

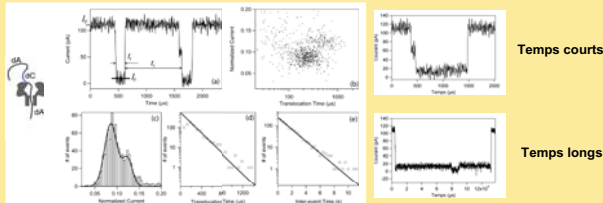
Dans ce projet nous explorons dans quelle mesure des pores de taille nanométrique peuvent être utilisés pour la micromanipulation d'oligonucléotides. Plus particulièrement nous montrons que de tels pores peuvent sonder à l'échelle de la molécule unique les structures secondaires (et potentiellement tertiaires) d'oligomères simple brins. Nous tentons de mettre en évidence les mécanismes de dézippage et de repliement séquentiel d'oligomères lors de leur translocation au travers d'un pore unique. Enfin nous cherchons à mettre en évidence l'importance structures de type « nœud » dans la compétition d'hélice terminatrice ou anti terminatrice lors de la synthèse de l'ARN

## Résultats:

- Mise en évidence du caractère séquentiel de l'ouverture d'un oligonucléotides par un nanopore.
- Développement d'un modèle théorique de l'ouverture par nanopore
- Etude du rôle géométrique joué par le vestibule.
- Création d'un réseau de régulation tout ARN basé sur des échanges entre structures nouées.

### 1-Passage et ouverture séquentiels

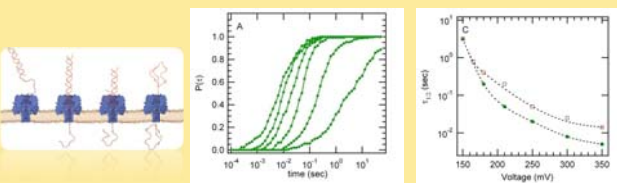
Détection du passage de la région dC lors de la translocation d'une séquence simple brin triblocs dAdCdA.



Mise en évidence de l'ouverture séquentiel par différenciation entre séquences d'énergies identiques

Un mécanisme d'ouverture progressive devrait être sensible aux appariements locaux  
 Design de 2 séquences de 45 bases avec  
 Même grandeur thermodynamique globale  
 Même 8 premières bases  
 Même proportion de bases GC  
 λ-RLS : 1 région riche en AT  
 λ-SLS: répartition homogène

Seq	$\Delta H_0$ (kcal/mol)	$\Delta S_0$ (cal/mol/K)	$\Delta G_0$ (kcal/mol, T=25°C)
λ-RLS	-378.4	-995.5	-81.6
λ-SLS	-379.3	-998.5	-81.6

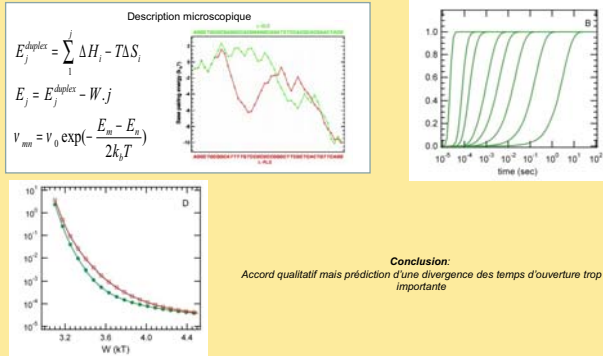


Probabilité intégrée des temps de passage à différents voltages et comparaison entre les deux séquences

Conclusion: une séquence inhomogène passe plus doucement car l'ouverture se piège dans des puits de potentiels

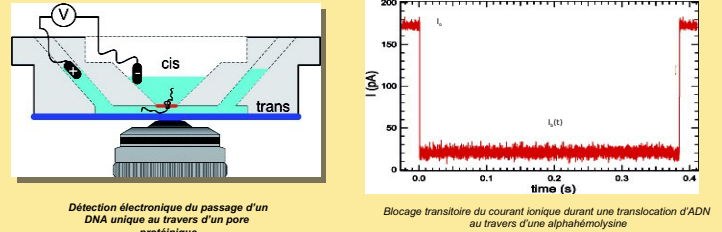
### 2-Description théorique

Ouverture= marche aléatoire de la fourche d'ouverture dans le paysage d'énergie de la séquence



Conclusion: Accord qualitatif mais prédiction d'une divergence des temps d'ouverture trop importante

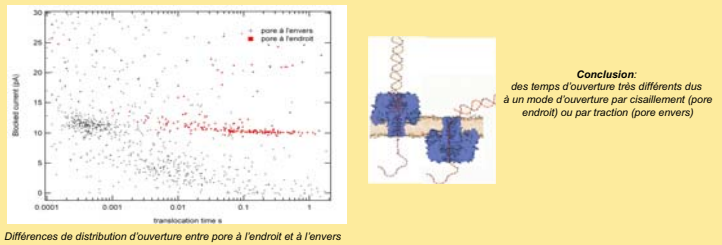
### Montage expérimental



Détection électronique du passage d'un DNA unique au travers d'un pore protéinique

Blocage transitoire du courant ionique durant une translocation d'ADN au travers d'une alphahémolysine

### 3-Rôle du vestibule

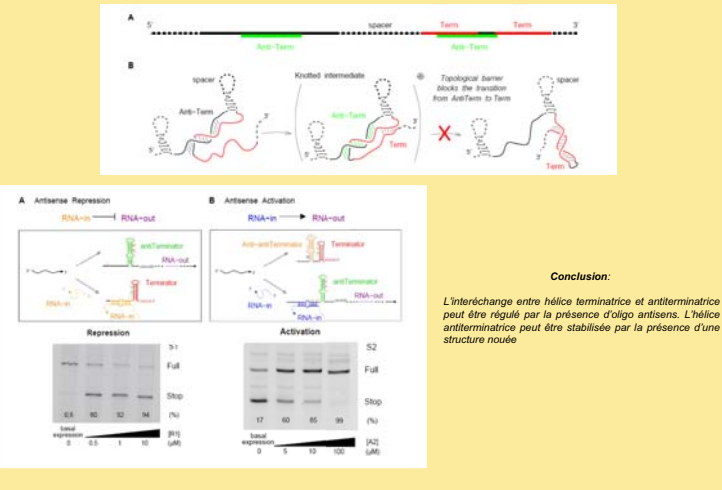


Différences de distribution d'ouverture entre pore à l'endroit et à l'envers

Conclusion: des temps d'ouverture très différents dus à un mode d'ouverture par cisaillement (pore endroit) ou par traction (pore envers)

### 4-Vers un réseau de régulation tout ARN

Inter échange entre hélices régulé par un intermédiaire noué



Conclusion:

L'interéchange entre hélice terminatrice et antiterminatrice peut être régulé par la présence d'oligo antisens. L'hélice antiterminatrice peut être stabilisée par la présence d'une structure nouée

Perspectives: développer un biocapteur à base de nanopore pour l'étude des structures d'ARN