

TD électrophysiologie de la membrane plasmique (1)

potentiel de membrane et mouvements ioniques

- potentiel d'équilibre d'un ion
- flux d'un ion à travers une membrane
- l'équilibre de Donnan
- différence de concentration ionique et potentiel
- potentiel de membrane – équation de Goldman-Hodgkin-Katz
potentiel de membrane – équation de conductance

applications expérimentales

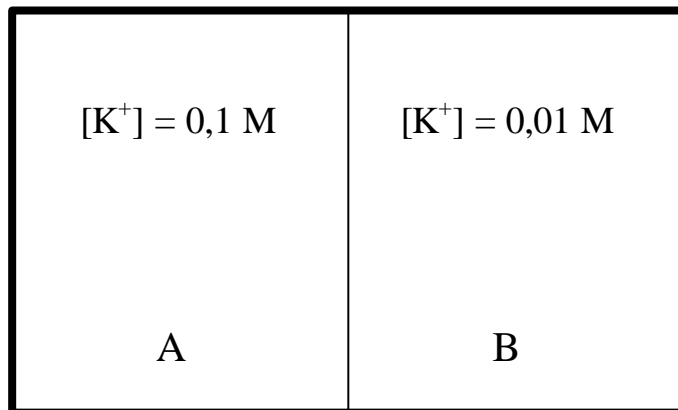
- *conductance d'un canal unitaire*
- *potentiel d'inversion d'un courant membranaire*

documents accessibles sur :

- le site de l'Université (<http://www.u-bordeaux2.fr>) à apprentoile (en intranet uniquement)
- <http://www.apprentoile.u-bordeaux2.fr>

Exercice n° 1 : calcul du potentiel d'équilibre d'un ion

On considère deux compartiments A et B séparés par une membrane perméable au K^+ . Les concentrations de K^+ dans les compartiments A et B sont respectivement 0,1 M et 0,01 M.

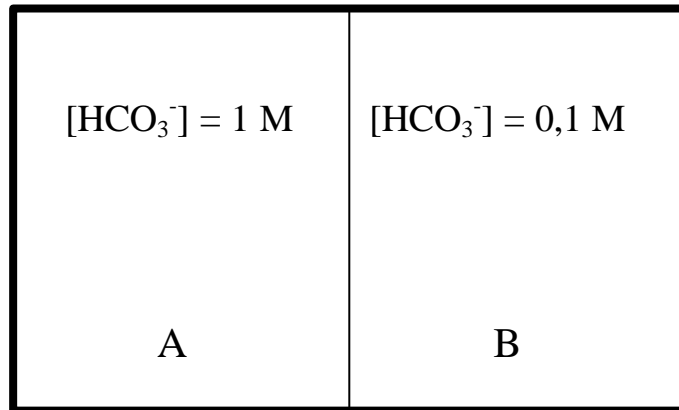


a) Calculer la différence de potentiel $E_A - E_B$ pour laquelle l'ion K^+ est à l'équilibre.

b) Pour cette différence de potentiel, quelle est la valeur du flux net de K^+ ?

exercice 2 : flux d'un ion à travers une membrane

On considère 2 compartiments A et B séparés par une membrane perméable contenant HCO_3^- aux concentrations de 1 M et 0,1 M, respectivement. La différence de potentiel entre A et B est $E_A - E_B = + 100 \text{ mV}$.



$$E_A - E_B = + 100 \text{ mV}$$

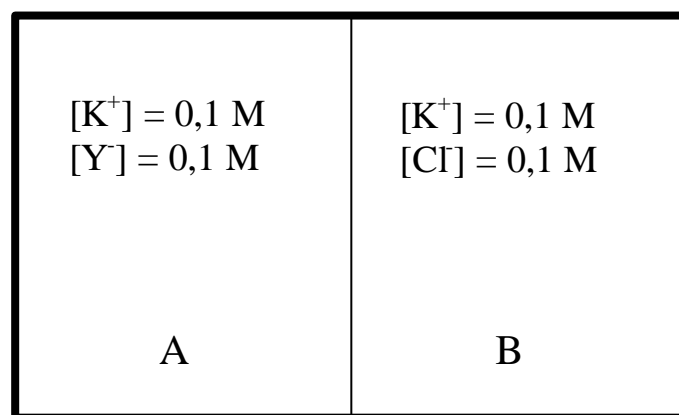
- a) L'ion HCO_3^- est-il à l'équilibre ? Satisfait-il à l'équation de Nernst ?
- b) Si l'ion n'est pas à l'équilibre, dans quel sens la force électrochimique va-t-elle le faire migrer ?

exercice 3 : l'équilibre de Donnan

On considère 2 compartiments A et B, de volume constant, séparés par une membrane perméable aux ions K^+ et Cl^- , mais imperméable aux ions Y. Les concentrations ioniques sont les suivantes :

compartiment A : $[K^+]_A = [Y^-]_A = 0,1 \text{ M}$

compartiment B : $[K^+]_B = [Cl^-]_B = 0,1 \text{ M}$



- a) En quoi la membrane séparant A et B est-elle une membrane de Donnan ?
Que décrit l'équation de Gibbs-Donnan ?
- b) Les ions sont-ils à l'équilibre ?
- c) À l'équilibre, quelles seront les concentrations des différents ions dans chaque compartiments ? Quelle sera la différence de potentiel entre A et B ?

exercice 4 : différence de concentration ionique et potentiel

On considère 2 compartiments A et B séparés par une membrane et contenant du potassium, du sodium et du chlore aux concentrations indiquées.

$[K^+] = 0,1 \text{ M}$ $[Na^+] = 0,01 \text{ M}$ $[Cl^-] = 0,11 \text{ M}$ A	$[K^+] = 0,01 \text{ M}$ $[Na^+] = 0,1 \text{ M}$ $[Cl^-] = 0,11 \text{ M}$ B
--	--

a) premier cas : la membrane n'est perméable qu'à l'ion potassium. Le potassium est-il à l'équilibre ? Sinon, dans quel sens se fera le flux de K^+ ? Quel effet ce flux aura-t-il sur le potentiel de part et d'autre de la membrane ? À quelle valeur le potentiel se stabilisera-t-il ?

b) deuxième cas : la membrane n'est perméable qu'à l'ion sodium. Le sodium est-il à l'équilibre ? Sinon, dans quel sens se fera le flux de Na^+ ? Quel effet ce flux aura-t-il sur le potentiel de part et d'autre de la membrane ? À quelle valeur le potentiel se stabilisera-t-il ?

c) troisième cas : la membrane est également perméable à K^+ et à Na^+ . À quelle valeur le potentiel se stabilisera-t-il ? Pour cette valeur de potentiel, et ces concentrations, K^+ et Na^+ seront-ils à l'équilibre ?

d) que peut-on en conclure sur la participation des ions à l'établissement d'un potentiel transmembraire ?

exercice 5 : potentiel de membrane – équation de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK)

Les concentrations ioniques intracellulaire et extracellulaire d'un axone de calmar sont les suivantes (en mM) :

	Na^+	K^+	Cl^-
extracellulaire	460	10	540
intracellulaire	50	400	40
$E_{eq} (mV)$	+58	-96	-68
perméabilité P	0,05	1	0,45

a) Qu'est-ce l'équation de GHK ? Que permet-elle de calculer ? Si l'ion Cl^- est à l'équilibre électrochimique, quelle est sa participation au potentiel de membrane ? Comment peut-on alors simplifier l'équation de GHK ?

b) Calculez le potentiel de membrane de repos de l'axone de calmar, en utilisant l'équation simplifiée de GHK.

NB : on rappelle que, par convention, le potentiel de membrane E_m est le potentiel intracellulaire moins le potentiel extracellulaire ($E_m = E_i - E_e$)

c) L'ouverture de canaux sodiques augmente la perméabilité au sodium ; $P_{\text{Na}} = 20$. Quelle est alors la valeur du potentiel de membrane ?

d) L'ouverture de canaux potassiques augmente considérablement la perméabilité au potassium. La perméabilité au sodium et au chlore devient négligeable par rapport à la perméabilité au potassium. Vers quelle valeur va alors tendre le potentiel de membrane ?

Exercice 6 : potentiel de membrane – équation de conductance

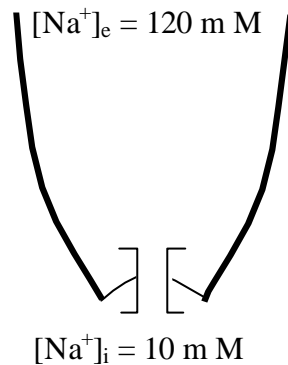
Les concentrations ioniques intracellulaire et extracellulaire du muscle *sartorius* de la grenouille sont les suivantes :

	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
extracellulaire	120	4	120
intracellulaire	12	120	4
$E_{eq} (mV)$	+60	-89	-89
conductance relative	0,05	0,5	0,45

- Donner, pour chaque ion, la formule donnant l'intensité du courant dû à cet ion en fonction de la conductance membranaire pour cet ion, de son potentiel d'équilibre et du potentiel membranaire E_m .
- Sachant qu'au repos le courant global – somme de l'ensemble des courants portés par chaque ion – est nul, déterminer la potentiel membranaire de repos E_m du muscle étudié.
- Quelle va être la conséquence de l'activation de canaux Na²⁺ sur les conductances relatives ? Comment va varier le potentiel de membrane ?
- Quelle va être la conséquence de l'activation des canaux K⁺ sur les conductances relatives ? Comment va varier le potentiel de membrane ?

exercice 7 : conductance d'un canal unitaire

En utilisant la technique du patch-clamp (configuration patch excisé), on étudie une portion de membrane plasmique ne contenant qu'un seul canal sodique. Les concentrations en sodium intracellulaire et extracellulaires sont respectivement de 120 mM et 10 mM.



Le courant mesuré lorsque le potentiel est maintenu à -40 mV est, en valeur absolue, de $2 \cdot 10^{-12} \text{ A}$.

- Calculez de potentiel d'équilibre pour l'ion Na^+ .
- Quelle est la conductance unitaire du canal ?
- quel est le signe du courant observé ? (par convention, un courant entrant est négatif, un courant sortant est positif)

question subsidiaire :

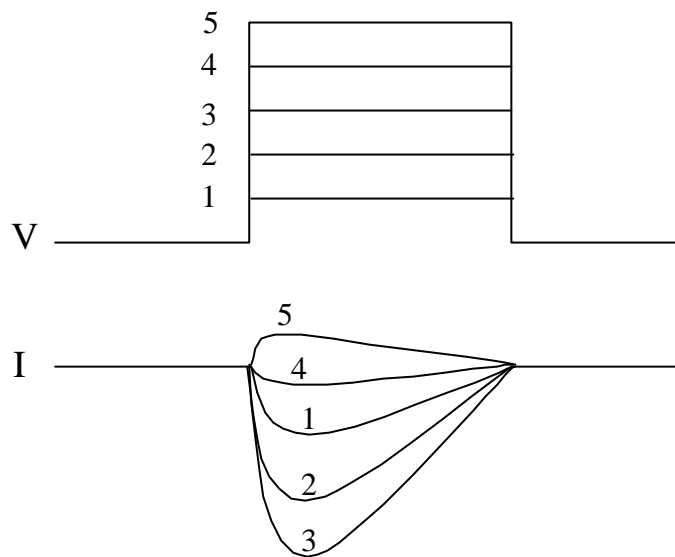
d) quel est le nombre d'ions qui traversent le canal en 1 msec ?

$$1 \text{ A} = 1 \text{ C} \cdot \text{sec}^{-1}$$

charge élémentaire de l'électron $e = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$

exercice 8 : détermination du potentiel d'inversion d'un courant membranaire

En utilisant la technique du patch-clamp (configuration cellule entière), on impose à la membrane plasmique un potentiel de -80 mV. On effectue alors des sauts de potentiel de 5 ms de 20 mV jusqu'à $+80$ mV. On enregistre la valeur maximale du courant membranaire observé pour chaque saut de potentiel.



Les valeurs obtenues sont les suivantes :

E_m (mV)	-80	-60	-40	-20	0	+20	+40	+60	+80
I (μ A)	0	-10	-45	-60	-70	-56	-35	-5	+25

a) Tracez la courbe I-V. Déterminer le potentiel d'inversion du courant.

b) Les concentrations intracellulaire et extracellulaire en sodium de la cellule sont les suivantes : $[Na^+]_i = 10$ mM $[Na^+]_e = 130$ mM.

Calculez le potentiel d'équilibre du sodium. Que peut-on dire de la nature du courant étudié ?

constantes

nombre d'Avogadro (nombre d'entités présentes dans une mole) $N = 6,02 \cdot 10^{23}$

constante de Boltzmann $k = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1} \text{ molécule}^{-1}$

constante des gaz parfaits $R = 8,32 \text{ J K}^{-1} \text{ mole}^{-1}$

température absolue $T \text{ (K)} = 273,15 + t \text{ (}^\circ\text{C)}$ $300 \text{ K} = 27 \text{ }^\circ\text{C}$ $310 \text{ K} = 37 \text{ }^\circ\text{C}$

pression atmosphérique $P_o = 10^5 \text{ Pa} = 1 \text{ atm} = 760 \text{ mm Hg}$

charge élémentaire de l'électron $e = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$

charge d'une mole d'électron $F = N e = 96500 \text{ C}$