

# Modèle osmotique: Pompes et fuites

## I - Physicochimie de la cellule

### 1. Potentiel chimique pression osmotique

La cellule contient de nombreuses molécules en solution dans l'eau. Ces molécules sont des polymères (protéines, ADN, ARN) et des petites molécules en solution dans l'eau qui sont soit neutres soit chargées. Les grandeurs thermodynamiques s'expriment en fonction de la pression et des concentrations  $n_i$  de tous les constituants,  $n_i = \frac{N_i}{V}$ . Le volume est  $V = \sum_i \left( \frac{\partial V}{\partial N_i} \right) N_i = \sum_i N_i v_i$  où  $v_i$  est le volume  $V$  d'une molécule. Nous supposons que la solution est incompressible et que le volume moléculaire ne dépend ni de la pression ni des concentrations  $n_i$ .

Le potentiel chimique du soluté  $i$  est  $\mu_i = kT \log n_i v_i + z_i e \psi + \mu_i^0(T, P)$ . Nous supposons ici que la solution est diluée mais on peut prendre en compte les interactions par un déviation de type viriel (Théorie de Flory Huggins).  $e$  est la charge élémentaire et  $z_i$  le valence de l'ion  $i$ ,  $\psi$  est le potentiel électrostatique local.

$$Rg \left( \frac{\partial \mu_i}{\partial P} \right)_{n_i} = \left( \frac{\partial V}{\partial n_i} \right)_P = v_i$$

Rg Pour un polymère  $n_i$  est la concentration en polymères et non en monomères et la formule du potentiel chimique n'est pas vraie pour le solvant.

La pression osmotique est liée au potentiel chimique du solvant

$$\pi = - \frac{\mu_s - \mu_s^0}{v_s} = kT \sum_{i \neq s} n_i$$

C'est la loi des gaz parfaits (solutions idéales ou  $v_s$  négatives)

Rg A concentration en masse de même ordre de grandeur la contribution  $n_i$  pour un polymère est faible et les polymères contribuent très peu à la pression osmotique. La pression osmotique compte le nombre de solutés.

### 2. Equilibre de Donnan F. Donnan Nature 1941

gel cellule : milieu externe

$m_+$   $c_+$   $m_+^e = m_+$

$m_-$   $c_-$   $m_-^e = m_-$



La cellule contient soit un gel soit des molécules imperméables qui ne traversent pas la membrane chargée négativement  $c^-$

Les petites molécules les ions et l'eau sont à l'équilibre entre extérieur et intérieur (traversant librement la membrane). Leurs potentiels chimiques sont égaux à l'intérieur et à l'extérieur:

$$\text{Équilibre des ions } kT \log m_i v_i + z_i e \psi = kT \log m_o v_i + e \psi_e$$

soit pour des ions + et - monovalents  $\log \frac{n_+}{n_o} + \psi = 0$   $\log \frac{n_-}{n_o} - \psi = 0$

où  $\psi = \frac{\psi - \psi_e}{e}$  et en ajoutant  $n_+ n_- = n_o^2$  (\*)

Par l'origine  $kT$  de  $\psi$  (c-), ordre de grandeur  $\sim 50$  mV (\*)

Si le volume du gel (de la cellule) est fixé à la valeur  $V$ ,  $c_-$  est fixé. La solution est électrostatiquement neutre donc  $c_- z + n_- = n_+$

où  $z$  est la charge des molécules inorganiques. On peut à partir de ces deux équations calculer  $n_+$  et  $n_-$   $n_+ = \frac{c_- z + \sqrt{(c_- z)^2 + 4n_o^2}}{2}$

$n_+$  est plus grand que  $n_o$  et  $n_-$  plus petit

$$= c_- + n_+ + n_-$$

La pression osmotique est  $\frac{\Pi}{c_-} = c_- + \sqrt{(c_- z)^2 + 4n_o^2}$  elle est toujours plus grande que la pression externe  $\Pi_e = 2kT n_o$ . Pour qu'il y ait un équilibre osmotique et il faut une pression osmotique externe négative qui compense l'excès de pression osmotique. Pour un gel c'est la contribution de l'élasticité du gel.

### 3. Équilibre osmotique

Nous considérons une cellule dans ces conditions. Elle est hors équilibre et échange de l'eau, des ions (et éventuellement des molécules neutres avec l'extérieur). L'énergie libre pertinente est  $\Omega = G - \sum \mu_i^e N_i$  où  $G$  est l'enthalpie libre. Si la pression à l'intérieur est fixée

$$d\Omega = \sum dN_i (\mu_i - \mu_i^e) \text{ et la production d'entropie est}$$

$$T\dot{S} = - \frac{d\Omega}{dt} = - \sum \frac{dN_i}{dt} (\mu_i - \mu_i^e)$$

Si on compte les flux  $j_i$  vers l'intérieur  $\frac{dN_i}{dt} = \sum_j j_j = \sum_j A_j j_j$  où  $A$  est l'aire et  $T\dot{S} = A \sum_j -(\mu_i - \mu_i^e) j_j$

Dans la description d'Onsager les flux sont proportionnels aux forces et  $j_i = - \sum_j L_{ij} (\mu_j - \mu_j^e)$  où la matrice  $L_{ij}$  est symétrique. En pratique les 2 termes non diagonaux sont petits  $L_{ij} \ll L_{ii}$  L. Bocquet et  $L_{ii} = g_i$  est la "conductance".

Pour l'eau  $\mu_s = -\pi V_s + \mu_s^0$  et  $\mu_s - \mu_s^{ex} = V_s (\Delta P - \Delta \pi)$   
 soit  $j_s = V_s g_s (\Delta \pi - \Delta P)$  où  $\Delta \pi = \pi - \pi_{ex}$   $\Delta P = P - P_{ex}$   
 Pour les ions  $j_i = -g_i kT \left[ \log \frac{m_i}{m_0} + g_i \varphi + \frac{V_i \Delta P}{kT} \right]$

La variation de volume est  $\frac{dV}{dt} = \sum_i V_i \frac{dN_i}{dt} = A \sum_i V_i j_i$ . La somme est dominée par l'eau

et  $\frac{dV}{dt} = A g_p V_s^L (\Delta \pi - \Delta P)$  si  $\Delta \pi > 0$  l'eau rentre dans la cellule le milieu est hypo-osmotique.

celle le milieu est hypo-osmotique.

Rq la pression osmotique interne prend en compte les molécules perméantes et les molécules imperméantes. Dans la cellule la perméabilité de l'eau est due aux aquaporines.

#### 4. Composition de la cellule

Pour écrire explicitement l'équilibre osmotique de la cellule il faut connaître les molécules qui la composent, leur nombre, leur masse et leur concentration.

de livre *Biology by the numbers* de R. Phillips et R. Milo ou le site web associé, permettent d'obtenir ces données et la figure montre les composants d'une cellule typ.

La masse sèche de la cellule  $M_s$  est dominée par les protéines qui sont des polymères de grande masse et donc des molécules imperméantes. Chaque protéine est formée d'un grand nombre d'acides aminés.

La pression osmotique est dominée par les petites molécules: les ions dont une partie importante sont les contreions qui assurent la neutralité (des protéines, des acides nucléiques) qui sont des molécules perméantes et les acides aminés libres, ou les métabolites qui sont des molécules imperméantes. Noter l'importance du glutamate R. Rollin qui intervient cependant peu dans la composition des protéines.

Dans la suite, nous considérons 4 types de molécules composant la cellule: l'ADN, les protéines, les métabolites et les petits ions.

Nous considérons les ions comme ponctuels et monovalents de concentration  $m_+$  et  $m_-$ . Nous ne distinguons pas entre les différents types d'ions. Nous considérons une protéine moyenne qui a  $l$  monomères acides aminés et de masse  $l m_a$  et de charge négative  $-z_p$ . De même les acides

amino ont une charge moyenne  $m_p$  et une charge  $-z_p$ . Les deux espèces sont imperméables et confinées dans la cellule.

Rq II y a beaucoup d'acides aminés neutres et  $z_p$  n'est pas très grand  
 $z_p \approx 1$ .

## II. Membrane Plasmique

La membrane de la cellule joue deux rôles; elle régit l'entrée des molécules perméables dans la cellule (eau, ions) et elle exerce une tension mécanique qui est surtout due à la couche corticale d'actine liée à la membrane. La tension de la membrane elle-même est faible  $\gamma_m \approx 10^{-5} \text{ N/m}$  mais la tension de la couche corticale formée d'actine et de myosine est plus importante  $\gamma_c = 10^{-3} \text{ N/m}$ . La contractilité de la membrane est due aux protéines moléculaires myosines.

Le transport de molécules à travers une membrane de phospholipides ne peut se faire qu'à travers des protéines.

spécifiques figure les canaux passifs et les pompes actives. Les canaux laissent passer les ions ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$ ) et l'eau (aquaporins). Les pompes consomment de l'énergie (ATP) et envoient un flux d'ion dans une direction donnée. Un exemple important est la pompe Sodium-Potassium qui exporte 3 ions sodium et importe 2 ions potassium. (NKP) *Kag*

### III Modèle "Pompes et fuites" *Tostean et Hoffman (1960) Rollin-Sem (2012)*

#### 1. Volume de la cellule

Le modèle "Pump and leak" décrit le volume d'équilibre des cellules à temps courts et inclut les équilibres mécaniques et osmotiques et prend en compte l'électroneutralité locale

$$\text{Pour les ions: } \frac{dn_+}{dt} = -A \left[ kT g_+ \left[ \log \frac{n_+}{n_0} + \varphi \right] + j \right], \quad \frac{dn_-}{dt} = -A \left[ kT g_- \left[ \log \frac{n_-}{n_0} - \varphi \right] \right]$$

où nous avons ajouté un flux d'ions positif vers l'extérieur dû à la pompe Sodium-Potassium. A l'état stationnaire  $n_+ n_- = \alpha n_0^2$  où l'efficacité de pompage est  $\alpha = e^{-\varphi / (kT g_+)}$ . En l'absence de pompe,  $\alpha = 1$  mais il n'y a pas d'état stationnaire car la pression osmotique interne est plus grande que la pression osmotique externe. Si le pompage est très grand  $\alpha = 0$ . Il reste des ions positifs à l'intérieur de la cellule mais tous les ions négatifs sont exportés; il ne reste que les contenus des molécules non perméantes. En reproduisant le calcul de l'effet Donnan

$$n_+ = \frac{(zC_-) + \sqrt{(zC_-)^2 + 4n_0^2 \alpha}}{2} \quad \text{et} \quad \frac{\Delta \Pi}{kT} = C_- + \sqrt{(zC_-)^2 + 4n_0^2} - 2n_0 \quad \text{où } C_-$$

est la concentration de toutes les molécules imperméantes (protéines et métabolites) et  $z$  leur charge moyenne en valeur absolue

L'équilibre osmotique est atteint si  $\frac{dV}{dt} = 0$  soit  $\Delta \Pi = \Delta P = \frac{2\gamma}{R}$  (pression de Laplace). Mais  $\Pi_i > 1 \text{ atm} \gg \frac{\gamma}{R}$  et l'effet mécanique est négligeable.

Par souci de simplicité nous allons écrire ici seulement les résultats de ce modèle dans la limite de fort pompage  $\alpha = 0$ . Les expressions pour une valeur finie de  $\alpha$  sont un peu plus compliquées. Avec cette approximation  $C_- = \frac{n_0}{\alpha}$  et le volume est tel que  $C_- = \frac{C}{V - V_0}$  où  $C$  est le nombre total de molécules non perméantes  $C = P + A$  où  $P$  est le nombre

de protéines et  $A$  le nombre de métabolites  $V_s = \frac{M_s}{\rho_s}$  est le volume occupé par la masse sèche  $M_s$  et  $\rho_s$  sa densité. soit

$$V = V_s + \frac{C(1+z)}{2n_0} \quad \text{et } C \approx A \text{ d'après la composition de la cellule (2)}$$

la masse sèche est  $M_s = P(l m_a + z_p m_i) + A(m_a + z_a m_i)$  où  $m_a$  est la masse d'un acide aminé et  $m_i$  celle d'un ion et  $P$  le nombre d'acides aminés par protéine. La densité de masse sèche est  $\rho_s = \frac{P l m_a (2n_0)}{A(1+z)}$

Elle ne dépend que de la force ionique du milieu externe  $m_0$  et du rapport du nombre de protéines au nombre de métabolites (acides aminés).

Rq Nous avons ici défini  $\rho_s = \frac{M_s}{V - V_s}$ . En général  $V_s \ll V$ .  
 L. Volume du noyau

Nous pouvons traiter le volume du noyau comme nous avons traité celui de la cellule en faisant un modèle de pompes et fuites imbriquées. Il y a trois différences essentielles : les pores nucléaires sont plus larges que les canaux de la membrane plasmique et laissent passer des molécules de masse  $m_p \leq 40000$ , petites protéines et métabolites (que nous considérons toutes comme métabolites). Il n'y a pas de pompes dans la membrane nucléaire. La membrane du noyau est associée à une couche corticale de lamines qui forment un réseau élastique dont la tension n'est pas toujours négligeable contrairement à la tension de la couche corticale d'actine *figure*. Parmi les composants dans le noyau, il faut aussi prendre en compte l'ADN

Equilibre osmotique  $\Delta \Pi_{nc} = \Delta P_{nc} = \frac{2}{R} \sigma \approx \Delta \Pi_{nc}$   <sup>$\Delta \Pi_{nc} \approx 50$</sup>   $\sigma =$  tension nucléaire  
 Les flux d'ions  $\ominus$  sont nuls entre noyau  $R_N$  et cellule et entre cellule et extérieur, le potentiel chimique des ions négatifs est donc constant  
 $\mu_{\bar{n}} = \mu_c = \mu_{ex} \quad \text{Log} \frac{n_{\bar{n}}}{m_0} - \Phi_N = 0 \quad \Phi_N = \frac{(\psi_N - \psi_c)e}{kT} (< 0)$

Pour les ions positifs il faut prendre en compte les pompes à la membrane cellulaire  $g_c^+ (kT \text{Log}(n_c^+/m_0) + e(\psi_c - \psi_e) + j_a) = 0, \quad g_n^+ [kT \text{Log}(n_n^+/m_0) + e(\psi_n - \psi_c)] = 0$

soit  $\text{Log} \frac{n_n^+}{m_0} + \Phi_N + \frac{j_a}{g_c^+ kT} = 0$  et en ajoutant les 2 équations  
 $n_n^+ n_{\bar{n}} = \alpha m_0^2$

L'équation d'électroneutralité s'écrit

$p_n z_p + a_n z_n + q + m_- = m_+$  ou  $c_n z_n + q + m_- = m_+$  où  $c_n = a_n p_n$  et  $q$  est la charge effective (Condensation de Manning) de l'ADN

des nombres de protéines dans le noyau  $P_n$  et la charge de l'ADN sont fixes et en masse  $P_n > Q$  mais les métabolites s'échangent entre le noyau et la cellule. La somme  $A_n + A_c = A_0$  est fixée mais les proportions entre cellule et noyau se trouvent comme pour les ions  $a_n n_i^+ z_i^+ = a_c n_c^+ z_c^+$  où  $a$  est la concentration en métabolites  $a = A/(V - V_0)$

On trouve un volume qui a une expression similaire à celui de la cellule  $V_n = V_n^0 + \frac{C_n(1+z_n) + Q}{2m_0 + \frac{2\sigma(1+z_n)}{kTm_0R_n}}$ . Cela permet de calculer le rapport

stoechiométrique intracellulaire  $kT R_n$  par Hertwig  $NC = \frac{C_n(1+z_n) + Q}{C_c(1+z_c) \left[ \frac{1 + \frac{2\sigma(1+z_n)}{kTm_0R_n}}{2kTm_0R_n} \right]}$   
 $= (V_n - V_n^0) / (V_c - V_c^0)$

Nous avons gardé dans cette expression la tension de la lamina qui peut être importante. Si  $\frac{\sigma}{2kTm_0R_n} \ll 1$  comme pour la cellule la densité est constante quand la taille du noyau varie. **Figure Reber**. Ce scaling nucléaire est basé sur 3 effets

- La tension de la lamina
- le transport actif à la membrane nucléaire
- la prise en compte de l'ADN mais masse protéines > masse ADN

### III Cellules en équilibre Mon Gue et al, Venhove et al, Aden et Saphan

Nous n'avons discuté que le volume des cellules "en suspension". Mais important est celui des cellules qui s'établissent sur un substrat solide. L'article **Venhove et al** donne une étude détaillée pour des cellules HeLa avec une interprétation théorique basée sur le modèle de "pompes et fuites" avec trois modifications

- la tension cellulaire dépend de l'établissement  $\tau \frac{dV}{dt} + \gamma = kT \frac{dA_c}{dt}$  **modèle de surface ?**  
 où  $A_c$  est l'aire totale de la cellule
- il faut prendre en compte explicitement les ions Potassium et Sodium et la pompe sodium potassium. Les conductances de ces ions dépendent de la tension (voir aussi les articles de **Aden et Saphan**) la conductance des ions  $Na^+$  décroît avec la tension et celle des ions  $K^+$  croît.

(1) Nous considérons les ions comme ponctuels et nous considérons que tous les ions positifs et tous les ions négatifs sont identiques. Le résultat est le même si on distingue 2 types d'ions positifs  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  (proportions différentes à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule)

(2)  $V$  dépend du nombre de molécules imperméables (protéines) et de la face ionique. Il augmente pour un choc hypo-osmotique  $\rightarrow$  et diminue pour un choc hyper-osmotique

(3) Commenter sur le potentiel électrique  $\varphi \approx 50 \text{ mV}$  à cause des ions négatifs

4 En change c'est moins évident nous verrons des valeurs dans le cours suivant