



uOttawa

L'Université canadienne
Canada's university

**FACULTÉ DES ÉTUDES SUPÉRIEURES
ET POSTDOCTORALES**



**FACULTY OF GRADUATE AND
POSTDOCTORAL STUDIES**

Antoine Dubé

AUTEUR DE LA THÈSE / AUTHOR OF THESIS

M.Sc. (physique)

GRADE / DEGREE

Département de physique

FACULTÉ, ÉCOLE, DÉPARTEMENT / FACULTY, SCHOOL, DEPARTMENT

Simulations numériques d'électrophorèse de particules sphériques et de courts bâtons dans des systèmes microfluidiques

TITRE DE LA THÈSE / TITLE OF THESIS

Gary Slater

DIRECTEUR (DIRECTRICE) DE LA THÈSE / THESIS SUPERVISOR

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

A. Longtin

S. Desgreniers

T. Grégoire

Gary W. Slater

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

**Simulations numériques d'électrophorèse
de particules sphériques et de courts bâtons
dans des systèmes microfluidiques**

Antoine Dubé
B.Sc. Université Laval 2007

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



uOttawa

©Antoine Dubé, Ottawa, Canada, 2010



Library and Archives
Canada

Published Heritage
Branch

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Direction du
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*
ISBN: 978-0-494-69086-4
Our file *Notre référence*
ISBN: 978-0-494-69086-4

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.

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

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

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


Canada

SOMMAIRE

Cette thèse contient deux projets principaux qui vont mener à la soumission de deux articles indépendants qui sont inclus dans cette thèse. Quelques résultats supplémentaires s'ajoutent à la fin de la thèse. Trois chapitres précèdent les articles : un présentant la théorie derrière chacun des articles, un présentant la méthode exacte et la dynamique moléculaire utilisées dans les simulations réalisées et, enfin, un résumant des résultats déjà publiés par d'autres groupes de recherche en lien avec les résultats présentés ici.

Le premier article s'intéresse à l'optimisation du signal électrique alternatif lors de l'électrophorèse de particules sphériques. Nos résultats suggèrent que le rapport des durées d'impulsion dans chaque direction t_+/t_- optimal serait plus élevé que le rapport de 2 ou 3 souvent utilisé lors d'expériences. Ce premier article vise également à suggérer deux nouveaux signaux alternatifs : un signal de durées aléatoires et un signal dichotomique, dans le but d'améliorer les vitesses ou la séparation des espèces.

En 1999, Han, Craighead et leurs coéquipiers [1] ont mis au point un système micrométrique gravé dans le silicone dans le but de l'utiliser pour la séparation de longues chaînes d'ADN. Pour le deuxième projet, notre étude porte sur la dynamique de brins d'ADN courts et rigides dans ce système spécifique. Les résultats de nos simulations montrent que l'énoncé de Nabil Laachi et des ses coéquipiers [2] sur la raison pour laquelle les bâtons plus longs traversent plus rapidement le système à champs forts (l'échappement aidé par le moment de force) serait faux. Nos résultats montrent que le moment de force causé par le champ électrique est dans la direction opposée au mouvement des bâtons près de la région de constriction.

À la suite des deux principaux chapitres, un chapitre présentera quelques résultats supplémentaires. D'abord, la méthode exacte a été utilisée pour l'application d'un champ rotatif et pour démontrer la possibilité d'effectuer la séparation de particules selon différentes directions spatiales ; nous croyons qu'il s'agit-là d'une toute nouvelle idée. De plus, le système de Han *et al.* [1] a été utilisé pour la séparation de particules sphériques et nous a mené à proposer une nouvelle idée : l'utilisation d'un signal alternatif, avec deux modes d'opération possibles.

SUMMARY

This thesis consists of two articles that have been submitted to peer reviewed scientific journals. In addition, three introductory chapters precede the articles : one presenting the theory behind the work described in the articles, a second one presenting the methods used for the simulations and a third one summarising results published in literature by different research groups.

The first article presents the results of the optimization of the pulse sequence during the electrophoresis of spherical particles in a gel and the presentation of two new types of pulse sequences : the correlated random telegraph signal and the dichotomous signal. Our results show that the optimal ratio of pulse durations in each direction t_+/t_- should be around 5, compared to a value of 2 or 3 generally used in experiments. In the second article, we explore the dynamics of rod-like DNA fragments in a 2D version of the system of Han *et al.* [1]. Our simulations present results that contradicts the statement made by Laachi and coworkers [2] why longer chains elude faster at high field : the “torque-assisted escape”, where torque turns the DNA chains in a favourable conformation. Our results show that the torque caused by the electric field is in fact in the opposite direction to the movement near the constriction zone.

Following those two articles, another chapter presents some supplementary results. The exact calculation method used for the optimization of the pulse sequences was also used to simulate a rotating field in a modified version of the system of asymmetric traps presented by Torres & Slater [3]. Our results show that separation of spheres of different sizes can be made along different directions, offering the possibility of continuous separation. In the second part of this chapter, we present the results of the separation of spherical particles in the system of Han *et al.* We present a new idea, the pulsed signal, and a new mode of operation with this signal.

DÉCLARATION D'ORIGINALITÉ

Au meilleur de ma connaissance, j'atteste que ce travail est le fruit de mon effort personnel, sous la supervision de Gary W. Slater, et est une œuvre originale.

Le premier article, portant sur les champs électriques en électrophorèse sur gel, présenté au chapitre 4 de cette thèse, a été soumis pour publication. Le second article, portant sur l'étude de la dynamique de brins d'ADN rigides, se trouvant au chapitre 5 de cette thèse, devrait être soumis dans une publication savante prochainement. Nous prévoyons aussi soumettre des articles sur chacune des deux parties du chapitre 6.

De plus, j'ai eu l'occasion de partager mes résultats de recherche lors de deux conférences, une première fois au Congrès de l'*American Physical Society* et une seconde fois au congrès de l'Association francophone pour le savoir (ACFAS) :

Antoine Dubé et Gary W. Slater (2009) *Detrapping Particles in a Gel : A Numerical Study*. Affiche. Congrès de l'*American Physical Society* (APS). Pittsburgh, PA (É.-U.). <http://meetings.aps.org/Meeting/MAR09/Event/97815>.

Antoine Dubé et Gary W. Slater. (2009) *Libération de particules prises dans un gel : une étude numérique*. Affiche. Congrès de l'Association francophone pour le savoir (ACFAS). Ottawa, ON.

Enfin, j'ai participé à la rédaction d'un article de revue avec les membres de mon groupe de recherche sur les méthodes de simulations numériques utilisées pour l'étude de l'électrophorèse.

Gary W. Slater, Christian Holm, Mykyta V. Chubynsky, Hendrick de Haan, **Antoine Dubé**, Kai Grass, Owen A. Hickey, Christine Kingsburry, David Sean, Tyler N. Shendruk et Lixin Zhan. "Modeling the separation of macromolecules : A review of current computer simulation methods". *Electrophoresis*. 2009, **30**, 792-818.

REMERCIEMENTS

Plusieurs personnes m'ont aidé depuis le début de ma maîtrise. Tout d'abord je remercie mon superviseur Gary W. Slater qui a cru en moi dès notre toute première rencontre. Je tiens aussi à remercier tous les membres de mon groupe de recherche que j'ai côtoyés, même si cela n'a été que d'une courte durée pour certains. J'aimerais remercier en particulier Hendrick de Haan, qui a su me donner de précieux conseils sur plusieurs aspects de la recherche. Je remercie aussi David Sean pour son aide lors de ma familiarisation avec Linux et tout au long de mon apprentissage de la programmation informatique. Finalement, je remercie Tyler Shendruk pour les nombreuses relectures de mon premier article. Tes commentaires m'ont beaucoup aidé.

Je me dois aussi de remercier plusieurs personnes hors de mon groupe de recherche mais qui m'ont aussi beaucoup aidé durant ma maîtrise. D'abord, Charles Varin pour le support moral lorsque j'en ai eu de besoin. Tu es en partie responsable de mon intérêt à poursuivre au doctorat en physique. Un autre merci à Nicolas Bigaouette, qui a su me fournir des conseils judicieux sur plusieurs aspects de la programmation. Je te suis aussi très reconnaissant pour m'avoir converti à Linux. Un dernier remerciement à Martin Bertrand pour toute l'aide fournie sur plusieurs sujets.

Finalement, un merci tout particulier à mes parents pour leurs encouragements, ainsi qu'à Audrey Groleau, qui m'a offert un soutien extraordinaire pendant tout ce temps.

AVANT-PROPOS

Très chers lecteurs et très chères lectrices, vous trouverez dans cet ouvrage le fruit d'un peu plus de deux années d'effort. Au tout début de ma maîtrise, lorsque j'ai appris la possibilité de faire une thèse par articles, l'idée m'a plu et j'ai tout de suite décidé que ma thèse prendrait cette forme. Les articles étant destinés à des publications scientifiques, ils ont été rédigés en anglais, alors que le reste de la thèse est écrit dans ma langue maternelle, le français, avec laquelle je suis plus familier.

Avant d'arriver à ces deux articles, vous trouverez quelques chapitres contenant l'information nécessaire à la compréhension des articles. D'abord, un chapitre sur la théorie derrière l'électrophorèse présente les particules sphériques chargées en solution, l'électrophorèse de particules sphériques en solution libre, l'ADN, l'électrophorèse d'ADN en solution libre et dans un gel et finalement, les rochets. À la suite de ce chapitre sur la théorie, toujours avant les articles, un chapitre présente les recherches et résultats obtenus par différents groupes de recherche à propos des projets que j'ai entrepris. Un autre chapitre suit les recherches et résultats déjà connus, celui-ci avec la méthodologie utilisée pour les simulations. La méthode exacte est expliquée en détails dans la première section du chapitre. La deuxième section de ce chapitre décrit la dynamique moléculaire utilisée dans le deuxième projet. Finalement, les deux articles suivent dans des chapitres distincts. À leur suite sont inclus quelques résultats supplémentaires obtenus en utilisant l'une ou l'autre des méthodes expliquées. À la toute fin de la thèse se trouve un chapitre ayant pour but de conclure cet ouvrage. En annexe se trouve le code utilisé pour modifier le code source du programme ESPResSO utilisé pour les simulations de dynamique moléculaire.

Sur ce, bonne lecture!

Table des matières

Sommaire	i
Summary	ii
Déclaration d'originalité	iii
Remerciements	iv
Avant-propos	v
Table des matières	vi
Table des figures	viii
1 Théorie	1
1.1 Électrophorèse	1
1.2 Particules chargées en solution	3
1.3 Électrophorèse d'une particule en solution libre	6
1.4 ADN	8
1.5 Électrophorèse de l'ADN en solution libre	11
1.6 Électrophorèse de l'ADN dans un gel	13
1.7 Rochets	15
2 Recension des écrits	17
2.1 Électrophorèse sur gel de particules sphériques	17
2.2 Séparation de brins d'ADN courts et rigides dans un système microfluidique	21
3 Méthodologie	25
3.1 Solution exacte de systèmes Monte-Carlo sur réseau	25

3.2 Simulation de dynamique moléculaire	33
4 Detrapping Particles in Gel Electrophoresis : A Numerical Study of Different Pulsed Field Sequences	40
5 On the Dynamics of Rod-like DNA in a Submicron Size Array	54
6 Quelques résultats supplémentaires	61
6.1 Séparation de particules par taille selon différentes directions	61
6.2 Séparation de sphères dans le système de Han <i>et al.</i>	63
7 Conclusion	68
8 Modification du programme ESPResSO	73

Table des figures

1.1	Mobilité en fonction de la longueur de la chaîne d'ADN en solution libre. La mobilité plafonne lorsque la longueur de la chaîne atteint environ 400 paires de bases. Adapté de [4], avec permission. Le champ électrique appliqué est de 200 V/cm et la température du système est de $20,0 \pm 0,1$ °C. Le tube capillaire a une longueur de 40 cm et un diamètre de 100 μm . Le tampon est une solution de 40 mM TAE à un pH de 8.	2
1.2	Potentiel Debye-Hückel (Éq. 1.11 avec $A = 1$) et potentiel de Coulomb ($1/r$) en fonction de la distance radiale. Pour les deux potentiels, nous prenons $\frac{q_1 q_2}{4\pi\epsilon_r\epsilon_0} = 1$ et $\kappa = 1$.	5
1.3	(a) Lignes de flux du fluide autour d'une sphère de rayon R lorsque $\kappa^{-1} \gg R$. (b) Lignes de flux du fluide autour d'une sphère de rayon R dans le cas où $\kappa^{-1} \ll R$. (c) Lignes de flux électroosmotique dans un tube de rayon a où $\kappa^{-1} \ll a$.	8
1.4	Schéma d'une chaîne d'ADN double-brin montrant des dimensions caractéristiques. À la droite, le dessin montre la chaîne déroulée pour montrer quelques paires de bases.	9
1.5	Chaîne imperméable (a). La chaîne se comporte comme une sphère rigide de rayon R_H . Avec le courant d'ions en direction opposée, le flux pénètre la chaîne, ce qui cause le drainage libre (b).	12
1.6	Représentation en deux dimensions des différents régimes d'électrophorèse pour un polyélectrolyte, tel que l'ADN, dans un gel. Les fibres du gel sont représentés en bleu. (a) Régime d'Ogston, (b) régime de trappage entropique et (c) régime de reptation. Dans chacun des cas, la chaîne se déplace de la gauche vers la droite.	14
1.7	Différentes séquences d'impulsions électriques. (a) présente un signal symétrique : les temps dans chaque direction sont égaux, tout comme les amplitudes. (b) présente un signal asymétrique dont l'intensité moyenne est nulle.	15
2.1	Deux particules de tailles différentes en rouge et vert, et trois obstacles représentant des fibres du gel en bleu. Les particules migrent de la gauche vers la	

- droite. Lorsque le champ électrique est suffisamment fort, la plus grosse particule restera prise dans le piège formé par les obstacles, alors que la plus petite poursuivra son chemin car elle est plus petite que les pores du gel. 18
- 2.2 Diagrammes des signaux électriques utilisés dans l'étude des champs pulsés de To & Boyde. L'amplitude du champ E est montrée en fonction du temps t . (A) Un signal alterné dont le rapport entre le temps d'application du champ vers l'avant et le temps d'application vers l'arrière est fixé à 2. (B) Un champ interrompu. Un champ est appliqué pour une durée de 2 secondes alors qu'il est interrompu pour différentes durées. 19
- 2.3 Schéma montrant une coupe transversale du système tridimensionnel introduit par Han [1] et étudié par Laachi *et al* [2]. Le système est périodique dans la direction de migration, soit de la gauche vers la droite. Les dimensions du système respectent le rapport $\delta = \frac{d}{D} = \frac{1}{5}$. Le potentiel électrique appliqué au système est représenté en couleur en dessous. Superposées au potentiel se trouvent les flèches indiquant la direction et l'amplitude du champ électrique causé par l'application de la différence de potentiel. La section représentée correspond à la section ombragée du système du dessus et a été agrandie. Le système étant symétrique, les lignes de champ sont les mêmes dans la moitié gauche mais dans la direction opposée. 23
- 2.4 Illustration de la section de constriction dans le système sous étude. Lorsque la chaîne a un angle supérieur à la valeur maximale, elle ne peut pas entrer dans le canal sans se réorienter. Pour pouvoir y entrer, l'angle de la chaîne par rapport à l'horizontale doit être inférieur à la valeur maximale. 24
- 3.1 Le gel aléatoire (gauche) est substitué par des obstacles impénétrables (en noir sur la figure) sur un réseau carré. Le système est périodique selon les deux dimensions. Le rectangle gris dans la partie gauche met en évidence un cul-de-sac. Ce cul-de-sac a été recréé dans le réseau de droite. 26
- 3.2 Les probabilités de saut et le temps moyen d'un saut correspondent aux probabilités d'une particule d'atteindre un des murs et le temps pour atteindre ce mur sous l'effet simultané de la diffusion et d'une force externe F_{ex} lorsque cette particule est initialement à distance égale des murs. 27
- 3.3 Réseau utilisé pour la description de la méthode. Le système consiste en un réseau 3×3 situé au centre de cette figure. Les sites tout autour du réseau 3×3 représentent les conditions aux frontières périodiques. 29
- 3.4 Potentiel solution de l'équation de Laplace dans le système microfluidique de Han *et al.* [1] pour une différence de potentiel de 10 unités d'énergie ε . Le système représenté ici mesure 40 unités de longueur σ en x , 15 de haut en y , avec un canal de 3 unités d'épaisseur. 39
- 6.1 Système de pièges en deux dimensions proposé par Torres *et al* [3]. Des conditions aux frontières périodiques sont appliquées selon les deux dimension. Les obstacles impénétrables sont montrés en noir sur le réseau. Ce système permet une séparation basée sur le piégeage lorsque le champ est selon l'axe des x . 62
- 6.2 (a) Système de pièges en deux dimensions. Les obstacles impénétrables sont montrés en noir, et les particules sont montrées en gris sur le réseau. Des

	conditions aux frontières périodiques sont appliquées selon les deux dimensions.	
	(b) Vitesses moyennes dans le système présenté en (a) le long de chaque axe (V_x et V_y).	63
6.3	Système introduit par Han <i>et al</i> [1], ici présenté en deux dimensions. En gris, les cercles représentent les sphères de différentes tailles simulées dans le système. Les dimensions du systèmes sont incluses sur la figure, en unités de σ .	64
6.4	<i>Gauche</i> : Mobilité moyenne de particules sphériques de différentes tailles en fonction du champ électrique moyen, publiés par Cheng <i>et al.</i> [5]. <i>Droite</i> : Résultats de nos simulations numériques. μ_0 correspond à la mobilité des particules en solution libre.	65
6.5	Vitesse moyenne de particules de différentes tailles en fonction de la durée d'application du champ dans la direction positive. Les cinq lignes pointillées montrent les valeurs prédites dans la limite de fréquence nulle en utilisant l'Éq 6.3 et le tableau 6.1.	66

Chapitre 1

Théorie

1.1 Électrophorèse

L'acide désoxyribonucléique, mieux connu sous son acronyme ADN, contient toute l'information génétique d'un être vivant comme la couleur des yeux et des cheveux, mais aussi l'information sur la susceptibilité de cet être vivant à développer une maladie génétique comme un cancer. Cela explique en grande partie le désir de l'être humain de décoder son propre génome. En le connaissant en entier, il serait possible de déterminer la susceptibilité d'une personne à une maladie génétique précise et de la traiter avant même les premiers symptômes. Décoder le génome humain est maintenant un sujet de recherche important. Afin de favoriser les recherches dans ce domaine, un prix sera même offert au premier groupe de recherche qui parviendra à décoder dix génomes humains, en dix jours ou moins, pour un coût de moins de 10 000\$ chacun [6].

L'électrophorèse est la séparation de molécules ou de particules chargées (ADN, protéines, billes de latex, etc.) dans une solution grâce à leurs différentes vitesses sous l'influence d'un champ électrique. La vitesse électrophorétique nette est fonction de plusieurs paramètres, y compris la taille, la forme et la charge de l'analyte en plus du type de milieu (gel, solution libre, etc.) dans lequel ils migrent. Le phénomène électrocinétique de particules en solution bougeant sous l'effet d'un champ électrique a été découvert par Ferdinand Friedrich Reuss en 1807 lors de l'étude du mouvement de particules d'argile en solution aqueuse

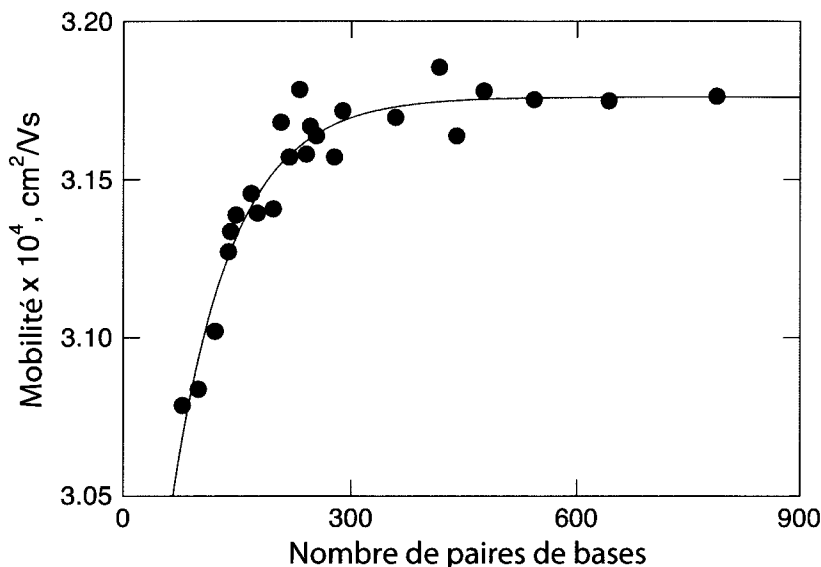


Figure 1.1 Mobilité en fonction de la longueur de la chaîne d'ADN en solution libre. La mobilité plafonne lorsque la longueur de la chaîne atteint environ 400 paires de bases. Adapté de [4], avec permission. Le champ électrique appliqué est de 200 V/cm et la température du système est de $20,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$. Le tube capillaire a une longueur de 40 cm et un diamètre de $100 \text{ }\mu\text{m}$. Le tampon est une solution de 40 mM TAE à un pH de 8.

sous l'effet d'un champ électrique généré par une pile voltaïque, lorsqu'il était professeur à l'Université de Moscou [7]. L'électrophorèse d'ADN a réellement commencé en 1964, lorsque plusieurs groupes ont mesuré la vitesse de chaînes d'ADN en solution libre [8, 9, 10, 11, 12]. À la suite de leurs expériences, ces chercheurs ont observé que la vitesse devient indépendante de la taille de l'ADN double-brin à partir d'environ 400 paires de bases, tel que nous présentons à la Fig. 1.1.

Lorsqu'un champ électrique est appliqué en solution libre, de la chaleur s'accumule dans le système à cause du frottement entre les ions en mouvement et le fluide neutre. Ce phénomène se nomme effet de Joule. Plus le champ électrique est fort, plus les ions voyagent rapidement, plus la friction est grande et plus la température augmentera. À un certain point, le champ électrique induira une quantité suffisante de chaleur pour créer des gradients de température et de la convection dans le fluide. En présence d'ADN dans le fluide, ce mouvement de convection entrainera les chaînes hors de leur trajectoire de migration, causant ainsi la perte de séparation des espèces impliquées. Pour remédier à ce problème, les gels d'électrophorèse ont été introduits pour empêcher la création du mouvement de

convection dans le milieu [13]. Par la suite, des chercheurs ont découvert que le gel sert aussi de tamis, pouvant ainsi mieux contrôler la séparation des espèces. Des gels d'agarose et de polyacrylamide sont surtout utilisés aujourd'hui pour l'électrophorèse sur gel [13]. En utilisant différentes concentrations de gel, il est possible de séparer des brins d'ADN de plusieurs tailles différentes, mais aussi des chaînes d'acide ribonucléique ou des protéines.

Grâce aux techniques de lithographie, il est désormais possible de construire des systèmes microfluidiques dont les contraintes spatiales peuvent atteindre celle du rayon de giration d'une chaîne d'ADN. Les dimensions d'un tel système étant fixes et non aléatoires comme dans un gel, il est beaucoup plus facile de contrôler la dynamique de la séparation. Il est même possible d'introduire des anisotropies pour contrôler la direction de propagation des polyélectrolytes selon leur taille.

1.2 Particules chargées en solution

L'interaction de Coulomb définit l'énergie potentielle électrique entre deux charges q_1 et q_2 séparées par une distance r dans un milieu de permittivité $\varepsilon_0\varepsilon_r$:

$$U_{Coulomb} = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r} \frac{q_1q_2}{r}. \quad (1.1)$$

Lorsque du sel est introduit dans une solution aqueuse, il se dissocie, ce qui crée des ions positifs et négatifs libres. Lorsqu'une particule chargée se retrouve dans une telle solution, un nuage de contre-ions se retrouve attiré vers la particule par la force coulombienne. Ce nuage de contre-ions a pour effet d'écranter l'interaction électrostatique entre la particule et un autre objet chargé en solution. Le potentiel résultant entre une particule q_1 dans un nuage de contre-ions et une particule q_2 située à une distance r de la première est :

$$U = \frac{1}{4\pi\varepsilon_r\varepsilon_0} \frac{q_1q_2e^{-\kappa r}}{r}. \quad (1.2)$$

La différence entre le potentiel de Coulomb à l'Éq. 1.1 et le potentiel de Debye-Hückel à l'Éq. 1.2 est la présence de l'exponentielle décroissante dans le second.

Dans l'équation précédente, κ^{-1} est la longueur de Debye. La variable $\lambda_D = \kappa^{-1}$ est parfois aussi utilisée pour cette valeur. À cette distance de la particule, le nuage d'ions a

écrané la charge de la particule et le potentiel a diminué de e^{-1} par rapport à sa valeur sans écrantage.

Le développement de la théorie de Debye-Hückel – pour obtenir la longueur de Debye – va comme suit [14]. Nous supposons des ions de charge q_i et un potentiel électrique scalaire $\phi(r)$ autour d'une particule chargée fixe. Les ions sont en équilibre thermique : ils obéissent donc à la statistique de Boltzmann. En d'autres mots, les densités de chaque espèce, n_i , sont modifiées par le potentiel électrique selon le facteur de Boltzmann $\exp\left(\frac{-q_i\phi(r)}{k_B T}\right)$:

$$n_i(r) = n_i^0 e^{\frac{-q_i\phi(r)}{k_B T}} \quad (1.3)$$

où n_i^0 est la densité en absence de potentiel électrique. La densité de charge locale est, par définition :

$$\rho(r) = \sum_i q_i n_i(r) = \sum_i q_i n_i^0 e^{\frac{-q_i\phi(r)}{k_B T}}. \quad (1.4)$$

On peut maintenant déterminer le potentiel électrique en utilisant l'équation de Poisson :

$$\nabla^2 \phi(r) = -\frac{\rho(r)}{\varepsilon} = -\sum_i \frac{q_i n_i^0}{\varepsilon_r \varepsilon_0} e^{\frac{-q_i\phi(r)}{k_B T}}. \quad (1.5)$$

Nous avons une équation différentielle hautement non-linéaire en raison de la présence de l'exponentielle du côté droit de l'équation. Pour résoudre cette équation, nous la linéarisons en utilisant le développement en série de l'exponentielle $e^{-x} \approx 1 - x$ pour x très petit et en supposant que l'énergie potentielle $q\phi(r)$ est beaucoup plus petite que l'énergie thermique $k_B T$. L'équation de Poisson devient alors :

$$\nabla^2 \phi(r) \cong -\sum_i \frac{q_i n_i^0}{\varepsilon_r \varepsilon_0} + \sum_i \frac{q_i n_i^0}{\varepsilon_r \varepsilon_0} \frac{\phi(r)}{k_B T}. \quad (1.6)$$

Le premier terme du côté droit est nul par l'électro-neutralité de la solution. L'équation se réduit à :

$$\nabla^2 \phi(r) = \sum_i \frac{q_i n_i^0}{\varepsilon_r \varepsilon_0} \frac{\phi(r)}{k_B T} = \kappa^2 \phi(r), \quad (1.7)$$

où

$$\kappa^2 = \sum_i \frac{q_i n_i^0}{\varepsilon_r \varepsilon_0 k_B T} \quad (1.8)$$

définit la longueur de Debye dont nous parlions plus haut.

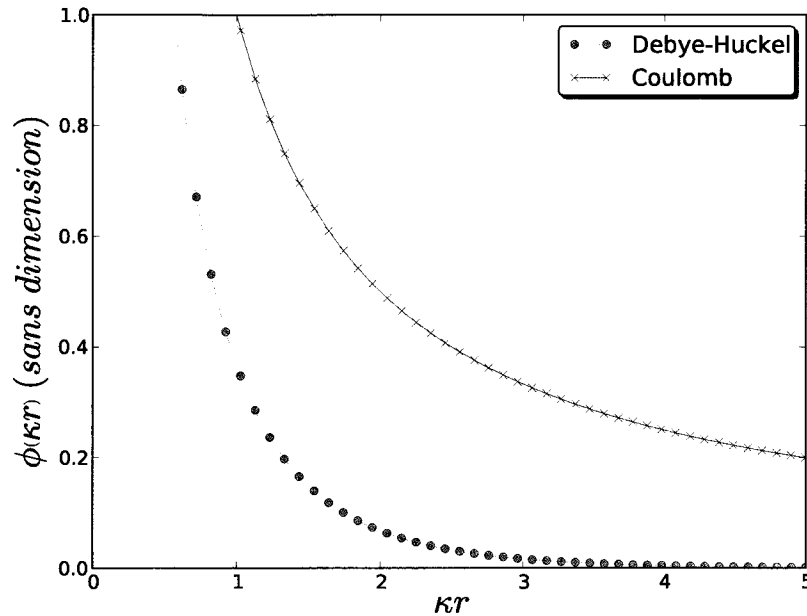


Figure 1.2 Potentiel Debye-Hückel (Éq. 1.11 avec $A = 1$) et potentiel de Coulomb ($1/r$) en fonction de la distance radiale. Pour les deux potentiels, nous prenons $\frac{q_1 q_2}{4\pi\epsilon_r \epsilon_0} = 1$ et $\kappa = 1$.

Dans une solution tampon contenant un sel monovalent de concentration $n_i^0 = 10^2 \text{ mol/m}^3$, et avec les conditions typiques $\epsilon_r = 80$, $T = 300 \text{ K}$ et une charge $q_i = e$, la longueur de Debye est approximativement 1 nm , alors que dans une solution de 1 mol/m^3 , la longueur de Debye devient approximativement 10 nm [15]. Ces deux limites sont typiques dans les expériences.

La solution générale de l'équation de Poisson-Boltzmann $\nabla^2 \phi(r) = \kappa^2 \phi(r)$ est :

$$\phi(r) = \frac{Ae^{-\kappa r}}{\kappa r} + \frac{Be^{\kappa r}}{\kappa r}. \quad (1.9)$$

Cette équation doit respecter la condition selon laquelle le potentiel est nul à l'infini :

$$\phi(r \rightarrow \infty) = 0, \quad (1.10)$$

ce qui implique $B = 0$. Il nous reste :

$$\phi(r) = \frac{Ae^{-\kappa r}}{r} \quad (1.11)$$

comme nous présentons à l'Éq. 1.2, à la différence du facteur constant devant. Cette fonction est tracée à la Fig. 1.2. On peut voir que le nuage de contre-ions écrante le potentiel, ce qui lui donne une valeur plus faible que le potentiel de Coulomb à une même distance.

1.3 Électrophorèse d'une particule en solution libre

Selon le rapport entre le rayon de la particule et la longueur de Debye, deux régimes de vitesse peuvent se présenter. Examinons d'abord le cas où le rayon de la particule est beaucoup plus petit que la longueur de Debye, comme nous l'avons illustré à la Fig. 1.3(a). C'est le cas lorsque les particules sont de petits ions ou lorsque la concentration de contre-ions est très faible (solution très diluée) car $\lambda_D \sim \frac{1}{\sqrt{n_0}}$ dans l'Éq. 1.8.

Sous l'effet d'un champ électrique constant \vec{E} , une particule de charge q subit une force électrique, aussi appelée force électrophorétique :

$$\vec{F}_e = q \vec{E}. \quad (1.12)$$

Le coefficient de friction d'une sphère en solution, ξ , dépend de son rayon R et de la viscosité η de la solution. La loi de Stokes nous donne la relation entre ces valeurs :

$$\xi = 6\pi\eta R. \quad (1.13)$$

Si cette même particule se déplace à une vitesse \vec{v} dans la solution, elle sera affectée par une force de friction, qui est donnée par :

$$\vec{F}_{fr} = \xi \vec{v} = 6 \pi \eta R \vec{v}. \quad (1.14)$$

Lors du mouvement d'une particule sphérique dans un fluide, la dissipation de l'énergie se fait, dans un cas mécanique, sur une distance comparable au rayon de la particule, R . Comme $\lambda_D \gg R$, la concentration d'ions est constante dans cette région et la plus grande partie des contre-ions du nuage est en dehors de cette région. Les ions ne jouent donc pas de rôle important dans la friction même s'ils bougent dans la direction opposée à la particule sphérique. Le problème est identique à un problème mécanique et les effets électrohydrodynamiques peuvent donc être négligés [15].

À l'équilibre, soit lorsque l'accélération est nulle, les forces s'équilibrent :

$$\vec{F}_e = \vec{F}_{fr}, \quad (1.15)$$

et la vitesse de la particule peut être déterminée à l'aide de :

$$\vec{v} = \frac{\vec{F}_e}{\xi} = \frac{q \vec{E}}{6 \pi \eta R}. \quad (1.16)$$

La mobilité μ est plus souvent utilisée pour décrire la migration de particules chargées. Elle est définie comme :

$$\mu \equiv \frac{|\vec{v}|}{|\vec{E}|}. \quad (1.17)$$

Il en découle donc :

$$\mu = \frac{q}{6\pi\eta R}. \quad (1.18)$$

On peut remarquer que la vitesse dépend de la charge et de l'inverse du rayon. La mobilité de petits ions ayant une même charge mais des tailles différentes sera différente. En effet, parmi ces petits ions, les plus gros sont plus lents, ce qui permet la séparation de ces ions par taille. De même, la mobilité d'ions de mêmes tailles mais de charge différentes sera différente. Ce résultat n'est valide que dans la limite où le rayon de la particule est beaucoup plus petit que la longueur de Debye ($R \ll \lambda_D$).

Dans le cas contraire, c'est-à-dire lorsque le rayon de la particule est plus grand que la longueur de Debye, tel que nous l'avons illustré à la Fig. 1.3(b), ce qui est généralement le cas pour des particules de polystyrène en solution par exemple, la physique est différente. La friction entre la particule et les contre-ions est locale [15]. La déformation du fluide, ce qui absorbe l'énergie et la quantité de mouvement de la particule, est maintenant sur une longueur κ^{-1} . Sur cette longueur, l'objet paraît plat. Dans ce cas, on considère la surface de la particule comme étant localement plane, ce qui permet d'appliquer l'équation de Helmholtz-Smoluchowski pour la vitesse d'un flux dans un capillaire ayant une surface chargée et un rayon grand comparé à la longueur de Debye, comme dans la Fig. 1.3(c) :

$$v_t = \frac{E_t \zeta \varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta}, \quad (1.19)$$

où l'indice t indique que la vitesse et le champ électrique sont tangentiels à la surface. Le potentiel zeta (ζ) correspond au potentiel de charge de surface, qui est relié à la densité de

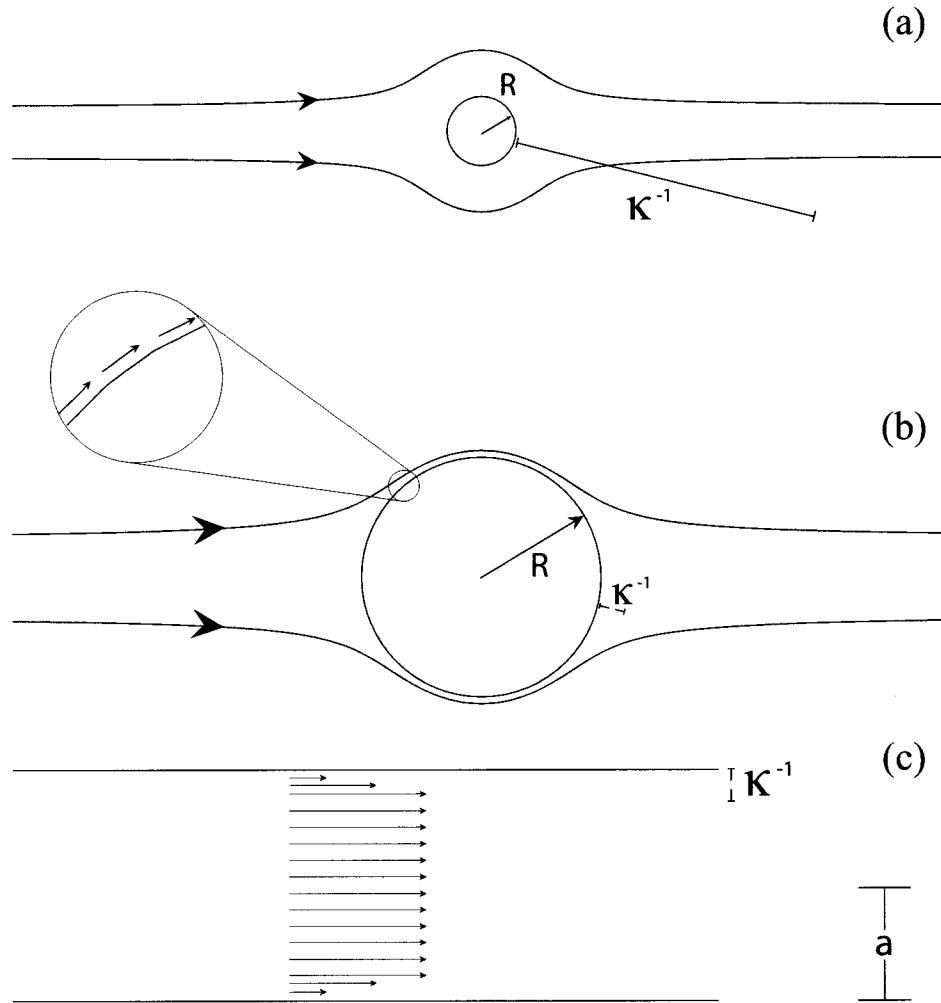


Figure 1.3 (a) Lignes de flux du fluide autour d'une sphère de rayon R lorsque $\kappa^{-1} \gg R$. (b) Lignes de flux du fluide autour d'une sphère de rayon R dans le cas où $\kappa^{-1} \ll R$. (c) Lignes de flux électroosmotique dans un tube de rayon a où $\kappa^{-1} \ll a$.

charge de surface. On peut voir que dans cette limite, la vitesse ne dépend pas explicitement de la charge (q) ni du rayon de la particule (R). Donc, deux particules de tailles différentes mais de même potentiel ζ ont la même vitesse. Dans ce cas, leur séparation n'est pas possible puisqu'une différence de vitesses est nécessaire pour séparer des particules par électrophorèse.

1.4 ADN

L'ADN est formé de deux colonnes de sucre-phosphate et de quatre bases : l'adénine (A), la cytosine (C), la guanine (G) et la thymine (T). Lorsque toutes ces bases sont assemblées

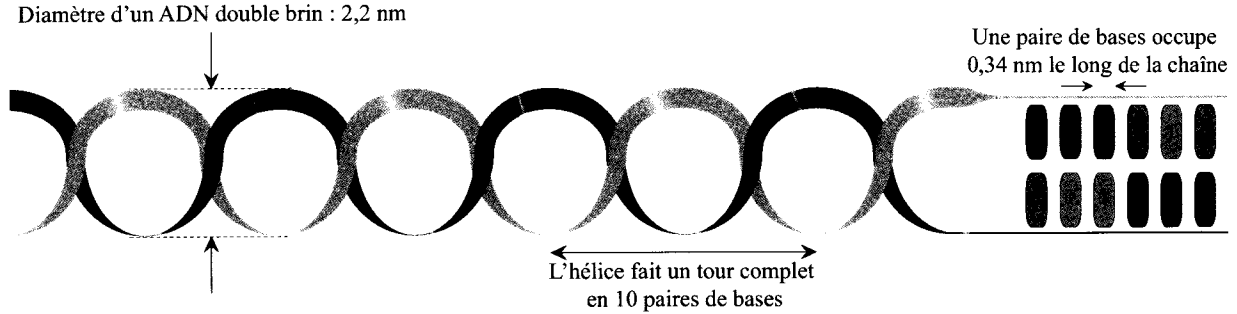


Figure 1.4 Schéma d'une chaîne d'ADN double-brin montrant des dimensions caractéristiques. À la droite, le dessin montre la chaîne déroulée pour montrer quelques paires de bases.

en une chaîne d'ADN, la structure finale forme une double hélice. La structure en double hélice de l'ADN a été découverte en 1953 par James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et Rosalind Franklin de l'Université Cambridge, à la suite d'expériences de diffraction de rayons X [16]. Cette découverte valut le prix Nobel de médecine et de physiologie de 1962 à Watson, Crick et Wilkins [17].

Les dimensions d'une chaîne d'ADN varient en fonction du type d'ADN. Par exemple, l'ADN double brin a un diamètre de $2,2 \text{ nm}$ tandis que l'ADN simple brin a un diamètre d'environ la moitié de celle du double brin, soit $1,1 \text{ nm}$. Chaque paire de base a une longueur de $0,34 \text{ nm}$ sur une chaîne double-brin, tandis que les bases occupent $0,43 \text{ nm}$ dans une chaîne simple brin. La double hélice fait un tour complet sur une distance d'environ 10 paires de bases. Ces dimensions sont illustrées à la Fig. 1.4.

En solution, l'ADN a tendance à former une structure aléatoire plus ou moins compacte selon le type de solvant. Pour des raisons liées à l'énergie libre, la chaîne d'ADN tend à avoir la conformation qui maximise son entropie et minimise la répulsion électrostatique entre ses bases, soit une structure de type marche aléatoire. Par comparaison avec la marche aléatoire sans volume exclu, pour laquelle la racine de la distance carrée moyenne entre chaque extrémité de la chaîne est donnée par l'expression

$$\sqrt{\langle h^2 \rangle} = N^{\frac{1}{2}} b, \quad (1.20)$$

où N le nombre de pas et b la longueur de chaque pas, il est possible de donner une loi d'échelle comparable pour une chaîne d'ADN. Toutefois, puisque la chaîne ne peut se croiser et que chaque brin a un diamètre non nul, on parle de marche aléatoire avec volume exclu,

ce qui empêche les segments d'être infiniment proches les uns des autres lorsque la chaîne se courbe. L'exposant dans la loi d'échelle peut donc être différent de celui d'une marche aléatoire :

$$\sqrt{\langle h^2 \rangle} \cong N^\nu b \quad (1.21)$$

où ν est appelé l'exposant de Flory [18]. La valeur de ν dépend du type de solvant dans lequel baigne le polymère. Dans un bon solvant, comme du toluène pour des chaînes de polystyrène, la chaîne a tendance à gonfler et on obtient $\nu = 0.59 \cong 3/5$. L'ADN prend aussi cette valeur pour des chaînes longues. Sous certaines conditions, il est possible que l'exposant de Flory prenne la valeur $\nu = 1/2$, comme pour la marche aléatoire dans l'Éq. 1.20. Dans ce cas, le solvant est appelé solvant θ . Un exemple de solvant θ est le cyclohexane à $34,5^\circ\text{C}$ pour des chaînes de polystyrène [19]. Dans un mauvais solvant, l'interaction est hydrophobe et la chaîne se contracte, ce qui implique que l'exposant prend une valeur plus petite que pour un solvant θ ($\nu \cong 1/3$). Un exemple de mauvais solvant est le méthanol pour les chaînes de polystyrène.

De façon à caractériser la taille d'une chaîne polymérique, on utilise souvent le rayon de giration qui nous donne l'étendue de la chaîne autour de son centre de masse :

$$R_g^2 = \frac{1}{N+1} \left\langle \sum_i (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_{cm})^2 \right\rangle \quad (1.22)$$

où \mathbf{r}_i est la position du i^{e} monomère et \mathbf{r}_{cm} est la position du centre de masse de la chaîne.

Pour déterminer l'interaction hydrodynamique d'une chaîne avec la solution, on définit aussi son rayon hydrodynamique moyen :

$$\frac{1}{R_H} = \frac{1}{N^2} \left\langle \sum_{i \neq j} \frac{1}{r_{ij}} \right\rangle, \quad (1.23)$$

où r_{ij} est la distance entre les monomères i et j sur la chaîne. La valeur moyenne est calculée en $1/r$ car l'interaction hydrodynamique entre deux brins de la chaîne décroît de cette façon, ce qui en fait une interaction à longue portée.

La loi d'échelle est conservée entre chacun de ces rayons caractéristiques :

$$\sqrt{\langle h^2 \rangle} \sim R_g \sim R_H \sim N^\nu. \quad (1.24)$$

Dans le cas où la chaîne est dite gaussienne, soit lorsque $R_g \sim N^{\frac{1}{2}}$, il existe des relations entre ces différentes dimensions caractéristiques d'une chaîne. Le rayon hydrodynamique et

la distance bout à bout sont reliés par $\frac{R_H}{\sqrt{\langle h^2 \rangle}} \approx 0,27$, le rayon de giration et le rayon hydrodynamique par : $\frac{R_H}{R_g} \approx 0,67$ [18].

La colonne de l'ADN lui procure une certaine rigidité, qui peut dépendre du type de solution dans laquelle elle est située. Pour définir cette rigidité, on parle de longueur de persistance. Supposons des vecteurs unitaires tangentiels à la chaîne situés à des positions s et s' le long de la chaîne. La moyenne du produit scalaire entre deux de ces vecteurs va décroître de façon exponentielle avec la distance entre ces segments ($|s - s'|$) [18] :

$$\langle \mathbf{u}(s) \cdot \mathbf{u}(s') \rangle = \exp\left(\frac{-|s - s'|}{L_p}\right) \quad (1.25)$$

où L_p est la longueur de persistance. Pour l'ADN double-brin, la longueur de persistance est d'environ 50 nm dans des conditions de tampon typiques. Cette valeur diminue à environ 5 nm pour de l'ADN simple brin. La longueur de Kuhn b_k , souvent utilisée, est directement reliée à la longueur de persistance : $b_k = 2L_p$. De plus, la longueur de Kuhn correspond à la grandeur du pas dans la marche aléatoire avec exclu, tel que nous le décrivons dans l'Éq. 1.20, ou avec volume exclu dans l'Éq 1.21.

Lorsque les fragments d'ADN sont rigides, semblables à des bâtons, la situation est différente. Les sections de la chaîne ne forment plus une marche aléatoire. En raison de la forte rigidité, les sections de chaînes vont s'aligner et former des fragments d'ADN quasi-linéaires. Dans ce cas, la distance au carré moyenne, pour un bâton de N segments de longueur b chacun, est triviale : $\sqrt{\langle h^2 \rangle} = Nb$. Le rayon de giration devient $R_g = \frac{Nb}{\sqrt{12}}$.

1.5 Électrophorèse de l'ADN en solution libre

Sous l'effet d'une force externe de type mécanique, comme la gravité lors de la sédimentation, la chaîne d'ADN va se déplacer et interagir avec le fluide environnant. En présence d'un liquide, une chaîne subira une force de friction. Une chaîne neutre ayant un rayon hydrodynamique R_H subira la même force de friction qu'une sphère rigide de même rayon :

$$F_{friction} = 6\pi\eta R_H v. \quad (1.26)$$

où η est la viscosité du fluide et v la vitesse de la chaîne dans le fluide. Cette situation est illustrée à la Fig. 1.5(a).

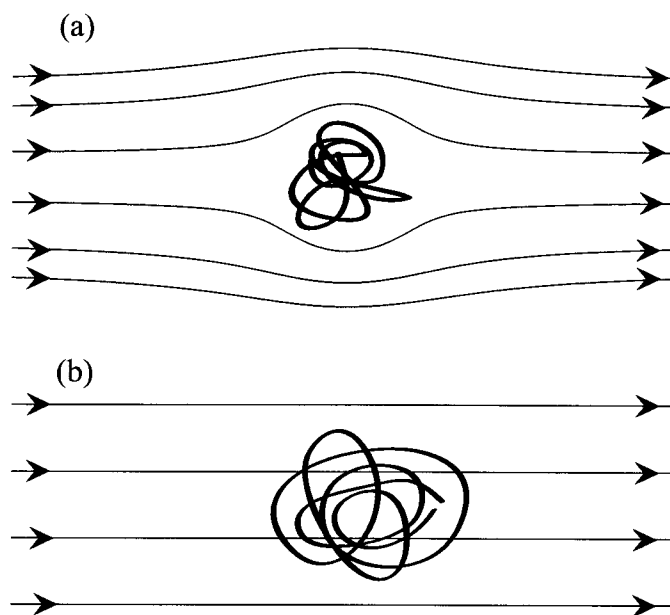


Figure 1.5 Chaîne imperméable (a). La chaîne se comporte comme une sphère rigide de rayon R_H . Avec le courant d'ions en direction opposée, le flux pénètre la chaîne, ce qui cause le drainage libre (b).

Lorsqu'une chaîne d'ADN est placée en solution aqueuse avec un sel, des ions positifs se détachent de la chaîne, ce qui fait en sorte que la chaîne devient chargée négativement et la solution tout autour devient chargée positivement. Un nuage de contre-ions va se former autour de la chaîne, de façon similaire à une particule en solution, ce qui a été décrit précédemment.

À partir d'une longueur d'environ 400 paires de bases, la mobilité des chaînes d'ADN devient constante lors de l'électrophorèse en solution libre. En présence d'un champ électrique, la chaîne chargée négativement est attirée par l'anode, tandis que les contre-ions positifs sont attirés par la cathode. L'effet de ces mouvements dans des directions opposées rend la chaîne perméable au flux lorsque $\lambda_D \ll R_g$, car les interactions hydrodynamiques entre les segments d'ADN éloignés sont écrantés. Dans ce cas, la friction ne s'applique plus globalement sur la chaîne, mais seulement sur les segments de chaîne. On parle alors de drainage libre. La force de friction sur chaque monomère est indépendante de la longueur de la chaîne car nous avons un équilibre force-friction local. Cette situation est présentée à la Fig. 1.5(b).

1.6 Électrophorèse de l'ADN dans un gel

Lors de l'électrophorèse en solution libre, la mobilité des chaînes devient indépendante de leur longueur, ce qui cause un problème pour la séparation. De façon à remédier à ce problème, il est possible d'introduire un gel comme support de séparation pour le tamisage, de façon à conserver des mobilités différentes selon la taille des chaînes. Le gel introduit est un matériau tridimensionnel semblable à des bâtons rigides entremêlés et réticulés. Ces bâtons forment une distribution de pores de tailles différentes. La distribution varie principalement en fonction de la concentration du gel.

Le comportement d'une chaîne d'ADN peut varier considérablement dépendamment de sa taille et de la concentration du gel. Les valeurs caractéristiques qui définissent les différents régimes sont principalement a (la taille moyenne des pores du gel), R_g (le rayon de giration de la chaîne d'ADN), et le rapport entre la taille moyenne des pores et la longueur de Kuhn $\frac{a}{b_k}$. Pour déterminer les limites des régimes, on se servira du rapport des deux premières valeurs : $\frac{R_g}{a}$. Aussi, nous nous limitons au cas où $a \gg b_K$.

En solution libre, tel que nous l'avons mentionné précédemment, la chaîne prend une forme approximativement sphérique. Dans un gel, la situation peut être différente. Dans le régime d'Ogston [20], tel que nous le présentons à la Fig. 1.6(a), lorsque $\frac{R_g}{a} < 1$, la concentration du gel est faible et les fibres de ce gel sont espacées au point où les collisions entre la chaîne et les fibres sont peu fréquentes. Sous de telles conditions, la chaîne garde sa forme approximativement sphérique, comme en solution libre, et le centre de masse de la chaîne se déplace en formant une marche aléatoire biaisée et en collisionnant occasionnellement avec les fibres du gel.

Si la concentration du gel augmente, la situation change. Comme nous l'avons mentionné précédemment, la chaîne tend à garder une conformation qui minimise son énergie libre. Cette conformation est possible dans les espaces moins denses du gel. Lorsque les obstacles forment une taille moyenne de pore semblable au rayon de giration, $\frac{R_g}{a} \cong 1$, la chaîne doit se déformer, ce qui réduit son entropie, afin de passer dans le canal pour se rendre au prochain endroit moins dense, soit le prochain pore. Un exemple est illustré à la Fig. 1.6(b). Le passage dans le canal implique que la chaîne surmonte une barrière entropique. On parle alors de régime de trappage entropique.

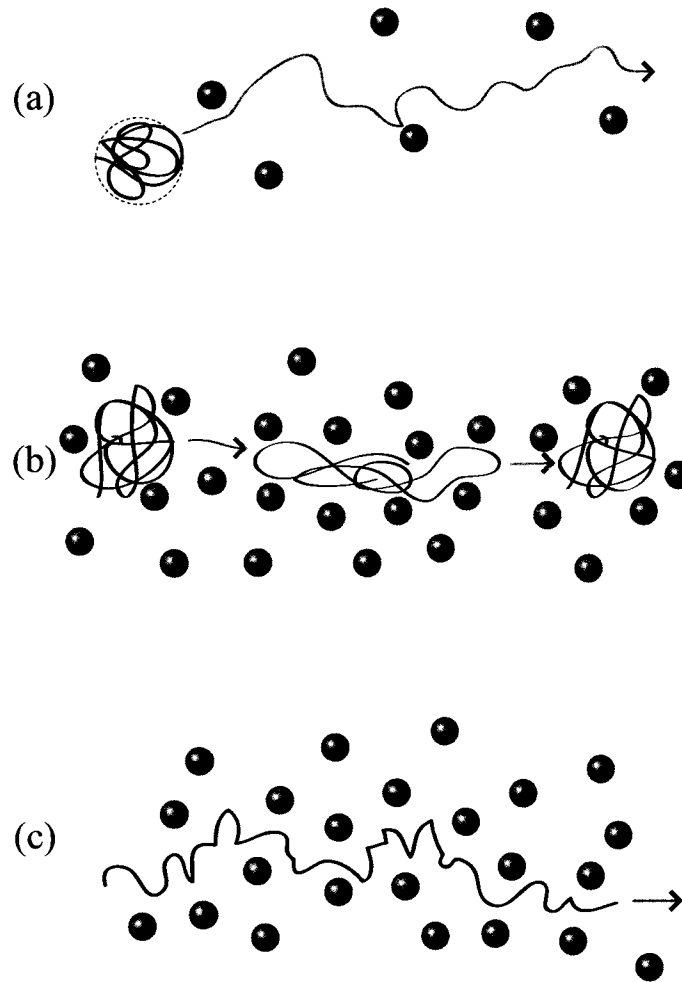


Figure 1.6 Représentation en deux dimensions des différents régimes d'électrophorèse pour un polyelectrolyte, tel que l'ADN, dans un gel. Les fibres du gel sont représentés en bleu. (a) Régime d'Ogston, (b) régime de trappage entropique et (c) régime de reptation. Dans chacun des cas, la chaîne se déplace de la gauche vers la droite.

Dans le régime dit de reptation, lorsque $\frac{R_g}{a} \gg 1$, la concentration du gel est telle que la chaîne est entremêlée dans les obstacles du gel, comme à la Fig. 1.6(c). Le déplacement de la chaîne est confiné à un tube de pores dans le gel et le mouvement est possible seulement longitudinalement à l'axe du tube.

1.7 Rochets

Un rochet est un appareil qui bloque le mouvement dans une direction, forçant le mouvement à continuer dans l'autre direction. L'exemple de rochet le plus connu est fort probablement l'outil mécanique utilisé pour visser et dévisser des écrous, nommé à bon escient «clé à rochets». Le mouvement appliqué sur l'outil est symétrique, mais le mouvement résultant sur l'écrou ne l'est pas. Cette idée de rochet pour avoir une force temporellement symétrique qui introduit un mouvement net dans une direction peut être appliquée à l'électrophorèse. Pour notre exemple ici, prenons l'électrophorèse de particules sphériques. Il est à noter que le principe de rochet peut aussi s'appliquer pour des chaînes d'ADN.

Le rochet, en électrophorèse, a pour but de créer un courant net de particules dans le système, mais sans y appliquer une force nette. Pour y arriver, le champ électrique appliqué doit avoir une moyenne nulle. La Fig. 1.7 présente deux signaux électriques de moyenne nulle. La sous-figure (a) montre un signal alternatif symétrique où les durées de chaque pulse t_i sont égales et les amplitudes de ces pulses E_i sont aussi égales, $t_1 = t_2$ et $E_1 = E_2$. La sous-figure (b) montre un second champ alternatif, aussi de moyenne nulle : $E_1 t_1 = E_2 t_2$. Ce second signal est appelé, en anglais, «Zero-integrated field electrophoresis» (ZIFE) [21], par référence à sa moyenne nulle et au fait qu'il n'introduit pas de force nette.

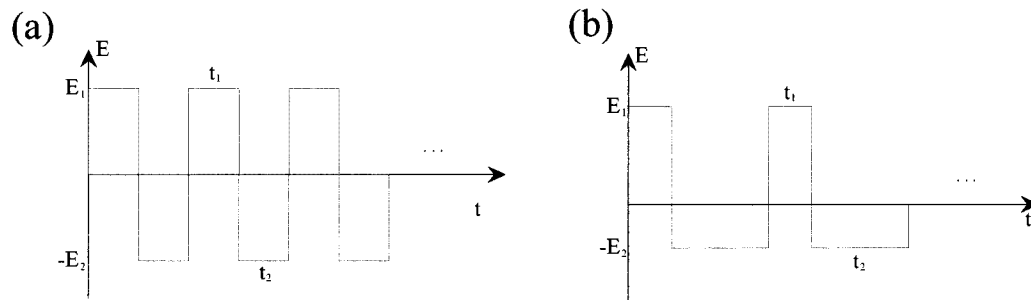


Figure 1.7 Différentes séquences d'impulsions électriques. (a) présente un signal symétrique : les temps dans chaque direction sont égaux, tout comme les amplitudes. (b) présente un signal asymétrique dont l'intensité moyenne est nulle.

Certains systèmes sont spatialement symétriques mais la vitesse est une fonction non-linéaire de l'amplitude du champ E . Il est alors possible d'utiliser un champ «ZIFE» pour générer un mouvement net qui peut dépendre de la taille de l'objet. D'autres systèmes sont spatialement asymétriques. Dans ce cas, un champ alternatif simple, comme celui à la Fig. 1.7(a), peut donner une vitesse nette.

Il serait possible d'avoir un régime où les particules d'une certaine taille se déplacent dans une direction alors que celles d'une taille différente se déplacent dans la direction opposée à la première. Ce phénomène peut être utile pour la séparation en continu, où l'échantillon est introduit dans le système à un endroit autre qu'une extrémité et les différentes espèces sont récoltées de différents côtés du système.

Chapitre 2

Recension des écrits

Ce chapitre présente les travaux effectués et publiés par d'autres groupes de recherche en rapport avec les principaux projets de cette thèse. La première partie présente les expériences et résultats de l'électrophorèse sur gel de particules sphériques lorsque des champs pulsés sont utilisés pour la séparation. Ces études se rapportent au projet présenté au chapitre 4 de cette thèse. Les études de To & Boyde sont d'abord présentées, suivies de deux études du groupe de Serwer. Dans la seconde partie de ce chapitre, deux études différentes sont présentées. La toute première est l'article de Han et de ses collègues dans lequel ils introduisent pour la toute première fois le système à l'étude dans le chapitre 5 de cette thèse. Suivra ensuite l'étude théorique de Laachi *et al.* sur la migration de chaînes rigides à champs électriques forts.

2.1 Électrophorèse sur gel de particules sphériques

Le gel utilisé dans l'électrophorèse, tel que nous l'avons mentionné dans la section 1.1, a d'abord été introduit pour limiter la convection créée dans un fluide suite à l'application d'un champ électrique. Ce gel sert aussi de tamis lors de l'électrophorèse. Le gel est un milieu tridimensionnel formé de fibres rigides, semblables à des bâtons, entremêlées. Pour la description du gel dans le cas de particules sphériques, nous allons représenter le gel en deux dimensions. De cette façon, les fibres du gel seront représentées par des cercles sur

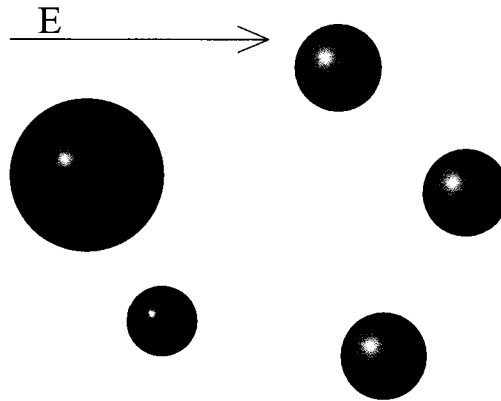


Figure 2.1 Deux particules de tailles différentes en rouge et vert, et trois obstacles représentant des fibres du gel en bleu. Les particules migrent de la gauche vers la droite. Lorsque le champ électrique est suffisamment fort, la plus grosse particule restera prise dans le piège formé par les obstacles, alors que la plus petite poursuivra son chemin car elle est plus petite que les pores du gel.

une surface plane, comme les cercles bleus à la Fig. 2.1. À champs forts, lorsque le champ électrique domine le mouvement aléatoire, les particules assez grosses pour piéger dans les culs-de-sac peuvent y rester très longtemps. Ce trappage à champs forts cause une diminution importante de la vitesse moyenne des particules.

Le gel, formé de fibres entremêlées aléatoirement, forme des pièges de différentes profondeurs et de différentes largeurs. Lors de l'électrophorèse sur gel de particules sphériques avec un champ constant, le trappage devient très important à champs forts. Pour sortir d'un piège formé par les fibres du gel, la particule doit bouger contre le champ par mouvement brownien. À champs forts, la force externe domine le mouvement brownien, ce qui repousse toujours la particule vers le fond du puits et fait diminuer la vitesse moyenne, pouvant aller jusqu'à une vitesse pratiquement nulle à champs très forts [22]. Pour éviter de coincer les particules dans un piège, différents types de signaux, autres que continu, peuvent être appliqués.

Une étude de l'effet des champs pulsés sur la mobilité de particules sphériques lors de l'électrophorèse sur gel a été publiée en 1993 par To & Boyde [23]. Bien que cette étude ait démontré une certaine utilité pour l'amélioration des vitesses des particules sphériques, une étude plus approfondie pourrait permettre des progrès additionnels. Par ailleurs, aucun effort de modélisation n'a tenté, à ce jour, d'expliquer ces résultats.

Dans leur étude des champs pulsés, To & Boyde utilisent deux signaux électriques

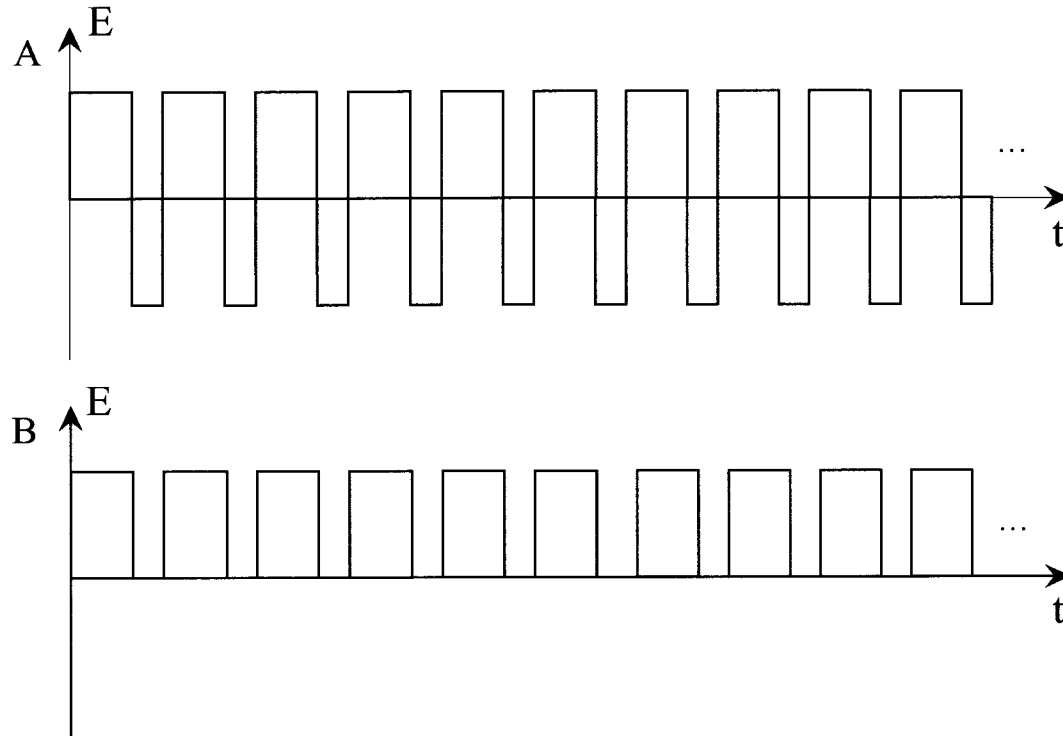


Figure 2.2 Diagrammes des signaux électriques utilisés dans l'étude des champs pulsés de To & Boyde. L'amplitude du champ E est montrée en fonction du temps t . (A) Un signal alterné dont le rapport entre le temps d'application du champ vers l'avant et le temps d'application vers l'arrière est fixé à 2. (B) Un champ interrompu. Un champ est appliqué pour une durée de 2 secondes alors qu'il est interrompu pour différentes durées.

différents, un alterné et l'autre interrompu, dans le but de diminuer le trappage lors de la séparation et ainsi d'augmenter les vitesses moyennes des particules de tailles différentes. Les deux signaux sont présentés à la Fig. 2.2. L'expérience de To & Boyde consiste à faire migrer des particules de polystyrène de 59 nm, 210 nm, 247 nm et 380 nm dans un gel d'agarose. La concentration d'agarose (% *poids/volume*), 0,4% ou 0,7% selon le cas, est telle que les plus petites particules ne piègent pas dans le gel. Puisque la particule de plus petite taille ne piège pas, la mobilité des autres tailles de particules peut être exprimée relativement à celle-ci. En procédant ainsi, plusieurs sources de variabilité expérimentales sont éliminées. Le premier signal appliqué aux particules est un signal alterné avec un rapport de durée dans la direction positive sur la durée dans la direction négative t_+/t_- de 2, et une amplitude de champ électrique de 1,8 V/cm dans un gel d'agarose de concentration 0,7%. La mobilité relative diminue à mesure que la durée de l'impulsion dans chaque direction est augmentée. Les mobilités relatives diminuent car la portion signal qui est vers l'arrière

nuit à la progression des particules. Les particules voyagent une trop grande distance vers l'arrière. Il faut aussi noter qu'une fréquence trop élevée ne permettra pas aux particules de sortir des pièges. Dans leurs résultats, il semble y avoir un maximum dans la mobilité mais la précision de leurs mesures ne permet aucune conclusion sur ce sujet. Leurs expériences n'explorent aucun autre rapport de durée. Le second signal utilisé par To & Boyde est un signal interrompu. Un champ de $1,8 \text{ V/cm}$ est appliqué pendant 2 secondes et est interrompu pour différentes périodes de temps. La mobilité relative augmente avec l'augmentation du temps d'interruption. La raison est similaire à celle du premier signal. Pour sortir du piège, la particule bouge par mouvement brownien, et une durée plus longue permet à une particule dans un piège plus creux de sortir. Finalement, ces deux signaux ne sont pas optimaux car en augmentant leur période, ils ajoutent du temps de recul ou du temps immobile qui nuit à la progression vers l'avant.

Par la suite, en 1998 et toujours pour des particules sphériques, Serwer et Griess [22] ont adapté des champs pulsés en électrophorèse pour l'amélioration de la séparation de particules de différentes tailles. Leur étude débute en étudiant la mobilité de particules sphériques qui diminue lorsque la concentration du gel d'électrophorèse augmente. À champs forts, les particules piègent à l'entrée du gel et le mouvement brownien disparaît, d'après des observations au microscope. Ils exploitent la capacité des plus grosses particules à piéger plus facilement dans un gel sous un champ fort pour faire migrer ces particules dans une direction alors que les plus petites voyagent dans la direction opposée. Les plus grosses particules vont bloquer à un champ plus faible que les petites. L'idée est d'appliquer un champ électrique dans la direction positive qui permet aux petites particules d'avancer alors que les plus grosses restent prises dans les fibres du gel. Ensuite, un champ d'amplitude plus faible que le premier, est appliqué dans la direction opposée au premier, et les deux tailles de particules reculent. Les grosses particules vont avoir un déplacement net vers la direction négative. Dans leur étude, pour que les plus petites particules aient un déplacement net dans la direction positive, le signal doit aussi être biaisé dans cette direction.

Dans un article subséquent, les auteurs Griess, Rogers et Serwer [24] ont répété l'expérience de séparation de sphères avec un signal alterné basé sur le principe du rochet, mais cette fois pour la séparation de particules plus petites, soit de l'ordre de 30-50 nm. L'étude précédente portait seulement sur des sphères de rayon plus grand que 95 nm. Pour permettre aux particules de piéger, le gel a été altéré, ce qui permettait une plus grande hétérogénéité

de pièges, et par conséquent, une plus grande distribution de pièges potentiels. Sous ces conditions, trois tailles de particules ont été séparées : 10,5 nm, 30 nm et 50 nm. Leurs résultats montrent que les deux plus grosses particules ont migré dans la direction négative. Elles trappaient donc lors de l'application du champ fort, ce qui en font des particules «grosses» pour le gel. Les particules de taille égale à 10,5 nm ont quant à elles migré dans la direction positive, soit dans la direction du champ fort.

Le premier des projets principaux présentés dans cette thèse porte sur la modélisation bidimensionnelle du processus de trappage et de détrappage lors de l'électrophorèse de particules sphériques. La modélisation numérique de ce processus n'a jamais été réalisée jusqu'à maintenant. Afin de tirer profits de la symétrie sphérique des particules, qui permet d'accélérer les simulations, le gel est modélisé en deux dimensions. De ce fait, les fibres du gel se limitent donc à des obstacles circulaires. De la même façon, les particules sphériques en deux dimensions deviennent des cercles. Pour simuler un tel système, nous utilisons une méthode Monte Carlo sur réseau où les fibres du gel apparaissent comme des obstacles carrés impénétrables et les particules sont des carrés qui se promènent sur le réseau entre les obstacles. La méthode Monte Carlo détaillée sera présentée à la section 3.1. Le projet se sépare en deux parties. Tout d'abord, nous utilisons des réseaux d'obstacles simples qui reproduisent suffisamment bien la dynamique connue de l'électrophorèse de particules et nous optimisons le signal électrique alterné pour déterminer le rapport optimal entre le temps d'application du champ vers l'avant et celui vers l'arrière, $\frac{t_+}{t_-}$. Nous optimisons les vitesses pour les tailles de particule, mais aussi des mesures combinées de ces deux vitesses. Dans la seconde partie de ce projet, nous présentons deux nouveaux signaux, tous les deux aléatoires, dans le but d'optimiser l'amplitude des vitesses ou la séparation en optimisant la différence des vitesses. Comme nous le constaterons, il n'est pas facile de trouver des séquences de pulses qui améliorent considérablement la séparation.

2.2 Séparation de brins d'ADN courts et rigides dans un système microfluidique

Tout au long de la décennie suivant 1990, la technologie utilisée quarante ans plus tôt pour les circuits intégrés est adaptée pour la construction des capillaires d'électrophorèse et des micro-réseaux pour la séparation de l'ADN, de biomacromolécules et même de cellules

entières. Par un processus de lithographie, un système de petits réseaux peut être sculpté dans du silicone ou du verre. Les dimensions du réseau, comme l'épaisseur de la région de constriction, peuvent atteindre des tailles plus petites que le rayon de giration d'une molécule d'ADN.

Dans un article publié en 1999, Han *et al.* [1] ont présenté un système microfluidique imitant un gel qui n'a que deux tailles de pore : la hauteur du puits et la hauteur du canal. Un schéma représente le système à la Fig. 2.3. Puisque ce système est non aléatoire comme un gel, le système peut avoir des dimensions spécifiques au choix de l'équipe de recherche. Dans l'expérience de Han *et al.*, le système est formé d'une région profonde dont les dimensions sont plus grandes que les rayons de giration des chaînes d'ADN étudiées, ce qui permet aux chaînes de se relaxer et de prendre une conformation semblable à une chaîne libre. La région étroite, semblable à un canal, est beaucoup plus petite, ce qui force les longues chaînes d'ADN à se déformer et s'étirer pour traverser. Le mouvement de la chaîne est affecté par les collisions avec le mur vertical séparant la partie profonde et la partie mince du système. Le résultat principal de leur étude est que les chaînes plus longues traversent le système plus rapidement. Ce résultat s'explique par la plus grande surface efficace des chaînes plus longues face au mur et à l'entrée du canal. Les chaînes plus longues présentent une plus grande possibilité de former des bras dans le canal, où chaque bras a la possibilité de faire traverser la chaîne dans la prochaine section du système.

Huit ans plus tard, en 2007, Laachi *et al.* [2] publiaient un article sur le transport hors-équilibre de bâtons rigides dans un système de nano-réseaux identiques à celui de Han *et al.* Leurs résultats prédisent que pour des bâtons dont la longueur de contour est comparable à la taille du canal (d), les bâtons plus longs vont s'échapper plus rapidement dans le canal que les courts. Leur étude se sépare en deux parties. Premièrement, ils éliminent la possibilité que le bâton garde son orientation lors de la sortie du canal jusqu'à l'entrée du prochain en estimant le champ électrique nécessaire pour que le temps du trajet soit inférieur au temps nécessaire au bâton pour tourner par diffusion à une configuration qui le fera bloquer. Pour que ce bâton puisse entrer dans le canal, son orientation selon l'axe des x , soit l'angle ϕ , doit être inférieure à une valeur critique $\phi_{max}(y)$, qui sera maximale à la mi-hauteur du canal. Une illustration de cet angle maximal est présentée à la Fig. 2.4. Selon les approximations de Laachi *et al.* basées sur la longueur de l'ADN ($\sim 100\text{ nm}$) et les dimensions du système, le champ nécessaire pour empêcher le bâton de pouvoir s'orienter

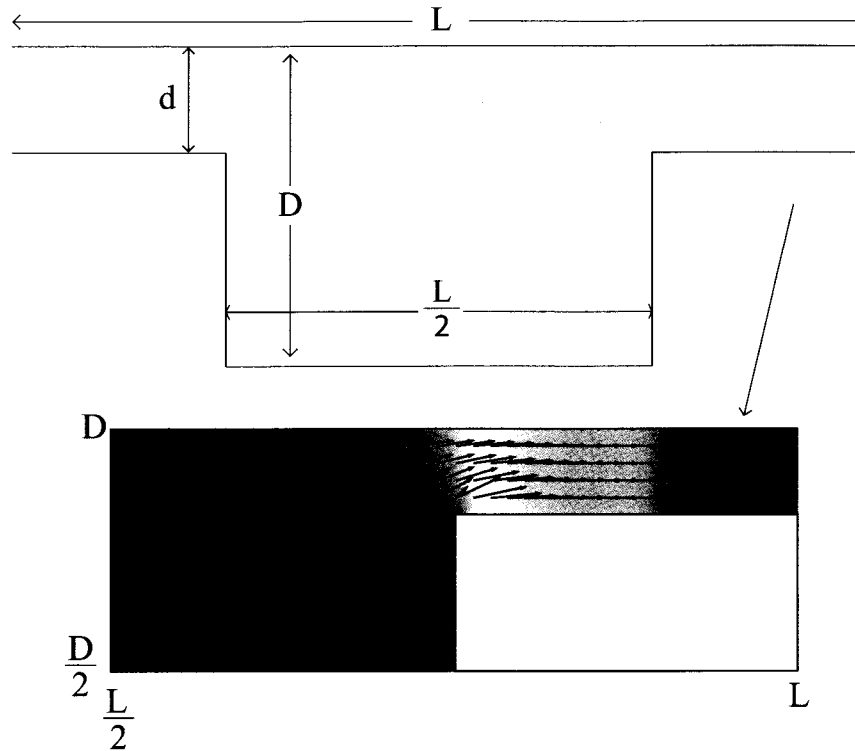


Figure 2.3 Schéma montrant une coupe transversale du système tridimensionnels introduit par Han [1] et étudié par Laachi *et al* [2]. Le système est périodique dans la direction de migration, soit de la gauche vers la droite. Les dimensions du système respectent le rapport $\delta = \frac{d}{D} = \frac{1}{5}$. Le potentiel électrique appliqué au système est représenté en couleur en dessous. Superposées au potentiel se trouvent les flèches indiquant la direction et l'amplitude du champ électrique causé par l'application de la différence de potentiel. La section représentée correspond à la section ombragée du système du dessus et a été agrandie. Le système étant symétrique, les lignes de champ sont les mêmes dans la moitié gauche mais dans la direction opposée.

dans une configuration problématique est de l'ordre de 50 000 V/cm, bien au-delà des valeurs atteignables expérimentalement.

Puisque le brin d'ADN a le temps de tourner dans une configuration le bloquant à l'entrée du canal, il doit retrouver une configuration non-problématique lors de sa translation vers le prochain canal, et cette rotation ne vient pas seulement de la diffusion rotationnelle. Il existe deux phénomènes de transport faisant tourner le bâton avant son arrivée au canal suivant. Le premier est la diffusion de rotation qui le tourne dans une configuration aléatoire¹.

1. Par analogie avec le coefficient de diffusion habituel, le coefficient de diffusion rotationnelle est défini par :

$$D_{\theta} = \frac{\langle (\Delta\theta)^2 \rangle}{\Delta t}.$$

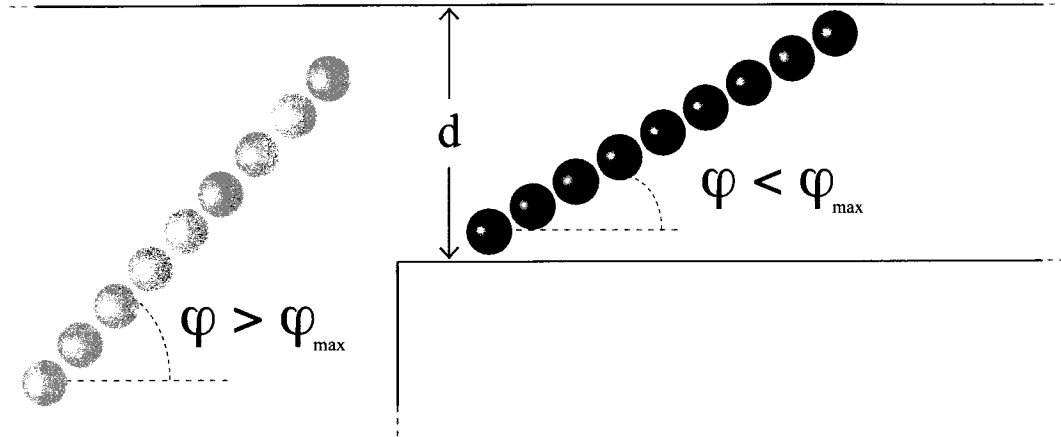


Figure 2.4 Illustration de la section de constriction dans le système sous étude. Lorsque la chaîne a un angle supérieur à la valeur maximale, elle ne peut pas entrer dans le canal sans se réorienter. Pour pouvoir y entrer, l'angle de la chaîne par rapport à l'horizontale doit être inférieur à la valeur maximale.

Le second est le moment de force causé par le champ électrique près de l'entrée du canal qui tournera le bâton dans une configuration favorable. Selon Laachi *et al.*, ce moment de force serait causé par le gradient de champ électrique près de l'entrée du canal.

La motivation derrière le deuxième article de cette thèse est de prouver l'existence du moment de force sur les bâtons d'ADN, et de vérifier si ce moment de force favorise l'entrée dans le canal des bâtons plus longs. De plus, nous étudierons les trajectoires de ces bâtons afin de déterminer l'origine des différences de temps pour traverser le système. Le système utilisé pour cet article est modélisé en deux dimensions. Tout d'abord, en utilisant un système bidimensionnel, l'étude de l'orientation du bâton et du moment de force causé par le champ électrique se trouve facilitée. De plus, une étude future permettrait de comparer l'efficacité de la séparation avec notre modèle 2D. Un système réel s'approchant de notre système 2D serait possible à construire. Il serait aussi intéressant de voir les différences avec un système en 3D. Nous simulons notre modèle en utilisant la dynamique moléculaire sans électrostatique ni interaction hydrodynamique explicite. Nous tentons de garder le modèle le plus simple possible puisqu'il s'agit d'une toute première étude numérique représentant un test explicite de la théorie du moment de force. Notre étude porte tout d'abord sur le test explicite de l'énoncé de Laachi *et al.* [2] à propos du moment de force sur les bâtons qui favorise l'entrée des bâtons plus longs dans le canal à champs forts.

Chapitre 3

Méthodologie

3.1 Solution exacte de systèmes Monte-Carlo sur réseau

La dernière partie de la section 2.1 présente le projet qui a mené au premier article sans donner de détails sur la méthode utilisée. Cette section a pour but de présenter la méthode de simulation utilisée.

Puisque la dynamique de diffusion et de piègeage en deux dimensions est semblable à celle en trois dimensions et que les simulations numériques sont significativement plus rapides, nous avons choisi de modéliser le système en deux dimensions. Pour ce faire, nous devons aussi modéliser le gel en deux dimensions. Dans la réalité tridimensionnelle, un gel d'électrophorèse est semblable à un arrangement aléatoire de fibres rigides réticulées. Lorsque nous éliminons une dimension, nous devons changer les fibres du gel. En se limitant à un plan, les fibres rigides en trois dimensions qui formaient des cylindres rigides deviennent des cercles rigides en deux dimensions. Le rayon de ces cercles est donc le même que celui des fibres qui forment le gel.

Pour réaliser les simulations, la méthode Monte-Carlo a été choisie pour des raisons de rapidité de calculs. Aussi, cette méthode reproduit bien la diffusion de particules par mouvement brownien [25]. Il y a de ça plusieurs années, notre groupe de recherche a développé une méthode de calcul qui permet d'obtenir la vitesse moyenne exacte d'une particule lors de simulations Monte-Carlo sur réseau [26, 27]. Cette méthode est celle utilisée pour nos

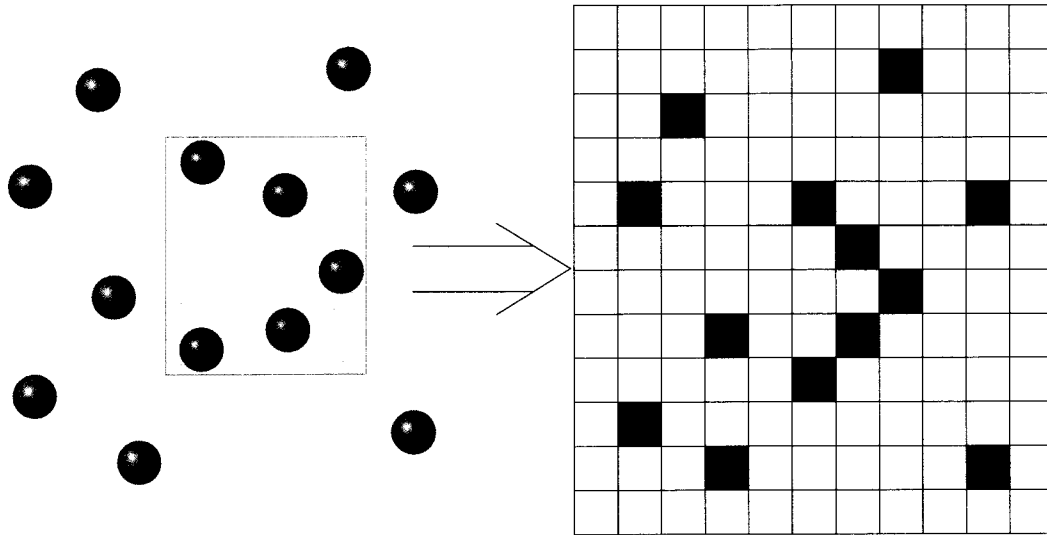


Figure 3.1 Le gel aléatoire (gauche) est substitué par des obstacles impénétrables (en noir sur la figure) sur un réseau carré. Le système est périodique selon les deux dimensions. Le rectangle gris dans la partie gauche met en évidence un cul-de-sac. Ce cul-de-sac a été recréé dans le réseau de droite.

simulations. Pour simuler un gel d'électrophorèse, nous allons d'abord représenter la distribution d'obstacles aléatoires par des obstacles impénétrables sur un réseau carré, tel que nous le présentons à la Fig. 3.1, avec des conditions aux frontières périodiques selon les deux dimensions. La taille du pas du réseau a est choisie telle que la plus petite particule simulée occupe un site, donc une particule de diamètre a . De plus, on impose aux fibres un rayon de a . Le réseau étant discrétisé, les sauts d'un site à un autre sont discrétisés, et des probabilités leur sont associées. La position de la particule est limitée au centre d'un site sur le réseau.

Lorsqu'aucune force externe n'est présente, les probabilités de sauter d'un site vers un de ses 4 premiers voisins est simplement $1/4$. En électrophorèse, la force externe présente est la force électrique, qui dépend de la charge de la particule et du champ électrique. Dans nos simulations, nous traitons un champ électrique non-dimensionnalisé, ε , qui est défini à l'aide des paramètres fondamentaux du problème :

$$\varepsilon = \frac{qEa}{2k_B T}, \quad (3.1)$$

où q est la charge totale de la particule, E est le champ électrique, a est le pas du réseau, k_B est la constante de Boltzmann et T est la température du système. Cela signifie que pour deux particules de charges différentes sous un même champ électrique, la force sera différente. Dans nos simulations, nous supposons que chaque particule a la même charge

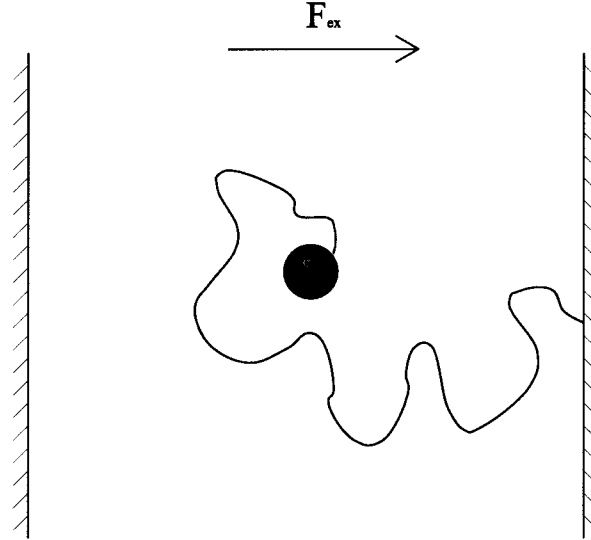


Figure 3.2 Les probabilités de saut et le temps moyen d'un saut correspondent aux probabilités d'une particule d'atteindre un des murs et le temps pour atteindre ce mur sous l'effet simultané de la diffusion et d'une force externe F_{ex} lorsque cette particule est initialement à distance égale des murs.

pour simplifier.

En une dimension, en absence de champ, la probabilité de saut est égale dans les deux directions ($p_{\pm}(\varepsilon = 0) = 1/2$) et le temps moyen de transition est τ_B . Ce temps moyen est défini en fonction de la taille du réseau et le coefficient de diffusion D de la particule en solution libre : $\tau_B = \frac{a^2}{2D}$. Dans le cas où la marche aléatoire est biaisée par une force externe ε , les probabilités de saut et le temps moyen pour faire un saut viennent d'un problème de premier passage d'une particule diffusant entre deux frontières absorbantes[28]. Un schéma présente cette situation à la Fig. 3.2. Les probabilités de saut sont [29] :

$$p_{\pm}(\varepsilon) = \frac{1}{1 + e^{\mp 2\varepsilon}} \quad (3.2)$$

et le temps moyen d'une transition est :

$$\tau(\varepsilon) = \frac{\tanh(\varepsilon)}{\varepsilon} \tau_B. \quad (3.3)$$

On note que la vitesse est alors

$$v = \frac{(p_+ - p_-) a}{\tau} = \varepsilon \frac{a}{\tau_B}, \quad (3.4)$$

comme il se doit pour une particule en solution libre.

On peut combiner les résultats de sauts en une dimension pour avoir les probabilités de sauts en deux dimensions, valides pour un champ électrique fort. Le nombre de sauts par unité de temps, avec un champ externe appliqué selon l'axe positif des x , est donnée par :

$$\eta_{\pm x} = \frac{p_{\pm}(\varepsilon)}{\tau(\varepsilon)} = \frac{1}{1 + e^{\mp 2\varepsilon}} \frac{\varepsilon}{\tanh \varepsilon} \frac{1}{\tau_B} \quad (3.5)$$

$$\eta_{\pm y} = \frac{p_{\pm}(\varepsilon = 0)}{\tau_B} = \frac{1}{2\tau_B}$$

Le nombre total de sauts par unité de temps est donné par :

$$\eta = \eta_{+x} + \eta_{-x} + \eta_{+y} + \eta_{-y}. \quad (3.6)$$

Définissons T comme étant le temps moyen entre chaque saut dans n'importe quelle direction :

$$T = \frac{1}{\eta}. \quad (3.7)$$

Les probabilités de saut en deux dimensions avec un champ externe fort sont données par le nombre de sauts par unité de temps multiplié par le temps moyen entre chaque saut :

$$p_{\pm x}(\varepsilon) = \eta_{\pm x} T = \frac{1}{(1 + e^{\mp 2\varepsilon}) (1 + \tanh(\varepsilon)/\varepsilon)} \quad (3.8)$$

$$p_y(\varepsilon) = \eta_{\pm y} T = \frac{1}{2(1 + \varepsilon \coth(\varepsilon))}$$

Le temps moyen d'un saut en deux dimensions est :

$$\tau(\varepsilon) = \frac{\tau_B}{1 + \varepsilon \coth(\varepsilon)}. \quad (3.9)$$

Jusqu'ici, la méthode décrite n'est pas spécifique à la méthode exacte, mais générale aux simulations Monte-Carlo sur réseau. Avec les probabilités de l'Éq. 3.8, il est possible d'initialiser le système avec la particule sur un site libre et de lui faire faire des sauts selon le résultat d'un générateur de nombres aléatoires et les probabilités obtenues précédemment. Ce procédé requiert un certain temps pour avoir un échantillon statistique suffisamment grand.

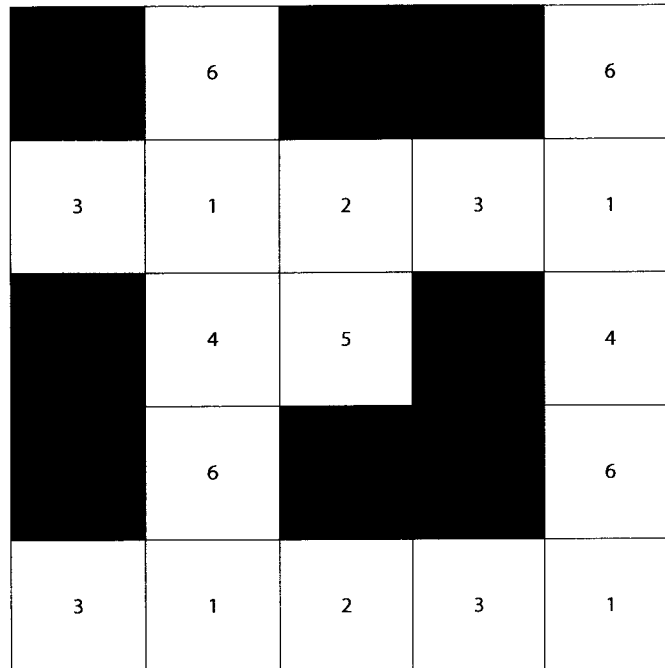


Figure 3.3 Réseau utilisé pour la description de la méthode. Le système consiste en un réseau 3×3 situé au centre de cette figure. Les sites tout autour du réseau 3×3 représentent les conditions aux frontières périodiques.

Une autre possibilité est de résoudre le système Monte-Carlo pour obtenir la vitesse moyenne exacte de la particule sur le réseau. Cette méthode peut s'appliquer aux algorithmes de marche aléatoire biaisée sur réseau si on utilise des conditions aux frontières périodiques. La vitesse moyenne lorsque la marche aléatoire est non-biaisée ($\varepsilon = 0$) et que le système est isotrope est simplement zéro car aucune direction n'est alors privilégiée. Par contre, la mobilité n'est pas nulle dans cette limite.

Prenons, à titre d'exemple, le réseau présenté à la Fig. 3.3, avec une particule qui occupe seulement un site (1×1). Tout d'abord, chaque site libre du réseau est numéroté. Aussi, on définit un vecteur \vec{n} qui contient les probabilités d'occupation de chaque site. Si on choisit un site en particulier dans le système de la Fig. 3.3, par exemple le site numéroté 2, les possibilités de se rendre sur ce site au temps $t + \tau$ sont, selon un système cartésien, d'être en position 1 et sauter en $+x$, être en position 3 et sauter en $-x$, être en position 5 en sauter en $+y$ ou être en position 2 et sauter en $+y$ (ce qui nous ramène en position 2 à cause de l'obstacle impénétrable sur lequel la particule «rebondit»). Sous forme d'équation, on aurait :

$$n_2(t + \tau) = p_{+x}n_1(t) + p_{-x}n_3(t) + p_{+y}n_5(t) + p_{+y}n_2(t). \quad (3.10)$$

Si on généralise cette approche sous forme de matrice, on obtient que chaque élément $A_{i,j}$ représente la somme des probabilités des sauts possibles du site i au site j . La forme générale de la matrice A est donc :

$$A = \begin{bmatrix} 1 \rightarrow 1 & 2 \rightarrow 1 & \cdots & n \rightarrow 1 \\ 1 \rightarrow 2 & 2 \rightarrow 2 & \cdots & n \rightarrow 2 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 \rightarrow n & 2 \rightarrow n & \cdots & n \rightarrow n \end{bmatrix}. \quad (3.11)$$

La matrice de transfert A décrit la façon dont le système passe d'un état à un autre à la suite d'un saut. Dans le cas de l'exemple présenté à la Fig. 3.3, la matrice A serait :

$$A = \begin{bmatrix} 0 & p_{-x} & p_{+x} & p_{+y} & 0 & p_{-y} \\ p_{+x} & p_{+y} & p_{-x} & 0 & p_{+y} & 0 \\ p_{-x} & p_{+x} & p_{+y} + p_{-y} & 0 & 0 & 0 \\ p_{-y} & 0 & 0 & p_{-x} & p_{-x} & p_{+y} \\ 0 & p_{-y} & 0 & p_{+x} & p_{+x} + p_{-y} & 0 \\ p_{+y} & 0 & 0 & p_{-y} & 0 & p_{+x} + p_{-x} \end{bmatrix}. \quad (3.12)$$

La matrice de transfert A est construite à partir des probabilités de saut en deux dimensions obtenues plus haut.

En utilisant la matrice de transfert A sur un état au temps t , l'état après un temps de τ est obtenu. En utilisant la notation *bra* et *ket* de Dirac [30], cela nous donne :

$$A |n(t)\rangle = |n(t + \tau)\rangle. \quad (3.13)$$

Dans l'état stationnaire, la situation ne change plus en fonction du temps, donc $|n(t + \tau)\rangle = |n(t)\rangle \equiv |n\rangle$. Le système d'équations à résoudre est alors :

$$A |n\rangle = |n\rangle \quad (3.14)$$

où $|n\rangle$ est le vecteur contenant les probabilités de présence sur chaque site libre du réseau dans l'état stationnaire. Le problème de vecteur propre avec une valeur propre de 1 peut être résolu pour obtenir les probabilités de présence sur chaque site contenu dans le vecteur $|n\rangle$.

Un système comme celui-ci doit être résolu numériquement, ce qui est possible en utilisant peu de ressources et de temps, même pour des matrices énormes.

En utilisant une méthode numérique, comme l'élimination Gaussienne [31], l'état $|n\rangle$ des probabilités de présence sur chaque site peut être calculé. La vitesse moyenne de la particule lorsqu'elle est sur le site i est donnée par :

$$v_i = \frac{a(p_{+x}L_+ - p_{-x}L_-)}{\tau(\varepsilon)} \quad (3.15)$$

où $L_{\pm} = 1$ si aucun obstacle n'est présent dans cette direction et $L_{\pm} = 0$ dans le cas contraire. La vitesse moyenne globale de la particule sur le réseau est obtenue en calculant le produit scalaire entre le vecteur de vitesses $\langle v |$ et le vecteur de probabilités de présence sur chaque site $|n\rangle$:

$$\langle V_{DC} \rangle = \langle v | n \rangle. \quad (3.16)$$

Terminons l'exemple de la Fig. 3.3, avec un champ $\varepsilon = 0,5$. Les probabilités de saut et le temps moyen d'un saut sont données dans le tableau 3.1.

	Valeur
p_{+x}	0,3799
p_{-x}	0,1398
$p_{\pm y}$	0,2402
$\tau(\varepsilon)$	0,4803 τ_B

Table 3.1 Probabilités de saut et temps moyen d'un saut pour un champ $\varepsilon = 0,5$.

Avec un champ de $\varepsilon = 0,5$, la matrice A devient :

$$A = \begin{bmatrix} 0 & 0,1398 & 0,3799 & 0,2402 & 0 & 0,2402 \\ 0,3799 & 0,2402 & 0,1398 & 0 & 0,2402 & 0 \\ 0,1398 & 0,3799 & 0,4803 & 0 & 0 & 0 \\ 0,2402 & 0 & 0 & 0,1398 & 0,1398 & 0,2402 \\ 0 & 0,2402 & 0 & 0,3799 & 0,6201 & 0 \\ 0,2402 & 0 & 0 & 0,2402 & 0 & 0,5197 \end{bmatrix} \quad (3.17)$$

Le vecteur de probabilités calculé par élimination Gaussienne est :

$$|n\rangle = \begin{bmatrix} 0,1532 \\ 0,1828 \\ 0,1748 \\ 0,1188 \\ 0,2344 \\ 0,1360 \end{bmatrix}. \quad (3.18)$$

Le vecteur contenant les vitesses sur chaque site est, en prenant $a = 1$ et $\tau_B = 1$:

$$\langle v| = \left[\frac{(p+x-p-x)}{\tau(\varepsilon)} \quad \frac{(p+x-p-x)}{\tau(\varepsilon)} \quad \frac{(p+x-p-x)}{\tau(\varepsilon)} \quad \frac{p+x}{\tau(\varepsilon)} \quad \frac{-p-x}{\tau(\varepsilon)} \quad 0 \right] \quad (3.19)$$

$$= [0,5 \quad 0,5 \quad 0,5 \quad 0,7910 \quad -0,2910 \quad 0] \quad (3.20)$$

La vitesse moyenne, toujours pour un champ continu, est donnée par le produit scalaire des vecteurs $\langle v|$ et $|n\rangle$:

$$\langle V_{DC} \rangle = \langle v | n \rangle = 0,2812 \frac{a}{\tau_B}. \quad (3.21)$$

La méthode qui vient d'être décrite pour un champ DC peut être généralisée pour un champ qui dépend du temps [3]. La condition principale qui limite le champ est qu'il doit être périodique. Aussi, le signal doit être exprimé en multiples de l'impulsion de durée minimale $\tau(\varepsilon)$. Le système au temps initial est dans l'état $|n_1\rangle$. L'état suivant peut être obtenu en multipliant A à $|n_1\rangle$:

$$|n_2\rangle = A |n_1\rangle \quad (3.22)$$

Il en est de même pour tous les états suivants :

$$|n_k\rangle = A^{k-1} |n_1\rangle \quad (3.23)$$

Pour un signal alternatif ayant comme amplitude ε_+ et ε_- , nous obtiendrons les matrices de transfert A_+ et A_- pour chaque valeur de champ. Pour un signal constitué de n impulsions de champ positif et m impulsions de champ négatif consécutives, l'équivalent en matrices est :

$$|n_{n+m+1}\rangle = A_-^m A_+^n |n_1\rangle \quad (3.24)$$

Puisque le signal est périodique après $n + m$ impulsions, nous aurons, dans l'état stationnaire :

$$|n_{n+m+1}\rangle = |n_1\rangle. \quad (3.25)$$

Nous avons maintenant un problème de vecteurs propres car l'état initial est inconnu, comme à l'Éq. 3.14 :

$$A_-^m A_+^n |n_1\rangle = |n_1\rangle \quad (3.26)$$

Tel que nous l'avons mentionné pour un champ continu, il est possible de résoudre le problème aux vecteurs propres. Dans le cas du champ alterné, le premier état, $|n_1\rangle$ sera obtenu. Tous les autres états peuvent être obtenus à l'aide des matrices A_+ et A_- . Afin de calculer la vitesse moyenne globale, il faut d'abord calculer la vitesse moyenne après chaque impulsion du signal. La vitesse moyenne au temps t_j est donné en sommant la probabilité de présence multipliée par la vitesse locale :

$$\langle v(t_j) \rangle = \sum_i v_i n_i(t_j) \quad (3.27)$$

La vitesse moyenne globale est obtenue en calculant la distance parcourue pendant une période du signal et en divisant par la période du signal :

$$\langle V_{AC} \rangle = \frac{\sum_{j=1}^J \langle v(t_j) \rangle \times \tau(\varepsilon_j)}{\sum_{j=1}^J \tau(\varepsilon_j)} \quad (3.28)$$

où $J = n + m$ est le nombre total de pulses élémentaires dans la séquence.

3.2 Simulation de dynamique moléculaire

Dans le projet menant au deuxième article présenté dans cette thèse, nous simulons des brins d'ADN rigides dans un système microfluidique. Afin de simplifier les calculs, et puisqu'il s'agit d'une étude visant à explorer la dynamique de l'ADN dans un tel système, nous avons choisi de ne pas inclure explicitement d'interactions hydrodynamiques ni électrostatiques. Pour simuler de l'ADN, nous devons faire quelques approximations car inclure explicitement toutes les bases, les sucres et la colonne de phosphate qui composent l'ADN rendrait les simulations beaucoup trop longues. En faisant les approximations nécessaires, nous pouvons

nous concentrer sur la dynamique qui nous intéresse. Dans nos simulations, nous approximations des brins d'ADN par des chaînes de sphères rigides interreliées par un potentiel semblable à une bande élastique de longueur d'étirement finie. Chaque bille remplace un regroupement d'atomes de la chaîne.

Pour imiter l'interaction de sphères dures, le potentiel de Lennard-Jones a été utilisé :

$$V_{LJ}(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (3.29)$$

où σ est l'étalon de longueur pour les sphères, et ε est la profondeur du potentiel, qui sert aussi d'unité d'énergie. Nous supposons la solution comme étant un bon solvant¹ [19]. Pour ce faire, nous utilisons un potentiel Lennard-Jones purement répulsif. Dans ce cas, la distance de coupure du potentiel doit être prise comme étant le minimum du potentiel :

$$r_{coupure} = \sqrt[6]{2}\sigma \quad (3.30)$$

Finalement, la profondeur du puits est additionnée au potentiel pour avoir $V = 0$ à la longueur de coupure. Le potentiel final est aussi connu sous le nom de WCA [32] :

$$V_{WCA}(r) = \begin{cases} 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] + \varepsilon & r < r_{coupure} \\ 0 & r \geq r_{coupure} \end{cases} \quad (3.31)$$

Puisque l'étude porte sur des brins d'ADN dans un système microfluidique, l'interaction des sphères formant l'ADN avec les murs doit être ajoutée. L'interaction entre les murs et les chaînes utilise aussi le potentiel WCA.

Le potentiel de liaison utilisé entre les monomères est FENE (Finitely Extensible Non-linear Elastic) :

$$V_{FENE}(r) = -\frac{1}{2}K_{FENE}r_{max}^2 \ln \left[1 - \left(\frac{r}{r_{max}} \right)^2 \right] \quad (3.32)$$

où K_{FENE} est l'amplitude du potentiel et r_{max} l'étirement maximal du ressort. Pour éviter que la chaîne ne se croise, les paramètres suivants ont été utilisés [33] :

$$\begin{aligned} \Delta r_{max} &= 1.5\sigma \\ K_{FENE} &= \frac{30\varepsilon}{\sigma^2} \end{aligned} \quad (3.33)$$

1. Une solution aqueuse est un bon solvant pour l'ADN. Si le solvant était mauvais, les bâtons auraient tendance à se coller les uns aux autres ainsi que de se coller aux murs dans le but de minimiser les contacts avec le solvant et leur énergie libre.

Afin de simuler des chaînes rigides, un potentiel de flexion a été ajouté :

$$V_{flexion}(\theta) = K_{flexion} [1 - \cos(\theta - \theta_0)] \quad (3.34)$$

où $K_{flexion}$ est la constante d'amplitude de la force et θ_0 est l'angle de repos. Pour avoir des chaînes rigides, la constante K doit être très grande par rapport à $k_B T$ et $\theta_0 = \pi$.

Pour la simulation de l'interaction du fluide avec les polymères, la dynamique de Langevin, où le fluide est remplacé par un terme stochastique reproduisant les effets thermiques et un terme de friction représentant les termes dissipatifs, a été utilisée. Cette interaction est prise en compte de façon statistique dans le mouvement. L'équation de Langevin est :

$$m \frac{d\vec{v}}{dt} = \vec{R}(t) - \xi \vec{v} + \sum \vec{F} \quad (3.35)$$

où \vec{R} est la force stochastique, ξ est la friction causée par le fluide et $\sum \vec{F}$ inclus les autres forces comme FENE, LJ, le champ électrique et l'interaction avec les murs. La force stochastique, dans chaque dimension, est donnée par les deux moments :

$$\langle R(t) \rangle = 0 \quad (3.36)$$

$$\langle R(t) R(t') \rangle = 2k_B T \xi \delta(t - t'). \quad (3.37)$$

Il est possible d'obtenir le terme stochastique $R(t)$ de la façon suivante [34] :

$$\int_0^\infty \langle R(t) R(t') \rangle dt' = 2k_B T \xi \int_0^\infty \delta(t - t') dt' \quad (3.38)$$

$$= 2k_B T \xi. \quad (3.39)$$

Le côté gauche de l'équation peut être obtenue d'une autre façon :

$$\int_0^\infty \langle R(t) R(t') \rangle dt' \simeq \sum_{j=0}^{\infty} \Delta t \langle R(i * \Delta t) R(j * \Delta t) \rangle \quad (3.40)$$

$$= \sum_{j=0}^{\infty} \Delta t \langle R^2(t) \rangle \delta_{ij} \quad (3.41)$$

$$= \Delta t \langle R^2(t) \rangle. \quad (3.42)$$

En combinant les deux derniers résultats, on obtient :

$$\langle R^2(t) \rangle = \frac{2k_B T \xi}{\Delta t}. \quad (3.43)$$

Il en résulte :

$$R = \sqrt{\frac{2k_B T \xi}{\Delta t}} \times N(0, 1). \quad (3.44)$$

Cette force stochastique dépend de l'énergie thermique $k_B T$, du coefficient de friction ξ et de la grandeur du pas d'intégration Δt . $N(0, 1)$ est un nombre aléatoire tiré d'une distribution normale de moyenne nulle et de variance unitaire.

Les simulations numériques n'incluent pas explicitement les différentes unités du problème. Pour se faire, les équations du mouvement doivent être exprimées en fonction des unités caractéristiques du système. La taille des sphères formant les bâtons nous donne les unités spatiales, σ ; le potentiel Lennard-Jones donne les unités d'énergie : ε ; et les unités de temps sont données par : $\sqrt{\frac{m\sigma^2}{2\varepsilon}}$. Les unités de force sont exprimées en combinant les unités d'énergie et les unités de distance : $\frac{\varepsilon}{\sigma}$. Dans les différentes sections de cette thèse traitant de dynamique moléculaire, les unités des valeurs données sont celles présentées ici.

L'algorithme d'intégration utilisé est l'algorithme *Velocity-Verlet*, qui utilise la vitesse au temps $t + \frac{1}{2}\Delta t$. Nous utilisons un pas temporel de $\Delta t = 10^{-4}$. Les étapes principales de l'algorithme sont [35] :

$$\begin{aligned} \vec{x}(t + \Delta t) &= \vec{x}(t) + \dot{\vec{x}}(t) \Delta t + \frac{1}{2} \ddot{\vec{x}}(t) (\Delta t)^2 \\ \dot{\vec{x}}\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) &= \dot{\vec{x}}(t) + \frac{1}{2} \ddot{\vec{x}}(t) \Delta t \end{aligned} \quad (3.45)$$

$$\ddot{\vec{x}}(t + \Delta t) = \frac{1}{m} \left[\vec{R}(t + \Delta t) - \xi \dot{\vec{x}}\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) + \sum \vec{F}(t + \Delta t) \right]$$

$$\dot{\vec{x}}(t + \Delta t) = \dot{\vec{x}}\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) + \frac{1}{2} \ddot{\vec{x}}(t + \Delta t) \Delta t.$$

où $\dot{\vec{x}} = \frac{d\vec{x}}{dt}$ et $\ddot{\vec{x}} = \frac{d^2\vec{x}}{dt^2}$.

Les simulations numériques de dynamique moléculaire ont été réalisées à l'aide d'une version modifiée du programme ESPResSO[36]. Le programme inclut tous les potentiels décrits plus haut, ainsi que l'algorithme d'intégration *Velocity-Verlet*. La modification du programme consiste à changer la partie de code où la force externe est appliquée aux particules. Sous sa forme originale, le programme accepte seulement une force externe se décomposant selon

les axes x , y et z . Il est donc impossible d'avoir une force externe dépendante de la position, comme un champ électrique non-uniforme dans un système microfluidique aux dimensions variables.

Dans le système sous étude pour ce projet, l'application d'une différence de potentiel à travers la géométrie complexe crée un champ électrique non-uniforme dont il faut tenir compte lors des simulations. Pour obtenir le champ électrique à l'intérieur du système, il nous faut résoudre l'équation de Laplace pour le potentiel électrique ϕ :

$$\nabla^2 \phi(x, y) = \frac{\partial^2 \phi(x, y)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi(x, y)}{\partial y^2} = 0 \quad (3.46)$$

en coordonnées cartésiennes, en supposant tous les murs comme étant de parfaits isolants et qu'une différence de potentiel est appliquée entre les deux extrémités du système.

Pour résoudre numériquement cette équation différentielle partielle, il faut d'abord discrétiser les dérivées secondes. En prenant i comme indice pour la dimension de x et j pour la dimension y et h pour le pas spatial, l'équation différentielle devient :

$$\frac{1}{h^2} (\phi_{i-1,j} - 2\phi_{i,j} + \phi_{i+1,j}) + \frac{1}{h^2} (\phi_{i,j-1} - 2\phi_{i,j} + \phi_{i,j+1}) = 0. \quad (3.47)$$

En isolant $\phi_{i,j}$ en fonction de ses quatre plus proches voisins, on obtient :

$$\phi_{i,j} = \frac{1}{4} (\phi_{i-1,j} + \phi_{i+1,j} + \phi_{i,j-1} + \phi_{i,j+1}) \quad (3.48)$$

Pour améliorer l'efficacité de l'algorithme, il est possible d'utiliser les valeurs déjà mises à jour :

$$\phi_{i,j}^{k+1} = \frac{1}{4} (\phi_{i-1,j}^{k+1} + \phi_{i+1,j}^k + \phi_{i,j-1}^{k+1} + \phi_{i,j+1}^k) \quad (3.49)$$

où l'indice supérieur réfère au nombre d'itérations. Cet algorithme se nomme «Gauss-Seidel» [37]. Le potentiel résultant se trouve à la Fig. 3.4. Le champ électrique est obtenu en utilisant le gradient du champ électrique et est aussi calculé en utilisant des dérivées discrètes :

$$\vec{E}(x, y) = -\vec{\nabla} \phi(x, y). \quad (3.50)$$

Pour garder un niveau de précision suffisamment grand, le pas spatial choisi est $h = 0,1$, soit 10% du diamètre des sphères constituant les bâtons. Pour l'implémentation dans le

programme ESPResSO, l'équation de Laplace est résolue et les valeurs du champ électrique sont enregistrées dans un fichier. Lors de l'initialisation du programme, ce fichier est lu et les valeurs sont gardées en mémoire pour la durée de la simulation. Puisque le potentiel électrique est résolu de façon discrète et que le champ électrique est calculé à partir du potentiel, nous avons les valeurs de champ seulement sur les noeuds de la grille. Il est nécessaire d'interpoler pour avoir les valeurs du champ à n'importe quelle position dans le système. La méthode d'interpolation est celle présentée dans *Numerical Recipes in C* [38]. Le code faisant l'interpolation bidimensionnelle est présenté au chapitre 8.

Pendant la simulation, à chaque pas de temps, la position d'une particule est calculée et le champ électrique correspondant est calculé en interpolant avec les valeurs des plus proches voisins. Ensuite, cette valeur de champ est additionnée à la somme des autres forces sur la particule, et ce, pour chaque dimension. Le procédé est répété pour chaque particule. Pour quantifier la valeur du champ électrique dans un système durant une simulation, le champ électrique moyen est défini comme :

$$\langle E \rangle = \frac{\Delta V}{L}, \quad (3.51)$$

soit la différence de potentiel appliquée divisée par la longueur du système, sans les conditions aux frontières périodiques. Pour le système dont le potentiel est présenté à la Fig. 3.4, le champ moyen est :

$$\langle E \rangle = \frac{\Delta V}{L} = \frac{10\varepsilon}{40\sigma} = 0,25\frac{\varepsilon}{\sigma}. \quad (3.52)$$

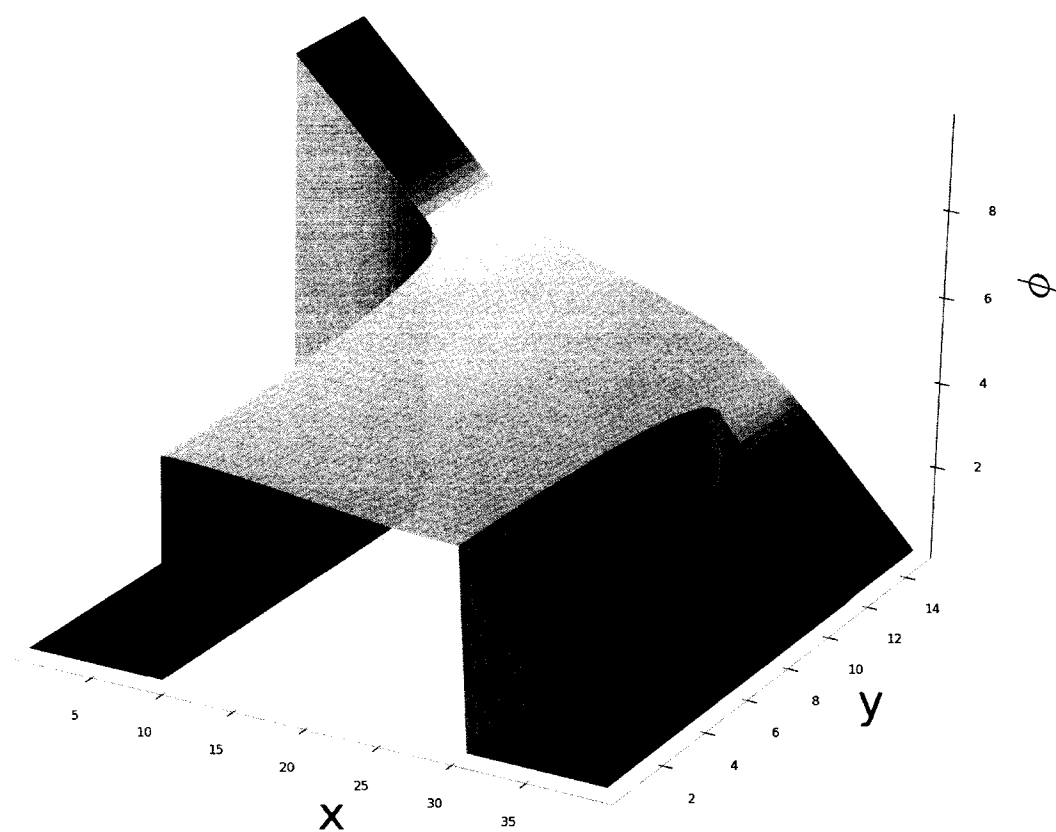


Figure 3.4 Potentiel solution de l'équation de Laplace dans le système microfluidique de Han *et al.* [1] pour une différence de potentiel de 10 unités d'énergie ε . Le système représenté ici mesure 40 unités de longueur σ en x , 15 de haut en y , avec un canal de 3 unités d'épaisseur.

Chapitre 4

Detrapping Particles in Gel Electrophoresis : A Numerical Study of Different Pulsed Field Sequences

Antoine Dubé et Gary W. Slater

Soumis pour publication à *Electrophoresis*.

Detrapping Particles in Gel Electrophoresis: A Numerical Study of Different Pulsed Field Sequences

Antoine Dubé and Gary W. Slater*

Department of Physics, University of Ottawa, 150 Louis-Pasteur, Ottawa, Ontario, Canada K1N 6N5

(Dated: May 13, 2010)

Large particles tend to get trapped in dead-ends more often than small particles when electrophoresed in random cross-linked gels. It is known that pulsed electric fields can be used to free particles from these traps, leading to an increase in velocity and improved size separation. Although numerical and theoretical models have been proposed for the mobility of smaller particles in the so-called Ogston sieving limit, the effect of pulsed fields on trapping has not been previously modeled. We present a numerical study of detrapping and we compare our results to those of To and Boyde [1]. We use an exact numerical method to examine detrapping in various two-dimensional systems of obstacles. We also propose and investigate new ways to optimize the pulse sequence in order to separate particles of different sizes.

I. INTRODUCTION

Hard particles moving in random cross-linked gels sometimes follow paths that lead to dead-ends. In absence of an external field, the same Brownian motion that led the particle into the dead-end can drive it backward outside the dead-end (see Fig. 1a). Without an external field, we have normal Brownian motion and the dead-ends are no different from the other areas. The end result is a particle that probes all of the gel pores equally but loses time backtracking out of dead-ends. This tends to reduce the diffusion coefficient D of the particle (see for example [2]). For instance, we showed previously that the diffusion coefficient of a particle is higher when the gel obstacles are placed periodically (such structures have no dead-end) instead of randomly [3].

However, in the presence of an external field, the migration of the particle is a biased Brownian motion. The field can now drive the particle into a dead-end. Furthermore, it actually pushes the particle toward the impenetrable wall that forms the bottom of the dead-end (see Fig. 1b). The gel can thus be characterized by two length scales: Λ , the distance between two consecutive traps visited by the particle, and λ , the depth of a trap. If the field is constant in both amplitude and direction, resulting in a force F on the particle, detrapping requires Brownian motion to move the particle against the field over a distance large enough to allow the selection of a new pathway (see Fig. 1b). The product $F\lambda$ is the potential barrier that must be overcome by thermal motion. Kramers' law indicates that the mean thermal detrapping time must increase like $\exp\left(\frac{F\lambda}{k_B T}\right)$, which makes it an inefficient process if the field is not negligible and/or the trap is deep. Serwer and co-workers, for example, have published several studies of trapping during gel electrophoresis [4, 5].

One can accelerate detrapping by changing the nature

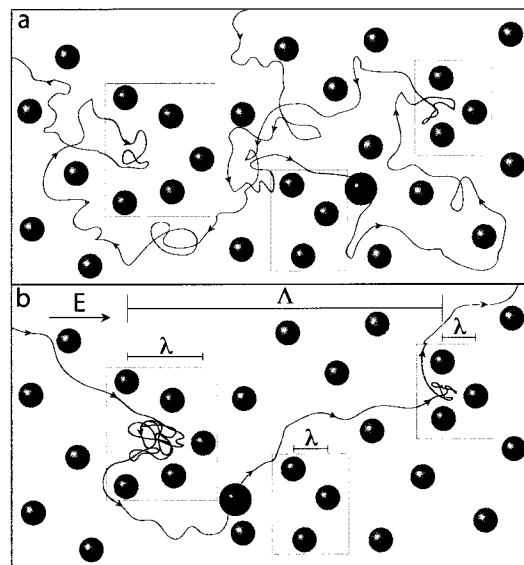


FIG. 1: A two-dimensional distribution of hard obstacles forming dead-ends (indicated by grey rectangles) of different depths λ . The black sphere is the particle moving through this sieving medium. Without an external field (a), we have normal Brownian motion and the dead-ends are no different from the other areas. The net motion of the particle is slowed down by the traps when a field is applied (b).

of the applied field. The simplest method is to use ON-OFF or intermittent pulsed field gel electrophoresis. During the ON periods, the particle migrates normally in the gel, and sometimes falls into a trap. During the OFF periods, the trap is effectively eliminated since the potential barrier $F\lambda = 0$. We thus expect optimal results when the OFF time t_0 is long enough for the particle to diffuse backward over a distance λ . If the diffusion coefficient of the particle in the gel is D , this optimal OFF time

*Electronic address: gslater@uottawa.ca

should be roughly given by $t_0 \cong \frac{\lambda^2}{D}$. Unfortunately, this does not provide a very useful guiding principle since we always have a distribution of trap depths λ in a random gel. Furthermore, both this distribution and the diffusion coefficient D are expected to depend on the particle size (for instance, very small particles never trap while very large ones can barely diffuse inside a gel). Therefore, it is not obvious how one can choose an optimal OFF time to improve the separation of a population of particles in a random gel. As for the optimal ON time t_+ , it should be comparable to the time the particle can migrate freely inside the gel before falling into the next trap; if t_+ exceeds this time, the particle will statistically lose time at the bottom of a trap waiting for the next OFF period. If the mean electrophoretic velocity of the particle between traps is v_f and the distance to the next trap is Λ , the optimal ON time should be roughly given by $t_+ \cong \frac{\Lambda}{v_f}$. Again, this estimate is of limited value since both the distribution of distances Λ and the velocity v_f would normally depend on the particle size.

A more efficient option is to periodically reverse the field intensity instead of turning it off (this is sometimes called Field Inversion Gel Electrophoresis, or FIGE [6]). The optimal backward time should be roughly given by $t_- \cong \frac{\Lambda}{v_f}$, which is expected to be much shorter than the optimal detrapping time t_0 from the previous paragraph. Here too the random nature of the gel and the different properties of the particles to be separated do not permit these general guiding principles to predict the properties of an optimal pulse sequence for a given separation. In the presence of four different parameters (pulse durations t_+ and t_- and field intensities E_+ and E_-), optimization is generally difficult and purely empirical. In practice, it is thus common to fix the ratio of the forward and reverse times of the FIGE pulses $r_t = \frac{t_+}{t_-}$, typically in the range 2 to 5 and to vary only the field amplitude $E_+ = -E_-$ or the forward time t_+ . In principle, the forward and reverse field intensities can be different, but this adds an additional variable to the problem without any obvious benefit.

In order to be able to detrap a given particle from a range of trap sizes λ , and to simultaneously affect the motion of particles of different sizes, one must obviously change the pulse durations during the separation. For example, one could slowly ramp up the pulse duration (like what is used for the separation of large DNA molecules by PFGE [7]). However, it is unclear how this should be done to achieve optimal results. In fact, ramps are not expected to be efficient since the pulse duration is essentially the same for extended periods of time. In this paper, we will explore new schemes that can potentially replace pulse ramps.

To & Boyde [1] studied the effect of both intermittent fields and FIGE on the net electrophoretic velocity of polystyrene particles in agarose gels. Except for the smallest particle in their study (diameter $R = 59$ nm), all the particles were strongly affected by dead-end trapping in constant DC electric fields. In order to simplify

the analysis, these authors calculated the effective velocities by dividing the final displacement by the time of application of the field in the forward direction. In the case of FIGE, they restricted their experimental study to a single time ratio, $r_t = 2$. As far as we are aware, there is no theoretical study of their results (or of similar studies) in the literature.

In this paper, we use a lattice model of gel electrophoresis [8, 9] to investigate the performance of various pulsed field sequences in the presence of trapping. We build a series of simple two dimensional systems with traps in order to examine several fundamental aspects of this problem. We first show that these systems can be used to qualitatively reproduce the results published by To & Boyde [1]. We then compare the performance of different pulse sequences. Our investigation leads to new pulsed field schemes, including one that makes particles of different sizes (but same charge) move in opposite directions.

II. LATTICE MODEL AND NUMERICAL METHOD

1. Numerical model for 2D Lattice Systems

The approach used in this paper is based on the Lattice Monte Carlo (LMC) model of gel electrophoresis developed by our group [8-10]. We use a two-dimensional model for simplicity and numerical efficiency.

The spatial degrees of freedom are discretized using a square lattice (see Fig. 2, which is the lattice equivalent of Fig. 1) with a lattice parameter $a = 1$. The particles are squares of increasing sizes. In this study, we examine particles of sizes 1×1 to 4×4 . The obstacles, which model the gel fibres, are represented by 1×1 lattice plaquettes that are permanently occupied and immobile. The particles make unit Monte Carlo jumps along the Cartesian directions $\pm\hat{x}$ and $\pm\hat{y}$, and a move is rejected if it leads to an overlap between the particle and an obstacle. The presence of the electrophoretic force F_e biases these jumps and affects the time scale for each jump. The time duration of these jumps, τ , as well as the jumping probabilities along each of the four directions, $p_{\pm x}$ and $p_{\pm y}$, have been derived in previous articles [10]. In terms of the scaled force intensity

$$\varepsilon = \frac{F_e a}{2k_B T}, \quad (1)$$

where k_B is Boltzmann's constant and T is the temperature, these LMC simulation parameters are given by:

$$\begin{aligned} p_{\pm x}(\varepsilon) &= \frac{1}{(1 + e^{\mp 2\varepsilon})(1 + \tanh(\varepsilon)/\varepsilon)} \\ p_{\pm y}(\varepsilon) &= \frac{1}{2(1 + \varepsilon \coth(\varepsilon))} \\ \tau(\varepsilon) &= \frac{\tau_B}{1 + \varepsilon \coth(\varepsilon)}, \end{aligned} \quad (2)$$

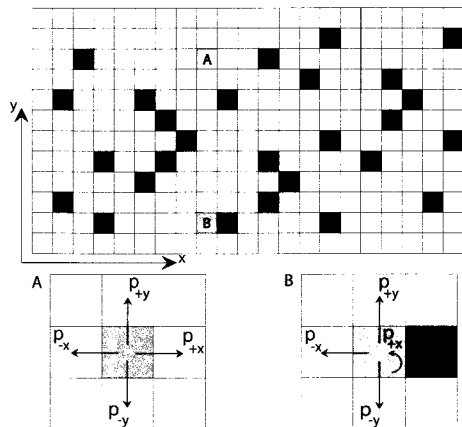


FIG. 2: A discretized Lattice Monte Carlo version of the electrophoretic sieving problem presented in Fig. 1; the obstacles are represented by black squares. Two particles are shown (A and B, in grey); the bottom part of the figure shows the possible Monte Carlo jumps for these two particles. If an obstacle is present on a neighbouring site, the jump is rejected and the particle stays on the site. Periodic boundary conditions are used along both Cartesian axes.

where $\tau_B \equiv \tau(\varepsilon = 0)$ is the mean duration of an unbiased (Brownian) jump. The Brownian time is thus proportional to the size of the particle since $\tau_B \sim \frac{1}{D_o}$, where $D_o \sim \frac{1}{R}$ is the Stokes diffusion coefficient of the particle in free solution. Note that since the scale force ε implicitly includes the charge of the particle, comparing the velocity of two different particles for the same value of the external force ε implicitly assumes that the two particles have the same charge (it is easy to correct the results if this is not the case).

Instead of using LMC simulations, it is possible to obtain exact numerical results using the transition matrix approach derived in [8–10]. This method has recently been adapted to allow the use of both high field intensities [11] and alternating fields [12].

We will use simple two-dimensional systems of obstacles and this numerical approach to study the effect of pulsed fields on the gel electrophoretic velocity of particles. We will build a series of simple obstacle systems that can reproduce the main features of gels with dead-ends. These gels will be geometrically very simple (while spatially reversible along the field axis) so as to allow exact numerical solutions to be obtained in a reasonable computational time.

The natural unit of distance is a (the lattice step size) in this LMC type of model; the natural unit of time is thus $\tau_{B,1 \times 1} = \tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 0)$, the mean time for a 1×1 particle to make a jump of size a in absence of a field (note that $\tau_{B,R \times R} = R \times \tau_{B,1 \times 1}$). Since we will be using

an external force of magnitude $\varepsilon = 1$ when studying the effect of pulsed fields, we will be using $\tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 1) \approx 0.432\tau_{B,1 \times 1}$ to define the pulse durations (this is simpler since the pulse durations will then be integers). However, we will keep the units of velocity to be $\frac{a}{\tau_{B,1 \times 1}}$ to ease the comparison with different pulse durations. Note that our mobilities $\mu \equiv \frac{v}{\varepsilon}$ will also be dimensionless since the field intensity ε is itself dimensionless. We will give an estimate of these fundamental variables later when we compare our results to those of To & Boyde [1].

2. Matrix Multiplication Method

Depending on the type of pulsed field used, the exact matrix method may require us to multiply a matrix A by itself up to millions of times. In order to reduce both the computing time and the round-off errors, we have developed an approach that greatly reduces the total number of operations to compute A^n when $n \gg 1$. In essence, the method uses stored matrices that can be called to speed up the calculation. The current implementation uses base 2. First, we compute and store all of the intermediate matrices of the form A^{2^i} that will be needed for the problem at hand. We then write the exponent n in base 2. Finally, we replace the computation of A^n by the product of the A^{2^i} matrices. As an example, A^{100} can be simplified if we note that in base 2, $[100]_{10} = [1100100]_2$:

$$A^{100} = A^{2^6} \times A^{2^5} \times A^{2^2}. \quad (3)$$

Here, the method reduces the number of operations from 99 matrix multiplications down to 2 (excluding the overhead of first calculating and storing the 6 required matrices). In principle, it is possible to accelerate the calculations even further by storing more intermediate matrices.

3. Pulse Sequences Examined

To & Boyde [1] examined two different pulse sequences. The first is a simple intermittent field (see Fig. 3A); as discussed previously, this is not expected to be very efficient. Their second pulse sequence consists in a perfectly periodic FIGE signal with a fixed time ratio $\tau_l = 2$ (see Fig. 3B for an example); these authors varied the pulse duration t_+ in order to increase the resulting separations.

In our study, we will examine two additional types of pulse sequences: the correlated random telegraph (CRT) signal and the dichotomous pulse sequence. The telegraph signal (see Fig. 3C) is a sequence of pulses that changes polarity following some random process. This random behaviour creates a distribution of pulse durations in a single sequence. The dichotomous signal simply alternates, randomly, between two values of t_+ and two values of t_- (of course, one could also create *trichotomous* sequences, or even more complicated sequences).

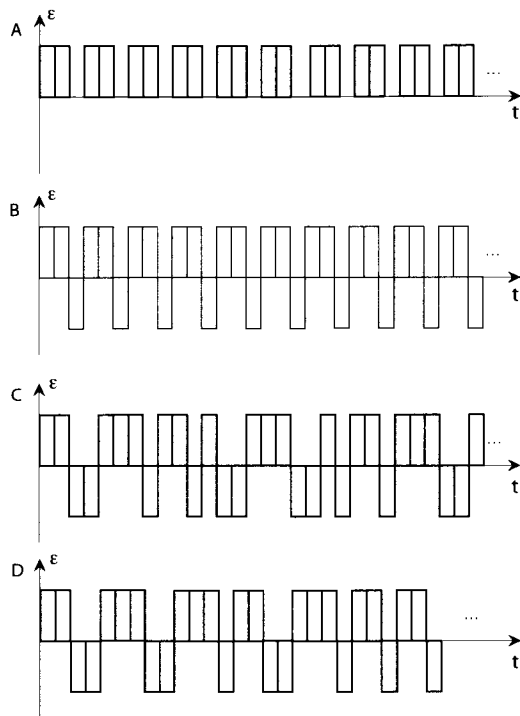


FIG. 3: Schematic representation of the pulse sequences investigated in this paper: (A) an intermittent field sequence with a fixed pulse duration; (B) a biased Field Inversion (FIGE) sequence with a fixed pulse duration and a fixed bias $r_t = 2$; (C) a correlated random telegraph signal (CRT) with a distribution of pulse durations; (D) a dichotomous signal mixing pulse durations $(t_+, t_-) = (3.2)$ and (2.1) . Note that each pulse is made of discrete Monte Carlo steps of duration $\tau(\varepsilon)$.

III. CONTINUOUS AND ALTERNATING SIGNALS

A. The limiting cases

For extremely long and extremely short pulses, the expected mean velocities can be expressed in terms of the velocity of the particle in the presence of a constant (DC) external force. At high frequencies, the pulse durations are shorter than all of the times scales in the problem and the particle essentially feels an effective DC force. The mean velocity is then approximately given by:

$$\langle v_{AC} \rangle \Big|_{t_+ \rightarrow 0} \cong v_{DC}(\langle \varepsilon \rangle) \quad (4)$$

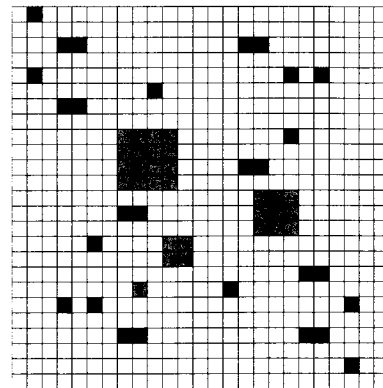


FIG. 4: The lattice-based two-dimensional sieving gel used to qualitatively reproduce the experimental results of To & Boyde [1]. Obstacles are shown in black and particles of different sizes are shown in grey. The total number of obstacles is 28 and are spread on a 25×25 surface, resulting in a surface concentration of 4.48%. Periodic boundary conditions were applied in both dimensions.

where the mean external force is:

$$\langle \varepsilon \rangle = \varepsilon \times \left[\frac{r_t - 1}{r_t + 1} \right]. \quad (5)$$

In the opposite low frequency limit, the mean velocity approaches the mean of the two DC velocities:

$$\langle v_{AC} \rangle \Big|_{t_+ \rightarrow \infty} = v_{DC}(\varepsilon_+) \times \left[\frac{r_t - 1}{r_t + 1} \right]. \quad (6)$$

where $v_{DC}(\varepsilon_-) = -v_{DC}(\varepsilon_+)$ for a symmetric system.

In the limit where the external force is too low to lead to trapping, we have a linear system and $v_{DC}(\varepsilon) \propto \varepsilon^1$. The mean velocity $\langle v_{AC} \rangle$ is then independent of the pulse duration t_+ , in agreement with Eqs. 4 and 6.

B. Electrophoresis in the DC regime

In order to test the approach presented in the previous section, we qualitatively reproduce the experimental results of To & Boyde. The model system used in this section is shown in Fig. 4. The obstacles were placed in order to satisfy the following fundamental constraints: a) the particles DC velocities must remain unchanged in magnitude if the external force is reversed from $+\varepsilon\hat{x}$ to $-\varepsilon\hat{x}$ since macroscopic gels are isotropic; b) the smallest particle (of size 1×1 in our case; of size $R = 59$ nm in the case of To & Boyde) should not get trapped in the gel; c) all larger particles must get trapped into at least one dead-end; d) the gel must be able to sieve particles in the limit of very low DC field intensities (i.e., in absence

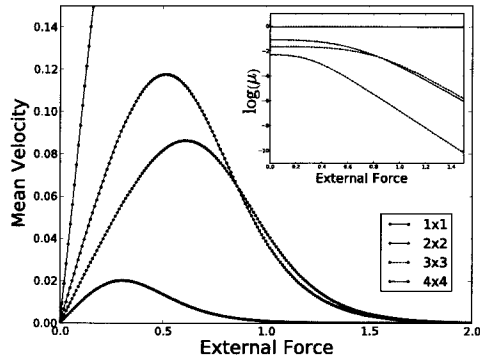


FIG. 5: Simulation results for various particle sizes being electrophoresed in the system presented in Fig. 4. Only the smallest particle does not trap; for external forces beyond approximately $\varepsilon = 0.3$, the other particles are affected by dead-end traps and the velocity eventually vanishes. Inset: Semi-log plot of the mobility vs the field intensity. The linear decay demonstrates that the velocity decreases exponentially with the force ε in the trapping regime.

of trapping). Although our system of obstacles (Fig.4) satisfies these conditions, it is not large enough (due to computational constraints) to possess a broad distribution of trap depths for each of the four particles. Note that this representation makes the size of the smallest particle the default size for the gel fibers.

We computed the electrophoretic velocity v of the four different particles in the system shown in Fig. 4. In the low field limit, the electrophoretic velocity $v(\varepsilon)$ varies linearly with the external force ε (see Fig. 5) and the mobility $\mu = \frac{v}{\varepsilon}$ is constant (see inset). The smallest particle does not trap in the system and its mobility is flat in the range shown in the inset of Fig. 5. For the other particle sizes, the mean velocity reaches a maximum. The position of the maximum depends on the particle size: the maxima are at $\varepsilon \approx 0.5$, $\varepsilon \approx 0.6$ and $\varepsilon \approx 0.3$ for the 2×2 , 3×3 and 4×4 particles, respectively. For low field intensities, the particle is in the Ogston regime and we have efficient sieving. In the high field regime, on the other hand, the particles are trapped in dead-ends and the field actually keeps them there. Trapping becomes the dominating factor and resolution is eventually lost. In the inset of Fig. 5, we can see that the mobilities decrease exponentially with the field in the trapping regime, indicating that we are in the presence of a Kramer-like detrapping process.

C. Comparing with To & Boyde

The numerical results obtained for a $r_l = 2$ Field Inversion pulse sequence are qualitatively compared to the experimental results of To & Boyde in Figs. 6A-B; for our calculations, we used a field of $\varepsilon = 1$ since it leads to moderate trapping (except for the largest particle), as shown in the previous section. We will use this value for the rest of this article. We see that our model predicts the very same qualitative behaviour. In fact, we predict the existence of a maximum for a finite value of the forward pulse time; available experimental results do not allow us to validate this prediction, although the data suggest that this might be the case. The relative electrophoretic velocity in the infinite frequency limit (Eq. 5) should approach the value predicted for a DC field that has one third the amplitude of the forward pulse. As an example, the relative velocity for $\varepsilon = \frac{1}{3}$ in the DC regime is 0.3146 for the 2×2 particle, which agrees with the value on the y-axis in Fig. 6B.

Our results for the field interruption pulse sequence also agree qualitatively with those of To & Boyde (see Figs. 6C-D). Note, that we predict the existence of an inflection point for short interruptions; again, available experimental results do not allow us to test this prediction.

This test demonstrates that a simple gel model is sufficient to reproduce the type of results reported by To & Boyde. Since our numerical results are exact, we were able to observe very subtle details (a maximum with FIGE pulses, an inflection point for field interruptions) that would be interesting to test experimentally. It would have been difficult to observe these features with Monte Carlo simulations because of the error bars.

We now provide a rough estimate of the various model parameters starting from the experimental conditions of To & Boyde. The smallest particle is of size $R = 59 \text{ nm}$. The corresponding time scale $\tau_{B,1 \times 1}$ is $\sim 0.5 \text{ s}$ using $a = R$, $\eta = 1 \text{ kg/(sm)}$ and $T = 300 \text{ K}$. The scaled field $\varepsilon = 1$ that we will be using to analyze the effect of pulsed fields in the next section must be compared to the experimental field of about 1 V/cm used by these authors; this gives us $F_e \sim 2 \times 10^{-13} \text{ N}$ for the smallest particle. Using $v = \frac{F_e}{\zeta}$, the corresponding velocity is $\sim 2 \times 10^{-5} \text{ cm/s}$. Experimentally, To & Boyde obtained velocities of the order of $v \sim 7 \times 10^{-4} \text{ cm/s}$. These values are consistent with each other if we consider that we have different gel structures (and hence different traps).

D. Optimization of the Pulse Sequence

1. Optimizing the Velocities

In the remaining subsections of this paper, we will investigate the optimization of the performance of pulsed field gel electrophoresis model systems using different cri-

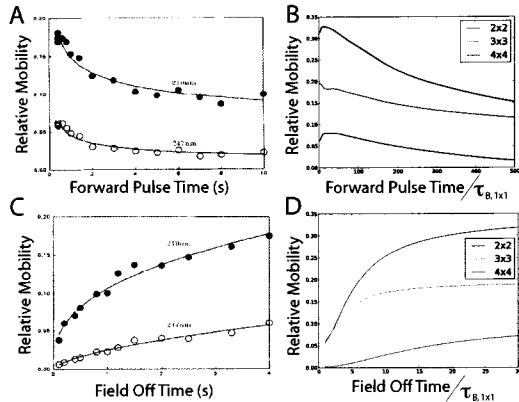


FIG. 6: *A & C* : Experimental results from To & Boyde [1]. These authors separated latex beads of diameters 59 nm, 210 nm and 247 nm. The relative mobility is defined as the velocity of the given particle divided by the velocity of the smallest particle (which is why we have only two curves). *A* shows the data when a FIGE pulse sequence with $r_t = 2$ was used together with a 0.4 % agarose gel and a field strength of 1.8 V/cm. The relative mobility decreases with the duration of the forward pulse, t_f . *C* shows the relative mobility of the particles when a 0.8 V/cm external field is applied for 2 seconds and interrupted for different durations (the authors used a 0.7 % agarose gels for these measurements). The mobility increases with the OFF time t_o . Reproduced with permission. *B & D* : Our simulation results with the system presented in Fig. 4. The external force used is $\varepsilon = 1$. *B* shows the relative mobility of particles (i.e., the velocity of a particle of size R , with $R = 2, 3, 4$, divided by the velocity of the $R = 1$ particle) when we apply a FIGE pulse sequence with $r_t = 2$, while *D* shows the data for an intermittent field where the $\varepsilon = 1$ pulse duration is $20 \tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 1) = 8.65 \tau_{B,1 \times 1}$.

teria and different types of FIGE-like pulses. To simplify the analysis, we will use regular systems of obstacles with traps of different depths and widths, as shown in Fig. 7, and we will restrict our analysis to a field of $\varepsilon = 1$ and particles of size 1×1 and 2×2 . These systems have the proper symmetry to model a globally symmetric macroscopic gel.

If we wish to maximize the electrophoretic velocity of a given particle in a given gel, the optimal FIGE pulse sequence will depend on the values of the length scales λ and Λ previously described. The ideal negative pulse duration is long enough for the particle to move out of a trap (a displacement of λ); longer pulses lead to unnecessary backward motion. Similarly, the optimal positive pulse duration is the time for the particle to reach the next trap (a displacement of Λ , which is an ill-defined value in the first place) without getting trapped into it. The FIGE pulse parameters that optimize the velocity of the 1×1 particle for systems A & B of Fig. 7 are given in Table I. The times differ roughly by a factor of 2, and

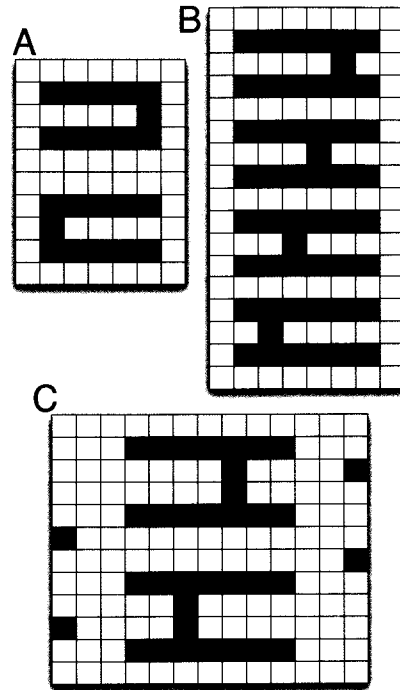


FIG. 7: The three simplified model systems used in our theoretical investigation of the performance of various pulsed field sequences. The first system, A, has only one trap depth and only a unit size particle can get trapped. System B introduces a variety of trap depths, but again only for a unit size particle. System C can be used with two particle sizes and displays two different trap depths; it also includes extra obstacles to deflect the particle sideways. All three systems are symmetric if we reverse the field direction ($+\hat{x} \leftrightarrow -\hat{x}$).

the time ratio r_t is slightly different.

We also computed the electrophoretic velocity of the 1×1 and 2×2 particles migrating in the system shown in Fig. 7 C for all possible combinations of + and - pulse durations (in integer values) between 0 and $500 \tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 1)$; the results are shown as colour density plots in Fig. 8. The positions of the two maxima are given in Table I. We note that the field-inversion time ratios are again in the range of 4-6.

The FIGE pulse duration that optimizes the velocity of a given particle depends on both the geometry of the system and the size of the particle (not to mention the field intensity). For instance, let's consider system A in Fig. 7. If the particle has successfully detrapped at the end of a negative pulse, it will move in the $+\hat{x}$ direction during the subsequent positive pulse. Neglecting colli-

System	Particle Size	(t_+, t_-)	r_t	v
Fig. 7 A	1×1	(88, 15)	5.87	0.3640
Fig. 7 B	1×1	(44, 9)	4.89	0.2518
Fig. 7 C	1×1	(43, 11)	3.91	0.2334
Fig. 7 C	2×2	(108, 24)	4.50	0.1013

TABLE I: FIGE parameters providing maximum velocities for the systems shown in Fig. 7, along with the resulting ratio r_t and the electrophoretic velocity $v(\varepsilon = 1)$. The pulse durations are given in integer units of $\tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 1) \approx 0.432\tau_{B,1 \times 1}$ but velocities are given in units of $\frac{a}{\tau_{B,1 \times 1}}$.

sions, its velocity is then given by:

$$v \approx \frac{p_+(\varepsilon) - p_-(\varepsilon)}{\tau(\varepsilon)} = \varepsilon \quad (7)$$

until it falls into the next trap. Since the entrance (or cross-section) of the trap is only one unit in size, which is one-tenth the width $L_y = 10$ of the system, it has only a probability of $\approx \frac{1}{L_y} = \frac{1}{10}$ of falling into a trap every time it goes through the system, since we have periodic boundary conditions. The length of the system being $L_x = 7$, a rough estimate of the optimal forward time would be $\approx \frac{L_x \times L_y}{v(\varepsilon=1)} = 70\tau_{B,1 \times 1}$ for this case, in fair agreement with the value of $88\tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 1) \approx 38\tau_{B,1 \times 1}$ that we found. This simple analysis is valid only because we have clear corridors and very biased motion (a fairly high field intensity). In the reverse direction, escaping from a trap of depth $\lambda = 4$ is expected to take roughly a time of $\frac{\lambda}{v} \approx 4\tau_{B,1 \times 1}$. However, this is an underestimation since the particle would immediately fall back into the trap if we were to reverse the field at that moment. The particle must move further back (and sideways) to reduce the probability of getting trapped again. Our calculations gave an optimal backward time of $15\tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 1) \approx 6.5\tau_{B,1 \times 1}$, which is the time required to diffuse laterally by a few lattice spaces after leaving the trap, thus insuring that forward motion does not drive the particle back into the very same trap.

2. Optimizing the Separation

The goal of electrophoresis is to separate different molecular species or particles of different sizes; maximum electrophoretic velocities (the topic of the previous subsection) do not guarantee a large separation. We have many options in order to optimize the separation between two particles. For example, we can optimize the ratio of the two velocities: $\frac{v_{1 \times 1}}{v_{2 \times 2}}$. Alternatively, we can optimize their velocity difference, $v_{1 \times 1} - v_{2 \times 2}$. Using the approach described in the previous subsection, we found the FIGE conditions that optimize these two criteria for the separation of the 1×1 and 2×2 particles in system C of Fig. 7 when the field is $\varepsilon = 1$; the results are given in Table II. As we can see, the ratio r_t varies greatly depending

	(t_+, t_-)	r_t	$v_{1 \times 1}$	$v_{2 \times 2}$
Ratio	(90, 6)	15	0.089	0.013
Difference	(32, 8)	4	0.218	0.053
$H(0)$	(32, 8)	4	0.218	0.053
$H(0.3)$	(38, 10)	3.8	0.232	0.071
$H(0.5)$	(48, 12)	4	0.233	0.082
$H(0.8)$	(56, 14)	4	0.230	0.090
$H(1)$	(66, 16)	4.125	0.223	0.095

TABLE II: FIGE parameters that optimize the separation between the 1×1 and 2×2 particles when using the sieving system shown in Fig. 7 C. Two different separation criteria were used, as described in the text: the velocity ratio and the velocity difference and the fitness parameter $H(\alpha)$ from Eq.8. The times are given in integer units of $\tau_{1 \times 1}(\varepsilon = 1) \approx 0.432\tau_{B,1 \times 1}$ but velocities are given in units of $\frac{a}{\tau_{B,1 \times 1}}$. We note that the necessary time ratio r_t can much larger than the time ratios that optimize the velocities of the particles in this system (see Table I).

on the criterion used. Interestingly, it is the lowest bias ($r_t = 4$) that produces the highest absolute velocities.

In this article, we will focus our analysis on the optimization of the absolute velocity difference $v_{1 \times 1} - v_{2 \times 2}$. One of the disadvantages with this choice is that the optimization tends to minimize the velocity of the larger particle ($v_{2 \times 2}$), which could give a very long elution time for this particle size. We thus need to find an additional criterion in order to insure that the optimal conditions do not lead to results that are not useful in practice. In the next subsection, we introduce an optimization process that can allow us to achieve such a goal.

3. Optimizing both Velocities and Separations

In order to prevent the mean velocity of the particles from being too low, we introduce a new combination of parameters that will be used to optimize the velocities and their difference at the same time :

$$H(\alpha) = \alpha\sqrt{v_{1 \times 1}v_{2 \times 2}} + (1 - \alpha)(v_{1 \times 1} - v_{2 \times 2}), \quad (8)$$

where $\alpha \in [0, 1]$ is a numerical parameter. Instead of optimizing the velocity difference, we will now optimize $H(\alpha)$ for various values of α . With this *separation fitness parameter*, we can explore various regimes, ranging from high velocities ($\alpha = 1$) to high velocity differences ($\alpha = 0$). Intermediate values will give us conditions that represent a useful compromise to optimize the velocity difference without sacrificing the velocity of the larger particle. Some values are given in Table II. One can build other fitness parameters in order to achieve different results. As far as we know, this approach has never been used before in the field of *electrophoresis*.

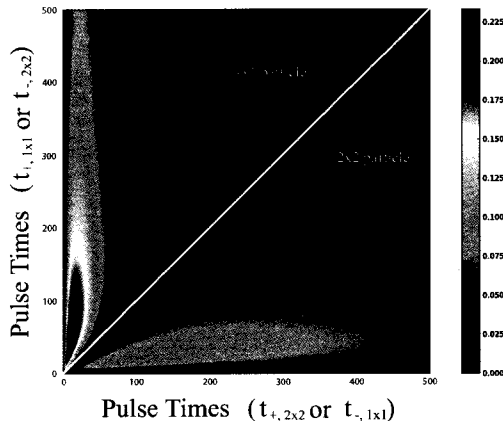


FIG. 8: Colour-coded plot showing the electrophoretic velocity of the 1×1 and 2×2 particles as a function of the FIGE pulse durations t_+ (y-axis for the 1×1 particle; x-axis for the 2×2 particle) and t_- (the other axis) when we use the system of obstacles shown in Fig. 7 C. Since this system of obstacles is symmetric when we reverse the field direction, we show only the data for $t_+ > t_-$. The upper (lower) triangular part of the diagram gives the data for the 1×1 (2×2) particle. The maximum velocities are found for $t_+ = 43$ and $t_- = 11$ for the smaller particle, and for $t_+ = 108$ and $t_- = 24$ for the larger one. All times are in units of $\tau_{1 \times 1}$ ($\varepsilon = 1$).

IV. ADDING RANDOMNESS TO FIGE-LIKE PULSE SEQUENCES

As discussed before, a single pulse condition cannot simultaneously maximize the velocity of different particles since each particle has its own trapping properties. In fact, since a gel has a distribution of traps sizes and positions, it is not even clear whether a single pulse duration can optimize the velocity of a given particle. In this section, we examine both of these issues. As we shall see, adding randomness to an optimized pulse duration rarely improves the situation. However, in a real experimental situation, it is essentially impossible to find the optimal pulse duration by testing all possible cases (something our efficient numerical method allowed us to do in the previous section). Our results will show that adding randomness to a sub-optimal pulse sequence can indeed improve the situation. We also show that two pulse durations can be combined in such a way that the net effect is similar to that of a ratchet process.

A. Controlling the CRT Correlation Time

The CRT is a signal with a fixed dimensionless force of amplitude $\varepsilon_{\pm} = \pm |\varepsilon|$ but with a sign that alternates ran-

domly. In our case, the Monte Carlo jumping time $\tau(\varepsilon)$ establishes a minimum duration for a pulse of a given polarity (i.e., the sign of the external force cannot change on a time scale smaller than this). The whole CRT sequence can thus be described as a series of discrete subpulses of amplitude $\pm \varepsilon$ and duration $\tau(\varepsilon)$, as shown in Fig. 3C.

We chose to construct CRT sequences that would be more or less equivalent to adding fluctuations to a standard (periodic) FIGE pulse sequence (several other choices are also possible). We thus prepare sequences of subpulses using two Gaussian distributions centered around fixed values, \tilde{t}_{\pm} . This process leaves us with 3 parameters: the mean duration of the positive pulses, \tilde{t}_+ , the pulse ratio $r_t = \tilde{t}_+/\tilde{t}_-$ (or, equivalently, the mean duration of the negative pulses, \tilde{t}_-), and finally the ratio $\sigma/\tilde{t} \equiv \sigma_+/\tilde{t}_+ = \sigma_-/\tilde{t}_-$ between the widths (σ_+ and σ_-) and mean values of the two distributions of pulse durations (+ and -). Typically, the values \tilde{t}_{\pm} could be chosen to maximize some fitness parameter (e.g., the velocity of a given particle or the velocity difference between a pair of particles). We will first investigate whether broadening the distribution of FIGE pulse durations ($\sigma_{\pm} \neq 0$) around these optimized values leads to improved performance. We will then see whether a CRT pulse sequence can improve the performance of an unoptimized FIGE pulse condition. Since we obviously reject negative pulse durations, we also truncate the distributions at a value of $2 \times \tilde{t}_{\pm}$ to keep it symmetrical around the mean value $\times \tilde{t}_{\pm}$. By doing so, we avoid very long pulses that lead to trapping of particles in the dead-ends. Note that when $\sigma_{\pm} \gg \tilde{t}_{\pm}$, the CRT distribution becomes flat and loses its gaussian nature.

A CRT sequence is thus built as follow. First, we choose the values of \tilde{t}_+ and \tilde{t}_- to obtain an initial target time ratio r_t . The polarity of the first subpulse in the sequence is always chosen to be positive. Each subpulse duration, alternately positive and negative, is taken from its respective Gaussian distribution function. We generate pulses until the total duration of the sequence reaches $5000 \times \tilde{t}_+$. Each calculation is an average over 25 such sequences. In all cases, the final mean ratio $r_t = \frac{\tilde{t}_+}{\tilde{t}_-}$ is within 1% of the target value. A sample CRT pulse distribution is shown in Fig. 9, with $\tilde{t}_+ = 50$, $\tilde{t}_- = 30$, $r_t = \frac{5}{3}$, and $\frac{\sigma}{\tilde{t}} = 0.1$; the distribution was averaged over 500 realizations. Note that this distribution does not represent the duration of the pulses, but the number of discrete pulses of duration $\tau(\varepsilon)$.

One of the questions examined in this paper is whether a CRT is a good pulse sequence to detrap particles of different sizes from traps that are not periodically located and/or not identical in size. The CRT represents a natural way to combine various pulse durations with a well-defined most probable value that is known (or expected) to be close to an optimum. Our implementation of the CRT is equivalent to adding fluctuations to an optimized or unoptimized FIGE pulse sequence.

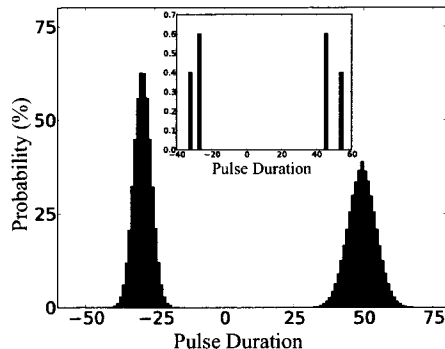


FIG. 9: An example of a CRT pulse distribution function with $\bar{t}_+ = 50$ and $\bar{t}_- = 30$, giving $r_t = \frac{5}{3}$, and $\frac{\sigma}{\bar{t}} = 0.1$. The distributions are averaged over 500 realizations. *Inset*: Example of a dichotomous distribution function with a relative weight of $\beta = 0.6$. In both cases, a negative number symbolically refers to a duration during which the field is applied in the negative direction. The times (x-axis) are in units of $\tau(\varepsilon)$.

B. Building a Dichotomous Signal

A dichotomous signal, on the other hand, is simply a random mixture of two different pulses. The positive pulses can be of duration $t_{[+,1]}$ or $t_{[+,2]}$, while the negative pulses can be of duration $t_{[-,1]}$ and $t_{[-,2]}$, and the sequence is always alternating between positive and negative pulses. In other words, we are mixing $(t_{[+,1]}, t_{[-,1]})$ FIGE-like pulses (with a time ratio $r_{t,1} = t_{[+,1]}/t_{[-,1]}$), with $(t_{[+,2]}, t_{[-,2]})$ FIGE-like pulses (with a time ratio $r_{t,2} = t_{[+,2]}/t_{[-,2]}$). Note that the time ratios do not have to be equal. The probability of selecting a pulse duration $t_{[\pm,1]}$ is given by the control parameter β ; the probability of selecting $t_{[\pm,2]}$ is thus $1 - \beta$:

$$t_+ = \begin{cases} t_{[+,1]} & \beta \\ t_{[+,2]} & (1 - \beta) \end{cases} \quad (9a)$$

$$t_- = \begin{cases} t_{[-,1]} & \beta \\ t_{[-,2]} & (1 - \beta) \end{cases} \quad (9b)$$

At both extremes ($\beta = 0$ and 1), we recover simple FIGE pulse sequences. An example is shown in the inset of Fig. 9 for a $\beta = 0.6$ dichotomous distribution. Since the optimal pulse condition (t_+, t_-) that maximizes the velocity of a particle will be unique to each particle size and charge, we will examine whether one can optimize the *separation* between two particles by combining their respective optimal pulses into a dichotomous signal. In our opinion, this is a better approach than ramping the pulse parameters over a wide range of non-optimal values since the two pulses that are mixed are known to be optimal. As far as we know, this has never been proposed before.

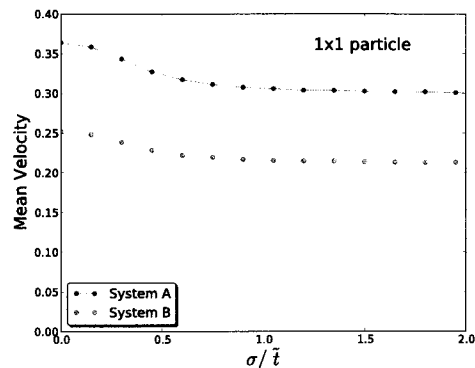


FIG. 10: The mean velocity of the 1×1 particle as a function of the relative width of the CRT distribution function. The calculations were done for systems A & B in Fig. 7. In both cases, the initial (i.e., $\sigma/\bar{t} = 0$) FIGE conditions were taken from Table I and were optimized for these systems. A CRT signal does not increase the velocity of the particle when starting from optimized FIGE pulses.

C. Using Correlated Telegraph Sequences To Improve Optimized FIGE conditions

Our goal when using a CRT is to mix different pulse durations in a single sequence to optimize some separation parameter (e.g., the velocity of a particle or the velocity difference between two particles). In this subsection, we will use the optimal pulse parameters found in the previous section (Tables I and II) for the systems in Fig. 7, and we will try to improve the performance by using broader distributions of pulse durations centered around these values.

We thus start with Gaussian distributions centered on the optimal values obtained from the optimization of the mean velocities, Table I, and we vary the standard deviation of the distribution while keeping the ratios $\frac{\sigma_+}{\bar{t}_+}$ and $\frac{\sigma_-}{\bar{t}_-}$ equal in order to have equivalent distribution widths for different starting values \bar{t}_\pm . In the case of systems A and B of Fig. 7, the CRT does not increase the maximum velocity of the 1×1 particle, as shown in Fig. 10. In fact, our results show that a distribution of pulse durations slightly decreases the velocities when one starts from previously optimized FIGE conditions. Since system B has a distribution of trap depths, this result is perhaps somewhat surprising; however, it is probably for this reason that the CRT has less impact on system B. In both case, we observe a plateau when $\frac{\sigma}{\bar{t}} \gg 1$ since the distribution then becomes flat between 0 and $2\bar{t}$.

We now study the effect of CRT pulse sequences on the velocity of the 1×1 and 2×2 particles in system C of Fig. 7. The results are shown in Fig. 11. In the

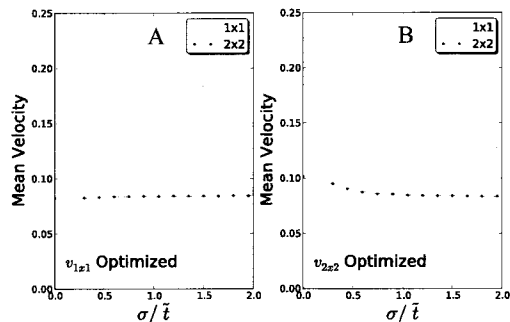


FIG. 11: The mean velocity of the 1×1 and 2×2 particles as a function of the relative width of the CRT distribution function for the system shown in Fig. 7C. A The starting condition is chosen to optimize the velocity of the 1×1 particle. B The starting condition is chosen to optimize the velocity of the 2×2 particle. Our CRT pulse sequence slightly reduces the separation in both cases.

first case A, we first optimized the velocity of the 1×1 particle, and then increased the width of the CRT distribution functions. As we can see, the velocity of the smaller particle decreases slightly when we broaden the CRT distribution function (similar to what we observed in Fig. 10); the velocity of the larger particle is almost flat (we observe a small maximum). When we first optimize the velocity of the 2×2 particle (B), both velocities decrease slightly when we increase the ratio σ/\tilde{t} .

In Fig. 12, we show the results when we first optimize the fitness parameter, Eq. 8, for $\alpha = [0.0, 0.5, 1.0]$ and $\sigma/\tilde{t} = 0$. Again, broadening the CRT distribution functions only decreases the separation when we start with optimized conditions, although we see that two of our parameters improve in the $\alpha = 0$ case. Using several different optimization schemes, we were not able to improve the velocities or the separation of two species using a correlated telegraph signal based on pre-optimized parameters. It would be possible to build even more complex signals, like mixing more than 2 distributions with different mean values, or varying the widths independently from each other, but this would make things considerably more complex.

D. Using Correlated Telegraph Sequences To Improve Unoptimized FIGE conditions

In the previous section, the CRT pulse sequences were all built around previously optimized time parameters \tilde{t}_\pm . In such cases, we showed that the CRT sequence does not increase the velocity of the particles or their separation. However, since the optimal value of the FIGE pulses is generally unknown, it is also important to investigate the performance of CRT pulses when we start from good but

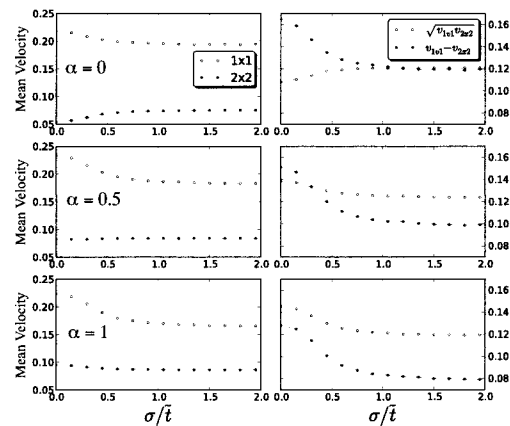


FIG. 12: Left column: The mean velocity of the 1×1 ($v_{1 \times 1}$) and 2×2 ($v_{2 \times 2}$) particles as a function of the relative width $\frac{\sigma}{\tilde{t}}$ of the CRT distribution function for the system shown in Fig. 7C. Right column: the geometric mean $\sqrt{v_{1 \times 1} v_{2 \times 2}}$ and the velocity difference $v_{1 \times 1} - v_{2 \times 2}$ as a function of $\frac{\sigma}{\tilde{t}}$. The three rows: the initial (i.e., $\frac{\sigma}{\tilde{t}} = 0$) conditions were chosen to optimize $H(\alpha = 0)$, $H(\alpha = 0.5)$ and $H(\alpha = 1)$, respectively (see Eq. 8).

non-optimal FIGE conditions.

We thus repeated the calculations that we did for the upper curve in Fig. 10 (i.e., we calculated the velocity of the 1×1 particle in the system of obstacles shown in Fig. 7A). Instead of using the optimal values $\tilde{t}_+ = 88$ and $\tilde{t}_- = 15$ (see Table I), for an optimized ratio of $r_t = 5.87$, we fixed the ratio at $r_t = 6$, and we varied the value of \tilde{t}_+ from $\frac{1}{5}$ to 5 times the optimal value 90. In the case where the resulting pulse is fractional, we took the nearest integer for the pulse duration. Our results are shown in Fig. 13. In all cases where the time duration \tilde{t}_+ is higher than 90, the effect of the CRT is to slightly decrease the mean velocities of the particle. However, when the pulse duration was chosen too short ($< 50\%$), the mean velocities are improved by the CRT sequence, often substantially (see the 20 percent case for example). Remarkably, the 50% case is completely unaffected by the CRT pulses; this is because at this point, the CRT sequence includes the optimal pulse duration (our cutoff is twice the mean). Beyond this point, the CRT sequence includes pulses that are longer than the optimal pulse duration; the result is a reduced velocity. This demonstrates that the key to making CRT pulses is to truncate the distribution of pulse durations in order to avoid exceedingly long pulses. This provides a very useful tool for optimisation of FIGE pulses.

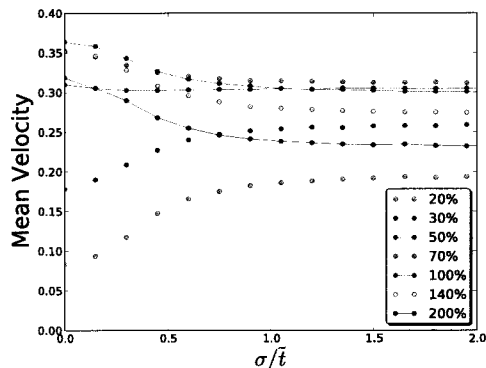


FIG. 13: The mean velocity of the 1×1 particle as a function of the relative width $\frac{\sigma}{\tau}$ of the CRT distribution function for the system shown in Fig. 7A. The FIGE pulse ratio was fixed at $r_t = 6$. For the curve labelled 100%, the pulse durations were $\tilde{t}_+ = 90$ and $\tilde{t}_- = 15$; these are the optimal values for $r_t = 6$. For the other curves, the two pulse durations were scaled according to the label.

E. Using Dichotomous Pulse Sequences

CRT pulses combine different pulse durations that are not optimized but that are close to an optimized value. In principle, a better approach is to combine the N pulse durations that are known to be optimal for the N different species under study. A traditional way to doing this is to slowly ramp the pulse duration between these values. However, this obviously uses unoptimized pulses during the ramp. We thus suggest that the most natural way to combine various pulse durations is actually to randomly alternate between them. In the case of $N = 2$ different molecular species, it leads to a dichotomous pulse sequence.

In order to test this novel idea, we randomly mixed the optimal parameters giving the highest velocities for each particle in the system shown in Fig. 7C (see Table I): ($\tilde{t}_+ = 43, \tilde{t}_- = 11$) for the 1×1 particle, and ($\tilde{t}_+ = 108, \tilde{t}_- = 24$) for the 2×2 particle, both in units of $\tau_{1 \times 1}$ ($\varepsilon = 1$). The corresponding dichotomous pulse sequence is thus:

$$t_+ = \begin{cases} 43 & \beta \\ 108 & (1 - \beta) \end{cases} \quad (10a)$$

$$t_- = \begin{cases} 11 & \beta \\ 24 & (1 - \beta) \end{cases} \quad (10b)$$

with β the control parameter that defines the proportion of each pulse duration in the dichotomous sequence. There are actually two ways to combine two pulses: 1)

one can alternate randomly between the four values mentioned above, with the only constraint that the polarity must change at every pulse, or 2) one can randomize only the selection of the positive pulse, thus forcing the corresponding negative pulse to immediately follow. These two methods give almost identical results (not shown). We used the first of the two methods described here.

In Fig. 14A, we can see the transition from the pulse conditions that optimize $v_{2 \times 2}$ on the left to those that optimize $v_{1 \times 1}$ on the right. Both velocities vary smoothly between these two limits, and maximum separation is obtained when the velocity of the larger particle is minimized. We also investigated how our fitness parameter $H(\alpha)$ varies as a function of the weight parameter β for different values of α (see Fig. 14B). The value of $\beta = 1$ maximizes the fitness parameter for all values of α ; when α approaches unity, however, the fitness parameter becomes a weak function of β . We also note that the curves have a minimum when α is larger than about 0.5. We thus conclude that generally speaking, the best strategy to optimize separation is to optimize the velocity of the smallest (fastest) molecular species.

F. Building a ratchet system with dichotomous pulse sequences

One can actually combine the two pulses of the dichotomous signal in a different way. Since the velocity difference between the two particles is maximum for $\beta = 1$ and minimum for $\beta = 0$, one can use the former to move the particles forward, and reverse the polarity of the field in order to use the latter to move the particles backward. With the right combination, this arrangement can lead to particles moving in opposite directions. Such a combination would be defined as:

$$t_+ = \begin{cases} 43 & \beta \\ 24 & (1 - \beta) \end{cases} \quad (11a)$$

$$t_- = \begin{cases} 11 & \beta \\ 108 & (1 - \beta) \end{cases} \quad (11b)$$

This combination is typical of a ratchet system [5] where asymmetric pulses and/or asymmetric spatial geometries can lead to complex behaviour. In our case, the mean field during the separation is $\bar{\varepsilon} = \frac{58\beta - 42}{66 - 39\beta}$, and is thus zero for the $\beta = \frac{21}{29} = 0.724$. In a linear system, the net velocity of the two particles would thus be negative for $\beta < 0.724$ and positive above. Here, however, the nonlinearities will play an important role around this critical field intensity.

The results of this ratchet-like dichotomous pulse sequence are shown in Fig. 15. At $\beta = 0$, both particles move in the backward direction with the velocities found in Fig. 11, as expected. As the dichotomous parameter β increases, pulses optimal for the smaller particle are integrated, randomly, to the pulse sequences. The two curves

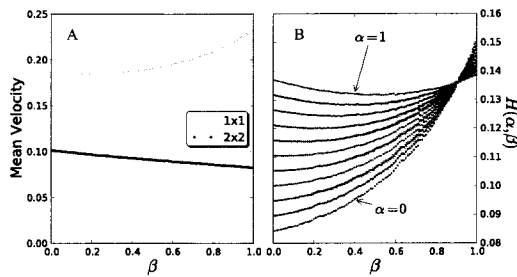


FIG. 14: A: The mean velocity of the 1×1 and 2×2 particles as a function of the dichotomous weight factor β for the system shown in Fig. 7C. The pulse durations are given in Eqs. 10. B: The fitness parameter $H(\alpha)$ (see Eq. 8) vs the weight factor β for values of α from 0 to 1 with increments of 0.1. The $\alpha > 0.5$ curves have a minimum, and all the curves cross for $\beta \simeq 0.9$.

cross at $\beta = 0.52$; below this first critical value, the 1×1 particle is going faster than the 2×2 , in the negative direction. In the next region, for $\beta \in [0.52, 0.63]$, it is the larger particle that has the highest net velocity. In the interval $\beta \in [0.63, 0.71]$, the mean velocity of the 1×1 particle is positive, while the mean velocity of the 2×2 particle is negative. When β is larger than 0.71, the 1×1 particle is again the fastest one, this time with both moving in the positive direction. We note that both particles start moving in the positive direction slightly before the net field becomes positive. In other words, we observe the phenomenon of net negative mobility (the velocity and the net force point in opposite directions [13]). The region where the particles move in opposite directions is quite interesting since this can in principle be exploited to design a device that can separate 2 particles in a batch mode (i.e., with continuous feeding of the device). Alternatively, it could allow the user to separate the two particles using a smaller size system. This is the *virtual gel* concept [14].

V. CONCLUSION

In this article, we have shown that it is possible to study the detraping of spherical particles during gel electrophoresis using an efficient Lattice Monte Carlo model that can be solved exactly. This provides a powerful tool to develop new ideas for improved pulsed field gel electrophoresis strategies.

Using our model and a simplified gel system, we were able to qualitatively reproduce the experimental data published by To & Boyde for the pulsed field electrophoresis of particles in agarose gels.

We then used three model systems to systematically explore pulsed field strategies. These model systems have a fully controlled geometry that can be understood using

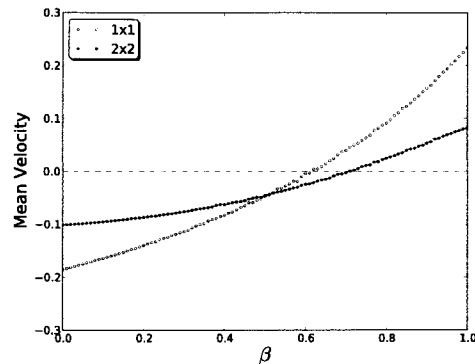


FIG. 15: The mean velocity of the 1×1 and 2×2 particles as a function of the dichotomous weight factor β for the system shown in Fig. 7C. The ratchet-like pulse durations are given in Eq. 11. In the interval $\beta \in [0.63, 0.71]$, the mean velocities have different signs. The two lines cross at $\beta = 0.52$.

simple arguments. Our efficient algorithm allowed us to test all possible FIGE pulse durations and precisely determine the pulse durations t_+ and t_- that optimize the velocity of the particles or their velocity difference. In all cases, the optimal pulse ratio $r_t = t_+/t_-$ was in the range $\simeq 4$ to $\simeq 6$, except in the case of the optimization of the velocity ratio, in which case we found a ratio of 15. These values are slightly larger than what is generally used experimentally. More importantly, however, our results clearly show that the optimal ratio is a function of the gel structure, particle size and performance criterion used by the scientist.

When separating several particles at once, it is not clear what performance criterion one must use in order to optimize the system. We have proposed a new approach which uses a tunable fitness function as a tool for optimization. In principle, the user can define such a function for any number of particles and any list of criteria to be optimized simultaneously. As an example, we defined a one-parameter fitness function $H(\alpha)$ to maximize both the velocities and the velocity difference between two particles. The parameter α is a measure of the weight the user gives to the two criteria that the function tries to optimize simultaneously. We used this fitness function to explore novel pulse strategies.

Since optimizing the velocity of each molecular species requires a specific pulse condition, it is generally not possible to optimize the separation of a mixture of particles using a single pulse conditions. Instead of using traditional pulse ramps (which basically use a range of sub-optimal pulse durations with the hope that the combination will somehow improve the separation of a population of particles), we have proposed three new ways to vary pulse conditions during a separation.

The first approach that we introduced is the correlated random telegraph (CRT). This approach allows us to add fluctuations to a pulse condition that is known to be efficient. When used with previously optimized conditions, the CRT was found to slightly reduce the performance of the FIGE pulses. However, when we used a CRT with the more realistic case of suboptimal FIGE pulses, we found that the CRT fluctuations can greatly improve the performance of the system when the initial pulse durations were too short. More work has to be done in order to fully understand the pluses and minuses of CRT-FIGE pulses for real-case situations.

Next, we introduced the concept of dichotomous FIGE pulse combinations. In this case, two optimized pulse sequences are randomly mixed in order to optimize the separation of two species. Our results indicate that the best sequence is generally that which minimizes the velocity of the slowest species. We think that the concept behind the dichotomous pulses is very promising as a new approach to optimization as it is based on a very logical concept. Extensions to mixtures containing more than two molecules is straightforward and are currently under

investigation.

Finally, we used the dichotomous concept to build a novel ratchet process. Our results show that it is possible to make particles move in opposite directions using the proper random mix of pulses.

Pulsed field gel electrophoresis of particles remains largely unexplored and unoptimized. We have proposed a number of new tools and concepts that can be used to separate particles. However, some of these concepts should also be useful for DNA gel electrophoresis to replace the pulse ramps that have been used for decades.

VI. ACKNOWLEDGEMENTS

This project is based on an idea initiated by F. A. Torres. The authors would like to thank T. N. Shendruk for critical readings of the manuscript. This work was supported by a Research Grant from the Natural Science and Engineering Research Council of Canada to GWS.

-
- [1] K.-Y. To and T. R. Boyde, *Electrophoresis* **14**, 597 (1993).
 - [2] L. Dagdug, A. M. Berezhkovskii, Y. A. Makhnovskii, and V. Y. Zitserman, *The Journal Of Chemical Physics* **127**, 224712 (2007).
 - [3] G. W. Slater and H. L. Guo, *Electrophoresis* **17**, 977 (1996).
 - [4] P. Serwer and G. A. Griess, *Analytica Chimica Acta* p. 8 (1998).
 - [5] G. A. Griess, E. Rogers, and P. Serwer, *Electrophoresis* p. 9 (2001).
 - [6] G. F. Carle, M. Frank, and M. V. Olson, *Science* **232**, 65 (1986).
 - [7] D. C. Schwartz and C. R. Cantor, *Cell* **37**, 67 (1984).
 - [8] J.-F. Mercier, G. W. Slater, and H. L. Guo, *J Chem Phys* **110**, 6050 (1999).
 - [9] J.-F. Mercier and G. W. Slater, *J Chem Phys* **110**, 6057 (1999).
 - [10] M. G. Gauthier and G. W. Slater, *Electrophoresis* **24**, 11 (2003).
 - [11] M. G. Gauthier and G. W. Slater, *J Chem Phys* **117**, 6745 (2002).
 - [12] F. A. Torres, M. G. Gauthier, and G. W. Slater, *Phys Rev E* **78**, 4 (2008).
 - [13] R. Eichhorn, A. Ros, T. T. Duong, P. Reimann, and D. Anselmetti, *Eur. Phys. J. - Spec. Top.* **143**, 159 (2007).
 - [14] G. A. Griess, E. Rogers, and P. Serwer, *Electrophoresis* **21**, 859 (2000).

Chapitre 5

On the Dynamics of Rod-like DNA in a Submicron Size Array

Antoine Dubé, Hendrick de Haan et Gary W. Slater

À soumettre pour publication

On the Dynamics of Rod-like DNA in a Two-Dimensional Nanofluidic System with Constrictions

Antoine Dubé, Hendrick W. de Haan, and Gary W. Slater

Department of Physics, University of Ottawa, 150 Louis-Pasteur, Ottawa, Ontario, Canada K1N 6N5

(Dated: February 28, 2010)

We study the dynamics of short and rigid DNA fragments through a two dimensional nanofluidic device of constrictions using coarse-grained Molecular Dynamics simulations. In the limit where the contour length of the chains is of the order of the size of the constriction, we investigate the role of “torque-assisted escape”, a process that was proposed for three-dimensional systems. Our results show that near the slit entrance, the torque on the rods created by the gradient of the electric field is not responsible for the reorientation of the rods. Rods actually rotate against the torque produced by the electric field gradients near the entrance of the channel. The rods get in a favourable orientation due to the interactions with the walls and the strong electric fields that drive them through the channel. Since the torque has little influence on the dynamics of the escape in two dimensions, we conclude that the effect is likely to be of even less importance in three dimensions. However, this orientation process may make a two-dimensional system more efficient than a three-dimensional one.

I. INTRODUCTION

Photolithography has opened the way to new types of separation devices based on microfluidic and nanofluidic concepts. Among these devices, arrays of circular or rectangular nanoposts have been suggested as a replacement for gel during electrophoresis [1–3] while some mention non-linear behaviour [4, 5]. Using these nanoposts, it has been shown that migration can be oriented according to size [6–8]. In principle, these devices could provide better performance than standard gel electrophoresis since they can be built according to specific dimensions, compared to a distribution of pore sizes in a random gel. Another potential improvement is the absence of field-induced arrest with high electric field from the absence of dead-ends in the system if the system parameters are chosen properly.

One such fluidic system has been introduced by Han & coworkers [9, 10] in order to separate long DNA molecules. A two-dimensional schematic diagram of this system is shown in Fig. 1. When this system was first introduced as a device to separate DNA molecules, the resulting experiments with long soft chains showed that longer chains eluted faster than short ones. The escape process for long chains proposed by Han & coworkers was the formation of hernias at the entrance of the slit. It was later confirmed by numerical simulations [11, 12]. Longer chains will spread across a larger distance along the entrance of the channel, giving a higher probability of escape because several hernias grow simultaneously. The trapping effect for soft chains comes from the competition between the electric field that pulls the chain into the channel and the thermal force that pulls it back in the well to maximize its conformational entropy.

A similar system was used by Fu *et al.* [13] to separate rigid DNA chains whose lengths were comparable to the slit height. For DNA of that size (contour length smaller than about 100 nm, the Kuhn length of dsDNA), the results show that long rods elute faster than short ones at high electric field. Their results show a transition from

an Ogston sieving regime [14] for short chains to an entropic trapping regime for longer ones. In the Ogston regime, the fact that the net available volume is smaller for longer rods in this device leads to a mobility that decreases with increasing chain length. In the entropic trapping regime, however, rotational entropy becomes a major factor and the mobility increases with rod length, leading to a minimum mobility for a critical DNA radius of gyration that roughly matches the slit height, $R_g \sim d$. In order to enter the channel, a long rod obviously has to be oriented in a favourable configuration. A theoretical study by Laachi *et al.* [15] suggests that longer rod-like molecules undergo “torque-assisted escape” from the wells during electrophoresis at high field caused by the gradient of electric field near the entrance of the channel. These authors also predict a corresponding loss of resolution at high field.

This nanofluidic system has since been studied by many groups, *e.g.* to examine the mechanisms of escape of long soft chains [16] and to explore the possible applications for such a device [17]. An analytical description of the dynamics of rod-like molecules in this system has been carried out by Han *et al.* [18, 19], and a study of transport in an asymmetrical system has been published [20]. Finally, the subject has been summarized in a review article [21].

In this paper, we investigate the physics of the electrophoretic separation of rigid-rod molecules in the two-dimensional version of the Han *et al.* system shown in Fig. 1. We chose to study a 2D system for three reasons: 1) The model of Laachi *et al.* [15], at the origin of the “torque-assisted escape” hypothesis, was in fact for a two dimensional system; 2) Since the rod cannot align along the edge of the gap, this represents a strong test of the concept of torque-assisted escape proposed by Laachi *et al.* 3) The lack of a third dimension should increase the sensitivity of the system to the length of the rod, thus potentially increasing the resolution of the device. Note that it is in principle possible to build quasi-2D systems of this kind between two plates separated by a distance h

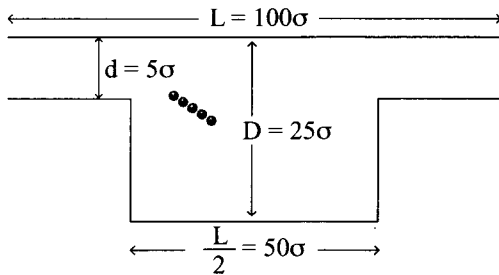


FIG. 1: The unit cell of the system under study in this article. The total length of the cell is L , with $L/2$ for the well and $L/2$ for the channel. The well depth is D while the channel height is d , with a ratio of $\delta = d/D = 0.2$. Periodic boundary conditions are applied along the x -axis. A rod made of $N = 5$ beads with a contour length of $L_c = 4.8\sigma$ is also shown.

much smaller than the slit height d ; one would also need h to be smaller than the contour length of the smallest rod-like molecule to be separated by the device. As we shall see, our simulation data reproduce, at the qualitative level, the results reported by Fu *et al.* [13] for a 3D system. Our computer simulations also allowed us to directly test the torque-assisted escape picture proposed by Laachi *et al.* [15]. Additionally, we present further *diagnostic measurements* such as the fraction of the time spent in the well and in the channel, and the probability distribution functions for both the position of the rod and its orientation in order to characterize the dynamics in the system thoroughly. We conclude by looking at the predicted performance of this system.

II. MODEL AND NUMERICAL METHOD

In this work, we have performed Langevin dynamics (LD) simulations of short, rigid polymers moving through the nanofluidic device shown in Fig. 1. The polymers are made of beads, as shown in the figure. Excluded volume interactions is imposed by the purely repulsive WCA potential

$$U_{WCA}(r) = \begin{cases} 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r}\right)^6 \right] + \epsilon & r < r_{cut} \\ 0 & r \geq r_{cut} \end{cases} \quad (1)$$

where σ is the effective size of the beads, ϵ is the strength interaction and the cutoff radius $r_{cut} = 2^{1/6}\sigma$. The polymer is modelled as a series of N spheres bonded by a FENE potential:

$$U_{FENE}(r) = -\frac{1}{2}K_{FENE}\Delta r_{max}^2 \ln \left[1 - \left(\frac{r}{\Delta r_{max}}\right)^2 \right] \quad (2)$$

where K_{FENE} is the strength of the potential and Δr_{max} is the maximum elongation of the spring. We chose the

values of $K_{FENE} = \frac{30\epsilon}{\sigma^2}$ and $\Delta r_{max} = 1.5\sigma$, following the model of Kremer & Grest [22]. In addition to these terms, a bending potential is included:

$$U(\phi) = K_{BEND}[1 - \cos(\phi - \pi)] \quad (3)$$

where ϕ is the angle formed by three consecutive spheres. To obtain a rigid rod, a value of $K_{BEND} = 50\epsilon$ is chosen.

Simulations were made using a modified version of the ESPResSO simulation package [23]. The nanofluidic device is modeled as mathematical constraints representing the top and bottom walls for numerical simplicity. The other walls, where mathematical constraints as implemented in the simulation package cannot be used, are built with fixed Lennard-Jones beads, with a distance of σ between their centres. The system has a total length of $L = 100\sigma$, the well depth is $D = 25\sigma$ and the slit height is $d = 5\sigma$. We applied periodic boundary conditions along the direction of migration. Our field strengths range from $5 \times 10^{-3} \frac{\epsilon}{\sigma}$ to $1.15 \times 10^{-1} \frac{\epsilon}{\sigma}$, and our chain lengths from $N = 3$ to $N = 12$. The longest rod, $N = 12$, corresponds to a length approximately twice the channel height d and half the well height D . The rod dynamics that we want to study in this paper plateaus for molecules around this size (see Fig. 2); we also want to avoid trapping situations that could happen for longer rods ($L_c > D$). Since the bond length is $b = 0.96\sigma$, the contour lengths $L_c(N)$ range from $L_c(3) = 2.88\sigma$ to $L_c(12) = 11.52\sigma$.

A key feature of this system is its complicated geometry, which gives rise to a non-uniform electric field. The electric field was obtained by solving the Laplace equation for the potential $\phi(x, y)$ on a lattice of spacing of 0.1σ . We assumed that the walls were perfect insulators and imposed a fixed potential difference ΔV between the two ends of the system, without taking into account the periodic boundary conditions. From the solution of Laplace equation, we use the expression $\vec{E}(x, y) = -\vec{\nabla}\phi(x, y)$ to obtain the electric field. The average electric field is given by: $\langle E \rangle = \frac{\Delta V}{L}$. Since the resulting electric field is only defined on the lattice sites, we use 2D linear interpolation [24] to compute the values of \vec{E} between the lattice nodes.

III. RESULTS

A. Mobilities

We begin our investigation by calculating the mobilities of the rods, $\mu = \frac{v}{\langle E \rangle}$, under different electric field strengths. The results are shown in Fig. 2. Velocities v were calculated from linear regressions of the x vs t trajectories and averaged over many independent trajectories. Our data are qualitatively similar to the experimental results of Fu *et al.* [13]. We can see distinguish three cases. At low field intensity, mobilities decrease monotonically with chain length. In this limit, the chains are in the Ogston sieving regime and Brownian motion

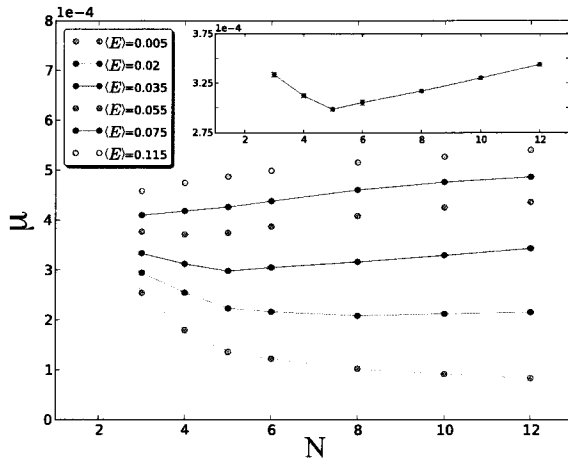


FIG. 2: Mobility μ of rigid DNA chains as a function of their length (number of beads). For field intensities below the critical value $\langle E^* \rangle \simeq 0.035$, the mobility decreases for all chain lengths. When $\langle E \rangle = \langle E^* \rangle$, the chain is in the entropic trapping regime, characterized by a decrease with chain length for small chains $L_c < d$, a minimum when $L_c \approx d$, and then an increase for longer chains. For fields higher than $\langle E^* \rangle$, the mobility increases with chain length. *Inset*: Data for $\langle E \rangle = 0.35$ replotted to highlight the non-monotonic nature of the size dependence.

dominates the dynamics. Small rods have more space than long ones and reach the entrance of the channel in less time. When L_c becomes larger than the height of the slit, the mobility saturates. When the field is around the critical value of $\langle E^* \rangle \simeq 0.035$, the mobility varies non-monotonically with chain size N . The mobility curve shows a minimum when the contour length of the DNA is approximately equal to the slit height $L_c(N) \approx d$. At higher field, the curve is again monotonic, this times increasing with DNA size. In this case, the electric forces completely dominate the problem. The critical value $\langle E^* \rangle$ thus defines the limit between two regimes: Ogston sieving when diffusion dominates and driven migration when the external force dominates. Our results are qualitatively similar to those of Fu *et al.* [13], except for the fact that they did not observe the disappearance of the minimum at high field. This could be because they did not use field intensities that were high enough to kill the effect of the Brownian motion for their smallest molecules. Another possibility is that the minimum is a stronger feature in three-dimensions because of the increased degrees of freedom enjoyed by the chains.

B. Analysis of the passage times

Due to the shape of the channel, the intensity of the electric field is much higher in the channel than in the

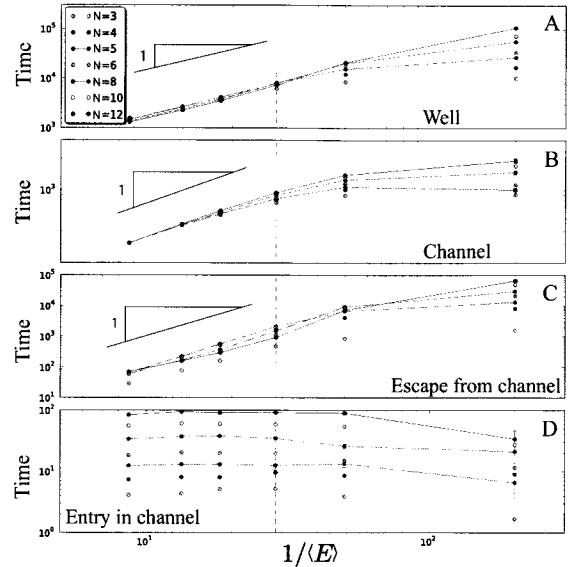


FIG. 3: **A**: Time spent in the well as a function of the external field. We note a crossover around the critical field $\langle E^* \rangle = 0.035$. **B**: Time spent in the channel section of the system. At high field, all curves converge to a single line. **C**: Escape time from the channel, defined as the time taken by the centre-of-mass of the rod to travel between $x = 25$ and $x = 25 + L_c(N)/2$ for each chain. **D**: Entrance time in the channel, defined as the time taken by the centre-of-mass of the chain to travel between positions $x = 75$ and $x = 75 + L_c(N)/2$ for each chain.

well. This, of course, will directly affect the time spent in each section of the channel, regardless of entropic and orientational effects. In Fig. 3, we show an analysis of the time spent in each section of the channel in order to determine which one is actually responsible for the size separation observed in Fig. 2. The times are calculated by following the position of the center of mass of the rod. Parts A and B show that the time spent in the deep well and in the gap both decrease as $1/\langle E \rangle$ at high field intensity $\langle E \rangle > \langle E^* \rangle \simeq 0.035$, as expected. As a matter of fact, this time is a weaker function of size passed this point. At low field, however, the different curves cross in Part A, and while the time spent in the well appears to saturate for small size molecules, it keeps increasing for longer rods. This difference comes from the fact that Brownian motion plays an important role for small molecules at low field, as mentioned before. Clearly, the large spread of the curves at low field suggests that separation is possible in this range. However, there is also a spread at higher fields. The time spent in the channel (Part B) is a weaker function of the molecular size in the low field limit, and the curves do not cross. Furthermore, this time is about an order of magnitude smaller than the time spent in the well because

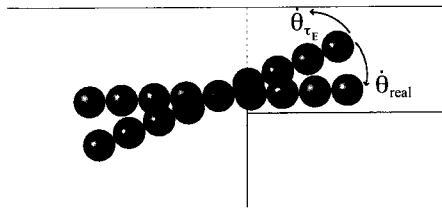


FIG. 4: Illustration of a chain near the entrance of the slit. The torque caused by the electric field pushes the rod in a counterclockwise direction. However, the net motion is actually clockwise.

of the difference in field intensity (roughly given by the ratio $\frac{D}{d} = 5$). At high field, however, this time is essentially size-independent. These results indicate that it is the time spent in the well that is mostly responsible for the performance of the device, both above and below the critical field (E^*). The system should thus be designed to maximize the impact of the well.

There are two key transition regions in the system: when the rod moves out of the channel and into the well, and from the well into the channel. The time taken to exit the channel is given in Part C of Fig. 3. Here we observe size-dependence both above and below the critical field, and the curves cross again. The only exception is for the $N = 3$ case, which can take any orientation inside the channel since $L_c(N = 3) < d$. The time to exit the well, on the other hand, is almost independent of the field intensity (Part D), except for low fields and long molecules; however, since this time is rather small compared to the total transit times, it is unlikely to play any role in the system's performance. Of course, it does not mean that this part is unimportant. The fact that the molecules so efficiently finds the entrance to the gap ensures that the total transit times are reasonable.

C. Test of Torque-assisted Escape

The theoretical idea of Laachi *et al.* [15] was tested numerically. In order to fully understand the escape process, we calculated a variety of parameters as a function of the position of the centre-of-mass of the rod along the x-axis. These measurements include the position density, the mean height, the velocity along the y direction, the mean orientation of the rod, its angular velocity and the direct torque caused by the electric field gradients. Our results can be found in Fig. 5 for $N = 3$ and $N = 12$ under a high field intensity. The torque caused by the electric field is calculated using the definition of the torque: $\vec{\tau}_E = \vec{r} \times \vec{F}_E$, where \vec{F}_E refers to the electric force on the rod at a distance \vec{r} from its center of mass.

In the region $x < 25$, before the center of mass has reached the well, the rods are simply moving in a straight line, as they would do in a uniform slit. The gradi-

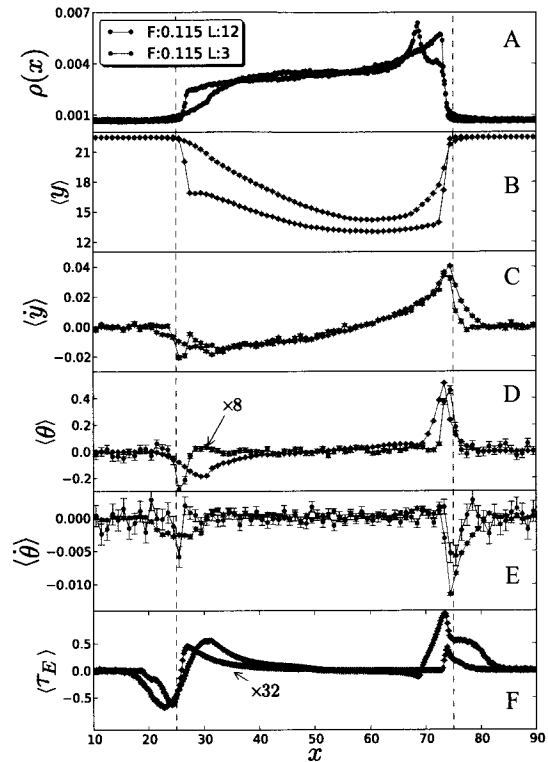


FIG. 5: Different calculation made on the $N = 3$ and $N = 12$ rods along the axis of migration. The x-axis is the position of the center of mass. **A**: Density of presence along the direction of motion. **B**: Mean height of the center of mass. **C**: Mean linear velocity of the center of mass in the direction perpendicular to the migration. **D**: Mean angle, calculated from the x-axis. **E**: Angular velocity of the rod. **F**: Mean torque caused by the electric field. For all calculations involving angles or rotations, the positive directions is taken to be counter-clockwise. The dot-notation refers to a time derivative of the value: $\dot{\theta} \equiv \frac{d\theta}{dt}$. Note, from parts E and F, that the torque is not responsible for the reorientation of the rods near the wall. The rods rotate clockwise while the torque caused by the electric field is positive.

ent of electric field begins to act on the rods when the first bead is near the entrance of the well, i.e. when $x \approx \left(25 - \frac{L_c(N)}{2}\right)$. At this position, the curved field lines point towards the bottom of the well, causing a torque on the rods. This torque is larger for a longer rod and induces a clockwise rotation, as we present in Fig. 5 D, E and F. This motion continues until the last bead of the chain exits the channel. During the transition between the channel and the well, the velocity of the molecule in the x-direction decreases and the rod starts moving down in the well. The decrease in velocity can be inferred from

the increase of the probability of presence in Fig. 5A. It is interesting to note that the torque changes sign after the rod has fully exited the channel; the rod then slowly moves towards an horizontal orientation, more or less parallel to the field lines. The angular velocity is essentially zero in the middle of the well. The orientation of the rod then changes suddenly when it gets close to the channel entrance at $x = 75$.

The interaction with the second constriction creates a more complex dynamics. When the rods are in range to interact with the wall located at position $x = 75$, we can see a peak in the probability distribution function in Fig. 5A. Since the electric field is high, the rods can overcome the entropic barrier caused by the proximity of the wall and some of them lie flat against the vertical wall. When getting close to the wall, the rods are pulled upward by the electric field, toward the entrance of the channel, as we see in parts B and C of Fig. 5. The rods are then being dragged into the channel. We can see from parts E and F of Fig. 5 that the angular velocity is clockwise while the torque caused by the electric field is positive, acting to turn the rod in the direction opposite to the one observed. The mechanism responsible for the reorientation of the rods is the strong pull from the high electric field at the entrance, combined with the interactions with the walls. The torque does not seem to be an important actor, contrary to the theory proposed by Laachi *et al.* [15].

IV. CONCLUSION

Although our simulation model does qualitatively reproduce the key experimental results of Fu *et al.* [13], it

does not support the torque-assisted escape phenomenon proposed by Laachi *et al.* [15]. We actually expected the torque to play an even larger role in two-dimensions since the rods cannot orient along the edge of the channel (a likely orientation for long rods in three dimensions). In the region where the torque was expected to play a role, the actual mean angular velocity is going against the mean torque, showing that other physical processes dominate the dynamics. These include the motion along the field lines, the interactions with the vertical wall, and the collision with the ceiling of the device.

We also computed the time a chain spends in different subsections of the system, including the well, the channel and the regions near the constrictions. These spent in the well is both the largest time and the most size-dependent one when the field is low. In strong fields, the time to enter the channel is the only one that remains strongly size-dependent; however, this time is too small to be responsible for the performance of the system. We thus conclude that an optimized system should have a long and deep well but a short channel.

V. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank D. Sean and T. N. Shendruk for helpful discussions on the subject. This work was supported by a Research Grant from the Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada to GWS.

-
- [1] W. D. Volkmuth and R. H. Austin, *Nature* **358**, 600 (1992).
 - [2] T. A. J. Duke and R. H. Austin, *Physical Review Letters* **80**, 1552 (1998).
 - [3] J. Ou, J. Cho, D. W. Olson, and K. D. Dorfman, *Physical Review E* **79**, 061904 (2009).
 - [4] R. Eichhorn, A. Ros, J. Regtmeier, T. T. Duong, P. Reimann, and D. Anselmetti, *European Physical Journal - Special Topics* **143**, 159 (2007).
 - [5] J. Regtmeier, R. Eichhorn, T. T. Duong, P. Reimann, D. Anselmetti, and A. Ros, *The European Physical Journal E* **22**, 335 (2007).
 - [6] L. R. Huang, E. C. Cox, R. H. Austin, and J. C. Sturm, *Science* **304**, 987 (2005).
 - [7] K. J. Morton, K. Louthback, D. W. Inglis, O. K. Tsui, J. C. Sturm, S. Y. Chou, and R. H. Austin, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 7434 (2008).
 - [8] D. W. Inglis, *Applied Physics Letters* **94**, 013510 (2009).
 - [9] J. Han, S. W. Turner, and H. G. Craighead, *Physical Review Letters* **83**, 1688 (1999).
 - [10] J. Han and H. G. Craighead, *Science* **288**, 1026 (2000).
 - [11] F. Tessier and G. W. Slater, *Applied Physics A* **75**, 285 (2002).
 - [12] F. Tessier, J. Labrie, and G. W. Slater, *Macromolecules* **35**, 4791 (2002).
 - [13] J. Fu, J. Yoo, and J. Han, *Physical Review Letters* **97** (2006).
 - [14] J. L. Viovy, *Review of Modern Physics* **72**, 813 (2000).
 - [15] N. Laachi, C. Delet, C. Matson, and K. D. Dorfman, *Physical Review Letters* **98** (2007).
 - [16] M. Streek, F. Schmid, T. T. Duong, and A. Ros, *Journal of Biotechnology* **112**, 79 (2004).
 - [17] J. P. Fu, P. Mao, and J. Han, *Applied Physics Letters* **87**, 1 (2005).
 - [18] Z. R. Li, G. R. Liu, Y. Z. Chen, J. S. Wang, H. Bow, Y. Cheng, and J. Han, *Electrophoresis* **29**, 329 (2008).
 - [19] Z. R. Li, G. R. Liu, J. Han, Y. Cheng, Y. Z. Chen, J.-S. Wang, and N. G. Hadjiconstantinou, *Physical Review E* **80** (2009).
 - [20] Z. R. Li, G. R. Liu, J. Han, Y. Z. Chen, J. S. Wang, and N. G. Hadjiconstantinou, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **394**, 427 (2009).
 - [21] J. Han, J. Fu, and R. Schoch, *Lab of a Chip* **8**, 23 (2008).
 - [22] G. S. Grest and K. Kremer, *Physical Review A* p. 4

-
- (1986).
- [23] A. Arnold, B. A. Mann, H. J. Limbach, and C. Holm, *Computer Physics Communication* **174**, 17 (2004).
 - [24] W. Press, S. Teukolsky, W. Vetterling, and B. Flannery, *Numerical Recipes in C* (Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1992), 2nd ed.

Chapitre 6

Quelques résultats supplémentaires

6.1 Séparation de particules par taille selon différentes directions

Le système de pièges asymétriques présenté par Torres *et al.* [3], qui est illustré à la Fig. 6.1, permet la séparation de particules de deux tailles différentes. Étant donné la géométrie du système, lorsqu'un champ alterné est appliqué, les vitesses moyennes de chaque taille de particule ont des directions opposées. Ce système se limite à un champ selon une seule dimension, avec des pièges orientés selon cette même dimension. Nous tentons ici de généraliser à deux dimensions le champ et le système présenté par Torres et ses collègues.

Nous avons modifié ce système pour pouvoir séparer les particules selon deux dimensions. Le système, généralisé avec des pièges dans les deux dimensions, est présenté à la Fig. 6.2 (a). Les pièges dans la dimension horizontale de la figure bloquent le mouvement des particules de tailles 1×1 et 2×2 . Dans la seconde dimension, le mouvement est bloqué pour des particules de tailles 3×3 et 4×4 . Des conditions aux frontières périodiques sont imposées.

La méthode numérique développée par Torres *et al.* a aussi été généralisée pour pouvoir étudier un signal alternatif et cyclique dans les dimensions. Le signal alternatif et cyclique se sépare en quatre parties. Chaque partie du signal a une amplitude et une direction qui lui est propre. De plus, chaque partie est appliquée individuellement. Nous appliquons le champ

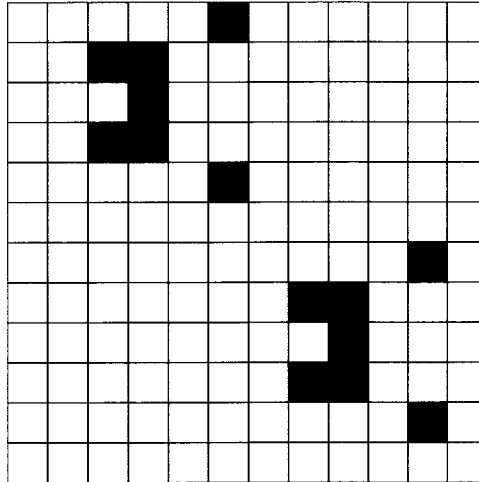


Figure 6.1 Système de pièges en deux dimensions proposé par Torres *et al* [3]. Des conditions aux frontières périodiques sont appliquées selon les deux dimensions. Les obstacles impénétrables sont montrés en noir sur le réseau. Ce système permet une séparation basée sur le piègeage lorsque le champ est selon l'axe des x .

dans la direction anti-horaire, soit : $+x$, $+y$, $-x$ et $-y$, et ce, périodiquement. La méthode, expliquée en détails à la section 3.1, requiert un signal discrétisé en pulses de durée $\tau(\varepsilon)$. Chaque pulse se traduit par une matrice de transfert A_i où i donne la direction. Tel que nous décrivons dans la section de la méthode plus tôt, le signal en matrices se traduit par :

$$(A_{-y})^{m_y} (A_{-x})^{m_x} (A_{+y})^{n_y} (A_{+x})^{n_x} |n_1\rangle = |n_1\rangle \quad (6.1)$$

où les n_i et m_j donnent le nombre de pulses dans la direction i ou j . Nous avons ici un problème de vecteurs propres pour déterminer l'état stationnaire $|n_1\rangle$, qui donne la probabilité de présence sur chaque site.

En utilisant cette méthode de champs rotatifs avec les paramètres suivants : $n_x = n_y = m_x = m_y = 500$ et $\varepsilon_{\pm x} = \varepsilon_{\pm y} = \pm 2$, la direction du mouvement pour chaque taille de particules suit presque chacun un axe, tel que nous l'illustrons à la Fig. 6.2 (b).

Grâce aux trappes orientées dans chaque direction pour chaque taille de particules, la vitesse moyenne d'une particule de taille donnée est affectée par l'orientation de la trappe. Chaque particule verra son mouvement bloqué dans une seule direction, ce qui la dirigera dans la direction opposée. Quant aux pièges dans la direction perpendiculaire, ils ralentissent le mouvement sans le bloquer complètement. La vitesse moyenne sur l'axe perpendiculaire est approximativement nulle.

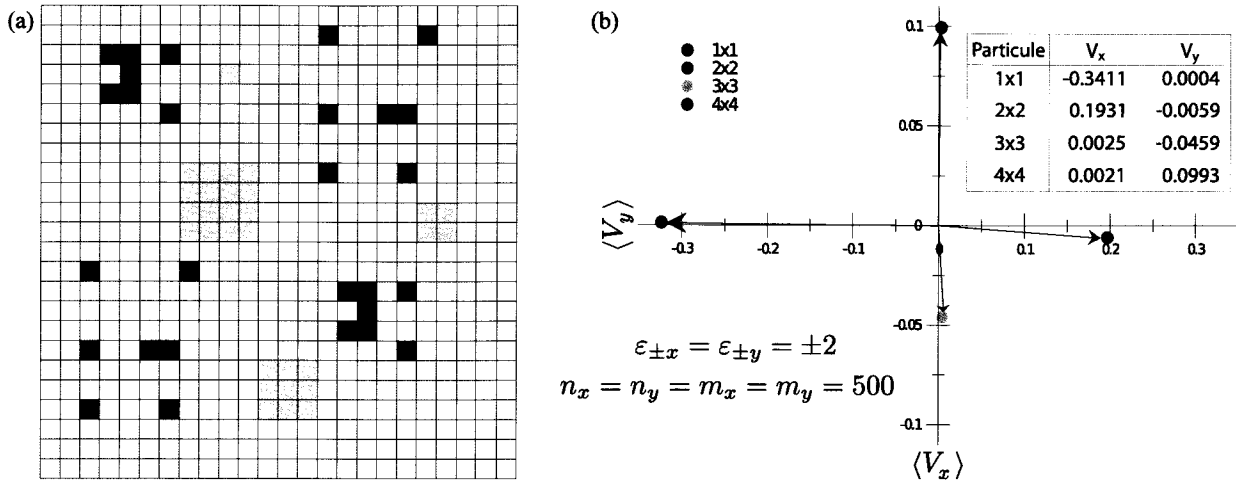


Figure 6.2 (a) Système de pièges en deux dimensions. Les obstacles impénétrables sont montrés en noir, et les particules sont montrées en gris sur le réseau. Des conditions aux frontières périodiques sont appliquées selon les deux dimensions. (b) Vitesses moyennes dans le système présenté en (a) le long de chaque axe (V_x et V_y).

À notre connaissance, ce système est le premier à utiliser le principe de rochet rotatif en deux dimensions. Il est novateur du point de vue de son utilisation, car il pourrait servir à la séparation en continu. Par exemple, le mélange à séparer pourrait être introduit au centre du système et chaque espèce serait récoltée d'un côté différent. Il n'y aurait pas nécessité d'arrêter la séparation pour le nettoyage du système ou pour la récolte des espèces.

Il y a quelques mois à peine, dès l'arrivée des tous premiers résultats, notre idée a été de faire une demande de brevet. Après mûres réflexions, nous sommes revenus sur notre décision et avons abandonné l'idée du brevet. Nous allons nous limiter à la publication de l'idée de système de rochet en deux dimensions. Un tel système, dans la réalité, pourrait être construit en faisant croître des nano-piliers dans un système microfluidique, de façon à recréer l'arrangement présenté à la Fig. 6.2(a). Nous allons chercher à convaincre des groupes expérimentaux de bâtir un prototype pour tester notre nouveau concept.

6.2 Séparation de sphères dans le système de Han *et al.*

Le système introduit par Han *et al.* a été étudié pour la séparation de sphères rigides par Cheng *et al.* sous l'application d'un champ électrique continu en réalisant des simulations

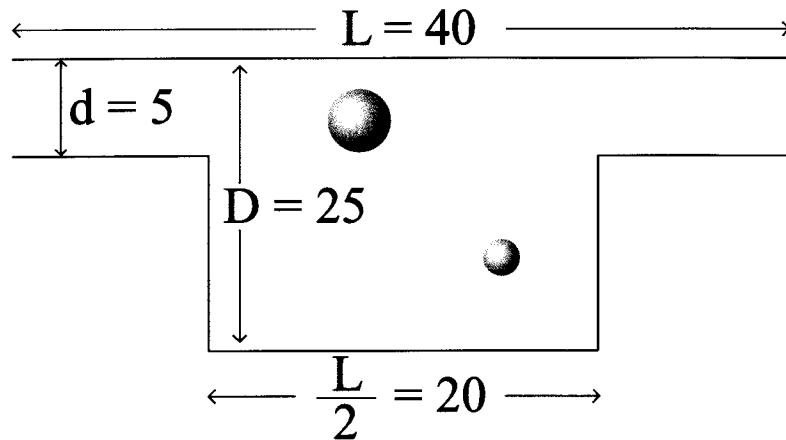


Figure 6.3 Système introduit par Han *et al* [1], ici présenté en deux dimensions. En gris, les cercles représentent les sphères de différentes tailles simulées dans le système. Les dimensions du système sont incluses sur la figure, en unités de σ .

numériques de dynamique Brownienne [5]. Un schéma du système est présenté à la Fig. 6.3. Les résultats de Cheng *et al.* sont présentés à la Fig. 6.4(a).

Selon les résultats en champs DC de Cheng *et al.*, ainsi que nos simulations, on peut remarquer une inversion de l'ordre des vitesses. Le but de notre étude était de tester l'effet d'un champ électrique alterné sur la vitesse moyenne des particules. Le signal alterné est construit en utilisant une valeur de champ de chaque côté du point d'inversion des vitesses. Notre hypothèse était qu'un champ alterné pourrait améliorer la séparation, et peut-être même obtenir des particules qui bougent en directions opposées, selon leur taille. Les tailles de particules seront exprimées en fonction de la hauteur du canal, d , dans cette section.

Le système est simulé en deux dimensions pour des raisons de rapidité de simulations, car la dynamique en trois dimensions est la même qu'en deux dimensions. De plus, l'approximation en deux dimensions ne fait perdre aucune information par la symétrie des particules sphériques. Les simulations ont été effectuées en utilisant la méthode décrite à la Section 3.2.

Nos résultats pour un signal continu sont présentés dans la Fig. 6.4 avec ceux publiés par Cheng *et al.*[5]. Dans les deux graphiques, on peut facilement voir la transition de migration à champ faible où la petite sphère voyage plus rapidement jusqu'à la migration à champ fort où la grosse particule voyage plus rapidement. Une caractéristique importante est l'inversion de l'ordre des vitesses à $\langle E^* \rangle = 2$ pour Cheng *et al.* et à $\langle E \rangle = 0,512$ pour nos simulations. Dans les simulations de Cheng *et al.*, le champ moyen est donné sans unité : $\langle E^* \rangle = \langle E \rangle / (k_B T / ed)$

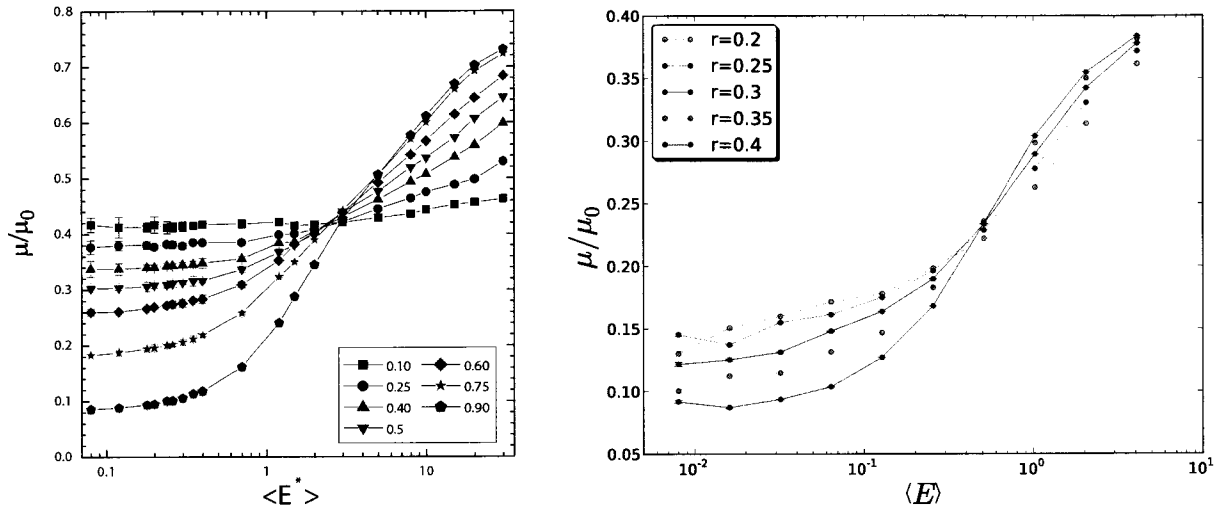


Figure 6.4 *Gauche* : Mobilité moyenne de particules sphériques de différentes tailles en fonction du champ électrique moyen, publiés par Cheng *et al.*[5]. *Droite* : Résultats de nos simulations numériques. μ_0 correspond à la mobilité des particules en solution libre.

où $k_B T$ est l'énergie thermique et e la charge électrique élémentaire. La différence entre $\langle E \rangle$ et $\langle E^* \rangle$ est de l'ordre de 5×10^{-3} pour notre système.

Avec ces résultats, nous avons décidé d'appliquer un champ alterné au lieu du champ continu. Le champ alterné choisi est un champ de moyenne nulle, appelé «ZIFE» dans la Section 1.7. Pour construire le signal, nous avons fixé les deux valeurs de champ. La condition de moyenne nulle fixe une des durées du signal. Il nous reste donc un paramètre libre. Les intensités de champs électriques dans le signal alterné ont été choisies pour que la plus grosse particule soit plus lente que la petite à champ faible, et inversement à champ fort. La transition dans l'ordre des vitesses se fait à la valeur critique $\langle E \rangle = 0,512$. Au-dessous de cette valeur, les petites particules sont plus rapides alors qu'elles deviennent plus lentes au-dessus de cette valeur. Pour le signal alterné, les valeurs de champ utilisées sont $\langle E \rangle = 1,024$ et $\langle E \rangle = -0,128$, soit une valeur de chaque côté du champ critique $\langle E \rangle = 0,512$ et une dans la direction opposée à l'autre.

Le résultat pour cinq tailles de particule différentes se trouve à la Fig. 6.5. À haute fréquence, la vitesse moyenne tend vers zéro, alors qu'elle tend vers une valeur finie pour une fréquence nulle. Aucun phénomène de résonance n'est observé. La vitesse moyenne dans la limite de fréquence nulle augmente avec la taille de la particule. Les valeurs des vitesses

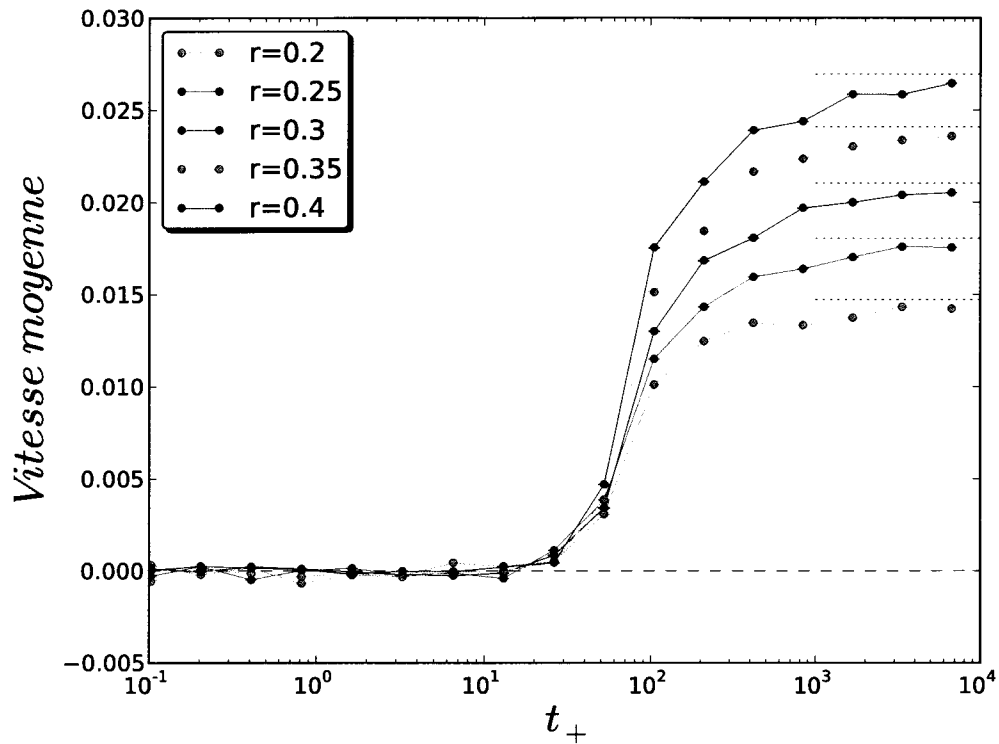


Figure 6.5 Vitesse moyenne de particules de différentes tailles en fonction de la durée d'application du champ dans la direction positive. Les cinq lignes pointillées montrent les valeurs prédites dans la limite de fréquence nulle en utilisant l'Éq 6.3 et le tableau 6.1.

moyennes aux deux extrêmes peuvent être approximées avec les vitesses en champ DC de la façon suivante. Dans la limite de fréquence infinie, lorsque $t_+ \rightarrow 0$, la vitesse moyenne en champ alterné prendra la valeur de la vitesse moyenne en champ DC, mais avec un champ égal à la moyenne des champs utilisés dans le signal AC :

$$\langle V_{AC} \rangle \Big|_{t_+ \rightarrow 0} \cong V_{DC} (\langle E \rangle). \quad (6.2)$$

Dans le cas du signal «ZIFE», la moyenne du champ est nulle, par définition. Le champ étant nul, la vitesse moyenne en DC sera aussi nulle. Donc, à fréquence infinie, la vitesse moyenne devrait tendre vers zéro. Dans la Fig. 6.5, on peut voir que la vitesse moyenne tend vers zéro dans la limite $t_+ \rightarrow 0$ pour toutes les particules.

La situation devient plus intéressante dans la limite de fréquence nulle. La vitesse moyenne en champ AC peut aussi être exprimée en fonction des vitesses en champ DC pour

Rayon	$\langle V_{AC} \rangle \Big _{t_+ \rightarrow \infty}$
0,2	0,0142
0,25	0,0175
0,3	0,0205
0,35	0,0236
0,40	0,0264

Table 6.1 Vitesse moyenne prévue pour un champ alterné de fréquence nulle, pour des particules de différents rayons.

chacun des champs utilisés. La vitesse moyenne sera donnée par la moyenne des champs DC qui composent le signal AC. Sous forme d'équation, la vitesse moyenne peut être exprimée de la façon suivante, où le rapport $r_E = \frac{E_+}{E_-}$ a été défini :

$$\langle V_{AC} \rangle \Big|_{t_+ \rightarrow \infty} \cong \left(\frac{1}{1 + r_E} \right) V_{DC+} - \left(\frac{r_E}{1 + r_E} \right) V_{DC-}. \quad (6.3)$$

Le tableau 6.1 donne les valeurs de vitesses à fréquence nulle pour les différentes tailles de particules. Les résultats de la Fig. 6.5, dans la limite de fréquence nulle, tendent vers ces valeurs.

En superposant un champ DC négatif au champ «ZIFE» présenté précédemment, il serait possible de déplacer les courbes de façon à avoir la ligne $\langle V \rangle$ entre deux plateaux dans la limite $t_+ \rightarrow \infty$. Sous ces conditions, la séparation serait grandement améliorée par la différence de polarité des vitesses. De plus, il est possible de bâtir un système de séparation en continu où des espèces seraient récoltées à chaque extrémité du système.

Chapitre 7

Conclusion

Dans ce chapitre de la thèse, nous revenons sur les points principaux de notre recherche, puis nous discutons de ses limites et de ses implications pour des projets futurs.

Dans le premier projet, nous avons étudié la dynamique de particules sphériques qui peuvent demeurer piégées dans un gel lorsqu'un champ continu est appliqué. Notre étude a permis l'optimisation d'un signal alterné à deux fins : déterminer la séquence de pulses donnant la vitesse maximale des particules de tailles différentes, et la présentation de deux nouveaux signaux aléatoires dans le but d'améliorer les vitesses ou la séparation, ou une combinaison des deux. Dans la partie sur l'optimisation des vitesses, nos résultats de simulations montrent que le rapport des durées dans chaque direction pour un signal alterné, $r_t = \frac{t_+}{t_-}$, qui donnerait des vitesses maximales serait plutôt de 5, au lieu de 2 ou 3 comme certaines personnes utilisent, comme To et Boyde [23] qui utilisent un rapport de 2. Les deux signaux introduits pour ce projet avaient pour but l'amélioration de la séparation d'espèces lors de l'électrophorèse. Dans le cas du signal télégraphe, l'idée était de créer un signal ayant une distribution de durées de pulses pouvant s'adapter la distribution de profondeur de pièges. Les résultats du signal télégraphe montrent que ni les vitesses, ni la séparation ne sont améliorées lorsque les distributions gaussiennes de pulses sont élargies et que la valeur moyenne de ces distributions sont les valeurs optimales d'un signal alterné. De son côté, le signal dichotomique, mélangeant aléatoirement l'ordre mais gardant constantes les proportions des deux durées de pulses, a permis d'obtenir un régime où les vitesses des deux espèces en mi-

gration avaient des directions opposées. Par contre, les vitesses absolues ne se trouvent pas augmentées avec ce signal. Notre attente envers ces deux nouveaux signaux aléatoires était plus grande que les résultats qui sont ressortis des simulations. Avec le signal télégraphe, il est difficile de faire mieux qu'un signal alterné qui a été optimisé. D'un certain point de vue, le fait d'ajouter une distribution de pulses autour de la valeur optimale a pour effet de contaminer la séquence, au lieu de l'améliorer. Nous avons aussi testé notre signal télégraphe sur un des systèmes lorsque les valeurs moyennes \tilde{t}_{\pm} ne sont pas les valeurs optimales et que le rapport r_t est gardé fixe. Nos résultats montrent que les vitesses moyennes sont améliorées si \tilde{t}_{\pm} sont au-dessous de 50% des valeurs optimales. Dans le cas contraire, lorsque \tilde{t}_{\pm} sont au-dessus des valeurs optimales, le CRT a un effet négatif sur les vitesses. Les effets sont amplifiés lorsque les valeurs de \tilde{t}_{\pm} s'éloignent de la valeur optimale.

Notre approche numérique est un outil puissant qui peut permettre la simulation d'une grande variété de séquences de pulses. La limite de cette méthode numérique vient de son utilisation d'une grande quantité de ressources informatiques. La méthode requiert beaucoup de mémoire dans le cas des grandes matrices et beaucoup de temps de calcul dans le cas des longs signaux. Cela nous limite dans la taille des gels à simuler, ainsi que dans la longueur des séquences de pulses. Néanmoins, il s'agit d'un outil exploratoire puissant dont les limites peuvent être réduites en passant à des simulations Monte-Carlo.

Dans le deuxième projet de recherche, nous avons étudié la dynamique de fragments d'ADN rigides dans un système microfluidique. Le système en question est celui introduit en 1999 par Han, Turner et Craighead [1] pour la séparation de longues chaînes d'ADN souples. Par la suite, ce même système a été étudié théoriquement par Laachi *et al.* pour des fragments rigides d'ADN. Lors de l'électrophorèse de ces courts bâtons d'ADN sous un champ fort, les brins les plus longs traversent le système en moins de temps. L'explication avancée par Laachi *et al.*, à propos de la vitesse moyenne plus élevée pour les brins les plus longs, implique le gradient élevé du champ électrique près de la région de constriction dans le système. Selon Laachi *et al.*, le gradient du champ électrique à cet endroit oriente les bâtons dans une orientation acceptable pour leur entrée dans le canal. Cette réorientation se ferait par le moment de force causé par le champ électrique. Si leur énoncé est vrai, la vitesse angulaire se trouverait affectée par le moment de force et serait dans la même direction que ce moment de force. Nous avons décidé d'étudier les effets de ce moment de force en mesurant la vitesse angulaire de bâtons de différentes longueurs lorsque différentes intensités

de champ électrique sont appliquées. En plus de reproduire qualitativement certains résultats expérimentaux, nous avons trouvé que les bâtons plus longs, sous un champ fort, tournent plus vite que les bâtons plus courts lorsqu'ils sont situés à l'entrée du canal. Par contre, le moment de force causé par le champ électrique sur les bâtons est dans la direction opposée à la vitesse angulaire de ces mêmes bâtons. La réorientation ne se fait donc pas par le gradient du champ électrique, mais se ferait plutôt par les interactions avec les murs et le champ électrique fort. En plus de la dynamique de rotation, nous avons étudié plus profondément les résultats de simulations. À partir des trajectoires des bâtons de différentes longueurs, nous avons séparé le système en deux régions principales et deux régions secondaires, et avons calculé le temps de passage à travers chacune de ces régions. Ceci nous a permis de déterminer que la séparation se fait dans le puits et que le passage dans le canal ne permet qu'une faible séparation par rapport à la séparation produite dans le puits. À partir de ces observations, un système optimal serait composé d'un long puits et d'un canal juste assez long pour contenir entièrement le plus long des brins d'ADN.

À la suite de ces deux projets, les méthodes numériques utilisées dans les projets principaux ont été mises à contribution pour deux projets exploratoires supplémentaires. Le premier, récupérant la méthode de calcul exact des systèmes Monte Carlo sur réseau, a permis l'étude d'un champ pulsé appliqué en alternant sur deux dimensions. Le second projet réutilise la dynamique moléculaire en plus du système de Han *et al.* [1], déjà construit pour l'étude des fragments d'ADN rigides du deuxième projet principal. Avec ce système, nous avons étudié la séparation de sphères de tailles différentes avec un champ alternatif.

Dans le premier des projets supplémentaires, nous avons modifié le système de piège de Torres *et al.* [3], qui permet la séparation de particules 1×1 et 2×2 dans une dimension, de façon à ajouter la séparation de particules 3×3 et 4×4 selon une seconde dimension. Le signal alternatif utilisé est constitué de pulses appliqués selon chaque direction et ce, de façon cyclique : $+x$, $+y$, $-x$ et $-y$, avec des durées variables. En utilisant la méthode Monte Carlo sur réseau décrite à la section 3.1, nous avons calculé les vitesses moyennes de particules de quatre tailles différentes. Les vitesses moyennes obtenues sont orientés approximativement selon des axes cartésiens ; chaque taille selon un axe. À notre connaissance, ce système est le premier à utiliser un rochet cyclique en deux dimensions. Nous avons aussi l'intention de publier cette idée prochainement.

Finalement, dans le second des projets supplémentaires, le système de Han *et al.* [1],

qui a déjà été utilisé pour l'étude des bâtons d'ADN, a servi à la simulation de particules sphériques. Tout d'abord, nous avons appliqué des champs continus de différentes amplitudes pour déterminer le champ critique où l'inversion de l'ordre des vitesses se produit. Ensuite, en utilisant deux valeurs de champs, chacune de son côté du champ critique, nous avons construit un champ alternatif de moyenne nulle pour étudier les différences de vitesses et de séparation. Lorsque la durée d'application du champ vers l'avant approche $t_+ \rightarrow \infty$, la séparation entre les particules de différentes tailles est grandement améliorée lorsque nous comparons avec la séparation obtenue pour un signal continu avec les mêmes tailles de particules. La séparation est aussi améliorée lorsque $t_+ = 64$. À cette valeur, les vitesses des deux plus petites particules sont négatives alors que les vitesses des deux autres particules sont positives. En utilisant un signal ayant de tels paramètres, certaines espèces se déplacent dans une direction alors que les autres se déplacent dans la direction opposée.

Dans les deux projets présentés dans les paragraphes précédents, nous avons utilisé des champs pulsés pour tenter de modifier les vitesses et les directions de migrations de particules de différentes tailles. Dans les deux cas, ces champs pulsés ont menés à l'obtention de vitesses dans des directions opposées. Dans le premier, les vitesses moyennes sont orientés approximativement selon les axes cartésiens en deux dimensions et dans le deuxième, les vitesses suivent seulement un axe mais ont des signes opposés. L'utilité de ces vitesses selon des directions différentes est de pouvoir recueillir à différents endroits dans le système. Une autre utilité, qui découle en partie de la première, est la possibilité d'effectuer la séparation en continu.

Pour chacun des projets présentés ici, les résultats proviennent de simulations numériques. Dans les deux projets utilisant l'algorithme de Monte Carlo, malgré le fait que la méthode fasse référence à une méthode dite «exacte», les résultats ne reflètent évidemment pas «exactement» la dynamique observée expérimentalement. La partie exacte de cet algorithme est la vitesse moyenne de la particule sur le réseau. L'approximation du modèle se fait lorsque nous approximations un gel tridimensionnel en un réseau carré en deux dimensions. D'abord, la dimension négligée apporte une dynamique légèrement différente, car le processus de trappage devient différent avec une dimension en moins. La particule a moins de façons possibles de contourner l'obstacle. La comparaison faite dans l'article sur les séquences de pulses montre un exemple de la différence entre le comportement 2D et 3D. Les vitesses moyennes sont comparés pour les expériences et les simulations numériques effec-

tuées. La différence entre les deux vitesses est d'un ordre de grandeur. Une raison possible est la différence de concentration d'obstacles dans les deux systèmes. Dans le système expérimental, la concentration d'agarose est de 0,4% tandis que sur le réseau Monte-Carlo la concentration est de 4,48%. La différence de concentration est du même ordre de grandeur que la différence de vitesse, ce qui explique en partie la différence. Par contre, le processus de trappage en deux et trois dimensions est qualitativement semblable et nous nous limitons à l'étude qualitative du trappage. De plus, un tel algorithme ne tient pas compte d'interactions hydrodynamiques explicites, ni d'électrostatique. Dans les deux autres projets, nous utilisons la dynamique moléculaire. Cette méthode consiste à faire la somme des forces agissant sur une particule et à ensuite faire l'intégration dans le temps jusqu'à l'obtention de la nouvelle position dans l'espace. Dans nos simulations, certaines approximations ont été incluses pour simplifier le problème. Tout d'abord, comme nous l'avons mentionné pour le premier algorithme, l'approximation d'un système tridimensionnel à un modèle en deux dimensions diminue les possibilités de mouvement du bâton. Par exemple, la rotation n'est pas possible dans la troisième dimension. Malgré le fait qu'un système réel s'approchant d'un en deux dimensions pourrait être bâti, le bâton pourra tout de même bouger dans la troisième dimension, sans pouvoir y effectuer de rotations complètes. Un tel système réel ne pourra pas limiter complètement le mouvement dans cette dimension. Aussi comme pour le premier algorithme, nous ne tenons pas compte de l'interaction hydrodynamique ni de l'interaction électrostatique.

Dans le tout premier projet, nos choix se sont limités aux deux signaux qui nous semblaient les plus prometteurs. Il serait intéressant et faisable de créer et de tester de nouveaux signaux, qu'ils soient aléatoires ou non. Par exemple, il serait possible de construire un signal dont les durées des pulses respectent une distribution statistique différente de la distribution gaussienne que nous avons utilisée, ou encore, un signal qui mélange aléatoirement plus de deux durées de pulse comme nous l'avons fait. La création de signaux pulsés n'est limitée que par l'imagination du créateur. De plus, comme nous venons de le mentionner dans le paragraphe précédent, nos modèles et les simulations réalisées sont limités dans les détails qu'ils incluent.

Chapitre 8

Modification du programme ESPResSO

Dans le système étudié et présenté dans l'article du chapitre 5, le champ électrique non-uniforme doit être pris en considération car il compte pour une partie très importante de la dynamique. Le logiciel de simulation utilisé, ESPResSO [36], permet seulement l'addition d'une force constante dans chaque dimension. Pour inclure un champ électrique dépendant de la position, il a été nécessaire de modifier la partie pertinente du code source.

D'abord, le potentiel a été calculé en résolvant l'équation de Laplace $\nabla^2\phi(x, y) = 0$ sur une grille, en supposant des murs parfaitement isolants et en imposant une différence de potentiel au système. Le champ électrique est obtenu en calculant le gradient du potentiel, toujours sur une grille. Les valeurs obtenues sont conservées dans un fichier texte.

Au départ de la simulation avec ESPResSO, le fichier contenant les valeurs du champ électrique est lu par le programme et gardé en mémoire pour toute la durée de la simulation. Lorsque le programme arrive au calcul de la force externe, la position x et y de chaque particule est utilisée pour calculer la force externe, en utilisant les valeurs de champ électrique en mémoire et utilisant l'interpolation linéaire en deux dimensions [38] pour calculer la valeur entre les nœuds de la grille. Les détails du calcul de champ électrique est inclus dans le code 8.1.

Listing 8.1 Code pour la modification de la force externe dans le fichier `forces.c` d'ESPResSO [36]. Cette section de code remplace la simple addition d'une constante aux forces sur chaque particule. L'interpolation linéaire en deux dimensions telle qu'elle est décrite dans *Numerical Recipes* [38] page 123 a été utilisée pour avoir le champ à n'importe quelle position dans le système.

```

float cusX=part->r.p[0]; //Position x of the particle
float cusZ=part->r.p[2]; //Position z of the particle
int j;
int k;
double t;
double u;
double cEx;
double cEz;
float multiplier=part->l.ext_force[0];

while (cusX>=100)      cusX -=100.0;
while (cusX<0)      cusX +=100.0;

j=(int)(cusX/(customposX[75] - customposX[74]))+1;
k=(int)(cusZ/(customposZ[21] - customposZ[20]))+1;

t=(cusX-customposX[j])/(customposX[75] - customposX[74]);
u=(cusZ-customposZ[k])/(customposZ[21] - customposZ[20]);

cEx=(1.0-t)*(1.0-u)*customXfield[j][k]+t*(1.0-u)*customXfield[j+1][k]
    +t*u*customXfield[j+1][k+1]+(1.0-t)*u*customXfield[j][k+1];
cEz=(1.0-t)*(1.0-u)*customZfield[j][k]+t*(1.0-u)*customZfield[j+1][k]
    +t*u*customZfield[j+1][k+1]+(1.0-t)*u*customZfield[j][k+1];

if(part->l.ext_flag & PARTICLE_EXT_FORCE)
{
    part->f.f[0] += multiplier*cEx;
    part->f.f[2] += multiplier*cEz;
}

```

Bibliographie

- [1] J Han, SW Turner, HG Craighead. *Entropic trapping and escape of long dna molecules at submicron size constriction*, **Phys Rev Lett** **83**, 1688–1691 (1999).
- [2] N Laachi, C Delet, C Matson, KD Dorfman. *Nonequilibrium transport of rigid macromolecules in periodically constricted geometries*, **Phys Rev Lett** **98**, 098106 (2007).
- [3] FA Torres, MG Gauthier, GW Slater. *Biased random walks on a lattice : Exact numerical method to study the effect of alternating fields in disordered and asymmetric systems of obstacles*, **Phys Rev E** **78**, 065701 (2008).
- [4] N Stellwagen. *Electrophoresis of dna in agarose gels, polyacrylamide gels and in free solution*, **Electrophoresis** **30**, S188–S195 (2009).
- [5] KL Cheng, YJ Sheng, S Jiang, HK Tsao. *Electrophoretic size separation of particles in a periodically constricted microchannel*, **J Chem Phys** **128**, 101101 (2008).
- [6] X Prize Foundation. *Archon Genomics X Prize*, <http://genomics.xprize.org/> (accessed 16 January 2010).
- [7] FF Reuss. *Notice sur un nouvel effet de l'électricité galvanique*, **Mémoires de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou** **2**, S.327–S.337 (1808).
- [8] PD Ross. *Electrophoresis of dna .1. on a relationship between electrophoresis and donnan equilibrium experiments on dna*, **Biopolymers** **2**, 9–14 (1964).
- [9] PD Ross, RL Scruggs. *Electrophoresis of dna .2. specific interactions of univalent and divalent cations with dna*, **Biopolymers** **2**, 79–89 (1964).
- [10] PD Ross, RL Scruggs. *Electrophoresis of dna .3. the effect of several univalent electrolytes on the mobility of dna*, **Biopolymers** **2**, 231–236 (1964).
- [11] L Costantino, AM Liquori, V Vitagliano. *Influence of thermal denaturation on the electrophoretic mobility of calf thymus dna*, **Biopolymers** **2**, 1–8 (1964).
- [12] BM Olivera, P Baine, N Davidson. *Electrophoresis of the nucleic acids*, **Biopolymers** **2**, 245–257 (1964).
- [13] O Vesterberg. *History of electrophoretic methods*, **Journal of Chromatography** **480**, 3–19 (1989).
- [14] DA McQuarrie. *Statistical Mechanics*. University Science Books, Sausalito (2000).
- [15] RF Probst. *Physicochemical Hydrodynamics*. John Wiley & Sons, New Jersey (2003).
- [16] JD Watson, FHC Crick. *Molecular structure of nucleic acids - a structure for deoxyribose nucleic acid*, **Nature** **171**, 737–738 (1953).

- [17] Nobel Foundation. *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962*, http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1962/index.html (accessed 27 January 2010).
- [18] I Teraoka. *Polymer solutions : an introduction to physical properties*. John Wiley & Sons, New York (2002).
- [19] M Rubinstein, RH Colby. *Polymer Physics*. Oxford University Press, Oxford (2003).
- [20] AG Ogston. *The spaces in a uniform random suspension of fibres*, *Trans. Faraday. Soc.* **54**, 1754–1757 (1958).
- [21] GA Griess, E Rogers, P Serwer. *Unlimited increase in the resolution of dna ladders*, *Electrophoresis* **21**, 859–864 (2000).
- [22] P Serwer, GA Griess. *Adaptation of pulsed-field gel electrophoresis for the improved fractionation of spheres*, *Analytica Chimica Acta* **372**, 299–306 (1998).
- [23] KY To, TRC Boyde. *Pulsed-field acceleration : The electrophoretic behavior of large spherical particles in agarose gels*, *Electrophoresis* **14**, 597–600 (1993).
- [24] GA Griess, E Rogers, P Serwer. *Application of the concept of an electrophoretic ratchet*, *Electrophoresis* **22**, 981–989 (2001).
- [25] MJ Saxton. *Lateral diffusion in an archipelago - single-particle diffusion*, *Biophys J* **64**, 1766–1780 (1993).
- [26] JF Mercier, GW Slater, HL Guo. *Numerically exact diffusion coefficients for lattice systems with periodic boundary conditions. i. theory*, *J Chem Phys* **110**, 6050–6056 (1999).
- [27] JF Mercier, GW Slater. *Numerically exact diffusion coefficients for lattice systems with periodic boundary conditions. ii. numerical approach and applications*, *J Chem Phys* **110**, 6057–6065 (1999).
- [28] S Redner. *A Guide to First-Passage Processes*. Cambridge University Press, Cambridge (2001).
- [29] MG Gauthier, GW Slater. *Exactly solvable ogston model of gel electrophoresis. ix. generalizing the lattice model to treat high field intensities*, *J Chem Phys* **117**, 6745–6756 (2002).
- [30] DJ Griffiths. *Introduction to Quantum Mechanics*. Pearson Prentice Hall, New Jersey (2005).
- [31] WK Nicholson. *Elementary Linear Algebra with Applications*. Prindle, Weber & Schmidt, Boston (1986).
- [32] JD Weeks, D Chandler, HC Andersen. *Role of repulsive forces in determining the equilibrium structure of simple liquids*, *J Chem Phys* **54**, 5237–5247 (1971).
- [33] GS Grest, K Kremer. *Molecular dynamics simulation for polymers in the presence of a heat bath*, *Physical Review A* **33**, 3628–3631 (1986).
- [34] G. Nixon. *A brownian dynamics algorithm for the simulation of polymers in confined media*. Master's thesis, University of Ottawa, (1994).
- [35] L Loup. *Computer "experiments" on classical fluids. i. thermodynamical properties of lennard-jones molecules*, *Physical Review* **159**, 98–103 (1967).
- [36] A Arnold, BA Mann, HJ Limbach, C Holm. *Espresso – an extensible simulation package for research on soft matter systems*, *Comput. Phys. Commun.* **174**, 43–59 (2004).
- [37] JM Thijssen. *Computational Physics*. University Press, Cambridge (1999).
- [38] William Press, Saul Teukolsky, William Vetterling, Brian Flannery. *Numerical Recipes in C*. Cambridge University Press, Cambridge, UK 2nd edition, (1992).