Neurophysiologie Clinique

1A2

La membrane cellulaire

et les transports membranaires

P. Guihéneuc

edition 2017

page

A : Structure de la membrane cellulaire. 2

A1 - Une double couche moléculaire de lipides.
A2 - Des protéines de surface ou transmembranaires.
A3 - La cohérence dans la mobilité.

B : Transports membranaires passifs 3

.

B1 - Les "driving forces" qui conditionnent ces transports.
B2 - La bicouche lipidique est très peu perméable.
B3 - La diffusion "facilitée"

C : Les transports membranaires actifs. 5

C1 - Trouver des sources d'énergie.
C2 - ATP et ATPases.
C3 - Une pompe ionique : la Na-K-ATPase.
C4 - Les transports actifs avec fusion membranaire.
C5 - Pas de transport actif sans métabolisme cellulaire efficient.
C6 - Transports actifs "primaires" et "secondaires"

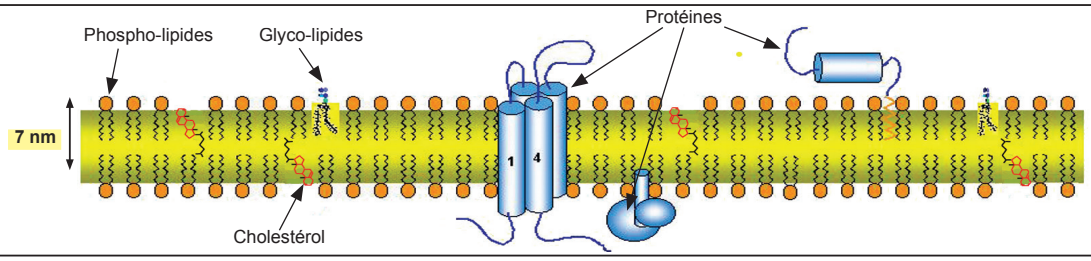
7

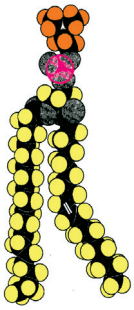
D : Vue générale des transports membranaires

D1 - Membrane plasmique et membranes intracellulaires
D2 - Synthèse des transports membranaires

E : Sources documentaires

Fig 2A : **Schéma de membrane cellulaire** (ci-contre à droite), avec ses constituants lipidiques (ci-dessous) et quelques aspects de protéines membranaires (en bas, à droite)





Ac. aminé

Ac phosphorique

2 ac. gras
14 à 24 C

Tête hydrophile

Queue hydrophobe

Phospho-lipides

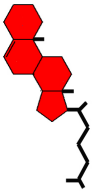
(85% des lipides membranaires)

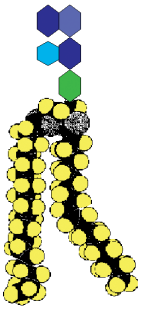
Cholestérol

(10%)

Noyau stéroïde

Chaine 9 C





Glucides (glucose, galactose, N-acétyl-galactosamine)
avec (gangliosides) ou sans ac sialique (cérébrosides)

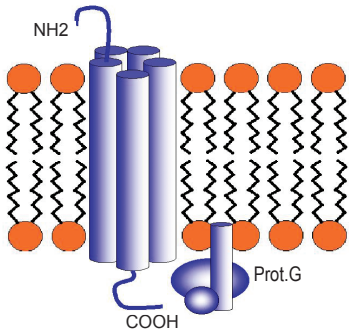
Glyco-lipides ***(5%)***
(ici est figuré un GM1)

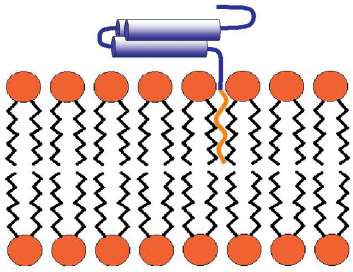
1 ac gras-sérine (céramide)
+ 1 ac gras saturé

Protéine transmembranaire
(5 hélices-Stm intramembranaires)

Protéine sous-membranaire
(Protéine G à 3 sous-unités)

Protéine extra-membranaire
(ici ancrée par un "pied" d'acide gras)





A : LA MEMBRANE CELLULAIRE : UN FILM GRAS ENCOMBRE DE PROTEINES.

Une membrane sépare l'intérieur de la cellule (cytoplasme) du milieu extra-cellulaire. D'autres membranes délimitent dans le cytoplasme les volumes occupés par le noyau et les divers organites comme les mitochondries, le réticulum rugueux et lisse, l'apparei de Golgi, le lysozome, des vacuoles ....**On ne peut comprendre le fonctionnement des cellules nerveuses (excitabilité, propagation des influx, métabolisme) sans se référer à la structure de leur membrane cellulaire (dite aussi membrane plasmique), et aux possibilités de transport de molécules et de particules chargées (les ions) à travers cette membrane.**

A1 - Une double couche moléculaire de lipides (fig.1)

Comme pour toutes les cellules vivantes, la membrane cellulaire (épaisseur 7 nm = 0.007 μm) des neurones est basiquement constituée d'une double couche de molécules lipidiques. Celles-ci présentent leurs **têtes hydrophiles en surface** (vers le milieu extracellulaire et vers le cytoplasme), et alignent leurs queues hydrophobes au centre de la membrane. En milieu aqueux, cette disposition assure l'équilibre thermodynamique des constituants membranaires. Ces lipides sont constitués :
- pour 85% par des ***phospholipides*** : quand l'acide aminé de la tête est la sérine, ce sont des céphalines; quand cet acide aminé est la choline, ce sont des lécithines;
- pour 10% par du ***cholestérol***;
- pour 5% par des ***glycolipides*** : quand la tête glucidique ne porte pas d'ac sialique, ce sont des ***cérébrosides***, quand elle porte 1, 2 ou 3 molécules d'ac. sialique, ce sont des ***gangliosides*** que l'on classe aussi par la position de l'ac sialique sur le fragment glycosyl (par exemple, un ganglioside GM2 porte un seul ac sialique en position 2).

A2 - Des protéines de surface ou transmembranaires

Les protéines représentent 2% seulement des molécules de la membrane plasmique, mais 25 à 50% de sa masse et 50% au moins de sa surface. Leur densité est donc beaucoup plus élevée qu'elle apparait sur la fig 1. On les classe en deux grandes catégories (fig.1) :
- celles qui traversent complètement la membrane : dans le milieu hydrophobe du centre de la membrane, les chaines de 20 à 25 acides aminés (aa) prennent une conformation en **α-hélices.** Plusieurs traversées hélicoïdales ou **segments trans-membranaires Stm** servent à réaliser des **canaux ou des échangeurs**. Les extrémités aminée (NH2) et carboxylique (COOH) de la chaine peptidique peuvent **fixer des anticorps** (réactions immunitaires), des **molécules signaux,** Cette fixation peut entrainer soit l'ouverture ou la fermeture d'un canal ionique transmembranaire, soit l'activation d'une chaine métabolique cytoplasmique. L'incorporation à la protéine transmembranaire d'une activité ATPasique et d'une fourniture d'énergie est requise pour lui lui confèrer les caractères d'un transporteur "actif", que l'on appelle souvent **une "pompe" .**
- celles qui n'apparaissent qu'à l'une des surfaces, interne ou externe, de la membrane plasmique. Ces protéines "collées" ou "ancrées" à la membrane (actine, spectrine, clathrine, etc..) servent de **cordages** résistants maillant les surfaces **ou contractant des liaisons plus ou moins durables** avec les protéines du squelette cytoplasmique, ou avec des protéines ou du collagène du milieu extracellulaire**. Elles peuvent être utilisées** pour organiser des **zones d'adhésion** entre 2 cellules (fibronectines, cadhérines, claudines...). Certaines de ces protéines ont une **activité enzymatique** dirigée vers des substrats intra- ou extra-cellulaires (tyrosinase, NO synthase, adénylate cyclase...) Plusieurs protéines peuvent être associées pour former de volumineux complexes (par exemple le "complexe dystrophine" des fibres musculaires, voir 1B1 $B) qui ont des rôles à la fois structurels (ancrage de réseau d'actine) et fonctionnels (régulation de l'incorporation et de la maturation d'autres protéines de la membrane). Il faut encore noter que nombre de protéines ne sont pas liées "à vie" à la membrane, et peuvent opérer des *"touch and go"* itératifs en fonction des besoins. Un bon exemple est la mobilité de la sous-unité α des protéines G, capable d'aller et venir entre les sous-unités β et γ qui restent ancrées dans la membrane et leurs cibles enzymatiques à distance.

A3 - La stabilité par la cohérence et l'adaptation par la mobilité

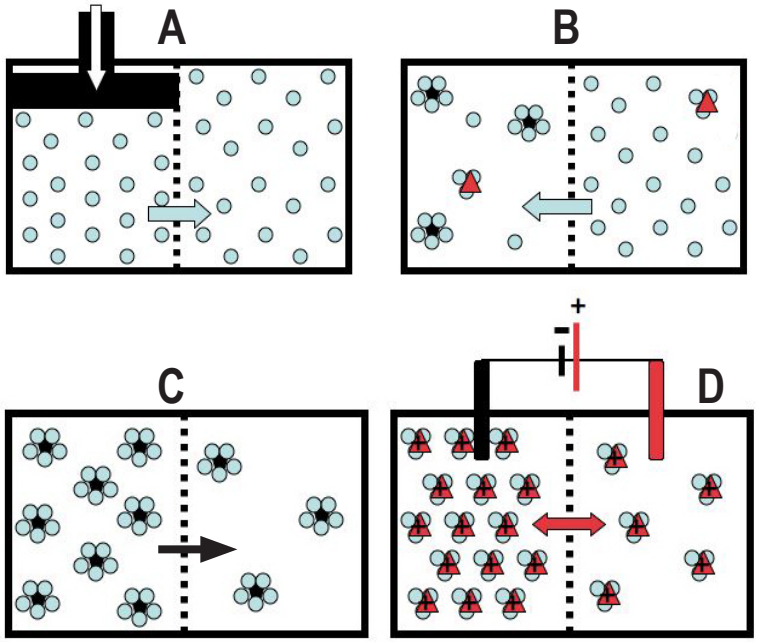
La structure membranaire est protégée par les attractions intermoléculaires (forces de Van der Waals entre acides gras par exemple). Mais elle est étonnamment changeante : ses lipides et ses protéines sont constamment renouvelées. **Elle est aussi incroyablement mobile et peut changer sa forme et ses courbures** : les lipides tournent sur eux-mêmes 100 millions à 1 milliard de fois par seconde, et se déplacent latéralement à des vitesses moyennes de 10^{-10}m/s : en 1 seconde, ils voyagent sur une surface équivalant à 100 fois l'épaisseur de la membrane. Les protéines, bien que moins vagabondes que les lipides, ne cessent de tourner sur place (1000 à 10000 fois par seconde) et aussi de se bouger (environ 100 nm^{-2}/s) mais leurs déplacements sont limités par des liaisons d'ancrage (par exemple, les canaux Na des noeuds de Ranvier sont enchainés à des molécules d'ankyrine) ou par des barriéres intermembranaires comme les "jonctions serrées" ou "tight junctions". On a abandonné l'idée que des protéines trans-membranaires puissent culbuter en *"flip-flop"* pour transporter des ions ou des molécules : l'équilibre thermodynamique "naturel" de la membrane s'y oppose.

Il faut donc penser à la membrane cellulaire non pas comme à une coque immobile et imperméable, mais comme une **"mosaique fluide"** (Singer et Nicolson, 1972) qui tire ses propriétés de la cohérence entre radicaux des molécules qui la composent, tout en leur laissant une certaine liberté, et tout en présentant une structure fortement asymétrique : les lipides comme les protéines sont très inégalement réparties sur le versant extra-cellulaire de la membrane versus son côté intra-cellulaire ! .

Fig 3A, à droite **: Passage de solvant (eau) à travers une membrane cellulaire :**
en A : L'eau (cercles bleus) passe du compartiment où la pression hydrostatique est la plus élevée vers le compartiment à pression plus faible;.
en B : certains solutés lient des molécules d'eau pour rester en solution, ce qui réduit la concentration d'eau "libre" dans le compartiment de gauche et crée une pression "osmotique" qui attire l'eau libre du compartiment moins concentré en soluté.
Le flux résultant de solvant est la somme de ces deux transferts.

Fig 3B, à droite **: Passage de solutés à travers une membrane cellulaire :**

en C : cas d'un soluté électriquement neutre : un transport se produit du compartiment où la concentration en soluté est la plus élevée vers le compartiment à concentration plus faible (gradient chimique)
en D : dans le cas des ions (ici un cation +) : si une différence de potentiel dV est appliquée entre les 2 compartiments, le transfert de l'ion se fera non seulement en fonction du gradient de concentration (poussant ici les cations vers le compartiment de droite) mais aussi en raison du gradient électrique : le compartiment de droite, chargé positivement par le circuit électrique, tend à repousser les cations vers le compartiment de gauche. Le flux résultant s'annule si l'effet des 2 gradients s'équilibre : dV se trouve alors au potentiel d'équilibre pour l'ion étudié.



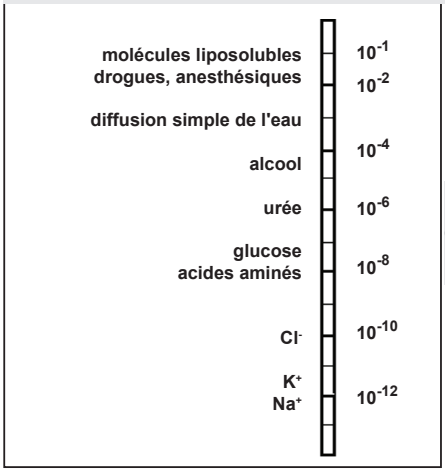


Fig 3C , ci-contre à gauche **: Perméabilité de la bicouche lipidique de la membrane cellulaire pour différentes substances .**
La vitesse de traversée est exprimée en cm/s.

B : TRANSPORTS MEMBRANAIRES PASSIFS

B1 - Les forces qui conditionnent les transports à travers la membrane cellulaire.

La membrane cellulaire est dite hémiperméable (incomplètement et sélectivement perméable). Les passages d'eau et de produits dissous dépendent de conditions physiques et chimiques et peuvent être mesurés.

En ce qui concerne le solvant (eau) :

L'eau suit les différences de **pression hydrostatique dPh** (elle se dirige vers le compartiment où la pression est la plus faible) et de **pression osmotique dPo** (fig 1K): elle va du milieu le moins concentré vers le plus concentré: ceci correspond au fait que les corps dissous, pour demeurer libres dans l'eau et éviter de précipiter, tentent de s'entourer d'une couronne +/- fimportante de molécules d'eau, avec lesquelles ils partagent des liaisons polaires (forces de Van der Waals). Les molécules d'eau ainsi piégées réduisent la densité de molécules d'eau libre dans le milieu concentré, ce qui crée une attraction pour de nouvelles molécules d'eau . Cette attraction pour l'eau définit la pression osmotique d'une solution. Elle s'exprime par la loi de Vant'Hoff Po=RT *(C/M) où **RT** mesure l'énergie thermique de la molécule (R=cte des gaz parfaits, T= température absolue), **C** est la concentration du soluté, et **M** la masse molaire.*La nature physico-chimique exacte de la Pression osmotique (exprimée en Osmols ou mOsm. est encore discutée et la loi de Vant'Hoff ne s'applique pas à toutes les situations. Lorsque la pression osmotique est dûe à des protéines, on parle de pression "**oncotique**".*

Le flux d'eau J_{H2O} à travers la membrane résulte de la somme de ces 2 types de pression : $J_{H2O} = (dPh + dPo) \times (Kh . S)$ où Kh est le coefficient de perméabilité hydraulique de la membrane et S la surface de la membrane. Les gradients dPh et dPo peuvent produire des flux de sens inverse. J_{H2O} cesse lorsque dPh+dPo = 0.

Pour les solutés (les produits dissous), les forces de transport changent selon que :

- **ou bien le soluté est électriquement neutre** (non chargé Fig 1L,A)) : dans ce cas, il est attiré à se transporter du milieu le plus concentré vers le compartiment le moins concentré, suivant un simple gradient de concentration dC. Son flux J à travers la membrane dépend en outre de la perméabilité P de la membrane en regard de la taille ou diamètre apparent de la molécule : celui-ci est plus grand si le soluté est osmo-actif car il faut tenir compte de sa couronne d'eau) et de l"agitation" ou énergie thermique de cette molécule. P exprime en fait une vitesse de transport (en cm/s). Mais la force qui entraine le transport est donc un **gradient chimique.**

- **ou bien le soluté porte une charge électrique, c'est un ion** (Fig 1L,B)**.** Le transport à travers la membrane dépendra alors, non seulement du gradient de concentration, mais aussi de la différence de potentiel dV entre les 2 compartiments : par exemple, des anions chlore Cl^- auront tendance à rejoindre le secteur le plus positif, alors que des cations sodium Na+ seront attirés par le compartiment de potentiel négatif. Les ions se déplacent donc en fonction d'un ***double gradient électro-chimique***, les 2 forces (différence de concentration et différence de potentiel) pouvant être orientées dans des directions opposées ! D'autre part, le passage trans-membranaire des ions est limité par la perméabilité "chimique" P de la membrane, mais aussi par sa perméabilité "électrique" vis-à-vis de la charge portée par l'ion : c'est une ***conductance G,*** mesurée en Siemens.

Le flux d'une espèce ionique Ji traversant la membrane résulte de la somme de ces 2 gradients : $Ji = [\, dC * (Pi . S)\,] + [\, (dV * zi) \times (Gi . S)\,]$, ou Pi est le coefficient de perméabilité de la membrane à l'ion considéré, zi la valence électronique de l'ion, et Gi le coeff. de perméabilité électrique de la membrane ou conductance vis-à-vis de l'ion. Le flux Ji cesse si la somme des 2 termes de l'équation est nulle : la différence de potentiel trans-membranaire se trouve alors au ***"potentiel d'équilibre" pour l'ion étudié.*** C'est un paramètre majeur des mécanismes d'excitabilité des fibres nerveuses (cf document 1A3).

B2 - La double couche lipidique est une barrière coriace.

Globalement, **les solutés passent difficilement la double couche lipidique de la membrane cellulaire.** Seules les petites molécules liposolubles sont favorisées (P = 10^{-1} à 10^{-3} cm/s), ce qui explique la diffusion possible des morphiniques, de certains anesthésiques, de l'alcool, des drogues, mais aussi de l'oxygène ou du benzène dans le tissu nerveux. La diffusion simple de l'eau est voisine de $5*10^{-3}$ cm/s. Les molécules hydratées traversent de 1 000 à 1 000 000 de fois moins bien. ***Quant aux ions, leur passage à travers la membrane lipidique est extrêmement difficile*** (fig.1L).
Ceci explique que la nature ait développé, tout au long de l'évolution biologique, des "portes" spécialisées, des "canaux" adaptés au passage de et vers le cytoplasme des différentes substances et molécules indispensables à la vie cellulaire.

Fig 4A : **Vitesse de transport membranaire** P d'une substance en fonction du gradient de sa concentration dC entre les 2 faces de la membrane. **En diffusion simple**, P est très faible et augmente linéairement avec dC. **En diffusion facilitée** par un transporteur, P est considérablemnt augmentée, jusqu'à un niveau Pmax où le transport est saturé. La constante de Michaélis Km est le gradient dC correspondant à la moitié de Pmax.

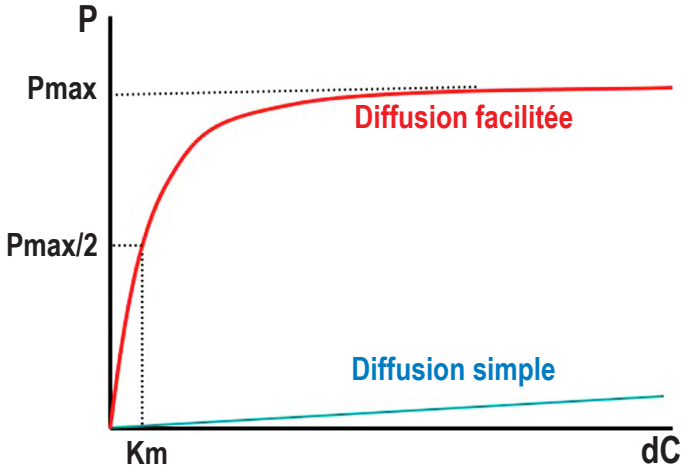
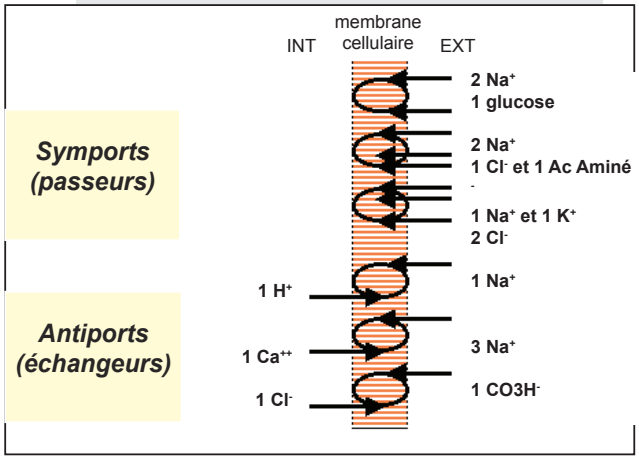
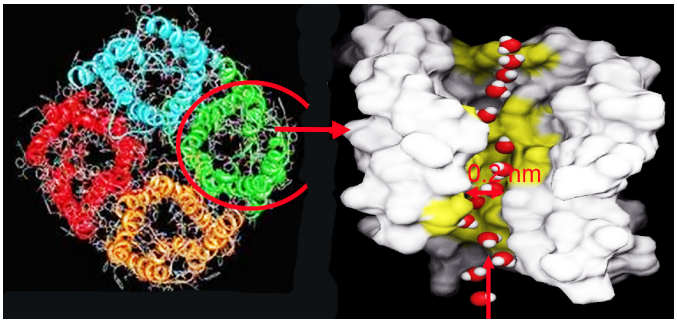


Fig 4C : **Transports facilités par une protéine spécialisée :** quelques exemples de **transports co-optés** rendus possibles par des protéines spécifiques.





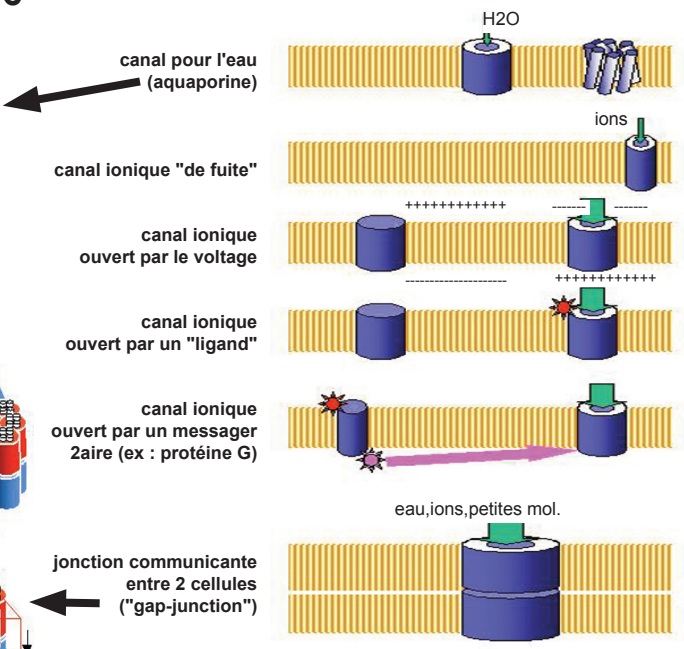
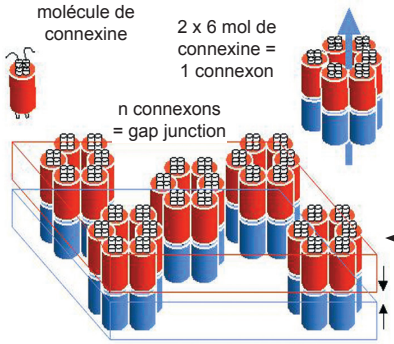


Fig 4D :

à droite : **Divers canaux pour l'eau et pour les ions** ménagés par des protéines de transport à travers la membrane cellulaire.

ci-dessus : canal Aquaporine pour l'eau, vu de dessus (à gauche) et en coupe latérale (à droite)

ci-contre : structure d'une "gap-juction" pour l'eau, les ions et petites molécules.



B3 - La diffusion "facilitée"

Pour que les solutés puissent traverser la membrane, la vie a développé ***des protéines qui "facilitent" les transports,*** soit en créant de véritables ***canaux spécialisés*** (par exemple pour une espèce d'ions, comme les canaux Na^+), soit en ménageant des antiports ou ***échangeurs trans membranaires*** (par exemple, 1 Na^+ contre 1H^+, 1 Cl^- contre 1 $HCO3^-$) ou en réalisant des transports couplés, ***des symports*** (par ex 1 glucose avec 2 Na^+, 1 acide aminé avec 1 Na^+ et 1 Cl^-). Il existe une très grande variété de transports couplés, dont on retrouvera de nombreux exemples dans toutes les cellules : sels quelques-uns sont indiqués Fig 4C.

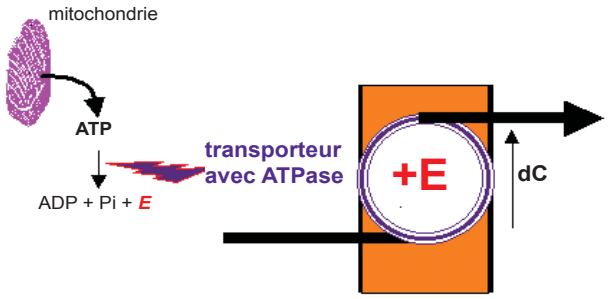
Ces transports facilités, aidés par une protéine, sont spécialisés : la protéine ne s'intéresse qu'à une molécule ou un groupe de molécules qu'elle "reconnait" (les canaux pour le potassium ne laissent pas passer le sodium; le transporteur Na-Glucose ne reconnait pas le saccharose ,etc..). Ils permettent une vitesse de transfert **infiniment plus rapide** à travers la membrane (Fig 2A) On caractérise leur perméance en calculant la constante de Michaélis Km, qui correspond au gradient de concentration qui permet une vitesse de transfert égale à la moitié de la vitesse maximale. En effet ces transports sont limités par le nombre de "transporteurs" localisés sur la membrane : quand tous sont utilisés, la vitesse de transport **"sature"** même si le gradient de concentration continue de croitre.

Un autre avantage de ces protéines assurant les transports membranaires est que ***la cellule peut définir leur code d'ouverture ainsi que leur dynamique d'inactivation*** (fig.2 D): elles peuvent s'ouvrir seulement pour un changement défini de potentiel électrique (par ex les ***canaux ioniques ouverts par le voltage*** cf 1A3, §D)), ou si une ***molécule message appelée "ligand"*** se présente à leur entrée extérieure (le canal cationique des jonctions neuromusculaires s'ouvre s'il est en contact avec l'acétyl-choline, cf 1B2, §E)), ou si un signal métabolique est généré dans le cytoplasme de la cellule elle-même (après ***l'activation d'une protéine G***, ou d'une protéine kinase). Certaines protéines restent même "ouvertes" presque en permanence, comme des canaux ioniques "de fuite" à faible conductance.

Des protéines-canaux spécifiques pour le transfert d'eau, les aquaporines, ont été découvertes en 1992 (Agre P.). Il en existe plus de 500 variantes, dont 13 chez l'homme. Ce sont des tétramères : chacune des 4 sous-unités possède 6 segments trans-membranires Stm (fig 2D). La boucle externe E, entre les Stm V et VI, tapisse le canal. Celui-ci a un diamètre de 0,28 nm, soit la dimension d'une seule molécule d'eau. Dans le canal, des radicaux aminés empêchent le passage des ions.
Les "gap junctions" (fig 2D) sont des structures complexes faisant communiquer le cytoplasme de 2 cellules voisines accolées à travers un nombre variable de "connexons". Ceux-ci sont formés de 2x 6 molécules de connexine se faisant face sur chaque membrane. Le canal central fait 2 nm de diamètre, laissant passer l'eau et les molécules < 1,2 kDa. Chaque molécule de connexine possède 4 Stm, dont le III forme la paroi du canal. La dynamique et la régulation du canal varient selon le type de connexon, le tissu qui le porte, la fonction qui lui est affectée. Une variété de connexons constitue la structures des *synapses électriques* présentes dans le tronc cérébral, l'hypothalamus, la rétine..

Pour tous ces canaux, le transport de la molécule ou de l'ion à travers la membrane dépend toujours des forces examinées plus haut (§B1), c'est à dire des différences de concentration et de potentiel de part et d'autre. Dans tous ces cas, ***le transport d'eau ou de soluté demeure "passif",*** **soumis au seul gradient électrochimique, et ne nécessite pas de dépense d'énergie par la cellule.**

Fig 5A, ci-dessous : **Transports membranaires actifs :** la protéine membranaire utilise l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP pour développer un transport de soluté contre un gradient électrochimique défavorable (ici, contre un gradient de concentration dC)



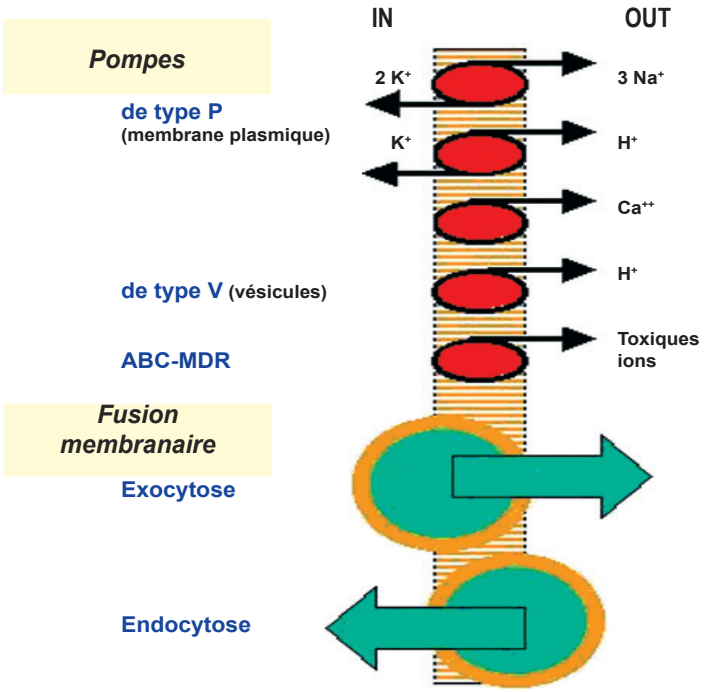


Fig 5B (ci-dessus)**: Exemples de transports membranaires actifs :** les "pompes" utilisant une protéine membranaire avec ATPase, et les mécanismes de fusion membranaire pour lesquels la fourniture d'énergie comporte plusieurs étapes alimentées par le métabolisme cellulaire.

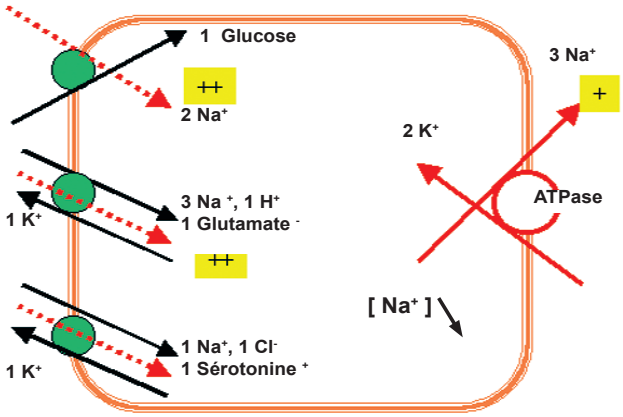


Fig 5C (ci-contre)**: transports "actifs secondaires"**,Le fonctionnement de la pompe Na-K-ATPase entraine une chute de la concentration de Na^+ intracellulaire. Ceci autorise des entrées passives de Na^+ dans la cellule, qui font tourner des échangeurs, lesquels peuvent ainsi réaliser des transports de solutés contre des gradients défavorables : ainsi sont produits des transports "actifs secondaires", l'énergie de ces transports étant en fait fournie par la Na-K-ATPase.

C : TRANSPORTS MEMBRANAIRES ACTIFS.

C1 - Quand les forces passives ne suffisent plus : trouver de l'énergie.

Comment faire sortir du Na^+ de la cellule quand sa concentration est 7 fois plus élevée à l'extérieur de la membrane ? Comment faire passer des protons du sang vers le suc gastrique où la concentration de H^+ est 10 millions de fois plus forte ? Comment capter dans le milieu extracellulaire des paquets de substrats indispensables à la cellule mais de taille ou de volume trop important pour passer la membrane ? Dans toutes ces situations, les gradients de force passive (différences de concentration et de potentiel) sont dépassés par les événements. La cellule doit produire et consommer de l'énergie pour réaliser ces transports.

Le métabolisme cellulaire transforme les glucides, lipides et protides en maillons bicarbonés qui sont ensuite digérés par le cycle de Krebs (voir 1B1, § F). **Les mitochondries** prélèvent les atomes d'hydrogène ainsi délivrés, et grâce à leur "chaine respiratoire" dégradent par paliers le niveau d'énergie des électrons prélevés sur les atomes d'hydrogène. Elles transfèrent et stockent ensuite cette énergie sous forme de liaisons P~ entre acide phosphorique et un nucléotide (fig.4 A)**.**

L'ATP (adénosine triphosphate), ou le GTP (guanosyl triphosphate) porteurs de 3 liaisons P~ "riches en énergie", diffusent dans toute la cellule, et peuvent ensuite être coupés à la demande par des ATPases ou des GTPases, ce qui libère une énergie de 15 kCal par liaison P~ hydrolysée.

C2 - Diverses ATPases libérent l'énergie pour les transports membranaires actifs. (fig.4 B)

Les ATPases de type P (de la membrane plasmique) fournissent ainsi l'énergie aux protéines membranaires qui assurent le transport actif des ions contre des forces passives hostiles : exemples :
- pour faire sortir le Na^+ de la cellule et y faire rentrer le K^+ (Na-K-ATPase, la plus répandue , ci-dessous § D3);
- pour évacuer le Ca^{++} du cytoplasme, vers le milieu extracellulaire ou vers le réticulum sarcoplasmique, contre un très fort gradient de concentraion (Ca-ATPase cf 1B1,§D);
- pour évacuer des protons contre l'entrée de K^+ (H-K-ATPase (estomac, néphron distal)).

Ailleurs d'autres ATPases et GTPases, de Type V utilisent la même énergie pour stocker des neuromédiateurs dans les vésicules (H-ATPase de type V), transporter les vésicules des flux axonaux (cf 1A1, §C), extruder les H^+ des mitochondries (1B1, § F), évacuer des médicaments, des déchets ou des toxines (transporteurs ABC-gènes MDR), activer des protéines kinases, fusionner des membranes et permettre l'entrée (endocytose) ou la sortie (exocytose) de tout le contenu moléculaire d'une vésicule (1B2, § C et D)

Les transporteurs ABC (ATP binding cassettes) sont présents en particulier dans le foie, les reins, les intestins. Ils sont utilisés pour évacuer du cytoplasme vers le milieu extérieur des déchets, des toxines, des médicaments. Les transporteurs ABC peuvent avoir une fonction de régulation des canaux ioniques (CFTR bronchique de la mucoviscidose; récepteur SUR (sulfonyl-urées) indispensable au fonctionnement d'un canal potassique dépendant de l'ATP qui régule la sécrétion de l'insuline). *La surexpression d'un transporteur ABC, la phospho-glycoprotéine codée par le gène MDR1) est responsable de la chimio résistance de certaines tumeurs.*

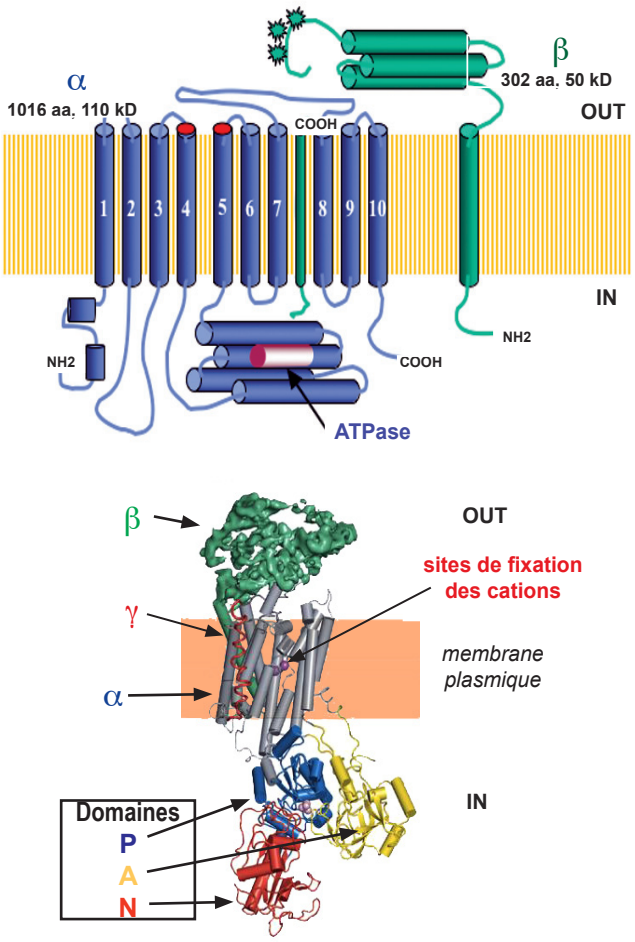
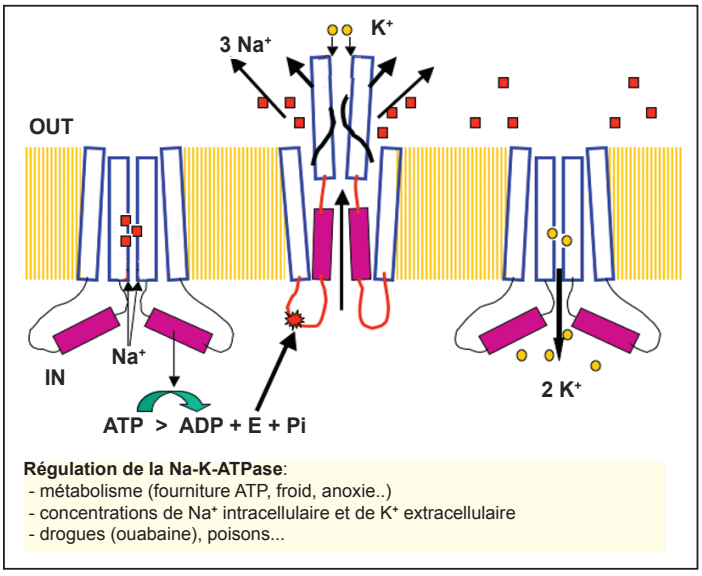


Fig 6 A : **Structure de la Na-K-ATPase de type P**. Ci-contre, en haut à gauche : structure linéaire des différentes sous-unités. En-dessous : représentation tridimensionnelle de l'aspect de la protéine dans la membrane.

Fig 6 B, ci-dessous : **Figure illustrant le fonctionnement de la Na-K-ATPase**.



Régulation de la Na-K-ATPase:
- métabolisme (fourniture ATP, froid, anoxie..)
- concentrations de Na^+ intracellulaire et de K^+ extracellulaire
- drogues (ouabaine), poisons...

C3 - Une pompe ionique est une protéine-canal couplée à une ATPase.

***La Na-K-ATPase* est présente dans toutes les cellules,** avec quelques variantes (4 gènes codent pour la sous-unité α, trois pour la sous-unité β). Elle est formée de 1 sous-unité α comportant 10 Stm (domaine M) (fig.5 A). Les segments centraux portent les sites de fixation pour le Na^+ et le K^+. Des hélices intracytoplasmiques entre les segments 4 et 5 comportent un site de fixation de l'ATP (domaine P), une phosphorylase (domaine N) et une phosphatase (domaine A) L'hydrolyse de l'ATP se produit à la jonction entre les domaines N et P. Une sous-unité β (et parfois une γ) encadrent chaque sous-unité α. *(La structure des Ca^{++} ATPases et H^+ ATPases est peu différente, mais ne comporte qu'une sous-unité α).*

Le mécanisme précis du fonctionnement de ces pompes ioniques, mises en évidence par JC Skou entre 1957 et 1970**,** n'est pas totalement élucidé. Une augmentation de Na^+ intracellulaire entraine la fixation de 3 Na^+ sur le domaine M de la sous-unité α et **l'activation de l'ATPase** (fig.5 B): l'énergie libérée par la lyse des liaisons P~ provoque un changement de conformation de la chaine d'aa, et l'expulsion des 3 Na^+ dans le milieu extérieur. 2 K^+ viennent alors se fixer sur des sites spécifiques des segments transmembranaires qui reprennent leur conformation de repos et libèrent les 2 K^+ dans le cytoplasme. Le cycle peut se reproduire 160 fois par seconde en conditions basales dans une membrane normale, mais peut être multiplié par 6 à 10 en cas de besoin. Le fonctionnement de la pompe génère un excès de charges positives Na^+ à l'extérieur de la membrane, en même temps qu'il permet, grâce aux forces osmotiques des ions transportés, un échange d'eau et de métabolites.

C4 - Les transports actifs avec fusion membranaire : exocytose et endocytose.

Quand la membrane doit laisser passer rapidement de gros "paquets" de molécules (par exemple, pour libérer tout le contenu d'une vésicule d'acétyl-choline dans la synapse nerf-muscle), le transport molécule par molécule par une protéine membranaire est inadapté et insuffisant. Il en est de même quand la cellule doit récupérer dans le milieu extérieur des protéines, des enzymes, ou par exemple des neuropeptides, dont le poids moléculaire est incompatible avec les capacités d'un transporteur membranaire.

Dans de tels cas, la cellule (avec toute une chaine préparatoire dans son métabolisme, et une forte consommation d'énergie), accroche et fusionne une vésicule à sa membrane plasmique, et rompt d'un coup les membranes fusionnées pour expulser le contenu vésiculaire (fig.4 B): c'est le ***mécanisme de l'exocytose*** qui sera détaillé dans un autre document (1B2 $C). La même zone de membrane peut ensuite reconstituer un "sac" rempli de molécules prélevées dans le milieu extracellulaire, sac qui se referme en reformant une vésicule à l'intérieur de la cellule : ce ***phénomène d'endocytose*** (1B2 $D) apporte des substrats et des molécules-messagers qui ne pourraient autrement pénétrer dans le cytoplasme, ou transporte des paquets de déchets (membranaires entre autres) vers les lysosomes qui les dégradent et les recyclent.

C5 - Pas de transport actif sans énergie disponible

Comme pour les transports passifs facilités, les transports actifs dépendent de la disponibilité dans la membrane d'un nombre suffisant de protéines de transport, faute de quoi les passages sont saturés. **Mais la limitation majeure des transports actifs dépend de la fourniture d'énergie par le métabolisme cellulaire.** Que celui-ci soit perturbé par un manque de substrats à dégrader, que la chaine mitochondriale soit arrêtée par un poison cellulaire, ou qu'elle ne puisse évacuer ses électrons par manque d'oxygène, toutes ces conditions réduisent la production d'ATP et bloquent les transports actifs.

C6 - Transports actifs "primaires" et transports actifs "secondaires"(fig.4 C)

Ces termes ne classent pas les transports membranaires en fonction de leur importance, mais selon qu'ils utilisent l'énergie fournie par l'hydrolyse des liaisons P~ de façon directe ou "par ricochet". La protéine Na-K-ATPase hydrolyse l'ATP et utilise elle-même l'énergie libérée pour expuser 3 Na^+ vers l'extérieur de la cellule et faire entre 2 K^+ : c'est un transporteur "primaire".

Mais le fonctionnement de cette pompe induit un excès de Na^+ à l'extérieur de la cellule, et donc un gradient de concentration de Na^+ et un gradient de potentiel. Ce gradient electro-chimique réalise une force électromotrice (*driving force*) qui est ensuite utilisée pour faire entrer passivement du Na^+ sur un autre point de la membrane. L'entrée de Na^+, à son tour, fait "tourner" des proteines "passeurs" ou "échangeurs" qui peuvent faire entrer du glucose, des acides aminés, des neuromédiateurs... dans la cellule. Ces transports secondaires peuvent se réaliser contre des gradients de concentration défavorables : on a donc considéré qu'ils relèvent d'un mécanisme "actif", mais en réalité la ***fourniture d'énergie s'est faite au niveau de la Na-K-ATPase : ce sont donc des transports actifs "secondaires",*** par procuration en quelque sorte.

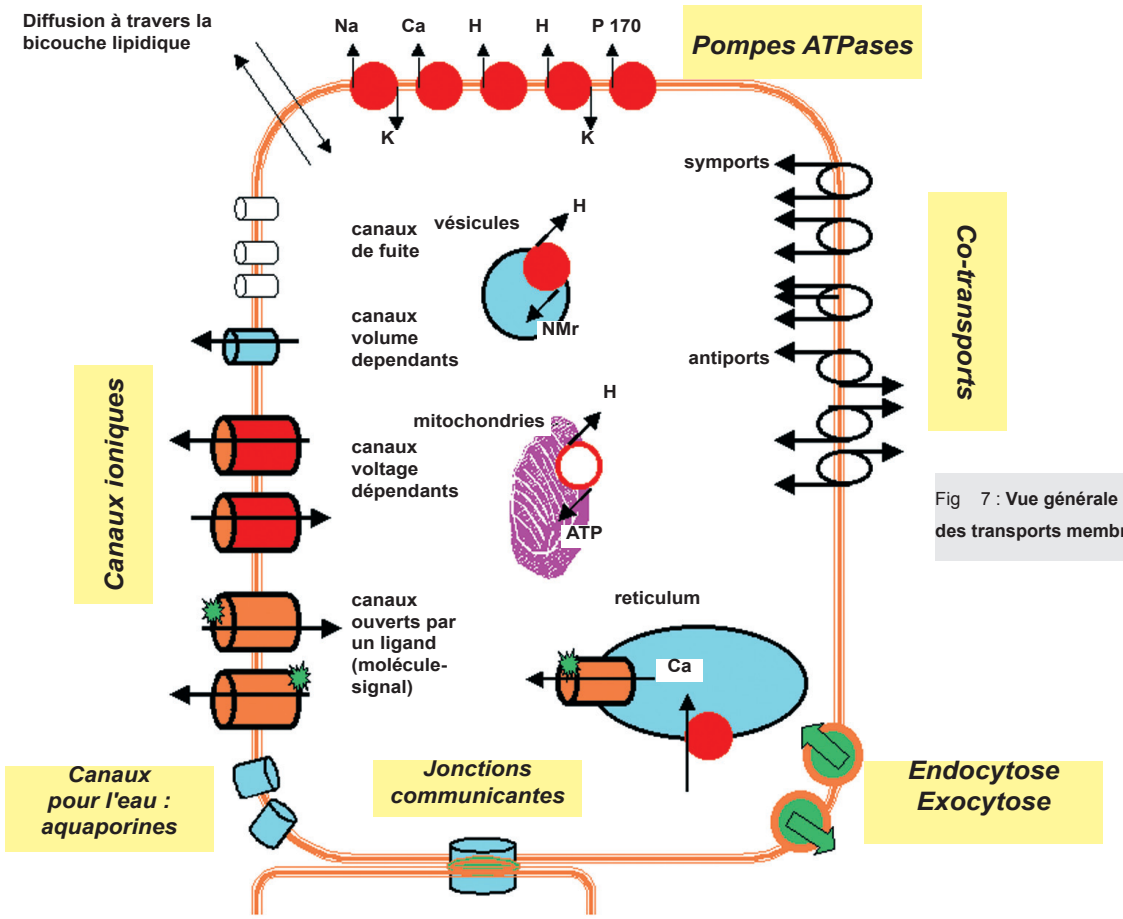


Fig 7 : **Vue générale (non exhaustive) des transports membranaires cellulaires**

D : VUE GENERALE DES TRANSPORTS MEMBRANAIRES.

D1 - Membrane plasmique et membranes des organites intracellulaires.

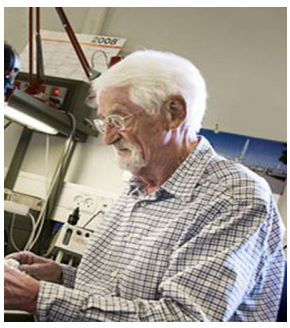
La cellule doit gérer en même temps ses échanges avec l'extérieur, à travers sa membrane plasmique, et **de nombreux transports entre le cytoplasme et le contenu de divers organites intracellulaires** : mitochondries, reticulum, vésicules variées...Si certains ont un rôle très spécialisé comme les étapes finales de la production d'énergie renouvelable (les mitochondries), d'autres sont des réservoirs fonctionnels (le reticulum sarcoplasmique stocke de grandes concentrations de Ca^{++} qu'il libère à la demande), et d'autres protègent leur contenu d'une aggression enzymatique dans le cytoplasme (vésicules fabriquées par l'appareil de Golgi et alimentées par les ribosomes) ou au contraire le transportent vers les lysosomes qui le détruisent.

Le chargement et le déchargement de ces organites relèvent de mécanismes comparables à ceux qui assurent les transports à travers la membrane plasmique : ces organites possèdent une membrane de structure proche de celle de la membrane cellulaire : des protéines de transport, des échangeurs et des pompes y sont également localisés. On perçoit ici que ***les concentrations intracellulaires de multiples molécules et substances relèvent d'un subtil équilibre*** entre les transferts avec le milieu extracellulaire, les stockages dans des réservoirs protégés et exclus du cytoplasme (reticulum, vésicules, intérieur des mitochondries) , et d'éventuels tamponnements ou sénapses avec des protéines de liaison intracytoplasmiques.

D2 - Synthèse des transports membranaires.

La fig.6 présente une vue générale mais très incomplète des transports membranaires de la cellule . On y retrouve :
- les transferts passifs (diffusion simple) à travers la bicouche lipidique;
- les transports passifs facilités par des canaux pour l'eau et pour les ions, avec leurs différents codes d'ouverture; des échangeurs, symports et antiports;
- les transports énergisés par des ATPases;
- les transports actifs avec fusion membranaire : exocytose et endocytose;
- sont figurés également quelques transports des membranes d'organites intracellulaires : mitochondries, vésicules, reticulum.

E : SOURCES DOCUMENTAIRES.

Clausen MV et al. Structure and function of the Na K ATPase isoforms in health and disease. Front. Physiol. 2017; 8: 371
Engelman DM, Membranes are more mosaïc than fluid. Nature, 2005; 438: 578-80.
Gadsby DC. Ion channels versus ion pumps : the principal difference, in principle.Nature Rev. Mol. Cell Biol. 2009; 10: 344-352
Goni FM The basic structure and dynamics of cell membranes: An update of the Singer-Nicolson model. BiochimBiophysica Acta, 2014; 1838: 1467-76.
Kanai R. et al. Crystal structure of a Na^+bound Na K ATPase preceding the E1P state. Nature, 2013; 502: 201-206
Yeagle P.L. The structure of biological membranes. 3e édition. CRC Press, 2011

Jens Christian Skou
1918-2018
"découvreur" de la Na-K-ATPase
Prix Nobel 1997