

Membranes biologiques

Exercice 1 :

La cytochalasine B, souvent utilisée comme inhibiteur des systèmes de motilité fondés sur l'actine, est également un très puissant inhibiteur compétitif de la capture de D-glucose par les cellules de mammifères. Quand des fantômes d'hématies sont incubés avec de la cytochalasine B tritiée, puis irradiés par des UV, la cytochalasine se lie au transporteur du glucose. La cytochalasine n'est pas liée au transporteur si un excès de D-glucose est présent durant la réaction de marquage ; en revanche, un excès de L-glucose (qui n'est pas transporté) n'interfère pas avec le marquage. Si les protéines de la membrane des fantômes marqués sont séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS, le transporteur apparaît comme un bande radioactive floue, s'étendant de 45 000 à 70 000 daltons. Si les fantômes marqués sont traités avant l'électrophorèse par un enzyme qui enlève les glucides liés, la bande floue disparaît, et une bande beaucoup plus nette, située à 46 000 daltons, la remplace.

- a) Pourquoi le D-glucose, mais non le L-glucose, empêche-t-il la liaison de la cytochalasine au transporteur du glucose ?
- b) Pourquoi le transporteur du glucose apparaît-il comme une bande floue sur les gels d'électrophorèse.

Exercice 2 :

L'axone géant de calmar est long de 5 à 10 cm et son diamètre est de 0.2 à 1 mm, ce qui a permis d'y introduire des électrodes et de mesurer des différences de potentiels. Lorsqu'on stimule cet axone maintenu dans de l'eau de mer le potentiel transmembranaire (V_m) passe de -70 à $+40$ mV. L'équation de Nernst relie le potentiel de membrane aux concentrations ioniques à l'équilibre.

$$V_m = 2.3 \frac{RT}{zF} \log_{10} \frac{C_{ext}}{C_{int}}$$

Soit en mV pour des cations monovalents à 20°C :

$$V_m = 58 \cdot \log_{10} \frac{C_{ext}}{C_{int}}$$

Connaissant les concentrations ioniques dans le cytoplasme et dans l'eau de mer, calculez le potentiel membranaire au repos dans le cas où le potentiel serait dû uniquement aux ions K⁺ et dans le cas où il serait uniquement dû au ions Na⁺.

Ion	Cytoplasme (mM)	Eau de mer (mM)
Na ⁺	65	430
K ⁺	344	9

Quelle est la valeur calculée la plus proche de la valeur mesurée du potentiel de repos et du potentiel d'action ? Expliquez pourquoi ces calculs sont proches des valeurs mesurées.

Si le bain de mer est remplacé par une solution dans laquelle le NaCl est substitué par du chlorure de choline (imperméant), on ne détecte pas d'effet sur le potentiel de repos mais l'axone ne génère plus de potentiel d'action lorsqu'on le stimule. Que deviendrait le potentiel d'action si la concentration de NaCl dans le milieu extérieur était réduite de la moitié, ou du quart de sa concentration normale (eau de mer) en utilisant du chlorure de choline pour maintenir l'équilibre osmotique.

Exercice 3 :

Le nombre d'ions Na⁺ entrant dans l'axone durant un potentiel d'action peut être calculé. Etant donné que les ions des milieux intérieur

et extérieur sont isolés par la membrane cellulaire, cette dernière se comporte comme une capacitance. Compte tenu des valeurs connues de capacitance des membranes biologiques, en partant d'un potentiel de repos de -70 mV on peut calculer que $1,1 \times 10^{-12}$ moles d'ions Na^+ entrent dans la cellule par cm^2 de membrane au cours d'un potentiel d'action.

Pour déterminer expérimentalement le nombre d'ions Na^+ entrant durant un potentiel d'action, un axone géant de calmar (1 mm de diamètre pour 5 cm de long) a été placé dans une solution contenant des ions Na^+ radioactifs (activité spécifique : 2×10^{14} cpm / mole) et un seul potentiel d'action a été déclenché sur toute la longueur de l'axone. Quand la radioactivité du cytoplasme a été analysée, il a été trouvé un total de 340 cpm.

- a) La valeur expérimentale est-elle proche de la valeur calculée ?
- b) Combien d'ions K^+ doivent traverser la membrane et dans quel sens pour rétablir le potentiel de repos après un potentiel d'action ?
- c) Connaissant la concentration intracellulaire de Na^+ (65 mM), calculez l'augmentation relative de la concentration interne de Na^+ qui résulte du passage d'un potentiel d'action.
- d) A l'opposé de l'axone d'un neurone, on trouve de petites dendrites ($1\mu\text{m}$). En supposant qu'elles ont la même longueur (cm), la même concentration interne de Na^+ que l'axone géant, calculez l'augmentation relative de la concentration interne de Na^+ qui résulterait du passage d'un potentiel d'action.

Exercice 4 :

Les changements de la concentration intracellulaire des ions peuvent bouleverser le comportement de la cellule. Par exemple lorsqu'un spermatozoïde de palourde entre en contact avec un œuf, cela

induit des changements ioniques qui aboutissent à la rupture de la membrane nucléaire de l'œuf, à la condensation des chromosomes et à la méiose. Le même effet est obtenu lorsqu'on met les œufs dans 60 mM de K^+ . On observe aussi que cette activation par 60 mM de K^+ est empêchée si les œufs sont placés dans un milieu ne contenant pas de calcium.

- a) Comment les 60 mM de K^+ modifient le potentiel de repos des œufs ?
- b) Que suggère l'absence d'activation par 60 mM de K^+ en absence de calcium quant aux mécanismes d'activation par le KCl.
- c) Que se passerait-il si le ionophore calcium A23187 était ajouté en absence de spermatozoïdes dans l'eau de mer, et en absence de calcium dans l'eau de mer.

N.B. : Remettre les sujets au plus tard le 24 mars et le 7 avril avant 18h pour le groupe 1 et 2 respectivement. Vous pouvez aussi envoyer vos copies par e-mail jusqu'à 20h.