



Chapitre 1 – gradients ioniques

Intro chapitre 1 (2:33)

Dans ce premier chapitre, je vous expliquerai les connaissances de base qu'il faut pour comprendre les signaux électriques des neurones et je vous expliquerai aussi les deux seules équations dont vous aurez besoin par la suite. Quels sont les objectifs de ce premier chapitre ? À la fin de ce chapitre, vous saurez ce qu'est un gradient de concentration des ions de part et d'autre de la membrane. C'est un gradient extrêmement important, car il permet le passage des ions qui crée les signaux électriques des neurones. Donc vous saurez aussi c'est qu'est un potentiel de membrane, vous saurez prédire dans quel sens les ions traversent la membrane à un potentiel donné, vous saurez ce qu'est un courant ionique et vous saurez qu'un courant ionique change le potentiel de la membrane. Quels sont les prérequis pour bien comprendre ce cours ? Il faut déjà savoir ce qu'est une cellule, une membrane plasmique, c'est-à-dire des lipides et des protéines, et aussi des ions. Si vous avez quelques notions de base en physique sur résistance, courant, potentiel, c'est encore mieux. Est-ce que tu peux avec un exemple de la vie courante, expliquer ce que sont une différence de potentiel et un courant ? L'analogie la plus simple est sans doute celle entre courant électrique et courant d'eau. Imaginons un château d'eau. Il est rempli d'eau potable grâce à une pompe qui monte l'eau tout en haut du château d'eau. Cette eau peut ensuite descendre par gravité et être distribuée à toutes les maisons qui sont raccordées à l'eau courante. La différence d'altitude entre le haut du château d'eau et la tuyauterie des maisons permet à l'eau de couler passivement du château d'eau vers les maisons. Et cette eau arrive avec un certain débit, qui est un volume par minute, qui va dépendre du diamètre des canalisations : plus le diamètre de la tuyauterie sera faible, plus le débit d'eau sera faible. En biologie, il ne s'agit pas de circulation d'eau, mais une circulation d'ions qui sont des molécules chargées. La différence d'altitude devient une différence de potentiel de part et d'autre de la membrane. Le courant d'eau passif, c'est un courant d'ion passif à travers la membrane. L'intensité du courant correspond au débit des ions, donc au nombre de charges + ou par seconde, et la résistance à l'écoulement de l'eau correspond à la résistance au passage des ions à travers la membrane. Cette analogie n'est pas parfaite parce que les ions sont des molécules chargées, ce qui complique un peu les choses. Mais au moins, ça a permis d'appréhender l'essentiel, c'est-à-dire résistance, potentiel et courant. Quelles ressources sont mises à disposition pour ce premier chapitre ? Sont prévus des vidéos de cours, des quiz, exercices d'application, des annexes pour revoir quelques notions clés et un lexique pour expliquer les termes scientifiques.

Ch.1-1 : Observations et hypothèses (9:04)

Pour certaines personnes, ce premier cours peut sembler un peu ardu, parce qu'il y a deux équations mathématiques, mais ce sont les deux seules équations que vous utiliserez par la suite pour tous les cours de ce MOOC.



NEUROPHYSIOLOGIE CELLULAIRE

CONSTANCE HAMMOND

Commençons par ces fameux ions. Quels sont-ils ? Le milieu intracellulaire, c'est-à-dire le cytoplasme des neurones, et le milieu extracellulaire renferment des ions. Quels sont ces ions qui traversent la membrane neuronale ? On les trouve dans le milieu intracellulaire, c'est-à-dire dans le cytoplasme des neurones, et dans le milieu extracellulaire, qui se trouve autour des neurones. Ces ions sont notamment des ions sodium Na^+ , des ions potassium K^+ , des ions calcium Ca^{2+} et des ions chlorure Cl^- . Ici, ces trois premiers ions sont chargés positivement, le dernier est chargé négativement. Il se trouve que ces ions sont inégalement répartis de part et d'autre de la membrane neuronale.

On voit que les ions sodium, ici, sont en beaucoup plus forte concentration à l'extérieur qu'à l'intérieur. C'est la même chose pour les ions chlorure, et la même chose pour les ions calcium qui sont en beaucoup plus forte concentration à l'extérieur qu'à l'intérieur des neurones. La situation pour le potassium est totalement différente, puisqu'ils sont beaucoup plus concentrés à l'intérieur qu'à l'extérieur des neurones.

Malgré ces différences de concentration, il y a une électroneutralité dans chaque compartiment. Donc, vous pouvez stopper la vidéo pendant quelques secondes et calculer la concentration en ions positifs à l'extérieur par rapport aux ions négatifs, et de même à l'intérieur. Si on fait ce calcul, on voit qu'à l'extérieur il n'y a que 146 millimolaires d'ions chargés +, et que ceci est la même chose pour les ions chargés -. J'écris d'une façon, un petit peu... pas orthodoxe. Et à l'intérieur, on voit par contre une grosse différence, c'est-à-dire qu'il y a 154 millimolaires d'ions chargés +, alors qu'il n'y a que 14 millimolaires d'ions chargés -, qui sont ici, les chlorures.

Et c'est parce que, en fait, il y a à l'intérieur des anions, qui ne sont pas des ions notés ici. Ce sont des anions organiques, par exemple, comme des acides aminés chargés négativement, des protéines chargées négativement, des acides nucléiques ou bien encore des ions comme HCO_3^- ou HPO_4^{--} . Et finalement, il y a une électroneutralité aussi à l'intérieur des neurones.

Les différences de concentration ioniques entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane que nous venons de voir sont, chez l'adulte, maintenues constantes. Par quels mécanismes, ces concentrations sont-elles maintenues constantes ? Première hypothèse : soit, c'est parce que les ions ne traversent pas la membrane, donc il n'y a rien à réguler. Soit les ions traversent la membrane et il y a un système qui fait que les concentrations sont maintenues constantes. Donc nous allons analyser ces hypothèses une à une.

Afin de savoir si des ions traversent la membrane, on fait l'expérience suivante : on prend un axone géant de calmar - c'est un axone de très gros diamètre, donc c'est facile pour les études - et on le plonge dans un bain contenant du sodium radioactif que l'on voit ici Na^* . L'idée est la suivante : si les ions traversent la membrane, on devrait retrouver du sodium radioactif à l'intérieur de l'axone. Donc, qu'est-ce que l'on fait ? On stimule l'axone, et ce que l'on voit, c'est qu'au bout d'un moment, il y a du sodium radioactif qui est apparu à l'intérieur, que l'on peut mesurer. Cela veut dire que du sodium est passé à travers la membrane et est entré dans l'axone.

Ce passage d'ions sodium vers l'intérieur de l'axone est insensible au blocage de l'énergie, que l'on va voir un petit peu plus tard, donc il suffit de bloquer la production d'ATP, et on voit que c'est totalement insensible. Il s'agit donc d'un transport passif d'ions vers l'intérieur de l'axone. S'il y a un transport passif



d'ions vers l'intérieur de l'axone, les concentrations vont changer. Donc, quel est le système qui fait que ces concentrations restent constantes ?

Maintenant, on fait l'expérience inverse, on prend un axone géant de calmar, qui est chargé en ions sodium radioactifs, et on le met dans de l'eau de mer normale. On regarde si du sodium sort dans cette eau de mer normale, en calculant cet efflux de sodium par surface d'axone et par unité de temps. Et on constate que, effectivement, il apparaît dans le milieu extracellulaire des ions sodium radioactifs. Ceci veut dire que les ions sodium sont sortis.

Cette sortie d'ions sodium, est-ce que, comme tout à l'heure, c'est une sortie passive, qui n'a pas besoin d'énergie, ou bien est-ce que c'est un système différent ?

Pour le savoir, on met un bloquant de la production d'ATP, qui s'appelle le dinitrophénol. On le voit ici. On le met, et on constate que dès qu'on le met, il y a une suppression de cet efflux de sodium qui va vers 0. Et dès qu'on l'enlève, cela reprend la pente normale.

Donc, l'efflux de sodium que nous avons constaté dans cette expérience est dépendant de la production d'ATP, et donc utilise de l'ATP pour faire de l'énergie, ADP plus phosphate inorganique, et cette énergie sert à transporter le sodium vers l'extérieur.

Plus exactement, c'est ce qu'on appelle la pompe sodium-potassium c'est-à-dire qu'elle échange, ici, donc, le sodium sort et le potassium entre en même temps. Cela permet de rétablir les concentrations sodium et de potassium continuellement. Le sodium était entré passivement, il ressort par transport actif. Le potassium, nous verrons qu'il sort passivement, il va rentrer par transport actif. Et en fait, ceci est vrai pour tous les ions, que ça soit des ions sodium, potassium, calcium... Il y a aussi des pompes calcium et il y a aussi des pompes pour les ions chlorures. Donc, si les concentrations ioniques sont maintenues de part et d'autre de la membrane, constantes, ce n'est pas parce que les ions ne traversent pas la membrane, mais c'est parce qu'ils traversent la membrane passivement, et activement ils sont rejetés de là où ils viennent, grâce à l'utilisation d'une source d'énergie.

En résumé, si on considère les ions sodium, on a vu que ces ions sodium entrent dans la membrane de manière passive, sans avoir besoin d'énergie, et ressortent de manière active grâce à des pompes et ici, ils entrent à travers des canaux. Nous allons revoir tout cela ensuite. Donc ils entrent, ils ressortent, les concentrations restent constantes. Et c'est la même chose pour tous les ions, ce n'est pas forcément dans le même sens, mais c'est la même chose pour tous les ions. Donc, il existe toujours, en sens inverse du passage passif, un transport actif, qui, lui, nécessite de l'énergie.

Les ions sodium, potassium, chlorure, calcium passent à travers la membrane. Comment passent-ils à travers la membrane ? Est-ce qu'ils diffusent à travers les lipides de la membrane, ou est-ce qu'il faut des protéines dans cette membrane pour qu'ils passent à travers la membrane ?

On synthétise une bicouche lipidique, qui ne comprend aucun canal, aucune protéine, et on la place dans une cuve, avec un compartiment à gauche qui contient du sodium radioactif, et un compartiment à droite qui n'en contient pas du tout.

Et comme dans l'expérience précédente, on va voir : est-ce que le sodium radioactif passe de la gauche vers la droite ? Or, on se rend compte qu'absolument pas. Ici, on ne retrouve aucun sodium radioactif



dans le compartiment de droite. Ceci veut dire que la bicouche lipidique est imperméable aux ions sodium, et si on refait avec d'autres ions, on se rendra compte qu'elle est imperméable à tous les ions.

Donc pour qu'il y ait passage des ions à travers la membrane, il semble qu'il faille des protéines dans cette bicouche lipidique. Donc, maintenant on refait la même expérience, mais on a une bicouche lipidique dans laquelle on a intégré des protéines, beaucoup de protéines, et notamment ce qu'on appelle des canaux ioniques. Et à ce moment-là, on se rend compte que le sodium radioactif passe de l'autre côté, et qu'on retrouve ici des molécules de sodium radioactif à droite. Donc, grâce à certaines protéines transmembranaires qui s'appellent des canaux ioniques, la bicouche lipidique peut laisser passer des ions.

Ici, il s'agit bien d'un transport passif d'ions. Il n'y a pas besoin d'énergie pour ça. Ces canaux ioniques sont des protéines qui délimitent en leur centre un pore aqueux. Ce pore, que l'on voit ici, est en fait un trou, si vous voulez, qui peut être ouvert ou fermé, et qui est hydrophile et laisse passer les ions, eux aussi hydrophiles.

Complément d'information :

Les ions Na^+ et Ca^{2+} traversent la membrane toujours dans le sens entrant et les ions K^+ toujours dans le sens sortant car la membrane n'atteint jamais leurs potentiels d'équilibre respectifs (autour de +55, +121, -90 mV). De ce fait, leur flux lié à leur gradient de concentration est toujours dans le même sens que leur flux lié au gradient électrique : soit ils entrent toujours (Na^+ et Ca^{2+}), soit ils sortent toujours (K^+). Seuls les ions Cl^- , qui ont un potentiel d'équilibre proche du potentiel de repos de la membrane (donc un potentiel d'équilibre que la membrane atteint facilement), ont un sens de passage qui peut changer de sens, d'entrant à sortant et vice versa.

Ch.1-2 : Transport des ions et équation de Nernst (7:07)

Les ions passent à travers la membrane plasmique des neurones. Même si ce transport, dit passif, ne nécessite pas d'énergie, il faut des forces pour faire bouger les ions. Quelles sont ces forces qui font bouger les ions à travers la membrane plasmique ? Une des forces qui fait bouger les ions, c'est le gradient de concentration, parce que les molécules vont toujours du milieu où elles sont le plus concentrées vers le milieu où elles sont le moins concentrées. Donc, par exemple, pour les ions potassium : les ions potassium ont tendance à sortir par gradient de concentration du milieu où ils sont le plus concentrés vers le milieu où ils sont le moins concentrés. Par contre, pour les ions sodium, ils ont tendance à entrer par gradient de concentration du milieu où ils sont le plus concentrés vers le moins concentrés. De même, pour les ions calcium, eux aussi ont tendance à entrer, ils sont beaucoup plus concentrés à l'extérieur. Et les ions chlorures, aussi, ont tendance à entrer. Donc, on voit que par gradient de concentration, presque tous les ions ont tendance à entrer, sauf les ions potassium parce que leur gradient de concentration est inversé. Mais il se trouve que la membrane plasmique est une membrane chargée, c'est-à-dire qu'il y a une différence de potentiel entre les deux faces de la membrane. L'intérieur est chargé plus négativement que l'extérieur, et on note -60 mV, qui est la valeur quand les neurones sont au repos, c'est-à-dire quand ils ne sont pas excités. Cette différence de potentiel de membrane, s'écrit $V_m = V_i - V_e$ par convention, donc le potentiel de membrane est égal au potentiel intracellulaire moins le potentiel extracellulaire, il s'exprime en millivolts. Comme les ions sont des molécules chargées, ils sont attirés par les charges qui sont de part et d'autre de la membrane. Par



exemple, les ions potassium vont être attirés par les charges - qui sont plus abondantes dans la face interne de la membrane. Donc, par gradient électrique, ils vont avoir tendance à entrer dans la membrane. De même, pour les ions sodium, qui sont comme les ions potassium, chargés positivement : par gradient électrique, ils vont avoir tendance à entrer dans la membrane. C'est de même pour les ions calcium, qui vont avoir tendance, eux aussi, à entrer dans la membrane. Et c'est tout à fait le contraire pour les ions chlorures, puisqu'eux sont attirés par les charges + qui sont à l'extérieur de la membrane. Maintenant, comment se combinent ces deux forces, la force du gradient de concentration et la force du gradient électrique ? C'est ce qu'on appelle le gradient électrochimique. Maintenant, on a les deux forces en même temps, celle qui est due au gradient de concentration et celle qui est due au gradient électrique. Ces deux forces s'exercent sur les ions, qui sont des molécules chargées. Pour les ions sodium, c'est simple puisque les deux forces vont dans le même sens ; en résultante, le sodium va entrer. Pour les ions calcium, c'est aussi très simple, puisque les deux forces vont dans le même sens, là aussi, les ions calcium vont entrer. Pour les ions chlorure et les ions potassium, c'est beaucoup plus compliqué, puisque les deux forces sont en sens contraire. Quelle est celle qui gagne ? Est-ce que les ions entrent ou sortent ? Et à quel potentiel ? Et c'est de même pour les ions chlorures. Pour le savoir, on est obligé de calculer le moment où ces deux forces sont égales. Les ions sont donc soumis à deux forces, la force du gradient de concentration et la force du gradient électrique. Nous avons vu précédemment que les gradients de concentration restaient constants. Donc, cette force due au gradient de concentration est constante. Ce qui varie, c'est la force due au gradient électrique, qui varie avec le potentiel de la membrane. C'est un peu ça qui est compliqué, de savoir dans quel sens va aller un ion, on ne peut le savoir que par rapport à un certain potentiel de membrane. Pour savoir dans quel sens va un ion, on a un repère qui est le potentiel d'équilibre de l'ion. Le potentiel d'équilibre de l'ion, c'est le potentiel de membrane pour lequel la force de concentration est égale à la force électrique, mais elles sont de sens opposé. Le flux net de cet ion est donc nul. Pour calculer le potentiel d'équilibre d'un ion, il y a l'équation de Nernst. L'équation de Nernst est la suivante : E_{ion} égale RT/zF logarithme de la concentration de l'ion à l'extérieur sur la concentration de l'ion à l'intérieur. E_{ion} , c'est le potentiel d'équilibre de l'ion, il s'exprime en millivolts. RT/zF , c'est une constante, R est la constante des gaz parfaits, T la température absolue en degrés Kelvin, z la valence de l'ion et F , Faraday. Et là, on est en log népérien. Si on change et qu'on fait tous les calculs et on passe en log à base 10, en fait, l'équation s'écrit $E_{ion} = 58/z \log$ de la concentration de l'ion à l'extérieur divisée par la concentration de l'ion à l'intérieur. Donc, z varie suivant l'ion, il peut être + 1, + 2, - 1, en général, pour les ions que nous avons vus. Si on fait ce calcul pour les concentrations qu'on a données en début de cours, on voit que le potentiel d'inversion du sodium est à +58 mV. Ceci veut dire que la membrane doit être à +58 mV pour qu'il y ait autant d'ions sodium qui entrent que ceux qui sortent. Par contre, le gradient de potassium étant inversé par rapport au gradient sodium, on voit ici que le potentiel d'équilibre du potassium est très négatif, -97 mV. Cet ion est à l'équilibre quand la membrane égale -97 mV. Pour le calcium, c'est +121 mV. Pour le chlore, -59 mV. Il y a des valeurs que la membrane n'atteint jamais, comme +58 et +121. Donc, ces ions-là, ils vont toujours entrer, il n'y aura pas d'inversion de leur sens. Le potassium, c'est pareil, il va toujours sortir. C'est uniquement le chlore pour lequel c'est très compliqué. Appliquons cette équation de Nernst à la membrane et notamment aux ions potassium. L'équation dit que si des canaux potassium s'ouvrent, seulement des canaux potassium, les ions potassium vont sortir jusqu'à ce que le potentiel de la membrane atteigne -97 mV. À ce moment-là, les ions potassium seront à l'équilibre et il y en aura autant



qui entrent que ceux qui sortent. Pourquoi est-ce que la sortie des ions potassium fait bouger le potentiel de membrane à -97 ? Parce que, comme les ions potassium sortent, il y a une perte de charges positives de la face interne de la membrane. Cette perte de charges positives fait que la face interne de la membrane devient de plus en plus négative par rapport à la face externe, jusqu'à ce que le mouvement d'ions s'arrête à -97 mV. Dans la gamme de potentiels que le neurone prend, qui est en général d'environ de -80, par là, jusqu'à +20, les ions potassium sortent. C'est beaucoup plus compliqué, on l'a vu, pour les ions chlorures, mais on le verra plus tard au chapitre 5.

Pour vous aider, voici deux transcriptions de l'équation de Nernst :

$$E_{\text{ion}} = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[\text{ion}]_e}{[\text{ion}]_i} \right)$$

$$E_{\text{ion}} = \frac{58}{z} \log \left(\frac{[\text{ion}]_e}{[\text{ion}]_i} \right)$$

Ch.1-3 : Courant ionique (5:00)

Nous savons que les ions passent à travers la membrane plasmique des neurones grâce à deux forces, la force du gradient de concentration et la force du gradient électrique. Nous savons aussi que nous pouvons prévoir le sens du passage d'un ion à un potentiel de membrane donné grâce à l'équation de Nernst. Maintenant, ce que nous allons voir, c'est que ces mouvements d'ions à travers la membrane, c'est en fait un courant ionique, puisqu'un courant, c'est un déplacement de charges. $I = QT$, Q est la charge transportée en coulombs par t , unité de temps, ici en secondes. Dans les canaux ioniques, le courant s'exprime en picoampères, c'est-à-dire 10⁻¹² ampères. Ce sont de très faibles courants et pour les mesurer, on a besoin d'amplificateurs. Si on a des courants, on a aussi des résistances et des potentiels. Potentiel, on a vu le potentiel de membrane, résistance, nous n'avons pas encore vu et voilà le courant. Ceci est la loi d'Ohm, qui est une loi physique. Dans les neurones, à travers un canal, U , c'est la force qui fait bouger, ici, les électrons quand on est dans le courant, et quand on est dans les neurones, c'est la force qui fait bouger les ions. On a vu que c'était le gradient électrochimique, en anglais "driving force", et qui est égal aux résistances au passage des ions à travers le canal fois le courant unitaire ionique. Donc, on a bien de nouveau la loi d'Ohm, ici, c'est un potentiel RI . On transforme cette loi d'Ohm parce qu'on veut surtout s'intéresser au courant dans les neurones. Donc, on l'écrit d'une autre façon. Le courant unitaire à travers un seul canal est égal à γ que multiplie le gradient électrochimique. Alors γ , qu'est-ce que c'est ? C'est l'inverse de la résistance, c'est la conductance unitaire et elle s'exprime en siemens. C'est juste un petit calcul tout simple qui transforme



$1/r$ en gamma. Donc, on parlera beaucoup plus de conductance que de résistance. C'est l'inverse de la résistance. C'est la facilité avec laquelle les ions passent à travers un canal. Voici l'équation qui permet de calculer un courant unitaire à travers un seul canal. Maintenant, qu'en est-il quand plusieurs canaux de même type sont ouverts dans la membrane ? Donc, à travers par exemple tous les canaux potassium de la membrane, on aurait le courant potassium total est égal à la conductance, c'est-à-dire la facilité avec laquelle les ions potassium passent à travers la membrane, que multiplie la force électrochimique. Qu'est-ce que c'est que le courant total ? Le courant total, en fait, est relié au courant unitaire par le nombre de canaux. Donc, s'il s'agit du courant sodium, le courant total sodium dépend du courant unitaire sodium, du nombre de canaux sodium présents dans la membrane, et de leur probabilité d'ouverture. Ça veut dire qu'en fait, ici, N_{po} , c'est le nombre de canaux ouverts à l'instant où on mesure le courant. C'est la même chose pour la conductance. Elle est reliée à la conductance unitaire par le nombre de canaux ouverts. Il est évident que si ce nombre de canaux ouverts est très grand, la conductance va être grande, puisqu'il y aura une très grande facilité à laisser passer les ions. S'il y a très peu de canaux ouverts, la conductance sera faible et s'il n'y en a qu'un, eh bien la conductance est égale à la conductance unitaire. Voici la loi d'Ohm appliquée aux neurones. Quel est le rôle des courants ioniques ? Les courants ioniques ont pour rôle principal de changer le potentiel de la membrane. Par exemple, si des ions potassium sortent du neurone, le potentiel de la membrane va s'hyperpolariser puisque la face interne perd des ions chargés $+$. Si des ions chargés entrent, là aussi le potentiel de la membrane va s'hyperpolariser. Si des ions chargés $+$ entrent, le potentiel de membrane va se dépolariser. Et ces changements de polarités, dépolarisation, hyperpolarisation, sont des signaux typiques des neurones. Nous verrons un signal très important, qui s'appelle le potentiel d'action, au chapitre 2. Les courants ioniques ont d'autres rôles aussi. En hyperpolarisant et en dépolarisant la membrane, ils peuvent ouvrir ou fermer d'autres canaux qui sont sensibles au voltage, qui s'ouvrent et qui se ferment si la membrane est plus ou moins dépolarisée ou plus ou moins hyperpolarisée. Et enfin, très localement, les courants peuvent changer la concentration d'un ion. Par exemple, s'il y a beaucoup de canaux calcium sur un petit volume, l'entrée des ions calcium va entraîner une augmentation locale de la concentration de calcium. Cette augmentation sera transitoire parce qu'il y a immédiatement des systèmes de pompe qui vont rétablir les concentrations, mais cette petite augmentation peut avoir un rôle physiologique important et nous verrons dans le chapitre 3, par exemple, que c'est responsable de la libération des neurotransmetteurs.

Ch1-4 : Technique du patch-clamp (3:28)

Comment s'y prend-on pour mesurer un courant ionique ? On prend une technique qu'on appelle voltage imposé. On a ici la loi d'Ohm. Si on impose un potentiel à la membrane, donc ce potentiel devient fixe, comme le potentiel d'équilibre de l'ion est fixe aussi, on a ici une constante donc la force électrochimique est constante. Gamma est une variable et i de l'ion est une variable, donc on peut mesurer i de l'ion qui ne va plus dépendre que de la conductance unitaire du canal. Maintenant, c'est la même chose quand on veut mesurer un courant total, on maintient le potentiel de la membrane pour avoir tout ce facteur ici qui soit une constante et on mesure le courant total, qui va dépendre du nombre de canaux ouverts dans la membrane. Maintenant, si on veut mesurer un changement de potentiel. Donc ici, toujours dans la même équation, on a V_m qui est la variable que l'on veut mesurer, on a E de l'ion qui est une constante. Donc qu'est-ce qu'on fait ? On fixe le courant que l'on injecte à travers l'électrode. Ça permet de mesurer les changements de potentiel. Il faut bien comprendre que courant



imposé veut dire que le courant envoyé à travers l'électrode est maintenu à une valeur connue par l'expérimentateur. Mais cela ne veut pas dire que le courant qui passe à travers la membrane est constant. Et on laisse évoluer le potentiel de membrane que l'on mesure. Comment est-ce qu'on mesure ? On utilise des électrodes, qu'on appelle aussi pipettes. Pipettes et électrodes, c'est la même chose ; elles sont ici représentées en coupe. C'est des pipettes de verre, remplies d'un liquide qui conduit l'électricité et on voit ici un fil de métal qui va permettre d'enregistrer le signal. Donc, ici, on a une pipette qui est un peu vert mousse et celle-ci plutôt un vert un peu clair. On colle la pipette sur, ici, le neurone qui est symbolisé par une cellule ronde. Si on la laisse comme ça, on va mesurer le courant qui passe à travers le tout petit morceau de membrane qui est sous la pipette. Il peut y avoir un ou quelques canaux sous cette pipette. Alors, la pipette, à ce moment-là, est remplie de liquide extracellulaire puisqu'elle se trouve à l'extérieur, et le liquide intracellulaire reste le liquide natif du neurone. Pour enregistrer aussi un tout petit morceau de membrane et seulement quelques canaux ou même un seul canal, on a la situation outside-out, on le laisse en anglais parce que c'est un peu bizarre, ça veut dire extérieur à l'extérieur. Ça veut dire que l'extérieur de la membrane reste à l'extérieur. Comment a-t-on fait ? On a tiré et on a excisé un tout petit morceau de membrane, et on espère qu'il y a des canaux dedans. Et puis, quand on veut mesurer un courant total, à ce moment-là, on se met en configuration cellule entière, c'est-à-dire qu'on a commencé par faire une cellule attachée, puis l'expérimentateur a aspiré à travers la pipette en faisant ce petit bruit caractéristique. Le petit morceau de membrane, ici, est sorti, est enlevé, et le liquide qui est dans la pipette passe à l'intérieur du neurone, et du coup, la pipette a un accès électrique à tout le neurone. Alors pour faire ça, on remplit la pipette d'un pseudo-liquide intracellulaire puisque le liquide va se retrouver à l'intérieur. Donc, on verra tout au long du cours, ces trois types de configuration. Les deux premiers pour enregistrer seulement quelques canaux, donc un courant unitaire, et, ici, pour enregistrer soit un courant total, soit des changements de potentiel.

[Au labo : réaliser un enregistrement en patch clamp en configuration cellule entière](#)

Une fois les tranches de cerveau coupées et après une ou deux heures d'attente dans un liquide extracellulaire artificiel, on peut transférer ces tranches délicatement sous le microscope du poste d'électrophysiologie de patch-clamp et ainsi commencer à enregistrer l'activité de neurones. Je remplis l'électrode d'un liquide intracellulaire car je vais faire des enregistrements en patch clamp en configuration cellule entière. J'installe l'électrode remplie dans le portoir, un fils d'argent chloruré entre dans la pipette et baigne dans le liquide intrapipette. Ceci permet de faire le contact électrique entre le liquide intrapipette et les appareils de mesure. On voit ici un tube en plastique qui permet de mettre ou d'enlever une pression dans la pipette de patch. L'électrode est d'abord mis en place manuellement puis je la commande avec un système piézoélectrique qui permet de bouger l'électrode de façon très précise. Une caméra infrarouge reliée au microscope donne l'image de l'électrode et des corps cellulaires des neurones sur l'écran. On voit un neurone et la pipette. Je descends alors lentement et, lorsque la pipette touche la membrane de la cellule, je lâche la pression. J'envoie un pulse dépolarisant à travers l'électrode et je recueille sur l'ordinateur le courant qui est passé à travers une électrode avant, pendant, et après le pulse dépolarisant. Ici il n'y a aucun changement de courant sur la trace en réponse au pulse dépolarisant : on voit juste 2 artefacts qui indiquent le début et la fin du pulse. Ceci veut dire que l'électrode est parfaitement collée à la membrane du neurone et que je suis en configuration cellule



attachée. Dans cette configuration, c'est comme si l'électrode était bouchée. D'après la loi d'Ohm, si ΔV est le pulse dépolarisant, et si R est très grand, ΔI sera infiniment petit. Dans ce cas, R est de l'ordre du gigaohm. Afin de passer en configuration cellule entière, j'aspire à travers l'électrode le petit morceau de membrane qui la bouche. La trace sur l'écran a changé: on voit maintenant un changement de courant ΔI vers des valeurs positives pendant le pulse dépolarisant ΔV . Les artefacts ont aussi changé de forme. Ces deux indicateurs montrent que je suis bien en configuration cellule entière. Maintenant, je peux commencer à enregistrer.

Synthèse du chapitre

A retenir

1. Les ions Na^+ , K^+ et Cl^- traversent passivement la membrane plasmique à travers des canaux ioniques grâce à deux forces, celle du gradient de concentration (qui est constante) et celle du gradient électrique (qui varie avec le potentiel de la membrane)
2. Pour savoir dans quel sens passe un ion à un potentiel de membrane donné, il faut connaître le potentiel d'équilibre de cet ion, E_{ion}
3. L'équation de Nernst définit E_{ion} qui est le potentiel de la membrane (V_m) pour lequel le flux net de cet ion est nul ($V_m = E_{\text{ion}}$)
4. Le mouvement passif d'ions à travers la membrane plasmique crée des courants ioniques
5. L'intensité d'un courant ionique unitaire (i_{ion}) s'écrit pour chaque ion d'après la loi d'Ohm : $i_{\text{ion}} = g(V_m - E_{\text{ion}})$ où g est la conductance de l'ion et $V_m - E_{\text{ion}}$ est la force qui fait bouger passivement cet ion
6. Les courants ioniques ont pour conséquence de faire varier le potentiel de la membrane et ainsi de créer les signaux électriques des neurones que nous allons maintenant étudier.