

# Induction de l'excitabilité membranaire dans les ovocytes de Xénope

par Gilles Charpentier\*

Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire, Université de Picardie, Faculté des Sciences, 33, rue Saint-Leu, 80039 Amiens cedex, France.

\*Adresse permanente : Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, UPR 9040, CNRS, 1, avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France.

Tél. : (33) 1 69 82 36 49. Fax : (33) 1 69 82 94 66. e-mail: Gilles.Charpentier@u-Picardie.fr

Reçu le 16 décembre 1999

## RÉSUMÉ

L'ovocyte immature du crapaud africain *Xenopus laevis* n'est pas une cellule excitable, c'est-à-dire qu'en réponse à une faible dépolarisation, cet ovocyte ne produit pas de potentiel d'action. Pourtant, si la membrane ovocytaire est soumise à des courants itératifs dépolarisants de forte amplitude, un phénomène régénératif apparaît. Cette réponse se traduit par l'établissement d'un potentiel transmembranaire positif pouvant durer plusieurs minutes. La dépolarisation obtenue est liée à l'ouverture de canaux dépendant du potentiel et ayant une très forte sélectivité pour les ions  $\text{Na}^+$ . Les canaux  $\text{Na}^+$  ainsi révélés présentent des propriétés électrophysiologiques et pharmacologiques originales, ce qui permet de les

distinguer des autres canaux  $\text{Na}^+$  dépendant du potentiel trouvés dans les tissus excitables.

L'ouverture des canaux  $\text{Na}^+$  ovocytaires est un processus complexe qui comprend une phase d'induction, au cours de laquelle les canaux passent d'un état inexcitable à un état dépendant du potentiel. L'induction est modulée par la température du milieu de perfusion, par l'activation d'enzymes (notamment une phospholipase C et une protéine kinase C) et par la libération d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  à partir des réserves intracellulaires, en réponse à la stimulation déclenchée par le phosphatidyl inositol triphosphate. Les données expérimentales résumées dans cette revue soulèvent le problème du rôle de ces canaux  $\text{Na}^+$  dans la physiologie de l'ovocyte.

## SUMMARY Induction of membrane excitability in *Xenopus* oocytes

Immature oocytes from the African toad *Xenopus laevis* are not known to be excitable cells, which means that they do not generate an action potential in response to small depolarizations. However, a regenerative response is produced if successive depolarizing currents of large magnitude are applied to the oocyte membrane. This response is characterized by the occurrence of a positive transmembrane potential that can last for several minutes. The opening of voltage-dependent channels, highly selective for sodium ions, underlies the depolarization thus obtained. These channels exhibit unconventional electrophysiological and pharmacological properties, which set them apart from other

types of voltage-dependent sodium channels found in excitable tissues.

The opening of the oocyte sodium channels is a complex process, which includes an induction phase. During this phase, the channels change from an electrical state of inexcitability into an excitable voltage-dependent state. The induction mechanism is modulated by the temperature of the bathing medium, by the activation of enzymes (namely a phospholipase C and a protein kinase C) and by the release of calcium ions from intracellular phosphatidyl-inositol triphosphate stores. The results summarized in this review point out the possible role that these sodium channels may play in the physiology of the oocyte.

## INTRODUCTION

De nombreuses observations suggèrent que l'expression d'une population particulière de canaux, au cours de la différenciation cellulaire, crée une période critique

pendant laquelle l'activité électrique et/ou les flux ioniques pourraient influencer le développement de la cellule. Par exemple, dans l'œil de fœtus de Mammifère, l'activité électrique spontanée des cellules rétinienues, au cours de la croissance des nerfs optiques, joue un rôle déterminant dans la formation des colonnes de dominance oculaire dans les corps genouillés latéraux. Si

Cette revue est dédiée à F. C.

l'activité électrique est inhibée par injection de tétrodoxine (TTX) dans l'œil, les colonnes de dominance oculaire ne se forment pas (Shatz & Striker, 1988). Dans le muscle squelettique, l'innervation influence l'expression de populations spécifiques de canaux ioniques : c'est le cas d'un canal  $\text{Na}^+$  embryonnaire (SkM2), insensible à la TTX, qui disparaît dans les cellules matures au profit d'un autre canal  $\text{Na}^+$  (SkM1), sensible à la TTX (Harris & Marshall, 1973).

Le terme d'excitabilité est souvent utilisé pour caractériser les cellules nerveuses, musculaires ou encore certaines cellules endocrines, car ces cellules génèrent une activité électrique en réponse à de faibles dépolarisations. C'est l'ouverture de canaux ioniques, commandée par les variations du potentiel de la membrane, qui confère aux cellules excitables cette propriété. De nombreux canaux dépendant du potentiel laissent passer spécifiquement des ions  $\text{Na}^+$  ou  $\text{Ca}^{2+}$ , de telle sorte que l'ouverture de ces canaux produit un changement positif du potentiel membranaire (dépolarisation de la membrane). Toutefois, le phénomène d'excitabilité n'est pas l'apanage des cellules nerveuses ou musculaires puisque, dans des organismes simples comme les Tuniciers (*Halocynthia roretzi* et *Halocynthia aurantium*), les ovocytes et les œufs sont excitables (Takahashi *et al.*, 1971). Des observations similaires ont été faites sur d'autres espèces chez lesquelles les ovocytes immatures et matures, mais également les œufs après la fécondation, présentent un potentiel de repos et peuvent produire des potentiels d'action semblables à ceux générés par les cellules musculaires ou nerveuses (Hagiwara & Jaffe, 1979). Les implications fonctionnelles de l'excitabilité des cellules reproductrices ou des œufs n'ont été élucidées que dans quelques cas. Ainsi, la possibilité pour des œufs d'Oursin de générer une dépolarisation de longue durée, avec un flux d'ions réduit au minimum, confère aux cellules fécondées un moyen rapide d'éviter la polyspermie (Jaffe, 1976). Dans d'autres cas, les changements de potentiel, en ouvrant des canaux ioniques et en permettant ainsi des mouvements d'ions, pourraient être un stimulus orientant la différenciation cellulaire (voir pour revue Moody, 1998).

Dans cette revue, nous nous intéressons aux propriétés singulières d'un canal ionique découvert dans la membrane de l'ovocyte d'un Amphibien Anoure : le crapaud africain *Xenopus laevis*. Dans les conditions basales, la membrane de cet ovocyte n'est pas excitable. Elle peut cependant être amenée à produire un potentiel d'action de longue durée lorsque la cellule est dépolarisée par des injections de courant. La principale originalité de cette observation réside dans le fait que la membrane de la cellule doit préalablement être dépolarisée pendant un certain temps pour permettre l'activation des canaux et rendre leur ouverture dépendante du potentiel. Une telle modification des propriétés des canaux de la membrane, sous l'effet d'une simple dépolarisation, conduit à s'interroger sur les mécanismes couplant le potentiel membranaire et les changements d'état du canal, mais aussi sur le rôle physiologique éventuel de ce canal dans l'ovocyte.

## INDUCTION DE L'EXCITABILITÉ MEMBRANAIRE

### Réponses membranaires en courant imposé

L'injection itérative de courants dépolarisants de forte amplitude dans l'ovocyte de Xénope produit une dépolarisation membranaire de longue durée (Fig. 1A), pouvant durer plusieurs minutes, voire plusieurs dizaines de minutes (Kado, 1983). Ce phénomène régénératif n'apparaît pas immédiatement en réponse à la première injection de courant, il ne survient qu'après un certain nombre d'impulsions et uniquement si le potentiel de membrane est porté à des valeurs supérieures à + 30 mV (Kado *et al.*, 1979). En effet, la réponse membranaire aux premières injections est due aux propriétés passives de la membrane qui correspondent principalement à la résistance d'entrée de la cellule et à la capacité de la membrane (voir Fig. 1B). Mais, avec la répétition des impulsions, la forme de la réponse membranaire change : elle augmente, comme si l'intensité du courant dépolarisant avait été augmentée. En outre, elle présente un épaulement à la fin de l'impulsion de courant, c'est-à-dire que la membrane reste dépolarisée à des valeurs positives de potentiel pendant un temps très court avant de retourner à la valeur de potentiel correspondant au niveau zéro de courant (voir Fig. 1C). Cet épaulement s'accroît au cours des impulsions subséquentes et, à un certain moment, le potentiel membranaire peut demeurer positif et se stabiliser pendant plusieurs minutes à une valeur supérieure à + 60 mV, avant de retourner lentement vers sa valeur initiale de repos (habituellement environ - 60 mV). La survenue de cette dépolarisation de longue durée dépend des ovocytes ainsi que d'autres facteurs, comme la température ou encore la composition du milieu de superfusion (Baud & Kado, 1984).

Puisqu'une injection de courant dépolarisant est nécessaire pour porter le potentiel de membrane vers des valeurs positives, le maintien de la dépolarisation de longue durée, à la fin de l'impulsion de courant, montre que la membrane a acquis le moyen de produire, par elle-même, un courant dépolarisant. Un tel effet n'est pas occasionné par des changements hyperpolarisants, d'amplitude identique, du potentiel de la membrane. Ces observations montrent donc que ce n'est pas l'amplitude du gradient électrique qui est importante et que la dépolarisation produit un changement radical dans une (ou plusieurs) molécule(s) de la membrane plasmique. La résistance d'entrée de l'ovocyte, mesurée avant l'injection de courants dépolarisants et pendant la dépolarisation de longue durée, chute brutalement à 10 k $\Omega$  à partir d'une valeur comprise entre 1 et 5 M $\Omega$  (Kado *et al.*, 1979; Baud *et al.*, 1982). La diminution de la résistance membranaire peut s'expliquer par la présence d'une nouvelle conductance. La caractérisation de cette conductance a été effectuée dans les conditions de potentiel imposé.

### Courants membranaires en potentiel imposé

Le potentiel des ovocytes est maintenu à une valeur proche de leur potentiel de repos (environ - 60 mV) et

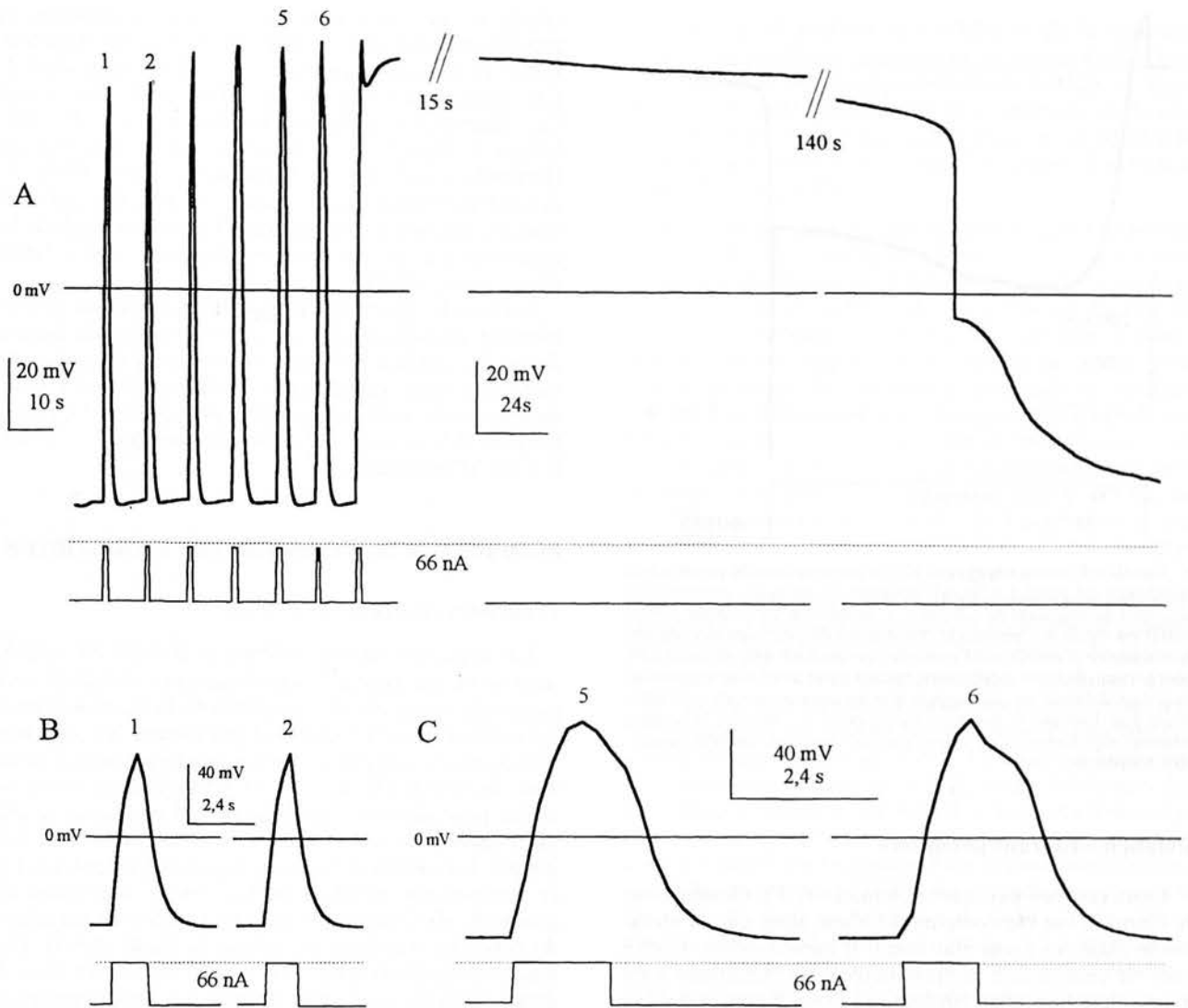


FIG. 1. – Induction d'une dépolarisation de longue durée en réponse à des injections successives de courants dépolarisants. A : enregistrement lent du potentiel de membrane d'un ovocyte de Xénope. Les enregistrements simultanés des courants injectés (66 nA, impulsions d'une durée d'environ 2 secondes toutes les 10 secondes) sont montrés en-dessous. B et C : enregistrements à vitesse plus élevée des données de A. Les numéros au-dessus des traces correspondent à leur position en A. Les barres obliques en A symbolisent une interruption de l'enregistrement pendant la durée indiquée.

Les enregistrements 1 et 2 sont pratiquement superposables, ils représentent la réponse presque purement passive au courant dépolarisant. En revanche, les enregistrements 5 et 6 sont très différents. L'injection d'un courant de même intensité produit une dépolarisation plus importante et un épaulement persistant à la fin de l'impulsion. Ce changement dans la réponse suggère qu'une conductance dépolarisante est survenue en 5 et 6, alors qu'elle n'était présente ni en 1, ni en 2. La septième impulsion de courant provoque une dépolarisation persistante de la membrane à +64 mV. En 5 minutes environ, le potentiel diminue lentement vers +45 mV, puis chute brutalement à -7 mV. Finalement, le potentiel revient à sa valeur initiale de repos en 2 minutes en décrivant un décours sigmoïde. La résistance d'entrée de cet ovocyte était de 2,5 M $\Omega$ , le potentiel de repos de -59 mV. Le milieu de perfusion était le milieu standard physiologique OR2.

porté à +50 mV pendant plusieurs dizaines de secondes ou pendant plusieurs minutes. Le courant résultant est d'abord sortant, puis devient progressivement entrant, en décrivant un décours sigmoïde, et finalement atteint un maximum auquel il se stabilise aussi longtemps que la dépolarisation est maintenue (Fig. 2). Lorsque le potentiel est rapporté à -60 mV, le courant revient rapidement à sa valeur initiale, ce qui

suggère qu'aucune conductance résiduelle ne persiste après la dépolarisation imposée. Si une nouvelle dépolarisation est appliquée dans les minutes suivant la première, le courant entrant s'établit d'emblée et atteint la même valeur maximale que lors de la première dépolarisation. Il semble donc que la première dépolarisation ait « transformé » de manière durable la membrane de l'ovocyte.

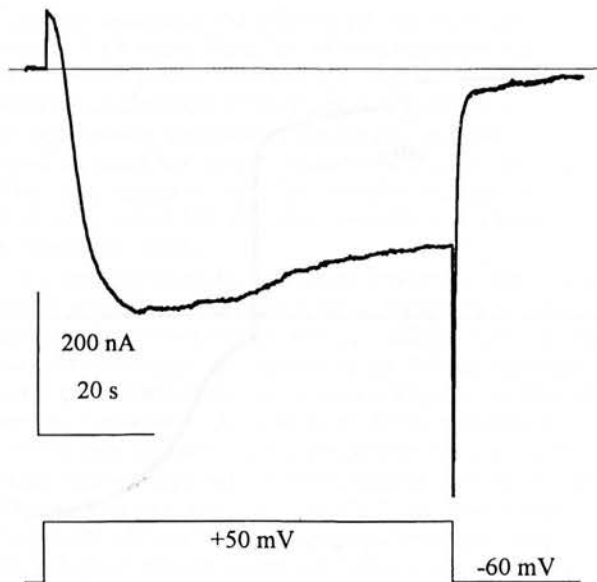


FIG. 2. – Courant enregistré sur un ovocyte dont le potentiel de membrane est porté à + 50 mV pendant 70 secondes, à partir d'un potentiel de maintien de - 60 mV. L'amplitude du courant sortant initial est égale à l'amplitude du créneau dépolarisant divisée par la résistance d'entrée de l'ovocyte. Le courant qui, initialement, était sortant, devient rapidement entrant : son amplitude augmente, puis il se stabilise, ce qui suggère que les canaux ouverts ne s'inactivent pas. Lorsque le potentiel est rapporté à - 60 mV, le courant retourne rapidement à sa valeur initiale, après un courant capacitif transitoire.

### Relation « courant/potentiel »

Deux courbes « courant/potentiel » ( $I/V$ ), illustrées sur la figure 3, ont été comparées : l'une alors que la membrane était dans son état initial d'inexcitabilité, l'autre après le changement des propriétés de la membrane suite à une dépolarisation prolongée. Dans l'état initial, la

courbe  $I/V$  met en évidence deux types de courants. Le premier apparaît vers - 20 mV et présente un maximum vers + 20 mV, il correspond au courant  $\text{Cl}^-$  dépendant du  $\text{Ca}^{2+}$ , dont l'activation est liée à l'ouverture des canaux  $\text{Ca}^{2+}$  dépendant du potentiel (Miledi, 1982 ; Barish, 1983 ; Miledi & Parker, 1984 ; Dascal *et al.*, 1986 ; Gomez-Hernandez *et al.*, 1997 ; Charpentier & Kado, 1999). Le deuxième courant s'active vers + 50 mV, il s'agit d'un courant cationique essentiellement porté par des ions  $\text{K}^+$  transitant par des héli-gaps (Arellano *et al.*, 1995 ; Zhang *et al.*, 1998).

Lorsque les propriétés de la membrane ont été préalablement modifiées par une dépolarisation de longue durée, la courbe  $I/V$  montre un troisième type de courant : ce courant est entrant, il s'active vers 0 mV et est maximal à des potentiels proches de + 50 mV. Le potentiel auquel le courant s'inverse est supérieur à + 70 mV. Il s'agit d'un courant  $\text{Na}^+$ .

## PROPRIÉTÉS DES CANAUX $\text{Na}^+$ INDUCTIBLES

### Propriétés électrophysiologiques

Les réponses membranaires enregistrées en courant imposé et les courants membranaires enregistrés en potentiel imposé ont été interprétés de la façon suivante : il existerait dans la membrane des canaux  $\text{Na}^+$  qui, normalement, ne sont pas activables électriquement. Cependant, ils peuvent le devenir. Le terme d'*induction* a été choisi pour décrire le passage de ces canaux d'un état inexcitable à un état électriquement activable. Une fois induits, les canaux deviennent dépendant du potentiel et se comportent comme tous les canaux dépendant du potentiel : ils s'ouvrent et se ferment selon les variations du potentiel membranaire (Baud & Kado, 1984). Des études complémentaires ont permis de mettre en évidence plusieurs propriétés inhabituelles de ces canaux, si

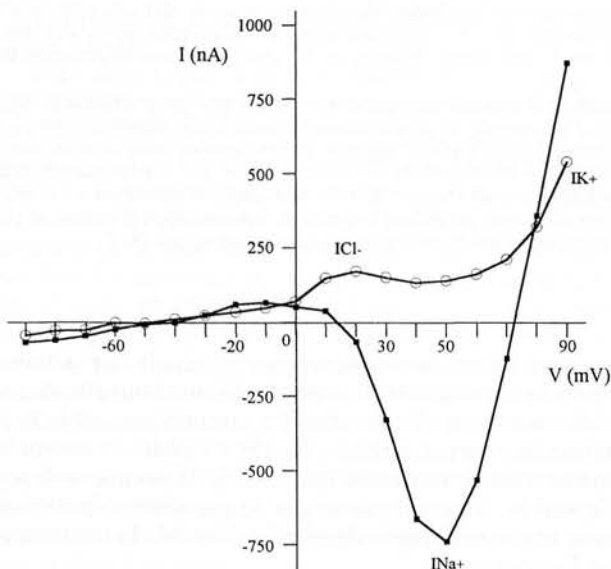


FIG. 3. – Relations « courant/potentiel » ( $I/V$ ) d'un ovocyte dont le potentiel est porté de - 90 à + 90 mV par incrément de 10 mV à partir d'un potentiel de maintien de - 60 mV. Le même ovocyte est utilisé avant et après l'induction des canaux  $\text{Na}^+$ . Le découps de la courbe  $I/V$  avant induction des canaux  $\text{Na}^+$  montre qu'au moins deux courants sont présents : le courant chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) qui s'active vers - 20 mV et présente un maximum à + 20 mV. L'ouverture des canaux chlorures est liée à l'entrée d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  transitant par des canaux dont l'ouverture est commandée par le potentiel de membrane. Le deuxième est un courant cationique (essentiellement potassium) ( $\text{K}^+$ ) qui s'active vers + 50 mV.

Lorsque les canaux  $\text{Na}^+$  sont induits, l'allure de la courbe  $I/V$  est radicalement modifiée. L'activation du courant sodium ( $\text{INa}^+$ ) dans cet ovocyte se produit vers - 10 mV. Le courant entrant est maximal à + 50 mV et s'inverse vers + 70 mV.

on les compare aux autres canaux  $\text{Na}^+$  dépendant du potentiel des tissus excitables. En premier lieu, pour s'ouvrir, ces canaux doivent être induits par une dépolarisation de la membrane de plusieurs secondes et à un potentiel au moins égal à +30 mV. Comme l'induction est un phénomène lent, ces canaux ont été appelés canaux  $\text{Na}^+$  lents. Une fois induits, les canaux s'ouvrent rapidement lorsque le potentiel est porté à des valeurs positives (Kado *et al.*, 1979; Kado & Baud, 1981; Baud *et al.*, 1982). Lorsqu'ils sont ouverts, ils ne présentent aucun mécanisme apparent d'inactivation, de telle sorte qu'en potentiel imposé, le courant peut rester entrant plusieurs minutes et qu'en courant imposé, le potentiel de la membrane peut se stabiliser à une valeur voisine du potentiel d'équilibre des ions  $\text{Na}^+$  pendant plusieurs minutes (un enregistrement de 30 minutes a en effet été obtenu; Kado, 1983). L'état électriquement activable disparaît en une dizaine de minutes après que le potentiel de membrane ait été rapporté au potentiel de repos (Baud & Kado, 1984). Enfin, les canaux  $\text{Na}^+$  lents présentent une très grande sélectivité aux ions  $\text{Na}^+$  (Kado & Baud, 1981; Baud *et al.*, 1982; Baud, 1983a).

### Propriétés pharmacologiques

Les propriétés pharmacologiques des canaux  $\text{Na}^+$  lents de la membrane de l'ovocyte sont, là encore, originales comparées à celles des canaux  $\text{Na}^+$  des tissus excitables. En effet, la tétrodotoxine (TTX), appliquée à des concentrations micromolaires, n'inhibe pas les canaux  $\text{Na}^+$  lents (Kado & Baud, 1981; Baud *et al.*, 1982; Charpentier *et al.*, 1993). Une inhibition complète et réversible n'est obtenue qu'avec une concentration de TTX de 1 mM (Baud *et al.*, 1982). De même, la saxitoxine (1  $\mu\text{M}$ ) n'exerce aucun effet décelable (Charpentier & Kado, résultats non-publiés). Enfin, l'amiloride (1 mM), l'ouabaine (500 nM), la vératridine et la toxine II d'*Anemonia sulcata* n'ont modifié ni l'induction, ni l'ouverture des canaux  $\text{Na}^+$  lents (Kado & Baud, 1981; Baud *et al.*, 1982). Jusqu'à présent, à notre connaissance, aucun inhibiteur spécifique des canaux  $\text{Na}^+$  lents n'est connu.

### Mécanisme d'induction

L'induction des canaux  $\text{Na}^+$  est un processus qui dépend de la valeur à laquelle est porté le potentiel de la membrane. En effet, une dépolarisation à +20 mV, même maintenue pendant plusieurs minutes, est insuffisante. L'induction se produit dans une gamme de potentiels compris entre +30 et +80 mV (Baud & Kado, 1984). D'autres expériences montrent que l'induction est un mécanisme très sensible à la température du milieu de superfusion des ovocytes. Par exemple, dans les conditions de potentiel imposé, à 16°C, le courant devient entrant environ 30 secondes après le début de la dépolarisation tandis qu'à 6°C, environ 90 secondes sont nécessaires. Le  $Q_{10}$  a été estimé à 4,9 (Baud & Kado, 1984). Cette valeur est supérieure au  $Q_{10}$  calculé pour l'ouverture des canaux ioniques qui est de l'ordre de 2-3 (voir Hille, 1992). L'implication éventuelle de la pro-

téine kinase dépendant de l'AMPc et de la synthèse *de novo* de protéines a également été testée. Cependant, les inhibiteurs de phosphodiésterases (IBMX et théophylline, 100  $\mu\text{M}$ , pendant 2 h) et un inhibiteur de la synthèse protéique (cycloheximide 100  $\mu\text{g/ml}$ , pendant 2 h) n'ont aucun effet significatif sur le processus d'induction (Baud & Kado, 1984).

Des résultats plus récents suggèrent que l'induction des canaux  $\text{Na}^+$  lents pourrait être liée à l'activation d'une protéine kinase C (PKC). Pour étudier l'implication éventuelle de la PKC, deux critères ont été pris en compte : l'amplitude du courant  $\text{Na}^+$  et le taux d'induction des canaux, apprécié par le temps nécessaire pour obtenir la moitié de l'amplitude maximale de courant. Les données bibliographiques indiquent que les protéines kinases C peuvent être activées par de multiples facteurs (voir Huang, 1989) comme le diacylglycérol (DG) produit par l'activation d'une phospholipase C (PLC), ou l'acide arachidonique résultant de l'activation d'une phospholipase  $A_2$  ( $\text{PLA}_2$ ). Le traitement des ovocytes avec des activateurs de la PKC (un ester de phorbol : le phorbol 12-myristate 13-acétate et un analogue structural du DG : l'oléyl-acétyl-glycérol) augmente de presque 50 % l'amplitude du courant  $\text{Na}^+$ , ainsi que le taux d'induction des canaux. Inversement, l'inhibition de la PKC, par le tamoxifène et la staurosporine, diminue à la fois l'amplitude du courant  $\text{Na}^+$  et le taux d'induction des canaux (Charpentier *et al.*, 1993). Le traitement des ovocytes avec un inhibiteur de la  $\text{PLA}_2$  et des inhibiteurs des différentes voies de conversion de l'acide arachidonique (les voies cyclo-oxygénase, lipoxigénase et époxygénase) n'a pas d'effet significatif sur le processus d'induction (Charpentier *et al.*, 1995). En revanche, le traitement des ovocytes avec un inhibiteur de la PLC réduit fortement le taux d'induction des canaux et l'amplitude du courant  $\text{Na}^+$ . Le courant  $\text{Na}^+$  peut cependant être restauré si l'activité de la PKC est directement stimulée par un ester de phorbol dans des ovocytes traités avec un inhibiteur de la PLC (Charpentier *et al.*, 1995).

L'implication des enzymes PLC et PKC dans l'induction des canaux  $\text{Na}^+$  lents suggère que les ions  $\text{Ca}^{2+}$  pourraient également jouer un rôle important puisque l'activité de ces enzymes est accrue par l'augmentation du calcium cytosolique (Kikkawa & Nishizuka, 1986). En effet, des injections intra-ovocytaires de chélateurs du calcium, tels que l'EGTA (Bossi *et al.*, 1998) ou le BAPTA (Charpentier & Kado, 1999), réduisent ou même suppriment le courant  $\text{Na}^+$ . De plus, le taux d'induction des canaux et l'amplitude du courant sont augmentés lorsque la concentration de calcium cytosolique est accrue (Bossi *et al.*, 1998). Le calcium nécessaire à l'induction ne provient pas de l'extérieur de la cellule puisque la suppression de ces ions dans le milieu de superfusion n'empêche pas ce processus de se dérouler normalement (Baud & Kado, 1984; Bossi *et al.*, 1998; Charpentier & Kado, 1999). Il semble plutôt que l'induction dépende d'une augmentation de la libération de calcium par les réserves du réticulum, déclenchée par l' $\text{InsP}_3$  (Charpentier & Kado, 1999).

## CONCLUSION

L'existence de canaux  $\text{Na}^+$  aussi particuliers dans la membrane de l'ovocyte de Xénope est intrigante et soulève quelques questions. Comment ces canaux sont-ils induits dans les conditions naturelles? Quel est leur rôle dans la physiologie de l'ovocyte? Baud (1983b) a montré que la présence de ces canaux était restreinte à une période très précise du développement de l'ovocyte s'étendant du stade V, selon la classification de Dumont (1972), à la maturation. Dans les stades plus précoces et dans les œufs pondus, les canaux  $\text{Na}^+$  lents n'ont pu être mis en évidence. Il est donc possible que ces canaux soient utilisés par l'ovocyte au cours de la méiose pour augmenter les réserves en sodium. En effet, la concentration intracellulaire augmente considérablement pendant la maturation (voir Dascal, 1987). Mais, dans ces conditions, comment l'induction peut-elle se produire? Il est invraisemblable que le potentiel de membrane se porte naturellement à une valeur suffisante pour induire les canaux (c'est-à-dire à un potentiel au moins égal à +20 mV). Même le potentiel de fécondation serait insuffisant, car chez les Amphibiens, il est lié à des mouvements d'ions  $\text{Cl}^-$  (Rana pipiens : Jaffe et al., 1985 ; *Xenopus laevis* : Peres & Mancinelli, 1985). Ainsi, *in vivo*, l'induction des canaux  $\text{Na}^+$  lents pourrait ne pas être obtenue par la dépolarisation de la membrane, mais être provoquée par l'activation de la PKC, en réponse à la stimulation de processus biochimiques déclenchés par un facteur externe, telle la liaison d'une hormone (progestérone ou IGF-1) à son récepteur. Les données expérimentales obtenues jusqu'à présent sont encore trop parcellaires pour permettre de clarifier ces points. Elles ne suffisent pas non plus pour expliquer la relation entre la dépolarisation de la membrane et l'activation des enzymes membranaires ou cytosoliques de l'ovocyte. De prochains travaux devraient apporter de nouveaux indices et étendre nos connaissances sur la physiologie de ces canaux  $\text{Na}^+$  lents.

**Remerciements.** – L'auteur exprime sa gratitude à Evelyne BENOÎT pour sa lecture critique du manuscrit.

## BIBLIOGRAPHIE

- Arellano R. O., Woodward R. M. & Miledi R., A monovalent cationic conductance that is blocked by extracellular divalent cations in *Xenopus* oocytes. *J. Physiol. (Lond.)*, 1995, 484, 593-604.
- Barish M. E., A transient calcium-dependent chloride current in the immature *Xenopus* oocyte. *J. Physiol. (Lond.)*, 1983, 342, 309-325.
- Baud C., Lithium blocks current through voltage-induced, voltage-gated sodium channels, in *Xenopus* oocytes. *The Physiology of excitable cells*, 1983a, 257-265.
- Baud C., Developmental change of a depolarization-induced sodium permeability in the oocyte of *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.*, 1983b, 99, 524-528.
- Baud C. & Kado R. T., Induction and disappearance of excitability in the oocyte of *Xenopus laevis*: a voltage-clamp study. *J. Physiol. (Lond.)*, 1984, 356, 275-289.
- Baud C., Kado R. T. & Marcher K., Sodium channels induced by depolarization of the *Xenopus laevis* oocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1982, 79, 3188-3192.
- Bossi E., Centinaio E., Moriondo A. & Peres A.,  $\text{Ca}^{2+}$ -dependence of the depolarization-inducible  $\text{Na}^+$  current of *Xenopus* oocytes. *J. Cell. Physiol.*, 1998, 174, 154-159.
- Charpentier G. & Kado R. T., Induction of  $\text{Na}^+$  channel voltage sensitivity in *Xenopus* oocytes depends on  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization. *J. Cell. Physiol.*, 1999, 178, 258-266.
- Charpentier G., Fournier F., Béhue N., Marlot D. & Brûlé G., Positive regulation by protein kinase C of slow  $\text{Na}^+$  current in *Xenopus* oocytes. *Proc. R. Soc. Lond. Biol.*, 1993, 254, 15-20.
- Charpentier G., Béhue N. & Fournier F., Phospholipase C activates protein kinase C during induction of slow  $\text{Na}^+$  current in *Xenopus* oocytes. *Pflügers Arch. (Eur. J. Physiol.)*, 1995, 429, 825-831.
- Dascal N., The use of *Xenopus* oocytes for the study of ion channels. *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 1987, 22, 317-387.
- Dascal N., Snutch T. P., Lübbert H., Davidson N. & Lester H. A., Expression and modulation of voltage-gated calcium channels after RNA injection in *Xenopus* oocytes. *Science*, 1986, 231, 1147-1150.
- Dumont J. N., Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin). I. Stages of oocytes development in laboratory maintained animals. *J. Morphol.*, 1972, 136, 153-180.
- Gomez-Hernandez J. M., Stühmer W. & Parekh A. B., Calcium dependence and distribution of calcium-activated chloride channels in *Xenopus* oocytes. *J. Physiol. (Lond.)*, 1997, 502, 569-574.
- Hagiwara S. & Jaffe L. A., Electrical properties of egg cell membranes. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, 1979, 8, 385-416.
- Harris B. & Marshall M., TTX-resistant action potential in new born rat muscle. *Nature*, 1973, 243, 191-192.
- Hille B., Ionic channels of excitable membranes. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts. 1992, 607 pp.
- Huang K. P., The mechanism of protein kinase C activation. *Trends Neurosci.*, 1989, 12, 425-432.
- Jaffe L. A., The fast block to polyspermy in sea urchin eggs is electrically mediated. *Nature*, 1976, 261, 68-71.
- Jaffe L. A., Kado R. T. & Muncy L., Propagating potassium and chloride conductances during activation and fertilization of the egg of the frog *Rana pipiens*. *J. Physiol. (Lond.)*, 1985, 368, 227-242.
- Kado R. T., Some electrical properties of the *Xenopus laevis* oocyte. *The physiology of excitable cells*, 1983, 247-256.
- Kado R. T. & Baud C., The rise and fall of electrical excitability in the oocyte of *Xenopus laevis*. *J. Physiol. (Paris)*, 1981, 77, 1113-1117.
- Kado R. T., Marcher K. & Ozon R., Mise en évidence d'une dépolarisation de longue durée dans l'ovocyte de *Xenopus laevis*. *C. R. Acad. Sci. Paris, séries III*, 1979, 288, 1187-1189.
- Kikkawa U. & Nishizuka Y., The role of protein kinase C in transmembrane signalling. *Annu. Rev. Cell Biol.*, 1986, 2, 149-178.
- Miledi R., A calcium-dependent transient outward current in *Xenopus laevis* oocytes. *Proc. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 1982, 215, 491-497.
- Miledi R. & Parker I., Chloride current induced by injection of calcium into *Xenopus* oocytes. *J. Physiol. (Lond.)*, 1984, 357, 173-183.
- Moody W. J., The development of voltage-gated ion channels and its relation to activity-dependent developmental events. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 1998, 39, 159-185.
- Peres A. & Mancinelli E., Sodium conductance and the activation potential in *Xenopus laevis* eggs. *Pflügers Arch. (Eur. J. Physiol.)*, 1985, 405, 29-36.
- Shatz C. J. & Stryker M. P., Prenatal TTX infusion blocks segregation of retinogeniculate afferents. *Science*, 1988, 242, 87-89.
- Takahashi K., Miyazaki S. I. & Kidokoro Y., Development of excitability in embryonic muscle cell membranes in certain tunicates. *Science*, 1971, 171, 415-418.
- Zhang Y., McBride D. W. Jr & Hamill O. P., The ion selectivity of a membrane conductance inactivated by extracellular calcium in *Xenopus* oocytes. *J. Physiol. (Lond.)*, 1998, 508, 763-776.