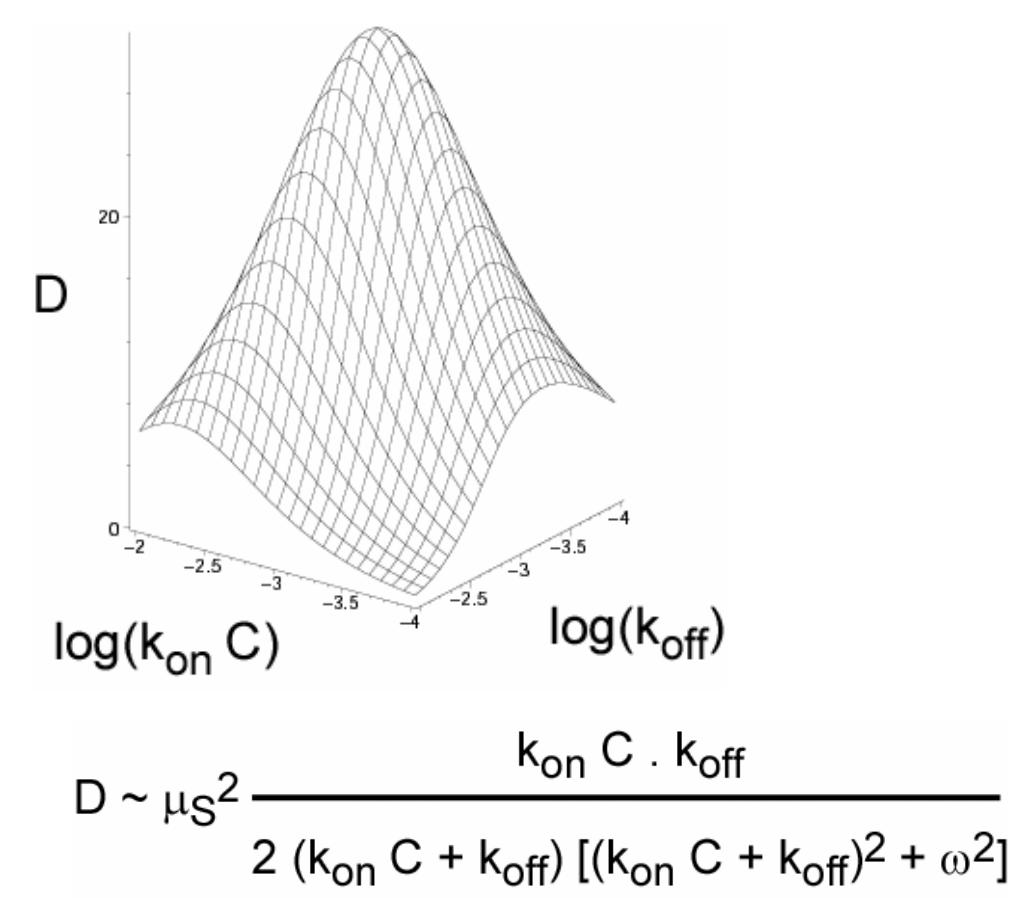
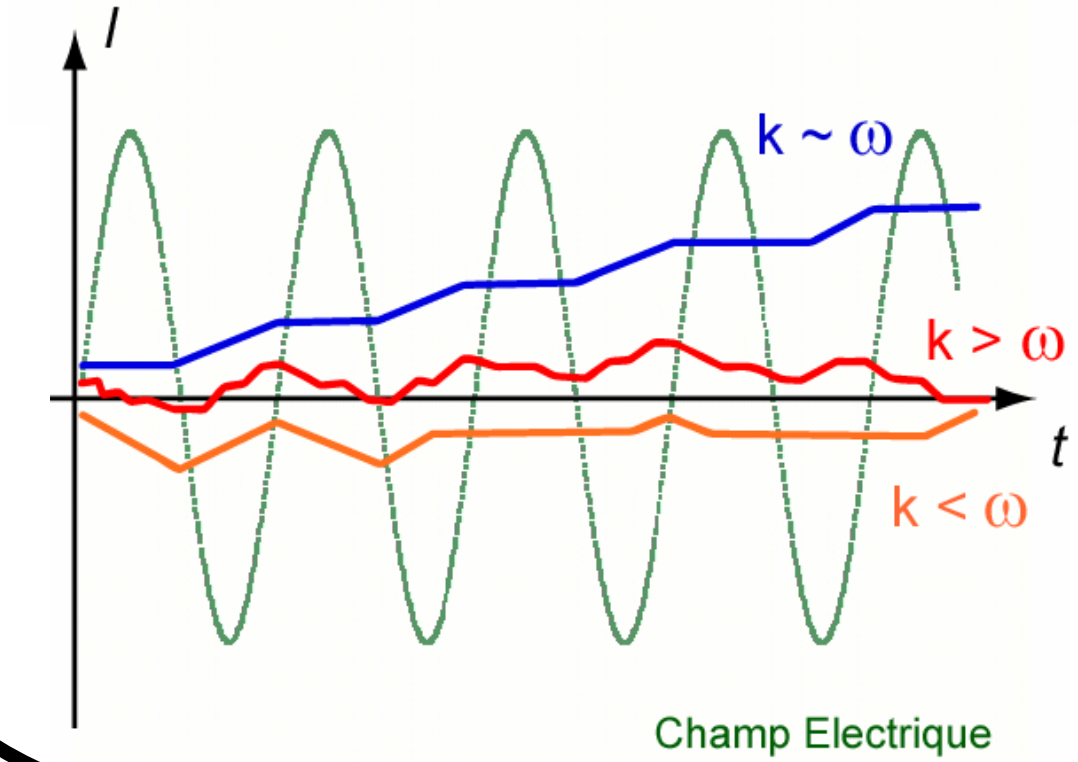
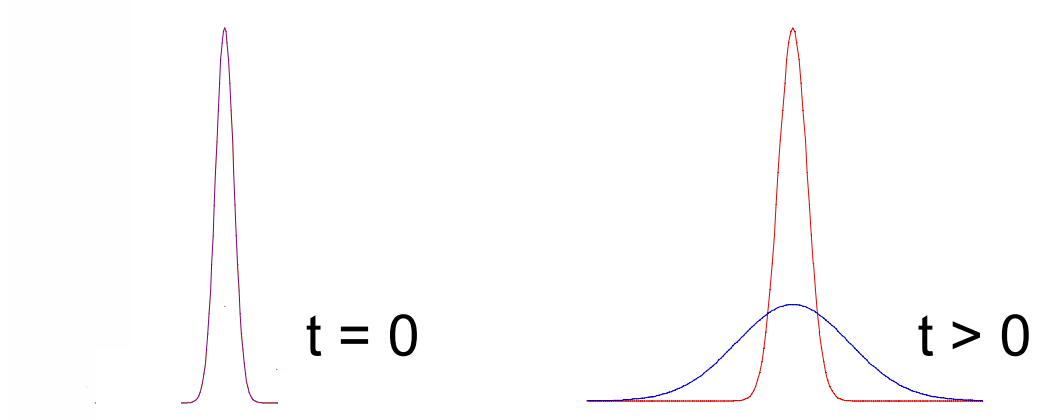
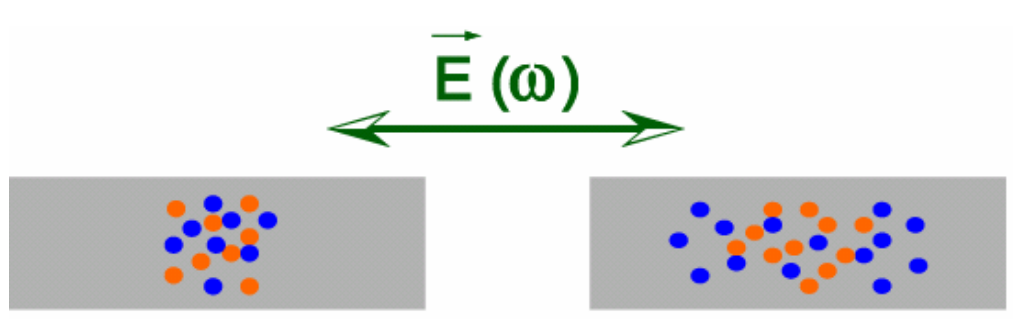
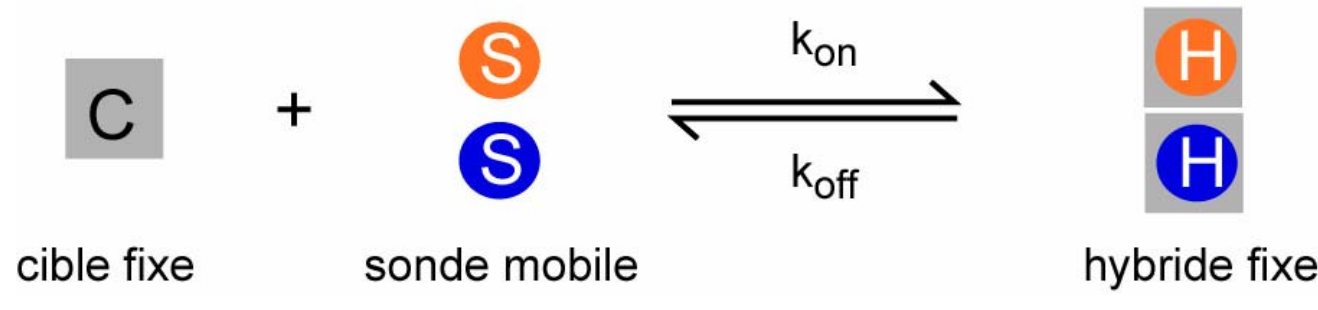


## Puces Cinétiques

### Séparation diffusive en champ électrique AC

Un champ électrique alternatif appliqué à un mélange réactionnel provoque une résonance stochastique lorsque sa période devient du même ordre de grandeur que le temps de la chimie. Le coefficient de diffusion des constituants est alors fortement augmenté.



La mesure des caractéristiques thermocinétiques de courts double-brins d'ADN, par spectroscopies d'absorption et de fluorescence, laisse penser que la différenciation sauvage/muté pourrait être effectuée en moins d'une minute.

De plus, l'exploitation d'une résonance nous permettra d'être beaucoup plus spécifique que les puces à ADN standard.

$$k_{on} \text{ muté} \sim k_{on} \text{ normal} \sim 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_{off} \text{ muté} \sim 10 \cdot k_{off} \text{ normal}$$

$$k_{off} \text{ normal} \sim 10^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$\omega_R = 2k_{off} \sim 0.2 \text{ Hz}$$

$$[C]_R = k_{on} / k_{off} \sim 1 \mu\text{M}$$

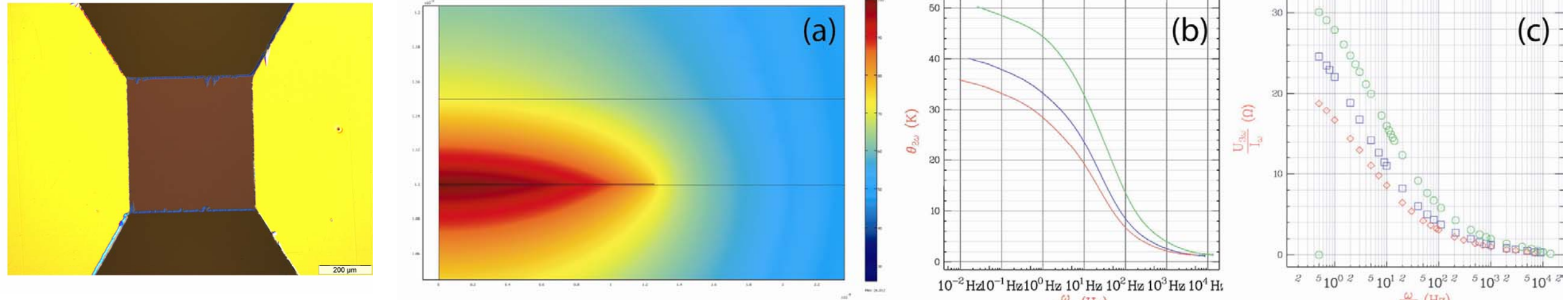
L. Jullien, A. Lemarchand, H. Lemarchand, *Diffusion of reactive species tuned by modulated external fields: Application to high performance chromatography*, J. Chem. Phys., 2000, 112, 8293-8301; D. Alcor, V. Croquette, L. Jullien, and A. Lemarchand, *Molecular sorting by stochastic resonance*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 101, 8276 (2004); D. Alcor, J.-F. Allemand, E. Cogné-Laage, V. Croquette, F. Ferrage, L. Jullien, A. Kononov, and A. Lemarchand, *Stochastic resonance to control diffusive motion in chemistry*, J. Phys. Chem. B 109, 1318 (2005).

## Mouvement Orienté

### Modulations électrophorétique et thermique

L'ajout, à l'oscillation de champ électrique, d'une variation périodique d'un paramètre thermodynamique relevant permet d'obtenir le déplacement orienté du barycentre de l'espèce [C, H].

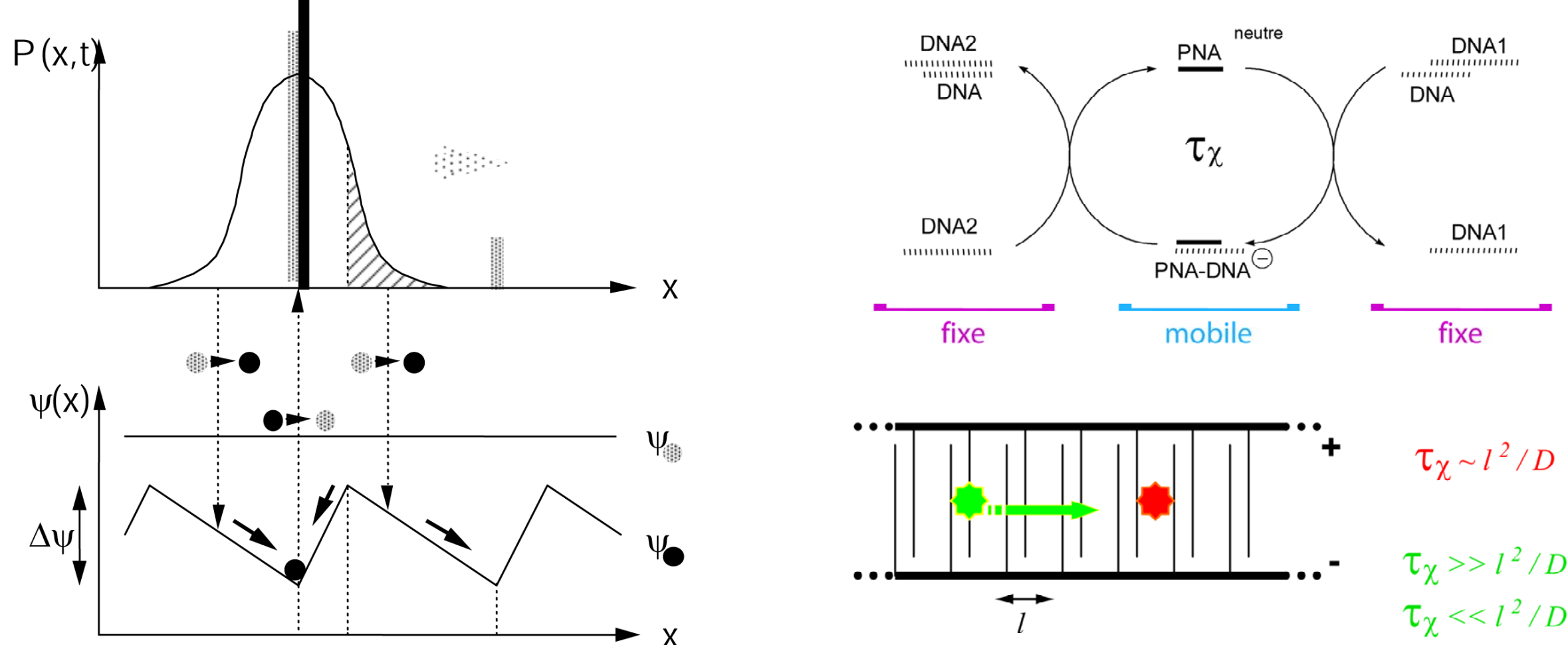
Afin de mettre en évidence cet effet, nous avons réalisé un élément résistif chauffant et caractérisé la cellule microfluidique par détection synchrone à 3 $\omega$ .



A. Lemarchand and L. Jullien, *Symmetry-broken reactant motion upon phase-related symmetrically modulated excitations: application to highly selective molecular sorting*, J. Phys. Chem. A 109, 5770 (2005).

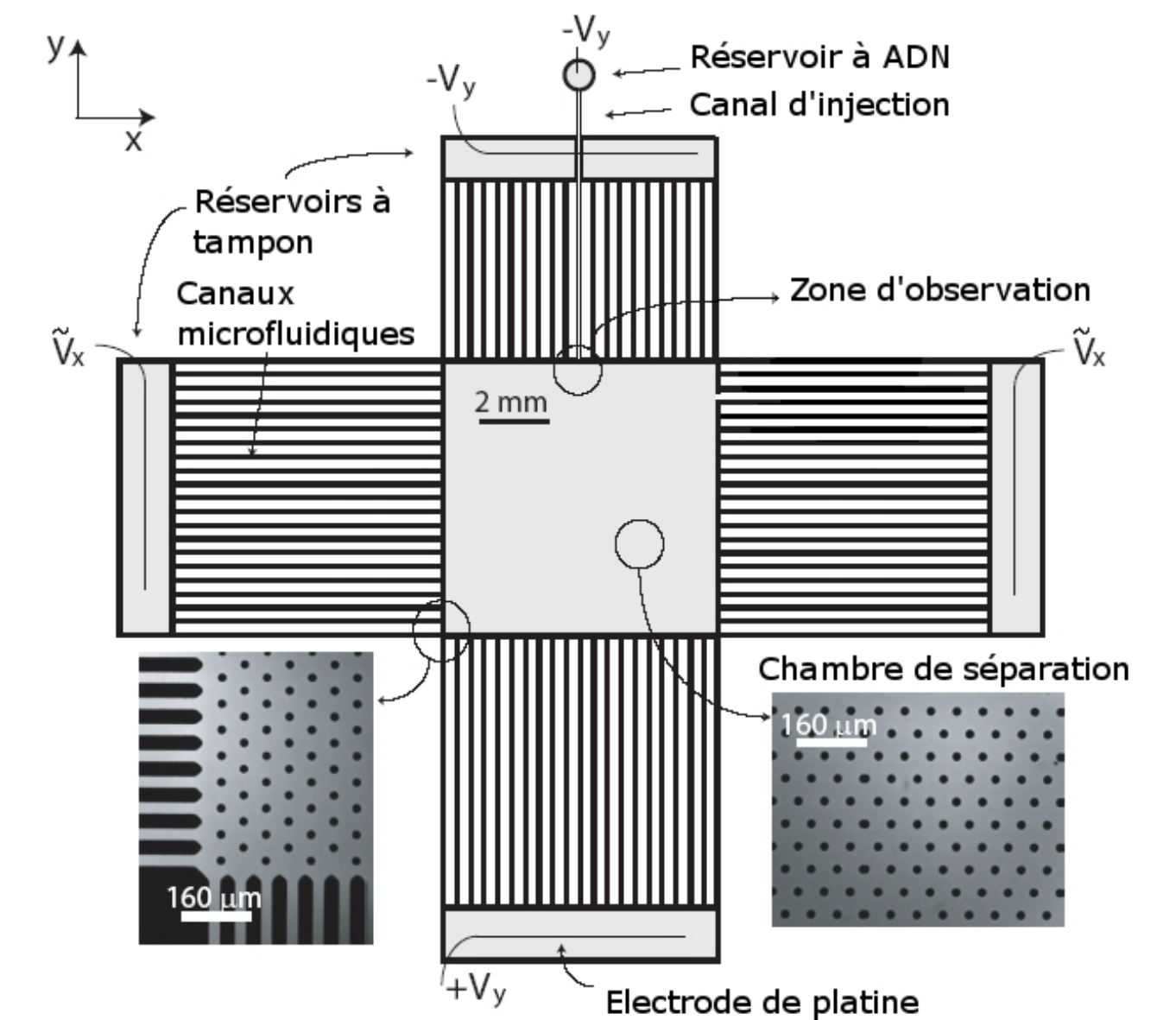
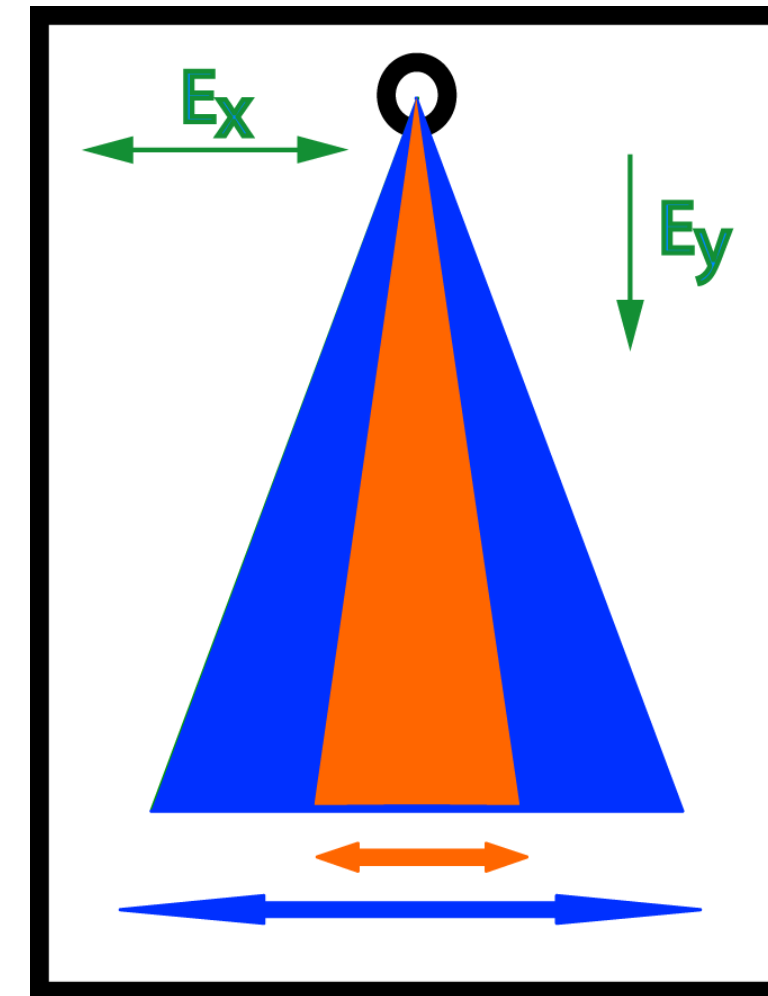
### Moteurs moléculaires browniens

Le mouvement et la distribution spatiale des réactifs dépendent essentiellement des valeurs relatives des temps de réaction par rapport aux temps de diffusion/migration; la dynamique du cycle catalytique donne le premier et l'espace inter-électrodes le second.



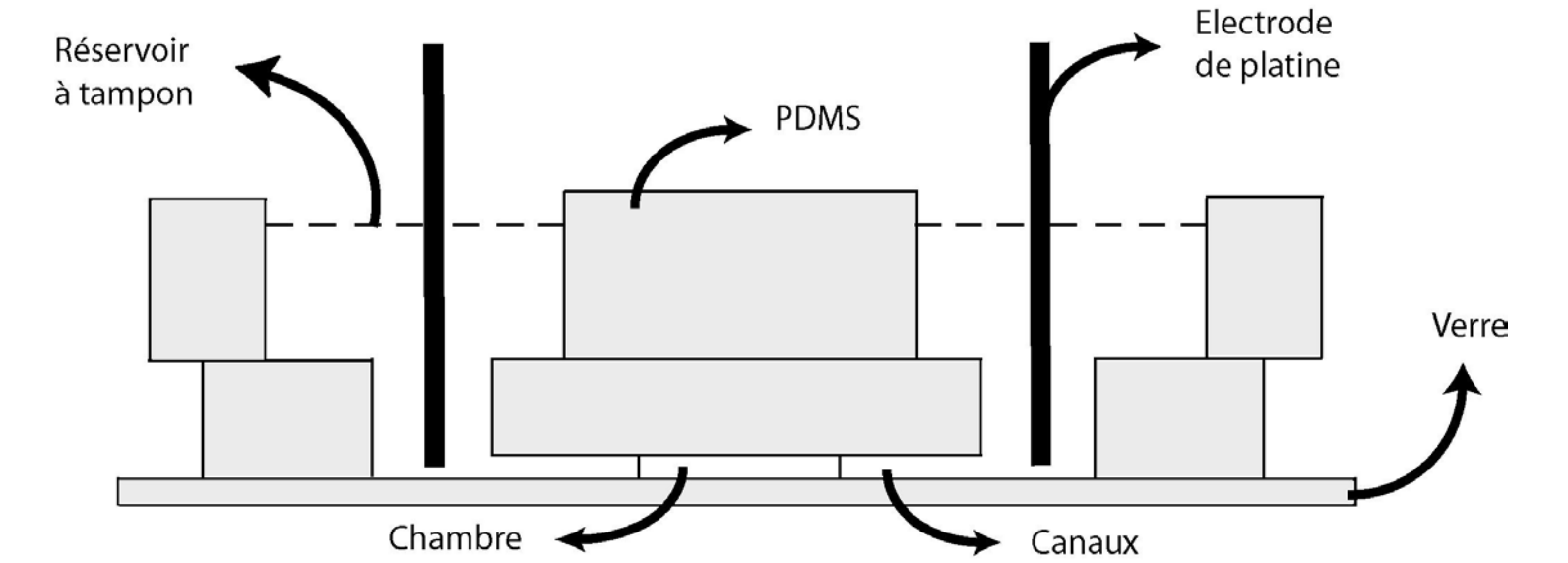
H. Berthoumieux, L. Jullien, and A. Lemarchand, *Temporal modulation of a spatially periodic potential for kinetically governed oriented motion*, soumis à Anal. Chem. (2006).

### Dispositif microfluidique

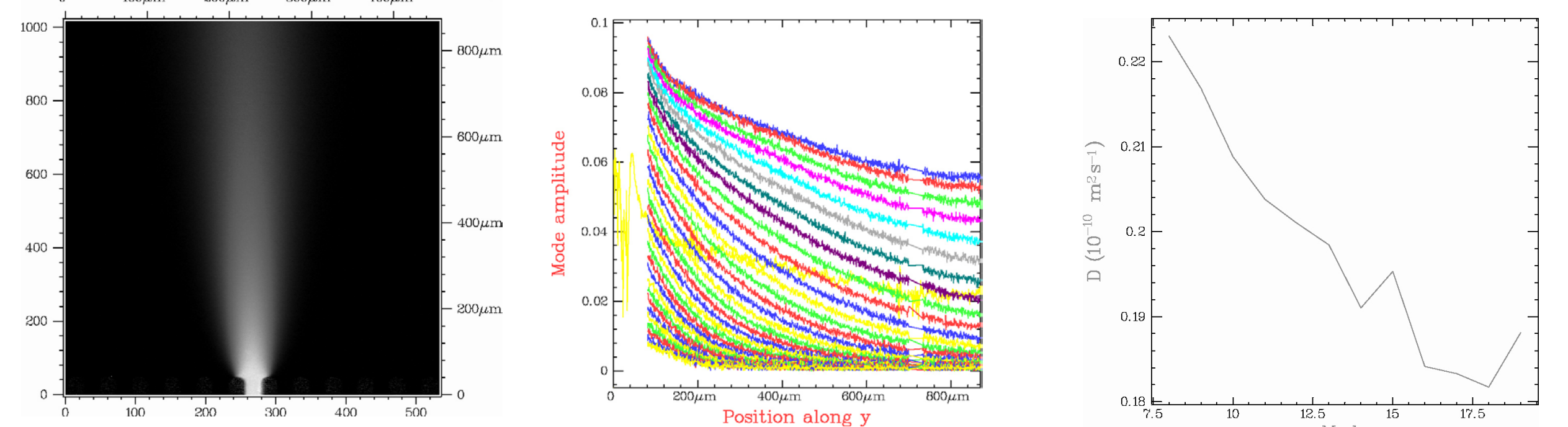


L'injection localisée des réactifs et l'application d'un champ constant, normal au champ d'excitation, permet d'obtenir un dispositif fonctionnant en continu. On s'affranchit donc d'un certain nombre de problèmes qui rendent généralement les analyses temporelles difficiles: faiblesse du signal, définition de la condition initiale.

Les dispositifs sont fabriqués en PDMS selon la technique de "soft-lithography".



### Mesure de coefficient de diffusion par TF



L'équation de la diffusion est analysée dans l'espace de Fourier, ce qui ne demande aucun pré-supposé quant à la forme du pic initialement injecté.

Duplex 151bp 500  $\mu\text{M}$  en bp/ YOYO-1 5 $\mu\text{M}$   
Tampon NaHepes 25/50 mM, PDMA 0.1%  
Voltage appliqué: 25V soit  $E_y = 625 \text{ V/m}$  et  $V_y = 14.3 \text{ um/s}$ .

Grâce à cette technique, nous avons pu mesurer en moins de 3 minutes des coefficients de diffusion couvrant 2 ordres de grandeur (de 4e-10 m<sup>2</sup>/s pour la fluorescéine à 0.05e-10 m<sup>2</sup>/s pour un duplex de 1200 bp). De plus, par un ajustement bi-exponentiel, nous pouvons analyser certains mélanges binaires de composés non-séparables en électrophorèse.

$$C_n = C_{0n} \exp[D_n q_n^2 / V_y]$$

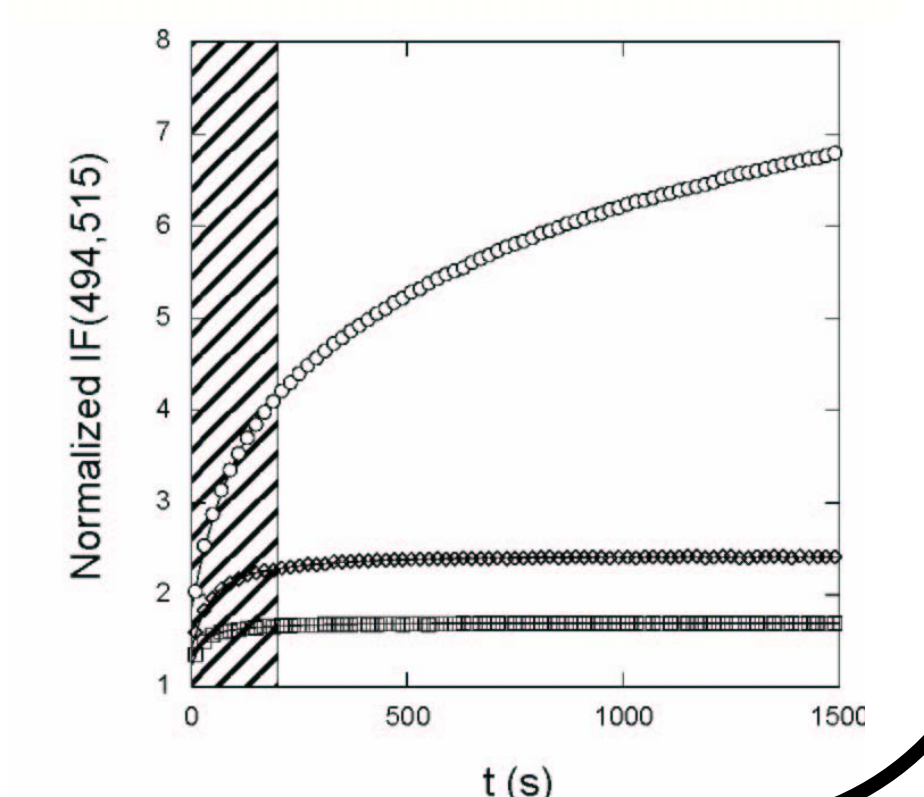
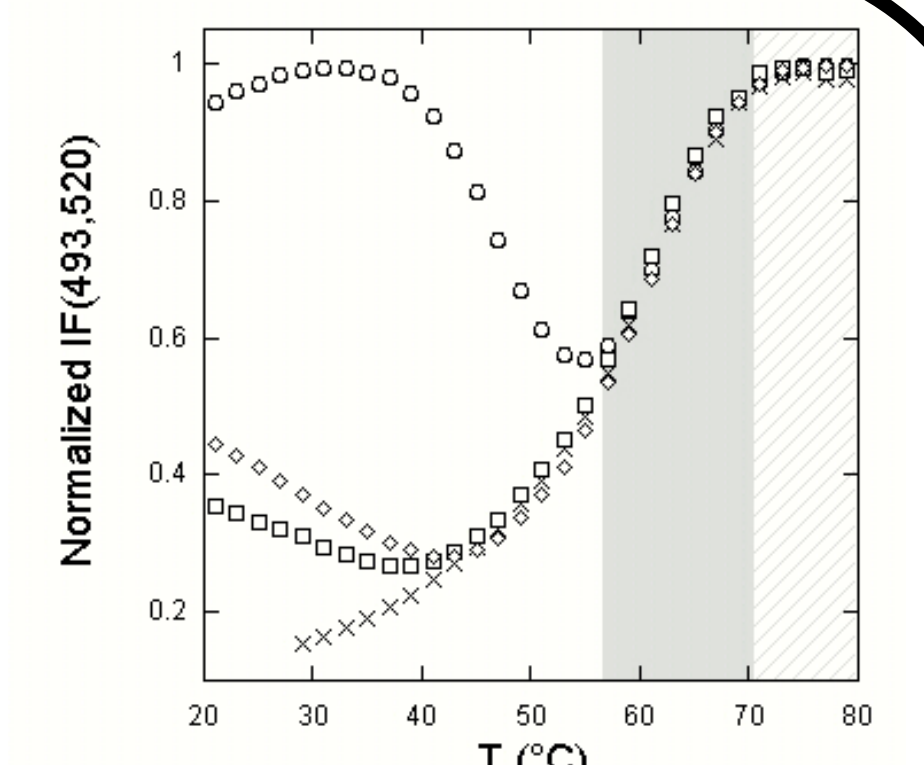
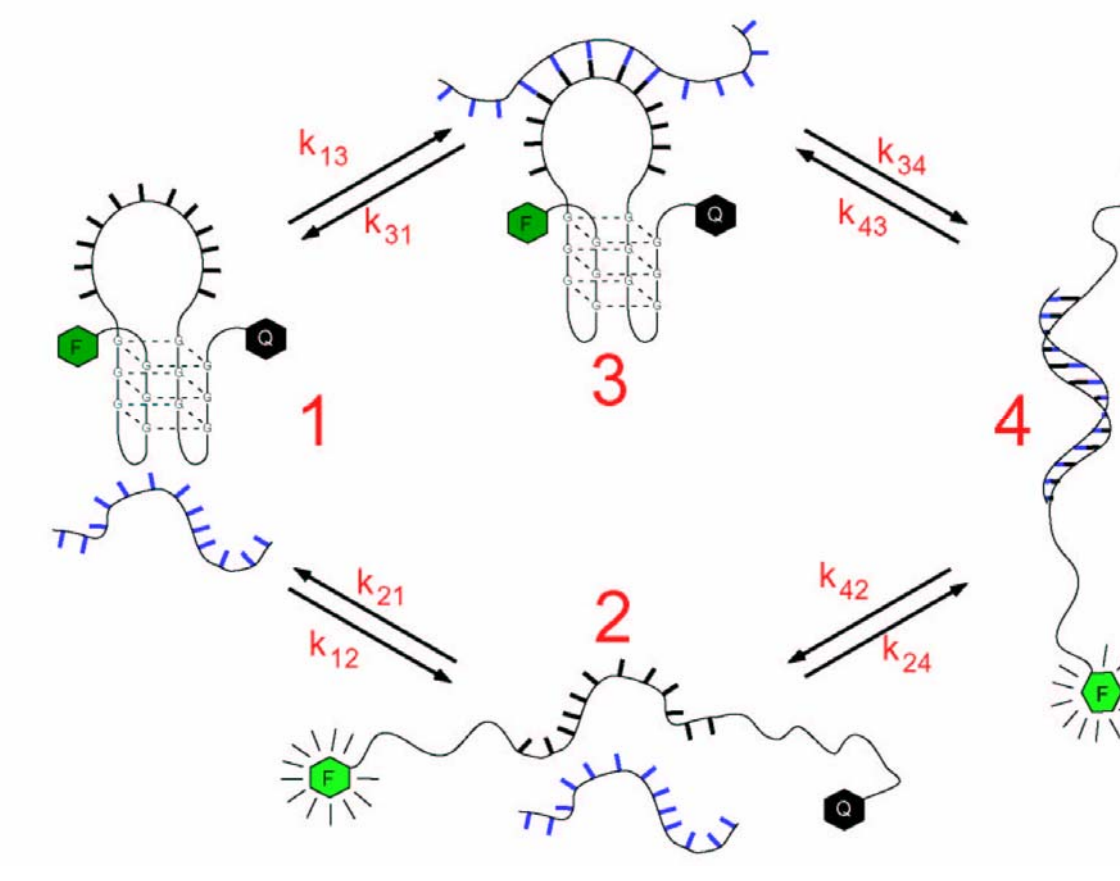
$$\text{avec } q_n = 2\pi n/L$$

## G4 - Molecular Beacons

Nous avons mis au point une sonde repliée permettant d'ajouter une sélectivité sur  $k_{on}$ , en plus de celle déjà présente sur  $k_{off}$ .

L'existence d'un intermédiaire réactionnel dans lequel la cible est partiellement hybridée sur la sonde permet d'obtenir une différenciation cinétique sur l'étape d'appariement. En effet, la présence d'une mutation au site de nucléation du duplex, ici dans la boucle, est fortement pénalisante.

D'autre part, le remplacement de la classique tige duplex par un quadruplex autorise un fonctionnement du beacon sur une plus grande gamme de température, la concentration en Mg<sup>2+</sup> pouvant servir de paramètre d'ajustement.



A. Bourdoncle, A. Estevez Torres, C. Gosse, L. Lacroix, P. Vekhoff, T. Le Saux, L. Jullien, and J.-L. Mergny, *Quadruplex-based molecular beacons as tunable DNA Probes*, J. Am. Chem. Soc. 128, 11094 (2006).

L. Jullien, Département de Chimie de l'ENS  
24, rue Lhomond, 75005 Paris – Ludovic.Jullien@ens.fr

D. Bensimon, LPS, ENS, Paris  
A. Lemarchand, LPTMC, UPMC, Paris

C. Gosse, LPN, Marcoussis  
J.-L. Mergny, Lab. de Biophysique, MNHN, Paris