

# Protéines et flux transmembranaires

**Introduction :** Les **protéines** sont molécules formées d'une succession d'AA (polypeptides). Elles peuvent être enchâssées dans les membranes lipidiques et contribuer aux transports de molécules (**flux transmembranaires**). Nous ne discuterons donc ni des flux indépendants des protéines ni des cytosoles qui ne sont pas des flux transmembranaires à proprement parler.

**Problématique :** Comment les protéines participent-elles aux flux transmembranaires et en quoi permettent-elles des flux contraires aux gradients chimiques.

## I- Mise en évidence expérimentale flux transmembranaires

### 1. La perméabilité de la membrane à l'eau : l'osmose

Observation de cellules (hématies, protoplastes végétaux ...) dans des solutions de concentrations variables en ions ( $\text{Na}^+$  par ex). **Turgescence, plasmolyse, milieu hyper/hypo/isotonique.** Il y a un transport d'eau de façon passive : présence d'un canal ou diffusion à travers les lipides ?

### 2. La perméabilité sélective de la membrane : étude expérimentale du potentiel de repos

L'analyse de la ddp entre les milieux intracellulaire et extracellulaire ( $V_m$ ) montre qu'il existe une inégale répartition des ions de part et d'autre de la membrane. Le transfert des ions de part et d'autre de la membrane dépend de **2 forces** : le **gradient chimique** et le **gradient électrique** (charge ou **force électromotrice, fem**). La ddp identifiée correspond au **potentiel d'équilibre de l'ion  $\text{K}^+$**  (déterminé par l'équation de Nernst). Cette correspondance prouve que : la membrane cellulaire a une perméabilité élevée pour  $\text{K}^+$ . A l'inverse la membrane est très peu perméable au  $\text{Na}^+$  → **Existence de protéines (canaux de fuite) contrôlant cette perméabilité.** Equation de Goldman : valeur du potentiel en tenant compte de plusieurs ions → Légère différence (92 mV contre 90 mesuré).

### 3. Protéines, potentiel oncotique et équilibre de Donnan

L'inégale répartition ionique est maintenue par l'équilibre de Donnan (et les transports actifs). Au cours des expériences d'osmose, il a été remarqué que l'ajout de protéines dans un compartiment modifie les équilibres ioniques. Les protéines étant chargées, elles modifient la valeur de la fem et participent à l'osmose par une **composante colloïde-osmotique (Potentiel oncotique)**. Le cytosol est généralement riche en protéines.

## II- Les flux transmembranaires passifs

### 1. Les protéines canal

La diffusion de l'eau peut se faire au niveau de canaux (aquaporines AQP) : il s'agit d'une protéine de 28 kDa qui ménage un pore de 0,2nm permettant le passage des molécules d'eau en file indienne (0,15nm). Le transport s'effectue dans les 2 sens.

### 2. Les tunnels ioniques

Les tunnels ioniques (ou canaux ioniques) fonctionnent sur le même principe (sélectivité liée au diamètre et aux charges). L'ouverture de ces canaux peut être contrôlée (chimiquement, électriquement ...). Ex : canaux de fuite  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  ...

### 3. Les protéines porteuses

L'étude du flux de glucose à travers la membrane de l'érythrocyte montre un profil semblable aux cinétiques michaéliennes (+blocage par des analogues structuraux comme la phloridzine) → Transport facilité par une **protéine porteuse**. Il y a donc une protéine qui participe au transport du glucose, celle-ci est saturable. Il s'agit d'une perméase de type GLUT1 (55kDa - canal à 12 hélices alpha transmembranaires – effet ping pong).

Rq : les protéines canal sont moins sélectives et donc insaturables.

## III- Les flux transmembranaires actifs

### 1. Les transporteurs actifs primaires : les pompes à protons

Il s'agit de transporteurs qui consomment de l'ATP et mobilisent un seul type d'ion (uniport). Ex : la pompe à  $\text{Ca}^{2+}$ , pompe à protons  $\text{H}^+$  ...

### 2. Les cotransporteurs actifs primaires

Il s'agit de transporteurs qui consomment de l'ATP et mobilisent plusieurs ions. Il existe différents types de cotransporteurs : les symports et les antiports. Ex : cas de l'**ATPase  $\text{Na}^+/\text{K}^+$**  qui entretient les gradients de ces 2 ions. A chaque ATP consommé, la pompe exporte  $3\text{Na}^+$  et importe  $2\text{K}^+$ . Il s'agit d'un **couplage chimioosmotique**. Voir également le cas de l'ATP  $\text{H}^+/\text{K}^+$  (estomac).

### 3. Les cotransporteurs et les transports actifs secondaires

Dans ce cas, la consommation d'ATP ne se fait pas sur place. Il y a utilisation d'un gradient (préalablement établie par une pompe ATPase). C'est le cas des cotransporteurs Glucose/ $\text{Na}^+$  des entérocytes, de l'antiport malate/ $\text{K}^+$  du tonoplaste (végétal). Dans ce cas, il y a un **couplage osmo-osmotique**.

**Conclusion :** La perméabilité des membranes est donc variable dans le temps et dans l'espace : c'est la perméabilité sélective. Celle-ci repose sur le fonctionnement des protéines transmembranaires qui permettent et régulent les flux. Ces flux sont également dépendants du milieu mais également de l'activité métabolique (cotransporteurs et transport actif secondaire).

**Ouv :** On pourrait se proposer d'étudier un cas pathologique de défaut de transporteur membranaire, notamment le **canal à chlore CFTR** dont le fonctionnement est altéré chez les patients atteints de **mucoviscidose**.

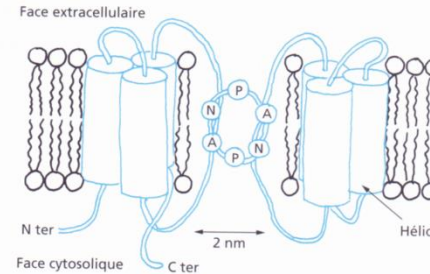


Figure 3.21 Modèle d'organisation de AQP 1 (D'après Durliat, Biochimie structurale, Diderot, 1997). N : Asparagine ; I : Proline ; A : Alanine.

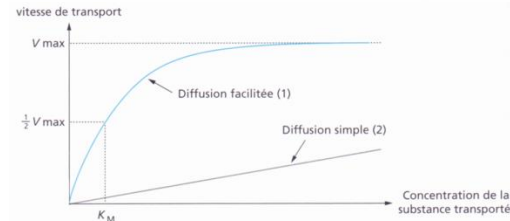


Figure 3.17 Comparaison des cinétiques de transport de la diffusion facilitée par une perméase (1) et de la diffusion simple (2).

Les vitesses initiales (en ordonnée) sont portées en fonction des différences de concentration de la substance transportée de part et d'autre de la membrane séparant les 2 compartiments. Dans le cas de la diffusion facilitée, une vitesse maximale ( $V_{max}$ ) et une constante d'affinité ( $K_M$ ) sont mesurables ; elles sont équivalentes à celles définies en enzymologie.

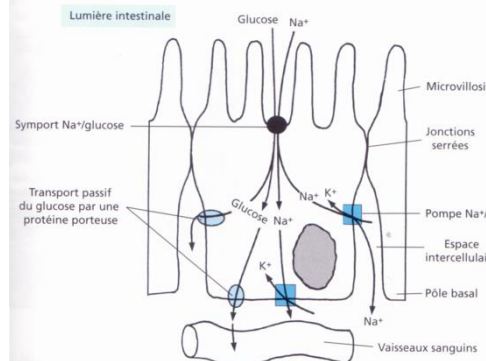


Figure 3.26 Schéma illustrant le transport trans-cellulaire du glucose au niveau d'un entérocyte.

TABLEAU 3.6 CLASSIFICATION SIMPLIFIÉE DES PRINCIPAUX TRANSPORTS.

	Contre le gradient (passif) $\Delta G^* < 0$	Empruntant la bicouche	Diffusion simple. Loi de FICK
Transports individuels transmembranaires		Empruntant une protéine membranaire	Protéine canal non saturable. Loi de FICK
		Diffusion facilitée	Protéine porteuse saturable
	contre le gradient (actif) $\Delta G^* > 0$	Empruntant une protéine membranaire porteuse saturable	
Transports en masse par vésicules closes			Transports cytotiques : endocytose, exocytose et transcytose

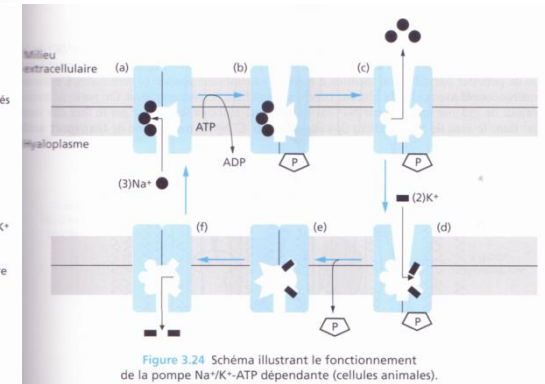
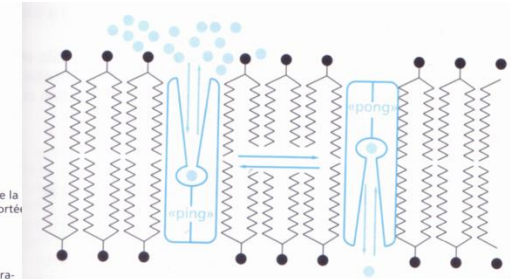


Figure 3.24 Schéma illustrant le fonctionnement de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP dépendante (cellules animales).