

# Contribution du potentiel de Nernst à la mécanique des membranes biologiques

Sunita Chatkaew, Marc Leonetti

*Institut de Recherche sur les Phénomènes Hors Equilibre, UMR CNRS 6594, Universités Aix-Marseille I et II, Technopôle de Château-Gombert 13384 Marseille Cedex 13 France ; leonetti@irphe.univ-mrs.fr*

## Résumé :

*Une membrane biologique est constituée d'une barrière, la bicouche lipidique, quasi-imperméable aux ions présents dans la solution dans laquelle baigne la cellule. Le transfert des ions à travers la membrane est effectué spécifiquement par des protéines localisées au sein de la membrane. L'activité membranaire génère ainsi une différence de potentiels électriques  $V$  à la membrane et des différences parfois très importantes de concentrations entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Dans le cas des cellules animales,  $V$  est proche du potentiel d'équilibre de Nernst de l'ion potassium. Le potentiel de Nernst est la différence de potentiels électrique à la membranes nécessaire afin d'équilibrer la différence de concentrations entre les concentrations interne et externe de l'ion potassium. L'objet de ce papier est de déterminer comment les propriétés élastiques d'une membrane biologique sont modifiées par la présence du potentiel de Nernst. D'un point de vue électrique, la membrane peut être considérée en première approximation, comme un diélectrique de très faible épaisseur. Le potentiel de Nernst engendre donc une distribution ionique de part et d'autre de la membrane. Le système considéré est une cellule cylindrique. L'énergie associée au processus de Nernst a été calculée et ainsi, nous montrons que le module élastique de courbure est renormalisé et qu'une courbure spontanée de la membrane apparaît. La stabilité de la membrane est affectée.*

## Abstract :

*The structure of a biological membrane is a thin lipid bilayer where proteins are embedded. As the lipid bilayer is a dielectric, ionic transfer through the membrane is maintained by proteins such as pumps and channels. Their activities generate an electric membrane potential  $V$  and differences between intracellular and extracellular concentrations. In the case of animal cells,  $V$  is well described by the Nernst equilibrium potential of the potassium ion. This potential is the difference of electric potentials across the membrane that equilibrates the difference between internal and external concentrations of the potassium ion. In this paper, the contribution of the Nernst potential to the elastic properties of cellular membranes is determined. Especially, the renormalization of the elastic modulus of curvature is computed. We show that a spontaneous curvature appears, modifying the stability of the membrane.*

## Mots clefs :

**mécanique des membranes ; élasticité ; Potentiel de Nernst**

## 1 La problématique

L'étude de la structure et de la dynamique des membranes est un thème central de recherche dans des domaines aussi divers que la physique des colloïdes, physique et mécanique des interfaces [1,2] ou bien encore de la biomécanique [3]. Les motivations sont aussi diverses que leur utilisation dans l'industrie cosmétique ou agroalimentaire ou bien encore, une meilleure compréhension de processus biologiques dans lesquels la membrane joue un rôle important. Deux exemples patents sont l'exocytose et l'endocytose. Dans le cadre de ce papier, nous nous intéressons aux membranes biologiques [4].

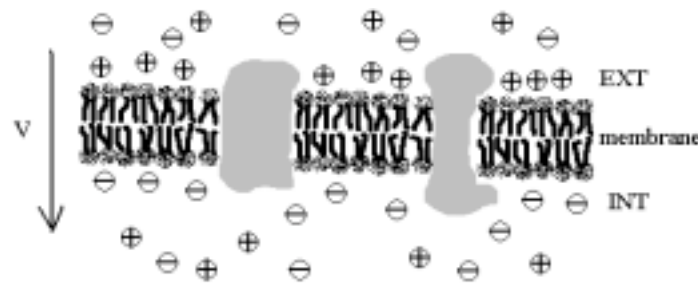


FIG. 1 – Une membrane biologique est composée d'une bicouche de lipides dans laquelle baignent les protéines. Le potentiel de membrane  $V$  est la différence de potentiels électriques entre l'interne et l'externe.

Les membranes biologiques et de protéoliposomes sont constituées d'une matrice, une bicouche lipidique formée de deux monocouches de lipides dans laquelle il existe un grand nombre de protéines membranaires : figure 1. L'épaisseur est de l'ordre de 5 nm. La bicouche lipidique étant imperméable aux ions, la conduction ionique est effectuée par plusieurs classes de protéines membranaires [4,5]. Les pompes sont les seules qui soient actives : elles consomment de l'énergie chimique par hydrolyse de l'ATP pour transférer un ion d'un côté à l'autre de la membrane. Dans le régime stationnaire, le courant transmembranaire est nul : le flux membranaire produit par les pompes est compensé par celui d'autres protéines telles que les canaux, les cotransporteurs ou bien encore les uniports. Ces protéines sont passives. Le résultat de cette activité est la génération d'un potentiel de membrane  $V$  ( $V$  est la différence de potentiels électriques entre l'interne et l'externe) qui varie suivant le type cellulaire de  $-30$  mV à  $-250$  mV. Il existe d'autres sources du potentiel de membrane comme le potentiel de Donnan ou bien le potentiel de Nernst. Ce dernier décrit correctement le potentiel de membrane  $V$  lorsque la conductance des protéines passives de l'un des ions transférés par la pompe est grande devant le courant de la pompe divisé par le potentiel de membrane. C'est notamment le cas des cellules animales dont le potentiel de membrane  $V$  est bien représenté par le potentiel de Nernst de l'ion potassium [5] :

$$V = -\frac{k_B T}{e} \ln\left(\frac{n_{10}}{n_{1\infty}}\right) \quad (1)$$

où  $n_{10}$  et  $n_{1\infty}$  sont respectivement les densités interne et externe de l'ion potassium. La nature thermodynamique du potentiel de Nernst provient de l'équilibre de la différence de concentrations interne et externe par le potentiel de membrane. Elle sera explicitée dans la partie 3.1. L'objet de ce papier est d'étudier la contribution du potentiel de Nernst aux propriétés mécaniques de la membrane : figure 2.



FIG. 2 – La déformation d'une membrane dépend du module élastique de courbure et de la présence d'une courbure spontanée. L'objet de ce papier est l'étude de la stabilité d'une membrane cylindrique en déterminant ses caractéristiques mécaniques en présence d'un potentiel de Nernst.

## 2 Mécanique de la membrane

Les propriétés élastiques des bicouches lipidiques sont caractérisées par trois types de déformation élastique associées à trois énergies élastiques de nature différente: élongation, cisaillement et courbure [6].

La première déformation correspond à un étirement isotrope (ou contraction) dans le plan de la membrane d'un élément de surface. Elle est donc reliée au module de compressibilité de la membrane. L'énergie nécessaire afin d'augmenter la surface de quelques % est considérable devant l'énergie d'agitation thermique  $k_B T$ . Dans notre travail, la surface de la membrane est donc constante. La seconde déformation est le cisaillement lié au mouvement opposé des deux monocouches à surface constante. Dans les membranes fluides que nous considérons, la résistance est faible. Ce terme est donc négligé. Le troisième type de déformation est la courbure de la membrane à surface constante. La densité surfacique d'énergie  $F_{mech}$  est alors [2,6] :

$$F_{mech} = \frac{\kappa}{2} \int (C_1 + C_2 - C_0)^2 dS + \kappa_G \int C_1 C_2 dS \quad (2)$$

où  $\kappa$  et  $\kappa_G$  sont le modules élastique de courbure et le module gaussien.  $C_{1,2}$  et  $C_0$  sont respectivement les courbures principales et la courbure spontanée de la membrane. L'intégration se fait sur la surface de la membrane. D'après le théorème de Gauss-Bonnet, le second terme de l'énergie ne dépend que de la topologie du système [2]. Il est donc constant dans cette étude. Il est omis dans la suite.

### 3 Modèle

#### 3.1 Système et équations de base

Le système étudié est une membrane cylindrique de rayon  $R$  et d'épaisseur  $d$ . La membrane contient divers ions notés  $j$  dont la valence est  $z_j$  et la densité est  $n_j^i$ . Elle est plongée dans une solution contenant aussi les ions  $j$  dont la densité est  $n_j^e$ . Dans le cadre d'un modèle simple, on suppose que seul l'ion 1 est susceptible de traverser la membrane. Si les densités interne et externe de 1 sont différentes, l'ion 1 traverse la membrane et charge donc la capacité que constitue la bicouche électrique. Le potentiel de membrane  $V$  engendré est la différence entre les potentiels électriques interne  $\phi_i$  et externe  $\phi_e$ :  $V = \phi_i - \phi_e$ . Les distributions spatiales de chaque ion sont affectées de part et d'autre de la membrane par  $V$ . Dans une théorie de champ moyen, le profil de chaque densité ionique est donné par la distribution de Boltzmann. Les effets de corrélation sont négligés [7,8]. Les densités ioniques vérifient l'équation de Poisson :

$$\Delta \phi_{e,i} = -\frac{e}{\epsilon} \sum_j z_j n_{j,\infty,j0} \exp[-z_j e(\phi_{e,i} - V_{e,i}) / k_B T] \quad (3)$$

où  $n_{j,\infty}$  et  $n_{j0}$  sont les densités ioniques de l'ion  $j$  loin de la membrane à l'extérieur et à l'intérieur.  $V_i$  est le potentiel de membrane tandis que  $V_e$  est choisi égal à zéro (origine des potentiels). Au sein de la membrane, entre  $R_+ = R + d/2$  et en  $R_- = R - d/2$ , le potentiel électrostatique satisfait l'équation de Laplace. Le potentiel électrostatique est continu à la traversée de chaque interface solution-membrane en  $R_+$  et en  $R_-$  tandis que le champ électrique est discontinu :

$$\epsilon \mathbf{n} \cdot \nabla \phi_{i,e} = \epsilon_m \mathbf{n} \cdot \nabla \phi_{mi,me} \quad (4)$$

où  $\epsilon$ ,  $\epsilon_m$  et  $\mathbf{n}$  sont respectivement la permittivité de l'eau, la permittivité de la membrane et le vecteur unitaire normal à la membrane. Le système d'équations est résolu analytiquement et numériquement le cas échéant dans le cadre de l'approximation de Debye-Hückel. C'est à dire que les potentiels  $\phi_e$  et  $\phi_i - V$  sont petits devant le potentiel thermique  $k_B T / e \approx 25$  mV, approximation justifiée dans le cadre du potentiel de Nernst. Ainsi, les distributions de Boltzmann sont linéarisées et l'intégration facilitée.

### 3.2 Méthode et calcul de l'énergie

L'énergie associée au processus de Nernst comprend deux contributions. La première est électrostatique et provient de l'existence d'une différence de potentiels électriques à la membrane et donc, d'une distribution ionique de chaque côté de la membrane. La seconde est fournie par l'agitation thermique qui se retrouve aussi dans le profil des distributions ioniques. Le cas  $n_{10} < n_{1\infty}$  est considéré car, c'est celui-ci qui peut être validé expérimentalement par une étude sur les protéoliposomes : à noter que la figure 1 correspond au cas opposé (celui des cellules animales). Les résultats ne dépendent pas de cette hypothèse. Une manière simple d'évaluer l'énergie de Nernst est de considérer la variation d'énergie  $dF_{\text{Nernst}}$  lorsque une quantité  $dN_1$  d'ions 1 est transférée à la membrane :  $dF_{\text{Nernst}} = (\mu_1^i - \mu_1^e) dN_1$  où  $\mu_1^i = z_1 e \phi_i + k_B T \ln(n_{10})$  et  $\mu_1^e = z_1 e \phi_e + k_B T \ln(n_{1\infty})$  sont respectivement les potentiels électrochimiques de l'ion 1 à l'intérieur et à l'extérieur. Les potentiels chimiques standards ont été omis car, ils n'interviennent pas dans le calcul. L'intégration s'effectue entre  $N_1$  égal à zéro et la quantité finale  $N_1^f$  d'ions 1 transférés.  $N_1^f$  se détermine par la condition d'équilibre dans l'état final :  $\mu_1^i = \mu_1^e$  qui fournit la valeur du potentiel  $V$  dans l'état final donnée par l'équation (1). Dans le cas d'une membrane cylindrique, la somme des densités surfaciques d'énergies mises en jeu  $F = F_{\text{Nernst}} + F_{\text{mech}}$  peut être développée en puissance de  $1/R$  :  $F = F_{\text{plan}} + b/R + c/R^2$  où  $F_{\text{plan}}$  est l'énergie de la densité d'énergie d'une membrane plane. Ce développement correspond aussi à celui d'une membrane élastique cylindrique dont le module élastique effectif de courbure  $\kappa_{\text{eff}}$  et la courbure spontanée  $C_0^{\text{eff}}$  sont renormalisés :  $\kappa^{\text{eff}} = 2c$  et  $C_0^{\text{eff}} = -b/2c$ . Cette méthode est générale. Elle a été appliquée dans la littérature au cas de membranes dont les lipides ou protéines portent une charge fixe [9,10].

## 4 Résultats

La résolution des équations (3,4) permet de déterminer la variation du potentiel électrique dans le système. Le potentiel électrique comprend deux parties : figure 3. La première est le saut de potentiel de l'ordre de  $V$  à la traversée de la membrane. Son origine thermodynamique a été précisé en 3.1. C'est le potentiel de Nernst. La seconde partie est la couche de Debye de part et d'autre de la membrane. La densité de charge est écrantée sur une longueur caractéristique appelée la longueur de Debye  $\lambda_D = \chi^{-1}$  : figure 3. Elle varie comme l'inverse de la racine carrée de la concentration en sel :  $\chi_{0,\infty}^2 = e^2 \sum_j z_j^2 n_{j0,j\infty} / \epsilon k_B T$ .

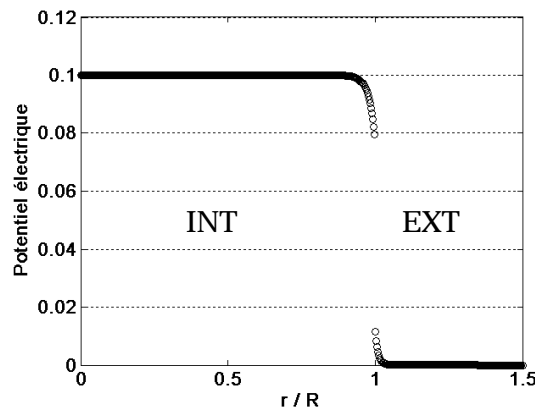


FIG. 3 – Le potentiel électrique d'une membrane soumise à un potentiel de Nernst  $V$  ( $V=0.1$  V) varie exponentiellement à l'approche de la membrane. Cela correspond à l'écrantage ionique. Ainsi, la différence de potentiels à la membrane  $V_m = \phi_i(R_-) - \phi_e(R_+)$  est différente du potentiel de Nernst  $V$ . Les valeurs des paramètres ont été choisies pour la clarté de la figure :  $\chi_0=5.10^7$  m<sup>-1</sup>,  $\chi_\infty=10^8$  m<sup>-1</sup>,  $R=1$  μm,  $d=5$  nm,  $\epsilon_m=5.10^{-11}$  Fm<sup>-1</sup> et  $\epsilon=7.1$  10<sup>-10</sup> Fm<sup>-1</sup>.

Toute la contribution à la mécanique de la membrane est contenue dans la couche de Debye. Car, l'énergie nécessaire pour courber la membrane doit prendre aussi en compte les changements induits dans la distribution ionique. Ainsi, le module effectif  $\kappa^{\text{eff}}$  de plus de 10 % est modifié pour des valeurs de  $\chi_0$  inférieures à  $5.0 \cdot 10^7 \text{ m}^{-1}$  ce qui correspond à une concentration interne en sel monovalent de 0.25 mM : figure 4. Dans les cellules biologiques, la concentration ionique dépasse largement les 100 mM. Il est facile de conclure que le potentiel de Nernst ne modifie pas la valeur du module élastique de courbure des cellules biologiques. En revanche, les systèmes modèles tels que les vésicules géantes contiennent de faibles quantités d'ions (en général, moins d'1mM) et sont donc affectés par le potentiel de Nernst. Pour un cas extrême dont la concentration ionique interne est de 0.01 mM, le module de courbure est plus que doublé. Le terme en  $1/R$  du développement de l'énergie (partie 3.2) est non nul pour une membrane asymétrique. C'est à dire pour une membrane dont les concentrations ioniques interne et externe sont différentes. Dans la limite où  $\chi_0 \ll \chi_\infty$ , on montre :  $C_0 \approx \varepsilon(\varepsilon_m V / 2ed\chi_0)^2 / \kappa^{\text{eff}}$ . Ce dernier résultat sera présenté en détail dans une future publication.

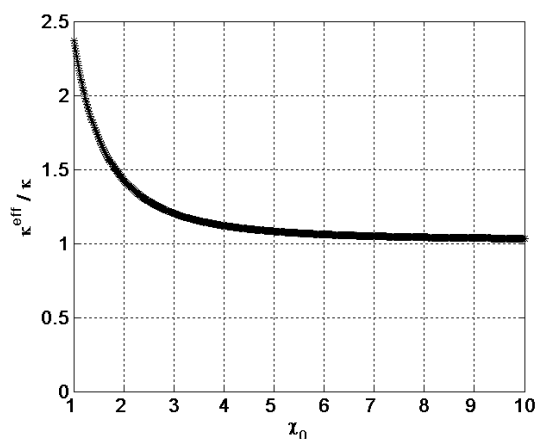


FIG. 4 – Variation du module élastique effectif de courbure  $\kappa^{\text{eff}}$  en fonction de l'inverse de la longueur interne de Debye ( $\times 10^{-7}$ ). Les valeurs des paramètres sont :  $\chi_\infty = 10^8 \text{ m}^{-1}$ ,  $d = 5 \text{ nm}$ ,  $\varepsilon_m = 5 \cdot 10^{-11} \text{ Fm}^{-1}$  et  $\varepsilon = 7.1 \cdot 10^{-10} \text{ Fm}^{-1}$ ,  $\kappa = 10 \text{ k}_B T$  et  $V = 100 \text{ mV}$ .

## 5 Conclusion

Dans ce papier, nous avons montré comment évaluer un effet de l'activité cellulaire sur les propriétés mécaniques stationnaires des membranes biologiques. Si le module de courbure est peu affecté dans le cas de cellules biologiques, il n'en va pas de même pour les systèmes modèles tels que les protéoliposomes et vésicules. Toutefois, la caractéristique fondamentale est l'apparition d'une courbure spontanée due uniquement au potentiel de Nernst. Il est nécessaire que les solutions ioniques interne et externe aient des concentrations ioniques différentes ce qui est généralement le cas que ce soient pour des systèmes modèles ou bien des cellules biologiques.

## Références

- [1] S. Safran, Statistical Thermodynamics of surfaces, interfaces and membranes, Addison Wesley, 1994.
- [2] U. Seifert, Configurations of fluid membranes and vesicles, Adv. Phys. 46, 13-137, 1997.

- [3] C. Pozrikidis, Modeling and Simulation of capsules and Biological Cells, Chapman & Hall/CRC, 2003.
- [4] B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J.D. Watson, Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing Inc., 1994.
- [5] B. Hille, Ion channels of excitable membranes, 3<sup>ème</sup> édition ,Sinauer Associates, 2001.
- [6] R. Lipowsky, E. Sackmann, Structure and Dynamics of Membranes, Elsevier, Amsterdam, 1995.
- [7] M. Deserno, C. Holm, Electrostatics affects in soft matter and biophysics, édité par C. Holm, P. Kekicheff, R. Podgornik (Kluwer, Dordrecht) 27, 2001.
- [8] M.N. Tamashiro, H. Schiessel, Where the linearized Poisson-Boltzmann cell model fails: spurious phase separation in charged colloidal suspensions, J. Chem. Phys. 119, 1855-1865, 2003.
- [9] M. Winterhalter, W. Helfrich, Effect of surface charge on the curvature elasticity of membranes, J. Phys. Chem. 92:6865-6867, 1988.
- [10] T. Chou, M.V. Jaric, E.D. Siggia, Electrostatics of lipid bilayer bending, Biophys. J. 72:2042-2055, 1997.