

TRANSFERT DE PETITES MOLECULES AU TRAVERS DE LA MEMBRANE.

La cellule Eucaryote a besoin d'eau, de sels minéraux et de macromolécules pour vivre (production d'énergie et source de matières premières.). Ils pénètrent de façon différentes dans la cellule, suivant sa structure ou particularité physico-chimique: sa taille (150 kDa = limite d'exclusion), caractères hydrophobes et hydrophiles, charge de la molécule.

La cellule a adapté à chaque élément une modalité d'échanges.

Rôle des transferts de molécules: approvisionnement en nutriments, gestion des déchets, régulation des volumes cellulaires, maintien du pH, de la force ionique (fondamental pour la survie de la cellule), maintien des gradient électro-chimique (-70V à - 90V, potentiel de repos).

La membrane cytoplasmique est perméable de façon sélective, on dit que cette perméabilité est "différentielle" (la vitesse varie selon la molécule), cette perméabilité est orientée.

1. Différents modes de transferts.

Les mouvements des molécules sont de 3 types:

- Diffusion Simple (ou Libre).

- Définition:

Mouvements libre de particules au travers de la membrane régit de la diffusion.

***DIFFUSION:** phénomène par lequel les molécules d'une phase de dispersion (c'est-à-dire le solvant) et d'une phase dispersée (c'est-à dire le soluté) tendent à occuper le maximum de volume et à avoir une répartition homogène. Le mouvement se fait suivant le gradient de concentration.*

Loi de Fick:

$$J = dn/dt = - P_s \times A \times (c_1 - c_2)$$

où

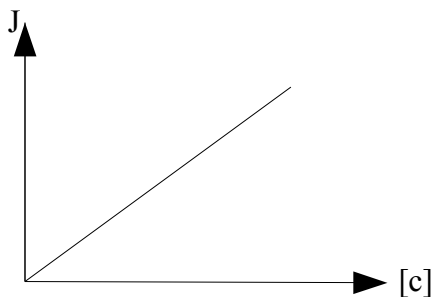
(c1-c2) = différence de concentration entre les deux compartiments définis par la membrane.

A = surface d'échange, zone d'échange où la molécule traverse la membrane.

P_s = perméabilité spécifique de la molécule considérée.

J = flux net, quantité de matière qui passe au travers de la membrane par unité de temps et de surface.

$$J = k \times (c_1 - c_2)$$



- Molécules impliquées dans ce mode de transfert:

La molécule impliquée doit avoir un poids moléculaire inférieur à 150kDa (cad 150 g/mol), cela correspond aux gaz respiratoires, l'eau, acides gras et composés comme le glycérol. Ce genre de molécule doit être hydrophobe.

- Transport Facilité.

- Mise en évidence:

On met *E. Coli* en présence de glycérol marqué au tritium H₃, on étudie alors la quantité au sein des 2 compartiments.

Le tracé ressemble à un tracé enzymatique, ce qui ne correspond pas à une diffusion libre; on peut donc conclure que *E. Coli* possède une protéine de transport.

$$J = (J_{\max} \times [S]) / (K_M + [S])$$

où S = glycérol.

Le mouvement se fait dans le sens du gradient de concentration (cad du plus concentré au moins concentré). Le transporteur, à savoir une protéine, est plus ou moins spécifique de la molécule transférée. Ce mode de transport est plus performant que la diffusion libre. Comme il y a un transporteur c'est alors un système saturable (limitation de nombre de transporteur). Ce mode de transfert est sensible aux facteurs physico-chimique car il ressemble à une réaction enzymatique. Cependant il n'y a pas de dépense d'énergie, et tout type de molécule peut subir ce transport (sauf les gaz).

- **Transport Actif.**

- **Définition:**

Ce mode de transport nécessite un transporteur spécifique de la molécule véhiculée. Le mouvement se fait dans le sens inverse du gradient de concentration, il nécessite donc une dépense d'énergie.

Il existe le transport actif direct dit primaire et le transport actif indirect dit secondaire.

Ce mode de transport est sensible aux inhibiteurs respiratoires (NaN₃, Cyanure CN, ...).

C'est également un système saturable.

- **Différents transports actifs:**

(cf. Poly. A doc. 2)

□ **Pompe:** transport actif primaire.

□ **Uni-Sym-Antipore:** transport actif secondaire.

Uni: 1 molécule, sens unique

Sym: 2 molécules, dans le même sens

Anti: 2 molécules, sens opposés

La source d'énergie n'est pas directement localisée au lieu du transfert, soit hydrolyse d'ATP ou gradient électrochimique.

2. Structure des transports, Rôles biologiques.

Pour les transports facilité et actif.

- **Trois types de structures.**

- **Pompes:**

Ce sont des protéines à activité enzymatique qui utilisent soit l'hydrolyse de l'ATP, soit l'énergie lumineuse pour transférer les molécules. Leur fonctionnement met en place un gradient de concentration au travers de la membrane.

Ex: ATPase Na⁺/K⁺, Bactériorhodopsine, ATPase H⁺.

Elles présentent une spécificité absolue vis-à-vis de la molécule transportée.

Mouvement contre le gradient de concentration.

- **Transporteurs:**

Ce sont des protéines qui fournissent des voies de transferts facilités selon les gradients de concentrations. Le transfert se fait par modification conformationnelle de la protéines transporteuse (cf. Doc. 1 modèle "ping-pong"). Il n'y a pas de dépense d'énergie. Certains transporteurs font partie intégrante du transport actif secondaire (ex: symporteur, antiporteur).

Leur spécificité est variable; le mouvement se fait dans le sens du gradient, parfois le transfert d'une autre molécule de fait dans le sens inverse.

- **Canaux:**

Ce sont des structures de transport. (cf. Doc. 3)

Ils présentent une forte spécificité vis-à-vis d'un ion. L'ouverture et la fermeture des canaux est transitoire sous l'action d'un mécanisme de régulation. Lorsque le canal est ouvert: flux massif dans le sens des gradients électrochimiques.

Ex: porines chez les Procaryotes.

- **Quelques fonctions biologiques.**

- **Phénomène d'osmose:**

L'osmose a été étudié quand on voulait savoir comment l'eau traversait la membrane cellulaire.

→ P_{H₂O} = P_{calculée} (d'après la loi de Fick)

→ P_{mesurée} (vessies de batraciens)

$$P_m \gg P_c$$

Il existe au niveau des membranes des systèmes de transferts d'eau plus performants que la diffusion libre.

On a traité à l'ADH (αDiurétique Hormone) les vessies de batraciens pour favoriser la réabsorption de l'eau. On constate que $P_m > P_c$.

Le témoin sans ADH montre que $P_m \approx P_c$.

Ce système de transfert d'eau est dépendant d'un signal chimique inducteur, ce sont les aquapores (structures isolées du transport membranaire) = canaux de 0,7 nm de diamètre qui sous l'action de signaux chimiques tels que l'ADH sont capables de se regrouper au sein de la membrane (grâce à la fluidité membranaire) pour permettre le passage facilité de l'eau.

C'est le phénomène d'Osmose.

(cf. doc. 3, doc.B)

• **Transport du glucose:**

□ **Hématies:** cellules anuclées chez l'Homme, suivent le métabolisme de la glycolyse; durée de vie de 120j. Ici le transport du Glucose se fait par transport facilité et par changement de conformation. (cf. Doc. 1 "ping-pong")

□ **Entérocytes:** cellules constituant l'épithélium du tube digestif, notamment ici le duodénum (intestin grêle), partie la plus proche de l'estomac où on absorbe 80% des nutriments. Ici le transport du glucose se fait par un transport actif secondaire constitué d'un symporteur Na^+/Glu . (cf. Doc. 4)

Transport actif secondaire car le gradient de concentration n'est pas favorable de la lumière du tube digestif vers la cellule. On a $[\text{Glu}]_{\text{extrac}} \ll [\text{Glu}]_{\text{intrac}}$.

Mécanisme:

1. Etat initial du transporteur (au repos): ouvert du côté extracellulaire, présente un site spécifique au Na^+ , absence de site spécifique au glucose car masqué.
La fixation du Na^+ induit une libération du site spécifique du glucose au sein du transporteur.
2. Fixation du glucose de manière spécifique.
Il y a alors changement de conformation du transporteur ce qui induit une ouverture de celui-ci côté intracellulaire.
3. Ouverture du transporteur côté intracellulaire.
4. L'élimination du Na^+ induit le relargage du glucose côté intracellulaire. Cela s'appelle "l'effet coopératif".
5. Comme le glucose est relargué, le site spécifique de fixation de glucose disparaît, on retourne alors à l'état initial.

Par quel système le Na^+ est-il relargué? Le sodium est éliminé par un transfert actif primaire: pompe Na^+/K^+ ATPase. Le transport du glucose dépend donc d'une ATPase.

• **Maintien du potentiel membranaire:**

(cf. Doc. 5-6)

On observe que le doc. 5 la différence de composition entre le Liquide ExtraCellulaire (L.E.C.) et le Liquide IntraCellulaire (L.I.C.).

L.E.C. = forte concentration en Na^+ et Cl^-

L.I.C. = forte concentration en K^+ et protéines

On mesure donc une différence de potentiel entre les 2 côtés de la membrane = "d.d.p."

Potentiel de repos et Potentiel de membrane.

Ce d.d.p. varie entre -90mV et -70mV, cela dépend de l'activité biologique de la cellule. Le potentiel de repos est essentiel à la vie de la cellule (sinon mort de la cellule).

D'autre part on constate que le Na^+ a tendance à rentrer dans le milieu intracellulaire, car P_s très élevée.

Pour maintenir le potentiel de repos la cellule doit mettre en place un système qui régule les différentes concentrations cellulaires (comme les pompes ATPases Na^+/K^+).

On observe sur le doc. 6 des protéines quaternaires α_2 et β_2 . La sous-unité α permet l'activité ATPasique. Les récepteurs extracellulaires des sous-unités α expliquent que ces pompes peuvent-être régulées par des hormones.

Mécanisme: (cf. Doc. 6 Bis)

A l'état de repos le transporteur est ouvert coté intracellulaire.

1. 3 Na^+ sont fixés spécifiquement sur les sous-unités α du transporteur, coté intracellulaire.
2. Quand le site spécifique au Na^+ est saturé il y a alors changement de conformation du

transporteur = phosphorylation de la sous-unité α ; nécessite une dépense d'énergie.

3. Il y a alors ouverture du complexe coté extracellulaire et relargage du Na^+ . Apparaît alors le site spécifique de fixation au K^+ .
4. Le transporteur prend alors en charge 2 K^+ .
5. Déphosphorylation de la sous-unité α , retour à la configuration initiale avec relargage des K^+ car disparition des sites spécifiques au K^+ .

(autre ex: transport primaire Procaryote: pompe H^+ , phosphotransférase)

- **Protéine "canal" voltage dépendante:**

On parle ici des axones notamment.

Ces canaux interviennent dans la conduction du message nerveux. La conduction se fait par un courant de dépolarisation locaux, entretenus par des canaux Na^+ voltage dépendant. Ces canaux peuvent-être sous 3 états: actif fermés, actif ouvert, inactif fermés.

Cette oscillation traduit pourquoi le potentiel d'action va du corps cellulaire à la terminaison synaptique. Le potentiel d'action est activé que si on atteint un "seuil d'activation".

(cf. Doc. 7).

A l'arrivée du potentiel d'action, il y a une dépolarisation membranaire (potentiel d'action $>$ seuil d'activation). IL y a alors inversion de la charge de la membrane de l'axone. La protéine chargée $+$ va du coté $-$ = ouverture du canal. On note un flux massif de Na^+ ce qui se traduit par une repolarisation locale et donc la conduction de message nerveux.

Quand le potentiel d'action a atteint le seuil maximal critique, le canal se referme = inactif. La présence d'un état fermé inactif explique le sens de la conduction de l'influx nerveux.

(cf. Doc. 8)

Muscle strié squelettique.

Le récepteur, l'achétylcholine (ach) se trouve sur la face post-synaptique de la cellule musculaire. Ce canal fait partit des "récepteur canal ionotrope".

(cf. Doc. 9)

Le récepteur cholinergique est couplé à un canal K^+ .

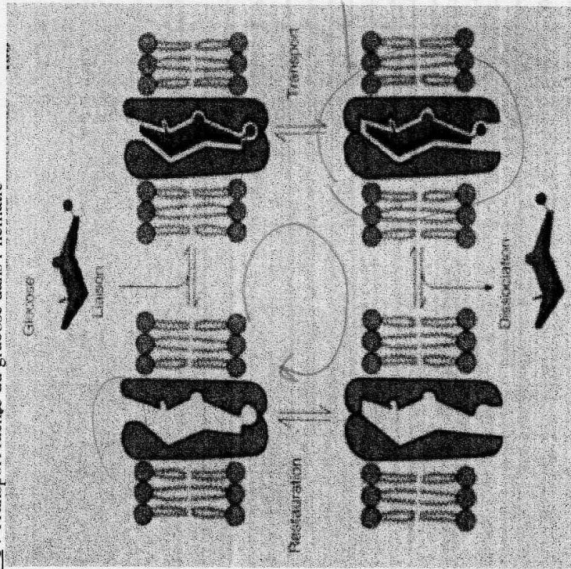
La cellule s'est pourvue d'un système très complet de transport de molécules.

Ces transports impliquent majoritairement des protéines transmembranaires plus ou moins spécifiques. Transporteurs, canaux et pompes pour le transport actif primaire, qui peuvent être aussi impliqués dans les transports actifs secondaires ou transport facilité.

Quelques molécules diffusent librement de part et d'autre de la membrane, leur diamètre $<$ limite d'exclusion de la membrane.

Tous ces transports sont coordonnés chez les métazoaires pour permettre un fonctionnement harmonieux des organes.

Document 1 : Transport facilité du glucose dans l'hématie



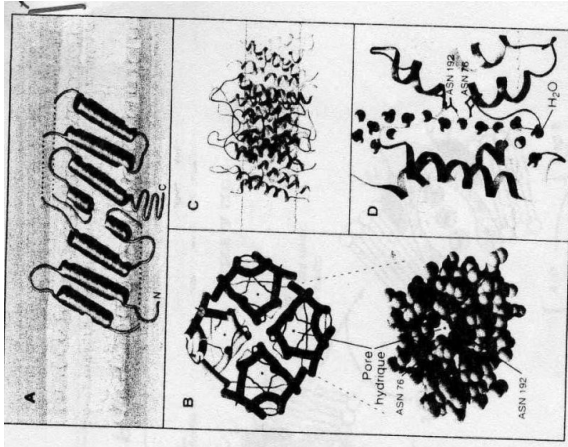
D modification conformationnelle = ping-pong

Document 2 : Les différents types de transporteurs actifs

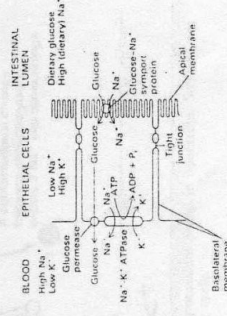
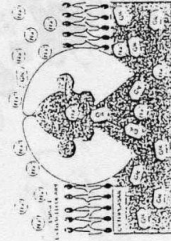
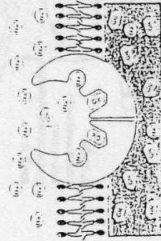
A. Réaction primaire		B. Réactions secondaires	
	Pompe Na ⁺ /K ⁺ -ATPase		Symporteur Na ⁺ /sucrose Na ⁺ /acide aminé Na ⁺ /Cl ⁻ Na ⁺ /K ⁺ /2Cl ⁻ Na ⁺ /H ₂ PO ₄ ⁻
	Uniporteur Glucose Acide aminé		Antiporteur Ca ²⁺ /H ⁺ Na ⁺ /Ca ²⁺ Cl ⁻ /HCO ₃ ⁻

Document 3 : Structure d'un aquapore

Canaux hydriques. **A.** Topologie membranaire de l'aquaporine 1 dérivée de la structure primaire. Les deux moitiés du polypeptide contiennent des séquences similaires mais sont orientées inversement l'une par rapport à l'autre. **B.** Structure atomique définie par cristallographie électronique montrant les quatre unités identiques comportant chacune un pore (asterisque rouge). **C.** Représentation en ruban. **D.** Détail du pore hydrique avec un convolvuline enroulée dans le membrane. Les résidus d'asparagine situés au centre du pore sont impliqués dans le transport de la molécule d'eau. (Documents aimablement fournis par Dr P. Agre, Johns Hopkins Medical School, PDB, fichier 1FQY ; référence : Mureta K, Mitsuoka K, Hirai T, et al. Structural determinants of water permeation through aquaporin 1. Nature 2000 ; 407 : 599-605.)



Document 4 : Le symport Na⁺ / Glucose au niveau des entérocytes



(a) Scanning electron micrograph of the absorptive epithelial cells of the small intestine. The cell sits on a layer of basal lamina and contains abundant microvilli on their apical surface. (b) Entry of glucose from the intestinal lumen into the epithelial cells is catalyzed by a glucose-Na⁺ symporter. The Na⁺-K⁺ ATPase (green) in the apical surface membrane generates the Na⁺ gradient, which provides the energy for glucose uptake by pumping Na⁺ ions entering the cell by glucose-Na⁺ and amino acid-Na⁺ symports. Glucose leaves the cell via a facilitated

(b)

doc 6 bis

molécules

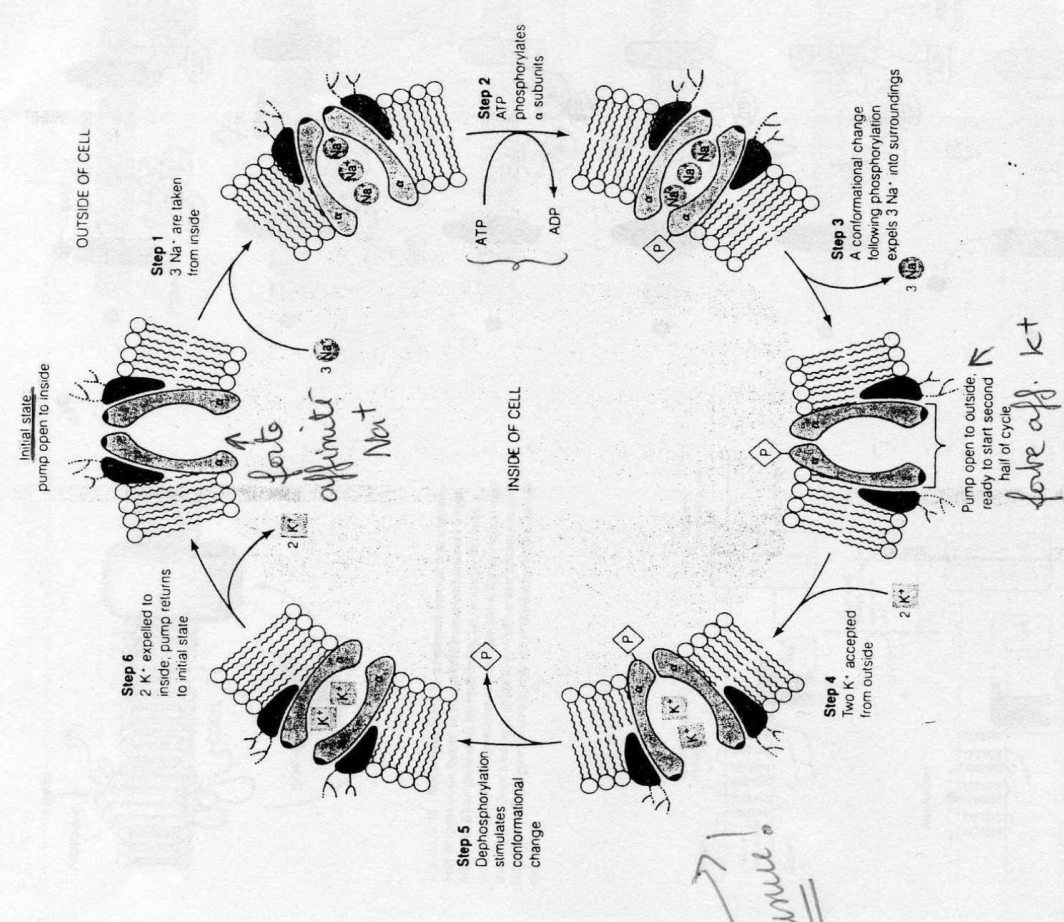
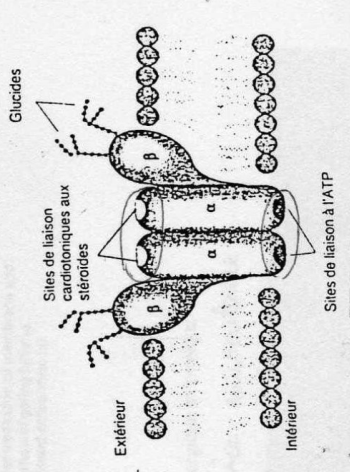
Concentrations (mM) de différentes substances dans les milieux intra et extra cellulaire.

	liquide interstitiel LEC	liquide intracellulaire LIC
Na+	140	15
K+	4	150
Ca ²⁺	1	1,5
Mg ²⁺	1,5	12
Cl-	110	10
HCO ₃ ⁻	30	10
Pi	2	40
acides aminés	2	8
glucose	5,6	1
ATP	0	4
protéines	0,2	4,0

Composition du LIC et LEC

Document 6 :

Modèle de la pompe ATPase Na⁺/K⁺

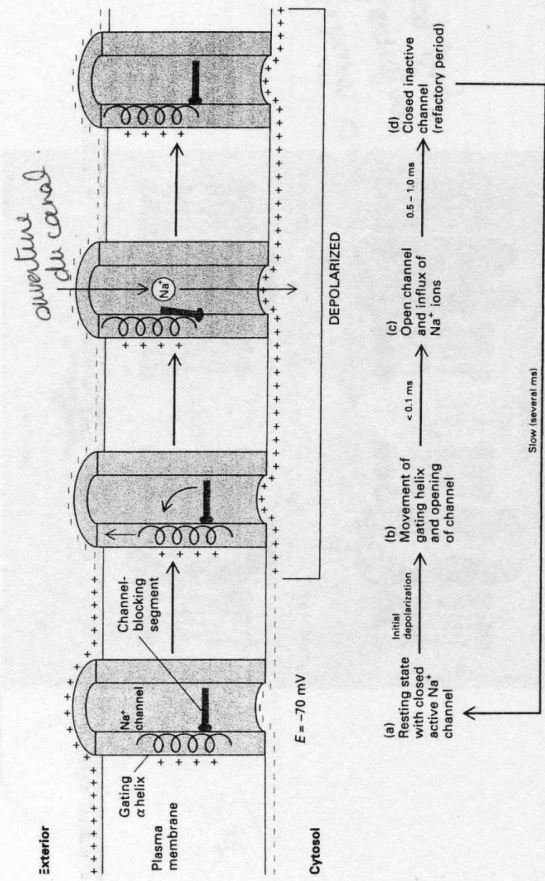


Schematic model of the sodium-potassium pump in operation. Steps of the pump's operation are shown in a cycle.

POMPE Na⁺/K⁺

Mécanisme

Document 7: Canal sodique voltage dépendant sur un axone



Document 9: Récepteur cholinergique muscarinique et cycle des protéines G

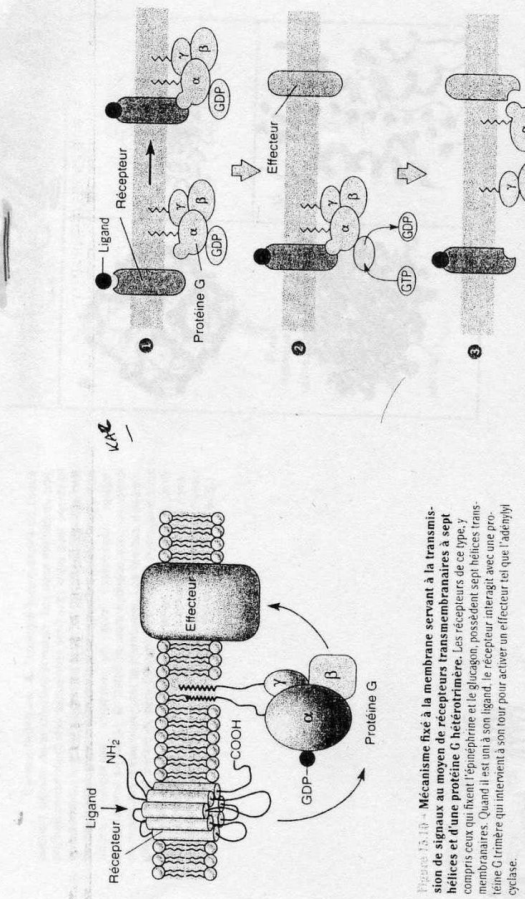
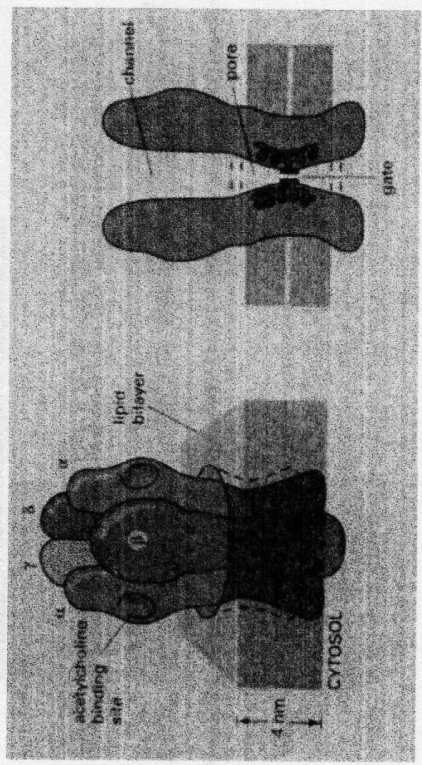


Figure 15.10 - Mécanisme fixé à la membrane servant à la transmission de signaux au moyen de récepteurs transmembranaires à sept hélices et d'une protéine G hétérotrimère. Les récepteurs de ce type, γ compris, sont des épimorphines et de glucagon, possèdent sept hélices transmembranaires. Quand il a son ligand, le récepteur interagit avec une protéine G trimère qui interagit à son tour pour activer un effecteur tel que l'adénylyl cyclase.

Document 8: Récepteur cholinergique nicotinique

ach: page motricité musculaire



canal Na⁺, ach dptd.