

Chapitre 2

La perméabilité contrôlée des membranes et ses conséquences

code des diapositives

 très important, à savoir avec précision

 important pour comprendre

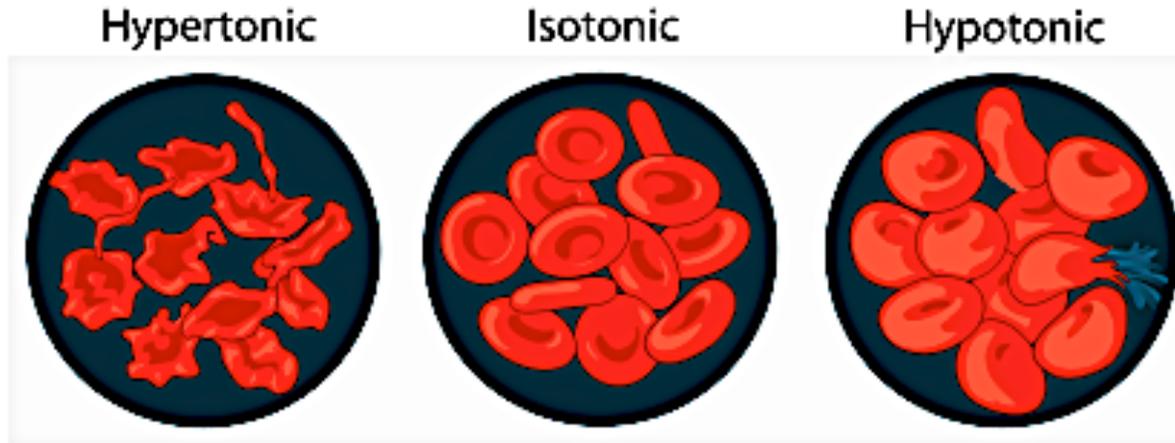
 pour approfondir, sinon à couper

1. La perméabilité à l'eau et aux solutés

Expérience d'osmose



Hématies

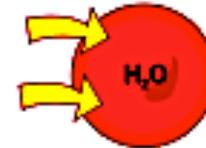


[NaCl] = 15 %



[NaCl] = 9 %

0,31 osm



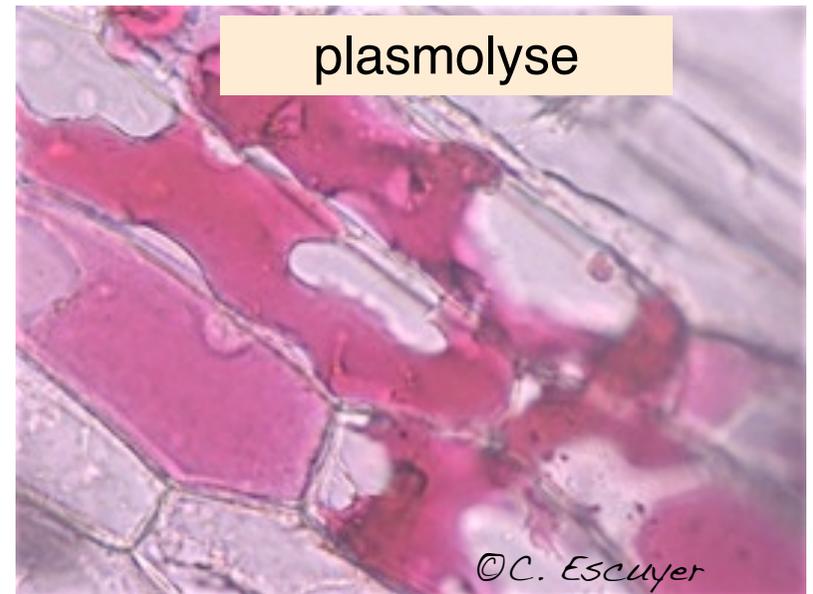
[NaCl] = 1 %



turgescence

©C. ESCUYER

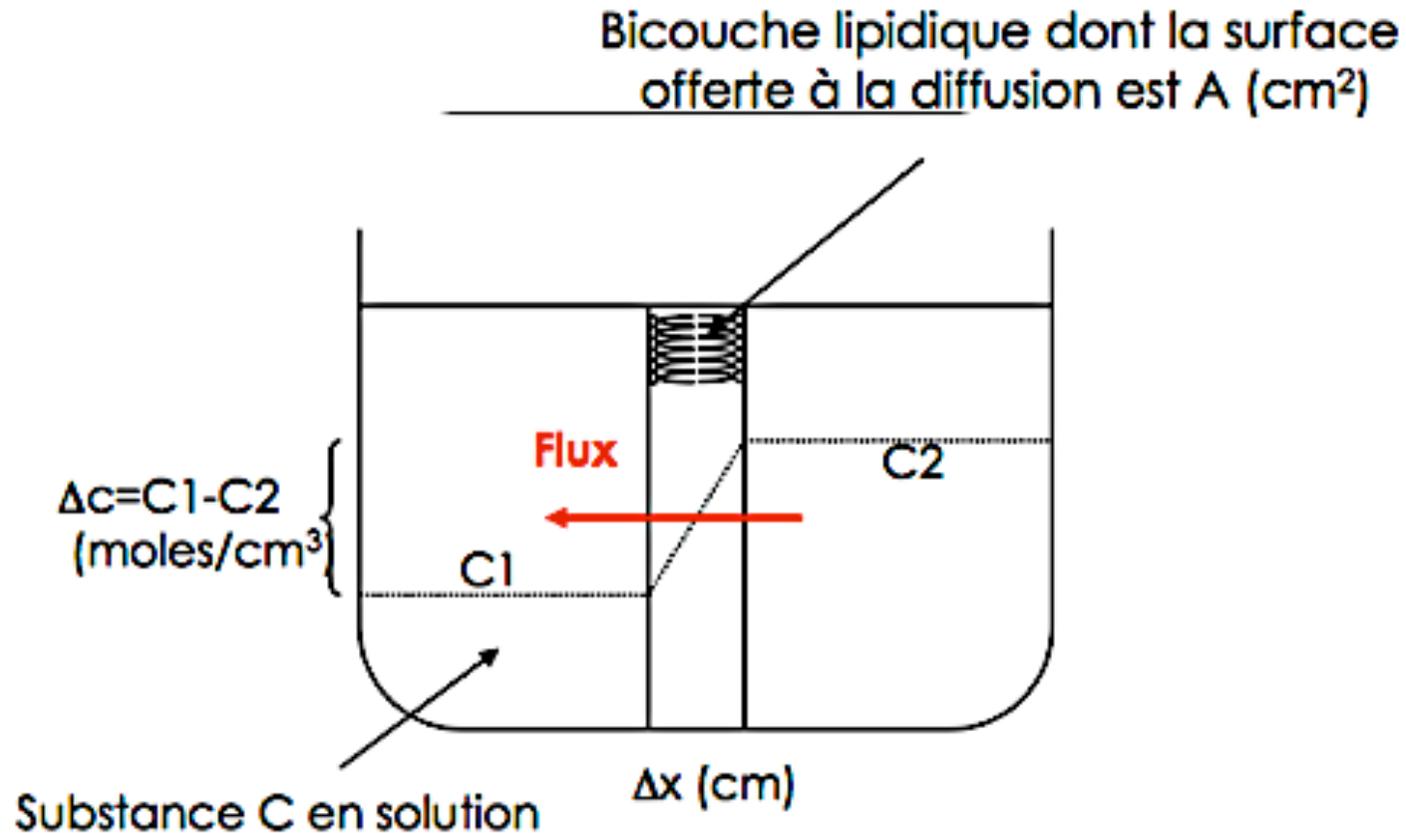
Cellules végétales



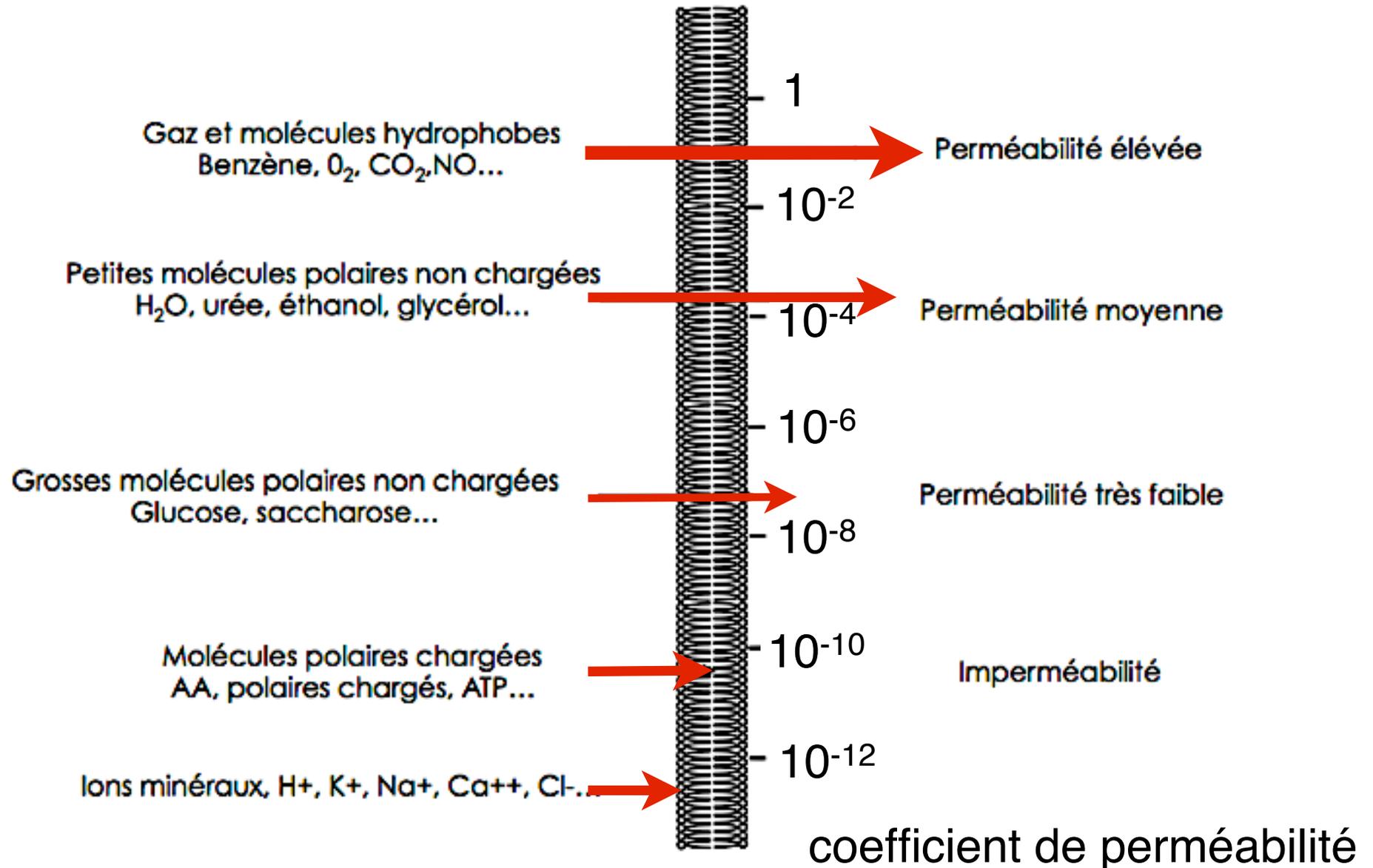
plasmolyse

©C. ESCUYER

Étude de la perméabilité



Résultats



Flux à travers une membrane



D'après la 1^{ère} loi de diffusion de Fick,

Flux (vitesse de passage par unité de surface) en mol.s⁻¹

S surface en cm²

C concentration en mol.cm⁻³

$$\text{FLUX} = - D \times S \times \frac{\Delta C}{\Delta x}$$

le signe - indique que le flux est dirigé vers le compartiment où la concentration est la plus faible

x épaisseur de l'échangeur en cm

D coefficient de diffusion en cm².s⁻¹

$$\frac{\Delta C}{\Delta x} = \text{gradient de C}$$

Loi de diffusion



Pour une unité de surface

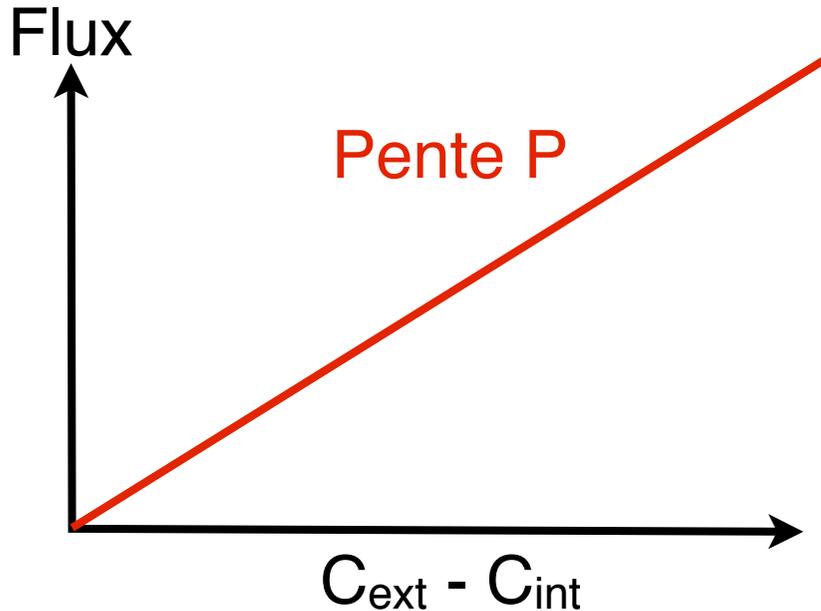
$$\text{Flux} = - D \cdot \frac{\Delta C}{\Delta x} = - P \cdot \Delta C$$

où $P = \frac{D}{\Delta x}$ coefficient de perméabilité en cm.s^{-1}

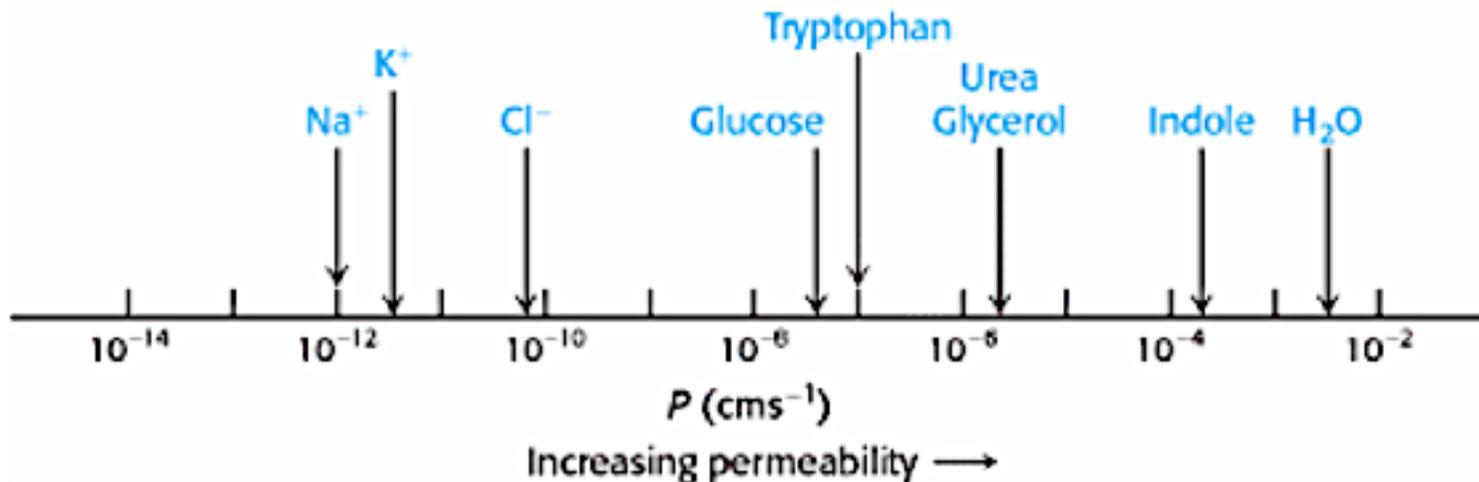
Mesure du coefficient de perméabilité P



Mesure du flux entrant de substances variées



Mesure de P = pente de la courbe de mesure de l'entrée de la substance en fonction du gradient



Coefficient de partage huile/eau

mesure du coefficient de partage



on mêle le soluté avec un mélange eau/huile d'olive et on attend que les phases se séparent.

$$\text{Coefficient} = \frac{\text{concentration du soluté dans l'huile}}{\text{concentration du soluté dans l'eau}}$$

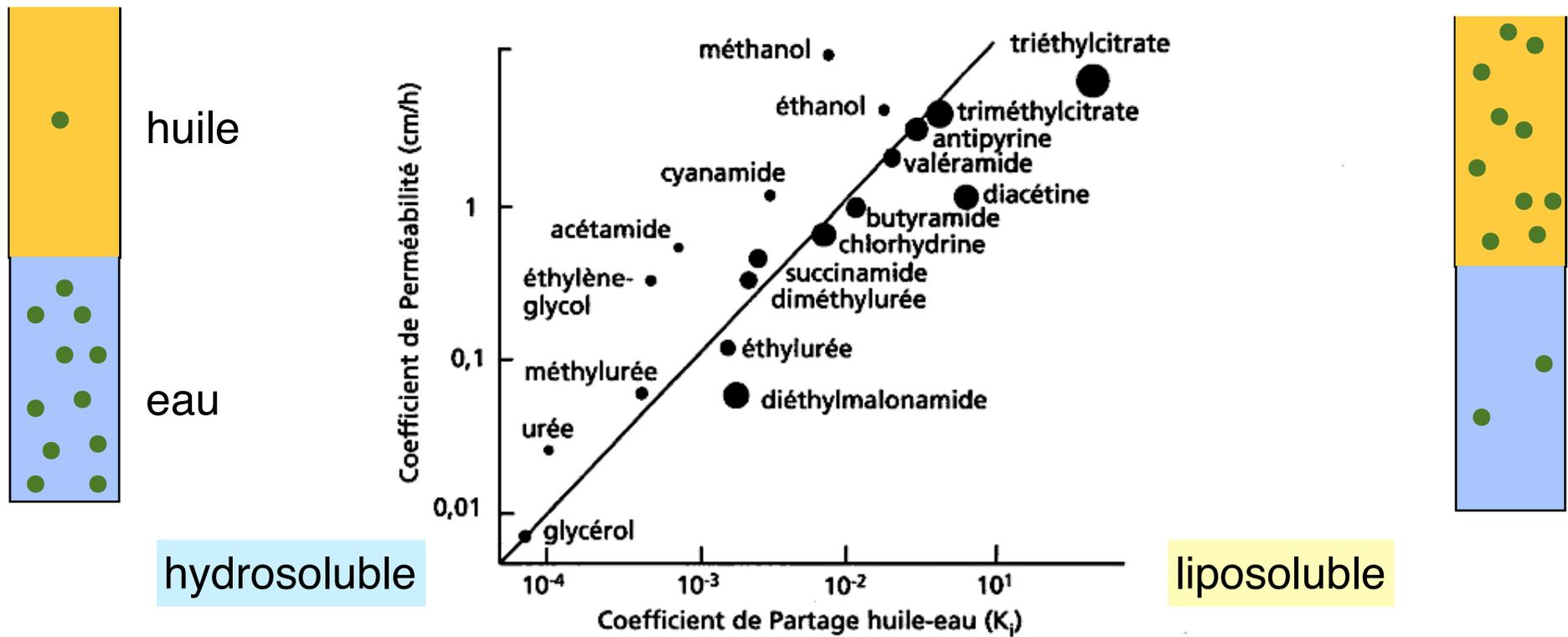


Figure 2.3. Relation entre le coefficient de perméabilité et le coefficient de partage huile-eau pour plusieurs solutés. La taille des cercles est proportionnelle au diamètre moléculaire des solutés.

Relation entre les coefficients



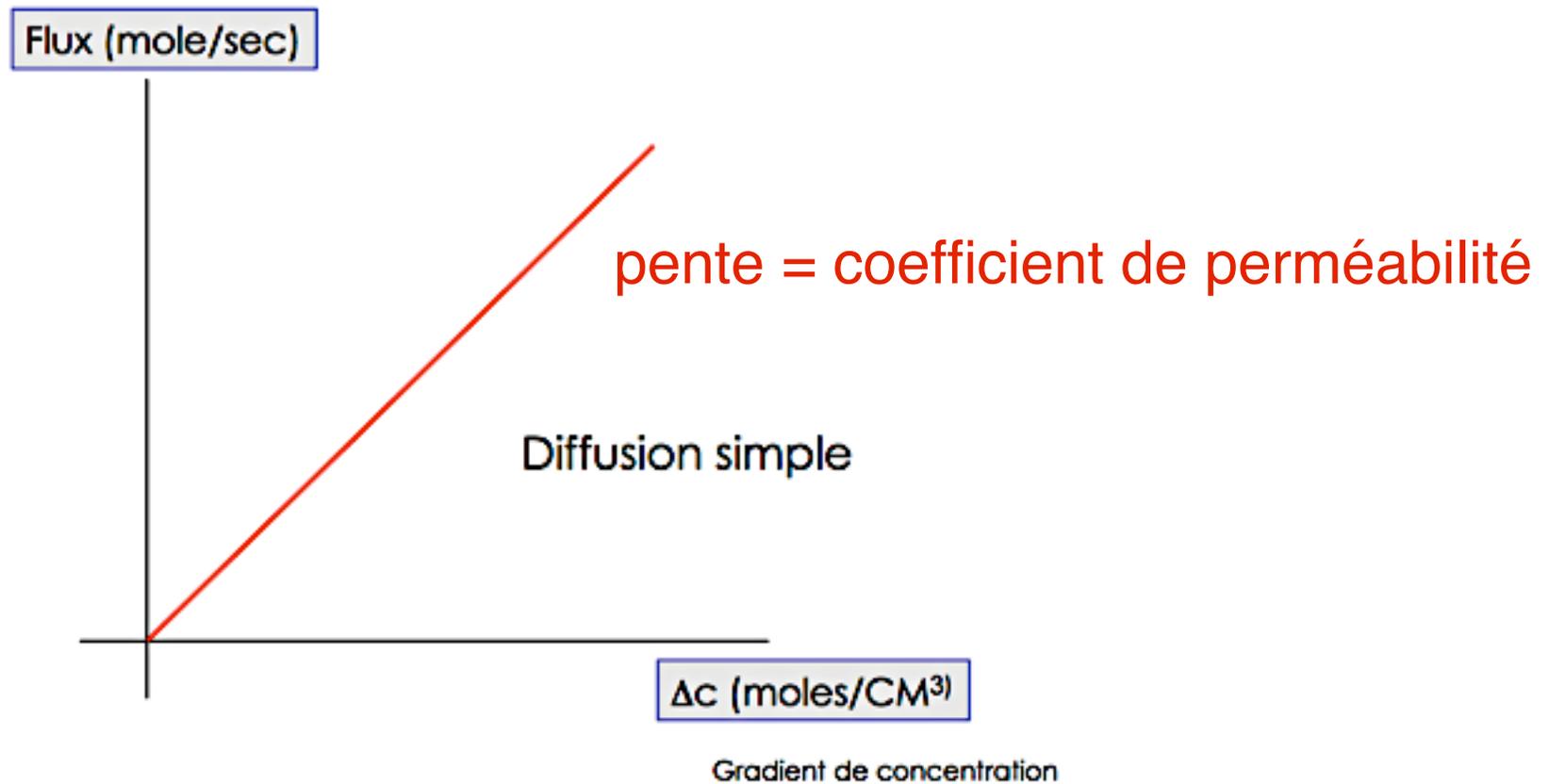
Il y a un lien de proportionnalité entre le coefficient de partage huile / eau et le coefficient de perméabilité

P est le coefficient de perméabilité en cm.s^{-1}

$$\text{coefficient de partage de A} = \frac{\text{solubilité de A dans l'huile}}{\text{solubilité de A dans l'eau}}$$

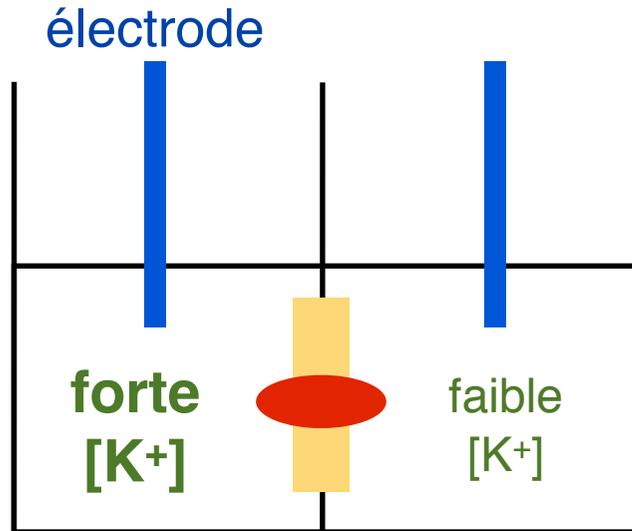
Le coefficient de partage huile / eau indique la nature liposoluble des substances. Les molécules liposolubles peuvent traverser la membrane par simple diffusion donc ont un coefficient P élevé.

La diffusion simple



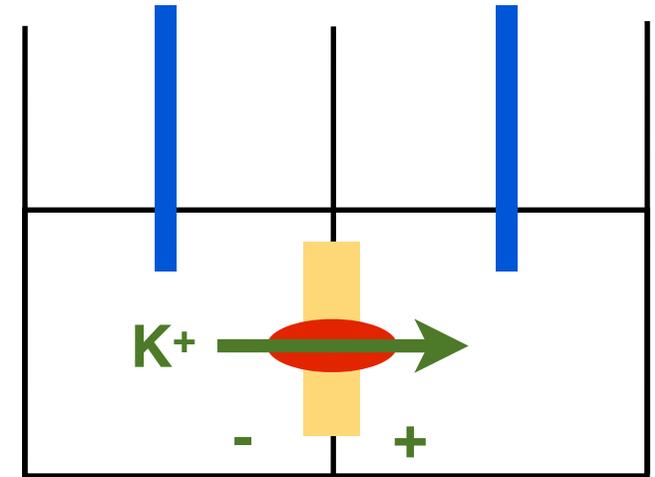
Flux entrant d'une substance liposoluble dans une cellule

Cas du transport des ions



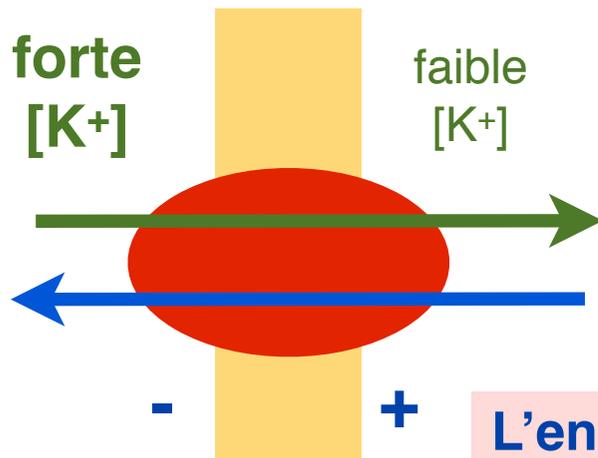
Absence de Ca²⁺

canal BK, s'ouvrant en présence de Ca²⁺



Présence de Ca²⁺

il s'ensuit un champ électrique qui renvoie les K⁺ vers le compartiment initial



composante chimique : différence de concentration

composante électrique : différence de charges

L'ensemble des 2 composantes est la force «ion-motrice»

Approche thermodynamique du transport



différence de potentiel électrochimique

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = \mu_e - \mu_i = R.T.\ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right) + z.F.(E_e - E_i)$$

Variation d'enthalpie libre

**composante chimique
différence de concentration**

**composante électrique
tension transmembranaire**

attention, dans la plupart des exercices, on donne la différence de potentiel membranaire égale à $E_i - E_e$

En conditions standards, $R = 8,31 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, $T = 298 \text{ K}$ et $F = 96\,500 \text{ C.mol}^{-1}$

si $\Delta G'_{i \rightarrow e} < 0 \Rightarrow$ transport spontané, exergonique

si $\Delta G'_{i \rightarrow e} > 0 \Rightarrow$ transport non spontané, endergonique : il faut dépenser de l'énergie pour provoquer le transfert

Transport d'un soluté neutre

Exercice d'application - question 1

La paroi de l'intestin absorbe le glucose qui est ensuite envoyé dans le sang. On veut savoir si le transport du glucose de la cellule intestinale vers le sang est spontané ou bien nécessite de l'énergie.

Pour cela, on mesure la concentration en glucose dans les entérocytes et dans le sang.

Concentration en mM	dans les entérocytes	dans le sang
[glucose]	5	0,005

De plus, on mesure une différence de potentiel membranaire de la cellule de - 60 mV.

Transport d'un soluté neutre

Le glucose est un soluté neutre donc on utilise :

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = \mu_e - \mu_i = R.T. \ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right)$$

On calcule $\Delta G'_{i \rightarrow e}$ avec les valeurs fournies.

Concentration en mM	dans les entérocytes	dans le sang
[glucose]	5	0,005

$$\Delta G'_{\text{cellule} \rightarrow \text{sang}} = R.T. \ln\left(\frac{0,005}{5}\right) = 8,31 \times 298 \times \ln(0,001) = -17,1 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

$\Delta G' < 0$ donc le transport est spontané, exergonique.

Transport d'un ion

Exercice d'application - question 2

L'absorption intestinale met en jeu des flux de sodium. On souhaite connaître les modalités de **sortie** des ions Na^+ depuis les cellules intestinales vers le liquide interstitiel.

Concentration en mM	dans les entérocytes	dans le sang
$[\text{Na}^+]$	10	145

De plus, on mesure une différence de potentiel membranaire de la cellule de - 60 mV.

Transport d'un ion

Na⁺ étant un ion, il y a une composante électrique à sa force ion-motrice

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = \mu_e - \mu_i = R.T.\ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right) + z.F.(E_e - E_i)$$

Concentration en mM	dans les entérocytes	dans le sang
[Na ⁺]	10	145

$$ddp = E_i - E_e = -60 \text{ mV}$$

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = \mu_e - \mu_i = R.T.\ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right) - z.F.ddp$$

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = 8,31 \times 298 \times \ln\left(\frac{145}{10}\right) - 1 \times 96\,500 \times (-60. 10^{-3})$$

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = 21\,460 \text{ J.mol}^{-1}$$

$\Delta G'$ est positif donc le transport du sodium hors de la cellule est un transport actif, qui nécessite de l'énergie.

Le transport de l'eau



$$\Psi = P - \pi - \tau$$

potentiel hydrique en Pa

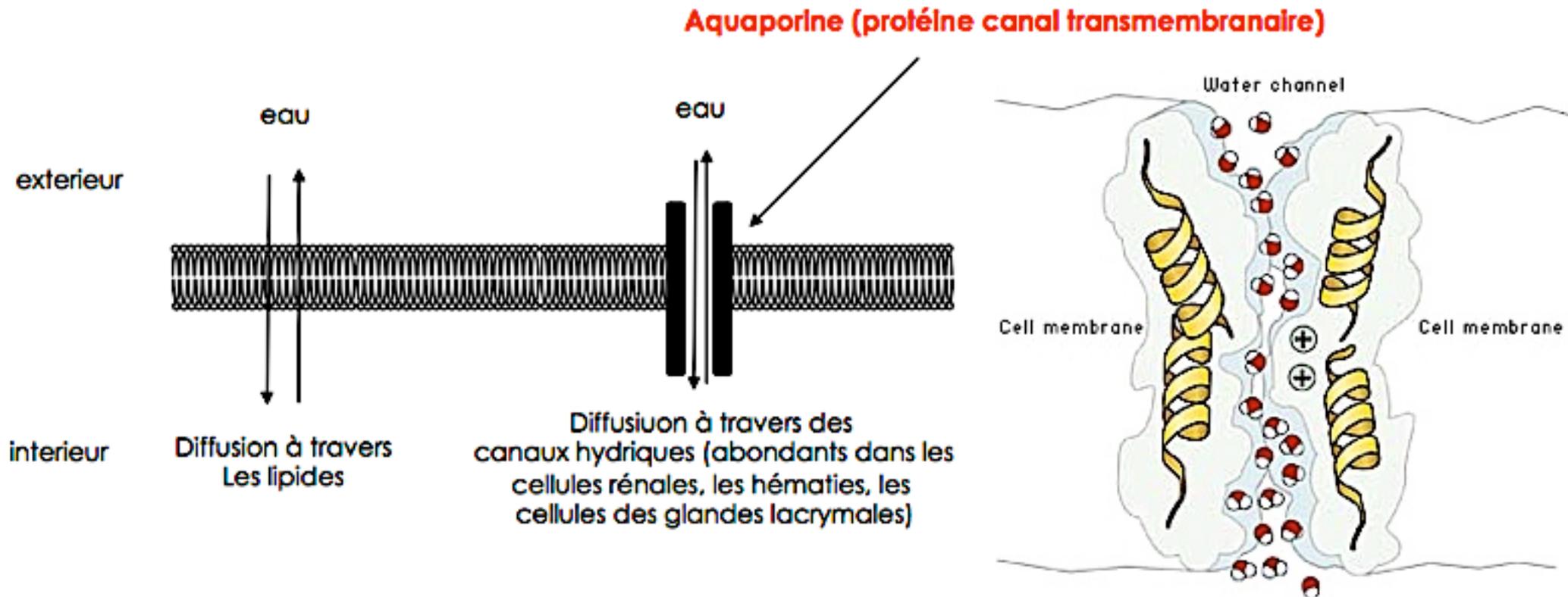
potentiel hydrostatique
 \approx pression de l'eau (turgescence)

potentiel matriciel
 \approx pouvoir de rétention

potentiel osmotique
lié aux solutés dissous

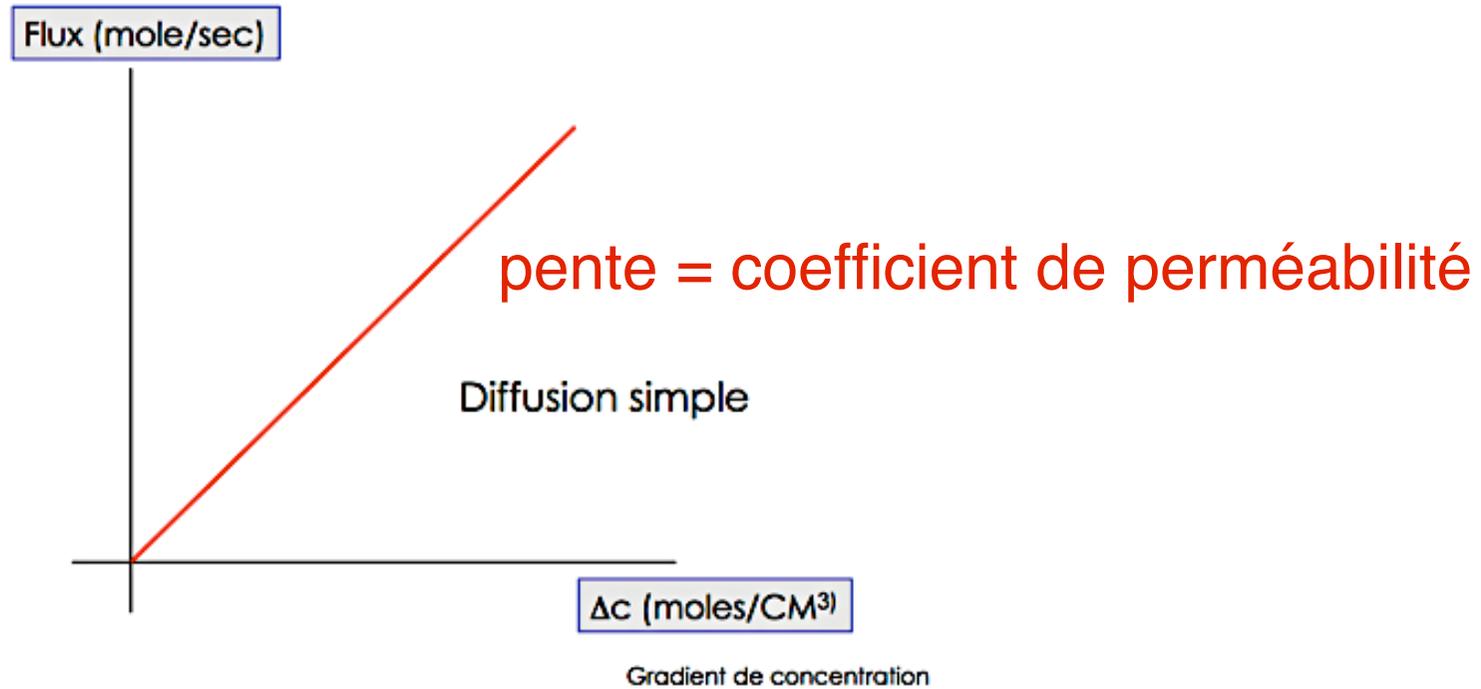
L'eau se déplace spontanément selon les potentiels hydriques décroissants

Le transport de l'eau



Diffusion simple à travers la bicouche : modérée
Diffusion importante à travers des porines

La diffusion simple

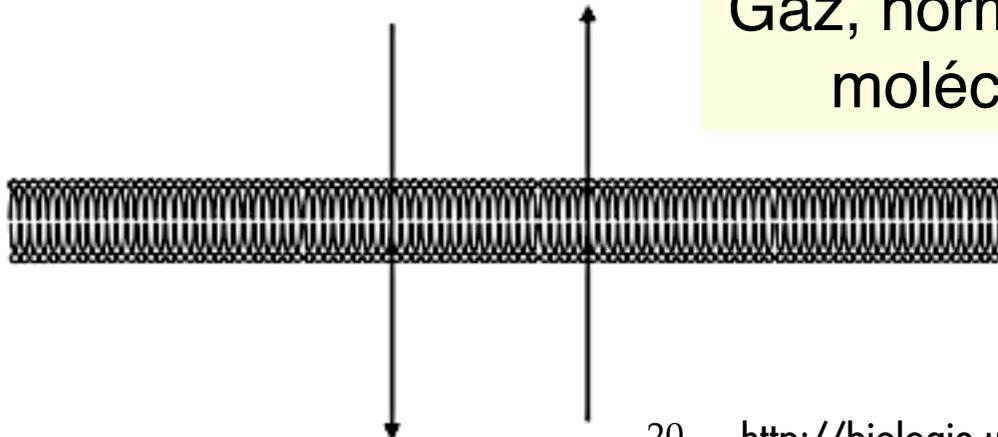


Transport passif par diffusion lipophile

Gaz, hormones stéroïdes, urée, molécules liposolubles...

exterieur

cytoplasme

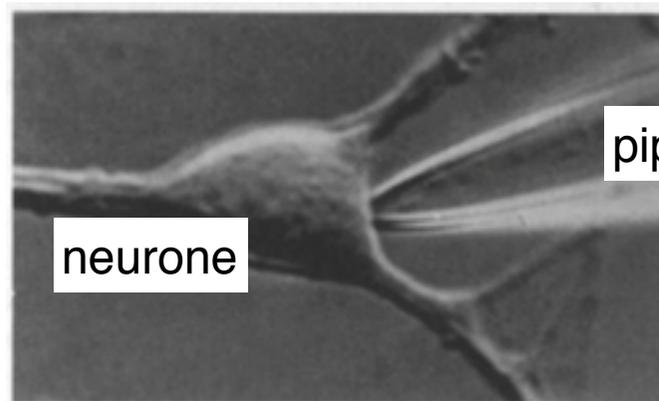
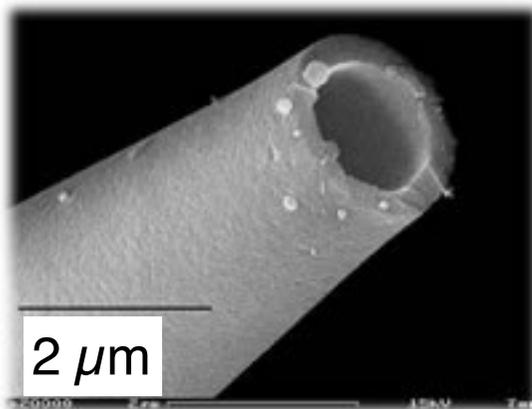
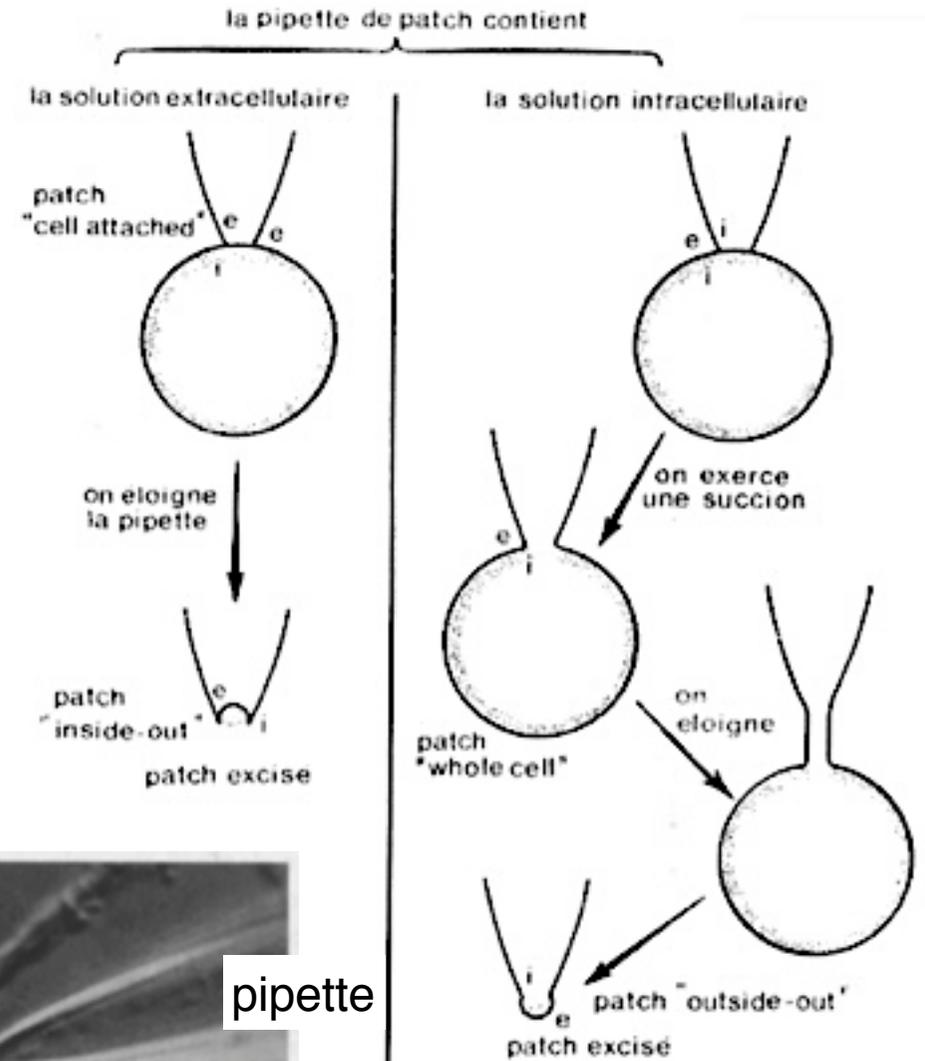


Le patch-clamp

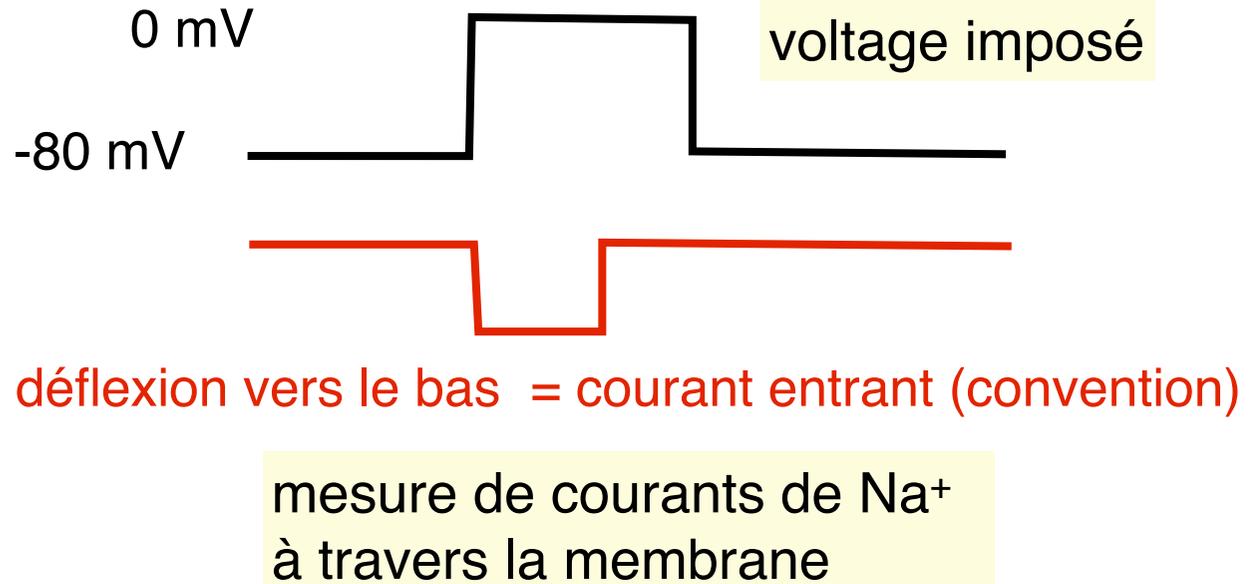
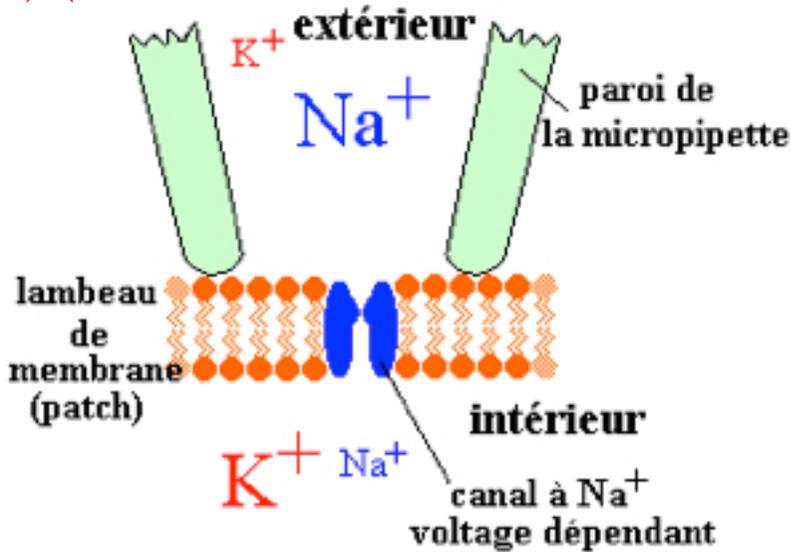


Le patch-clamp associe plusieurs éléments :

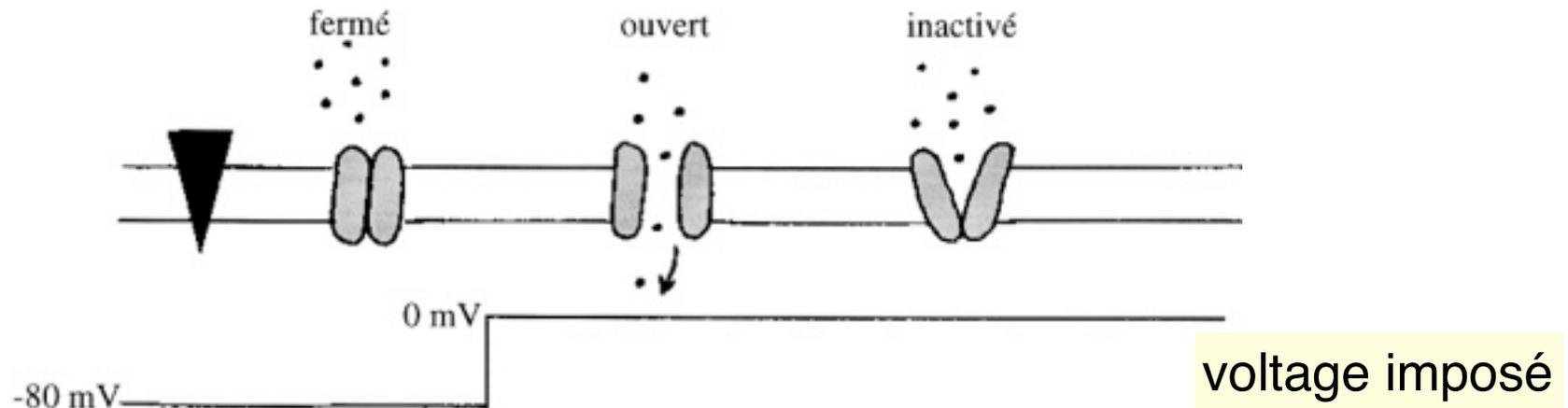
- une électrode qui mesure les courants de charge donc le passage des ions ;
- une électrode qui peut imposer un champ électrique à la membrane ;
- un milieu extracellulaire et un milieu intracellulaire qui peuvent être contrôlés.



Étude par patch-clamp : les 3 états du canal



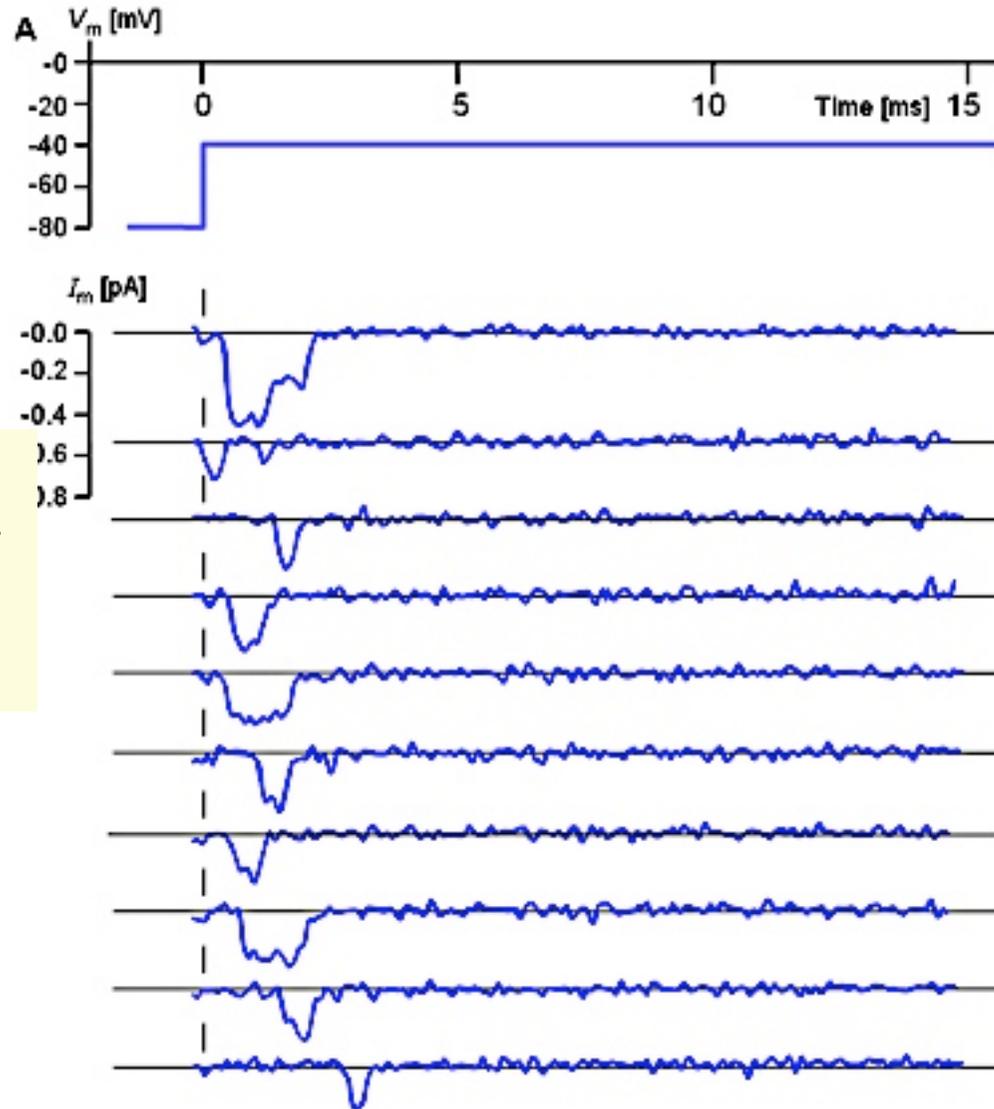
INTERPRÉTATION



Résultats obtenus par patch-clamp



Réponses d'un canal à Na^+ de cellule musculaire de langue de souris

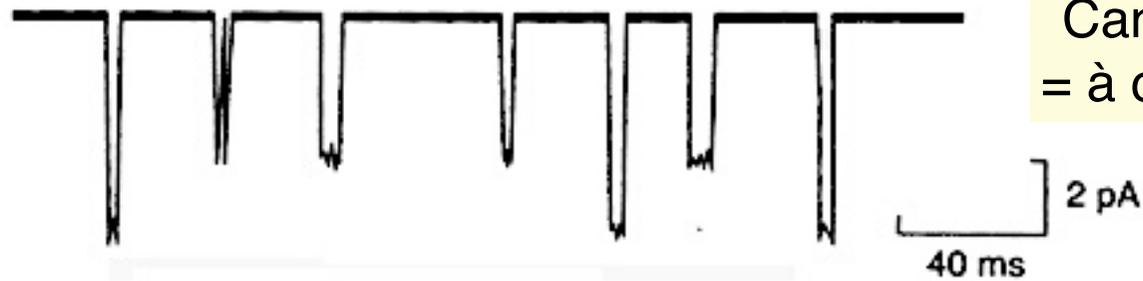


voltage imposé

mesures de courants de Na^+ à travers la membrane

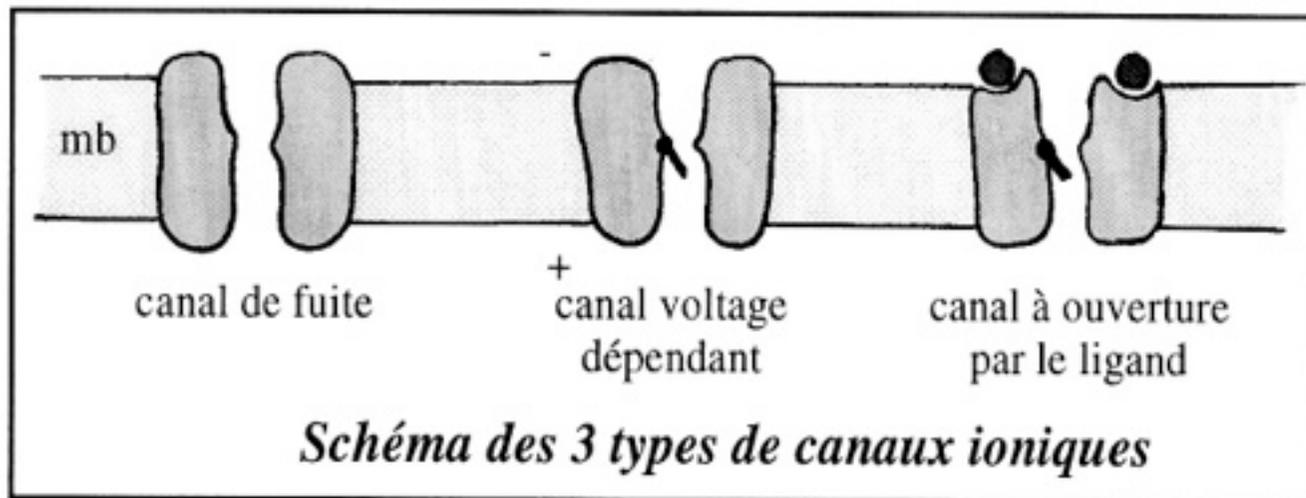
L'ouverture est aléatoire : sa durée et son occurrence varient

Canaux ioniques



Canal chimio-dépendant
= à ouverture par le ligand

Mesures de patch-clamp d'un canal à cation réglé par l'acétylcholine dans un muscle de jeune rat



+ cas des canaux mécano-dépendants

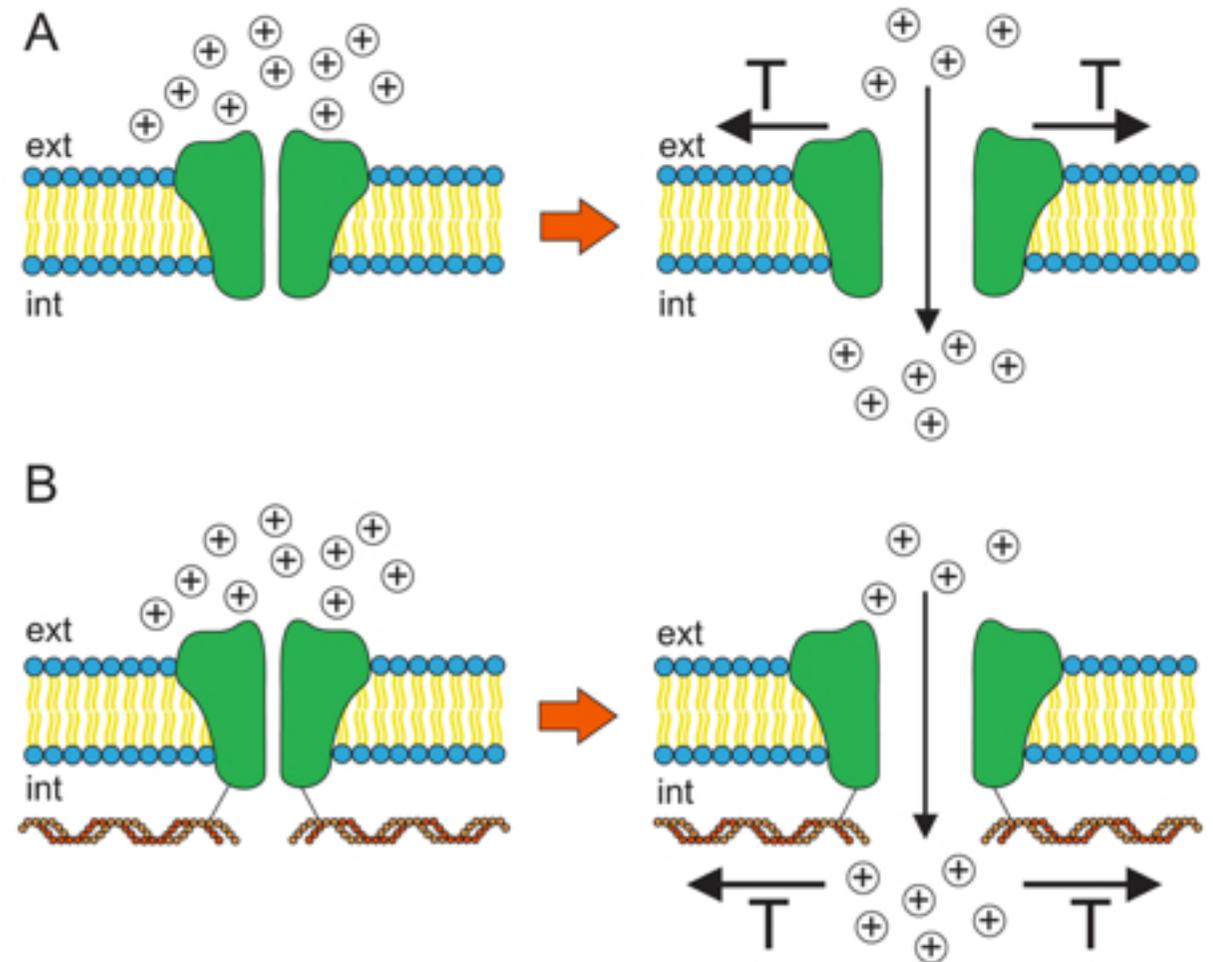
Les canaux ouverts par une force mécanique



L'étirement de la cellule ouvre un canal ionique, laissant passer des ions.

Cet étirement se fait :

- directement (A)
- ou par l'intermédiaire du cytosquelette (B) ou de la matrice extra-cellulaire



exemples :

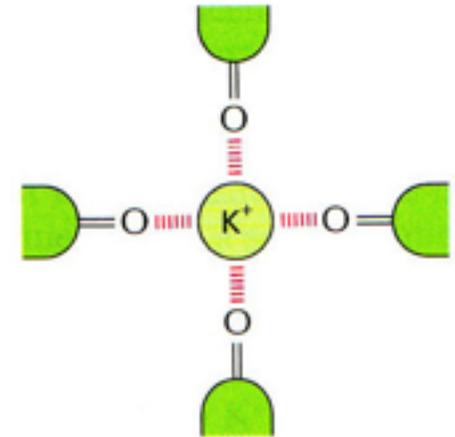
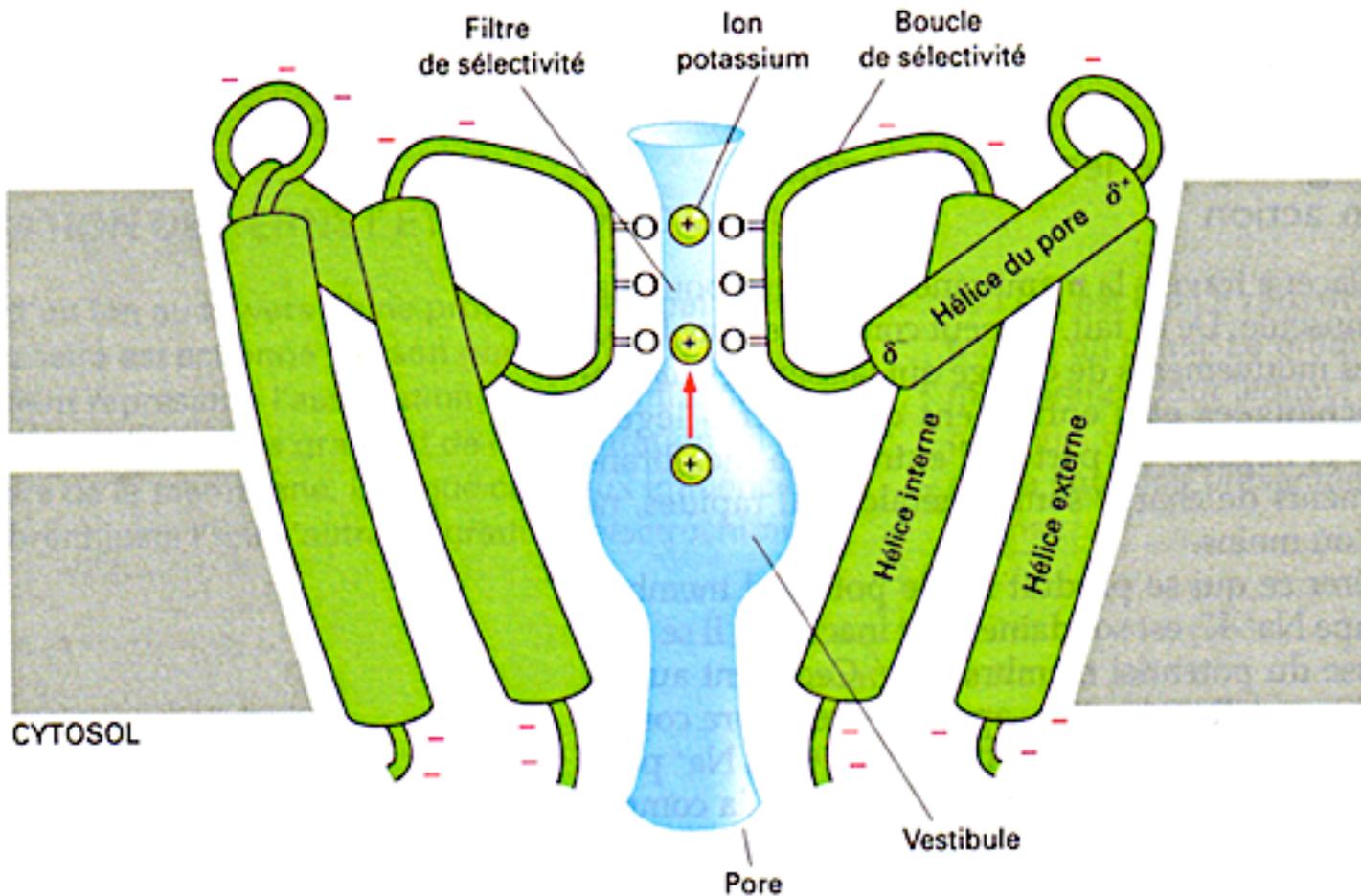
- canaux à Ca^{2+} ouverts par la force de gravité (perception de la pesanteur par les racines végétales) ;
- canaux à Na^{+} sensibles à l'étirement musculaire (proprioception)
- barorécepteurs (proprioception)

Le filtre de sélectivité des canaux ioniques

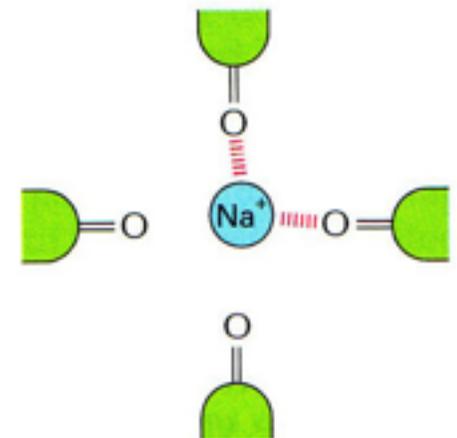


Canal à K^+

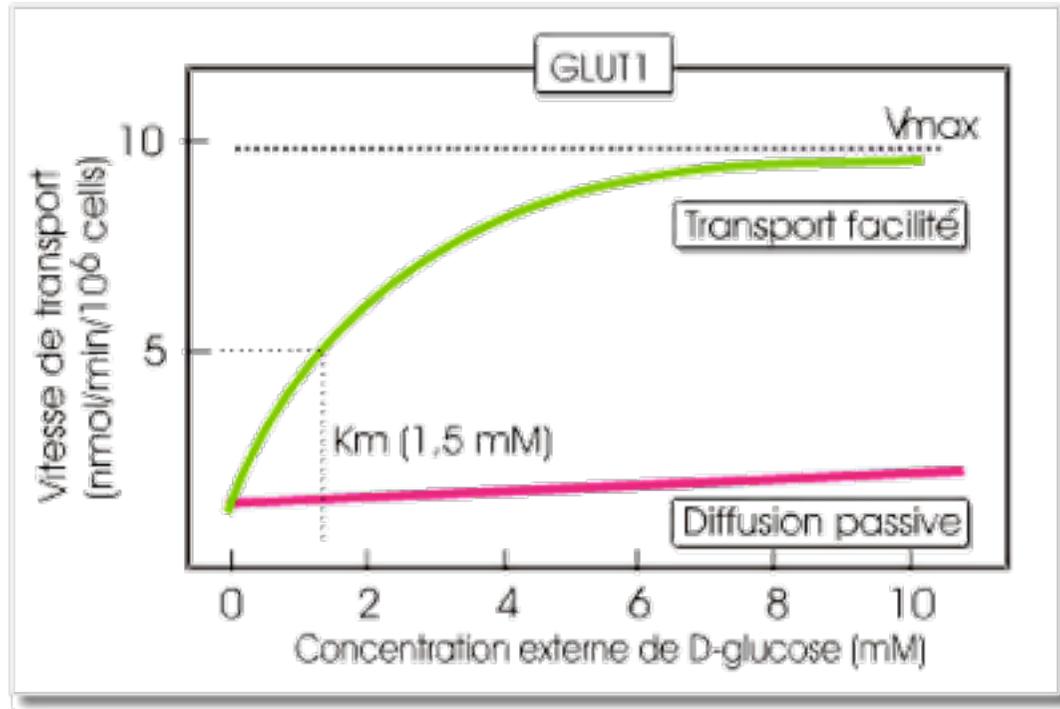
dans le filtre de sélectivité



L'ion se débarrasse de toutes les molécules d'eau qui l'entourent pour interagir avec les résidus du filtre

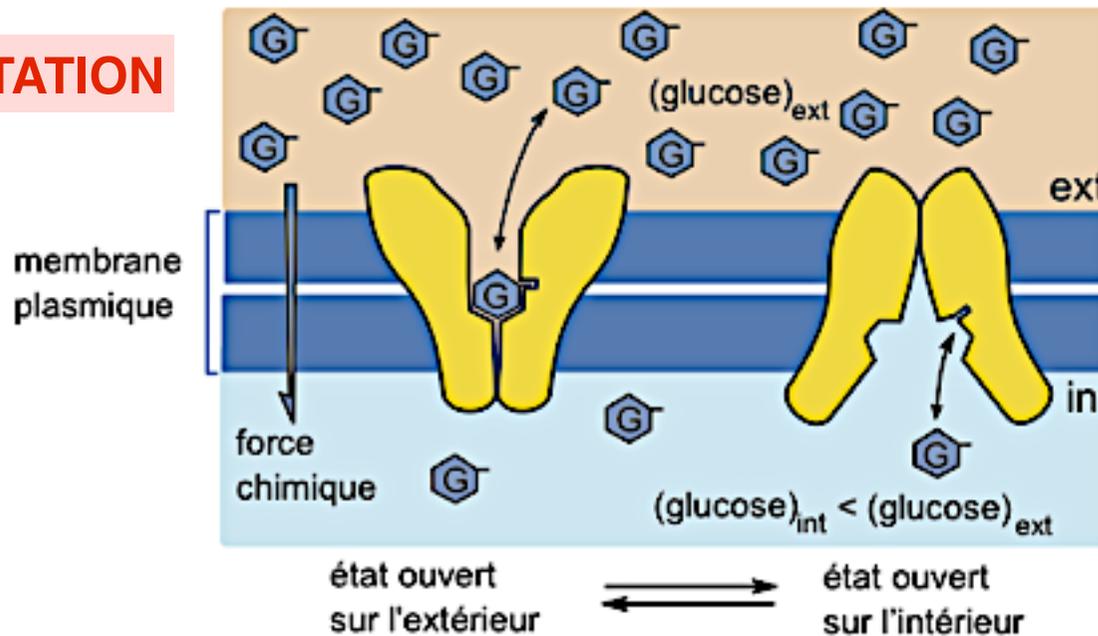


Le transport facilité : les perméases



ulyse.u-bordeaux.fr

INTERPRÉTATION



«J'intègre» Dunod

Concentrations ioniques cellulaires



concentration en mM	intracellulaire	extracellulaire
Na ⁺	10	140
K ⁺	140	5
Ca ²⁺	10 ⁻³	5
Cl ⁻	4	110

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = \mu_e - \mu_i = R.T.\ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right) - z.F.d\phi$$

Force ion-motrice pour une cellule de potentiel membranaire - 60 mV ?

Na⁺ $\Delta G'_{i \rightarrow e} = + 12,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$ donc **entrée spontanée**

K⁺ $\Delta G'_{i \rightarrow e} = - 2,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ donc **sortie spontanée** (proche de 0)

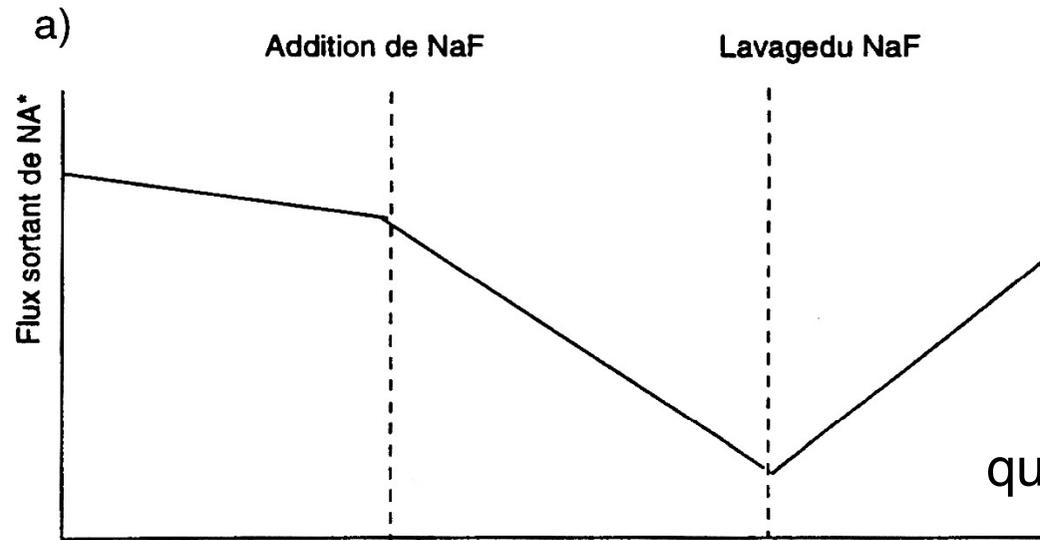
Ca²⁺ $\Delta G'_{i \rightarrow e} = + 32 \text{ kJ.mol}^{-1}$ donc **entrée très spontanée**

Cl⁻ $\Delta G'_{i \rightarrow e} = + 2,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$ donc **entrée spontanée** (proche de 0)

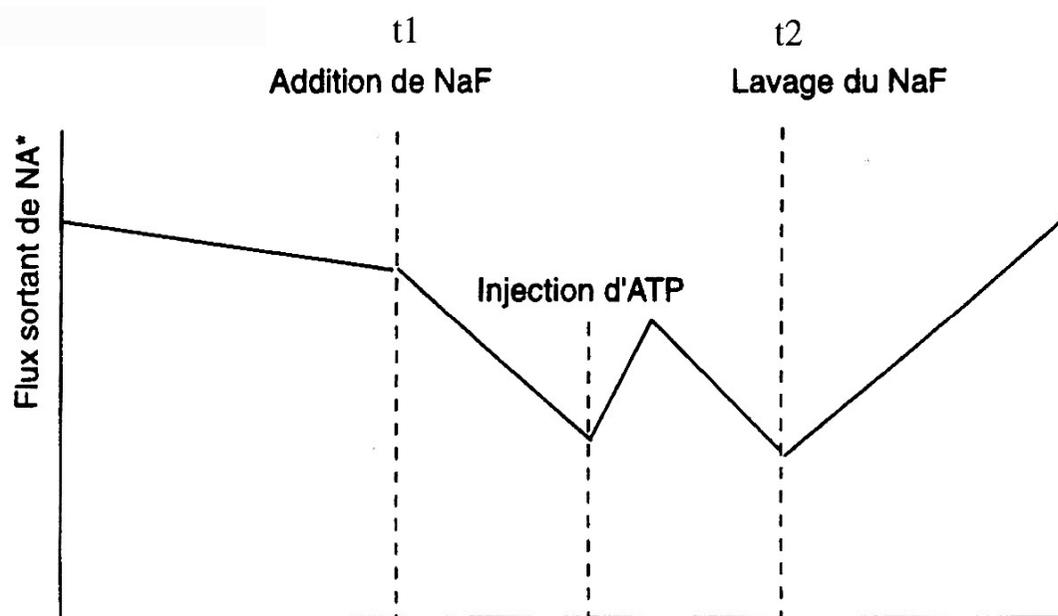
Étude expérimentale de transports actifs



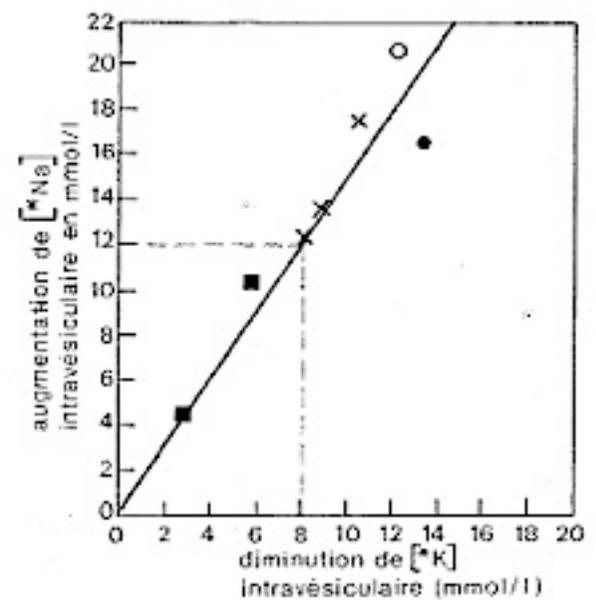
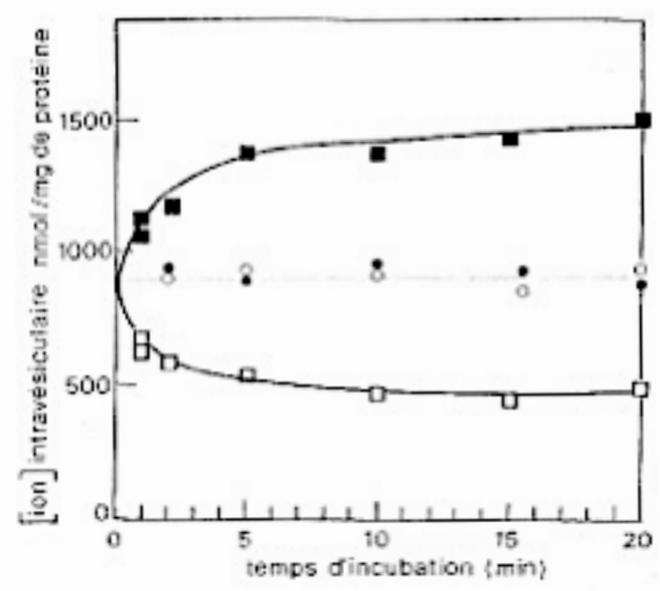
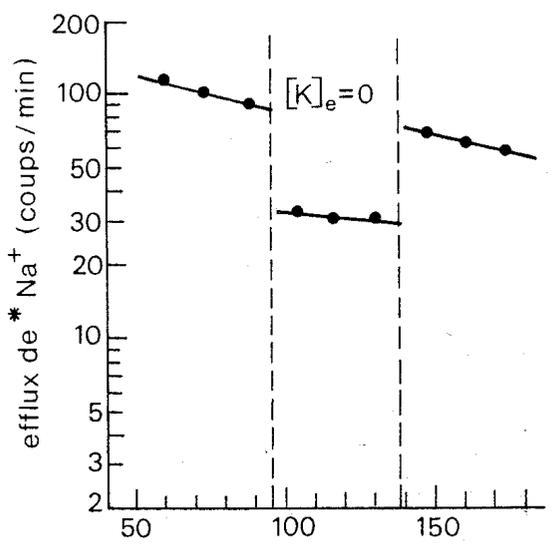
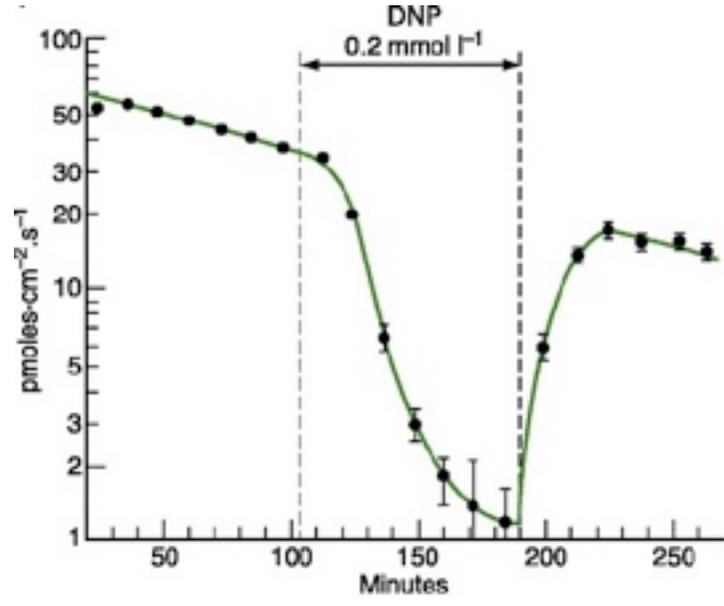
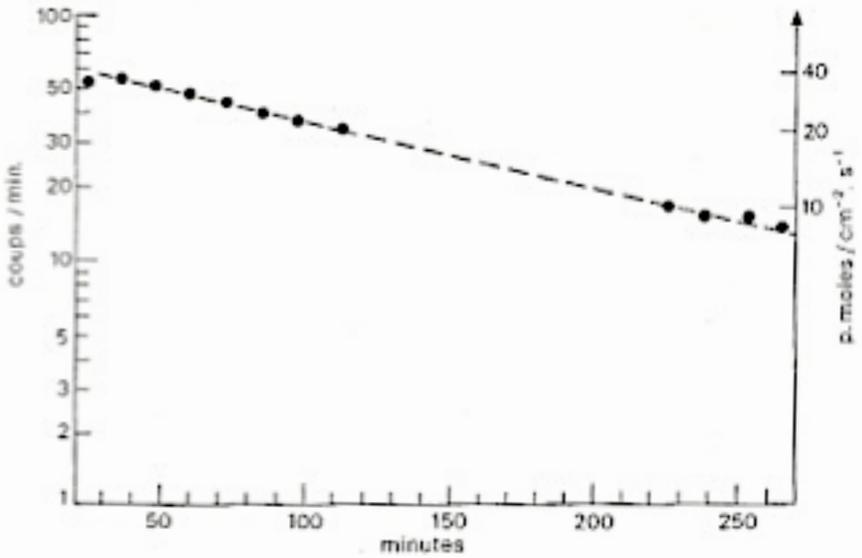
hématies chargées en Na^+ radioactif puis placées en plasma froid



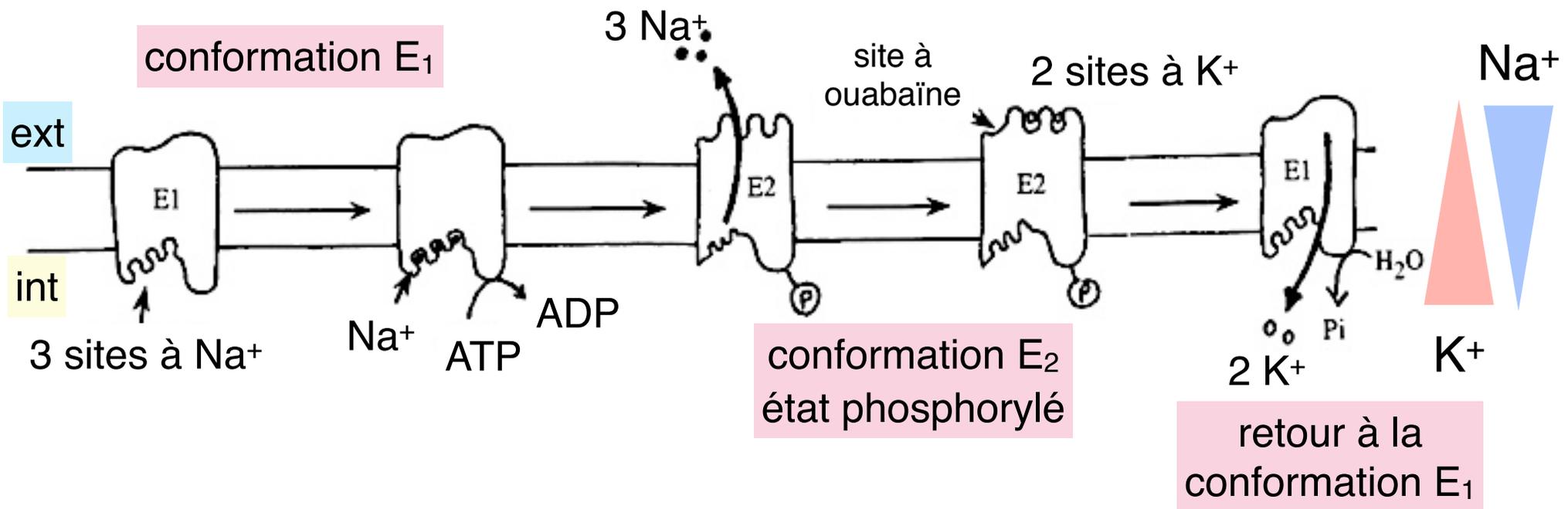
NaF poison métabolique
qui bloque la synthèse d'ATP



Exercice intégré : la pompe Na⁺/K⁺/ATPase



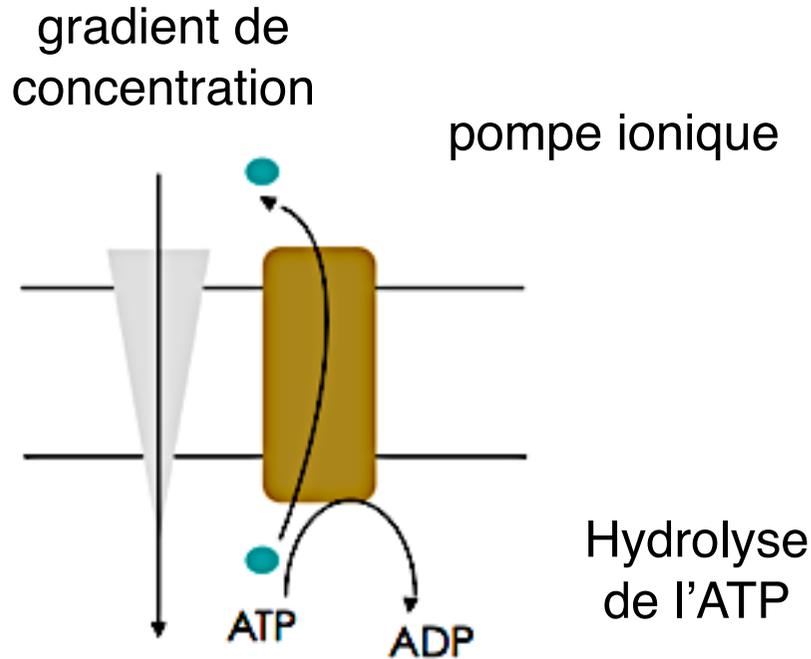
La pompe Na⁺/K⁺/ATPase



Un échange de 3 Na⁺ contre 2 K⁺, tous deux contre le gradient.

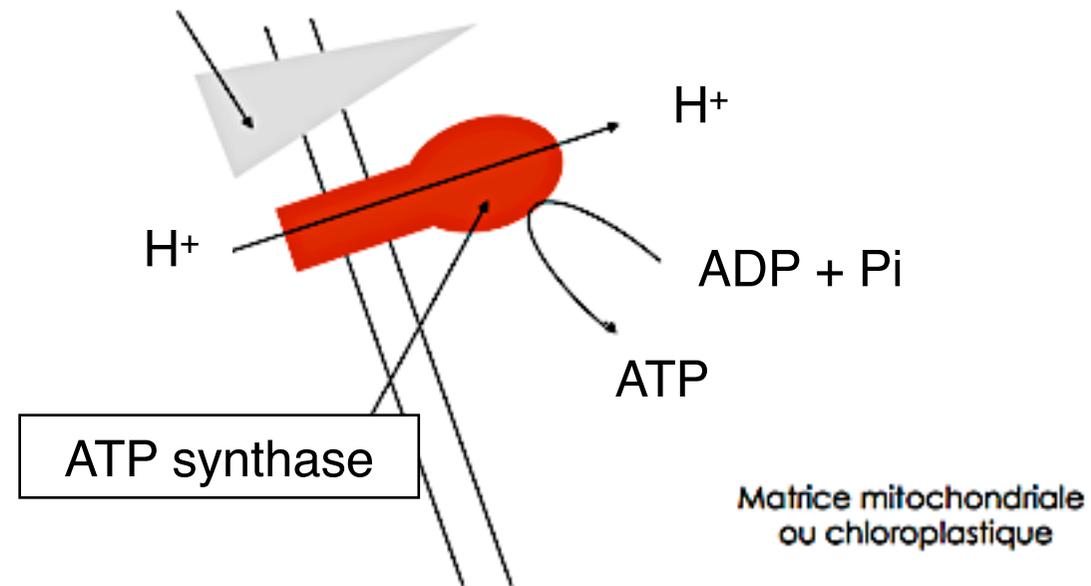
Les transports actifs primaires

★ Transport actif primaire



La pompe utilise de l'énergie pour transporter la molécule contre son gradient

gradient électrochimique de protons



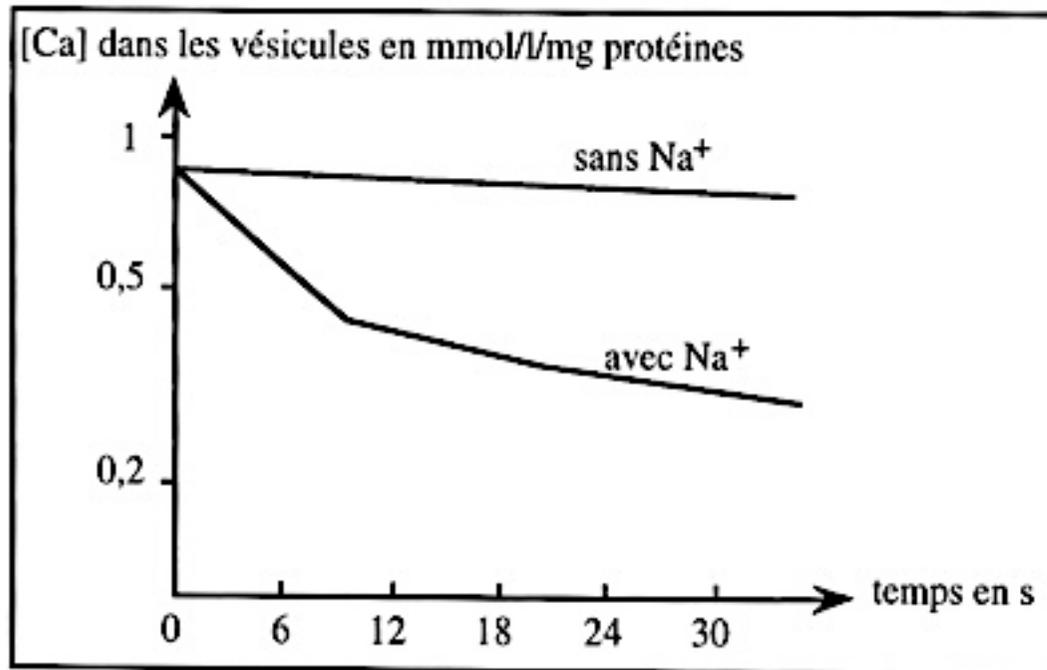
À l'inverse, on peut utiliser le passage d'une substance dans le sens de son gradient pour en tirer de l'énergie

Le transport actif secondaire



expérience

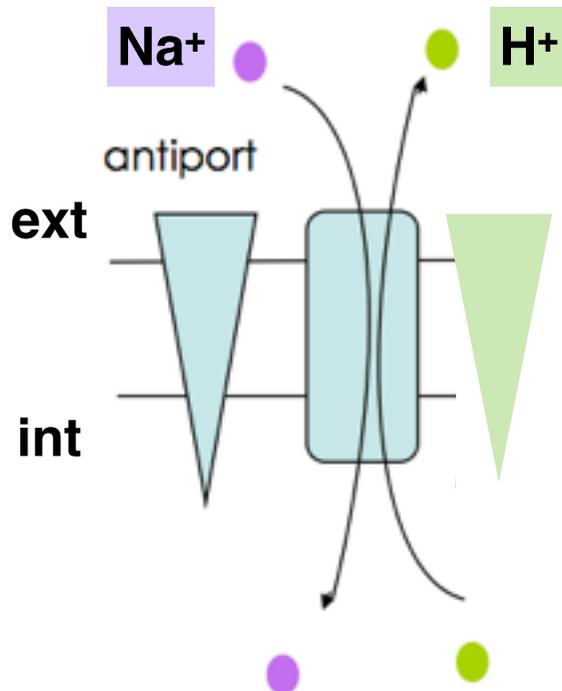
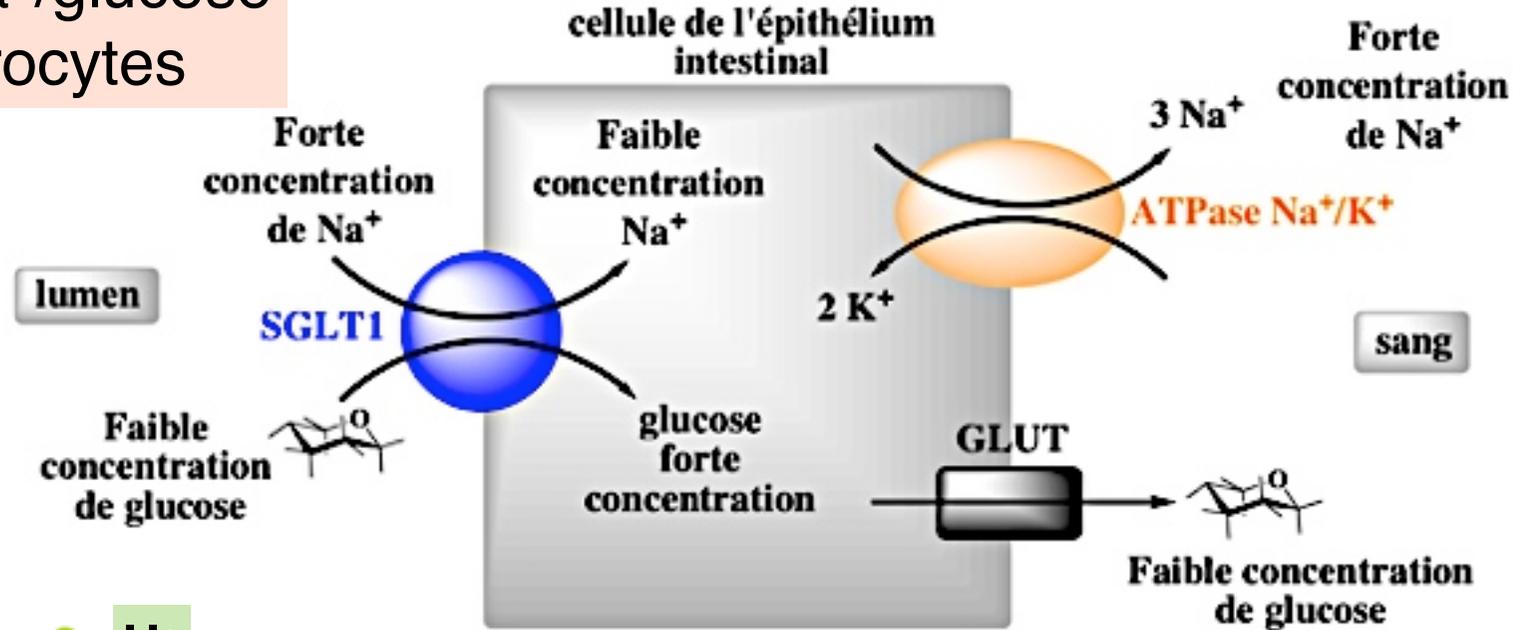
pendant 10s, on charge des vésicules issues de membranes synaptiques de neurones avec du $^{45}\text{Ca}^{2+}$. Dans un milieu froid contenant ou non du sodium, on mesure la quantité de calcium dans les vésicules au cours du temps.



Étude du transporteur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

Symport et antiport

Symport Na^+ /glucose des entérocytes



Antiport Na^+/H^+ permettant de réguler le pH intracellulaire

Bilan



Perméabilité très contrôlée, surtout pour les substances polaires

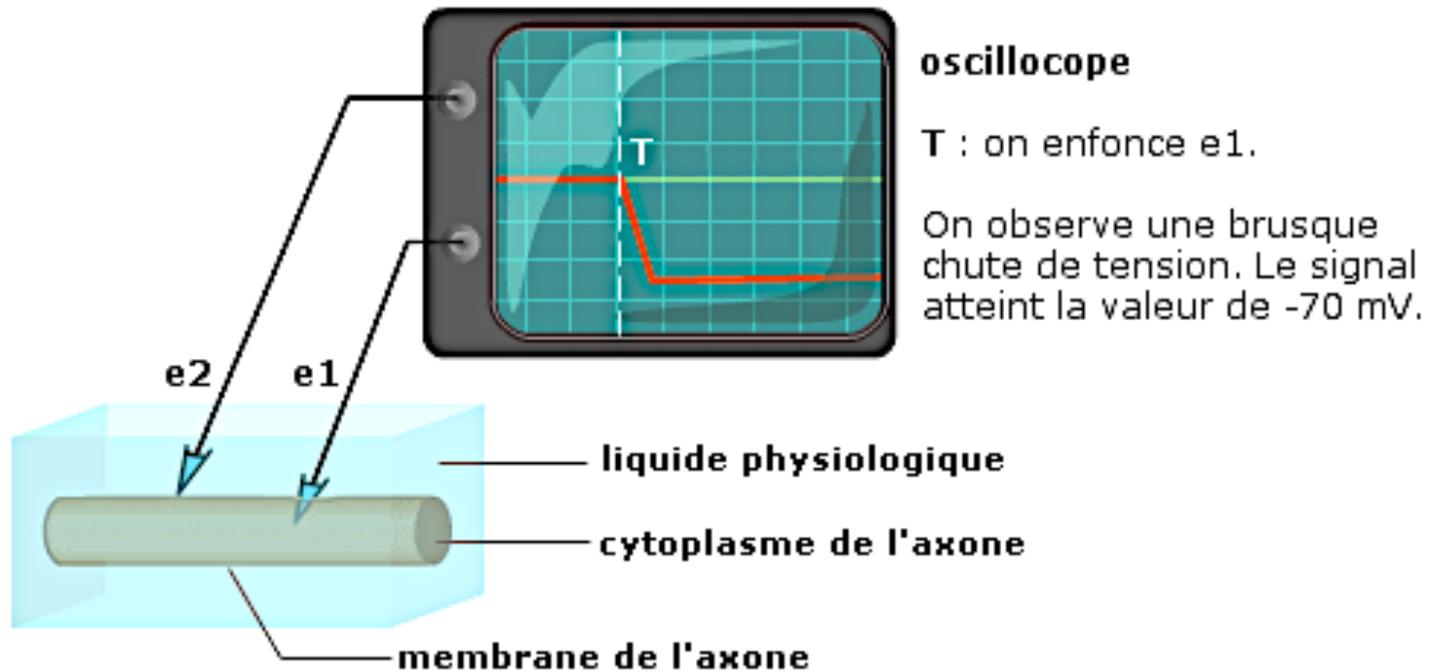
Les transports sont régis par :

- le gradient de concentration pour toute substance**
- la composante électrique si la molécule est chargée**

Un transport spontané est source d'énergie potentielle.

2. La membrane et les ions : le potentiel électrique et ses conséquences

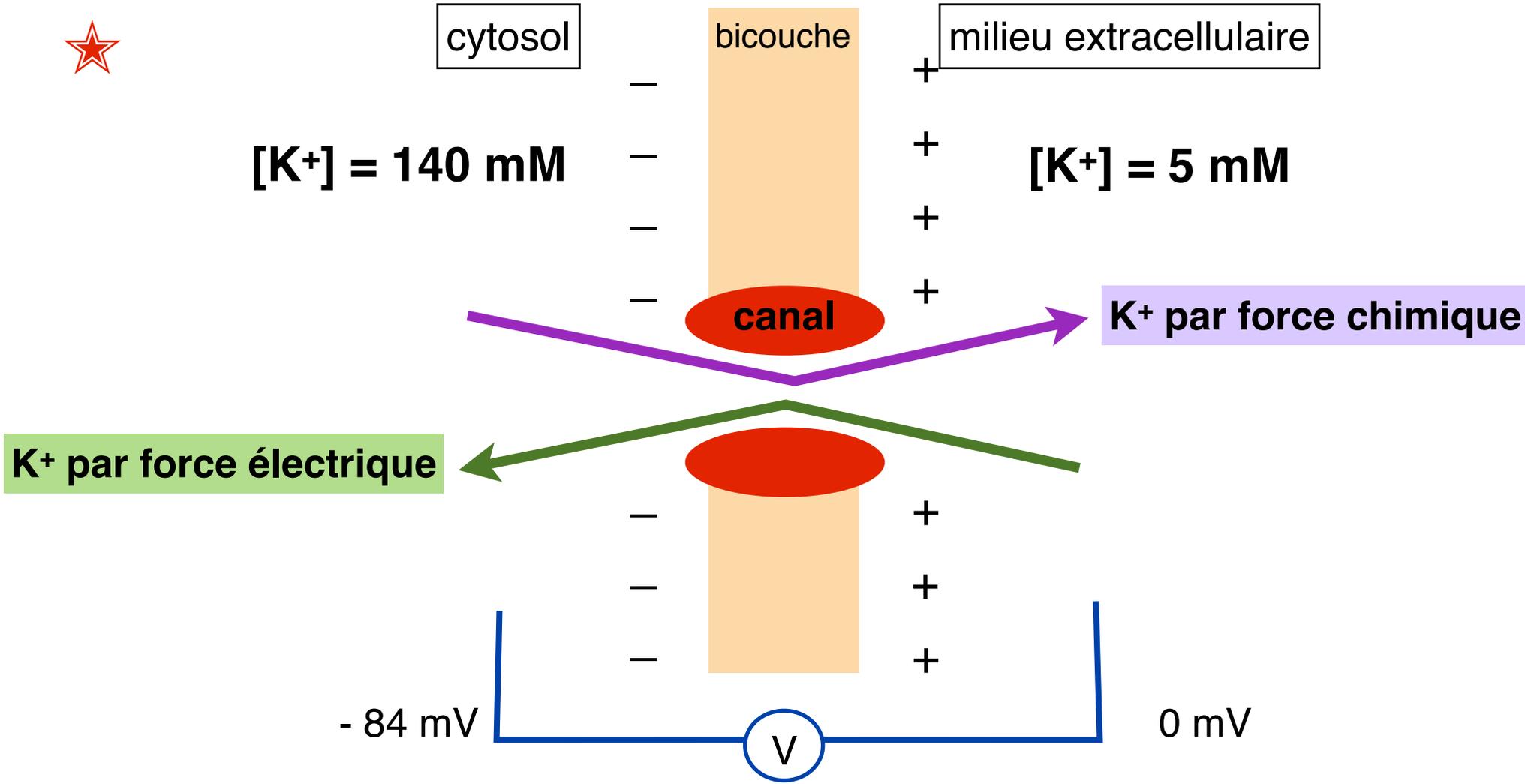
Le potentiel de repos



Enregistrement du potentiel de repos d'une fibre nerveuse

$$\text{Potentiel de repos} = E_i - E_e = \text{ddp} = -70 \text{ mV}$$

Potentiel d'équilibre



Potentiel d'équilibre de K⁺ = - 84 mV

Le potentiel d'équilibre

$$\Delta G'_{i \rightarrow e} = \mu_e - \mu_i = R.T.\ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right) + z.F.(E_e - E_i)$$

à l'équilibre, $\Delta G'_{i \rightarrow e} = 0$

avec une électrode, on mesure une ddp = $(E_i - E_e)$

$$\text{donc } 0 = R.T.\ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right) - z.F.\text{ddp}$$

d'où potentiel d'équilibre de l'ion x = $(E_i - E_e) = E_x = \frac{R.T.}{z.F.} \ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right)$

Pour un cation : avec $E_m = \text{ddp membranaire}$
si $E_m - E_x > 0$ alors l'ion sort de la cellule
si $E_m - E_x < 0$ alors l'ion entre dans la cellule

Potentiel d'équilibre des principaux ions

Calculez le potentiel d'équilibre des ions suivants :

concentration en mM	intracellulaire	extracellulaire	Potentiel d'équilibre
Na ⁺	10	140	
K ⁺	140	5	
Ca ²⁺	10 ⁻³	5	
Cl ⁻	14	147	

Quel(s) ion(s) est le plus proche de son équilibre dans une cellule de potentiel de repose - 70 mV ?

Potentiel d'équilibre des principaux ions

Calculez le potentiel d'équilibre des ions suivants :

$$\text{potentiel d'équilibre de l'ion} = \frac{R.T.}{z.F} \ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right) = \frac{8,31 \times 298}{z \times 96\,500} \times \ln\left(\frac{C_e}{C_i}\right)$$

concentration en mM	intracellulaire	extracellulaire	Potentiel d'équilibre
Na ⁺	10	140	+ 67,7 mV
K ⁺	140	5	- 85,5 mV
Ca ²⁺	10 ⁻³	5	+ 109 mV
Cl ⁻	14	147	- 60,3 mV

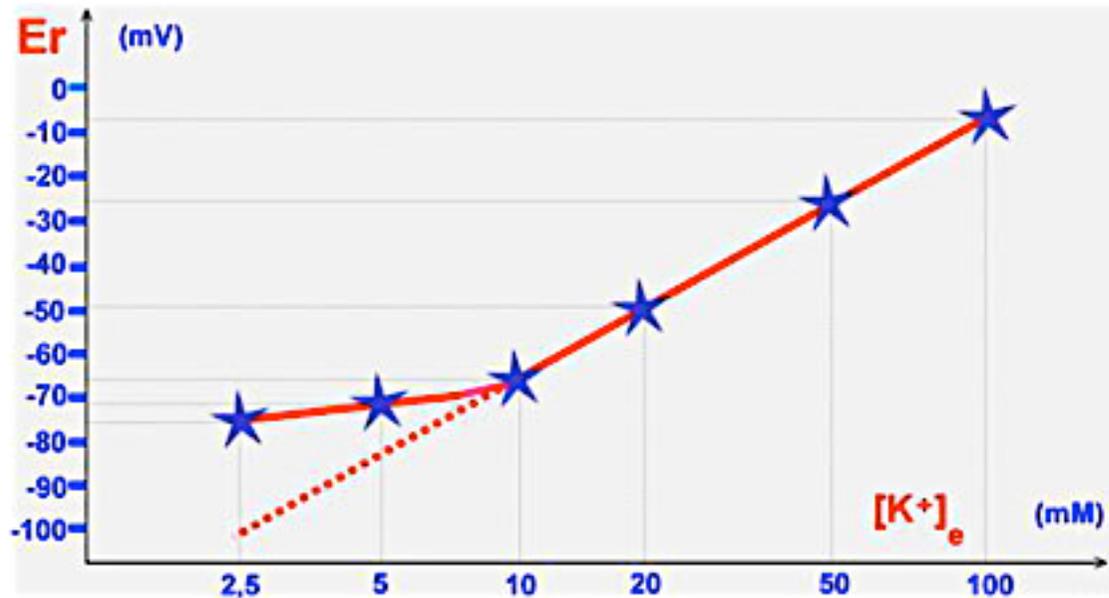
Quel(s) ion(s) est le plus proche de son équilibre dans une cellule de potentiel de repos - 70 mV ?

K⁺ et Cl⁻

Origine du potentiel de repos

En 1902, Bernstein mesure le potentiel d'une membrane en faisant varier la concentration extérieure d'un ion tout en maintenant les autres ions à concentration constante.

Potentiel de membrane en faisant varier $[K^+]_e$



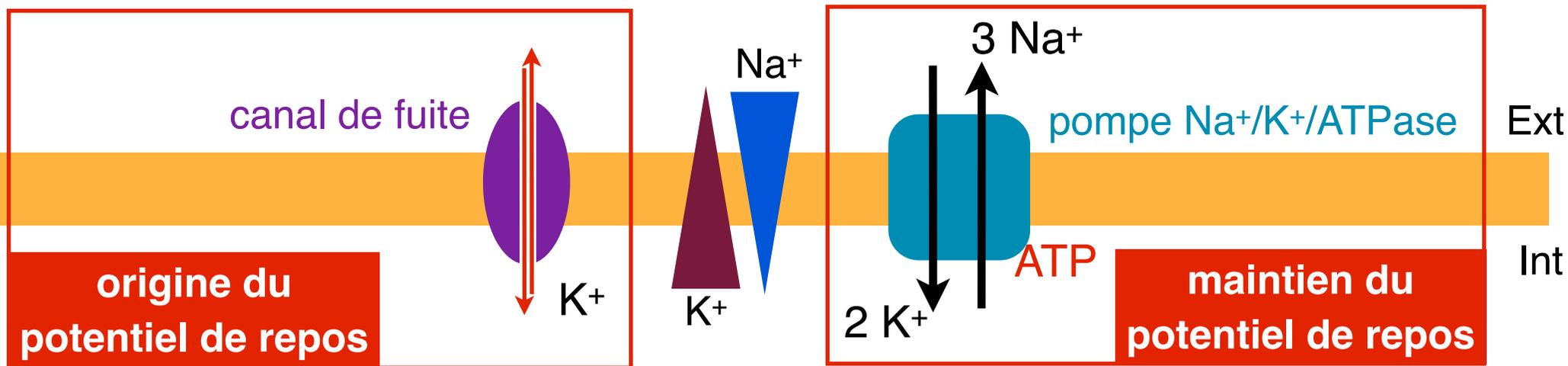
Le potentiel de membrane en faisant varier $[Ca^{2+}]_e$, $[Na^+]_e$ ou $[Cl^-]_e$ reste stable aux environs de - 70 mV

Mesure de conductance

La membrane plasmique est 5 fois plus perméable à K^+ qu'aux autres ions.

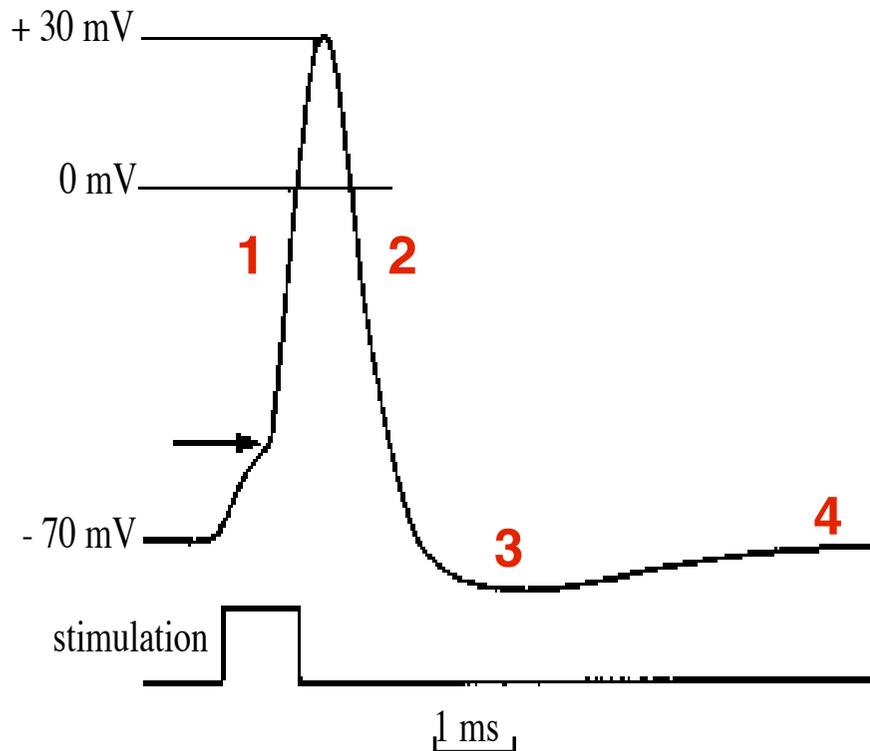
Le potentiel de repos : bilan

La membrane plasmique est 5 fois plus perméable à K^+ qu'aux autres ions donc le K^+ peut se répartir presque librement et atteindre quasiment son potentiel d'équilibre.



Le maintien à long terme du potentiel de repos nécessite des concentrations ioniques stables dans le temps : cela met en jeu la pompe $Na^+/K^+/ATPase$ (mais le rôle principal de cette pompe est le maintien du volume de la cellule par régulation osmotique du cytosol).

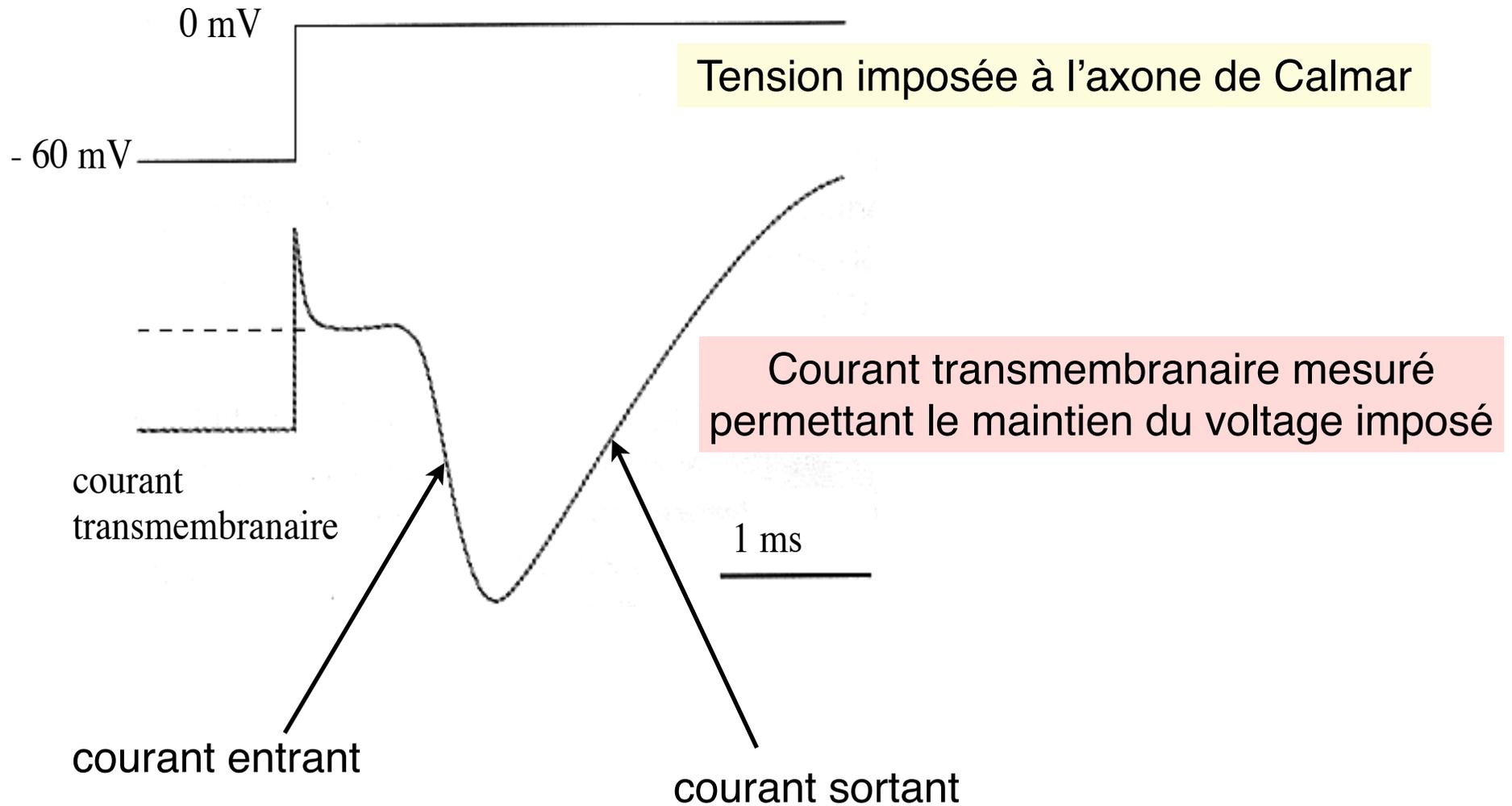
Le potentiel d'action : enregistrement



- 1 : dépolarisation (< 1 ms)**
- 2 : repolarisation (1 à 2 ms)**
- 3 : hyperpolarisation (3-4 ms)**
- 4 : potentiel de repos**

Enregistrement de la tension membranaire V_m en fonction du temps en réponse à une stimulation électrique

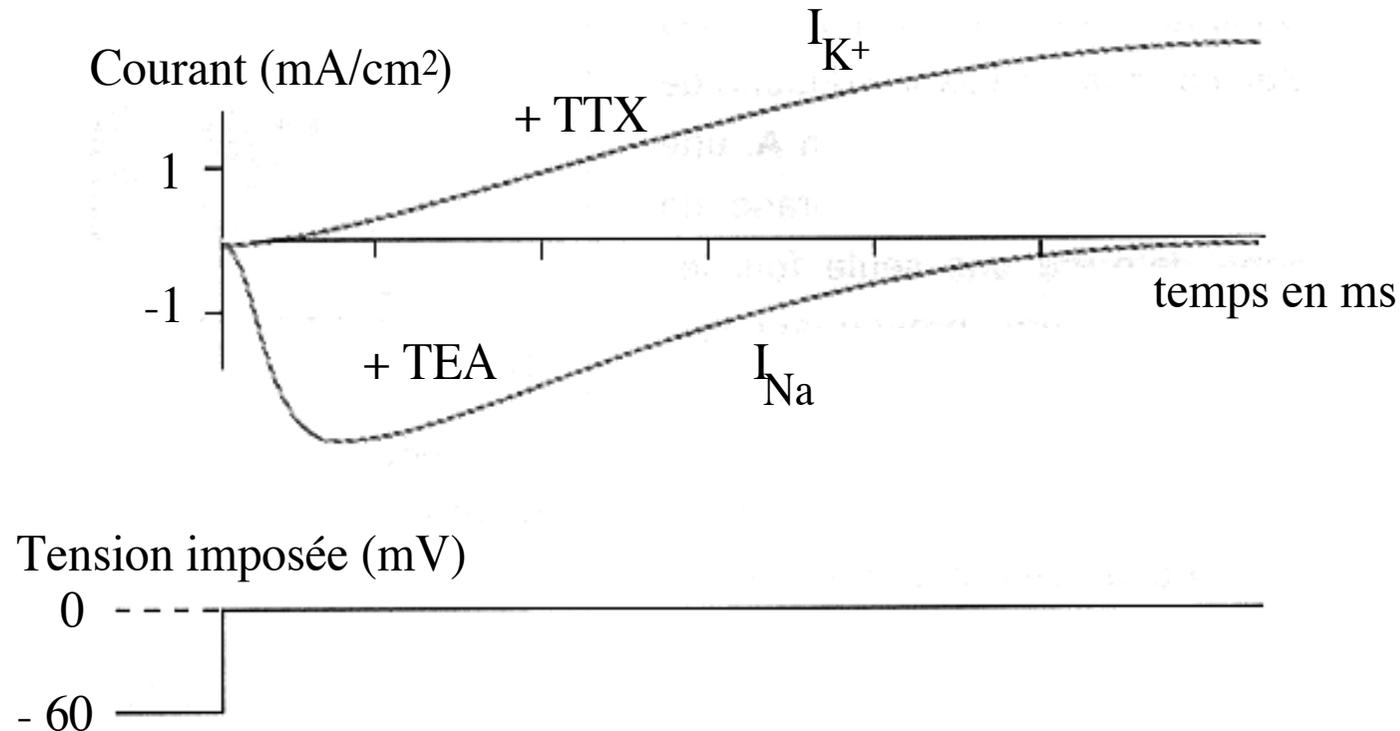
Étude du PA par voltage imposé



Identification des courants



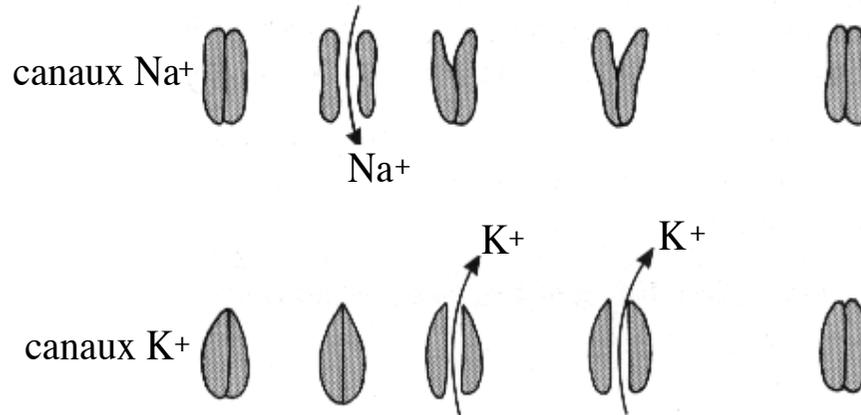
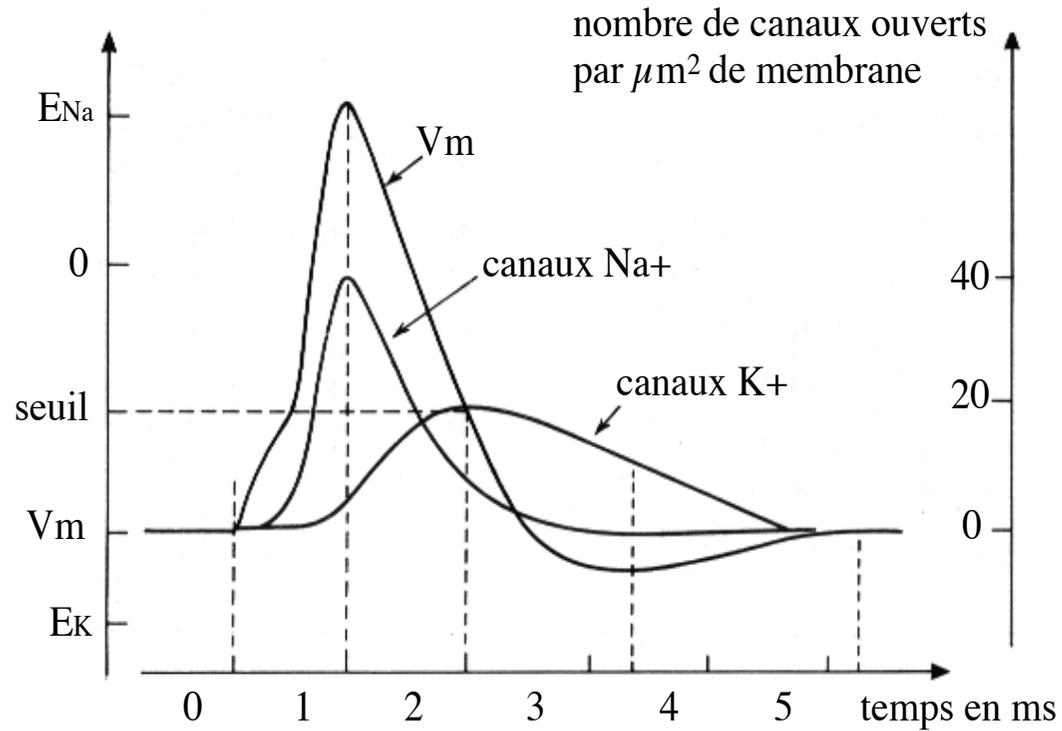
Voltage imposé en présence de poisons spécifiques



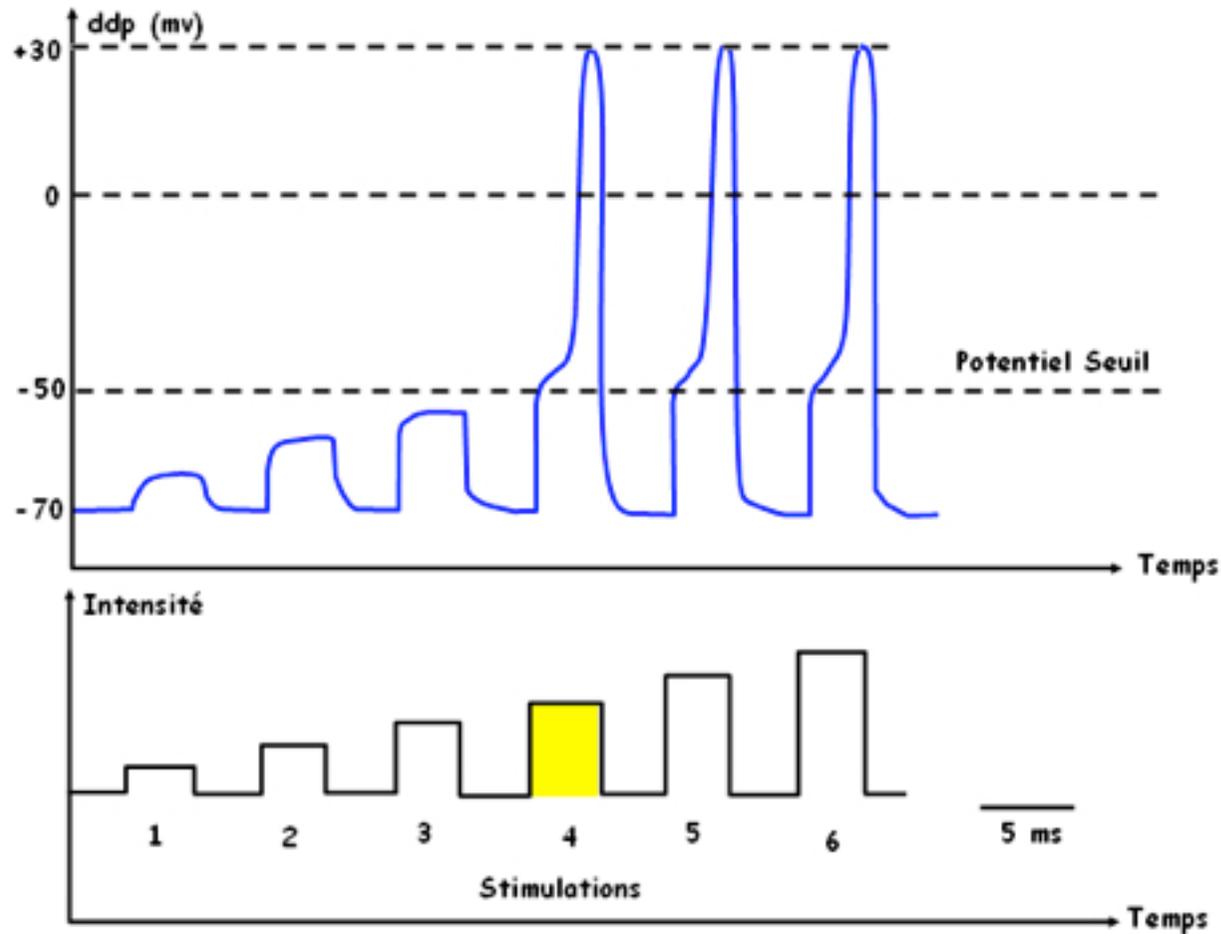
TTX = tétrodotoxine : poison bloquant spécifiquement les canaux à Na^+ voltage dépendants.

TEA = tétra-éthyl-ammonium : poison bloquant spécifiquement les canaux à K^+ voltage-dépendants.

Interprétation du potentiel d'action



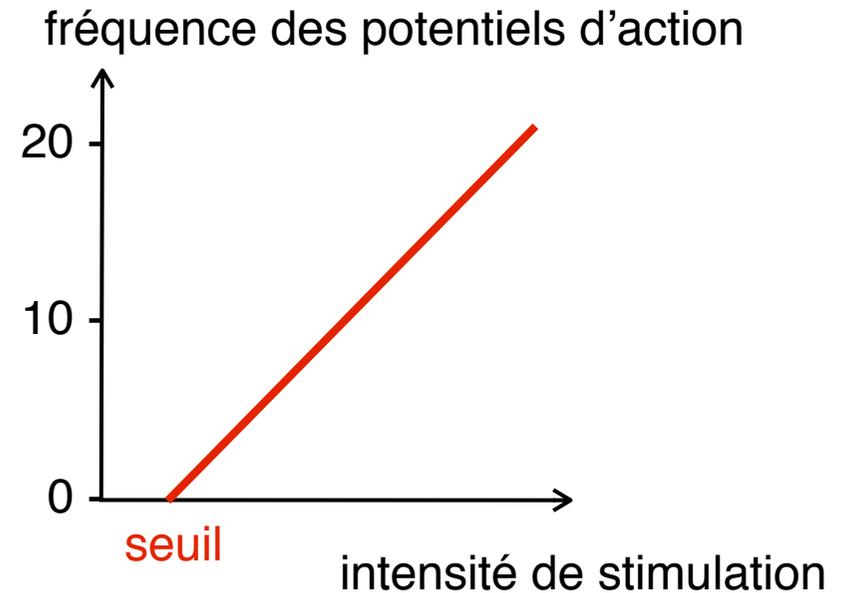
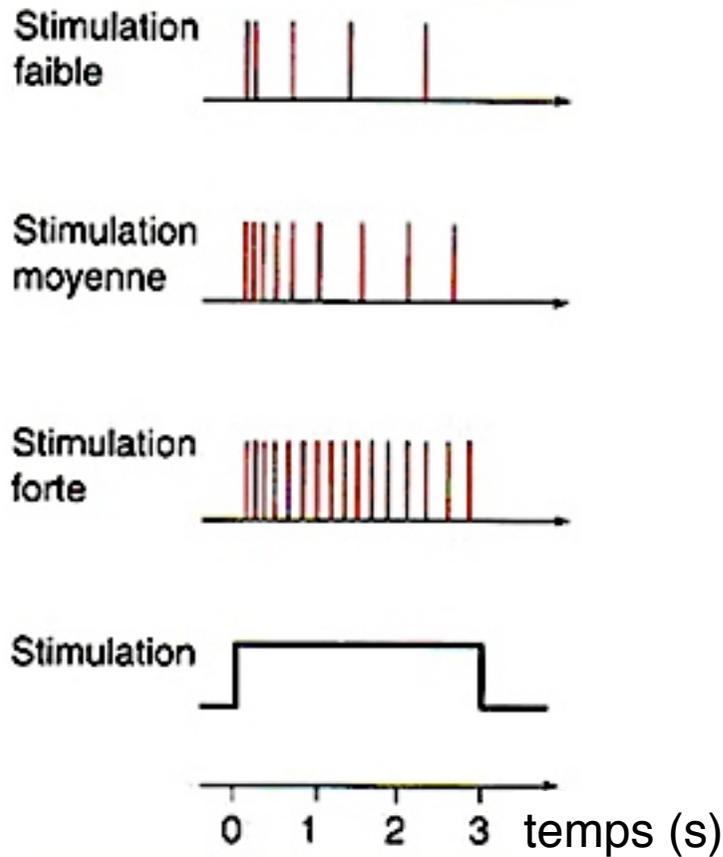
Loi du tout ou rien



svt.ghediri.com

Dans un axone, le PA est unique.
Dans un nerf (= groupement de nombreux axones), l'amplitude totale peut varier selon le nombre de fibres véhiculant un PA.

Le potentiel d'action, unité du message nerveux

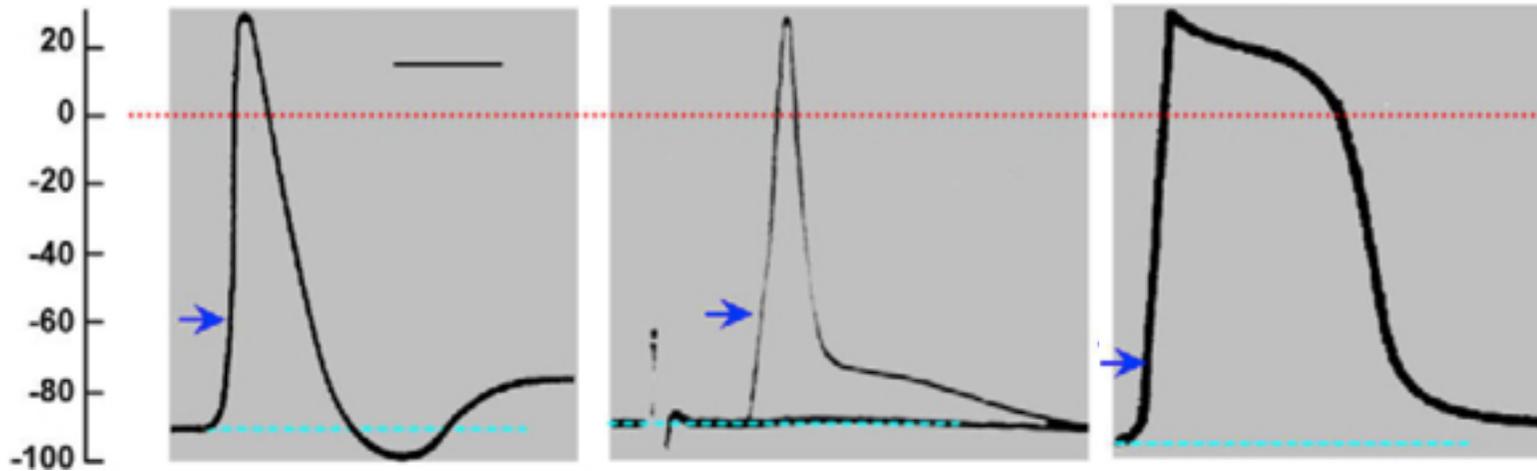


Le message nerveux est codé en fréquence des potentiels d'action

Plusieurs types de PA



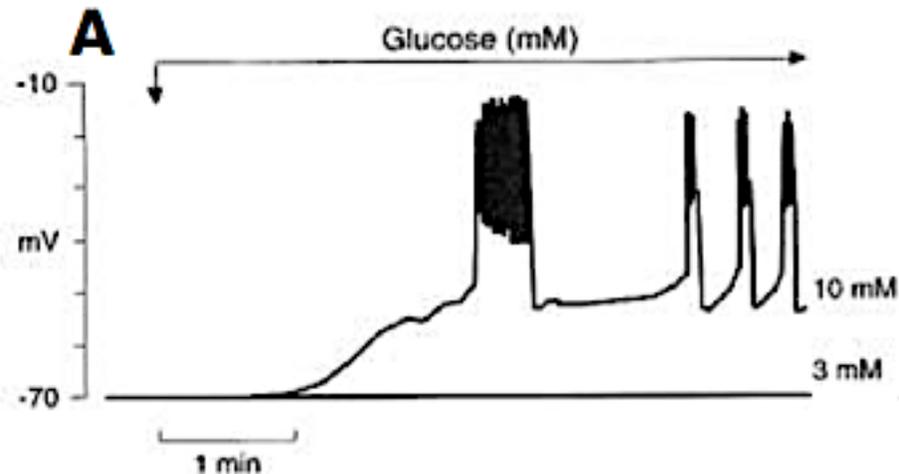
Cellules excitables seulement



Cellule nerveuse

Cellule musculaire
squelettique

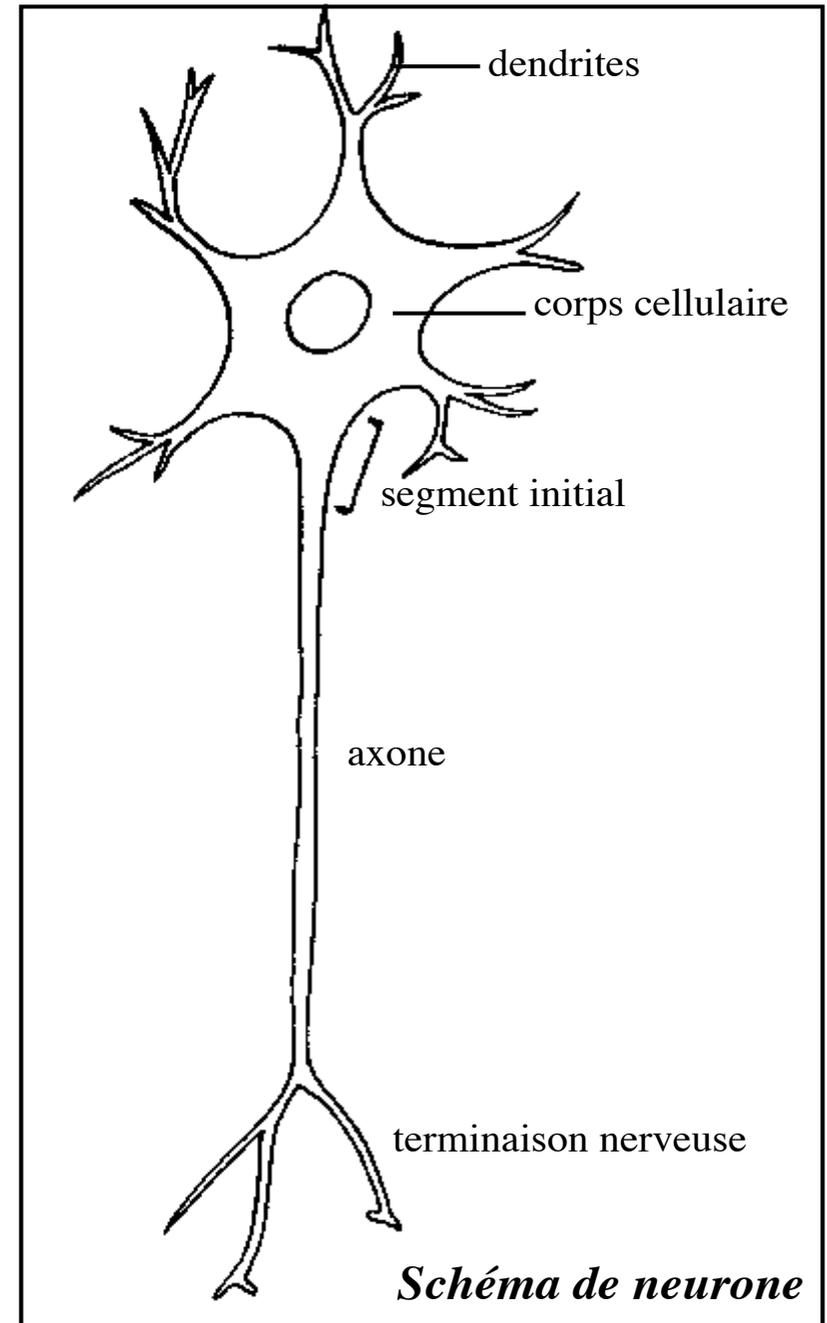
Cellule musculaire
cardiaque



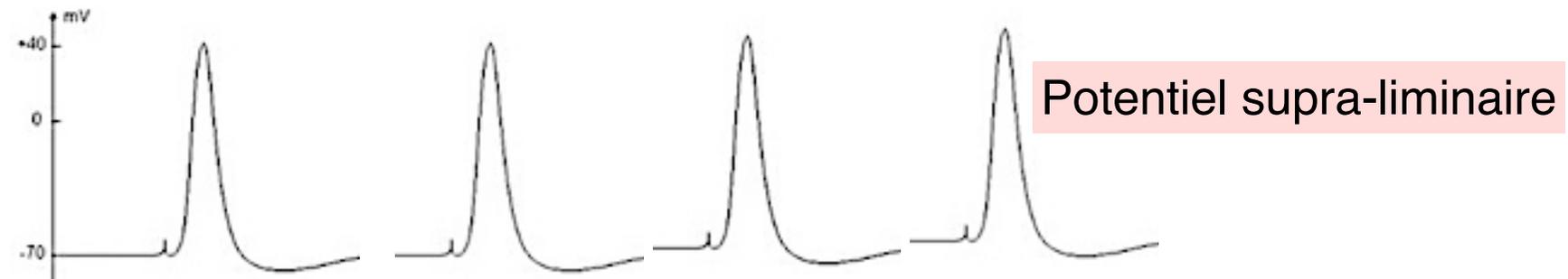
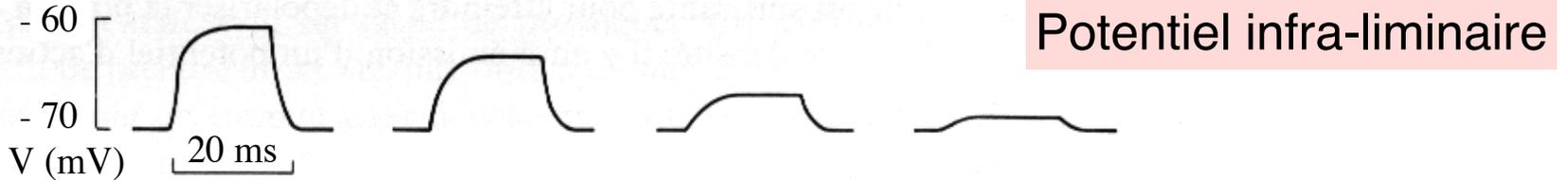
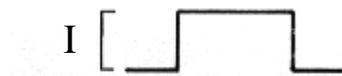
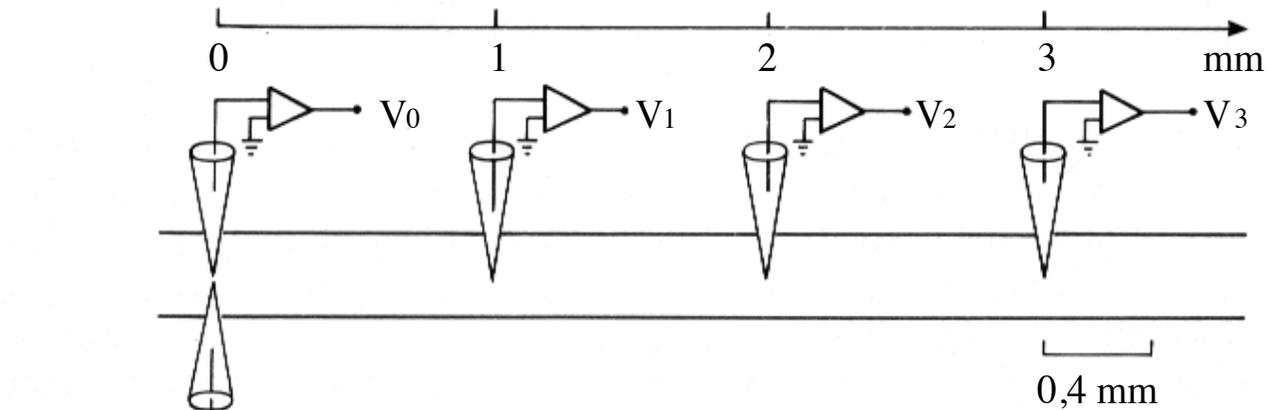
Cellules endocrines

(ici, variation du potentiel de membrane en fonction de la glycémie dans les cellules produisant et sécrétant l'insuline).

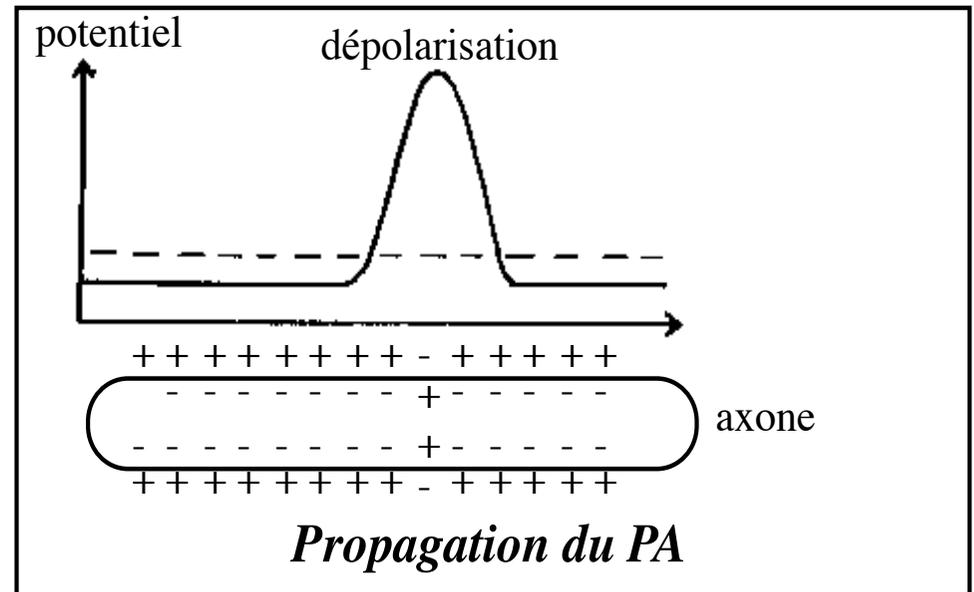
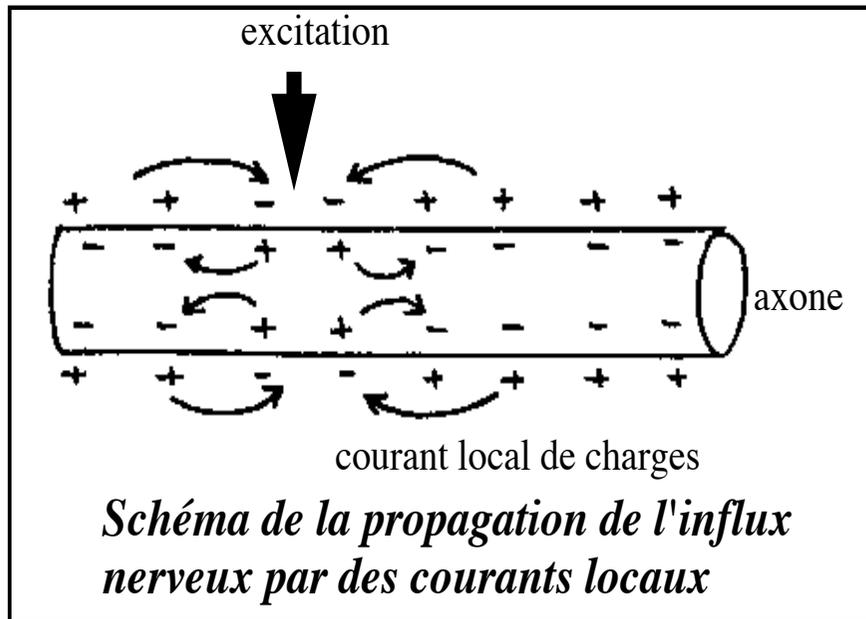
Le neurone, une cellule spécialisée



Étude de la propagation d'un potentiel

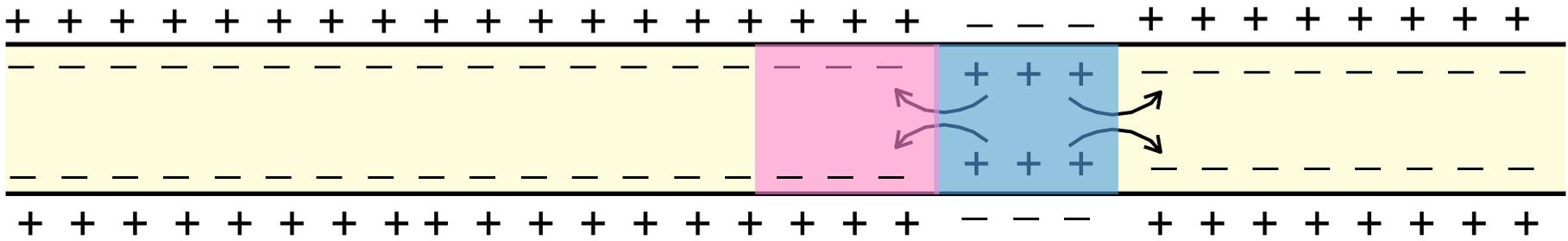
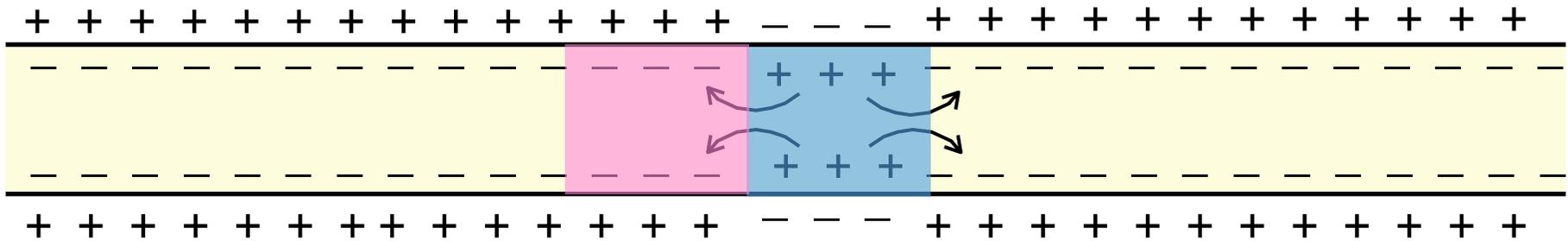
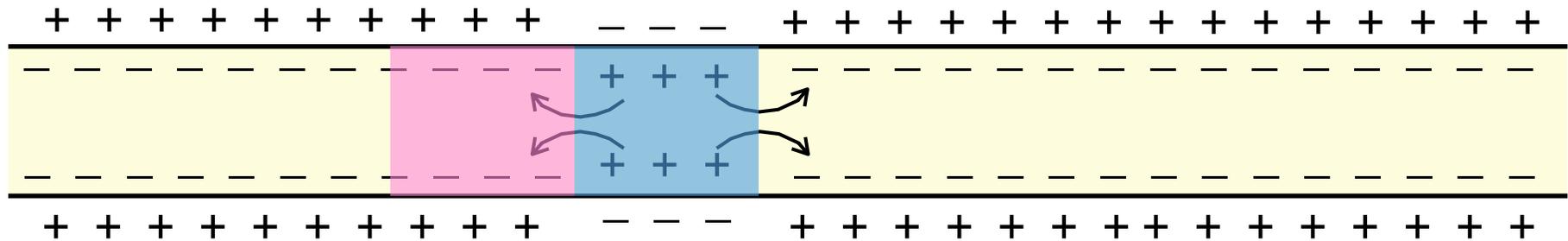


Propagation du PA de proche en proche



les courants locaux vont provoquer l'ouverture des canaux Na^+ voltage dépendants un peu plus loin donc créer un nouveau PA

Propagation du PA de proche en proche



courant de charges (ions)



région en période réfractaire



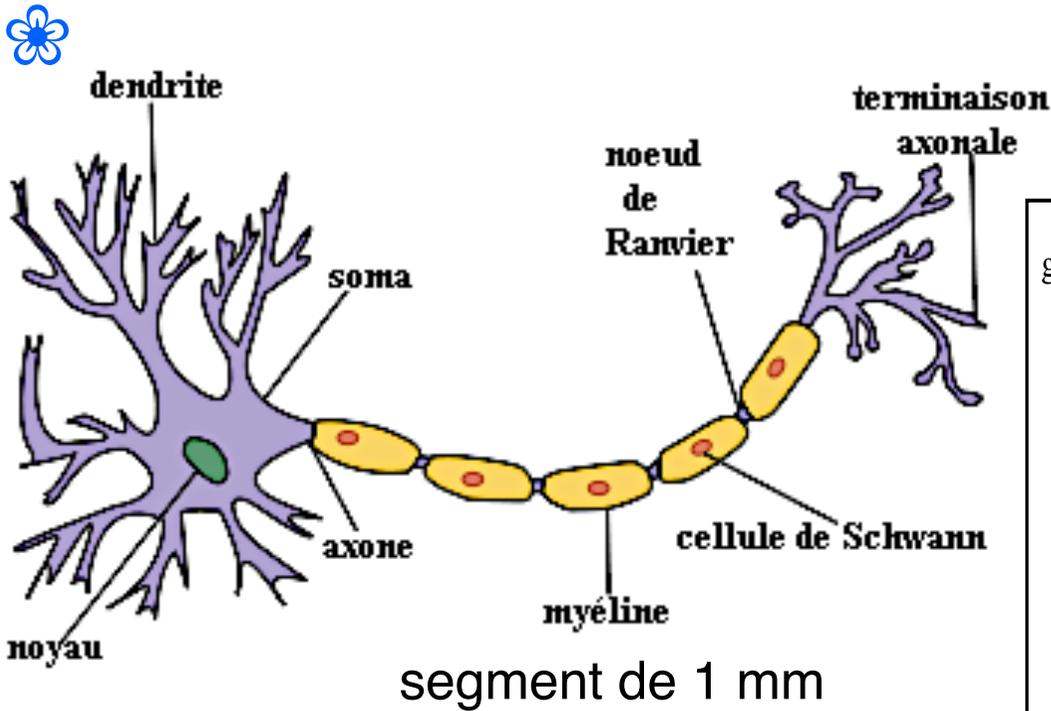
région de PA

Vitesse de propagation

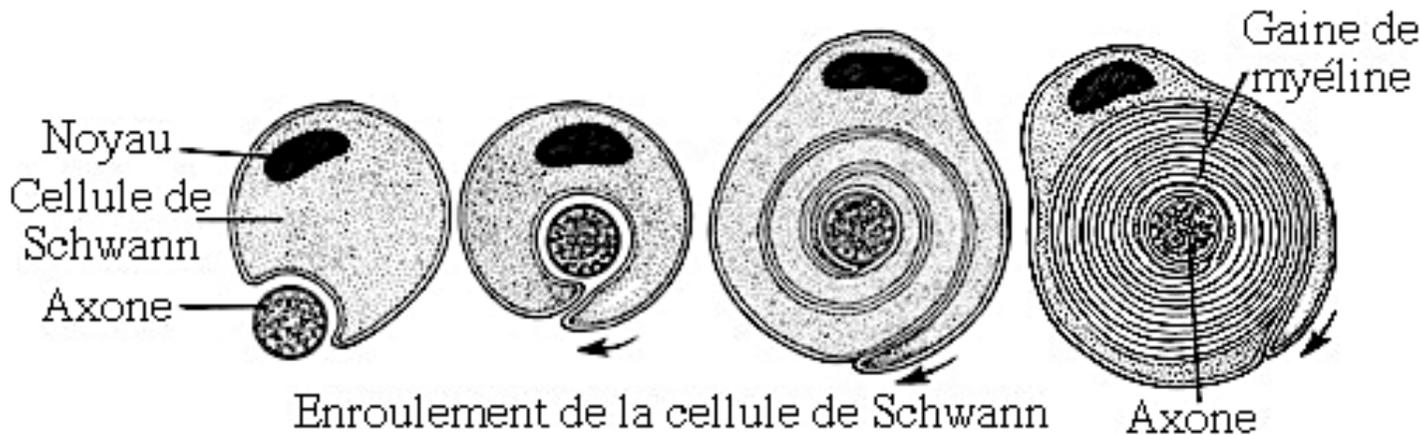
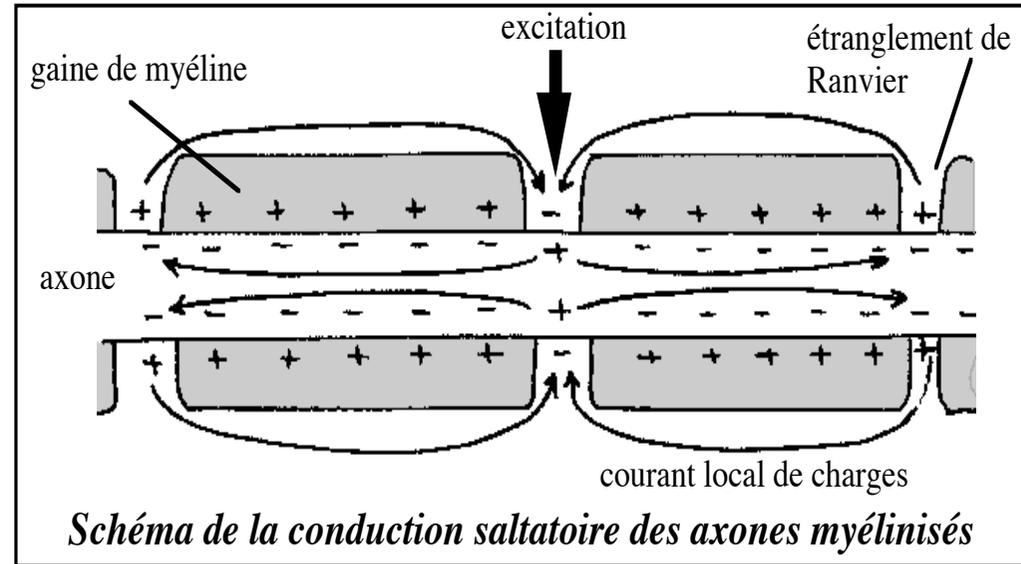


nature de la fibre	diamètre	vitesse en m.s ⁻¹
grenouille nerf sciatique à myéline	3 μm	11
	10 μm	17
	20 μm	30
chat : nerf à myéline	20 μm	120
calmar : axone géant nu axone non géant	1000 μm	33
	0,5 μm	1

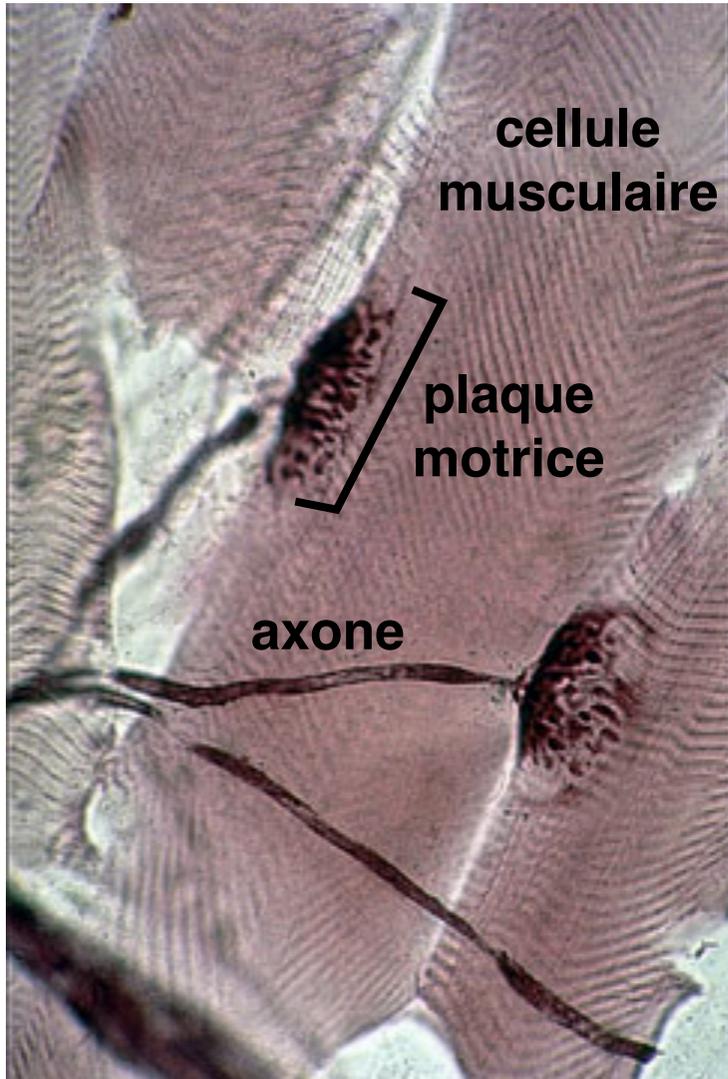
Rôle de la myéline



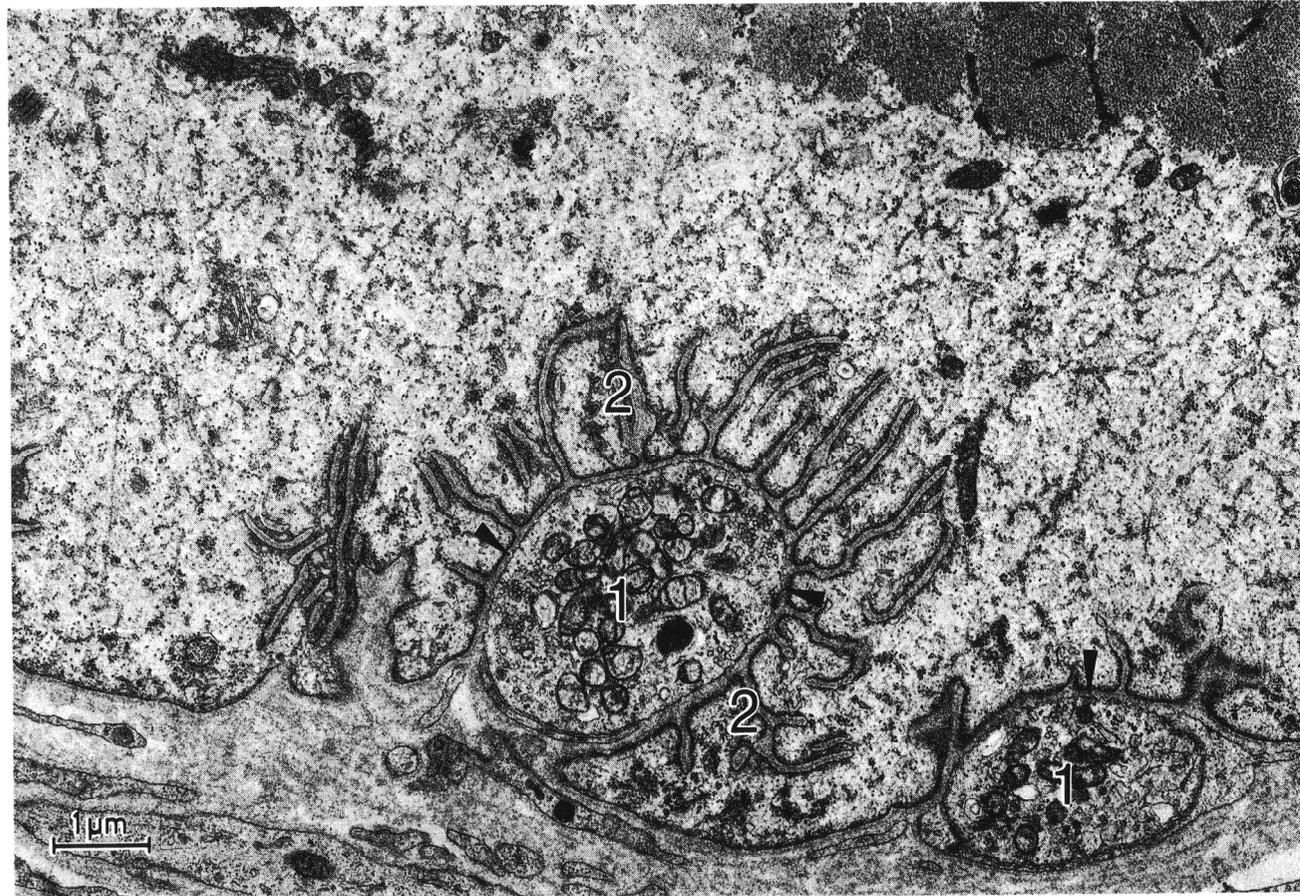
Propagation saltatoire du PA, de noeud de Ranvier en noeud de Ranvier



Plaque motrice : ensemble de synapses

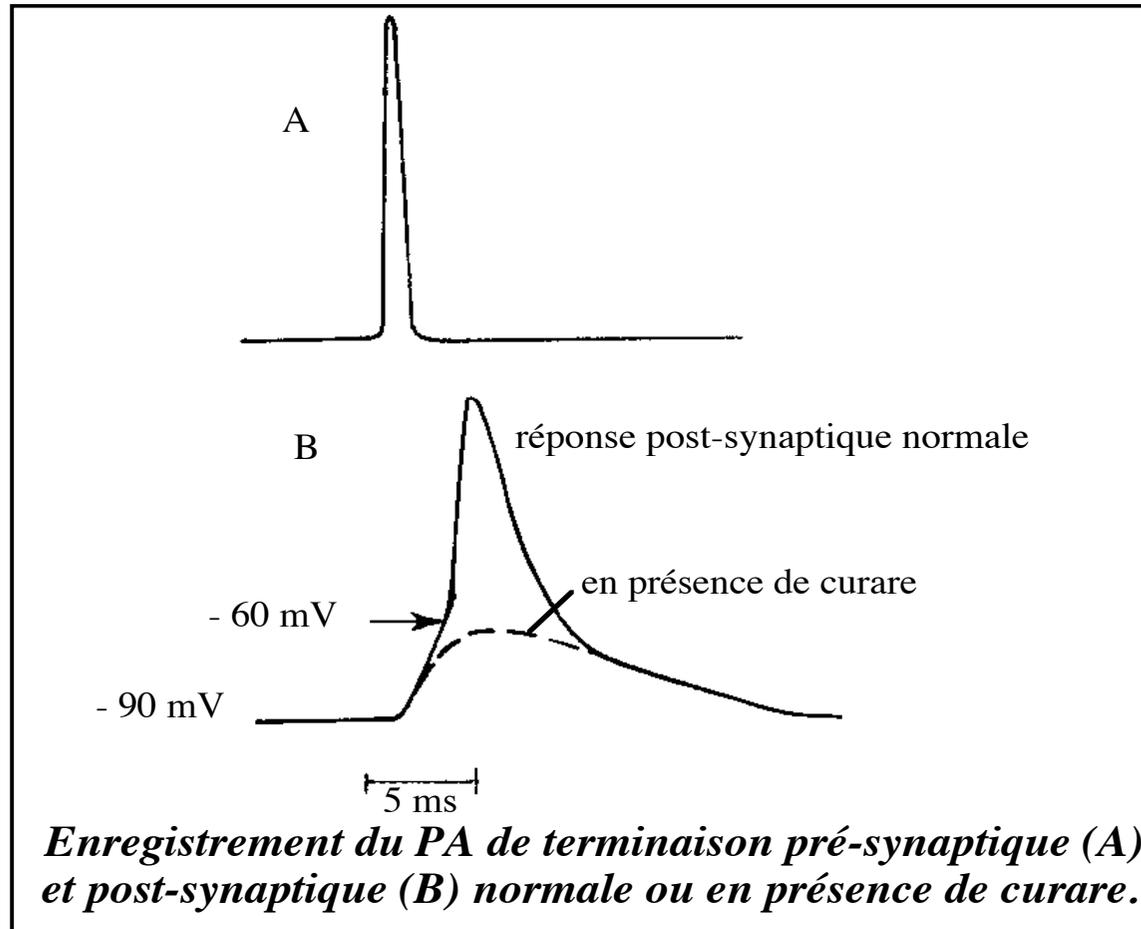


Observation au MP

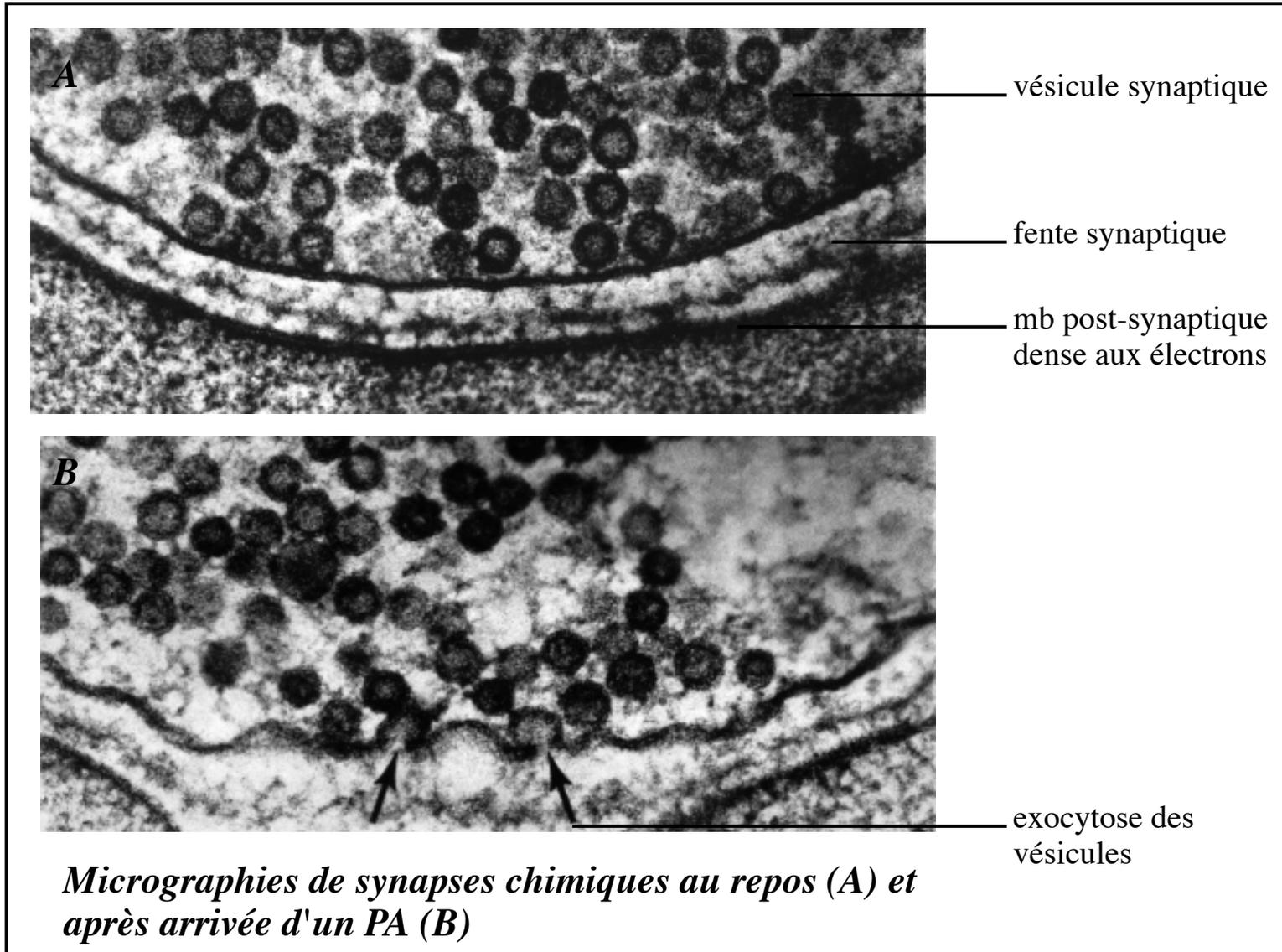


Détail du «contact» entre muscle et neurone (1)

Électromyogramme



Effet de l'arrivée d'un PA sur l'élément pré-synaptique



Étude expérimentale de l'exocytose

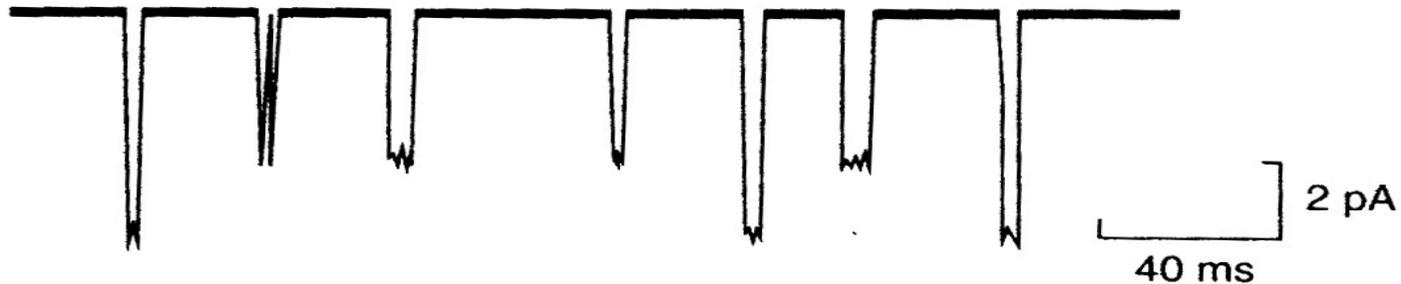


exp1 : synapse placée dans un milieu extra-cellulaire sans Ca^{2+} .
L'arrivée d'un PA ne déclenche rien.

exp 2 : on utilise des substances qui bloquent les canaux à calcium (cobalt ou cadmium). Rien.

exp 3 : en patch-clamp, on montre que les canaux à calcium présynaptiques s'ouvrent sous l'effet d'une dépolarisation de l'ordre de 50 mV.

Effet de l'acétylcholine



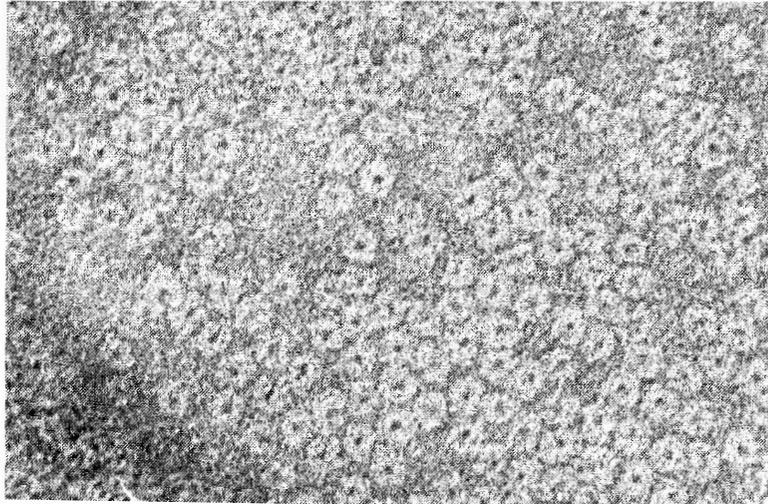
Mesures de patch-clamp d'un canal à cation lors de l'ajout d'acétylcholine sur une membrane de muscle de jeune rat

2 niveaux de courants entrants => idée de 2 canaux différents, de conductance différente.

Récepteur nicotinique à Ach

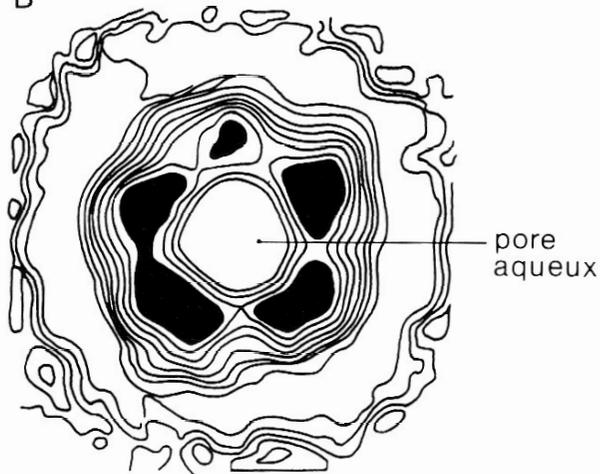


A



Surface de la membrane des cellules électriques de torpille. Chacune des rosettes constitue un récepteur nicotinique.

B



C

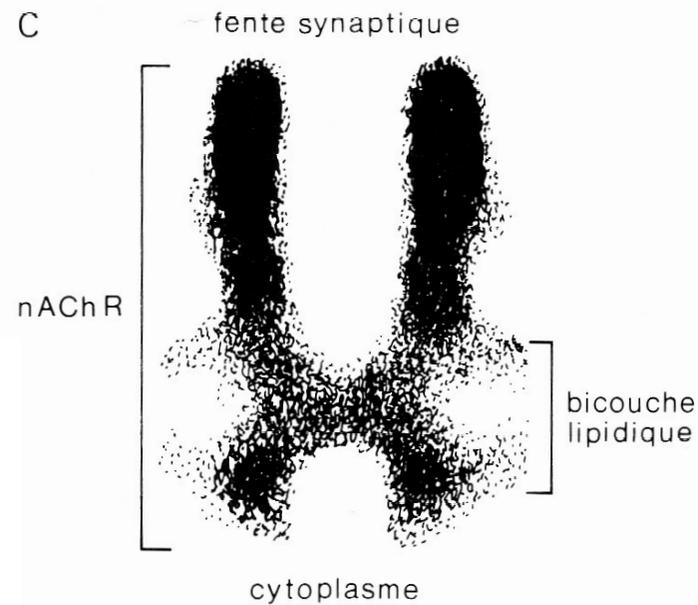
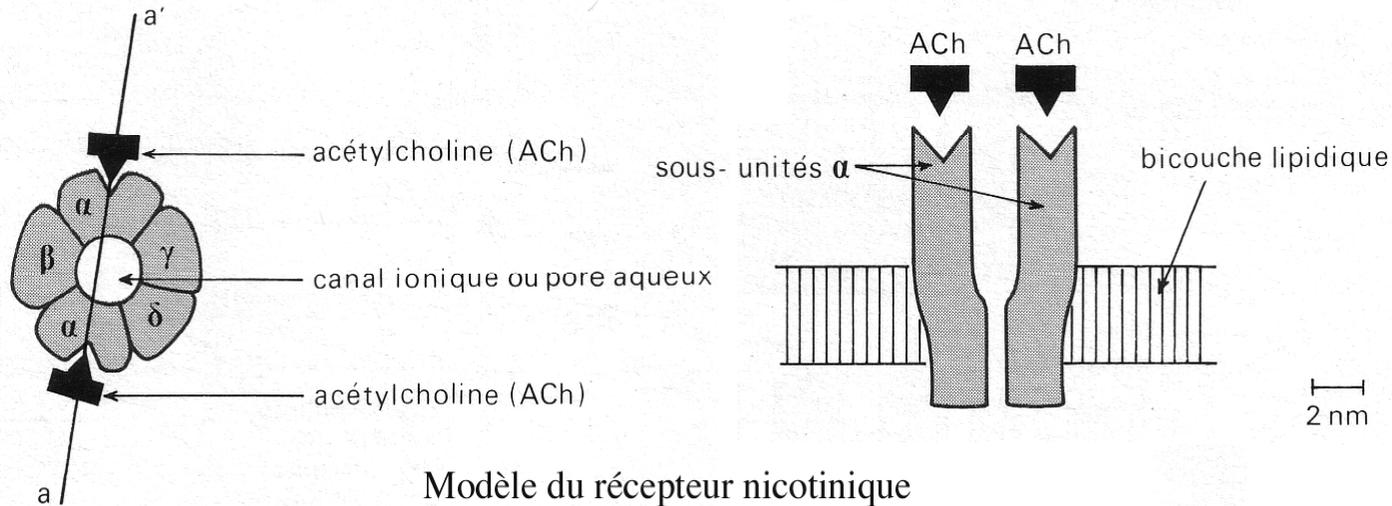
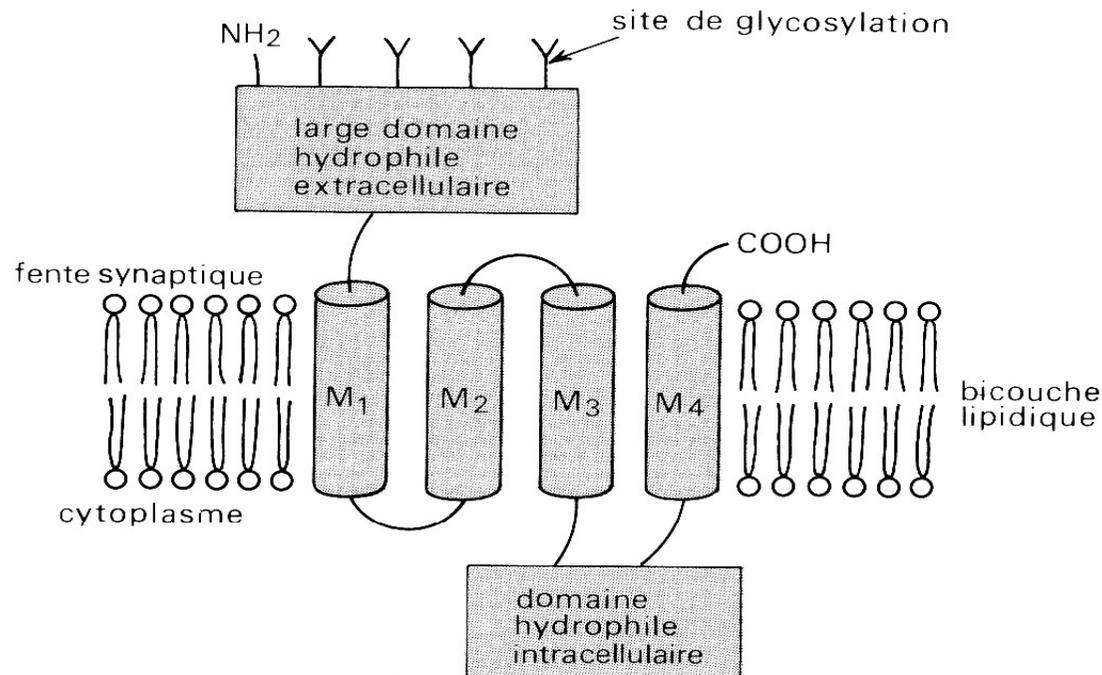


Image reconstituée par ordinateur d'un seul récepteur nicotinique en vue détaillée supérieure (B) ou axiale (C). La largeur du canal du côté synaptique est d'environ 2,5 nm.

Récepteur à acétylcholine



Modèle de sous-unité transmembranaire du récepteur à l'acétylcholine



Animation



Le fonctionnement de la synapse neuro-musculaire

<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/synapse/synapse.htm>

<http://www.youtube.com/watch?v=L2r0kn6Jt0w>