

J. Liu¹, A. Bouchet², E. Descamps¹, P. Pham³, T. Livache¹, V. Haguet²
P. Mailley¹

¹Laboratoire de Chimie de la Reconnaissance et Etude des Assemblages Biologiques, INAC-SPRAM (UMR 5819, CEA, CNRS, Université Joseph Fourier)

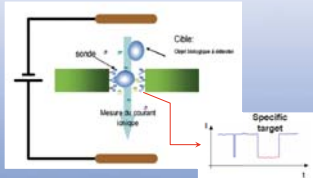
¹ Laboratoire Biopuces, IRTSV,

³ LETI-DTBS-LESS

CEA de Grenoble, 17, Rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9, France

Mél : pascal.mailley@cea.fr

Contexte scientifique Les compteurs moléculaires

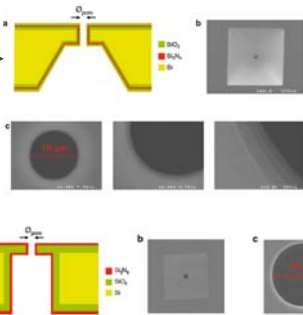


Modification sélective
de la paroi du pore ?

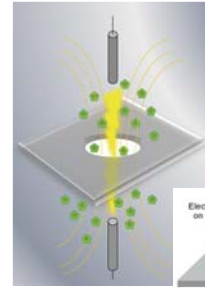
Amplitude ↔ Taille de la cible / Φ pore
Durée ↔ Spécificité de l'interaction
Fréquence ↔ Concentration de la cible

Micropores

Micropores uniques
Membrane diélectrique
2 tailles / designs de pore
Cône 18 μm
Cylindre 70 μm



Fonctionnalisation des parois du pore: Processus CLEF

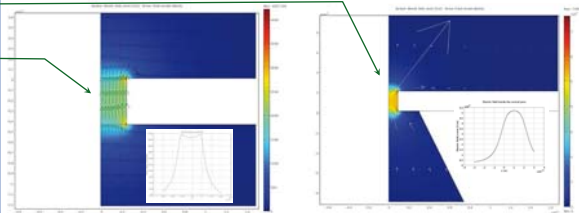


Pore compris entre 2 compartiments contenant chacun pyrrole et Pyrrole-ODN

Chaque compartiment contient une électrode de Platine

Une tension de 2V est appliquée entre les 2 électrodes durant 100 ms

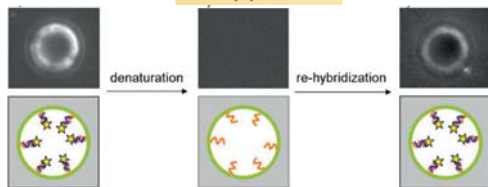
Solution de polymérisation: 20 mM pyrrole, 5 μM py-ODN* dans tampon phosphate 0.05 M + 0.05 M NaCl + 10% v/v glycerol + 2% v/v acétonitrile
*Py-ODN: Py-(T)10-5'GAC CGG TAT GCG ACC TGG TAT GCG3'



Champ électrique intense dans le pore

↔ Nécessaire à la fonctionnalisation du pore
↔ Aucun rôle de l'oxygène

Fonctionnalisation par un film de Ppy-ODN



Marquage du duplex par streptavidine-R-Phycocérythrine

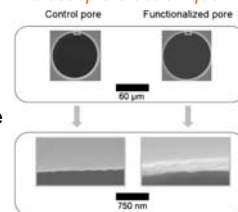
Fluorescence uniquement sur les parois du pore

Sélectivité de la reconnaissance :
Pas d'adsorption d'ODN sonde
Pas d'adsorption de fluorophore
Pas de réponse à un brin non complémentaire

Robustesse du dépôt (plusieurs cycles hybridation dénaturation)

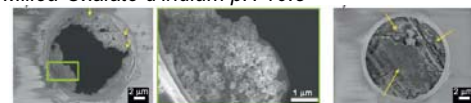
Microscopie de fluorescence

Microscopie électronique



Versatilité de la méthode CLEF

Dépôt d'hydroxyde d'iridium par oxydation d'oxalate d'Ir^{IV}
Milieu Oxalate d'iridium pH 10.5



Dépôt d'or par réduction de chlorure aurique
Milieu HAuCl₄ (2.4 mM)



Modification SH-ODN (SH-(T)10-5'GAC CGG TAT GCG ACC TGG TAT GCG3')

Révélation par hybridation de l'ODN complémentaire et SAPE



Méthode de fonctionnalisation sélective des parois d'un micropore
Biofonctionnalisation par des bris d'ADN
Versatilité de la méthode (dépôts inorganique en oxydation et réduction)
Application à la modification de nanopores
Incorporation de nouvelles entité biologiques (Peptides, anticorps)

A. Bouchet et al, **Small** 2009, 5, No. 20, 2297–2303

A. Bouchet et al, **Brevet** PCT/FR2009/000133