

UE3-1 : Biophysique

Chapitre 3 : Potentiel de membrane

Professeur Alessandro VILLA

Année universitaire 2011/2012

Université Joseph Fourier de Grenoble - Tous droits réservés.

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

3.1.1. Eau

3.1.2. Solutés

3.1.3. Effet de la dissociation

3.2. Equation de Goldman

3.2.1. Electroneutralité

3.2.2. Equation fondamentale

3.3. Théorie de Hodgkin, Huxley, Katz

3.3.1. Flux ioniques

3.3.2. Modèle électrique de la membrane

3.3.3. Variations du potentiel de membrane

3.4. Mesure du potentiel de membrane

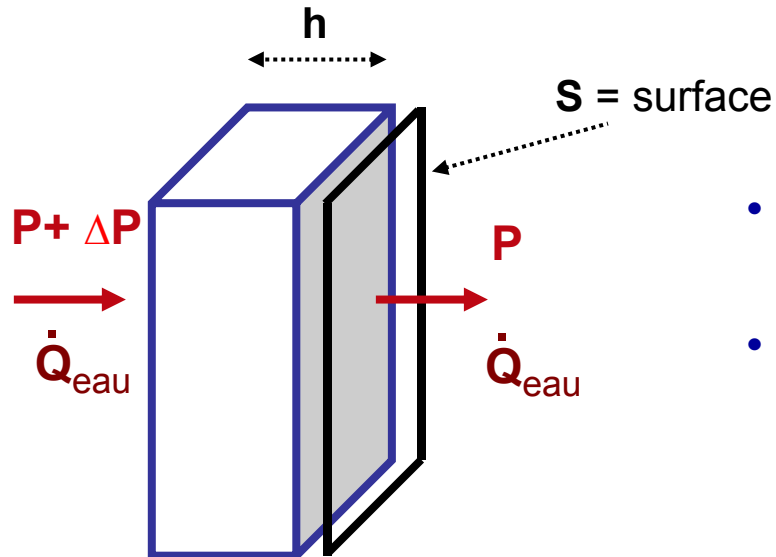
3.4.1. Choix des électrodes

3.4.2. Méthode

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

3.1.1. Eau



- considérons un élément de membrane de surface S et de largeur h
- pour avoir un débit d'eau constant \dot{Q}_{eau} il faut exercer une pression supplémentaire ΔP

Loi de DARCY (1856)

$$\frac{\dot{Q}_{\text{eau}}}{S} = -L \frac{\Delta P}{h} \quad (1)$$

\dot{Q} =débit [$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$]

ΔP = pression [Pascal]

L = conductivité hydraulique [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pascal}^{-1}$]

$$L \propto \frac{1}{\zeta}$$

ζ : viscosité dynamique du fluide, défini comme le coefficient de proportionnalité de la force s'appliquant entre deux couches de vitesses différentes d'un fluide.

⇒ la conductivité hydraulique L prend en compte dans une certaine mesure les interactions physiques entre le fluide et la membrane

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

3.1.1. Eau

Rappel : $J = - n / dt \square 1/\text{surface}$ (Eq. 3.18)

densité = n / volume

$J = \text{flux} [\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}]$
 $d = \text{densité} [\text{mol.m}^{-3}]$

$$\frac{\dot{Q}_{\text{eau}}}{S} = \frac{\overbrace{S h}^{\text{volume}}}{dt} \frac{1}{S} \frac{n}{n} \Rightarrow \cancel{J} \left[\frac{n}{dt} \frac{1}{S} \right] \left[\frac{S h}{n} \right] = \cancel{J} L \frac{\Delta P}{h}$$

\Rightarrow

$$J_{\text{eau}} = L d_{\text{eau}} \frac{\Delta P}{h} \quad (2)$$

I cte $\rightarrow d_{\text{eau}} = \text{Cte.}$ \Rightarrow

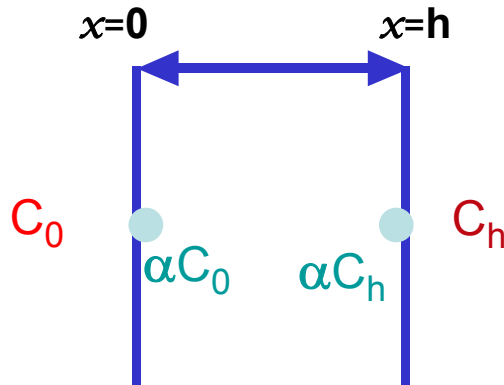
$$\frac{J_{\text{eau}}}{d_{\text{eau}}} = L \frac{\Delta P}{h} = P_{\text{eau}} [\text{m.s}^{-1}] \quad (3)$$

Perméabilité membranaire de l'eau P_{eau} est proportionnelle à la conductivité hydraulique et inversement proportionnelle à l'épaisseur de la membrane

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

3.1.2. Solutés



• $C_0 > C_h$: gradient de concentration $\Delta C = C_0 - C_h$

• α = solubilité membranaire du soluté

• équilibre (2ème loi de Fick) $\Rightarrow \frac{dC}{dt} = 0$
 $\Rightarrow \frac{d^2C}{dx^2} = 0$

\Rightarrow solution générale: $C = a'x + a''$

1ère loi de Fick: $J = -D \cdot \frac{dC}{dx} = -D a'$

\Rightarrow gradient $-dC / dx$ est constant; il est égal à $\alpha \cdot \Delta C / h \Rightarrow J = -D \cdot \frac{dC}{dx} = D \cdot \frac{\alpha \cdot \Delta C}{h}$

Perméabilité membranaire P définie par

$$P \equiv \frac{J}{\Delta C} \quad [\text{m} \cdot \text{s}^{-1}] \quad (4)$$

Relation importante entre perméabilité membranaire (P) et coefficient de diffusion (D)

$$P = D \alpha / h \quad (5)$$

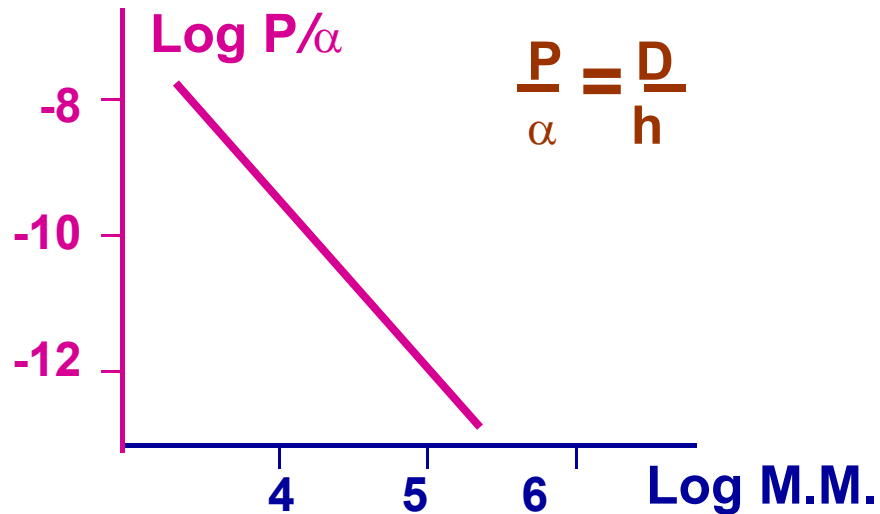
3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

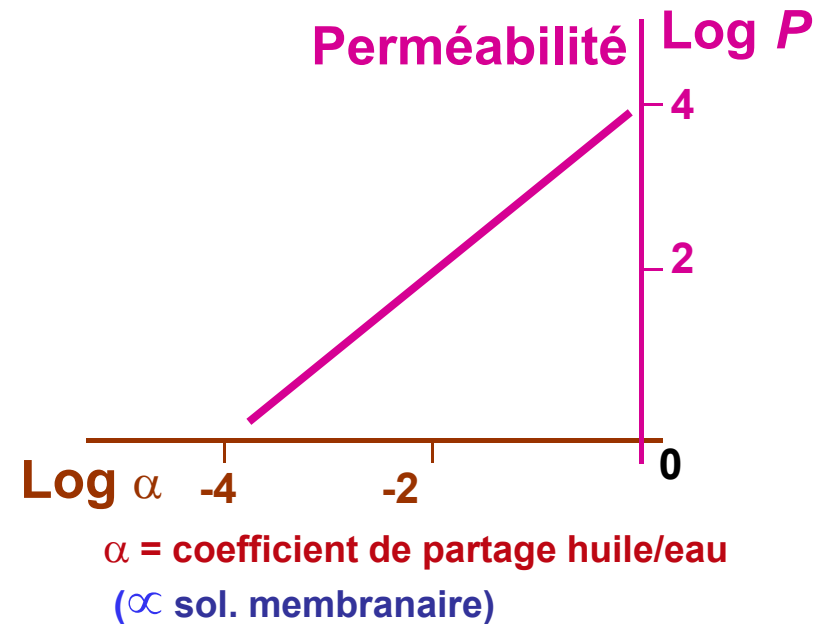
3.1.2. Solutés

La notion de perméabilité P est liée à la **diffusion** \Rightarrow phénomène **passif** !

phénomène **passif** \Rightarrow membrane poreuse inerte \Rightarrow La membrane cellulaire agit de manière "dyalisante"



Masse Moléculaire du soluté \uparrow
 \Rightarrow perméabilité \downarrow



liposolubilité \uparrow
 \Rightarrow perméabilité \uparrow

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

3.1.2. Solutés

L'interval $t_{M1/2}$ correspond au temps nécessaire pour que $C_{int} = 0.5 \times C_{ext}$

Exemples de perméabilité membranaire (le plus souvent mesuré à travers un liposome):

	$t_{M1/2}$	P [m.s ⁻¹]
H ₂ O	300 ms	10 ⁻⁵
Cl ⁻	3 jours	
Na ⁺ , K ⁺	1 an	
urée		3·10 ⁻⁹
Glucose	30 min	10 ⁻⁹

Les **solutés polaires**, même non chargés, comme le **glucose** ou les **protéines**, ne traversent pas passivement la membrane cellulaire.

⇒ il y a des transporteurs membranaires (transport facilité, cotransport, etc.)

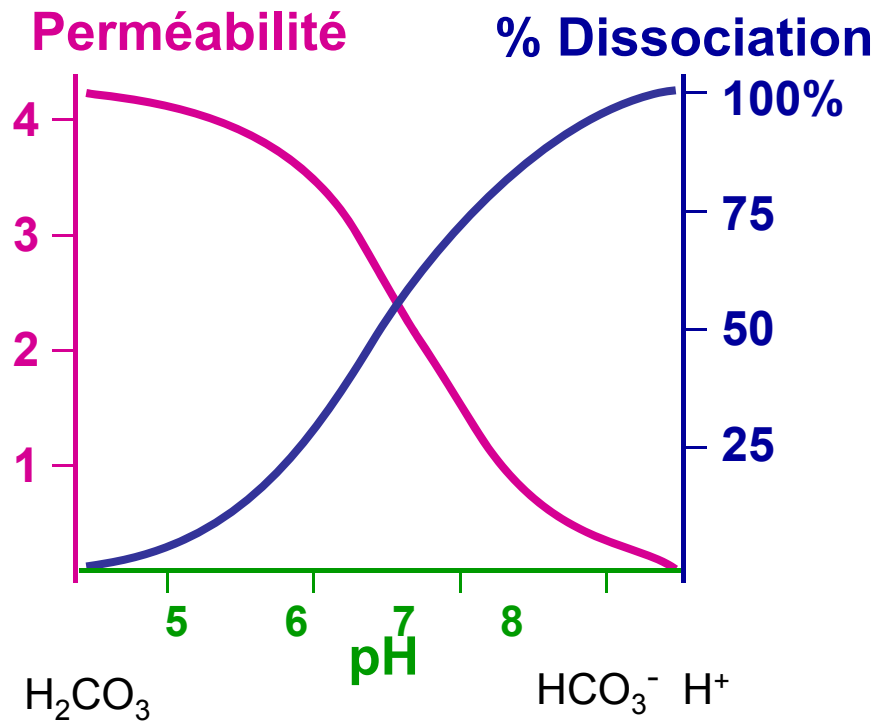
La perméabilité à l'eau ← f() physiologique: hormone antidiurétique (ADH) ⇒ perméabilité ↑

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

3.1.3. Effet de la dissociation

Exemple de soluté ionisable: H_2CO_3



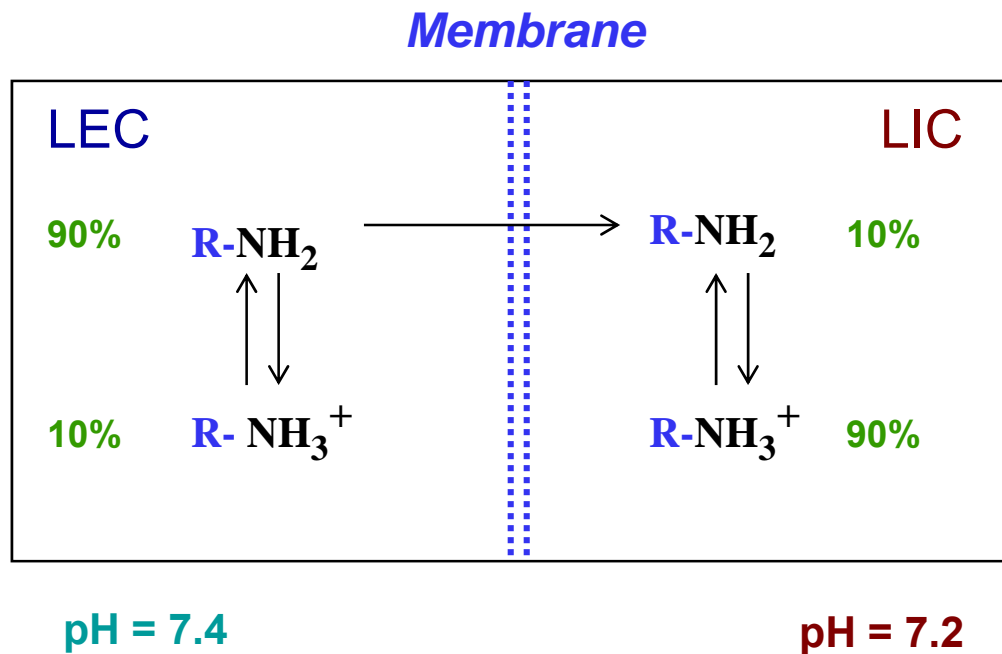
ionisation (\propto dissociation) \uparrow
 \Rightarrow perméabilité \downarrow

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.1. Perméabilité membranaire

3.1.3. Effet de la dissociation

Exemple: médicament $R-NH_2$



médicament basique $R-NH_2$ dont le $pK_b = 7.3$

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

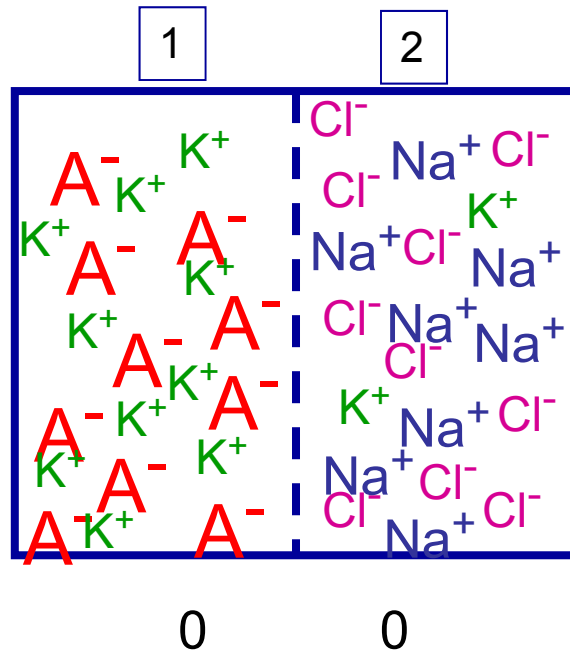
3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.1. Electroneutralité

3.2.1.1. Principe général

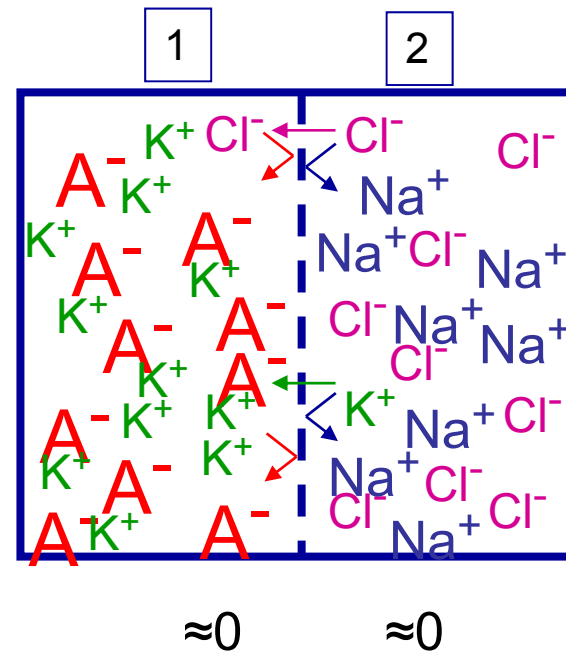
Les conditions:

- une solution ionique avec des ions diffusibles, **MAJORITE DES CHARGES NON DIFFUSIBLES**
- une membrane partiellement perméable



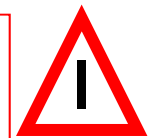
Etat initial

- neutralité électrique: $\begin{cases} nb^+_1 = nb^-_1 \\ nb^+_2 = nb^-_2 \end{cases}$
- [] égales: $[K^+A^-] = [K^+Cl^-]$



Etat final

- neutralité électrique: $\begin{cases} nb^+_1 \approx nb^-_1 \\ nb^+_2 \approx nb^-_2 \end{cases}$
- [] inégales



3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.1. Electroneutralité

3.2.1.2. Observation expérimentale

Potentiel transmembranaire $V_{in} - V_{ext} = E_m$

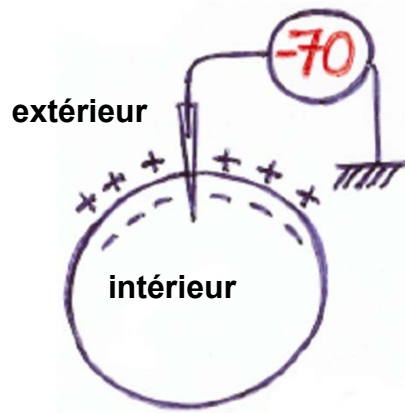
i : INTERIEUR négatif (protéines, groupements COO⁻)

e : EXTERIEUR positif (ions positifs, sodium Na⁺)

⇒ □ POLARISATION

Différence de potentiel exprimée en millivolts [mV]

Potentiel de repos transmembranaire (=pot. de membrane) est souvent ≈ -70 mV



CELLULES EXCITABLES

• musculaires

grenouille -82 à -100 [mV]

rat -100

• nerveuses

cervelet de chien -90

calmar -77

ecrevisse -90

grenouille -71

CELLULES NON EXCITABLES

hématies -10

Le potentiel de membrane est une caractéristique universelle des CELLULES VIVANTES et ne disparaît qu'avec la MORT.

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.1. Electroneutralité

3.2.1.2. Observation expérimentale

Conditions d'une cellule en équilibre \Rightarrow électrostatique

- LIC et LEC sont des solutions ioniques avec des ions diffusibles
- une membrane partiellement perméable

A. Combien de charges sont mises en jeu par le potentiel transmembranaire ?

Electrostatique: $Q = C \cdot V$

$$\Rightarrow Q = C_s \cdot S \cdot E_m$$

Q = charge électrique [C]

C = capacité membranaire [F]

V = ddp [V]

S = surface qui laisse passer les charges [m²]

C_s = capacité spécifique membranaire [F/m²]

$$E_m \approx 70\text{mV} = 7 \cdot 10^{-2}\text{V}$$

$$C_s \approx 2 \mu\text{F}/\text{cm}^2 = 2 \cdot 10^{-6} \text{A} \cdot \text{s} \cdot \text{V}^{-1} / 10^{-4} \text{m}^2 \Rightarrow$$

$$S \approx r^2 \text{ avec } r = 0.1 \mu\text{m} = 10^{-7} \text{m}$$

$$Q \approx 7 \cdot 10^{-2} \times 2 \cdot 10^{-2} \times 10^{-14} [\text{V}] [\text{A} \cdot \text{s} \cdot \text{V}^{-1}] [\text{m}^2] [\text{m}^2]$$

$$Q \approx 1.4 \cdot 10^{-18} [\text{A} \cdot \text{s}] \Rightarrow Q_{Em} \propto 10^{-18} \text{C}$$

B. Combien de charges (+) et charges (-) au total trouve-t-on dans une cellule ?

$$\Rightarrow Q_{TOT} \propto 10^{-11} \text{C}$$

$$\Rightarrow Q_{Em} / Q_{TOT} = 10^{-7} \approx \text{négligeable} \Rightarrow$$

LIC et LEC sont "électroneutres"

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.1. Electroneutralité

3.2.1.3. Diffusion ionique

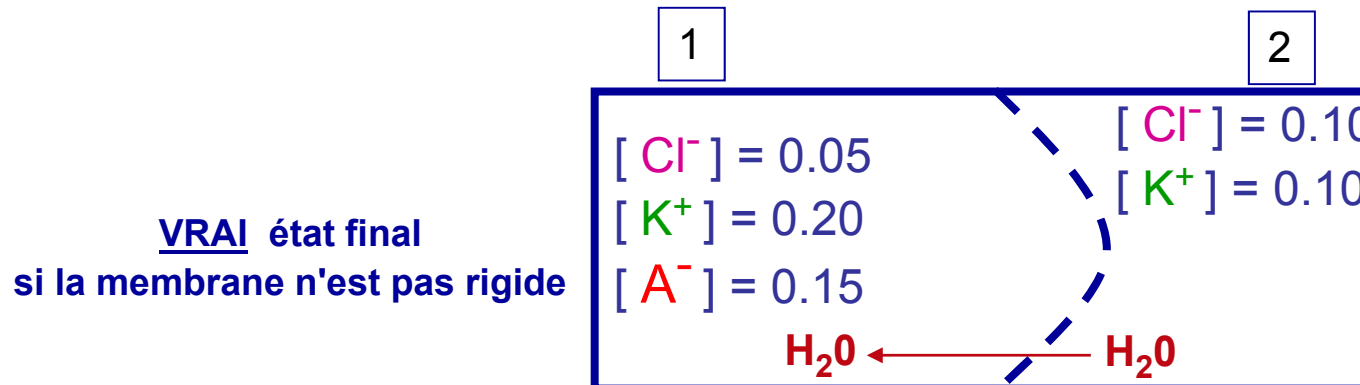
Etat final

1	électroneutralité nb(+) = nb(-)	2
$[Cl^-] = 0.05$		$[Cl^-] = 0.10$
$[K^+] = 0.20$		$[K^+] = 0.10$
$[A^-] = 0.15$		

Volumes des deux compartiments identiques:

⇒ osmolalité: 400 mOsm 200 mOsm

Il faut considérer le flux d' H_2O ⇒ **PRESSION OSMOTIQUE** importante !!!



Rappel: pour les problèmes de pression osmotique !!

- masse atomique: Na=23 , K=39 , Mg=24.3 , Ca=40
- le volume du ion hydraté ↓ si sa masse atomique ↑

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.2. Equation fondamentale

3.2.2.1. Cas simple avec deux ions

- Na^+ et K^+ caractérisés par leur perméabilités membranaires respectives P_{Na} et P_{K}

- Na^+ et K^+ caractérisés par $z = 1$

- Perméabilité constante dans toute l'épaisseur de la membrane h :

$$P = D \alpha / h$$

Equation de **GOLDMANN**

$$V_{\text{in}} - V_{\text{ext}} = E_m = \frac{-RT}{F} \text{Log} \frac{P_{\text{K}}[\text{K}]_{\text{in}} + P_{\text{Na}}[\text{Na}]_{\text{in}}}{P_{\text{K}}[\text{K}]_{\text{ext}} + P_{\text{Na}}[\text{Na}]_{\text{ext}}}$$

P = perméabilité membranaire

D = coeff. de diffusion

h = épaisseur de la membrane

α = solubilité membranaire

z = électrovalence de l'ion

$$\begin{array}{ll} P_{\text{K}}=0 & \rightarrow E_m = E_{\text{Na}} \\ P_{\text{Na}}=0 & \rightarrow E_m = E_{\text{K}} \\ P_{\text{K}}, P_{\text{Na}} \neq 0 & \rightarrow E_m \text{ intermédiaire} \end{array}$$

Perméabilité constante dans toute l'épaisseur de la membrane:

La membrane cellulaire agit de manière "dialysante" \Rightarrow membrane poreuse inerte.

les ions passent **PASSIVEMENT** par des pores ayant $\sim 0.4\text{nm}$ de \emptyset
séparés par plusieurs dizaines de nm

\Rightarrow surface des pores env. 10^{-6} de la surface cellulaire

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.2. Equation fondamentale

3.2.2.2. Cas général

Equation de **GOLDMANN** pour les ions K^+ , Na^+ , Cl^-

$$E_{in} - E_{ext} = E_m = \frac{RT}{F} \text{Log} \frac{P_K[K^+]_{ext} + P_{Na}[Na^+]_{ext} + P_{Cl}[Cl^-]_{in}}{P_K[K^+]_{in} + P_{Na}[Na^+]_{in} + P_{Cl}[Cl^-]_{ext}}$$

T = température absolue [$^{\circ}K$]

$37^{\circ}C = 310^{\circ}K$

R = Cte. des gaz parfaits = $8.314 [J.^{\circ}K^{-1}.mol^{-1}]$

$[J] = [V \cdot A \cdot s]$

N_A = nombre d'AVOGADRO = $6 \cdot 10^{23} [mol^{-1}]$

q = charge de l'électron = $1.6 \cdot 10^{-19} [C]$

$[C] = [A \cdot s]$

F = Cte. de FARADAY = $N_A q = 9.652 \cdot 10^4 [A \cdot s \cdot mol^{-1}]$

P_{ion} = perméabilités **relatives** des ions

$P_{Na} = 1$ $P_K = 40$ $P_{Cl} = 670$

!! Attention !! Le signe (-) n'est plus dans l'équation, pourquoi?

Le compartiment avec l'anion non diffusible (c.à.d. les groupements COO^-) est le compartiment intracellulaire et par convention les concentrations extracellulaires des cations sont au numérateur.

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.2. Equation fondamentale

3.2.2.3. Exemple: motoneurone spinal de mammifère

IONS	Concentrations:			
	[] mEq	[] mmole		
	INTRA		EXTRA	
Na+	15	"	<u>150</u>	"
K+	<u>150</u>	"	<u>5.5</u>	"
Cl -	9	"	<u>125</u>	"
Ca++	2	1	5	2.5
Mg++	26	13	2	1
Anions Prot -	<u>155</u>	"	7	"
H ⁺	0.0000631	"	0.0000398	"

- Potentiel de DONNAN: tous les ions diffusibles sont à l'équilibre !!

chercher un ion très perméable qui, à l'équilibre, interagit peu avec les autres électrolytes

$$H^+ \Rightarrow \text{potentiel d'équilibre (NERNST)} \Rightarrow E_H = -\frac{RT}{zF} \text{Log} \frac{[H]_{\text{intra}}}{[H]_{\text{extra}}}$$

$$[H] = 10^{-pH}$$

typiquement: $pH_{\text{intra}}=7.2$ $pH_{\text{extra}}=7.4$ \Rightarrow $E_H = -12.3 \text{ [mV] à } 37^\circ\text{C}$

- pH change f(température) et dépend du métabolisme
- selon le type cellulaire: cotransport et "pompes à H"

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.2. Equation de GOLDMANN

3.2.2. Equation fondamentale

3.2.2.3. Exemple: motoneurone spinal de mammifère

- Potentiel transmembranaire **GOLDMANN**:

$$E_m = \frac{RT}{F} \text{Log} \frac{P_K[K^+]_{\text{ext}} + P_{Na}[Na^+]_{\text{ext}} + P_{Cl}[Cl^-]_{\text{in}}}{P_K[K^+]_{\text{in}} + P_{Na}[Na^+]_{\text{in}} + P_{Cl}[Cl^-]_{\text{ext}}}$$

T = température absolue [°K]

37°C = 310°K

R = Cte. des gaz parfaits = 8.314 [J.°K⁻¹.mol⁻¹]

[J] = [V·A·s]

F = Cte. de FARADAY = N_A q = 9.652 · 10⁴ [A·s.mol⁻¹]

P_{Na} = 1 P_K = 40 P_{Cl} = 670

$$E_m = (8.314 \times 310) / 9.652 \cdot 10^4 \times \text{Log} (40(5.5) + 1(150) + 670(9)) / (40(150) + 1(15) + 670(125))$$

$$E_m = 0.0267 \times \text{Log} (220 + 150 + 6030) / (6000 + 15 + 83750)$$

$$E_m = 0.0267 \times \text{Log} (6400 / 89765)$$

⇒

$$E_m = - 0.0705 \text{ [V]} = - 70.5 \text{ [mV]} \text{ à } 37^\circ\text{C}$$

Potentiel de membrane (GOLDMANN) ≠ Potentiel d'équilibre (DONNAN)

- il existe des transports actifs ("pompes à ions") et des transports facilités !!!
- le potentiel de Donnan participe au Pot. de Membrane pour environ 12mV

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.1. Flux ioniques

3.3.1.1. Notion de "driving force" (force motrice)

$$E_{int} - E_{ext} = E_m \quad [mv]$$

$$\text{"driving force"} = E_m - E_{ion}$$

	[] mEq		Gradient Chimique (Fick)	E_{ion} (Nernst)	E_m	$E_m - E_{ion}$
	intra	extra				
K^+	150	5.5	+144.5	- 88.3	- 70.5	+17.8
Na^+	15	150	-135	+72.3		- 142.8
Cl^-	9	125	-116	- 70.2		- 0.3

1ère Loi de Fick
 $J = -D (dC/dx)$

Loi de Nernst
 $E_{int} - E_{ext} = - (RT/zF) \text{Log}(C_{int}/C_{ext})$

ION	GRADIENT CHIMIQUE	GRADIENT ELECTRIQUE
K^+	→ EXT	INT ←
Na^+	INT ←	INT ←
Cl^-	INT ←	→ EXT

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.1. Flux ioniques

3.3.1.2. Pompe ionique Na-K

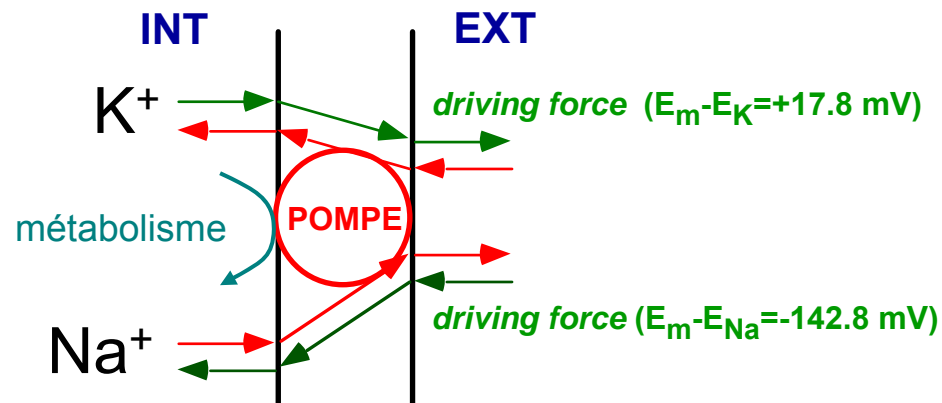
K^+ , Cl^- : haute perméabilité des canaux \Rightarrow atteindre \approx équilibre electro-chimique

Na^+ : tendance à rentrer dans la cellule \Rightarrow annuler la ddp transmembranaire

Mais au REPOS la ddp transmembranaire ne varie presque pas, pourquoi ?

- très faible perméabilité au Na^+ mais du Na entre quand même !!
- existence d'une **POMPE IONIQUE Na-K**

rentre K^+ et sort Na^+ : dans un rapport $3Na^+ / 2K^+$ \Rightarrow pompe électrogénique



La présence de la pompe \Rightarrow résistances variables au Na et K

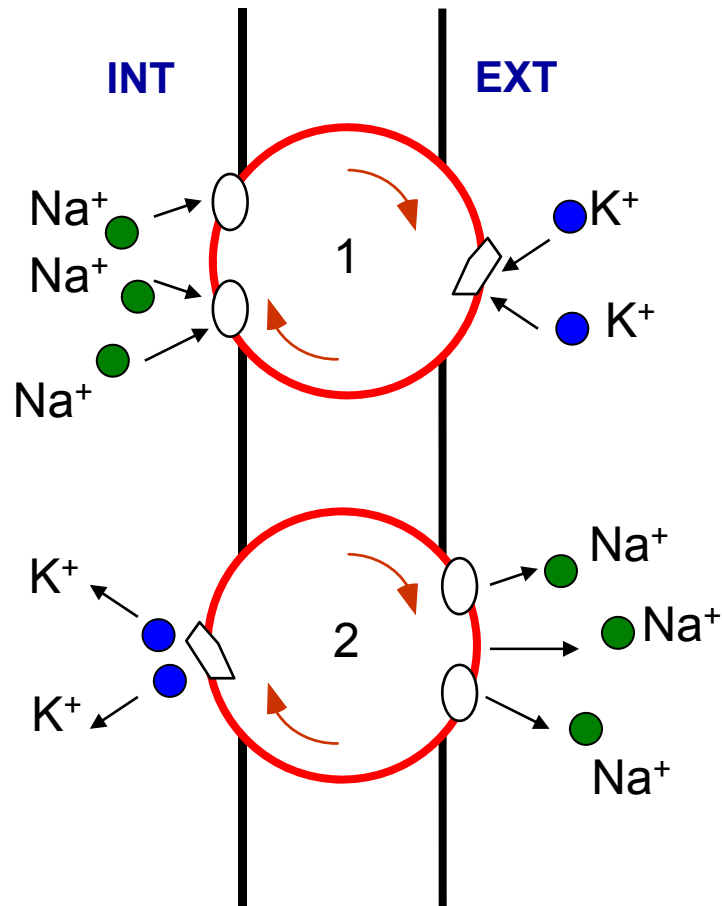
$E_L \Rightarrow$ courant de fuite ("Leakage") qui correspond généralement au flux de Cl^- et autres molécules
(!! perméabilité très élevée)

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.1. Flux ioniques

3.3.1.2. Pompe ionique Na-K



1 PROTEINE PM ~600.000

- 2 sites actifs:

- fixation Na ← phosphorylation (endergonique)
- fixation K ← déphosphorylation (exergonique)

-consomme de l'énergie ← ATP

- environ 70% de ATP utilisé dans le cerveau et 20-30% dans les autres cellules
- bloqué par **CYANURE**

- a une activité enzymatique ATPasique:

- activé par **Na,K**
- inhibé par **CARDIOGLUCOSIDES (OUABAINÉ)**

- cette protéine est ≠ des **CANAUX** à Na ou à K

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.1. Flux ioniques

3.3.1.3. Importance de $[K^+]$

K^+ , Cl^- : haute perméabilité des canaux \Rightarrow atteindre \approx équilibre electro-chimique

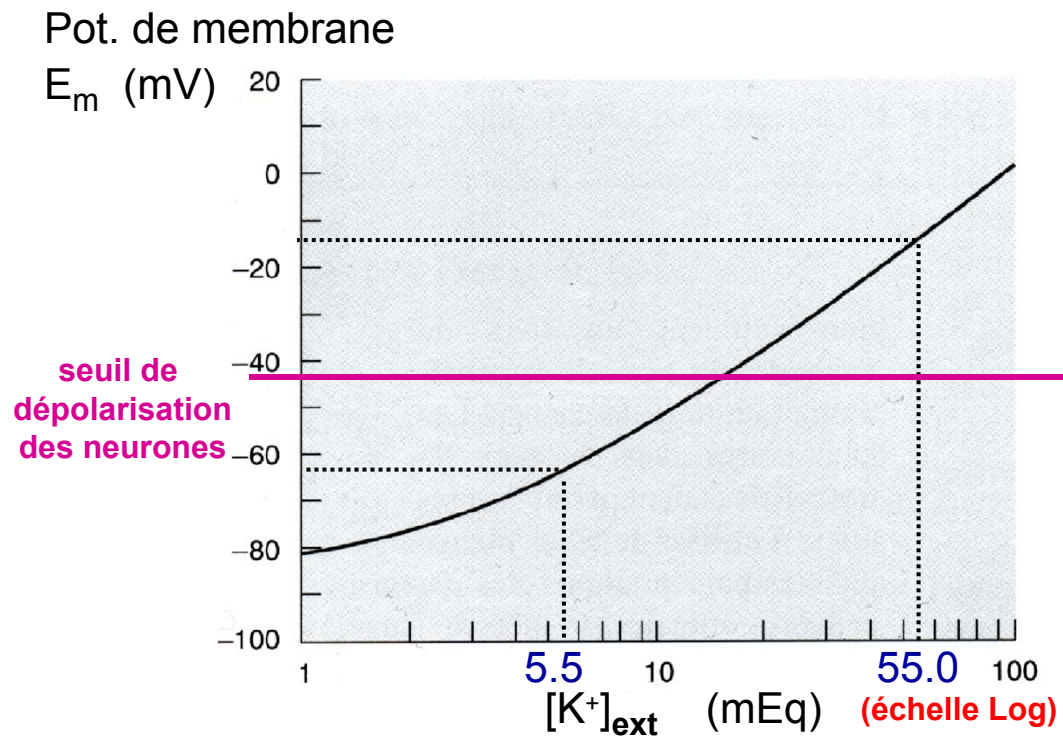
Na^+ : faible perméabilité des canaux

Mais au REPOS la driving force de Cl^- est presque nulle, c'est donc le K^+ qui joue un rôle essentiel.

si $[K^+]_{ext}$ 5.5 mEq \rightarrow 55 mEq

"choc potasique"

\Rightarrow dépolarisation de la cellule !!!



3. POTENTIEL DE MEMBRANE

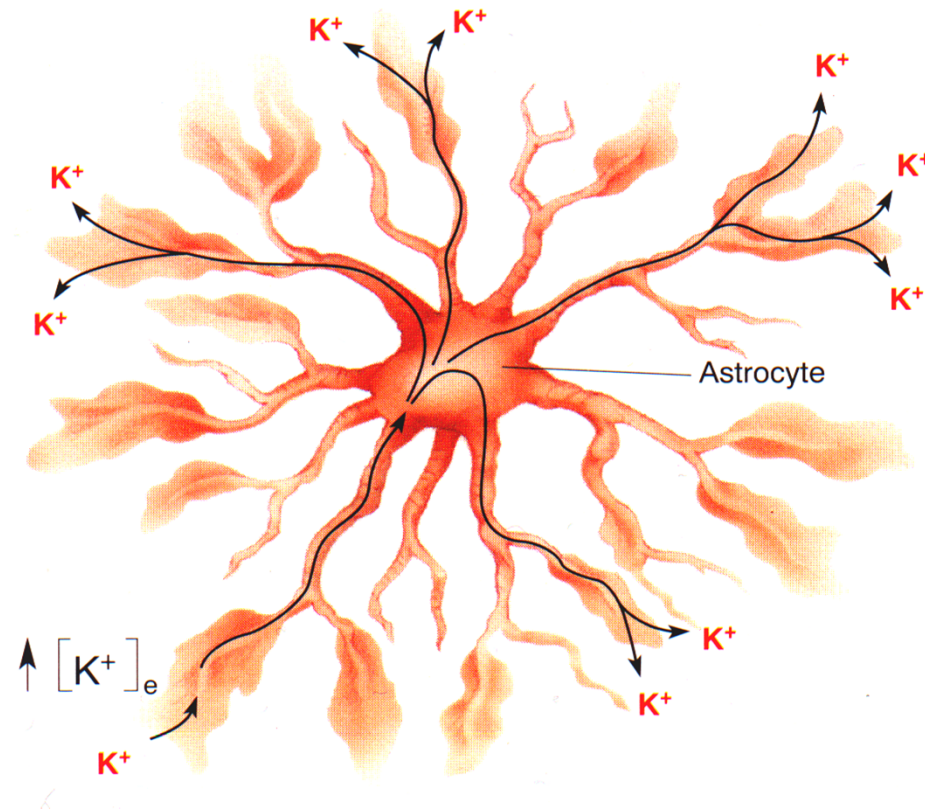
3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.1. Flux ioniques

3.3.1.3. Importance de $[K^+]_{ext}$

La régulation de $[K^+]_{ext}$ est essentielle

- Empêcher la variabilité $[K^+]_{ext} \Rightarrow$ barrière hémato-encéphalique
- Diminuer $[K^+]_{ext} \Rightarrow$ l'un des rôles des astrocytes (type de cellules gliales)



3. POTENTIEL DE MEMBRANE

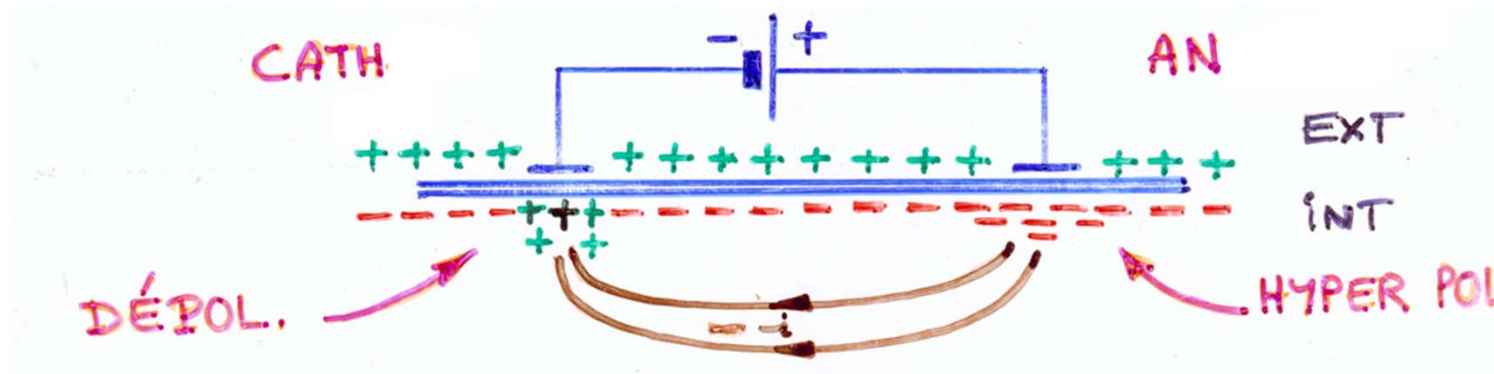
3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.2. Modèle électrique de la membrane

3.3.2.1. Electrotonus

La stimulation électrique de la membrane (électrotonus) peut être effectuée par

- CATHODE: électrode négative(-) qui attire les cations (+) \Rightarrow **cathelectrotonus** \Rightarrow **dépolarisation**
- ANODE: électrode positive(+) qui attire les anions (-) \Rightarrow **anelectrotonus** \Rightarrow **hyperpolarisation**



Observation: $|\text{cathelectrotonus}| \neq |\text{anelectrotonus}|$

\Rightarrow La résistance membranaire dépend du sens du courant

\Rightarrow **PROPRIETE REDRESSEUSE DE LA MEMBRANE**

Pour comprendre ce phénomène il faut un modèle électrique de la membrane

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.2. Modèle électrique de la membrane

3.3.2.2. Circuit équivalent

• UN ELEMENT DE MEMBRANE

DOUBLE COUCHE PHOSPHOLIPIDIQUE

C'est un diélectrique (isolant électrique)

⇒ CONDENSATEUR

$C_m = \text{capacité membranaire } [F \cdot m^{-1}]$
 $[F] = [A \cdot s \cdot V^{-1}]$



PASSAGE DE CHARGES ELECTRIQUES

→ PROTEINES (pores, canaux, transporteurs)

conductance \propto perméabilité
résistance = 1 / conductance

⇒ RESISTANCE VARIABLE

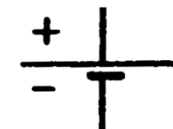
$r_m = \text{résistivité membranaire } [\Omega \cdot m]$



→ Potentiel d'équilibre
pile électrique

⇒ POTENTIEL DE REPOS

$V_m = \text{potentiel de membrane } [V]$



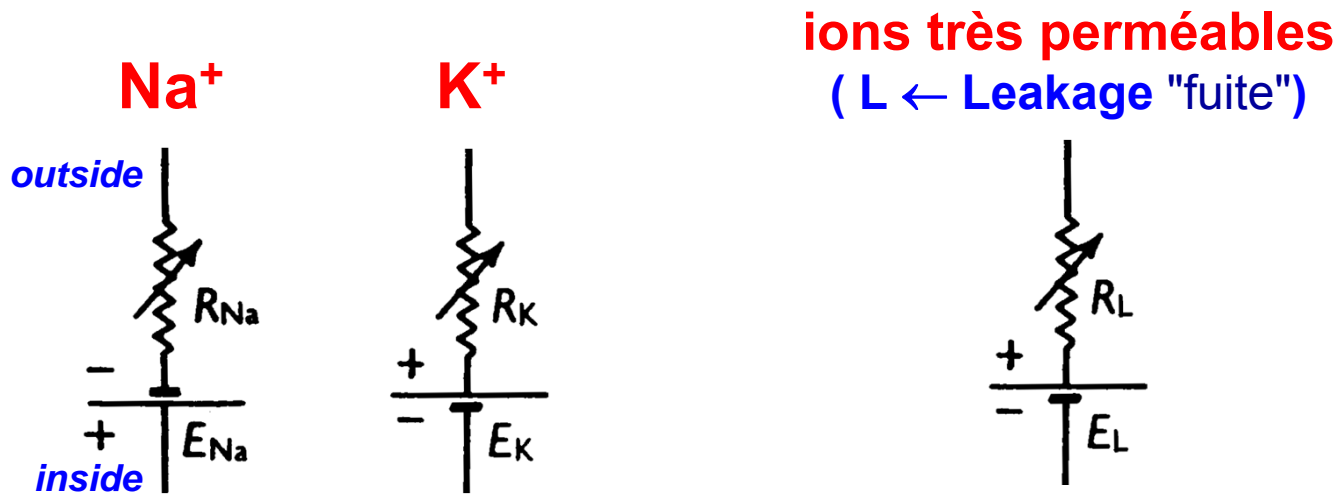
3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.2. Modèle électrique de la membrane

3.3.2.2. Circuit équivalent

- PRENONS EN COMPTE LES DIVERS COURANTS IONIQUES:



R_{Na} = résistance au Na^+

E_{Na} = potentiel d'équilibre (Nernst) au Na^+ ex: +72.3 mV)

R_K = résistance au K^+

E_K = potentiel d'équilibre au K^+ ex: -88.3 mV

R_L = résistance de "fuite" (leaky current)

E_L = potentiel de "fuite" (souvent assimilé au pot. équilibre du Cl^- ex: -70.5 mV)

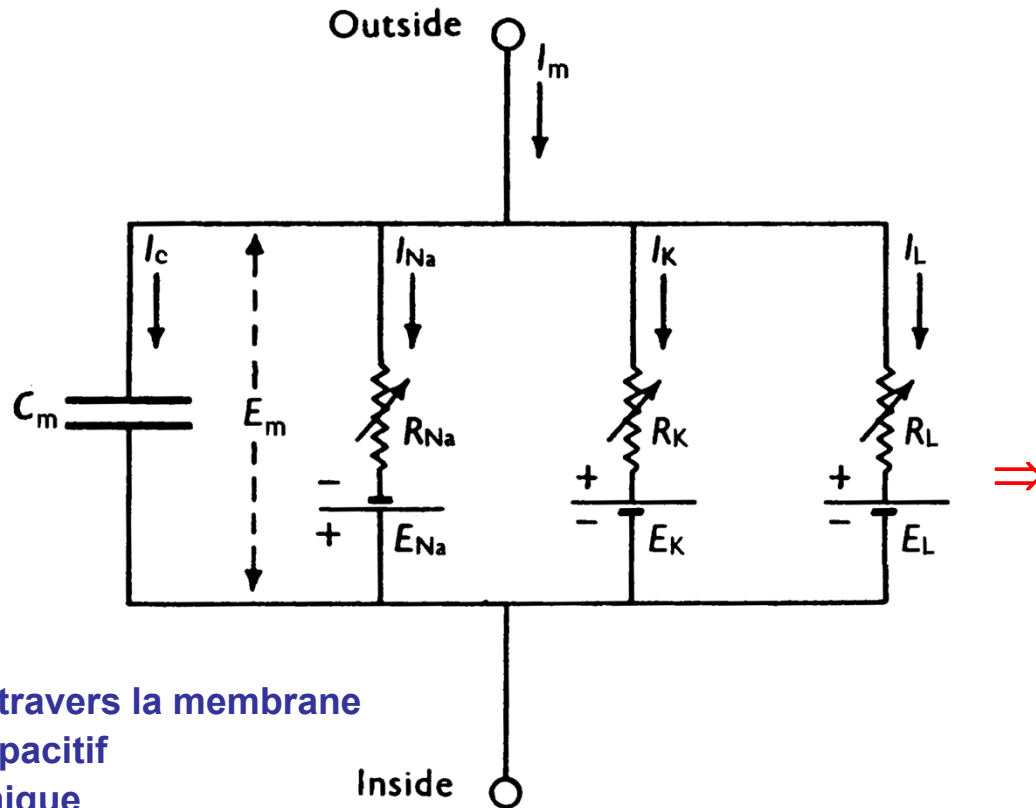
3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

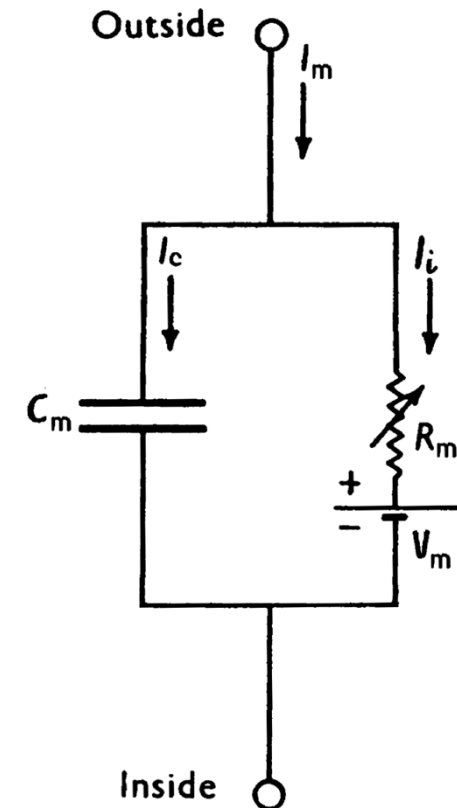
3.3.2. Modèle électrique de la membrane

3.3.2.2. Circuit équivalent

⇒ UN ELEMENT DE MEMBRANE



plus simplement



I_m = courant à travers la membrane

I_c = courant capacitif

I_i = courant ionique

V_m = potentiel transmembranaire

I_{Na} = courant ionique de Na^+

I_K = courant ionique de K^+

I_L = courant de "fuite"

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

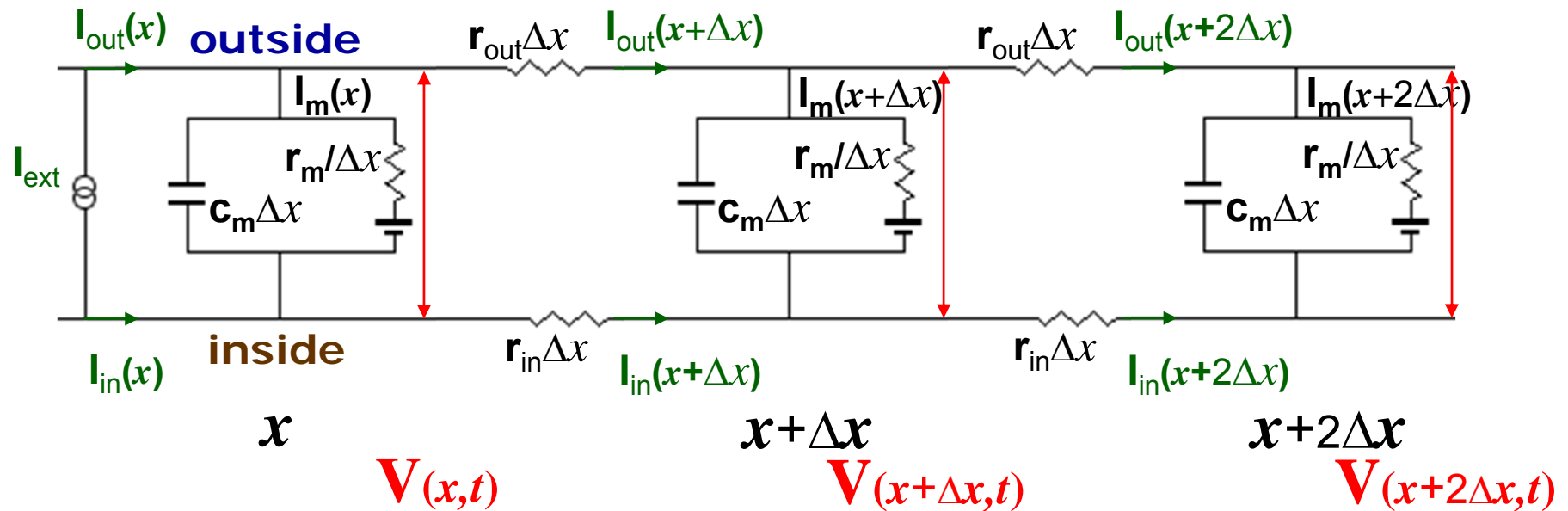
3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.3. Variations du potentiel de membrane

membrane \approx câble électrique

\Leftrightarrow propriétés **PASSIVES**
(pas d'apport supplémentaire d'énergie)

électrotonus



Δx = longueur d'un bout de membrane

r_m = résistivité membranaire [$\Omega \cdot m$]

c_m = capacité membranaire [$F \cdot m^{-1}$] [F] = [$A \cdot s \cdot V^{-1}$]

r_{out} = résistance longitudinale externe [$\Omega \cdot m^{-1}$]

r_{in} = résistance longitudinale interne [$\Omega \cdot m^{-1}$]

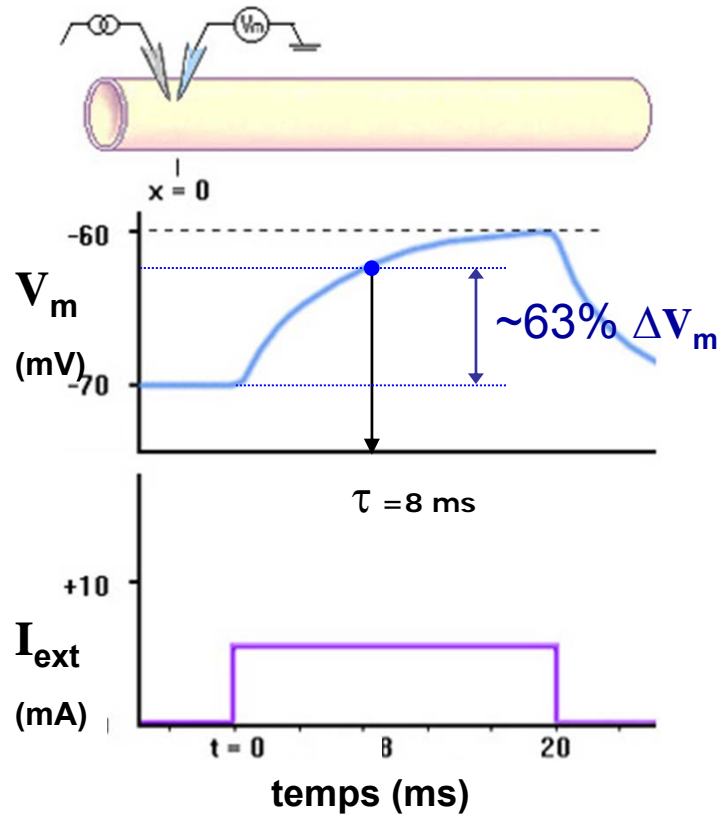
r_a = résistance axiale = $r_{out} + r_{in}$ [$\Omega \cdot m^{-1}$]

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.3. Variations du potentiel de membrane

3.3.3.1. Constante de temps



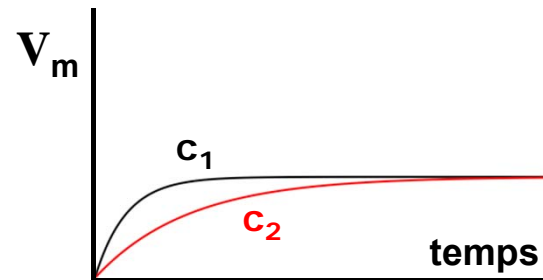
variation du potentiel au cours du temps

τ : constante de temps

$$\Delta V_m(t) = I_m R_m (1 - e^{-t/\tau})$$

$$\tau = r_m c_m$$

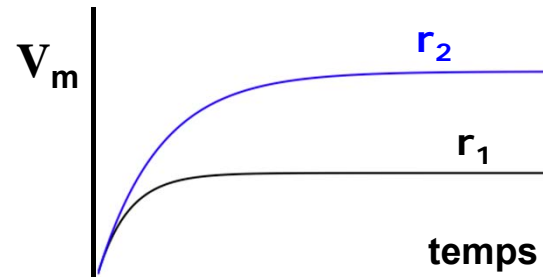
(par ex. de 1 à 20 ms)



$$c_2 > c_1$$

$$r_1 = \text{constante}$$

$$\Rightarrow \Delta V_2 = \Delta V_1$$



$$r_2 > r_1$$

$$c_1 = \text{constante}$$

$$\Rightarrow \Delta V_2 > \Delta V_1 !!$$

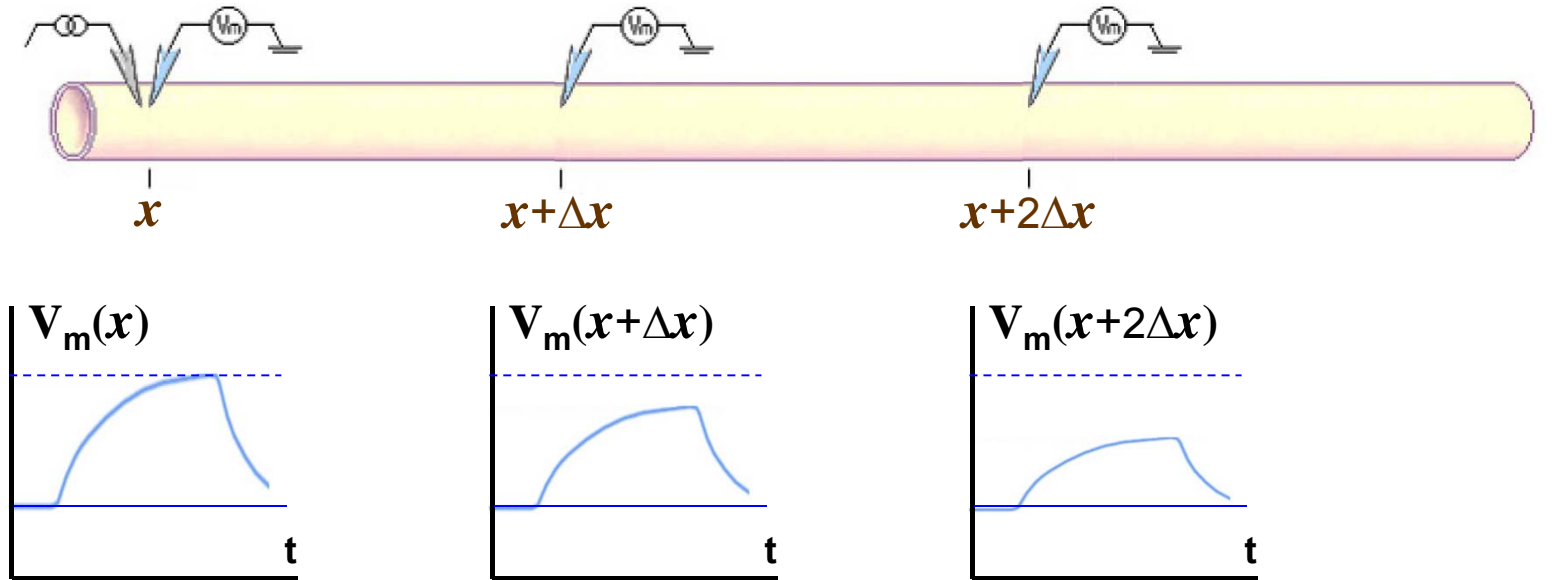
Circuit RC : propriétés capacitives \Rightarrow constante de temps

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

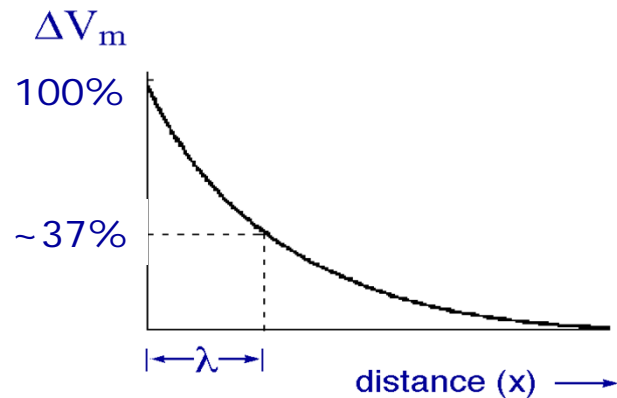
3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.3. Variations du potentiel de membrane

3.3.3.2. Constante d'espace



Atténuation passive le long de la membrane → propriétés de câble électrique



variation du potentiel dans l'espace

λ : constante d'espace

$$\Delta V_m(x) = \Delta V_m(x=0) e^{-x/\lambda}$$

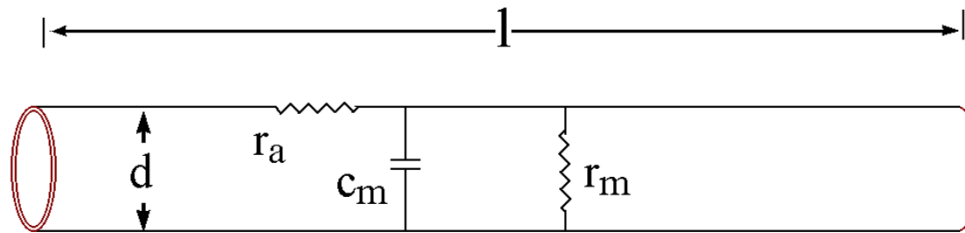
3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.3. Théorie de HODGKIN, HUXLEY, KATZ (1952)

3.3.3. Variations du potentiel de membrane

3.3.3.2. Constante d'espace

Propriétés de câble électrique



R_a = résistance d'un élément de membrane [Ω]

r_a = résistance axiale = $r_{out} + r_{in}$ [$\Omega \cdot m^{-1}$]

r_m = résistivité membranaire [$\Omega \cdot m$]

c_m = capacité membranaire [$F \cdot m^{-1}$]

l = longueur du câble

d = diamètre du câble

$$r_a \approx \frac{R_a \cdot l}{d^2}$$

$$[\Omega] = [V \cdot A^{-1}]$$

$$[F] = [A \cdot s \cdot V^{-1}]$$

$$\Delta V_m(x) = \Delta V_{(x=0)} \cdot e^{-x/\lambda}$$

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_a}}$$

(p.ex. de 0.1 à 1.0 mm)

Circuit **RC** : propriétés résistives $\Rightarrow \lambda$: constante d'espace

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.4. Mesure du potentiel de membrane

3.4.1. Choix des électrodes

3.4.1.1. Electrodes métalliques

POLARISATION DES ELECTRODES:

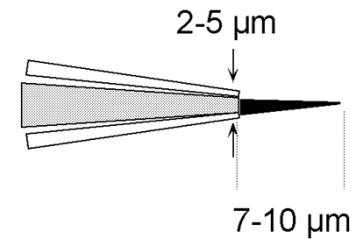
au point de contact METAL → SOLUTION ELECTROLYTES

→ transfert de charges entre: • porteurs électroniques (métal)
• porteurs ioniques (électrolytes en solution LEC)

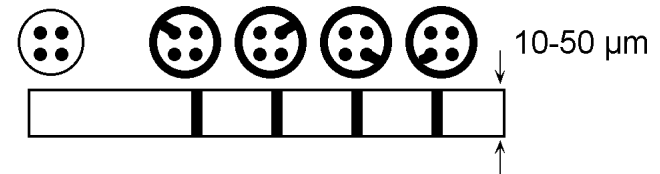
→ ddp d'électrode: • dépend du courant
• perturbe la mesure

Conviennent pour les enregistrements **extracellulaires**:

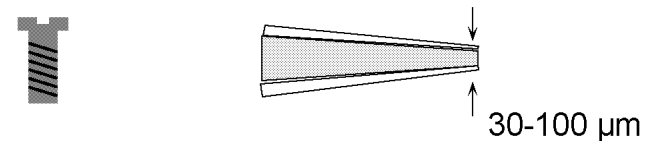
Microélectrode (W, Pt/Ir, Ir) $R_{me} \approx 0.3 - 2 \text{ M}\Omega$ 150-300 μm \varnothing



Electrode multiple (W, Pt, Ag, acier inox) $R_{me} \approx 0.1 - 1 \text{ M}\Omega$



Macroélectrode (W, Ag, acier inox) $R_{me} \approx 0.01 - 0,5 \text{ M}\Omega$



3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.4. Mesure du potentiel de membrane

3.4.1. Choix des électrodes

3.4.1.2. Micropipettes

Convient pour les enregistrements **intracellulaires**:

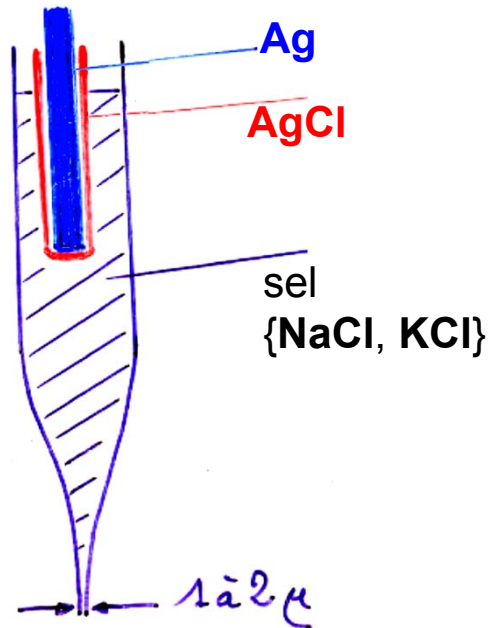
Caractéristiques électriques de la membrane

Capacité = 1 à 3 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$

10-30 mF/m^2

Résistance = 200.000 Ohms/ mm^2 (\approx verre)

$\text{M}\Omega/\text{m}^2$



ELECTRODES IMPOLARISABLES

- **ELECTRODES a ANIONS (ions -)**

→ transfert de charges par “pont salin” :

porteurs électroniques (métal) \Leftrightarrow porteurs ioniques (sel n.1)

porteurs ioniques (sel n.1) \Leftrightarrow porteurs ioniques (sel n.2)

porteurs ioniques (sel n.2) \Leftrightarrow porteurs ioniques (électrolytes)

(sel n.2): p.ex. Na^+Cl^- pour le milieu **extracellulaire**

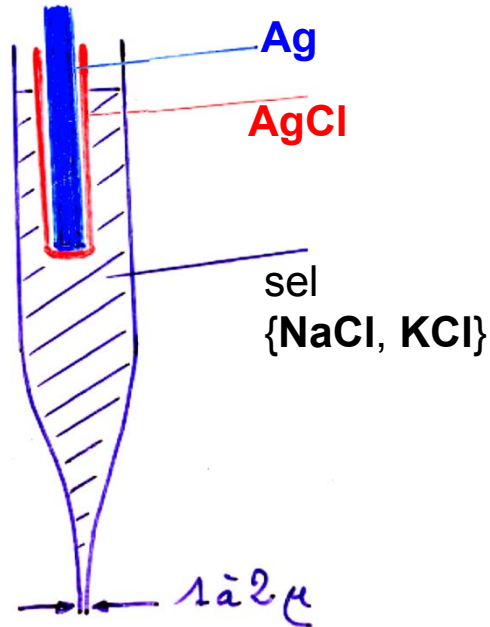
K^+Cl^- pour le milieu **intracellulaire**

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.4. Mesure du potentiel de membrane

3.4.1. Choix des électrodes

3.4.1.2. Micropipettes



ATTENTION Ag^+ , TOXIQUE !!

⇒ Ag (métal) enrobé dans un sel (sel n.1) très peu soluble Ag^+Cl^-

⇒ équilibre d'une solution saturée de AgCl
$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{Ag}^+][\text{Cl}^-]}{[\text{AgCl}_{(\text{sol})}]}$$

**La [] d'un solide est constante !!
Ne dépend pas de la présence d'une solution,
ni de température et pression**

⇒ $[\text{Ag}^+][\text{Cl}^-] = K_{\text{eq}}[\text{AgCl}_{(\text{sol})}] = \text{Constante}$

⇒ $K_{\text{PS}} = K_{\text{eq}}[\text{AgCl}_{(\text{sol})}]$ $K_{\text{PS}} = \text{produit de solubilité}$

⇒ $[\text{Ag}^+]$ est inversement proportionnelle à $[\text{Cl}^-]$

- Le transfert de charge assuré par Cl^- avec un autre sel (sel n.2, KCl ou NaCl)
- la variation de $[\text{Cl}^-]$ due à la mesure doit être faible pour avoir une mesure stable

⇒ $[\text{K}^+\text{Cl}^-] \approx 2\text{-}3 \text{ M}$

- **ELECTRODES a CATIONS (ions +)** métal plongeant dans un sel soluble
(ex. Ag plonge dans Ag^+NO_3^- échange Ag^+ , **TOXIQUE !!**)

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.4. Mesure du potentiel de membrane

3.4.2. Méthode

3.4.2.1. Amplification du signal

Caractéristiques électriques de la membrane

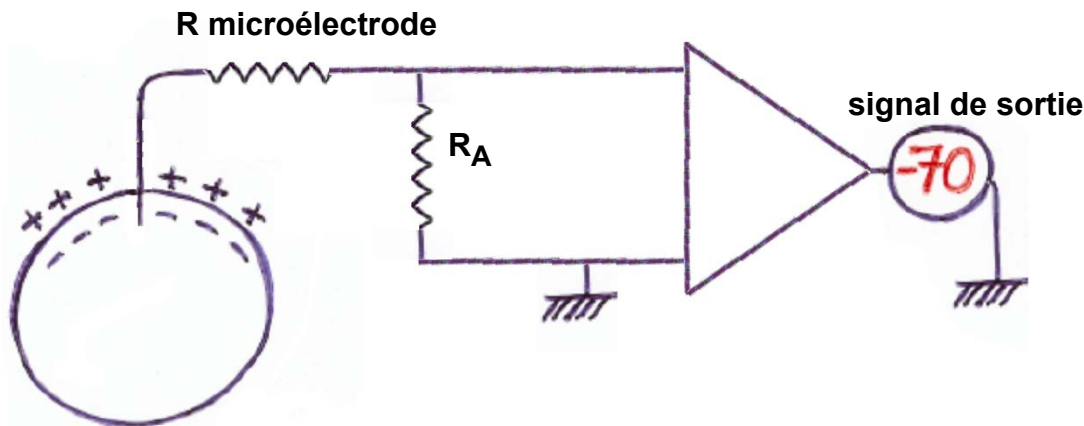
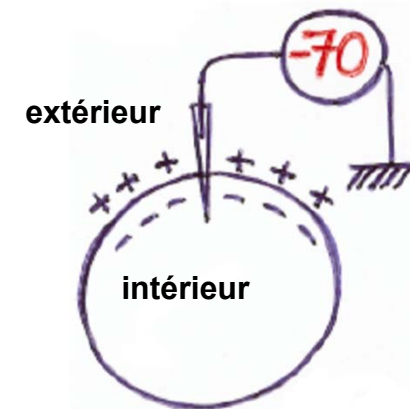
Capacité = 1 à 3 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ 10-30 mF/m^2

Résistance = 200.000 Ohms/ mm^2 (\approx verre) $\text{M}\Omega/\text{m}^2$

Théoriquement, voici ce que nous voulons faire:

Pratiquement, nous ne pouvons pas ignorer les caractéristiques électriques propres de l'électrode elle-même et de l'amplificateur nécessaire pour effectuer la mesure.

La d.d.p. (tension) que nous voulons mesurer (c.à.d. le potentiel de membrane) est atténué par l'appareillage qui produit un "diviseur de tension" avec la résistance (R_{me}) de l'électrode et la résistance d'entrée de l'amplificateur R_A .



Pour éviter une telle atténuation (et distortion du signal) il faut une **HAUTE RESISTANCE D'ENTREE**

$$R_A \gg R_{me}$$

$$R_A \approx 100 \text{ M}\Omega \text{ ou plus}$$

$$R_{me} \text{ souvent } \approx 10\text{-}30 \text{ M}\Omega$$

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.4. Mesure du potentiel de membrane

3.4.2. Choix des électrodes

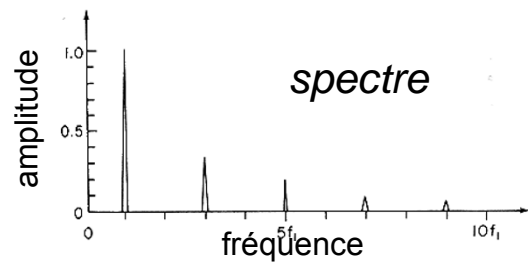
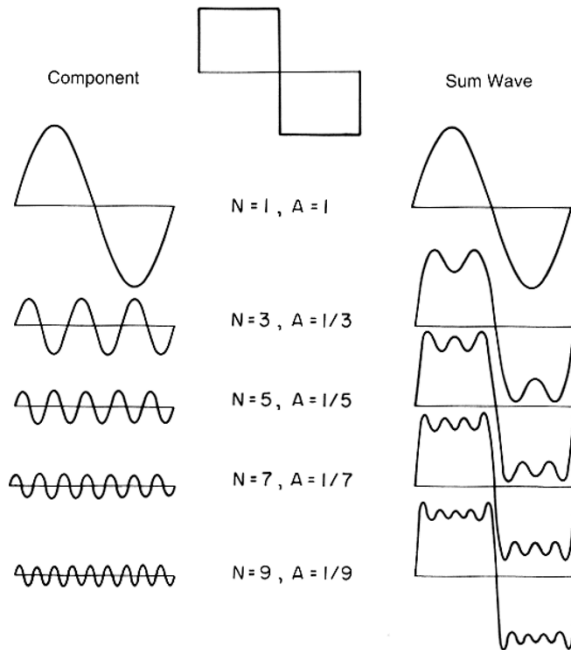
3.4.2.3. Distortion du signal

Rappel: décomposition d'un signal continu en série de Fourier :

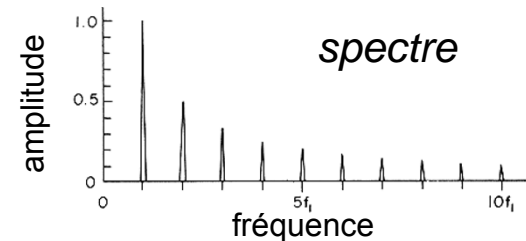
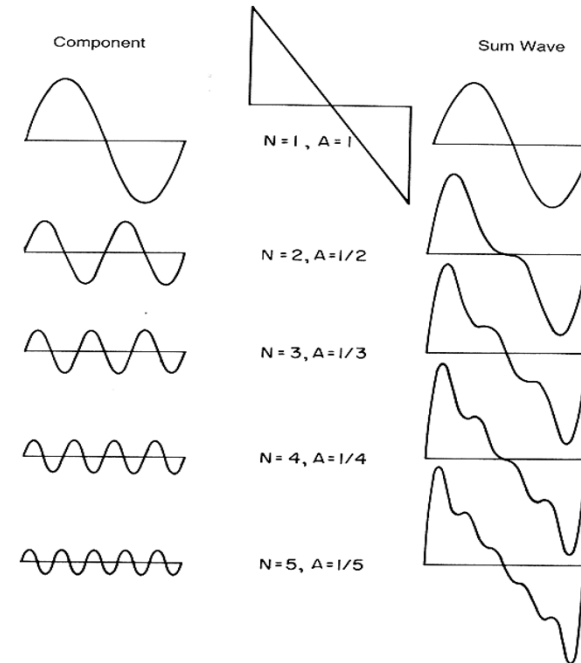
$$x(t) = \frac{a_0}{2} + \sum_{k=1}^{\infty} (a_k \cos(k\omega_0 t) + b_k \sin(k\omega_0 t))$$

Onde carrée

$$x(t) = \sin(\omega_0 t) + \frac{1}{3} \sin(3\omega_0 t) + \frac{1}{5} \sin(5\omega_0 t) + \dots$$



Onde en dent de scie



3. POTENTIEL DE MEMBRANE

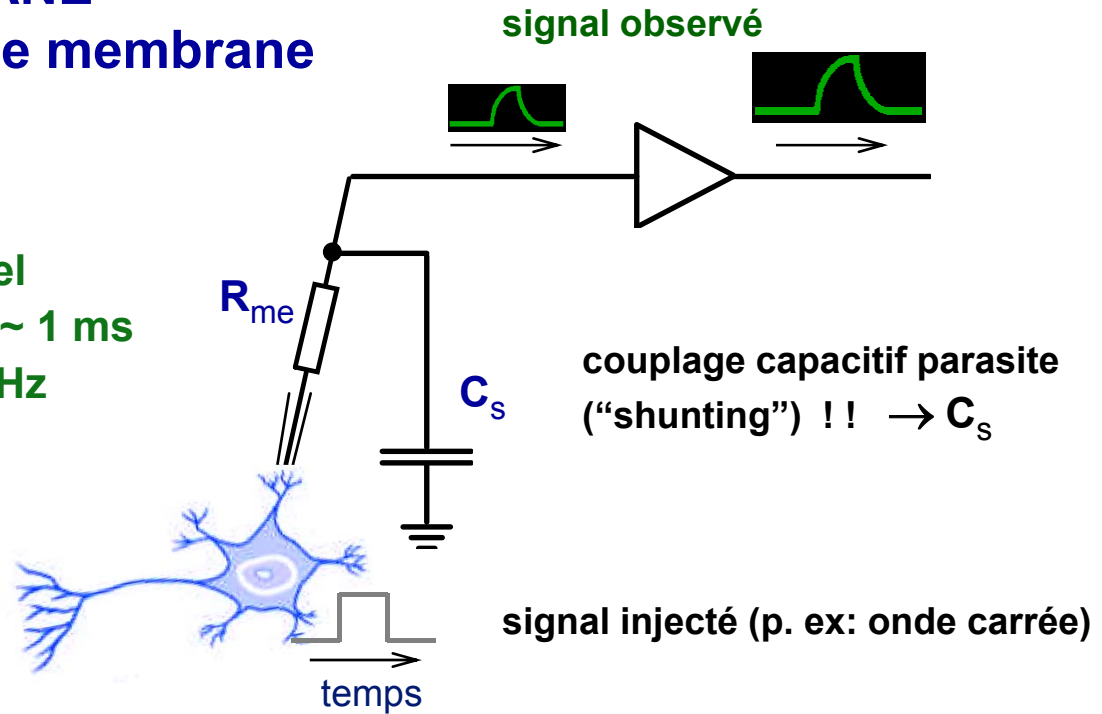
3.4. Mesure du potentiel de membrane

3.4.2. Choix des électrodes

3.4.2.3. Distortion du signal

La variation rapide du potentiel transmembranaire (P.A.) dure ~ 1 ms
 ⇒ fréquence du signal ~ 1 kHz

⇒ **distortion du signal**
 ⇒ composantes de haute freq. ↓↓
 (filtre "passe-bas")
 atténuation ~ 3dB att/octave
 [octave : $f_2 = 2 \times f_1$]



Fréquence de coupure caractéristique:

$$f_{3dB} = (2 \cdot \pi \cdot R_{me} \cdot C_s)^{-1}$$

NB: définition: $dB \text{ att} = -10 \times \text{Log}_{10}(A_2 / A_1)$ [sans unités]

A_2 = variable mesurable (souvent intensité, pression ou puissance)

A_1 = valeur de référence de la variable mesurable (première mesure)

$$3dB \text{ att} \Rightarrow 3 = -10 \times \text{Log}_{10}(A_2 / A_1) \Rightarrow A_2 = 10^{(-3/10)} \times A_1 \Rightarrow A_2 = 0.5012 \times A_1 \Rightarrow A_2 \approx 50\% \times A_1$$

$$C_s = 2 \text{ pF} \Rightarrow f_{3dB} = 1600 \text{ Hz} \Leftrightarrow \text{composantes à cette freq.} \Rightarrow \text{atténuation} = 50\%$$

$$R_{me} = 50 \text{ M}\Omega \Rightarrow f = 3200 \text{ Hz} \Rightarrow \text{atténuation} = 75\% (50 + 0.5 \times 50)$$

$$f = 6400 \text{ Hz} \Rightarrow \text{atténuation} = 87\% (50) + (0.5 \times 50) + (0.5 \times (0.5 \times 50))$$

$$C_s = 5 \text{ pF} \Rightarrow f_{3dB} = 640 \text{ Hz}$$

$$R_{me} = 50 \text{ M}\Omega$$

3. POTENTIEL DE MEMBRANE

3.4. Mesure du potentiel de membrane

3.4.2. Choix des électrodes

3.4.2.3. Distortion du signal

Loi d'Ohm: $Q = C \cdot V$

$$\Rightarrow I = Q / dt = C \cdot dV / dt$$

Courant de shunt :

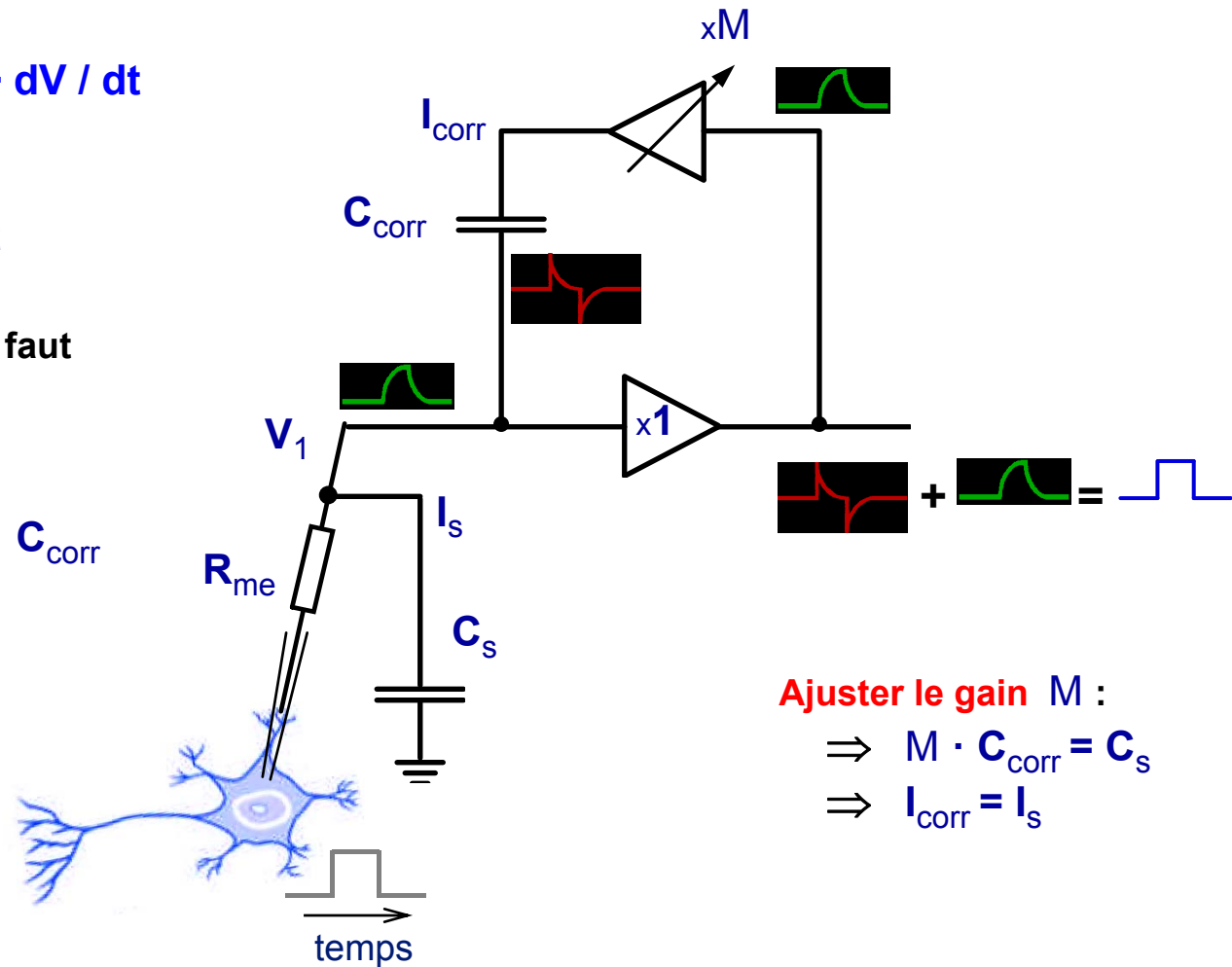
$$I_s = C_s \cdot dV_1/dt$$

Pour corriger la distortion il faut réinjecter du courant :

- ampli à **gain M variable**

- capacité fixe de correction C_{corr}

$$I_{corr} = M \cdot C_{corr} \cdot dV_1/dt$$



Ajuster le gain M :

$$\Rightarrow M \cdot C_{corr} = C_s$$

$$\Rightarrow I_{corr} = I_s$$

Mentions légales

L'ensemble de cette œuvre relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle, littéraire et artistique ou toute autre loi applicable.

Tous les droits de reproduction, adaptation, transformation, transcription ou traduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Cette œuvre est interdite à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1 et ses affiliés.

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1, et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.