



uOttawa

L'Université canadienne
Canada's university

FACULTÉ DES ÉTUDES SUPÉRIEURES
ET POSTDOCTORALES



uOttawa

L'Université canadienne
Canada's university

FACULTY OF GRADUATE AND
POSTDOCTORAL STUDIES

Martin Bertrand

AUTEUR DE LA THÈSE / AUTHOR OF THESIS

M.Sc. (Physique)

GRADE / DEGREE

Département de Physique

FACULTÉ, ÉCOLE, DÉPARTEMENT / FACULTY, SCHOOL, DEPARTMENT

Études de polyélectrolytes en solution libre par Dynamique Moléculaire

TITRE DE LA THÈSE / TITLE OF THESIS

Dr. G. Slater

DIRECTEUR (DIRECTRICE) DE LA THÈSE / THESIS SUPERVISOR

CO-DIRECTEUR (CO-DIRECTRICE) DE LA THÈSE / THESIS CO-SUPERVISOR

EXAMINATEURS (EXAMINATRICES) DE LA THÈSE / THESIS EXAMINERS

Dr. A. Bellerive

Dr. J. Giorgi

Dr. I. L'Heureux

Gary W. Slater

Le Doyen de la Faculté des études supérieures et postdoctorales / Dean of the Faculty of Graduate and Postdoctoral Studies

Études de polyélectrolytes en solution libre par Dynamique Moléculaire

Martin Bertrand
B.Sc. Université d'Ottawa 2004

THÈSE SOUMISE EN VUE D'OBTENIR
LE GRADE DE MAÎTRISE EN PHYSIQUE



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*
ISBN: 978-0-494-32437-0
Our file *Notre référence*
ISBN: 978-0-494-32437-0

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.


Canada

© Martin Bertrand, Ottawa, Canada, 2007

SOMMAIRE

Depuis quelques années, un domaine de la physique attire de plus en plus l'attention: la biophysique. À la base de la vie, il y a des mécanismes que les physiciens sont particulièrement aptes à pouvoir étudier et modéliser. Par exemple, plusieurs études cherchent à mieux comprendre le comportement et à faciliter la manipulation de polymères tels l'ADN, l'ARN et les protéines.

Cette thèse contient deux telles études conduites à l'aide de simulations par dynamique moléculaire. La première s'intéresse aux polyélectrolytes ancrés sous électrophorèse en solution libre. On y présente des résultats qui confirment directement, pour la première fois, un certain principe d'équivalence établi par Didier Long, Jean-Louis Viovy et Armand Ajdari. La deuxième se rapporte aux polyélectrolytes confinés dans la direction transverse à leur déplacement sous l'effet d'un champ électrique par une force mécanique radiale. Il en résulte une redéfinition d'une propriété fondamentale des polyélectrolytes en solution libre, l'écoulement libre (*free-draining*), et la découverte d'une nouvelle méthode de séparation moléculaire.

On retrouve aussi, en début de thèse, deux chapitres entiers qui informent le lecteur du contexte dans lequel les deux études furent menées et lui permettent une meilleure compréhension de la théorie des polyélectrolytes en solution libre sous électrophorèse.

SUMMARY

In the last few years, a new physics field is gaining much attention: biophysics. Physicists are especially well prepared to study and model some of the most complicated biological mechanisms. For example, many studies are now focused on better understanding the behavior of polymers such as DNA, RNA, and proteins to help develop techniques to manipulate and analyze these molecules.

This thesis contains two such studies that were conducted using molecular dynamics simulations. The first concentrates on tethered polyelectrolytes under electrophoresis in free-solution. It presents results that, for the first time, directly confirm the equivalence principle as established by Didier Long, Jean-Louis Viovy, and Armand Ajdari. The second centers on confined polyelectrolytes under electrophoresis in free-solution where the radial confinement force is mechanical of origin and transverse to the net motion of the molecules. It redefines “free-draining”, a most fundamental property of polyelectrolytes in free-solution, and points towards a new method for separating charged chains by size.

One will also find, at the beginning of the thesis, two entire chapters dedicated to first, put the two studies in the proper context, and second, allow a better comprehension of the theory of polyelectrolytes in free-solution undergoing electrophoresis.

DÉCLARATION D'ORIGINALITÉ

J'atteste ici que les travaux et les résultats qui vous sont présentés dans cette thèse sont les fruits de mes efforts, sous la supervision de Gary W. Slater, et sont, à ma connaissance, inédits. Les simulations par Dynamique Moléculaire qui ont permis les études menées reposent sur le code écrit par Frédéric Tessier.

Le premier article (chapitre 3) fut accepté pour publication:

M. Bertrand et G. W. Slater "Tethered Polyelectrolytes under the Action of an Electrical Field: A Molecular Dynamics Study". Accepté par le *European Physical Journal E*, 29 janvier, 2007

Le second article (chapitre 4) devrait être soumis dans les plus brefs délais. Au sujet de ce dernier, il est important de mentionner que le contexte des simulations fut élaboré par Eric C. J. Oliver et moi-même, que les simulations furent conduites par E. C. J. Oliver, et que l'analyse subséquente des résultats fut exécutée par moi-même.

J'ai eu la chance de communiquer mes résultats à la communauté scientifique:

M. Bertrand et G. W. Slater "Counteracting the electrophoretic motion of a polyelectrolyte: a Molecular Dynamics study". Présentation d'une affiche à la rencontre annuelle de l'*American Physical Society (APS)*, mars 2005, Los Angeles

G. W. Slater a aussi présenté nos plus récents résultats concernant les deux articles qui composent cette thèse à la rencontre annuelle de l'*APS* à Denver en mars 2007.

J'ai aussi participé à l'écriture d'un article de revue écrit conjointement avec des membres des groupes de Gary W. Slater et Annelise Barron:

Robert J. Meagher, Jong-In Won, Laurette C. McCormick, Sorin Nedelcu, **Martin M. Bertrand**, Jordan L. Bertram, Guy Drouin, Annelise E. Barron, Gary W. Slater "End-labeled free-solution electrophoresis of DNA". *Electrophoresis* **26**, 331-350 (2005).

REMERCIEMENTS

Je tiens ici à remercier tous ceux qui pendant deux années m'ont permis d'avancer d'une façon ou d'une autre. Un merci tout spécial à Gary W. Slater, mon superviseur, qui dispense de judicieux conseils, propage un enthousiasme contagieux, et a cru en moi alors que je doutais. Je n'oublie pas l'appui moral et intellectuel de la part tous mes collègues, mais je pense en particulier à Martin Kenward, Sébastien Casault, Éric C.J. Oliver et Frédéric Tessier. Les études présentées dans cette thèse ont été conduites à l'aide du matériel informatique géré par le High Performance Computing Laboratory (HPCVL). Elles ont été financées en partie par une subvention accordée à GWS par le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie (CRSNG) du Canada, par une bourse d'études supérieures du CRSNG, une bourse d'admission de l'Université d'Ottawa, et par une subvention du National Institutes of Health (NIH) des États-Unis. Enfin, je ne pourrais passer sous silence le support que m'a apporté ma famille, mes amis et ma copine Karine.

AVANT PROPOS

Impossible pour moi d'amorcer la rédaction de cet ouvrage sans vous adresser à vous, chers lecteurs, quelques mots particuliers. D'abord et avant tout je tiens à vous rappeler que vous avez sous les yeux ma thèse, et donc si une longue lecture vous entraînant dans les méandres de ma démarche scientifique de ces deux dernières années ne vous enthousiasme point, sachez que je ferai tout en mon possible pour que lorsque la fin de cette ardue tâche qu'est la vôtre se présente, vous serez heureux d'avoir passé ces quelques minutes en ma compagnie!

J'ai choisi de rédiger une thèse par articles. Puisque l'on passe tellement de temps et d'efforts à l'écriture de ceux-ci, il serait triste de ne pas utiliser ce matériel. De plus, les articles devant être encadrés d'une introduction et d'une conclusion de mon cru, ce type de thèse me permet une écriture libérée des contraintes qu'impose la rédaction d'un article. Je vous ai donc mijoté une introduction en deux temps, deux chapitres. Le premier est consacré à la vulgarisation du contexte scientifique dans lequel ma recherche s'insère. Cette entrée en matière je la dédie à tous ceux qui m'ont supporté pendant mon long et parfois difficile périple vers l'obtention du grade de Maîtrise en Sciences. Quoique la forme ait été adaptée pour cette thèse, ce chapitre fut rédigé avec comme objectif une future publication dans un magazine pour le grand public. Le deuxième chapitre présente la théorie relative aux articles ci-inclus et est rédigé dans un style qu'on pourrait qualifier de plus scientifique. Il saura plaire à tous ceux avides de détails et d'équations.

Note linguistique: la lecture complète de cette thèse nécessite un bilinguisme fonctionnel. Les articles sont dans la langue de Shakespeare alors que l'introduction et la conclusion sont dans celle de Molière. Les raisons en sont toutes simples: l'anglais est international, qualité recherchée pour communiquer ses résultats à un large auditoire ; le français me permet tout simplement de m'amuser avec les mots comme j'aime tant le faire !

Table des matières

| | |
|--|------------|
| Sommaire | ii |
| Summary | iii |
| Déclaration d'originalité | iv |
| Remerciements | v |
| Avant propos | vi |
| Table des matières | vii |
| 1 Le code de la vie, l'ADN | 1 |
| 1.1 Acide Désoxyribonucléique | 1 |
| 1.2 Séquençage par électrophorèse | 3 |
| 1.2.1 Électrophorèse dans un gel | 5 |
| 1.2.2 De l'ADN muni d'un parachute ! | 6 |
| 2 Théorie | 10 |
| 2.1 Les polymères en solution libre | 10 |
| 2.1.1 Une chaîne idéale | 11 |
| 2.1.2 Une chaîne réelle | 13 |
| 2.2 Polyélectrolytes, électrostatique et électrophorèse en solution libre | 14 |
| 2.3 Action simultanée d'une force électrique et d'une force mécanique sur un polyélectrolyte libre en solution | 17 |
| 2.3.1 Action d'une force mécanique avec composante parallèle au mouvement du polyélectrolyte | 17 |
| 2.3.2 Action d'une force mécanique transverse au mouvement du polyélectrolyte | 20 |
| | vii |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 2.4 | Simulations par dynamique moléculaire | 20 |
| 2.4.1 | Les particularités de la méthode utilisée | 22 |
| 3 | Tethered Polyelectrolytes under the Action of an Electrical Field: A Molecular Dynamics Study | 25 |
| 3.1 | Introduction | 26 |
| 3.2 | Theory behind the stall force | 26 |
| 3.2.1 | A simple object: the charged sphere | 26 |
| 3.2.2 | From a sphere to a polyelectrolyte | 27 |
| 3.2.3 | Conformations of a polyelectrolyte | 27 |
| 3.3 | Molecular dynamics study | 28 |
| 3.3.1 | The method | 28 |
| 3.3.2 | Electrophoretic mobility of the polyelectrolytes | 28 |
| 3.3.3 | Polyelectrolytes' behavior and conformations | 29 |
| 3.3.4 | The stall force | 30 |
| 3.4 | Conclusion | 31 |
| 3.5 | Aknowledgements | 32 |
| 3.6 | References | 32 |
| 4 | Mobility of confined polyelectrolytes in free-solution electrophoresis: a Molecular Dynamics study | 34 |
| 4.1 | Introduction | 35 |
| 4.2 | Theory | 35 |
| 4.2.1 | Mobility of polyelectrolytes in free-solution electrophoresis | 35 |
| 4.2.2 | A deformed polyelectrolyte under artificial confinement | 36 |
| 4.2 | Method | 37 |
| 4.3 | Results | 37 |
| 4.3.1 | Confinement potential versus free-draining properties | 37 |
| 4.3.2 | The electrophoretic mobility of deformed polyelectrolytes | 38 |
| 4.4 | Conclusion | 39 |
| 4.5 | Aknowledgements | 39 |
| 4.6 | References | 39 |
| 5 | Conclusion | 40 |

Le code de la vie, l'ADN

ACGTCATGGATCGTCA, une séquence de lettres que les initiés associerons aussitôt à cette molécule connue de tous, l'ADN. Quatre lettres, A, C, G et T, que l'on associe aux quatre bases, l'Adénine, la Guanine, la Thymine et la Cytosine, respectivement. C'est notre volonté de mieux comprendre cette molécule ô combien importante qui motive en grande partie les recherches qui vous seront présentées dans les chapitres 3 et 4. Quoi de mieux alors que de débiter par la présentation du cadre dans lequel s'insèrent celles-ci.

1.1 Acide Désoxyribonucléique

Un "Acide DésoxyriboNucléique" (ADN) est d'abord et avant tout une macromolécule composée de plusieurs molécules dites organiques, *i.e.* molécules qui combinent le carbone à divers éléments, tels l'hydrogène et l'oxygène, et que l'on retrouve en abondance dans le monde du vivant. Ces constituants se rassemblent et se lient pour construire une structure qui prend la forme d'une double hélice, découverte en 1953 par James Dewey et Francis Crick [1][2], et en partie grâce aux travaux de Rosalind Franklin [3].

Les fonctions et la composition de chaque organisme vivant sont régies par l'expression de gènes qui sont en fait des sections actives sur de longues molécules d'ADN qui codent les différentes protéines qui permettent la vie. La totalité de ces gènes forme ce que l'on appelle le

génomique de l'organisme. De la plus petite bactérie jusqu'à l'être humain, c'est la même histoire. Ainsi, sans entrer dans les détails de la composition chimique de l'ADN, il suffira pour nous de savoir que toute l'information nécessaire pour coder la vie se retrouve dans la séquence des bases A, C, G, et T. Deux par deux rassemblées, A avec T et C avec G, ces paires de bases forment la colonne centrale de la molécule d'ADN telle qu'illustrée sur la figure 1.1.

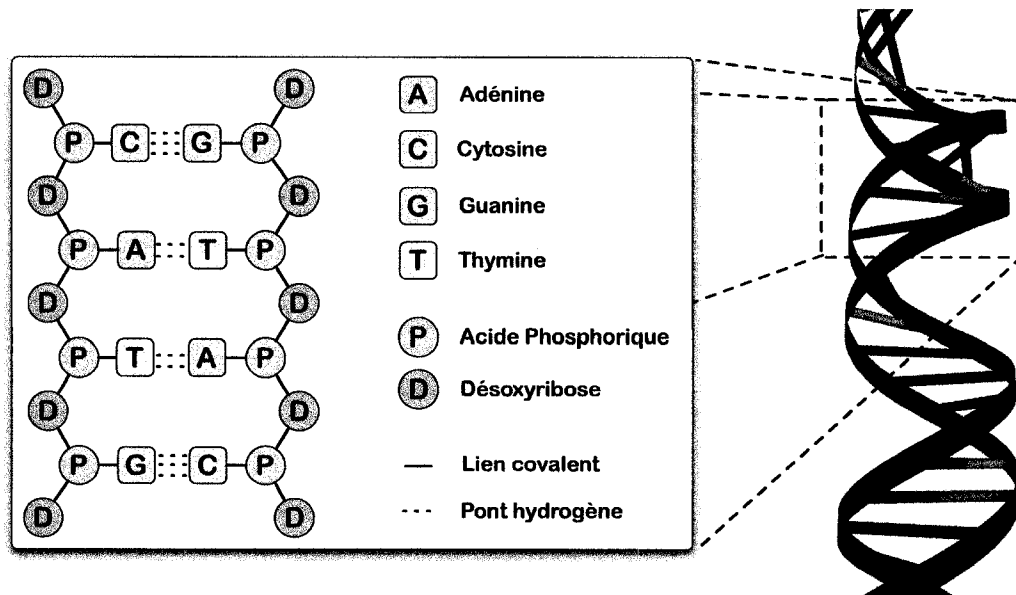


FIGURE 1.1 Section d'un brin d'ADN avec vue rapprochée sur la structure locale qui nous présente l'alignement des paires de bases au coeur de la molécule avec l'acide phosphorique et la désoxyribose pour emballer le tout.

Question d'offrir quelques chiffres à ceux qui en sont amateurs, le génome humain, d'un intérêt particulier, contient environ 3 milliards de paires de bases qui forment 23 paires de molécules d'ADN distinctes que l'on nomme chromosomes. Le tout comporte alors environ 30 000 gènes (on conteste présentement l'exactitude de cette valeur [4]). Afin de remettre ces nombres en perspective, imaginez que vous vouliez lire ce dit génome tel un livre dont les pages contiennent en moyenne 250 mots (typique du roman de langue anglaise selon [5]) d'une longueur moyenne de 10 caractères (*grosso modo*); si chaque paire de bases est en fait l'équivalent d'un caractère, ceci donnerait 1 200 000 pages de lecture ! La tâche est monstrueuse ! 833 jours de lecture si l'on considère que vous êtes un bon lecteur capable de se taper une page par minute et de maintenir la cadence sans arrêt ! De plus, la taille d'un chromosome est de l'ordre microscopique, celle des bases, nanoscopique, bien plus petit que les caractères de votre roman favori ! Donc, à moins d'être

un “super” humain dans tous les sens du terme, admettons qu’il vous est impossible d’accomplir l’exploit et que tel un digne représentant de votre espèce vous en soyez réduit à faire appel à la technologie. Vous êtes chanceux puisque certains de vos confrères se sont déjà attelés à la tâche pour vous et ont développé des techniques de lecture qui permettent de séquencer un brin d’ADN, c’est-à-dire d’obtenir l’ordre des paires de bases qui le compose. La plupart de ces techniques tirent partie du phénomène de l’*électrophorèse*, sujet que nous aborderons dans la section suivante.

1.2 Séquençage par électrophorèse

Une question doit maintenant vous trotter dans l’esprit cher lecteur: qu’est-ce que l’électrophorèse? Et bien si l’on parle de l’électrophorèse d’un objet, cette dernière se définit comme étant un “déplacement sous l’action d’un champ électrique”. Considérons un instant l’ADN, le centre de notre discussion en quelque sorte. Il s’avère que c’est une molécule chargée négativement lorsque en solution. L’application d’un champ électrique devrait donc résulter en un déplacement de l’ADN du pôle négatif (cathode) vers le pôle positif (anode). C’est ainsi que nous parlerons de l’électrophorèse de l’ADN. La discussion détaillée du phénomène est laissée au prochain chapitre puisque pour le moment les quelques explications suivantes serviront amplement. Vous découvrirez qu’il est possible de comprendre ce phénomène dont la théorie est en soit complexe en usant d’un peu d’intuition et d’imagination.

La figure 1.2 illustre d’abord en *a*), l’électrophorèse en solution libre d’une molécule d’ADN dont les segments sont chargés négativement. Cette dernière se déplace vers la droite, dans un fluide tel l’eau, sous l’action d’une force qui trouve son origine dans le champ électrique orienté de l’anode (+) à la cathode (-). Le produit de la charge et du champ donne la grandeur de la force électrique. Tout comme lorsque vous nagez la résistance de l’eau freine vos efforts et stabilise votre vitesse de par la friction engendrée par votre déplacement, la molécule chargée qui nous intéresse ici atteint sa vitesse de *croisière* lorsque la force de friction issue de son interaction avec la solution tampon équivaut à la force électrique qui lui impose un déplacement. Le produit du coefficient de friction de la molécule, défini plus tard, et de sa vitesse donne la grandeur de la force de friction. Voilà, vous êtes maintenant initié à l’électrophorèse, de l’ADN en particulier. Cependant, le titre de la section présageait une discussion sur le “séquençage par électrophorèse”, alors qu’en est-il de ce séquençage dont il est question ?

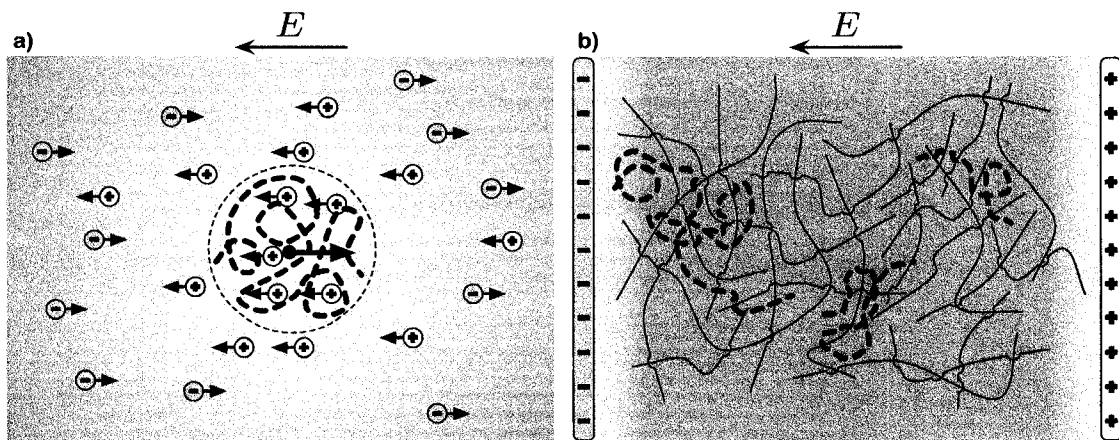


FIGURE 1.2 L'électrophorèse illustrée: a) chaîne d'ADN chargée négativement, immergée dans une solution tampon (liquide et sel), se déplaçant sous l'effet d'un champ électrique, qui voit sa marche ralentie par le flot engendré par le mouvement des contre-ions en solution; b) chaînes d'ADN de diverses tailles se déplaçant dans un gel sous l'effet d'un champ électrique, trouvant leur chemin dans le dédale des fibres, les petites rencontrant moins de difficultés que leurs longues congénères.

Le séquençage de l'ADN consiste à en obtenir la séquence (on le devine !) des paires de bases qui le compose. Il s'agit donc de la lecture de cet ADN, d'un grand intérêt pour la science. En laboratoire, on profite d'une des propriétés de l'ADN, celle de pouvoir se répliquer, afin de prendre la chaîne qui nous intéresse et d'en copier des segments de diverses longueurs qui vont de quelques paires de bases à la totalité de la chaîne en s'assurant d'avoir toutes les longueurs possibles entre les deux extrêmes. On arrête le processus de copie à divers endroits en introduisant des bases liées à des molécules fluorescentes qui terminent les chaînes ainsi obtenues (*i.e.*, bloquent la réplication) et permettent de déterminer la nature de la dernière base ajoutée (A,C,G,T). On se retrouve alors avec un mélange de chaînes que l'on cherche à séparer en fonction de leurs tailles pour ainsi obtenir la séquence des bases. Qu'arrive-t-il alors quand nous imposons à cet amalgame l'électrophorèse en solution libre ? Il arrive que toutes les chaînes se déplacent à la même vitesse peu importe leur longueur. Pour comprendre le phénomène retournons un instant dans l'univers de la natation. Imaginons que les dix couloirs d'une piscine olympique sont occupés chacun par un nageur dont la taille est légèrement plus grande que le précédent et dont la force est proportionnelle à celle-ci. S'ils devaient courser, nous pourrions prédire que nul ne gagnerait, puisque intuitivement nous supposerions que plus la taille du nageur est importante plus la résistance de l'eau est grande. Le plus petit des nageurs est peut-être moins fort mais il avance plus aisément dans l'eau et arrive

au même moment que le plus gros d'entre eux ! Il en est de même pour nos chaînes d'ADN de tailles variées. Pour un champ électrique donné, dans des conditions expérimentales telles que rencontrées en laboratoire, la charge est proportionnelle à la taille, et le coefficient de friction est aussi proportionnelle à la taille. Donc aucune d'entre elles ne gagne. En réalité, le phénomène est plus complexe et sera abordé plus en profondeur dans le chapitre suivant [6]. Pour le moment, il s'agit tout simplement de saisir l'importance de briser la symétrie des forces si l'on cherche à séparer des chaînes de diverses longueurs. Une méthode élégante et facile qui domine l'univers du séquençage (de la séparation moléculaire par taille) est l'électrophorèse dans un gel.

1.2.1 Électrophorèse dans un gel

Nous désignerons gel toute structure macroscopique composée d'un enchevêtrement de macromolécules, généralement de longues chaînes carbonées "cousines" de l'ADN que l'on regroupe sous la dénomination "polymère", c'est-à-dire toute molécule faite de plusieurs éléments similaires qui sont rattachés le long d'une chaîne pouvant se déployer dans diverses conformations spatiales. La figure 1.2 b) montre des chaînes d'ADN de diverses tailles naviguant dans les dédales d'un gel. Le gel permet ici d'obtenir un ratio charge électrique sur coefficient de friction dépendant de la taille des chaînes à séparer. Pour bien comprendre ce qui arrive, imaginez un père et son fils dans un parc d'amusement. Le fils propose une course à son père dans l'un de ces jeux fait d'un enchevêtrement de cordes parmi lesquels vous devez vous frayer un chemin pour passer d'un côté à l'autre. Si nous avons à parier sur le vainqueur, je miserais sur le petit ! Il rencontrera beaucoup moins de résistance que son père de par sa plus petite taille. Il en est de même pour des polymères tel l'ADN qui traversent un gel sous électrophorèse. Les plus petits se faufleront plus facilement et vous observerez une croissance de la longueur des chaînes franchissant le fil d'arrivée en fonction du temps (figure 1.2 b)). La technique est élégante et relativement facile à mettre en place et sert à la séparation de chaînes d'ADN de diverses tailles, mais aussi de plusieurs autres molécules que l'on retrouve dans les organismes vivants. On emploie donc l'électrophorèse en gel dans une gamme de sciences biologiques afin d'approfondir nos connaissances sur les secrets de la vie, l'usage le plus médiatisé étant sans contredit le séquençage de l'ADN [7]. Il est pratiquement impossible d'avoir vécu le passage au 21^e siècle sans avoir entendu parler du Projet du Génome Humain [8][9]. En bref, il s'agissait de lire le génome humain, c'est-à-dire d'obtenir la séquence des 3 milliards de paires bases qui le composent. L'électrophorèse dans un gel a permis d'accomplir l'exploit en quelques années. Pourquoi un délai aussi long ? Nous pourrions énumérer plusieurs facteurs ici, passant du trivial, telle la fatigue humaine à l'entretien

de l'infrastructure, mais le facteur décisif est en fait la lenteur inhérente à l'électrophorèse dans un gel et le coût de l'opération. Même en automatisant la majeure partie des procédés, la technique requiert une patience vertueuse, chaque lecture se limitant à 800 bases. De plus, les gels sont difficiles à miniaturiser et donc les équipements nécessaires restent volumineux. Les coûts d'exploitation deviennent alors faramineux, se chiffrant dans les millions de dollars pour le Projet du Génome Humain seulement ! Malgré la complétion de cette longue lecture en 2003 vous comprendrez qu'il y a et y aura toujours des molécules à séparer, un bagage génétique à séquencer et puisque notre patience a ses limites et l'argent ne pousse pas dans les arbres la question se pose: comment accélérer la séparation moléculaire par électrophorèse tout en réduisant les coûts ? De par le monde, des scientifiques des domaines de la biologie, la chimie et la physique travaillent sur une variété de techniques novatrices, certaines qui exploitent l'électrophorèse, d'autres non, pour obtenir la séparation moléculaire. On a d'ailleurs lancé le défi de trouver une quelconque méthode qui permette de séquencer le génome d'un individu pour moins de 1000\$. Je ne vous décrirai pas chacune d'entre elles, il y en a déjà beaucoup et plusieurs s'ajoutent chaque année. Je vous encourage cependant à vous renseigner sur ces dernières [10] et vous invite présentement à vous familiariser avec l'une d'entre elle, développée conjointement par les groupes de Gary W. Slater et Guy Drouin de l'*Université d'Ottawa*, et d'Annelise Barron de la *Northwestern University* (Slater et Barron sont financés par le *National Institute of Health* des États-Unis (NIH)), l'Électrophorèse de Polyélectrolytes Munis d'un Parachute Moléculaire en Solution Libre, traduction libre de *End-Labeled Free-Solution Electrophoresis* (ELFSE) [11].

1.2.2 De l'ADN muni d'un parachute !

L'Électrophorèse de Polyélectrolytes Munis d'un Parachute Moléculaire en Solution Libre, voilà qui fait un peu fantaisiste ! Ces mots piquent sans aucun doute votre curiosité. Je vous prie alors de continuer votre lecture, vous verrez le sujet est intéressant et on se rapproche de la recherche que votre auteur et guide a entreprise. D'abord, vous remarquerez qu'un nouveau terme est introduit ici, "polyélectrolyte". Le mot "électrolyte" désigne en fait toute substance contenant des ions libres et possédant ainsi la capacité de conduire l'électricité. Par exemple, les solutions salées sont des électrolytes. Un "polyélectrolyte" est donc un polymère dont les éléments structuraux sont des électrolytes en solution. L'ADN en solution, par exemple, voit des ions positifs se détacher de la chaîne exposant une colonne d'ions négatifs. C'est pourquoi nous parlions précédemment de molécule chargée. En solution, dans des conditions expérimentales, vous vous rappelez que la symétrie charge électrique et coefficient de friction empêche la séparation de l'ADN selon

la taille et il en est de même pour tous les polyélectrolytes, dont l'ADN n'est qu'un exemple. L'introduction d'un gel permet de briser la symétrie mais offre une résistance telle que le processus devient lent, délicat et peu performant, sans parler des coûts. C'est dans le but de trouver une alternative à l'électrophorèse en gel qui serait à la fois plus rapide et plus efficace que Claude Desruisseaux, membre du groupe de Slater, à l'aide de collègues physiciens et chimistes, a jeté les premières bases d'une toute nouvelle méthode de séparation en solution libre [12][13], l'ELFSE, qu'explorent en profondeur les groupes de Slater et Barron [11]. Les fondations théoriques de la méthode ont été solidifiées, entre autres, par Didier Long *et al.* [14][15][16] et Laurette McCormick *et al.* [17][18]. Le concept de base est fort simple. Il s'agit de fixer les chaînes que l'on désire séparer à un parachute moléculaire neutre. La charge électrique reste donc toujours proportionnelle à la longueur de la chaîne mais le coefficient de friction devient proportionnel à la longueur de la chaîne plus le parachute. La symétrie est alors brisée ! Afin de donner un sens à cette description plutôt succincte de l'ELFSE, considérez le cas limite suivant: le parachute moléculaire offre une résistance telle que celle de l'ADN devient négligeable. Assumant que ce parachute est neutre, l'ADN reste l'unique moteur de l'objet moléculaire composé. Ainsi, une chaîne du polyélectrolyte plus longue porte une charge plus grande et donc la force électrique est aussi plus grande. Si le coefficient de friction du parachute reste le même peu importe, le ratio de la charge sur ce coefficient croît avec la taille de l'ADN et donc plus les chaînes sont longues plus vite elles voyagent en solution. La figure 1.3 illustre l'ELFSE et montre l'inverse de la figure 1.2 b), c'est-à-dire que les longues chaînes arrivent les premières. En des termes simples, la situation est analogue à la suivante: les quatre frères Dalton, boulet au pied, désirent atteindre la sortie de la prison le plus rapidement possible. Assumant que le plus grand, Averell, ne perde pas la carte de par sa stupidité, il devrait arriver bien avant Joe, le plus petit, provoquant invariablement la colère de ce-dernier (on assume ici que la force physique est proportionnelle à la taille) !

Quels sont les avantages de l'ELFSE ? Étant donné que l'électrophorèse s'effectue en solution libre, la préparation de l'équipement en est grandement simplifiée. On parle ainsi d'efficacité et de réduction des coûts par séquence puisque idéalement la technique peut être adaptée pour l'univers de la microfluidique et des laboratoires sur puces, une technologie en plein essor qui réduit la taille d'un laboratoire à celle d'un microprocesseur permettant d'automatiser et d'accélérer un grand nombre de procédés dans la foulée [19]. Mais alors, qu'attend-on pour faire de l'ELFSE la norme en ce qui a trait à la séparation de polyélectrolytes (ADN) ? Le problème réside dans le design d'un parachute moléculaire efficace et abordable. C'est qu'il faut maximiser son coefficient de

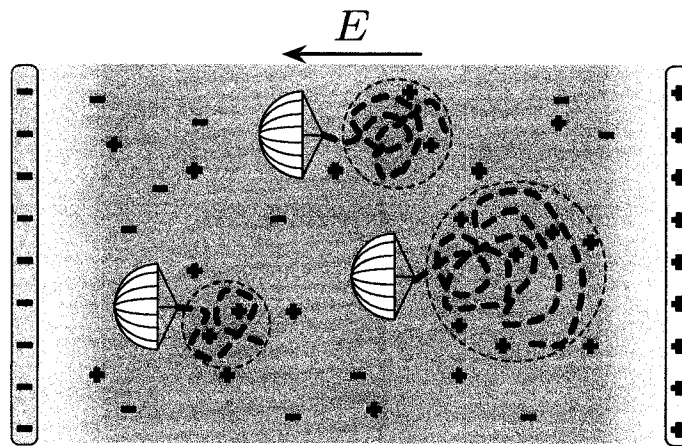


FIGURE 1.3 Électrophorèse de Polyélectrolytes Munis d'un Parachute Moléculaire en Solution Libre (ELFSE). Les polyélectrolytes, qu'on peut supposer être des chaînes d'ADN de diverses longueurs, se déplacent sous l'action d'un champ électrique et sont freinés par un parachute moléculaire auquel ils ont été fixés. Le parachute n'est en fait qu'une représentation imagée de la réalité. Des ions ont aussi été ajoutés à titre représentatif, leur influence non négligeable étant abordée dans le chapitre 2.

friction tout en s'assurant qu'il reste à toute fin neutre et qu'un seul type de parachute capable de se fixer au polyélectrolyte est obtenu, ce qui n'est pas tout à fait évident à réaliser en laboratoire pour des raisons que nous n'énumérerons pas ici. C'est dans le but de surmonter cet obstacle au développement de l'ELFSE en une technique de séparation mature que les théoriciens du groupe de Gary W. Slater et les expérimentateurs du groupe de Annelise Barron unissent leurs efforts. Pour en savoir plus sur où nous en sommes présentement je vous invite à lire l'article passant en revue l'ELFSE écrit conjointement par les deux groupes en 2004 [11]. Les chapitres 3 et 4 de cette thèse présentent la recherche que j'ai entreprise dans le cadre de ce grand projet qu'est le développement de l'Électrophorèse de Polyélectrolytes Munis d'un Parachute Moléculaire en Solution Libre. L'objectif du premier article est de confirmer les prédictions de Didier Long et ses collègues en étudiant de près la physique d'un polyélectrolyte ancré en solution libre sous l'action d'un champ électrique. La théorie qui sert de support à l'ELFSE repose sur les fondations élaborées par Long *et al.* que nous avons cru bon de vérifier directement à l'aide de simulations par dynamique moléculaire. Quant au deuxième article, il vise une meilleure compréhension du comportement d'un polyélectrolyte déformé sous l'action d'une force transverse à son déplacement sous l'action d'un champ électrique en solution libre. Comme l'ELFSE sera peut-être appelée à être transposée dans le monde de la nanofluidique, les polyélectrolytes se retrouveront confinés

dans d'étroits canaux et donc déformés ce qui risque de modifier la dynamique de telles molécules. Mais avant de passer aux articles, je suggère à tout lecteur qui recherche des bases plus rigoureuses aux sujets qui seront abordés, de prendre le temps de lire le chapitre suivant qui expose un peu plus en profondeur la théorie concernant les études menées et qui décrit les grandes lignes de la méthode utilisée. Sachez cependant que l'essentiel de ce que vous devriez retenir se retrouve dans ce chapitre que vous venez de terminer.

Théorie

Ce chapitre contient les éléments théoriques qui permettront une meilleure compréhension de la recherche présentée dans les articles qui lui succéderont. Certains concepts seront abordés à nouveau, en des termes plus techniques et avec plus de profondeur. Impossible ici d'éviter les équations. Nous nous familiariserons d'abord avec la théorie concernant les polymères en solution, définirons les valeurs caractéristiques qui s'y rapportent et quelques modèles théoriques utilisés. Puis nous discuterons de polyélectrolytes et des interactions électrostatiques entre les divers ions en solution. Nous passerons ensuite à l'exploration de l'électrophorèse de tels objets en solution libre. Enfin, nous terminerons avec une section entière sur la simulation par dynamique moléculaire.

2.1 Les polymères en solution libre

Afin de vous rafraîchir la mémoire, laissez-moi vous redéfinir ce qu'est un polymère: une longue molécule flexible composée d'éléments structuraux qui se répètent et s'enchaînent. On nomme ces éléments "monomères" et ils sont liés ensemble par des liens covalents. Inutile ici d'entrer dans les détails de la chimie des polymères. Ce qui nous intéresse, c'est le comportement de l'objet composé qui est en soit pratiquement indépendant de la structure à l'échelle atomique [20]. Par contre, il est important de mentionner au passage que les polymères sont souvent faits de longues chaînes carbonées et se retrouvent ainsi au centre du fonctionnement de tous les organismes vivants. Aussi, de par leurs propriétés physiques, on les utilise largement en industrie, les plas-

tiques et le caoutchouc étant des produits de la science des polymères. Alors comment la physique décrit-elle ces longues molécules ? Elle puise dans sa boîte à outils pour construire des modèles qui permettent de décrire une réalité simplifiée afin d'en extraire des prédictions qui puissent servir en laboratoire à confronter les données expérimentales.

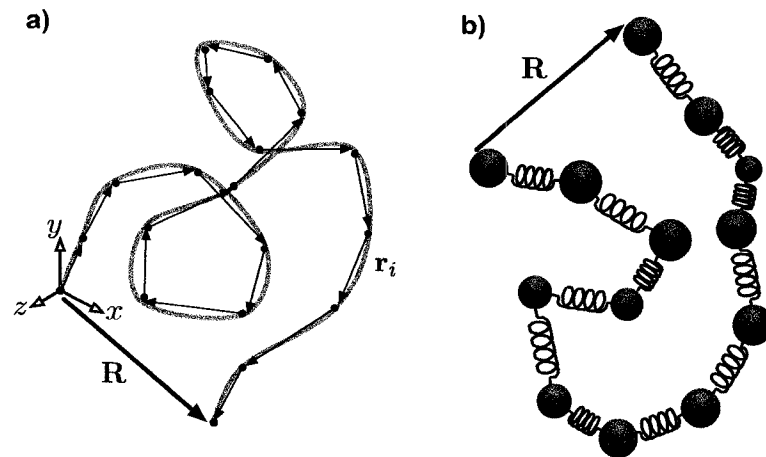


FIGURE 2.1 Modélisation d'un polymère: a) chaîne librement liée issue d'une marche aléatoire dans les 3 dimensions, chaque segment i étant de longueur a et lancé dans une direction aléatoire suivant le vecteur r_i ; b) représentation à l'aide de billes et de ressorts, très utile lorsque vient le temps d'étudier la dynamique des polymères. Dans les deux cas, le vecteur R va d'un bout à l'autre de la molécule.

2.1.1 Une chaîne idéale

Toute description d'un polymère doit en arriver au même résultat: une longue chaîne composée d'une séquence d'éléments similaires. La "marche aléatoire" est une bonne première approche pour modéliser une chaîne idéale. En partant d'un point d'origine choisi, on construit un polymère en ajoutant N segments consécutifs dont les directions sont déterminées par les vecteurs aléatoires $\{r_i\}$ de longueur a (figure 2.1 a)). La chaîne ainsi obtenue est dite "Librement Liée" (traduction de *Freely-Jointed*) et idéalise un polymère en solution qui se plie et se replie dans toutes les directions de sorte que l'orientation de chaque segment est en quelque sorte indépendante de ses voisins. La description adéquate d'un polymère en solution nécessite de prendre une moyenne sur toutes les conformations possibles. Pour une température donnée, dans un environnement donné, toute molécule diffuse, c'est-à-dire pivote et se déplace aléatoirement: c'est le mouvement dit Brownien. Le coefficient de diffusion (D) d'une particule nous est donné par la relation de Stokes-Einstein

[21]:

$$D = \frac{k_b T}{\xi}, \quad (2.1)$$

où k_b est la constante de Boltzmann, T , la température, et ξ , le coefficient de friction de l'objet en diffusion (pour une sphère $\xi = 6\pi\eta R$ où η est la viscosité du milieu et R , le rayon de la sphère). Ainsi les molécules d'un solvant tel l'eau diffusent et entrent en collision avec les monomères d'une chaîne en solution qui eux aussi subissent le même sort engendrant ainsi un changement de forme (conformation) incessant. La chaîne en solution elle-même diffuse à son tour. En moyenne, sa forme se rapproche alors de celle d'une pelote sphérique.

Pour une marche aléatoire telle que décrite ci-haut, R_l , la racine de la moyenne du carré de la longueur bout-à-bout R , nous est donnée par la relation suivante:

$$R_l = \langle R^2 \rangle^{1/2} = \left\langle \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_j \right\rangle^{1/2} = \left\langle \sum_{i=1}^N r_i^2 \right\rangle^{1/2} = N^{1/2} a, \quad (2.2)$$

où l'on retrouve en finalité une proportionnalité en $N^{1/2}$ (N segments). Si R_l est caractéristique de la taille moyenne d'une Chaîne Librement Liée (CLL), le rayon de giration R_g est une mesure plus fréquemment utilisée en théorie des polymères qui permet aussi de décrire la taille moyenne d'une chaîne en solution, qui s'approche en fait d'une sphère de rayon $R \sim R_g$. Mathématiquement, R_g nous est donné par la suivante:

$$R_g^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=0}^N \langle (\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_{CM})^2 \rangle = \frac{1}{N^2} \sum_{i=0}^N \sum_{j=0}^N \langle (\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j)^2 \rangle, \quad (2.3)$$

où les \mathbf{R}_i sont les positions des monomères le long de la chaîne et \mathbf{R}_{CM} , celle du centre de masse. Pour une CLL, le calcul de ce rayon de giration donne:

$$R_g = \frac{N^{1/2} a}{\sqrt{6}} = \frac{R_l}{\sqrt{6}}, \quad (2.4)$$

où nous retrouvons une même proportionnalité en $N^{1/2}$ que pour R_l . C'est donc dire que les deux mesures sont fonctions de ce facteur universel. On rencontre occasionnellement une autre mesure de la taille d'un polymère en solution: le rayon hydrodynamique R_H . En général, il est similaire à R_g quoique légèrement plus petit; il caractérise l'interaction de la molécule avec son milieu (le fluide) et est défini comme:

$$R_H = \frac{\xi}{6\pi\eta}. \quad (2.5)$$

Considérons un instant une chaîne modélisée à l'aide de billes et de ressorts, le modèle de Rouse (figure 2.1 b)) qui facilite l'étude des propriétés dynamiques d'une chaîne [21]. Si l'on ajoute les interactions hydrodynamiques entre monomères, modèle de Zimm, le rayon hydrodynamique d'une chaîne isotrope en solution (symétrique en son centre de masse et donc sphérique) nous est donné par:

$$R_H^{-1} = \left\langle \frac{1}{|\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j|} \right\rangle, \quad (2.6)$$

où les \mathbf{R}_i et \mathbf{R}_j sont les positions des monomères ($i \neq j$). On trouve pour une CLL $R_H \cong \frac{2}{3}R_g$. Son calcul devient cependant difficile pour toute molécule de conformation anisotrope. La modélisation d'une CLL à l'aide de billes et de ressorts permet aussi de définir l'énergie interne de la chaîne puisque les ressorts introduisent une énergie potentielle élastique [21]:

$$U = \frac{1}{2}k_{\text{res}} \sum_{i=1}^N (\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_{i-1})^2, \quad (2.7)$$

où k_{res} est la constante de rappel des ressorts. On néglige ici l'énergie cinétique, les mouvements de la chaîne étant plutôt lents dans un milieu visqueux. Pour une CLL, la constante de rappel équivaut à $3k_bT/a^2$ [21]. Pour simplifier les calculs lorsqu'il est question d'élasticité interne, on s'imagine fréquemment la chaîne entière comme étant un seul ressort de constante k tel que:

$$k = \frac{3k_bT}{R_f^2} = \frac{3k_bT}{Na^2}. \quad (2.8)$$

Pour déformer une chaîne, il faut donc lui imposer des tensions supérieures à kR_l .

2.1.2 Une chaîne réelle

Le modèle d'une CLL basé sur la marche aléatoire est en fait d'une trop grande simplicité pour décrire la réalité. C'est que la marche aléatoire en son strict sens permet à la chaîne de revenir sur ses pas et donc admet la possibilité que plusieurs de ses morceaux puissent occuper le même point dans l'espace. Vous comprendrez immédiatement que ceci est impossible, deux molécules ne pouvant être au même endroit en même temps. Voilà qui définit le principe de "volume exclu". Lorsque deux objets moléculaires se retrouvent à proximité l'un de l'autre, il y a répulsion stérique. Ainsi, comme deux sphères l'une au côté de l'autre occupent un plus grand volume qui si elles étaient parfaitement superposées, une chaîne réelle occupe un plus grand volume qu'une chaîne idéale dans laquelle on retrouve un certain nombre de segments en état de superposition. Pour

tenir compte de ce facteur, un modèle pour une chaîne réelle en trois dimensions fut introduit par Flory [22]. Il en ressort que pour une longueur R caractéristique de la taille du polymère (R_g , R_H ou R_l), il est possible d'écrire:

$$R \propto N^\nu a, \quad (2.9)$$

où ν est l'exposant de Flory et prend diverses valeurs selon le nombre de dimensions avec lesquelles on travaille et les conditions environnantes au polymère. En trois dimensions par exemple, un polymère plongé dans un "bon solvant", pour lequel les interactions avec les monomères sont favorables, voit ν prendre la valeur $3/5$, alors que dans un "mauvais solvant", dont les molécules n'apprécient guère la proximité des monomères, il se replie sur lui-même occupant ainsi un plus petit volume et voit ν prendre la valeur $1/3$. Un entre-deux existe, où les monomères et le solvant se tolèrent de sorte que $\nu = 1/2$ comme dans le cas d'une CLL idéale. On parle alors de solvant θ . Les études qui vous seront présentées dans les chapitres qui suivent comportent toutes deux des polymères en solution dans un "bon solvant".

Jusqu'ici, nous n'avons considéré que des chaînes flexibles. En réalité, on ne peut pas toujours négliger la rigidité de ces dernières. Lorsque c'est le cas, elles se comportent un peu comme des vers, ces petites bestioles qui se tortillent dans tous les sens. D'ailleurs en anglais de telles chaînes sont dites *worm-like*. Les orientations de segments voisins de longueur a sur une chaîne rigide sont corrélées. La longueur de corrélation est en fait ce que l'on nomme longueur de persistance L_p . Cette mesure permet de redéfinir le concept de segment pour une chaîne de rigidité non-négligeable. Ainsi, vous entendrez parler de segment de Kuhn et de la longueur qui y est associé $b_k = 2L_p$. Kratky et Porod ont réussi à décrire les caractéristiques de chaînes semi-rigides lorsque la répulsion stérique reste ignorée [21].

2.2 Polyélectrolytes, électrostatique et électrophorèse en solution libre

Rappelez-vous que lorsqu'un polyélectrolyte est en solution, des ions se détachent de la chaîne qui devient alors chargée. Pour l'ADN par exemple, on retrouve une chaîne négative entourée de contre-ions positifs. De plus, les expériences menées avec nos molécules nécessitent l'usage de sels qui font d'une solution un électrolyte. C'est donc dire qu'en général un polyélectrolyte baigne complètement entouré d'ions et que nécessairement il interagit avec ceux-ci de par les potentiels électrostatiques.

Lorsqu'en solution, un nuage de contre-ions se forme autour de la chaîne en une double couche, l'une, du nom de Stern, liée à la molécule et l'autre plus diffuse, du nom de Debye, qui définit la taille du nuage [6]. La distribution des ions dans cette double couche suit celle de Boltzmann, et donc le potentiel électrique engendré ϕ nous est donné par l'équation de Poisson-Boltzmann:

$$\epsilon \nabla_r^2 \phi(\mathbf{r}) = -e \sum_j z_j C_j \exp\left(-\frac{ez_j \phi(\mathbf{r})}{k_b T}\right), \quad (2.10)$$

où ϵ est la permittivité électrique du solvant et la somme comporte toutes les espèces ioniques j en solution, ez_j et C_j étant les charges et concentrations de ces dernières. Cette équation non-linéaire ne possède en fait que quelques solutions analytiques pour des géométries particulières. Dans la limite où le champ est faible ($|ez_j \phi| \ll k_b T$), il devient possible de linéariser l'équation 2.10:

$$\nabla_r^2 \phi(\mathbf{r}) = \frac{e^2 \sum_j z_j^2 C_j}{\epsilon k_b T} \phi(\mathbf{r}). \quad (2.11)$$

On trouve alors une solution qui convient à la présente discussion, c'est-à-dire:

$$\phi(x) = \phi(0) \exp(-x/\lambda_D), \quad (2.12)$$

où $\phi(0)$ est la valeur maximale du potentiel électrique à la surface de l'objet (ou le mur) en solution et λ_D , que l'on nomme longueur de Debye, représente en quelque sorte l'étendue de ce potentiel c'est-à-dire l'épaisseur du nuage de contre-ions autour de l'objet. De l'équation 2.11 on obtient pour la longueur de Debye:

$$\lambda_D = \left(\frac{\epsilon k_b T}{2e^2 I}\right)^{1/2}, \quad (2.13)$$

où $I = \frac{1}{2} \sum_j z_j^2 C_j$ est la force ionique de la solution.

Considérons maintenant le mouvement d'un polyélectrolyte à vitesse constante sous l'action d'un champ électrique dans une solution tampon (électrophorèse). Le tout est illustré sur la figure 1.2 a) où l'on observe une chaîne chargée en mouvement au centre, entourée d'ions positifs avec quelques ions négatifs en solution à titre représentatif. Si je demandais à quiconque familier avec les équations de la physique d'objets en mouvement dans un milieu visqueux de me décrire le phénomène, la réponse intuitive serait probablement la suivante:

$$\sum \mathbf{F} = 0 = Q_{\text{tot}} \mathbf{E} - \xi \mathbf{v}_{\text{CM}}, \quad (2.14)$$

où l'on équilibre la force électrique donnée par *charge totale de la chaîne en solution* (Q_{tot}) \times *champ électrique* (\mathbf{E}), et la force de friction donnée par *coefficient de friction de la molécule* (ξ)

× vitesse du centre de masse de la molécule (v_{CM}). De cette relation on obtient:

$$\mu_{el} \equiv \frac{v_{CM}}{E} = \frac{Q_{tot}}{\xi}, \quad (2.15)$$

où μ_{el} est la mobilité électrophorétique de la molécule. Malheureusement, cette vision simpliste du phénomène ne s'applique que si la taille du polymère en solution ne dépasse pas l'étendue du nuage de contre-ions ($R_g \ll \lambda_D$) [11]. Ceci n'arrive que lorsque la concentration en ions est relativement faible (voir 2.13). Les monomères sont alors libres d'interagir entre eux par l'intermédiaire du fluide (interactions hydrodynamiques) ce qui engendre une interdépendance du mouvement des composants du polymère. L'objet se comporte ainsi un peu comme une sphère de rayon R_H (donné par 2.5) d'où l'applicabilité de l'équation 2.14. Dans la réalité, il est rare que l'on travaille dans cette limite. La concentration d'ions étant généralement élevée ($\lambda_D < R_g$), les contre-ions, de par leur déplacement à la surface du polymère sous l'action du champ électrique, entraîne le fluide dans un flot électro-osmotique qui tempère les interactions hydrodynamiques entre les monomères. On parle d'écoulement libre ou *free-draining* en anglais. Il n'y a plus de réponse collective pour la chaîne, les segments étant en quelque sorte isolés les uns des autres. On passe alors à une représentation locale de la molécule, c'est-à-dire que tous les segments co-migrent indépendamment à la même vitesse. On remplace alors la mobilité dans l'équation 2.15 par:

$$\mu_{el} = \frac{Q_{loc}}{\xi_{loc}}, \quad (2.16)$$

où Q_{loc} est la charge effective locale et ξ_{loc} est le coefficient de friction hydrodynamique local. En solution libre, dans des conditions expérimentales données, cette définition de localité reste inchangée peu importe la longueur de la chaîne du polyélectrolyte à l'étude. Ainsi, les chaînes de diverses longueurs se déplacent à la même vitesse pour un champ électrique donné ce qui empêche toute séparation. Dans la section précédente, il était question de symétrie, de proportionnalité avec la taille pour la charge et le coefficient de friction de la molécule. Effectivement, si l'on considère la chaîne dans son entièreté (N segments), la charge totale est définie comme NQ_{loc} et le coefficient de friction, comme $\sim N\xi_{loc}$, ce qui nous ramène tout de même à l'équation 2.16. Aussi, il fut mentionné et explicité dans cette même section, qu'afin de briser la symétrie, les chaînes sont habituellement séparées à l'aide de l'électrophorèse en gel. Mais cette technique reste lente et coûteuse d'où le désir d'y en substituer une plus efficace. L'Électrophorèse de Polyélectrolytes Munis d'un Parachute Moléculaire en Solution Libre (ELFSE) vous a alors été introduite comme une candidate pleine de potentiel.

2.3 Action simultanée d'une force électrique et d'une force mécanique sur un polyélectrolyte libre en solution

2.3.1 Action d'une force mécanique avec composante parallèle au mouvement du polyélectrolyte

Jusqu'à maintenant, nous avons considéré le mouvement de polyélectrolytes en solution libre, à forte concentration ionique, sous l'action seule d'une force électrique. Nous avons déterminé que dans un tel cas, il était impossible de séparer les molécules de même nature de par leurs tailles, toutes se déplaçant à la même vitesse. Mais qu'arrive-t-il lorsqu'une force additionnelle, d'origine mécanique, est appliquée à l'objet sous électrophorèse ? C'est ce dont nous discuterons présentement. Vous verrez que l'étude de cette nouvelle situation permet de mieux comprendre l'ELFSE et d'apprécier la recherche présentée dans le troisième chapitre. Une majeure partie de ce qui vous sera expliqué ici provient directement des travaux de collègues du groupe de Slater, c'est-à-dire Didier Long, Jean-Louis Viovy et Armand Ajdari [14][15][16].

Imaginez une longue chaîne chargée en solution salée ($\lambda_D < R_g$), en pelote (de forme sphérique, non déformée), de mobilité électrophorétique μ_{el} et coefficient de friction hydrodynamique ξ . On lui applique un champ électrique \mathbf{E} et une force mécanique \mathbf{F} à l'une de ses extrémités ce qui résulte en un mouvement à vitesse \mathbf{V} . C'est un problème pour lequel les Équations de l'Électro-Hydrodynamique (EEH) doivent être couplées. S'il n'y a pas de déformation de la conformation du polymère due à l'action de ces deux forces externes, il devient possible de linéariser les EEH ce qui permet de décrire la situation comme étant le résultat de la superposition de deux cas distincts. Dans le premier, seule la force électrique agit sur la chaîne et nous nous retrouvons avec l'électrophorèse en solution libre tout simplement:

$$\mathbf{v}_{el} = \mu_{el}\mathbf{E}. \quad (2.17)$$

Dans le deuxième, seule la force mécanique tire sur la chaîne. Il y a donc équilibre entre cette dernière et la résistance due au frottement avec le milieu visqueux:

$$\mathbf{F} - \xi\mathbf{v}_{mec} = 0. \quad (2.18)$$

De par la superposition $\mathbf{V} = \mathbf{v}_{el} + \mathbf{v}_{mec}$, ce qui permet de réécrire l'équation ci-haut comme suit:

$$\mathbf{F} - \xi(\mathbf{V} - \mu_{el}\mathbf{E}) = 0. \quad (2.19)$$

Cette équation suggère que tirer le polyélectrolyte à vitesse v sans champ électrique équivaut à le tirer à vitesse V sous l'action d'un champ non nul ($E \neq 0$) si $v = V - \mu_{el}E$. Nous parlerons alors d'équivalence électro-hydrodynamique ou de principe d'équivalence. Pour immobiliser la chaîne chargée ($V = 0$) il suffit d'appliquer une force d'ancrage F_{anc} donnée par:

$$F_{anc} = -\xi\mu_{el}\mathbf{E} = -\xi\mathbf{v}_{el}. \quad (2.20)$$

Ce qui est étonnant ici, c'est qu'intuitivement nous aurions tendance à supposer qu'une telle force serait proportionnelle à la force électrique qu'on applique au polymère, donc à sa charge Q_{tot} . Au contraire, nous nous retrouvons avec une expression tout à fait analogue à celle que nous donnerait l'étude d'un polymère ancré dans un fluide qui coule à une vitesse \mathbf{v}_{el} : pour un champ électrique donné, la mobilité étant indépendante de la taille, la force d'ancrage est proportionnelle au coefficient de friction ξ et donc à la taille de la molécule $R_H \sim R_g \sim Q_{tot}^{3/5}$ (une valeur de 3/5 pour l'exposant de Flory est typique d'un bon solvant [21]).

Pour en arriver à cette définition de la force d'ancrage, nous avons supposé que l'action simultanée des forces mécanique et électrique n'engendrait pas de déformation notable du polyélectrolyte. Qu'arrive-t-il si ce n'est pas le cas ? Si la somme de ces forces est supérieure à l'élasticité interne de la chaîne $\sim k_bT/R_g$? Assumons un instant qu'il est toujours possible de linéariser les EEH et considérons l'action seule de la force mécanique. Le polymère s'étirera pour adopter une conformation telle que l'équation 2.18 est respectée. Si la molécule reste figée dans cette forme et subit l'électrophorèse en solution libre, de par la définition locale de sa mobilité il n'y aura pas de déformation additionnelle. Ainsi, il reste possible de superposer les deux états pour en revenir à l'équation 2.19 maintenant indépendante de la conformation du polyélectrolyte. Ainsi, selon le principe d'équivalence, s'il est ancré, il se comportera et se déformera de manière équivalente sous électrophorèse à champ \mathbf{E} et sous l'action d'un flot de vitesse $\mathbf{v}_{el} = \mu_{el}\mathbf{E}$ (μ_{el} est assumé constant). C'est ce que le premier article présenté dans cette thèse cherche à corroborer.

Brochard-Wyart prédit l'observation de quatre cas en ce qui concerne ce "principe d'équivalence" pour une chaîne réelle de N monomères ancrée [23]: la "boule", la "trompette", la "fleur et sa tige", et le "bâton" (voir figure 2.2). Une chaîne non-déformée s'assimile à une sphère (ou une "boule") et s'observe lorsque $v_{el} < v_0$ où $v_0 = k_bT/\xi R_g$ et $\xi \sim \eta R_g$ (figure 2.2 a)). Puis lorsque $v_0 < v_{el} < v_1$ où $v_1 = N^{1/5}v_0$, c'est à la forme d'une "trompette" que nous rappelle celle de la chaîne (figure 2.2 b)). Ensuite, la ressemblance est plus près de celle d'une "fleur et sa tige" pour $v_1 < v_{el} < v_2$ où $v_2 = Nv_1$ (figure 2.2 c)). Et enfin, la chaîne s'étire de tout son long pour

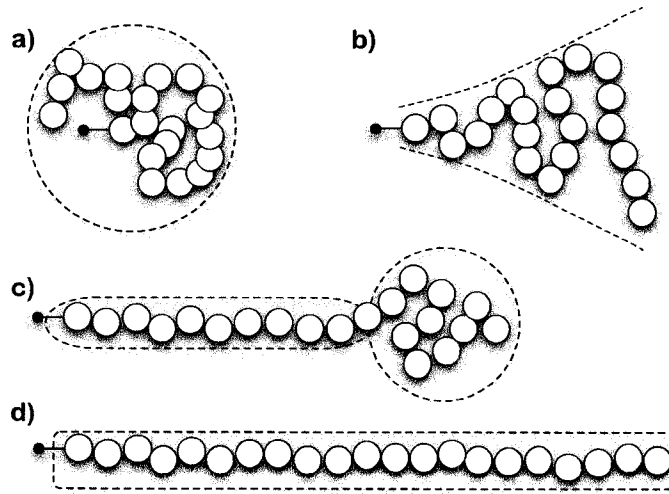


FIGURE 2.2 Chaîne chargée ancrée sujette à diverses forces: a) une “boule” pour $v_{el} < v_0$ où $v_0 = k_b T / \xi R_g$; b) une “trompette” pour $v_0 < v_{el} < v_1$ où $v_1 = N^{1/5} v_0$; c) une “fleur et sa tige” $v_1 < v_{el} < v_2$ où $v_2 = N v_1$; d) un “bâton” pour $v_{el} > v_2$.

$v_{el} > v_2$ d’où le nom de “bâton” (figure 2.2 d)). Ces diverses conformations ont été observées dans le cadre de la recherche présentée dans le premier article. Cependant, le vrai défi dans l’étude de chaînes ancrées sous l’action d’un champ électrique est celui de définir le coefficient de friction hydrodynamique de toutes ces conformations afin de vérifier directement l’équation 2.20. Je vous invite à lire le chapitre suivant pour voir comment cela fut accompli.

Puisque j’ai situé cette thèse dans le contexte large du développement de l’ELFSE, je vous dois une explication de la physique derrière le phénomène. Tâchez de visualiser une molécule neutre ($\mu_n = 0$ et ξ_n) attachée à l’extrémité d’un polyélectrolyte tel l’ADN (μ_c et ξ_c) et le tout sous électrophorèse à vitesse V . Le parachute moléculaire tire sur le polyélectrolyte avec une force mécanique de grandeur F qui tire en retour à force égale. En assumant qu’on peut linéariser les EEH et en négligeant les interactions hydrodynamiques entre le parachute et le polyélectrolyte, l’équation 2.19 devient pour chacun des éléments de la paire:

$$F - \xi_c (V - \mu_c E) = 0, \quad (2.21)$$

$$-F - \xi_n V = 0. \quad (2.22)$$

En additionnant les deux équations ci-haut et en substituant V pour $\mu_{tot} E$ on obtient une expres-

sion pour la mobilité électrophorétique de l'objet composé μ_{tot} :

$$\mu_{\text{tot}} = \mu_c \frac{\xi_c}{\xi_c + \xi_n}. \quad (2.23)$$

Pour un parachute de coefficient de friction ξ_n donné, la mobilité totale μ_{tot} croît avec le coefficient de friction hydrodynamique des chaînes chargées ξ_c et donc avec la taille de celles-ci ($\xi_c \propto R_H$). L'équation 2.23 démontre que l'usage de l'ELFSE permet en théorie d'en arriver à la séparation moléculaire selon la taille et donc au séquençage de l'ADN [11]. Note d'intérêt général, si l'on fixe la taille du polyélectrolyte, l'équation 2.23 indique la possibilité de séparer des molécules neutres de diverses longueurs d'où l'origine de la technique complémentaire à l'ELFSE, l'Électrophorèse Conjuguée en Solution-Libre (*Free-Solution Conjugate Electrophoresis* FSCE) [24].

2.3.2 Action d'une force mécanique transverse au mouvement du polyélectrolyte

Qu'arrive-t-il lorsqu'une force mécanique est appliquée au polyélectrolyte dans une direction transverse à son déplacement sous l'action d'un champ électrique ? C'est en quelque sorte le problème complémentaire à celui présenté dans la précédente sous-section. Cependant, contrairement au problème étudié par Long *et al.*, la force mécanique (radiale) agit simultanément sur tous les monomères qui composent la chaîne. La situation est analogue à un confinement radial artificiel. On observe alors le polymère se déformer et s'orienter dans la direction de son déplacement. Deux questions viennent à l'esprit: pouvons-nous parler d'écoulement libre (*free-draining*) et qu'en est-il de la mobilité électrophorétique du polyélectrolyte ? C'est à quoi le second article, écrit en collaboration avec Eric C.J. Oliver et Gary W. Slater, tâche de trouver réponse. L'étude de ce phénomène, à notre connaissance la première, ajoute à la compréhension des concepts théoriques fondamentaux reliés à l'électrophorèse d'un polyélectrolyte en solution libre. Je vous invite à lire le chapitre 4 pour de plus amples détails.

2.4 Simulations par dynamique moléculaire

On sépare fréquemment la science, en particulier la physique, en deux champs: l'expérience et la théorie. L'un n'existe pas sans l'autre. Sans le théoricien, l'expérimentateur en viendrait à manquer d'idées et sans l'expérimentateur, le théoricien ne pourrait confirmer les siennes ! Depuis Galilée jusqu'au milieu du 20^{ème} siècle c'est ainsi que cela fonctionnait. Mais voilà que dans les années

1950 est arrivée un nouvel outil dans l'arsenal du scientifique: l'ordinateur. On a alors vu apparaître "l'expérimentateur virtuel", à cheval entre la théorie et l'expérience. Plusieurs propositions théoriques ne peuvent être aisément vérifiées par l'expérience, et certains résultats expérimentaux sont difficilement expliqués par la théorie. La modélisation de phénomènes sur ordinateur permet, dans bien des cas, de pallier à ces difficultés. La simulation par dynamique moléculaire (DM) dont il est question dans cette section n'est donc qu'une technique de modélisation parmi tant d'autres qui permet de faire avancer la science.

On peut définir une simulation par DM comme une expérience virtuelle. Le physicien prend quelques billes qui représentent des atomes, des molécules, voir même des regroupements de molécules, leur impose des potentiels d'interactions et des forces externes, positionne ces billes dans un environnement où elles évolueront, leur donne une poussée initiale, puis observe ce qui arrive [25]. Rien de bien compliqué en apparence. Mais c'est que le système est souvent immense, plusieurs milliers voire millions de billes, et que le tout s'exécute dans un univers virtuel. Mathématiquement, il s'agit d'intégrer numériquement, sur de petits intervalles de temps δt , les équations du mouvement telles que données par la mécanique classique. Pour un système de n particules de masses $\{m_i\}$, de coordonnées $\{\mathbf{r}_i\}$, et quantités de mouvement $\{\mathbf{p}_i\}$, ces équations sont:

$$\frac{\partial \mathbf{r}_i}{\partial t} = \frac{\mathbf{p}_i}{m_i}, \quad (2.24)$$

$$\frac{\partial \mathbf{p}_i}{\partial t} = \mathbf{F}_i + \mathbf{F}_{i,\text{ext}} = -\nabla_i U(\mathbf{r}_i) + \mathbf{F}_{i,\text{ext}}, \quad (2.25)$$

où les \mathbf{F}_i et $\mathbf{F}_{i,\text{ext}}$ sont les forces internes et externes qui agissent sur la particule i , et $U(\mathbf{r}_i)$ est l'énergie potentielle totale du système. Si on travaille en trois dimensions, on se retrouve avec $6n$ équations à résoudre simultanément. À la main, la tâche est pratiquement impossible au-delà de quelques particules seulement, mais l'ordinateur lui ne bronchera pas. En fait, ce dernier n'est limité que par sa puissance de calcul et sa mémoire vive. Si en 1950 le nombre de particules n plafonnait autour de la centaine, aujourd'hui on parle déjà de milliards ! Une fois obtenues les coordonnées $\{\mathbf{r}_i\}$ et quantités de mouvement $\{\mathbf{p}_i\}$ des particules pour quelques intervalles δt on peut en extraire des propriétés dynamiques du système, fonctions du temps, et, d'équilibre, moyennes dans le temps.

2.4.1 Les particularités de la méthode utilisée

La simulation par dynamique moléculaire est l'outil principal utilisé dans les études dont les résultats sont présentés dans les chapitres 3 et 4. Il est donc nécessaire de décrire les particularités de la méthode utilisée. Je crois important de donner crédit à Frédéric Tessier, membre du groupe de Slater, pour le développement du programme de DM utilisé.

Les systèmes simulés comportent tous un fluide, des ions, des polyélectrolytes et des murs. Toutes les molécules, voire même groupes de molécules, sont grossièrement représentées à l'aide de billes, les détails atomiques n'ayant que très peu d'impact sur les phénomènes étudiés. Toutes les billes peuvent entrer en collision entre elles et le potentiel de choix pour décrire une telle interaction est celui de Lennard-Jones:

$$U_{LJ}(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right], \quad (2.26)$$

où r est la distance entre les centres de masse de la paire de particules concernés, ϵ est la profondeur du puits de potentiel et l'unité fondamentale de l'énergie en DM, et σ est la distance où le potentiel est égal à zéro et l'unité fondamentale de la distance en DM. Pour $r > \sigma$ le potentiel est exclusivement attractif et le terme en r^{-6} vient à dominer, alors que pour $r < \sigma$, le potentiel est répulsif avec la dépendance en r^{-12} qui prend le dessus. Le potentiel de Lennard-Jones en est un de longue portée mais qui tombe rapidement vers zéro. On peut donc diminuer le nombre de calculs à effectuer en tronquant l'étendue du potentiel ce qui n'affecte en rien les résultats de la simulation lorsqu'on prend certaines précautions.

Les ions et les polyélectrolytes étant chargés, ils sont aussi sujets à des interactions électrostatiques. En DM, le traitement de ces dernières est loin d'être évident puisque ce sont des interactions à longue portée. D'ailleurs, dans un environnement périodique en trois dimensions (fréquemment rencontré en DM), il faut tenir compte non seulement du système local mais aussi de ses images périodiques. Les interactions de Coulomb étant proportionnelles à r^{-2} , on découvre qu'en trois dimensions le nombre de calculs qu'elles entraînent croît comme N_c^2 où N_c ici est le nombre de particules chargées. Plusieurs algorithmes ont été développés pour traiter l'électrostatique, généralement basés sur les sommes de Ewald [26] qui sont gourmandes en ressources. Au mieux, on a diminué le nombre de calculs à $N_c \log N_c$ [26]. Cependant, les phénomènes ici simulés se déroulent tous dans un capillaire, un environnement périodique dans une seule dimension. Frédéric Tessier, lui aussi intéressé aux phénomènes dans un capillaire, a donc décidé d'utiliser

une technique beaucoup plus simple [27][28]: on contraint l'évaluation du potentiel électrostatique à l'aide d'une borne supérieure, une distance critique (r_c) établie empiriquement. En DM il est utile d'écrire ce potentiel de Coulomb dans une forme sans unité:

$$\frac{U_C(r_{ij})}{k_b T} = \begin{cases} \lambda_B \frac{q_i q_j}{r_{ij}} & r_{ij} \leq r_c \\ \infty & r_{ij} > r_c \end{cases}, \quad (2.27)$$

où r_{ij} est la distance séparant une paire de particules de charges q_i et q_j , ici sans unité, et où $\lambda_B = e^2/4\pi\epsilon k_b T$ est la longueur de Bjerrum définie comme étant la distance où la valeur du potentiel électrostatique entre les deux charges équivaut l'énergie thermique moyenne. Le potentiel fut testé et déclaré adéquat [28]. Seul bémol, afin d'éliminer l'effet des images périodiques il faut que la longueur du capillaire soit environ trois fois le rayon limite.

Les polyélectrolytes sont modélisés tels qu'illustré dans la figure 2.1 *b*). Les billes qui le composent interagissent par paires selon un potentiel anharmonique qui agit un peu comme un ressort de constante k dont l'extension est limitée à r_0 . En anglais on le connaît sous le nom de *Finitely Extensible Nonlinear Elastic potential* dont j'utiliserai l'acronyme FENE:

$$U_{\text{FENE}}(r) = \begin{cases} -\frac{1}{2}kr_0^2 \ln [1 - (r/r_0)^2] & r \leq r_0 \\ \infty & r > r_0 \end{cases}. \quad (2.28)$$

On applique fréquemment un champ électrique E au système afin de reproduire des conditions similaires à l'électrophorèse. On obtient, pour chaque bille de charge q , une force électrique externe égale à qE . Tout autre force externe vous sera introduite en temps et lieu.

Une fois les interactions et les forces définies, il s'agit d'intégrer les équations 2.24 et 2.25 en utilisant l'algorithme *Velocity-Verlet* (VV), dont voici le pseudo-code:

$$\mathbf{r}_i \leftarrow \mathbf{r}_i + \mathbf{v}_i \delta t + \mathbf{a}_i \delta t^2 / 2, \quad (2.29)$$

$$\mathbf{v}_i \leftarrow \mathbf{v}_i + \mathbf{a}_i \delta t / 2, \quad (2.30)$$

$$\mathbf{a}_i \leftarrow -\nabla_i U(\mathbf{r}_i) / m_i + \mathbf{F}_{i,\text{ext}} / m_i, \quad (2.31)$$

$$\mathbf{v}_i \leftarrow \mathbf{v}_i + \mathbf{a}_i \delta t / 2, \quad (2.32)$$

où les $\{\mathbf{r}_i\}$ sont les positions, $\{\mathbf{v}_i\}$, les vitesses, et $\{\mathbf{a}_i\}$, les accélérations. Les avantages que présente l'usage du VV sont la stabilité et la simplicité qui en font le favori en DM.

Dans une DM les particules sont en mouvement et donc le système considéré est à une certaine température T . Sans entrer dans les détails thermodynamiques, il est tout de même important de spécifier que les simulations furent toutes exécutées à température constante. C'est un contexte physiquement favorable et de plus, il est nécessaire d'évacuer l'énergie additionnelle introduite dans le système par l'action de forces externes afin d'empêcher le tout de s'emballer. On ajuste donc la température à l'aide d'un thermostat qui remplace l'usage d'un réservoir explicite. Plusieurs de ces thermostats ont été développés et le sujet est encore chaud ! Celui utilisé dans le cas présent a été introduit dans le cadre d'un autre modèle de simulation, la dynamique dissipative des particules (DPD, l'acronyme anglais) [29] mais s'applique très bien à une DM avec forces externes. L'auteur du code utilisé a choisi ce thermostat puisque qu'il est de bonne qualité et s'insère facilement dans un code de DM existant.

Tethered Polyelectrolytes under the Action of an Electrical Field: A Molecular Dynamics Study

M Bertrand, GW Slater. *European Physics Journal E*, (2007)

Tethered Polyelectrolytes under the Action of an Electrical Field: A Molecular Dynamics Study

Martin Bertrand and Gary W. Slater

Department of Physics, University of Ottawa, Ottawa, Ontario K1N 6N5, Canada

(Dated: May 4, 2007)

For a polyelectrolyte undergoing electrophoretic motion, it is predicted (D.Long, J. L. Viovy, A. Ajdari, Phys. Rev. Lett., 1996, 76:3858, and D. Long, A. Ajdari, Electrophoresis 1996, 17:1161) that the mechanical force necessary to stall the molecule is substantially smaller than the sum of electrical forces applied on all monomers. In fact, it should be proportional to its hydrodynamic friction coefficient and therefore to the size of its conformation. In our work we examine this prediction using coarse grained Molecular Dynamics simulations in which we explicitly include the polymer, the solvent, the counterions and salt. The electrophoretic mobility of polyelectrolytes is evaluated, the mechanical force necessary to keep the molecules tethered is measured and the resulting anisotropic polymer conformations are observed and quantified. Our results corroborate Long et al. prediction.

I. INTRODUCTION

The theory developed for the electrophoresis of composite polyelectrolytes in free solution relies in part on the theoretical work of Long et al. [1][2][3]. In particular, Slater and co-workers have used the basic elements of this theoretical framework to explain experimental data related to both End-Labeled Free Solution Electrophoresis (ELFSE) [4][5] and Free Solution Conjugate Electrophoresis (FSCE) [6]. Although models and ideas born from the original Long et al. papers seem to hold when confronted with the experimental reality, there is no abundance of direct proof for what has been proposed. Ferree and Blanch did conduct a most interesting study of tethered DNA under the action of an electrical field detailed in [7] in which they corroborate the results of [2], but they also provide support for the model suggested by Stigter and Bustamante in [8] which concludes that what Long et al. [2] proposes is only valid in exceptional cases. More recently, a study by Randall and Doyle [9] nicely applied the equivalence principle resulting from [2] to DNA deformation in electrical fields while it is driven past a cylindrical obstruction. We have chosen to use extensive coarse-grained Molecular Dynamics simulations to verify one of the most surprising consequences of the work done by Long, Viovy and Ajdari and to provide a better understanding of the phenomena involved.

We thus investigate the following question: what force does one need to apply at the end of a polyelectrolyte (in a salt solution) to stall its electrophoretic motion under an electrical field E ? Additionally, we will look at the effect of polymer deformation on this force, and vice versa. The intuitive answer to this question is that the stall force required, F_{stall} , must be equal to the total electrical force applied to the polyelectrolyte, $F_E = Q_{\text{tot}}E$ (total charge Q_{tot} times the intensity of the electrical field). This implies that the stall force should not change if the polymer conformation is deformed by the electric forces. But contrary to this simple hypothesis, Long, Viovy and Ajdari

showed that the “stall force” should actually be proportional to the molecule’s hydrodynamic friction coefficient ξ_c , where c stands for the polymer’s “conformation” or shape (coiled, stretched or in-between). Indeed, according to these authors the stall force should be given by:

$$F_{\text{stall}} = \xi_c \times \mu_o E, \quad (1)$$

where μ_o is the polyelectrolyte’s free solution electrophoretic mobility. In other words, it is the same force one would observe should we turn off the electrical field and give the fluid a velocity $v = \mu_o E$. In subsequent sections, this will be referred to as the “equivalence principle”. Since $v \neq Q_{\text{tot}}E/\xi_c$ in the case of electrophoresis of a free-draining polyelectrolyte [3], the predicted stall force can be much smaller than the expected value $Q_{\text{tot}}E$, a rather surprising result. One should note that it is this equivalence principle that was investigated by both Ferree et al. [7], and Stigter et al. [8], corroborated by the first, partly rejected by the second. This will be further discussed later.

The goal of this article is thus to examine this fundamental prediction using detailed computer simulations that include the proper hydrodynamic interactions. The second section of our paper presents the theory leading to equation 1, the third gives a brief description of the methodology related to our Molecular Dynamics study, and the fourth follows with a presentation and discussion of the results obtained.

II. THEORY BEHIND THE STALL FORCE

A. A simple object: the charged sphere

Consider a uniformly charged sphere of radius R and surface charge density σ undergoing electrophoretic motion at low field E in a salt solution. We assume its radius to be much larger than the Debye length λ_D of the buffer solution and the charge density σ to be small enough so

that the electrophoretic mobility of the sphere is given by the Smoluchowski formula $\mu_o = \sigma \lambda_D / \eta$, where η is the viscosity of the solution. [1]

Let us assume the sphere is moving at a velocity V under the action of both the field E and an external force F . We assume E to be weak enough so that the coupled equations of electro-hydrodynamics can be linearized. Then, the flow pattern around the sphere, including the effect of the counter-ions, is given by superimposing two flows: f_1 , the electrophoretic flow observed should the sphere be moving at free velocity $\mu_o E$, and f_2 , should it be moving at velocity $V - \mu_o E$ in absence of an electric field, under the action of F alone. In the case of f_1 , by definition of the electrophoretic mobility, the total force the sphere experiences is zero (there is no acceleration). In the case of f_2 , the sphere has to feel a drag force equal to $\xi_{sph} \times (V - \mu_o E)$ where $\xi_{sph} = 6\pi\eta R$ is its hydrodynamic friction coefficient. Since the sphere is moving at constant velocity, we end up with the following force balance equation:

$$F - \xi_{sph} \times (V - \mu_o E) = 0. \quad (2)$$

If we wish the sphere's motion to be stalled ($V = 0$), it follows from the above that we have to provide a force $F_{stall} = \xi_{sph} \times \mu_o E$, giving the sphere equivalent of equation 1.

B. From a sphere to a polyelectrolyte

Electrophoresis is the most important laboratory method used to separate biomacromolecules such as DNA and proteins (for instance, electrophoresis made it possible to sequence the entire Human Genome [10]). In order to understand free electrophoresis, one needs to predict the behavior of charged polymers moving in a buffer solution under the action of an external electric field. DNA is a highly charged polyelectrolyte; in the absence of an electric field, such molecules are not free-draining and thus follow Zimm dynamics [11]. In particular, they are equivalent to solid spheres when in equilibrium non-electrophoretic conditions since they then take random coil conformations that are "impermeable" to the surrounding fluid. Unlike a solid sphere, however, they can deform under strong flow conditions (e.g., the flow f_2 mentioned before), especially if they are tethered to a fixed point in space. Therefore, the hydrodynamic friction coefficient ξ_c of a polyelectrolyte, consisting of N monomers, is conformation-dependent. Equation 2 thus becomes, for a polyelectrolyte:

$$F - \xi_c \times (V - \mu_o E) = 0. \quad (3)$$

If the polymer is tethered ($V = 0$), the above expression is reduced to the result that we wish to verify, equation 1. Equation 3 requires that we address another theoretical element before moving on to the Molecular Dynamics

study, the conformation dependence value of the hydrodynamic friction coefficient ξ_c of a polymer chain.

C. Conformations of a polyelectrolyte

To stay with the analogy of a solid sphere, a change of conformation for a polyelectrolyte in salt solution can be seen as the equivalent of a change of radius for a sphere. In fact, polymers in solution are characterized by their hydrodynamic radius R_H which, by definition, is the radius of a sphere with the same hydrodynamic behavior. Brochard-Wyart describes in [12] possible conformations for a tethered polymer in a constant flow v : the random coil, the "trumpet", the "stem and flower", and "the stick". Assuming the equivalency principle, one can expect a tethered polyelectrolyte undergoing electrophoresis to adopt these same conformations. As usual, its hydrodynamic friction coefficient is given by:

$$\xi = 6\pi\eta R_H. \quad (4)$$

Brochard-Wyart's theory provides bounding flow velocities for the diverse regimes. In a random coil, no deformation is really possible until the hydrodynamic friction force on the polymer ($\xi \times v$) is of the order of the entropic force ($\sim kT/R_H$). Assuming the equivalence principle, we therefore define the upper bound for the coil regime:

$$E < E_0 = \frac{kT}{\mu_o \xi_0 R_{H0}}, \quad (5)$$

where ξ_0 and R_{H0} are respectively the equilibrium hydrodynamic friction coefficient and radius of the coil. In this conformation, equation 4 can be used as is, since the coil is an isotropic shape allowing for a direct calculation of R_{H0} [11]:

$$R_{H0}^{-1} = \left\langle \frac{1}{r_{ij}} \right\rangle_0, \quad (6)$$

for i 's and j 's running over all monomers ($i \neq j$). However, as soon as the polyelectrolyte adopts an anisotropic conformation, deformed by the electric field ($E > E_0$), it is no longer possible to analytically extract the relevant (direction-dependent) value of R_H .

If the polyelectrolyte is almost fully stretched in the direction of the flow (high E), the difficulty can be bypassed because we know it behaves much like a stick oriented in the field direction with a friction coefficient given by [13]:

$$\xi_s \cong 2\pi\eta L, \quad (7)$$

where L is the length of the stick, in our case the full length L_x of the polyelectrolyte in the direction of the applied field.

If the polyelectrolyte is in between the coil and the stick conformations, it will be in the trumpet regime for field values in the interval $E_0 < E < E_1$, where [12]:

$$E_1 \cong N^{1/5} E_0. \quad (8)$$

Then it will transition to the stem and flower regime which covers the field interval $E_1 < E < E_2$, where [12]:

$$E_2 \cong N E_1. \quad (9)$$

However, there is no satisfactory model to define the friction coefficient for these two regimes. We thus propose to use another measure of the overall shape of the polymer: the radius of gyration R_g , which follows the shape of the polymer better than R_H . Scaling it to match low field values of R_H (in the coil regime) we get:

$$R_{\text{eff}} = \frac{R_{H0}}{R_{g0}} R_g, \quad (10)$$

where R_{g0} is the gyration radius of the undeformed polyelectrolyte (i.e. the coil). R_{eff} is thus an effective radius that, when replacing R_H in equation 4, defines an approximation to the hydrodynamic friction coefficient ξ over all values of the electric field E .

III. MOLECULAR DYNAMICS STUDY

A. The method

MD simulations were performed using the method previously used by Tessier et al. [14][15]. In our case, we have built a coarse grained system that consists of a linear polymer of N negatively charged beads held together with FENE interactions, tethered at one end by an harmonic potential to allow direct measurement of the stall force, and placed at the center of a wide capillary along which the field E is applied (see figure 1). The capillary, itself made of fixed neutral beads, also contains explicit solvent, monovalent salt (at density ρ_s), and N positively charged counterion beads (the entire system is thus neutral). The particles evolve in this virtual universe all being subject to repulsive Lennard-Jones interactions, with those having a charge being subject to additional forces provided by both the external electrical field and Coulomb interactions. The capillary environment was chosen because of its similarity to real life experiment settings, because it eliminates hydrodynamic images, and because it allows for the use of a cutoff radius in the implementation of the Coulomb interactions [14]. All numerical values are in MD units, σ being the unit of length (LJ range), ϵ , of energy (LJ energy), and m , of mass. Thus time has units of $\sqrt{m\sigma^2/\epsilon}$, density, $m\sigma^{-3}$ and viscosity, $\sqrt{m\epsilon}\sigma^{-2}$.

A series of simulations were executed for a wide range of parameters in order to perform an accurate study of

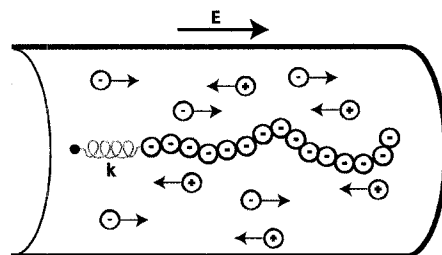


FIG. 1: Tethered polymer subjected to an electrical field, surrounded by ions, in a neutral capillary (here depicted as a single line boundary).

the system at the center of our discussion. Thus, tethered polyelectrolytes of various lengths ($N = \{15, 20, 25\}$) subject to electrical fields in the interval $E = [0, 5.2]$, in MD units, were simulated in a salt solution with a solvent density of $\rho = 0.7$ and a salt density of $\rho_s = 0.02$ at a constant temperature $k_b T = 1$. Such a choice of ρ and $k_b T$ minimizes the number of particles while retaining liquid properties, as for ρ_s , it is close to experimental ionic strengths of 0.1M. The viscosity of the fluid η is approximately 1.25 ± 0.04 as obtained by Meier et al. in [16] for a MD simulation of a fluid with the same density and temperature. The radius of the capillary in which these simulations took place was determined by running test cases, observing the tethered polyelectrolytes' behavior at very low electrical fields and requiring random coil conformations with an asymmetric ratio Ar (axial to radial radii of gyration) around unity ($Ar = R_{gx}/R_{gr} \cong 1$). The diameter values used were $\{23.81, 23.81, 30.16\}$ for $N = \{15, 20, 25\}$ respectively. The tube length was set at around three times the electrostatic interaction cutoff radius following an approximate rule established in [15]. Thus if the cutoff radius is 40, a chosen length of 127 is acceptable.

B. Electrophoretic mobility of the polyelectrolytes

In all subsequent discussions it will be necessary to know the value of the free mobility μ_0 of our polyelectrolytes. Assuming mobility to be field independent [1][2], one can easily extract it from the slope of a plot of the center-of-mass velocity of the polyelectrolyte as a function of the field ($v_{CM} = \mu_0 E$). Simulations of a polyelectrolyte freely traveling inside a capillary under the action of an electrical field were carried out for a range of values of E for all three chain lengths studied. Figure 2 does not show the expected linearity for fields above the approximate threshold of $E = 0.6$. We give here an explanation much similar to the one offered by Kang et al. in [17]. We think the deviation is due to shear stretching of the polymers near the capillary wall. That is, as

the polymer travels along the capillary under the action of the electrical field, it also diffuses radially, sometimes getting close to the wall, where the viscosity of the fluid is greater than in the center due to the solvent's interaction with the wall. The polymer is thus exposed to a gradient of viscosity which induces shear and stretching of the object. The greater the electrical field, the greater the stretching. At low fields, as the molecule diffuses back towards the middle of the capillary, it quickly collapses back to a more isotropic shape resulting in an average ratio of asymmetry close to unity, whereas at higher fields, the polymer stays stretched for longer periods as it diffuses back towards the center (data not shown) leading to an average ellipsoidal shape with a ratio of asymmetry greater than unity (see inset of figure 2). Now, it is known that the electrophoretic mobility of a charged ellipsoid is larger when it travels along the direction of its greater axis [8]. This explains the nonlinear increase of the polymer's velocity versus the electrical field observed passed an approximate threshold of $E = 0.6$ on figure 2. Therefore, only the portion below $E = 0.6$ on figure 2 has been fitted to find the free mobility $\mu_0 = 0.11 \pm 0.01$.

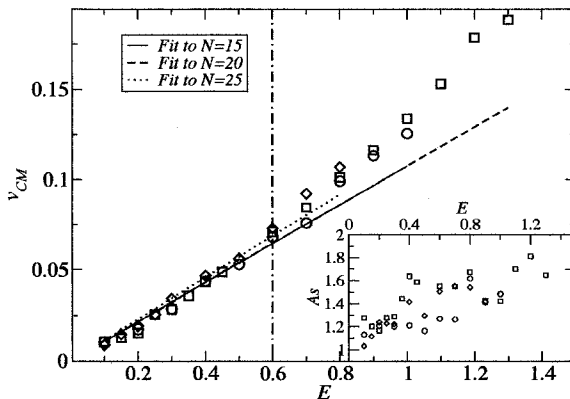


FIG. 2: Velocity v_{CM} of a freely moving polyelectrolyte under the action of an electrical field E ((\circ) $N = 15$, (\square) $N = 20$, (\diamond) $N = 25$). The inset shows how the corresponding asymmetry ratio $Ar = R_{gz}/R_{gr}$ varies with E .

C. Polyelectrolytes' behavior and conformations

Let us start our analysis by first looking at the evolution of the tethered polyelectrolytes' conformation with increasing electrical field. The theoretical values of E limiting the different regimes can be calculated using values of R_{H0} and μ_0 extracted from simulations (see Table I).

We can first take a direct look at the polyelectrolyte shape for chosen values of E within the respective intervals specified in Table I and see if the conformation

TABLE I: Critical fields for the different regimes with $\eta = 1.25 \pm 0.04$ and $\mu_0 = 0.11 \pm 0.01$ calculated using equations 5, 8, and 9

| | R_{H0} | E_0 | E_1 | E_2 |
|----------|----------|-------------------|-------------------|---------------|
| $N = 15$ | 2.29 | 0.074 ± 0.007 | 0.13 ± 0.01 | 1.9 ± 0.2 |
| $N = 20$ | 2.63 | 0.055 ± 0.005 | 0.10 ± 0.01 | 2.0 ± 0.2 |
| $N = 25$ | 2.97 | 0.044 ± 0.004 | 0.084 ± 0.008 | 2.1 ± 0.2 |

matches. Figure 3 shows monomer density plots of the system at different field strengths corresponding to the four regimes identified. In spite of the small size of our chains, the simulations qualitatively reproduce the expected behavior of a tethered polyelectrolyte in a salt solution under the action of an electrical field should the equivalence principle hold.

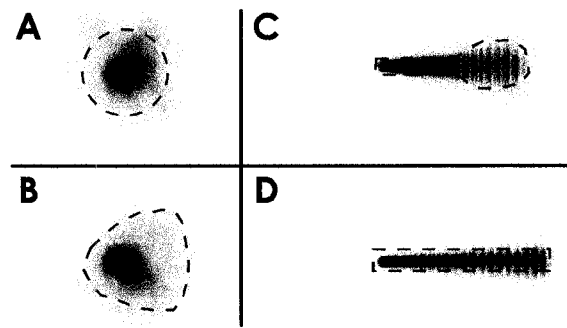


FIG. 3: Conformations of the $N = 20$ polyelectrolyte: A) coil ($E = 0.01$), B) trumpet ($E = 0.07$), C) stem and flower ($E = 1.00$), D) stick ($E = 4.00$).

As for whether or not we can quantitatively describe this change of conformation with increasing field, no theoretical model properly applies. Brochard-Wyart's article [12] only provides a scaling argument, thus preventing an accurate fit to our data and a direct verification of the equivalence principle. The only model that describes a tethered polyelectrolyte under the action of an electrical field with numerical significance is the one developed by Stigter and Bustamante [8]. We thus coded their algorithm as detailed in their article, but since they use SI units and we, MD units, to compare their model to our data, we had to establish the approximate number of Kuhn lengths simulated and the ionic strength equivalent to a MD salt density ρ_s of 0.02. The average Kuhn length b_k of our polyelectrolytes was estimated following the theory for semirigid chains. It states that the correlation between $\mathbf{u}(s)$ and $\mathbf{u}(s')$, the tangential unit vectors of two segments at s and s' along the polymers backbone, decreases exponentially to zero as the curvilinear distance between the segments grows [11]:

$$\langle \mathbf{u}(s) \cdot \mathbf{u}(s') \rangle = \exp(-|s - s'|/L_p), \quad (11)$$

where $L_p = b_k/2$ is the persistence length. For the three polymer lengths, when tethered with no electrical field applied, we found $b_k \cong \{3.0, 2.3, 2.7\}$, for $N = \{15, 20, 25\}$ respectively, which gives an average Kuhn length $b_k = 2.7 \pm 0.2$. We divided the contour lengths $L_c = \{13.6, 18.4, 23.3\}$ of our undeformed polymers by this value to find that they were respectively composed of approximately 5, 7, and 9 Kuhn lengths (these numbers are rounded). As for the salt concentration, an ionic strength of 0.1M was found to be close to a density ρ_s of 0.02. All other parameters in the algorithm were given values representative of experimental conditions as detailed in [8]. Critical field values E_0, E_1 , and E_2 were calculated using the expressions introduced in the previous section.

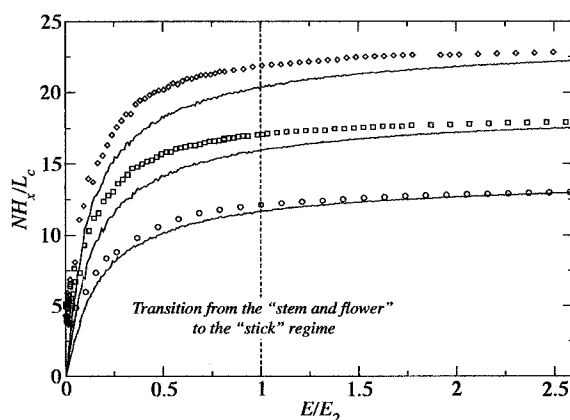


FIG. 4: Scaled extension NH_x/L_c versus scaled field E/E_2 for both our simulation data ((\circ) $N = 15$, (\square) $N = 20$, (\diamond) $N = 25$) and the Stigter et al. model [8] (solid curves)

Figure 4 shows a comparison of our simulation data with those generated by the Stigter and Bustamante algorithm. The y axis represents the reduced end-to-end distance in the x direction H_x/L_c for both models, multiplied by $N = 15, 20, 25$ in both cases respectively to visually separate the set of curves. We observe that the algorithm doesn't provide a perfect fit to our measurements, but one needs to consider the following: first, we're trying to match SI units with MD units which has its inherent difficulties; second, the critical field value E_2 was extracted from a theory for tethered polymers subject to strong flow which would work perfectly if the "equivalence principle" was exact and not approximate as we will see later; third, the Stigter et al. theoretical model contains a number of assumptions that may introduce some deviations from reality (e.g. they neglect excluded volume effects); and fourth but none the

less, a coarse grained molecular dynamics simulation does not, by definition, reproduce reality in all its complexity. Considering all of this, figure 4 shows decent qualitative agreement between our data and the Stigter et al. model thus adding weight to both their and our work.

D. The Stall Force

Now that the simulated polyelectrolytes have been shown to behave adequately, we can tackle the question at the very center of this article: can we predict the stall force using the equivalence principle as suggested by Long, Viovy, and Ajdari? The concept of approximation here is of major importance since these authors make it clear that their theory is not exact and comprises many assumptions [2].

Let us then see how well their theory can estimate trends in our data concerning the stall force. We first remind the reader that to measure this counter force, we tether the polyelectrolyte to a fix point in the middle of our capillary using a harmonic spring of constant k . We then monitor the stretching of this spring in the x direction of the field E to get:

$$F_{\text{stall}} = k\Delta x. \quad (12)$$

This expression should equate with the first one introduced in this article (eq. 1) where the stall force is said to be proportional to the friction coefficient ξ_c , the free mobility μ_0 , and the electrical field E . Assuming the free mobility of a free-draining polyelectrolyte to be size and conformation independent, an assumption made by Long, Viovy and Ajdari, one can in principle extract the friction coefficient from equations 1 and 12. However, it would be difficult to obtain valuable information from the lowest field values in the coil regime. On the other hand, we know that the friction coefficient should be given by equation 7 when the polymer is stretched by the field ($E > E_2$). From equations 1 and 7 we then get $F_{\text{stall}}/EL_x = 2\pi\eta\mu_0$ and plots of F_{stall}/EL_x versus E corresponding to the three lengths studied should collapse onto one another at high field. The predicted value for this merging of curves is $2\pi\eta\mu_0 = 0.86 \pm 0.08$. Figure 5 clearly shows that all three curves fall within this range, and although there is no collapse onto a single line, this is a qualitative proof that what Long, Ajdari and Viovy proposed is indeed a good approximation in the high-field regime.

The inset plot shows the evolution of the contour length L_c of the polymer with increasing field. One should note a rise of L_c , especially apparent after the transition to the stretched regime ($E/E_2 > 1$). This is due to the elasticity of the FENE potential linking the beads of the polymer together. As it is deformed and stretched, parts of it align with the field adding stress to the bonds in these locations, stress that is augmented by the presence of negative charges on contiguous beads

leading to an increase in the average bond length. This effect was taken into account to draw figure 4 but it becomes difficult to integrate it in the theory that relates to the stall force. In fact, it is clearly stated in [2] that the equivalence principle correctly applies only for rigid colloids. This stretching effect probably contributes to the discrepancy in the main part of figure 5.

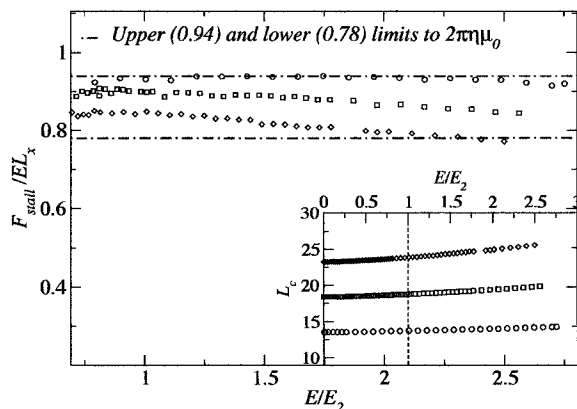


FIG. 5: Verification of Long et al. prediction for the stall force F_{stall} at high field values ($E > E_2$) ((\circ) $N = 15$, (\square) $N = 20$, (\diamond) $N = 25$). The inset plot shows how the contour length L_c varies with the field for the three polyelectrolytes.

We can also test the equivalence principle with the help of equation 10. Following the argument we introduced in subsection II C we can test the following relation:

$$F_{\text{stall}} = \xi \mu_0 E \cong 6\pi\eta\mu_0 E R_{\text{eff}}. \quad (13)$$

Figure 6 plots F_{stall} versus ER_{eff} . Curves are indeed linear and are essentially superposed. The predicted value for the slope is $6\pi\eta\mu_0 = 2.6 \pm 0.3$ ($\eta = 1.25 \pm 0.08, \mu_0 = 0.11 \pm 0.01$). We measured the following slopes: 3.31 ± 0.02 for $N = 15$, 3.32 ± 0.01 for $N = 20$, 3.29 ± 0.02 for $N = 25$. These values are consistent with one another but do not quite match the predicted value. One could put forward many reasons for such a discrepancy, but it is not as important as the fact that the behavior of all three simulated polyelectrolytes collapse on the same linear curve, providing evidence for the assertion that $\xi \propto R_{\text{eff}}$ where R_{eff} is a measure of the polyelectrolyte's size, and that $F_{\text{stall}} \propto \xi E$. Consequently, this qualitative result fully supports the equivalence principle.

If carefully scrutinized, figure 6 shows that the data points for higher values of ER_{eff} are slightly off the linear trend, in a more pronounced way as N is incremented. Again, if we refer back to the inset of figure 5 where it is shown that the polyelectrolyte elongates, particularly after the transition to the stretched regime, we observe a noticeable deflection in the same region, i.e. to the

right of the vertical line. Because the physics of such a situation are not included in the Long et al. theory, we decided to fit the main plot in figure 6 up to the transition to the stretched regime for $N = 25$, our largest simulated polyelectrolyte; below this point L_c is reasonably constant for all cases. The curvature seen in figure 6 (for $E \gtrsim 2$ from table 1) is not due to the increase in mobility observed in figure 2 (for $E \gtrsim 0.6$) since the latter is due to the presence of walls, as discussed previously.

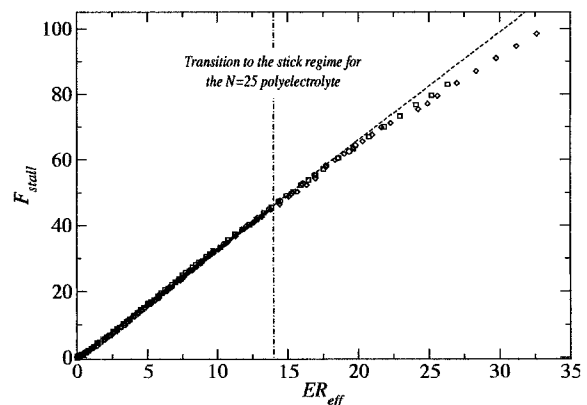


FIG. 6: Testing the linear relationship between the stall force F_{stall} and the product of the field E and R_{eff} ((\circ) $N = 15$, (\square) $N = 20$, (\diamond) $N = 25$). The relation has been fitted up to the transition to the stretched regime for $N = 25$ (denoted by the vertical line and corresponding to $E_2 = 2.1$)).

Figure 7 shows that the stall force F_{stall} is smaller than the intuitive $F_{\text{stall}} = Q_{\text{tot}}E$, an inequality that gets greater with an increasing electrical field intensity. This being confirmed, we wish to bring a small but meaningful correction to a letter published by Breisch et al. in the *Biophysical Journal* in 2005 [18]. These authors studied the strength of the biotin-streptavidin bond when attached to a DNA oligomer and they assumed the electrophoretic breaking force to be $Q_{\text{tot}} \times E_{\text{rupture}}$. In fact, because their DNA oligomers were being quite short, they behave in a rod-like fashion and the breaking force should instead be closer to $2\pi\eta L_c \times \mu_0 E_{\text{rupture}}$. This doesn't change the conclusion drawn in the article, i.e. the force they measured is still much lower than previously reported values, but we felt the correction had to be made. The method used in [18] is thus not easy to use for the reasons presented in this article.

IV. CONCLUSION

In this article, we have reported Molecular Dynamics simulation data that demonstrate that the theory proposed by Long et al. [1][2] is a good approximation to describe a tethered polyelectrolyte under the action of

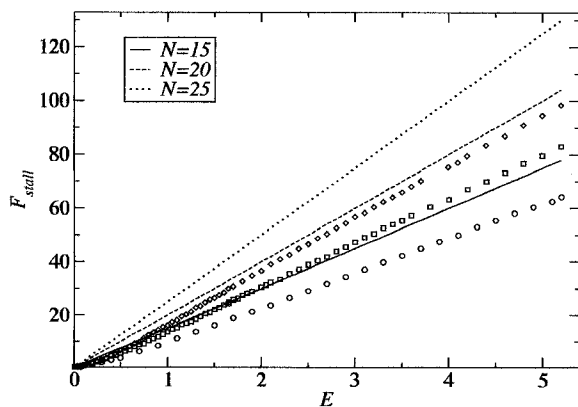


FIG. 7: Comparison of the relationship between the stall force F_{stall} and the electrical field E (\circ) $N = 15$, (\square) $N = 20$, (\diamond) $N = 25$ with the intuitive prediction that $F_{\text{stall}} = F_E = Q_{\text{tot}}E$ (the various lines).

an electrical field. This is an important result since this theoretical approach has been used previously to develop an understanding of numerous electrophoretic problems where DNA molecules are subjected to both electrical and mechanical forces. This is the first direct test of the theory of Long and co-workers.

Our tethered polyelectrolytes were found to deform in the presence of strong external electric fields. Using Brochard-Wyarts' [12] model for a tethered polymer in a constant fluid flow, and assuming that the electric forces on our tethered chains can be replaced by equivalent fluid flows (one of the key proposals of Long and co-workers), we were able to correctly estimate the critical electric fields required to reach each of the four regimes of polymer deformation. This result, while not quantitatively precise, does support the equivalence principle.

We also compared our simulation data with those produced by a numerical model developed by Stigter et al. [8]. Looking at the fractional extension of the tethered polyelectrolyte when an electrical field is applied, we observed decent agreement. The two numerical models cannot be compared with high precision due to the many assumptions in the Stigter et al. [8] model; moreover, it is not possible to use the exact same molecular sizes in both cases (we use monomers while Stigter et al. uses Kuhn segments).

The key prediction of the equivalence principle developed by Long and co-workers is that the stall force for

a tethered polyelectrolyte should increase like the product of the electric field E and the hydrodynamic friction coefficient ξ_c of the deformed polymer conformation. A naive theory would predict that the stall force should simply be given by the electric force $Q_{\text{tot}}E$. We used a rescaled value of the radius of gyration of the polymer as a measure of ξ_c since we do not have a direct way to compute ξ_c . Our key result, figure 6, clearly demonstrates that $F_{\text{stall}} \sim E \times R_g$, as predicted. The universal curve that we obtained is a clear indication that the equivalence principle applies to all polymer deformation regimes. The fact that the stall force is $F_{\text{stall}} < Q_{\text{tot}}E$ is due to the counteracting force induced by the counterions and the hydrodynamic interactions between the beads making up the polymer.

Although our simulated chains were short, snapshots of conformations and comparison to existing models have confirmed that they behave according to predictions. Longer chains, larger capillaries, and longer simulation times would certainly improve our results, but would leave the conclusions for the most part unchanged. The next logical step in this investigation will be to simulate polyelectrolytes tethered to neutral polymers in free-solution electrophoresis, as used in the experimental ELFSE and FSCE techniques [5][6]. There is one remaining open question related to equation (1): can we test the assumption that the value of μ_o is a constant independent of the polyelectrolyte conformation? A small field-dependence of this parameter could certainly have an impact, especially at high field intensity. Both of these investigations are ongoing.

Acknowledgments

The authors would like to thank Martin Kenward, Frédéric Tessier and Eric Oliver for their help with the simulations. The work was supported, in part, by a Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada Discovery Grant to GWS, an NSERC Graduate Scholarship to MB, a University of Ottawa Admission Scholarship to MB, as well as the National Institutes of Health (NIH) of the U.S.A. (Grant No. NHGRI R01 HG002918-01) and Northwestern University. The findings, opinions and recommendations expressed in this article are those of the authors and not necessarily those of Northwestern University or the NIH. We also acknowledge the use of computational resources made available through the High Performance Computing Virtual Laboratory (HPCVL) (www.hpcvl.org).

- [1] D. Long and A. Ajdari, *Electrophoresis* **17**, 1161 (1996).
- [2] D. Long, J. Viovy, and A. Ajdari, *Physical Review Letters* **76**, 3858 (1996).
- [3] D. Long, A. Dobrynin, M. Rubinstein, and A. Ajdari,

The *Journal of Chemical Physics* **108**, 1234 (1998).

- [4] C. Desruisseaux, D. Long, G. Drouin, and G. Slater, *Macromolecules* **34**, 44 (2001).
- [5] C. Desruisseaux, G. Drouin, and G. Slater, *Macro-*

- molecules **34**, 5280 (2001).
- [6] L. McCormick, G. Slater, A. Karger, W. Vreeland, A. Barron, C. Desruisseaux, and G. Drouin, *Journal of Chromatography A* **924**, 43 (2001).
- [7] S. Ferree and H. Blanch, *Biophysical Journal* **85**, 2539 (2003).
- [8] D. Stigter and C. Bustamante, *Biophysical Journal* **75**, 1197 (1998).
- [9] G. Randall and P. Doyle, *Macromolecules* **38**, 2410 (2005).
- [10] N. Dovichi and J. Zhang, *Angewandte Chemie International Edition* **39**, 4463 (2000).
- [11] I. Teraoka, *Polymer solutions* (Wiley-Interscience, 2002).
- [12] F. Brochard-Wyart, *Europhysics Letters* **23**, 105 (1993).
- [13] H. Berg, *Random Walks in Biology* (Princeton University Press, 1993).
- [14] F. Tessier and G. Slater, *Macromolecules* **38**, 6752 (2005).
- [15] F. Tessier and G. Slater, *Macromolecules* **39**, 1250 (2006).
- [16] K. Meier, A. Laesecke, and S. Kabelac, *The Journal of Chemical Physics* **121**, 3671 (2004).
- [17] S. H. Kang, S. Lee, and E. S. Yeung, *Electrophoresis* **27**, 4149 (2006).
- [18] S. Breisch, J. Gonska, H. Deissler, and M. Stelzle, *Biophysical Journal* **89**, L19 (2005).

**Mobility of confined
polyelectrolytes in
free-solution
electrophoresis: a
Molecular Dynamics study**

Mobility of confined polyelectrolytes in free-solution electrophoresis: a Molecular Dynamics study

Martin Bertrand, Eric C. J. Oliver, and Gary W. Slater

Department of Physics, University of Ottawa, Ottawa, Ontario K1N 6N5, Canada

(Dated: May 29, 2007)

We present the first study of polyelectrolytes undergoing electrophoresis in free solution while being squeezed by a lateral mechanical force transverse to their net displacement. We show that this situation still allows the “free-draining” of the polyelectrolyte chains, a result which brings a new perspective on a most fundamental property. We show that the electrophoretic mobility of the chains can be described in terms of a local model where the relevant effective segment is oriented along the direction of motion. This description predicts an increase in mobility as the squeezing potential is strengthened, in agreement with our Molecular Dynamics simulation data. Interestingly, our data also suggest a possible novel separation scheme.

I. INTRODUCTION

The study of the dynamics of single polymer chains is of utmost importance to the development of many techniques used for the characterization and analysis of biologically relevant polymer molecules such as DNA, RNA and proteins. In particular, the study of the motion of polyelectrolytes under the action of an electrical field in a buffer solution is of great interest to the advancement of techniques such as End-Labeled Free-Solution Electrophoresis (ELFSE) and Free-Solution Conjugate Electrophoresis (FSCE) [1]. Also of interest is the field-driven motion of DNA molecules in nanochannels [2][3] or through nanopores [4]. More generally, the electrophoretic motion of polyelectrolytes in the presence of mechanical forces and/or constraints raises a number of fundamental questions that are not fully understood.

It is well-known that polyelectrolyte Gaussian coils possess free-solution electrophoretic mobilities that are independent of their molecular weight. In fact, since these charged polymer chains are in the free-draining regime, their behavior is better described by their local properties. Local segments have no preferred orientation and, on average, end up to be hydrodynamic equivalents of spheres.

However, when a mechanical force is applied at the extremity of a polyelectrolyte in the direction of its net motion, such as in ELFSE, the motion of the polyelectrolyte is not free-draining anymore. The simultaneous action of the electrical and mechanical forces can even deform the Gaussian coil [5]. The theoretical model describing the phenomenon was introduced by Long *et al.* [6]. The model relies in part on the assumption that the free-solution mobility is not a function of the chain’s conformation.

In this article, we examine the situation where the polyelectrolyte’s conformation is kept in a non-Gaussian state using a transverse force field, i.e. a potential with a cylindrical symmetry oriented along the direction of the electrophoretic field (in ELFSE, the force responsible for the deformation is parallel to the electrophoretic field). The central question is the validity of the free-draining

regime in such a situation. In other words, can we still describe the chain’s behavior in terms of local properties? If so, what local properties should we be using? In order to investigate these fundamental questions, we will be using theoretical arguments as well as detailed Molecular Dynamics simulations.

Instead of using walls as a mean to impose lateral constraints on the polymer conformation, we will be using a harmonic potential with a cylindrical symmetry. The motion of a polyelectrolyte in a narrow channel is of great interest, but this situation adds shear stresses (due to the frictional effects near the walls) that directly affect both the motion and the conformation of the polymer chain, a phenomenon reported by Kang *et al.* [7], Mathé *et al.* [8], and Roeraade *et al.* [9].

II. THEORY

A. Mobility of polyelectrolytes in free-solution electrophoresis

One might intuitively think that the dynamics of a polyelectrolyte of total charge Q_{tot} in a salt solution with its center of mass moving at a velocity V_{CM} under the action of an electric field E can be described by the force balance equation

$$\sum F = 0 = Q_{\text{tot}}E - \xi V_{\text{CM}}, \quad (1)$$

where ξ is the hydrodynamic friction coefficient of the molecule. Indeed, one would expect the electric force $Q_{\text{tot}}E$ applied on the object to be balanced by the hydrodynamic friction force ξV_{CM} . The above can then be rearranged to give the following:

$$V_{\text{CM}} = \frac{Q_{\text{tot}}}{\xi} \times E = \mu_0 E, \quad (2)$$

where $\mu_0 \equiv V_{\text{CM}}/E$ is called the free-solution electrophoretic mobility of the polyelectrolyte. Unfortunately, this simplistic view only works when the characteristic size of the charged object studied, *e.g.* the

radius of gyration R_g for a polyelectrolyte, is small compared to the extent λ_D of the Debye cloud of counterions [10] surrounding it. In the Zimm picture [11], one would have $\xi \sim R_g$, but the presence of the counterions in the vicinity of the coil generally changes the hydrodynamics of the problem in a fundamental way. Since λ_D is inversely proportional to the square root of the solution's ionic strength [1], the Zimm approach is only valid for low ionic strengths, which is not what is usually encountered in experimental settings when one studies long DNA molecules. In reality, $\lambda_D \simeq 1$ nm while $R_g > 10$ nm.

In realistic experimental situations, one usually works with polyelectrolytes, such as DNA, immersed in high ionic strength buffers (~ 1 M). In such cases, the hydrodynamic interactions between monomers are screened by the double layer of ions surrounding the polymer's backbone, which brings upon a collapse of its collective response. No longer reacting as if it were one single spheroidal object (the Zimm picture), the coil becomes transparent to the ionic flow and thus enters the so-called "free-draining" regime [10]. In this framework, the polymer chain is better described in terms of its local properties, on a length scale close to λ_D . Thus the electrophoretic mobility is more properly given by the ratio of the *effective local charge* Q_{loc} over the local *effective friction coefficient* ξ_{loc} :

$$\mu_0 = \frac{Q_{loc}}{\xi_{loc}}, \quad (3)$$

which immediately suggests that μ_0 is then independent of the polyelectrolyte's contour length L or total charge Q_{tot} (or equivalently of its molecular weight).

This local definition of mobility should hold even for a deformed and aligned polyelectrolyte under electrophoresis in a long capillary as long as the deformation is the consequence of a confinement potential with no longitudinal component, *i.e.*, if the confinement forces do not directly contribute to the dynamics of the centre-of-mass of the molecule. It is this fundamental hypothesis that we investigate in the present article.

B. A deformed polyelectrolyte under artificial confinement

Consider the following: a polyelectrolyte traveling in a long capillary under the action of an electrical field and confined in the center by a lateral (or radial) harmonic potential $U_l(r)$ (see Fig. 1):

$$U_l(r) = \frac{1}{2}kr^2, \quad (4)$$

where k is the confinement strength and r is the radial position (the field E points along the axial, or \hat{x} direction). The potential U_l is applied to all beads of the

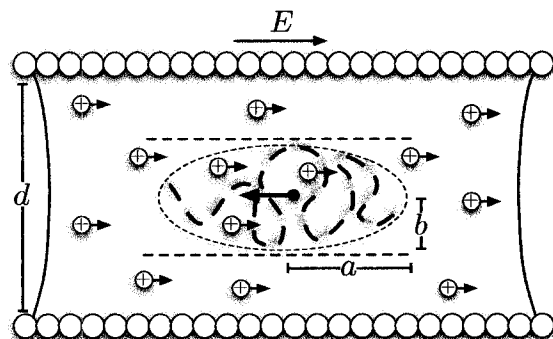


FIG. 1: Polyelectrolyte of radius of gyration R_g undergoing electrophoretic motion under the action of a field E and artificially confined in the radial direction at the center of a capillary of diameter d , with $d \gg R_g$.

chain but not to the counterions. To squeeze and deform the molecule, one just needs to increase k . The electrophoretic mobility of such a polyelectrolyte should still be given by Eq. 3. We will assume the local charge on the chain to be unaffected by the external confinement potential.

As far as hydrodynamics is concerned, one can model the local segments as ellipsoids. Without confinement, these segments look like spheres on average because they are rotating rapidly and randomly. As the polyelectrolyte gets squeezed in the direction transverse to its net motion, on average the segments look more like prolate ellipsoids traveling parallel to the direction of their longer axis. Happel and Brenner have formulated an equation for the hydrodynamic friction coefficient $\xi_{||}$ of such objects [12]:

$$\xi_{||} = \frac{8\pi\eta b}{\left[-\frac{\phi}{\phi^2-1} + \frac{2\phi^2-1}{(\phi^2-1)^{3/2}} \ln\left(\phi + \sqrt{\phi^2-1}\right) \right]}, \quad (5)$$

where η is the viscosity of the fluid, $\phi = a/b$ is the axial ratio, a being the greater radius of the ellipsoid, and b , the shorter. When $\phi \rightarrow 1$ (or $a = b$), we recover the friction coefficient of a sphere of radius b :

$$\xi_{||}(\phi \rightarrow 1) = 6\pi\eta b. \quad (6)$$

In the opposite limit where $a \gg b$, the series expansion of Eq. 5 yields

$$\xi_{||}(\phi \rightarrow \infty) \approx \frac{4\pi\eta a}{\ln(2a/b) - 1/2}, \quad (7)$$

an expression similar to the one used for the friction coefficient of a rod of half length a and radius b traveling parallel to its axis [11].

The challenge here is to define the radii a and b for the effective local segments of the polyelectrolyte in order to determine the behaviour of the effective local hydrodynamic friction coefficient ξ_{loc} . We thus make the following assumption: the global shape of the polyelectrolyte is a reflection of the average local geometry when in the free-draining regime. As it is confined, the polymer will go from a random coil shape (which is spherical on average) to a prolate ellipsoid much like the segments it is composed of. For a charged chain made up of N segments, one can use Eq. 5 to obtain the total hydrodynamic friction coefficient ξ_{tot} of the polymer and then approximate the average local free-draining value as:

$$\xi_{\text{loc}} \approx \frac{\xi_{\text{tot}}}{N}. \quad (8)$$

When calculating ξ_{tot} from Eq. 5, we use $a = R_{\parallel}$ and $b = R_{\perp}$, where $R_{\parallel} = R_{\text{gx}}$ is the longitudinal radius of gyration (*i.e.*, along the field direction) and $R_{\perp} = \frac{1}{2}(R_{\text{gy}} + R_{\text{gz}})$, is its radial counterpart (this means that $\phi = R_{\parallel}/R_{\perp}$).

Thus a plot of the free-solution mobility μ_0 versus the inverse of the local friction coefficient ξ_{loc} should yield a linear relationship with the slope being given by the effective local charge Q_{loc} .

On a local scale, one could also model the chain segments as rods. When there is no confinement imposed on the polyelectrolyte, one could define the effective friction coefficient of a segment, ξ_s , as the weighted average between the friction coefficients $\xi_{s\parallel}$ and $\xi_{s\perp}$, which correspond to a rod moving parallel and perpendicular to its long axis, respectively [11]. As the charged chain gets confined, we expect that on average the segments will be more often aligned with the direction of motion and that ξ_s will tend towards $\xi_{s\parallel}$. It is known that $\xi_{s\parallel} = \frac{2}{3}\xi_s$ [11]. We can thus predict that the local hydrodynamic friction coefficient ξ_{loc} should be reduced to $\frac{2}{3}$ of its initial value $\xi_{\text{loc}}(\phi = 1)$ as the confinement parameter k is increased. From Eq. 3, the ratio $\mu_0(\phi = 1)/\mu_0$ should also go asymptotically towards $\frac{2}{3}$ as the degree of confinement increases.

III. METHOD

Our MD simulations used the numerical methods previously reported by Tessier *et al.* [13][14]. We built a coarse grained system (see Fig. 1) that consists of a linear polymer chain of N negatively charged beads, held together with FENE interactions and traveling in a wide capillary under the action of an electrical field E . The polymer is forced to move along the central axis of the capillary because of the presence of the lateral potential $U_l(r)$ as defined in Eq. 4.

The capillary walls are made of fixed neutral beads, and the capillary itself is filled with an explicit solvent, monovalent salt (at density ρ_s), and N positively charged

counterion beads (the entire system is thus electrically neutral). The particles (all of mass m) interact through repulsive Lennard-Jones (LJ) interactions, with those having a charge being subject to additional forces provided by the external electrical field and the Coulomb interactions. The capillary environment is convenient because it is similar to most experimental scenarios, eliminates hydrodynamic images, and allows for the use of a cutoff radius in the implementation of the Coulomb interactions (see Tessier *et al.* [14] for details). All numerical values are given in MD units: σ is the unit of length (LJ range), ϵ , the unit of energy (LJ energy), and m , the unit of mass. Thus time, densities and viscosities have units of $\sqrt{m\sigma^2/\epsilon}$, $m\sigma^{-3}$ and $\sqrt{m\epsilon\sigma^{-2}}$, respectively.

Three polymer lengths were studied, $N = \{15, 20, 25\}$. The fluid density is $\rho = 0.8$, the temperature is fixed at $k_bT = 1$, and the salt density is $\rho_s = 0.02$. The absolute value of the external electrical force applied on the charged beads is $0.5 \epsilon/\sigma$. The viscosity of the fluid is approximately $\eta \simeq 2.00 \pm 0.04$ according to Meier *et al.* [15]. The confinement parameter is varied over the range $k = [0, 0.8]$, in units of ϵ/σ^2 . The higher k is, the stronger the confinement and thus, the more deformed the polymer. The diameter d of the capillary is comparable to the contour lengths of the molecules ($d = 23.81$); this also means that d is much larger than the unperturbed radius of gyration of the three polyelectrolytes (the interactions with the wall are thus negligible). The length of the capillary is set to be approximately three times the electrostatic interaction cutoff radius following an empirical rule established in [13]. Thus a length of 127 was deemed sufficient for a cutoff radius of 40. Simulations are carried over 5 000 000 time steps of duration 0.01 (in MD units), and snapshots of the system are taken every 100 steps.

IV. RESULTS

A. Confinement potential versus free-draining properties

To test how our confinement potential affects both the electrophoretic velocity of the chain and its conformational asymmetry, we ran simulations where the potential $U_l(r)$ was first applied for a period that was long enough for the polymer to adopt a steady-state deformed conformation, and then turned off so that the relaxation processes could be observed in the presence of the electric field E . Figure 2 presents an example of this transition for a polyelectrolyte with $N = 20$ beads; we show the scaled velocity of the center of mass V_{CM}^* and scaled axial ratio ϕ^* as a function of time (running averages of the data sets are here depicted for clarity). The average values used to rescale the data are as follows: $\langle V_{\text{CM}}(\text{confined}) \rangle = 0.051 \pm 0.002$, $\langle V_{\text{CM}}(\text{free}) \rangle = 0.031 \pm 0.001$, $\langle \phi(\text{confined}) \rangle = 6.1 \pm 0.3$, $\langle \phi(\text{free}) \rangle = 1.1 \pm 0.3$.

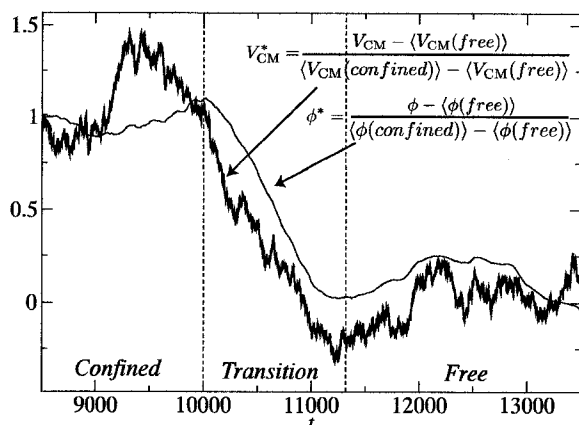


FIG. 2: Scaled velocity of the center of mass, V_{CM}^* , and scaled axial ratio, ϕ^* , for a polyelectrolyte undergoing electrophoretic motion and relaxing from a confined to a free state ($N = 20$, $E = 0.5$; the confinement potential $k = 0.8$ is turned off at $t = 10000$).

An external force directly affecting the net motion of the polyelectrolyte would break the local balance of forces and take the molecule out of the free-draining regime (this is the case with ELFSE [1]). The chain's conformation and velocity would then relax over different time scales as they would respond to different sets of forces. This is not the case here. We clearly see that the chain's instantaneous electrophoretic velocity $V_{CM}(t)$ is directly proportional to the asymmetry ratio $\phi(t)$. This is an important result and it provides evidence that lateral forces do not affect the free-draining properties of the chain.

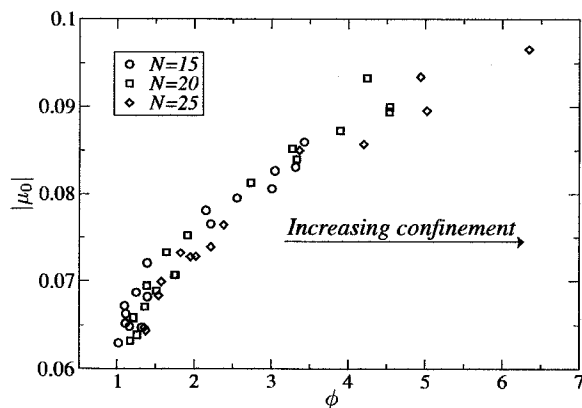


FIG. 3: The electrophoretic mobility μ_0 vs. the conformational asymmetry parameter $\phi = R_{\parallel}/R_{\perp}$; $\phi = 1$ corresponds to an isotropic coil ($k = 0$, or no radial confinement potential).

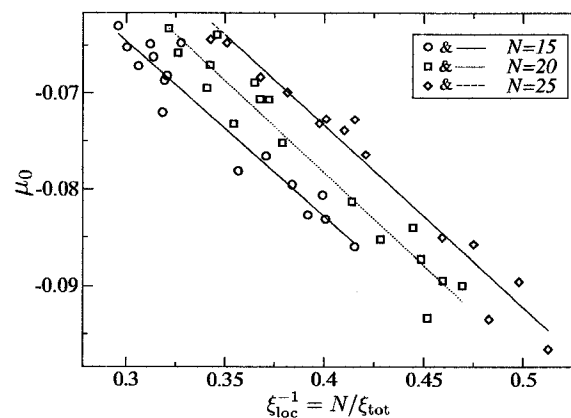


FIG. 4: The electrophoretic mobility μ_0 vs. the inverse of the local hydrodynamic friction coefficient $\xi_{loc}^{-1} = N/\xi_{tot}$. The lines are linear fits.

B. The electrophoretic mobility of deformed polyelectrolytes

As described previously, the electrophoretic mobility of the polyelectrolyte is defined using the expression $\mu_0 = \langle V_{CM} \rangle / E$. Figure 3 shows the dependence of $|\mu_0|$ (for a polyanion, the mobility is negative) upon the coil deformation parameter $\phi = R_{\parallel}/R_{\perp}$ for the three polymer lengths N . First, we notice that for a fixed degree of deformation ϕ , the mobility is essentially independent of the molecular size N of the polyelectrolyte. Thus, when charged chains are equally deformed and oriented by a lateral potential, they stay in the free-draining regime and it is not possible to separate them. The local nature of μ_0 still applies and, for a fixed value of ϕ , the average segment orientation is the same for all chains. In other words, ϕ is the relevant way to quantify the degree of confinement. Second, we also notice that the mobility increases rapidly with the asymmetry parameter ϕ . Since the local charge Q_{loc} is unchanged, this suggests that μ_0 increases because of the reduced local friction coefficient ξ_{loc} of the oriented segments. The increased mobility agrees with the observations of Kang *et al.* [7]. Finally, we can see that the increase is fully consistent with the prediction that $\mu_0(\phi = 1)/\mu_0(\phi \rightarrow \infty) \simeq \frac{2}{3}$.

It is possible to compute the friction coefficient $\xi_{tot} = \xi_{\parallel}$ of the chain using Eq.5 and the simulation values of the asymmetry parameter ϕ . A local (per bead) friction coefficient can then be obtained from Eq. 8. According to Eq. 3, the mobility should be inversely proportional to the local friction coefficient. Figure 4 shows that this is the case for the three polymer lengths. The slopes of the linear fits are -0.18 ± 0.01 for $N = 15$, -0.19 ± 0.01 for $N = 20$, and -0.19 ± 0.01 for $N = 25$. The three values are clearly consistent with one another. This suggests that our modified free-draining model is valid, and that

the local effective charge Q_{loc} is -0.19 ± 0.01 per bead.

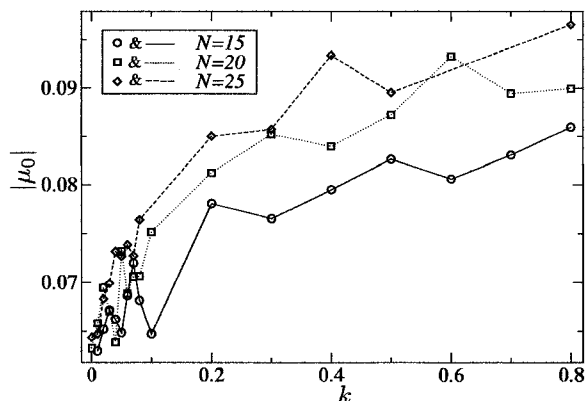


FIG. 5: The electrophoretic mobility μ_0 as a function of the confinement harmonic potential parameter k .

We show in Fig. 5 a plot of the electrophoretic mobility of the polyelectrolytes as a function of the strength k of the lateral harmonic potential. One clearly sees, especially for large values of k , that mobility increases with molecular size N under such circumstances. This result suggests that separation by size could be achieved through free-solution electrophoresis with transverse confinement, even if the polyelectrolyte do not interact with the walls. The key to achieve separation is to have a degree of segment orientation that is a function of the molecular size of the polyelectrolyte; for a fixed value of ϕ , no separation is predicted.

V. CONCLUSION

We have shown Molecular Dynamics simulation data that agree nicely with a theoretical model based on

the assumption that a deformed polyelectrolyte undergoing electrophoretic motion remains in the free-draining regime if its deformation is generated by a force that is transverse to the electric field. Our results thus demonstrate that the local definition of the electrophoretic mobility (a characteristic of free-draining models) applies to the situation studied here. This fundamental property of polyelectrolytes is most important for the development of novel free-solution electrophoretic techniques.

We also showed that the more we “squeeze” the polyelectrolytes, the faster they go for the same electrical field. Squeezed polymers are deformed, which means that their oriented segments have reduced friction coefficients in the direction of motion, a conclusion that agrees with the observations made by Kang *et al.* [7]. Furthermore, our results indicate that for the same confinement strength, longer chains travel faster, which points towards a possible separation scheme in free-solution.

Acknowledgments

The authors would like to thank Frédéric Tessier for his help with the simulations. The work was supported by research grants from the Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada, the National Institutes of Health (NIH) of the U.S.A. (Grant No. NHGRI R01 HG002918-01) and Northwestern University to GWS. MB was supported by an NSERC Graduate Scholarship and a University of Ottawa Admission Scholarship. ECJO would like to acknowledge the financial support of the Sun Microsystems of Canada Scholarship, the Nunatsiavut Government PSSSP and the University of Ottawa Admission Scholarship. The findings, opinions and recommendations expressed in this article are those of the authors and not necessarily those of Northwestern University or the NIH. We also acknowledge the use of computational resources made available through the High Performance Computing Virtual Laboratory (HPCVL) (www.hpcvl.org).

- [1] J. Won, L. McCormick, S. Nedelcu, M. Bertrand, J. Bertram, G. Drouin, A. Barron, and G. Slater, *Electrophoresis* **26**, 331 (2005).
- [2] J. Mannion, C. Reccius, J. Cross, and H. Craighead, *Biophysical Journal* **90**, 4538 (2006).
- [3] W. Reisner, K. Morton, R. Riehn, Y. Wang, Z. Yu, M. Rosen, J. Sturm, S. Chou, E. Frey, and R. Austin, *Physical Review Letters* **94**, 196101 (2005).
- [4] C. P. Fredlake, D. G. Hert, E. R. Mardis, and A. E. Barron, *Electrophoresis* **27**, 3689 (2006).
- [5] D. Long and A. Ajdari, *Electrophoresis* **17**, 1161 (1996).
- [6] D. Long, J. Viovy, and A. Ajdari, *Physical Review Letters* **76**, 3858 (1996).
- [7] S. H. Kang, S. Lee, and E. S. Yeung, *Electrophoresis* **27**, 4149 (2006).
- [8] J. Mathé, J. Di Meglio, and B. Tinland, Arxiv preprint cond-mat/0610328 (2006).
- [9] J. Roeraade and M. Stjernstrm, *Fractionation process* (1997), International Patent WO/1997/026531.
- [10] J. L. Viovy, *Rev. Mod. Phys.* **72**, 813 (2000).
- [11] I. Teraoka, *Polymer solutions* (Wiley-Interscience, 2002).
- [12] J. Happel and H. Brenner, *Low Reynolds Number Hydrodynamics* (Prentice-Hall, 1965).
- [13] F. Tessier and G. Slater, *Macromolecules* **38**, 6752 (2005).
- [14] F. Tessier and G. Slater, *Macromolecules* **39**, 1250 (2006).
- [15] K. Meier, A. Laesecke, and S. Kabelac, *The Journal of Chemical Physics* **121**, 3671 (2004).

Conclusion

Cette thèse vous a communiqué les résultats de deux études qui jettent une lumière nouvelle sur les propriétés de polyélectrolytes sous électrophorèse en solution libre. Même si les deux articles qui composent le corps de ce document contiennent chacun une conclusion qui résume les grandes lignes des recherches entreprises, je me permettrai ici de souligner une fois de plus certains des résultats les plus importants tout en enrichissant les sujets abordés de commentaires et suggestions. Afin de vous replonger dans le contexte, rappelez-vous que l'élément qui motivait ma démarche scientifique est le développement de cette technique novatrice d'électrophorèse de l'ADN, l'électrophorèse de polyélectrolytes munis d'un parachute en solution libre, aussi connue sous l'acronyme anglophone ELFSE (*End-Labeled Free Solution Electrophoresis*). Nous en connaissons si peu sur la physique de polyélectrolytes sous électrophorèse en solution libre et les modèles théoriques proposés sont souvent difficile à vérifier en laboratoire. Le chemin vers une meilleure compréhension passe donc souvent par la modélisation numérique, la simulation à l'aide d'ordinateurs.

Le premier problème qui fut attaqué en est un concernant directement l'ELFSE: qu'arrive-t-il lorsqu'une force mécanique agit à l'extrémité d'un polyélectrolyte sous électrophorèse, en particulier lorsque la force est suffisante pour ancrer la chaîne chargée ? Long *et al.* [14][15] proposent un modèle au centre duquel on retrouve l'équivalence électro-hydrodynamique (voir 2.3.1). L'étude présentée dans le premier article vient confirmer ce modèle (chapitre 3), tout comme les expériences menées par les duos Ferree et Blanch [30], et Randall et Doyle [31]. Sa force réside

dans sa relative simplicité conceptuelle et mathématique: on évite de devoir analyser les propriétés électrostatiques et hydrodynamiques du polymère dans les moindres détails pour se concentrer sur sa géométrie, beaucoup plus facile à mesurer. Même si l'exactitude quantitative n'est pas toujours au rendez-vous, les prédictions qui en résultent s'avèrent fort utiles. Par exemple, on peut en extraire, sans trop de difficulté, une expression pour la mobilité d'objets moléculaires hybrides sous électrophorèse en solution libre tel que rencontrés dans l'ELFSE (voir 2.3.1 et la revue de l'ELFSE publiée en 2005 [11]). Le principe d'équivalence étant donc à la base de cette technique, il était impératif d'en faire une étude détaillée, ce que permettait les simulations par dynamique moléculaire. Ce que le chapitre 3 présente n'est en fait qu'une des avenues que nous aurions pu emprunter pour répondre à nos interrogations. Par exemple, il serait intéressant de confirmer le principe d'équivalence en simulant une chaîne tirée à vitesse $v = \mu_{el}E$ ou ancrée dans un fluide poussé à cette même vitesse, ce que Sylvain Hubert a déjà étudié [32]. Cependant, il serait encore plus utile au développement de l'ELFSE d'étudier l'électrophorèse d'une chaîne chargée attachée à une compagne neutre, ce sur quoi la technique repose. Des simulations du phénomène ont été exécutées mais les résultats manquent de clarté. Il reste donc à peaufiner la méthode, étape prochaine vers une meilleure compréhension de l'équivalence électro-hydrodynamique.

Le modèle d'équivalence électro-hydrodynamique tel qu'énoncé par Long *et al.* suppose que la définition locale de la mobilité électrophorétique reste effective même lorsque le polyélectrolyte libre adopte une conformation déformée [15]. Nous nous sommes penchés sur cette supposition, Eric C. J. Oliver, Gary W. Slater et moi-même, avec l'intention d'en vérifier la véracité. Cependant, nous avons vite découvert qu'il est difficile de simuler un polyélectrolyte figé dans une conformation spécifique sous électrophorèse en solution libre. L'une des solutions avancées fut de simuler une chaîne confinée dans une direction radiale et perpendiculaire à son déplacement sous l'effet d'un champ électrique à l'aide d'un potentiel mécanique. L'ennui c'est que cette approche permet non seulement la déformation de la molécule mais lui impose aussi une orientation, ce qui empêche d'atteindre le but initial. Toutefois, l'analyse détaillée de la situation nous en apprend sur les propriétés fondamentales d'une chaîne chargée sous électrophorèse. Effectivement, nos simulations révèlent que malgré tout, les polyélectrolytes restent toujours perméables au flux d'ions (écoulement libre ou *free-draining*) et que, par conséquent, la définition locale de la mobilité électrophorétique reste inchangée, conclusion pour le moins surprenante qui méritait publication. Ainsi naquit le deuxième article que l'on retrouve dans le quatrième chapitre, résultat d'un détour qui en valait certainement le coup. Si l'ELFSE passe à l'étape suivante, où les procédés seront

transportés dans l'univers de la nanofluidique, les chaînes seront alors confinées latéralement par la géométrie même de l'environnement. Nous croyons que le système qui fut étudié, mettant en scène des molécules sous confinement idéal, se rapproche suffisamment de cette nouvelle situation pour en permettre une meilleure analyse. Cependant, concernant les dires de Long *et al.* qui ont initialement motivé la recherche, nous ne pouvons malheureusement pas tirer de conclusion de nos résultats.

Voici que nous nous approchons finalement de la clôture de cette thèse. J'aimerais donc prendre ces dernières lignes pour vous faire part de certains de mes commentaires sur l'expérience que j'ai vécue tout au long de ces deux années à la maîtrise. Cette thèse témoigne d'avancées et de percées dans la science des polymères, mais elle ne raconte pas les découvertes de votre auteur sur la profession même du scientifique. J'ai questionné l'univers, exploré la physique des polymères, simulé le comportement de ces molécules, rédigé des articles et une thèse, mais me suis aussi demandé comment cheminer sur les routes de la science. Comment trouver la motivation pour persévérer et poursuivre malgré les embûches, comment faire correspondre les divers champs d'intérêts intellectuels, comment s'épanouir dans le rôle du scientifique ? Je ne peux prétendre avoir trouvé la réponse à toutes ces questions. Je puis toutefois affirmer avoir jeté des bases solides sur lesquelles il m'est maintenant possible de construire une carrière en science. Deux révélations en particulier m'ont permis de grandir et d'évoluer: premièrement, il est impossible de trouver la solution à tous les problèmes de l'univers d'un seul coup, il faut accepter que l'on progresse par petits pas et que notre propre démarche s'inscrit dans un long processus qui fut amorcé bien avant notre arrivée et se terminera bien après notre départ; deuxièmement, la science prend toute sa signification dans le partage, les discussions et les échanges étant littéralement des réservoirs de motivation. L'objectif de cette thèse était donc de partager avec vous mon humble contribution à cette vaste science qu'est la physique.

Bibliographie

- [1] JD Watson, FHC Crick. *A structure for deoxyribose nucleic acid*, **Nature** **171**, 737–738 (1953).
- [2] JD Watson, FHC Crick. *Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid*, **Nature** **172**, 964–967 (1953).
- [3] A Klug. *Rosalind Franklin and the double helix*, **Nature** **248**, 787 (1974).
- [4] Human Genome Project. *How many genes are in the human genome?*, http://www.ornl.gov/scitechresources/Human_Genome/faq/genenumber.shtml (accessed 20 December 2006).
- [5] Harris, Harris, and Donahue, Ltd. *Manuscript Format*, <http://harris-donahue.tripod.com/harrisdonahue/id9.html> (accessed 20 December 2006).
- [6] JL Viovy. *Electrophoresis of DNA and other polyelectrolytes: physical mechanisms*, **Rev. Mod. Phys.** **72**, 813–872 (2000).
- [7] NJ Dovichi, J Zhang. *How capillary electrophoresis sequenced the human genome*, **Angewandte Chemie International Edition** **39**, 4463–4468 (2000).
- [8] International Human Genome Sequencing Consortium. *Initial sequencing and analysis of the human genome*, **Nature** **409**, 860–921 (2001).
- [9] JC Venter et al. *The sequence of the human genome*, **Science** **291**, 1304–1351 (2001).
- [10] CP Fredlake, DG Hert, ER Mardis, AE Barron. *What is the future of electrophoresis in large-scale genomic sequencing?*, **Electrophoresis** **27**, 3689–3702 (2006).
- [11] JI Won, LC McCormick, S Nedelcu, MM Bertrand, JL Bertram, G Drouin, AE Barron, GW Slater. *End-labeled free-solution electrophoresis of dna*, **Electrophoresis** **26**, 331–350 (2005).

- [12] C Desruisseaux, D Long, G Drouin, GW Slater. *Electrophoresis of composite molecular objects. 1. relation between friction, charge, and ionic strength in free solution*, **Macromolecules** **34**, 44–52 (2001).
- [13] C Desruisseaux, G Drouin, GW Slater. *Electrophoresis of composite molecular objects. 2. competition between sieving and frictional effects in polymer solutions*, **Macromolecules** **34**, 5280–5286 (2001).
- [14] D Long, A Ajdari. *Electrophoretic mobility of composite objects in free solution: application to dna separation*, **Electrophoresis** **17**, 1161–6 (1996).
- [15] D Long, JL Viovy, A Ajdari. *Simultaneous action of electric fields and nonelectric forces on a polyelectrolyte: Motion and deformation*, **Physical Review Letters** **76**, 3858–3861 (1996).
- [16] D Long, AV Dobrynin, M Rubinstein, A Ajdari. *Electrophoresis of polyampholytes*, **The Journal of Chemical Physics** **108**, 1234 (1998).
- [17] LC McCormick, GW Slater. *The molecular end effect and its critical impact on the behavior of charged-uncharged polymer conjugates during free-solution electrophoresis*, **Electrophoresis** **26**, 1659–1667 (2005).
- [18] LC McCormick, GW Slater. *A theoretical study of the possible use of electroosmotic flow to extend the read length of dna sequencing by end-labeled free solution electrophoresis*, **Electrophoresis** **27**, 0000–0000 (2006).
- [19] C Hansen, SR Quake. *Microfluidics in structural biology: smaller, faster... better*, **Curr. Opin. Struc. Bio.** **13**, 538–544 (2003).
- [20] P de Gennes. *Scaling concepts in polymer physics*. Cornell University Press, Ithaca (1979).
- [21] I Teraoka. *Polymer solutions: an introduction to physical properties*. John Wiley & Sons, New York (2002).
- [22] Nobel Foundation. *Paul J. Flory — Nobel lecture*, <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/1974/flory-lecture.html> (accessed 1 September 2005).
- [23] F Brochard-Wyart. *Deformations of one tethered chain in strong flows*, **Europhysics Letters** **23**, 105 (1993).
- [24] LC McCormick, GW Slater, AE Karger, WN Vreeland, AE Barron, C Desruisseaux, G Drouin. *Capillary electrophoretic separation of uncharged polymers using polyelectrolyte engines: Theoretical model*, **Journal of Chromatography A** **924**, 42–52 (2001).
- [25] DC Rapaport. *The art of Molecular Dynamics*. Cambridge University Press, Cambridge (1995).
- [26] C Sagui, TA Darden. *Molecular dynamics simulations of biomolecules: Long-range electrostatic effects*, **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure** **28**, 155–179 (1999).
- [27] F Tessier, GW Slater. *Control and quenching of electroosmotic flow with end-grafted polymer chains*, **Macromolecules** **38**, 6752–6754 (2005).
- [28] F Tessier, GW Slater. *Modulation of electroosmotic flow strength with end-grafted polymer chains*, **Macromolecules** **39**, 1250–1260 (2006).
- [29] T Soddemann, B Dünweg, K Kremer. *Dissipative Particle Dynamics: a useful thermostat for equilibrium and nonequilibrium Molecular Dynamics simulations*, **Phys. Rev. E** **68**, 046702 (2003).
- [30] S Ferree, HW Blanch. *Electrokinetic Stretching of Tethered DNA*, **Biophysical Journal** **85**, 2539–2546 (2003).

- [31] GC Randall, PS Doyle. *DNA Deformation in Electric Fields: DNA Driven Past a Cylindrical Obstruction*, *Macromolecules* **38**, 2410–2418 (2005).
- [32] S Hubert. *Theoretical Study of Polymers Flow-induced Deformation in Nanochannels and Reptation Dynamics in Heterogeneous Gels*. Library and Archives Canada= Bibliothèque et Archives Canada (2006).