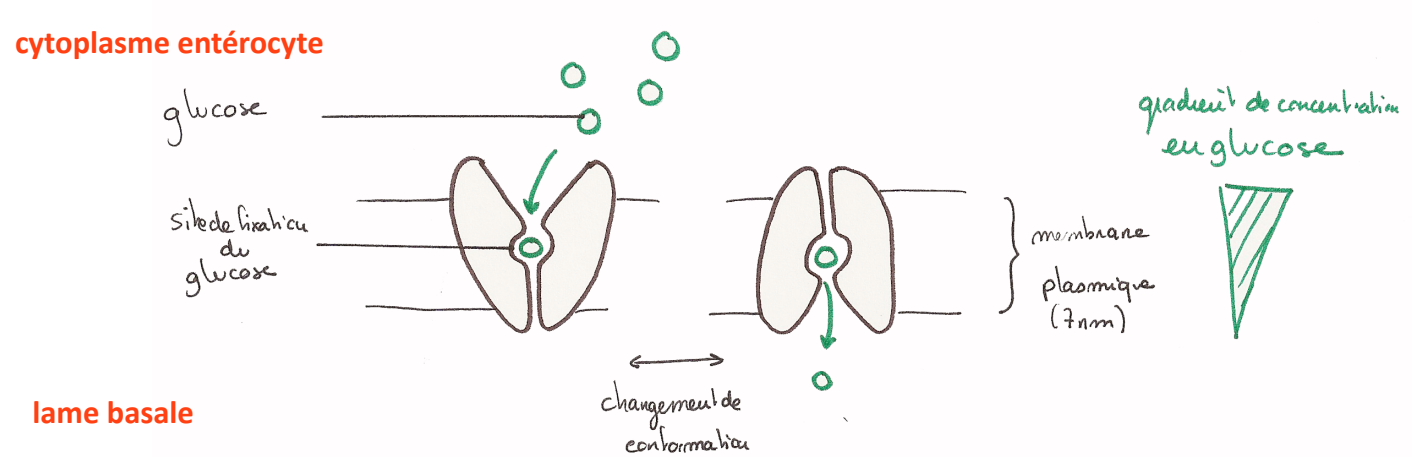
A : modèle du transport mettant en évidence les hélices transmembranaires (in Shechter, Dunod, in Karp)



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

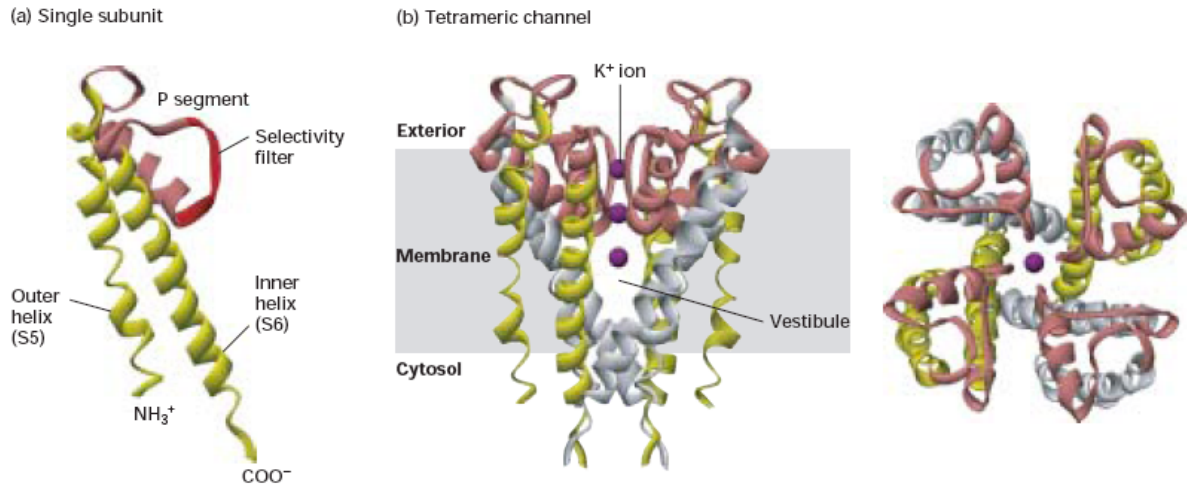
On représente des segments en hélice α du transporteur. La topologie de la protéine est totalement arbitraire. Le transport est schématisé de l'intérieur vers l'extérieur.

B : modèle de fonctionnement simplifié



Modèle de fonctionnement de la perméase au glucose (transport facilité)

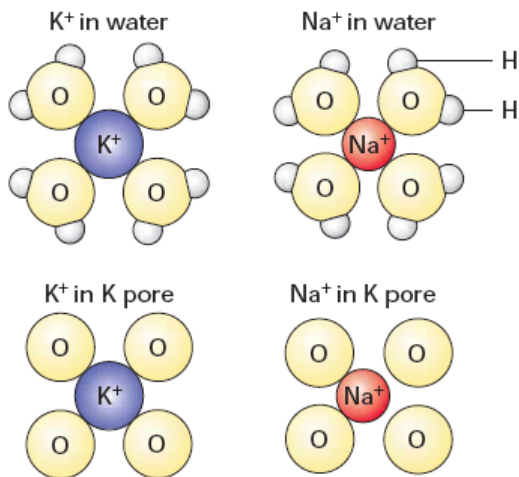
Figure 17 : structure du canal à potassium (in Lodish)



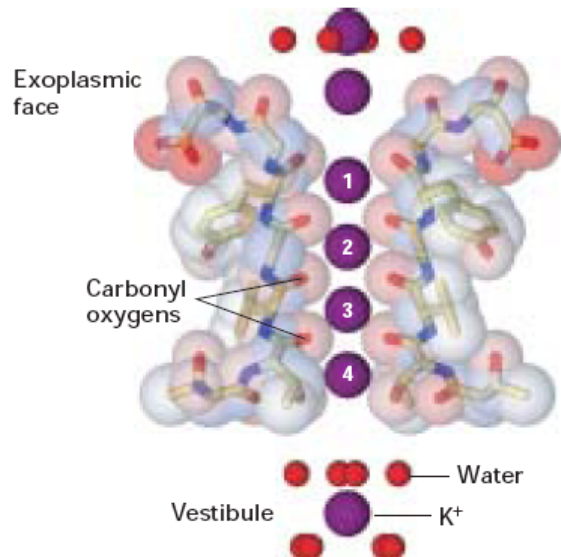
Structure of resting K⁺ channel from the bacterium *Streptomyces lividans*. All K⁺ channel proteins are tetramers comprising four identical subunits each containing two conserved membrane-spanning α helices, called by convention S5 and S6 (yellow), and a shorter P, or pore segment (pink). (a) One of 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.]

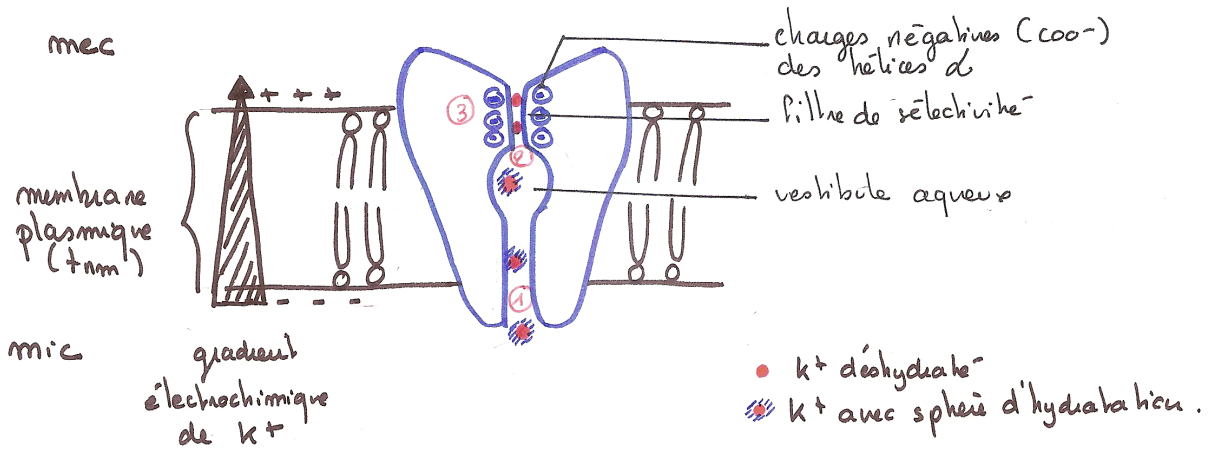
(a) K⁺ and Na⁺ ions in the pore of a K⁺ channel (top view)



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



Structure du canal K^+ bactérien.



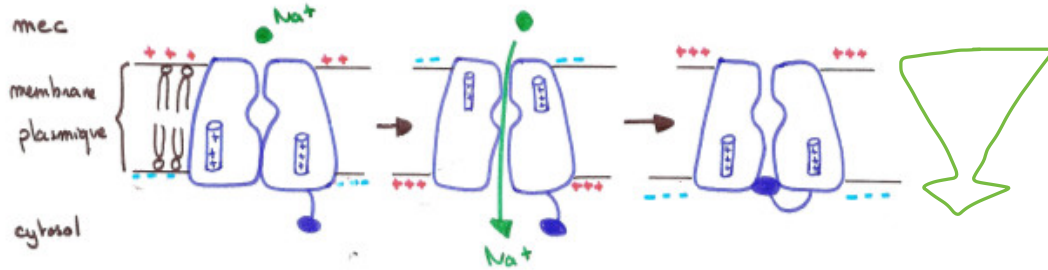
- ① Entrée de l'ion hydraté dans le pore \rightarrow vestibule
- ② Le passage dans le filtre de sélectivité très étroit nécessite la déshydratation de l'ion K^+ . La rupture des liaisons avec l'eau est compensée par la formation de liaisons avec des charges \ominus au niveau des acides aminés formant 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 18 : mécanismes du contrôle de l'ouverture des canaux ioniques

Figure 18a : contrôle de l'ouverture des canaux Na⁺ voltage dépendants



① Canal à Na⁺ fermé

Les hélices chargées positivement sont attirées par les charges ⊖ du cytosol → le canal est fermé

② Canal à Na⁺ ouvert

La dépolarisation → rotation des hélices chargées vers le mec → le canal s'ouvre

③ Canal à Na⁺ inactivé

Les hélices reviennent rapidement à leur position de départ et le segment inactivateur ferme le canal.

La repolarisation de la membrane entraîne le déplacement du segment inactivateur, le canal se ferme.
→ retour à l'état ①

Figure 18b : généralisation

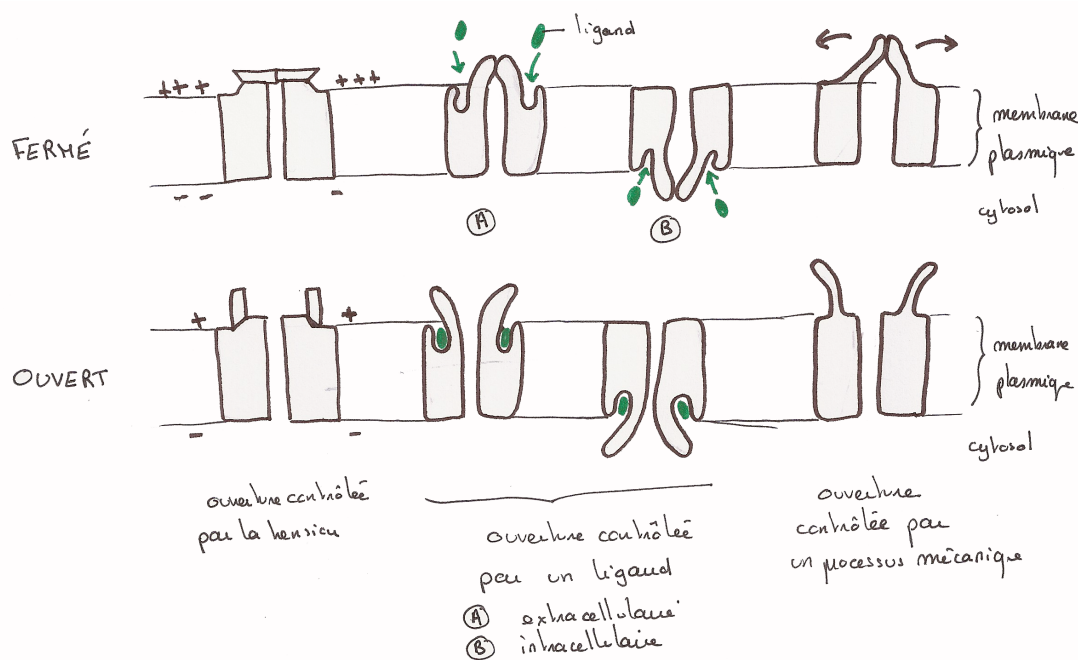
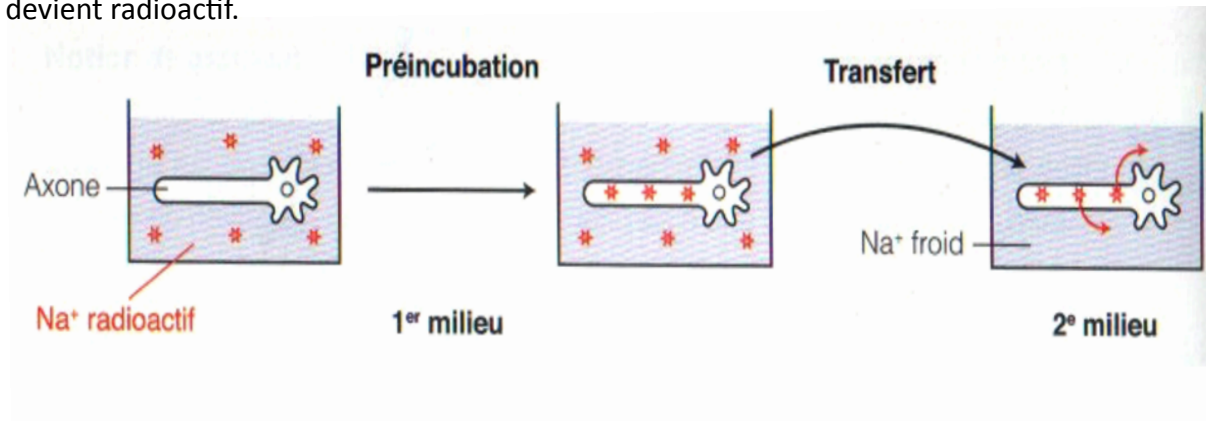


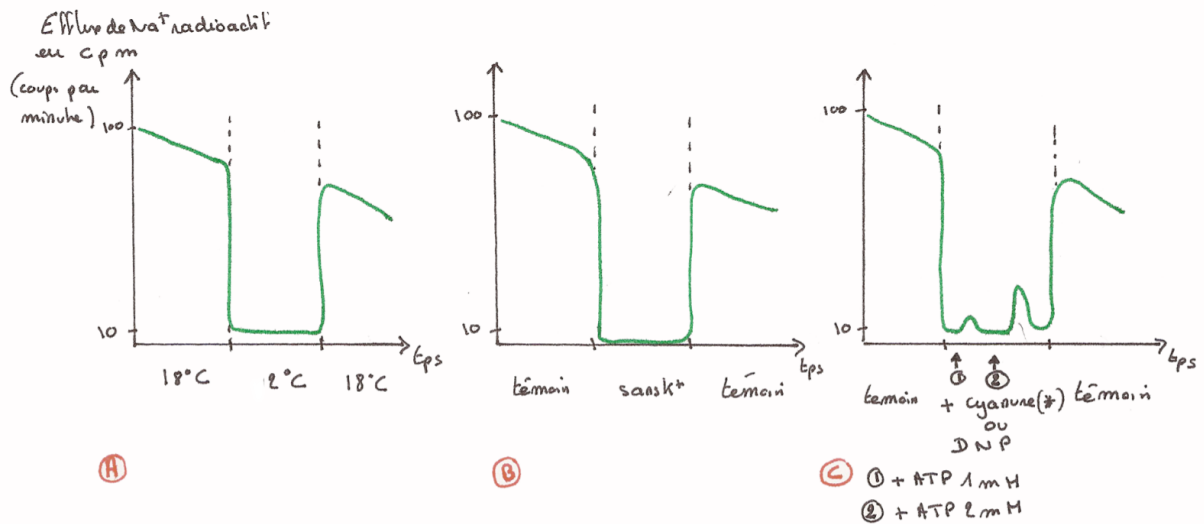
Figure 19 : étude du fonctionnement de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase

Expérience 1 : Un axone géant de calmar (*ils survivent facilement in vitro et ont un diamètre important*) est placé dans du liquide de Ringer contenant du Na⁺ radioactif. Après quelques heures, cet axone est replacé dans un liquide non radioactif : concentration en Na⁺ très supérieure dans le milieu par rapport à celle du milieu intracellulaire. Les conditions sont telles que le gradient de potentiel électrochimique s’oppose à la sortie passive des ions. Pourtant, rapidement, le milieu devient radioactif.



Interprétation

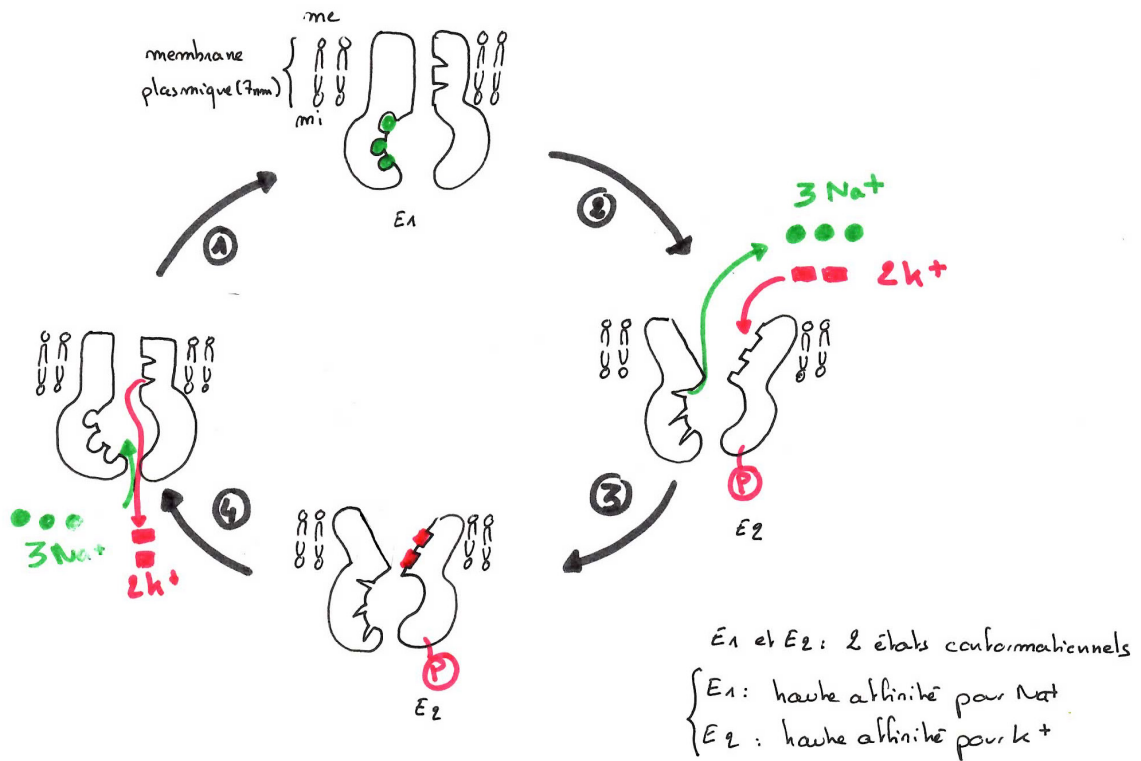
Expérience 2 : mesure de l’efflux de sodium radioactif



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

Interprétation

Figure 20 : 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
- ④ Déphosphorylation de E₂ ⇒ changement de conformation E₂ → E₁
 ⇒ { entrée de 2 K⁺
 +
 fixation de 3 Na⁺ sur E₁
- ①

Figure 21 : transport du glucose dans l'entérocyte

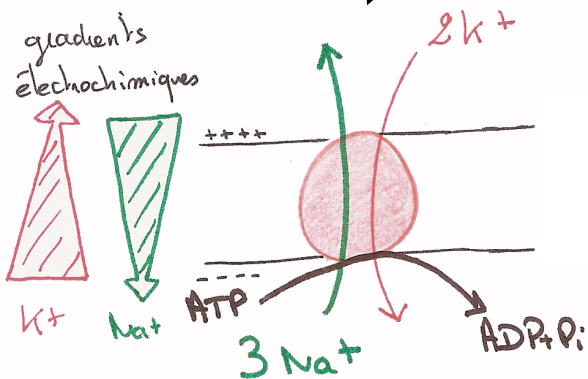
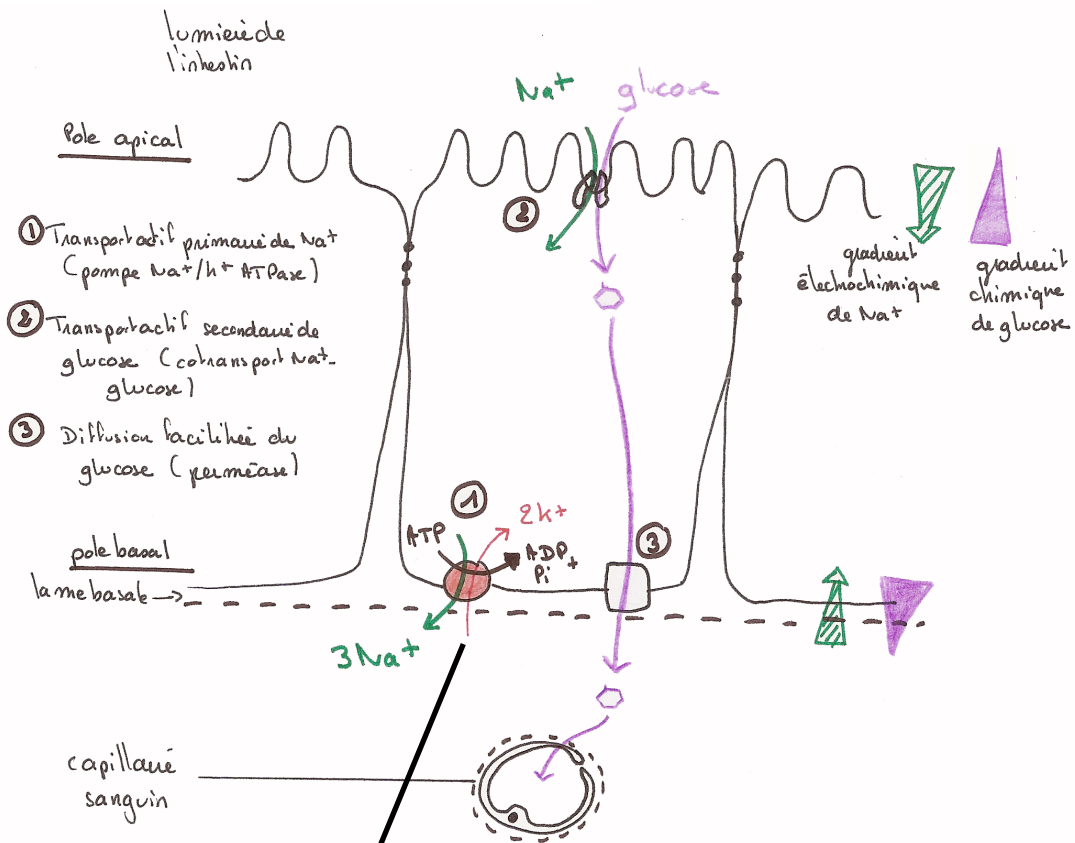
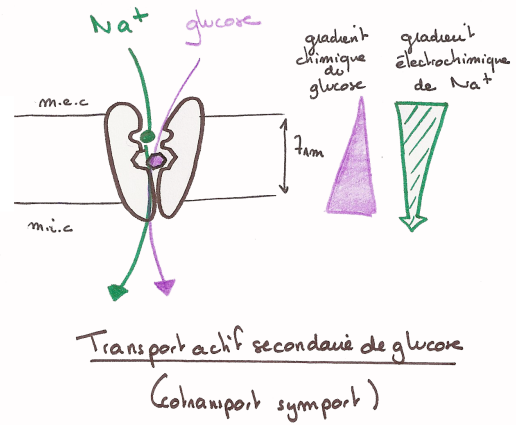
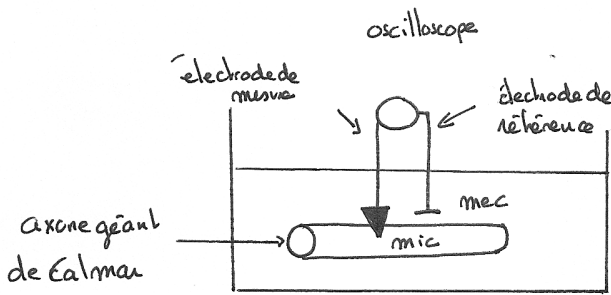
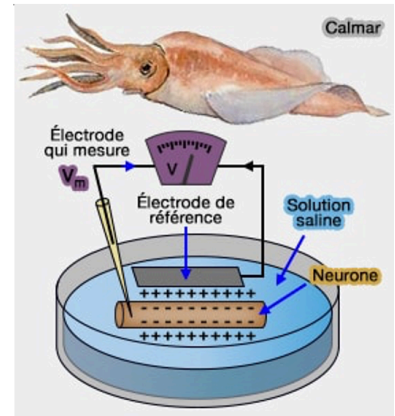


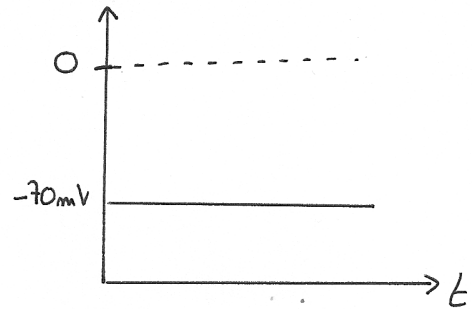
Figure 22 : Enregistrement de la différence de potentiel transmembranaire à l'aide d'électrodes : exemple de l'axone géant de Calmar

Choix du matériel d'étude : on mesure facilement le potentiel de membrane sur **l'axone géant d'un neurone de Calmar** car il constitue un bon matériel d'étude : cellule de grande taille et résistante (diamètre 800 µm, longueur en cm, résistance physiologique : conservation dans le **liquide de Ringer**, résistance mécanique).

Dessin du montage :



$$E_{mb} = V_{int} - V_{ext} \text{ (mV)}$$

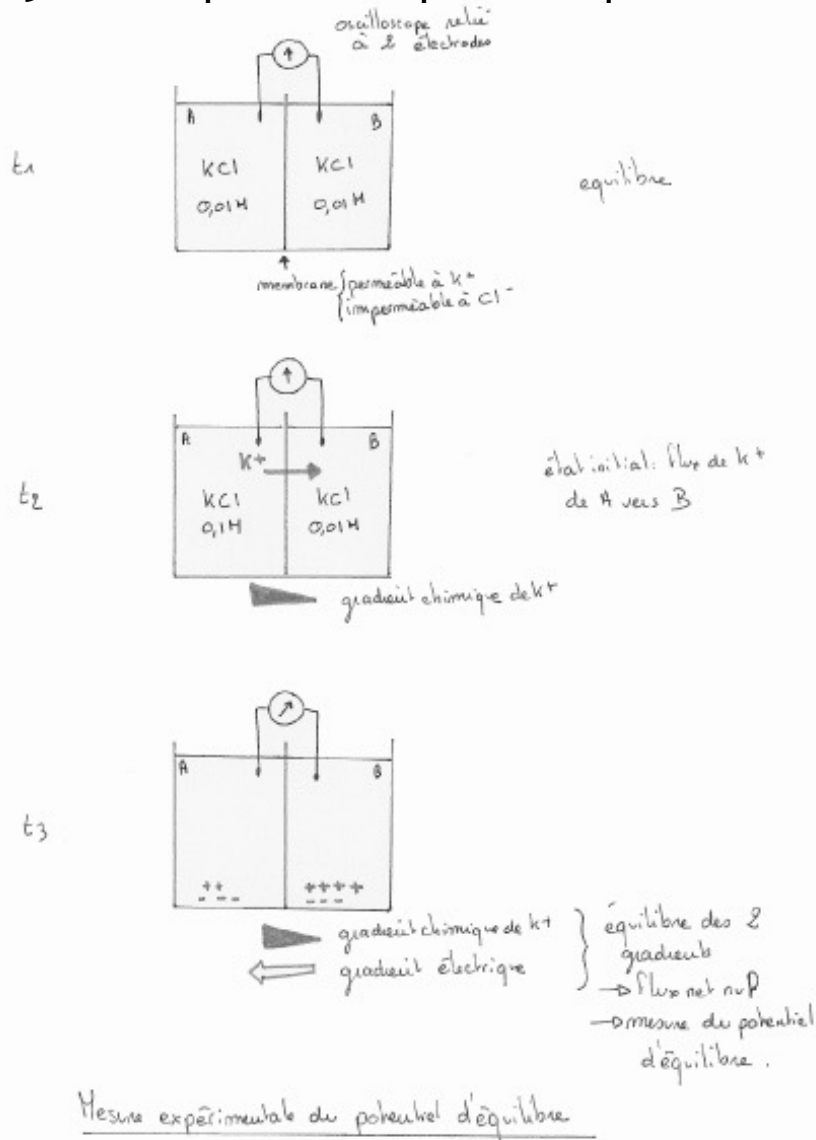


Principe de l'expérience : on mesure de la **différence de potentiel** entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire grâce à des **microélectrodes** reliées à un oscilloscope.

Une microélectrode est un tube de verre que l'on a étiré jusqu'à l'obtention d'une pointe extrêmement fine (l'orifice faisant moins de 1 µm de diamètre) et que l'on a rempli d'un liquide bon conducteur électrique (par ex, une solution saline concentrée). On peut alors relier ce liquide conducteur à un voltmètre (un oscilloscope par ex) et enregistrer le voltage transmembranaire de l'axone.

Par convention, le potentiel électrique à l'intérieur d'une cellule vivante (E_{int}) est exprimé par rapport au potentiel à l'extérieur de la cellule (E_{ext}). Cela signifie que le potentiel de membrane E_m est donné par la différence $E_{int} - E_{ext}$.

Figure 23 : mesure expérimentale du potentiel d'équilibre d'un ion



L'équation de Nernst permet de calculer ce potentiel d'équilibre pour un ion, indépendamment de tous les autres :

$$\Delta G = R T \ln (C_{ext}/C_{int}) + z F (V_{ext}-V_{int})$$

À l'équilibre, $\Delta G = 0$.

$0 = R T \ln (C_{ext}/C_{int}) + z F (V_{ext}-V_{int})$: le gradient chimique est égal au gradient électrique.

D'où le **potentiel d'équilibre de l'ion** = $V_{ext}-V_{int} = - R T / (z F) \times \ln (C_{ext}/C_{int})$

$$V_{ext}-V_{int} = - R T / (z F) \times \ln (C_{ext}/C_{int})$$

D'où $V_{int}-V_{ext} = R T / (z F) \times \ln (C_{ext}/C_{int})$ = **potentiel d'équilibre de l'ion**

Bilan : il est possible de **calculer** le potentiel d'équilibre de l'ion X dans la cellule (axone de Calmar), en mesurant les concentrations intracellulaires et extracellulaires.

$$V_i - V_e = E_x = R T / (z F) \times \ln (C_{ext}/C_{int})$$

Figure 24 : Echanges ioniques responsables du potentiel de membrane
(in Segarra et al., Ellipse)

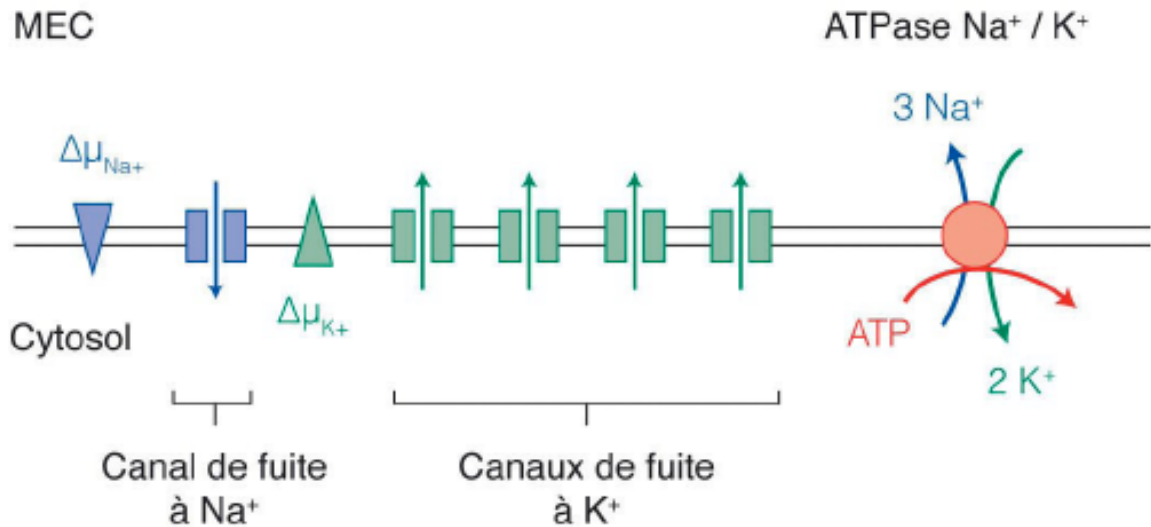


Figure 25 : Le potentiel d'équilibre met en jeu un faible nombre d'ions

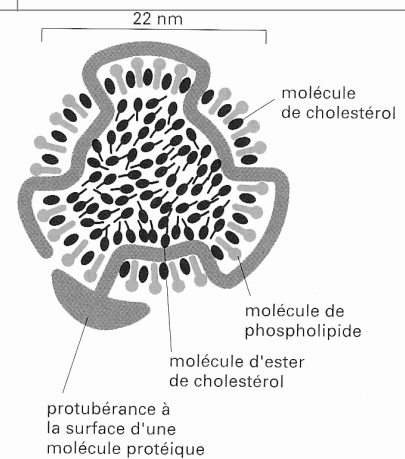
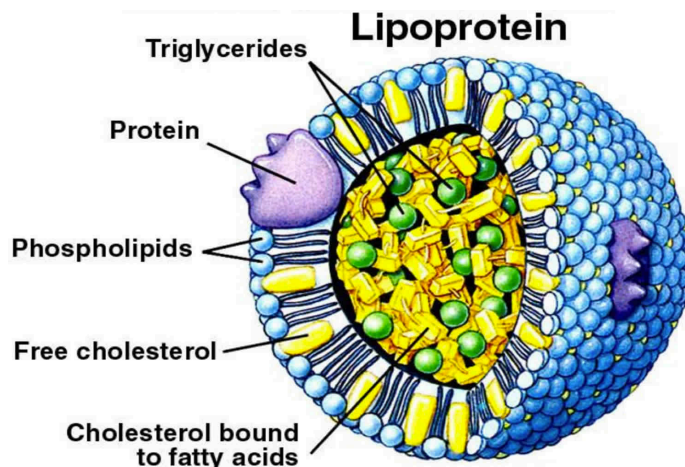
Le nombre d'ions qui doivent s'écouler pour créer le potentiel d'équilibre est très faible : environ 10^{-12} moles de K^+ , soit 10^{12} ions K^+ par cm^2 de membrane. Ce constat est important à deux égards :

<p>- Ce faible nombre signifie que, de part et d'autre de la membrane, les concentrations d'ions perméants restent globalement constantes, même après que le flux d'ions a créé le potentiel.</p> <p>- Les minuscules flux ioniques nécessaires pour créer le potentiel de membrane ne perturbent pas l'électroneutralité chimique, car pour chaque ion, il y a un contre-ion, porteur d'une charge opposée (Cl^- dans notre ex) pour maintenir la neutralité des solutions de part et d'autre de la membrane. La séparation des charges créant la différence de potentiel n'est présente qu'au voisinage immédiat de la membrane.</p>	
--	--

Figure 26 : Bilan sur les échanges membranaires

TRANSPORTS NE NECESSITANT PAS D'ENERGIE METABOLIQUE	Diffusion simple	Eau (osmose) O ₂ , C O ₂ , glycérol (Dialyse)
	Diffusion facilitée par un canal	Eau (osmose par AQP) Ions (dialyse)
	Diffusion facilitée par un transporteur	Glucose (perméase)
TRANSPORTS NECESSITANT DE L'ENERGIE METABOLIQUE	Transport actif laire (couplage chimio-osmotique)	Pompe Na ⁺ /K ⁺ (Ax) Pompe H ⁺ (Vgx) Pompe Ca ⁺ (REL)
	Transport actif IIaire (couplage osmo-osmotique)	Symport Na ⁺ /Glucose (entérocytes) Symport H ⁺ /Ac. aminés, lactose... (Bactéries) Symport H ⁺ /Saccharose (Charge du phloème) Antiport H ⁺ /Saccharose (Baie de raisin)
	Exocytose et endocytose	

Figure 27 : 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 28 : 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.]

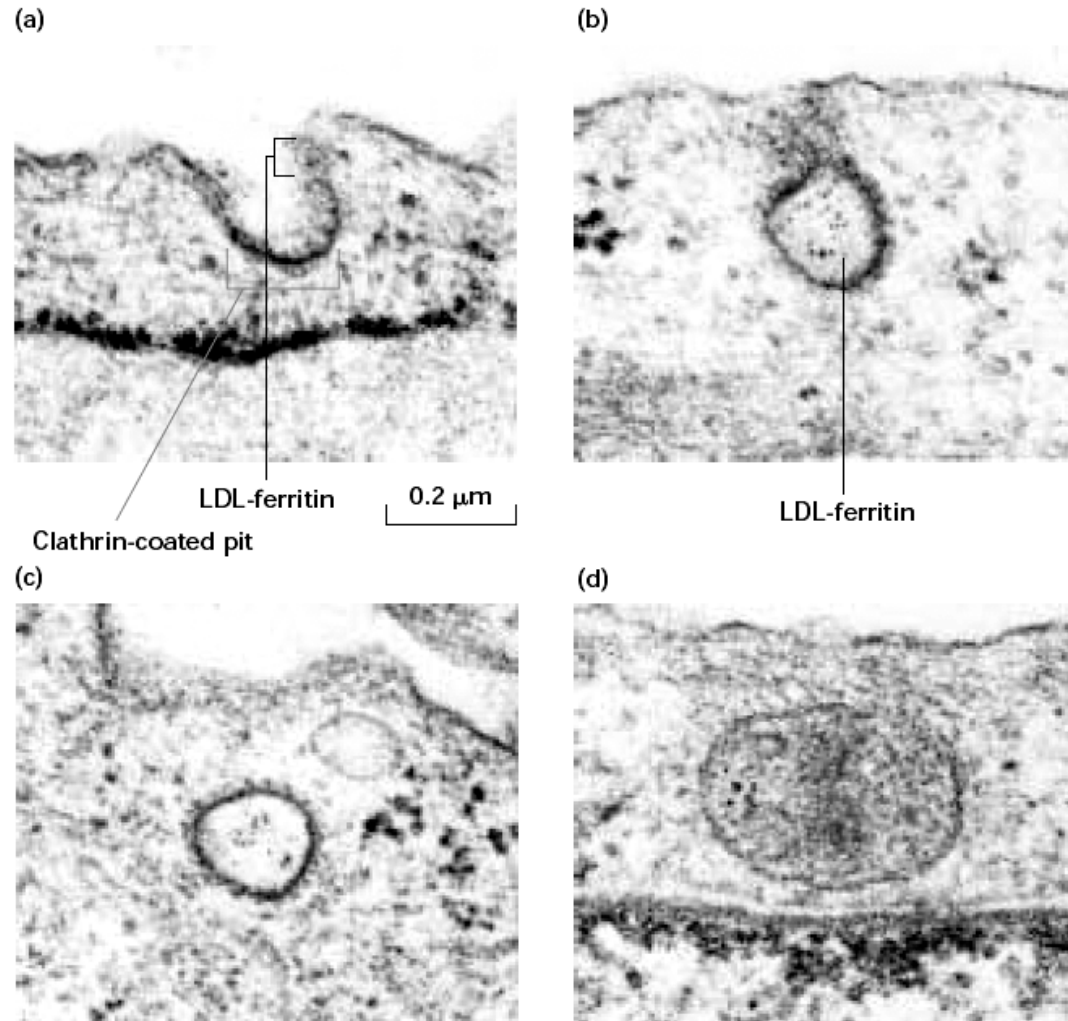


Figure 29 : endocytose avec récepteurs : bourgeonnement de vésicules recouvertes de clathrine

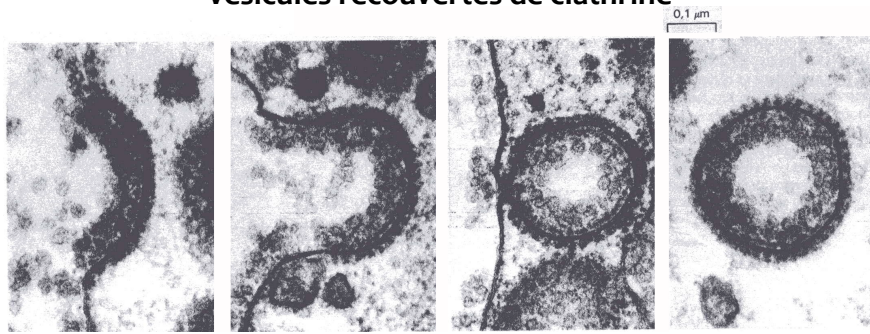
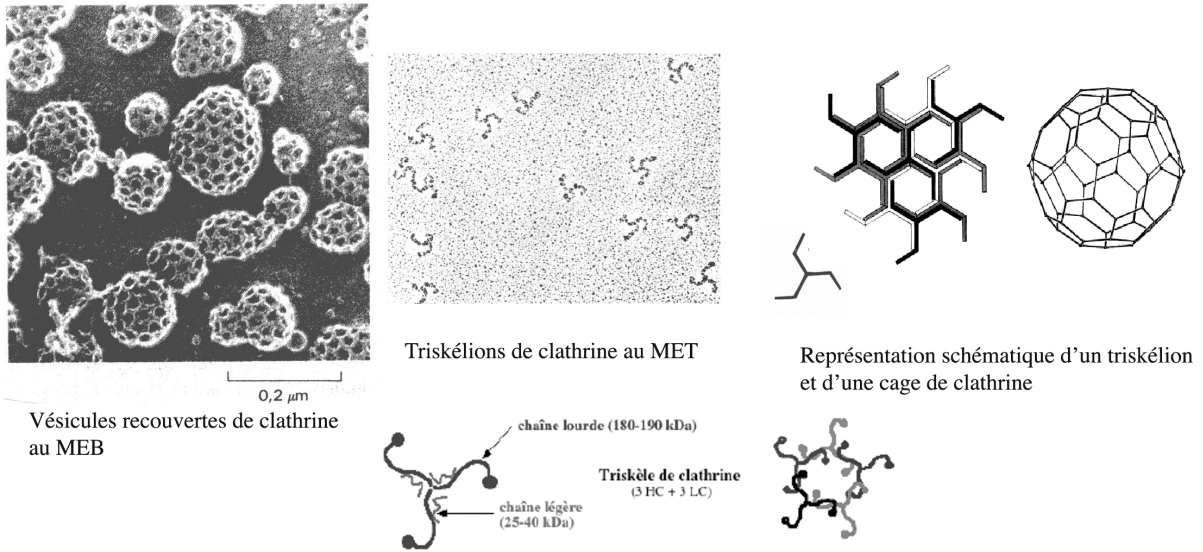
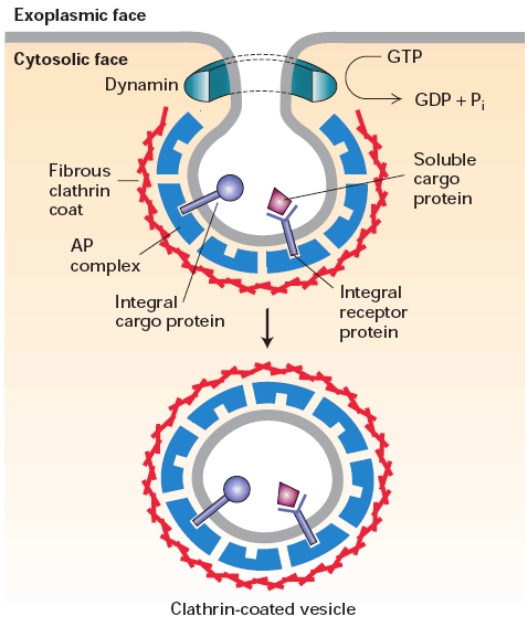
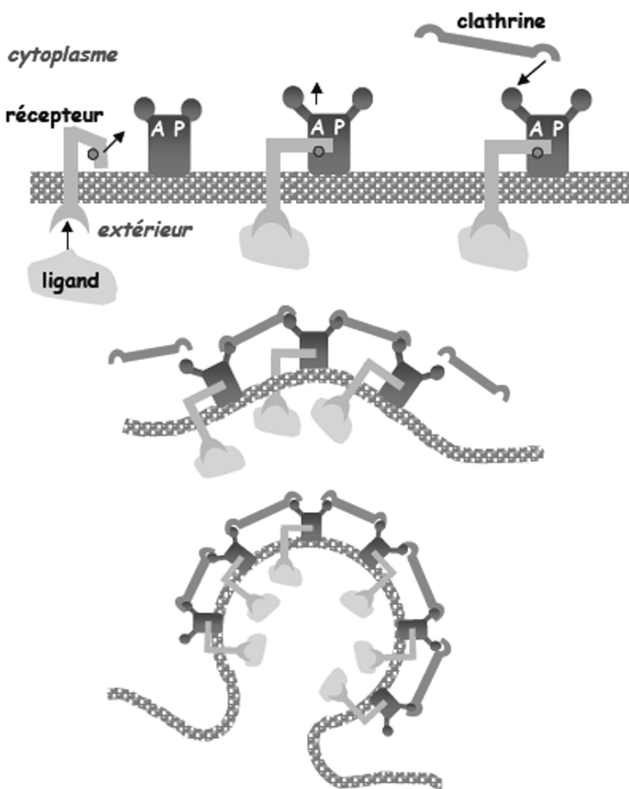


Figure 30 : structure des manteaux de clathrine



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 31 : Endocytose de LDL par des vésicules recouvertes de clathrine (cellule endothéliale)
 Les vésicules ont un diamètre de **0,2µm**, elles ne sont donc pas à l'échelle.

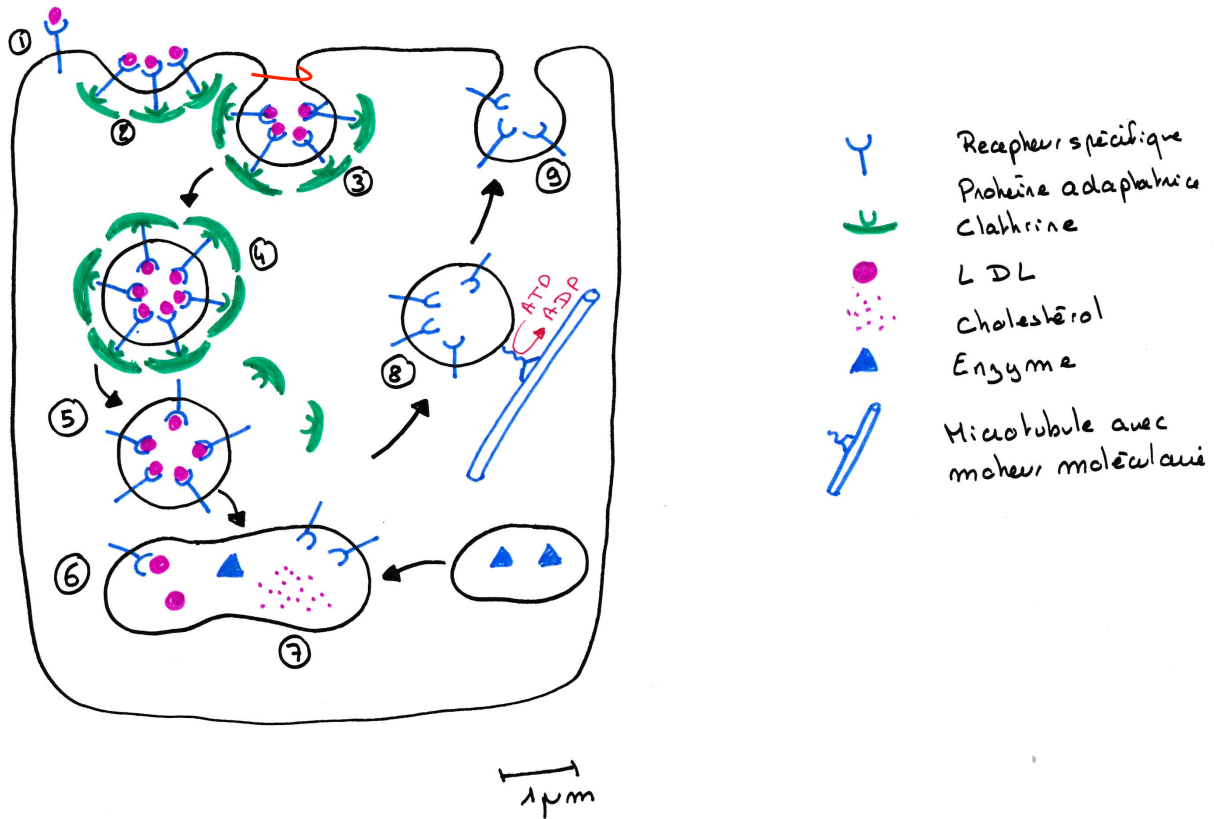
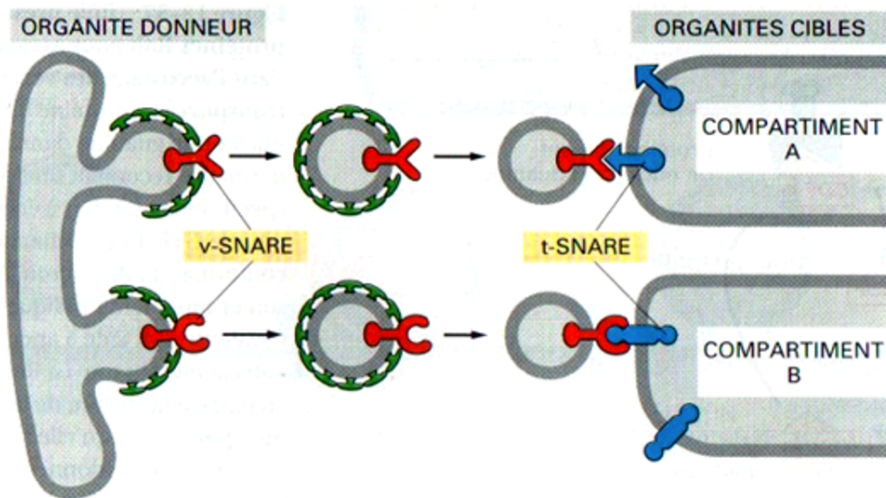


Figure 32 : modèle d'arrimage et de fusion d'une vésicule : rôle des protéines SNARE
 (in Alberts et al.,)



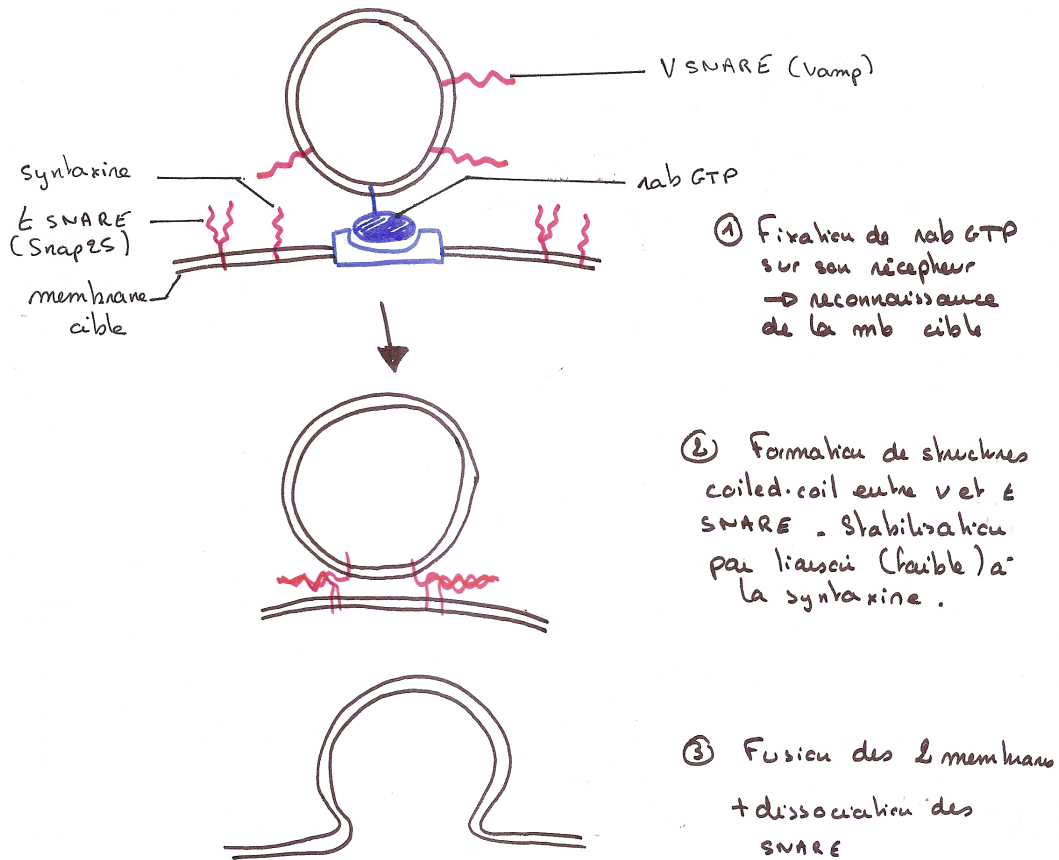
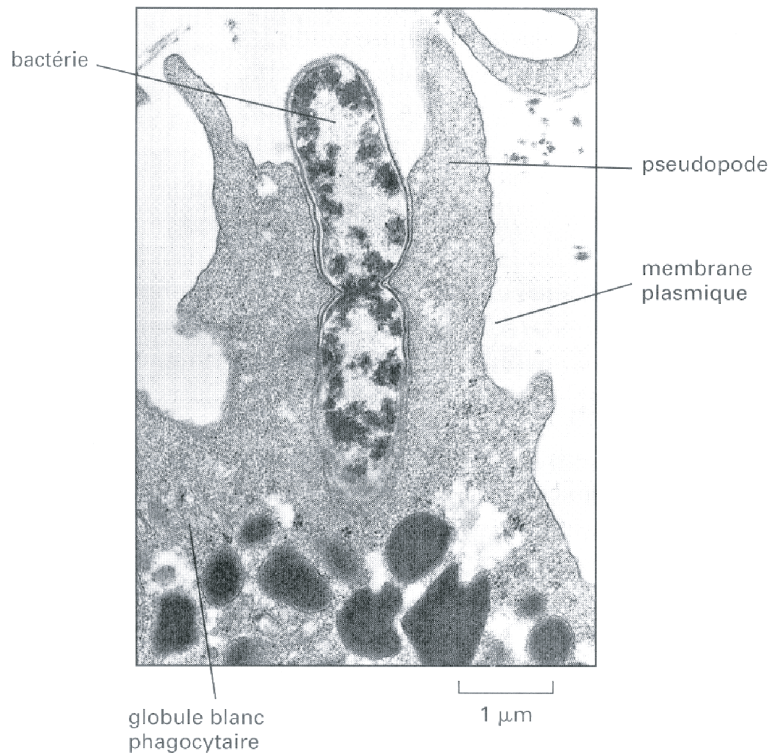


Figure 33 : la phagocytose permet la défense de l'organisme

Phagocytose de bactéries par une cellule phagocytaire (granulocyte neutrophile)



Modèle moléculaire de la phagocytose

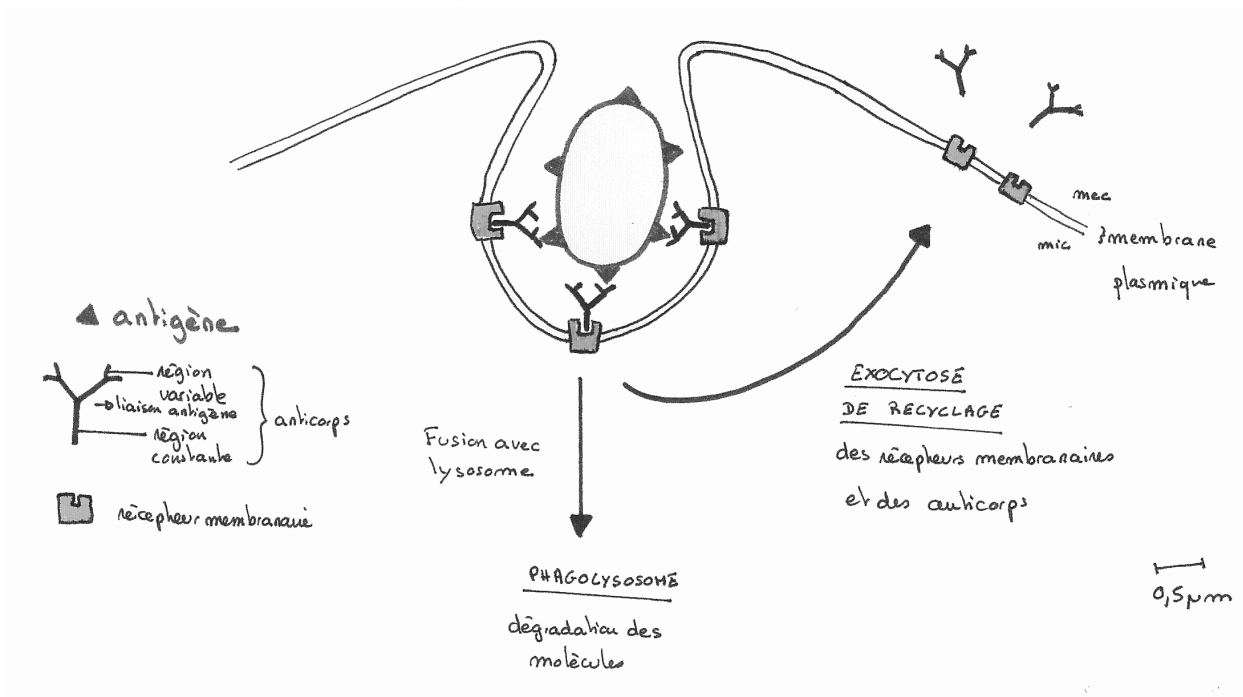
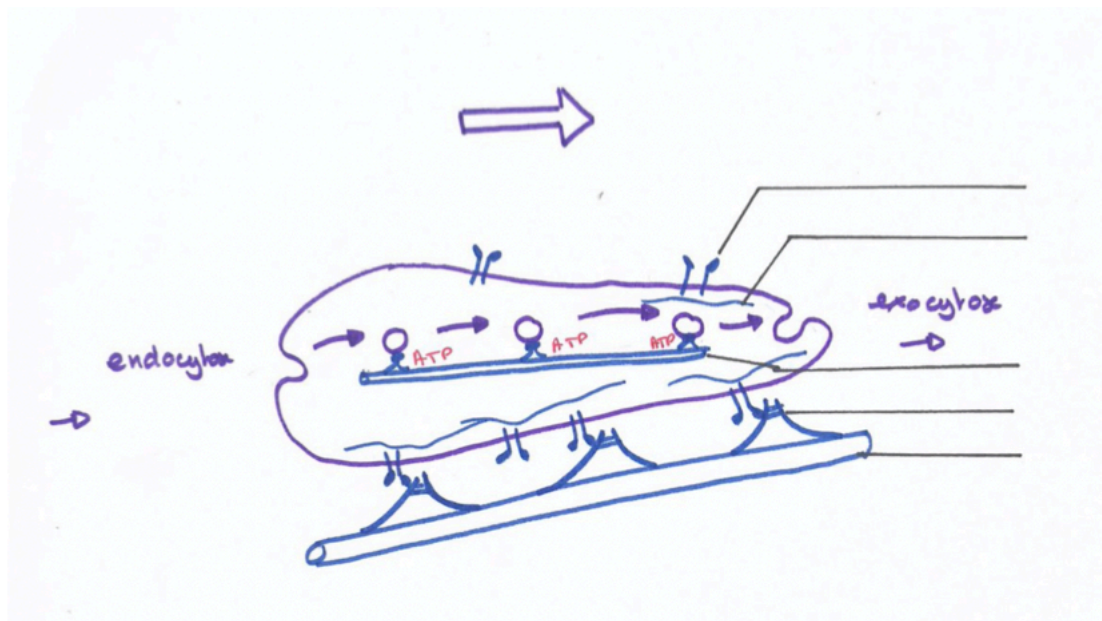


Figure 34 : déplacement d'un fibroblaste sur sa matrice



Motoneurone

Diffusion simple $\Delta G < 0$
 loi de Fick: $-D \cdot S \cdot \frac{dC}{dx} = \text{flux}$
 gaz, eau, petites molécules polaires non chargées, molécules hydrophobes

TRANSPORTS ACTIFS
 $\Delta G > 0$ couplé à $\Delta G < 0$
 Cycle de l'ATPase

DIFFUSION FACILITEE $\Delta G < 0$

canal ionique
 conditions physiologiques $[K^+]$
 mécanisme saturable

permeaux = transporteurs
 mic gradient électrochimique K^+
 gradient chimique glu

ioniques
 jonction serrée (tight junction)
 complexe d'adhérence (desmosomes)
 porine
 pore nucléaire
 jonction GAP

symporteur Na^+ glu
ATPase $2K^+$ $3Na^+$ ATP \rightarrow ADP P_i

Lumière

Adressage
 ① PA
 ② Ca^{2+}
 ③ endocytose
 ④ exocytose
 ⑤ Na^+
 ⑥ contraction

ECHANGES VESICULAIRES

SNARE