

PRIX NOBEL DE MÉDECINE 1991

Les courants des canaux Étude électrophysiologique des canaux ioniques isolés

NOBEL 91

Erwin Neher, né le 20-03-1944
à Landsberg, Max Planck
Institut, département de chimie
et biophysique, Göttingen (Allemagne)

Bert Sakmann, né le 12-06-1942 à Stuttgart,
Max Planck
Institut, médecine et recherche, Heidelberg
(Allemagne)

RÉFÉRENCES

1. Sauvé R. Le *patch clamp* : une nouvelle façon de voir les canaux ioniques. *médecine/sciences* 1977 ; 3 : 538-45.
2. Neher E, Sakmann B. Single channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature* 1976 ; 260 : 799-802.
3. Anderson CR, Stevens C. Voltage clamp analysis of acetylcholine induced current fluctuations at frog neuromuscular junction. *J Physiol* 1973 ; 235 : 656-92.

La révolution amorcée en 1976 par la publication dans la revue *Nature* des premiers enregistrements électrophysiologiques basés sur la technique du *patch clamp* vient d'atteindre un point culminant avec la remise du prix Nobel de médecine aux co-initiateurs de cette technique Erwin Neher et Bert Sakmann. Ces prix confirment l'impact considérable que cette approche expérimentale a eu au cours des dix dernières années, non seulement sur notre compréhension des canaux ioniques, mais aussi, et surtout, sur l'étendue des relations que nous pouvons maintenant établir entre les données électrophysiologiques, biochimiques et génétiques.

L'apport de la technique du *patch clamp* à la physiologie cellulaire fut et demeure considérable. La très grande sensibilité de cette technique expérimentale permet en effet de mesurer les fluctuations rapides de courants électriques provenant du passage des ions dans un seul canal ionique [1]. Rappelons que les canaux ioniques sont des protéines transmembranaires qui forment des pores à l'intérieur

desquels les ions peuvent diffuser passivement. Les problèmes expérimentaux reliés à la détection d'un seul canal étaient de taille car les fluctuations de courant dans ce cas ne dépassent guère 10^{-12} à 10^{-13} A. Il est à noter, toutefois, que les travaux antérieurs à la publication de Neher et Sakmann en 1976 [2] et portant sur des molécules dites « formatrices de pores » avaient déjà fourni les bases scientifiques à partir desquelles les résultats de *patch clamp* pouvaient être interprétés. Ces molécules, dont la plus connue est certes la gramicidine, permettaient, après incorporation dans une membrane bilipidique planaire, de mesurer l'activité électrique d'une seule molécule canal. Les travaux effectués à partir de ces molécules démontrèrent, entre autre, que les formateurs de pores pouvaient fluctuer de façon aléatoire entre des états de conduction et de non conduction et que ces changements de conformation se traduisaient, lorsqu'un potentiel électrique constant était maintenu de part et d'autre de la membrane bilipidi-

Rémy Sauvé

Professeur titulaire de physiologie et directeur du groupe de recherche en transport membranaire. Université de Montréal, succursale A, Montréal, Québec, H3C 357, Canada.

que, par des sauts de courant de même amplitude mais de durée variable. Neher et Sakmann furent les premiers à mesurer ce type particulier de fluctuation sur une préparation biologique, confirmant par le fait-même l'existence de protéines membranaires capables de former des canaux ioniques. La méthode du *patch clamp* devait dès lors s'imposer comme l'outil par excellence grâce auquel la détection des fluctuations de courant provenant d'une seule protéine canal devenait possible.

La technique du *patch clamp* est aussi apparue à l'origine comme une extension limite d'une méthode expérimentale plus générale : l'analyse de bruit. L'analyse des propriétés statistiques des fluctuations de courant électrique provenant d'une population de canaux avait déjà fourni des indications précieuses quant à la nature et au fonctionnement de canaux individuels. La contribution des travaux publiés par Anderson et Stevens [3] sur les fluctuations de courant à la jonction neuromusculaire nous semble hautement significative à cet égard. Le *patch clamp* représente dans ce contexte un cas limite de cette méthode dans la mesure où les fluctuations provenant d'un seul canal peuvent être mesurées. Le *patch clamp* apportait donc la dimension moléculaire qui manquait alors aux techniques électrophysiologiques existantes.

Il est important aussi de souligner que le *patch clamp* constitue un prolongement des techniques de voltage imposé qui avaient jusqu'alors permis de mesurer des courants ioniques sur des préparations aussi diversifiées que l'axone de calmar, les œufs d'étoile de mer, les fibres musculaires ou cardiaques, etc. Ces techniques se heurtaient toutefois à des limites importantes. La résistance électrique élevée des microélectrodes conventionnelles ainsi que les dommages causés à la membrane cellulaire, suite à l'implantation d'une microélectrode dans la cellule, rendaient virtuellement impossible une étude électrophysiologique satisfaisante sur de petites cellules. La possibilité en *patch clamp* de briser la membrane sous la pipette tout en maintenant un con-

tact étanche entre la membrane cellulaire et la surface interne de l'électrode de verre permit non seulement d'établir un contact électrique de faible résistance entre la pipette et la cellule, mais aussi d'assurer un échange efficace entre le contenu de la pipette de *patch* et le milieu cytoplasmique. Grâce à cette configuration dite *whole cell*, l'étude en voltage imposé des courants globaux provenant de petites cellules devenait dès lors réalisable. Les retombées de cette découverte furent immenses. Plusieurs types cellulaires qui avaient résisté jusqu'alors aux techniques électrophysiologiques conventionnelles devenaient objets de travaux intensifs. Les mécanismes moléculaires reliant les changements de perméabilité de la membrane plasmique aux ions à des phénomènes cellulaires aussi complexes que la sécrétion, l'excitabilité ou la contraction devenaient accessibles expérimentalement. L'impact du *patch clamp* à ce niveau fut d'autant plus important que les techniques de culture de tissus mirent à la disposition des chercheurs un nombre croissant de types cellulaires. L'aspect le plus marquant de la révolution engendrée par la techniques du *patch clamp*, est sans doute l'émergence au cours des dix dernières années d'une vision plus globale de la cellule incluant des données aussi bien électrophysiologiques que biochimiques et génétiques. De nombreux mécanismes biochimiques régissant le contrôle des canaux ioniques ont été clairement identifiés. En particulier, l'activation ou l'inhibition de canaux ioniques cibles suite à la stimulation de récepteurs membranaires par différentes hormones et/ou neurotransmetteurs a été démontrée de façon non équivoque sur nombre de préparations cellulaires. A cet égard, les progrès de la biologie moléculaire permettent d'entrevoir la mise en évidence de modèles moléculaires et atomiques susceptibles d'expliquer non seulement les mécanismes par lesquels les canaux assurent le passage des ions, mais aussi comment s'effectue la régulation de ce processus. Les résultats de ces travaux vont certes avoir des conséquences majeures sur notre compréhension de phénomènes

physiologiques allant des mécanismes moléculaires à la base de l'apprentissage au couplage excitation-sécrétion, en passant par la communication intra et intercellulaire. D'ailleurs, les données électrophysiologiques obtenues par la méthode du *patch clamp* ont déjà contribué de façon significative à l'étude de maladies telles le diabète et la mucoviscidose tout en fournissant des éléments clefs susceptibles d'accroître nos connaissances sur le fonctionnement d'organes comme le cœur et le rein.

Le *patch clamp* a révolutionné la physiologie cellulaire. Le travail de Neher et Sakmann constitue un exemple des plus probants de la contribution indéniable de la recherche fondamentale à la médecine moderne. De nouveaux développements tout aussi prometteurs sont à prévoir dans un avenir prochain ■