

Transmission synaptique 2024-2025

Eric Schwartz

MCF Sorbonne Université

eric.schwartz@u-paris.fr

Équipe: Synapses of Affective Behaviors

Université Paris Cité

Sommaire cours I

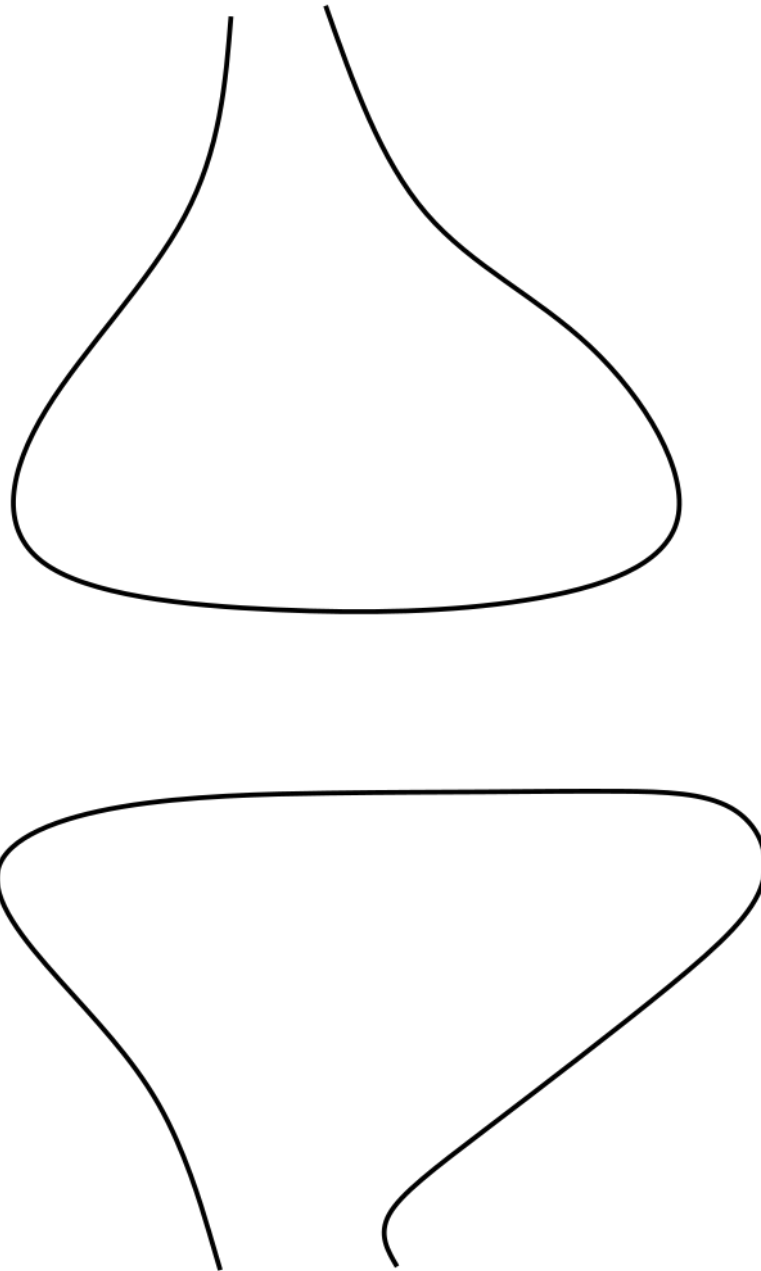
1. Intro: La synapse et le neurone:
 1. La structure de la synapse
 2. La contexte physiologique de la synapse
 3. Rappel: Les propriétés électrophysiologique d'un neurone
2. La transmission synaptique:
 1. Transmission synaptique: échelle du temps
 2. Comment étudier la transmission synaptique ex vivo
 3. Stimulation optogénétique de la transmission synaptique
 4. Des récepteurs métabotropiques et ionotropiques dans la transmission synaptique:
exemple de récepteurs du glutamate
3. La signalisation présynaptique:
 1. Signalisation calcique présynaptique
 2. La calcium est nécessaire et suffisant pour la transmission synaptique
 3. Détection et manipulation des signaux calciques
 4. Spatial domaines du calcium dans le terminaison présynaptique
 5. Estimation de la concentrations du calcium dans le terminaison présynaptique
 6. Distribution spatio-temporelle de calcium dans la terminaison présynaptique

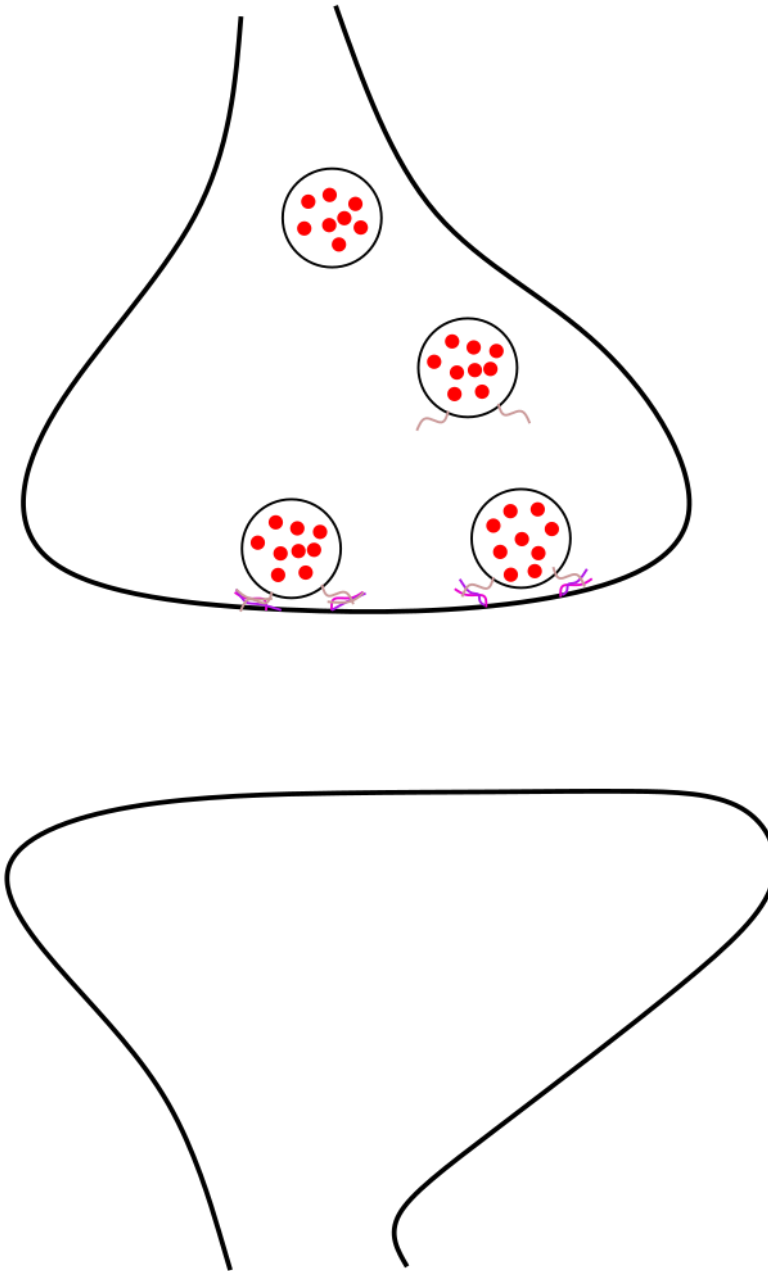
Intro : La synapse et le neurone:
La structure de la synapse

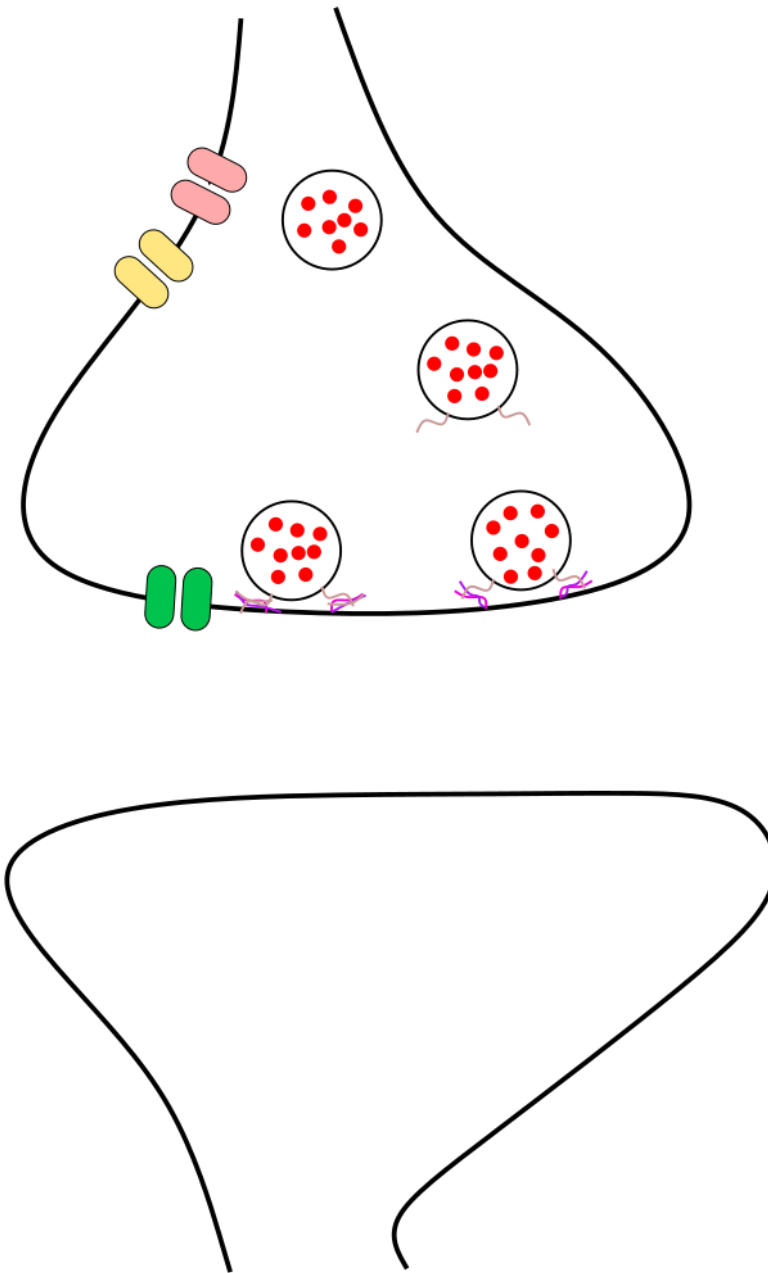
Dessinez une synapse glutamatergique:

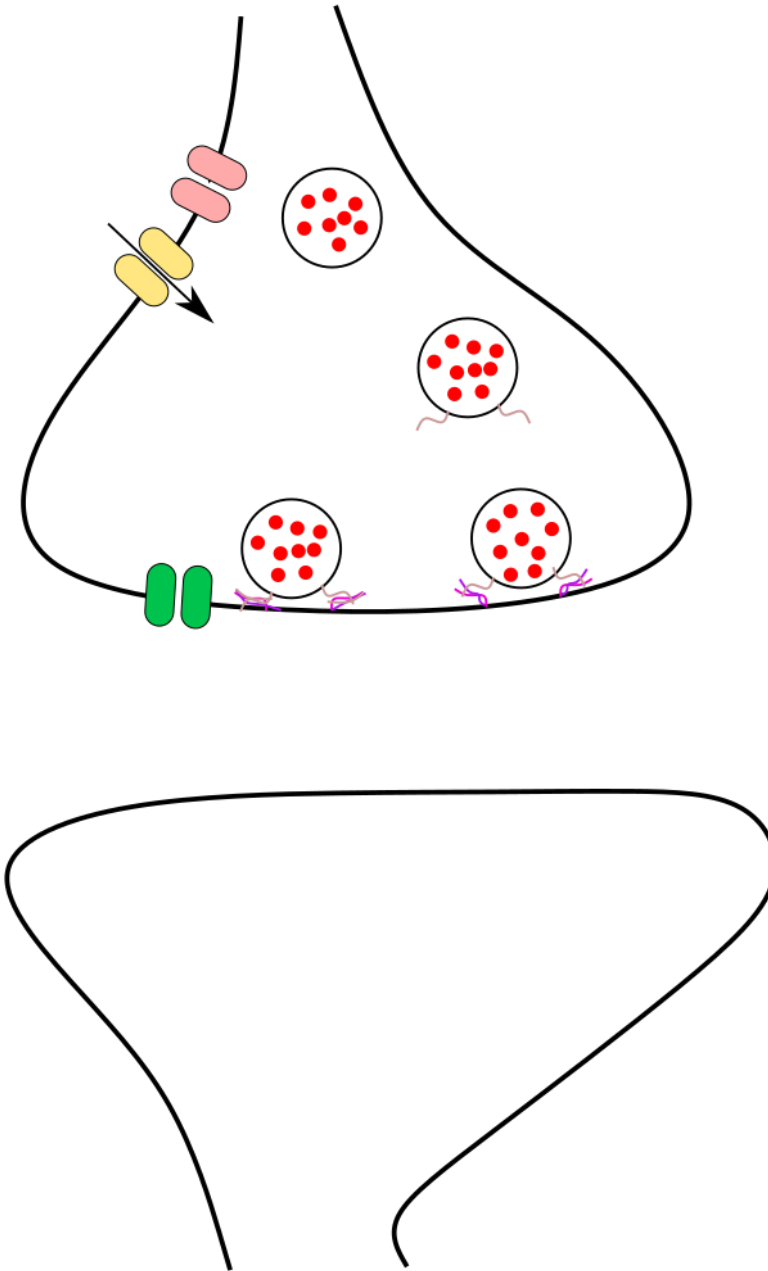
1. Indiquez la perméabilité ionique et la direction du flux ionique pour tous les canaux et récepteurs ionotropes pré et postsynaptiques.
2. Indiquez 1 vésicule présynaptique accostée (« docked ») et 1 vésicule présynaptique non accostée.
3. Indiquer des vésicules postsynaptique et leur cargaison.
4. Indiquez des molécules de glutamate dans des vésicules et dans la fente synaptique
5. Indiquez des récepteurs ionotropique et métabotropique Pre et postsynaptiques

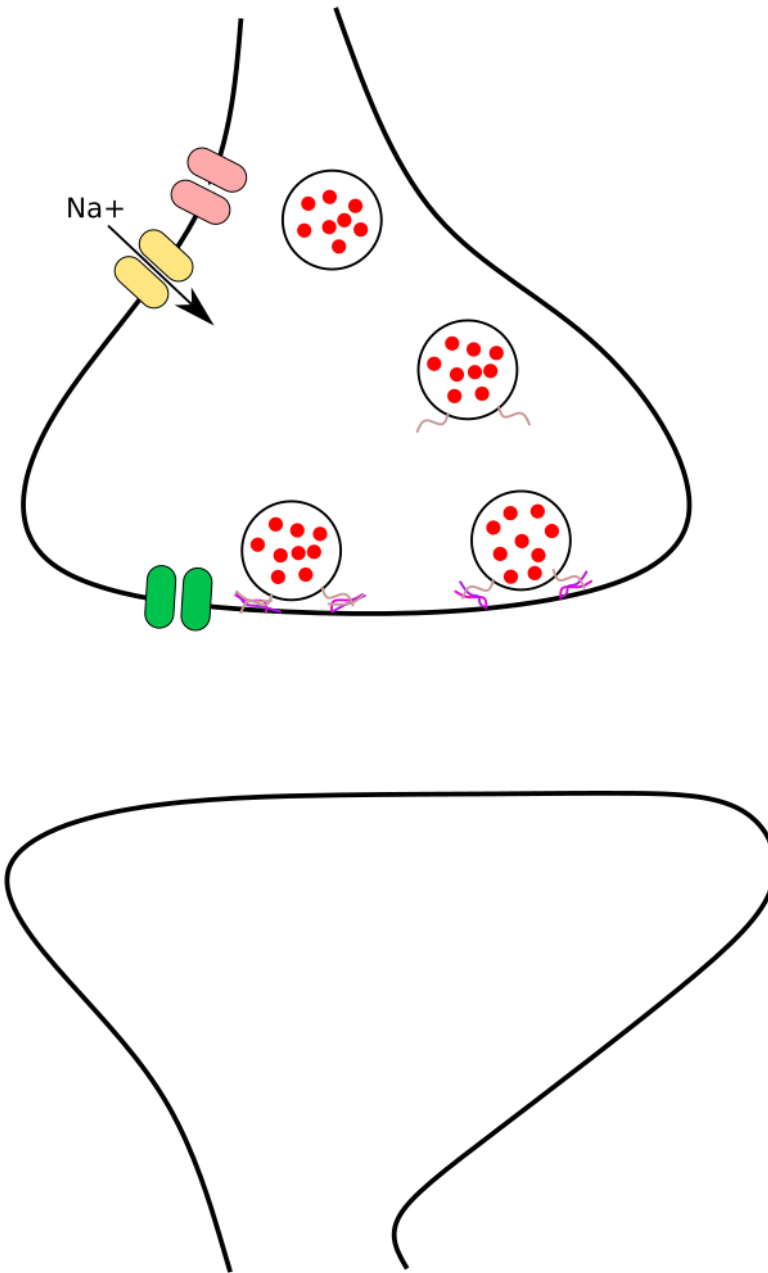
Dessine une synapse
glutamatergique

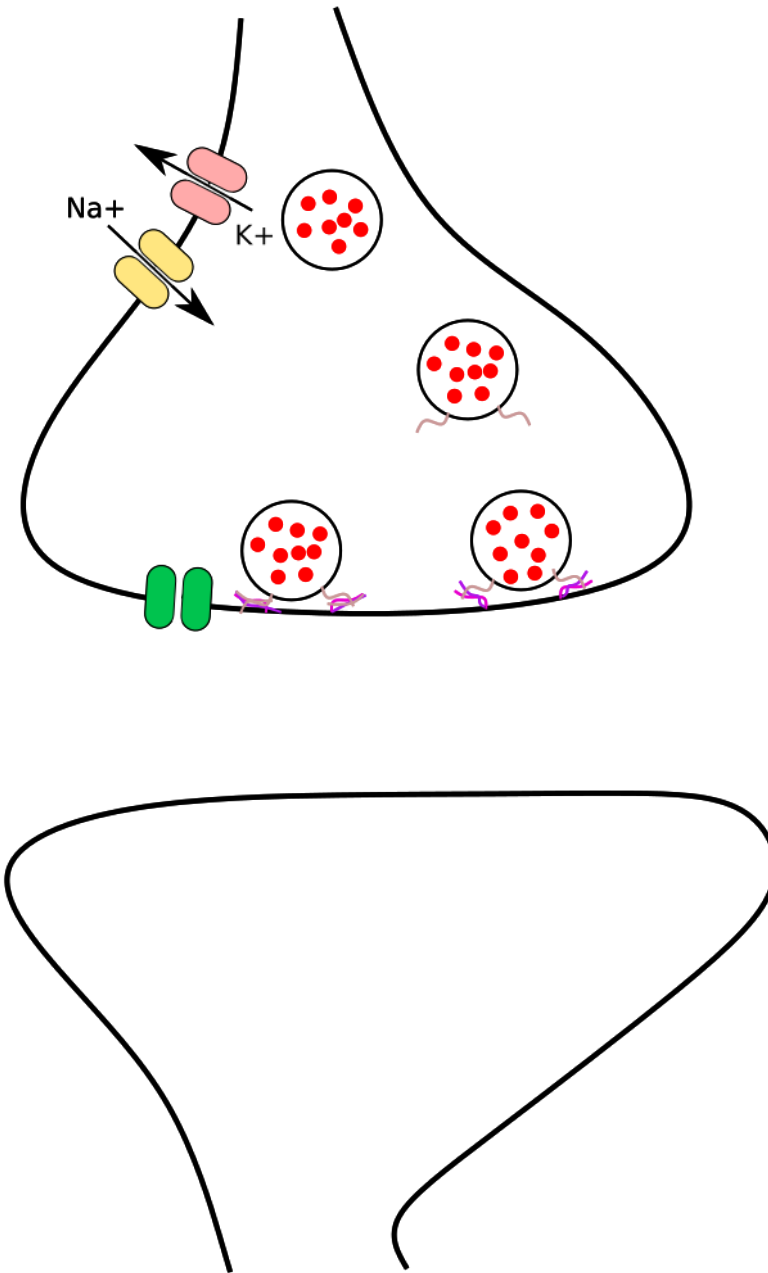


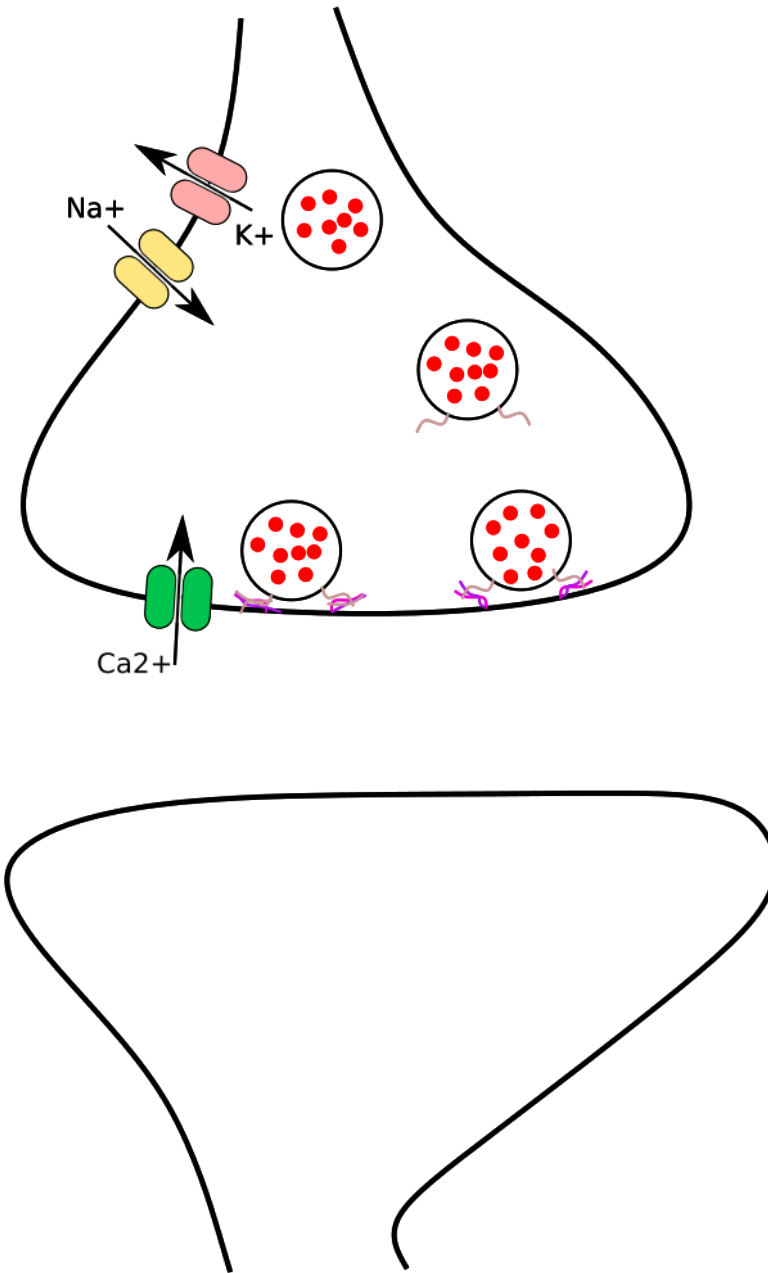


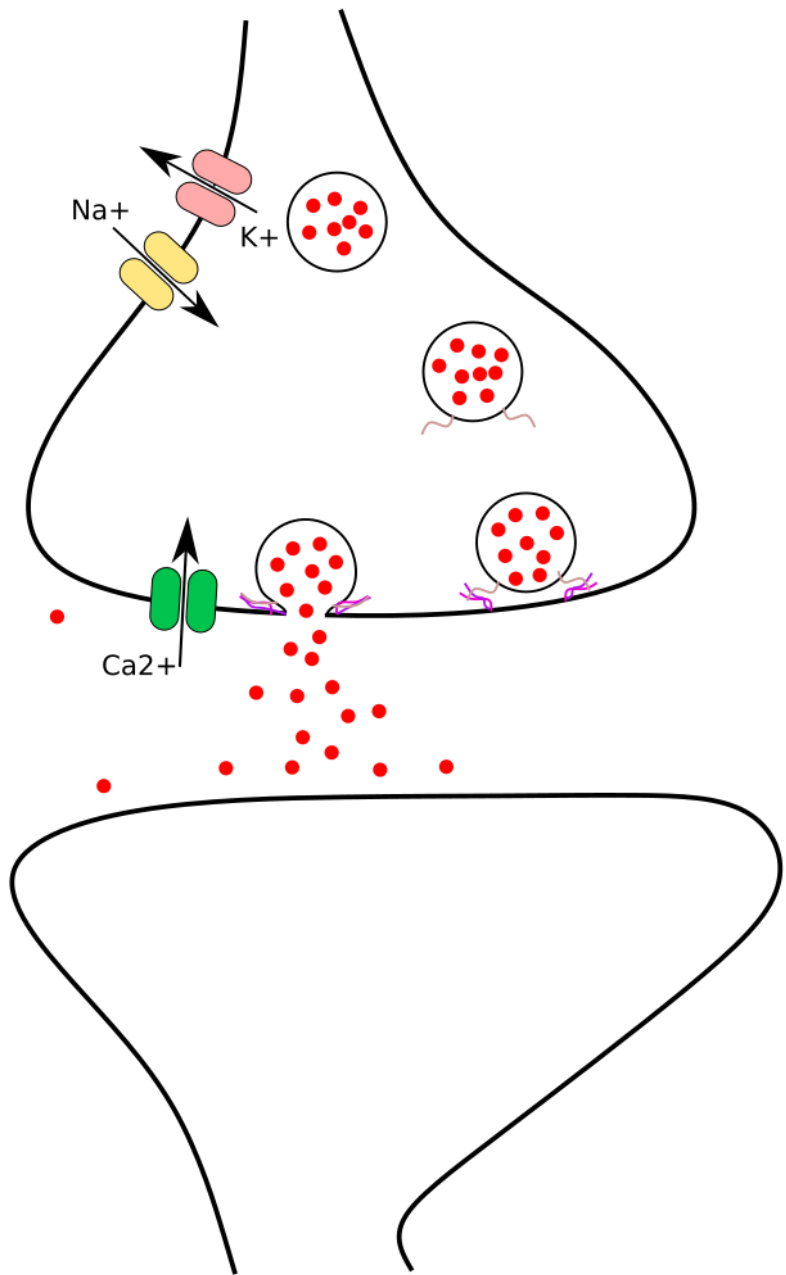


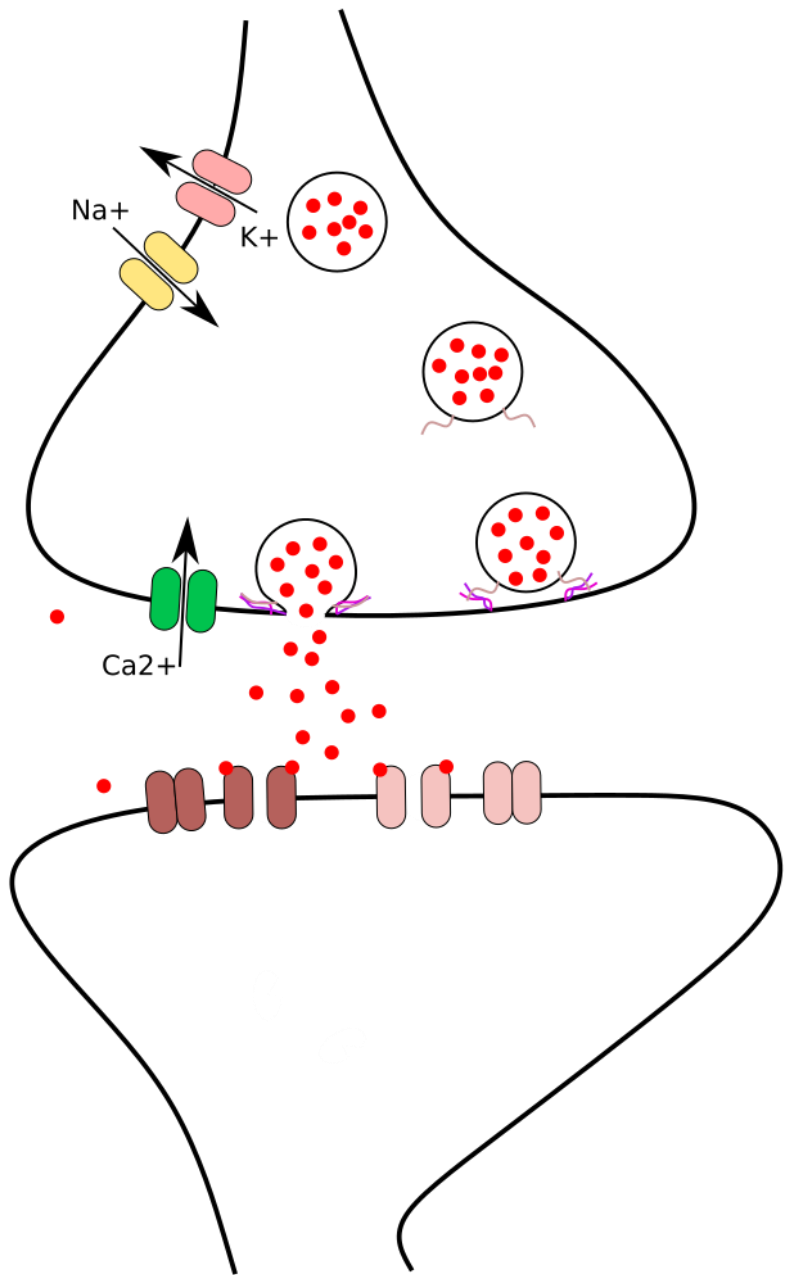


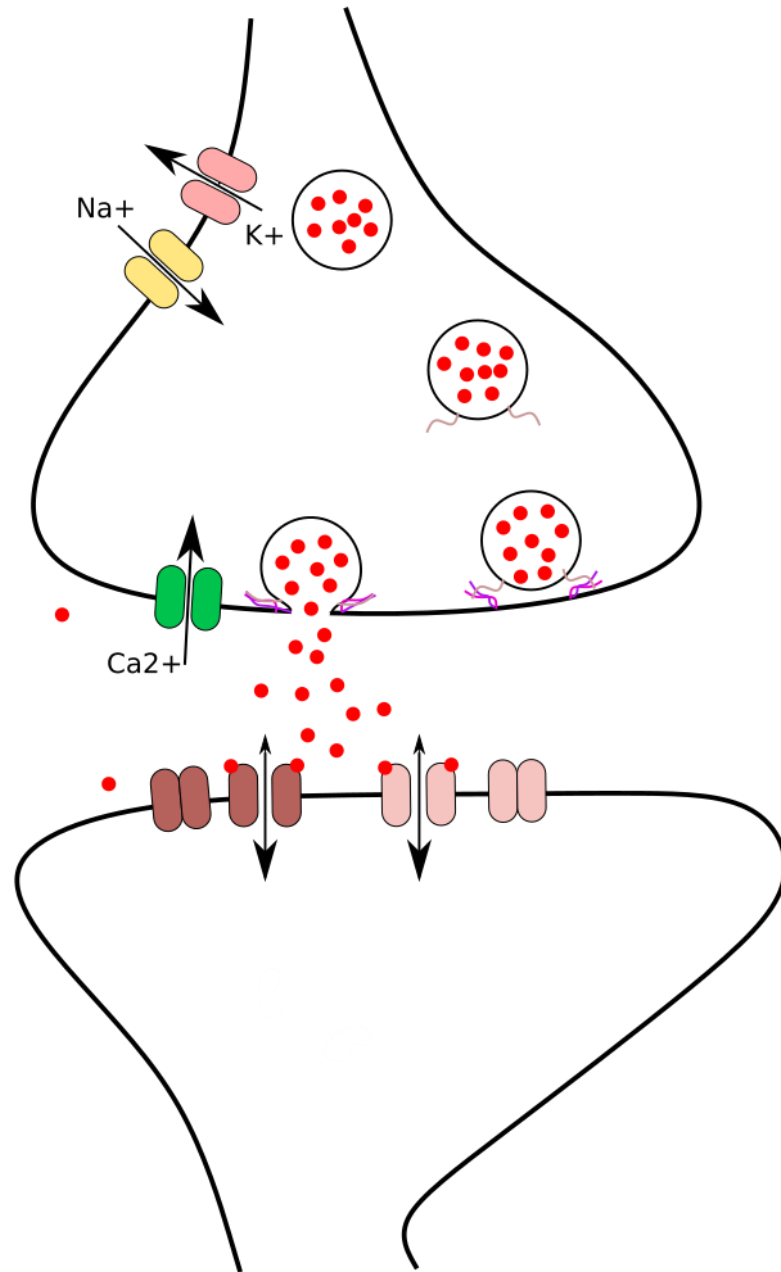


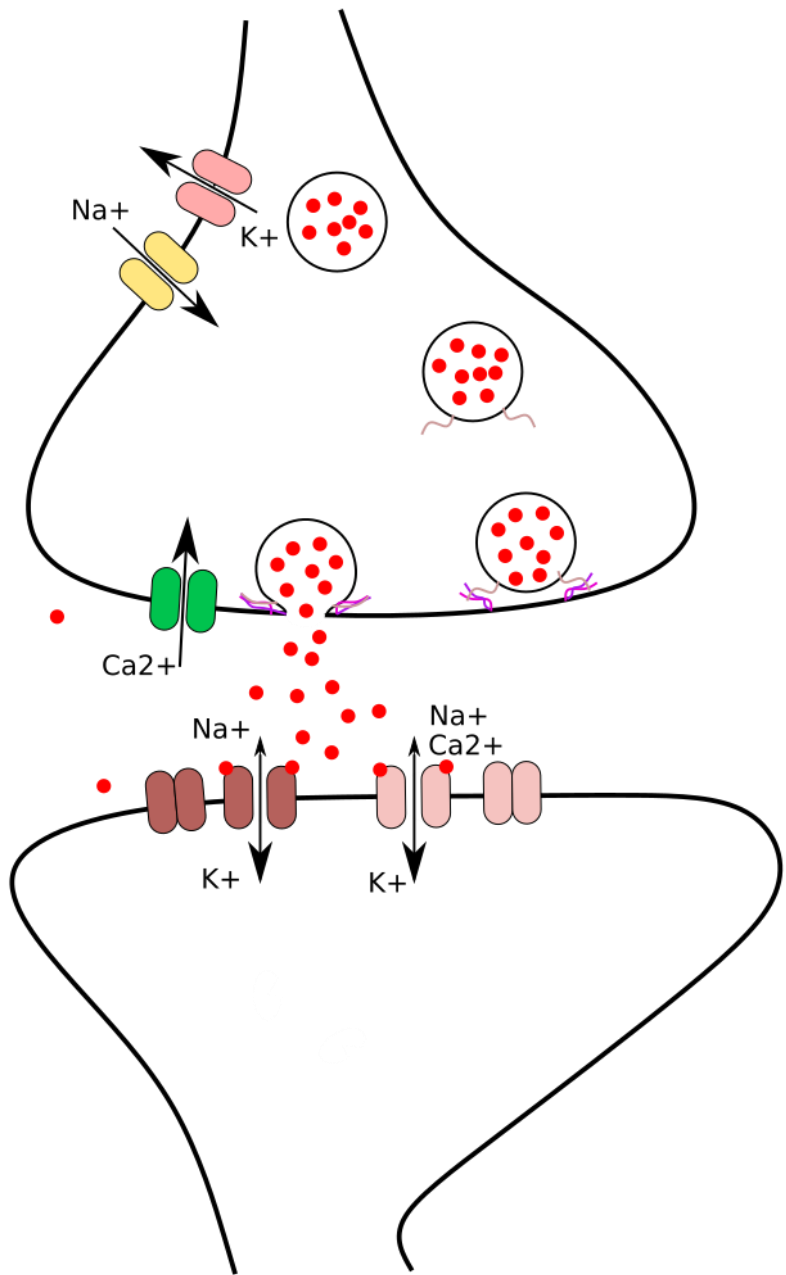


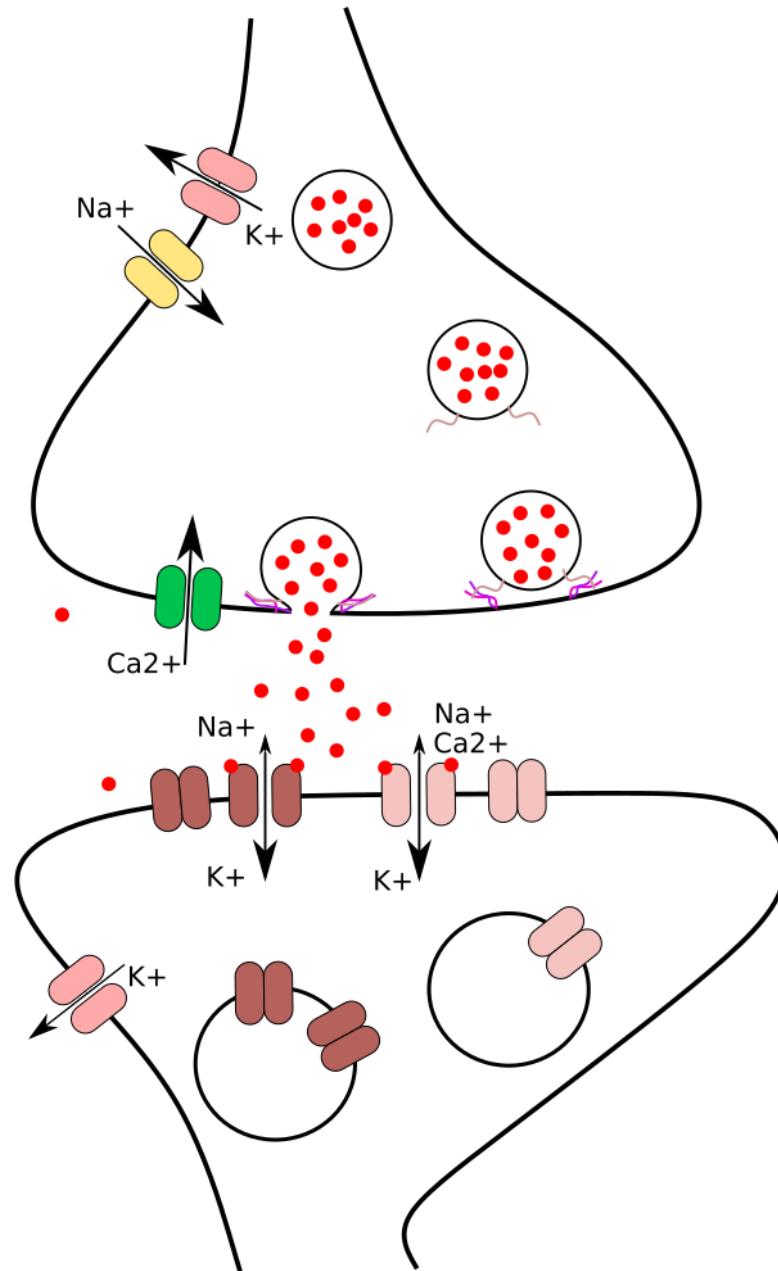


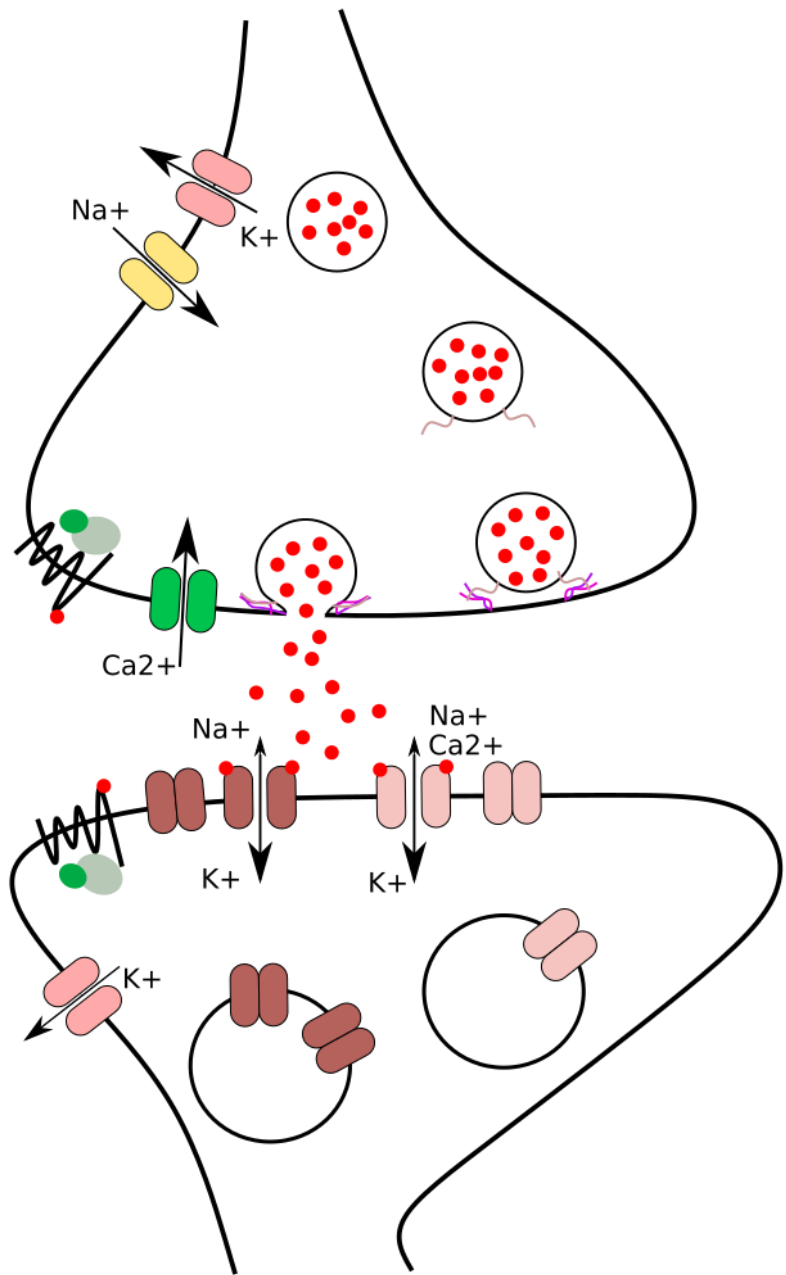


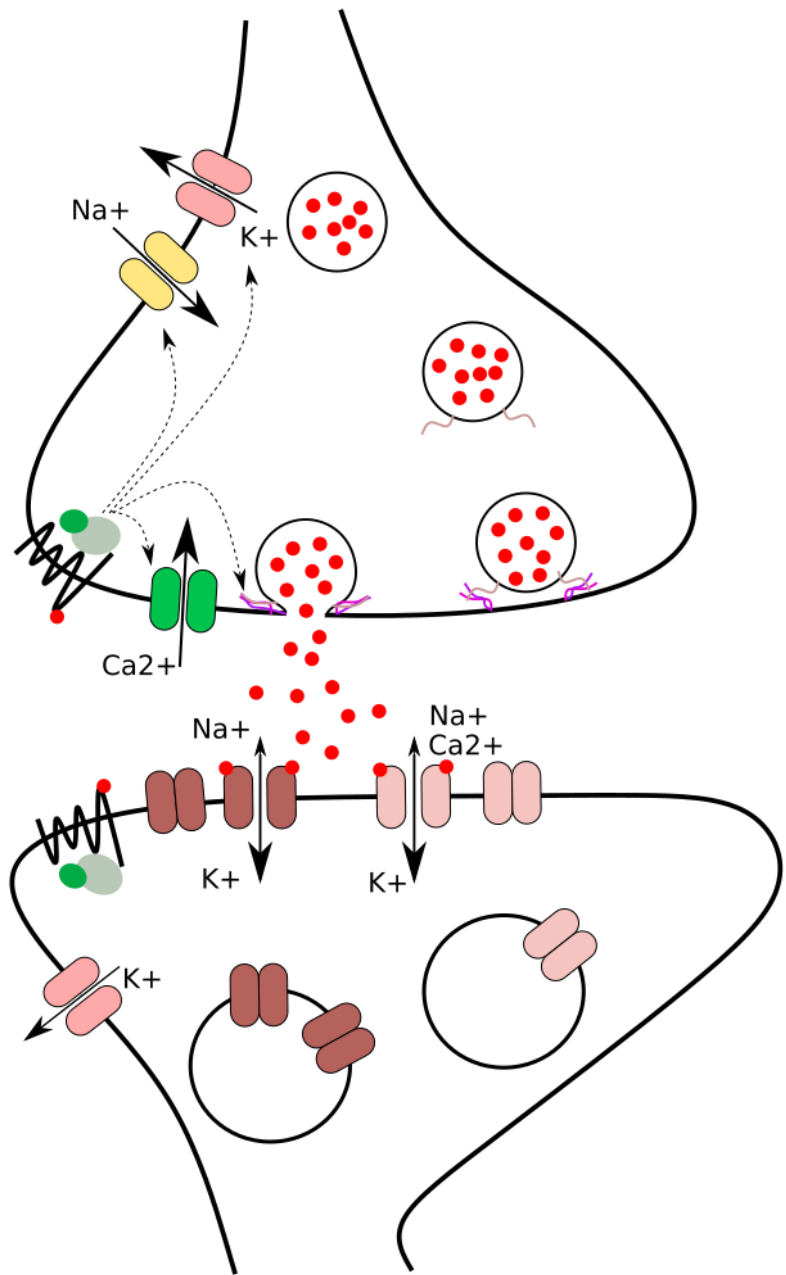


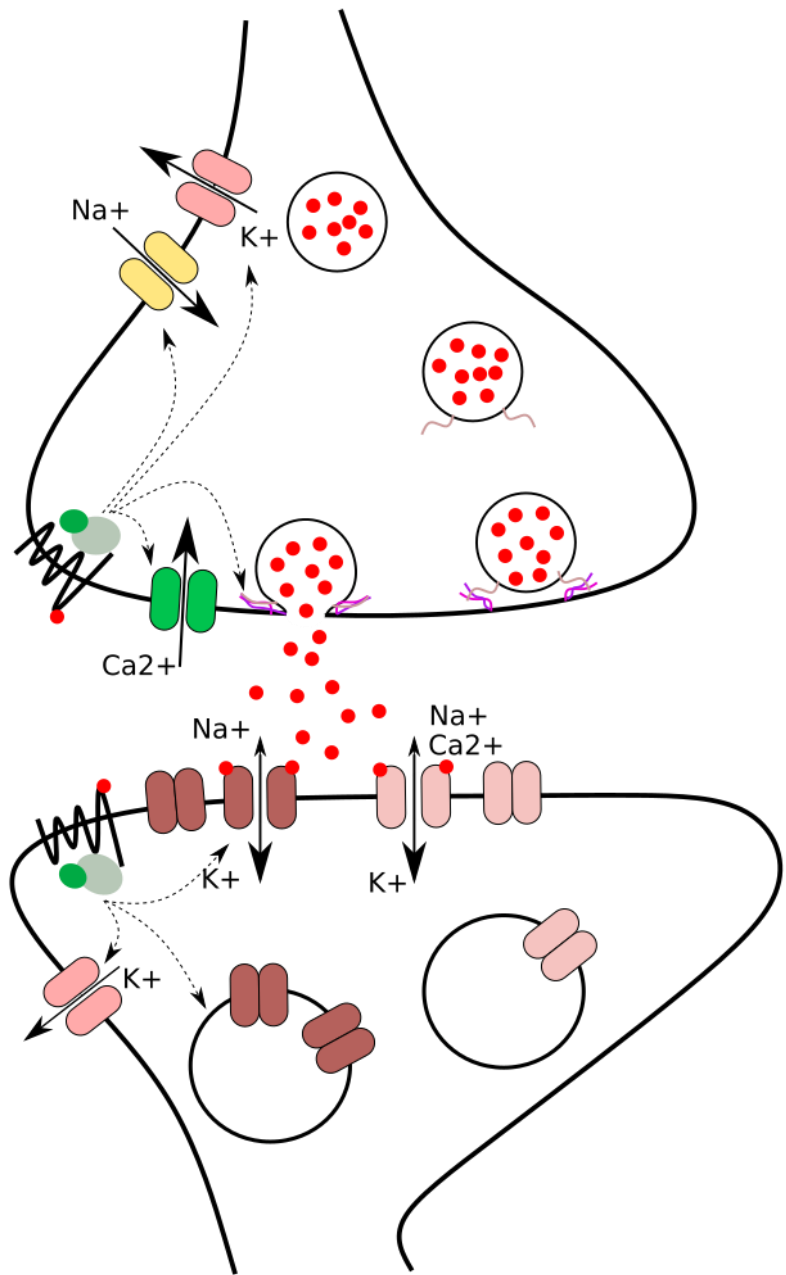


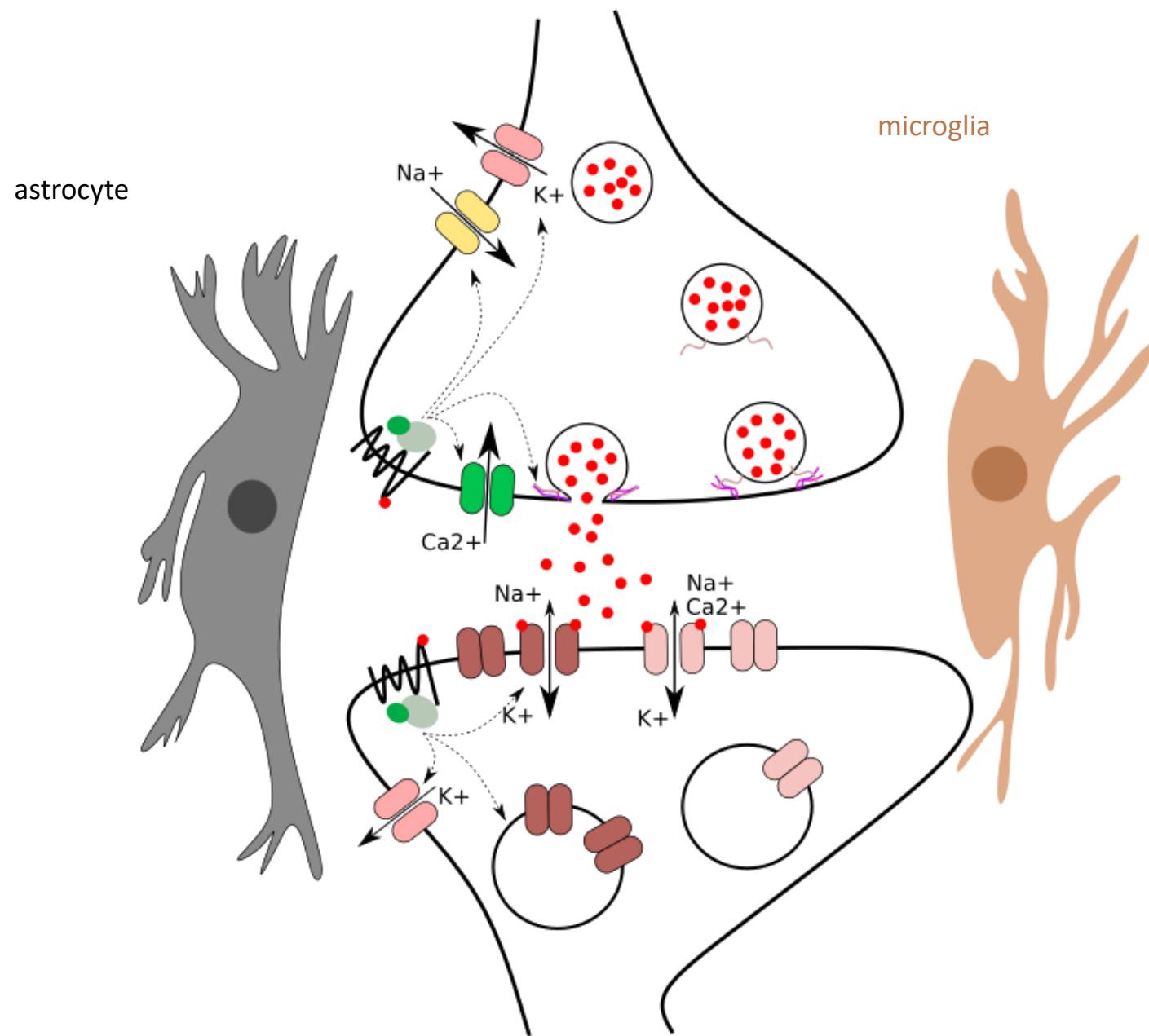




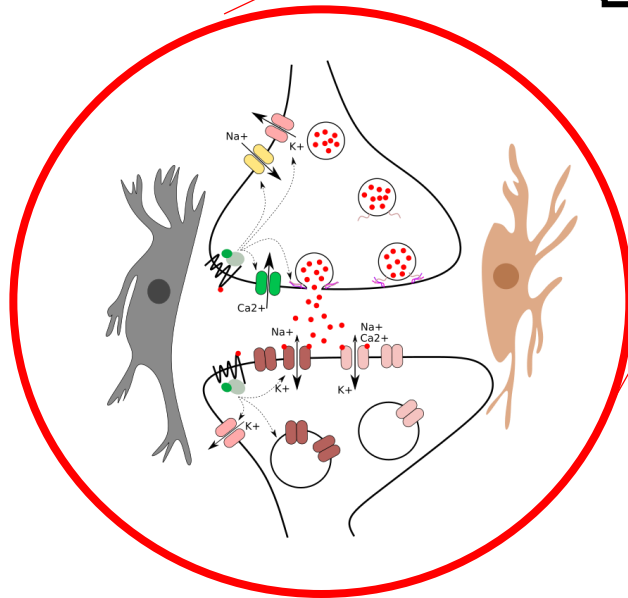
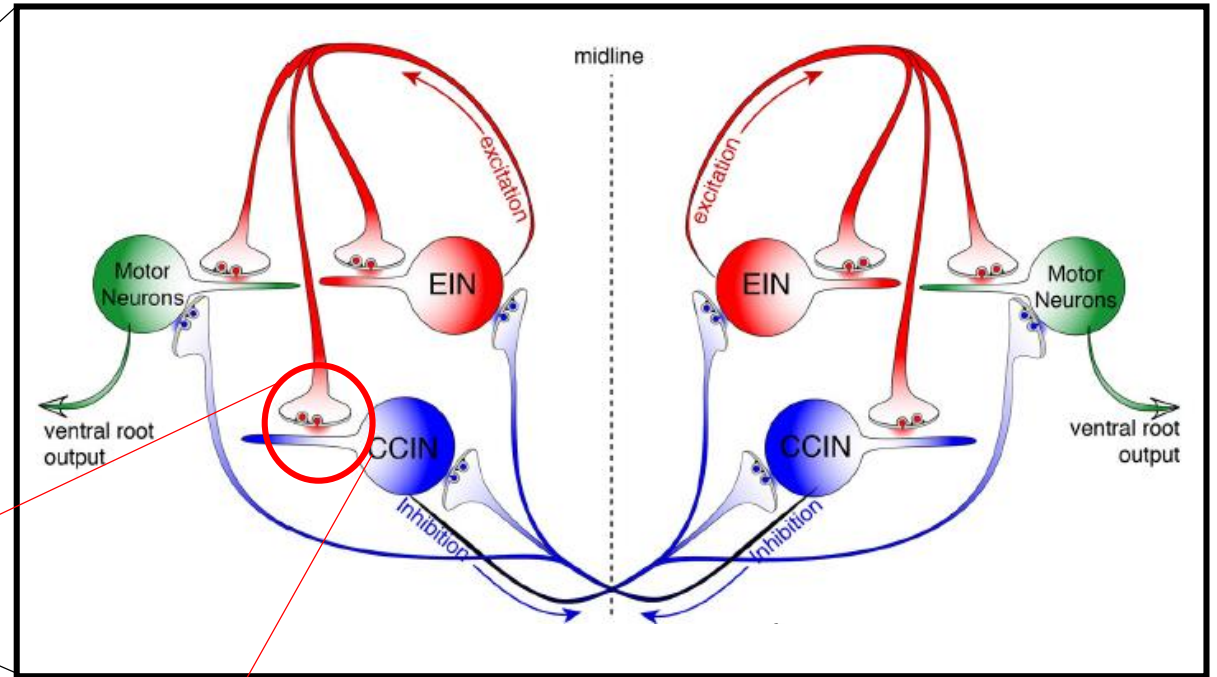
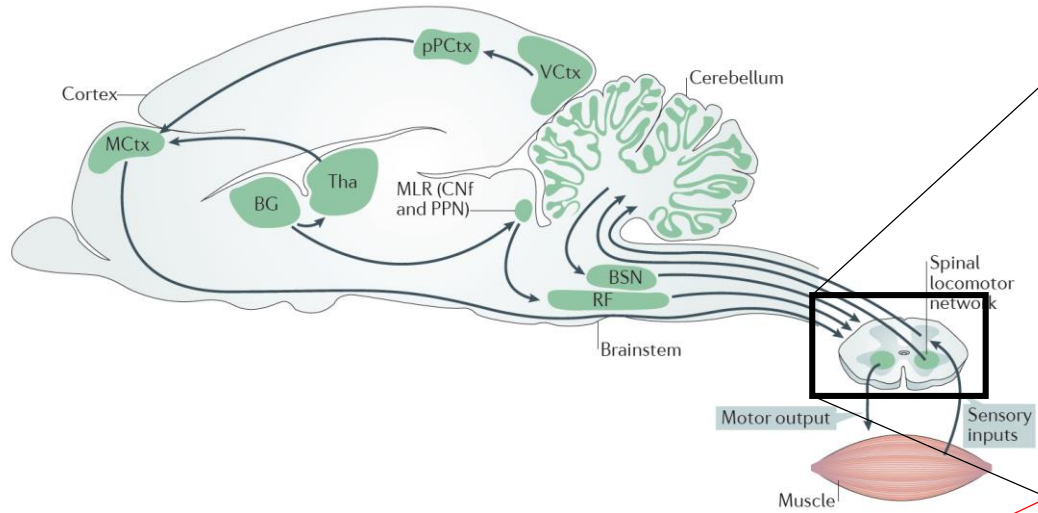






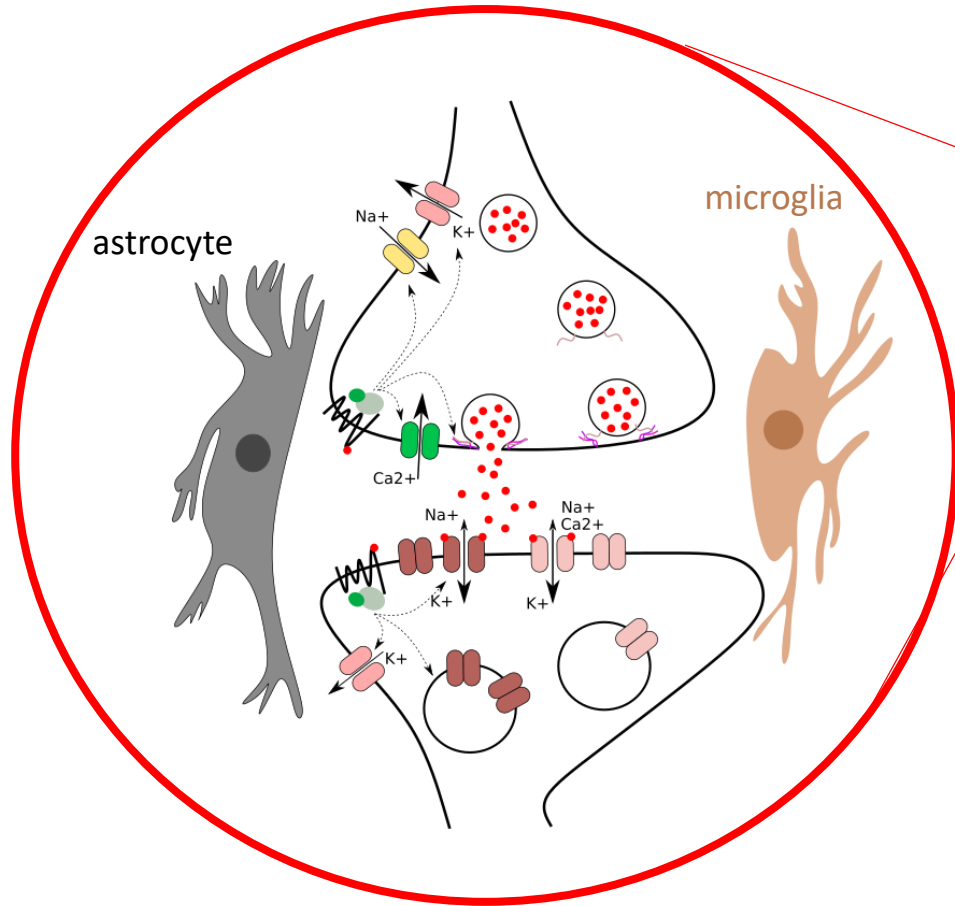


Le contexte spatial de la synapse



Réseaux locomoteur de la moelle épinière

Le contexte spatial de la synapse

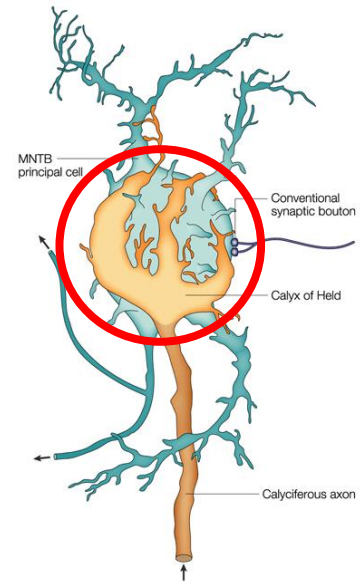


La synapse est une forme de communication entre des neurones et autre cellule du SNC



Ramon y Cajal

Purkinje Cell

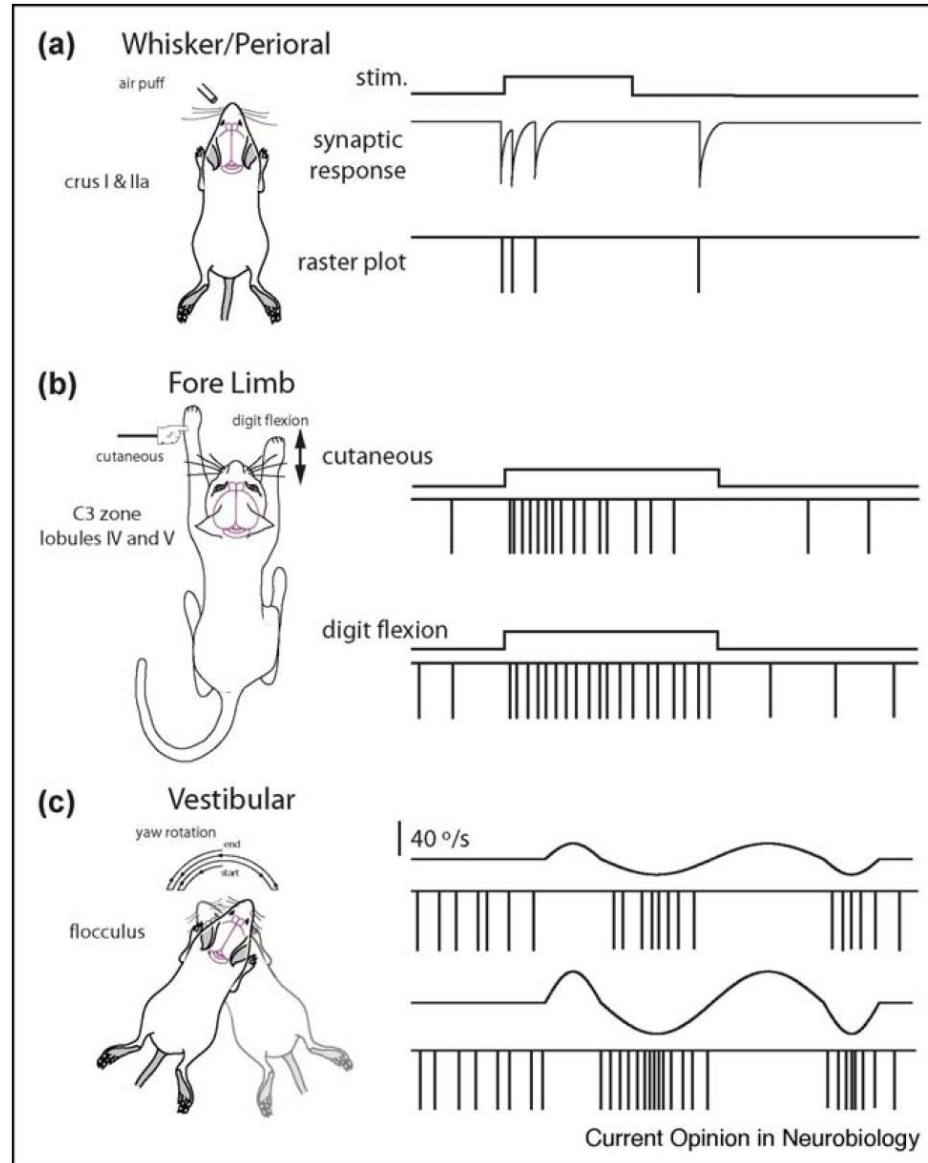


Nature Reviews | Neuroscience
von Gersdorff et Borst, Nat rev. 2022

Calyx of held

1 neurone peut recevoir des entrées synaptiques de 200 000 neurones ou 1 seul

Le contexte temporel de la synapse



150-500 Hz

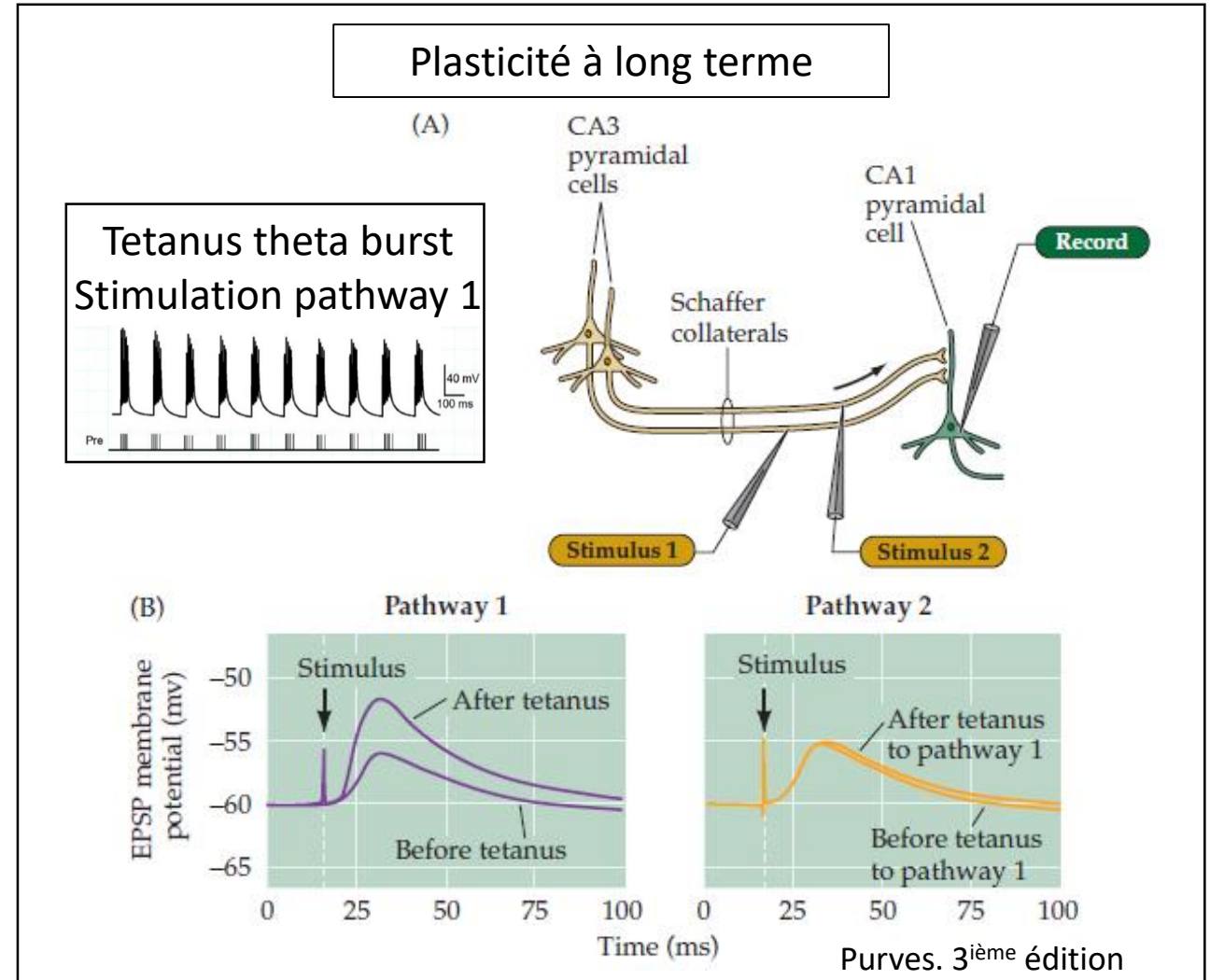
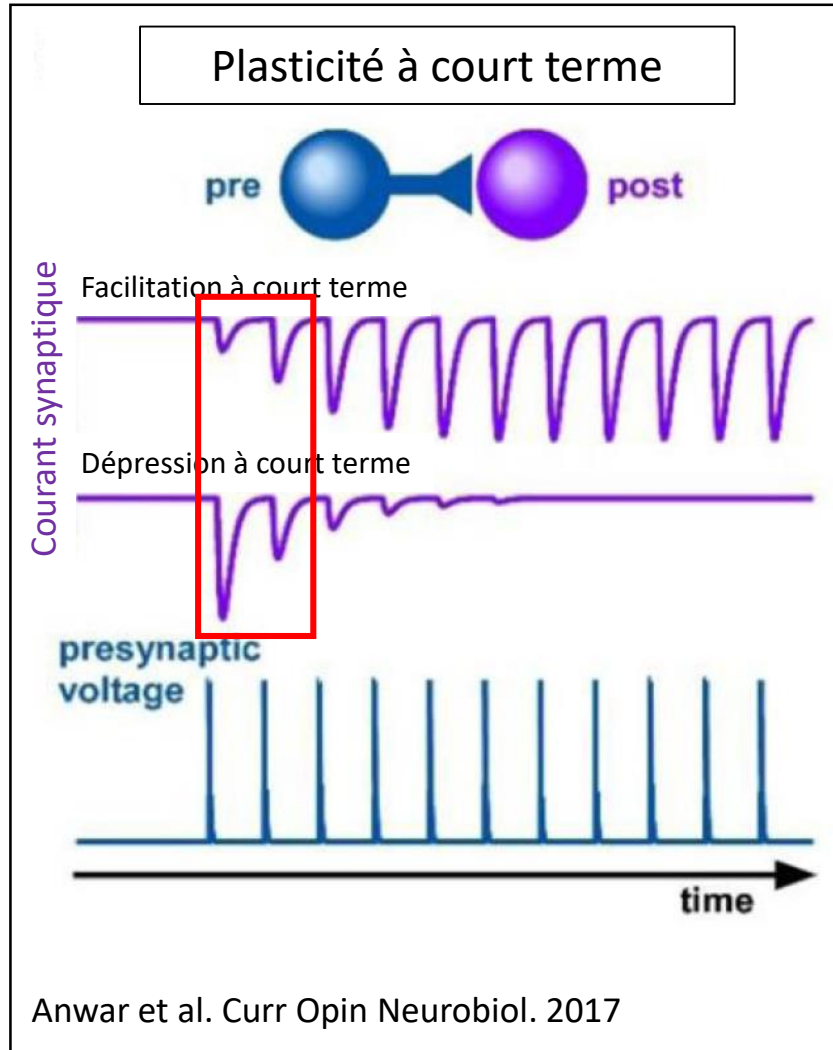
50-100 Hz

25-100 Hz

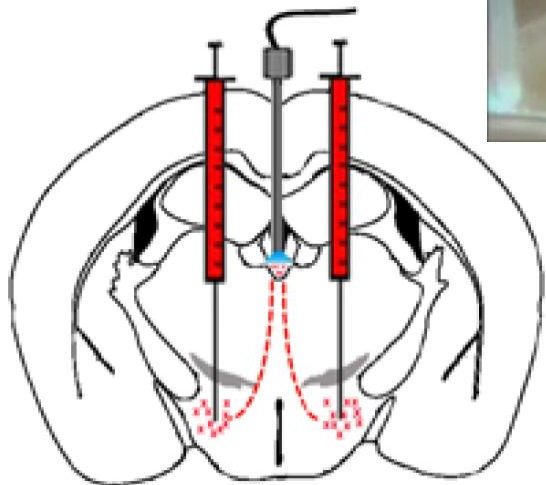
La fréquence des entrées synaptiques est variable

Alexander Arenz et al. 2009, current opinions in neurobiology

Les réponses synaptiques sont dynamiques et plastiques



L'activité synaptique sous-tend le comportement

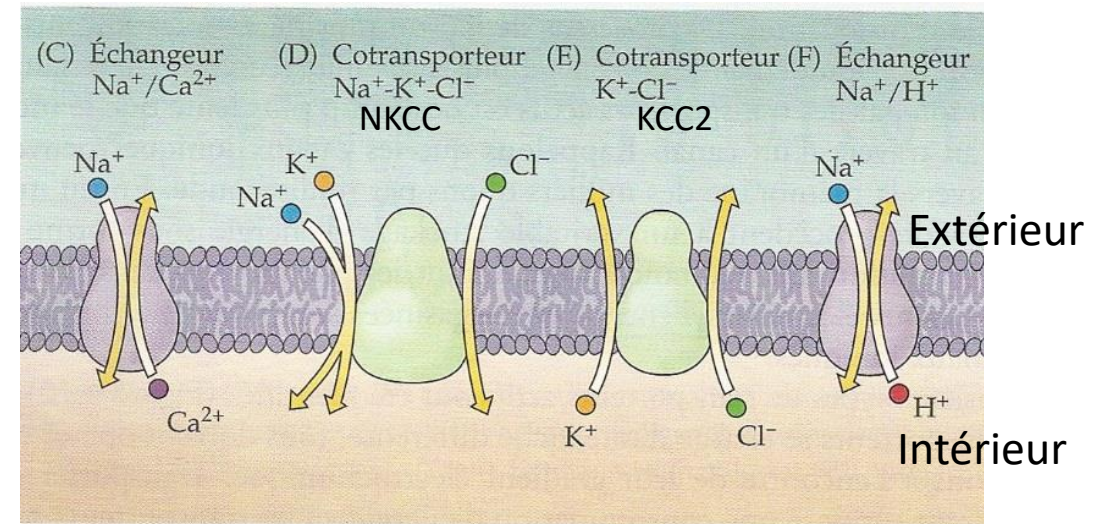
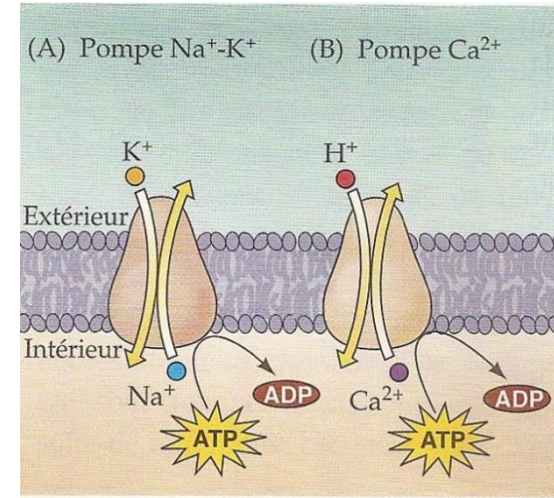
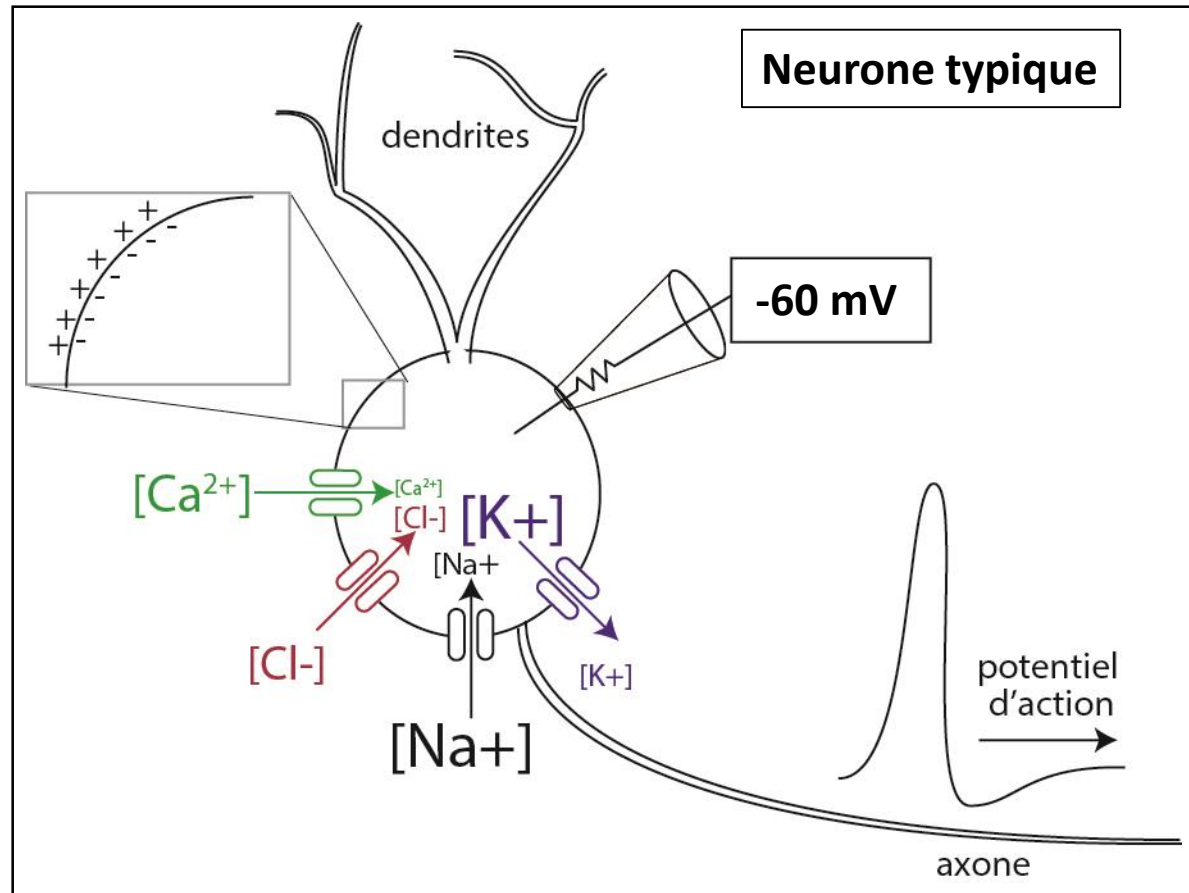


Rapid binge-like eating and body weight gain driven by zona incerta GABA neuron activation

Xiaobing Zhang and Anthony N. van den Pol*. Science. 2017.

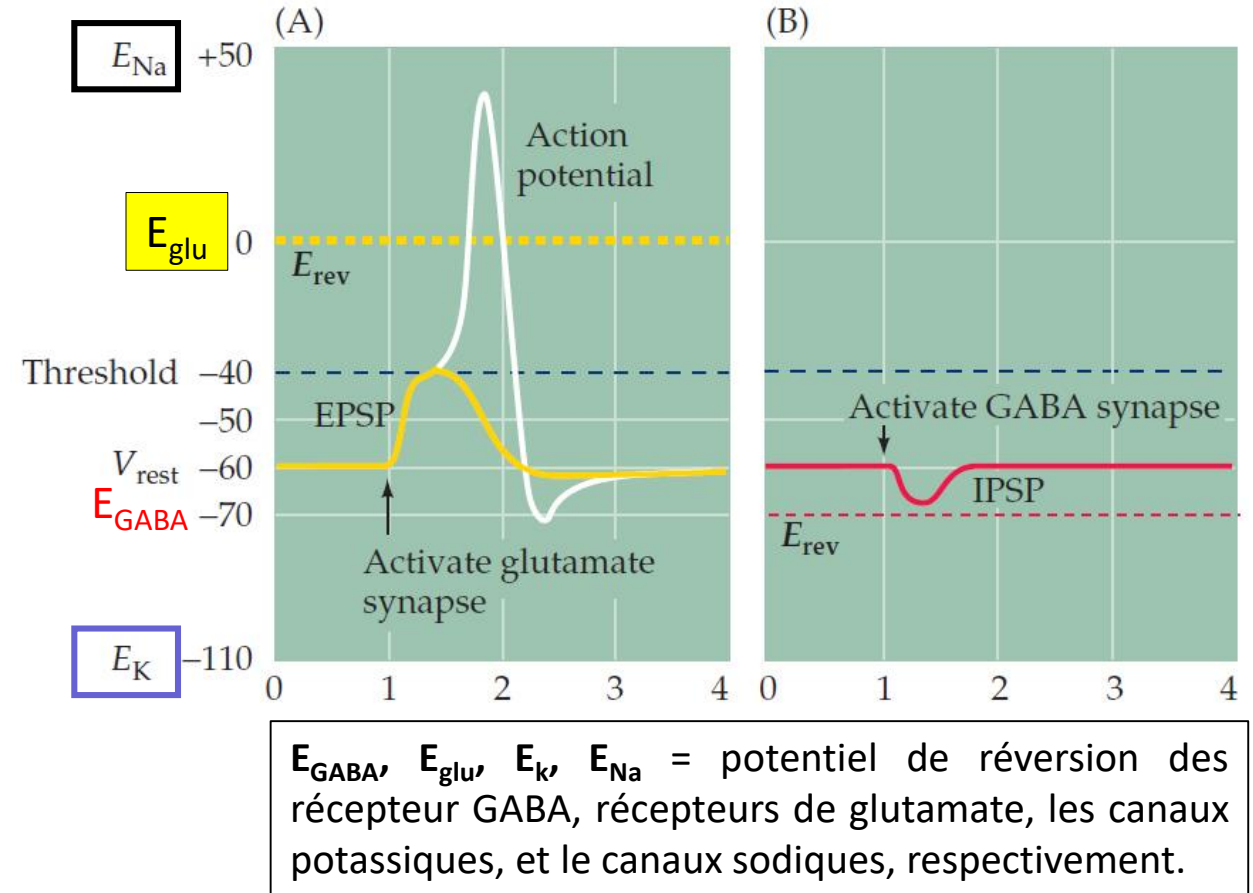
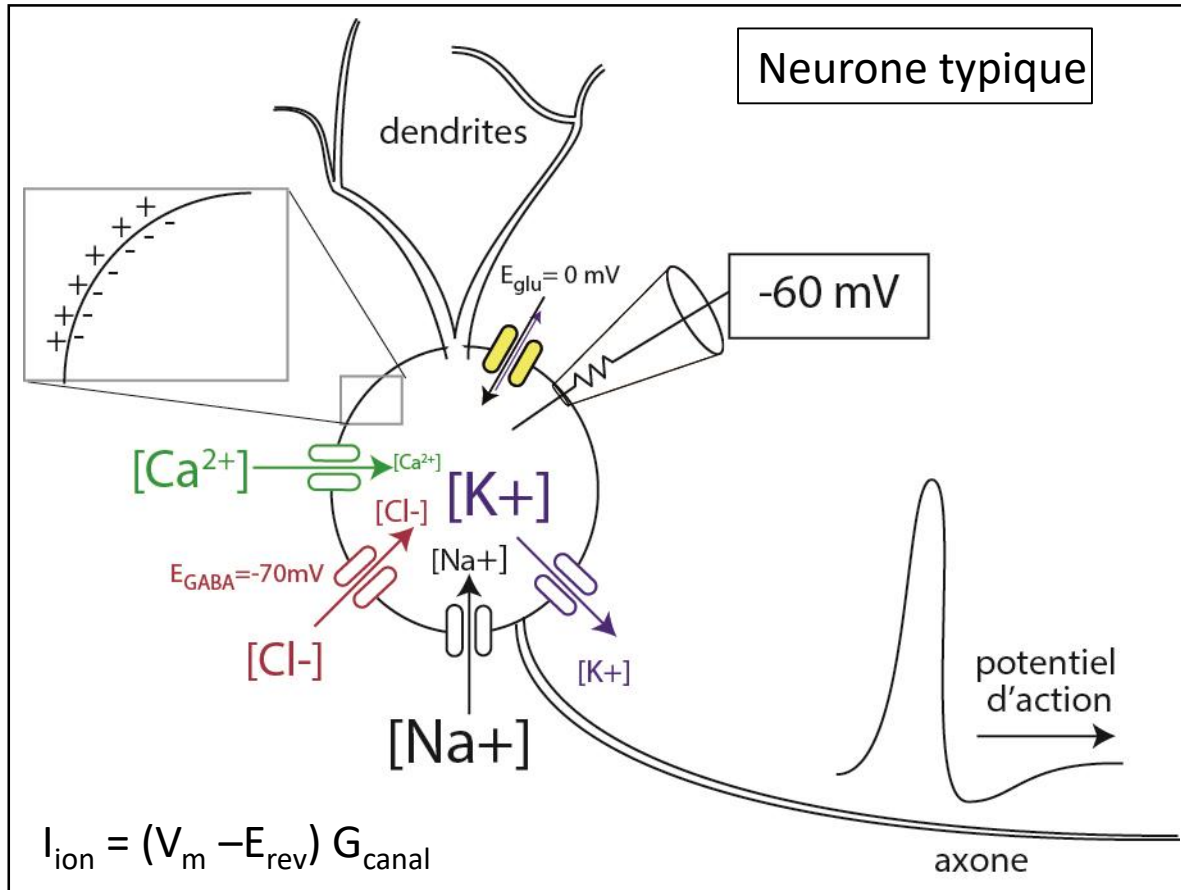
Rappel : Les propriétés électrophysiologiques d'un neurone

Rappel: Distribution des ions Na^+ , K^+ , Cl^- , et Ca^{2+} d'un neurone typique



Les pompes et transporteurs établissent le gradient de concentration des ions de part et d'autre de la membrane.

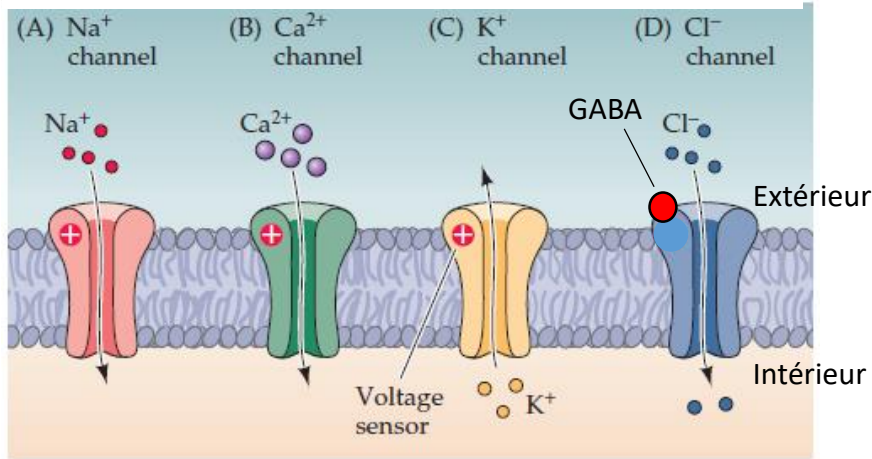
Canaux ioniques d'un neurone typique



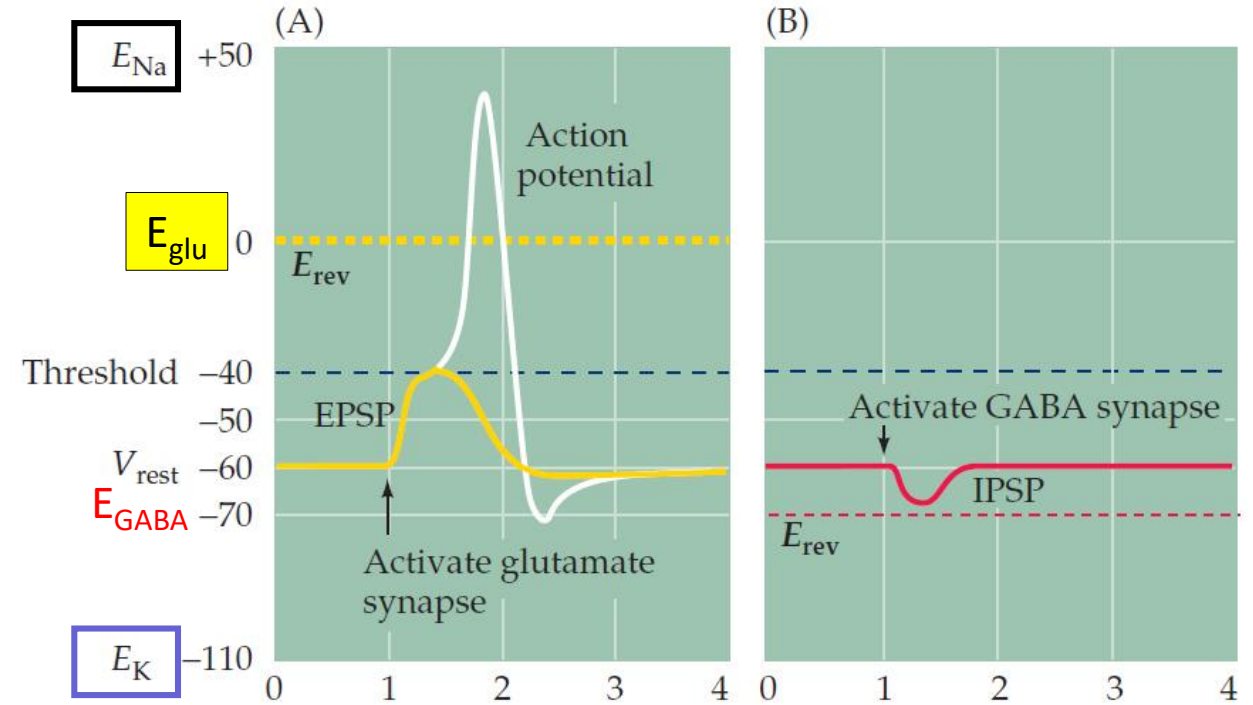
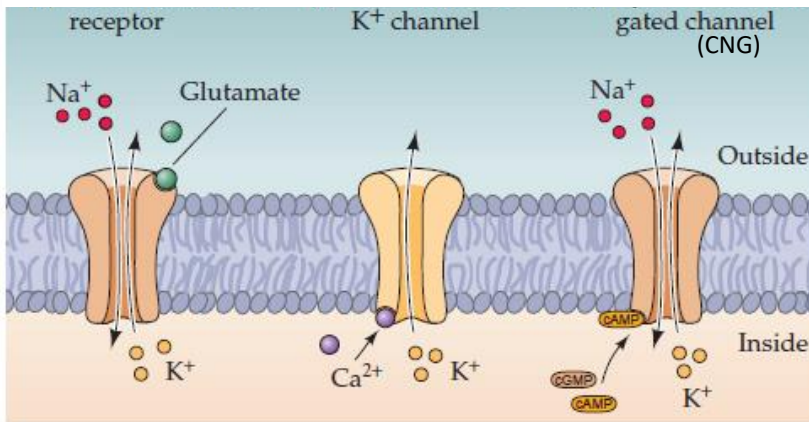
L'ouverture ou la fermeture des canaux dans la membrane (changement de conductance) produit des courants transmembranaires et modifie le potentiel de membrane (loi d'Ohm, $U = IR$ ou $U = I/G$ **OU** $V = IR$ ou $V = I/G$).

Rappel: Canaux ioniques d'un neurone typique

Canaux activés par le voltage ou par GABA



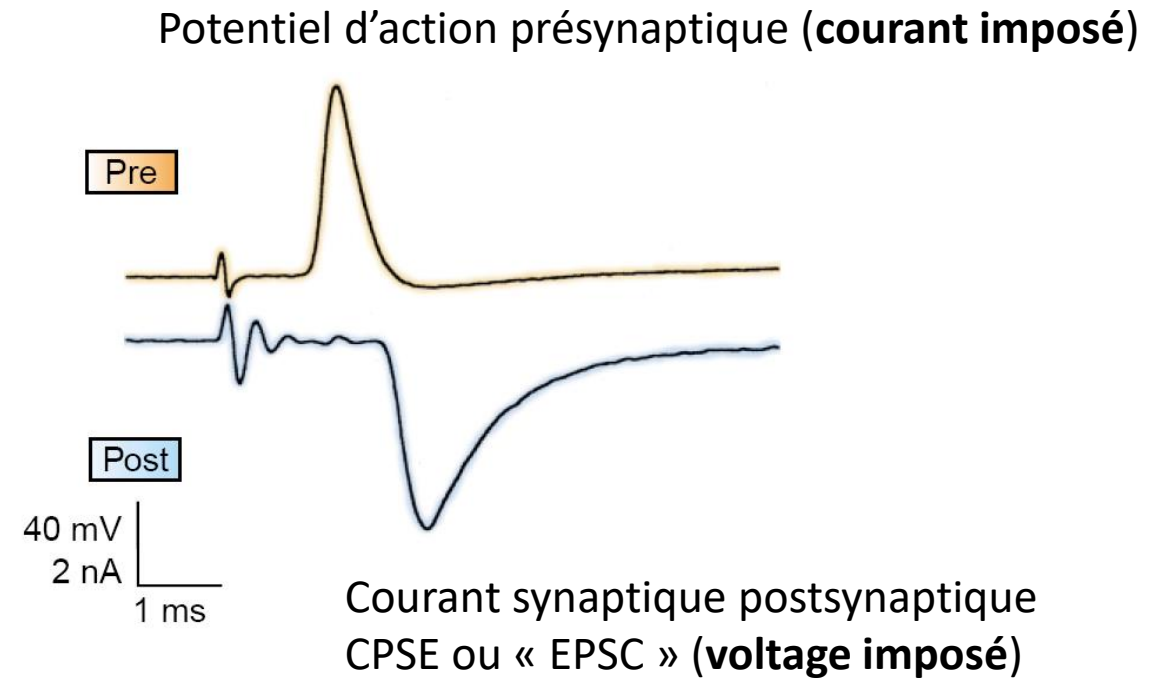
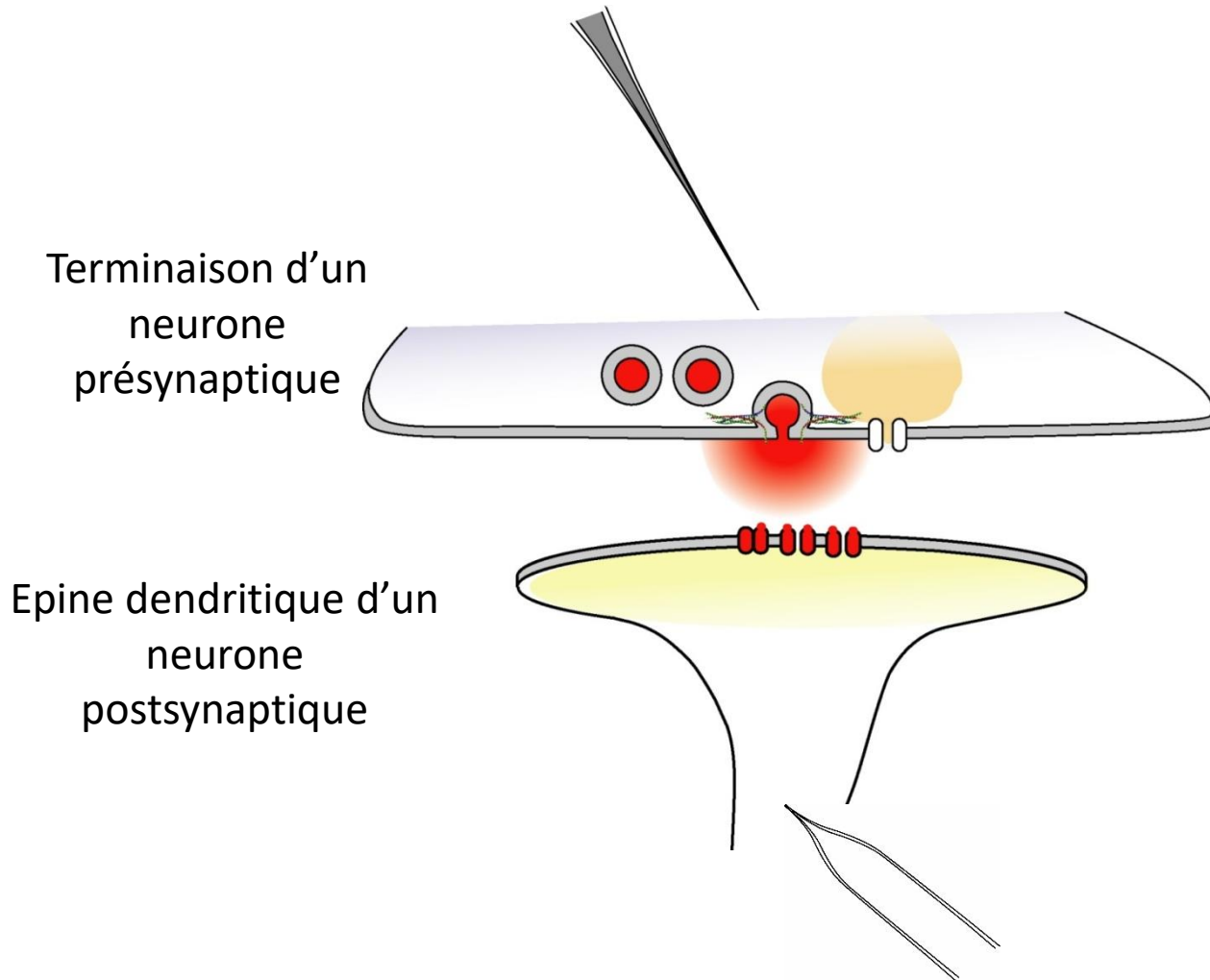
Canaux activés par un ligand ou seconds messagers intracellulaire



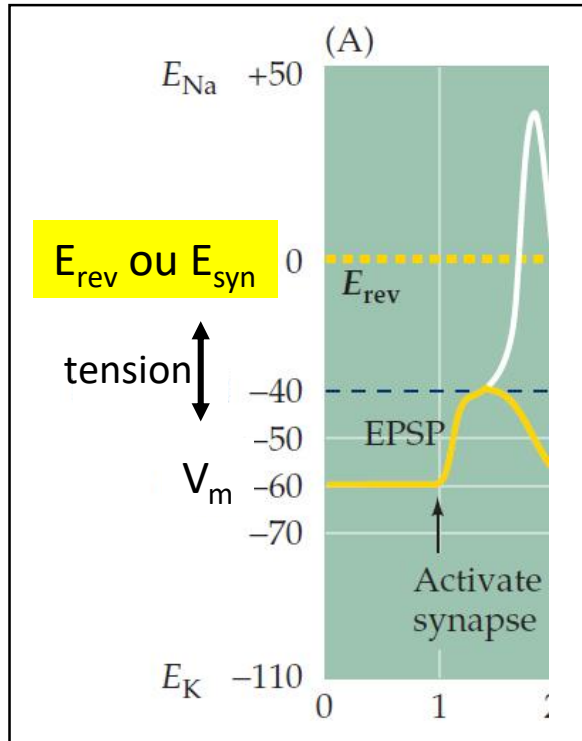
E_{GABA} , E_{glu} , E_{K} , E_{Na} = potentiel de réversion des récepteur GABA, récepteurs de glutamate, les canaux potassiques, et le canaux sodiques, respectivement.

L'ouverture ou la fermeture des canaux dans la membrane (changement de conductance) produit des courants transmembranaires et modifie le potentiel de membrane (loi d'Ohms, $U = IR$ ou $U = I/G$).

Électrophysiologie: enregistrement de la transmission synaptique



Le loi de ohms permet de calculer le courant synaptique



Le loi d'ohms
 $V = IR$ ou $U = IR, I = U/R$

$R = 1/G, \text{ donc } I = UG$

$U = \text{tension} = V_m - E_{rev}$

i.e. La tension = la différence entre le potentiel de la membrane et la potentiel de réversion du conductance

V ou **U** = Tension ou voltage (volts)
R = Resistance (ohms)
G = Conductance (siemens)
I = Courant (ampères)
V_m = Potentiel de la membrane
E_{rev} = Potentiel de réversion du conductance ou canaux

Un courant transmembranaire (ampères): $I = (V_m - E_{rev}) G$

Un courant synaptique : $I_{syn} = (V_m - E_{récepteur\ syn}) G_{récepteur\ syn}$

Courants synaptiques

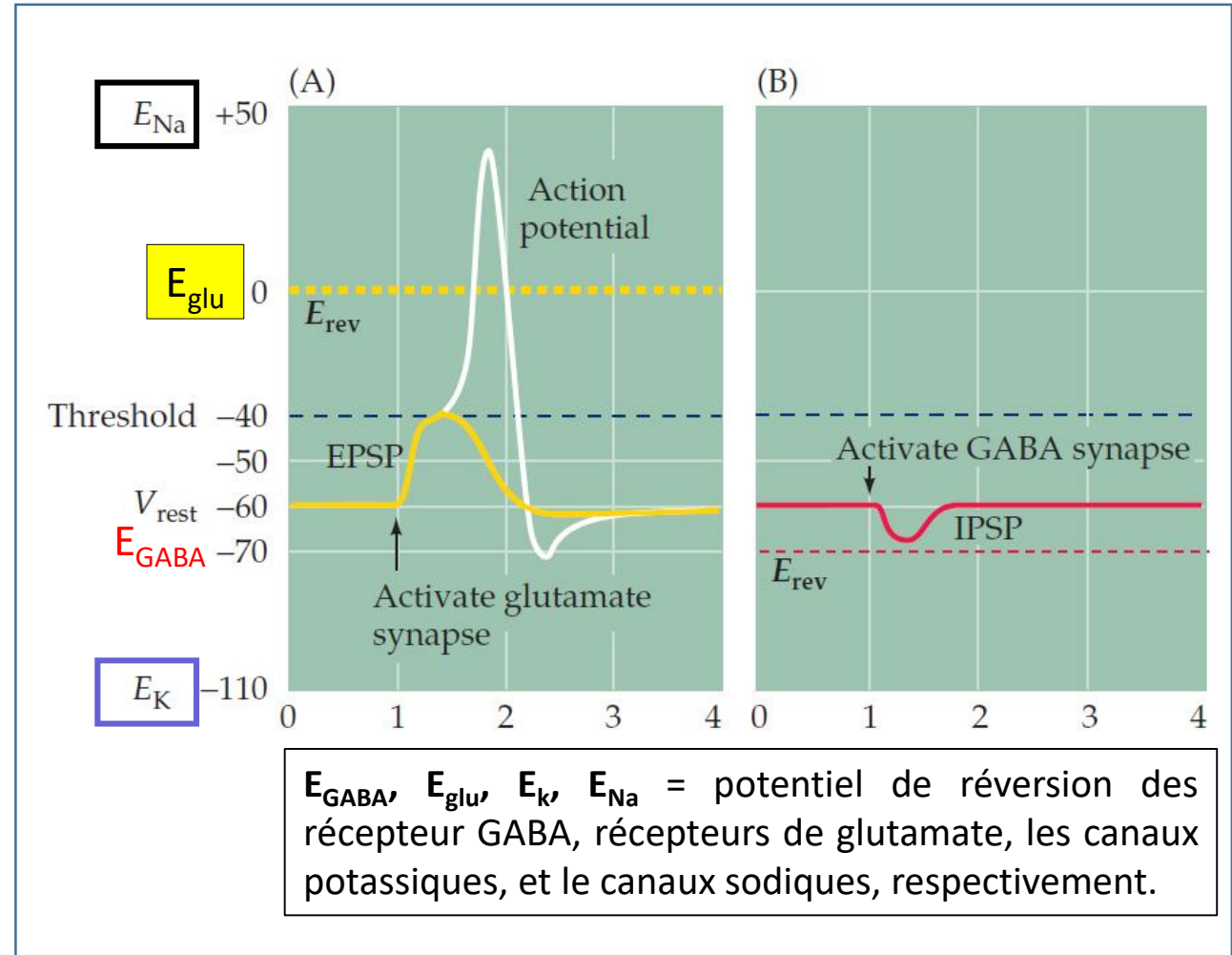
Courant entrant



Courant synaptique: $I_{syn} = (V_m - E_{rev}) G_{syn}$
 Courant synaptique glu. : $I_{syn} = (V_m - E_{glu}) G_{glu}$

$I_{syn} < 0$, courant entrant

Courant entrant = net flux de charge positive qui entre dans la cellule

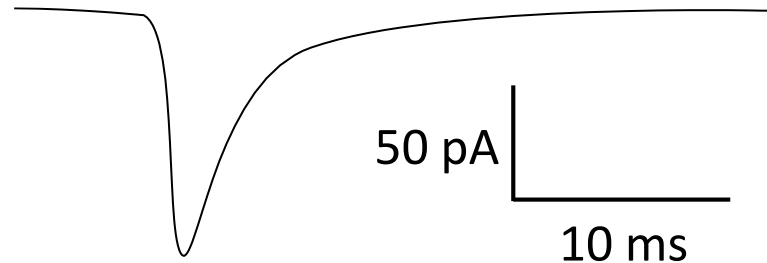


Loi de Ohm; $I = U/R$ ou $I = UG$

I_{syn} = Courant synaptique; G_{syn} = Conductance synaptique; V_m = Voltage ou potentiel membranaire;
 E_{rec} = potentiel de réversion du récepteur; R = résistance = $1/G$

Calcul des courants entrants postsynaptiques

Courant entrant



$$I_{\text{syn}} = (V_m - E_{\text{rev}}) G_{\text{syn}}$$

$$I_{\text{syn}} < 0, \text{ courant entrant}$$

Courant entrant = net flux de charge positive qui entre dans la cellule

On peut calculer le courant synaptique si, par exemple:

Le conductance postsynaptique,

$$G_{\text{syn}} = 1,66 \text{ nS}$$

Membrane potentiel,

$$V_m = -60 \text{ mV}$$

Le potentiel de réversion des récepteurs synaptiques, (E_{ion} typique pour les récepteurs glutamatergiques)

$$E_{\text{rev}} = 0 \text{ mV}$$

$$I_{\text{syn}} = (V_m - E_{\text{rev}}) G_{\text{syn}}$$

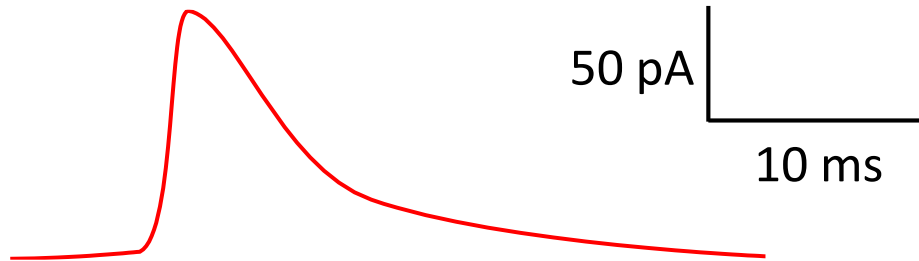
$$I_{\text{syn}} = (-60 \text{ mV} - 0 \text{ mV}) 1,66 \text{ nS}$$

$$I_{\text{syn}} = -100 \times 10^{-12} \text{ A} \text{ ou } -100 \text{ pA}$$

$I_{\text{syn}} < 0$, donc un courant entrant, dépolarisant de 100 pA

Courants et potentials synaptiques

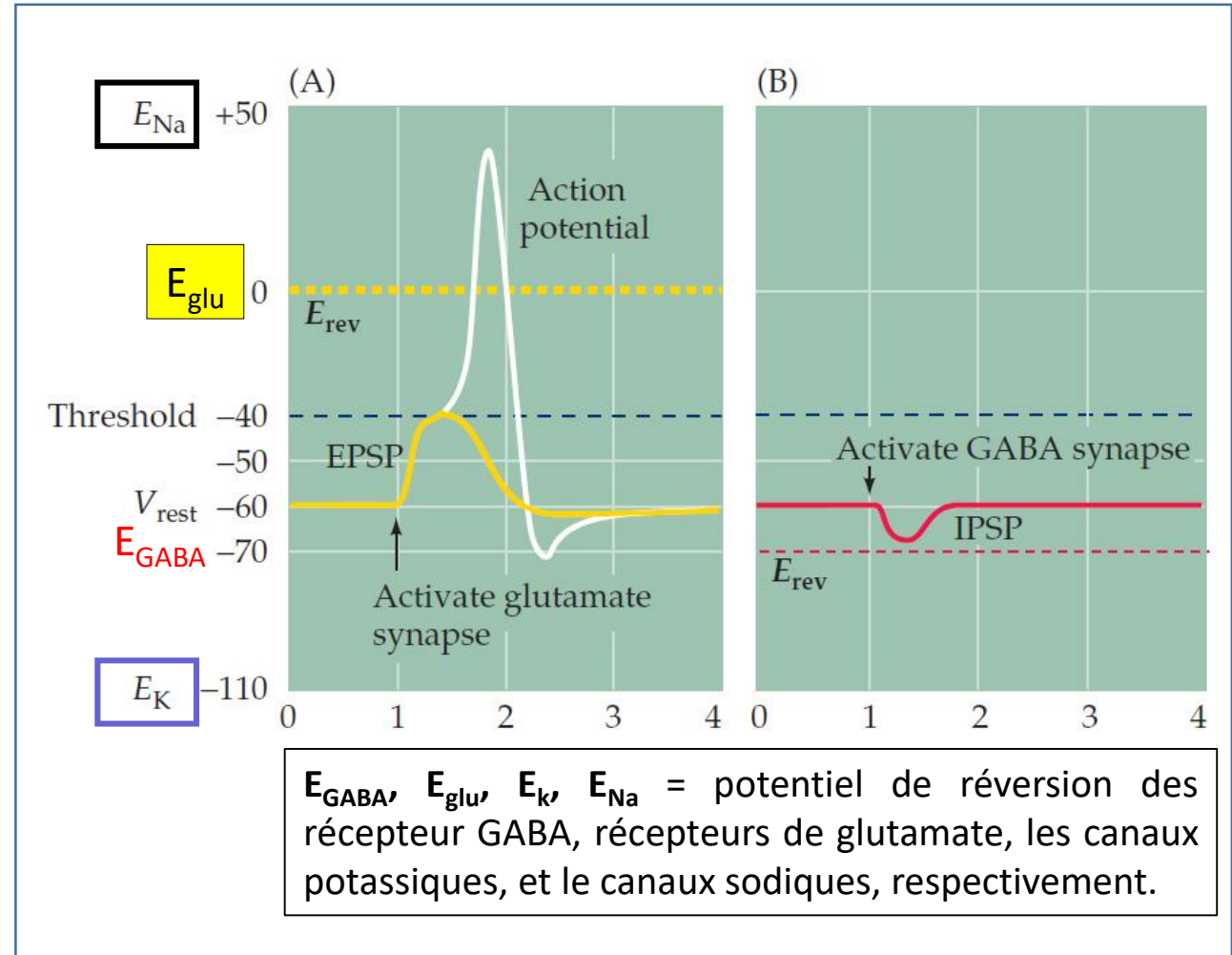
Courant sortant



Courant synaptique: $I_{syn} = (V_m - E_{rev}) G_{syn}$
 Courant synaptique GABA: $I_{syn} = (V_m - E_{GABA}) G_{GABA}$

$I_{syn} > 0$, courant sortant

Courant sortant = net flux de charge positive qui sort de la cellule

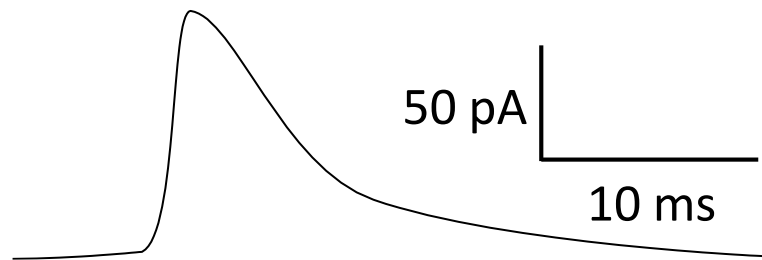


Loi de Ohm; $I = U/R$ ou $I = GR$

I_{syn} = Courant synaptique; G_{syn} = Conductance synaptique; V_m = Voltage ou potentiel membranaire;
 E_{rec} = potentiel de réversion du récepteur; R = résistance = $1/G$

Calcul des courants sortant postsynaptiques

Courant sortant



$$I_{\text{syn}} = (V_m - E_{\text{rev}}) G_{\text{syn}}$$

$I_{\text{syn}} > 0$, courant sortant

Courant sortant = net flux de charge positive qui sort de la cellule

On peut calculer le courant synaptique si, par exemple:

Le conductance postsynaptique,

$$G_{\text{GABA}} = 10 \text{ nS}$$

Membrane potentiel,

$$V_m = -60 \text{ mV}$$

Le potentiel de réversion des récepteurs synaptiques, (E_{ion} typique pour les récepteurs GABAergique)

$$E_{\text{GABA}} = -70 \text{ mV}$$

$$I_{\text{syn}} = (V_m - E_{\text{GABA}}) G_{\text{GABA}}$$

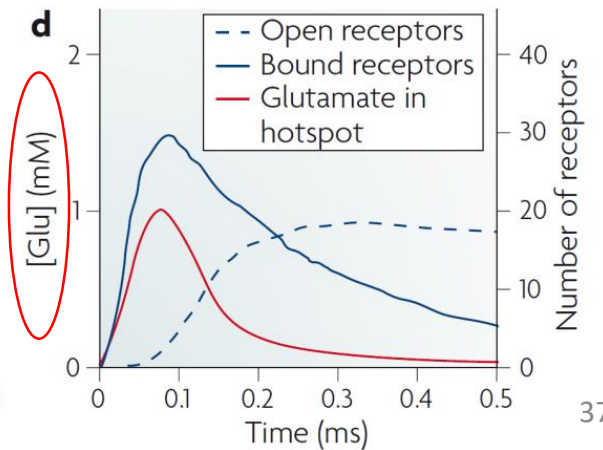
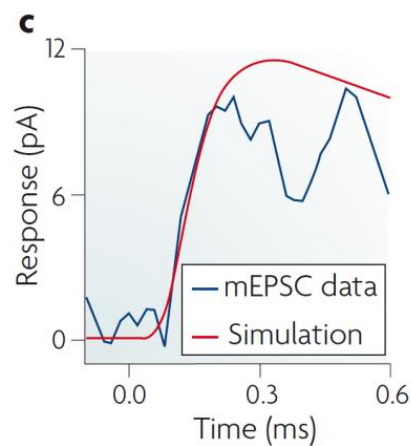
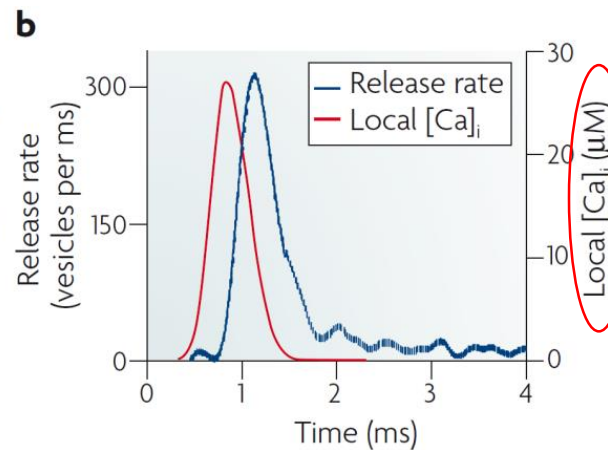
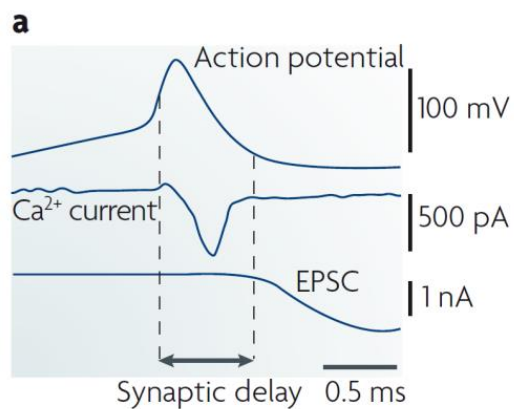
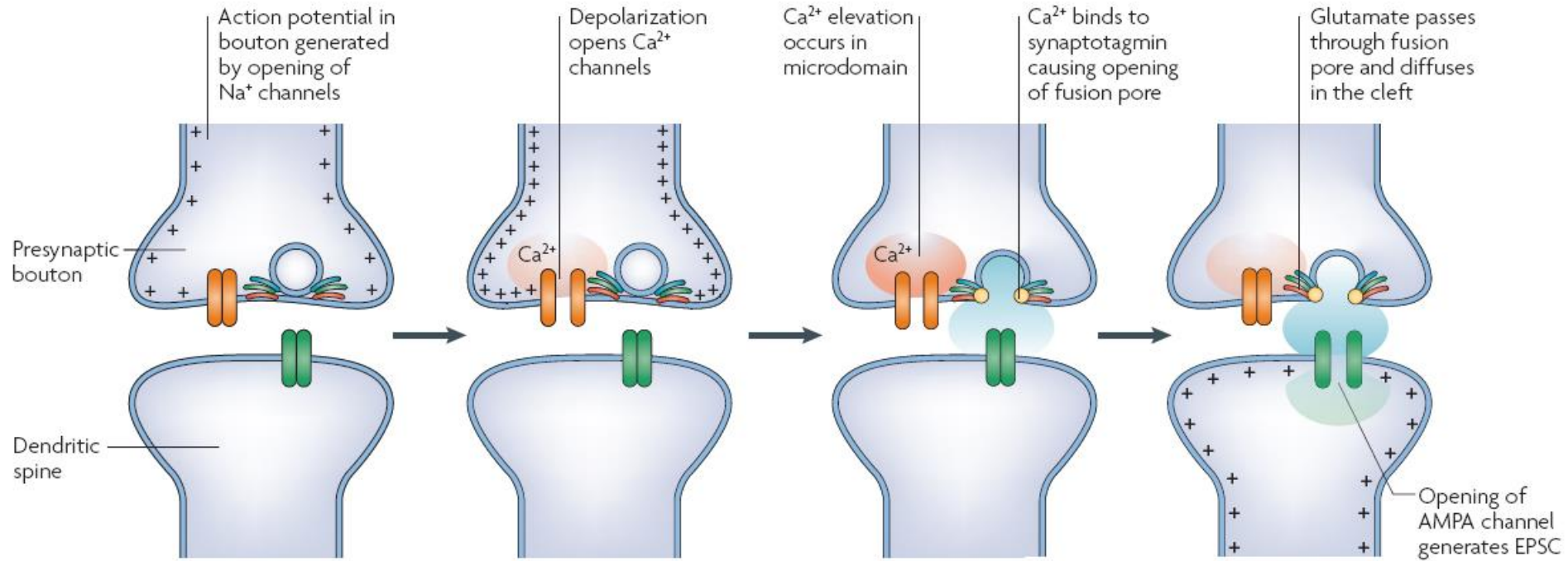
$$I_{\text{syn}} = (-60\text{mV} - (-70\text{mV})) 10 \text{ nS}$$

$$I_{\text{syn}} = 100 \times 10^{-12} \text{ A ou } + 100 \text{ pA}$$

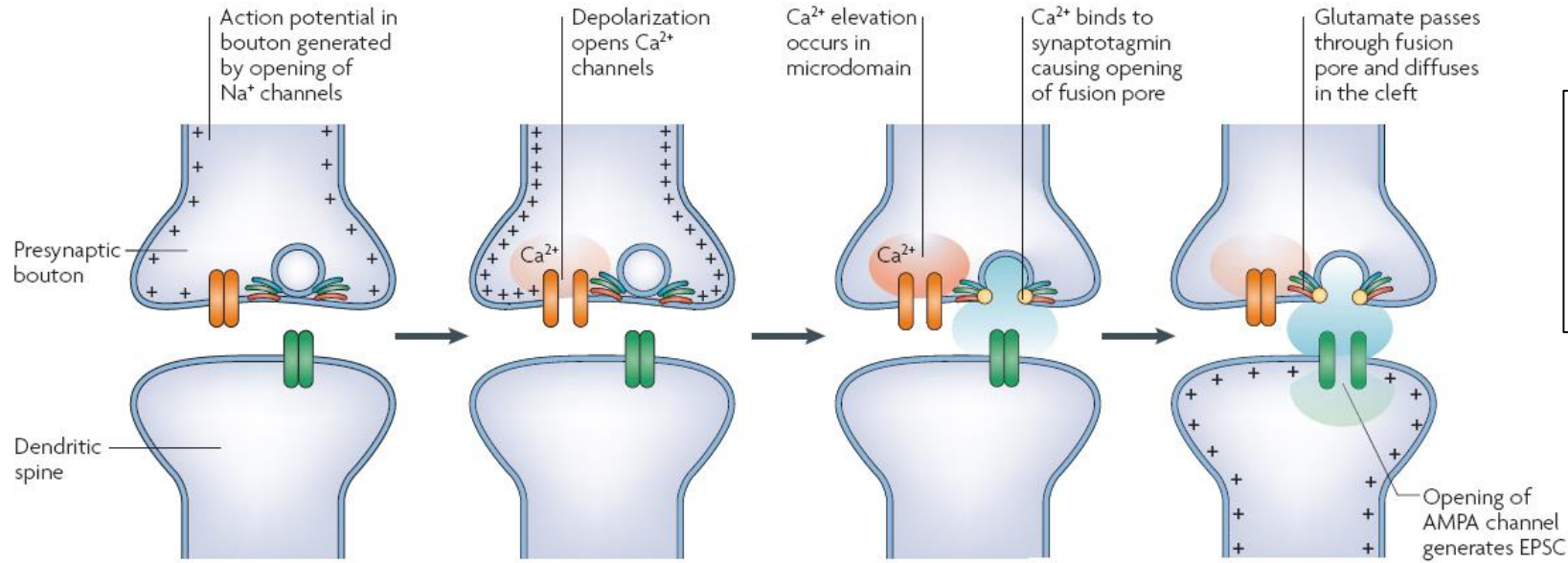
$I_{\text{syn}} > 0$, donc un courant sortant, hyperpolarisant

Transmission synaptique: échelle du temps

Transmission synaptique: échelle du temps

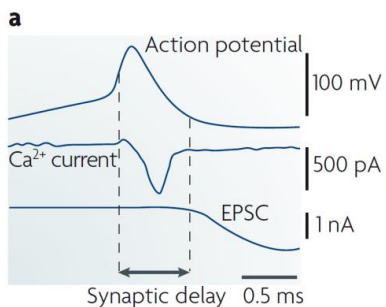


Transmission synaptique

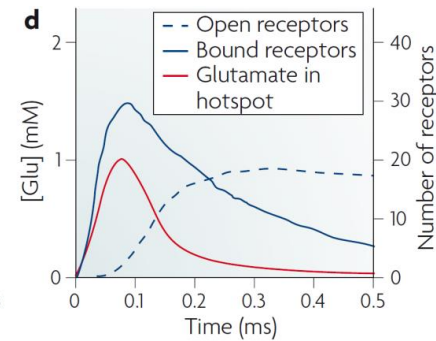
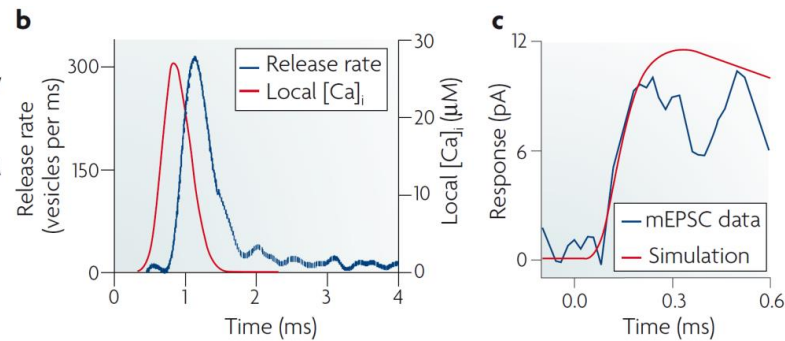


La transmission synaptique est:

- Rapide
- Voltage-dépendante
- Calcium-dépendante



Lisman et al. 2007



Résumé:

I. transmission synaptique:

1. La structure de la synapses
2. Courant synaptique $I_{\text{ion}} = (V_m - E_{\text{rev}}) G_{\text{ion}}$
3. Dépendance du calcium
4. Dépendance du voltage
5. La transmission synaptique est variable

Quelle est la cinétique (l'ordre de grandeur) de la transmission synaptique? **~2 ms**

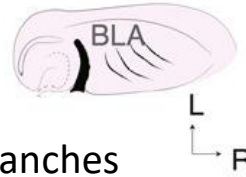
Quelle est le pic concentration du calcium (l'ordre de grandeur) dans le terminaison présynaptique? **2 – 100 μM**

Quelle est la concentration du glutamate (l'ordre de grandeur) dans la fente synaptique? **1 mM**

Comment étudier la transmission synaptique ex vivo



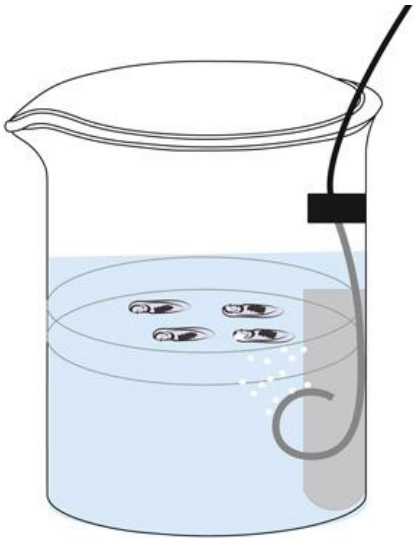
1) Euthanasie de la souris + dissection du cerveau



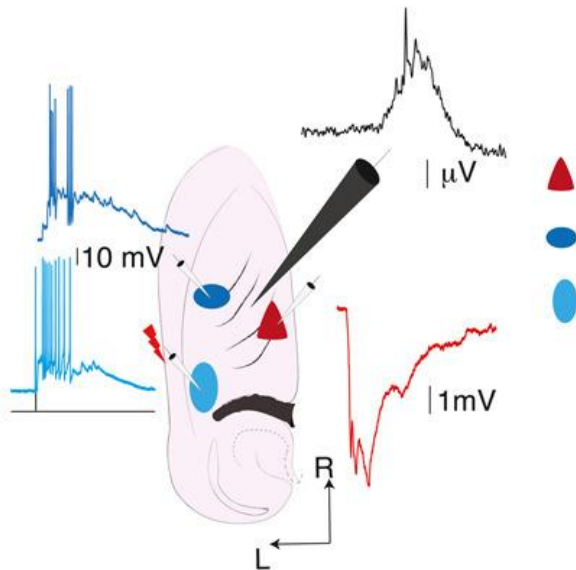
Préparation ex vivo de tranches de cerveau

2) Découper le cerveau en tranches de $\sim 300\mu\text{M}$ avec un vibratome

3) Incubation des tranches dans une solution physiologique oxygénée

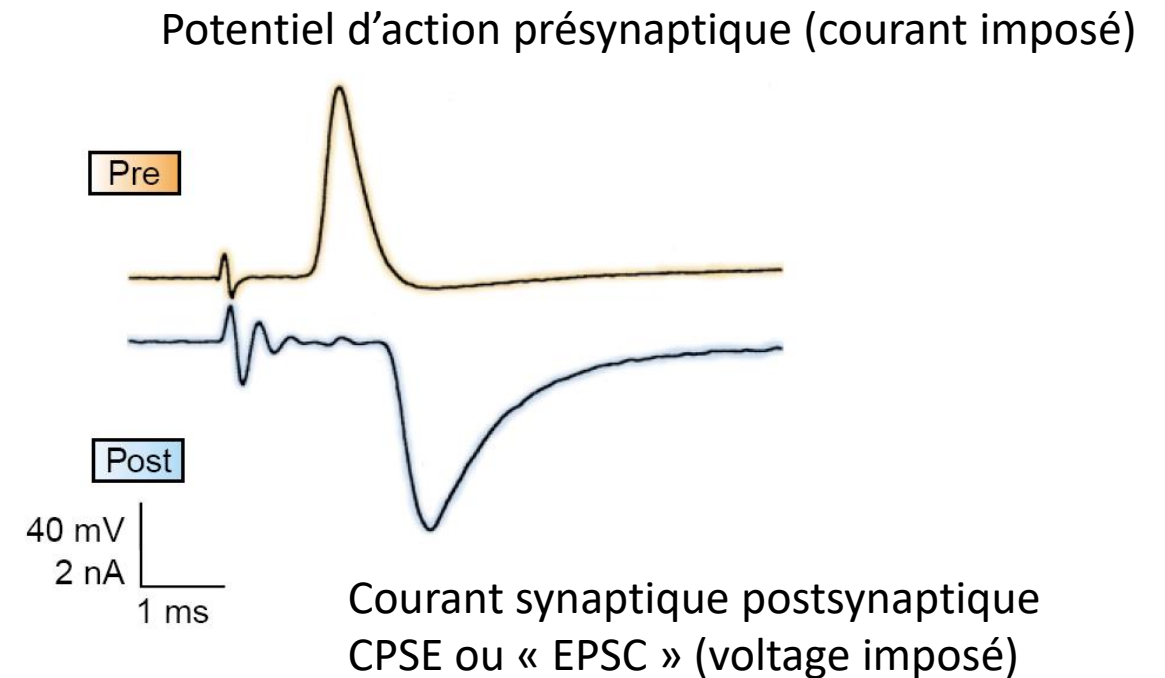
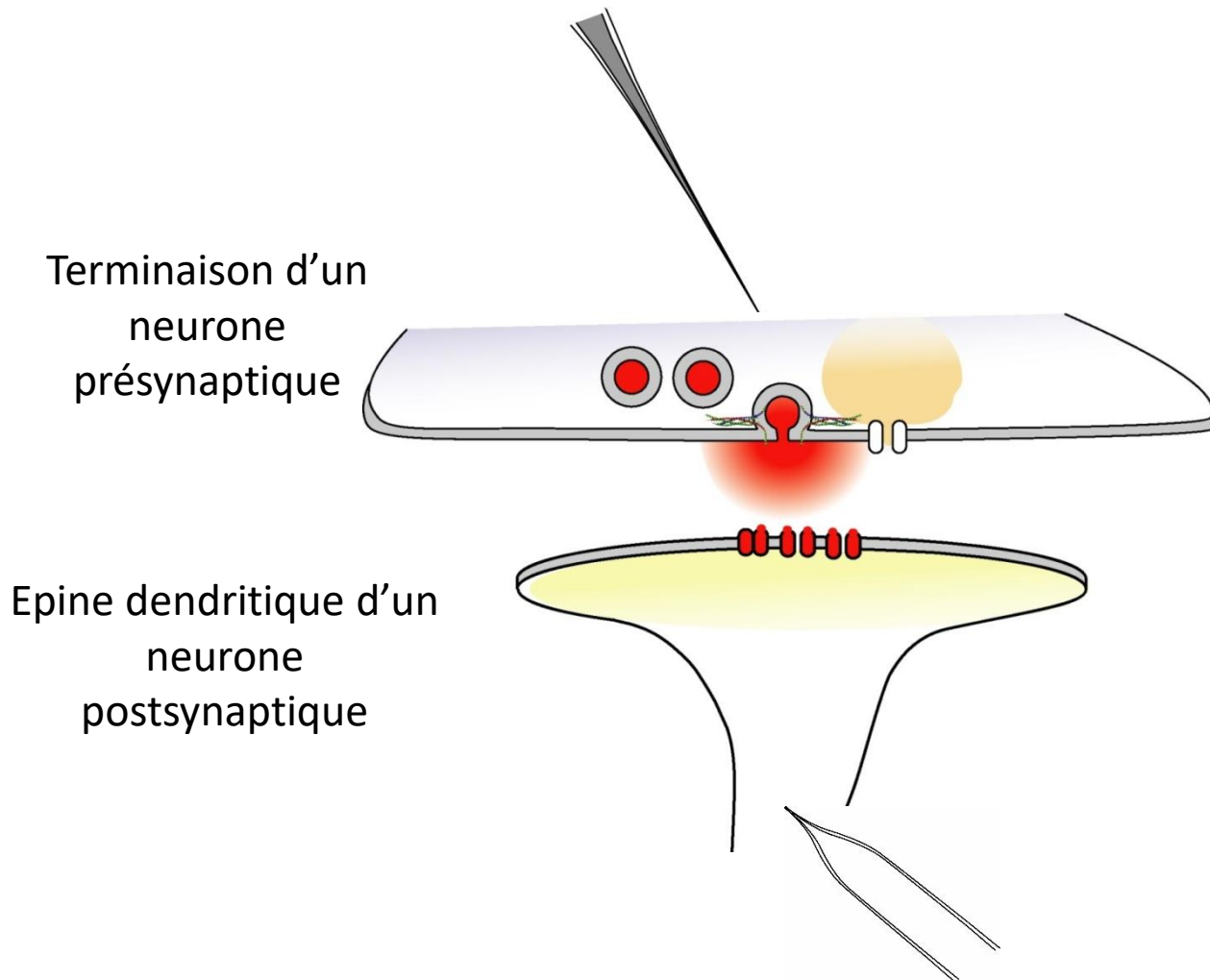


4) Enregistrement électrophysiologique

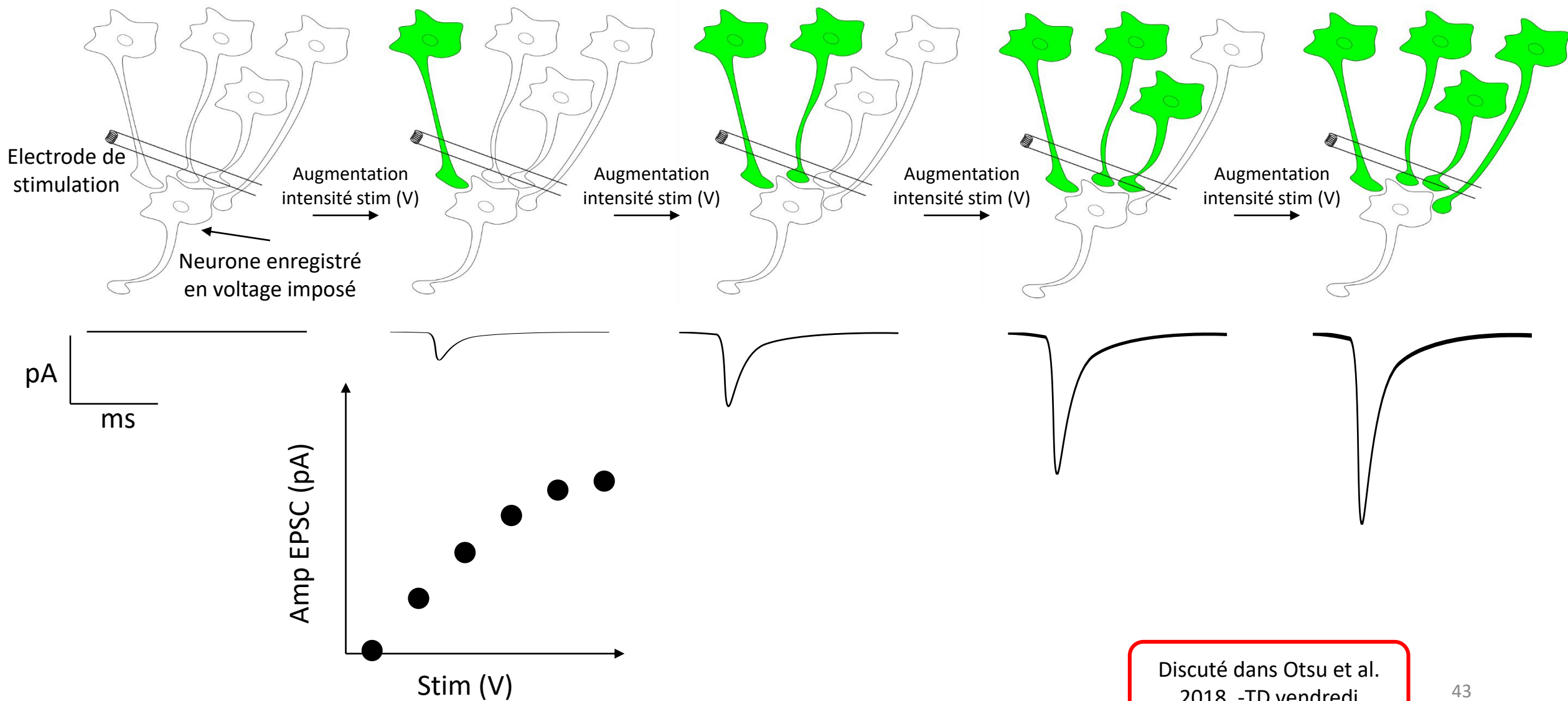


Poste d'électrophysiologie

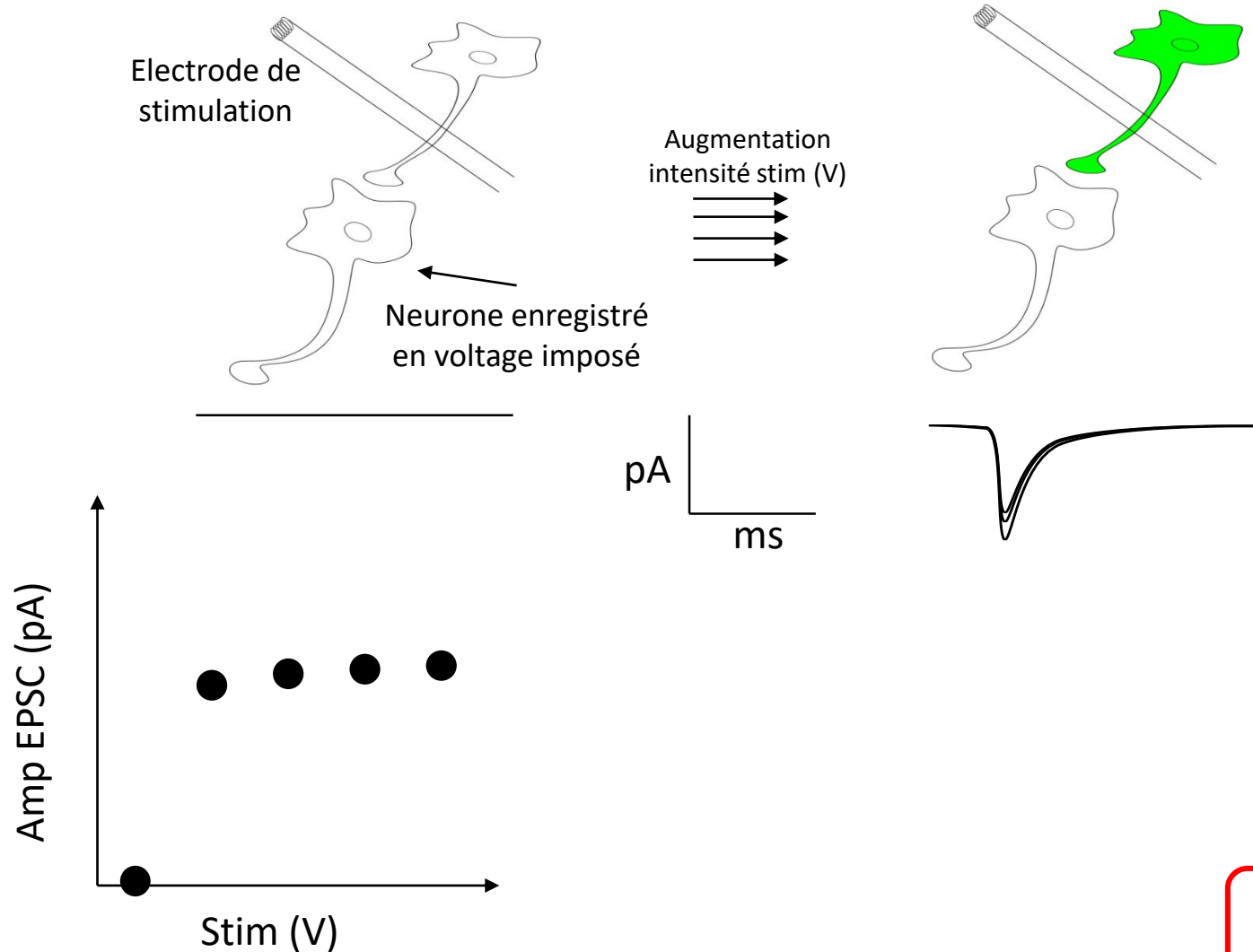
Électrophysiologie: enregistrement de la transmission synaptique



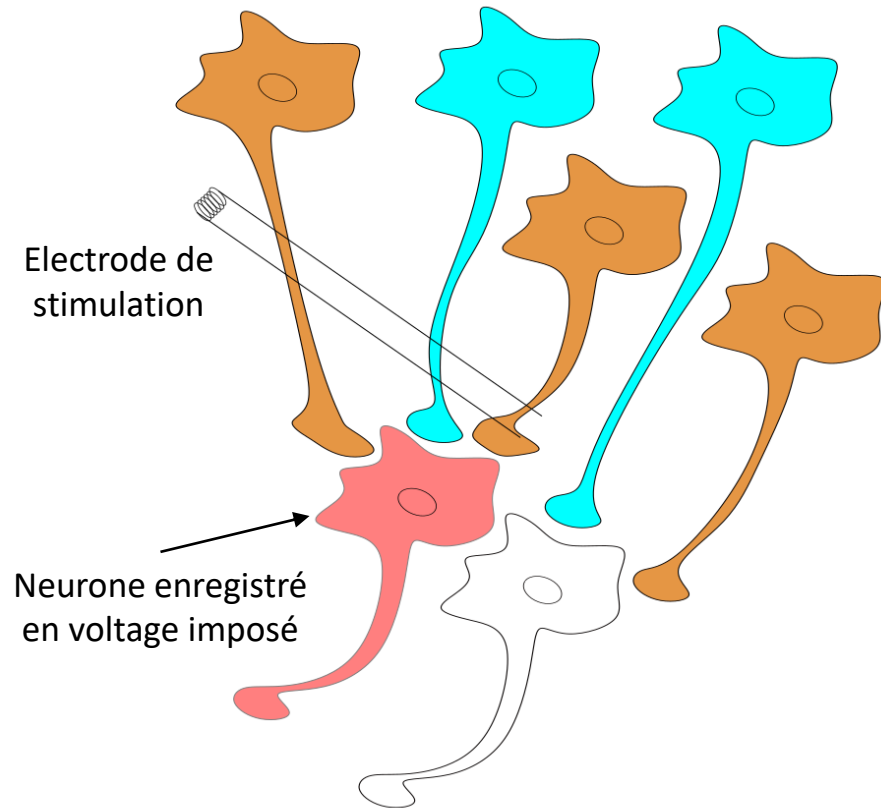
Recrutement des entrées synaptiques par augmentation progressive de l'intensité de la stimulation électrique extracellulaire: des entrées synaptiques multiples



Recrutement des entrées synaptiques par augmentation progressive de l'intensité de la stimulation électrique: exemple d'entrées éparses



La stimulation électrique active indistinctement les entrées synaptiques

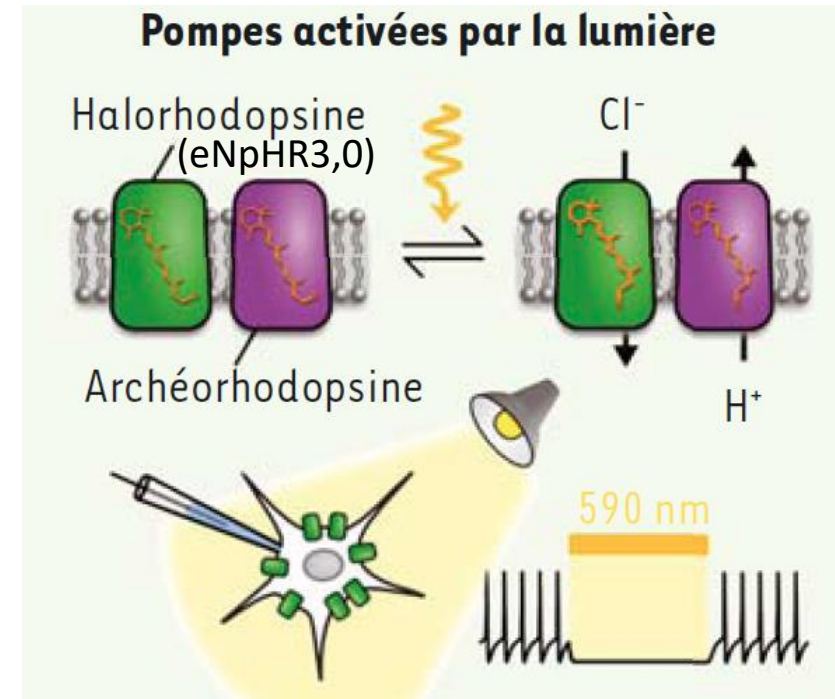
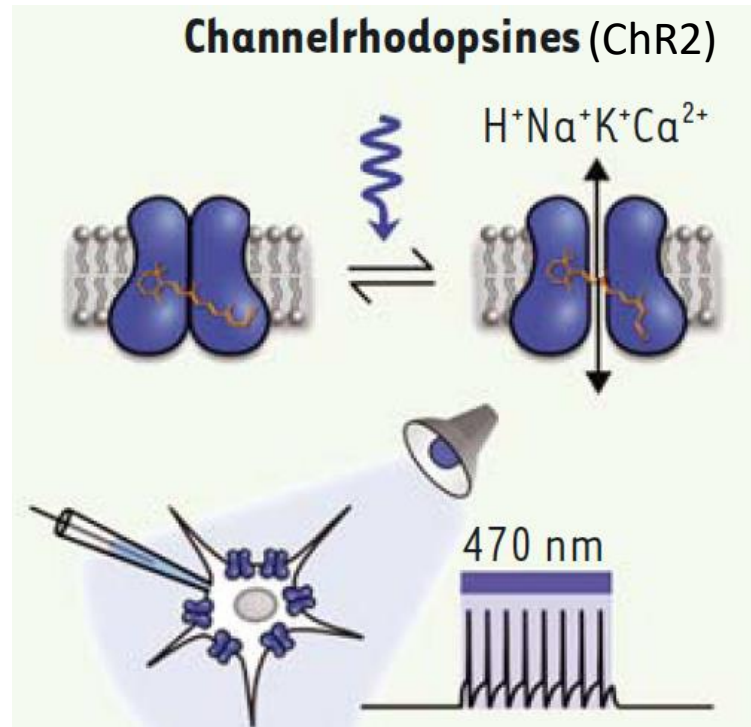


- La stimulation électrique activera indistinctement les entrées synaptiques de différents types de neurones, c'est-à-dire les neurones GABAergiques et Glutamatergiques ou les neurones provenant de différents noyaux présynaptiques.
- Les protéines optogénétiques peuvent être ciblées sur des populations spécifiques de neurones en utilisant des techniques génétiques telles que la recombinaison Cre-Lox.

Stimulation optogénétique de la transmission synaptique

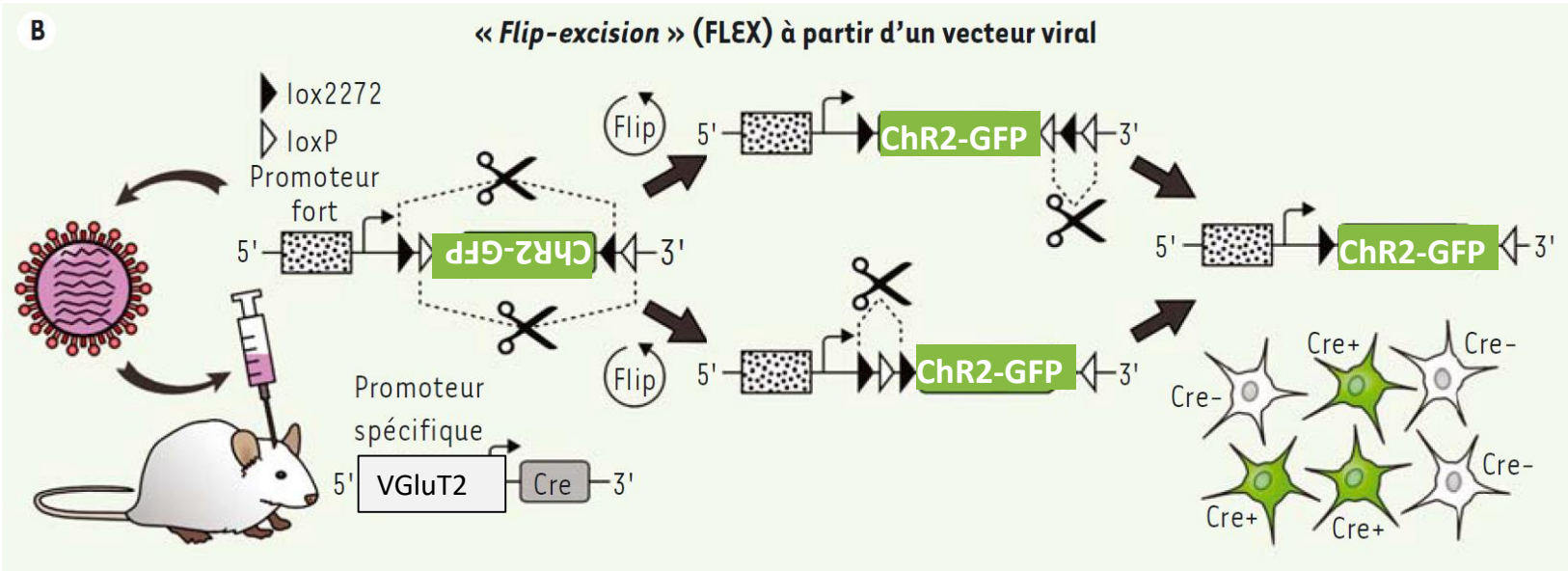
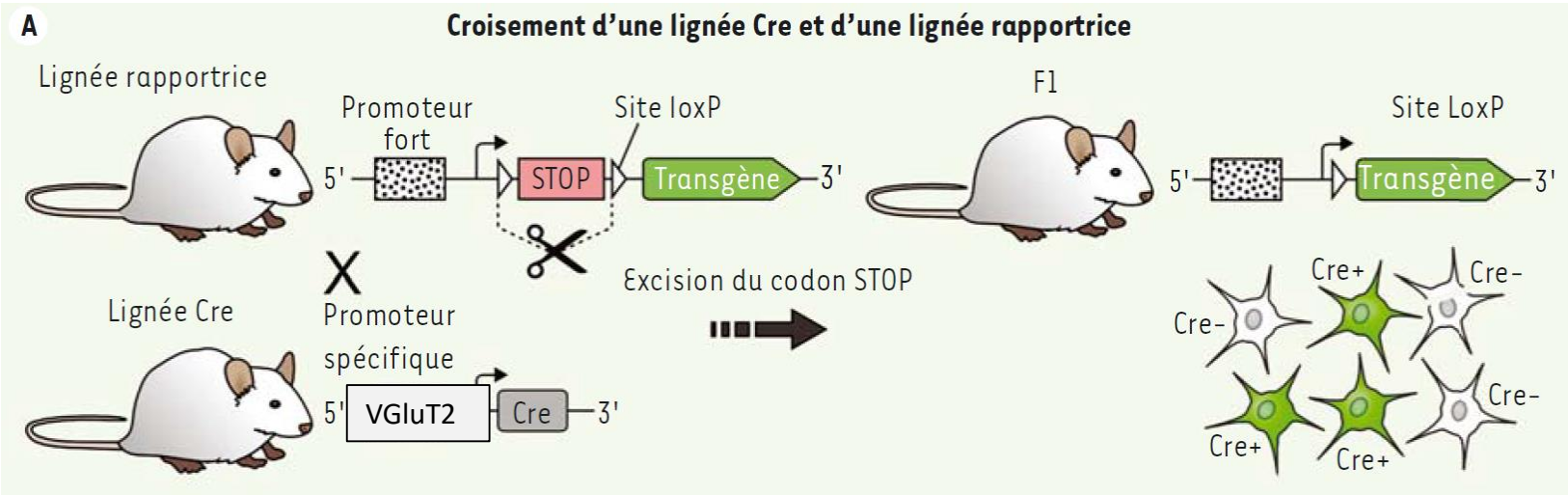
Discuté dans Otsu et
al. 2018. -TD jeudi

Contrôle optogénétique de l'activité neuronale : Channelrhodopsin et Halorhodopsin



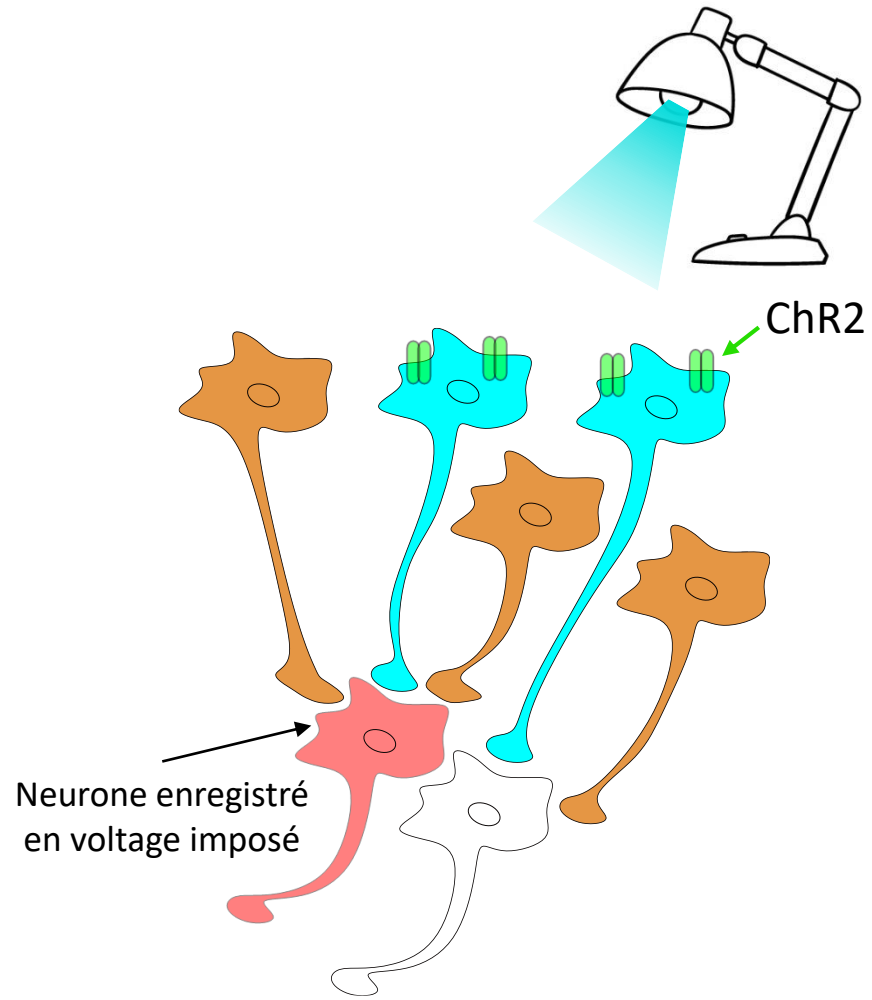
- Identifiés chez les algues vertes, les channelrhodopsines sont des protéines membranaires présentant les propriétés d'un canal sensible à la lumière.
- Quand les channelrhodopsines sont éclairées par une lumière bleue (longueur d'onde de 470 nm), elles changent de conformation et ouvrent un canal perméable aux cations dans la membrane plasmique avec un potentiel d'inversion proche de 0 mV ($E_{ChR2} \sim 0mV$).
- Ce changement de perméabilité induit un courant entrant qui dépolarise le neurone (augmentation d'activité). L'halorhodopsine et l'archéorhodopsine sont des pompes également sensibles à la lumière mais qui créent des courants sortants qui hyperpolarisent le neurone (diminution d'activité).
- Grâce à des technologies génétiques on a la capacité d'exprimer ces « Opsines Microbiennes » dans des populations spécifiques de neurones dans des modèles animaux.
- Cette combinaison de techniques optiques et génétiques pour contrôler ou enregistrer l'activité d'une population spécifique de neurones est appelée « L'Optogénétique » .

Utilisation de la technologie de recombinaison Cre-lox pour cibler les protéines optogéniques sur des populations de neurones spécifiques



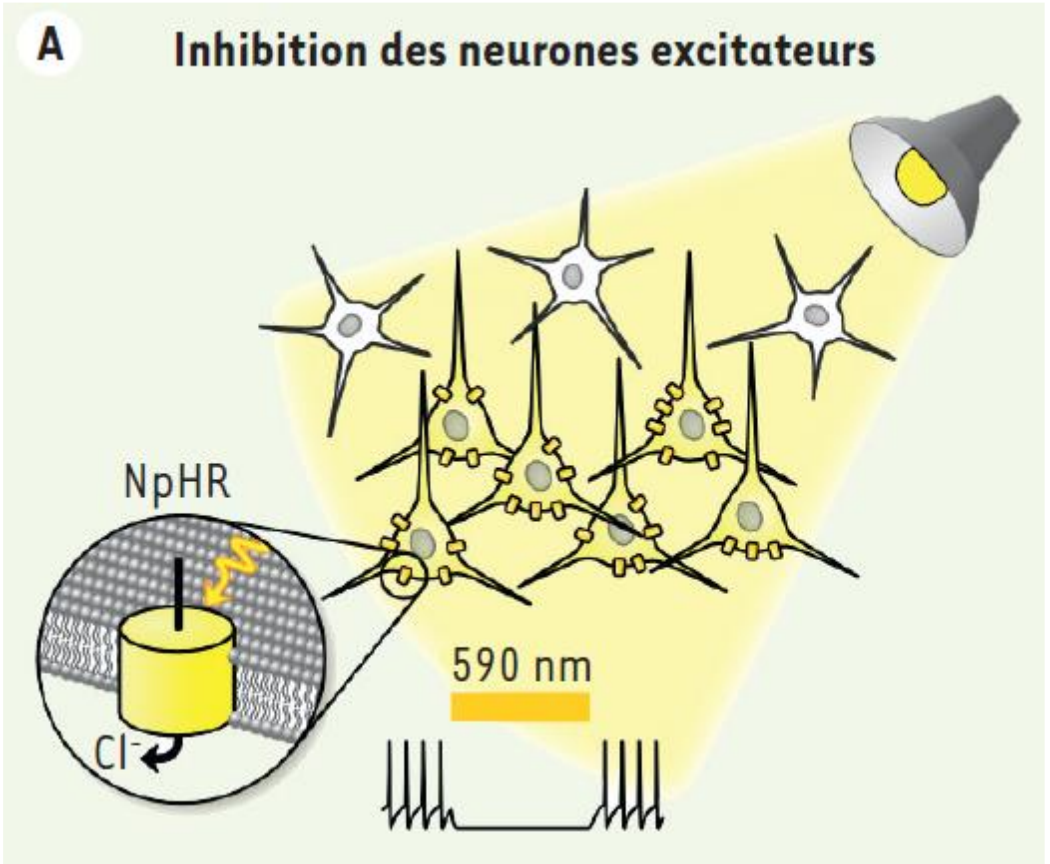
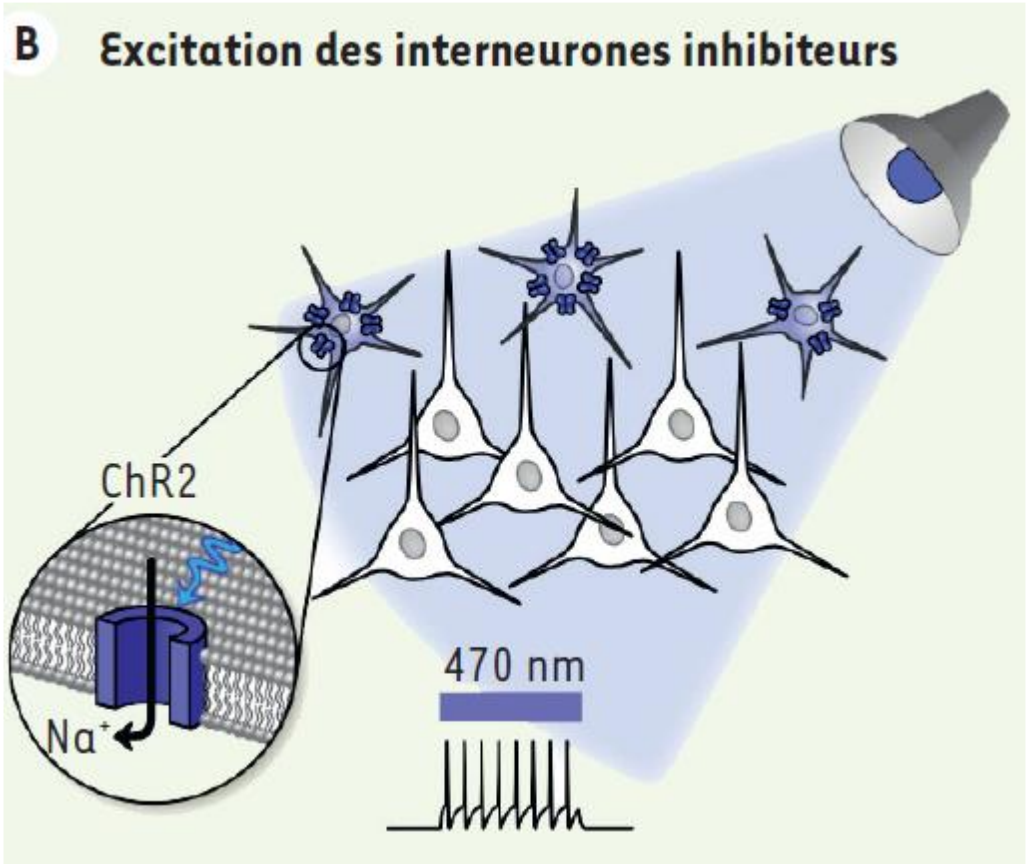
Adapté de Dugue et Tricoire, M/S. 2015

Utilisation de la technologie de recombinaison Cre-lox pour cibler les protéines optogéniques sur des populations de neurones spécifiques



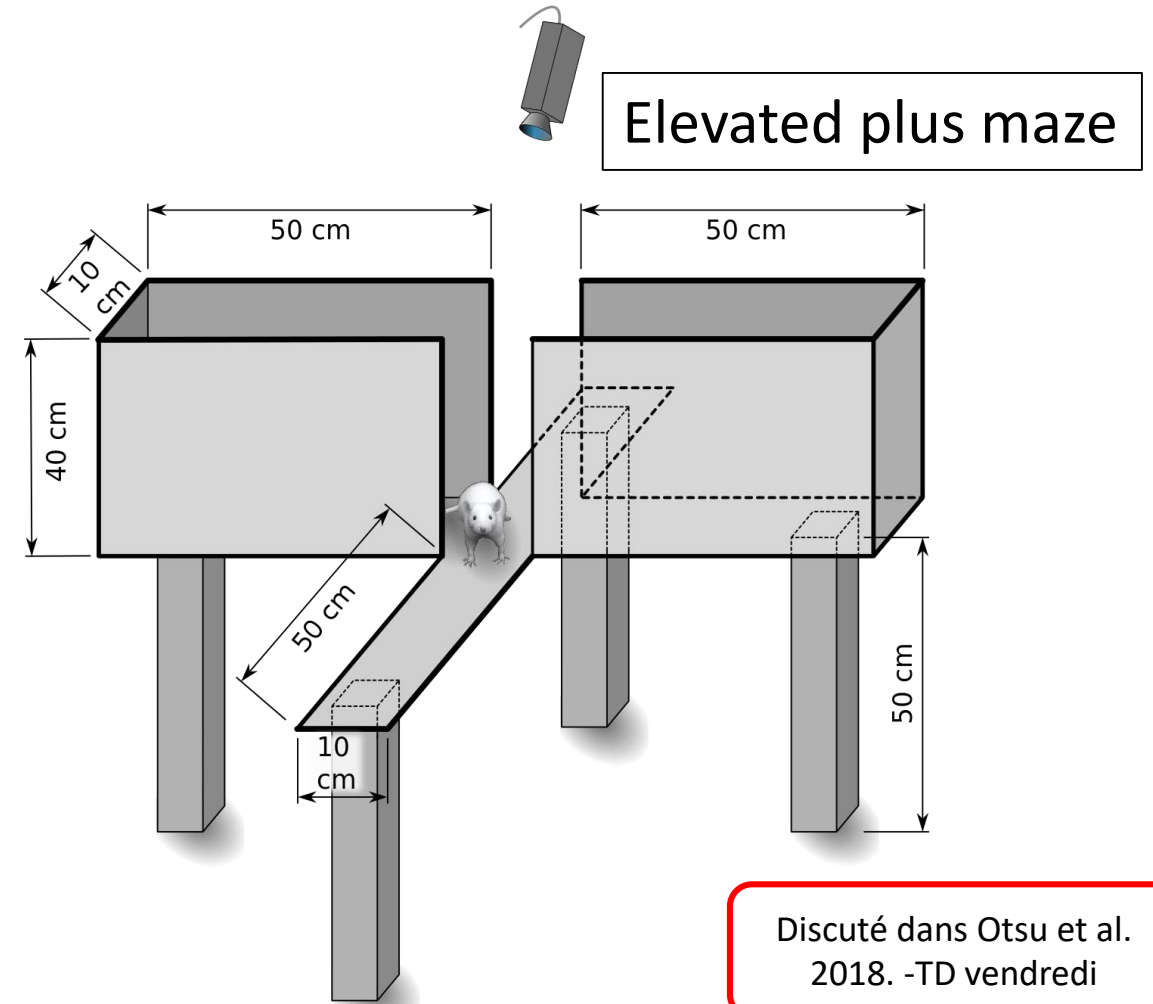
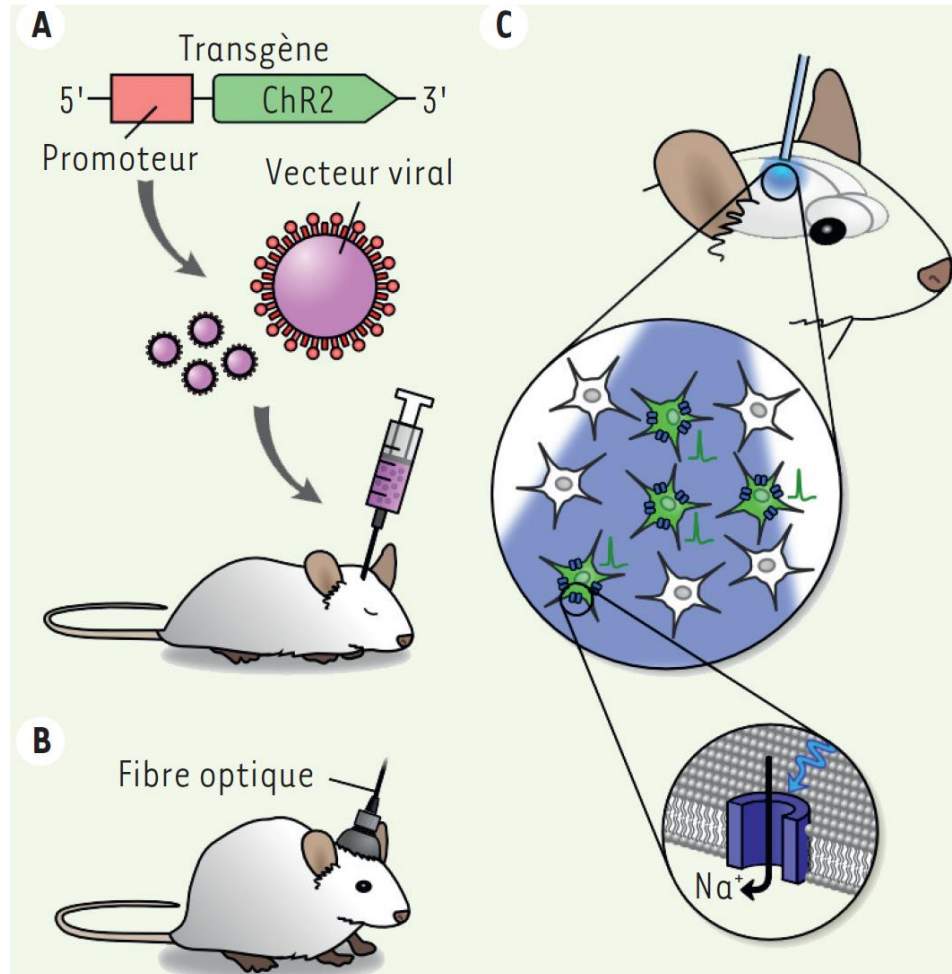
- L'expression sélective de ChR2 dans les neurones de " type bleu ", permet de stimuler sélectivement et d'étudier la physiologie synaptique des entrées des neurones de " type bleu " en stimulant ces neurones avec de la lumière (470 nm pour ChR2).

Utilisation de la technologie de recombinaison Cre-lox pour cibler les protéines optogéniques sur des populations de neurones spécifiques



Dugue et Tricoire, M/S. 2015

L'optogénétique peut être combinée à des protocoles comportementaux pour déterminer comment l'activation (ou l'inhibition) de populations spécifiques de neurones influence le comportement.

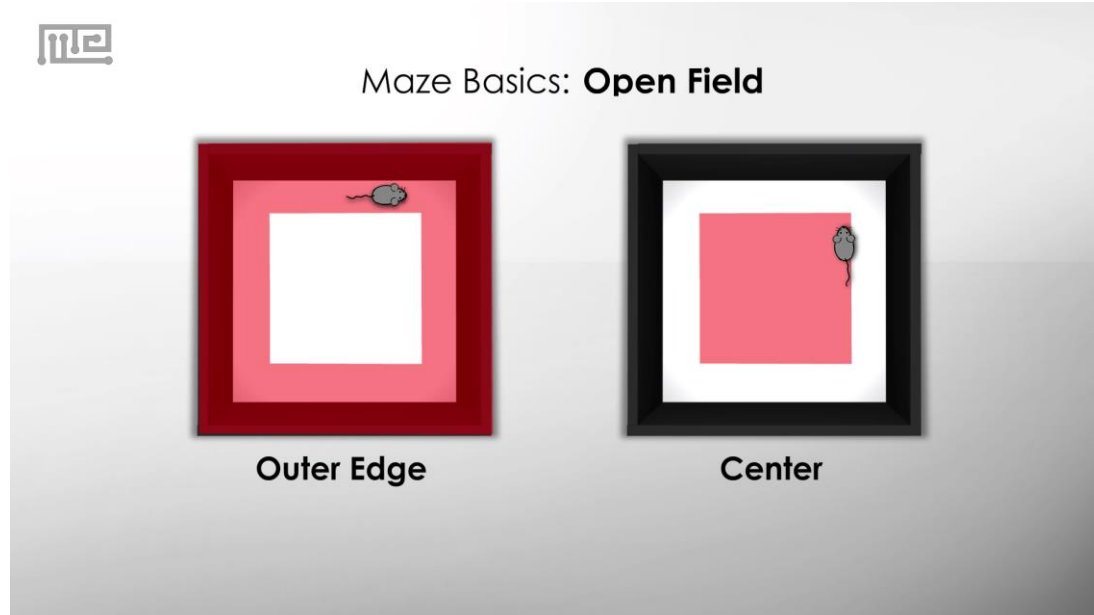


<https://conductscience.com/maze/elevated-plus-maze-basics/>

Quantification du comportement de type anxieux chez la souris à l'aide du test d'exploration en champ libre

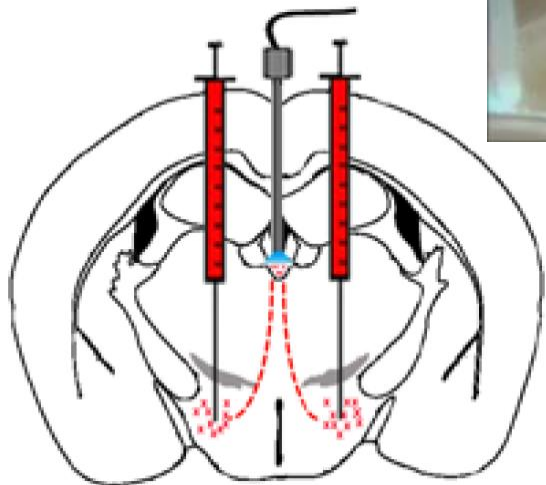
<https://www.youtube.com/watch?v=gJDV2cp8w9E>

Discuté dans Otsu et al.
2018. -TD vendredi



- Un test d'exploration en champ libre est utilisé pour mesurer le niveau d'anxiété des souris. Les souris sont placées dans une arène ouverte et le temps passé près des murs de l'arène et au centre de l'arène est mesuré. Les souris qui passent plus de temps près des murs sur le bord extérieur de l'arène (où elles sont moins exposées aux prédateurs potentiels) sont considérées comme plus anxieuses.
- Un exemple de souris se déplaçant au centre de l'arène ou sur le bord extérieur est indiqué dans la figure. Le temps total que la souris passe à se déplacer dans l'arène, la distance moyenne entre la souris et le mur de l'arène, ainsi que le temps que la souris passe au centre de l'arène sont mesurés.

L'activité synaptique sous-tend le comportement



Rapid binge-like eating and body weight gain driven by zona incerta GABA neuron activation

Xiaobing Zhang and Anthony N. van den Pol*. Science. 2017.

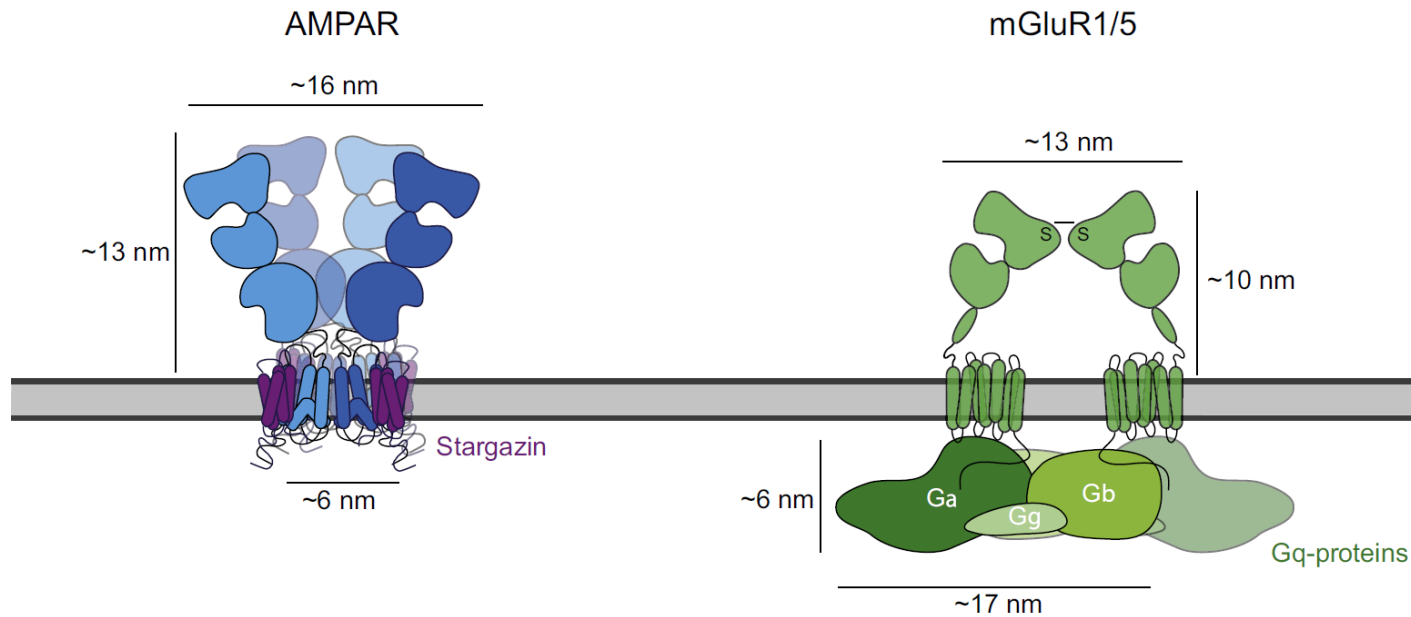
Résumé Optogénétique

- Les outils optogénétiques permettent d'exciter ou d'inhiber des populations spécifiques de neurones avec de la lumière.
- Dans des préparations de tranches de cerveau ex vivo, cette technologie permet d'étudier les entrées synaptiques provenant de noyaux ou de sous-types de neurones spécifiques.
- In vivo, en implantant des fibres optiques dans des noyaux spécifiques, l'activité de populations spécifiques de neurones peut être modulée (excitée ou inhibée) pour déterminer comment ces neurones influencent le comportement.
- L'optogénétique permet ainsi aux chercheurs de relier les propriétés uniques de la transmission synaptique de populations spécifiques de neurones au comportement.

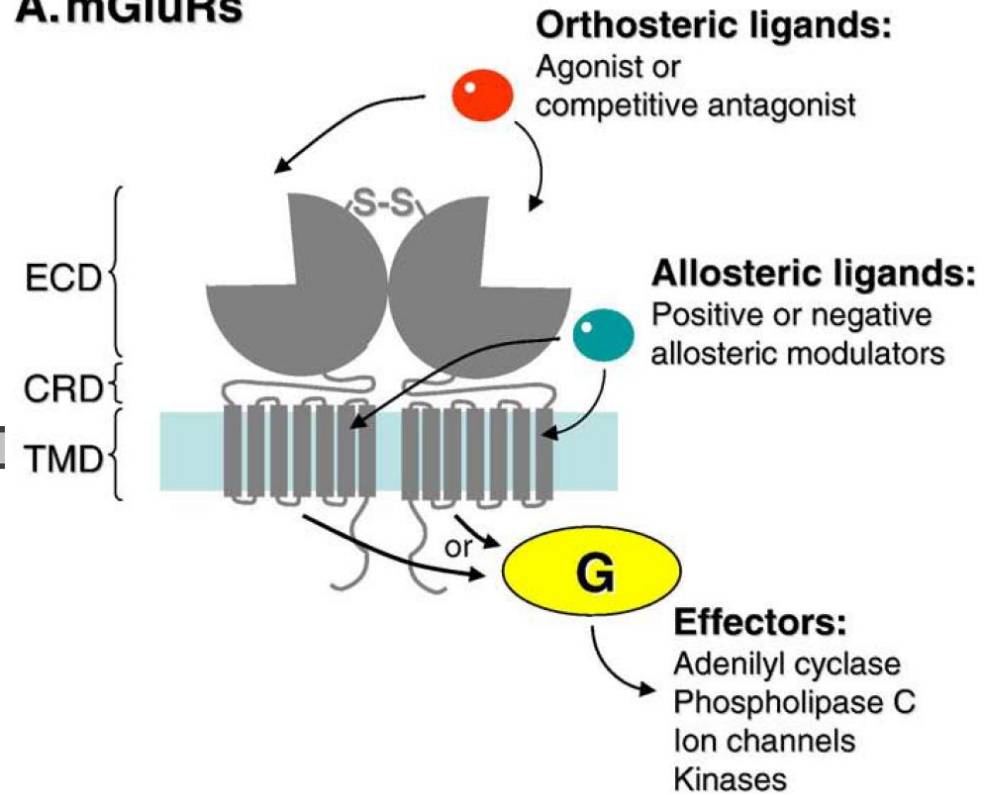
Des récepteurs métabotropiques et ionotropiques dans la transmission synaptique: exemple de récepteurs du glutamate

Glutamate active les récepteurs métabotropiques et ionotropiques.

AMPA and mGluR1/5 receptor topology



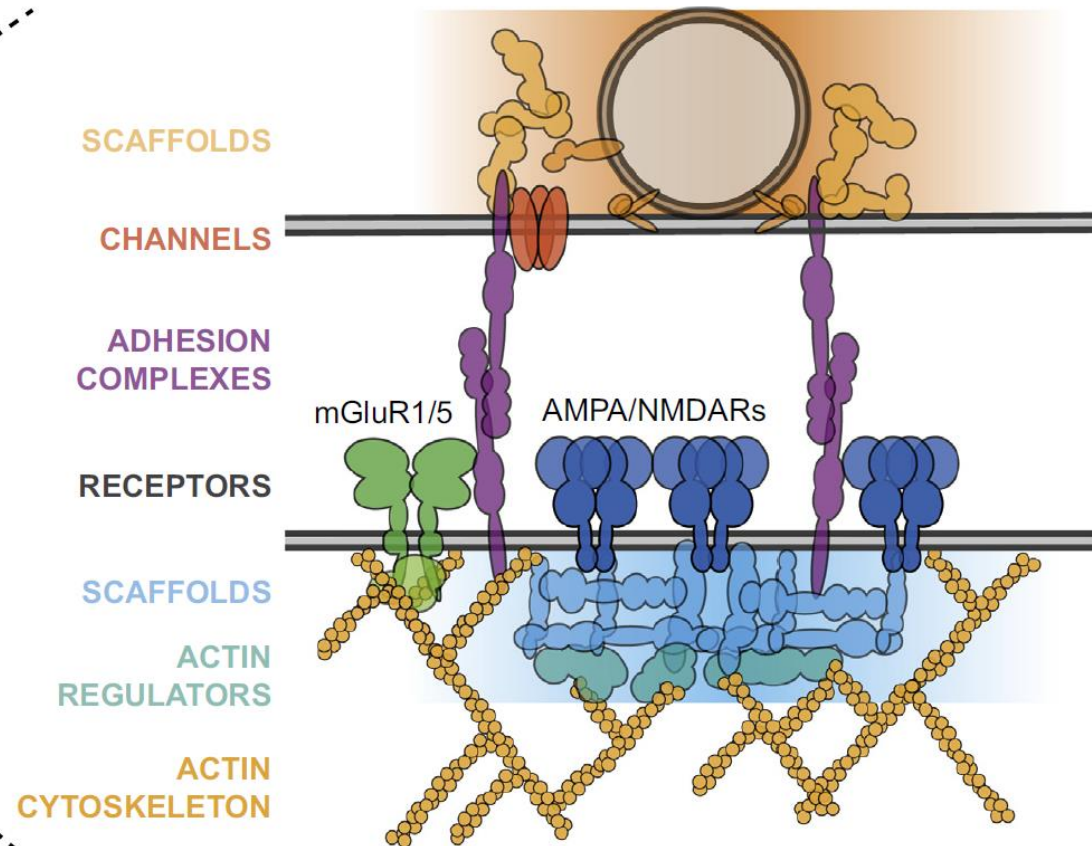
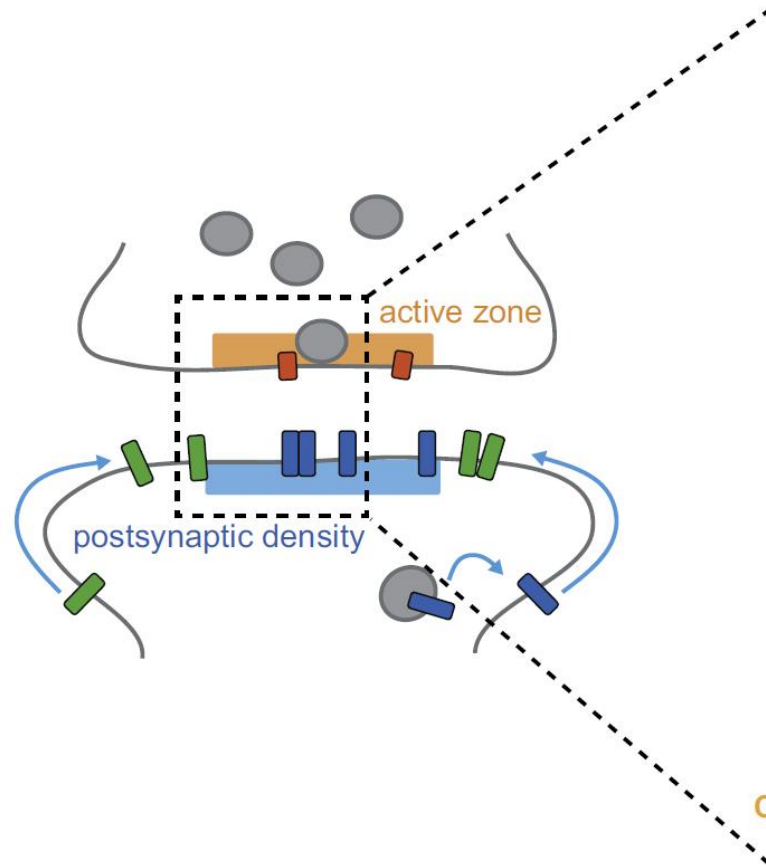
A. mGluRs



Goudet et al. Brain research reviews. 2009

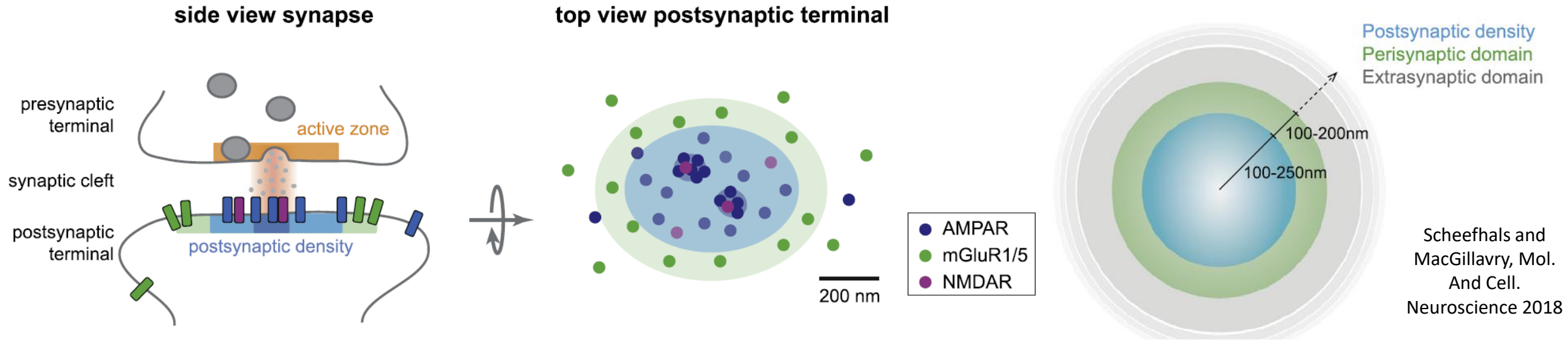
Distribution des récepteurs postsynaptiques ionotropiques et métabotropiques à la synapse

transient retention and steric hindrance



Scheefhals and MacGillavry, Mol. And Cell. Neuroscience 2018

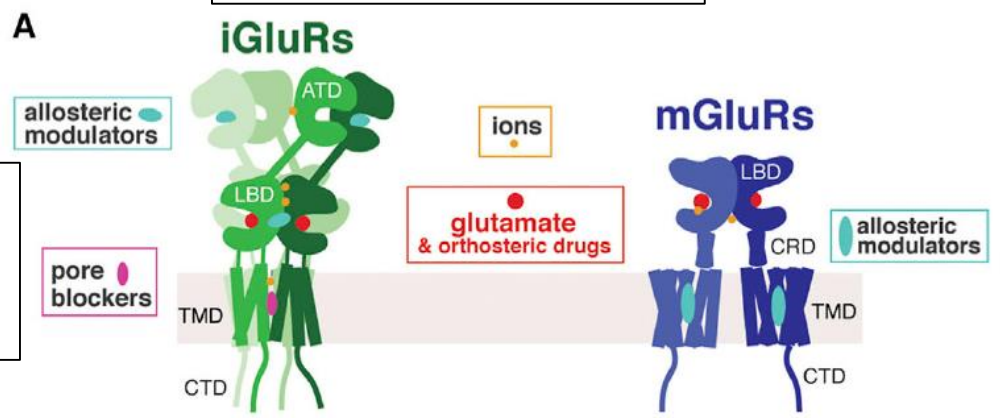
Position des récepteurs postsynaptiques ionotropiques et métabotropiques



- Les récepteurs métabotropiques (mGluR) se trouvent généralement à l'extérieur de la densité postsynaptique (extrasynaptic).
- Le glutamate est libéré des vésicules synaptiques directement en face de la densité postsynaptique et doit donc diffuser sur de plus longues distances avant de se lier aux mGluRs extrasynaptiques. Comme la concentration de glutamate diminue avec la distance de diffusion, les mGluRs sont exposés à des concentrations de glutamate plus faibles que les récepteurs ionotropiques du glutamate dans la densité postsynaptique.
- L'activation des mGluRs nécessite donc souvent la fusion séquentielle de plusieurs vésicules au cours d'une activité présynaptique répétitive à haute fréquence. Au cours d'une telle activité, le glutamate s'accumulera à des endroits extrasynaptiques à des concentrations suffisantes pour activer les mGluRs.

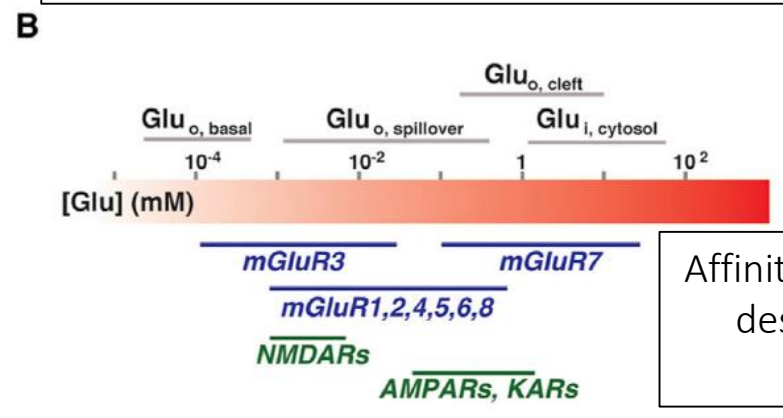
Récepteurs ionotropiques et métabotropiques du glutamate : Organisation structurale, sensibilité et cinétique

Structure des récepteurs du glutamate



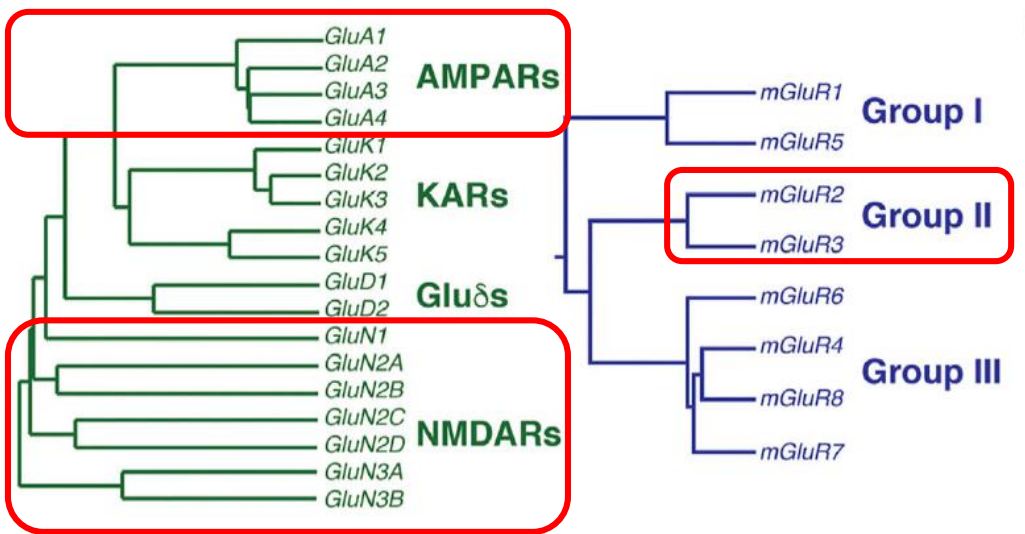
amino terminal domain (ATD)
ligand binding domains (LBDs)
transmembrane domain (TMD)
Ionotropic iGluRs (green)
Metabotropic mGluRs (blue)

Des concentrations de glutamate pertinentes sur le plan synaptique

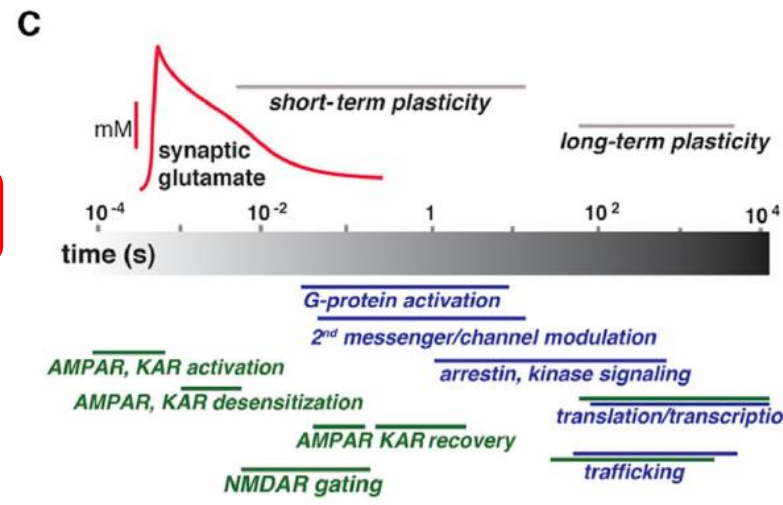


Affinités approximatives des récepteurs du glutamate

Arbres phylogénétiques montrant les sous-familles iGluR et mGluR et leurs sous-unités

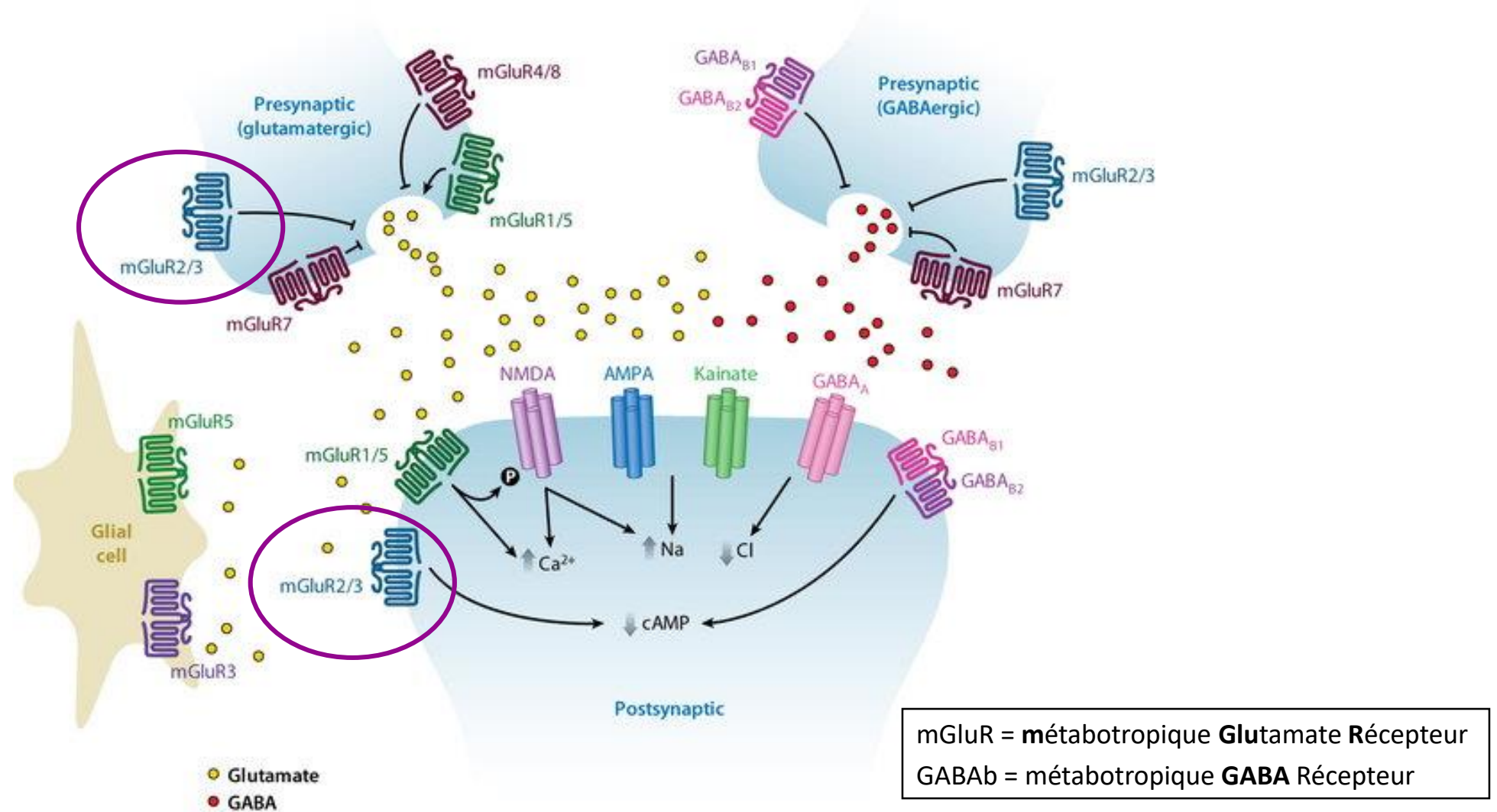


Discuté dans Otsu et al. 2018.
-TD vendredi

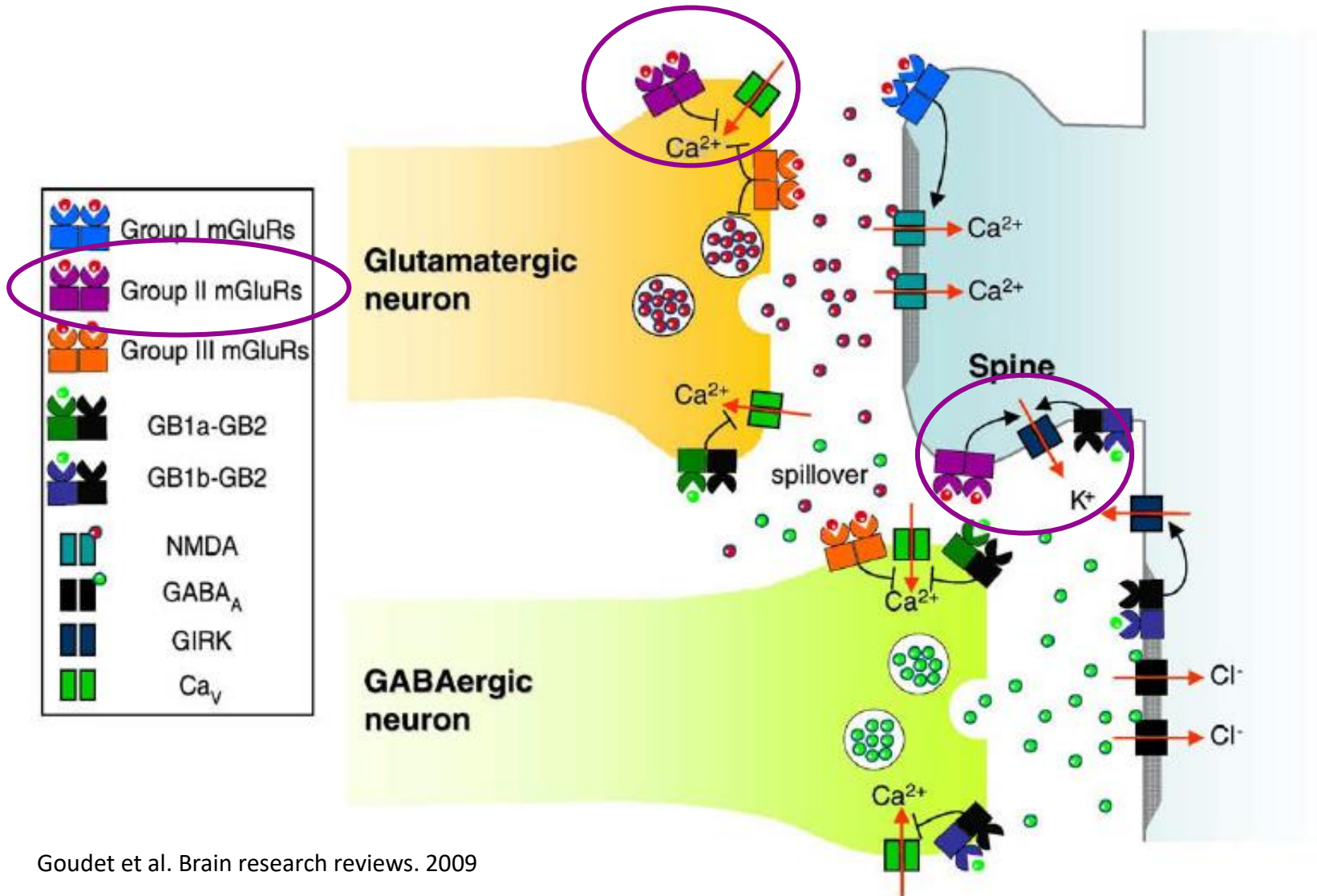


Cinétique de la signalisation glutamatergique

Les récepteurs métabotropiques glutamatergiques et GABAergiques modulent la transmission pré- et post-synaptique



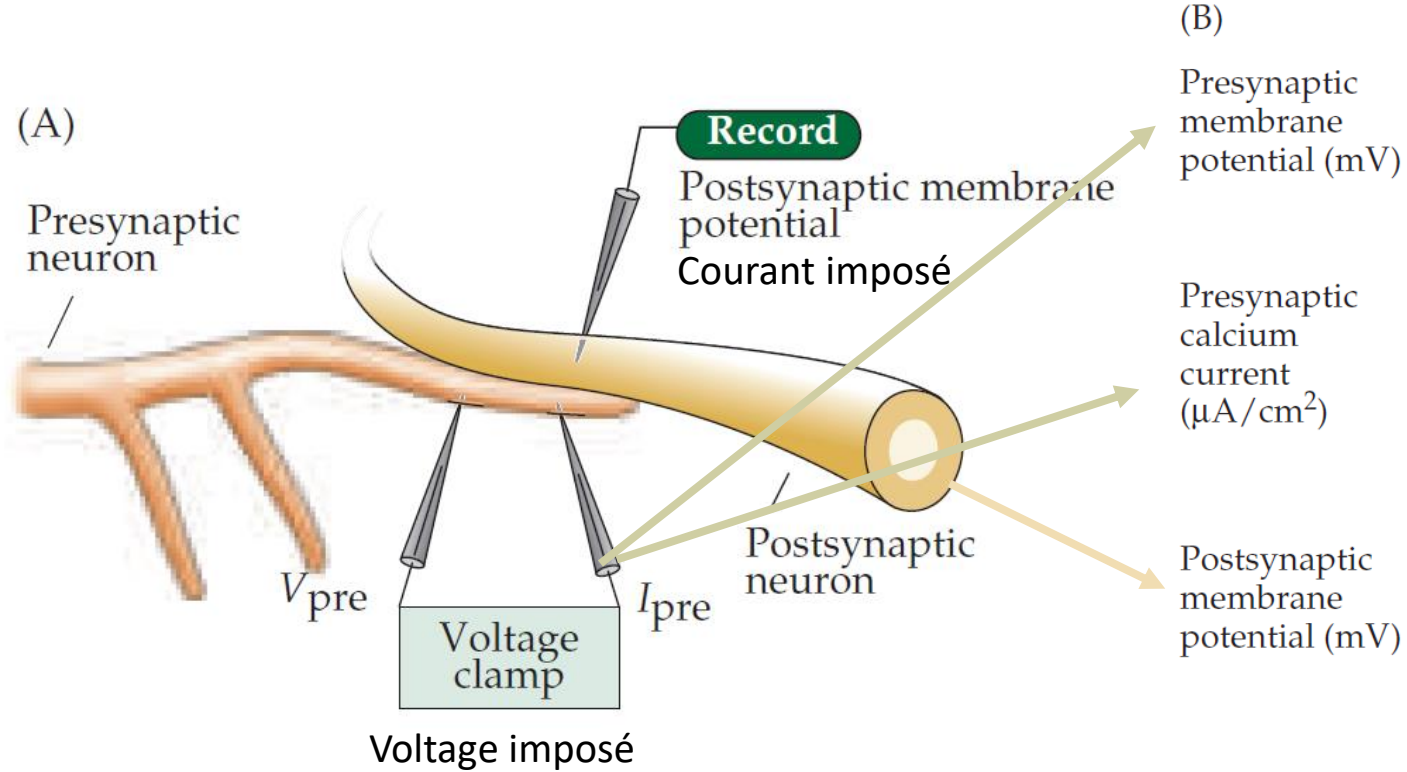
Des cibles typiques en aval des récepteurs métabotropiques du glutamate et du GABA au niveau de la synapse.



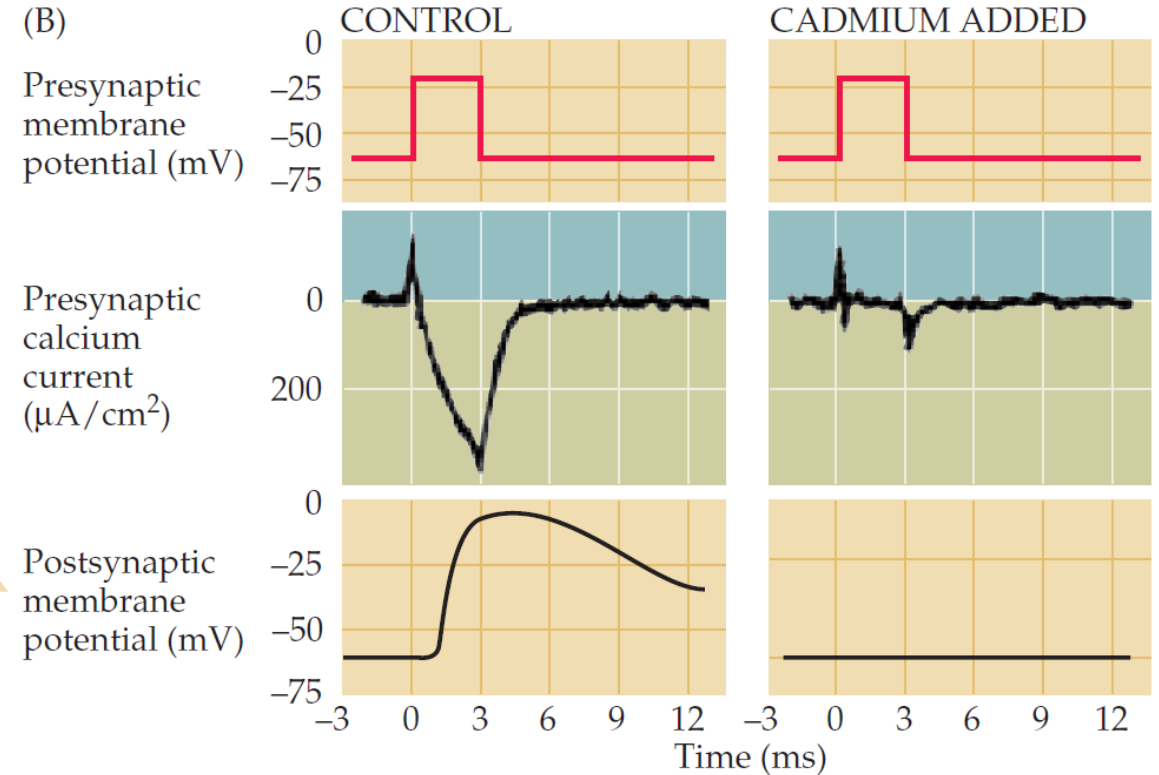
- La signalisation du groupe II mGluRs est étudiée en [Otsu et al. 2018](#) (TD/journal club – vendredi)
- Les cibles en aval typiques des mGluRs du Groupe II comprennent :
 - l'inhibition des canaux calciques présynaptiques
 - l'activation des canaux potassiques postsynaptiques

La calcium est nécessaire et suffisant pour la transmission synaptique

Le courant calcique présynaptique est nécessaire pour la transmission synaptique

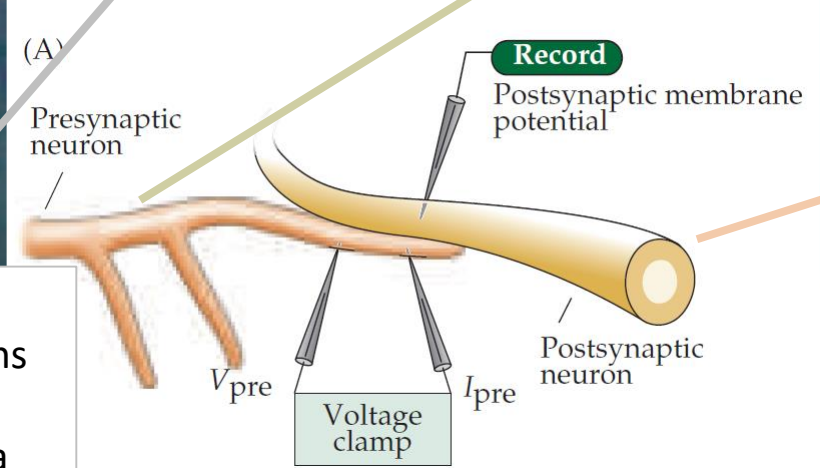
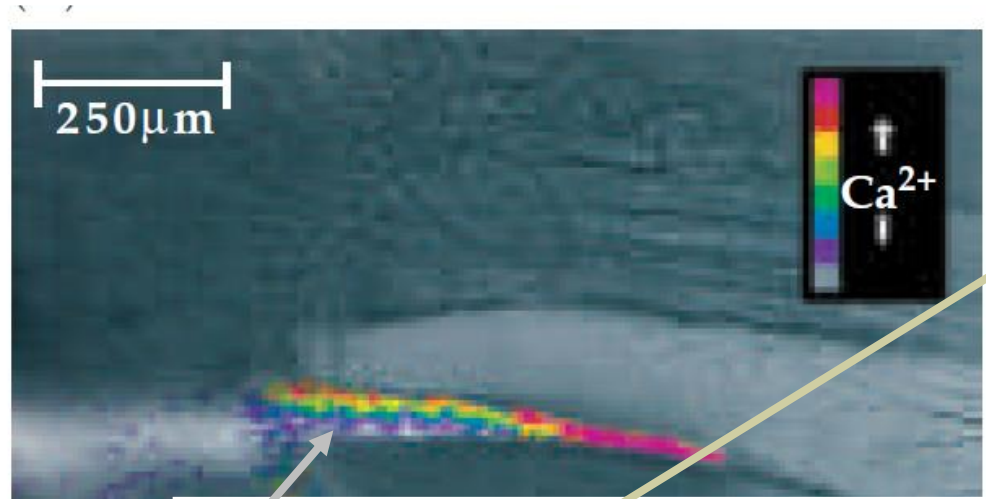


Le courant calcique est isolé pharmacologiquement

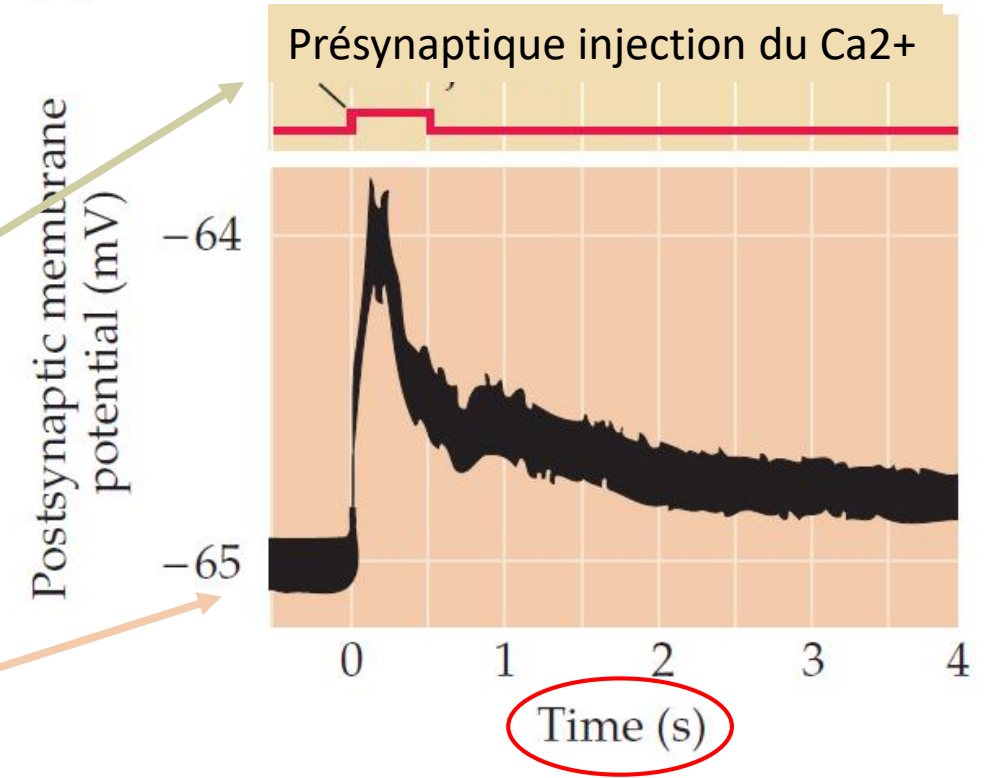


Un courant calcique dans le terminaison présynaptique est donc « nécessaire » pour la transmission synaptique

Une augmentation de la concentration de calcique présynaptique est suffisante pour induire la transmission synaptique

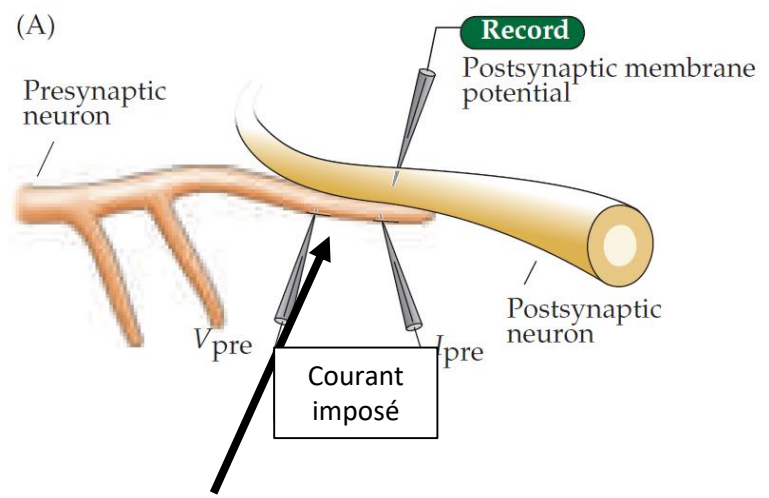


Une sonde calcique fluorescente chargée dans l'axone présynaptique révèle les variations de la concentration de calcium.

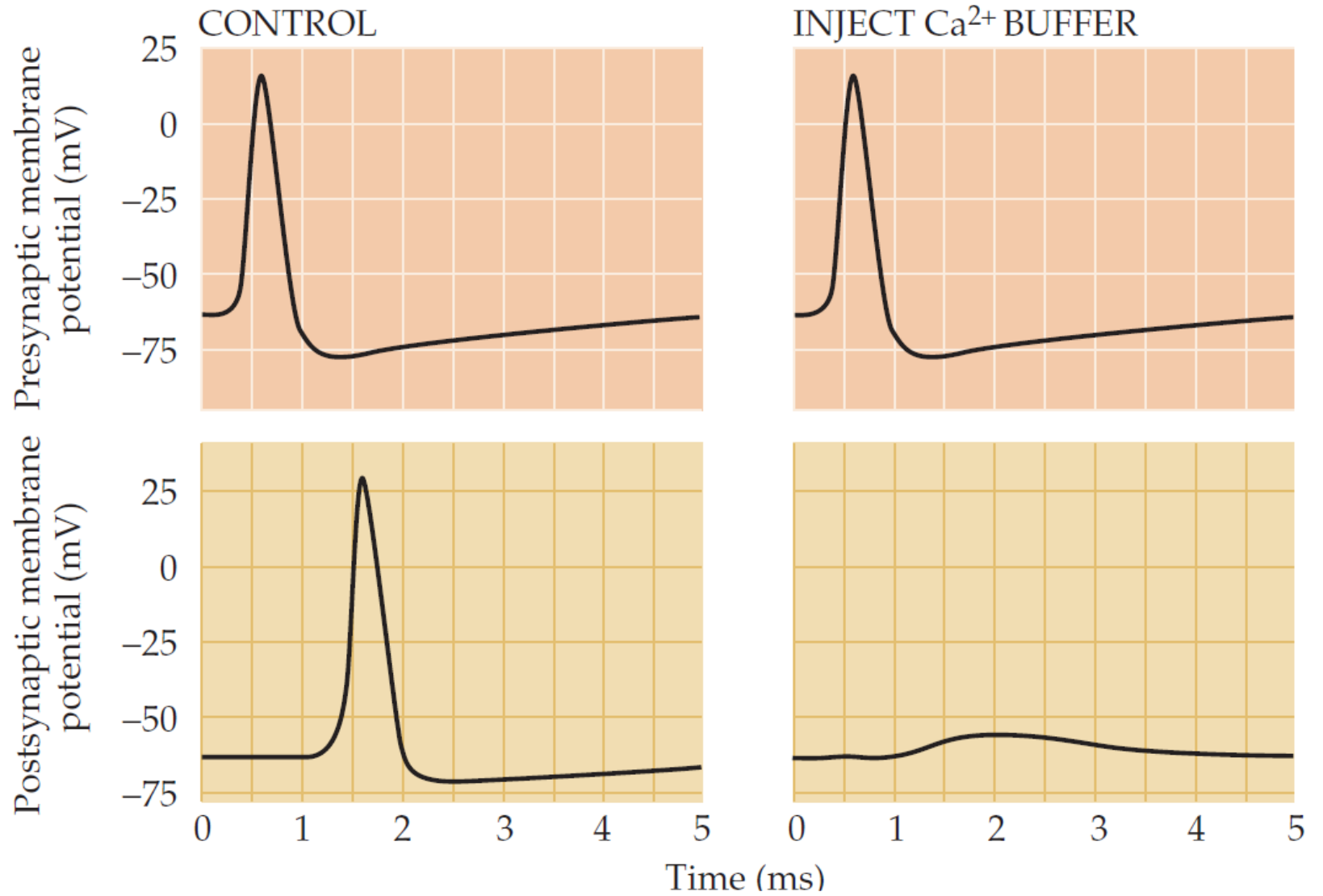


Remarque que l'échelle du temps ne ressemble pas à un évènement synaptique

La transmission synaptique: une augmentation de la concentration du calcium présynaptique est nécessaire pour la transmission synaptique



Injection du tampon calcique « calcium buffer » (**BAPTA**) dans le terminaison présynaptique.

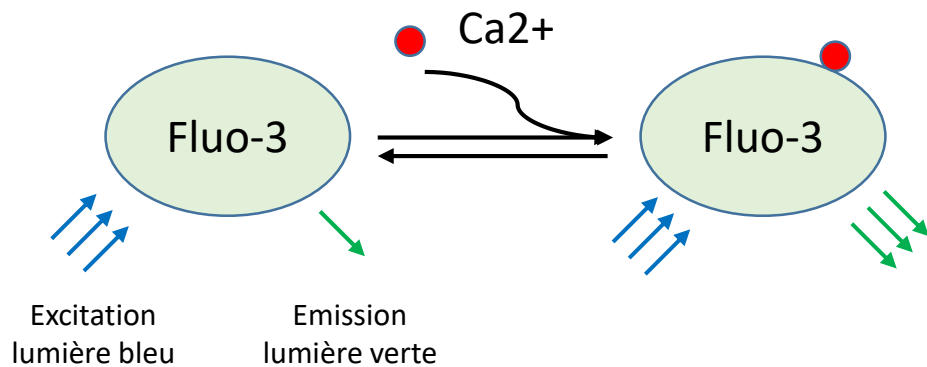


Détection et manipulation des signaux calciques

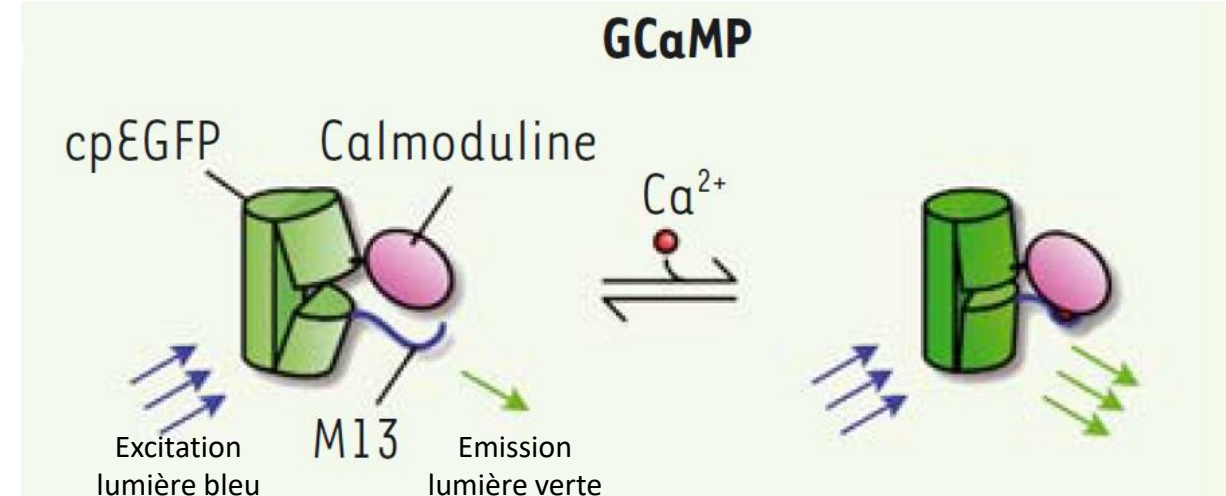
Les sondes calciques fluorescentes sont utilisés pour détecter les changements de $[Ca^{2+}]$

Il existe généralement deux classes d'indicateurs de Ca^{2+} : les protéines fluorescentes codées génétiquement et les fluorophores fabriqués chimiquement.

Fluorophores fabriqués chimiquement



Les protéines fluorescentes codées génétiquement

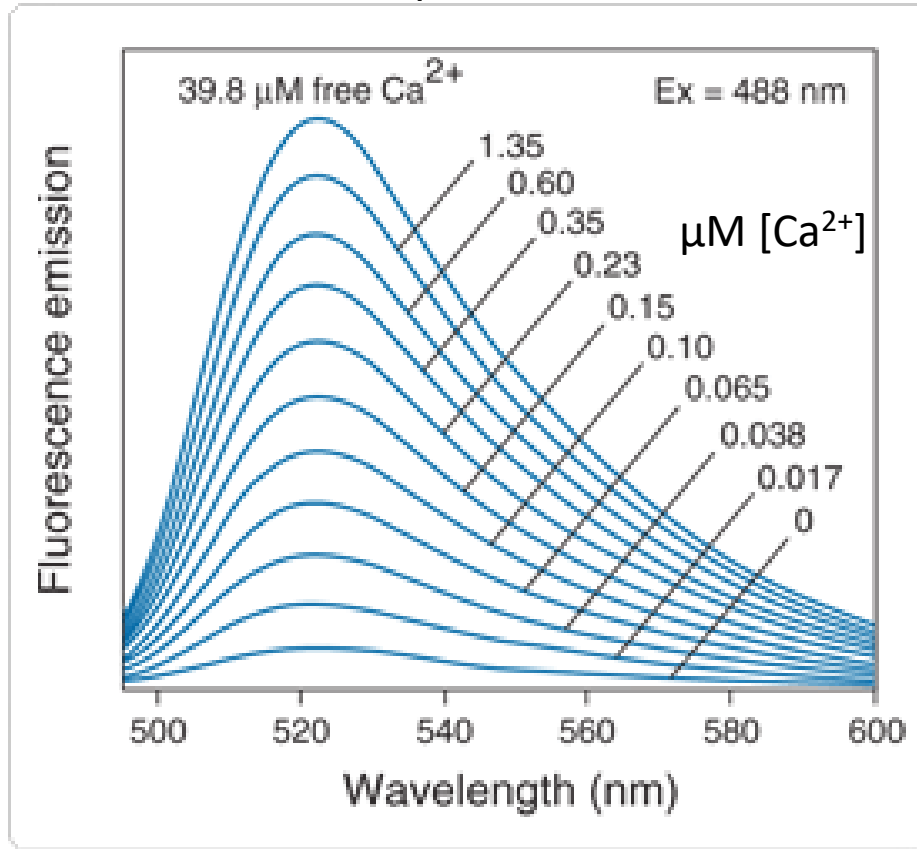


Dugue et Tricoire. M/S. 2015

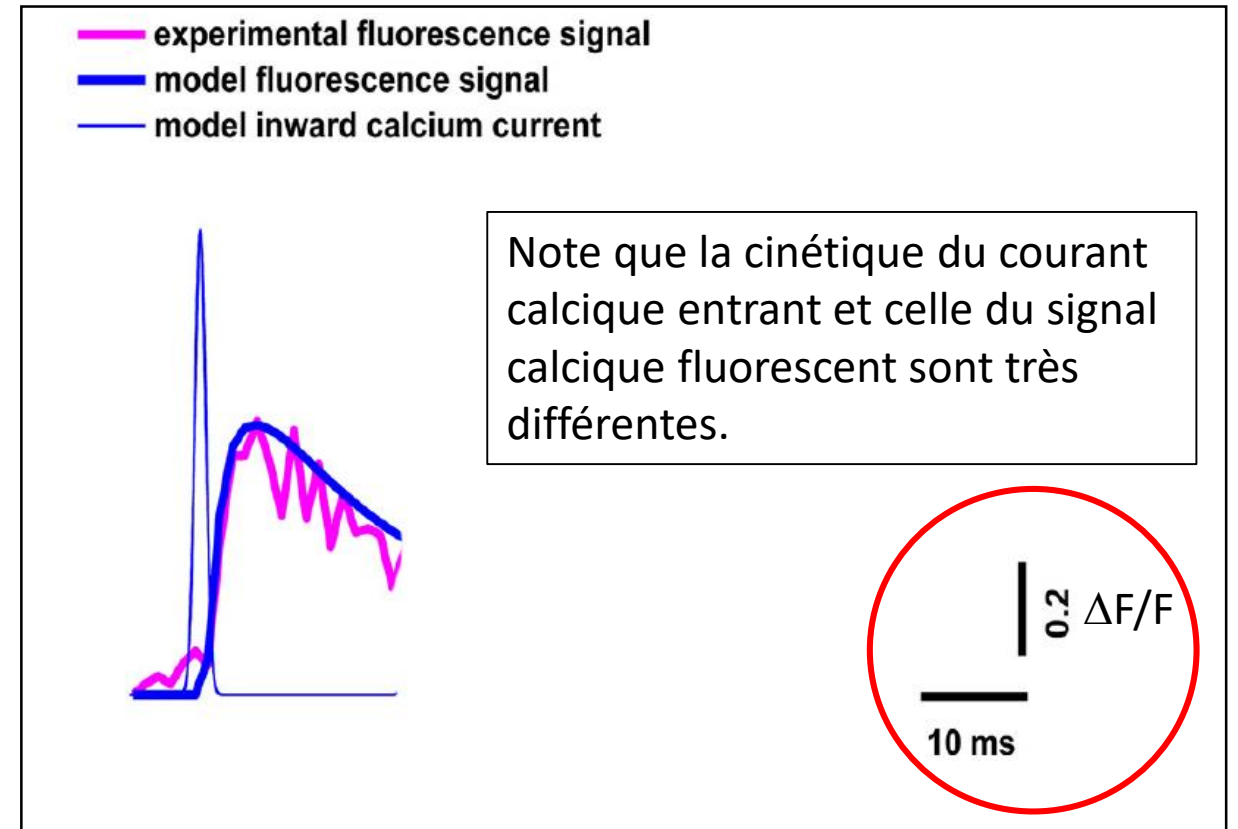
Les indicateurs Ca^{2+} se lient et interagissent uniquement avec les ions Ca^{2+} librement diffusibles.

Les sondes calciques fluorescents sont utilisés pour détecter les changements de $[Ca^{2+}]$

Spectra fluorescente de sonde calcique Fluo-3.



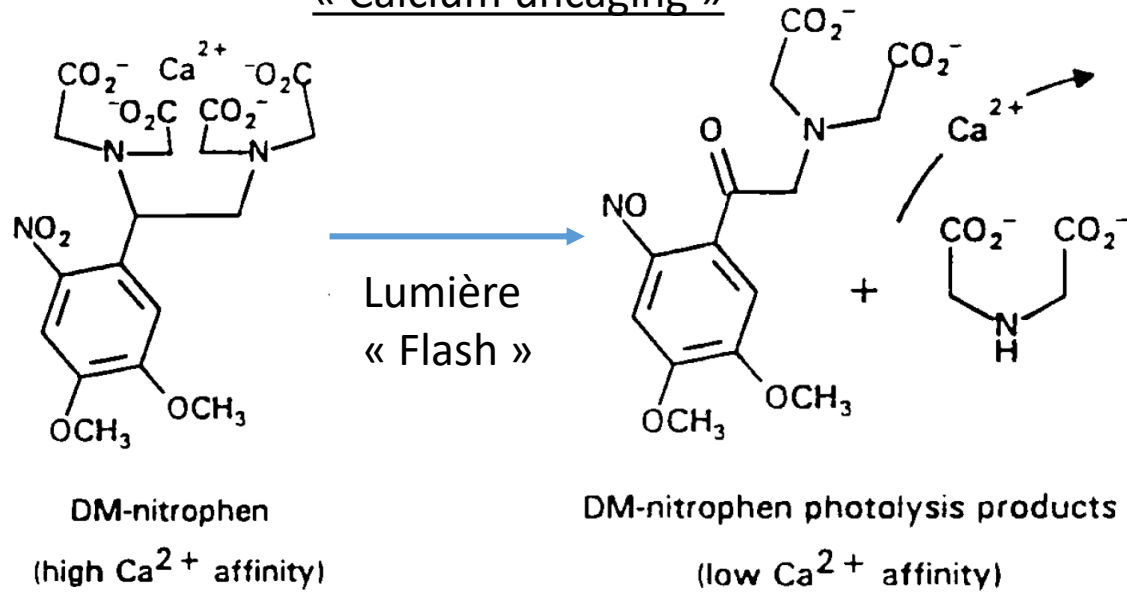
Signale fluorescente d'une sonde calcique suite à un potentiel d'action dans un terminaison présynaptique



Les sondes calciques fluorescents sont utilisés pour détecter les changements de $[Ca^{2+}]$ dans les terminaux présynaptiques et les dendrites postsynaptiques pendant la transmission synaptique.

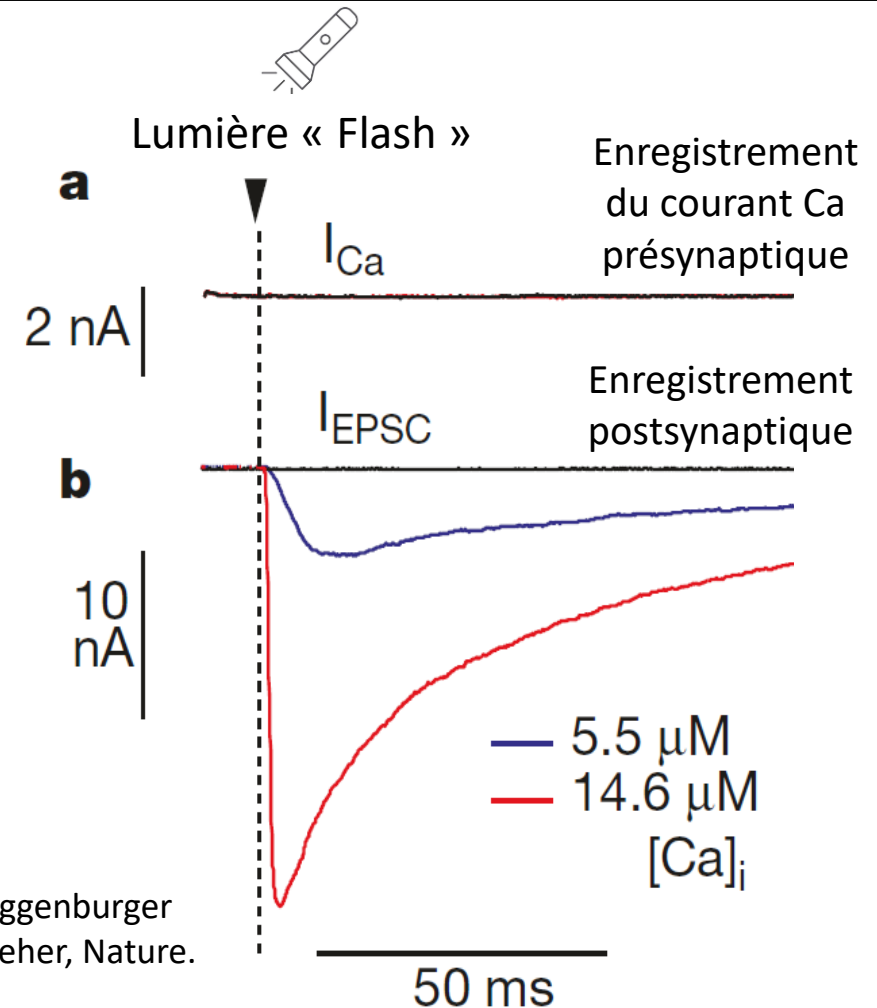
La transmission synaptique: « uncaging calcium » dans le terminaison présynaptique

« Calcium uncaging »



Zucker, Methods in Cell Biology. 1994

Le "Calcium uncaging" est une technique qui permet d'élever rapidement la concentration de calcium ($[\text{Ca}^{2+}]$) dans un compartiment cellulaire. Le "Caged Ca^{2+} ", calcium lié à un tampon photosensible de haute affinité (DM-nitrophen), est chargé dans le terminal présynaptique. L'exposition du complexe Ca -DM-nitrophen à la lumière (photolyse) modifie l'affinité du DM-nitrophen pour le calcium et provoque sa libération. L'élévation rapide du calcium dans le terminal présynaptique ressemble, à bien des égards, à l'élévation du $[\text{Ca}^{2+}]$ dans le terminal présynaptique pendant un potentiel d'action.



Schneggenburger and Neher, Nature. 2000.

Une augmentation du calcium dans le terminal présynaptique est donc "suffisante" pour induire la transmission synaptique.

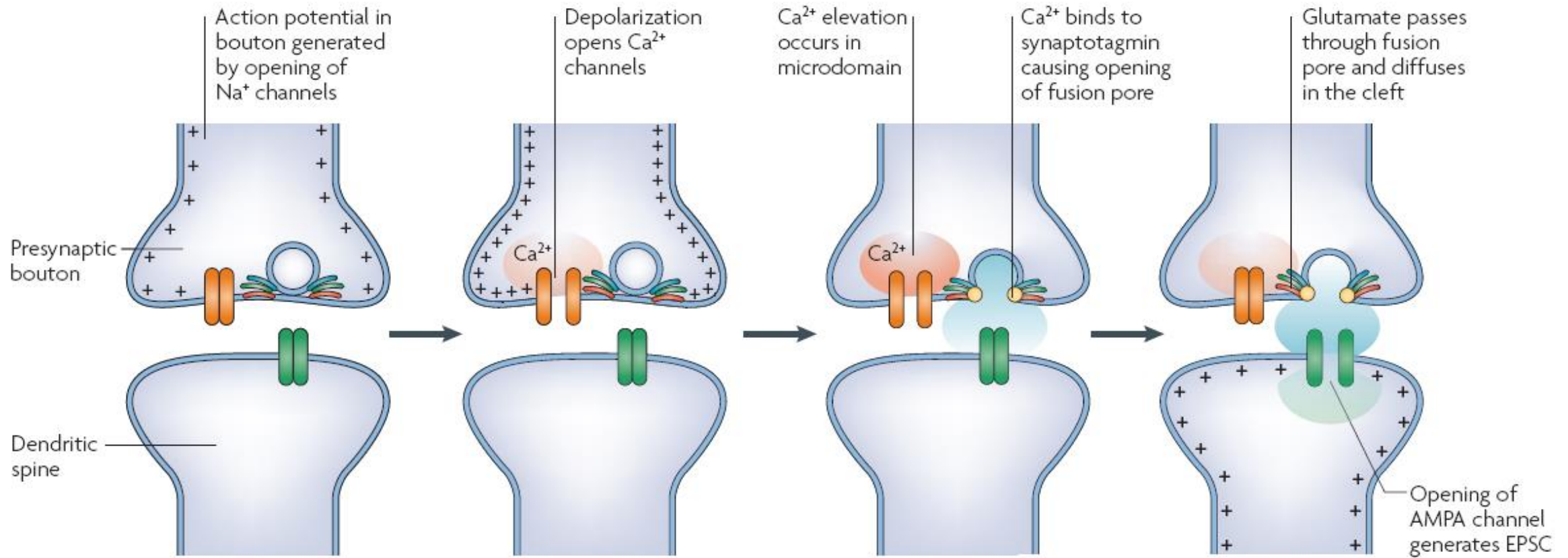
Quiz Compréhension

Indiquez quelles réponses sont vraies :

1. Une élévation du calcium dans le terminal présynaptique est nécessaire mais pas suffisante pour induire une transmission synaptique.
2. L'élévation de la concentration de calcium dans le terminal présynaptique suit une cinétique similaire à celle du changement de membrane pendant un potentiel d'action.
3. Le Fluo-3 est une sonde de calcium
4. L'injection du tampon calcique BATPA dans le terminal présynaptique démontre qu'une augmentation de la concentration de calcium est nécessaire à la transmission synaptique.
5. La technique de « calcium uncaging » démontre qu'une augmentation de la concentration calcique dans le terminal présynaptique est suffisante pour induire une transmission synaptique.
6. Entre l'invasion du potentiel d'action dans la terminaison présynaptique et le pic du courant post-synaptique au niveau d'une synapse glutamatergique, il s'écoule généralement de 20 à 100 ms.

IV. Premières estimations de la dépendance de la transmission synaptique du calcium:
L'utilisation de la loi de l'action de masse par Dodge et Rahamimoff pour quantifier la
dépendance de la transmission synaptique du calcium

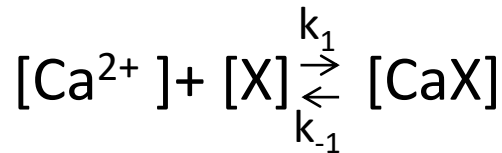
Transmission synaptique



Quantification de la dépendance de la transmission synaptique du calcium

Comment pouvons-nous quantifier la relation entre la concentration de calcium dans la terminaison présynaptique et la réponse postsynaptique?

- Dodge et Rahamimoff ont fait l'assumption que le relargage de NT nécessite que le calcium se lie avec une molécule X (ou protéine X) dans la terminaison présynaptique.
- Selon le loi d'action de masse:



Constante de vitesse d'association, « k_1 » ou « k_{on} »
Constante de vitesse de dissociation, « k_{-1} » ou « k_{off} »
[Ca²⁺] = Concentration de calcium libre
[X] = Concentration de molécule X
[CaX] = Concentration de molécule X fixé au calcium

Quantification de la coopérativité entre le calcium et la réponse postsynaptique

- Selon la loi d'action de masse:



- Avec la loi d'action de masse ils ont dérivé:

$$\text{réponse synaptique} = \text{ou } k [CaX]^n = k \left(\frac{W [Ca^{2+}]_{out}}{[Ca^{2+}]_{out} + 1} \right)^n$$

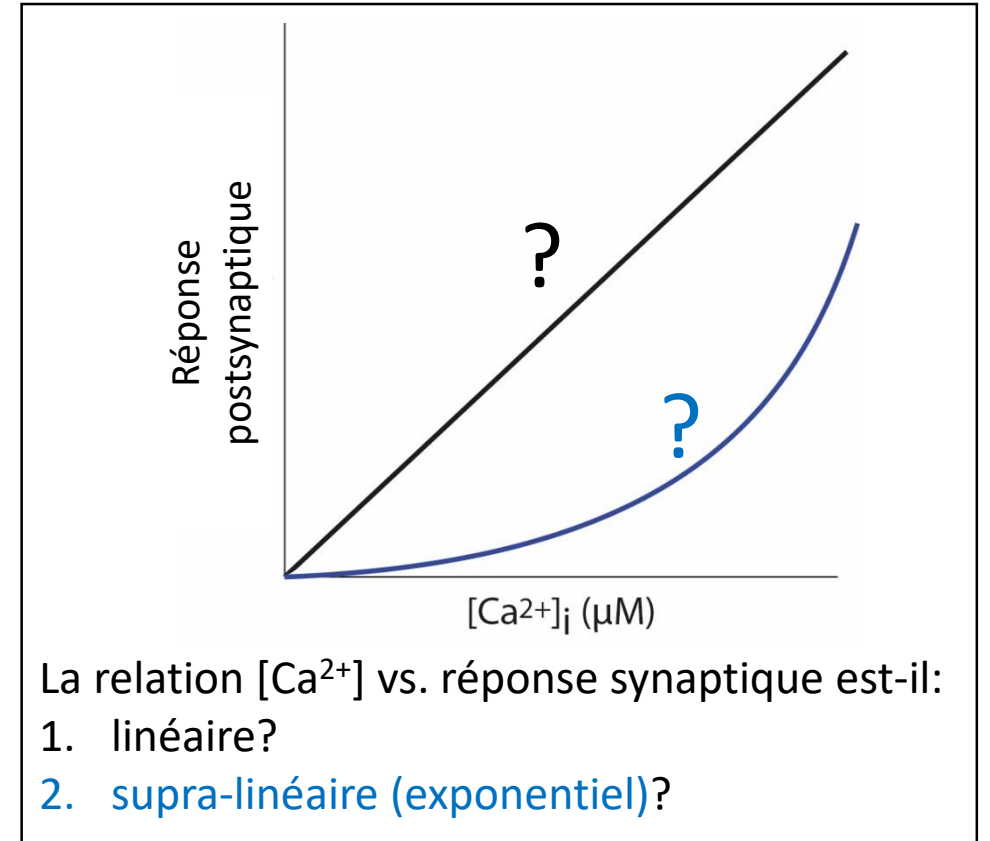
W = constante

k = constante de proportionnalité

n = entier positive

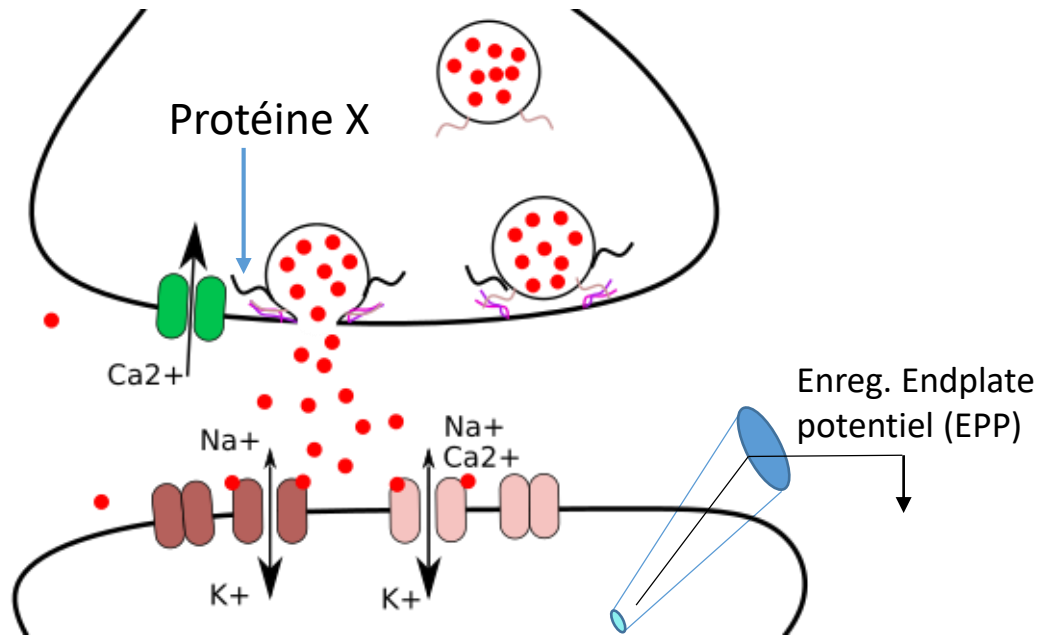
- Si le relargage de NT dépend de la formation d'un ion de calcium avec le site X [CaX], l'amplitude de la réponse postsynaptique (EPP ici) doit être directement proportionnelle (linéaire, trace noire) à CaX. Si, par contre, le relargage de NT dépend de la formation de 2 ions Ca avec le site X, l'amplitude sera proportionnelle à $[CaX]^2$ (exponentiel, trace bleu). 3 ions de Ca = $[CaX]^3$...ect

K_d = constante de dissociation



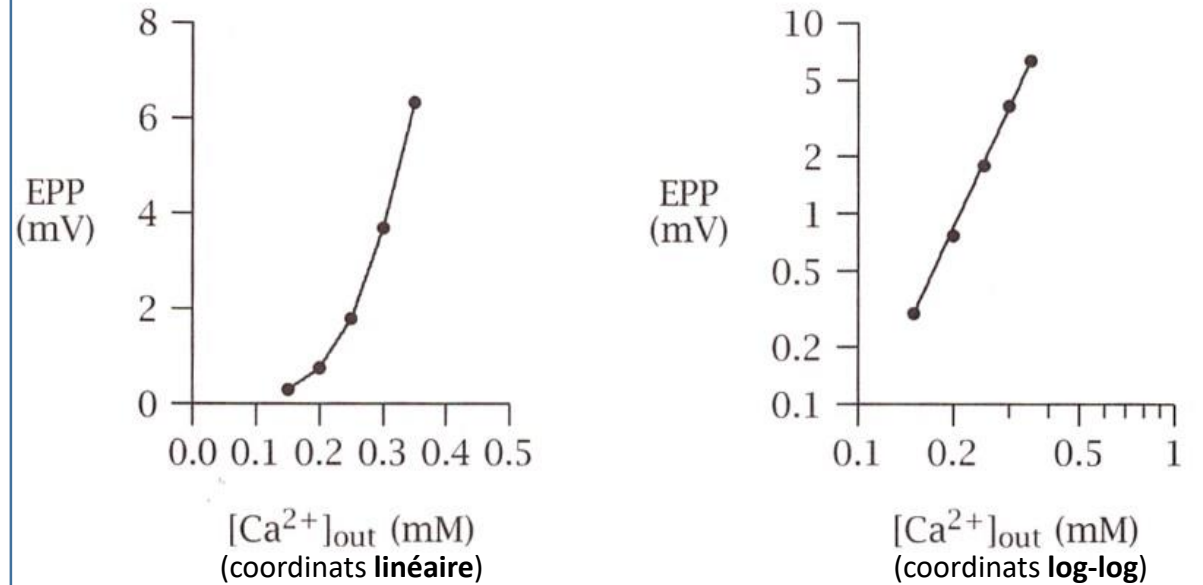
Quantification de la coopérativité entre le calcium et la réponse postsynaptique

Schéma du jonction neuromusculaire de la grenouille



EPP = End plate potentiel. La réponse synaptique enregistré à la jonction neuromusculaire en patch clamp configuration courant imposé.

Résultats expérimentaux:
Relation entre [Ca²⁺] et l'amplitude de l'EPP



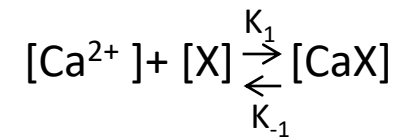
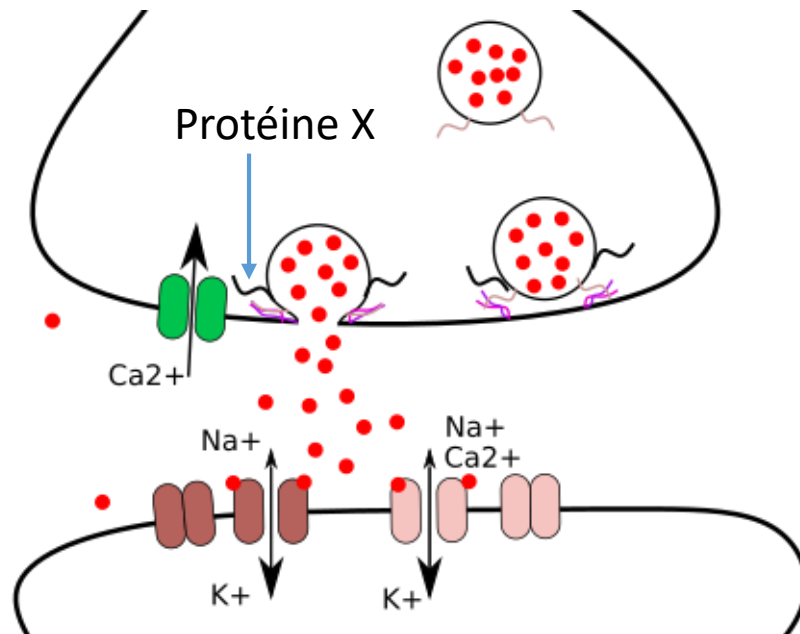
$$EPP = k [CaX]^n = k \left(\frac{W [Ca^{2+}]_{out}}{[Ca^{2+}]_{out} + K_d} \right)^n \quad n \approx 4 \text{ or } 5$$

La comparaison de la relation entre la concentration de calcium externe et la réponse postsynaptique indique une coopérativité entre 4 et 5 ($n \approx 4$). Donc la fixation de 4 à 5 molécules de calcium avec la protéine « X » (senseur de calcium) est nécessaire pour induire le relargage de neurotransmetteurs.

Résumé:

II. Quantification de la coopérativité entre le calcium et la réponse postsynaptique

1. Model de la dépendance du calcium est dérivé à partir du loi d'action de masse
2. La coopérativité entre le calcium et la réponse postsynaptique est supra-linéaire
3. Comparaison de la modèle avec des résultats expérimentaux suggère que le liaison 4 à 5 molécules de calcium sont nécessaire pour induire la fusion des vésicules.



$$\text{EPP} = k [\text{CaX}]^n = k \left(\frac{W [\text{Ca}^{2+}]_{\text{out}}}{K_d [\text{Ca}^{2+}]_{\text{out}} + 1} \right)^n \quad \boxed{n \approx 4 \text{ or } 5}$$

V. Les protéines impliquées dans la fusion des vésicules synaptiques

Comment pouvons-nous identifier la protéine X?

$$EPP = k [CaX]^n = k \left(\frac{W [Ca^{2+}]_{out}}{1 + \frac{[Ca^{2+}]_{out}}{K_1}} \right)^n \quad \boxed{n \approx 4 \text{ or } 5}$$

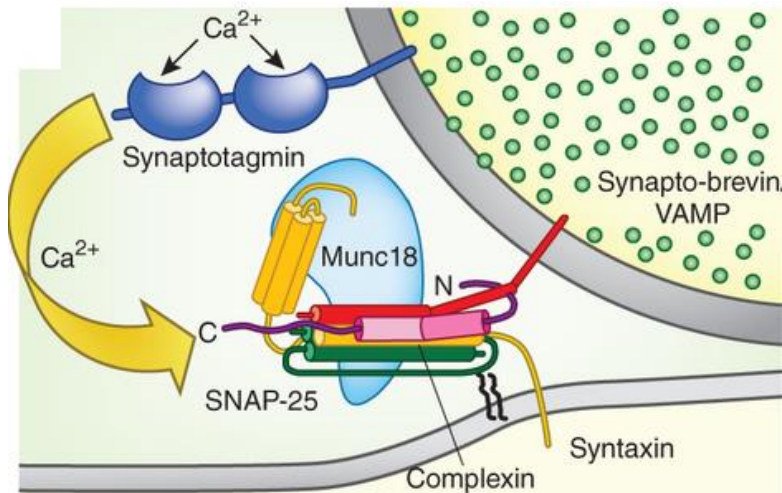
1. Localisation: Associer avec des vésicules et protéines impliqués dans la fusion des vésicules.
2. Protéine qui fixe le calcium (4 or 5 sites de fixation)

Comment pouvons-nous identifier la protéine X?

$$EPP = k [CaX]^n = k \left(\frac{W [Ca^{2+}]_{out}}{1 + \frac{[Ca^{2+}]_{out}}{K_1}} \right)^n \quad n \approx 4 \text{ or } 5$$

1. Localisation: Associer avec des vésicules et protéines impliqués dans la fusion des vésicules.
2. Protéine qui fixe le calcium (4 or 5 sites de fixation)

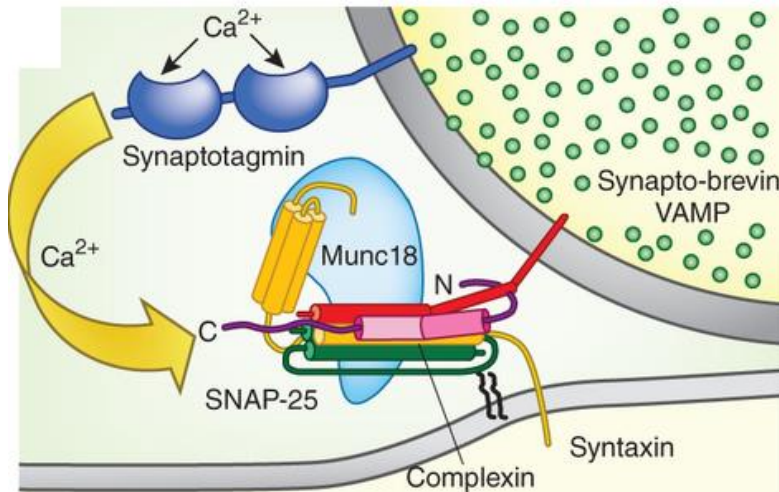
1. **Synaptotagmin** est une protéine qui se trouve dans la membrane des vésicules synaptiques



Comment pouvons-nous identifier la protéine X?

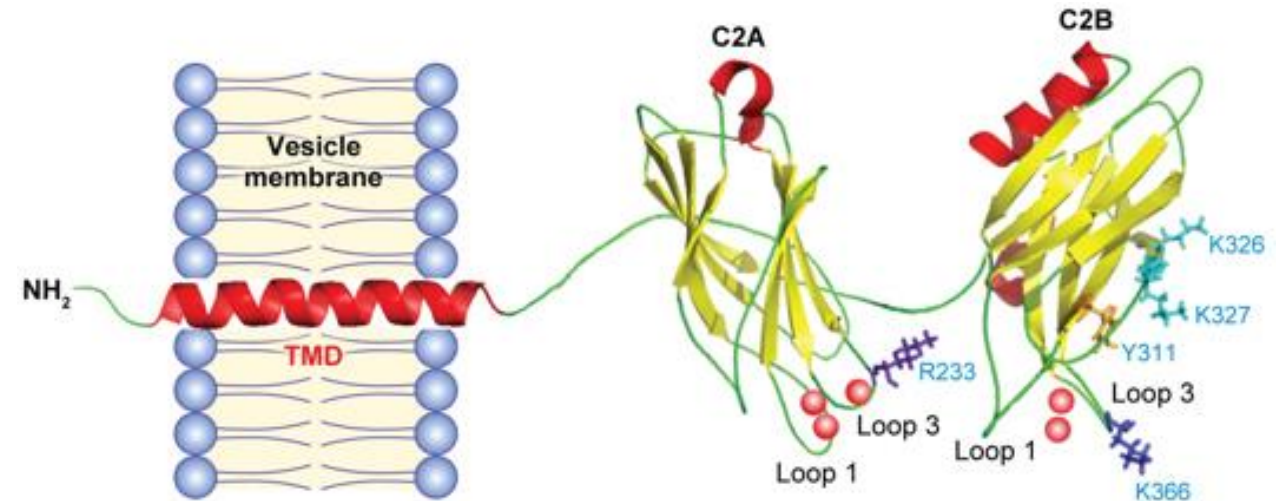
$$EPP = k [CaX]^n = k \left(\frac{W [Ca^{2+}]_{out}}{1 + \frac{[Ca^{2+}]_{out}}{K_1}} \right)^n \quad \boxed{n \approx 4 \text{ or } 5}$$

1. **Synaptotagmin** est une protéine qui se trouve dans la membrane des vésicules synaptique



1. Localisation: Associer avec des vésicules et protéines impliquer dans la fusion des vésicules.
2. Protéine qui fixe le calcium (4 or 5 sites de fixation)

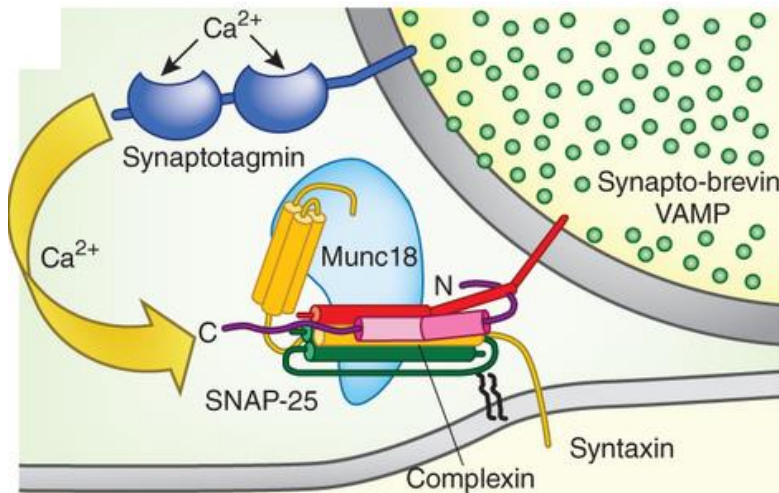
2. **Synaptotagmin** a 2 domaines, C2A et C2B, qui fixent 5 molécules de calcium



Comment pouvons-nous identifier la protéine X?

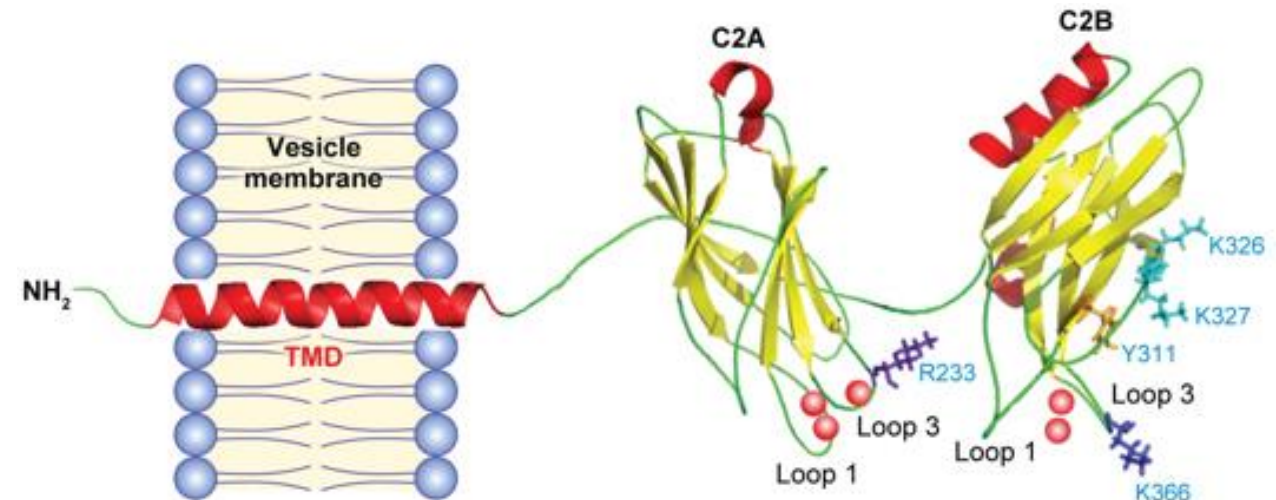
$$EPP = k [CaX]^n = k \left(\frac{W [Ca^{2+}]_{out}}{1 + \frac{[Ca^{2+}]_{out}}{K_1}} \right)^n \quad \boxed{n \approx 4 \text{ or } 5}$$

1. **Synaptotagmin** est une protéine qui se trouve dans la membrane des vésicules synaptique



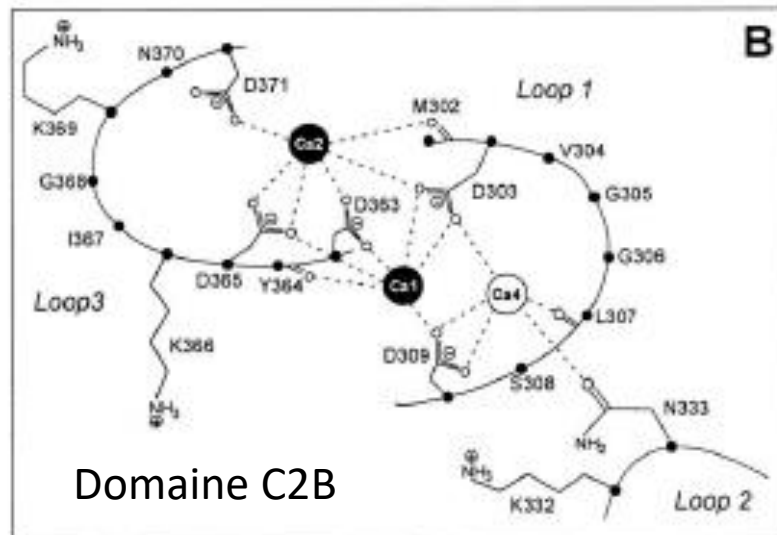
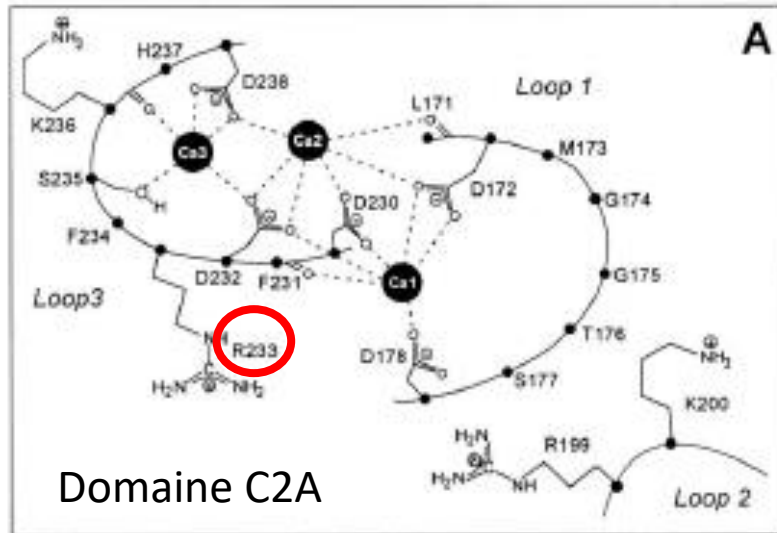
1. Localisation: Associer avec des vésicules et protéines impliquer dans la fusion des vésicules.
2. Protéine qui fixe le calcium (4 or 5 sites de fixation)

2. **Synaptotagmin** a 2 domaines, C2A et C2B, qui fixent 5 molécules de calcium



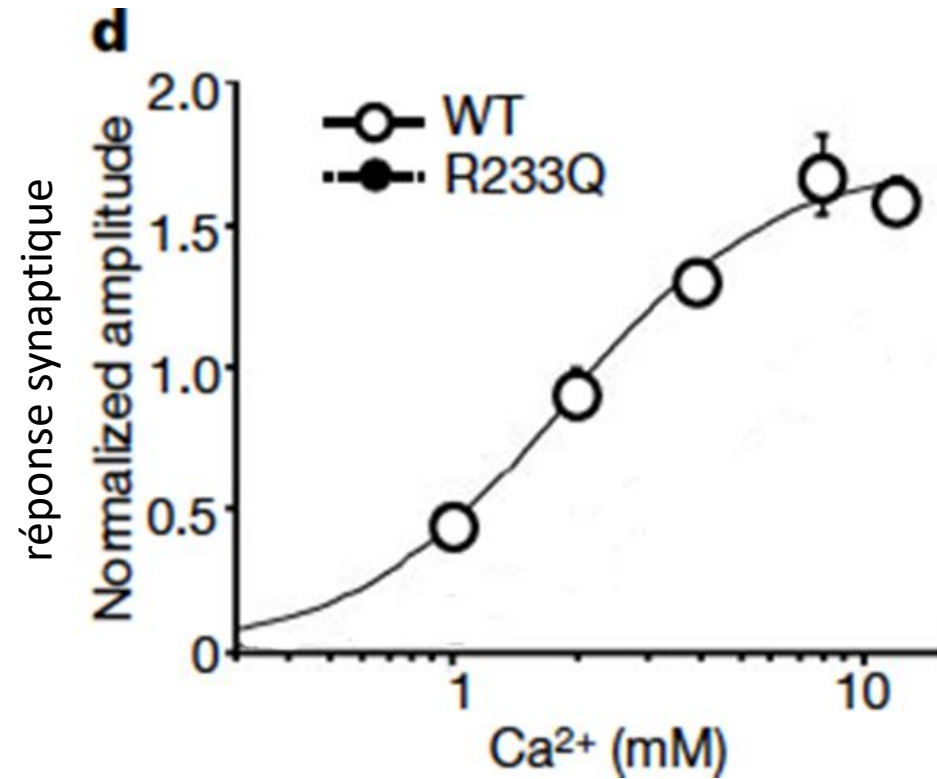
Proposez une expérience pour confirmer que Synaptotagmin est « le senseur du calcium » qui déclenche la fusion des vésicules (le site « X »)

La mutation du domaine C2A de la synaptotagmine



Fernandez 2001. Neuron.

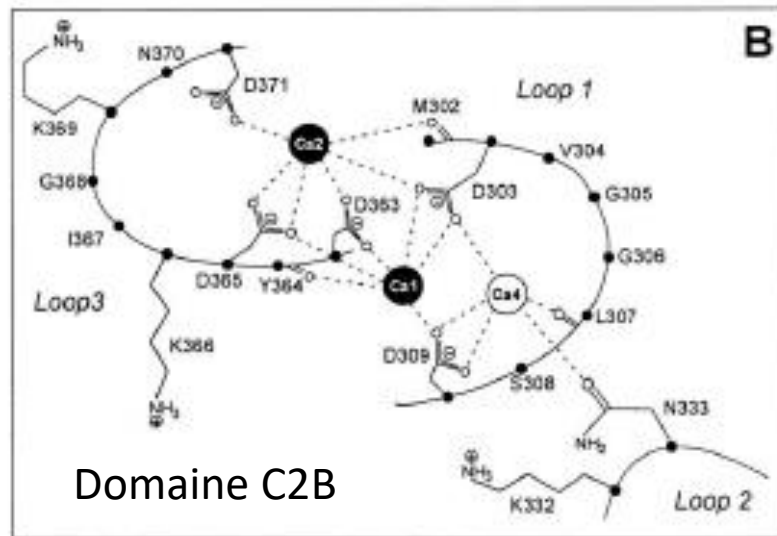
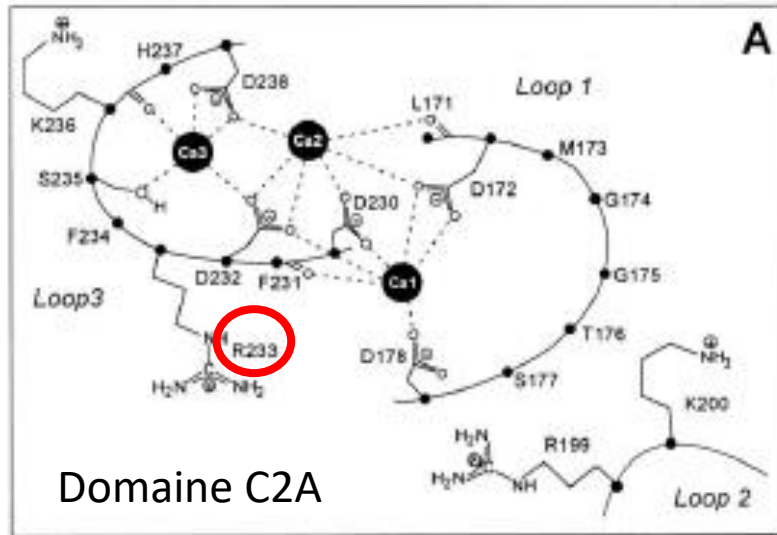
La mutation du domaine C2A de la synaptotagmine altère la relation entre $[Ca^{2+}]$ et la réponse synaptique



R = arginine
Q = glutamine

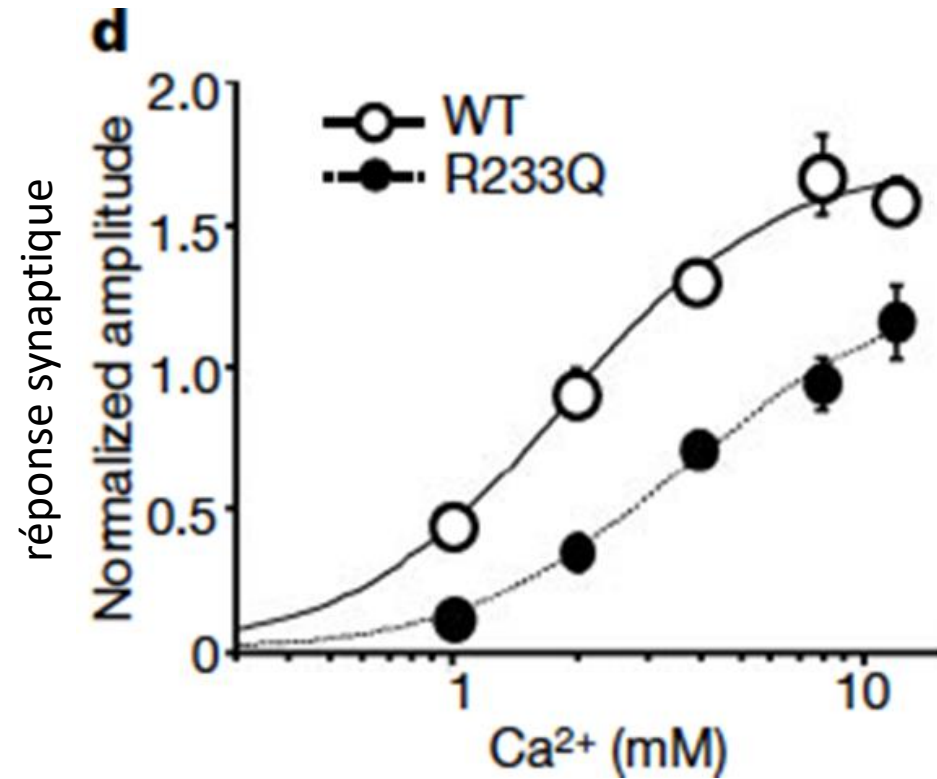
Fernandez-Chacon 2001. Nature.

La mutation du domaine C2A de la synaptotagmine



Fernandez 2001. Neuron.

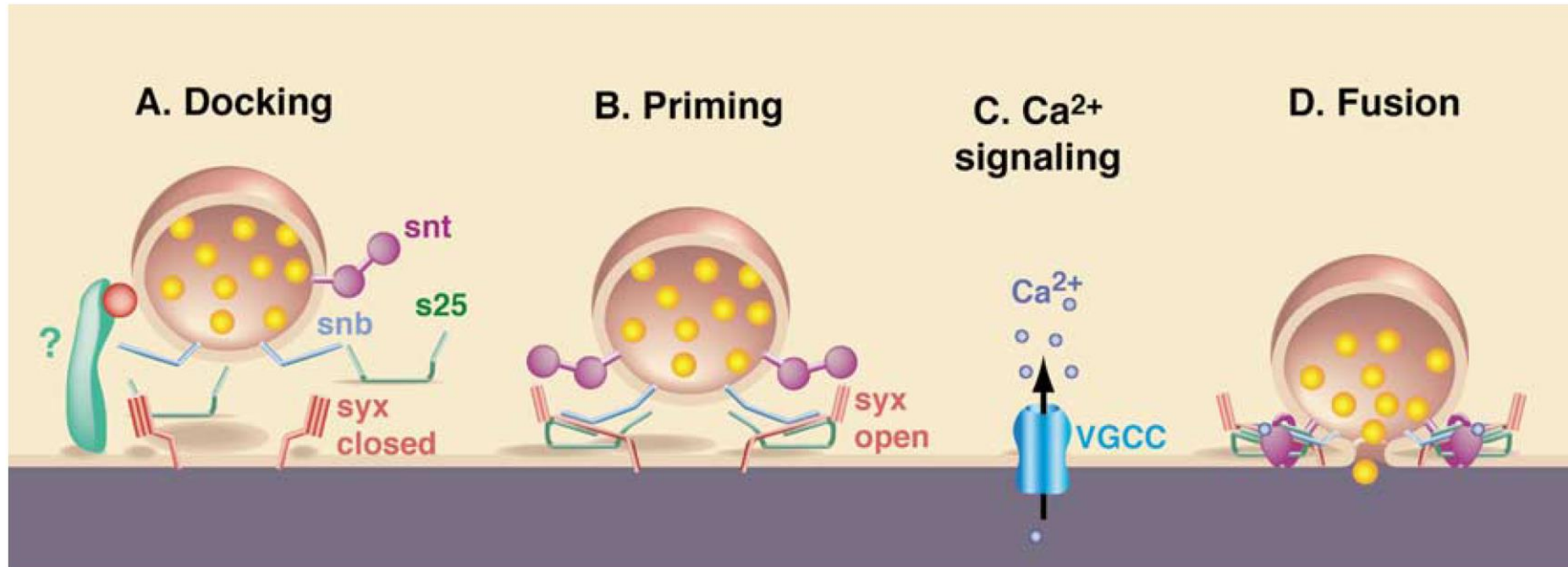
La mutation du domaine C2A de la synaptotagmine altère la relation entre $[Ca^{2+}]$ et la réponse synaptique



R = arginine
Q = glutamine

Fernandez-Chacon 2001. Nature.

Les protéines SNARE et le senseur de calcium "synaptotagmine"



Protéines SNAREs:

- vSNAREs (veciculaire SNAREs)
 - snb = synaptobrevin (VAMP)
- tSNAREs (target SNAREs)
 - Syx = syntaxin
 - s25 = SNAP25

Le senseur du calcium:

- Snt= synaptotagmin

Richmond. 2005.

Résumé: Les protéines impliquées dans la fusion des vésicules synaptiques

1. Synaptotagmine est une protéine membranaire qui se trouve dans la membrane des vésicules synaptique
2. Synaptotagmine a 2 domaines, C2A et C2B, qui fixent 5 molécules de calcium
 1. les 4 ou 5 sites de fixation du calcium est consistant avec les prédictions que Dodge et Rahaminoff ont fait utilisant le loi d'action de masse.
3. La mutation du domaine C2A de la synaptotagmine altère la relation entre $[Ca^{2+}]$ et la réponse synaptique
4. Le complexe SNARE, composé de SNAP-25, de syntaxine et de synaptobrevin (VAMP), permet aux vésicules synaptiques de s'accoster à la membrane plasmique présynaptique.
5. La synaptotagmine interagit avec les protéines SNARE.
6. La liaison de la synaptotagmine au calcium induit un changement de conformation du complexe synaptotagmine-SNARE qui rapproche la vésicule de la membrane plasmique, entraînant la fusion de la vésicule et la libération du neurotransmetteur.

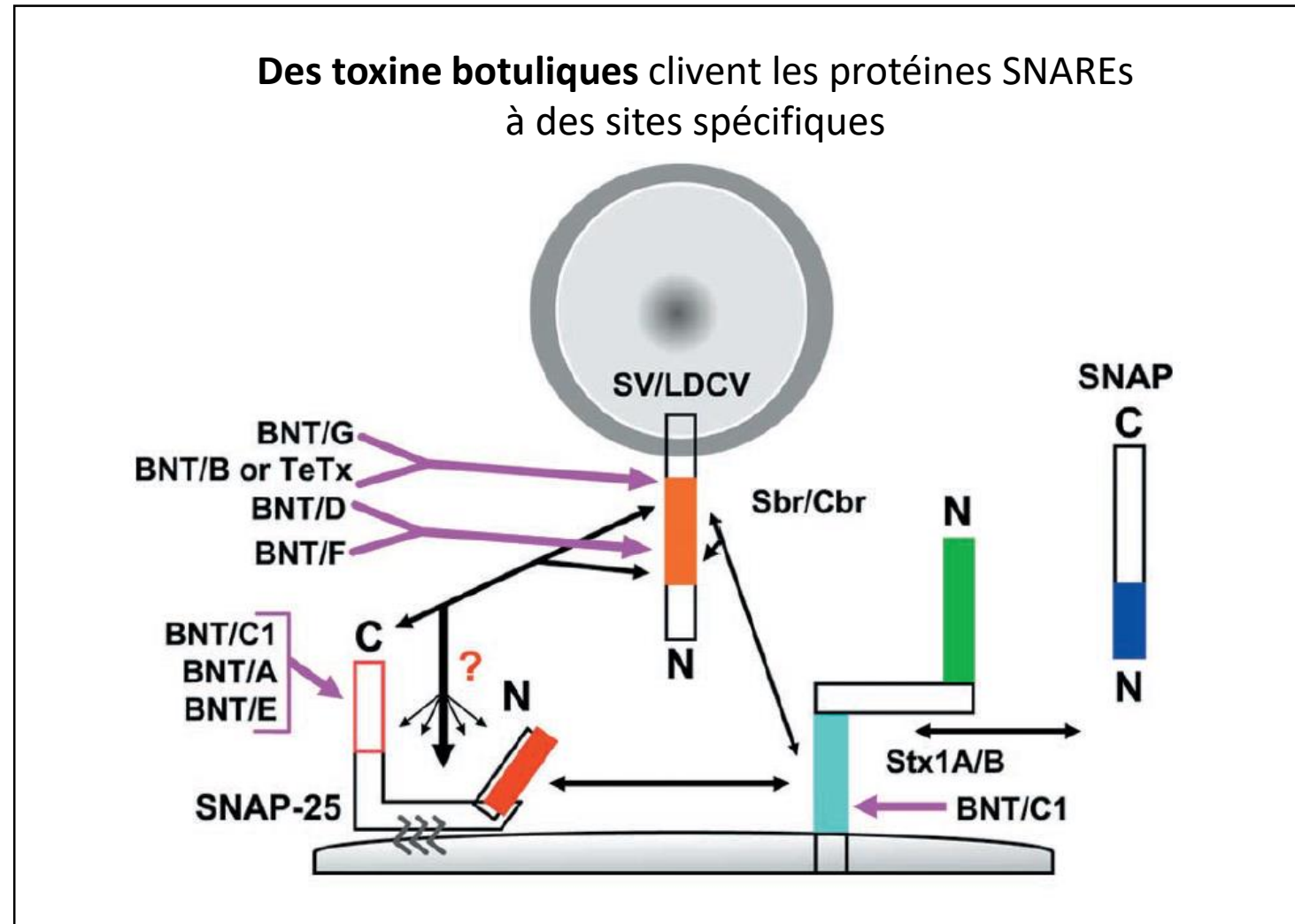
Décrivez une expérience pour déterminer si les protéines SNARES synaptobrevin, synaptaxin et SNAP-25 sont nécessaire pour la transmission synaptique.

Protéines SNAREs:

- vSNAREs (vesiculaire SNAREs)
 - snb = synaptobrevin (VAMP)
 - s25 = SNAP25
- tSNAREs (target SNAREs)
 - Syx = syntaxin

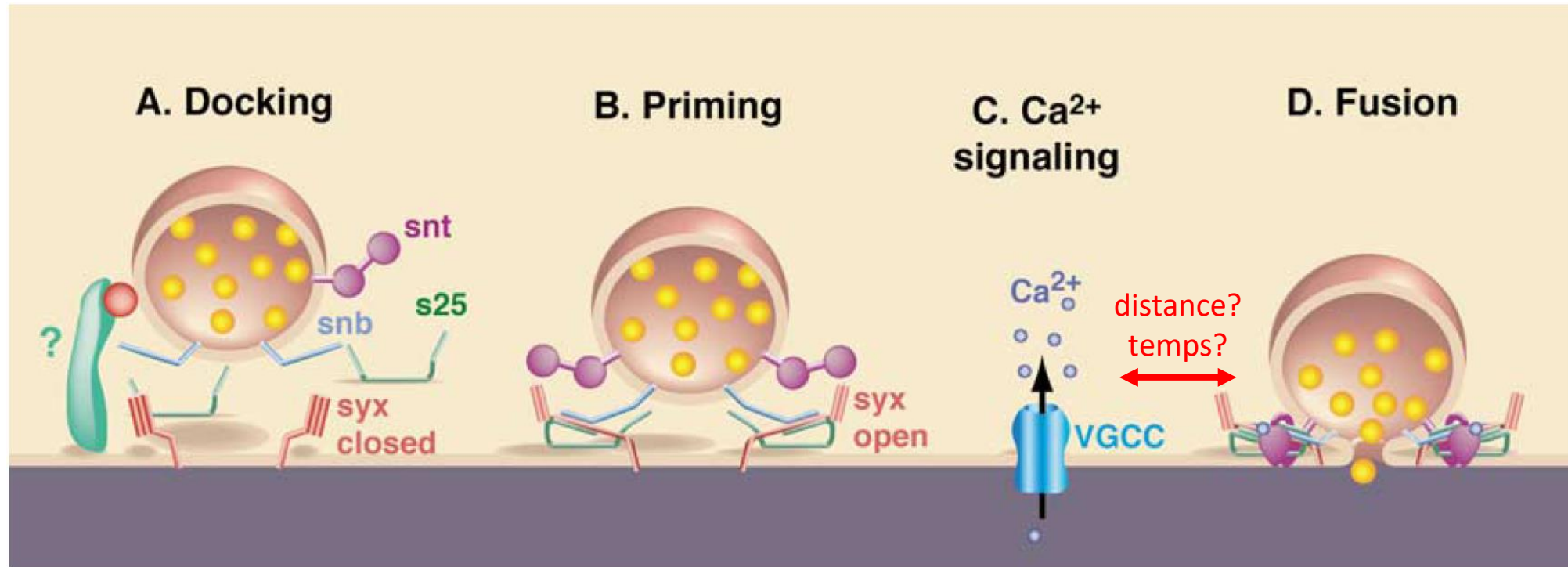
Le senseur du calcium:

- Snt= synaptotagmin



Dolly 2003, Headache.

Les protéines SNARE et le senseur de calcium “synaptotagmine”



Richmond 2005

Comme le calcium pénètre dans les terminaux présynaptiques à des endroits discrets (canaux calciques), la concentration de calcium dans le terminal sera hétérogène et variera en fonction de **la distance** et du **temps**.

Quelle est la relation spatiale et temporelle du calcium dans le terminaison présynaptique?

Spatial domains du calcium dans le terminaison présynaptique

Spatial domains du calcium dans le terminaison présynaptique

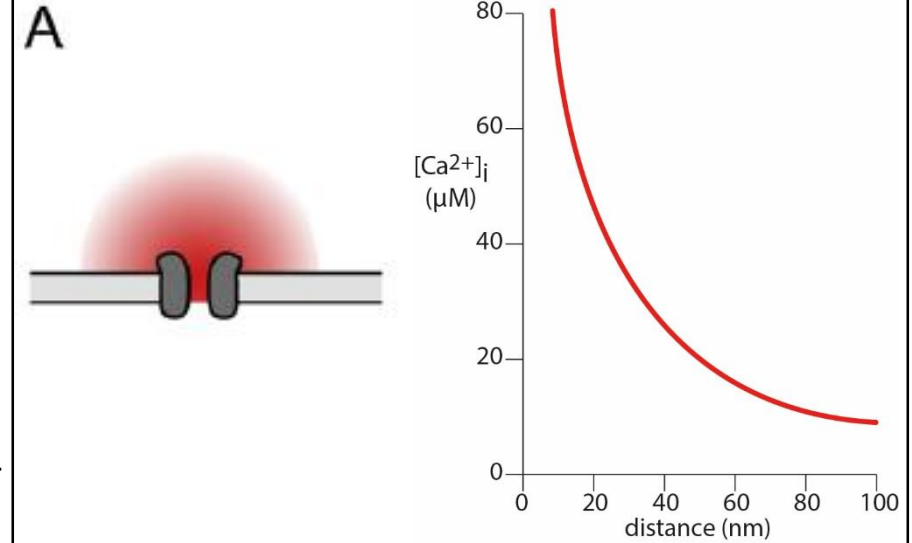
Diffusion du calcium d'un canal ouvert

$$[Ca^{2+}](x, t) = \frac{J_{Ca}}{2\pi D x} \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{Dt}}$$

- x = distance du canal
- t = temps
- J_{Ca} = Flux du calcium à travers un seule canal (loi de Fick)
- D = coefficient de diffusion pour Ca^{2+}
- erfc = complementary error function

2 Conclusions :

1. Quand le canal est ouvert il y a une relation inverse entre $[Ca^{2+}]$ et la distance du canal
2. Le temps de la diffusion du calcium va augmenter avec le carré de la distance



Spatial domains du calcium dans le terminaison présynaptique

Diffusion du calcium d'un canal ouvert

$$[Ca^{2+}](x, t) = \frac{J_{Ca}}{2\pi D x} \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{Dt}}$$

- x = distance du canal
- t = temps
- J_{Ca} = Flux du calcium à travers un seule canal (loi de Fick)
- D = coefficient de diffusion pour Ca^{2+}
- erfc = complementary error function

2 Conclusions :

1. Quand le canal est ouvert il y a une relation inverse entre $[Ca^{2+}]$ et la distance du canal
2. Le temps de la diffusion du calcium va augmenter avec le carré de la distance

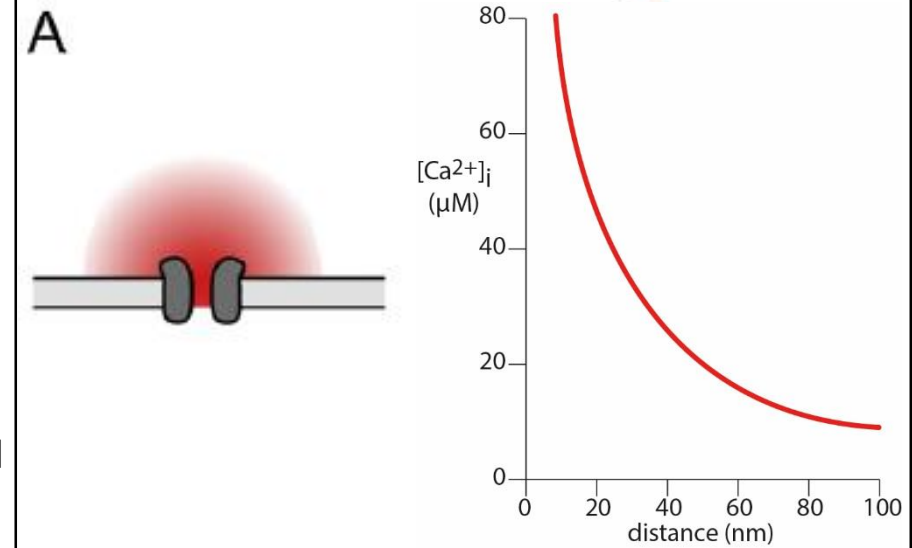
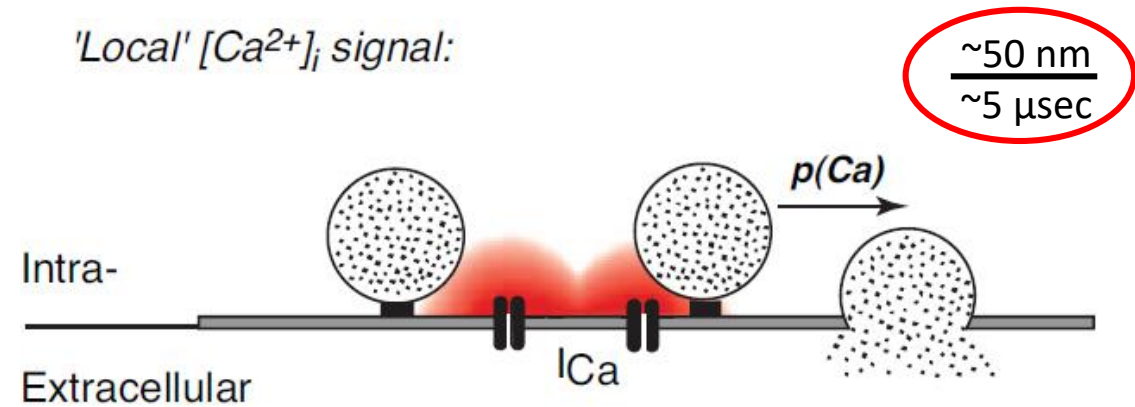


Table 1 | "Rule of thumb" relationships for Ca^{2+} diffusion within domains.

Distance	$[Ca^{2+}]$ ($\sim 1/x$)	Time ($\sim x^2$)
10 nm	100 μM	1 μsec
100 nm	10 μM	100 μsec
1000 nm	1 μM	10000 μsec

'Local' $[Ca^{2+}]_i$ signal:



Spatial domains du calcium dans le terminaison présynaptique

Diffusion du calcium d'un canal ouvert

$$[Ca^{2+}](x, t) = \frac{J_{Ca}}{2\pi D x} \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{Dt}}$$

- x = distance du canal
- t = temps
- J_{Ca} = Flux du calcium à travers un seule canal (loi de Fick)
- D = coefficient de diffusion pour Ca^{2+}
- erfc = complementary error function

2 Conclusions :

1. Quand le canal est ouvert il y a une relation inverse entre $[Ca^{2+}]$ et la distance du canal
2. Le temps de la diffusion du calcium va augmenter avec le carré de la distance

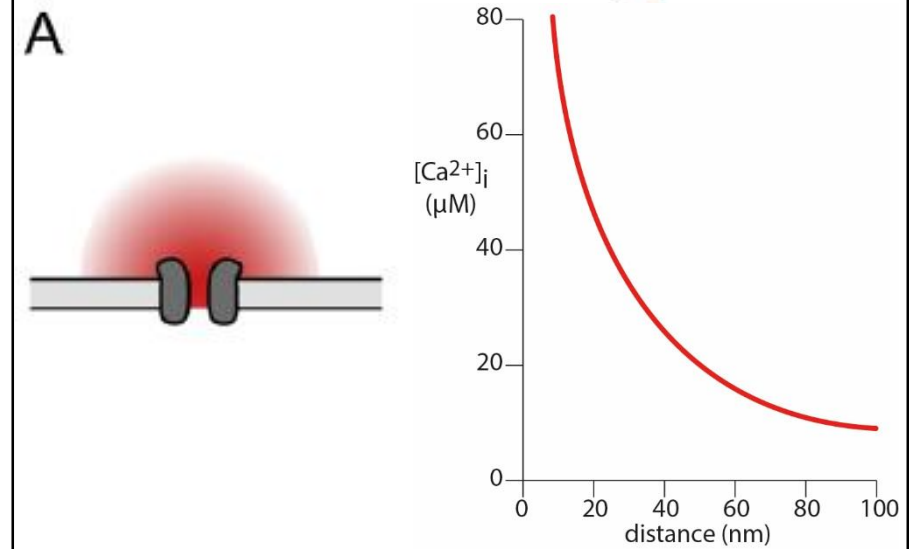
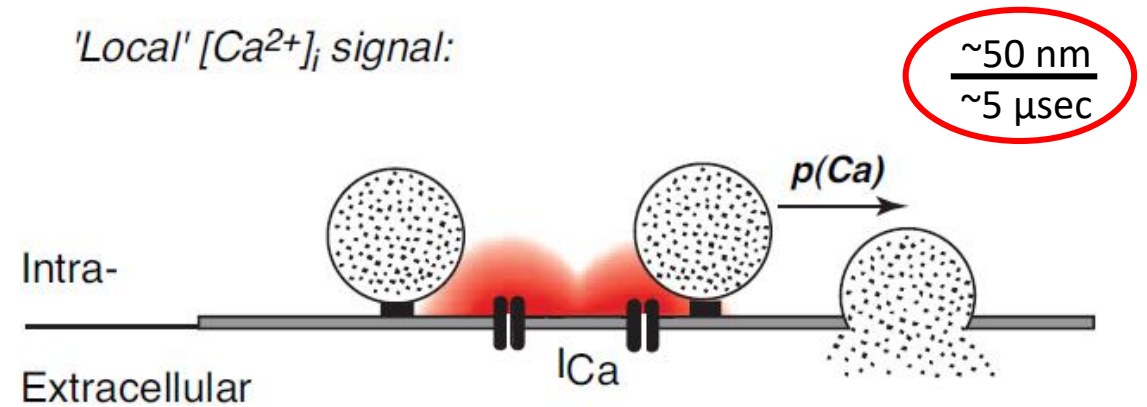


Table 1 | "Rule of thumb" relationships for Ca^{2+} diffusion within domains.

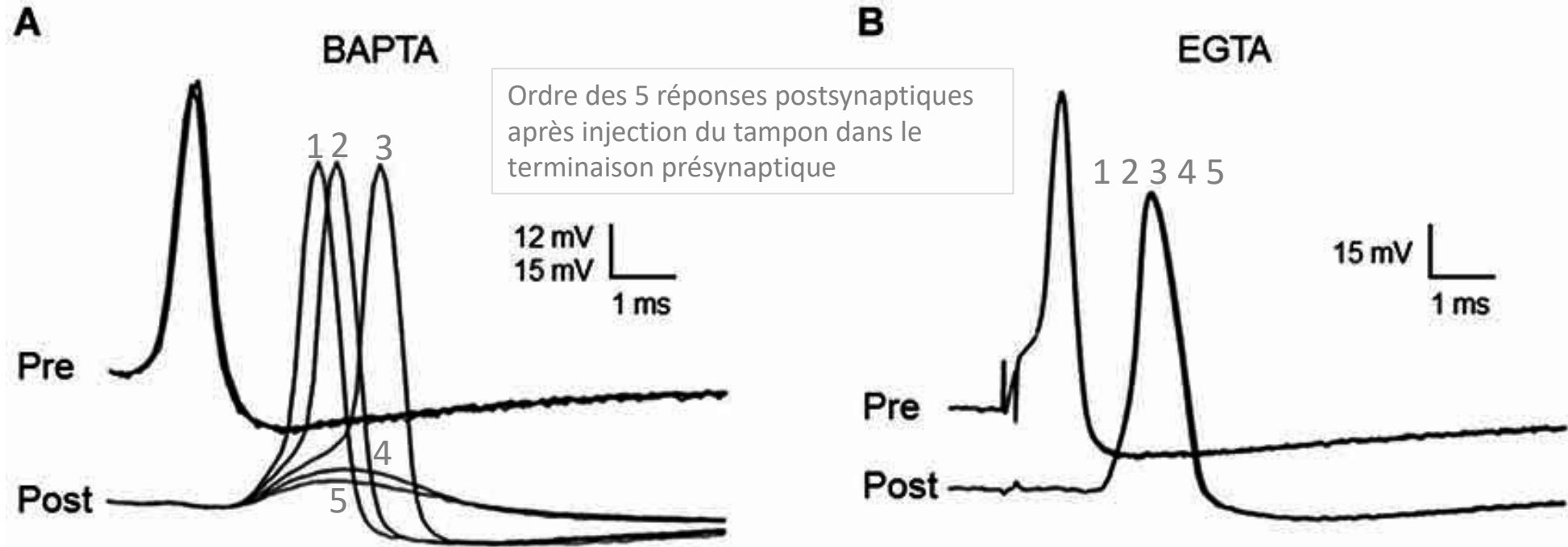
Distance	$[Ca^{2+}]$ ($\sim 1/x$)	Time ($\sim x^2$)
10 nm	100 μM	1 μsec
100 nm	10 μM	100 μsec
1000 nm	1 μM	10000 μsec

'Local' $[Ca^{2+}]_i$ signal:



Comment pouvons-nous estimer la distance entre un canal calcique et la senseur du calcium (synaptotagmine)?

Le tampon calcique BAPTA inhibe la transmission synaptique, mais pas l'EGTA



L'injection des tampons calciques BAPTA (10 mM) ou EGTA (10 mM) dans le terminaison présynaptique d'une synapse géante du calmar.

- En condition contrôle un potentiel d'action dans le terminaison présynaptique (Pre) déclenche, ~2 ms plus tard, un potentiel d'action dans le neurone postsynaptique (Post, la 1^{ière} réponse en BAPTA ou EGTA).
- Figure A. Injection du BAPTA dans le terminaison présynaptique inhibe la transmission synaptique (la 5^{ième} réponse est fortement réduite).
- Figure B. L'injection de la même concentration du EGTA dans le terminaison présynaptique n'inhibe pas la transmission synaptique (la 5^{ième} réponse chevauche la 1^{ière}).

Estimation de la distance entre les canaux calciques et le senseurs du calcium: estimation de cinétique d'équilibre calcium avec des tampons EGTA et BAPTA



La réaction approchera l'équilibre à une vitesse qui dépend des constantes de vitesse d'association (k_{on} ou k_1) et de dissociation (k_{off} ou k_{-1}). Si le tampon (B) est présent en concentration largement supérieure de calcium, tel que la concentration restera quasi constante pendant la réaction (i.e. 10 mM BAPTA ou EGTA versus 100 μM calcium), le **constant de temps « τ »** de l'équilibre calcium et tampon est:

$$1/\tau = K_{\text{on}}[\text{B}] + K_{\text{off}}$$

EGTA	BAPTA
$K_{\text{on}} \sim 1,5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$	$K_{\text{on}} \sim 6,02 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$
$K_{\text{off}} \sim 0,3 \text{ sec}^{-1}$	$K_{\text{off}} \sim 96,7 \text{ sec}^{-1}$

Calculez:

- le τ ($1/e \approx 36,8\%$ temps d'équilibre)
- le temps pour que les tampons EGTA et BAPTA s'équilibrent avec le calcium

EGTA

$$1/\tau = K_{\text{on}}[\text{B}] + K_{\text{off}}$$

$$1/\tau = \frac{1,5 \times 10^6}{\text{M sec}} [10 \times 10^{-3}] + \frac{0,3}{\text{sec}}$$

EGTA: $\tau = 67 \mu\text{sec}$

→ $67 \mu\text{sec} \times \sim 3 = \sim 200 \mu\text{sec}$

Donc équilibre à 200 μsec

BAPTA

$$1/\tau = K_{\text{on}}[\text{B}] + K_{\text{off}}$$

$$1/\tau = \frac{6,02 \times 10^8}{\text{M sec}} [10 \times 10^{-3}] + \frac{96,7}{\text{sec}}$$

→ BAPTA: $\tau = 0,17 \mu\text{sec}$ ou

→ $0,17 \mu\text{sec} \times \sim 3 = \sim 0,5 \mu\text{sec}$

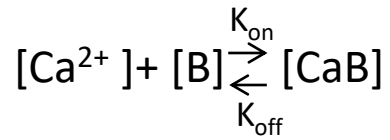
Donc équilibre à 0,5 μsec

La dérivation du tau et relation methods :

http://chem.libretexts.org/Core/Physical_and_Theoretical_Chemistry/Kinetics/Reaction_Rates/Experimental_Determination_of_Kinetics/Relaxation_Methods

Adler et al. 1991, J. Neurosci.

Estimation de la distance entre les canaux calciques et le senseurs du calcium: estimation de cinétique d'équilibre calcium et tampons EGTA et BAPTA



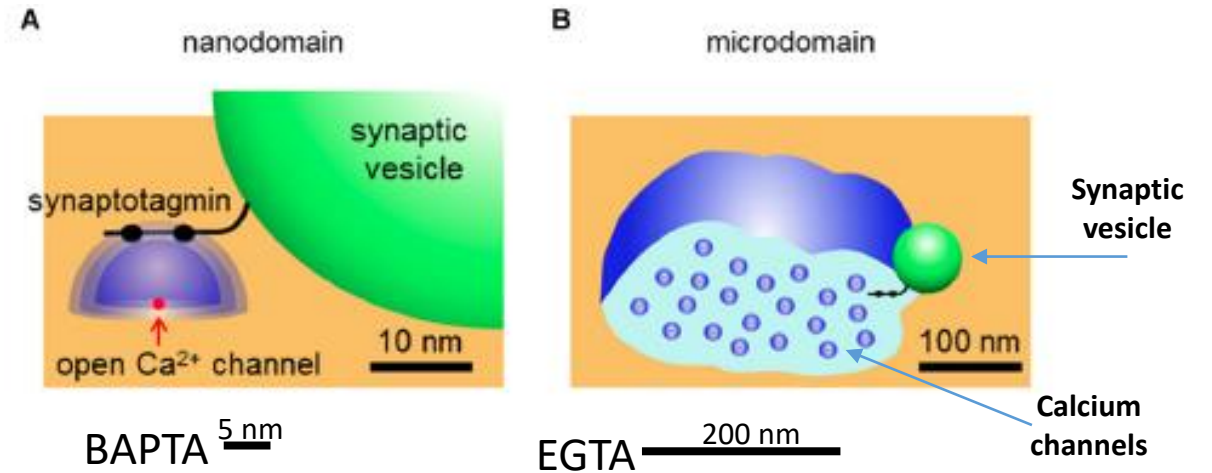
$$1/\tau = K_{on}[B] + k_{off}$$

- **EGTA:** $\tau = 67 \mu\text{sec}$ ou équilibré à $200 \mu\text{sec}$
- **BAPTA:** $\tau = 0,17 \mu\text{sec}$ ou équilibré à $0,5 \mu\text{sec}$

Quel est la distance de la diffusion de calcium pour ces périodes du temps?

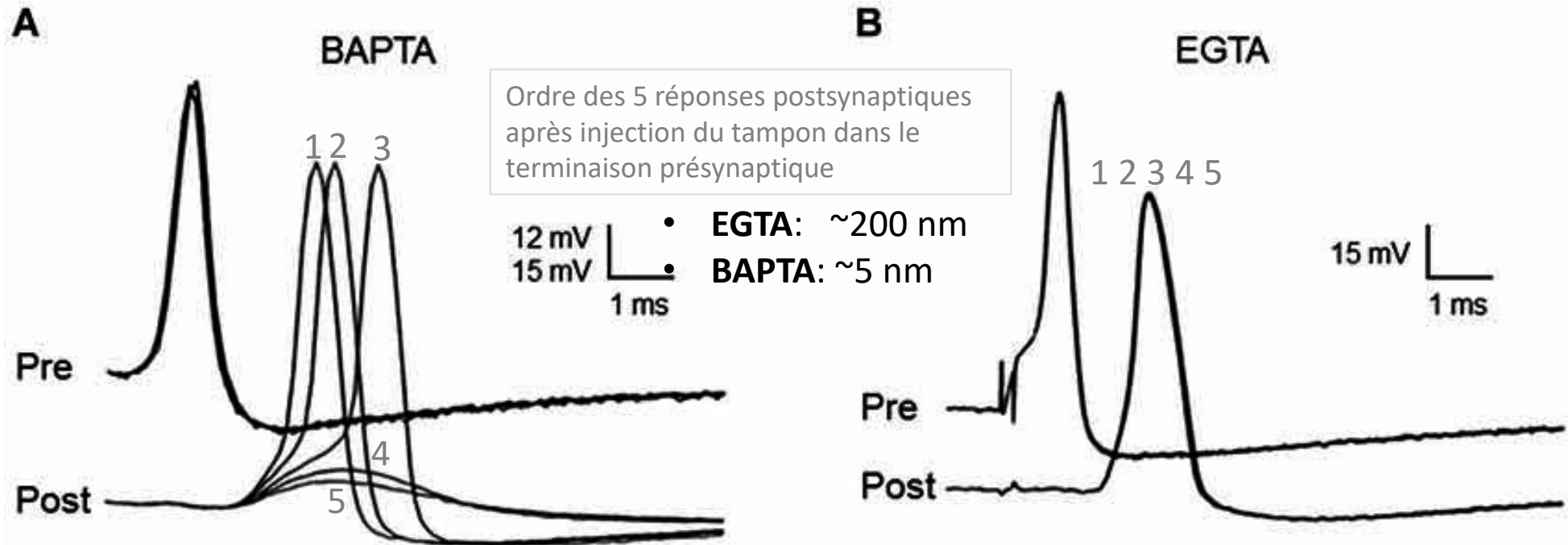
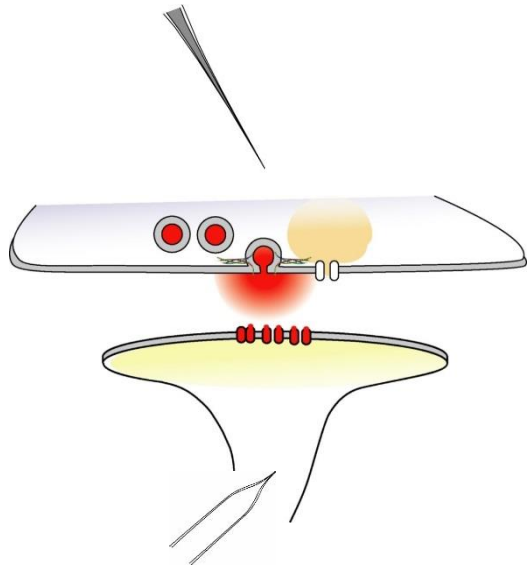
- **EGTA:** $\sim 100\text{-}200 \text{ nm}$
- **BAPTA:** $\sim 5 \text{ nm}$

Le calcium entrant dans une cellule par un canal aura le temps de diffuser $\sim 200 \text{ nm}$ avant d'être chélaté par le EGTA, mais que $\sim 5 \text{ nm}$ avant d'être chélaté par le BAPTA.



	Distance	$[Ca^{2+}]$ ($\sim 1/x$)	Time ($\sim x^2$)
nanodomain	10 nm	100 μM	1 μsec
microdomain	100 nm	10 μM	100 μsec
radial gradient	1000 nm	1 μM	10000 μsec

Le tampon calcique BAPTA inhibe la transmission synaptique, mais pas l'EGTA



- **EGTA:**
 - équilibré à 200 μsec
 - Donc Ca^{2+} diffuse ~200 nm avant d'être chélaté par le EGTA
- **BAPTA:**
 - équilibré à 0,5 μsec
 - Donc Ca^{2+} diffuse ~5 nm avant d'être chélaté par le BAPTA

Table 1 | "Rule of thumb" relationships for Ca^{2+} diffusion within domains.

Distance	$[\text{Ca}^{2+}]$ ($\sim 1/x$)	Time ($\sim x^2$)
10 nm	100 μM	1 μsec
100 nm	10 μM	100 μsec
1000 nm	1 μM	10000 μsec

5 nm (BAPTA) < la distance entre le canal et Synaptotagmine < 200 nm (EGTA)

Résumé:

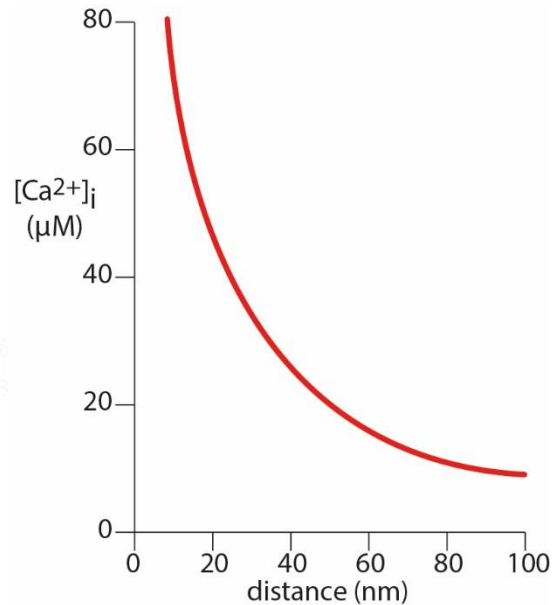
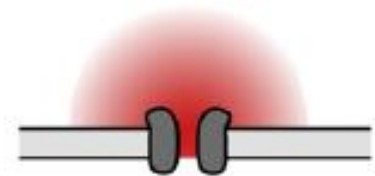
Mesure de la relation spatiale et temporelle des domaines calciques avec Synaptotagmine

1. Quand le canal est ouvert il y a une relation inverse entre $[Ca^{2+}]$ et la distance du canal
2. Le temps de la diffusion du calcium va augmenter avec le carré de la distance
3. Les différents cinétiques d'association (k_{on}) de BAPTA et EGTA engendrent des cinétiques d'équilibration avec le calcium très différents. En prenant en compte ces différences et les effets de BAPTA et EGTA sur la transmission synaptique, nous pouvons d'estimer la distance entre un canal calcique et le senseur du calcium (probablement Synaptotagmine). Cette distance est entre 5 à 200 nm.

Estimation de la concentration du calcium au senseur de calcium
dans le terminaison présynaptique

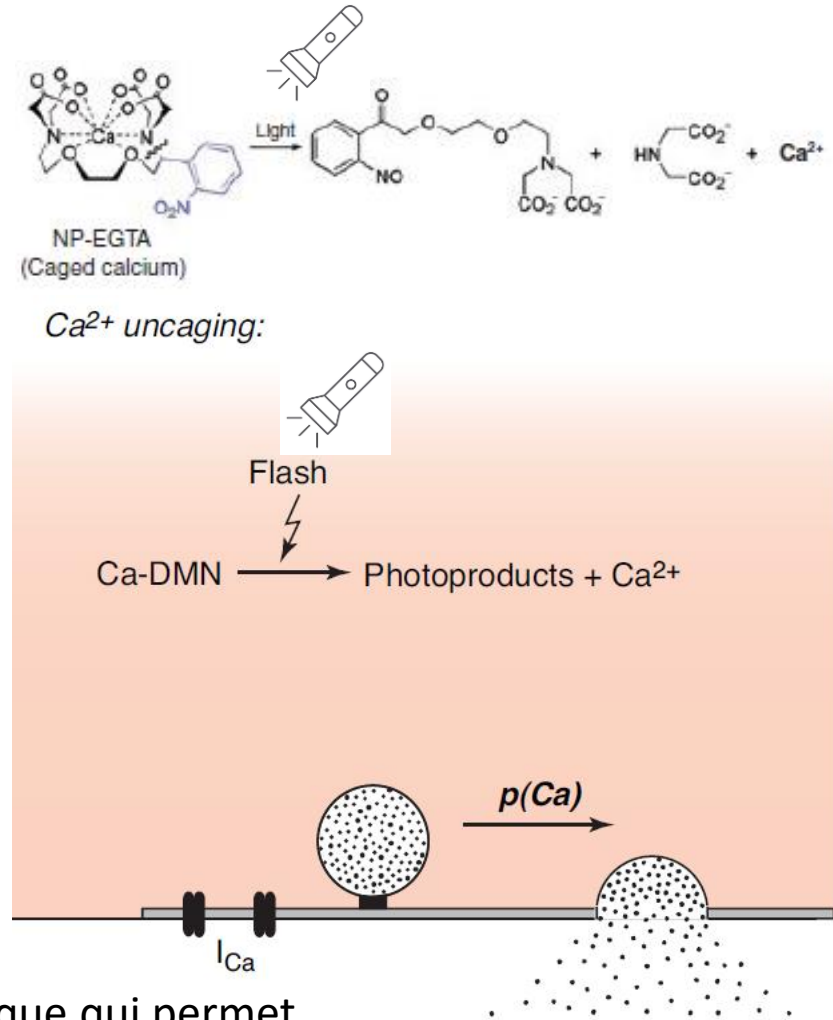
Comment pouvons-nous estimer la relation entre la concentration du calcium interne indépendamment de la diffusion?

A



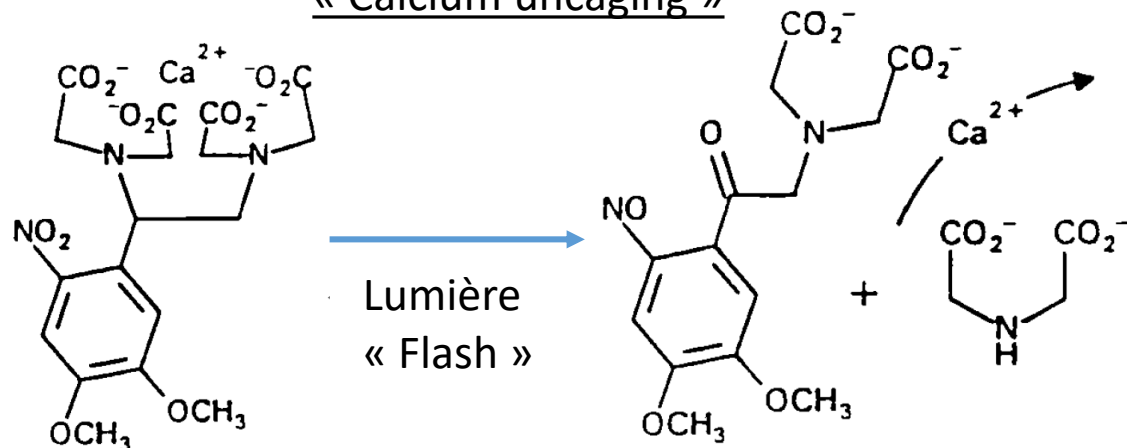
Comme le calcium pénètre dans les terminaux présynaptiques à des endroits discrets (canaux calciques), la concentration de calcium dans le terminal sera hétérogène et variera en fonction de la distance et du temps.

- Le « calcium uncaging » ou « décaillage du calcium » est une technique qui permet d'augmenter la concentration de calcium rapidement et de manière homogène dans le terminaison présynaptique



La transmission synaptique: « uncaging calcium » dans le terminaison présynaptique

« Calcium uncaging »

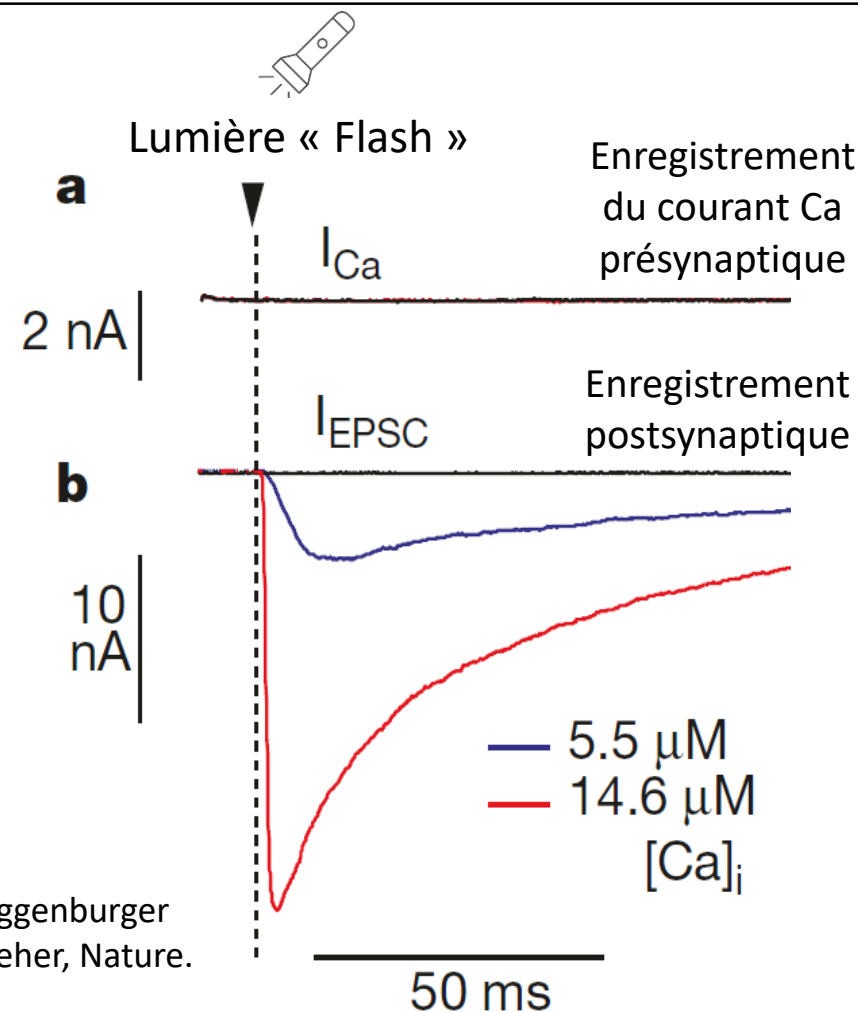


DM-nitrophen
(high Ca^{2+} affinity)

DM-nitrophen photolysis products
(low Ca^{2+} affinity)

Zucker, Methods in Cell Biology. 1994

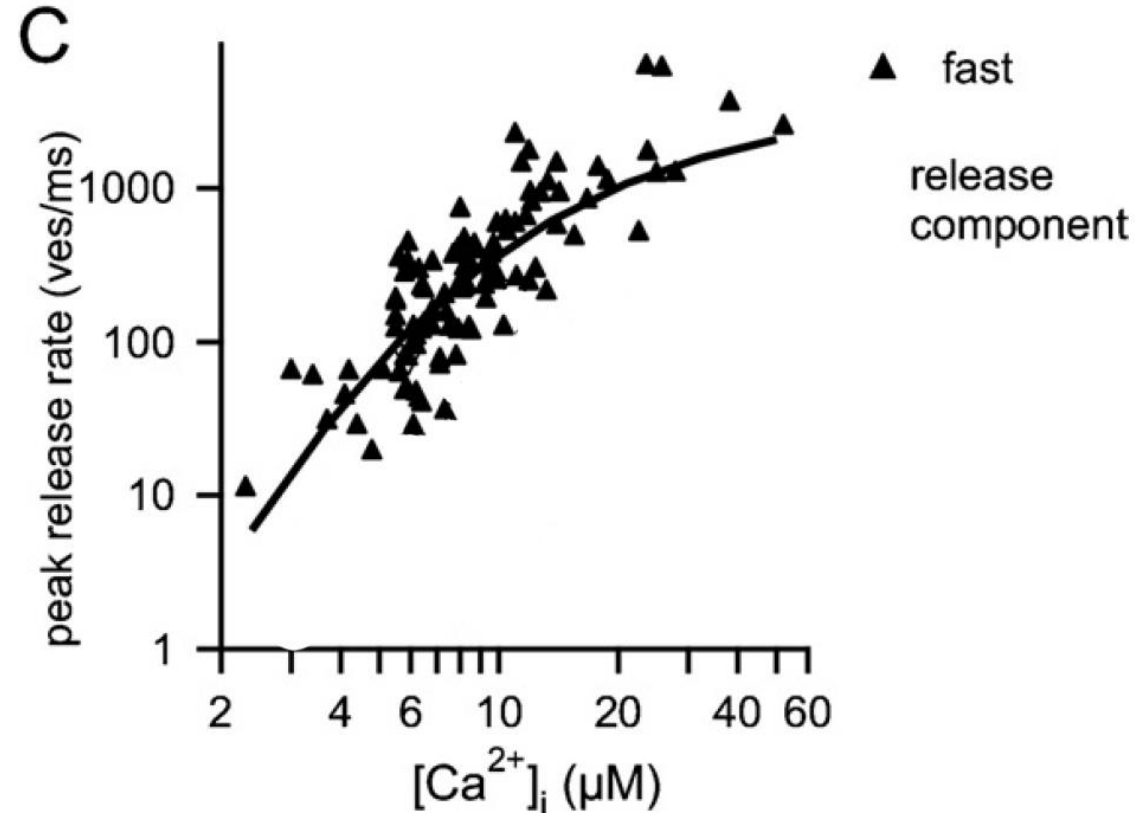
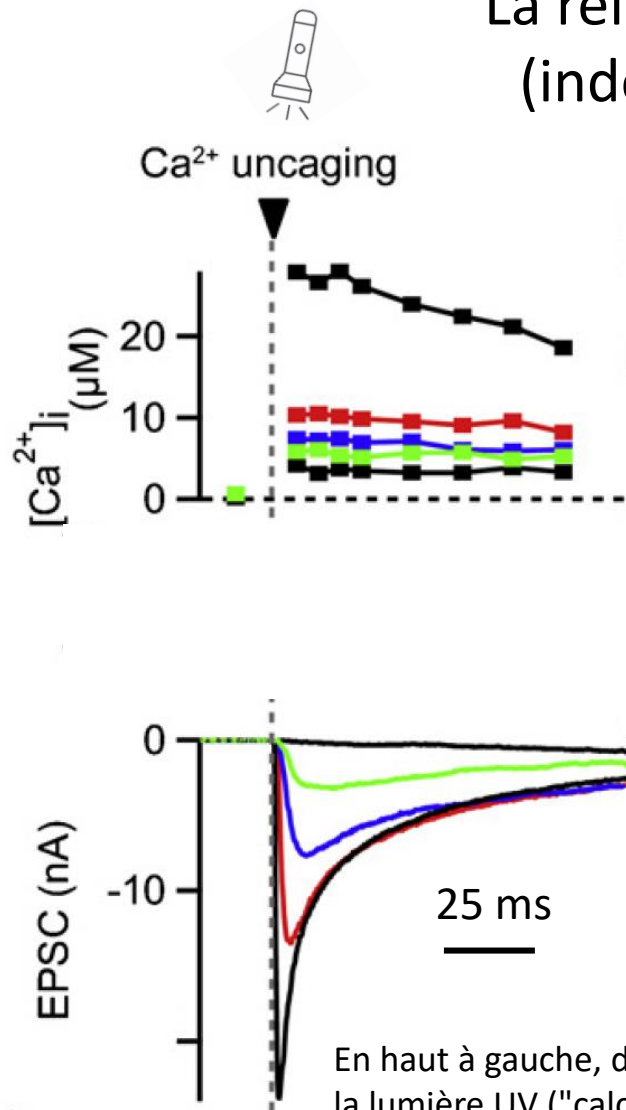
Le "Calcium uncaging" est une technique qui permet d'élever rapidement la concentration de calcium ($[\text{Ca}^{2+}]$) dans un compartiment cellulaire. Le "Caged Ca^{2+} ", calcium lié à un tampon photosensible de haute affinité (DM-nitrophen), est chargé dans le terminal présynaptique. L'exposition du complexe Ca-DM-nitrophen à la lumière (photolyse) modifie l'affinité du DM-nitrophen pour le calcium et provoque sa libération. L'élévation rapide du calcium dans le terminal présynaptique ressemble, à bien des égards, à l'élévation du $[\text{Ca}^{2+}]$ dans le terminal présynaptique pendant un potentiel d'action.



Schneggenburger
and Neher, Nature.
2000.

Une augmentation du calcium dans le terminal présynaptique est donc "suffisante" pour induire la transmission synaptique.

La relation entre $[Ca^{2+}]_i$ et la réponse synaptique (indépendamment de la diffusion du calcium)

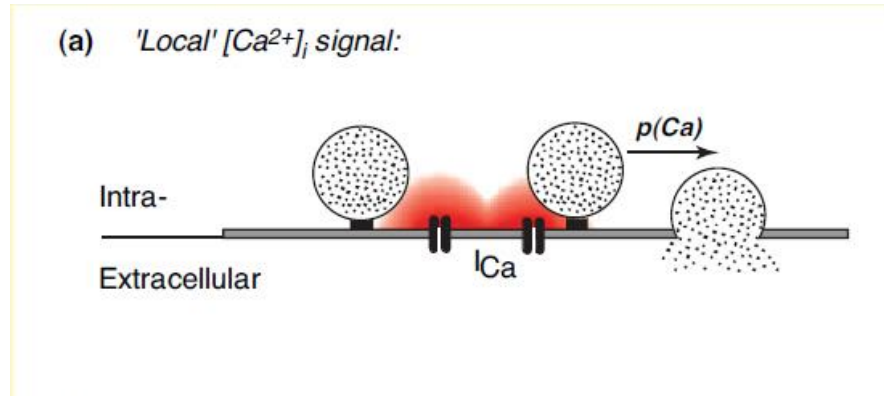


En haut à gauche, du Ca^{2+} encagé est chargé dans le terminal présynaptique. Le calcium est ensuite libéré en exposant le terminal à la lumière UV ("calcium uncaging"). Le $[Ca^{2+}]_{int}$ dans le terminal augmente de manière homogène avec l'intensité lumineuse. En bas à gauche, les augmentations du $[Ca^{2+}]_{int}$ présynaptique conduisent à des augmentations de l'amplitude des EPSC. A droite, une courbe de la relation entre $[Ca^{2+}]_{int}$ et le taux de la libération du neurotransmetteur (« peak release rate » - dérivée de la réponse synaptique - EPSC). Ces expériences permettent de déterminer la relation entre la concentration de calcium présynaptique au niveau du senseur du calcium (synaptotagmin) et le taux de libération du neurotransmetteur (dérivé de la EPSC).

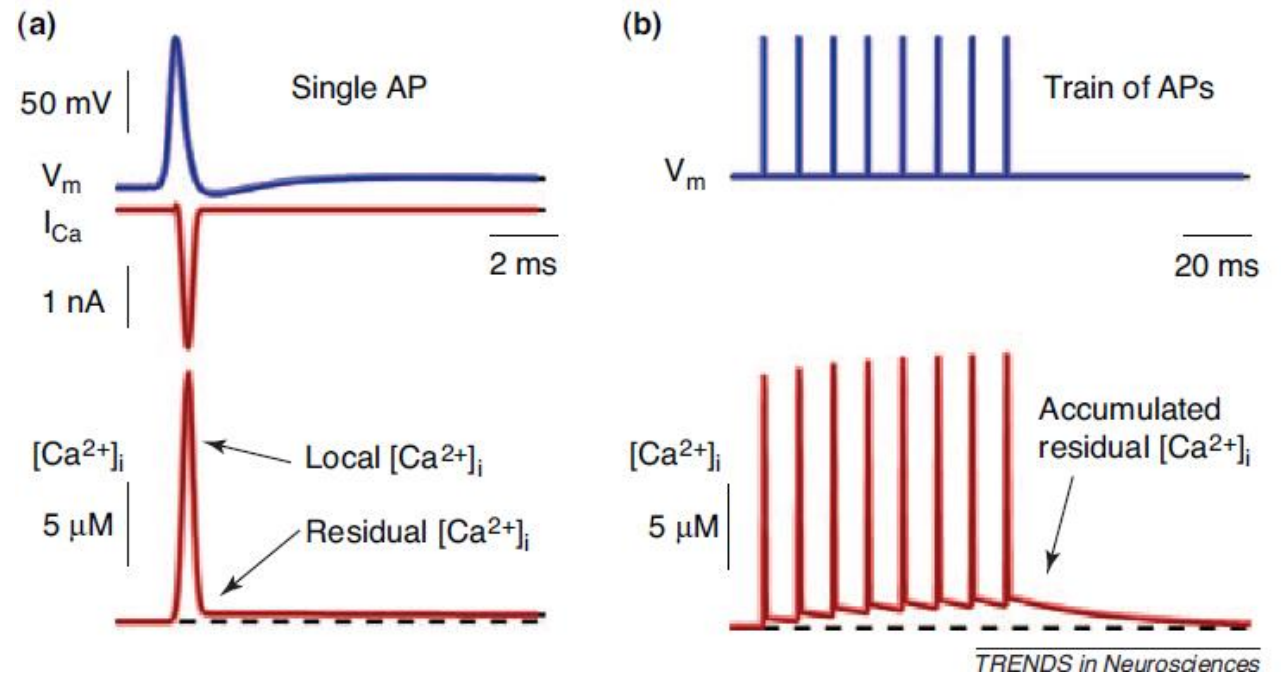
Distribution spatio-temporelle de calcium dans la terminaison présynaptique

Distribution spatio-temporelle de calcium dans la terminaison présynaptique pendant une stimulation répétitive

Distribution spatiale de calcium

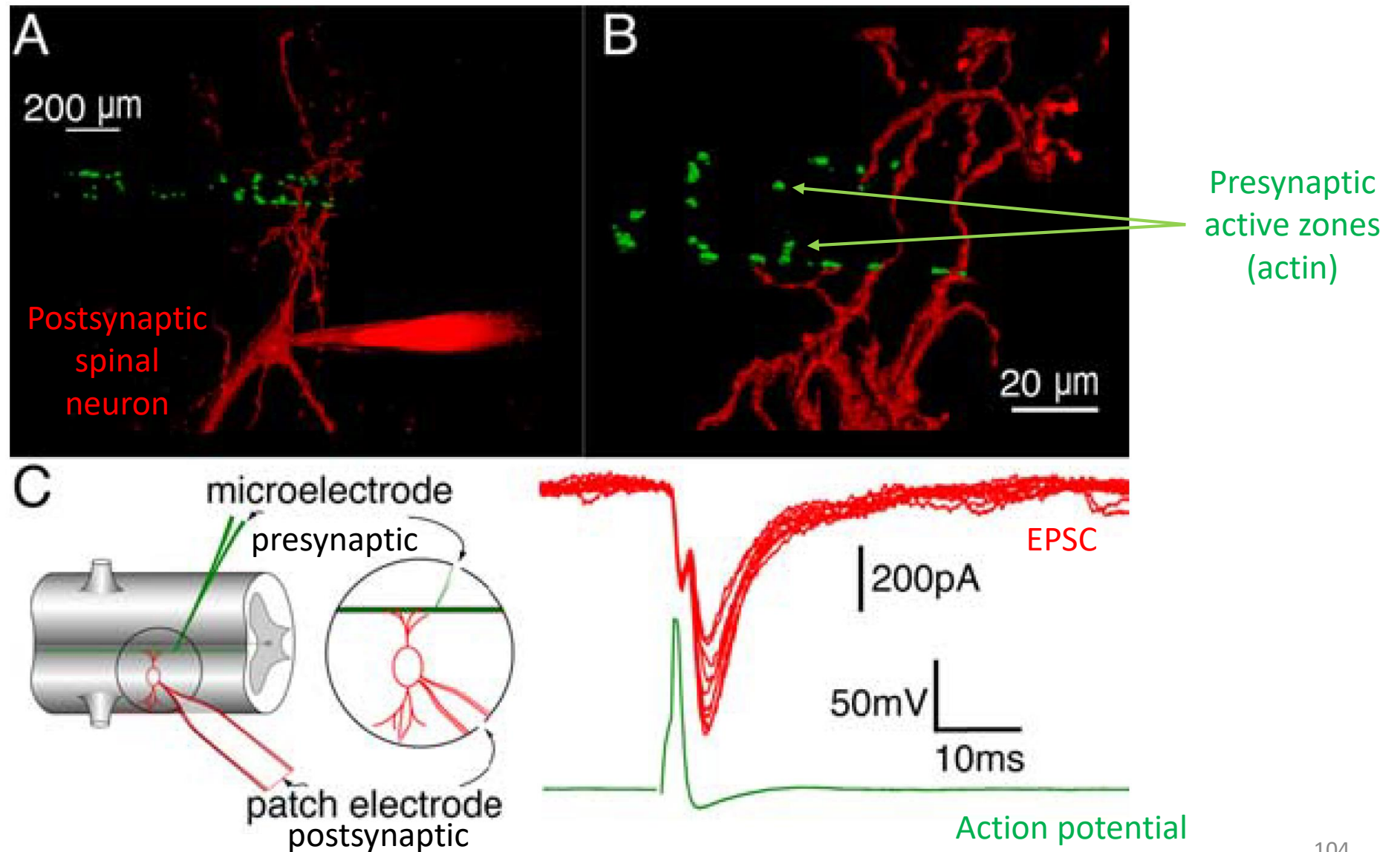


Distribution temporelle de calcium

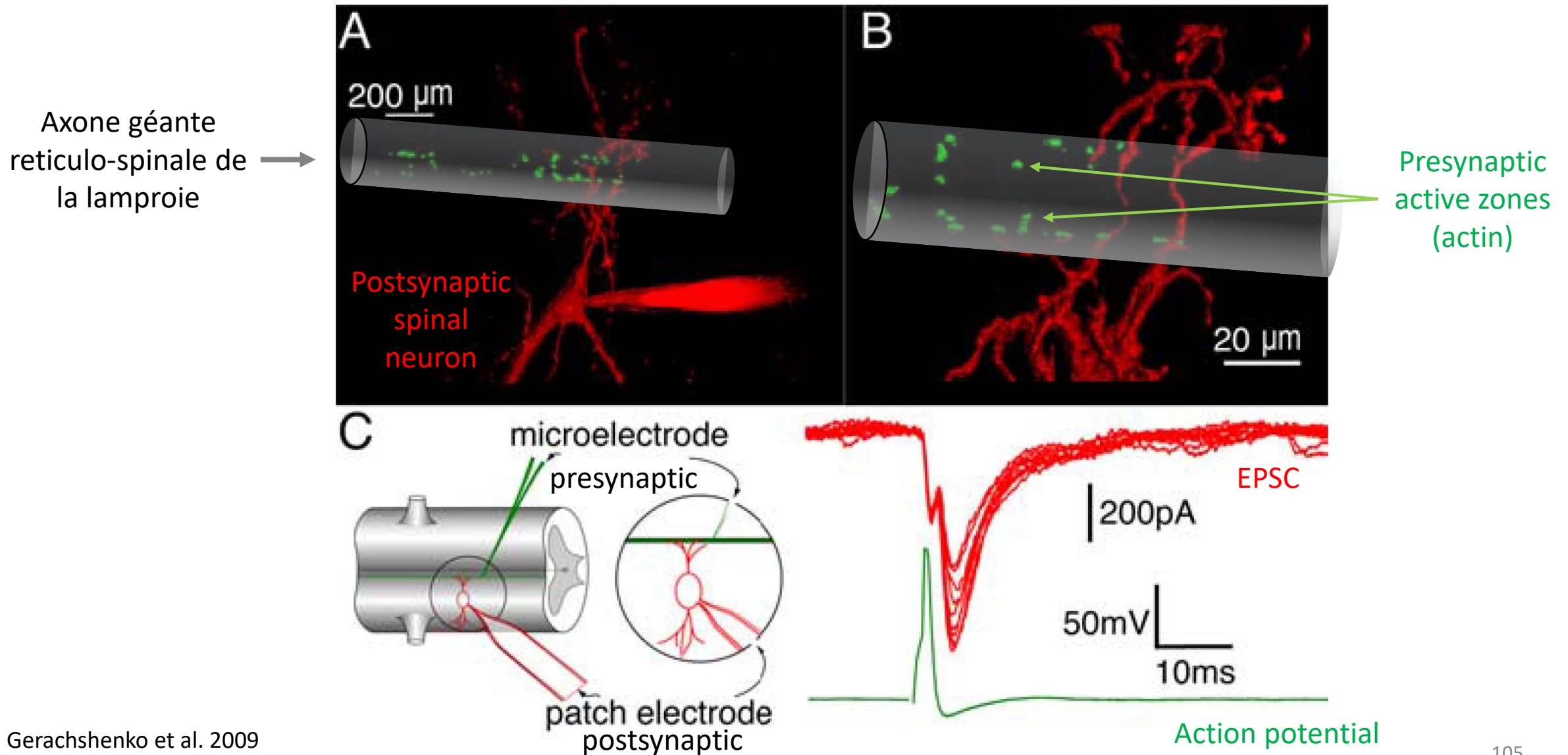


Pendant une stimulation répétitive (ici 100 Hz) on peut observer une accumulation du $[Ca^{2+}]_i$ résiduel. Donc, le régime d'activité peut influencer les dynamiques spatiales et temporelles du $[Ca^{2+}]_i$.

Les axones réticulo-spinaux géants forment des synapses en passant avec les neurones spinaux de la moelle épinière

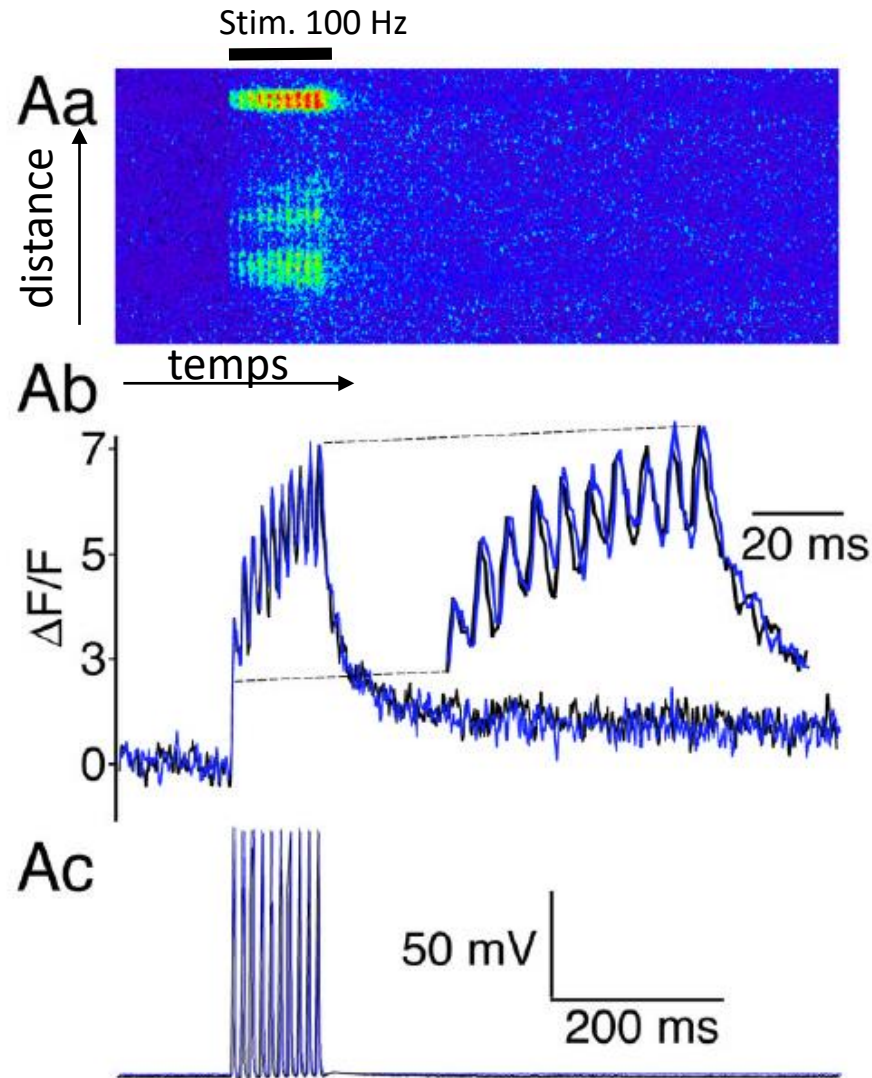
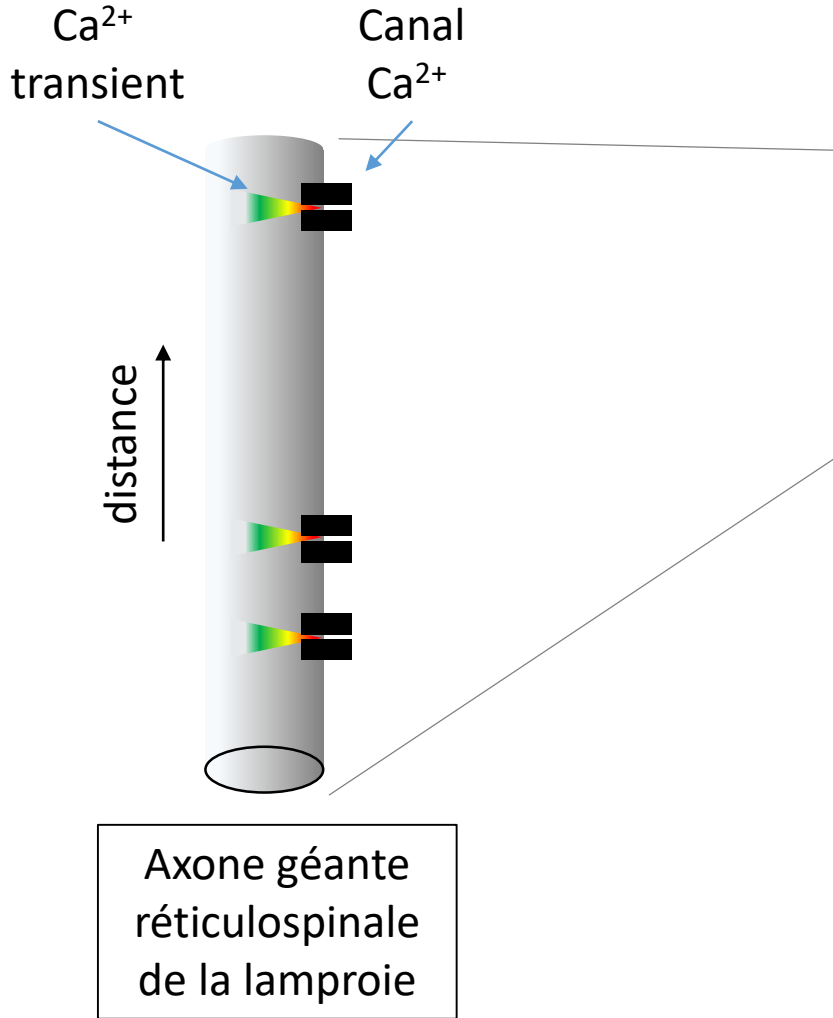


Les axones réticulo-spinaux géants forment des synapses en passant avec les neurones spinaux de la moelle épinière



$[Ca^{2+}]_i$ lors d'une stimulation répétitive dans un axone géant axone réticulospinal de la lamproie

Imagerie calcique d'un axone géant du lamproie pendant stimulation physiologique



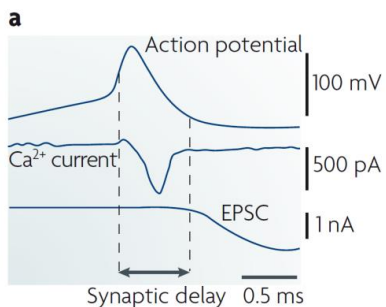
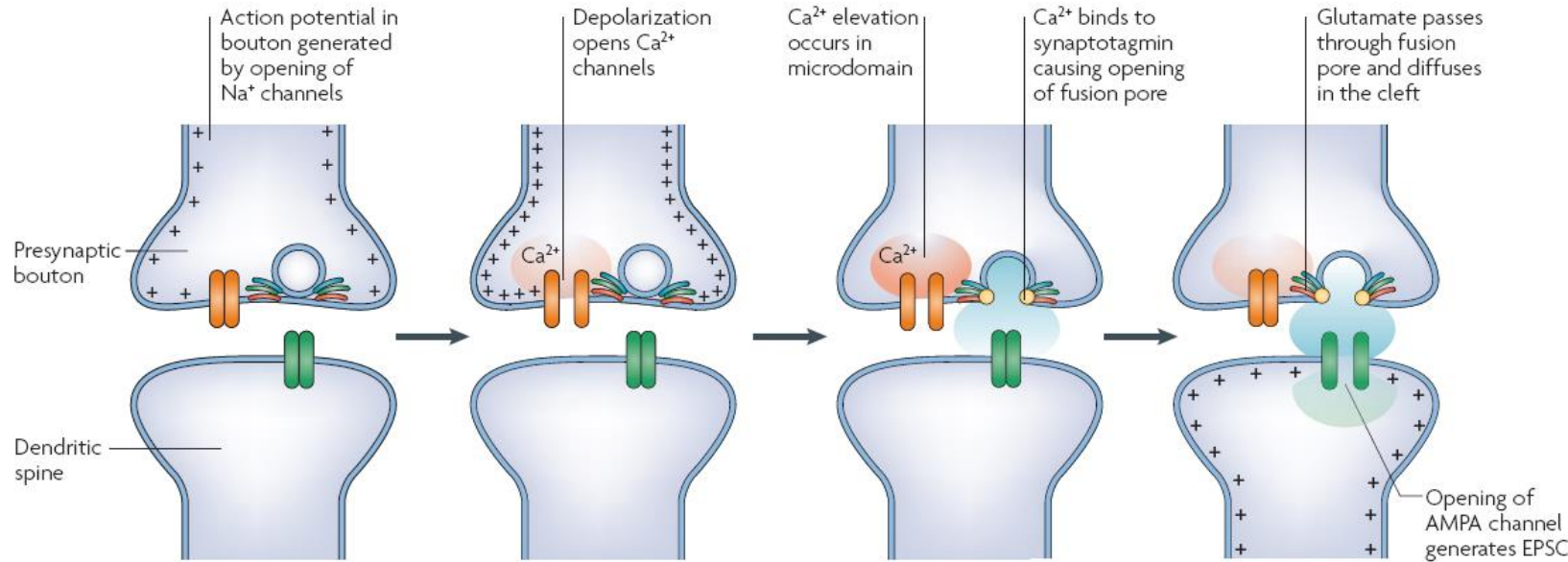
On remarque une accumulation du calcium dans le terminaison présynaptique pendant une stimulation répétitive (100Hz)

Résumé:

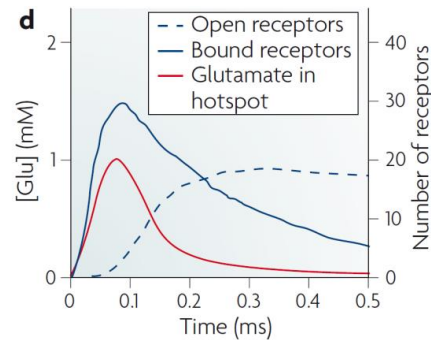
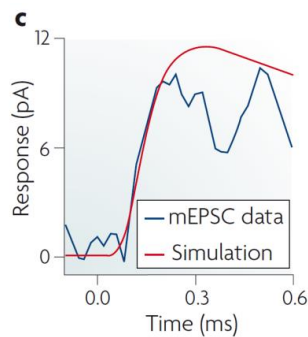
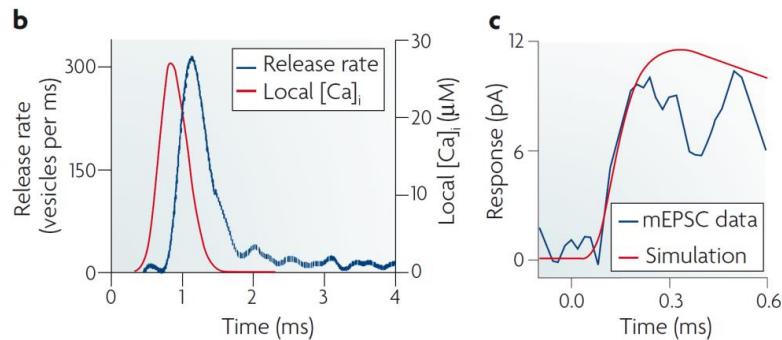
mesures de $[Ca^{2+}]$ dans la terminaison présynaptique

1. Les expériences avec le « calcium uncaging » permettent de déterminer la relation entre la concentration de calcium au niveau du senseur avec le relâchement du neurotransmetteur (indépendamment de la diffusion du calcium).
2. Pendant une stimulation répétitive (ici 100 Hz) on peut observer une accumulation du $[Ca^{2+}]_i$ résiduel. Donc, le régime d'activité peut influencer les dynamiques spatiales et temporelles du $[Ca^{2+}]_i$.
3. On peut utiliser des fluorochromes calciques pour mesurer des fluxations de $[Ca^{2+}]_i$.

Transmission synaptique : conclusions



Lisman et al. 2007



La transmission synaptique est:

- Rapide
- Voltage-dépendante
- Calcium-dépendante
 - Calcium est nécessaire et suffisant

La transmission synaptique est variable selon (liste non-exclusive):

- La dépolarisation présynaptique
- L'influx de calcium présynaptique
- Le nombre de vésicules présynaptiques
- La probabilité de fusion des vésicules
- La concentration des neurotransmetteurs dans les vésicules
- La diffusion des neurotransmetteurs à travers la fente synaptique
- Le nombre des récepteurs postsynaptiques
- L'affinité des récepteurs postsynaptiques pour le NT

II. La transmission synaptique: le trafic des vésicules

Plusieurs groupes (pools) des vésicules sont présents dans une terminaison présynaptique

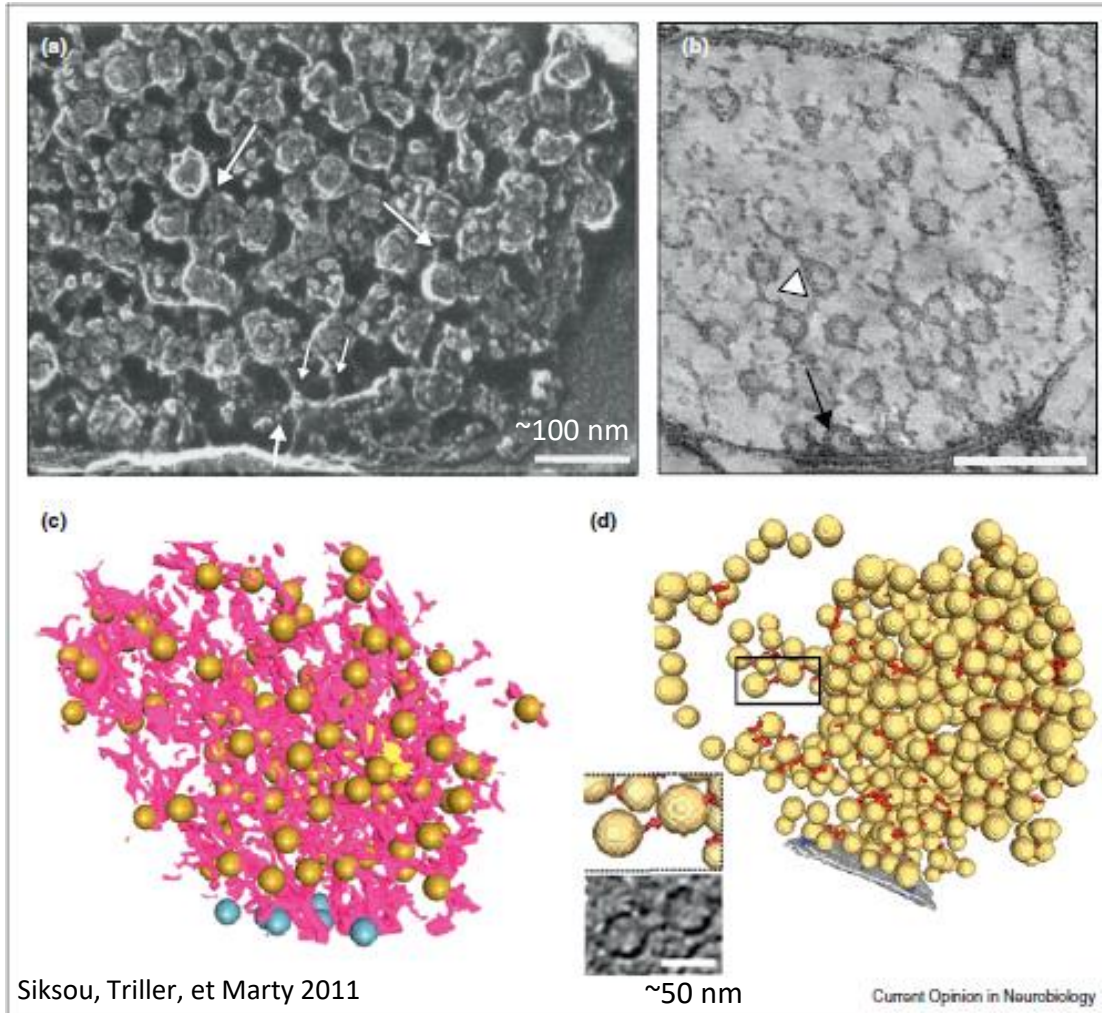
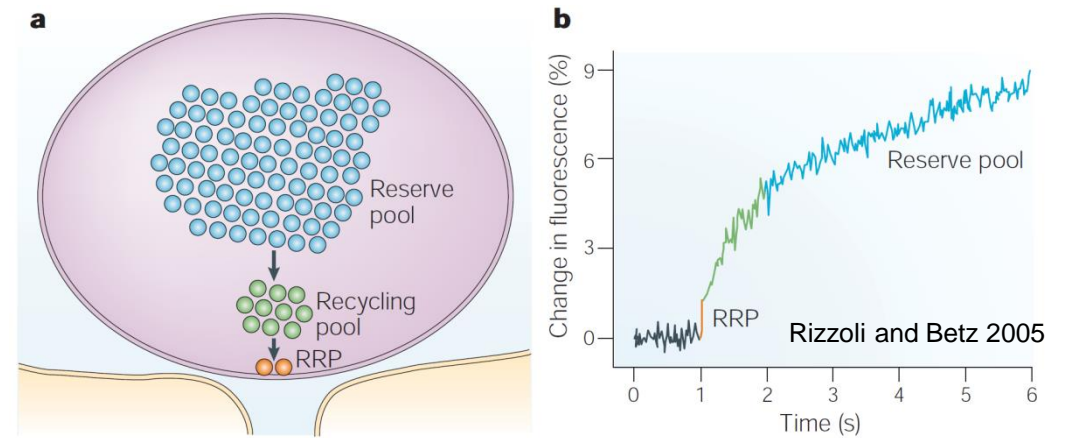


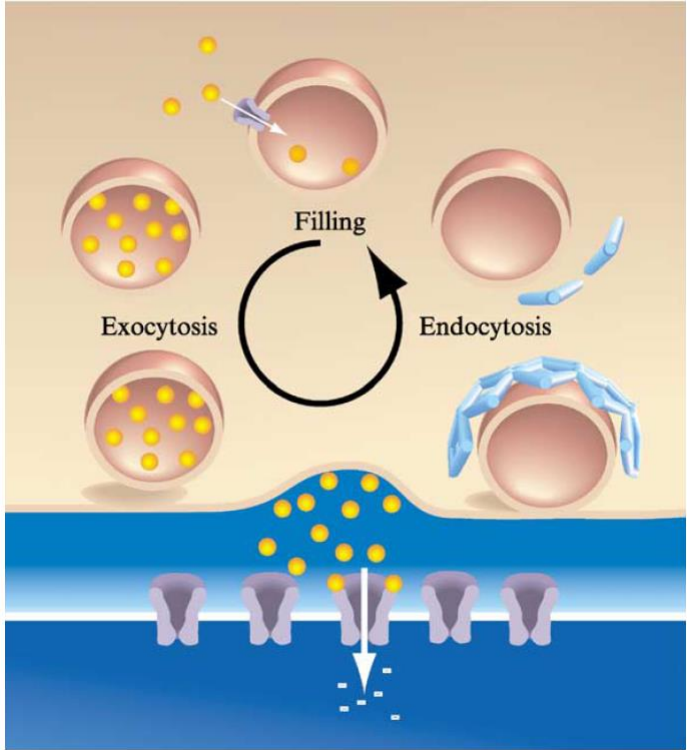
Table 1 | **Characteristics of the vesicle pools**

Pool	Readily releasable pool (RRP)	Recycling pool	Reserve pool
Size (% of all vesicles)	~1–2%	~10–20%	~80–90%
Location	Docked	Scattered	Scattered (bulk of vesicle cluster)
Released within	<1 second	A few seconds	Tens of seconds, minutes
Recycling	Fast (seconds)	Fast (seconds)	Slow (minutes)
Mixing with other pools	Fast mixing with recycling vesicles	Slow mixing with reserve	Slow mixing with other vesicles
Mobility in resting terminals	None — docked	High	Low (high in bipolar cells)

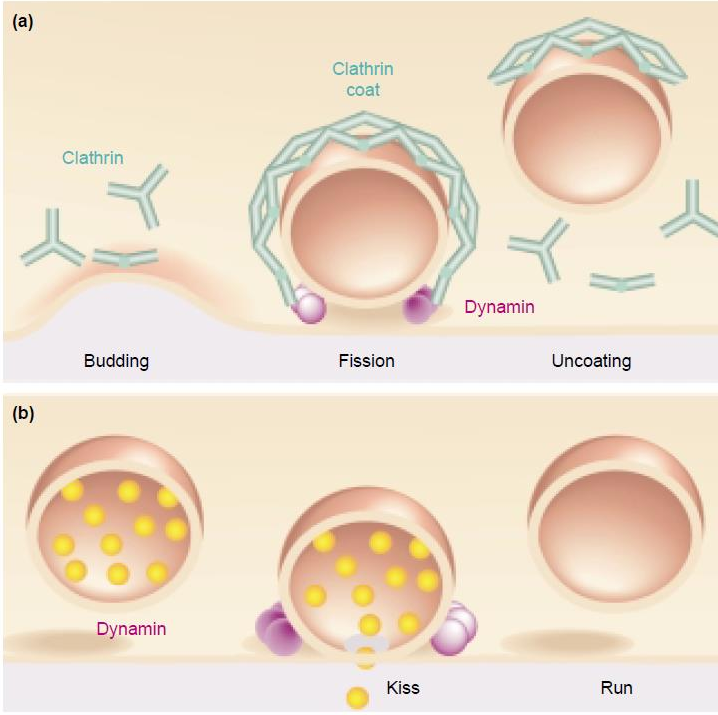


Les vésicules adjacentes de la synapse (bleu, « ready releasable pool ») fusionneront avec la membrane présynaptique avant les autres vésicules (« reserve pools »)

Après fusion des vésicules sont recyclées par deux mécanismes principaux d'endocytoses :
« kiss and run » et « full fusion »



Richmond 2005



Current Opinion in Neurobiology

Richmond 2002

Résumé:

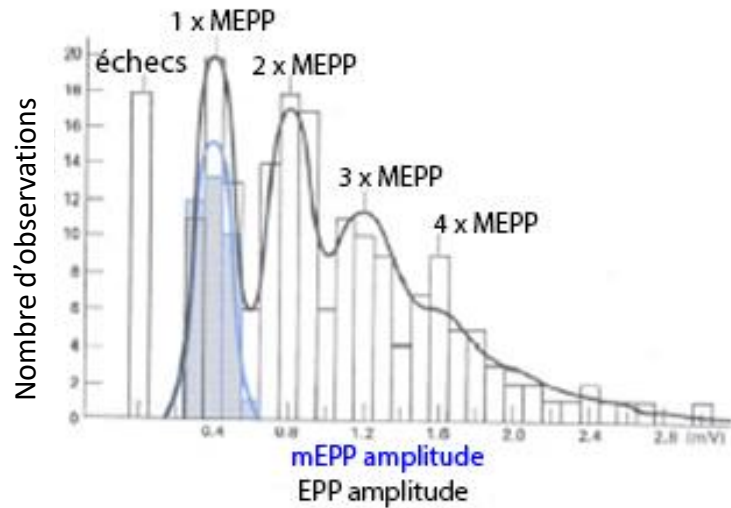
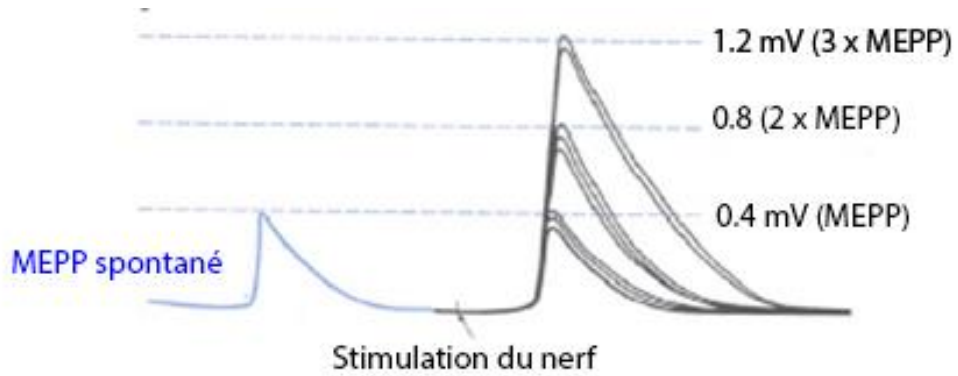
I. Transmission synaptique: les vésicules présynaptiques:

- Les vésicules dans le terminaison présynaptique peuvent être divisées en 3 groupes (dit « pools » en anglais) :
 - Ready releasable pool (RRP)
 - Recycling pool
 - Reserve pool
- Suite à la fusion des vésicules deux mécanismes principaux de endocytoses sont proposés:
 - Clathrine-dépendante endocytose
 - Rapide « kiss and run » endocytose

II. La transmission synaptique: la théorie quantique

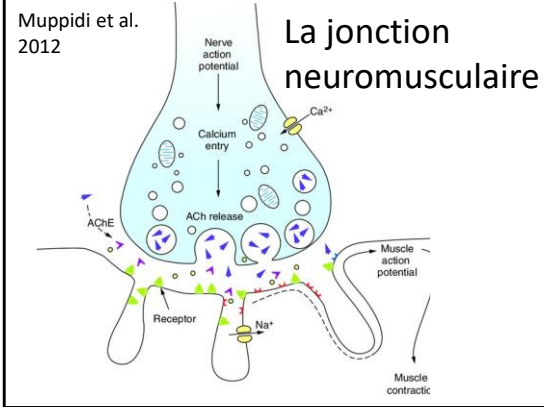
Transmission synaptique quantique

Amplitude des « end-plate potentials » enregistrés à la jonction neuromusculaire de la grenouille



EPP (end plate potential)
MEPP (miniature endplate potential)

Adapté de Kandel, Schwartz, and Jessell



$$EPP = n P_r q \quad EPSC = n P_r q$$

Les neurotransmetteurs sont libérés par les terminaux présynaptiques en quantités discrètes déterminées par la concentration du neurotransmetteur et la taille de la vésicule.

La fusion d'une vésicule et la libération d'un neurotransmetteur sont supposées être un événement binomial ou quantique (tout ou rien) avec les paramètres suivants :

- **q** = La taille d'un quanta ou la réponse postsynaptique après la libération d'une seule vésicule.
- L'amplitude des **mEPP** ou **mEPSP** (potentiels postsynaptiques excitateurs miniatures- *enregistré en présence de TTX*) est censée refléter la réponse postsynaptique à la fusion d'une seule vésicule présynaptique et est souvent utilisée pour estimer "q".
- **n** = Nombre de vésicules disponibles pour fusionner dans le terminal présynaptique.
- **Pr** = Probabilité qu'une vésicule fusionne suite à la stimulation du terminal présynaptique.
- **(1-Pr)** = Probabilité d'échec de la fusion
- **m** = "Contenu quantique", le nombre de vésicules, en moyenne, qui fusionnent suite à la stimulation de la terminaison présynaptique.
- **EPP ou EPSP ou EPSC** = Amplitude moyenne des évènements synaptiques

$$m = P_r * n$$

$$m = (EPSP/mEPSP)$$

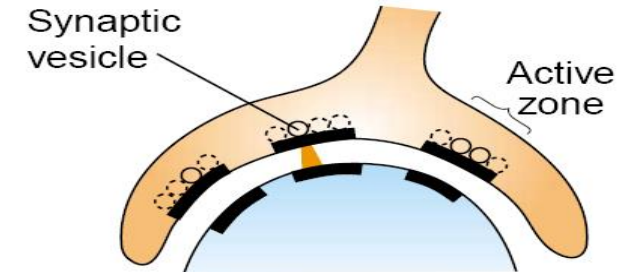
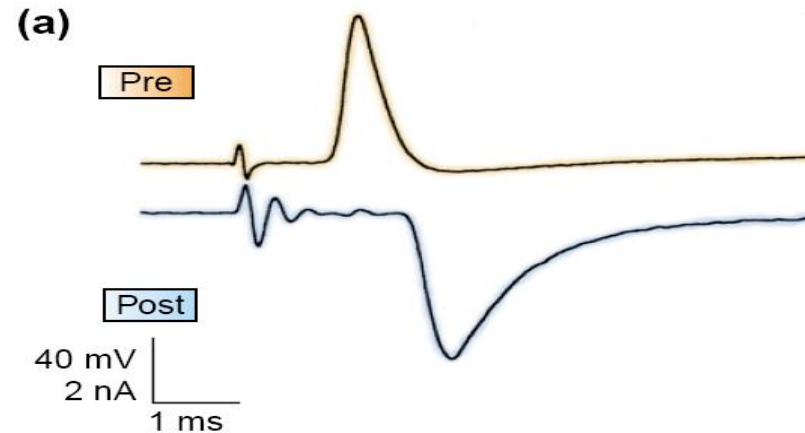
$$m = (EPSP/q)$$

Estimation des paramètres quantiques

$$\text{EPSC} = NPrq$$

Or

$$\text{EPSC} = nPrq$$



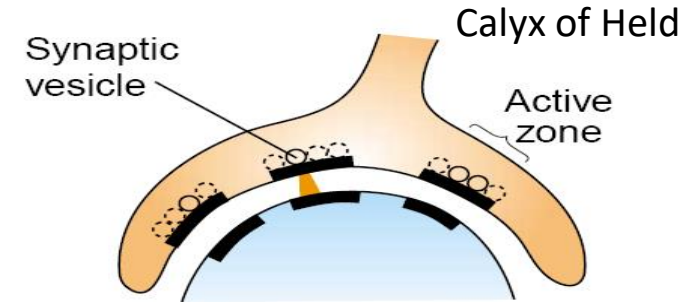
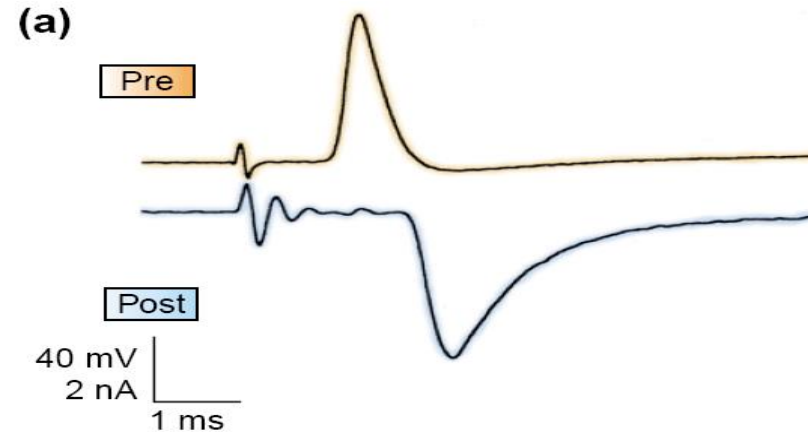
- N = nombre de zones actives :
- n = nombre de vésicules qui peuvent fusionner suite à la stimulation de la borne présynaptique :
- q = taille du quantum :
- Estimation par microscopie électronique
- Estimation par un stimulus fort qui force toutes les vésicules à fusionner
- Estimation par l'observation d'événements synaptiques spontanés ou "minis" ou par la détermination de la "plus petite amplitude unitaire" sur un histogramme de fréquence d'amplitude d'événements synaptiques

Présomptions de la théorie quantique de la transmission synaptique

$$\text{EPSC} = NPrq$$

Or

$$\text{EPSC} = nPrq$$



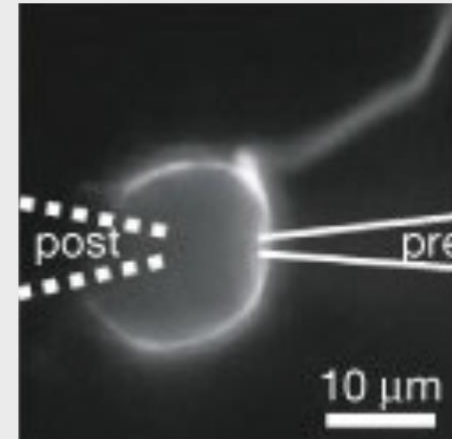
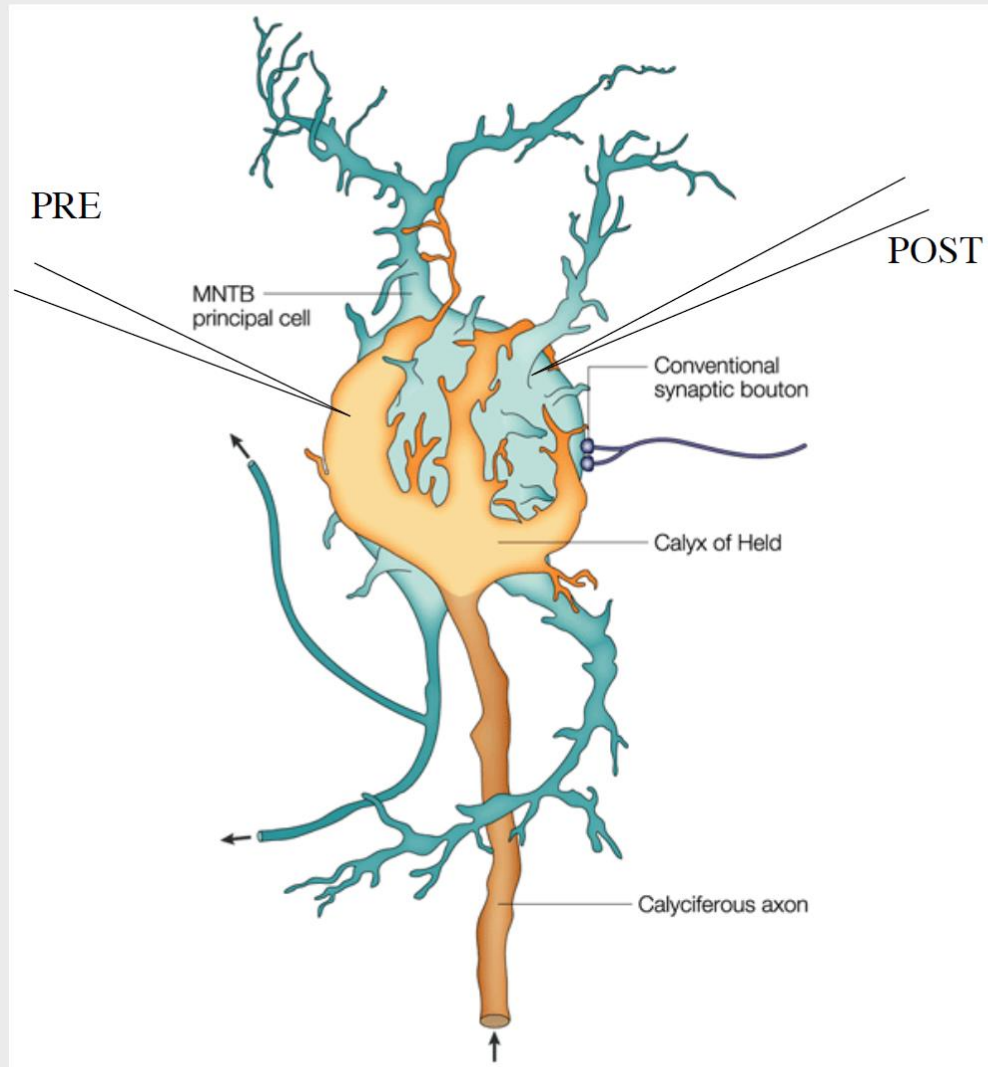
Schneggenburger 2002

La théorie quantique de la transmission synaptique présume que:

1. Entre les vésicules d'un même terminal, il existe une variation non significative de la :
 1. le volume des vésicules présynaptiques
 2. La concentration de neurotransmetteur dans les vésicules.
 3. La cinétique de libération du neurotransmetteur des vésicules pendant la fusion.
 4. La distance entre le site de fusion et les récepteurs postsynaptiques.
 5. La probabilité de fusion.
2. Pas de facilitation ou de dépression significative de la transmission synaptique.
3. Pas de désensibilisation ou de saturation des récepteurs postsynaptiques.
4. Enregistrements électrophysiologiques stables

Las synapse « Le Calyx de Held »:

Un modèle synapse dans le SNC des vertébrés où des enregistrements électrophysiologiques simultanés par paires peuvent être effectués entre le terminal présynaptique et les neurones postsynaptiques.

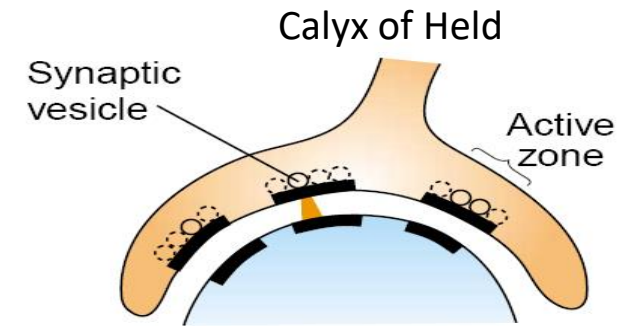
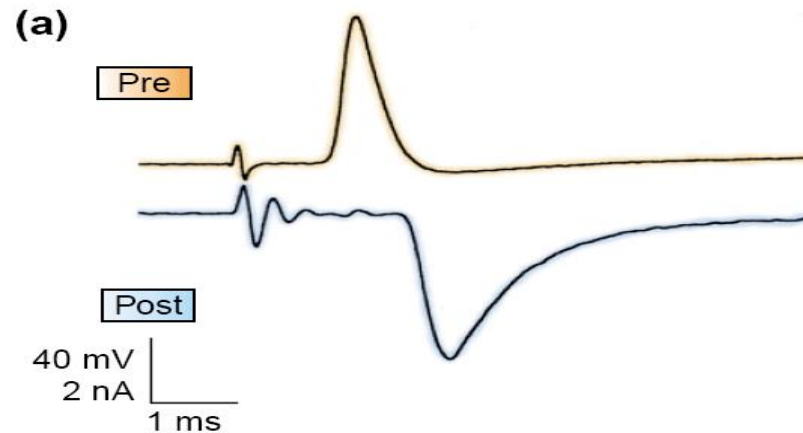


Estimation of quantal parameters at the « Calyx of Held » synapse

$$\text{EPSC} = NPrq$$

Or

$$\text{EPSC} = nPrq$$



Schneggenburger 2002

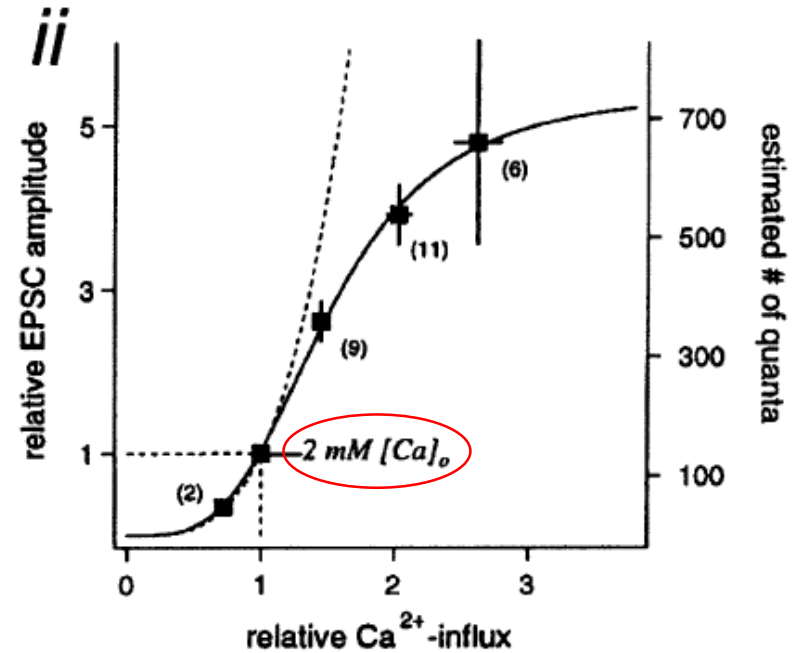
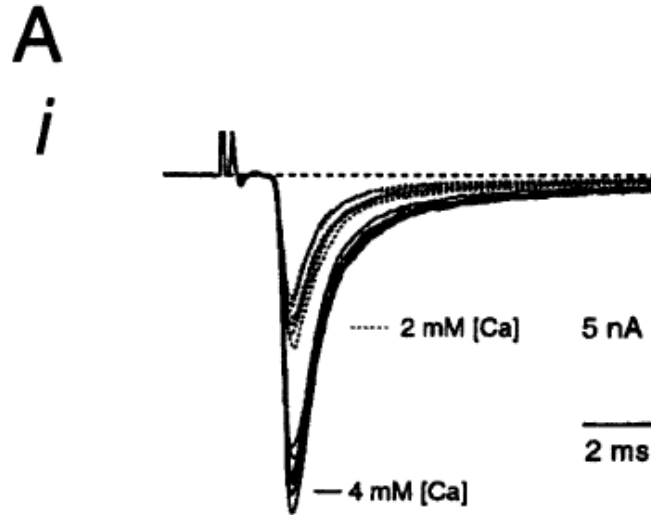
Q1) Quelles méthodes peuvent être utilisées pour déterminer la taille quantique "q" ?

Q2) Quel est le contenu quantique "m" (nombre de vésicules) pour un EPSC de 5 nA avec une taille quantique de 35 pA ?

Q3) Et si l'on estime à 600 le nombre de "zones actives" au « Calyx of held synapse », quelle est la probabilité ?

Estimation des paramètres quantiques au niveau de la synapse "Caylx of Held" :
 quelle est la taille de la « ready releasable pool » des vésicules ?

$$\text{EPSC} = nPrq$$



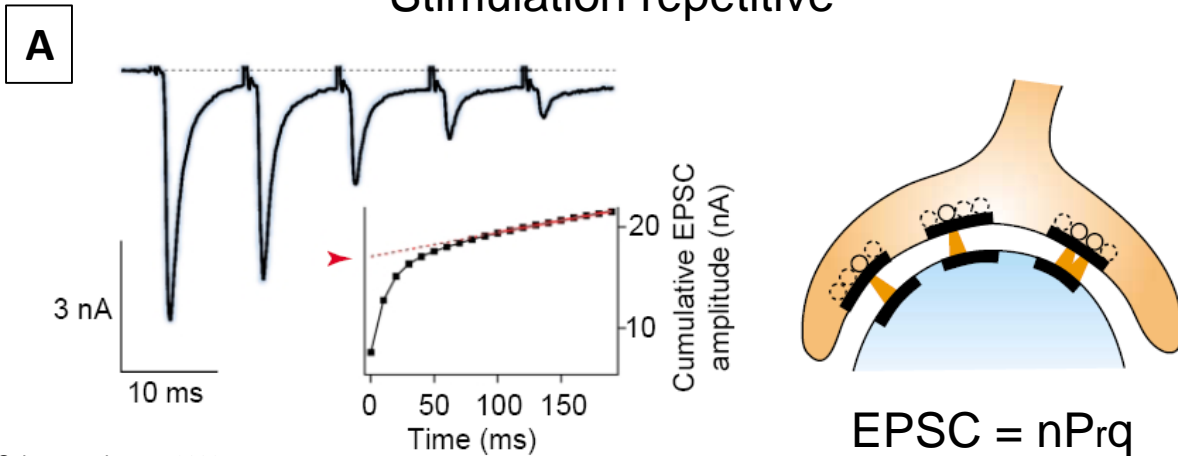
The relation of EPSC amplitude normalized to the
 influx of calcium (fit with a Hill fonction)

Q4) D'après le graphique ii, quel sera le nombre de vésicules (nombre de quanta) disponibles pour la fusion dans la terminaison présynaptique (The pool of « ready releasable vesicles ») ?

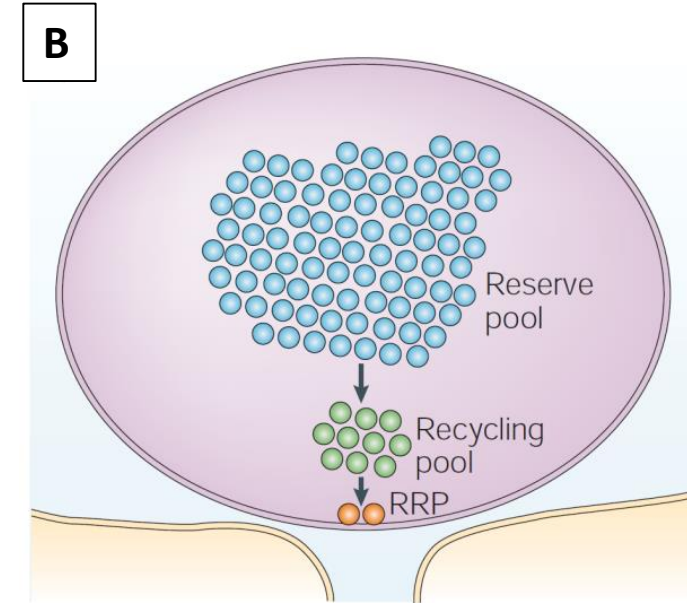
Q5) Estimez la probabilité "Pr" pour une concentration externe de calcium de 2 mM.

Estimation de paramètres quantiques à la synapse 'Calyx of Held' : quel est la taille du « ready releasable pool »?

Stimulation répétitive



Répétitive stimulation (100 Hz)



Schneggenburger 2002

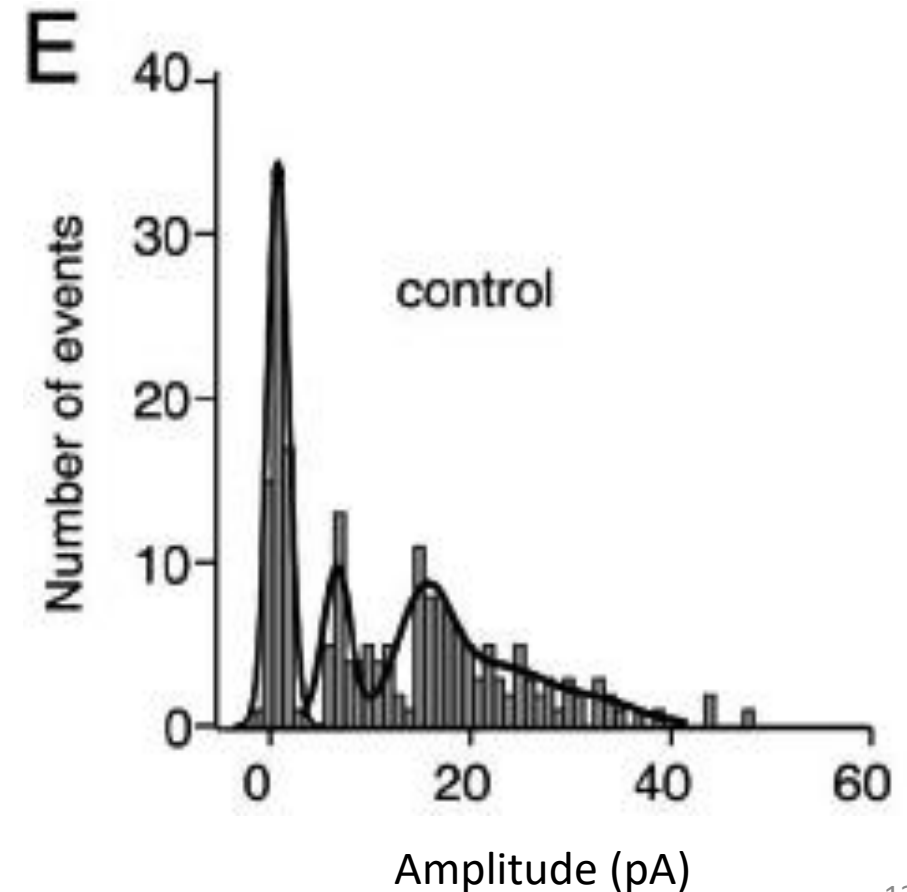
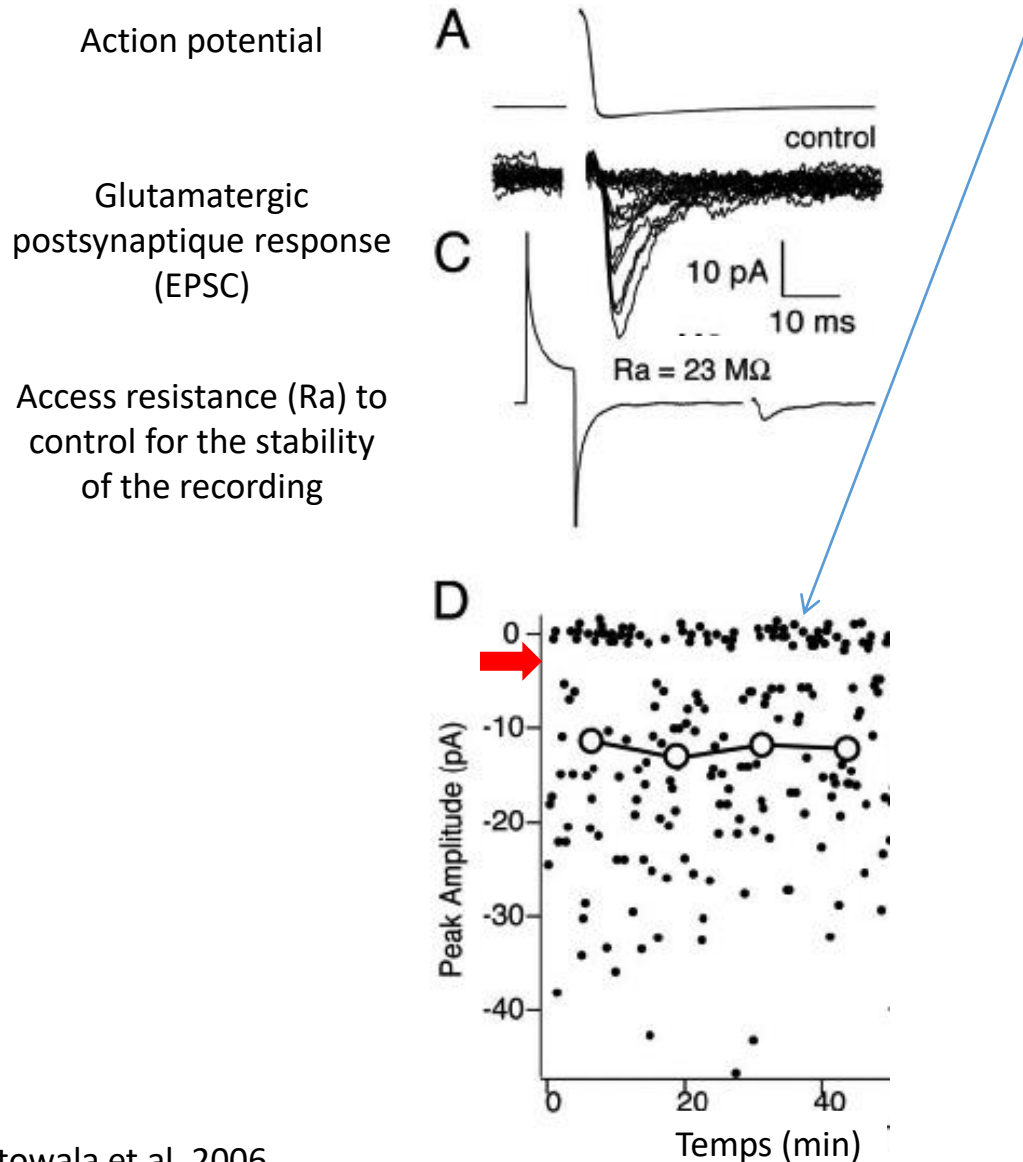
Synaptic Depression Assumption: During repetitive stimulation at high frequency (100Hz) the amplitude of the responses depress during the first 4-5 stimuli before reaching a stable depressed amplitude. The assumption is that this stable state indicates the rate at which vesicles in the recycling pool (figure b, green) may be mobilized and transported to the presynaptic active zone membrane where they will effectively “recharge” RRP (the readily releasable pool, orange). The synaptic responses to 100 Hz stimulation are plotted vs. time as “cumulative amplitude”, i.e. the amplitude of each event is added to the previous event (A, inset). The slope of the stable amplitude events in the “cumulative amplitude” plot may then be used to back extrapolate to time $t=0$ (red dotted line in “a”) and estimate the RRP (red arrow in “a”).

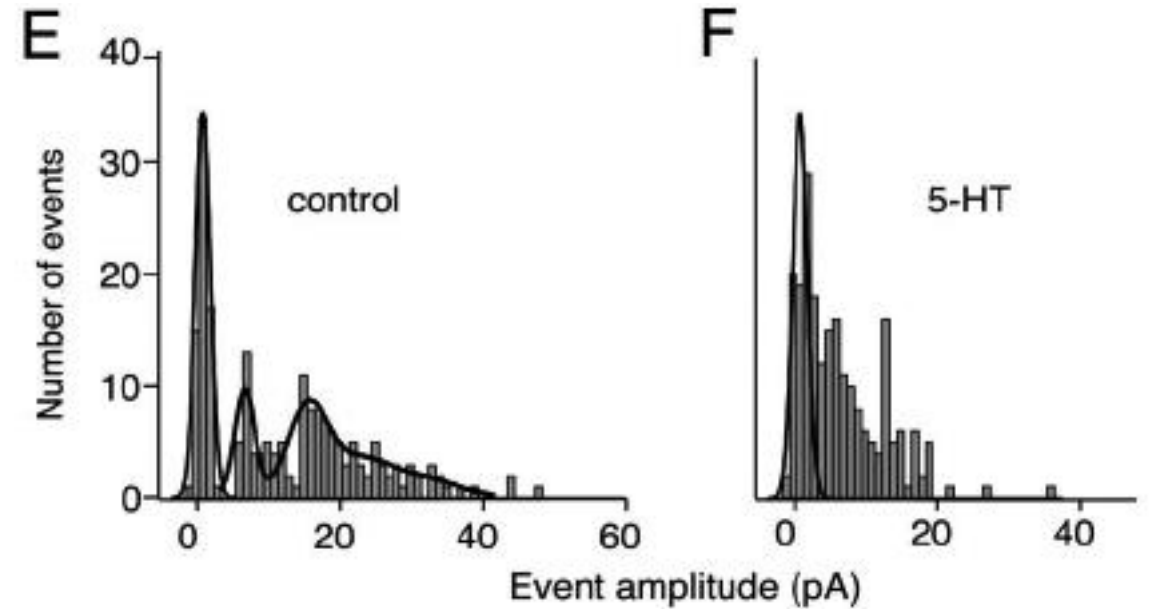
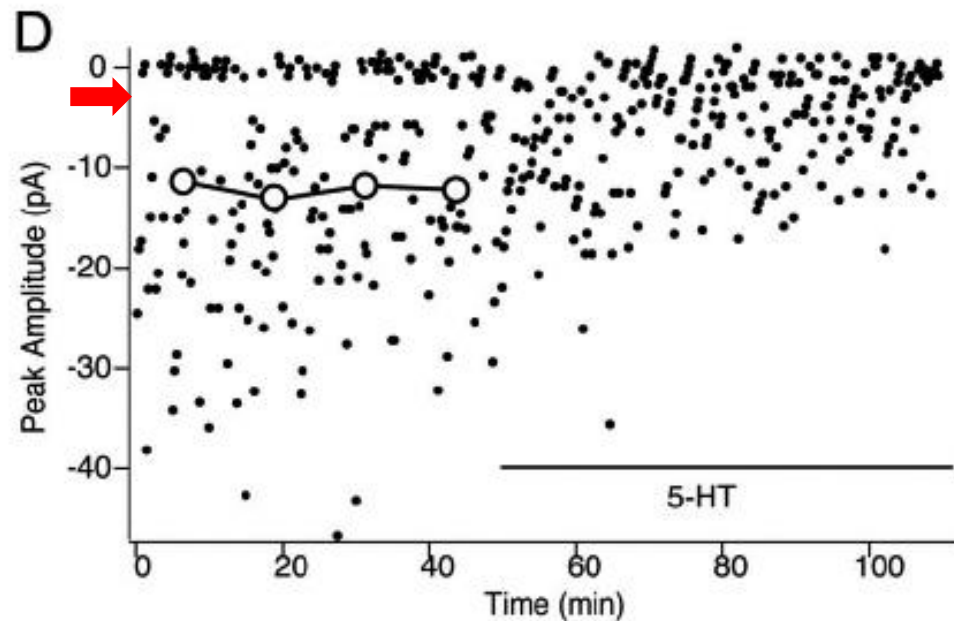
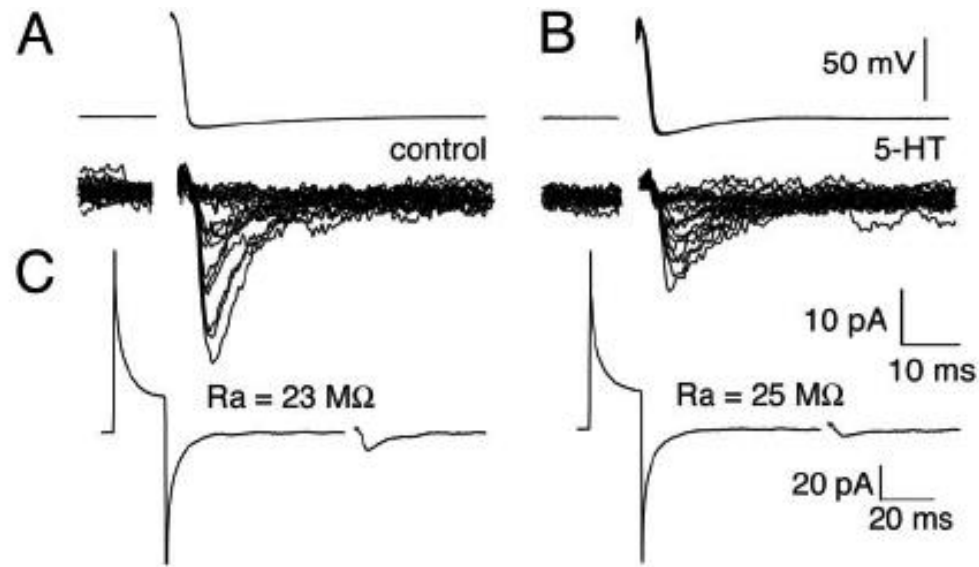
- En utilisant cette technique, la réponse d'amplitude cumulative pour toutes les vésicules dans le RRP est estimée à ~ 17 nA
- En mesurant les mEPSCs la taille du quantum "q" a été estimée à 35 pA
- **Q6) Indiquez le nombre de vésicules dans le RRP.**
 - *Note : cette technique suppose que les réponses postsynaptiques au neurotransmetteur libéré sont stables.

Lecture d'un histogramme d'amplitude d'un événement synaptique

Q7) Que représentent les points de données indiquant des ESPC de 0 mV ?

Q8) Sur l'histogramme, interprétez les pics près de 8 pA et 16 pA selon la théorie quantique de la transmission synaptique.



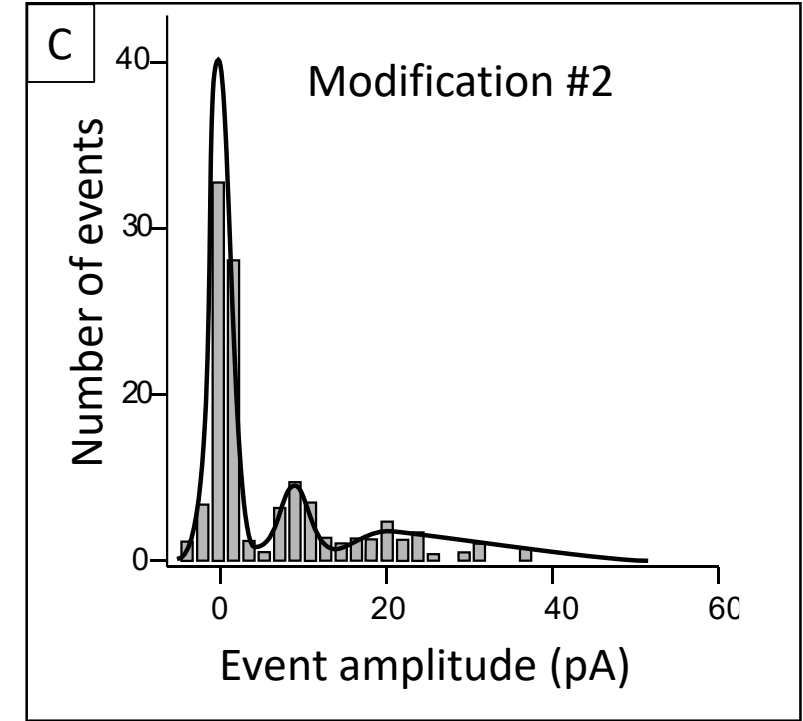
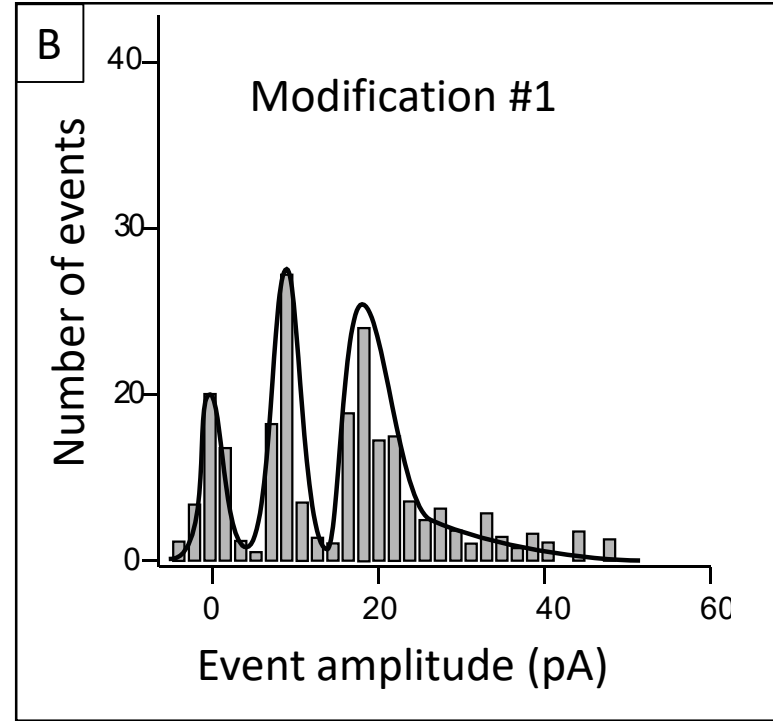
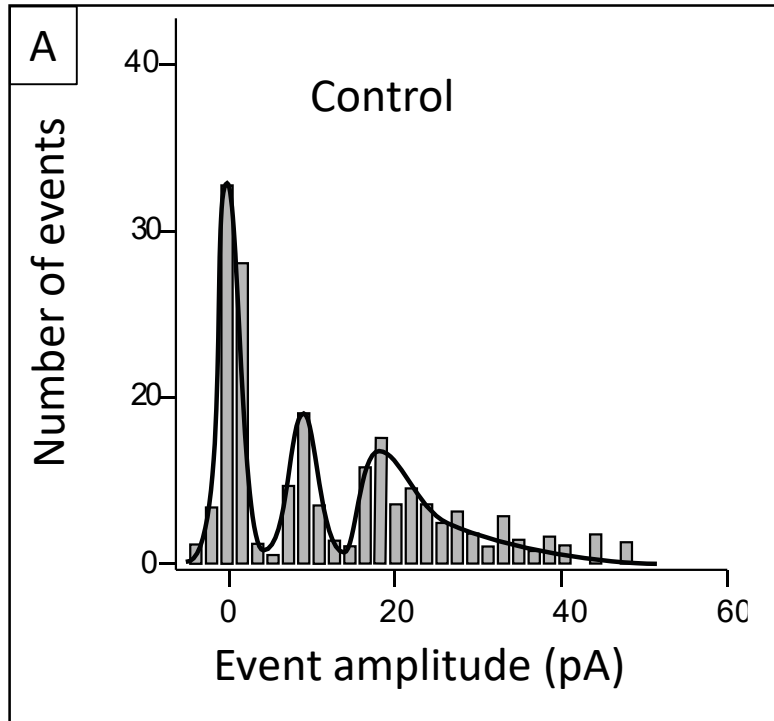


Q9) Quel est l'effet de la 5-HT sur la réponse postsynaptique glutamatergique ?

Q10) Donnez l'équation qui peut être utilisée pour décrire les différents paramètres de la transmission synaptique.

Q11) Selon la théorie quantique de la transmission synaptique, une modification de quelle(s) variable(s) pourrait expliquer l'effet de la 5-HT ?

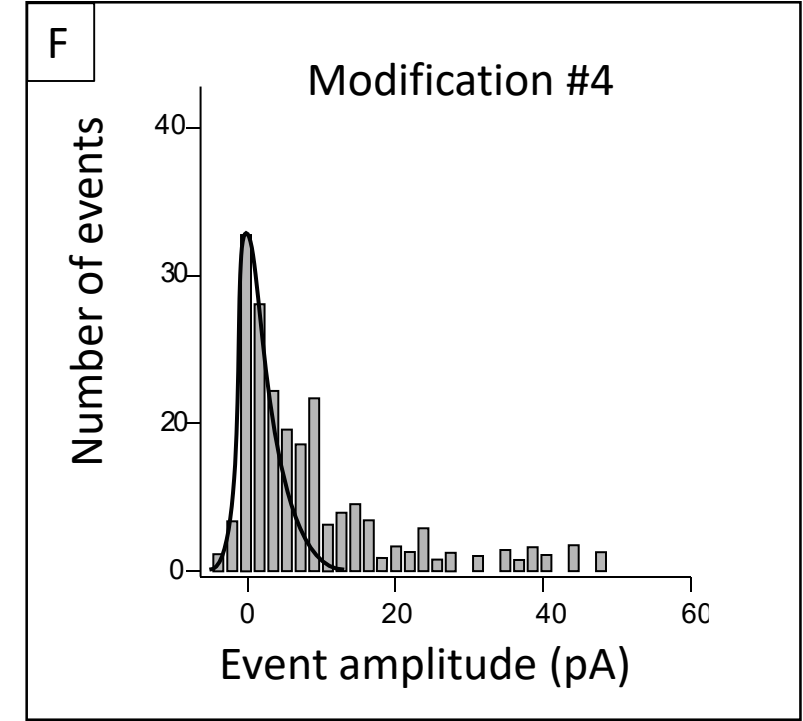
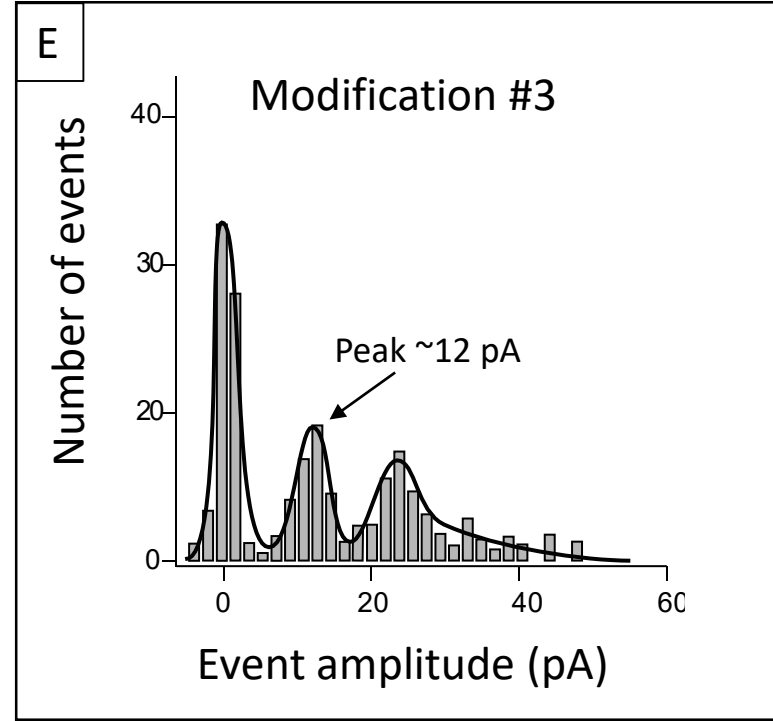
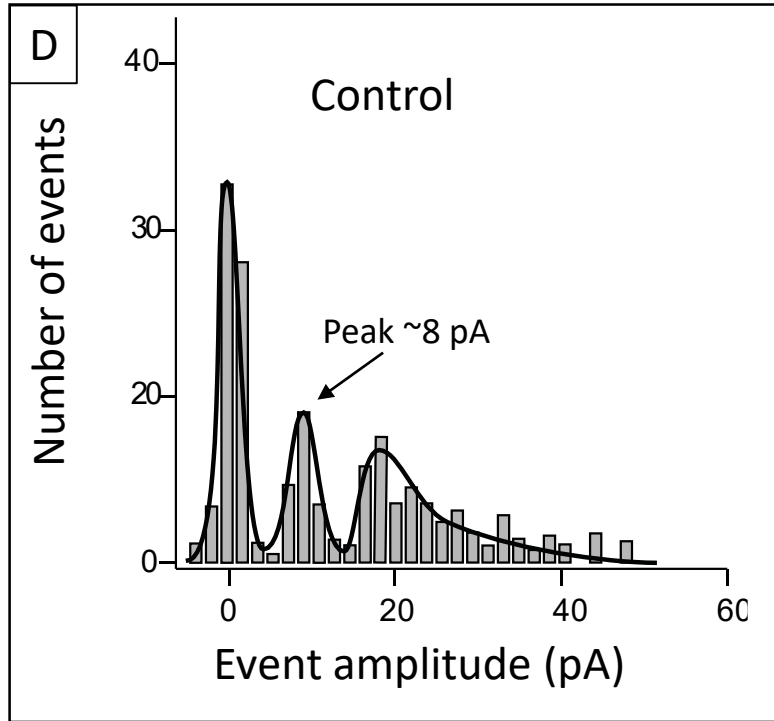
Interprétation d'une modification d'un histogramme de distribution d'amplitude selon la théorie quantique de la transmission synaptique.



Q12) Décrivez les changements dans la distribution de l'amplitude des événements synaptiques (EPSCs) pour les figures B et C par rapport au contrôle ?

Q13) Quelles variables quantiques ont pu être modifiées ?

Interprétation d'une modification d'un histogramme de distribution d'amplitude selon la théorie quantique de la transmission synaptique.



Q14) Décrivez les changements dans la distribution de l'amplitude des événements synaptiques (EPSCs) pour les figures B et C par rapport au contrôle ?

Q15) Quelles variables quantiques ont pu être modifiées ?

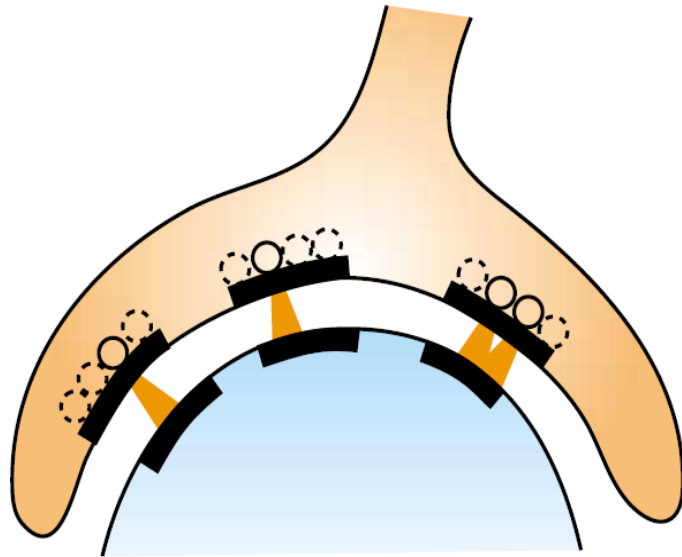
Résumé:

La transmission synaptique: la théorie quantique:

- les courants synaptiques:
 - $EPSC = q \times Pr \times N$
 - Contenu quantique = $m = EPSC / q$
- Lire un histogramme des courants synaptique
- Estimation de N

L'analyse quantique pourrait être utilisée pour déterminer le paramètre modulé suite à un changement d'efficacité synaptique site

$$EPSC = nPrq$$



Schneggenburger 2002

Class of mechanism	Site of action	Parameter
(a) Decreased presynaptic Ca²⁺ influx Caused by: – changes in AP waveform – other mechanisms of decrease in I _{Ca}	Presynaptic	<i>p</i>
(b) Fewer release-competent vesicles Caused by: – depletion of high- <i>p</i> vesicles in a heterogenous pool – <i>a posteriori</i> decrease in <i>p</i> of remaining vesicles	Presynaptic	<i>p/N</i>
(c) Smaller postsynaptic quantal size Caused by: – desensitization and/or saturation of postsynaptic receptor channels	Postsynaptic	<i>q</i>

TRENDS in Neurosciences

Assomptions:

Les vésicules ont une taille similaires et relâchent la même quantité de NT avec la même cinétique

Les vésicules ont toutes le même Pr

Les récepteurs postsynaptiques ne sont pas saturés

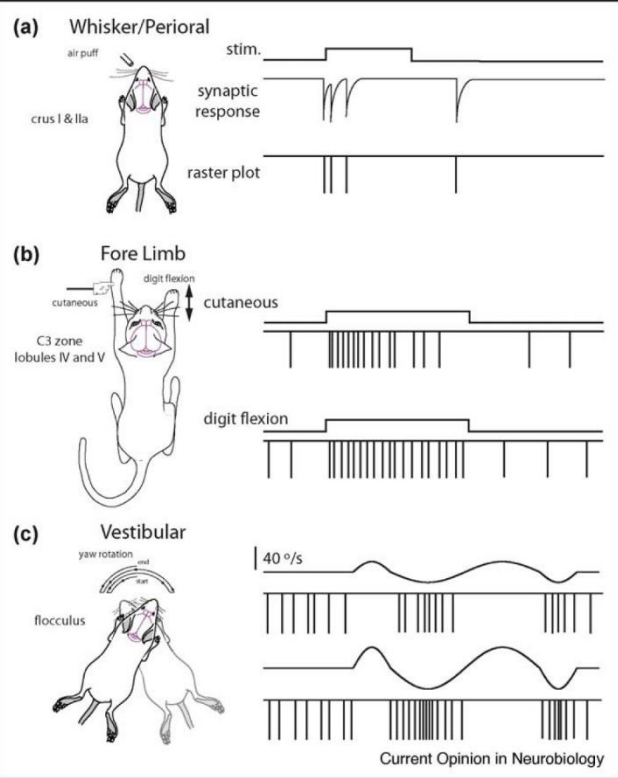
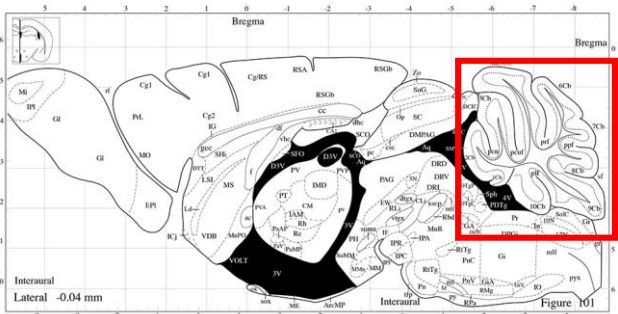
Il n'y a pas d'artefact dans l'enregistrement électrophysiologique

Le contexte temporel de la synapse:
Les réponses synaptiques sont dynamiques et plastiques

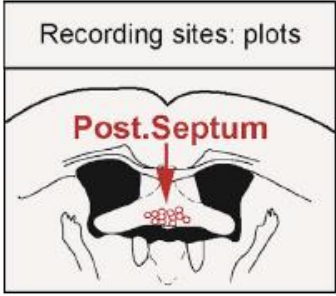
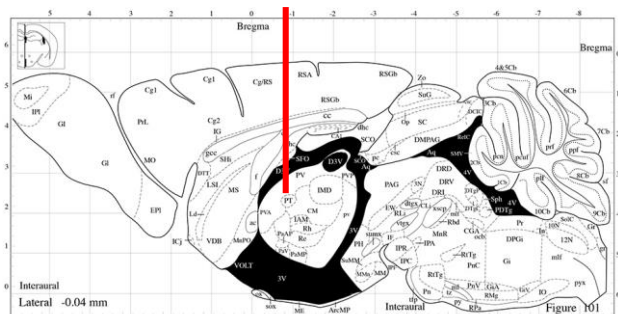
Quelles sont les propriétés de la transmission synaptique pendant les régimes physiologiques d'activité ?

Les enregistrements *en vivo* révèlent une large gamme de fréquence d'activité des neurones

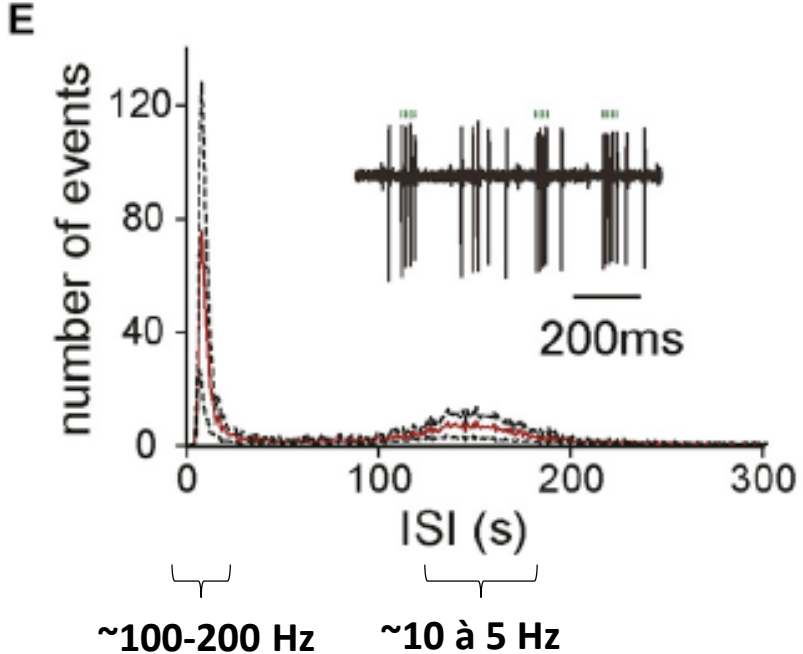
Activité des fibres moussues du cervelet *en vivo*



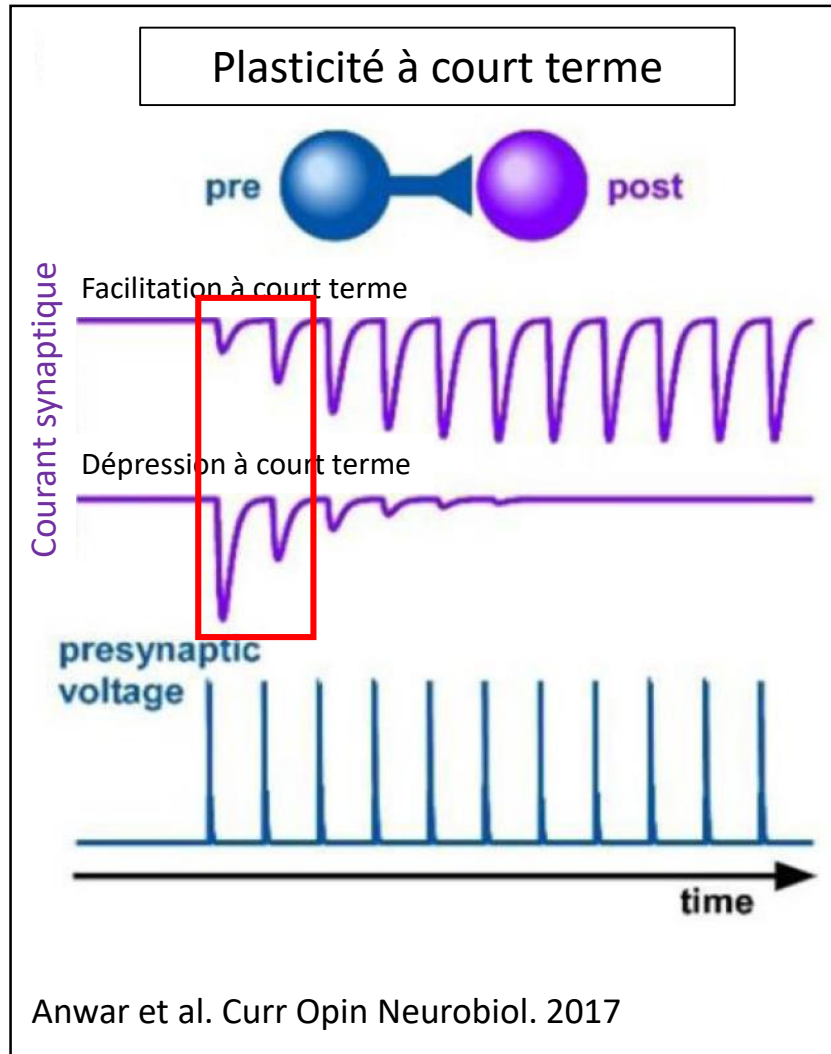
Activité spontanée des neurones du septum médial *en vivo*



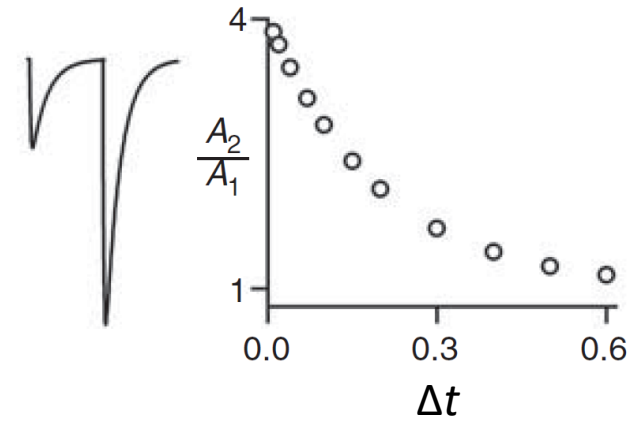
Otsu et al. 2018. Cell Reports.



Transmission synaptique pendant une activité répétitive

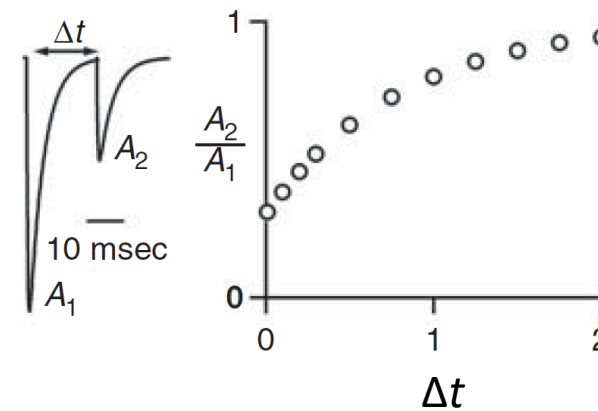


Paired Pulse Facilitation (PPF)

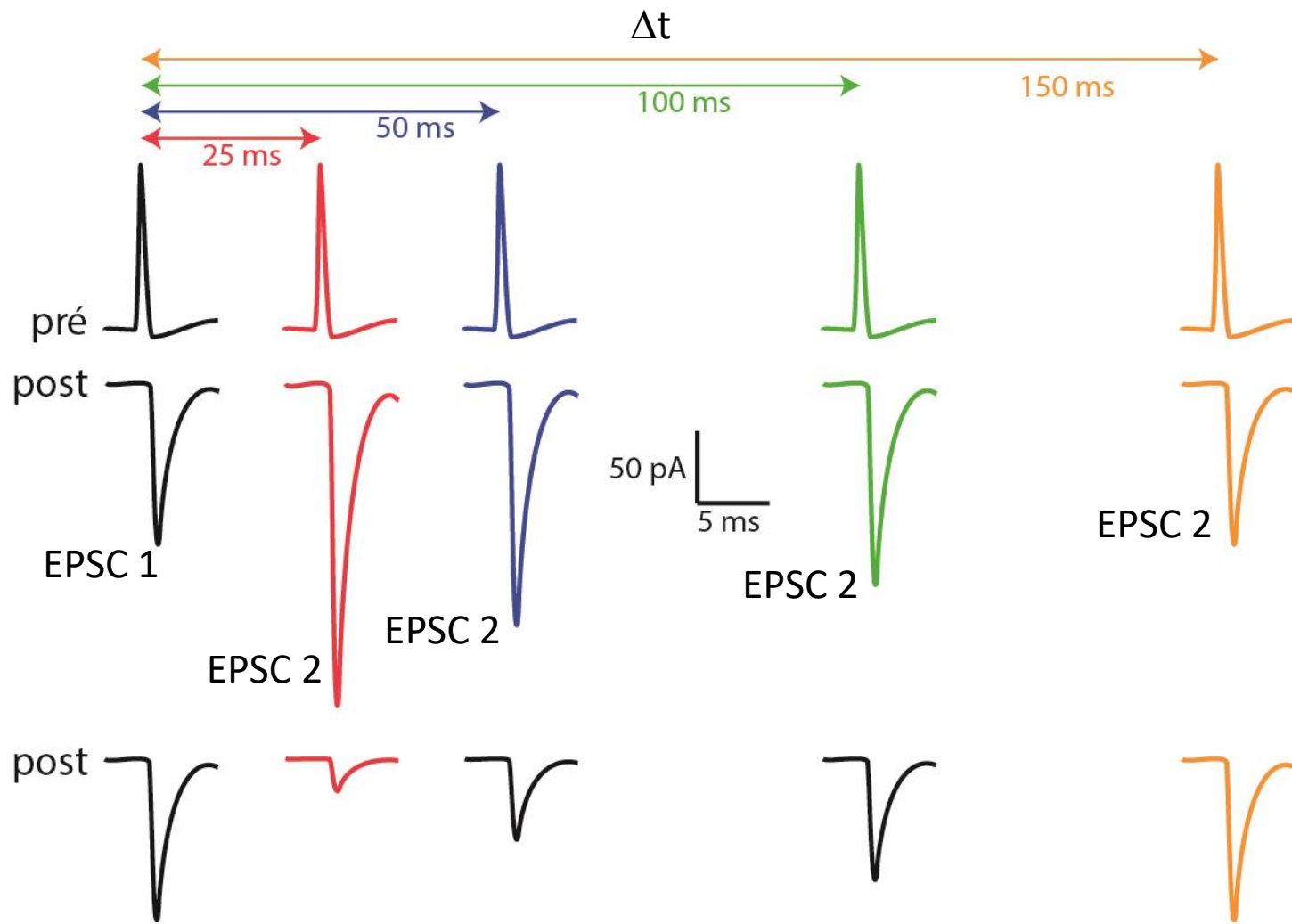


A_1 = Amplitude EPSC1
 A_2 = Amplitude EPSC2

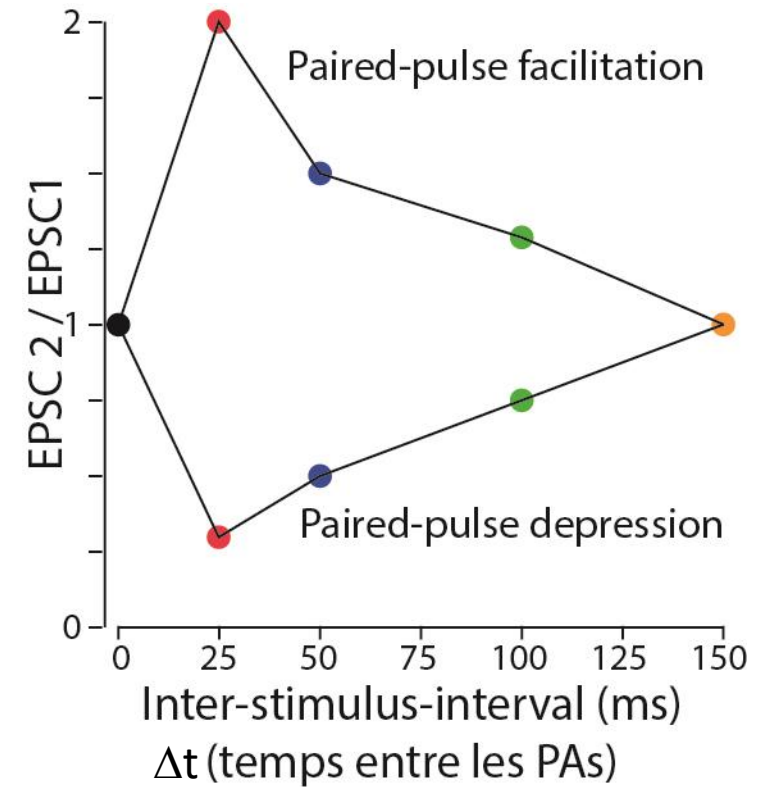
Paired Pulse Dépression (PPD)



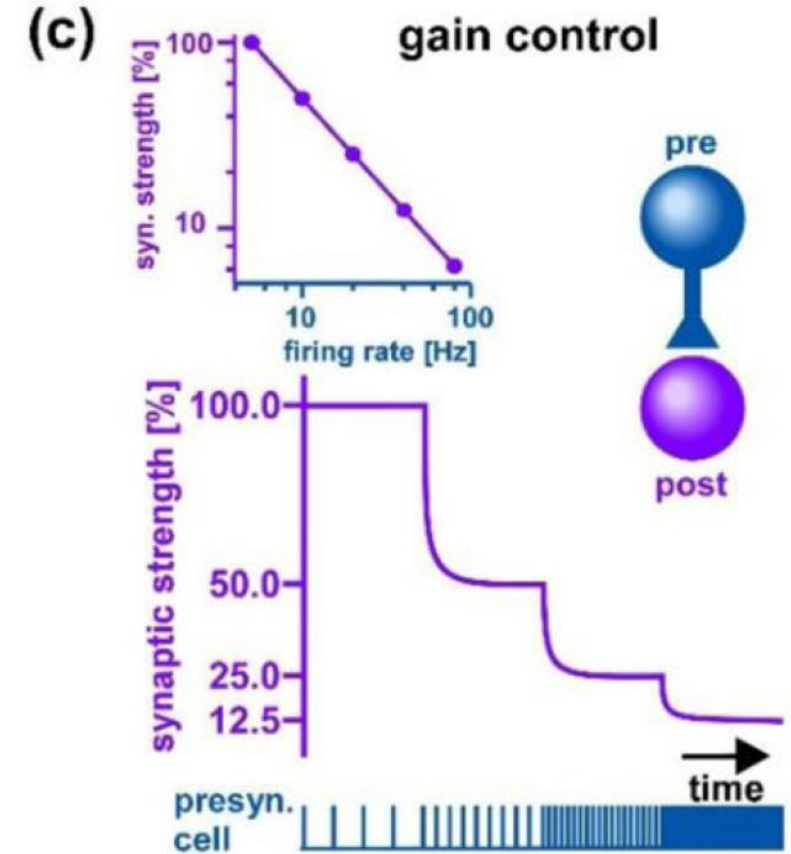
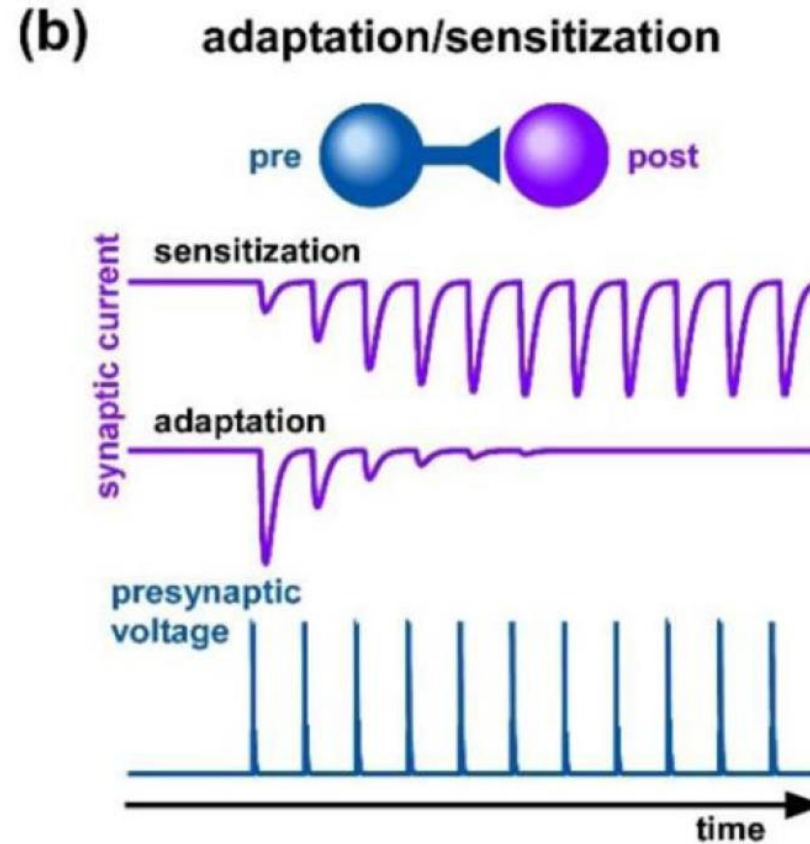
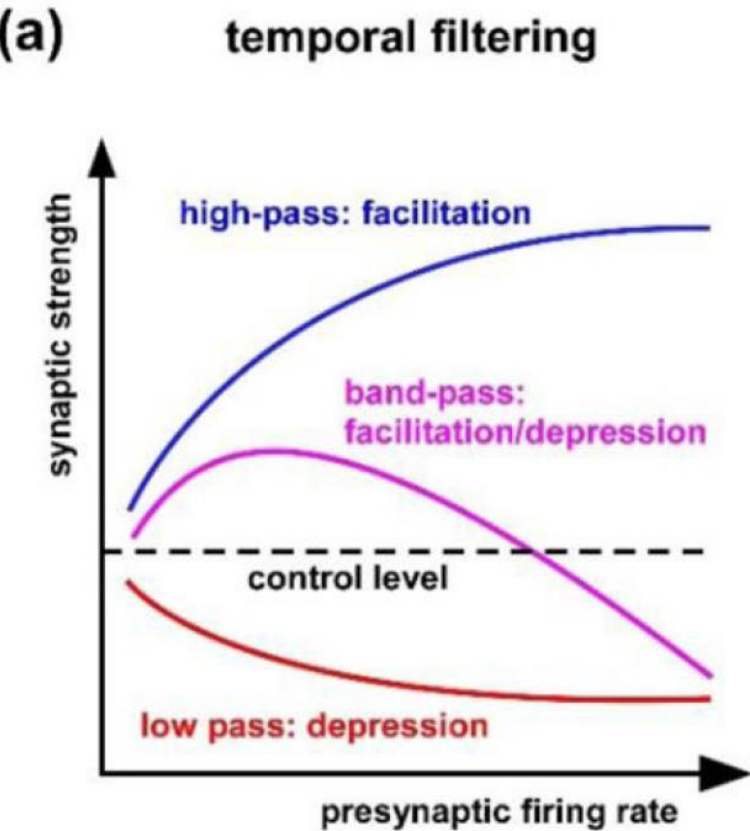
Le magnitude de le plasticité synaptique à court terme (STP) dépend de l'intervalle entre les stimuli



Paired-Pulse Facilitation (PPF)
Paired-Pulse Depression (PPD)



Quelles sont les implications de la plasticité à court terme?

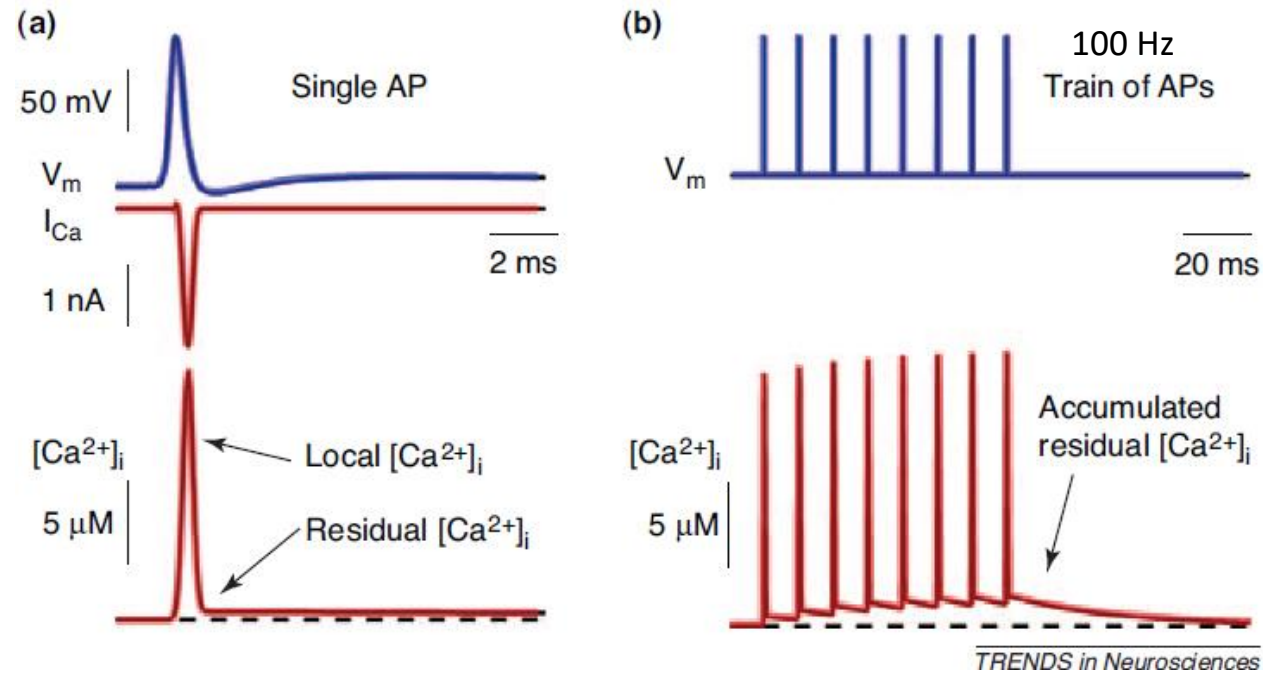


Anwar et al. Curr Opin Neurobiol. 2017

Quels mécanismes pourraient expliquer la modulation de l'amplitude des événements synaptiques au cours des différents régimes d'activité ?

Quels sont les mécanismes qui sous-tendent la STP ?

$[Ca^{2+}]_i$ dans un terminal présynaptique pendant un train d'activité de 100 Hz



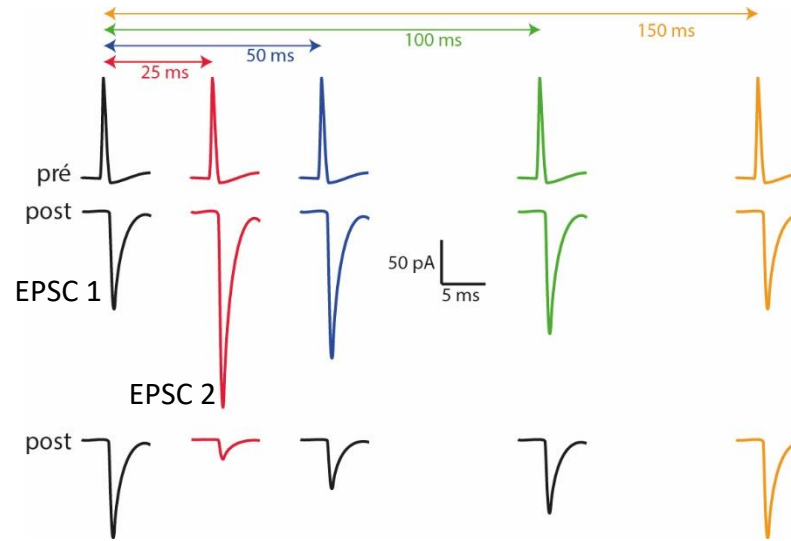
Pendant une stimulation répétitive (ici 100 Hz) on peut observer une accumulation du $[Ca^{2+}]_i$ résiduel. Donc, le régime d'activité peut influencer les dynamiques spatiales et temporelles du $[Ca^{2+}]_i$.

Quels sont les mécanismes pourraient sous-tendent la STP ?

Paried-pulse facilitation PPF

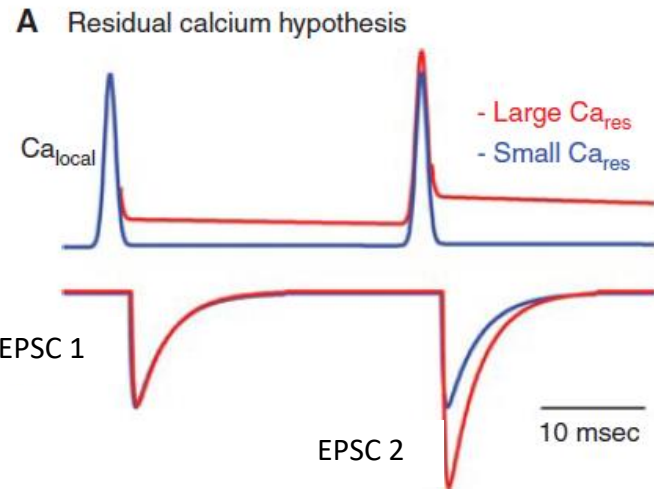
Pour une synapse avec un " Pr " initial faible :

Le 2ème stimuli avec un court délai va conduire à une accumulation de [Ca²⁺] dans la borne présynaptique (trace rouge - Ca local). L'augmentation du [Ca²⁺] peut augmenter la probabilité " Pr " de fusion pour le 2ème stimulus (EPSC 2).



$$EPSC = n Pr q$$

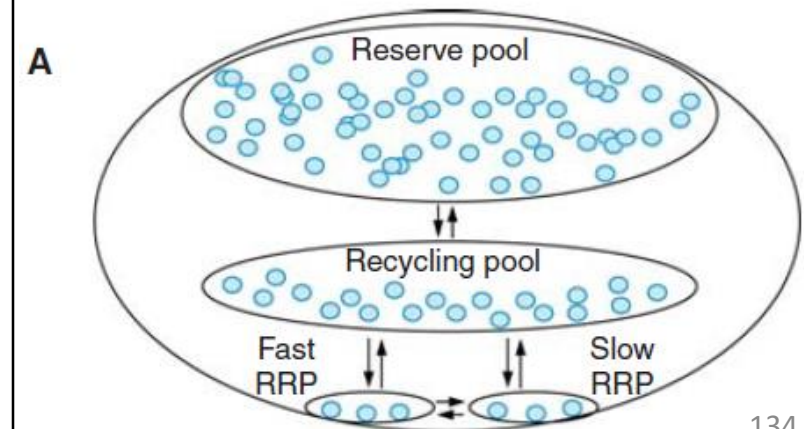
- **q** = La taille d'un quanta
- **n** = Nombre de vésicules disponibles pour fusionner dans le terminal présynaptique.
- **Pr** = Probabilité qu'une vésicule fusionne suite à la stimulation de la borne présynaptique.



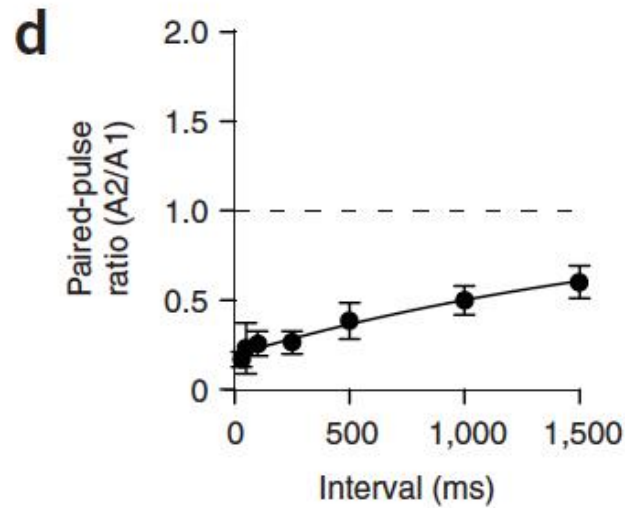
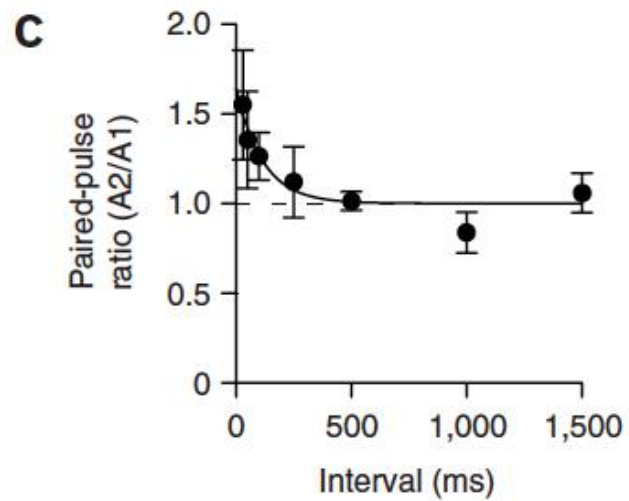
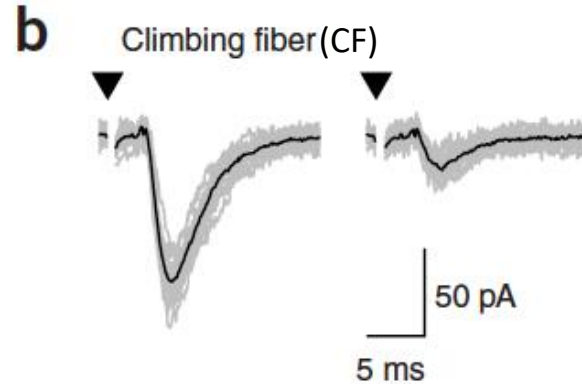
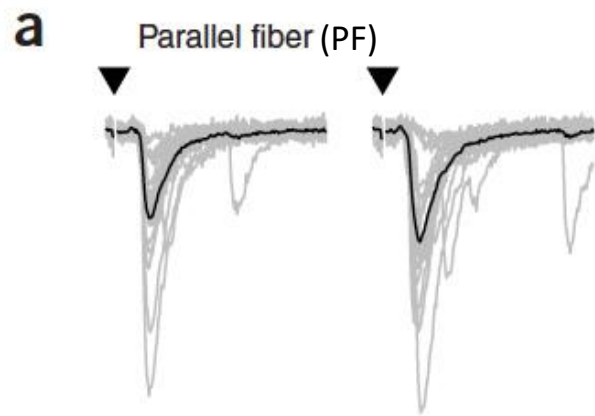
Paried-pulse depression (PPD)

Pour une synapse avec un " Pr " initial élevé :

Le premier stimulus peut épuiser de manière significative le nombre de vésicules dans le pool prêt à être libéré (PRR). Si un second stimulus arrive avec un court délai, avant que le RRP ne soit réapprovisionné par le pool de recyclage, moins de vésicules seront disponibles pour la fusion (diminution de " n ") conduisant à un second EPSC plus faible.



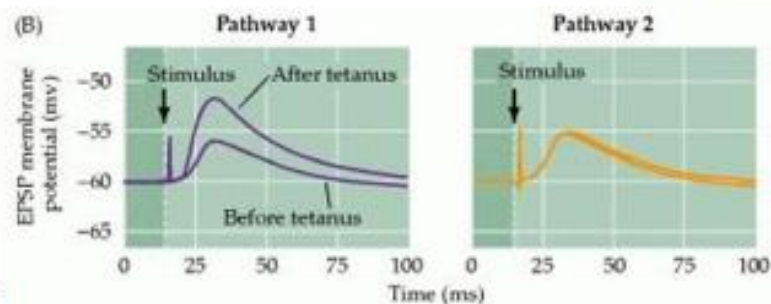
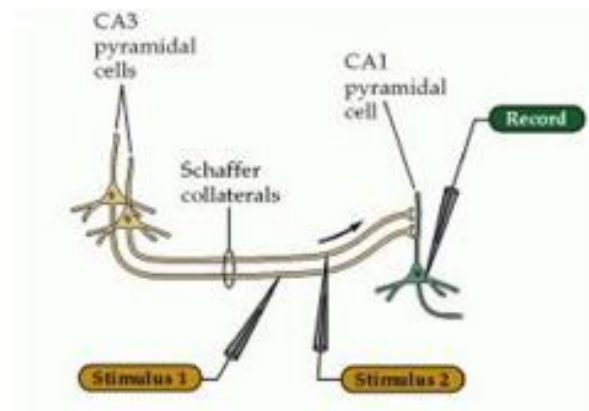
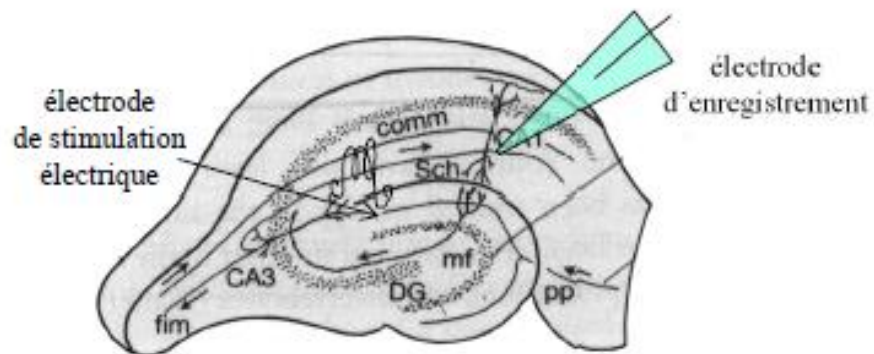
Dépression et Facilitation Synaptique



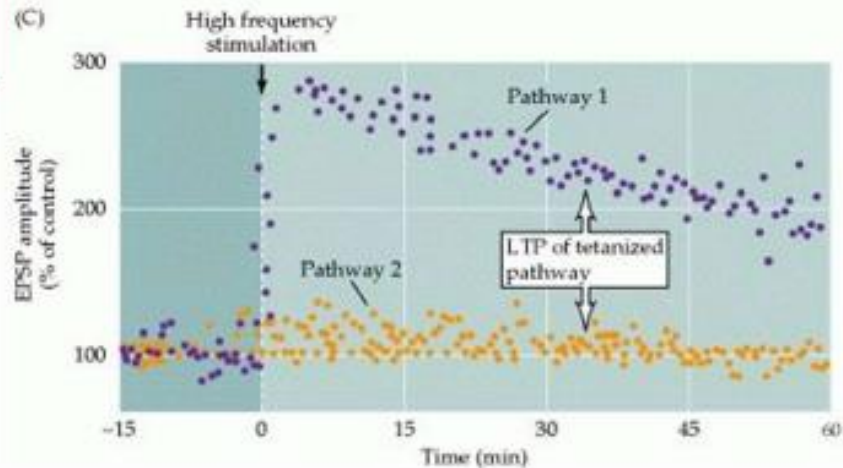
1. Identifiez la synapse avec facilitation synaptique
2. Identifiez la synapse avec dépression synaptique
3. Selon la théorie quantique de la transmission synaptique quelle(s) variable(s) pourrait expliquer la dépression et la facilitation?
4. Dans quelle synapse est le « Pr » probablement plus élevé?

Plasticité synaptique à long terme

Potentialisation à long terme (long term potentiation, LTP)



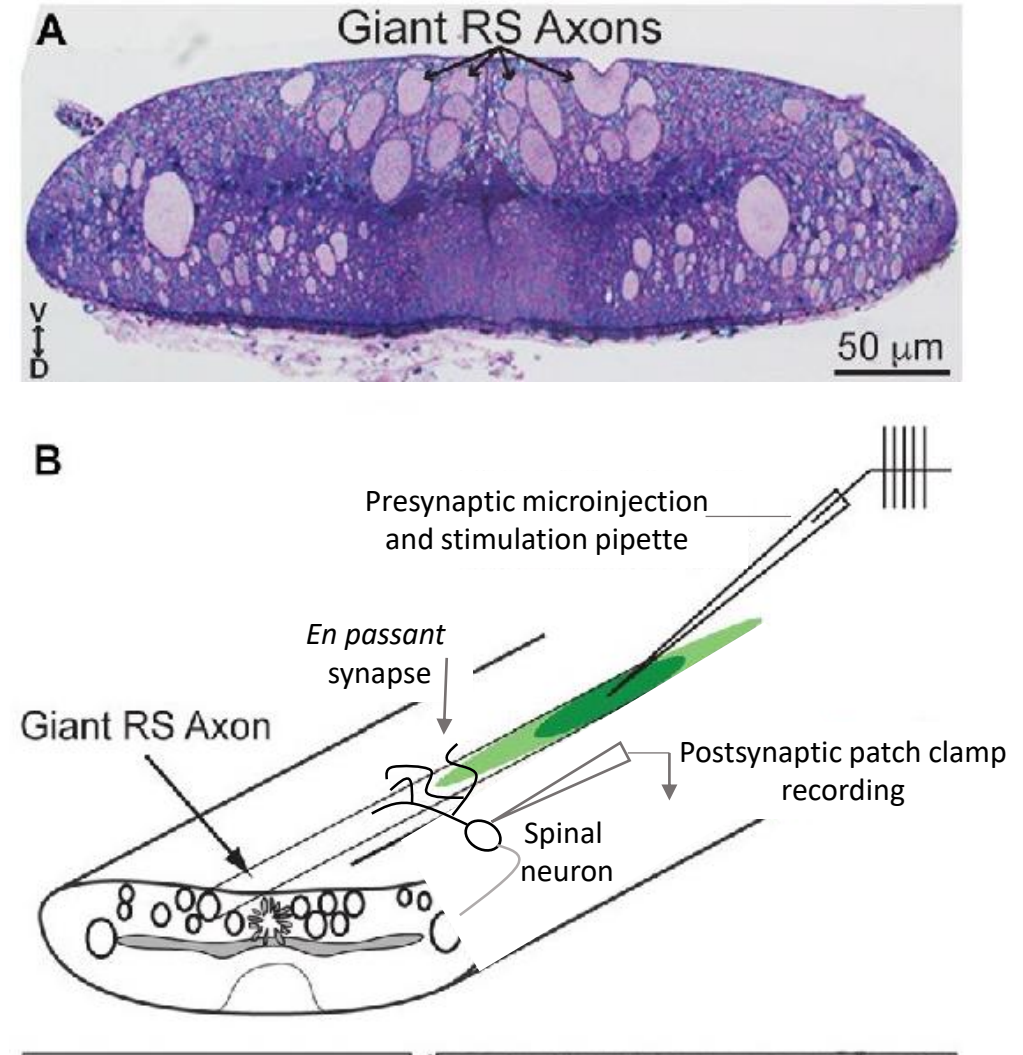
Tetanus/high frequency stimulation:
1 train @ 100Hz, 1s



Cours de Prof. Galante

Interpréter la transmission synaptique à l'aide de la théorie quantique:
la synapse réticulospinale de la lamproie

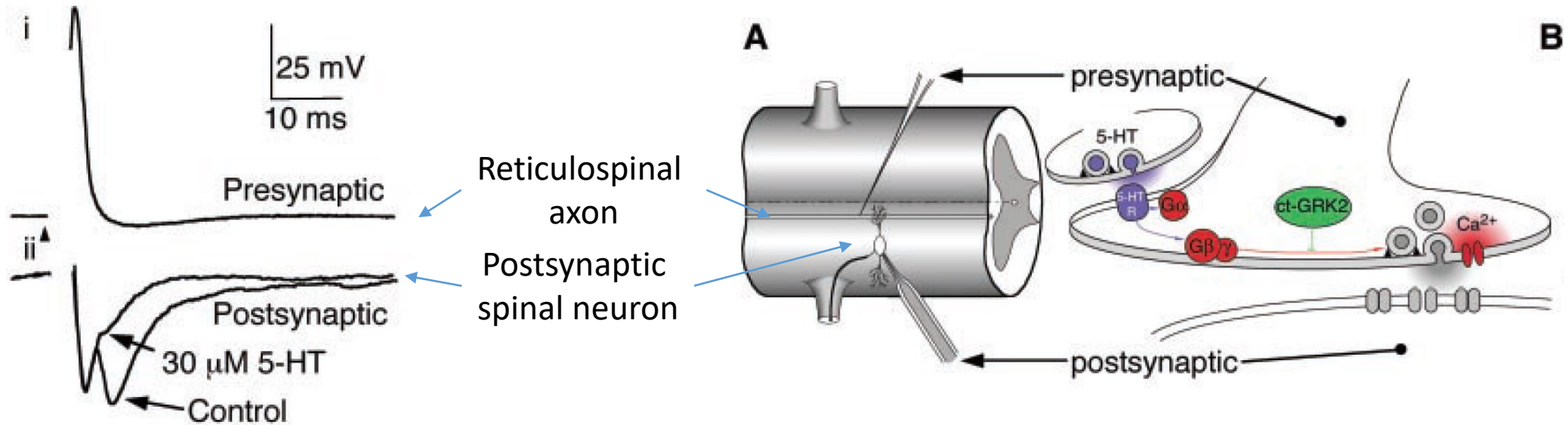
Les axones réticulospinaux géants de la lamproie ne sont pas myélinisés.



Giant unmyelinated reticulospinal axons of the lamprey hold several advantages for studying presynaptic transmission in comparison with most terminals found in higher vertebrates which are typically an order of magnitude smaller and myelinated:

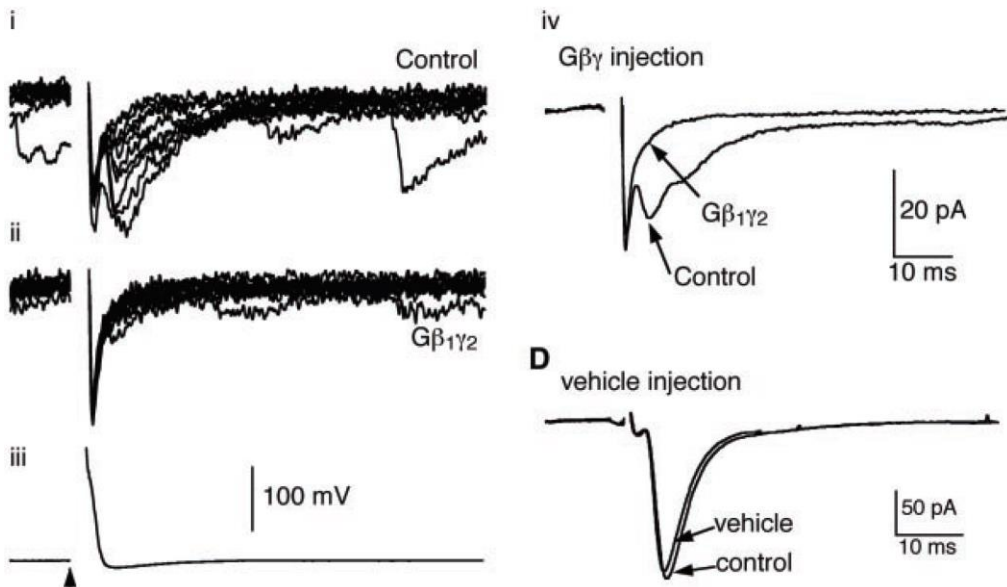
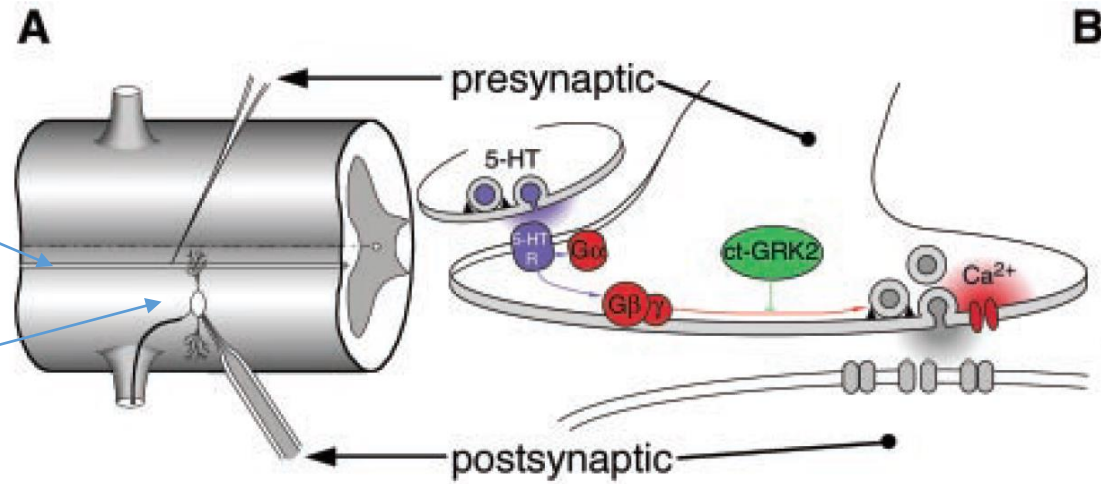
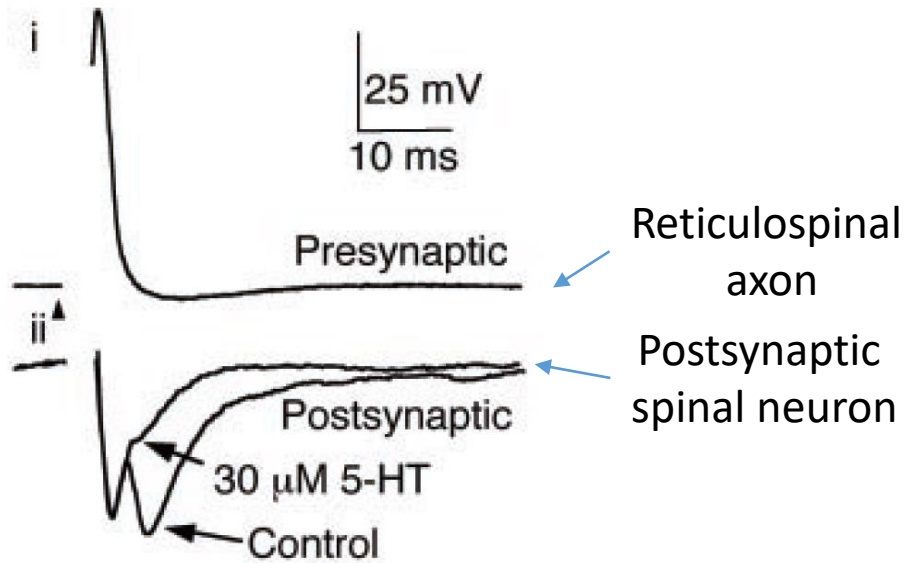
- 1) The large size and lack of myelin facilitates electrophysiological recordings of presynaptic terminals.
- 2) The lack of myelin make the tissue optically clear facilitating optical recordings (FM-dyes, calcium imaging) of the presynaptic terminals.
- 3) RS axons form *en passant* synapses with spinal motor neurons making it possible to perform paired recordings between presynaptic axons and postsynaptic spinal neurons (similar to the Caylx of Held synapse).

La 5-HT (sérotonine) inhibe la transmission au niveau des synapses réticulo-spinales de la lamproie.



Paired electrophysiological recordings are made between presynaptic reticulospinal (RS) axons and postsynaptic spinal neurons (A, left). Injection of current through the presynaptic electrode provokes an action potential (i). A biphasic postsynaptic response is recorded in the spinal neuron (ii). The initial fast invariable phase of the response is a direct electrical response mediated by gap junctions. The second variable phase of the response is due to glutamatergic synaptic transmission. Application of 30 μM 5-HT selectively inhibits the glutamatergic component of the postsynaptic response (ii).

La 5-HT (sérotonine) inhibe de façon présynaptique la transmission synaptique par la sous-unité G- $\beta\gamma$ du récepteur couplé à la protéine G.

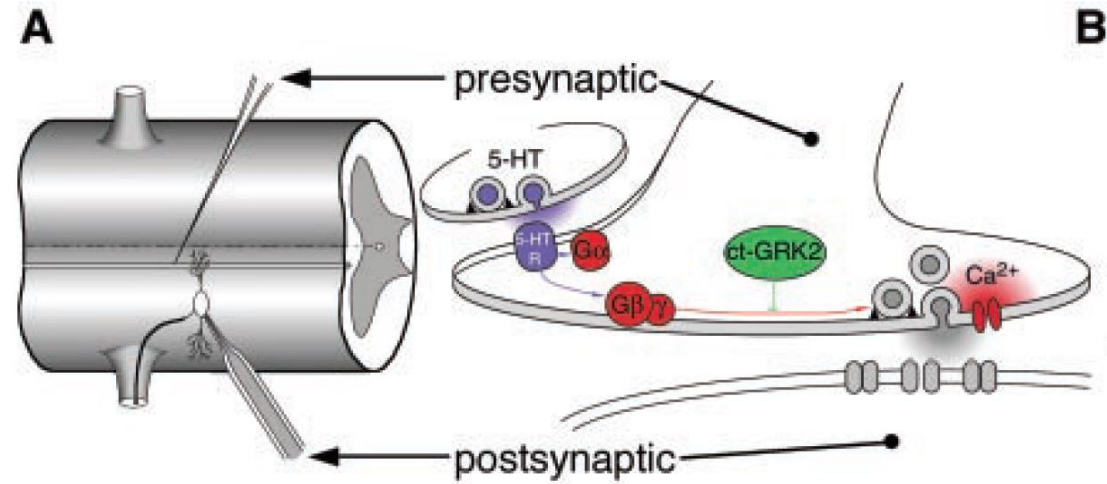
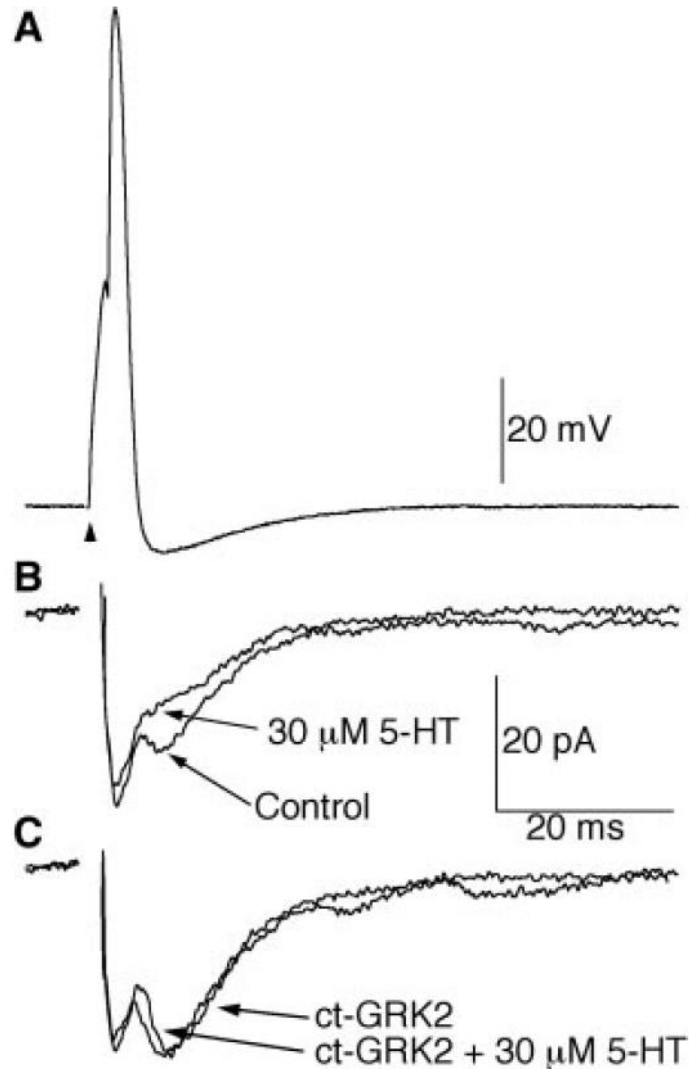


The authors hypothesize that the 5-HT receptors are localized presynaptically and that they mediate their effect on synaptic transmission via the $\beta\gamma$ arm of the g-protein receptor signaling cascade. To test their hypothesis the authors made paired recordings between presynaptic RS axons and spinal neurons before and after injecting purified $\beta\gamma$ protein in the RS axons. The results are shown in i, ii, iii, and iv. D, A control experiment in which only a physiological intracellular solution is injected into the axon.

Q19) Interpret the results.

Q20) What conclusion(s) may be drawn from this experiment?

La 5-HT (sérotonine) inhibe de façon présynaptique la transmission synaptique par la sous-unité G- $\beta\gamma$ du récepteur couplé à la protéine G.



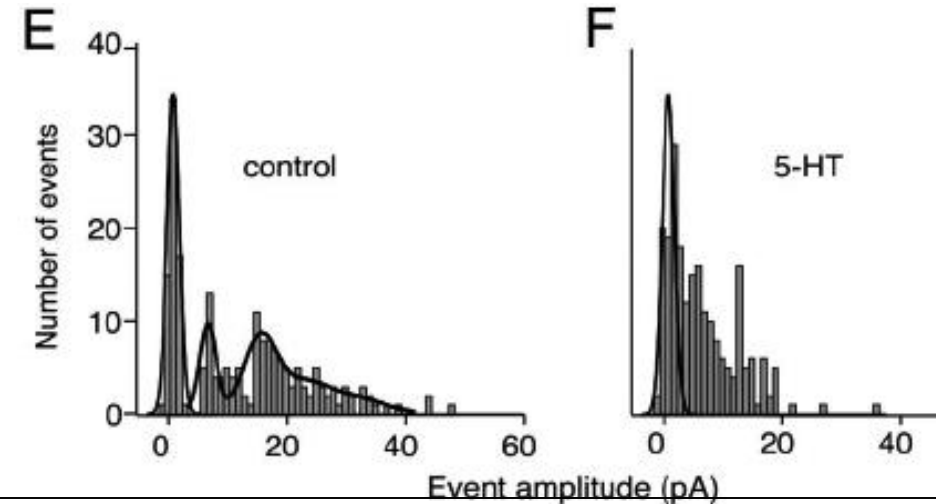
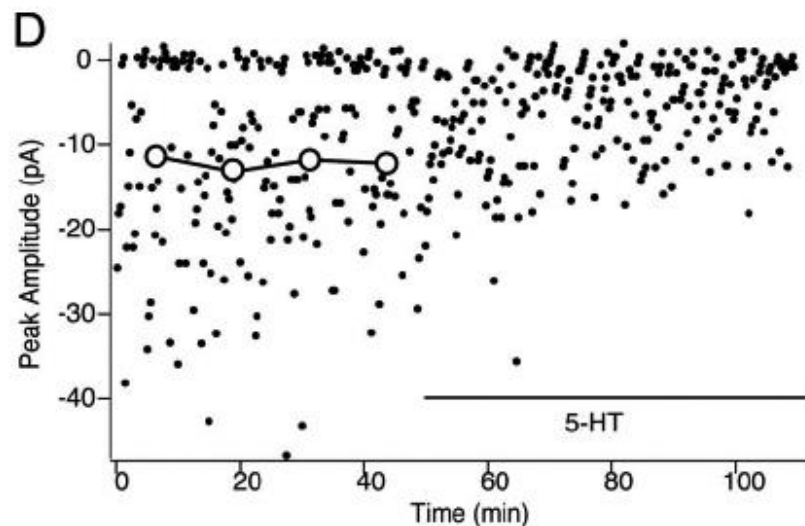
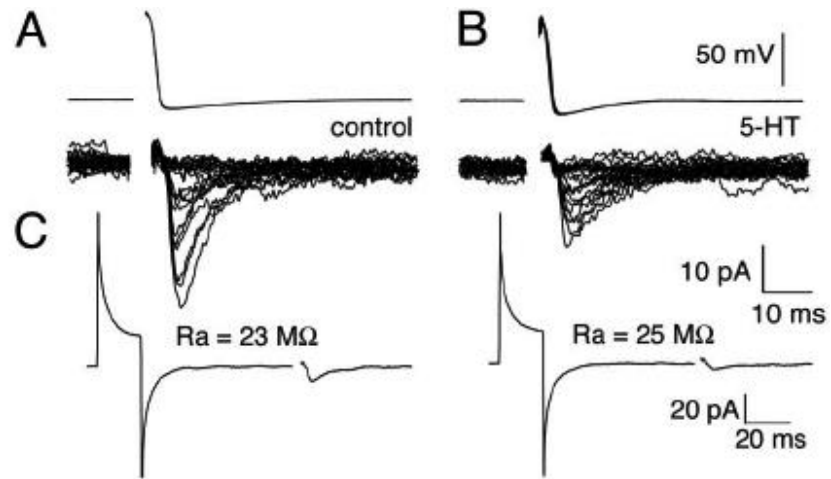
A, An action potential in the RS axon is evoked by injecting current through the presynaptic electrode. A subsequent biphasic postsynaptic response is recorded in the spinal neuron. Application of 30 μ M 5-HT inhibits the slower glutamatergic component of the response as described above. In C this experiment is repeated after injecting the protein ct-GRK2, a scavenger of g-beta-gamma that binds to and therefore inactivates the signaling activity of g-beta-gamma, into the RS axon.

Q21) Interpret the results

Q22) What conclusions may be drawn

La 5-HT inhibe la transmission synaptique au niveau des synapses RS de la lamproie

Un histogramme de l'amplitude des événements est présenté en D (la même figure que vous avez analysée précédemment). Les données ont été obtenues en enregistrant les événements synaptiques entre les axones de RS et les neurones spinaux.



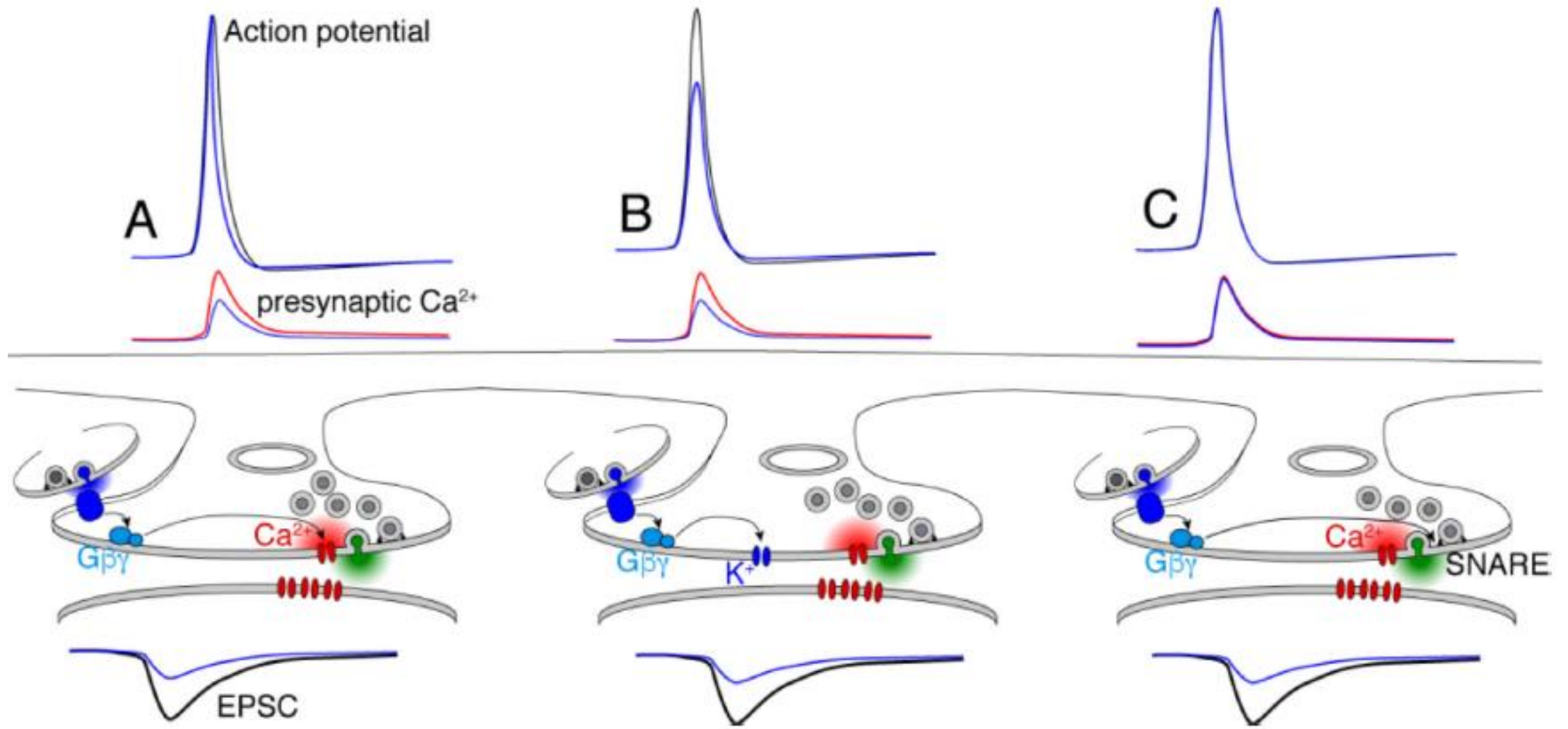
Réanalysez les données en tenant compte de ce que vous savez maintenant sur l'emplacement des récepteurs 5-HT.

Q23) Quel est l'effet de la 5-HT sur la réponse synaptique ?

Q24) Selon la théorie quantique de la transmission synaptique, une modification de quelle(s) variable(s) pourrait expliquer l'effet de la 5-HT ?

Q25) Compte tenu de l'endroit où la 5-HT agit pour inhiber la transmission synaptique, comment cela est-il possible ?

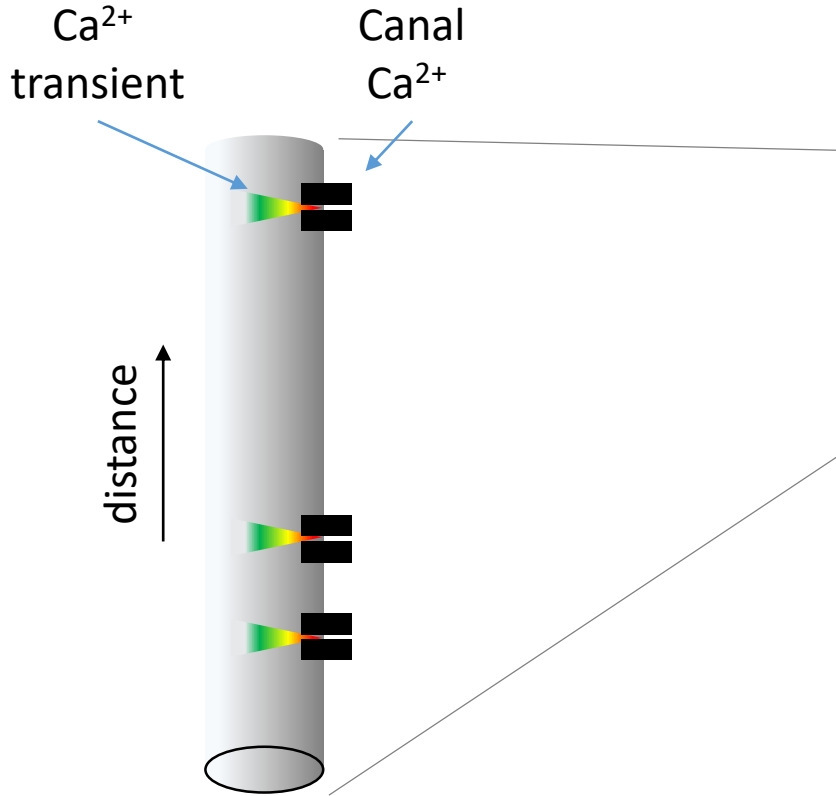
Cibles présynaptiques pour le G-protéine sous-unité beta-gamma



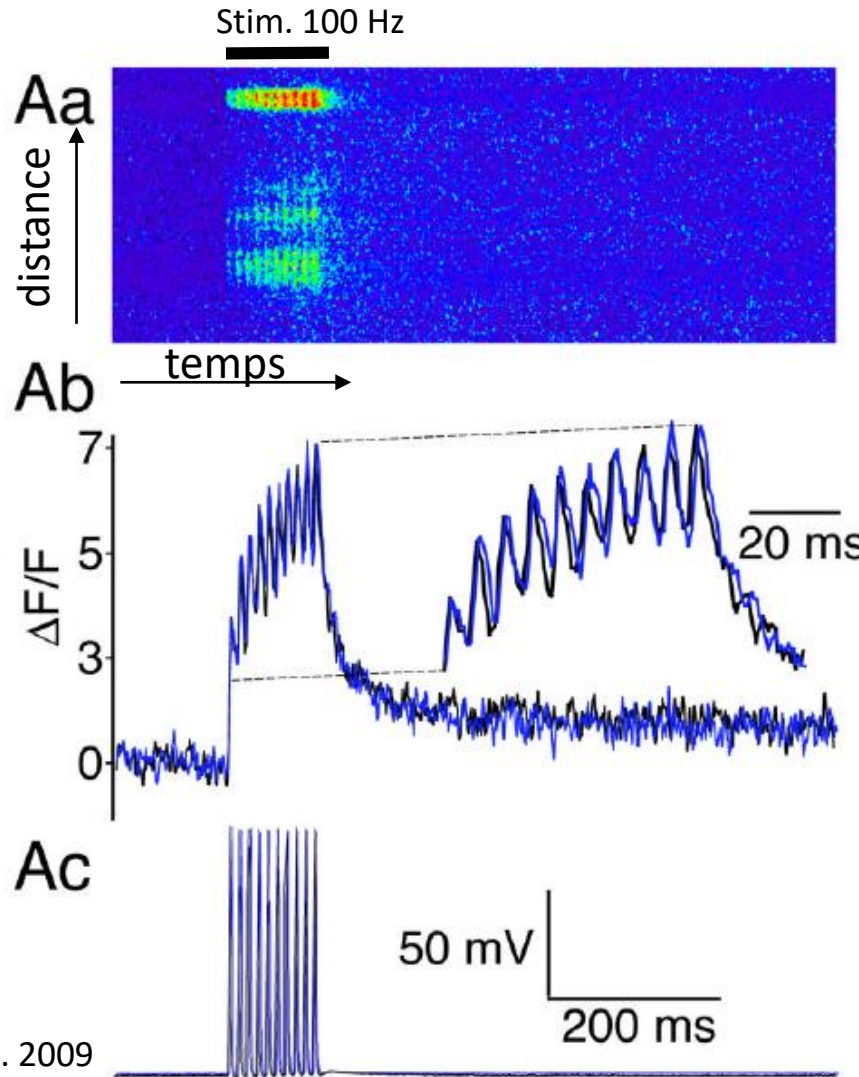
Alford et al. Neurochem Res. 2019

$[Ca^{2+}]_i$ lors d'une stimulation répétitive dans un axone géant axone réticulospinal de la lamproie

Imagerie calcique d'un axone géant du lamproie pendant stimulation physiologique



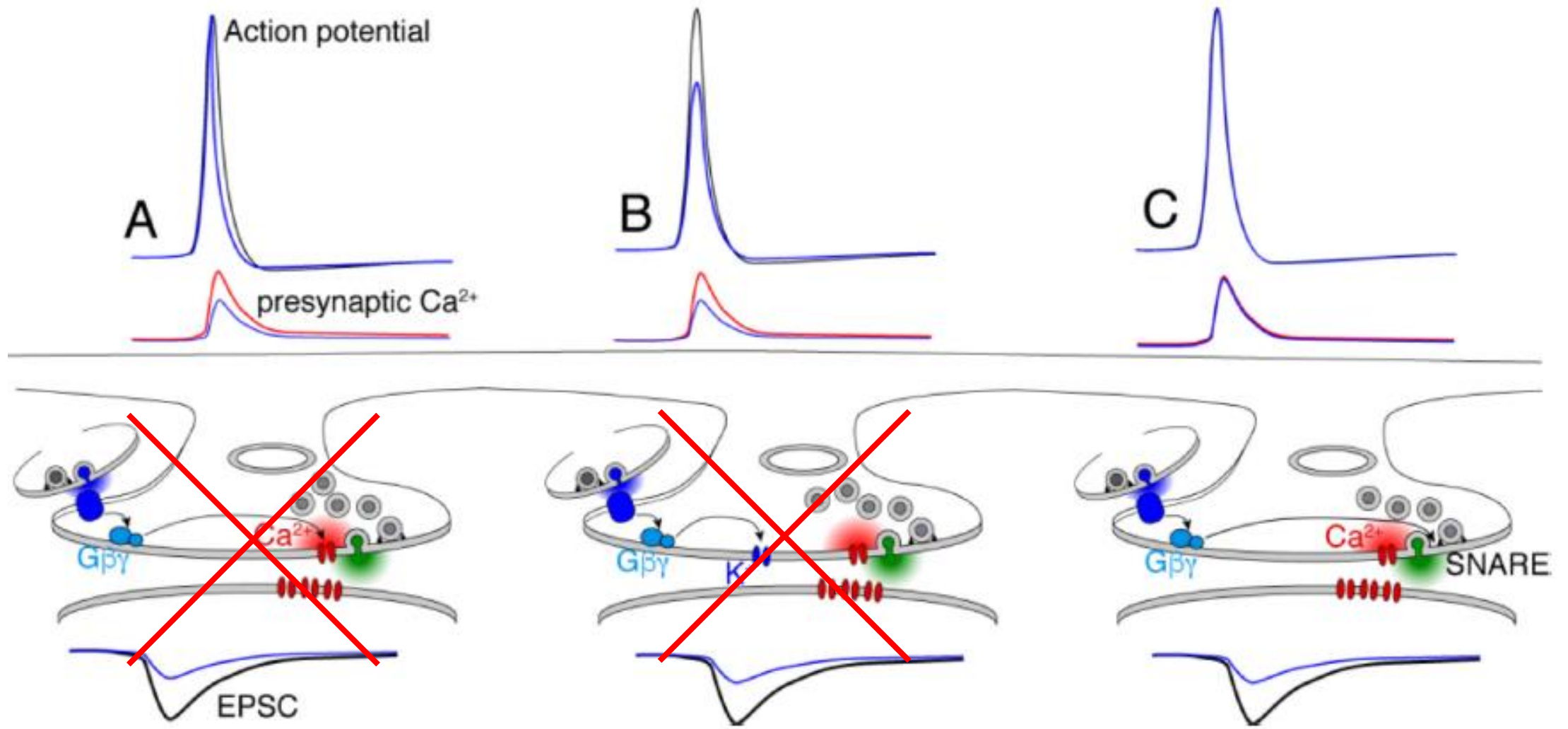
Axone géante réticulospinale de la lamproie



Trace noire = contrôle
Trace bleue = 30 μ M 5-HT

30 μ M de 5-HT ne modifie pas l'entrée du calcium dans les terminaux présynaptiques des synapses réticulospinales de la lamproie.

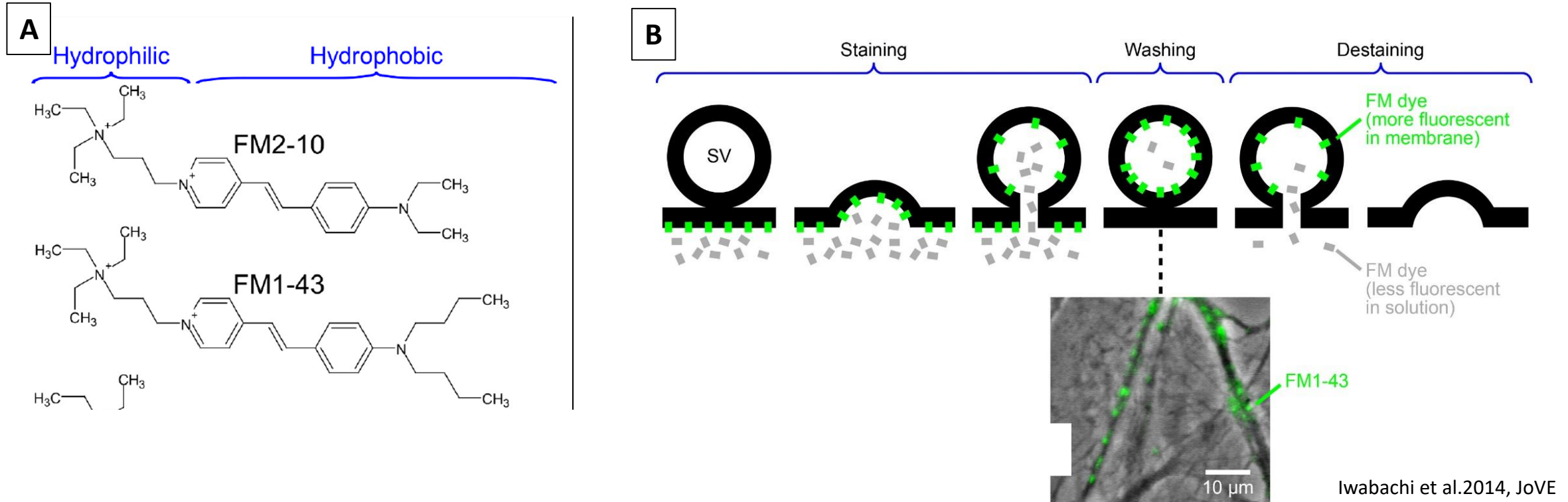
Cibles présynaptiques pour le G-protéine sous-unité beta-gamma



Alford et al. Neurochem Res. 2019

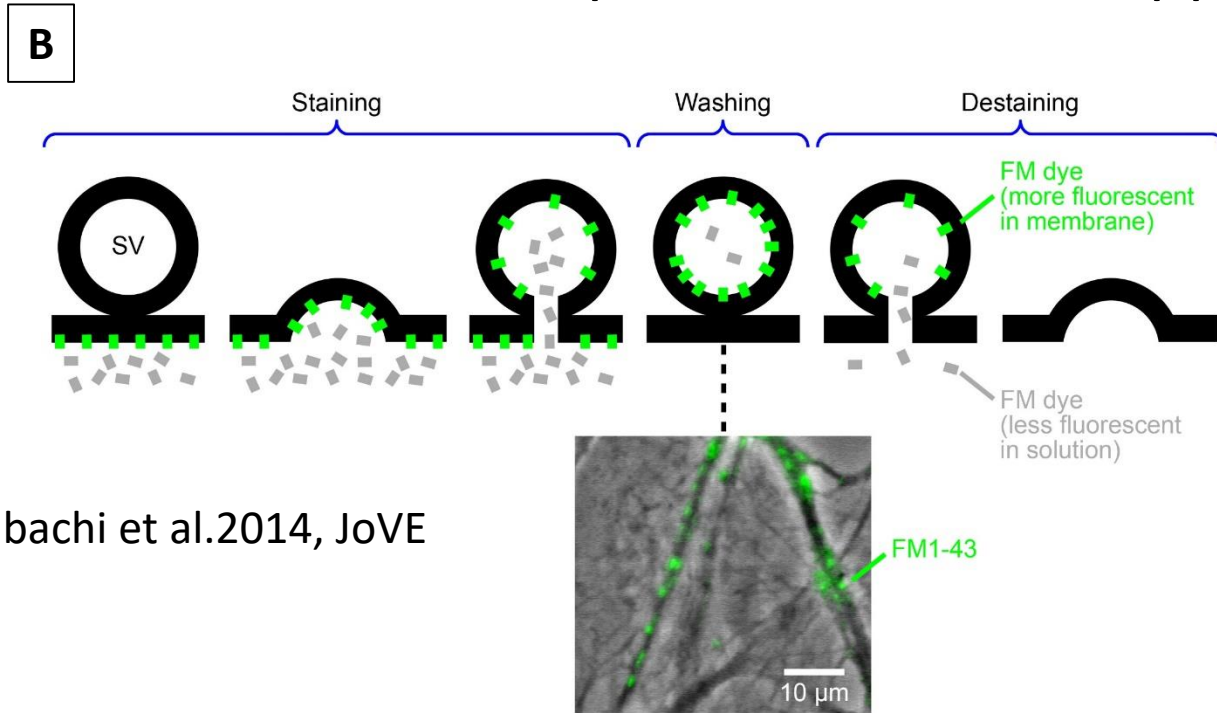
FM-Dyes :
Une mesure directe de la fusion des vésicules présynaptiques

Tracking presynaptic vesicle dynamics with FM-Dyes

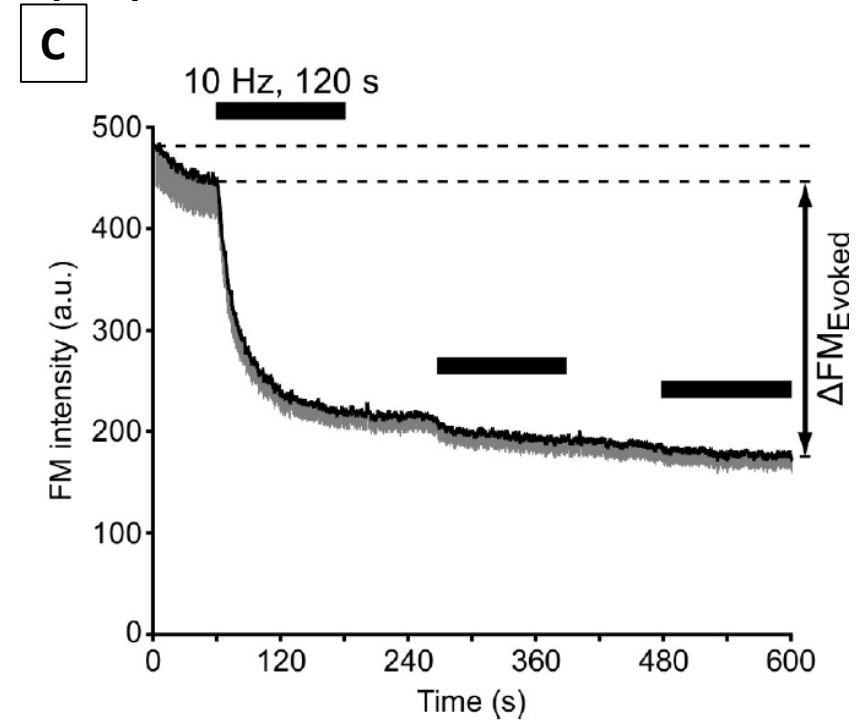


FM-Dyes are amphipathic molecules composed of a positively charged head and a lipophilic tails. These properties permit the molecules to enter the membrane without traversing it. Several different FM-dyes have been developed (i.e. FM1-43 and FM2-10) with hydrophobic tails of varying lengths which determines the exit rate (departioning rate) of the dye from the membrane. The fluorescent intensity of these molecules increases when they are inserted into membranes (due to an increase in quantum yield), thus changes in FM-dye fluorescence reflect changes in membrane turnover.

Suivi de la dynamique des vésicules présynaptiques avec FM-Dyes : exemple de neurones hippocampiques en culture



Iwabachi et al.2014, JoVE

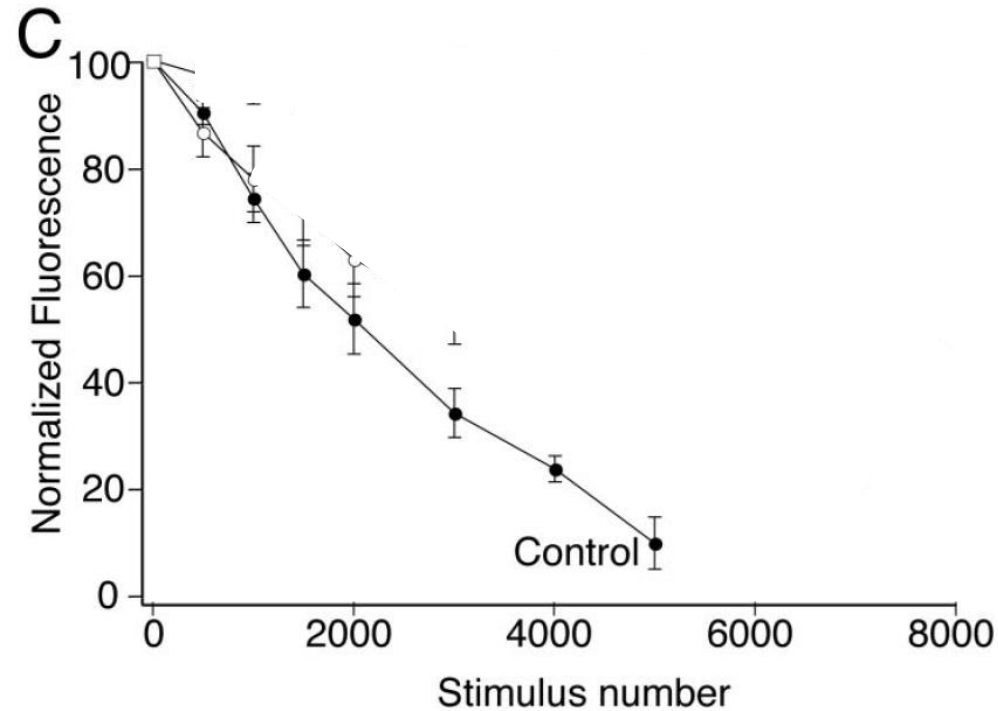
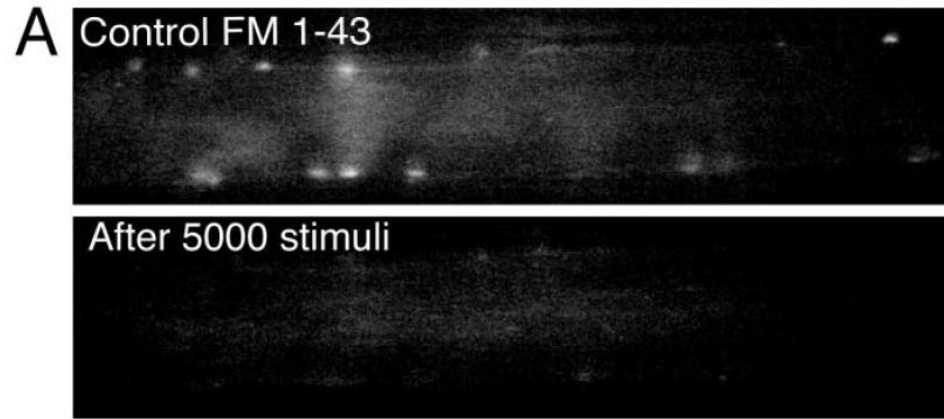


In the presence of FM-dyes (green squares) the spontaneous activity of hippocampal neurons in culture is sufficient to stain vesicles through activity-dependent endocytosis ("staining" in figure B). The FM-dye is then washed from the bath and thus the plasma membrane ("washing"). After washing the only remaining FM-molecules are those trapped in the interior leaflet of the vesicular membrane following endocytosis. In C, at time zero, the fluorescent intensity is measured after the "washing step".

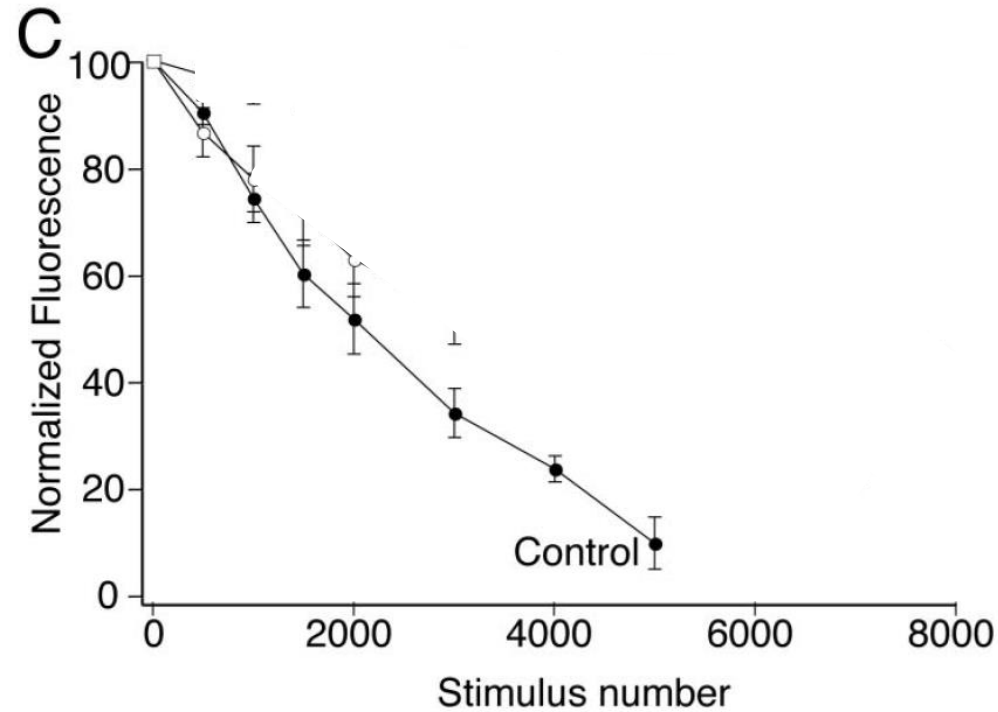
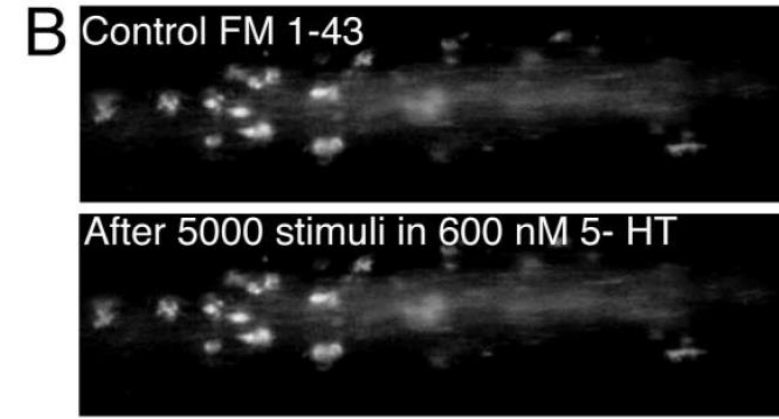
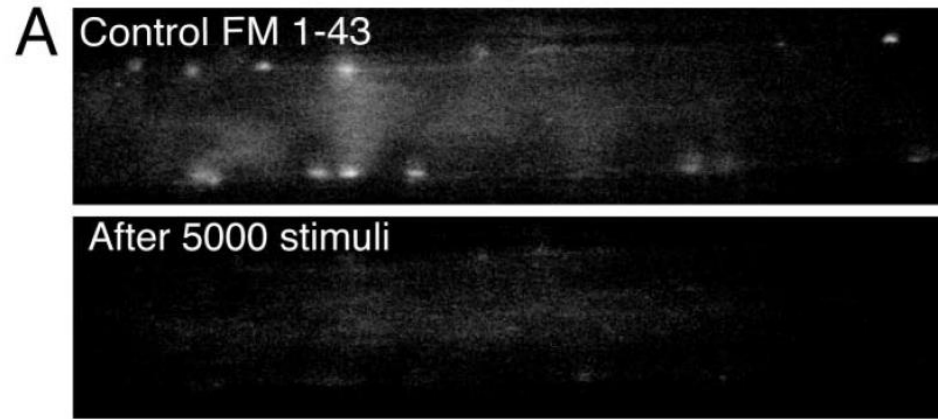
Q17) Expliquez pourquoi une diminution de l'intensité de la fluorescence est observée pendant les 60 premières secondes d'"activité spontanée" en C.

Q18) Les neurones en culture sont ensuite stimulés avec trois épisodes de stimulation électrique ("évoquée", 10 Hz, 120 secondes) à 60, 240 et 480 secondes. Décrivez et interprétez les résultats de chaque stimulation.

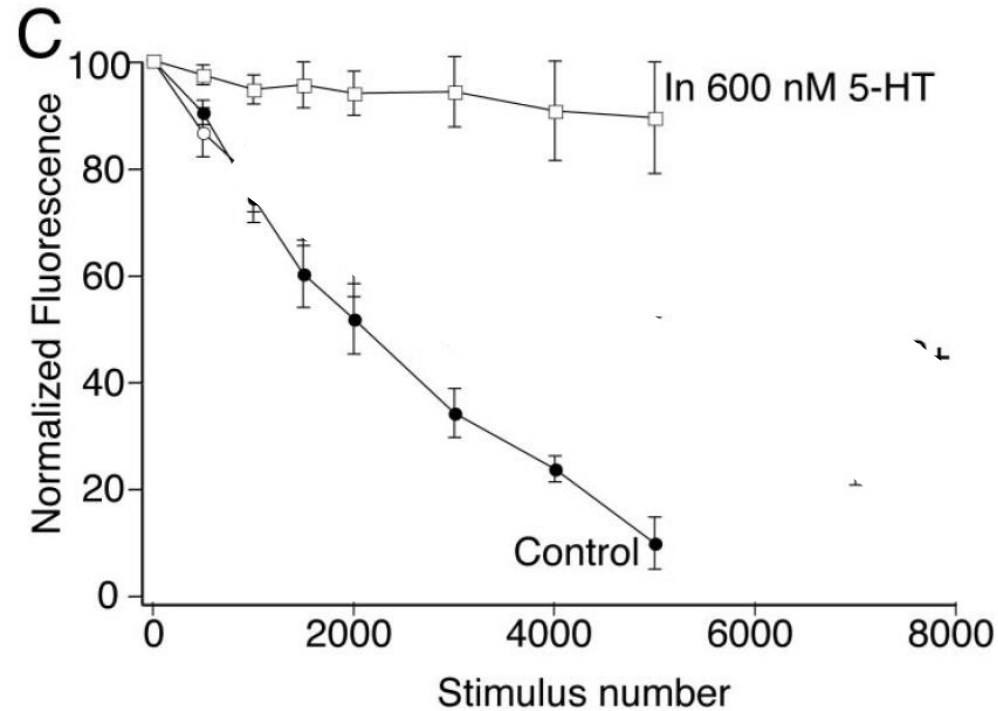
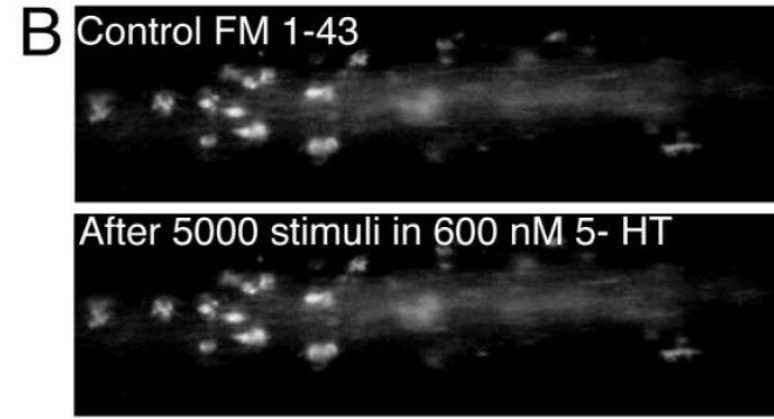
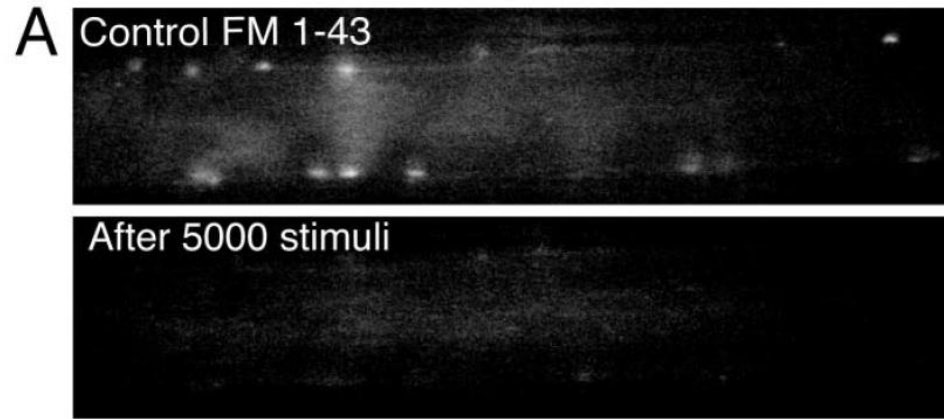
Using FM-1-43 dye to track presynaptic vesicle fusion in lamprey RS axons



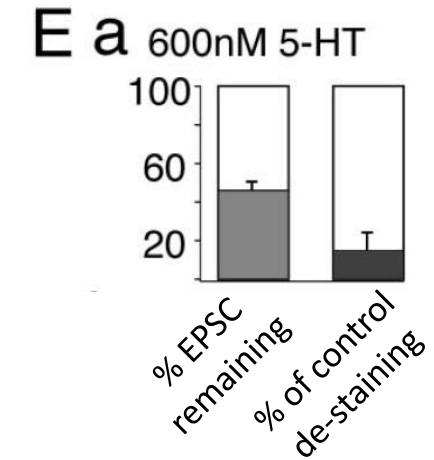
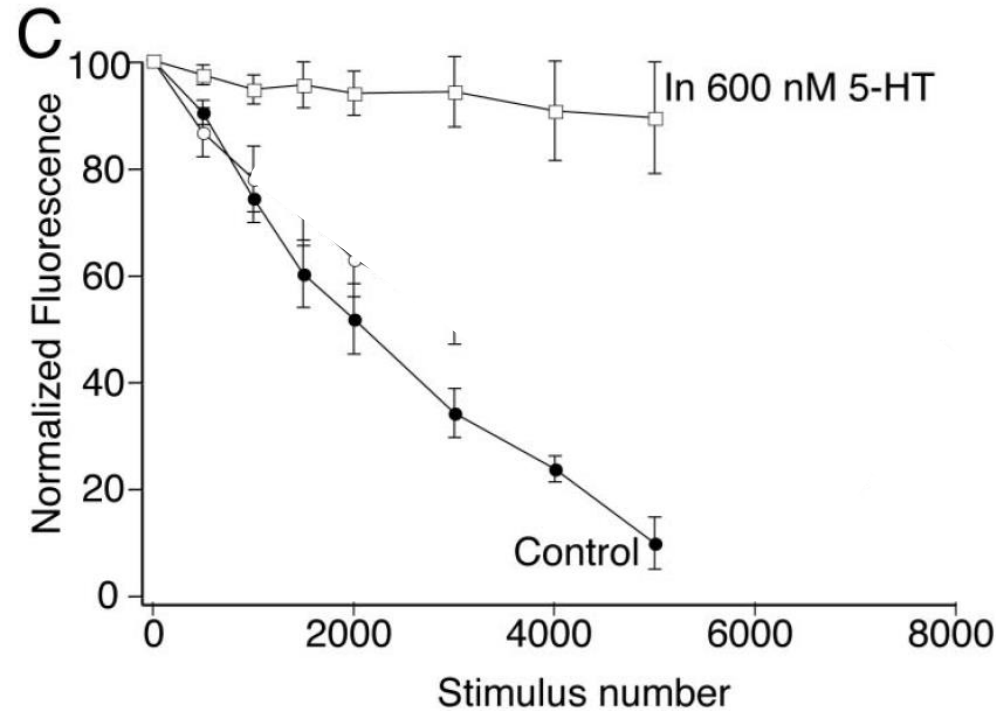
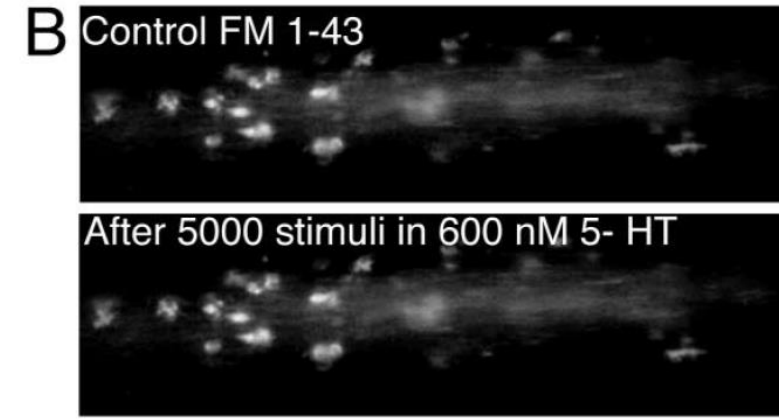
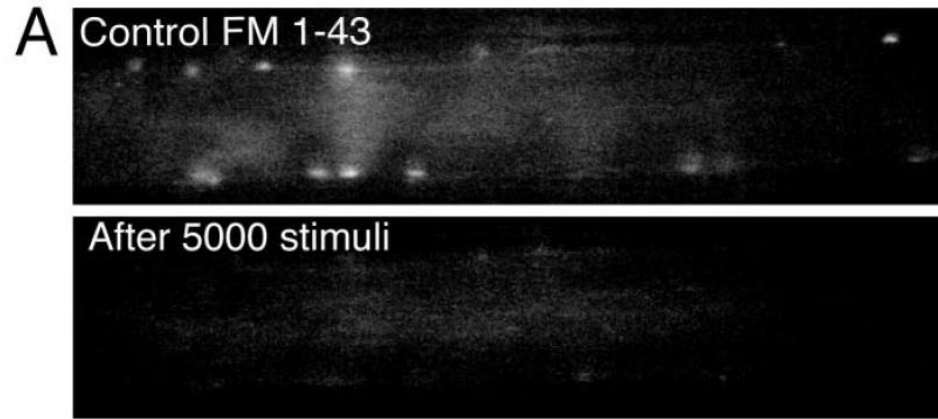
Using FM-1-43 dye to track presynaptic vesicle fusion in lamprey RS axons



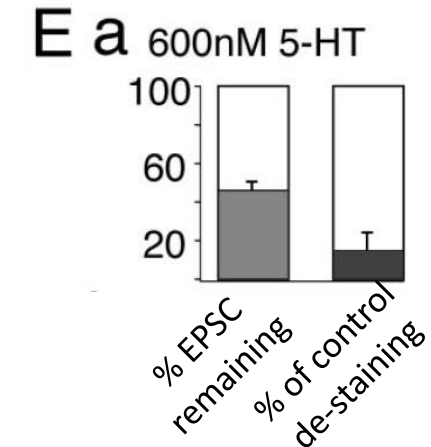
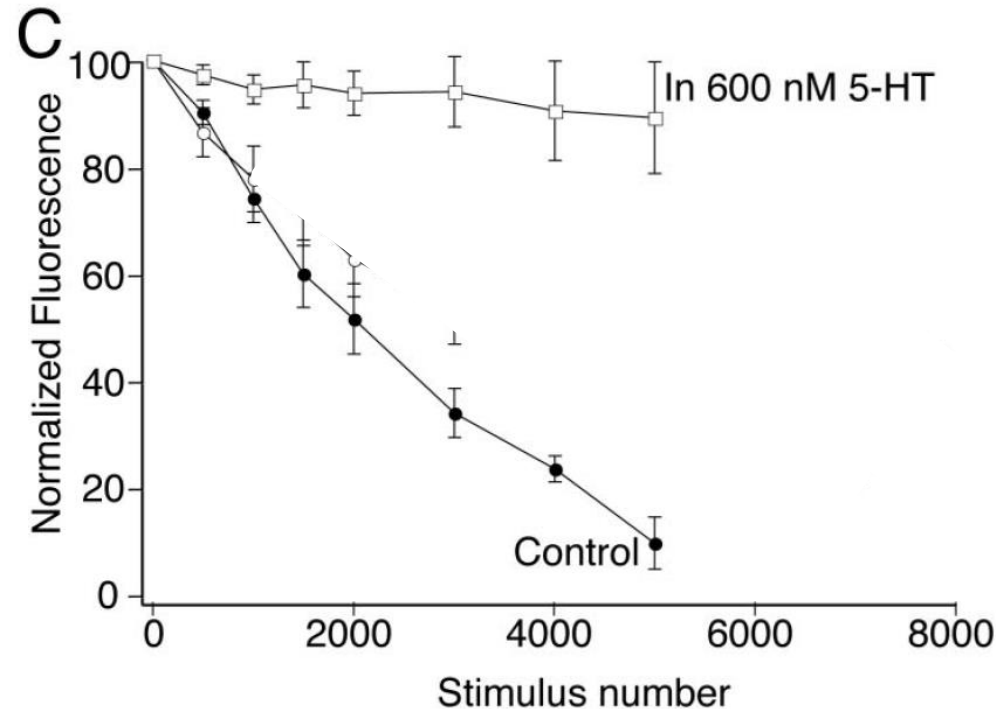
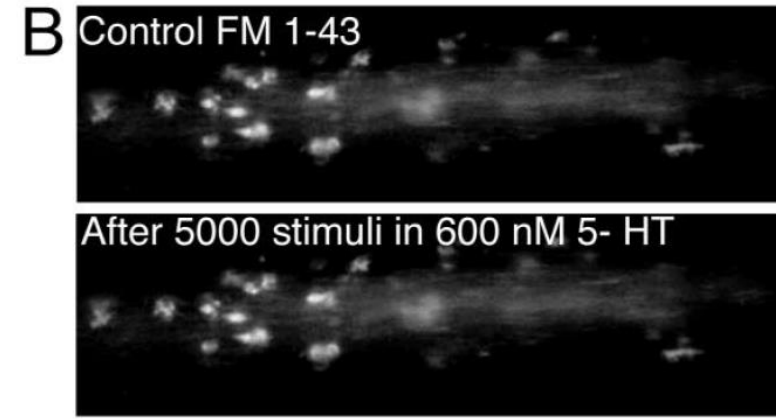
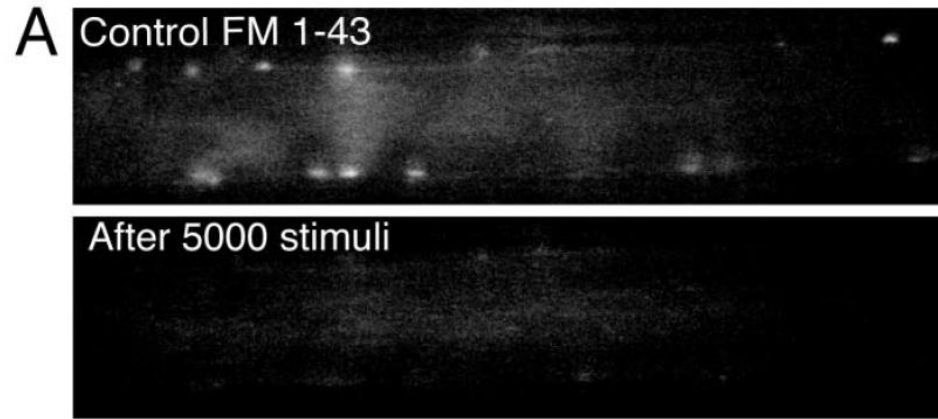
Using FM-1-43 dye to track presynaptic vesicle fusion in lamprey RS axons



5-HT inhibits FM1-43 destaining from synaptic vesicles to a much greater extent than synaptic transmission

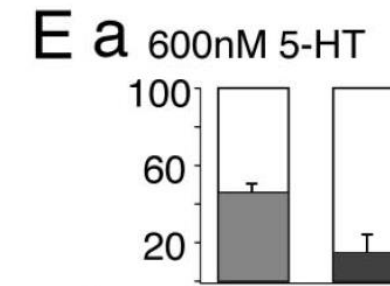
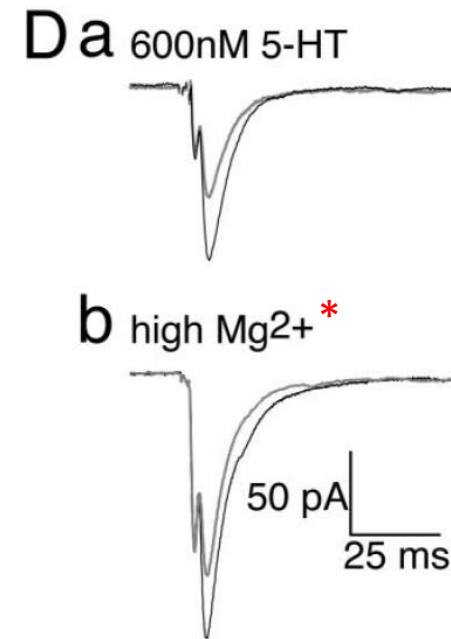
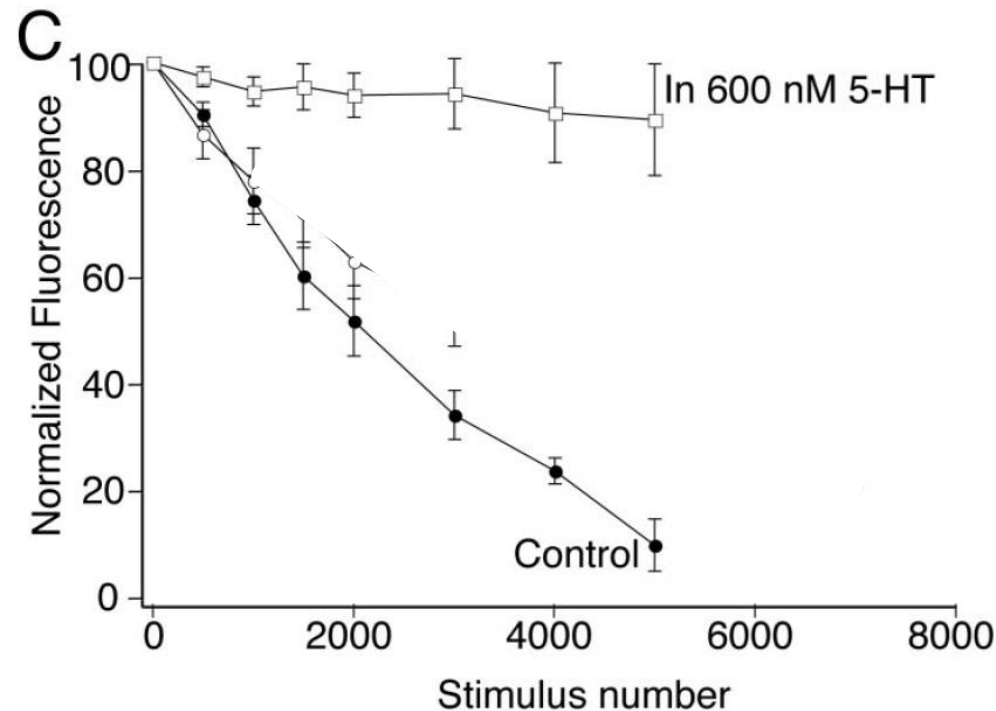
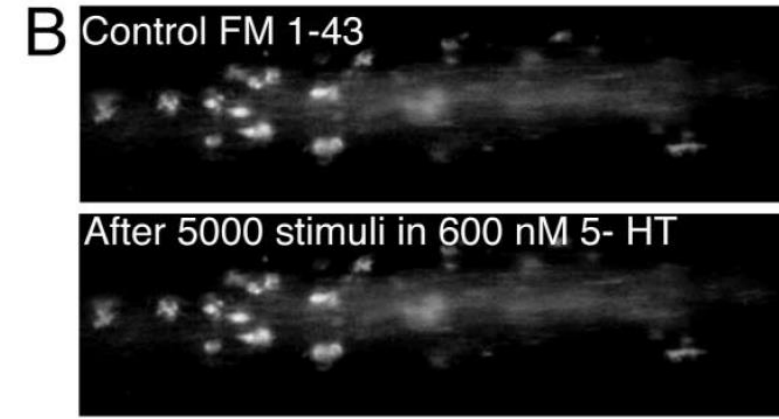
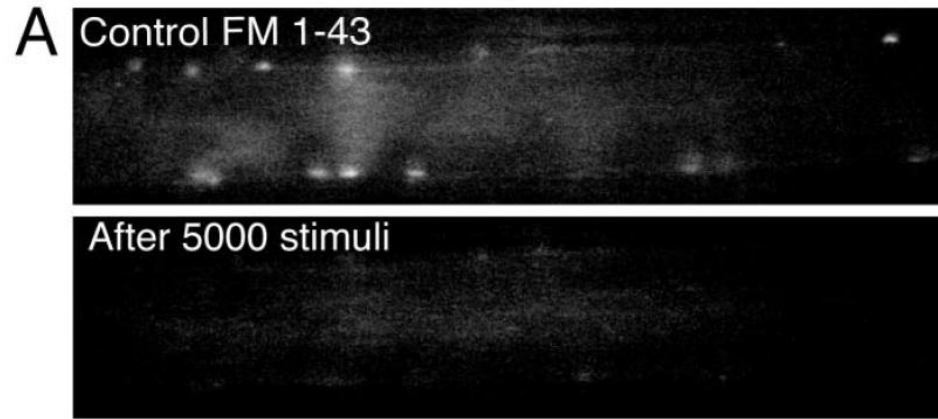


La 5-HT inhibe le « destaining) de FM1-43 des vésicules synaptiques dans une mesure beaucoup plus importante que la transmission synaptique.



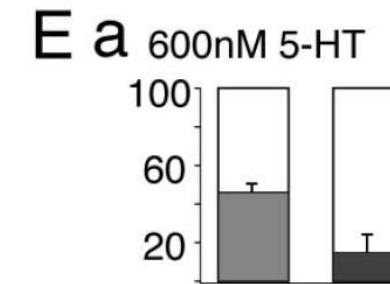
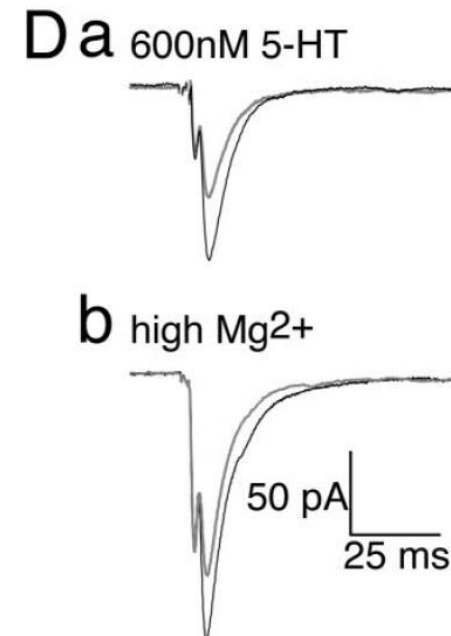
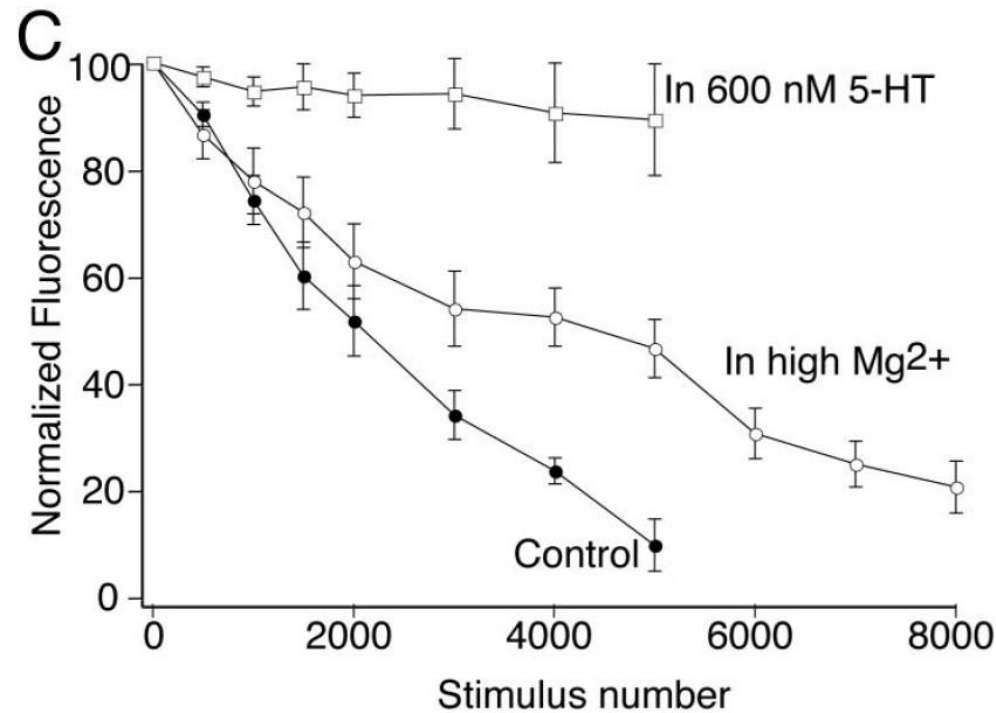
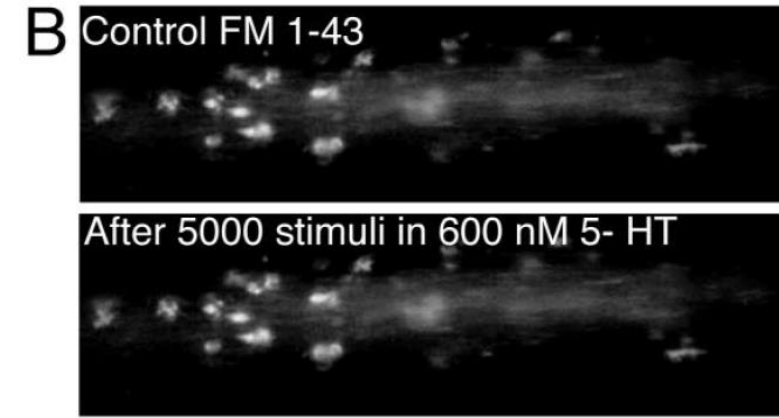
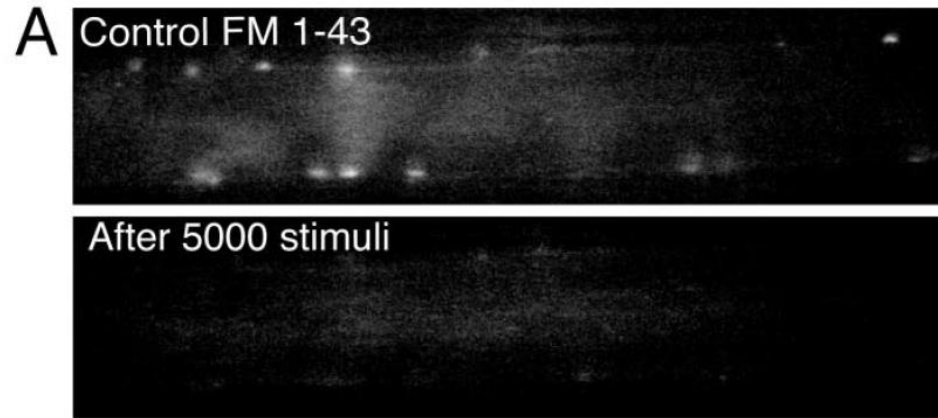
The prediction is that presynaptically inhibiting synaptic transmission should lower the probability of vesicle fusion (Pr) and inhibit both FM1-43 destaining and synaptic transmission equally. **Q27) Propose an experiment to verify that lowering Pr inhibits destaining and synaptic transmission equally.**

L'abaissement de Pr ($[Mg^{2+}]$ élevé) inhibe la « destaining » de FM1-43 et la transmission synaptique dans une mesure similaire.



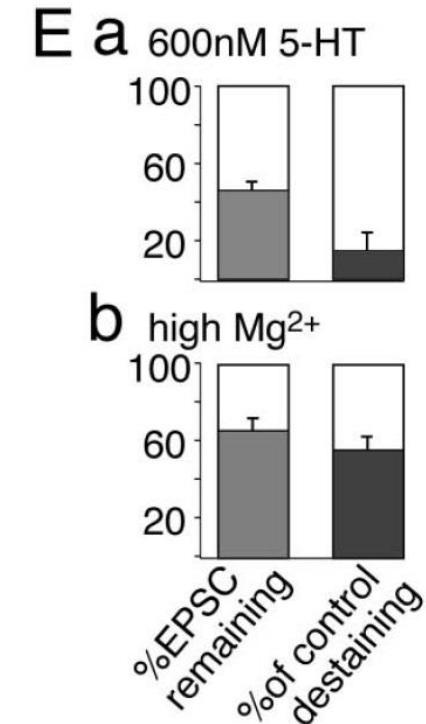
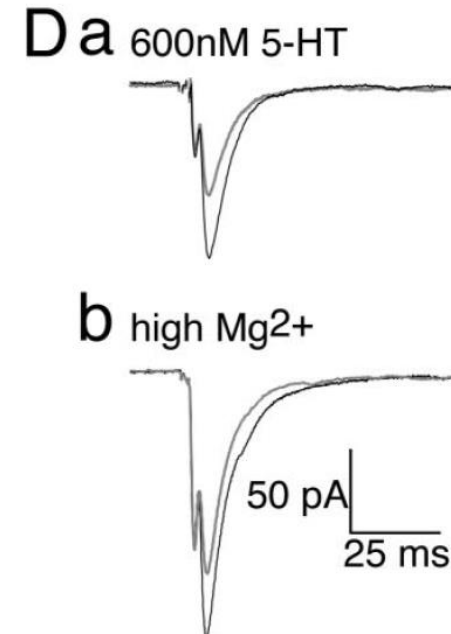
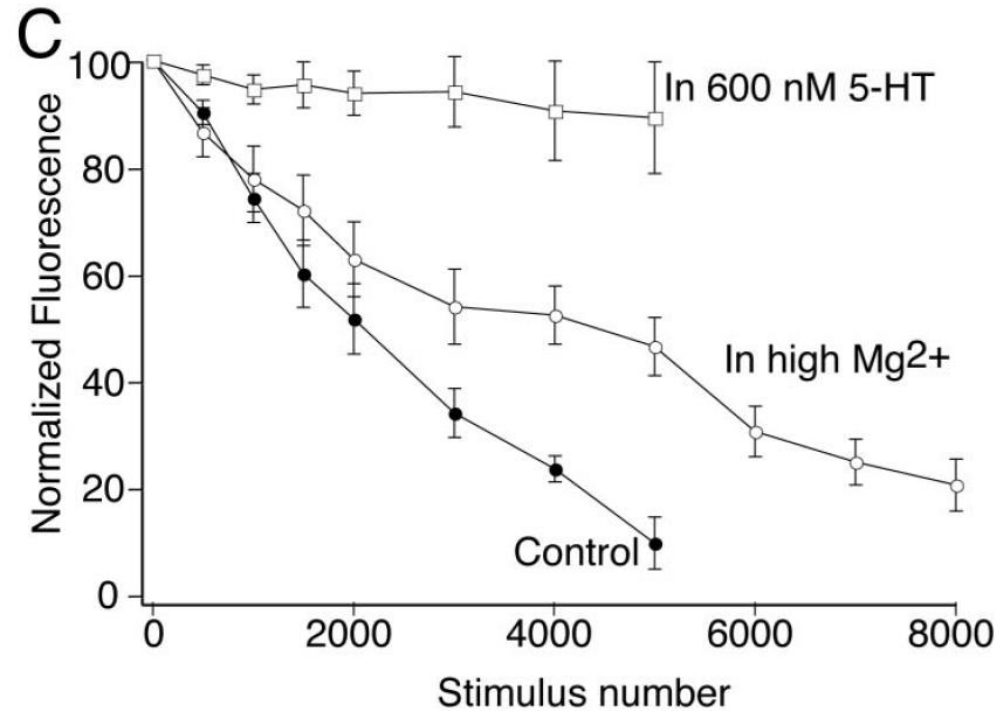
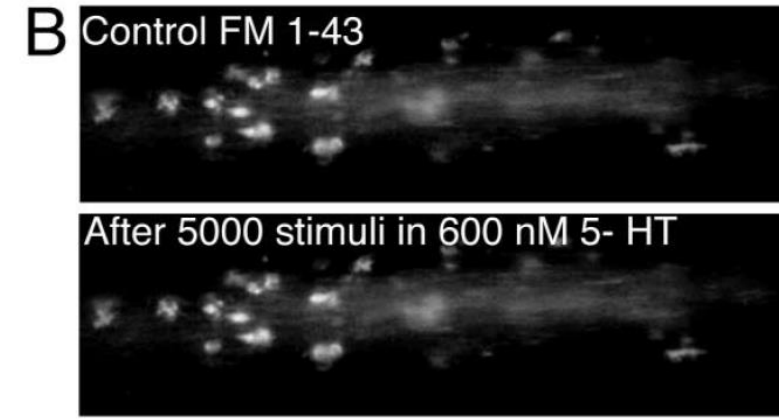
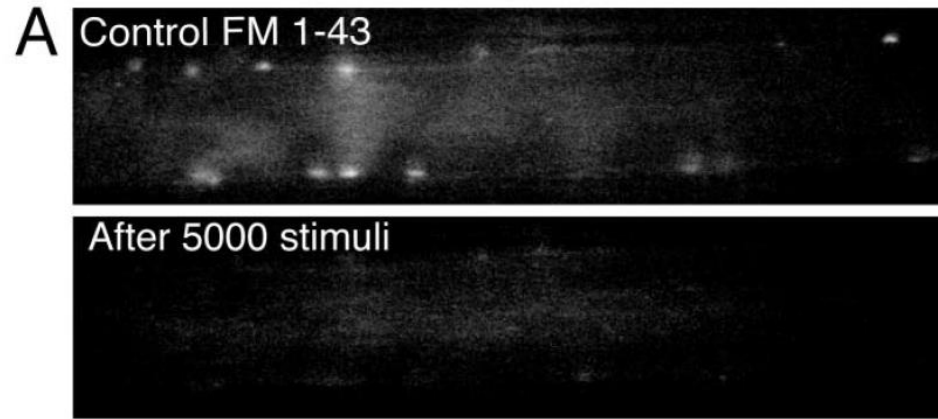
*high $[Mg^{2+}]$ partially inhibits voltage-gated calcium channels

L'abaissement de Pr ($[Mg^{2+}]$ élevé) inhibe la « destaining » de FM1-43 et la transmission synaptique dans une mesure similaire.



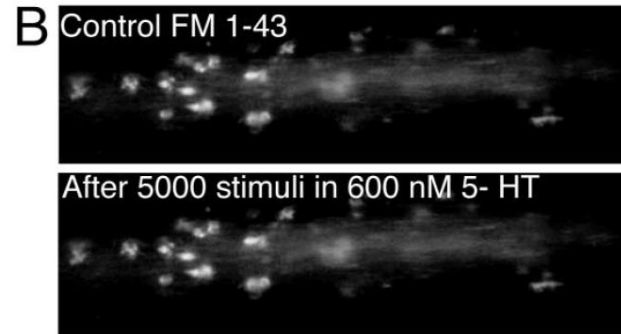
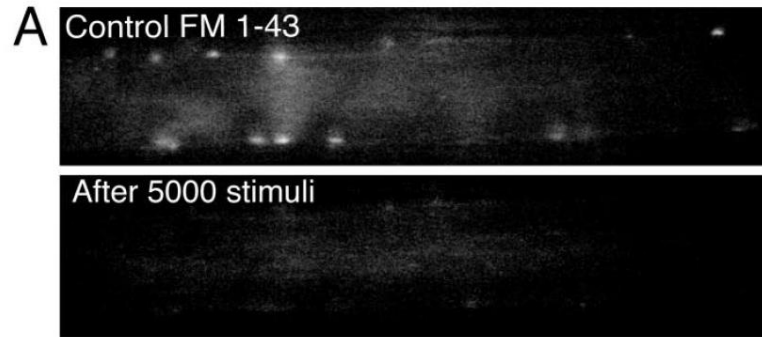
*high $[Mg^{2+}]$ partially inhibits voltage-gated calcium channels

L'abaissement de Pr ($[Mg^{2+}]$ élevé) inhibe la « destaining » de FM1-43 et la transmission synaptique dans une mesure similaire.

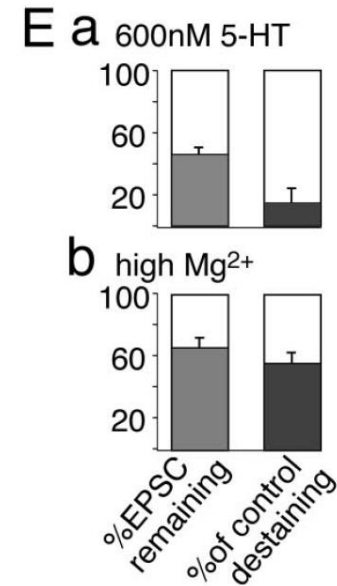
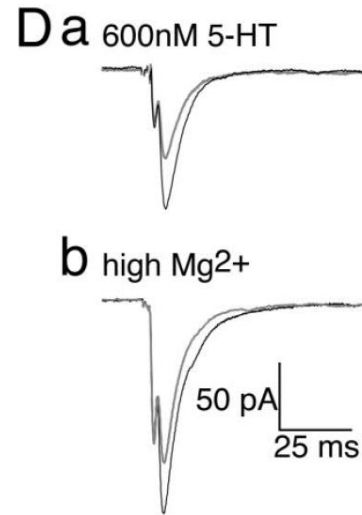
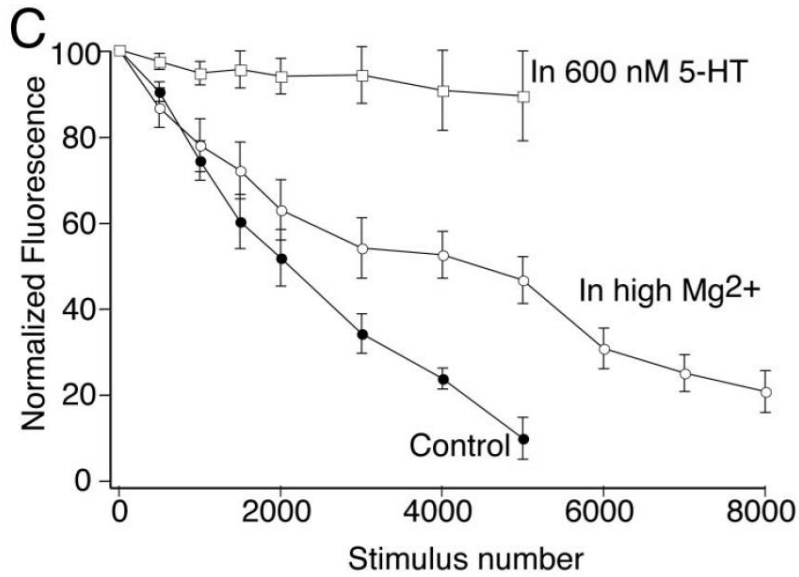


*high $[Mg^{2+}]$ partially inhibits voltage-gated calcium channels

L'abaissement de Pr ($[Mg^{2+}]$ élevé) inhibe la « destaining » de FM1-43 et la transmission synaptique dans une mesure similaire.

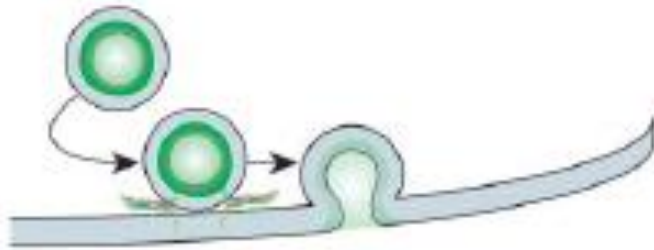


Q28) Propose a hypothesis that may explain the different effects of presynaptic inhibition by 5-HT versus high $[Mg^{2+}]$ on FM1-43 destaining and synaptic transmission.

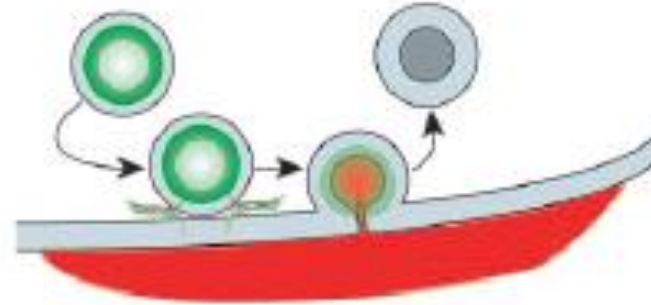


La sulforhodamine, une molécule hydrophile d'extinction de la fluorescence, peut être utilisée pour déterminer si les vésicules chargées du colorant FM1-43 fusionnent avec la membrane et subissent un "kiss and run" et/ou une "full-collapse-fusion".

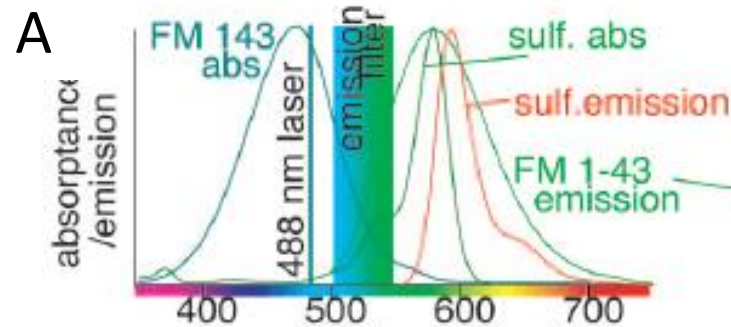
F Control



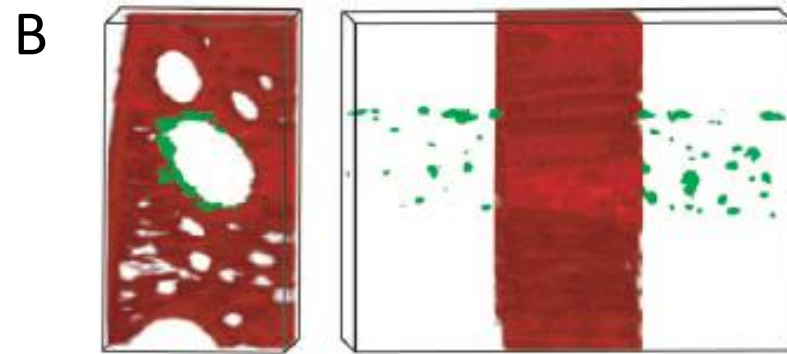
G 5-HT + sulforhodamine



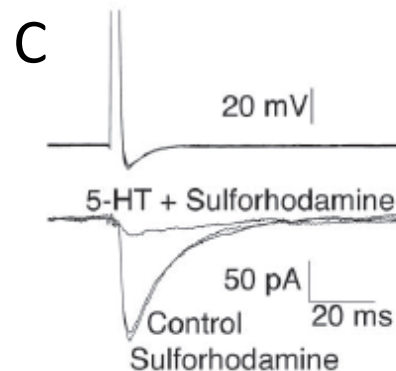
La sulfrhodamine, un colorant fluorescent hydrophile, présente un spectre d'absorption qui se superpose au spectre d'émission de FM1-43.



Spectres d'absorption et d'émission de la sulfrhodamine et du FM1-43 montrant un chevauchement entre les longueurs d'onde d'émission du FM1-43 et le spectre d'absorption de la sulfrhodamine.



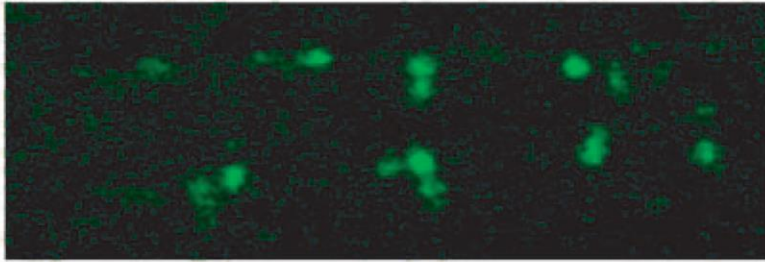
La sulfrhodamine hydrophile extracellulaire (rouge) ne pénètre pas dans les axones RS de la lamproie (structures cylindriques blanches). Les terminaux présynaptiques sont marqués avec de la phalloïdine alexa (vert, 488 nm).



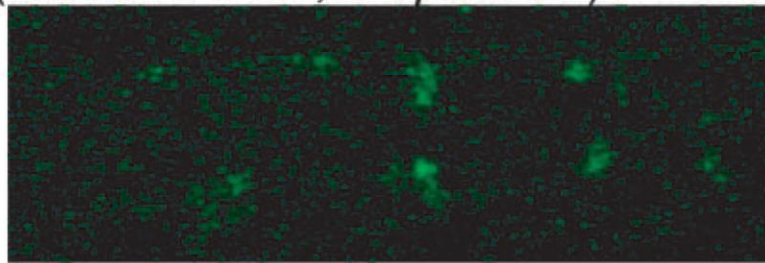
La présence de sulfrhodamine extracellulaire ne modifie pas la transmission synaptique ou l'inhibition de la transmission synaptique induite par l'application de 5-HT au niveau des synapses RS de la lamproie.

Effet de la suflrhodamine sur le « destaining » de FM1-43 des axones de la lamproie RS en présence de 5-HT

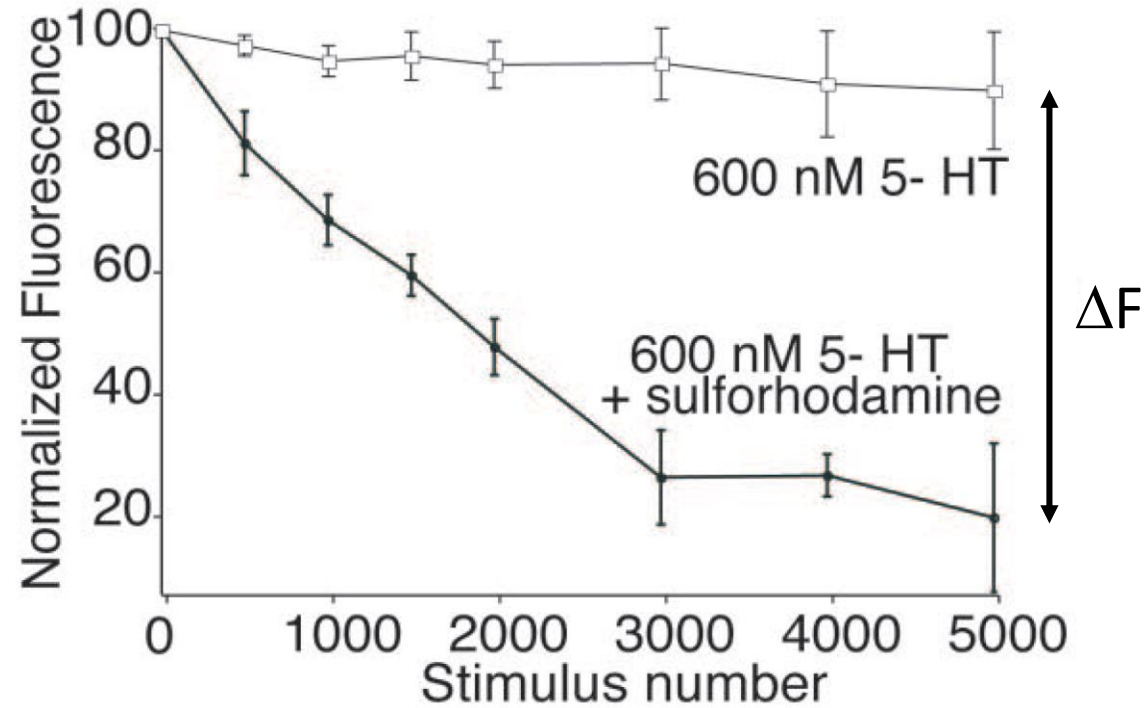
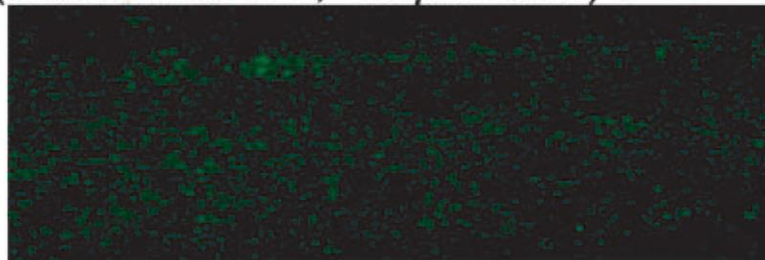
Control staining



2000 stimuli
(600 nM 5-HT, 25 μ M sulf)

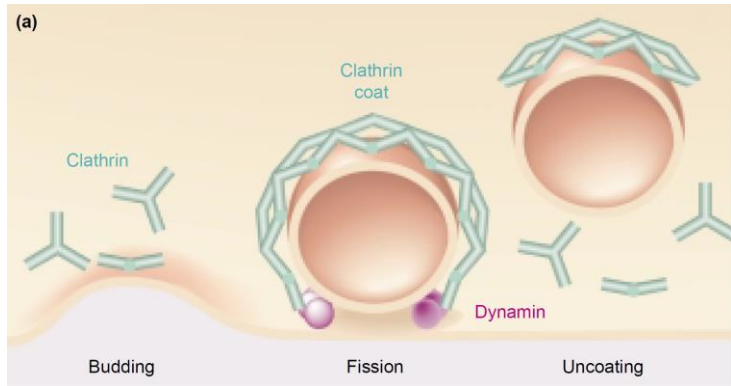


3000 stimuli
(600 nM 5-HT, 25 μ M sulf)

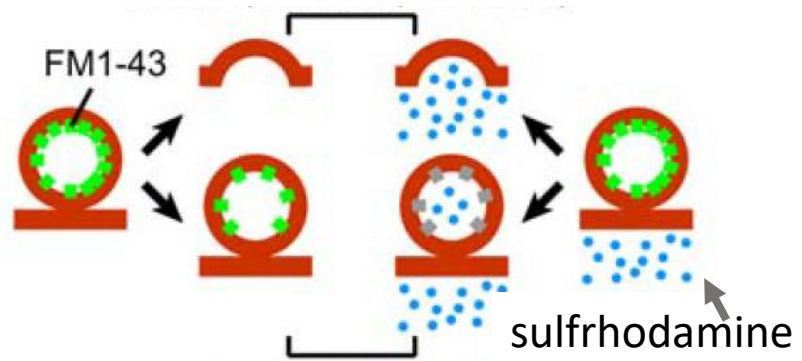


32) Interpret the results and draw a conclusion

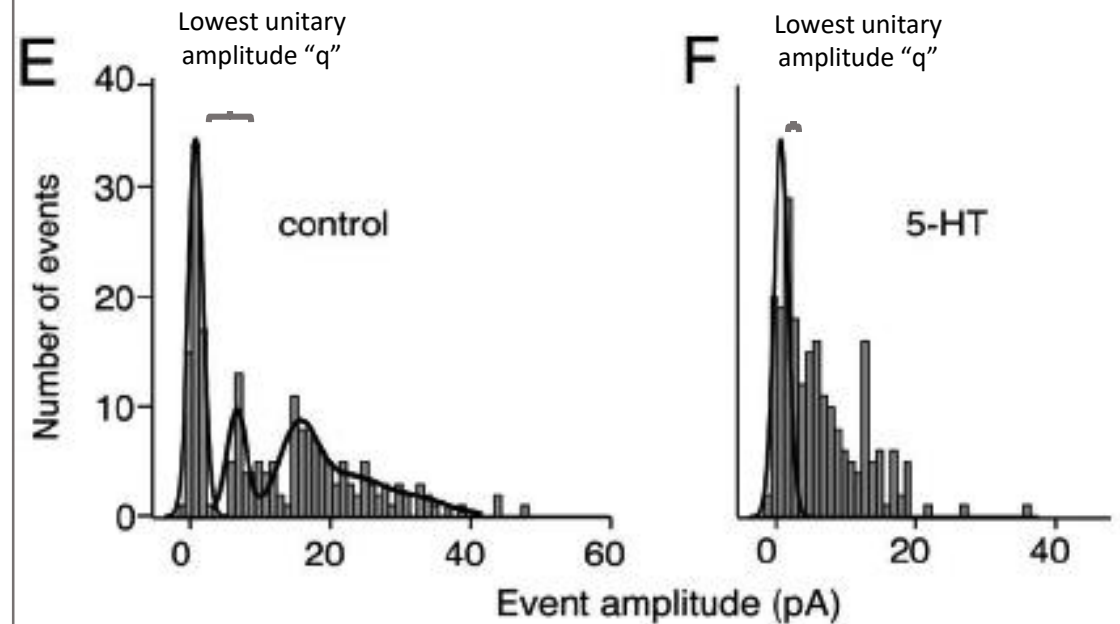
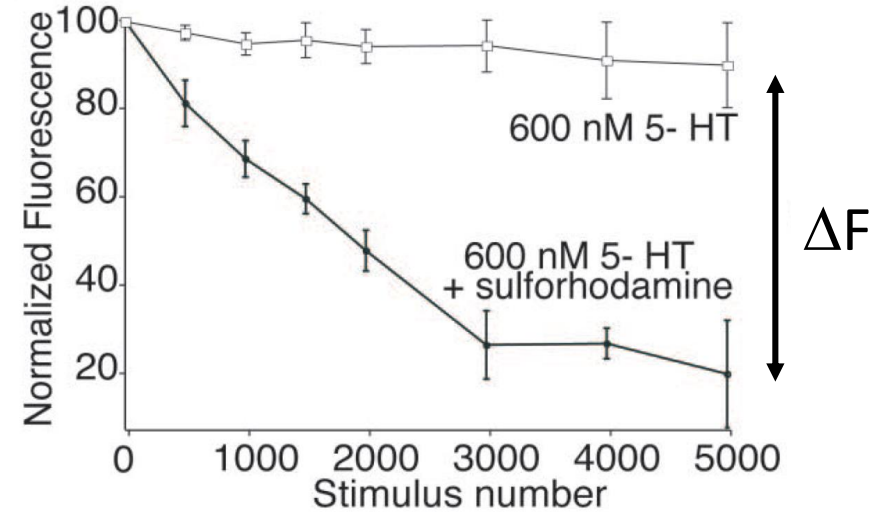
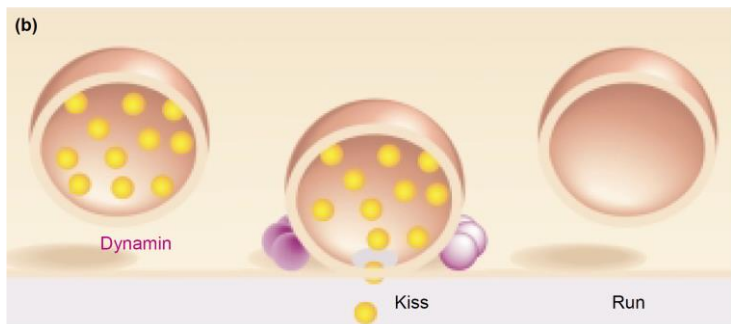
Summary



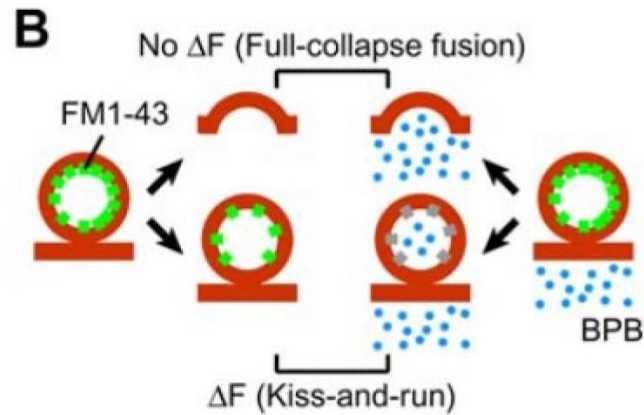
No ΔF = Full collapse fusion



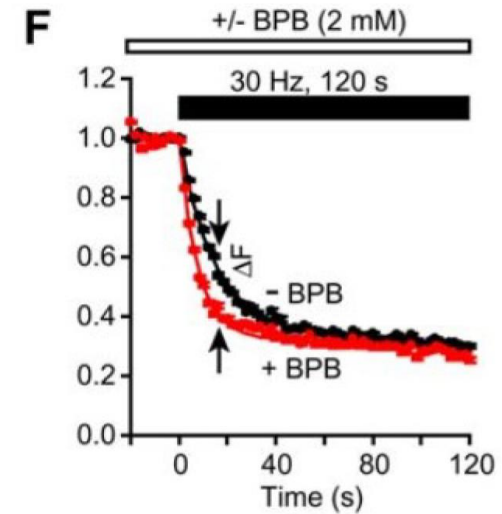
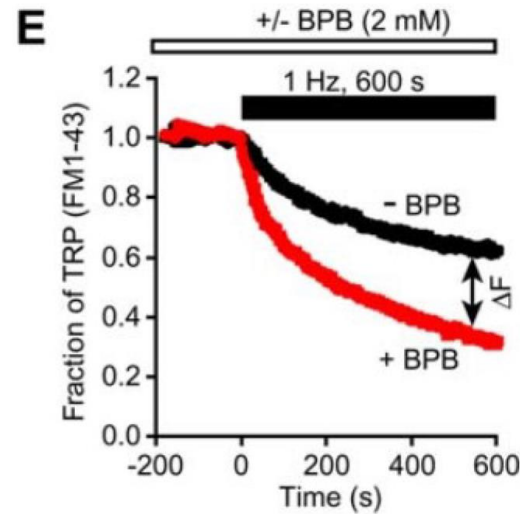
ΔF = Kiss and run fusion



Utilisation du bleu de bromophénol, molécule hydrophile d'extinction de la fluorescence, pour distinguer le "kiss and run" de la "full-collapse-fusion".



Harata et al. 2006



Q30) Interpret the results.

Q31) What conclusions may be drawn from this experiment?

Summary

- Transmission synaptique quantique :
 - EPSC = $n \times Pr \times q$
 - Interprétation des histogrammes d'amplitude des événements
 - Hypothèses de la transmission synaptique quantique
- Synapses modèles pour étudier la transmission présynaptique
 - Souris Caylx de la synapse de Held
 - Synapse réticulospinale de la lamproie
- Colorants FM
 - Suivi de la dynamique des vésicules présynaptiques avec des colorants FM
 - Les colorants hydrophiles qui éteignent la fluorescence du FM1-43 peuvent être utilisés pour interpréter le mode de fusion des vésicules.
 - Les expériences de colorant FM révèlent que dans certaines conditions (synapses RS de la lamproie ou neurones hippocampiques en culture), l'hypothèse selon laquelle toutes les vésicules fusionnent et libèrent leur neurotransmetteur de la même manière peut ne pas être vraie.
- La transmission synaptique quantique ne peut être appliquée que si toutes les présomptions sont validées.

Key References

[G protein betagamma](#) subunit-mediated presynaptic inhibition: regulation of exocytotic fusion downstream of Ca²⁺ entry. Blackmer T, Larsen EC, Takahashi M, Martin TF, Alford S, Hamm HE. Science. 2001 Apr 13;292(5515):293-7. doi: 10.1126/science.1058803. PMID: 11303105 Free article.

G protein betagamma-subunits activated by serotonin mediate presynaptic inhibition by regulating vesicle fusion properties.

Photowala H, Blackmer T, Schwartz E, Hamm HE, Alford S. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 14;103(11):4281-6. doi: 10.1073/pnas.0600509103. Epub 2006 Mar 6. PMID: 16537522 Free PMC article.

Kiss-and-run and full-collapse fusion as modes of exo-endocytosis in neurosecretion. Harata NC, Aravanis AM, Tsien RW. J Neurochem. 2006 Jun;97(6):1546-70. doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.03987.x. PMID: 16805768 Free article. Review.

Frequency-dependent kinetics and prevalence of kiss-and-run and reuse at hippocampal synapses studied with novel quenching methods.

Harata NC, Choi S, Pyle JL, Aravanis AM, Tsien RW. Neuron. 2006 Jan 19;49(2):243-56. doi: 10.1016/j.neuron.2005.12.018. PMID: 16423698 Free article.