

L'électrophysiologie

Concepts de base
Données moléculaires
(canaux ioniques)

Progression du cours

I-Formalisme et connaissances de bases

1. Mouvements ioniques transmembranaires
2. La différence de potentiel électrique transmembranaire au repos
3. Le Potentiel d'action
4. La transmission synaptique

II-Méthodes d'études électrophysiologiques des canaux ioniques

III-Etude de quelques grandes familles de canaux ioniques

Bibliographie pour partie I et partie II

Biochimie et Biophysique des membranes E SCHECTER

Physiologie du neurone D TRITSCH

Neurosciences PURVES 2019

Questions

Existe-t-il une différence de potentiel électrique transmembranaire dans toutes les cellules ?

Cette différence de potentiel peut elle varier dans toutes les cellules ?

Quelle définition donner à une cellule excitable?

Des exemples ?

Un peu d'histoire

- **2600 ans avant JC**

Les Egyptiens étudient les phénomènes électriques liés à l'anguille électrique.

- **1790 GALVANI: naissance de l'électrophysiologie**

Existence de phénomènes électriques au niveau de la matière vivante.

- **1827: Loi d'OHM.**

- **1868 BERNSTEIN:**

L'intérieur et l'extérieur des cellules sont composés d'électrolytes de différentes concentrations séparées par une membrane perméable à ces électrolytes.

- **1888 NERNST / CAJAL–GOLGI prix Nobel N 1906**

Loi de Nernst donnant le potentiel d'équilibre d'un ion

- **1897 SHERRINGTON prix Nobel 1921**

Le concept de synapse./

Théorie neuronale (abandon de la théorie réticulaire)

- **1902 BERNSTEIN: Théorie de la membrane « électrique »:**

- le potentiel de repos est dû à la membrane,
- notion de membrane électrique et de membrane biologique,
- les concentrations ioniques sont différentes de part et d'autre de la membrane
- au repos la membrane n'est perméable qu'au potassium.



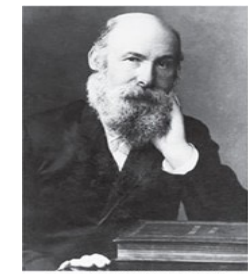
Galvani



Ohm



Nernst



Berstein

Un peu d'histoire...suite

- **1921 LOEWI (pN 1936)**

Notion de neurotransmetteur

- **1920-1945:** 1^{er} essor de l'électrophysiologie, due aux améliorations techniques après la II^{nde} guerre mondiale . Oscilloscope, amplificateurs,

- **1937 HODGKIN:**

Théorie ionique du potentiel d'action

- **1952 HODGKIN-andrew HUXLEY (pN 1963):**

Technique du voltage clamp

- **1952 CORABOEUF:**

Naissance de l'électrophysiologie cardiaque en France

- **1960 HILL et AMSTRONG** hypothèse des canaux ioniques.

- **1981 NEHER – SAKMANN (pN 1991) :**

Technique de patch clamp. 2^{ème} essor théorie des canaux ioniques

- **1982 Noda et coll (Numa)**

1^{er} clonage d'un canal ionique (récepteur à l'acétylcholine) et canal sodique voltage dépendant

- **1999 Jun et coll**

1^{ère} souris KO pour un canal calcique

- **1998 Mac Kinnon (pN 2003)**

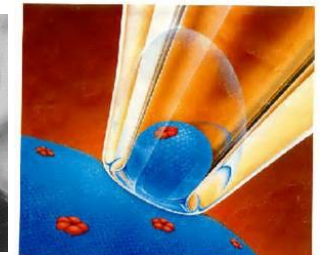
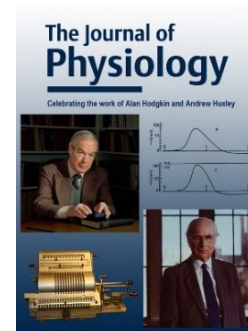
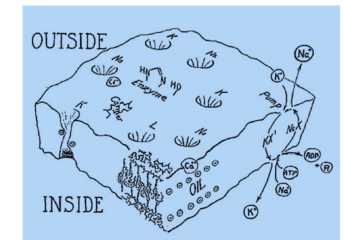
1^{ère} structure tridimensionnelle d'un canal

ionique potassique résolue à l'échelle Atomique.

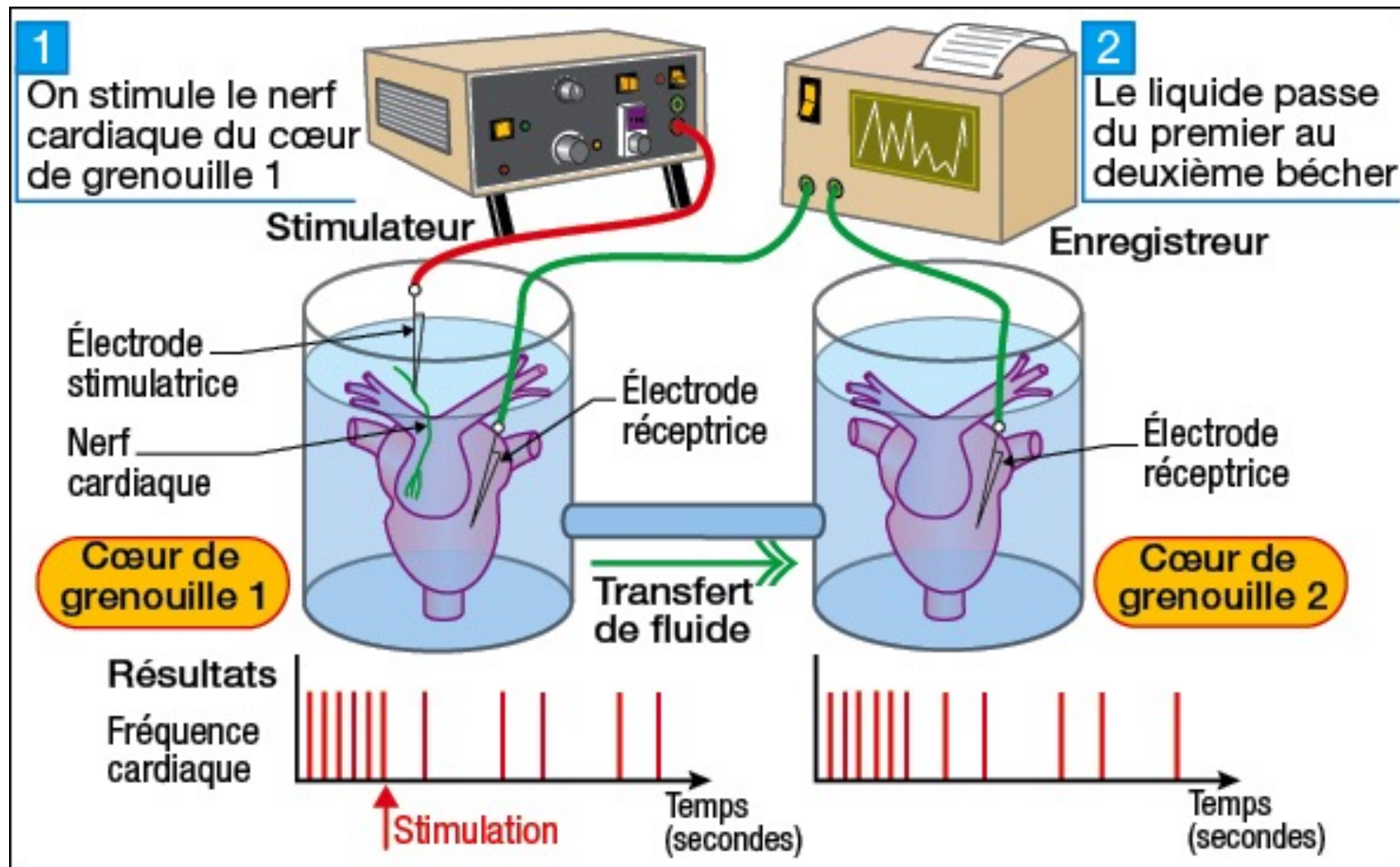
Le début 21^{ème} siècle : l'obtention des structures 3D

Prix nobel 2021 Julius et Patapoutian

canaux TRPV sensibles à la température et canaux Piezo sensibles au toucher



L'expérience de Loewi: découverte de l'acétylcholine

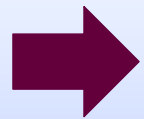


I. Formalisme

Quelle est l'origine de l'existence d'une différence de potentiel électrique au niveau de la membrane cytoplasmique des cellules animales?

1) Les mouvements ioniques transmembranaires

a) Qu'est-ce qui dicte le mouvement d'une particule en solution ?



La différence de potentiel chimique

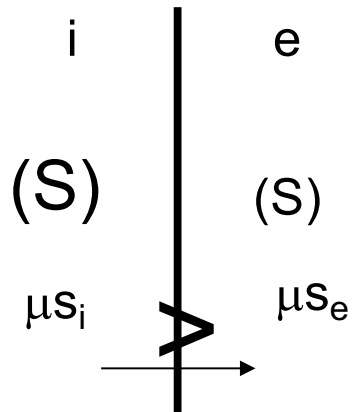
b) Qu'est-ce qui dicte le mouvement d'une particule chargée dans un champ électrique ?



La différence de potentiel électrochimique

La notion de potentiel de diffusion et de potentiel de Nernst

Le mouvement spontané d'un soluté est dicté par la différence de potentiel chimique



a) Le potentiel chimique

$$\mu_{Si} = \mu_{Si}^0 + RT \ln (S)_i$$

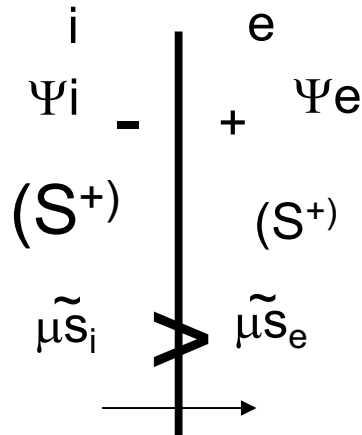
$$\mu_{Se} = \mu_{Se}^0 + RT \ln (S)_e$$

$$\Delta G = \Delta \mu_s = \mu_{Se} - \mu_{Si} = + RT \ln (S)_e / (S)_i$$

$$< 0$$

❖ À l'équilibre: égalité des concentrations

Le mouvement spontané d'un ion est dicté par la différ. de potentiel électrochimique



b) Le potentiel électrochimique

$$\tilde{\mu}_{Si} = \tilde{\mu}_{Si}^0 + RT \ln (S)_i + zF\psi_i$$

$$\mu_{Se} = \tilde{\mu}_{Se}^0 + RT \ln (S)_e + zF\psi_e$$

$$\Delta G = \Delta \tilde{\mu}_s = + RT \ln (S)_e / (S)_i + zF\Delta\psi$$

$$< 0$$

❖ À l'équilibre: $\Delta G = \Delta \mu_s = 0$

$$\Delta\psi = \psi_i - \psi_e = - RT / zF \ln (S)_{i_{eq}} / (S)_{e_{eq}}$$

Dit le **potentiel d'équilibre de l'ion**
ou **potentiel de Nernst**

Transport passif $\Delta G < 0$

Transport actif $\Delta C > 0$

I. Formalisme

2) L'origine de la différence de potentiel électrique transmembranaire d'une cellule animale. ($\Delta\psi$, V_m , $\Delta\psi$)

Formation de liposomes

- a) Cas d'école 1: la membrane est perméable aux ions potassiums
- b) Cas d'école 2: la membrane est perméable aux ions chlorures
- c) Cas d'école 3: la membrane est perméable aux deux ions



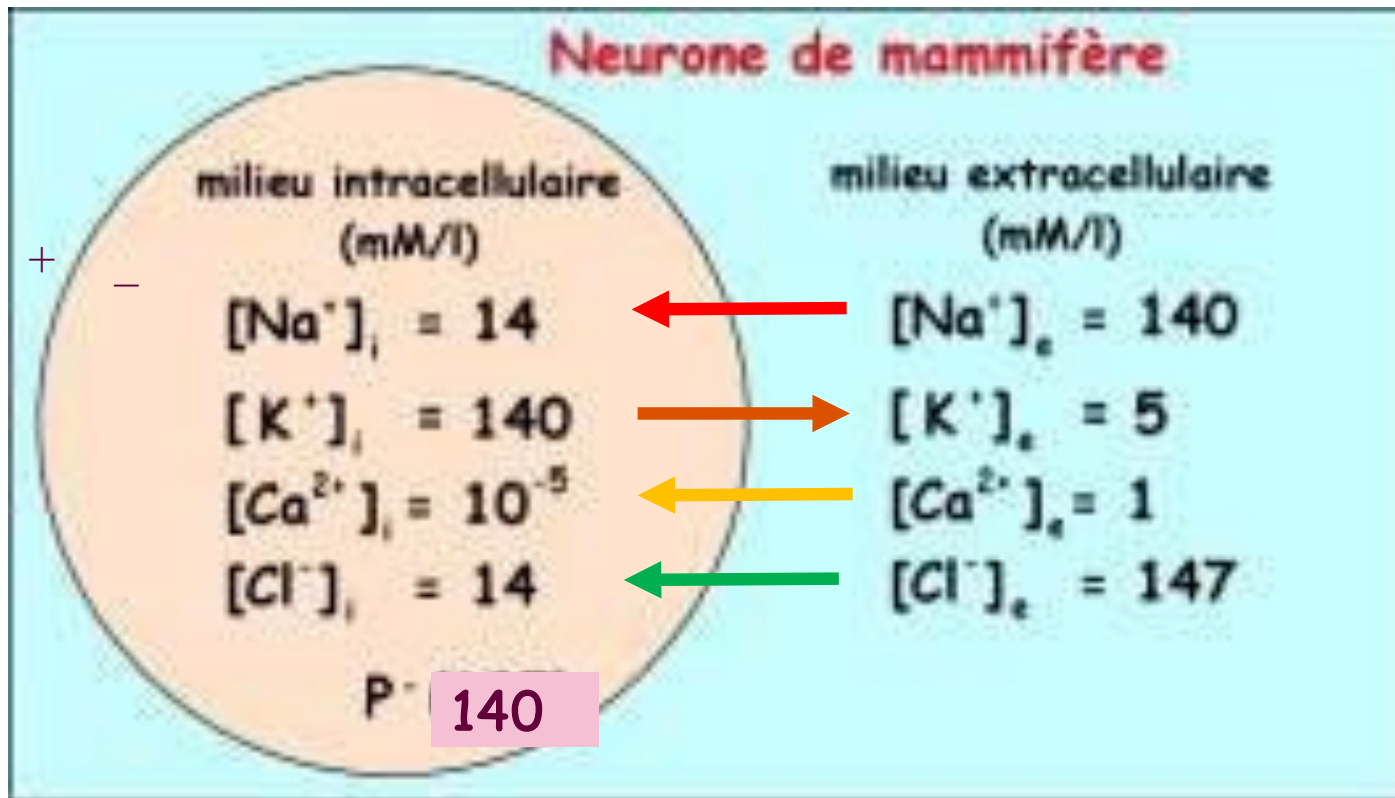
L'équation de Goldman Hodgkin Katz GHK

d) Cas de la cellule animale: arrêt sur le neurone

3) Les origines moléculaires et les propriétés du potentiel d'action

4) La transmission synaptique

Dans la vraie vie



Canaux
Ioniques

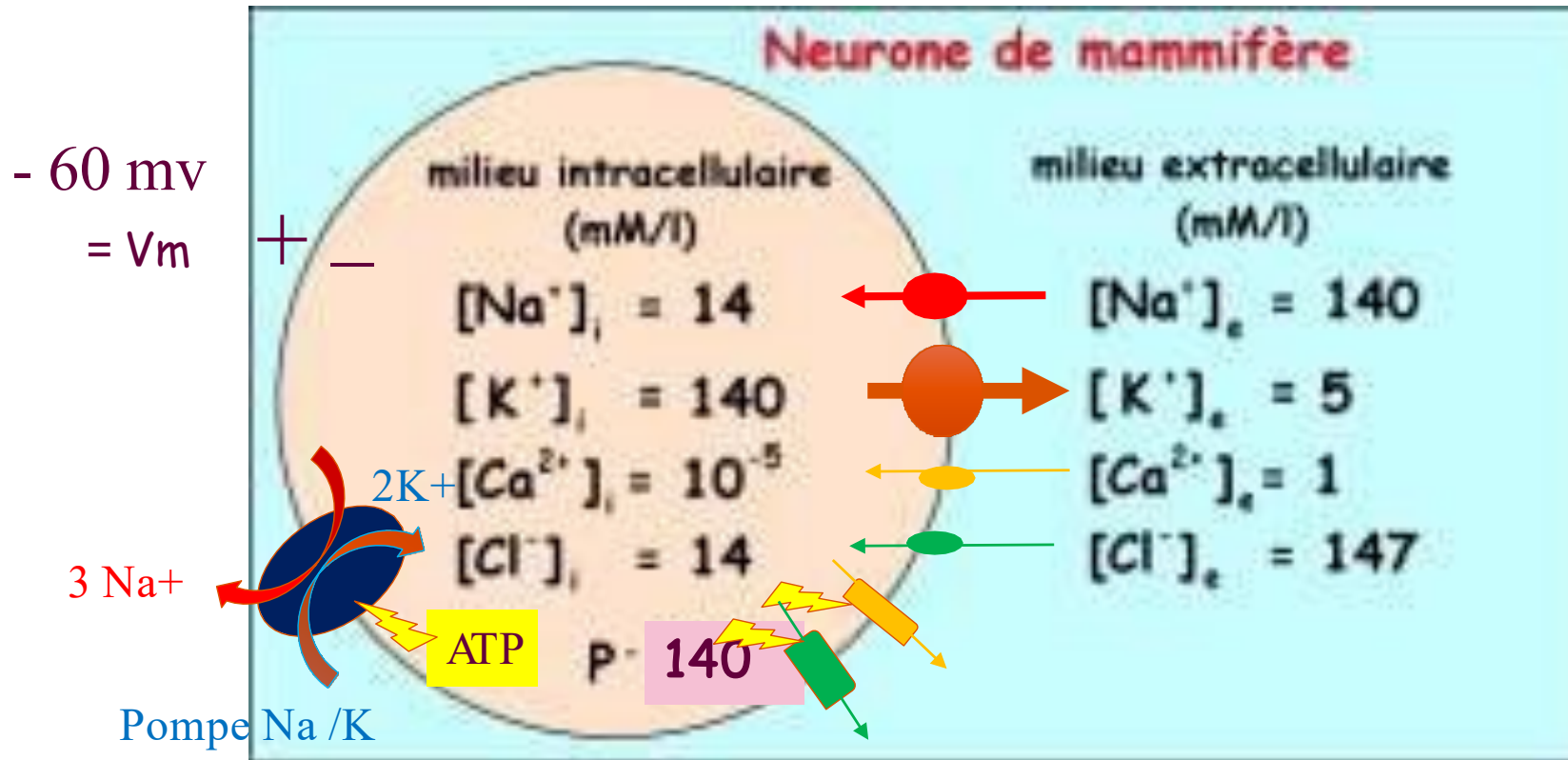
- Sodiques
- Potassiques
- Calciques
- Chlours

Cas de la cellule animale

P^- = Molécules organiques chargées négativement (glut., Asp., Ac.Am., protéines...)
mais également HCO_3^- , PO_3^{2-}

Principe de l'électroneutralité macroscopique

Au repos



Transporteurs

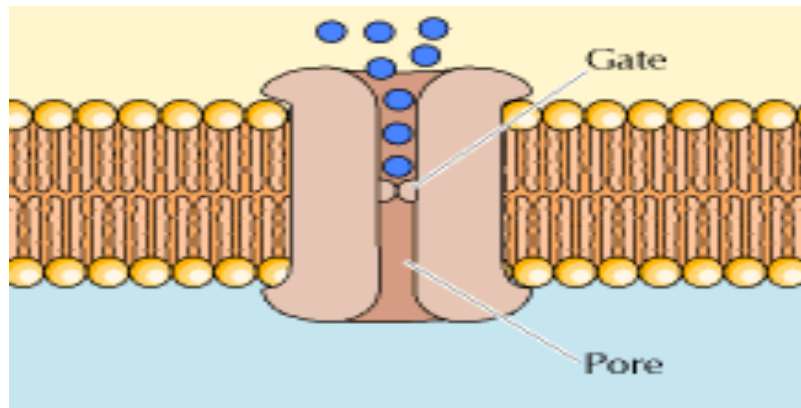
Cotransporteur du chlore K⁺/Cl⁻

Calcium ATPase et cotransporteur Na/Ca

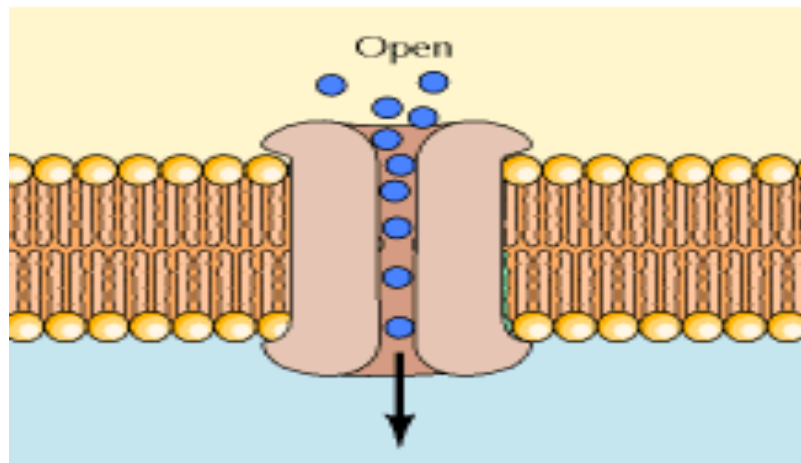
Pompe Na /K

Les canaux ioniques

Un canal ionique existe dans deux états



Fermé



ouvert

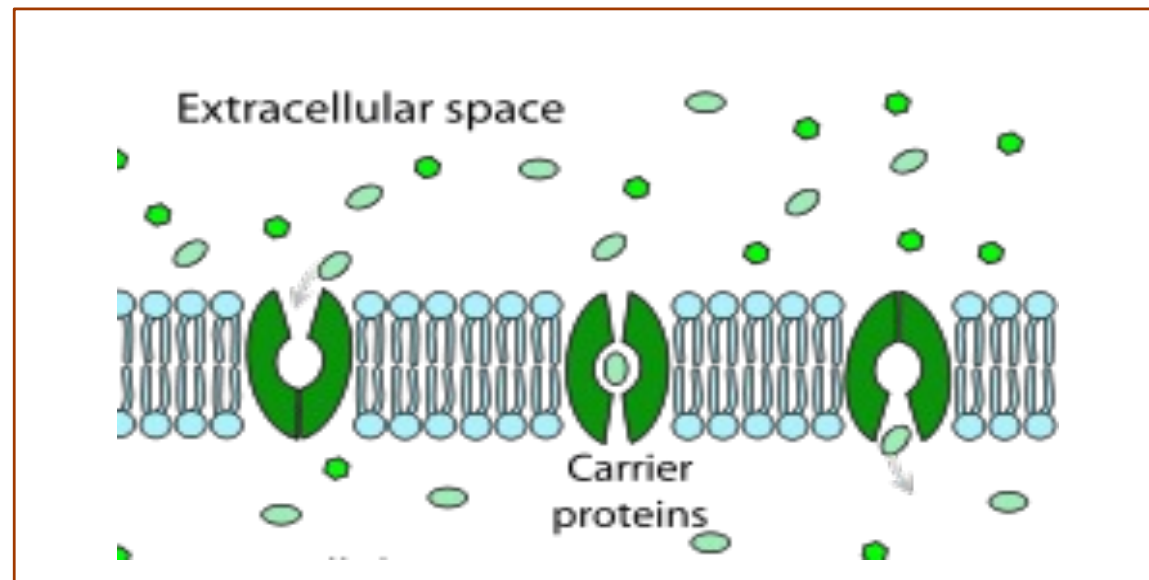
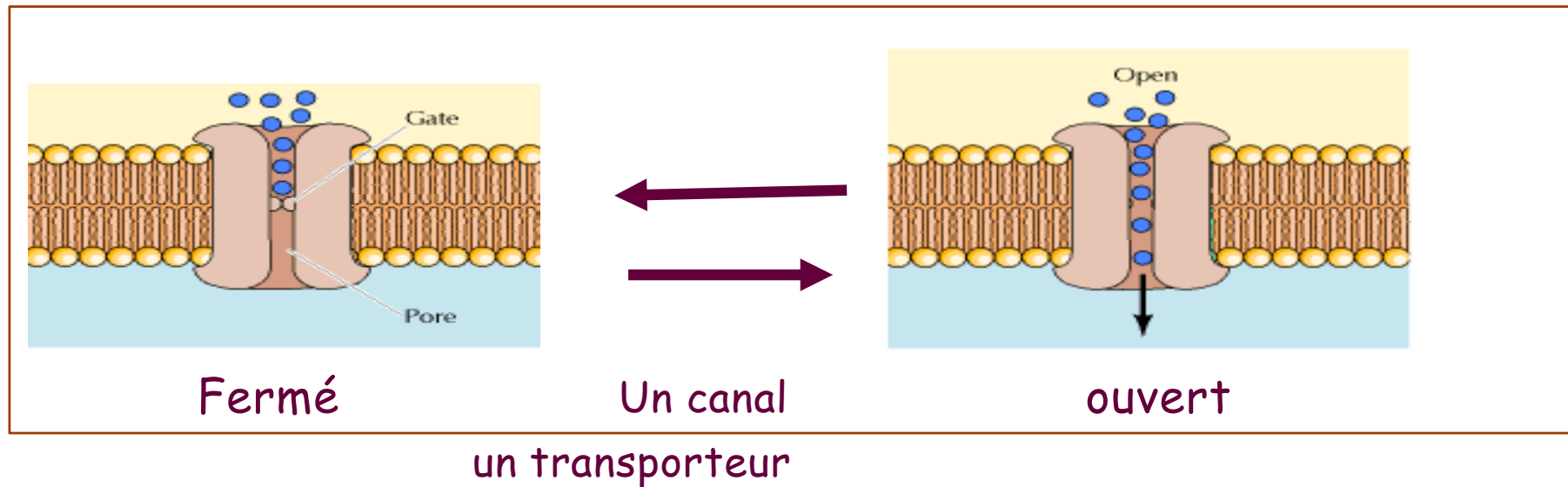
Deux états

Vitesse 10^7 ions par s

Sites simultanément
accessibles sur les
2 faces

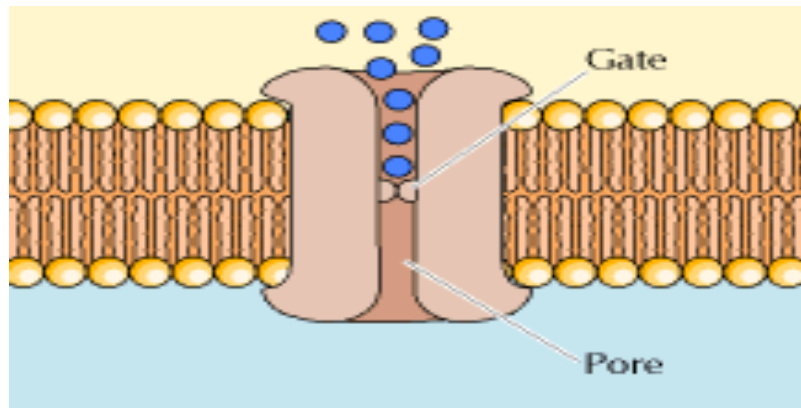
A ne pas confondre avec des
Transporteurs de diffusion
facilitée

Différence mécanistique entre canaux et transporteurs



Les canaux ioniques

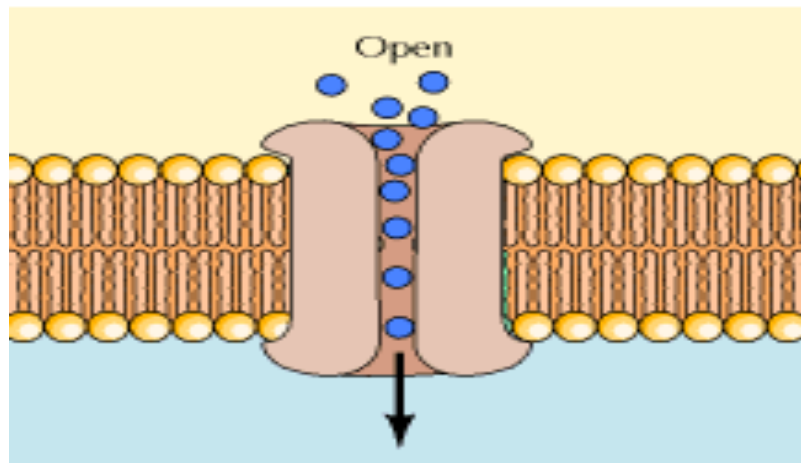
Un canal ionique existe dans deux états



Fermé



ouvert

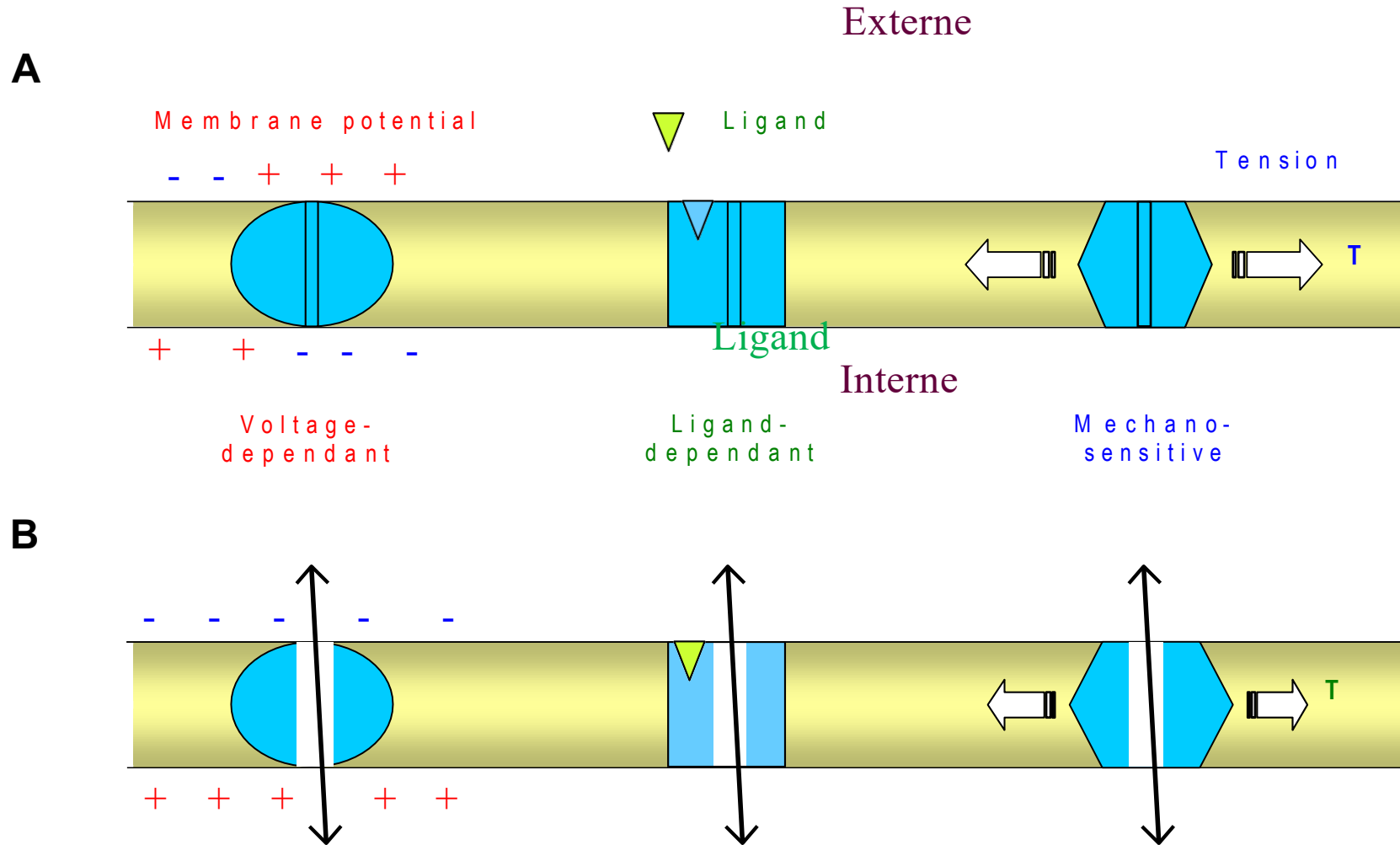


Les canaux de fuite

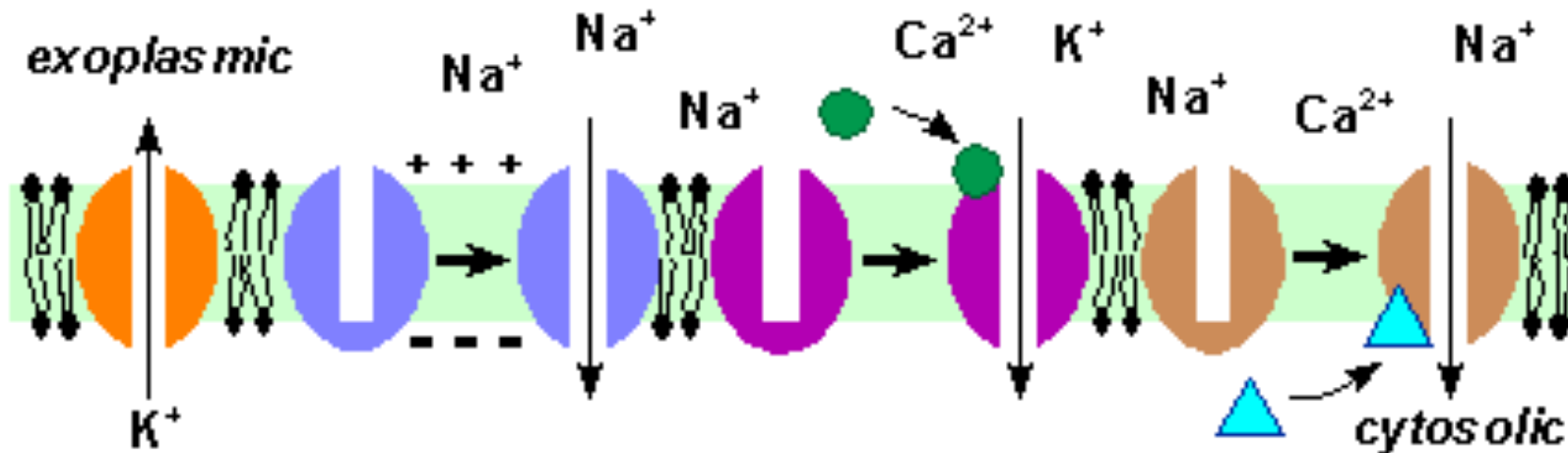
Les canaux à « porte »

Trois catégories de canaux à « porte »

Des exemples



Ion Channels: General Characteristics



resting:
always
open

Canaux
Potassiques
de fuite

Potentiel
de repos

voltage-gated:
responds to
change in
membrane
potential

Canaux sodiques
Et potassiques
dépendant du
potentiel

PA

ligand-gated:
responds to
extracellular
neuro-
transmitter

●
acetylcholine,
glycine,
 γ -aminobutyrate

Transmission synaptique du PA

signal-gated:
responds to
intracellular
signal trans-
duction event

▲
cAMP, cGMP,
 Ca^{2+} , $G\alpha$, $G\beta\gamma$,
inositol- P_3

régulation

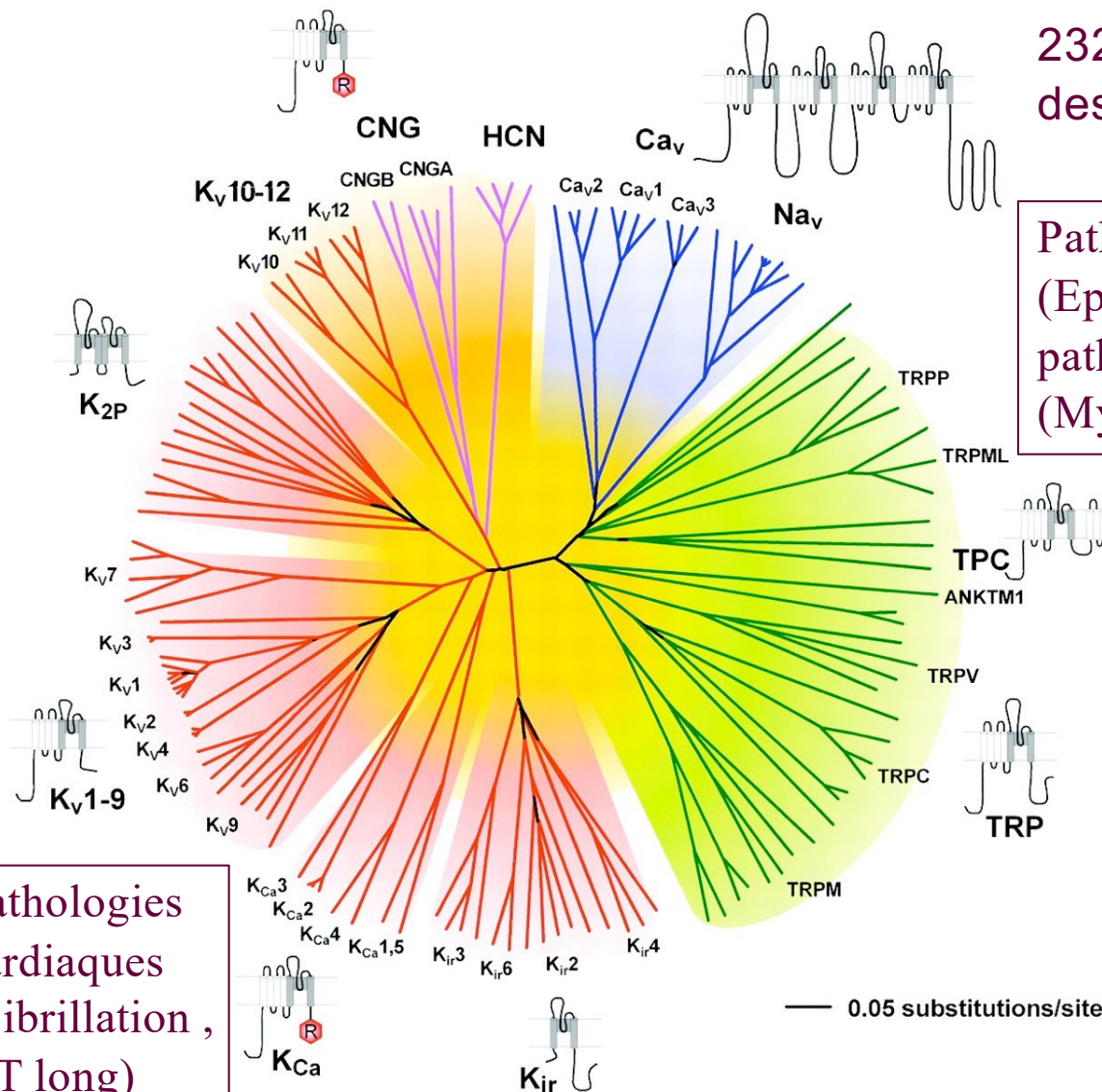
La super-famille des canaux ioniques

232 gènes pour des sous-unités forma
des pores membranaires

Pathologies neuronales
(Epilepsies)
pathologies musculaires
(Myotonie)

1,3 % du génome
- **Diversité**
- **Cibles thérapeutiques**
(~15 % du marché du médicament)

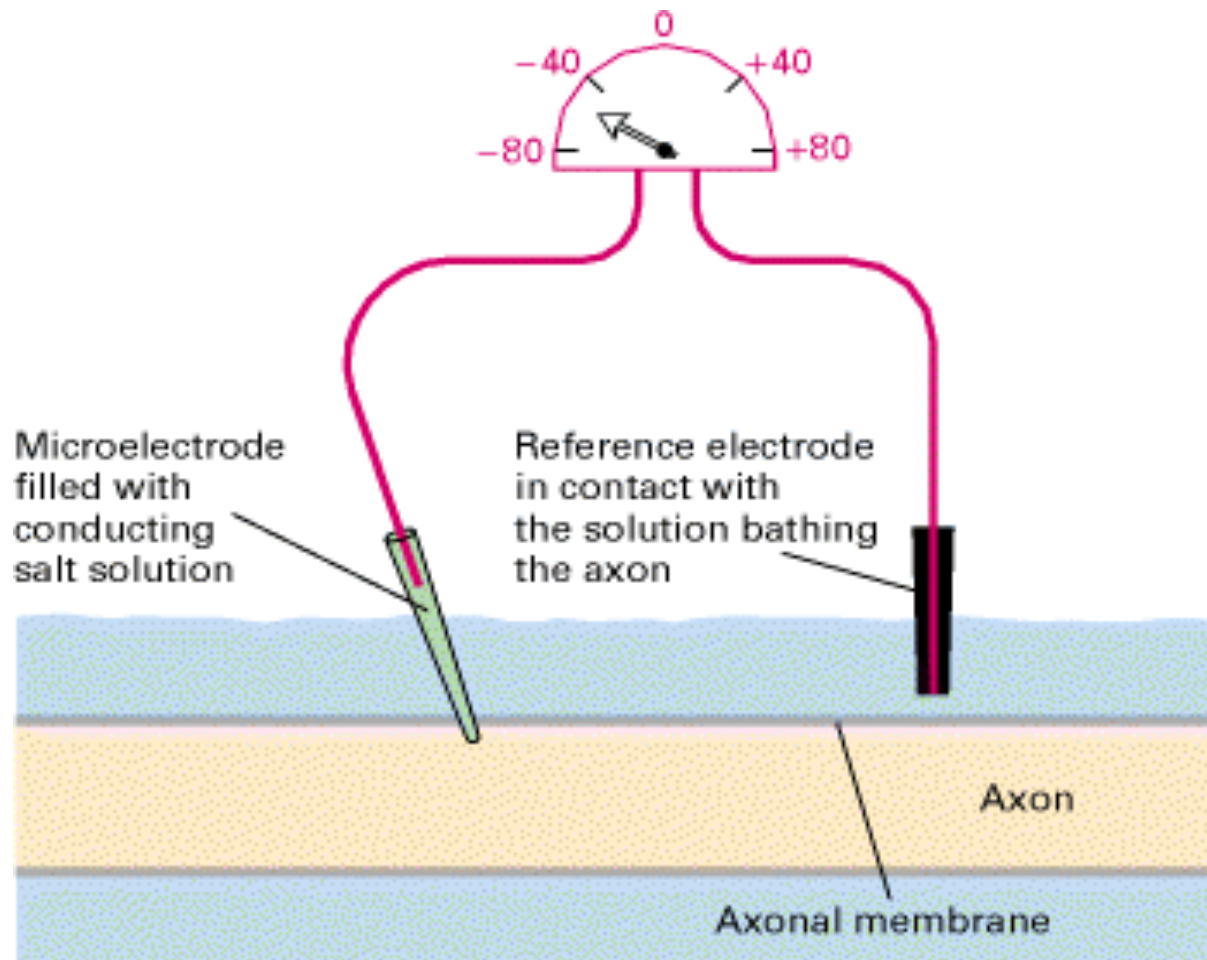
Pathologies
cardiaques
(Fibrillation ,
QT long)



Yu & Catterall *STKE* 2004

Le potentiel de repos (V_m)

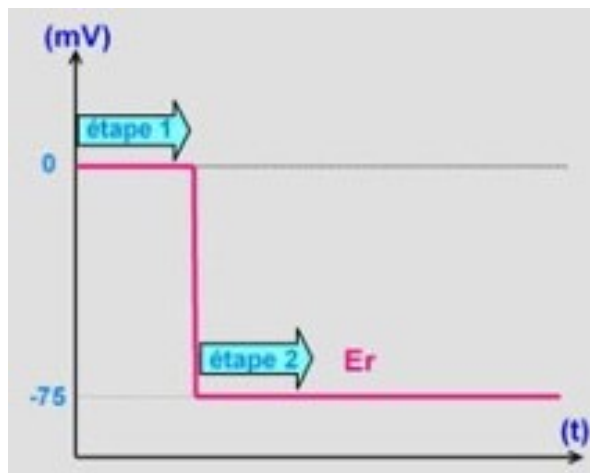
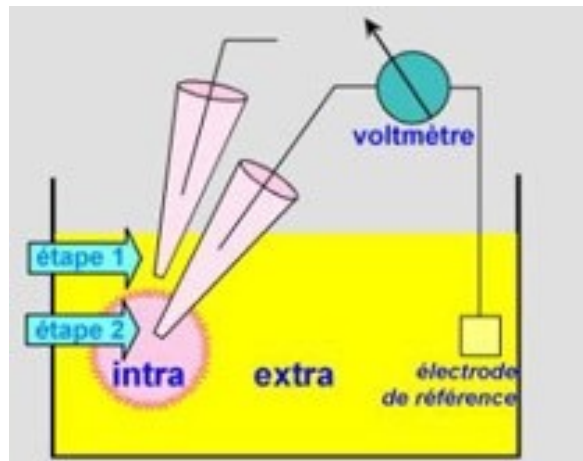
dispositif expérimental de mesure



Toutes les cellules possèdent un potentiel membranaire de repos

Le potentiel membranaire de repos

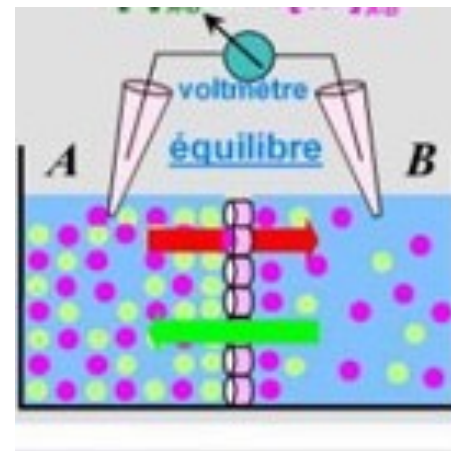
dispositif expérimental de mesure du potentiel membranaire de repos (V_m) et de ses variations dans un neurone



répartition ionique inégale

Neurone de mammifère	
milieu intracellulaire (mM/l)	milieu extracellulaire (mM/l)
$[Na^+]_i = 14$	$[Na^+]_e = 140$
$[K^+]_i = 140$	$[K^+]_e = 5$
$[Ca^{2+}]_i = 10^{-5}$	$[Ca^{2+}]_e = 1$
$[Cl^-]_i = 14$	$[Cl^-]_e = 147$
$P^- (125)$	

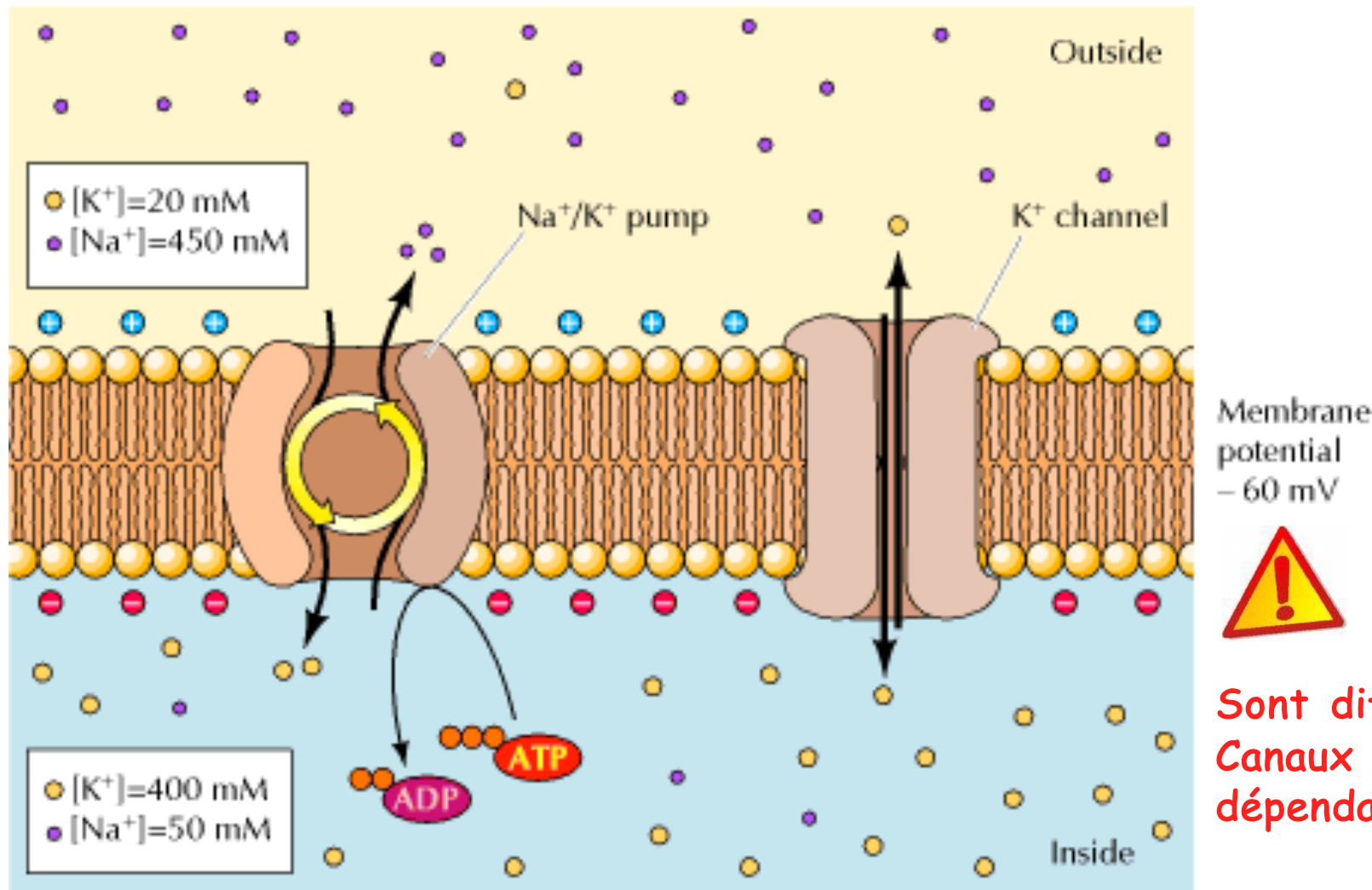
Génèse d'un potentiel de diffusion



à l'équilibre, $d[E]_{A-B} = E_K$

$$E_K = \frac{RT}{ZF} \cdot \text{Log} \frac{[K^+]_B}{[K^+]_A}$$

Potentiel de diffusion est égal au potentiel de Nernst de l'ion le plus perméant



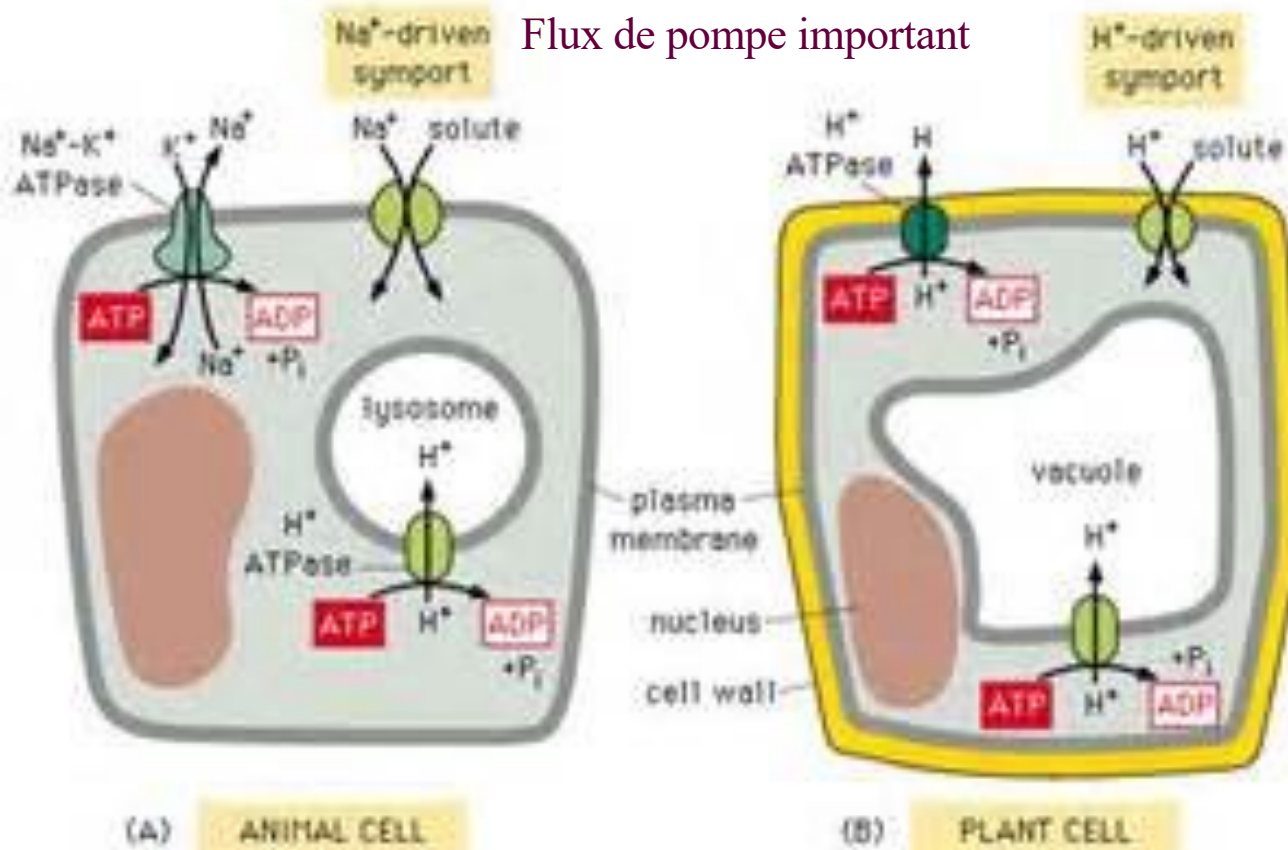
Sont différents des Canaux K^+ potentiel dépendants

Le potentiel de repos de la membrane cytoplasmique des cellules animales

- Une répartition inégale des ions
- Une perméabilité excessive au potassium
- Une pompe qui maintient les gradients stables

Un autre scénario

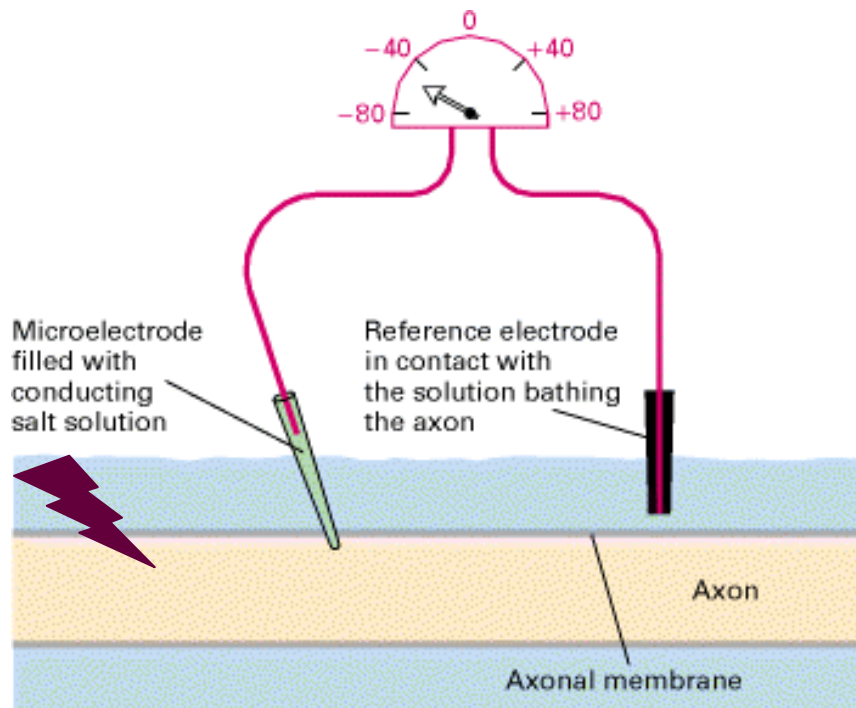
➤ Ex. 2 : Comparaison cellule animale / cellule végétale



Proton transporté activement
Membrane peu perméable aux protons

Le potentiel d'action: ?

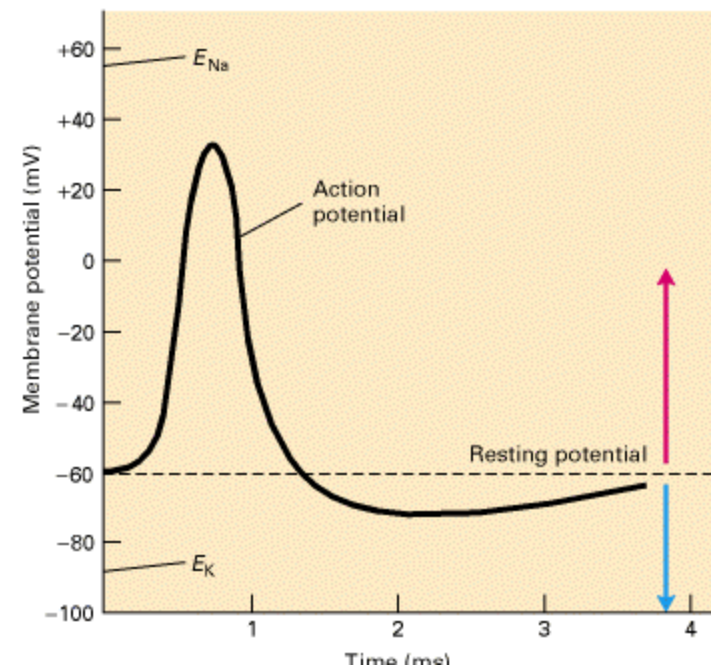
Dispositif expérimental de mesure du potentiel membranaire de repos (V_m) et de ses variations



Trois phases

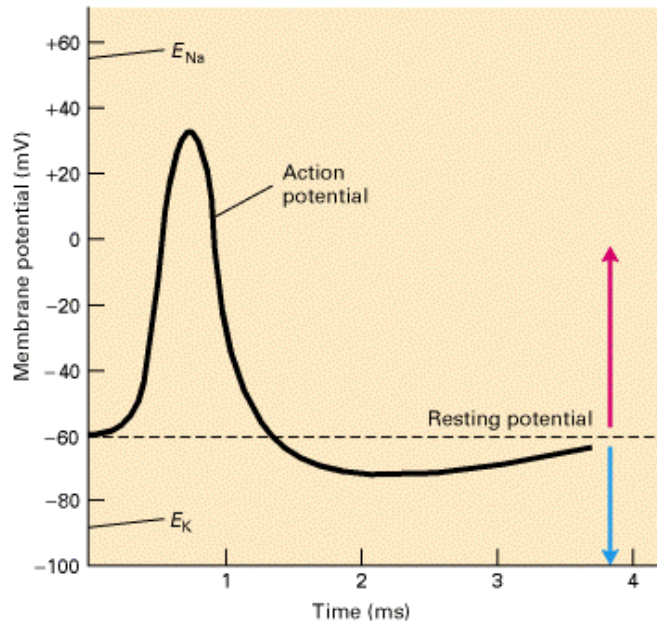
- dépolarisation
- repolarisation
- hyperpolarisation

(a) Depolarization (↑) and hyperpolarization (↓)

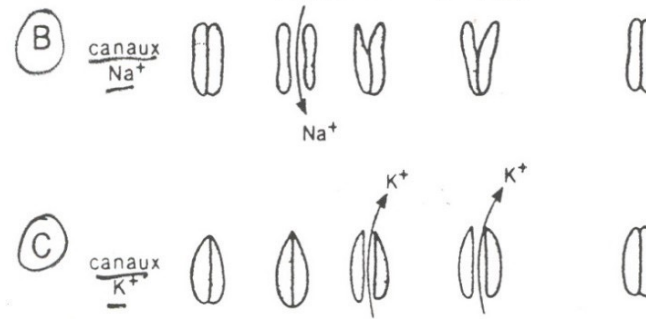
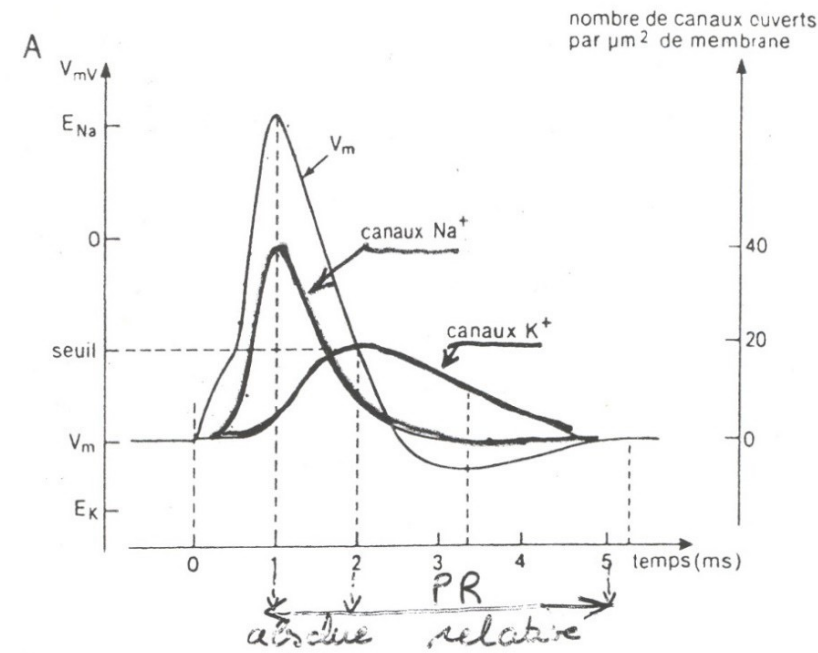
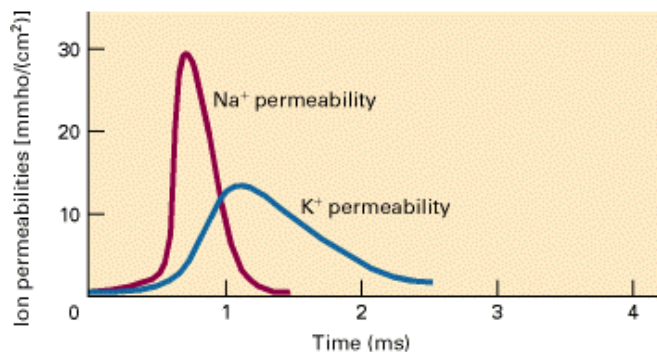


- une variation du V_m dans le temps
- une variation des perméabilités ioniques de la membrane
- une variation de probabilité d'ouverture des canaux ioniques dépendant du potentiel

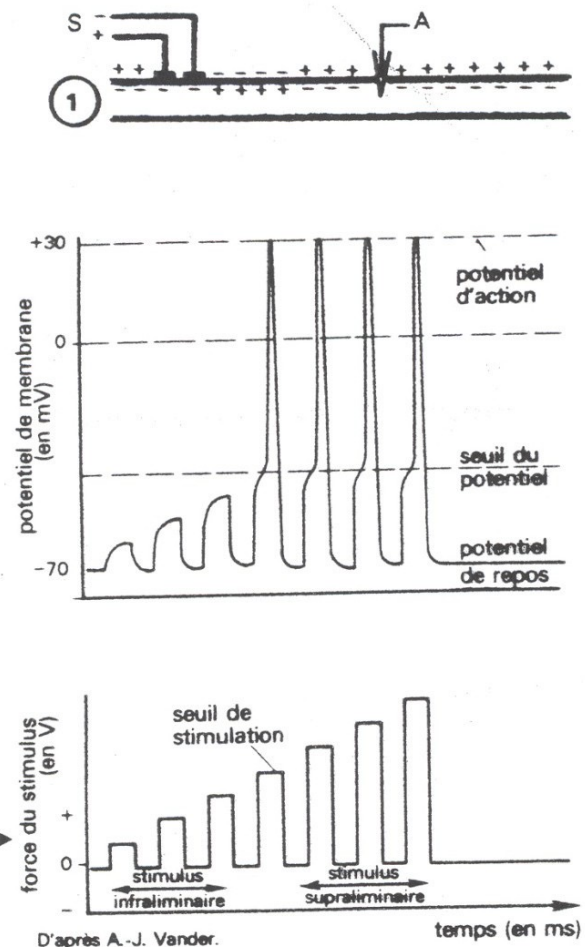
(a) Depolarization (↑) and hyperpolarization (↓)



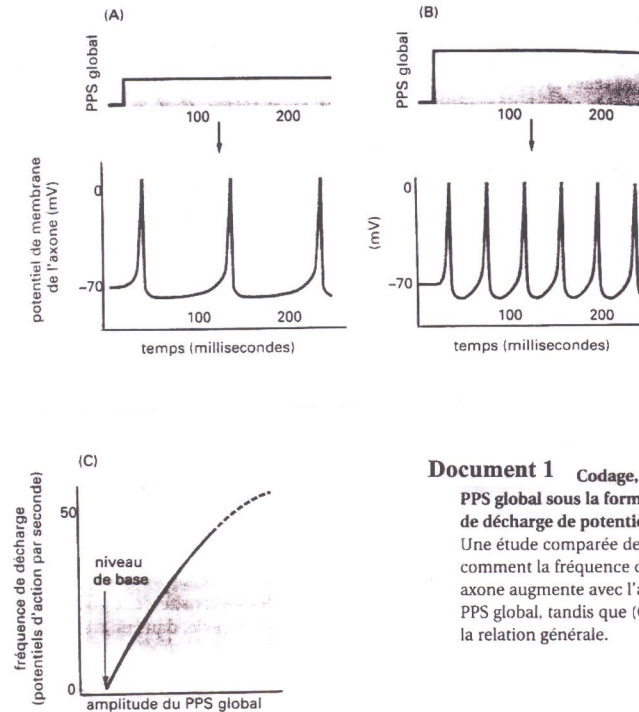
(b) Changes in ion permeabilities



Les propriétés du potentiel d'action



- Existence d'un seuil
- Le potentiel d'action obéit à la loi du tout ou rien

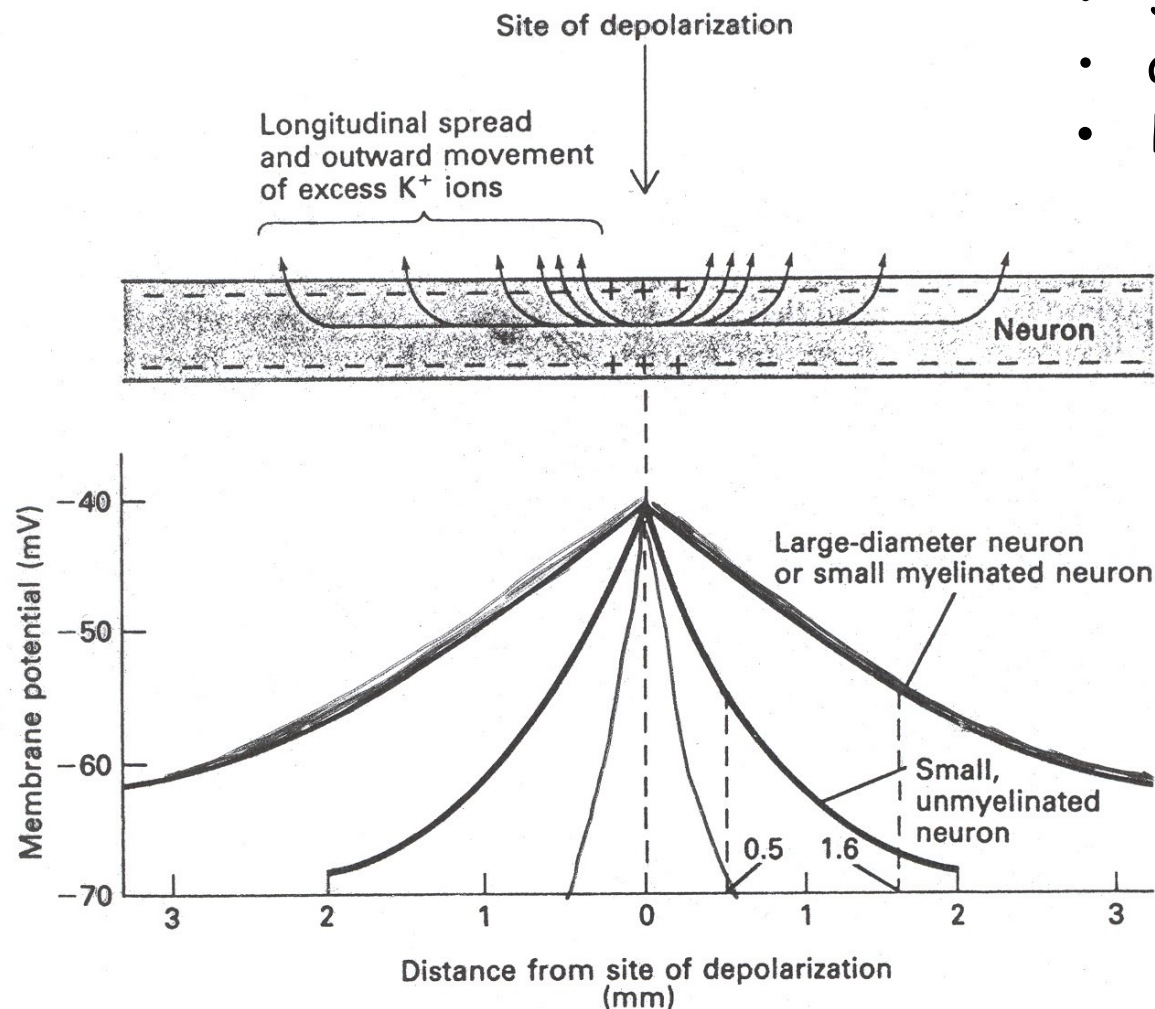


Document 1 Codage, par un axone, du PPS global sous la forme d'une fréquence de décharge de potentiels d'action. Une étude comparée de (A) et (B) montre comment la fréquence de décharge d'un axone augmente avec l'accroissement du PPS global, tandis que (C) résume la relation générale.

- Un codage en fréquence
- Il est capable de se propager -sans perte de l'intensité du signal: (Regénératif)
- De manière unidirectionnelle

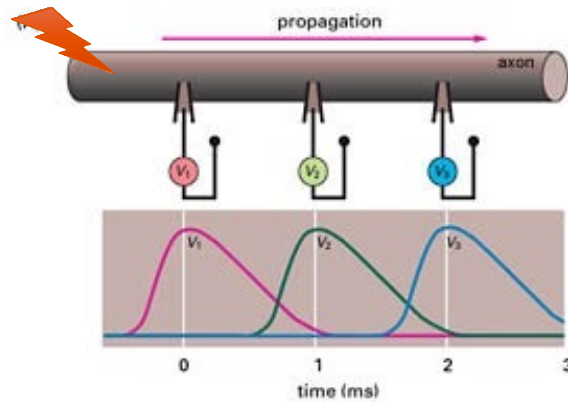
Propriétés de la propagation passive d'une dépolarisation

- bi-directionnelle
- Sur de courtes distances
- avec atténuation du signal
- Propagation décrémente

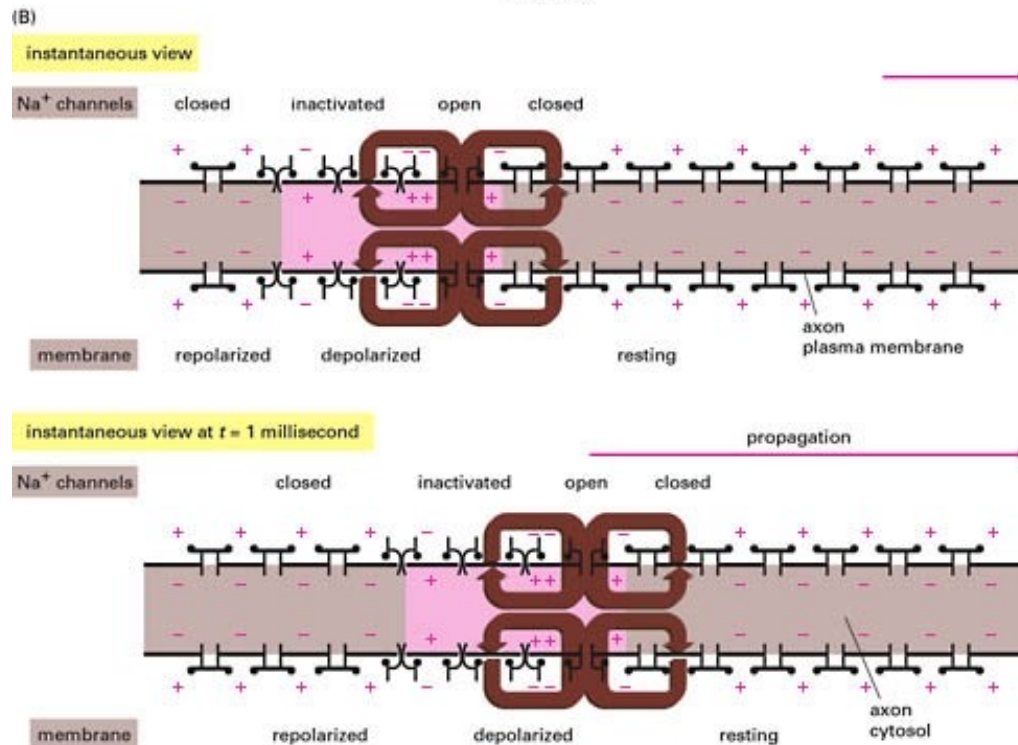


Cas de la propagation des potentiels postsynaptiques

La propagation du potentiel d'action



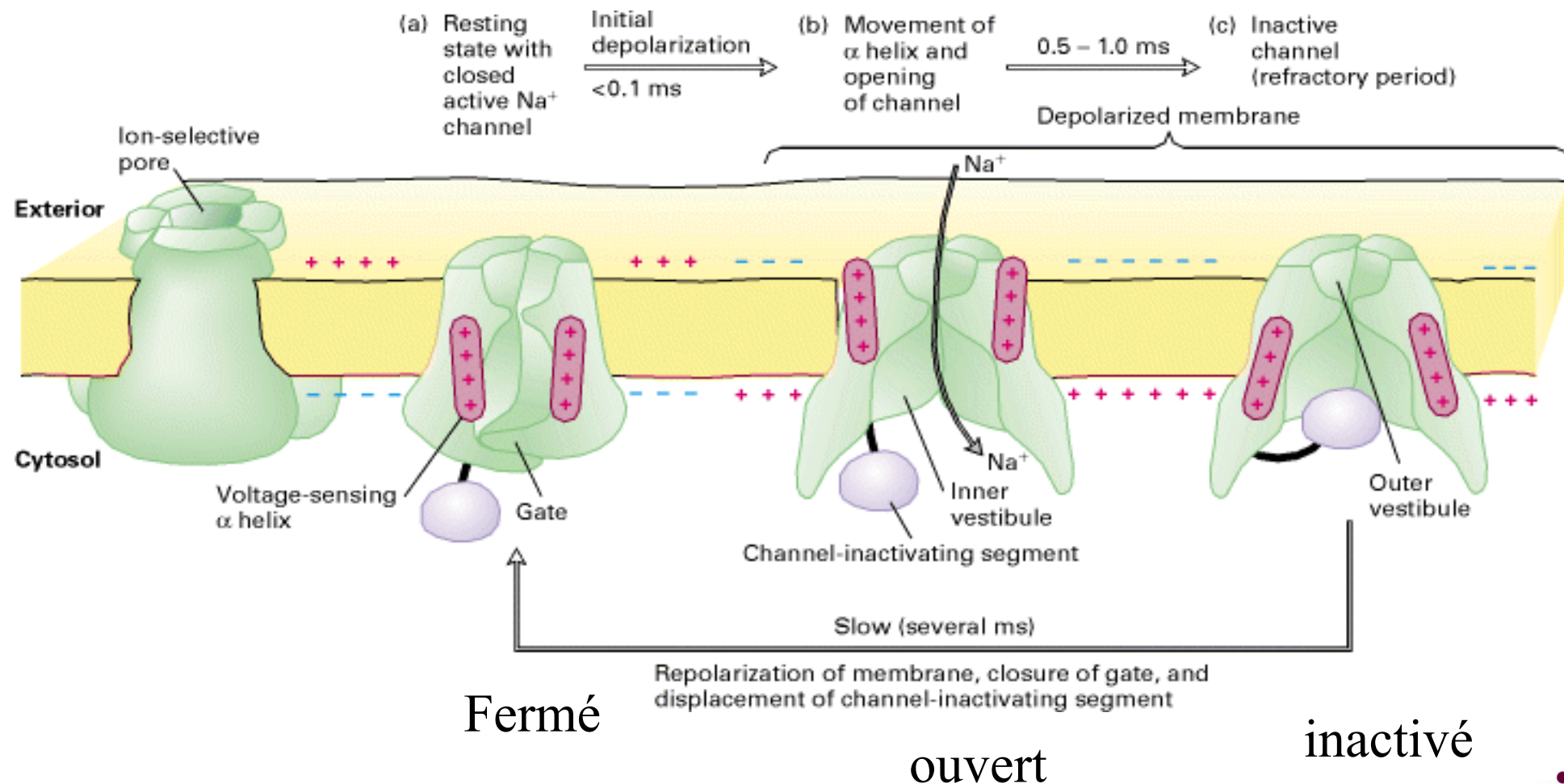
(A) Dispositif expérimental



(B) Une propagation

- régénératrice
- unidirectionnelle
- rapide
- sur de longues distances

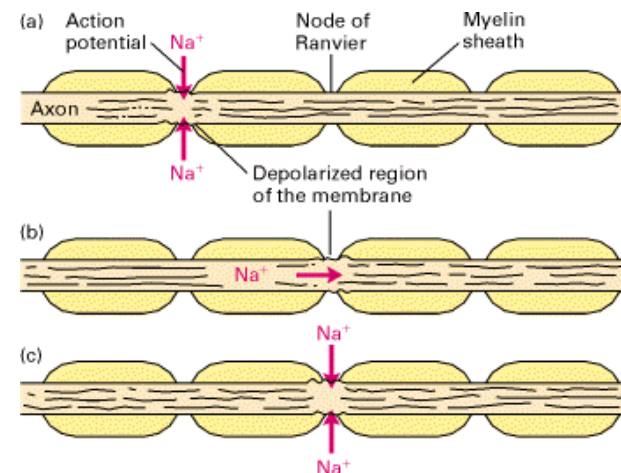
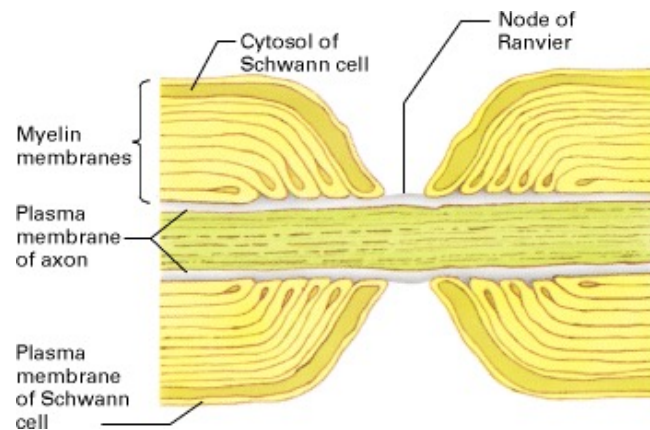
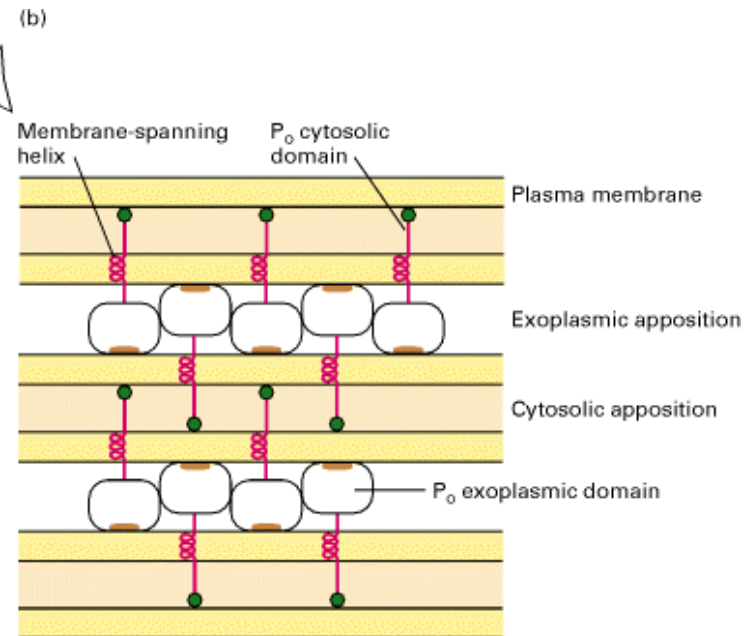
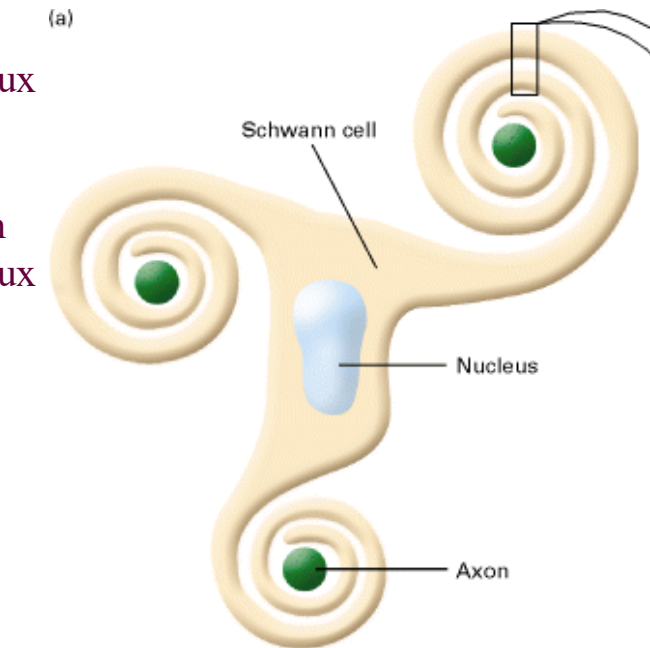
L'inactivation des canaux sodiques: une condition indispensable à la propagation unidirectionnelle du PA



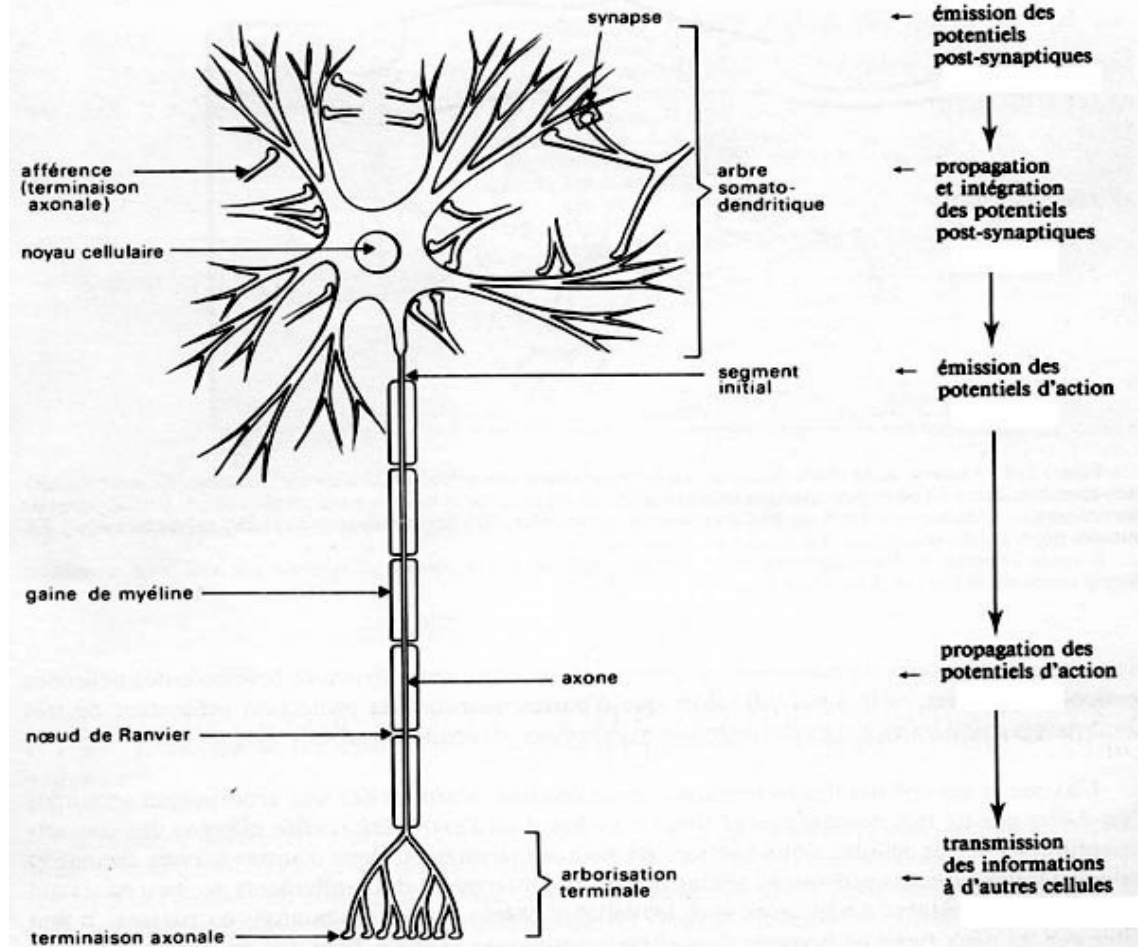
Modulation de la vitesse de propagation du PA: rôle de la myéline -→ conduction saltatoire

Oligodendrocytes
dans système nerveux
Central

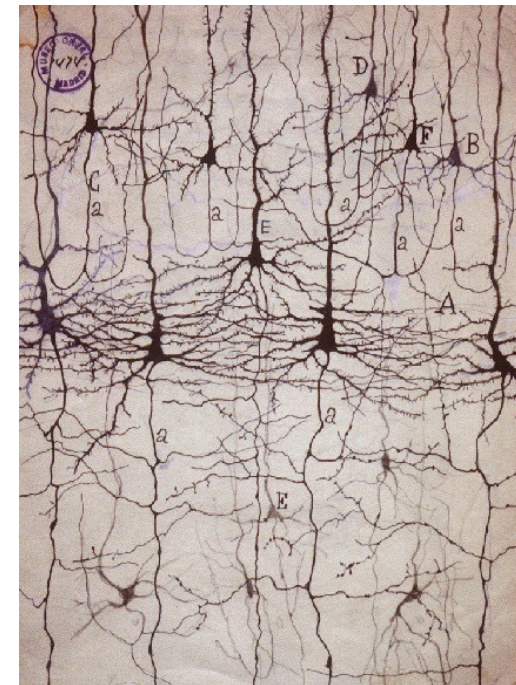
Cellule de Schwann
dans système nerveux
périphérique



Le neurone : une cellule hautement différenciée et spécialisée



Le neurone est une cellule **excitable** et **sécrétrice** qui présente une extrême **régionalisation** de ses fonctions.

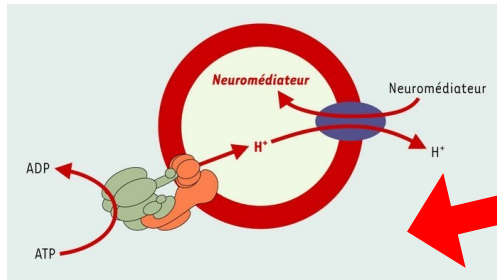


Cortex visuel de chat
Coloration argentique de Golgi

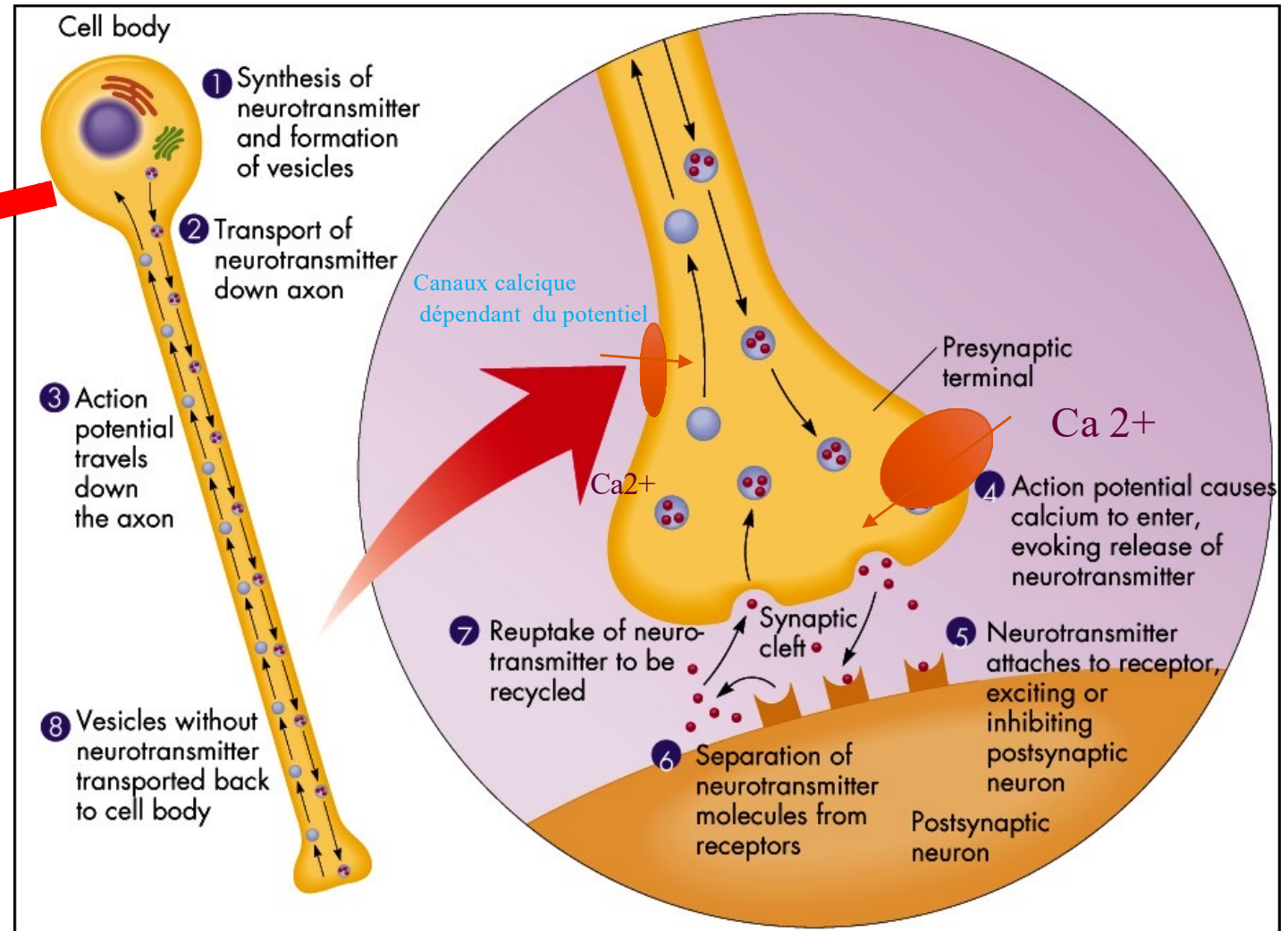
Les fonctions **métabolique**, d'**excitabilité** et de **sécrétion** du neurone sont localisées dans des régions précises.

La transmission synaptique

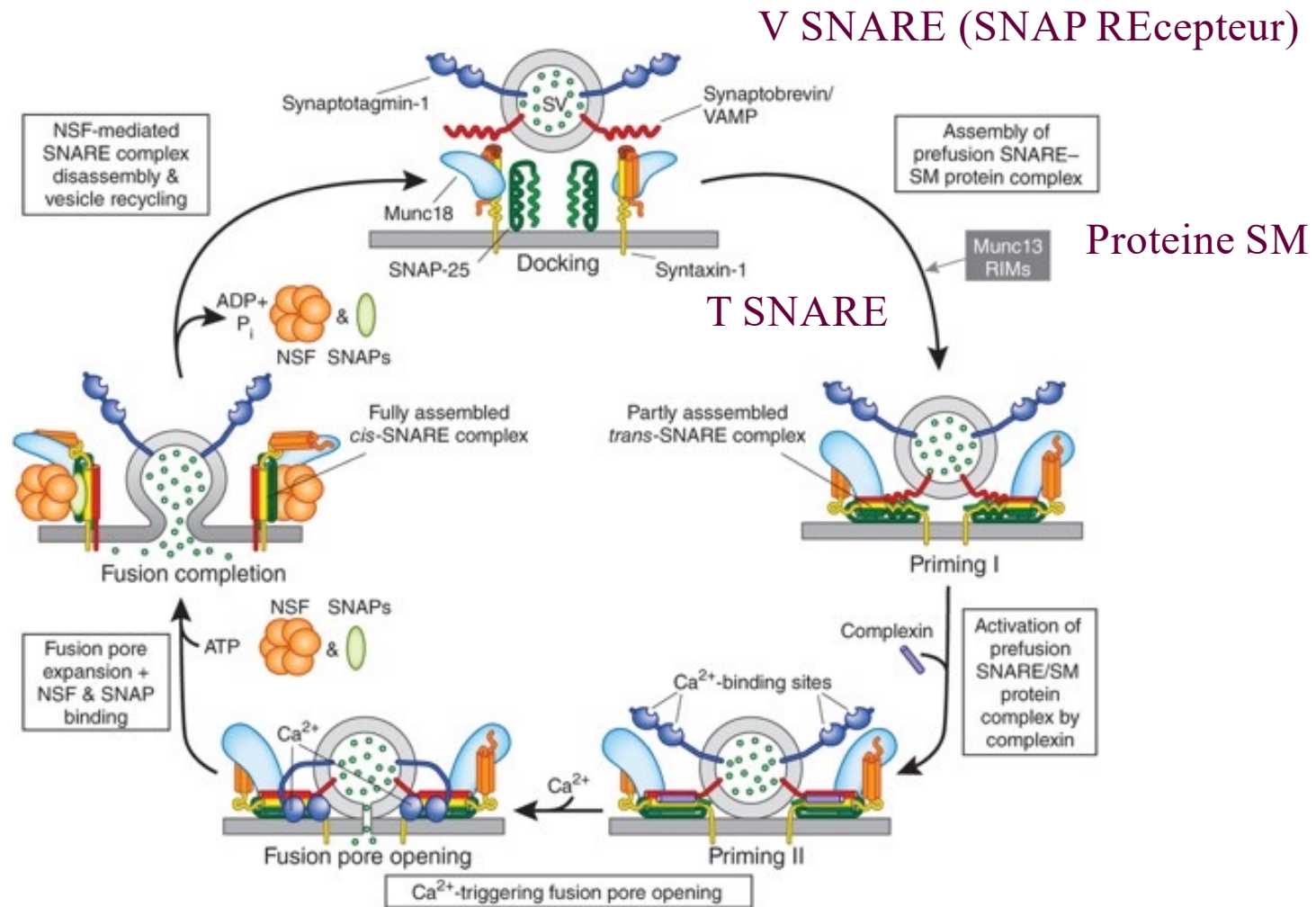
Vésicule de sécrétion



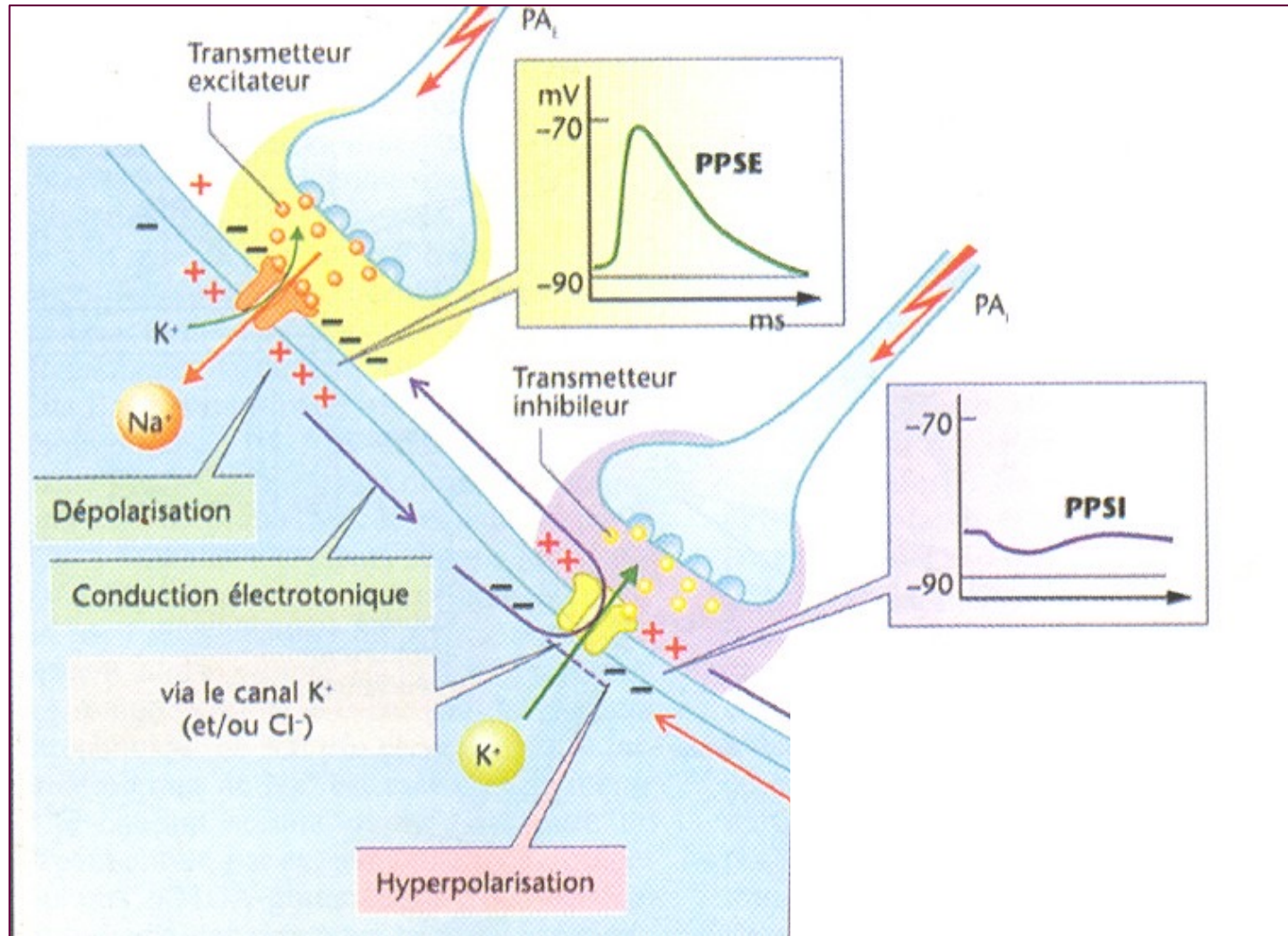
Antiport
proton/neurotransmetteur



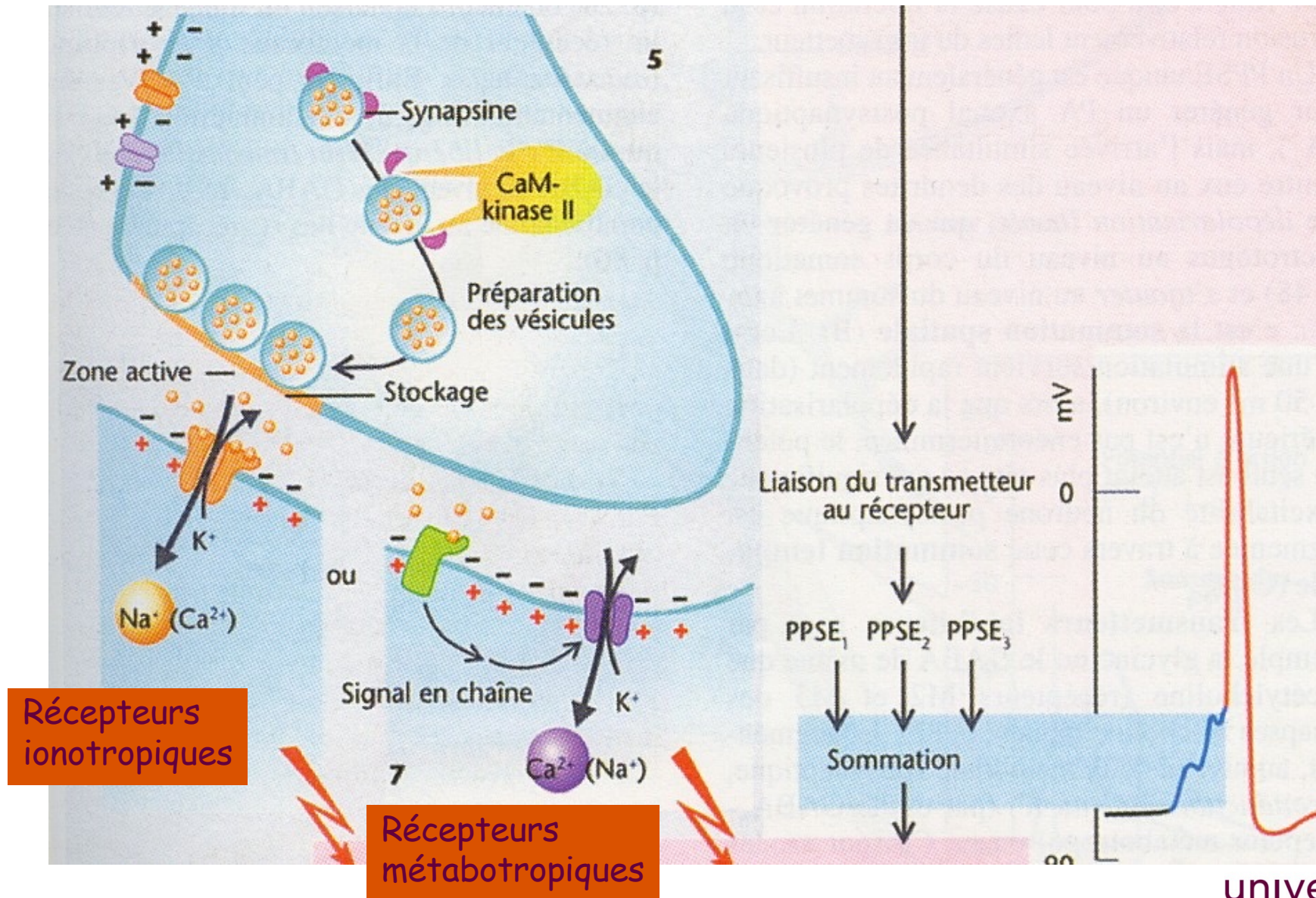
Les mécanismes moléculaires associés à l'exocytose



Les potentiels postsynaptiques

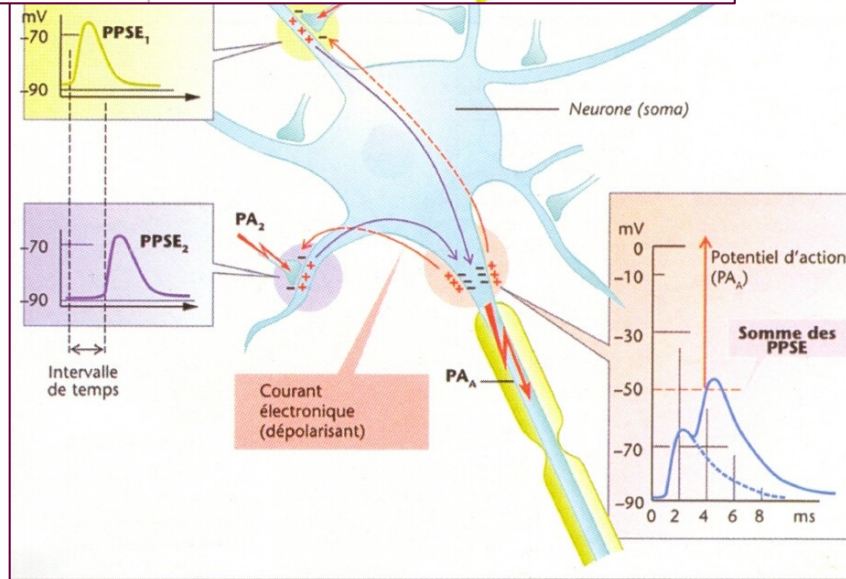
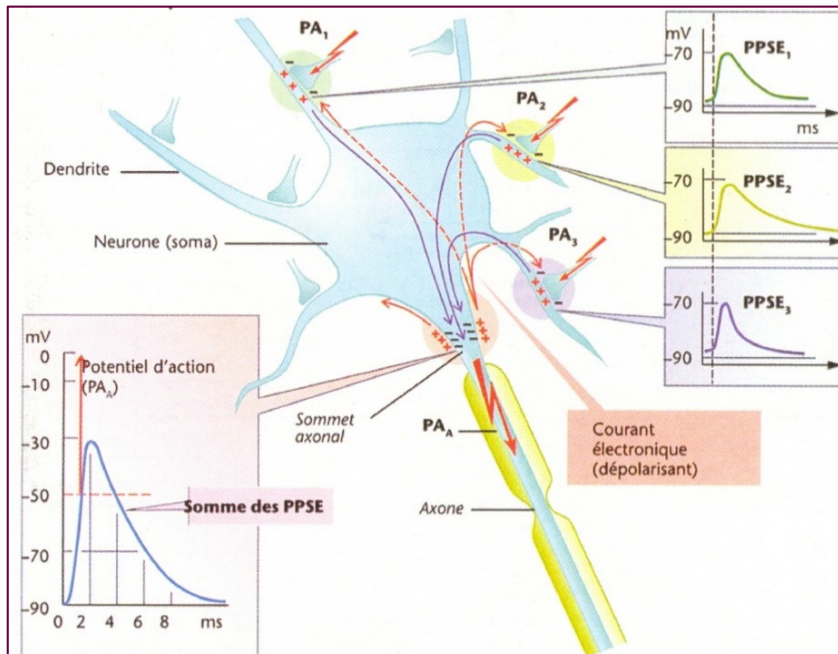


Les évènements postsynaptiques

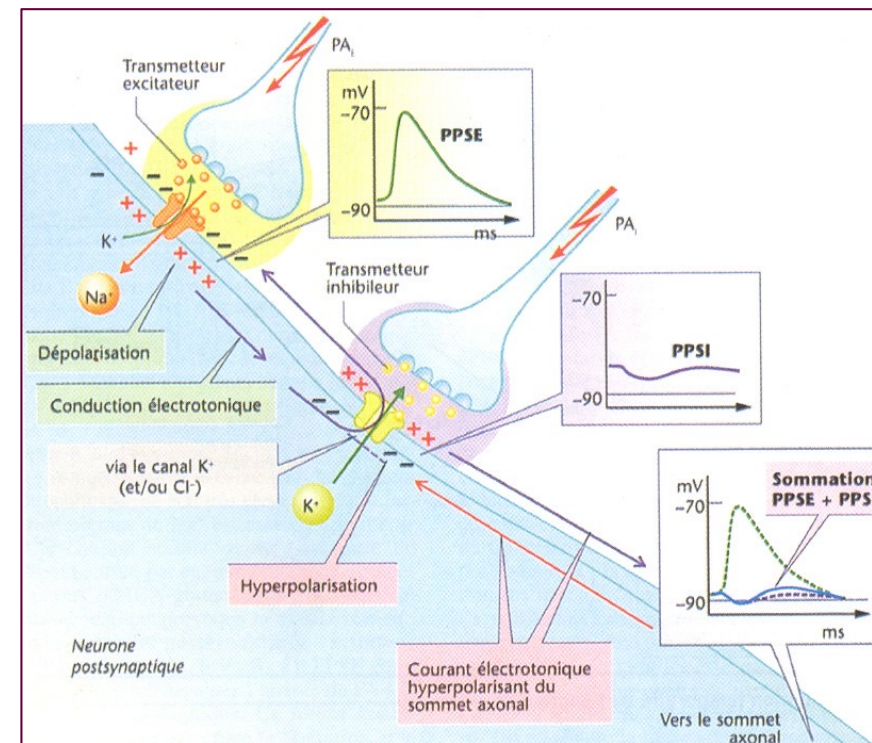


L'intégration de signaux multiples

La sommation spatiale des signaux



La sommation temporelle de signaux



La sommation de signaux antagonistes Les PPSE et les PPSI