

## Structure et fonctions de la membrane plasmique

### Chapitre 1: Structure de la membrane plasmique.

#### Introduction

##### Concept de membrane

Qu'est ce qu'une membrane ? Pourquoi la membrane est t'elle si importante ?

Pour qu'on parle d'une cellule il faut qu'on ai une membrane, toute cellule vivantes est entouré d'une membrane. (= Universalité)

Il n'y a pas que la membrane plasmique : les organites sont aussi tous délimités par des membranes, membrane intracellulaire.

Différence entre membranes plasmiques et membranes intracellulaire

Bio-membranes : membrane plasmique et membrane intracellulaire

Mais ambiguïté du mot membrane: on rencontre souvent, en biologie, le terme « membrane », par exemple : membrane plasmique cellulaire, membrane nucléaire cellulaire, membrane basale (histologie), membrane basale glomérulaire, membrane filtrante (« Millipore »), membrane nictitante du chat ... ce terme a donc différentes significations.

La définition la plus générale du terme membrane : fine lame de tissu séparant deux milieux.

Dans le cas d'une cellule : une structure continue séparant les milieux intra – et extra – cellulaire ou séparant un domaine clos, ou compartiment, et le hyaloplasme». C'est elle qui sera la première au contact du milieu extra – cellulaire.

Le hyaloplasme (hyalo) ou cytosol est le milieu biologique aqueux plus ou moins visqueux, ou s'effectuent toutes les réactions métaboliques de la cellule (hors noyau). Tous les constituants chimiques structuraux nécessaires à ces réactions y sont présents dissouts (substrats, précurseurs, enzymes, etc).

Le cytoplasme (cyto) est l'ensemble de l'intérieur de la cellule (hors noyau), comprenant le hyaloplasme et les organites (orga) délimités ou non par une membrane.

Cyto = Hyalo + Orga

##### Universalité du concept de membrane (1)

Toute cellule, procaryote ou eucaryote, animale ou végétale, est délimitée par une membrane plasmique, elle présente aussi d'autres membranes de structure plus ou moins voisine, appelées sous un terme général membranes intra-cellulaires ou biomembranes ou cytomembranes.

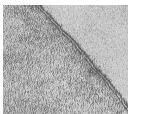
L'exposé traitera essentiellement de la membrane plasmique mais la comparera qq fois aux autres biomembranes de structure voisine.

Mais, la membrane plasmique peut être doublée chez certaines :

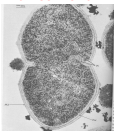
- Par une paroi chez certaines bactéries,
- Par une paroi pecto – cellulosique chez certains végétaux supérieurs.

Une structure non délimité par une membrane plasmique, n'est pas une cellule.

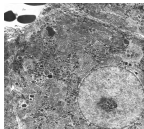
### MEMBRANE PLASMIQUE DE LA CELLULE EUKARYOTE



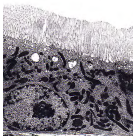
### MEMBRANE PLASMIQUE ET PAROI CHEZ LES PROCARYOTES



### MEMBRANE PLASMIQUE ET BIOMEMBRANES



### ASPECT ULTRASTRUCTURAL DES CELLULES EPITHELIALES (CELLULES DIGESTIVES ET RENALES)



La texture des deux parties de la membrane, montrent bien qu'on a d'un côté le cytoplasme, et de l'autre le milieu extracellulaire

Chez la bactérie, on devine le contour cellulaire, et on voit une structure plus épaisse qui double la bactérie: la paroi.

Bio-membranes : membrane plasmique et membranes intracellulaires

Si toute cellule est délimitée par une membrane plasmique, elle présente aussi d'autres membranes, de structure plus ou moins voisine, appelées, sous un terme général, membrane intra-cellulaire ou bio-membrane (qui délimitent les organites intracellulaires). On parlera surtout dans ce cours de la membrane plasmique (Mais il y a des analogies entre la membrane plasmique et les autres membranes cellulaires).

Le fil rouge du cours, c'est d'étudier la membrane plasmique, et de définir une structure membranaire générale qui est commune à la membrane plasmique et à toutes les autres bio-membranes. Il y a des aménagements plus ou moins importants dans chaque membranes

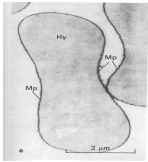
Selon le type cellulaire, la membrane sera plus ou moins épaisse, il y aura plus ou moins de lipides, on a donc une structure de base commune, puis après il y a une variation de la proportion des composants.

Cette différence de structure va induire une différence de fonction.

## I- Structure et ultrastructure

### 1- Observation des membranes plasmiques (MP) en microscopie électronique (ME)

**OBSERVATION D'UNE HEMATIE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE PAR TRANSMISSION**



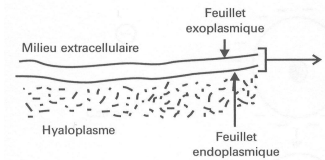
**OBSERVATION D'UNE HEMATIE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE**



La membrane plasmique délimite la cellule et la sépare du milieu extra – cellulaire. La MP est asymétrique, présentant un feutrage plus ou moins épais du côté extracellulaire, jouant un rôle de pré-filtre.

En ME, même à fort grossissement, la MP présente toujours la même structure (membrane unitaire), épaisse de 75 Å, trilamellaire, deux feuillets osmiophiles (capable de fixer l'osmium : elle est sombre) de 20Å séparant un feuillet osmiophobe de 35Å.

La membrane plasmique est une structure trilamellaire :



Structure trilamellaire (membrane unitaire de Robertson) :



Question qu'on se posait dans les années 50/60

Pourquoi toutes les membranes plasmiques observées en ME ont elles la même épaisseur et la même structure trilamellaire : elles sont dites de structure universelle «unit membrane» (Robertson)

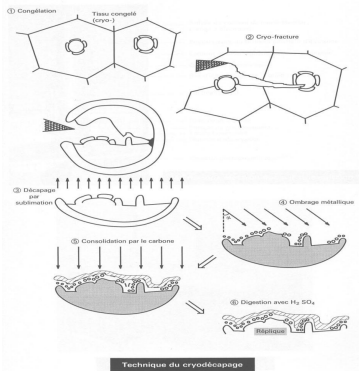
Alors que l'on sait depuis très longtemps qu'elles ont des fonctions différentes (cellules musculaires, nerveuses, épithéliales, etc...)

Une autre technique d'observation va apporter la solution : le cryodécapage.

Comment peut on expliquer qu'une même structure ait des fonctions différentes.

## 2- Observation des membranes plasmiques en cryodécapage

La technique du cryodécapage :



cryos = froid (on congèle)

On fracture ce bloc congelé (de manière aléatoire)

On va décaper en faisant sublimer l'eau, la surface pour accentuer le relief une fois le bloc fracturé. On recouvre la surface par un métal qui accentue le relief.

On va solidifier la surface de cet échantillon, et on va l'observer en ME.

Les Étapes du cryodécapage :

1 – Congélation de l'échantillon (Cryo)

2 – Cryo-fracture (conditions expérimentales)

3 – Décapage par sublimation (Décapage)

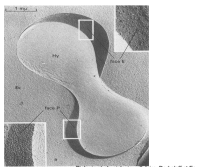
4 – Ombrage métallique (accentue le relief)

5 – consolidation par le carbone (couche continue envoyée sur l'échantillon) la finalité de la manip, est de fabriquer une réplique du vivant, le métal a pris la forme de la surface de l'échantillon.

6 – Digestion par l'acide sulfurique (destruction de la matière organique vivant). On a une réplique du vivant = la structure qui correspond au relief de l'échantillon.



## STRUCTURE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE DE L'HEMATIE EN CRYODECAPAGE



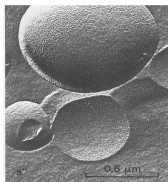
On voit des aspérités : soit des bosses, soit des creux.

Structure de la membrane plasmique en cryodécapage  
Quel est l'intérêt de cette méthode ?

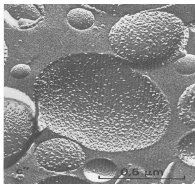
A la différence de la structure universelle constante de la MP en MET, l'observation des répliques des MP en cryodécapage montre des structures très variables (selon le type de membrane), soient lisses, soient granuleuses. Même la densité des granules est variable d'une MP à une autre.

Cette méthode démontre donc une variabilité structurale expliquant la variabilité fonctionnelle connue des membranes.

### FACES LISSES DE L'HEMI-FEUILLET



### FACES GRANULEUSES DE L'HEMI-FEUILLET



On va couper la membrane en 2 : des hémi-feuillets qui présentent soit des faces lisses, soit des faces granuleuses. On aura autant de granules que de trous.

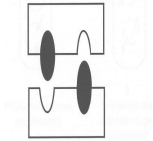
La différence d'aspect des surfaces membranaires laisse supposer que la MP est scindée en deux hémi-membranes (endo et exoplasmique), dont statistiquement, on peut observer, à 50/50, soit la face externe baignant dans le cytoplasme ou le milieu extra-cellulaire (toutes deux lisses), soient les faces internes (toutes deux rugueuses)

A l'interface entre les deux hémi-feuillets, il existe des particules.

Pourquoi une face lisse et une face rugueuse ?

La membrane peut être clivée en deux hémi-feuillets, selon le plan on aura une vision lisse ou granuleuse, mais on s'aperçoit qu'on a autant de creux que de bosses.

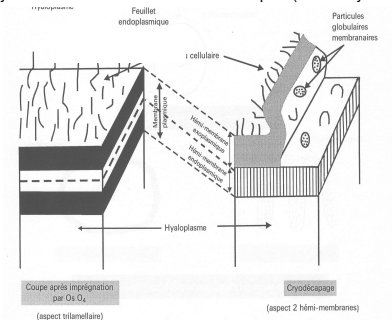
Explication de l'aspect des 4 faces des cryofractures : 2 faces externes lisses et 2 faces internes (également rugueuses).



Les deux héli-membranes en cryodécapage

Cette structure varie selon les membranes.

Synthèse des résultats des deux techniques (ME vs cryodécapage)



Les résultats ne sont pas diamétralement opposés, même si ils ne sont pas identiques. Ils sont complémentaires.

Différence de technique : cryo-préservation en cryo-décapage, fixation classique en ME.

Différence de l'objet des observations : l'étude de l'intérieur des héli-membranes permet de révéler des particules granuleuses de densité variable.

La densité des particules au sein de la membrane va varier suivant le type de membrane.

## II- Composition chimique

### 1- Etude in situ : données histochimiques (sur coupe histologique)

Les études in situ et in vitro sont, historiquement, les premières à avoir permis de connaître la composition chimique des membranes plasmiques. Elles ont, très tôt, démontré la présence de :

- lipides
- accompagnés par des protéines

- elles mêmes associées à des glucides (sous forme de glycoprotéines)  
Mais les informations apportées sont limitées.

#### a- Mise en évidence des structures membranaires lipidiques

- Mise en évidence de l'origine lipidique de la membrane : sur des algues, observations que les substances liposolubles pénètrent plus vite que les substances hydrosolubles. C'est une des bases de l'étude de la perméabilité des membranes.

- Mise en évidence de la position des lipides en « double couche » : les lipides extraits des membranes d'hématies occupent une surface double de celle des hématies.

→ La membrane plasmique n'est pas constituée que de lipides

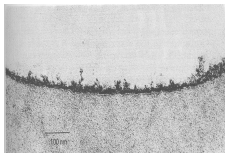
Lors d'études sur des amibes, la mesure des tensions superficielles montre que la TS de l'interface membrane / eau est très inférieure à la TS de l'interface huile d'olive / eau ( que de l'eau : 1 dyne / cm<sup>2</sup> vs que de l'huile : 15 dynes/ cm<sup>2</sup>) si la tension superficielle est inférieure, c'est qu'il n'y a pas que des lipides dans la membrane.

Les membranes renferment donc d'autres constituants que les lipides, lesquels ?

#### b- Mise en évidence des structures protéiques

- Mise en évidence des glycoprotéines : étude cyto-électrophorèse de la migration des hématies avant (les cellules migrent) et après traitement enzymatique (qui détache les glycoprotéines, qui apporte l'électronegativité, les cellules ne migrent plus). Révélation par des anticorps spécifiques.

- Mise en évidence des polysaccharides des glycoprotéines : oxydation par l'acide périodique



## 2- Isolement de fractions membranaires

### a- Rappel du principe des techniques de fractionnement tissulaires

cours précédent de Cambar

### b- Exemples de matériels membranaires

- hématies humaines
- homogénats tissulaires
- fibres nerveuses myélinisées
- cellules en culture

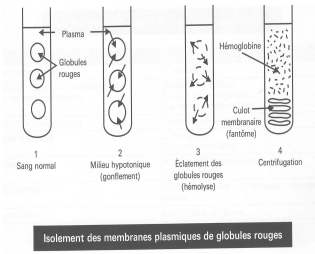
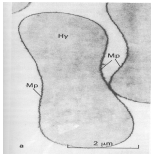
L'hématie, matériel de choix pour l'obtention des membranes plasmiques.

La membrane plasmique présente une particularité unique chez les hématies

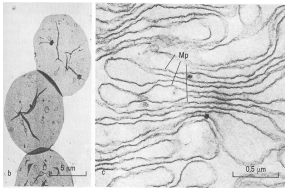
Les hématies fournissent un matériel privilégié pour l'obtention de la MP :

- Il est abondant
- Il est pur, pas d'autres bio-membranes (l'hématie ne contient pas d'organites)
- Il est spécifique, uniquement de la MP,
- Pas de risque de contamination d'autres types membranaires cellulaires,
- Mais, il est limité à l'obtention uniquement d'un seul type de matériel membranaire plasmique.

L'hématie humaine mûre ne renferme ni noyau, ni organe



## Membranes d'hématie purifiées après centrifugation et lavage



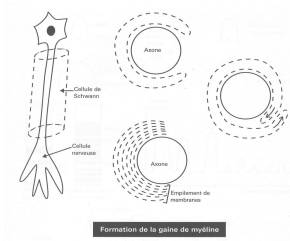
Lyse des hématies, puis centrifugation.

Les homogénats tissulaires permettent l'obtention de différents types de bio-membranes ;

Seuls les homogénats tissulaires sont capables de fournir des fractions membranaires issues des différents organites sub – cellulaires.

On donnera quelques exemples de donne structurales comparatives des différentes biomembranes cellulaires.

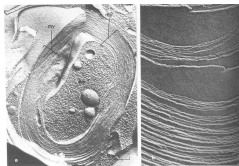
La gaine de myéline, autour des axones, est un « concentré » de lipides membranaires.



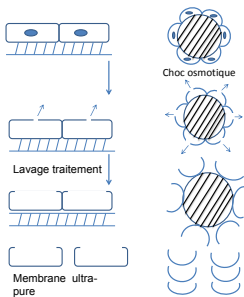
La cellule de schwann entoure l'axone des neurones. On va avoir n couches de membrane plasmiques.

Ce materiel est privilégié quand on veut utiliser les lipides membranaire.

### La gaine de myéline en cryo-décapage



Les cultures cellulaires permettent l'obtention de membranes plasmiques ultra – pures



Des cellules cultivées, sur une boîte ou micro – billes, subissent un choc osmotique, qui vide leur contenu cellulaire.

Après lavage, les membranes sont détachées de leur support, constituant un échantillon de membrane plasmique ultra – pur, sans contamination.

Le choix de plusieurs types cellulaires permet de comparer leur composition chimique.

#### c- Critères de pureté (enzyme marqueurs spécifiques)

Sauf dans quelques cas particuliers, l'isolement d'une fraction membrane plasmique s'accompagne de risques de contamination d'autres bio-membranes.

Le problème est de savoir si le matériel qu'on a est pur ou contaminé.

Évaluation qualitative et quantitative de la contamination d'une fraction « membrane plasmique » par d'autres types membranaires. Recherche de marqueurs d'autres membranes.

On dose une enzyme spécifique

### 3- Les principaux constituants de la membrane plasmique

Aspect qualitatif et quantitatif de la composition chimique des membranes plasmiques

Les membranes cellulaires ont une structure et une composition chimique différente, mais relativement voisines. (cf ultrastructure de la membrane unitaire de Robertson, étude in vitro et in situ).

L'étude de la composition chimique de la membrane plasmique va confirmer cette idée générale, mais va montrer de légères variations qualitatives et quantitatives entre les différentes membranes plasmiques et les bio-membranes.

	Protéines	Glucides	P + G Lipides
Gaine de myéline	17	3	20 - 80 ←
M.P. érythrocytes	49	9	58 - 42
M.P. foie, rein	44	4	48 - 52 ←
M.P. protozoaire	54	4	58 - 42
M.P. bactérie (proc.)	75	0	75 - 25
M. mitochondries	76	0	76 - 24
M. chloroplastes	70	0	70 - 30

La proportion de lipides protides est la meme pour les bactéries et les mitochondries.  
 40% de protéine 60% de lipides en moyenne  
 A retenir exception myéline ( 80% lipides, 20% protéines) et foie, rein.

#### a- Les protéines membranaires

##### Méthode d'étude des protéines membranaires

##### 1) Isolement et extraction

Rappels des méthodes de purification des MP : on veut étudier les protéines qui sont dans la membrane, il va donc falloir extraire de la phase lipidique hydrophobe, les protéines qui sont hydrophiles.

Extraction de la phase lipidique hydrophobe, ce n'est pas une solubilisation.

Dispersion par des agents :

- dénaturants aqueux (urée)
- solvants organiques
- détergents (Triton X100, SDS)

##### 2) Fractionnement et caractérisation

- Séparation du mélange protéique par électrophorèse, on va séparer un mélange protéique par électrophorèse. (intéret du Sodium Dodécyl Sulfate)

Deux paramètres déterminent la migration des protéines: la charge et le PM

on va donner a toutes les protéines la même charge grâce au sodium, qui donne la même électronégativité.

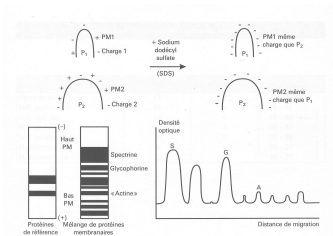
Seul le paramètre du poids moléculaire séparera les protéines. On détermine un spectre qui va caractérisée les protéines d'un type cellulaire donné, pour chaque type de membrane.

On fait une étude qualitative et on cherche ensuite la proportion de chaque molécule, et le poids moléculaire.

Identification et quantification :

- étude qualitative : bandes colorées au bleu de Coomassie
- étude quantitative analyse densitométrique

## L'ELECTROPHORESE, METHODE DE CHOIX POUR SEPARER LES PROTEINES MEMBRANAIRES



### 3) Généralités sur les protéines de la membrane plasmique

Moins nombreuses que les lipides (75 à 100L pour 1P), les molécules protéiques sont beaucoup plus volumineuses (30 à 50fois). Rapport L/P de la MP => 40 / 60 (quelques variations selon le type membranaire)

Elles peuvent être abondantes (dites majeures) ou à l'état de trace, à peine décelables en électrophorèse (mais qui ont un rôle important). De 25 à 100 protéines. Leur poids moléculaire varie de 20 à 400kD.

- Elles peuvent se situer à l'extérieur de la membrane plasmique : elles sont dites protéines extrinsèques.
- Elles peuvent se situer à l'intérieur de la membrane plasmique (elles plongent dans la bicouche) : elles sont dites protéines intrinsèques (= intégrées, intracellulaires comme les particules entre les deux hémifeuillets).

### 4) Variations de la composition chimique des bio-membranes

Toutes les membranes sont constituées de lipides et de protéines. Toutes les membranes ont une bicouche phospholipidique. La spécificité des membranes vient de leur composition en lipides et en protéines.

Les protéines confèrent la variabilité des fonctions spécifiques.

Les lipides confèrent la variabilité de la fluidité membranaire.

### Diversité structurale et spécialisation des membranes plasmiques

La nature, le nombre et le pourcentage relatif des différentes protéines détermine la grande diversité structurale des membranes, conférant leur spécialisation et expliquant leur différence fonctionnelle.

Plus une membrane est spécialisée, plus la diversité des protéines constitutives diminue (ex: 1 seule protéine du Réticulum sarcoplasmique (réticulum endoplasmique des cellules musculaires) représente 90% de l'ensemble des protéines, parce que cette membrane est très spécialisée).

### 5) Les différentes catégories de protéines membranaires :

Les différentes catégories structurales et fonctionnelles de protéines membranaires :



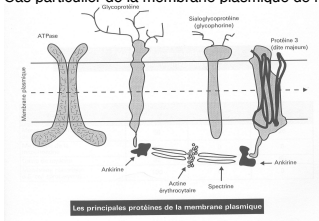
- P de structure (protéines dans la bicouche phospholipidique, elles assurent la cohérence, la nature même de la membrane)
  - P enzymatique
  - P transporteuses (pompes, transporteurs..)
  - P réceptrices (récepteur membranaires, le plus souvent extra-cellulaire)
  - P d'adhérence (ou d'adhésion)
  - P de reconnaissance
- Selon la proportion, et la nature, spécificité de telle ou telle membrane.

## 6) Les principales protéines de la membrane plasmique

Ce sont les protéines (ou glycoprotéines membranaire) de structure, dites majeures (= les plus abondantes), on distingue :

- Des glycoprotéines, plus particulièrement riches en acide sialique, comme :
  - La glycoprotéine majeure (très riche en polysaccharides, 64%) ou glycophorine, la mieux connue des protéines de la MP. Elle présente 131 acides aminés séquencés, un PM de 55kD, 600.000/ hématie. Exemple de la protéine intrinsèque avec 1 hélice alpha
  - La glycoprotéine mineure (pauvre en polysaccharides, 7%)
- Des protéines, comme des protéines de structure :
  - La protéine bande 3 (A/4 des protéines de l'hématie) de 930 AA. Protéine volumineuse, sous forme particulière, intrinsèque, à 14 passages transmembranaires en hélice alpha.
  - Les spectrines (dans les hématies, position particulière côté intracellulaire au contact de l'endosquelette de l'hématie).
- Des protéines comme des enzymes (acétylcholinestérase, ATPase, etc.)

### Cas particulier de la membrane plasmique de l'hématie



## b- Les lipides membranaires

### 1) Les lipides simples

- Glycérol, acides gras, triglycérides
- Circulants, rôle nutritionnel

### 2) Les lipides complexes membranaires

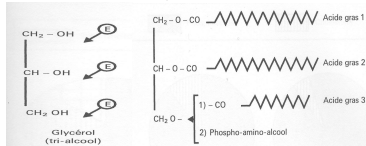
- Les phospho – lipides (glycérophospholipides, sphingolipides)

- Le cholestérol  
=> constituants essentiels des membranes

Pourquoi lipides complexes ?

Les lipides complexes ont une structure chimique relativement complexe, comparée aux lipides simples.

Parmi les lipides simples = les triglycérides = 1 glycérol estérifié par 3 acides gras (identiques ou différents).



Structure d'un triglycéride (avec 3

AG) et d'un phospholipide (avec 2 AG et 1 PAA)

Parmi les lipides complexes, on distingue :

- Les glycérophosphatides (ou glycérophospholipides) 1 glycérol estérifié par 2 acides gras (identiques ou différents) et une structure complexe, un phospho - amino - alcool.
- Les sphingolipides, avec, par exemple, 1 sphingosine estérifiée par 2 acides gras (identiques ou différents) et une structure complexe, un phospho - amino - alcool. Propriétés physico - chimiques voisines des glycérophosphatides.

## Les différents phospho-amino-alcools

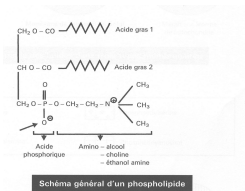


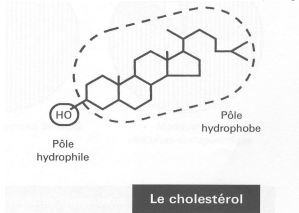
Schéma général d'un phospholipide

Grande structure hydrophobe et Petite structure hydrophille = base de la structure des membranes

Quelques phospho-amino-alcools

- la choline, le PAA est la phosphatidylcholine
- la sérine, le PAA est la phosphatidylsérine
- l'inositol, le PAA est le phosphatidylinositol
- l'éthanolamine, le PAA est la phosphatidyléthanolamine

## Structure de la molécule de cholestérol (malgré les apparences, molécule amphiphile)



Petit pôle hydrophile, grâce au OH.

### c- Variations de la composition chimique des bio-membranes

Toutes les membranes sont constituées de lipides et de protéines. Toutes les membranes ont une bicouche phospholipidique.

La spécificité des membranes vient de leur composition en lipides et en protéines :

- Les lipides : variabilité de la fluidité (possibilité de se déformer et de laisser passer les molécules)
- Les protéines : variabilité des fonctions spécifiques de la membrane (récepteur..)

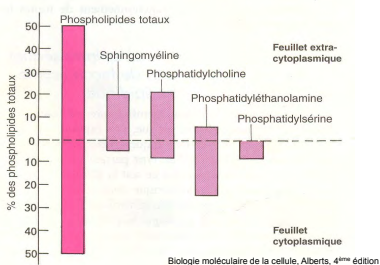
Variation de la composition lipidique des bio-membranes

Notion de polymorphisme membranaire (membranes qui ont des structures différentes) :

Il repose sur la répartition lipide protéide :

- Composition lipidique différente des deux hémi - membranes
- Répartition variable des lipides
- Répartition variable des phospho-amino-lipides.

### Asymétrie de la composition chimique des membranes



Selon le type de feuillet, le type membranaire, on va avoir plus ou moins de phospholipides différents.  
 A partir d'une même membrane, il peut y avoir des répartitions très différentes

Exemples de variabilité de la répartition des lipides membranaires

Type membranaire	Glycéro-phospho-lipides	Sphingo-lipides	Cholestérol
Membrane plasmique de l'hématie	56	18	26
Membrane de la mitochondrie	95	0	5
Gaine de myéline	32	32	36
Membrane plasmique d' <i>E. coli</i> (procaroyote)	100	0	0

pas a savoir

Différentes entre une gaine de myéline et une membrane plasmique de l'hématie.

### III- Interaction lipides/ protéines

Mise en place de la structure d'une membrane :

Les constituants membranaires essentiels sont les lipides et les protéines. Il y a une analogie structurales des bio-membranes.

Toute membrane est en effet :

- Une bicouche phospholipidique
- Cette bicouche hydrophobe baigne dans de l'eau (milieu extra-cellulaire ou hyaloplasme)
- Des protéines intrinsèques ou extrinsèque sont présentes dans cette bicouche.

Problème posés par la présence d'eau, de lipides et de protéines dans les membranes biologiques

Comment les molécules hydrophiles coexistent avec des molécules hydrophobes ?

Les lipides sont essentiellement hydrophobes, mais ne sont pas totalement hydrophobes, il y a un e petite partie hydrophile. Alors que les protéines sont essentiellement hydrophiles, avec une petite partie hydrophobe.

La présence du milieu aqueux hydrophile pose le problème de son interaction avec les lipides hydrophobes.

La présence de lipides hydrophobes abondants pose le problème de leur interaction avec les protéines essentiellement hydrophiles.

Les étapes de la mise en place de la structure d'une membrane

1ère interaction : eau / lipides

2e interaction : lipides / lipides

3e interaction : lipides / protéines

Organisation moléculaire d'une membrane

→ Aspect conformationnel des phospholipides

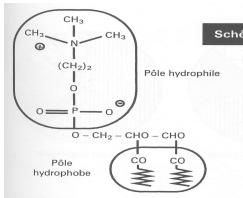
A la fois pôle hydrophile et hydrophobe (= caractère amphiphile)

C'est le caractère amphiphile des lipides membranaires qui va déterminer leur orientation spatiale lors de :

- l'interaction eau – phospholipides
- l'interaction phospholipides – phospholipides

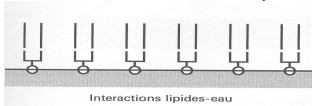
Présence d'un pôle hydrophile et hydrophobe

## Caractère **amphiphile** des phospholipides



Un amphiphile s'oriente par rapport à l'eau.  
Caractère amphiphile du cholestérol également.

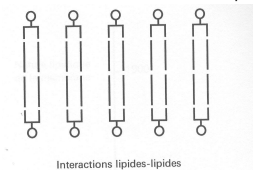
Première interaction: interaction eau -lipides.



On a une couche d'eau, on verse des lipides, le pôle hydrophobe fuit l'eau, et le pôle hydrophile va vers l'eau.

Le caractère amphiphile des lipides va entraîner l'orientation des lipides dans la membrane.

Deuxième interaction: interaction lipide – lipide.

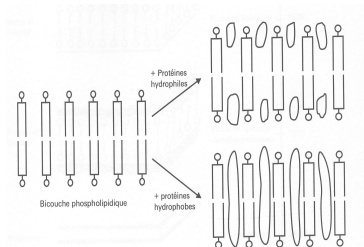


Dans le cas bicouche phospholipidique

L'eau est au contact du pôle hydrophiles et les pôles hydrophobes sont en regard, et qui ont fuit l'eau..

Interaction des deux héli feuillet.

Troisième interaction : Interaction protéines – lipides membranaires

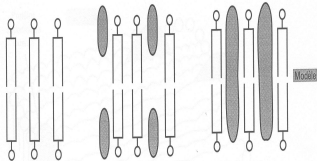


L'interaction, dans toutes les membranes, des protéines essentiellement hydrophiles et de lipides essentiellement hydrophobes pose la question du mode d'insertion des protéines au sein de la bicouche phospholipidique.

Deux types de protéines membranaires :

- Périphériques (ou extrinsèques ou externes) : il existe 6 modes différents de leur fixation à la surface de la membrane. Ce seront des protéines hydrophobes.
- Trans-membranaires (ou intrinsèque ou internes ou intégrées). Rôle des chaînes alpha dans le segment central. Les protéines seront hydrophobes.

Interactions lipides/protéines Intrinsèques et extrinsèques



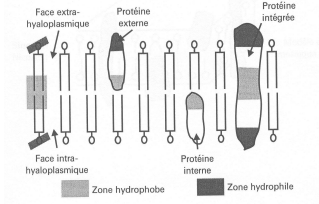
Ces protéines hydrophobes qui pénètrent dans la bi couche, s'insèrent dans la bicouche = bosse et creux en cryodécapage.

Les protéines vont présenter des parties hydrophiles et hydrophobes, elles vont s'orienter. Si on a affaire à des protéines hydrophiles, elles ne pourront pas pénétrer la membrane.

Deux types d'insertion possibles

- Protéines hydrophobe : s'intègrent parfaitement dans la bicouche lipidique.
- Protéines hydrophile : resteront en périphérie car ne peuvent pas s'intégrer.

## Interaction des zones hydrophiles et hydrophobes avec la bicouche lipidique

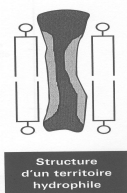


L'interaction lipide protéine met en évidence une bicouche sans protéines, ou avec des protéines extrinsèques ou intrinsèques (partie importante hydrophobe on prend une protéine extrinsèque.

Elle présente une partie très hydrophile, et une partie plus hydrophobe, qui va aimer les lipides et qui va être au contact des lipides.

On oriente toujours une membrane quand on la décrit. (milieu extérieure et intérieur).

## Interaction des zones hydrophiles et hydrophobes d'une protéine avec la bicouche lipidique

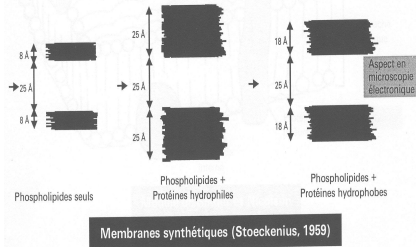


Quand on considère une protéine intrinsèque, on voit qu'on va retrouver la partie hydrophile au contact de l'eau et de la partie hydrophile des lipides.

Si on regarde l'organisation d'une protéine dans la bicouche.

Il faut qu'on imagine que la protéine, qui est une structure polypeptidique. Qu'on ait une zone hydrophile au contact du hyaloplasme et du milieu extra-cellulaire, une zone hydrophobe au contact de la bicouche on doit considérer un petit territoire hydrophile à l'intérieur duquel vont se faufiler les molécules. On a un territoire hydrophobe constitué par des phospholipides, on a un territoire hydrophile constitué par des protéines, et on pourra expliquer le passage des molécules hydrophiles et le passage des molécules hydrophobes.

## Aspect en ME des membranes artificielles



Il faut un territoire hydrophile pour que la protéine puisse traverser.

## IV- Les membranes Artificielles

Fabrication (pas des membranes biologiques) de membranes dites artificielle, modèle in vitro.

Il y a plusieurs types de membranes artificielles :

- phospholipides uniquement
- phospholipides et protéines hydrophiles
- phospholipides et protéines hydrophobes.

Aspect en microscopie électronique des membranes artificielles avec des protéines seulement ne peuvent pas rentrer dans la bicouche elles épaississent le feuillet de la membrane. Les protéines hydrophobes sont moins présentes puisque elles rentrent dans la bicouche.

Lorsqu'il y a que des phospholipides seuls, on a une structure trilaminellaire. Pour les 3 types de membrane, la zone claire est d'épaisseur central. C'est la présence de la bicouche phospholipidique qui confère ce feuillet central.

Selon que l'on a rien, des protéines intégrée, ou des protéines externe, l'épaisseur du feuillet osmiophile varie.

On confirme en ME, la structure trilaminellaire. Que l'épaisseur du feuillet osmiophile varie suivant qu'il y a des protéines ou non.

La connaissance de la composition des membranes artificielles en lipides et leur observation microscopique (MET) permet de conclure que :

- La structure trilaminellaire et l'épaisseur du feuillet osmiophile des membranes sont permanentes en présence ou en absence de protéine.
- L'épaisseur des feuillets osmiophiles dépend de la nature des protéines présentes.

Architecture moléculaire de la membrane plasmique

Les connaissances actuelles :

- de la composition chimique des membranes,
- des interactions entre ces différents constituants,
- des corrélations entre ultra structure et biochimie.

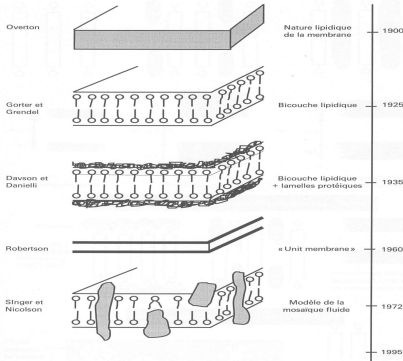


=> Ont permis de proposer, depuis plus de 70 ans, différents modèles, approximation la plus vraisemblable de la réalité structurale des membranes, à partir des connaissances actuelles.

## Les concepts conformationnels des membranes biologiques

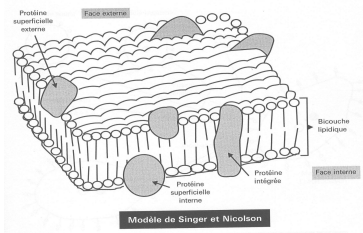
### 1) Historique des premiers concepts structuraux (les années 25/30)

Notion : lipide ou non bicouche phospholipidique



Chronologie de l'introduction des différents modèles membranaires

### 2) Le modèle de la mosaïque (Singer et Nicolson, 1972)



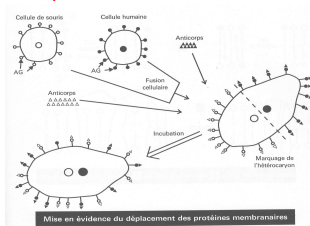
La membrane plasmique est une mosaïque de territoires hydrophiles et hydrophobes. La membrane dans ce modèle est une mosaïque fluide. (les éléments constitutifs peuvent se déplacer librement dans la membrane, dans l'océan lipidique les protéines peuvent se déplacer).

Les molécules hydrophiles passent au niveau des zones hydrophiles, et les molécules hydrophobes passent au niveau des zones hydrophobes.

Notion d'asymétrie membranaire

On a une mosaïque fluide: les protéines sont au sein de la bicouche. Les éléments constitutifs peuvent se déplacer librement.

## Mise en évidence de la mobilité des protéines membranaires



On veut montrer que des protéines au sein de la membrane peuvent se déplacer.

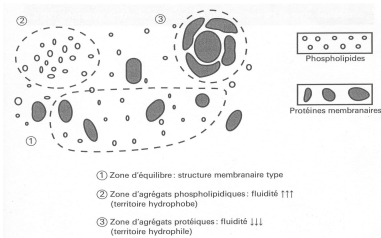
On va faire une fusion cellulaire entre deux cellules: une cellule humaine et une de souris. A  $T=0$ , lorsqu'on a fabriqué un hétérocaryote, on a une portion homme et une portion souris.

Grace a des substances fluorescentes on remarque cette différence.

Si il n'y a pas mobilité des membrane, on aura toujours ces deux zones.

Si il y a mobilité, on aura un brassage. → les protéines peuvent se déplacer librement dans la bicouche.

Les états de fluidité de la membrane.



On doit imaginer que la membrane va passer par plusieurs états, il va y avoir des zones particulièrement riches en lipide, ou particulièrement riches en protéines.  
 On va avoir une zone avec des agrégats phospholipidiques: territoires particuliers hautement hydrophobes. L'augmentation de fluidité est liée à l'augmentation des protéines.

Agrégats protéiques: hautement hydrophiles, stabilisation de la membrane, diminution de la fluidité membranaire.

peut passer dans des états très fluides ou des états très peu fluides, notion de dynamisme.

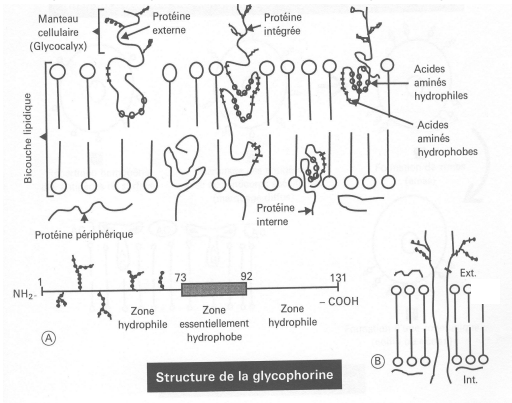
### Les radeaux lipidiques intra-membranaires

Dans le modèle de la mosaïque fluide, nous venons de voir que la bicouche lipidique insère des protéines intrinsèques et extrinsèques qui diffusent librement.

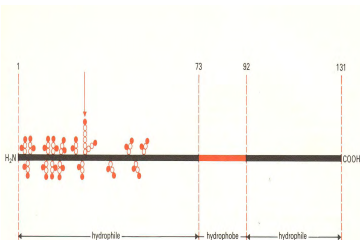
Il existe des endroits où les deux types moléculaires ne se distribuent pas au hasard. Il existe des micro-domaines lipidiques individualisés, de 50 nm de diamètre, soit très fluides (enrichis en phosphatidylcholine), soit peu fluides (enrichis en sphingolipides et cholestérol), appelés radeaux lipidiques, lieux privilégiés de la fixation des protéines membranaires internes ou externes (enzymes, récepteurs).

### La membrane est une mosaïque fluide asymétrique

Schéma: lorsqu'on regarde une membrane, on a la bicouche. Mais l'insertion des protéines va varier puisque la présence des protéines externes et internes va varier. La composition chimique des deux hémifeuillets n'est pas identique.



## STRUCTURE DETAILLEE DE LA GLYCOPHORINE



La glycophorine: glycoprotéine asymétrique, elle confère l'asymétrie à la membrane. On a des longueurs polypeptidiques différentes du côté intra et extra-cellulaire.

Comment va t'on imaginer le transport transmembranaire ?

Segment trans-membranaire le plus souvent sous forme d'hélice alpha. On a :

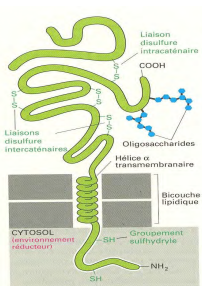
- P à traversée uniquement
- P à traversée multiples

L'hélice alpha est la stabilisation même des protéines.

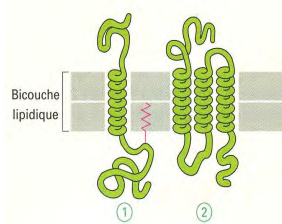
Quand on a affaire à une glycoprotéine, dans la partie hautement hydrophobe qui traverse la bicouche, se sont des aa hydrophobes.

Le segment transmembranaire protéique est stabilisé sous forme d'hélice alpha: protéine trans membranaire à un seul passage.

Protéine transmembranaire à traversée unique



## Protéine transmembranaire à traversées multiples



Il peut y avoir plusieurs passages d'hélice suivant le type membranaire.

Conclusion générale sur la structure des membranes :

Les modèle de Singer et Nicolson semble le plus vraisemblable depuis les années 70, réactualisé sans cesse, à la lueur des connaissances biochimiques, ultrastructurales et physiologiques récentes.

La membrane plasmique est une structure complexe dynamique, en perpétuel mouvement, passant par des différents niveaux successifs d'organisation pour un même micro-domaine.

Ces différents états structuraux correspondent à des conditions environnementales cellulaires variables, correspondant aux différentes activités physiologiques.

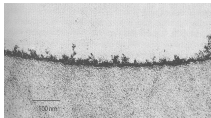
La connaissance de leur structure détermine la compréhension de leurs fonctions.

## Chapitre 2: Les fonctions de la membrane plasmique

### A- Rôle de frontière

#### 1- Notion de glycocalyx et de glycoprotéines membranaires

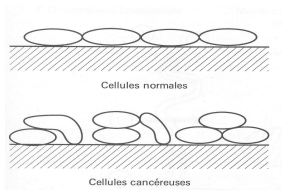
##### GLYCOPROTEINES (GLYCOALYX) DE LA MEMBRANE PLASMIQUE (étude histochimique in situ)



glycocalyx = ensemble des glycoprotéines de la membrane tournées vers le milieu extracellulaire

Le feutrage va servir de pré-filtre. Le manteau cellulaire (ou cell coat) ou glycocalyx est un feutrage dense, plus ou moins épais, situé sur la face externe de la cellule (il confère l'asymétrie de la MP), constitué de glycoprotéines et de glycolipides riches en polysaccharides (jusqu'à 10% de la membrane). Ce sont les constituants du glycocalyx, qui vont donner aux membranes plasmiques leur diversité et leur spécificité.

#### a- Comportement des cellules saines et tumorales en culture



Quelle différence y a-t'il entre une cellule saine et une cellule tumorale en culture ?

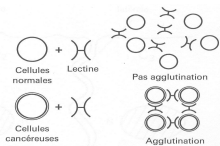
En culture, des cellules normales, forment une assise mono-couche.

En culture, des cellules cancéreuses, se chevauchent et s'empilent.

Pourquoi y a-t'il un comportement différent entre ces cellules ?

Est-ce que ça vient du glycocalyx ?

b- Mise en évidence de la différence de structure des glycoprotéines membranaires entre cellules saines et cancéreuses.



Mise en évidence de la différence de structure des glycoprotéines membranaires selon le type cellulaire

Lorsqu'on met des cellules normales avec des lectines, pas d'agglutination.

Mais cellules cancéreuses et lectines → Accrochage entre les glycolyx et les lectines.

⇒ il y a une différence de glycolyx entre les cellules normales et tumorales.

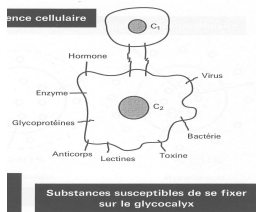
### c- Explication de la différence comportementale

La cellule synthétise les glycoprotéines de la membrane plasmique (comme celles des autres bio-membranes) dans certaines conditions physiopathologiques, les processus biosynthétiques sont perturbés (notamment par des facteurs environnementaux).

Dans les cellules cancérisées sont notées de grandes perturbations qualitatives et quantitatives de la biosynthèse des protéines, des glycoprotéines, et des polysaccharides (augmentation ou diminution), ce qui va expliquer les différences de structure et par là même des différences de fonctions des membranes plasmiques des cellules cancéreuses.

### d- Exemples de différents ligands fixés aux glycolyx

On peut utiliser différents ligands au glycolyx, il est possible d'avoir un certain nombre de ligands au niveau des glycolyx.



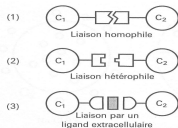
Substances susceptibles de se fixer sur le glycolyx

## 2- Les protéines d'adhérence

Les CAMs (= cell adhesion molecules)

Les SAMs (= substrate adhesion molecules)

## a- Les différents modes de liaison inter-cellulaire par les protéines d'adhérence.



Les différents modes de liaison intercellulaire par les protéines d'adhérence

Dans un organe, les cellules sont jointives, elles adhèrent. Entre la cellule 1 et 2 on a donc des liaisons inter-cellulaires. C1 et C2 présentent la même molécule d'adhérence, elles vont donc se lier.

Comment deux cellules voisines sont liées entre elles par les Protéines d'adhérence ?

Les cellules se reconnaissent et adhèrent. Les cellules voisines souvent identiques dans un tissu adhèrent selon 3 mécanismes biochimiques différents :

- Liaison homophile : sur chacune des cellules dans leur glycocalyx, on a la même protéine d'adhérence. (appariement direct de deux protéines d'adhérences identiques)
- Liaison hétérophile : on a à faire à des glycoprotéines d'adhérences qui ne sont pas les mêmes. (appariement direct de deux protéines d'adhérence différentes)

Mais elles se reconnaissent et elles adhèrent.

- Liaison par intermédiaire d'un ligand extra cellulaire qui vient se mettre entre les deux glycoprotéines.

Ceci constitue l'adhérence et la cohésion.

## b- Les cell adhésion molécules (CAMs)

Les immunoglobulines : elles constituent une superfamille (environ une trentaine de molécules), intervenant dans les adhérences intercellulaires homophiles et hétérophiles.

Quelques exemples essentiels :

- les N-CAMs : (neural CAMs), les 1<sup>ère</sup> et les mieux connues, glycoprotéine membranaire intégrée, liée de manière homophile, très riche en acide sialique (30%). elles jouent un rôle dans l'adhésion entre les neurones lors de l'embryogenèse du système nerveux.
- les L-CAMs (liver CAMs) liaison spécifique
- les Ng-CAMs (neuroglial CAMs) liant les neurones aux cellules de la neuroglie

Les cadhérines : grande famille de protéine d'adhérence, liaisons homophiles, dont les capacités d'adhésivité sont liées au taux de calcium (= toute diminution de concentration extracellulaire de calcium induit une modification de la conformation de la protéines et diminue ainsi sa capacité d'adhérence).

Chez l'adulte, elles jouent un rôle dans les phénomènes biologiques de réparation tissulaire (cicatrisation), de l'hémostase par la thrombose, de réactions inflammatoires. En cancérologie, la migration métastatique est rendu possible par la non-expression de certaine cadhérines.

Les trois principales cadhérines:

- cadhérine E pour épithélial
- cadhérine N pour neural
- cadhérine P pour placentale



Les sélectines : les sélectines, glycoprotéine intégrées riches en sucres, sont une famille de CAMs, elles aussi calcium-dépendantes, responsables des phénomènes d'adhérence entre les globules blancs et les cellules endothéliales des vaisseaux.

- Selectine L (interaction Leucocyte/ endothélium)
- Selectine E (interaction Endothélium/ polynucléaire)
- Selectine P (interaction Plaquettes/ endothélium)

### c- Les Substrate Adhesion Molecules (SAMs)

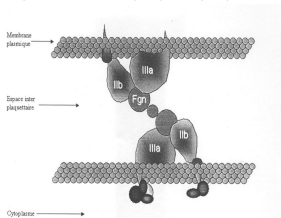
Les SAMs peuvent être classées en deux groupes, les intégrines et les SAM non intégrines (non traités).

Comme les cadhérines, en règle général, elles jouent un rôle important dans les phénomènes biologiques de l'agrégation plaquettaire, de la réponse immunitaire et dans la migration des métastases.

Les plus notoires sont:

- la protéine IIb/ IIIa, élaborée par les plaquettes et dont la fixation de nombreux ligands contribue à l'agrégation plaquettaire.
- les récepteurs de constituants de la matrice extra-cellulaire (laminine, fibronectine)

### Exemple d'interaction plaquette/plaquette



Cellule plaquette avec des glycoprotéines dans la bicouche.

On a des protéines d'adhésion, avec une substance entre les deux.

Les cellules se reconnaissent et se lient.

Tout s'explique par le phénomène d'adhérence

### 3- Notion de récepteurs

Notion de récepteur est à la base des interactions protéine réceptrice / ligand, clé de voûte de l'étude explicative des mécanismes d'action des médicaments et des toxiques en physiologie, en pharmacologie, en toxicologie et en thérapeutique.

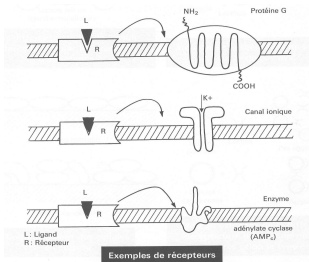
Dans les exemples présentés, la structure d'un récepteur est une protéine intégrée (intrinsèque) dans la membrane plasmique.

## a- Principe général

En règle générale, un récepteur est une protéine intramembranaire dans la membrane plasmique.

Un ligand spécifique vient se fixer sur le récepteur, modifiant sa conformation, ce qui va induire une réaction en chaîne (amplification du signal), transférant l'information, base de l'effet biologique d'une molécule. Cette information (= ou communication) est assurée par des signaux chimiques (certaines d'hormones ou de médiateurs) ou électriques.

## b- Exemples de récepteurs

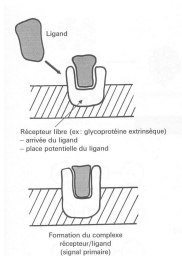


Intégration de structures protéiques dans la bicouche: protéines intégrées transmembranaire

- protéine G: lorsqu'un ligand vient se fixer sur le récepteur, le récepteur modifie sa conformation se qui induit une information aux protéines du voisinage. La protéine devient un effecteur.
- canal ionique
- enzymes

## c- Relation récepteur – ligand

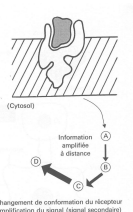
Ligand: toute substance qui est capable de reconnaître et de se fixer sur un récepteur.



Pour les récepteurs il y a plusieurs possibilité :

- récepteur qui reconnaît plusieurs ligands
  - récepteur qui ne reconnaît qu'un seul ligand
- Le complexe, c'est une relation réversible.

#### d- Amplification du signal



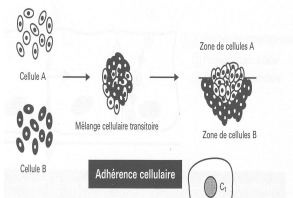
La fixation du ligand sur son récepteur a modifié la conformation du récepteur, et c'est cette modification du récepteur qui va informer la cellule et amplifier à distance. Le changement de conformation du récepteur va contribuer à amplifier le signal. Une seule molécule fixée sur le récepteur va entraîner une cascade de réponse, une amplification à distance.

#### e- Fonctions du manteau cellulaire

- 1 – Rôle de protection (vis à vis de l'environnement extra-cellulaire, pH, enzymes)
- 2 – Rôle de pré-filtre (rappel du glycocalyx, premier tamis moléculaire, endocytose)
- 3 – Rôle dans l'adhérence cellulaire (rôle du calcium, protéines du glycocalyx)
- 4 – Rôle dans la reconnaissance cellulaire (liée à l'adhérence cellulaire, inhibition de contact : quand les cellules reconnaissent leur homologue lors de la migration avec leurs protéines d'adhérence)

5 – Aspect physiopathologiques (altération qualitative et quantitative des récepteurs, déterminants antigéniques des groupes sanguins, des groupes tissulaires)

f- Reconnaissance et adhérence cellulaire

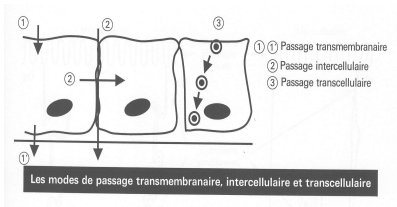


On remarque qu'au bout d'un certain temps on a un amas de cellules A et un amas de cellule B, ça veut dire que les cellules A se sont reconnues et que les cellules B se sont reconnues entre elles aussi.

Métastase : au sein du tissu A, des cellules B se sont installés, elles ne se sont pas reconnues.

B- Rôle dans le transport des molécules

1- Les différents modes d'échange entre les cellules



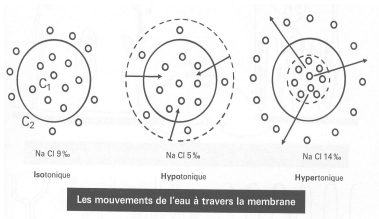
Passage trans-membranaire : une substance extérieure se présente au niveau de la membrane et rentre et sortir (eau par exemple de solutés, électrolytes, macro-molécules ...)

Passage inter-cellulaire : il est possible que des substances passent entre différentes cellules

Passage trans-cellulaire : une substance va être englobée au niveau de la cellule, cheminer sous forme de vésicule et se retrouver dans d'autres cellules.

## 2- La perméabilité membranaire à l'eau

### a- Rappel des phénomènes osmotiques



Les phénomènes osmotiques sont à l'origine des mouvements transmembranaire de l'eau à travers la membrane.

Si on met des hématie dans un milieu isotonique de NaCl, il y a équilibre

Si je met les hématies dans milieu hypotonique avec du NaCl à 5 pour mille, il y a une différence de concentration, l'eau va aller diluer la concentration interne. sa gonfle, et explose : hémolyse

si je met les hématies dans un milieu hypertonique, l'eau sort.

Suite aux observations précédentes, on peut en déduire que :

- La membrane peut être considérée comme héli-perméable, relativement imperméable aux solutés et perméable à l'eau
- Les variations de la taille des cellules sont les résultats des mouvements de l'eau à travers les membranes
- Toute différence de concentration de solutés de part et d'autre d'une membrane entraîne un mouvement d'eau appelé flux osmotique d'eau , appelé flux d'eau osmotique, qui tend à corriger la différence des concentrations initiales des solutés.

### b- Flux d'eau transmembranaire

$$\text{Flux vol} = - P_f \times A \times (C_{s1} - C_{s2})$$

Où

$P_f$  est le coefficient de perméabilité membranaire

$A$  est la surface totale membranaire

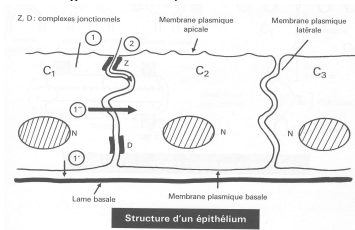
$C_{s1}$  et  $C_{s2}$  sont les concentrations en solutés de part et d'autre de la membrane

Le flux d'eau trans-membranaire (Flux vol) s'exprime en moles par unité de temps :

L'importance du flux d'eau trans-membranaire va dépendre de  $(C_{s1} - C_{s2})$  et de  $A$ . La cellule va donc développer des structures cellulaires, qui vont augmenter la surface de la membrane plasmique pour augmenter les échanges d'eau et de solutés de part et d'autre de la membrane.

Plus une cellule aura une surface membranaire élevée, plus les échanges seront importants.

## Structure générale d'un épithélium.



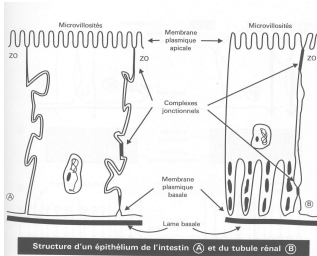
Comment peut t'on imaginer la stabilisation d'un épithélium ?

Un épithélium, c'est l'assemblage de cellules identiques réunies entre elles par des complexes jonctionnels, reposant sur une lame basale en position extra-cellulaire, élaborée par la cellule.

On a deux types de membranes: membrane basolatérale et membrane apicale (au contact de la lumière)

cette dernière présente des adaptations structurales.

Deux exemples d'épithélium de revêtement (augmentation de la surface membranaire)



Microvillosités très développées sur la membrane apicale par rapport à la membrane basale.

Ce sont des adaptations structurales de la membrane plasmique.

Un épithélium de revêtement possède alors deux propriétés intéressantes de la MP :

- Une membrane plasmique apicale très développée (X5 à 10 fois)
- Des structures particulières, les complexes jonctionnels, assurant la cohésion de l'ensemble, en favorisant l'adhérence inter-cellulaire (ce sont des sortes de boutons de pression, zone adhésive).

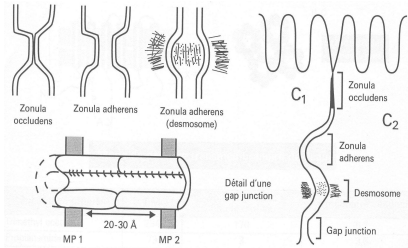
### c- Les complexes jonctionnels

Classification selon deux critères :

La taille des contacts inter-cellulaires :

- les zonula : contacts larges sous forme de bandes
- les fascia : plaque étendues irrégulières
- les maculas : petites jonctions rondes ou ovales

L'épaisseur de l'espace inter-cellulaire



- Les jonctions serrées (zonula occludens) : avec l'accolement de deux membranes (pas d'espace intercellulaire). Présence de cadhérine.
- Les jonctions intermédiaires (zonula adherens, desmosomes) : avec un espace large de 100 à 200 Å, rempli d'un matériel osmiophile. Riche en cadhérines.
- Les jonctions communicantes (gap junctions) : avec un espace réduit de 20 à 30 Å. communication directe entre deux cellules. Présence de connexines (connexons).



Aspect en ME des différents complexes de jonction.

### d- Les approches cellulaires et moléculaires du passage de l'eau

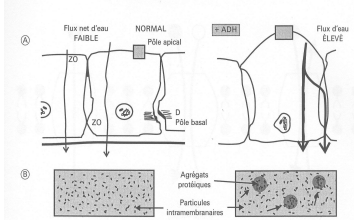
Problématique du passage transmembranaire de l'eau :

Comment l'eau (archétype hydrophile) peut-elle franchir la bicouche lipidique ?

-Le modèle de Singer et Nicolson est une mosaïque de territoires hydrophiles et hydrophobes.

-Le cryodécapage visualise ces territoires hautement hydrophiles : ce sont de véritables pores, aquaporines pour l'eau.

Il existe plus que des «territoires hydrophiles» : ce sont de véritables pores pour l'eau : les aquaporines.

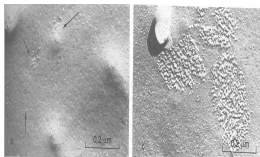


Flux net d'eau faible, les cellules restent dans leur état.

Avec un flux net d'eau élevé, avec de l'ADH, on a un gonflement de la cellule, on voit des agrégats. Avec un flux d'eau important, formation d'agrégat protéiques: lieu privilégiés du passage des protéines.

L'ADH est l'hormone anti diurétique : elle s'oppose à l'excrétion urinaire et favorise l'absorption de l'eau. La cellule augmente alors de volume et de taille.

Modification de la répartition des protéines intramembranaires lors du passage élevé de l'eau



En cryodécoupage, on visualise une répartition homogène des protéines intégrées. On observe des agrégats protéiques, territoires hydrophiles, lieux privilégiés du passage de l'eau.

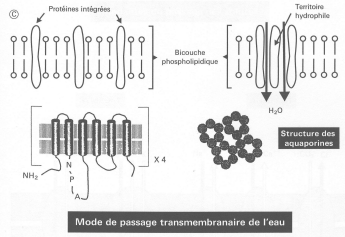
Il existe des protéines appelées aquaporines qui tapissent un très petit territoire de l'ordre de 2Å, et qui augmentent le passage de l'eau, par agrégation des protéines → lieux privilégiés du passage de l'eau.

Malgré son caractère très hydrophile, l'eau traverse facilement la MP (10 puissance 9 fois plus vite que le sodium et le potassium). Il fallait donc imaginer, outre son passage par diffusion simple (environ 10%), un passage par diffusion facilitée. Ce sont Agre et Mackinnon, Prix nobel de Chimie en 2003, qui ont découvert les aquaporines.

Ce sont des protéines intégrées multi-passage (6), qui forment des micro-canaux de 2Å (invisibles en ME), présentes dans les cellules à fort échange d'eau (10 différentes identifiées, séquencées). Elles sont déficientes dans certaines pathologies (diabète insipide).



Lorsqu'en ME classique, on ne voit aucune discontinuité, on se disait: si il y avait des pores, on les verrait en ME. C'est pas parce qu'on les voit pas qu'elles existent pas.



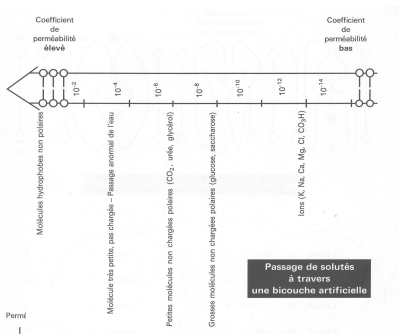
### 3- Passage trans membranaire des molécules

#### a- Passage des solutés

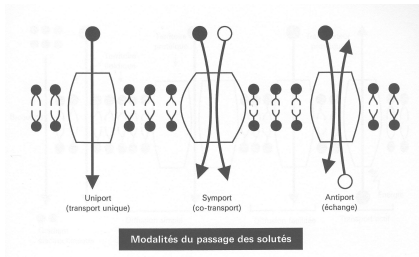
Soluté : toute substance dissoute dans de l'eau, ou toute substance dissoute dans notre sang, car elle va vouloir franchir la membrane.

Le passage dépend du coefficient de perméabilité membranaire des différents solutés les différents modes de passage des solutés

Corrélation entre perméabilité membranaire et liposolubilité.  
Diffusion simple et diffusion facilitée.



Les ions sont très peu perméables à la membrane ( $10^{-14}$ ). L'eau à un coefficient de perméabilité de  $10^{-4}$  au lieu de  $10^{-14}$  grâce à des modes de passages spécifiques.



**Modalité de passage des solutés :**

**Uniport** : un soluté est d'un côté de la membrane, et il traverse (transport unique)

**Symport** : le soluté va traversé la membrane accompagné (co transport)

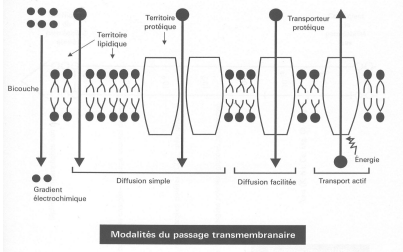
**Antiport** : lorsqu'un ion rentre, un autre sort (échange)

**Modes de passage selon le gradient électrochimique**

L'eau passe du milieu le moins concentré vers le plus concentrée.

Le soluté passe du plus concentré au moins concentré.

**Les différents modes de passage transmembranaires des solutés**



**La diffusion simple (dans le sens du gradient)** : elle n'a besoin de personne, la molécule va de la zone la plus concentrée vers la zone la moins concentrée. (10% de l'eau).

**La diffusion facilitée** : c'est si la molécule a besoin d'un transporteur.

**Transport actif** : se fait contre le gradient de concentration, on a besoin d'énergie pour ce type de transport. Processus opposé à la diffusion.

**Quels sont les facteurs déterminant la perméabilité membranaire ?**

D'après la structure de la membrane, deux paramètres semblent déterminants pour le passage des solutés :

- la taille ou poids moléculaires
- liposolubilité.

## Le facteur poids moléculaire

Existe-t-il une corrélation entre le PM et le CP ?

**OUI**, dans la plupart des cas, dans des familles chimiques homologues ou proches.

Saccharose	342	0.0008
Malonamide	102	0.0039 (X 5)
Glycol	62	1.23 (X 1500)

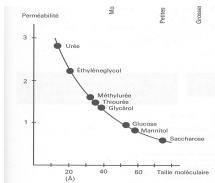
**MAIS**, beaucoup d'exceptions

Propionamide	73	3.6
Méthylurée	74	0.19 (X 18)

Il existe une corrélation entre PM et coefficient de perméabilité (CP), dans la plupart des cas, dans des familles chimiques, plus une molécule est petite plus elle passe. Deux molécules de même PM l'une passe plus facilement: ce qui fait la différence c'est la liposolubilité et donc la perméabilité membranaire.

Lorsqu'on a des molécules de même famille, le PM est bien respecté (linéarité) et lorsqu'on a une molécule très liposoluble et une peu liposoluble, sa sera la plus liposoluble qui passera plus facilement même si elle est plus grosse que la moins liposoluble. Normalement la perméabilité est liée à la taille moléculaire, mais le facteur déterminant est la liposolubilité.

### **CORRELATION ENTRE TAILLE MOLECULAIRE ET PERMEABILITE MEMBRANAIRE**



## Le facteur liposolubilité

La molécule hydrophobe passera plus facilement que celle qui est hydrophile. Par la nature hautement lipidique de la membrane plasmique, le coefficient de perméabilité d'une molécule dépendra de sa liposolubilité. Application en pharmacie galénique et en dermo cosmétologie (coefficient de partition eau dans l'huile).

Diffusion simple (besoin de personne) et facilitée (besoin d'un transporteur)

Les substances liposolubles traversent aisément la membrane plasmique.

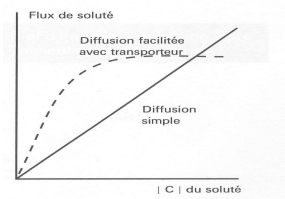
Les substances hydrosolubles traversent plus difficilement au niveau des territoires hydrophobes de la membrane plasmique.

Certaines substances hydrosolubles traversent anormalement facilement la membrane plasmique. C'est un passage facilité par des transporteurs ou perméases. C'est la diffusion facilitée.

Diffusion simple : plus j'ai de concentration d'un côté de ma membrane, plus la quantité de soluté qui traverse augmente.

Lorsqu'on fait l'étude de glucose par exemple. Il y a un flux de soluté qui augmente avec un flux de concentration, au bout d'un moment on a une asymptote.

## COMPARAISON DU PASSAGE DES SOLUTES DANS LA DIFFUSION SIMPLE ET FACILITEE



Le nombre de transporteurs est limité.

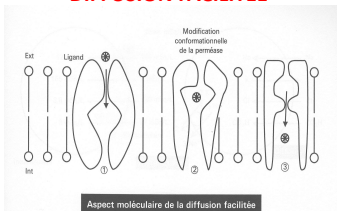
La diffusion facilitée (ou perméabilité par transporteur)  
Position charnière entre diffusion simple et transport actif.

Propriétés essentielles de la diffusion facilitée :

- Elle augmente la vitesse de passage des solutés comparée à la diffusion simple,
- Elle est possible grâce à des transporteurs,
- Elle se fait dans le sens du gradient de concentration: le sens du transport dépend de la différence de concentration de part et d'autre de la membrane;
- Elle ne nécessite pas d'énergie, elle est dans le sens du gradient: uniquement l'agitation thermique.

Un transporteur prend en charge le ligand, il va y avoir un complexe, modification conformationnelle, le ligand pénètre dans la bicouche.

## APPROCHE MOLECULAIRE DE LA DIFFUSION FACILITEE



Transporteur : complexe entre le ligand, et le transporteur  $\Rightarrow$  modification conformationnelle

Diffusion facilitée : exemple du glucose

Comment une molécule aussi hydrophile traverse la membrane ?

Molécule particulièrement hydrophile avec 5 hydroxyles traversant facilement la membrane.

Le passage du glucose se fait, dans le sens du gradient, grâce à des transporteurs très spécifiques (protéines spécifiques GLUT à 12 sites transmembranaires, 6 isoformes, présentant un phénomène de saturation (nombre fini de transporteurs).

3 étapes dans le passage du glucose : Formation réversible d'un complexe transporteur/glucose spécifique, translocation du complexe et enfin dissociation du complexe à la phase opposée.

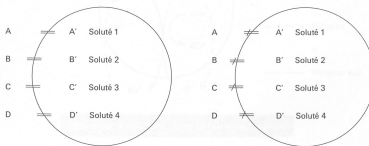
b- La perméabilité membranaire aux électrolytes

### 1) Notion générale

Lorsqu'on a un équilibre osmotique, la concentration de A est identique des deux coté de la membrane. On parle d'un potentiel d'équilibre. Mais dans certains cas particuliers, il peut y avoir des potentiels d'équilibre avec déséquilibre des concentrations des solutés (comme les fibres musculaires..)

quand on fait le total: les déséquilibres s'équilibrent.

### Les potentiels d'équilibre



Potentiel d'équilibre dans le plus grand nombre des cellules (équilibre osmotique)

Potentiel d'équilibre dans une fibre musculaire ou nerveuse

### Les potentiels d'équilibre

Pour une cellule normale, dans le cas du passage des solutés non-électrolytes, il y a un équilibre osmotique, en absence de différence de concentration (ou de potentiel) de part et d'autre de la membrane.

Pour certaines cellules (nerveuses, musculaires..), au repos dans certains cas, il peut y avoir un équilibre osmotique avec une différence de concentration de part et d'autre de la membrane.

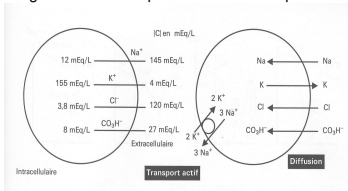
équilibre osmotique avec un déséquilibre de la répartition des ions.

Comment maintenir un potentiel d'équilibre avec une différence de concentration ?

Le sodium est un ion extra-cellulaire

Le potassium est un ion intracellulaire

## Passage du Na et du K par diffusion et transport actif



Il y a équilibre malgré qu'on ai un très fort déséquilibre.

Le sodium a tendance a rentrer

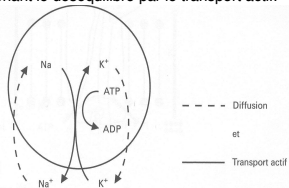
le potassium a tendance a sortir

dans une cellule musculaire, nerveuse il y a ce déséquilibre physiologique.

Pour lutter contre ce déséquilibre physiologique, il faut un contre mouvement qui fasse sortir du sodium pour éviter qu'il rentre. On est contre le gradient → transport actif.

Pour lutter contre la sortie de potassium, idem.

Dans ces processus, il doit y avoir co existence de la diffusion et du transport actif. maintenant le déséquilibre par le transport actif.



### Potentiel d'équilibre dans la fibre musculaire

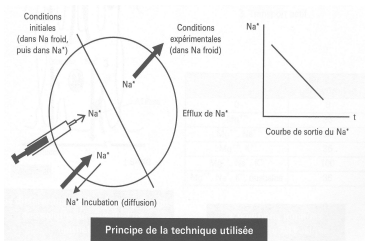
Il co existe la diffusion simple avec le transport actif.

Si on laisse faire les choses, la diffusion va équilibrer le sodium et le potassium.

On a un contre mouvement → transport actif.

2)Le passage transmembranaire du sodium et du potassium: aspect experimental.

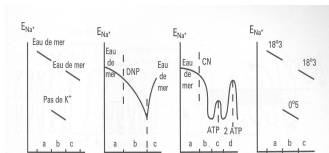
On met une substance radio active dans la cellule. On fait en sorte que du sodium radio actif rentre dans la cellule.



## Résultats expérimentaux sur axones géants de calmars

### Protocoles expérimentaux du passage couple Na/K

Ex 1 Ex 2 Ex 3 Ex 4



Expérience 1 : Mélange synthétique « eau de mer sans K ». Le Na ne sort plus. En absence de potassium, effondrement de l'eau de mer.

Expérience 2 : est ce qu'il y a une dimension énergétique pour que cet échange fonctionne ?

On met de l'ATP, du phénol. Après avoir bloqué par du cyanure les flux de sodium, si on met de l'ATP, ça repart.

Il doit y avoir une participation du métabolisme énergétique mitochondriale le dinitrophenol découple la synthèse de l'ATP: chute de la sortie du Na

Expérience 3 : Une enzyme agit à une température optimale.

Inhibition du flux sortant de Na par les CN. Introduction de quantité calibrées d'ATP. Reprise de la sortie du Na.

Expérience 4 : addition dans de l'eau de mer à 0,5°C. Importante inhibition de sortie.

Les facteurs contrôlant l'afflux de sodium :

- La présence de  $K^+$
- La présence d'ATP
- La température optimale

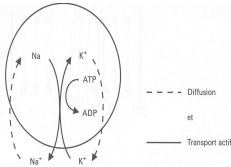
La pompe ionique Na/K met en jeu : la couplage Na/K, le besoin d'énergie, le besoin en ATP, l'implication d'une enzyme: l'ATPase.

Transport actif :

Les caractéristiques du transport actif :

- intervention directe de la cellule
- participation de protéines membranaires, appelées « pompes ioniques »
- agit contre le gradient de diffusion
- apport obligatoire d'énergie.

La diffusion est automatiquement couplé avec le transport actif qui fonctionne dans l'autre sens.



#### Potentiel d'équilibre dans la fibre musculaire

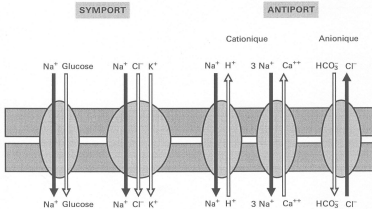
La « pompe ionique » Na/K :

Afin de maintenir le déséquilibre de concentration du Na et du K de part et d'autre de la membrane, pour s'opposer à la diffusion passive, qui tend à supprimer ce déséquilibre, la pompe ionique Na/K :

- rejette le sodium intracellulaire à l'extérieur de la cellule
- prélève le potassium dans le milieu intracellulaire

### 3) Les adénosine-triphosphates

Modalités complexes des échanges ioniques transmembranaires



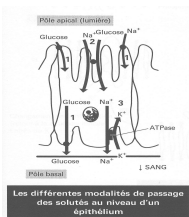
#### Exemple de symport et d'antiport de solutés

Au niveau des épithéliums, la diffusion facilitée, l'uni port, le cotransport et le transport actif peuvent coexister dans une même cellule.

Différents modes de transports peuvent être présents dans la même cellule.



- (1) diffusion facilitée, uniport du glucose et/ou du sodium  
 (2) co-transport Na/glucose (3) transport actif, antiport Na/K



Voir diapo pour autres schémas

#### 4) Les ionophores

Définition : qui transporte les ions.

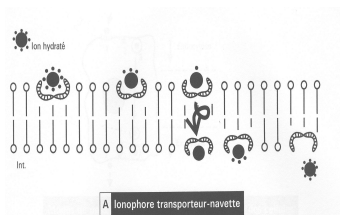
Mode de transport : facilite la diffusion (diffusion facilitée) des ions.

Exemples d'ionophores exogènes : antibiotiques, valinomycine, gramicidine

Exemples d'ionophores endogènes : récepteurs cholinergiques

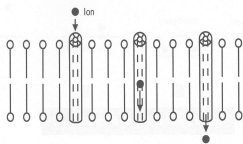
Ionophores exogènes transporteur navette: il prend en charge l'ion, le déshydrate pour passer dans la bicouche, culbute et le libère l'ion.

### IONOPHORES EXOGENES (A)



Les ionophores exogènes canal transmembranaire: les molécules d'ionophores forment un canal.

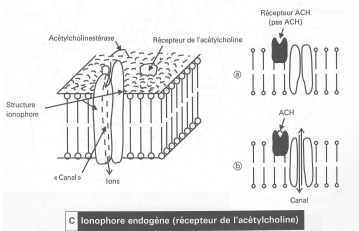
## IONOPHORES EXOGENES (B)



B Ionophore canal transmembranaire

Ionophores endogènes: fixation du ligand acétylcholine sur son récepteur → modification conformationnelle du ionophore qui va former un canal.

## IONOPHORES ENDOGENES



C Ionophore endogène (récepteur de l'acétylcholine)

**Le récepteur de l'acétylcholine**

C'est un ionophore endogène, physiologiquement présent dans nos cellules.

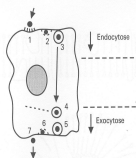
L'ACh se fixe sur son récepteur, ce qui va modifier la conformation du ionophore-canal très voisin. Augmente le passage du K.

Travaux expérimentaux sur les neurones de l'organe électrique de la Torpille (1000fois plus riche que les neurones classiques). Isolement des récepteurs et incorporation dans les membranes artificielles. Ils fonctionnent in vitro.

### 4- Généralités sur les processus d'échanges globaux

#### a- Endocytose

## PASSAGE TRANSCELLULAIRE DES MACROMOLÉCULES



Modes de passage des macromolécules au niveau des cellules

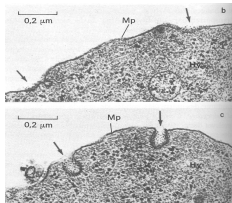
L'endocytose est un processus cellulaire complexe, propre des cellules eucaryotes, développé pour internaliser des substances extracellulaire de taille plus ou moins volumineuse.

### Classification de l'endocytose

En fonction de la nature et de la taille de ces substances absorbées, on distingue :

- la phagocytose du grec phagein : manger, qui correspond à l'ingestion de bactéries ou de fractions cellulaires,
- la pinocytose, du grec pinein : boire, qui correspond à l'absorption de gouttelettes de lipide, de macro-molécules, de protéines, d'hormones, etc.

### Mécanisme membranaire de l'endocytose (invagination, formation de vésicules)



### Mécanismes de l'endocytose

Quelque soit le type d'endocytose, on décrit plusieurs étapes :

- phase d'approche : les particules ou molécules reconnaissent les zones spécifiques du glycolalyx (glycoprotéines)
- phase d'accolement : les particules ou molécules adhèrent, en se concentrant, à des polysaccharides des glycoprotéines de la membrane
- phase d'ingestion par invagination de la membrane, puis internalisation d'une vacuole d'endocytose (voir cours sur le lysosome)

### Importance de l'endocytose

L'endocytose joue un rôle fondamental dans plusieurs fonctions cellulaires, donc voici quelques exemples :

- l'absorption d'éléments nutritifs par la cellule (cf la digestion cellulaire par les lysosomes déjà étudiée)
- la régulation des surfaces membranaires
- la régulation du nombre et de l'activité des récepteurs (déjà étudiée)
- le maintien de la polarité épithéliale

## b- L'exocytose

### Définition de l'exocytose

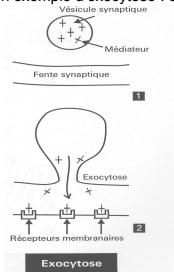
Une vésicule contenant des substances devant être exportées hors de la cellule va s'accrocher à la membrane plasmique pour décharger son contenu. Elle devient alors une vésicule d'exocytose. C'est le processus inverse de l'internalisation d'une vésicule, qui devient vésicule d'endocytose.

### Nature du contenu d'une vésicule d'exocytose

On peut évoquer deux cas très distincts :

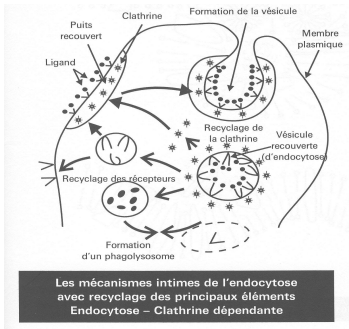
- la vésicule contient des déchets, nous sommes dans le cas de l'excrétion cellulaire, déjà traitée
- la vésicule contient des substances élaborées par la cellule et exportées hors de la cellule (hormones, neurotransmetteurs)

### Un exemple d'exocytose : Sortie de l'ACh vers son récepteur



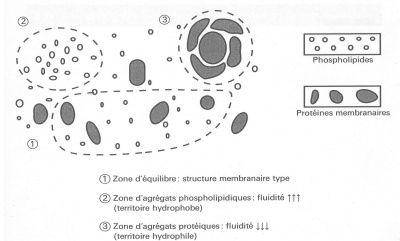
## c- Régulation étroite entre endocytose et exocytose

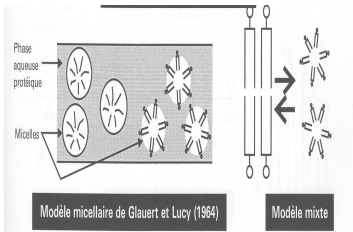
- Régulation de la surface totale de la membrane plasmique cellulaire
- Exemples des récepteurs des LDL



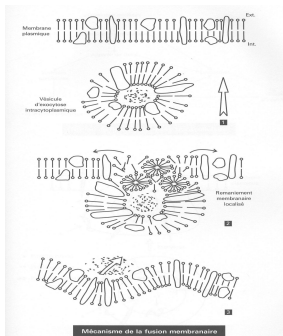
## 5- Les mécanismes de la fusion de deux endomembranes et les remaniements moléculaires post-fusionnels

### Les différents états de fluidité d'une membrane





On a autant d'eau que des zones avec peu d'eau dans la membrane, on peut imaginer que l'eau est avec une dominance protéique, ou on a de l'eau avec les phospholipides : ce sont les formes micelles : c'est l'organisation de lipides en très grandes quantité dans une faible phase aqueuse.

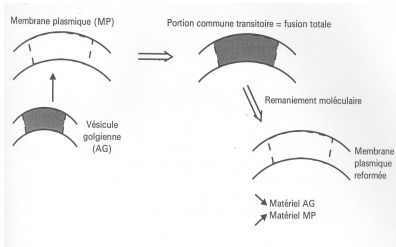


Tout repose sur la fusion de deux membranes.

On a une membrane plasmique et une vésicule d'exocytose : nous devons être dans une zone hyperfluide : c'est une zone qui n'a que des phospholipides et qui est dépourvue de protéines. C'est là qu'il se forme bien des micelles appartenant aux deux bicouches de la membrane plasmique de la vésicule d'endocytose et il y a bien départ des protéines de la zone de fusion. On a les phospholipides sous forme de micelles, qui vont fusionner et former une nouvelle bicouche : fusion des deux membranes, et ensuite les protéines reviennent dans la bicouche.

La structure de base d'une membrane est bien la bicouche. Il peut y avoir une structure bicouche sans membrane mais de manière transitoire (les protéines reviennent).

## Fusion membranaire et remaniement moléculaire



On obtient une portion commune transitoire (un bout de membrane golgienne et un bout de plasmique). La fusion membranaire est l'apparition d'une portion commune transitoire. Elle ne peut être que transitoire car le produit de la fusion n'est ni de la membrane plasmique ni de l'appareil de Golgi. Après cette fusion il est obligatoire qu'il y ait un remaniement : le produit de fusion doit redonner de la membrane plasmique. Toute fusion de deux membranes met bien en commun leur matériel et donne une portion commune transitoire et pour que la spécificité structurale des membranes subsiste il faut qu'il y ait un remaniement.

## Le flux membranaire transcellulaires

Les différents organites ont la possibilité par fusion membranaire.

