



Membranes biologiques : vers un modèle physique

Le modèle fondateur de Singer et Nicolson proposé pour décrire les membranes biologiques postulait une matrice fluide formée par une bicouche lipidique dans laquelle les protéines sont distribuées de manière aléatoire et libres de diffuser. Les expériences menées depuis, principalement par des mesures de la diffusion, ont cependant révélé une grande complexité de l'organisation dynamique des membranes biologiques, reliée aux fonctions biologiques qui y sont accomplies. Ce domaine de recherche très actif réunit aujourd'hui une communauté scientifique interdisciplinaire œuvrant à établir un modèle plus réaliste des membranes cellulaires.

Les cellules vivantes renferment une importante quantité de membranes qui assurent une grande diversité de rôles, en faisant une composante omniprésente et essentielle de la vie cellulaire. Leur fonction première est sans aucun doute la compartimentation. Celle de la cellule elle-même, par la membrane plasmique, mais également du noyau, par la membrane nucléaire, et des autres organites internes (tels l'appareil de Golgi ou le réticulum endoplasmique). Le transport de matériel (protéines) d'un compartiment à un autre de la cellule est par ailleurs pris en charge par des vésicules « cargos », particules sphériques enveloppées par une membrane, qui se déplacent en suivant les autoroutes de la cellule que sont les filaments du cytosquelette. Les membranes assurent l'intégrité des compartiments qu'elles délimitent en empêchant ou freinant considérablement le libre passage de macromolécules et d'ions. Un transport actif et régulé est toutefois assuré à travers la membrane pour permettre les échanges nécessaires à la survie et au fonctionnement cellulaire, ainsi que la transduction du signal qui transforme une information reçue à la périphérie de la cellule sous forme de photon, ion, petite molécule ou macromolécule en cascade d'événements biochimiques conduisant à la réponse cellulaire.

Les membranes biologiques ont deux constituants principaux, représentant chacun environ 50 % en masse : les lipides et les protéines. Les lipides sont des molécules amphiphiles qui comportent deux parties distinctes : une tête polaire (hydrophile) et deux chaînes d'acides gras (hydrophobes). En milieu aqueux, les interactions hydrophobes conduisent à un auto-assemblage supra-moléculaire spontané des lipides en bicouche. Les chaînes d'acide gras sont au centre pour minimiser leur contact avec l'eau, et les parties polaires sont en périphérie, en contact avec l'eau. Parmi l'immense famille des lipides qui se distinguent en particulier par des têtes polaires de nature et état de charge différents, le cholestérol, abondant dans les cellules animales (il représente 20 à 50 % des lipides de la membrane plasmique),

occupe une place particulière. Il altère l'ordre des chaînes d'acides gras des lipides environnants au point de pouvoir modifier l'état de phase de la bicouche lipidique (voir [encadré 2](#)). On distingue par ailleurs deux types de protéines membranaires. Les protéines intrinsèques ou transmembranaires sont insérées dans la membrane et la traversent de part en part, leur cœur hydrophobe au contact des chaînes d'acide gras des lipides et leurs parties polaires plus ou moins protubérantes des deux côtés de la membrane. Les protéines extrinsèques ou périphériques sont accolées à la membrane, par des interactions électrostatiques ou par des ancrages (chaînes carbonées ou séquence d'acides aminés hydrophobes).

En l'absence de liaisons covalentes entre l'ensemble des constituants membranaires, leurs interactions sont faibles et la membrane peut généralement être considérée comme un fluide bidimensionnel, ce qui confère aux lipides et aux protéines une grande dynamique diffusionnelle. Néanmoins, la grande variété de lipides et de protéines (plusieurs milliers) au sein d'une même cellule, ainsi que le caractère hors équilibre de ce système vivant, en font un système multi-moléculaire complexe fortement inhomogène. Les membranes sont ainsi caractérisées par des hétérogénéités de distribution et d'état de phase de leurs constituants, à des échelles allant de la dizaine de nanomètres à la dizaine de microns. Un degré de complexité supplémentaire provient de l'environnement immédiat de la membrane susceptible d'interagir avec les protéines mais également les lipides ([figure 1](#)). Du côté intracellulaire, le cytosquelette sous-membranaire est un réseau de filaments d'actine ponctuellement ancré à la membrane. Du côté extra-cellulaire, le glycocalix est formé par des chaînes saccharidiques ramifiées greffées sur des molécules membranaires.

Un grand défi de la biologie, que la physique devrait aider à relever, est d'établir et de comprendre les relations entre la subtile organisation dynamique des membranes et les fonctions biologiques qui y sont accomplies. Bien entendu, une description précise de la



membrane est illusoire, et surtout inutile pour répondre à ces questions aux échelles de temps et d'espace d'intérêt. Il s'agit plutôt de proposer une modélisation réaliste capable d'appréhender les caractéristiques pertinentes de la membrane.

L'évolution du concept de membrane biologique

Les premiers modèles de la membrane cellulaire remontent à la fin du XIX^e siècle. Ils sont fondés sur les similarités qui existent entre les propriétés des membranes cellulaires et les lipides tels que ceux présents dans l'huile d'olive. En 1925, les biologistes Gorter et Grendel solubilisent les lipides de globules rouges et les déposent à la surface de l'eau dans une cuve de Langmuir. En mesurant les aires de la membrane du globule rouge et de la mono-couche déposée, ils déduisent que la membrane est formée d'une double couche de lipides. Les protéines entrent dans la description quelques années plus tard mais leur localisation et leur distribution restent à élucider. Cette question demeure encore d'actualité. Entre 1940 et 1950 apparaissent deux techniques qui permettent des progrès rapides dans la connaissance de la structure cellulaire et de la membrane plasmique : l'ultracentrifugation différentielle et la microscopie électronique. Les observations de microscopie électronique renforcent l'hypothèse de bicouche, révèlent l'asymétrie de la membrane et suggèrent la présence de structures globulaires, composées de protéines. Après diverses spéculations, le modèle de mosaïque fluide est proposé par Singer et Nicolson en 1972. La membrane y est décrite comme une bicouche fluide dans laquelle sont insérées des protéines pouvant y diffuser librement. Ce modèle prévaut encore actuellement.

Que révèle la diffusion des protéines et des lipides ?

A peine quelques années plus tard, les techniques de FRAP et FCS (pour « Retour de fluorescence après photo-blanchiment » et « Spectroscopie de corrélation de fluorescence », voir [encadré 1](#)) étaient développées par W.W. Webb, grand pionnier (encore en activité) dans le développement d'outils expérimentaux de la physique pour l'imagerie et la spectroscopie de cellules biologiques. Les premiers résultats ont soulevé d'emblée deux questions fondamentales encore non résolues :

- quelle est la cause du ralentissement des protéines dans les membranes plasmiques cellulaires ? La constante de diffusion d'une protéine y est effectivement de l'ordre de $0,1 \mu\text{m}^2/\text{s}$, soit un à deux ordres de grandeur plus

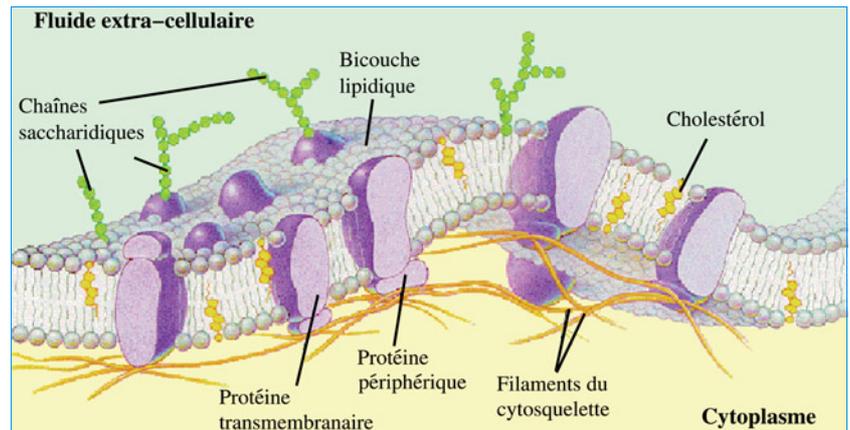


Figure 1 – Schéma de la membrane plasmique, avec ses composants évoqués dans le texte. La bicouche a une épaisseur de l'ordre de 5 nm. D'après Greg Geibel, http://sun.menloschool.org/~cweaver/cells/c/cell_membrane/.

faible que dans une membrane modèle constituée d'une bicouche lipidique pure dans laquelle sont insérées des protéines en faible concentration. La diffusion serait donc limitée soit par un fort encombrement en protéines, soit par un confinement (éventuellement temporaire) des protéines dans des domaines membranaires ;

- quelle est l'origine des hétérogénéités de distribution latérale à l'échelle micro et submicrométrique ? Les fractions de lipides et protéines mobiles à la surface de cellules vivantes accessibles par FRAP, toujours inférieures à 1, sont là aussi la signature que leur diffusion est fortement perturbée par des hétérogénéités membranaires.

Il n'a fallu ensuite attendre qu'une décennie pour que se développe la technique de Suivi de particule unique (Single Particle Tracking ou SPT, suivi du Single Molecule Tracking ou SMT, voir [encadré 1](#)) permettant la détection et le suivi de molécules individuelles avec une résolution spatiale nanométrique. Avoir ainsi accès aux comportements individuels, masqués dans les mesures d'ensemble obtenues en FRAP ou FCS, a permis de révéler une grande diversité des modes de diffusion, non seulement entre molécules différentes, mais aussi au sein d'un échantillon de molécules identiques dans une même cellule. Une caractéristique remarquable des trajectoires de SPT ou SMT est qu'elles montrent très généralement un confinement de la diffusion aux temps courts ($< 1 \text{ s}$), dans des domaines dont le diamètre varie de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres. Ce confinement peut être temporaire, en alternance avec des périodes de diffusion libre, ou permanent. Dans ce dernier cas, peut se superposer à cette diffusion confinée une diffusion plus lente aux temps longs ($> 1 \text{ s}$). Un tel comportement est révélé par le déplacement quadratique moyen de la position (cf. [figure 2](#) de l'[encadré 1](#)).

Ces observations ont donné lieu à l'émergence de plusieurs modèles d'organisation dynamique des membranes, proposant différentes origines au confinement (voir [encadré 2](#)). Ainsi, dans le modèle de « corrals », ce



Encadré 1

Analyser la diffusion des molécules membranaires

L'étude de la diffusion utilise couramment des montages de microscopie optique, le plus souvent de fluorescence. La conjugaison d'un fluorophore peut se faire par voie chimique ou génétique. Les méthodes de FRAP et FCS réalisent une mesure moyenne, alors que les SPT et SMT suivent des molécules uniques et permettent une caractérisation plus fine des sous-populations.

1) « FRAP » ou Retour de fluorescence après photoblanchiment : l'intensité de fluorescence est mesurée dans une zone bien définie après photodégradation des sondes pendant un temps court. L'analyse du retour de fluorescence, dû à la diffusion des molécules marquées non-photodégradées extérieures à cette zone (figure 1a), fournit la constante de diffusion (dans une gamme comprise entre 10^{-3} et $10 \mu\text{m}^2/\text{s}$) et la fraction de molécules mobiles. La réalisation d'expériences à taille de zone variable (de 1 à $5 \mu\text{m}$) permet d'identifier s'il existe une compartimentation de l'espèce diffusante, et d'estimer la taille des compartiments ($> 150 \text{ nm}$).

2) « FCS » ou Spectroscopie de corrélation de fluorescence : c'est une méthode d'étude des fluctuations de fluorescence produites par un petit nombre de molécules entrant et sortant d'un volume d'observation d'une fraction de femtolitre, défini par un faisceau laser focalisé (figure 1b). Le temps de diffusion τ_d d'une espèce molé-

culaire est déduit de la fonction d'auto-corrélation temporelle $g^{(2)}(\tau) = \langle I(t) I(t + \tau) \rangle / \langle I(t) \rangle^2$, où $I(t)$ est l'intensité de fluorescence. Dans le cas simple d'une diffusion brownienne libre, $g^{(2)}(\tau) = 1 + \frac{1}{N} \times \frac{1}{1 + \tau/\tau_d}$, où N est le

nombre moyen de molécules dans la surface d'observation. τ_d est relié au « waist » transversal w du faisceau laser focalisé et à la constante de diffusion D par $\tau_d = w^2/(4D)$. La FCS a une excellente dynamique temporelle car la fonction d'auto-corrélation temporelle est construite pour τ allant de la nanoseconde à la minute, et une résolution spatiale limitée par la diffraction optique (environ 200 nm).

3) Le suivi de molécule unique (SPT et SMT) : Les progrès technologiques de la décennie passée ont permis le développement du suivi des déplacements de molécules individuelles par vidéomicroscopie couplée à l'analyse d'images. Les sondes utilisées sont soit des particules submicrométriques (particules de latex, nanocristaux ou colloïdes d'or, couplés à la molécule d'intérêt par un anticorps), et on parle alors de suivi de particule unique ou SPT, soit des molécules fluorescentes (suivi de molécule unique ou SMT). La résolution spatiale est de l'ordre du nanomètre. La résolution temporelle généralement imposée par la cadence vidéo peut atteindre la centaine de Hz. Aller au-delà par des techniques d'imagerie est d'ores et déjà possible mais nécessite une puissance d'éclairage telle que l'élévation de température peut biaiser les mesures sur cellules vivantes. A partir des trajectoires des molécules, le calcul du déplacement quadratique moyen de la position en fonction du temps permet de déterminer les modes de diffusion.

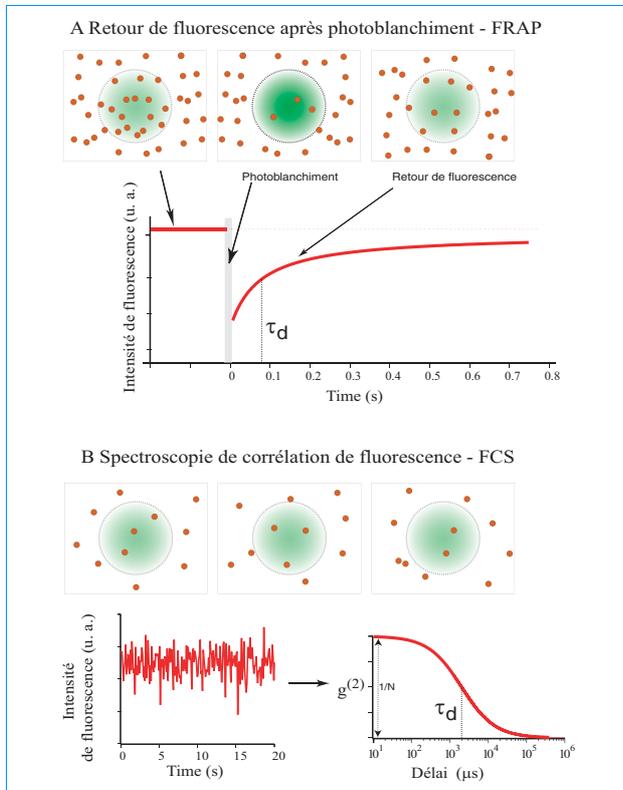


Figure 1 – Principes du FRAP et de la FCS. Ces deux méthodes utilisent un laser pour éclairer une petite région de la membrane (en vert) et collectent la fluorescence de molécules marquées (en rouge) à l'aide d'un montage confocal. D'après Marguet *et al.* 2006. Dynamics in the plasma membrane - How to conciliate fluidity and order. Embo. J., sous presse.

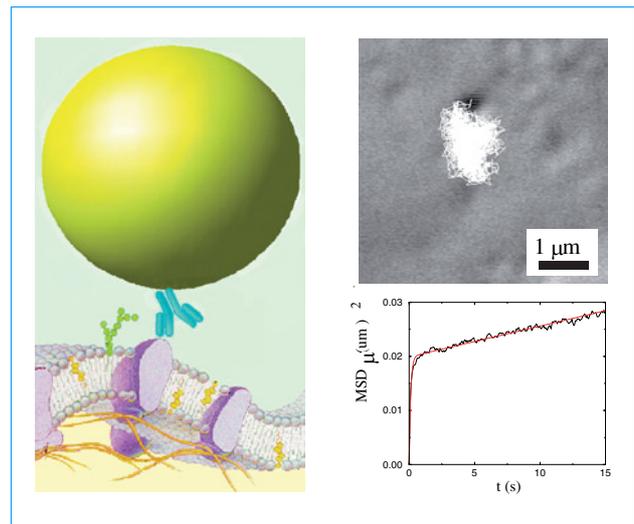


Figure 2 – Gauche : Le schéma de principe du « suivi de molécule unique ». La particule ou molécule (ici un colloïde d'or) suivie en vidéomicroscopie est greffée à la protéine ou au lipide d'intérêt par l'intermédiaire d'un anticorps, en bleu ; Droite : en haut une trajectoire acquise par cette technique (pendant 2 mn), en bas le déplacement quadratique moyen (MSD) de la position en fonction du temps, calculé à partir de cette trajectoire. A une diffusion rapide et confinée aux temps courts se superpose une diffusion lente aux temps longs.



Encadré 2

Modèles de domaines membranaires

Différents types de trajectoires impliquant un confinement de la diffusion ont pu être identifiés (*voir texte*). Chacun a été associé à un modèle propre dont nous donnons les principales caractéristiques. Cette liste n'inclut pas les domaines visibles en microscopie électronique tels les cavéoles et vésicules recouvertes de clathrine, dont les structures et fonctions sont mieux comprises, et donc moins sujets à débat.

1) Radeaux lipidiques ou « Rafts » : ce concept a été proposé en 1988 par deux biologistes, K. Simons et G. Van Meer, pour expliquer l'asymétrie du transport membranaire. Ces micro-domaines de quelques dizaines de nanomètres serviraient de plates-formes de tri et de signalisation, en recrutant des protéines ayant pour eux une grande affinité. Ils sont décrits comme étant riches en cholestérol, glycolipides, sphingolipides et en phospholipides présentant moins d'insaturations que celles des lipides dans la membrane environnante, ce qui permet un meilleur compactage des chaînes saturées de sphingolipides. Dans cette description, la présence de cholestérol induirait une phase liquide ordonnée ayant une fluidité plus faible que le reste de la membrane. De nombreuses questions concernant ces micro-domaines sont encore débattues : existent-ils (ils n'ont en effet jamais été observés directement et n'ont pu être mis en évidence que par des méthodes biochimiques invasives sujettes à caution) ? Sont-ils stables ? Quelle est leur distribution de taille et leur dynamique ? Confinent-ils les molécules et si oui, lesquelles et comment ?

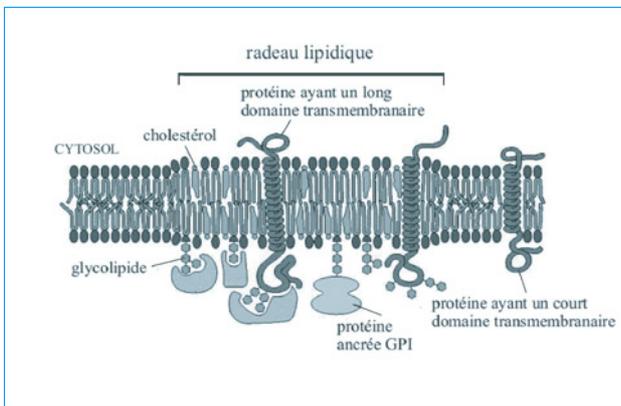


Figure 1 – Schéma de radeau lipidique ou « raft », et des molécules qui sont supposées s'y regrouper préférentiellement. D'après le livre de B. Alberts *et al.*, *Molecular biology of the cell* (Garland Publishing, New York, 2002).

2) « Corrals » ou domaines délimités par le cytosquelette : inspiré du modèle établi pour expliquer les comportements diffusionnels à la surface des globules rouges, ce modèle de « barrières et piquets » (groupe d'A. Kusumi, 1993 puis 2002) propose que les protéines membranaires sont confinées par leur collision, soit avec les filaments d'actine du cytosquelette sous-membranaire, soit avec des protéines liées au cytosquelette ancrées à la membrane. Les domaines ont un diamètre de quelques centaines de nanomètres. Les sauts entre domaines permis par les fluctuations

thermiques conduisent à une diffusion lente aux temps longs. Ce modèle rend compte de la restriction de la diffusion observée pour les protéines ainsi que les lipides.

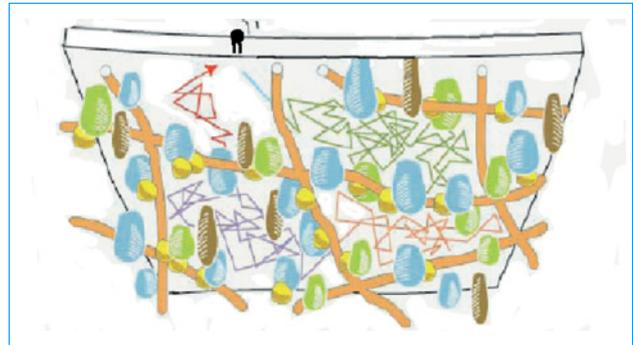


Figure 2 – Dans un modèle de « barrières et piquets », le cytosquelette (orange) constitue des mailles de quelques centaines de nm qui bloquent partiellement les protéines membranaires (bleu, marron, vert). Est représentée ici la face interne de la membrane. D'après Fujiwara *et al.*, 2002.

3) « Agrégats dynamiques » : ce modèle de « particules browniennes en interaction », proposé par nos équipes en 2003, fait appel à des interactions attractives entre protéines à suffisamment longue portée comme source de leur confinement sous forme d'assemblées dynamiques de quelques dizaines de protéines (pas nécessairement identiques). En tenant compte du fort encombrement en protéines des membranes plasmiques, il décrit parfaitement les expériences où la rareté des sauts exclut un modèle de corrals. La diffusion aux temps longs est assurée par la diffusion lente des centres de masse des assemblées (typiquement, des assemblées de N particules ont des constantes de diffusion N fois plus faibles que les particules individuelles). Ce modèle explique la loi d'échelle, observée maintenant pour plusieurs protéines différentes, entre la constante de diffusion D aux temps courts et la taille L du domaine : $D \sim L^2$.

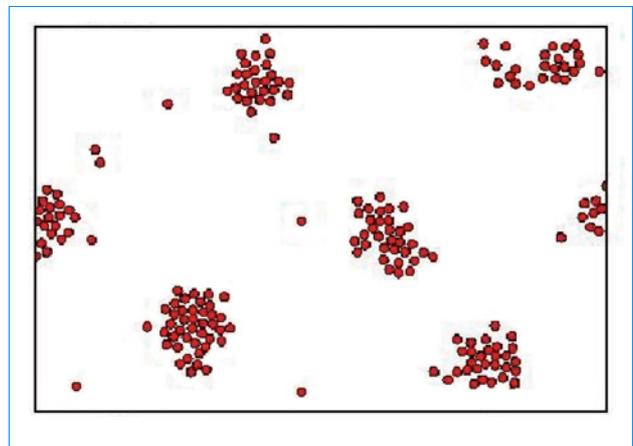


Figure 3 – Simulation d'un modèle de « particules browniennes en interaction ». Les interactions attractives entre protéines membranaires (en rouge) assurent l'existence d'assemblées de protéines causant leur confinement.



comportement est attribué à des sauts entre domaines membranaires adjacents délimités par le cytosquelette, dont la taille est de quelques centaines de nanomètres. Toutefois, des travaux récents de deux de nos équipes sur le récepteur μ aux opioïdes, qui appartient à la grande famille des récepteurs couplés aux protéines G, ont mis en évidence des mécanismes qui ne sont pas physiquement compatibles avec ce modèle. Nous avons élaboré un algorithme de détection de sauts dans les trajectoires issues de SPT, basé sur des arguments simples de théorie de la diffusion. Il nous a permis de montrer que ces trajectoires comprennent trop peu de sauts pour pouvoir être décrites par un modèle de barrières rigides. Par ailleurs, nous avons observé que la constante de diffusion aux temps courts D est fortement corrélée à la taille L du domaine de confinement : $D \sim L^2$. Ainsi le récepteur suivi « perçoit » l'ensemble de son domaine de confinement à des temps beaucoup plus courts que celui qu'il met pour explorer le domaine par diffusion. Ceci ne peut pas être expliqué par un modèle de corrals et ne peut être compris qu'en faisant appel à un comportement collectif des protéines membranaires. Notre modèle de « particules browniennes en interaction » (voir [encadré 2](#)) tient précisément compte d'un tel comportement collectif. Les protéines y sont couplées par des interactions à suffisamment longue portée. Il décrit correctement la loi d'échelle précédente, ainsi qu'une loi similaire pour la constante de diffusion D_M aux grands temps : $D_M \sim L^2$. Ce dernier point fait appel à une description de la dynamique des protéines par un modèle de Langevin.

Grâce à sa très bonne résolution temporelle, la FCS permet elle aussi de distinguer des comportements diffusifs apparemment proches, mais pouvant résulter de différents types d'organisation membranaire. Pour tester le modèle de domaines isolés, de type radeaux lipidiques ([encadré 2](#)), une de nos équipes a mis en œuvre une méthode fondée sur la FCS (voir [encadré 1](#)). Une loi de diffusion FCS représente le temps de diffusion moyen τ_d d'une espèce moléculaire en fonction de l'aire A de la surface d'observation. La plupart des molécules étudiées ne diffusant pas librement aux échelles d'observation entre 400 nm et 1 μ m, τ_d n'est pas strictement proportionnel à A : $\tau_d = \tau_0 + kA$, où τ_0 et k sont deux constantes. Nous avons montré que la diffusion de molécules piégées transitoirement dans des domaines isolés de taille sub-longueur d'onde (typiquement < 500 nm) conduit à une constante τ_0 strictement positive (proportionnelle au temps de confinement dans un domaine), alors qu'elle est négative dans le cas d'une diffusion dans un réseau de barrières de type « corrals ». Lorsqu'on diminue la concentration en cholestérol, le confinement révélé par la constante τ_0 disparaît pour un certain nombre de lipides et de protéines trouvés par des voies biochimiques dans les radeaux lipidiques. Ce résultat révèle une organisation en domaines isolés, sub-micrométriques, stabilisés par le cholestérol, et confinant certaines molécules pendant quelques dizaines de ms. La

constante τ_0 , déterminée à des échelles spatiales plus grandes que la taille des domaines, est révélatrice de processus de diffusion transitoire, qu'il est important d'étudier à plus petite échelle. Dans ce but, nous utilisons actuellement des nanostructures optiques permettant de réduire la surface d'observation sous la limite de diffraction. Ceci devrait nous renseigner sur des régimes de diffusion jusqu'alors inaccessibles en FCS.

Au-delà de ce type de résultat, l'enjeu est bien d'établir les liens possibles entre le confinement de la diffusion observé et les processus biologiques impliquant les constituants membranaires. Des approches biochimiques suggèrent en effet que les protéines membranaires ne sont pas simplement distribuées aléatoirement à la surface de la cellule, mais qu'elles sont au contraire préalablement triées dans des compartiments favorisant leur rencontre. Ainsi, une plate-forme de signalisation est supposée regrouper au préalable les différents acteurs impliqués dans une chaîne de transduction du signal. Une hypothèse naturelle est alors de supposer que les zones de confinement observées dans les trajectoires individuelles correspondent à de tels compartiments. Un modèle basé sur les interactions entre constituants membranaires est plus à même de proposer des solutions intéressantes à cette problématique qu'un modèle de barrières : en jouant sur la modulation des paramètres d'interaction entre différentes espèces moléculaires, il est susceptible de conduire à de la ségrégation, dans un même domaine, d'espèces appelées à se rencontrer.

Sans permettre une cartographie complète, jusqu'à l'échelle moléculaire, et en temps réel de la distribution des protéines et lipides dans la membrane, les outils d'étude de la diffusion renseignent toutefois sur l'environnement des molécules marquées en termes de structuration à différentes échelles. En revanche, reconstituer cet environnement à partir de l'observation de quelques protagonistes reste un enjeu considérable et, à l'heure actuelle, il ne semble pas exagéré d'affirmer que ces techniques ont soulevé plus de questions qu'elles n'en ont encore résolues !

La physique incontournable pour appréhender ces systèmes complexes

L'histoire récente de cette discipline en émergence qu'est l'étude des membranes biologiques prouve que la physique est appelée à y jouer un rôle central, et ceci à plusieurs niveaux. Des techniques sophistiquées faisant appel à des concepts physiques novateurs ont été développées pour sonder en temps réel cet état de la matière à l'échelle moléculaire (nanométrique). Les conseils des physiciens aux expérimentateurs biologistes ont également montré qu'ils pouvaient être d'une grande utilité,



en termes de pertinence physique des hypothèses mises en avant pour expliquer telle ou telle observation.

D'autre part, ces percées expérimentales ont donné des perspectives passionnantes aux théoriciens, qui ont enfin accès à ces échelles de temps et d'espace, soit pour tester des développements théoriques de la matière molle parfois anciens, soit pour proposer de nouveaux paradigmes susceptibles de rendre compte des expériences. Ainsi, le modèle de « particules browniennes en interaction » demande pour être affiné de justement préciser la nature des interactions dominantes entre protéines. Au-delà des interactions « standard », comme les interactions électrostatiques (écranées) entre protéines chargées, les inclusions membranaires connaissent des interactions spécifiques propagées par la membrane, non complètement comprises à ce jour. Ensuite, il s'agira de déterminer, par les outils de la physique statistique, dans quelle phase thermodynamique se trouvent les assemblées de protéines soumises à ces interactions : phases « gaz », « liquide », « solide » ou encore phases « cluster ». Ceci sans oublier qu'une membrane de cellule vivante n'est pas à l'équilibre thermodynamique puisqu'elle échange sans arrêt, de façon active, de l'énergie et de la matière avec le reste de la cellule.

Revenons aux expériences. Observer spécifiquement une espèce moléculaire et ses partenaires dans des conditions physiologiques reste un des enjeux importants de la biologie et une belle question de physique. L'étude expérimentale de la membrane cellulaire requiert des méthodes devant être la fois sensibles, peu invasives et spécifiques. Dans ce contexte, nous avons vu que la microscopie optique par fluorescence tient une place importante. Le développement de marqueurs fluorescents performants requiert l'effort conjoint de chimistes, physiciens et biologistes. Ainsi, la synthèse de nanostructures de type nanocristaux (voir *Images de la Physique 2005*, p. 126) a offert récemment une alternative aux sondes plus classiques, en raison de leur forte brillance et de leur stabilité sous éclairage (très faible photo-blanchiment).

Si les techniques d'imagerie dont nous avons parlé ont *a priori* une résolution nanométrique, elles ne donnent pas nécessairement accès à la dynamique à cette échelle, parce que les limitations en fréquence d'acquisition bornent la taille des structures détectables dans lesquelles les molécules diffusent. En effet, en diffusion, pour bien observer des structures de taille L à une fréquence d'acquisition f , on doit avoir $f \gg D/L^2$, où D est la constante de diffusion, ici de l'ordre de $0,1 \mu\text{m}^2/\text{s}$. A cadence vidéo standard, $f = 40 \text{ Hz}$ et donc $L \gg 50 \text{ nm}$. Gagner un facteur 10 en L suppose gagner

un facteur 100 en fréquence, et l'imagerie rapide de molécules individuelles pose un problème technologique ardu encore non résolu.

La résolution spatiale est également limitée dans le domaine de l'optique en champ lointain, en FRAP ou FCS, en raison du critère de Rayleigh. Pour contourner cette limitation, la première stratégie utilise des phénomènes d'optique non linéaires pouvant réduire le volume d'observation par plus d'un ordre de grandeur. La seconde met à profit des structures de diffraction ou des nanostructures, qui convertissent les ondes de hautes fréquences spatiales (ondes évanescentes) en ondes propagatives qu'on peut alors collecter par des systèmes optiques traditionnels.

Les développements actuels en physique théorique (en particulier en physique statistique) et en photonique vont certainement permettre d'atteindre une meilleure compréhension de la structure dynamique des membranes cellulaires. Il est à parier qu'en dépit de la grande complexité de ces systèmes, la lumière pourra ainsi être faite sur de nombreuses énigmes de la biologie cellulaire.

POUR EN SAVOIR PLUS

- T. Fujiwara, K. Ritchie, H. Murakoshi, K. Jacobson, A. Kusumi, Phospholipids undergo hop diffusion in compartmentalized cell membrane, *J. Cell. Biol.*, 157, 1071, 2002.
- F. Dumas, N. Destainville, C. Millot, A. Lopez, D.S. Dean, L. Salomé, Confined diffusion without fences of a G-protein-coupled receptor as revealed by single particle tracking, *Biophys. J.*, 84, 356, 2003.
- Y. Chen, B. Yang, K. Jacobson, Transient confinement zones : A type of lipid raft ?, *Lipids*, 39, 115, 2004.
- L. Wawrezinieck, H. Rigneault, D. Marguet, P.-F. Lenne, Fluorescence correlation spectroscopy diffusion laws to probe the submicron cell membrane organization, *Biophys. J.*, 89, 4029, 2005.
- N. Meilhac, L. Le Guyader, L. Salomé, N. Destainville, Detection of confinement and jumps in single protein membrane trajectories, *Phys. Rev. E*, 73, 011915, 2006.
- P.-F. Lenne, L. Wawrezinieck, F. Conchonaud, O. Wurtz, A. Boned, X.-J. Guo, H. Rigneault, H.-T. He, D. Marguet, Dynamic molecular confinement in the plasma membrane by microdomains and the cytoskeleton meshwork, *EMBO J.* (sous presse), 2006.

Ont également participé à ce travail les membres de nos équipes respectives que nous remercions : équipes « Organisation et dynamique fonctionnelles des membranes biologiques » (IPBS), « Mosaic » (Institut Fresnel), « Dynamic organization of molecular complexes in biomembranes » (CIML, Marseille) et D. Dean (LPT).