

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
6 décembre 2012 (06.12.2012)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2012/164485 A1

(51) Classification internationale des brevets :
B81C 1/00 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2012/052676

(22) Date de dépôt international :
29 mai 2012 (29.05.2012)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1154842 1 juin 2011 (01.06.2011) FR

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) : **COM-MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES** [FR/FR]; 25, rue Leblanc - Bâtiment "Le Ponant D", F-75015 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **MAILLEY, Pascal** [FR/FR]; 145c, route du Vernay, F-38730 Le Pin (FR). **HAGUET, Vincent** [FR/FR]; 80, cours de la Libération, F-38100 Grenoble (FR). **PHAM, Pascale** [FR/FR]; 41, rue Hector Berlioz, F-38920 Crolle (FR). **LIU, Jie** [FR/FR]; 3, avenue des Buissières, F-38630 Sassenage (FR).

(74) Mandataires : **JACQUARD, Philippe** et al.; Cabinet Ores, 36, rue de St Pétersbourg, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible*) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : PROCESS FOR FUNCTIONALIZING THE WALL OF A HOLE

(54) Titre : PROCEDE DE FONCTIONNALISATION DE LA PAROI D'UN PORE

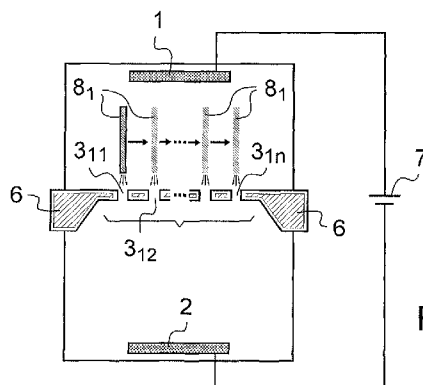


Fig.3a

(57) Abstract : The invention relates to a process for electrochemical functionalization of an internal wall of a hole submerged in an electrolyte, characterized in that said wall is made of an intrinsic semiconductor and in that electrical and photonic coactivation is used, the electrical activation being obtained by applying a voltage or current between the electrodes located in the electrolyte, on either side of the hole, and the photonic activation being able to generate excitons in the wall of the hole.

(57) Abrégé : L'invention est relative à un procédé de fonctionnalisation électrochimique d'une paroi interne d'un pore baigné par un électrolyte, caractérisé que ladite paroi est en un matériau semi-conducteur intrinsèque et en ce qu'il met en œuvre une co-activation électrique et photonique, l'activation électrique étant obtenue par application d'une tension ou d'un courant entre des électrodes situées dans l'électrolyte de part et d'autre du pore, et l'activation photonique étant apte à générer des excitons dans la paroi du pore.



WO 2012/164485 A1

PROCEDE DE FONCTIONNALISATION DE LA PAROI D'UN PORE.

La présente invention a pour objet un procédé de fonctionnalisation d'un pore.

La Demande de brevet PCT WO 2009/109727 décrit un
5 procédé de fonctionnalisation de la paroi d'un pore dans lequel des électrodes sont disposées aux extrémités du pore et/ou à distance de cette extrémité, et un champ électrique est créé dans le pore pour permettre un dépôt sur sa paroi.

Le document PCT WO2007/082075 concerne la fabrication de
10 silicium poreux, à savoir une surface nanotexturée présentant des cavités aléatoires interconnectées (filtre de Rugate). Une méthylation de la surface poreuse peut être obtenue pour passiver le silicium qui n'est donc pas stabilisé. Au cours de cette passivation, le matériau qui présente une porosité tridimensionnelle constitue l'une des électrodes au sens électrochimique du
15 terme. Aucune localisation du dépôt n'est possible.

Il n'existe par contre pas de procédé permettant de modifier les propriétés électrochimiques de la surface intérieure d'un pore.

L'idée de base de la présente invention est de mettre en œuvre un pore en un matériau permettant de générer des excitons par
20 irradiation lumineuse, à savoir un semi-conducteur monocristallin ou polycristallin éventuellement passivé par une couche diélectrique, par exemple une membrane en silicium intrinsèque recouverte d'une couche de silice, ou bien un semi-conducteur intrinsèque tel que le diamant polycristallin, dont les propriétés isolantes (très haute résistivité) permettent de se dispenser
25 d'une couche de passivation diélectrique.

L'invention concerne ainsi un procédé de fonctionnalisation électrochimique d'une paroi interne d'un pore baigné par un électrolyte, caractérisé que ladite paroi est en un matériau semi-conducteur et en ce qu'il met en œuvre une co-activation électrique et photonique, l'activation
30 électrique étant obtenue par application d'une tension ou d'un courant entre des électrodes situées dans l'électrolyte de part et d'autre du pore, et l'activation photonique étant apte à générer des excitons dans la paroi du pore.

On entend par pore, une zone ou un canal de restriction entre
35 deux réservoirs électrolytiques.

Dans cette configuration, la paroi interne du pore est déconnectée des électrodes et le dépôt s'effectue seulement sur la paroi interne du pore, et est donc localisé.

Au moins deux pores peuvent être disposés en série entre
5 lesdites électrodes. Au moins une source lumineuse peut être mise en œuvre pour activer photoniquement un des pores disposés en série. Au moins une source lumineuse est de préférence déplaçable pour permettre d'activer photoniquement l'un ou l'autre des pores disposés en série.

Au moins deux pores peuvent être disposés en parallèle. Le
10 procédé peut être caractérisé en ce qu'une première électrode est disposée d'un côté des pores et est commune à l'ensemble des pores et en ce que de l'autre côté au moins une deuxième électrode est disposée en vis-à-vis d'au moins un des pores disposés en parallèle pour le fonctionnaliser sélectivement.

15 Au moins une dite deuxième électrode est de préférence déplaçable de manière à être disposée en vis-à-vis de l'un ou l'autre des pores disposés en parallèle.

La mise en œuvre d'électrodes déplaçables permet d'activer électriquement un ou plusieurs pores sélectionnés.

20 Au moins une source lumineuse peut être mise en œuvre pour activer optiquement un des pores disposés en parallèle. Au moins une dite source lumineuse est de préférence déplaçable pour permettre d'activer photoniquement l'un ou l'autre des pores disposés en parallèle.

Le pore peut être en un semi-conducteur intrinsèque
25 éventuellement pourvu d'une couche de passivation;

Il peut être notamment en un semi-conducteur intrinsèque à très haute résistivité tel que le diamant polycristallin.

Le courant traversant le pore a une densité comprise par
exemple entre $0,2 \text{ A/cm}^2$ et 10 A/cm^2 . La différence de potentiel peut être
30 comprise entre 1 mV et 10 V.

Le procédé peut être caractérisé en ce qu'il met en œuvre une fonctionnalisation électrochimique à l'aide d'une solution comprenant une entité électro-activable.

Le procédé peut être caractérisé en ce que l'entité activable
35 est choisie parmi :

i) des monomères électropolymérisables, tels que les pyrroles, les thiophènes, les indoles, les anilines, les azines, les phénylènevinylènes, les phénylènes, les pyrènes, les furanes, les sélénophènes, les pyridazines, les carbozoles, les acrylates, les méthacrylates et leur dérivés ;

ii) les ions des métaux, tels que Cu, Ag, Au, Fe, Co, Ni, Cr, Ti, etc. et leurs complexes ou leur oxydes ;

iii) des dérivés porteurs de fonctions électrogreffables telles que les groupements diazonium ou $-NH_2$;

iv) les peintures électrophorétiques.

Le procédé peut être caractérisé en ce qu'il met en œuvre un dépôt de métal sur la paroi d'au moins un pore, à l'aide d'un électrolyte comportant un acide et un composé comprenant ledit métal.

Le procédé peut être caractérisé en ce qu'il met en œuvre la capture sur la paroi du pore de microbilles à partir d'une suspension dans un tampon d'hybridation de microbilles fonctionnalisées par des molécules cibles, la paroi du pore ayant été fonctionnalisée par co-activation électrique et photonique par des molécules sondes homologues des molécules cibles.

Le procédé peut être caractérisé en ce qu'il met en œuvre une étape de dépôt par ladite co-activation dans un électrolyte d'un enzyme catalytique assurant une catalyse par échange d'électrons. Il peut ensuite mettre en œuvre l'application à la paroi du pore d'un potentiel pour générer une réaction catalytique dans un liquide traversant le pore qui est une solution ionique notamment aqueuse contenant un type de molécule qui, catalysé par l'enzyme catalytique greffé par co-activation, peut être transformé en un autre type de molécule, avec application d'une activation photonique qui permet de remplir la fonction de donneur ou d'accepteur d'électrons.

Toutefois, cette fonction de donneur ou d'accepteur d'électrons peut être remplie pour toute réaction enzymatique lorsqu'un donneur ou accepteur d'électrons carboné est présent dans la solution ionique, ce qui fait que l'on peut dans ce cas se passer de l'activation photonique pour obtenir la réaction catalytique en appliquant seulement ledit potentiel à la paroi du pore.

Le procédé peut être alors caractérisé en ce qu'il met en œuvre une étape de dépôt par ladite co-activation d'une molécule, à savoir racine de radis ou de raifort ("Horse Radish Peroxydase" ou HRP) apte à

catalyser la réduction de l'eau oxygénée en H_2O (dans ce cas le HRP est oxydé) et une étape d'application à la paroi interne du nanopore dudit potentiel pour réduire le HRP à son état initial.

Le procédé peut être caractérisé en ce qu'il met en œuvre une

5 étape de dépôt par ladite co-activation d'une espèce sensible soit à un effet redox provoquant un gonflement, soit à un effet électrostatique de répulsion, par exemple un dépôt d'un polymère conducteur ou d'un ADN, et une étape d'application à ladite paroi du pore d'une tension pour obtenir un changement de volume du polymère ou de l'ADN.

10 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture de la description ci-après, en liaison avec les dessins dans lesquels :

- la figure 1 illustre la fonctionnalisation d'un pore dit traversant avec le procédé selon l'invention,
- 15 - la figure 2 illustre la fonctionnalisation de deux pores traversants disposés en série, avec le procédé selon l'invention,
- les figures 3a et 3b illustrent deux modes de mise en œuvre de la fonctionnalisation de pores traversants disposés en parallèle, avec des électrodes communes aux pores (figure 3a) ou avec une ou plusieurs
- 20 électrodes affectées chacune à un des pores en parallèle,
- les figures 4a et 4b illustrent une mise en œuvre du procédé selon l'invention pour fonctionnaliser sélectivement ou non un dépôt sur la paroi d'un ou plusieurs pores traversants,
- les figures 5a à 5c illustrent en vue de face (5a) et en
- 25 perspective (5b) un mode de mise en œuvre d'un pore planaire ; la figure 5c étant un exemple de réseau fluide associant en série et en parallèle des pores planaires,
- les figures 6a à 6c et 12 à 14 illustrent deux montages expérimentaux de dépôt à travers un pore traversant
- 30 - et les figures 7a et 7b ; 8a et 8b ; 9a à 9c ; 10a à 10d ; 11a et 11b sont des illustrations de résultats correspondant à des exemples de mise en œuvre du procédé.

Le procédé selon l'invention permet de contrôler localement les propriétés électrochimiques de la surface intérieure diélectrique d'un pore,

35 sans que le pore soit directement lié à une source électrique.

Ainsi qu'il sera montré dans la suite de la description, le procédé permet de localiser et de maîtriser le processus électrochimique sur la paroi du pore, avec la possibilité d'une sélectivité au niveau de la localisation des fonctions greffées ou activées, ou bien encore en permettant la fonctionnalisation d'un réseau de pores, série et/ou parallèle, de façon hétérogène, chaque pore ou certains d'entre eux pouvant être fonctionnalisé par des molécules, notamment des biomolécules différentes.

Ce procédé comporte les aspects principaux suivants :

- Activation primaire : fonctionnalisation électrochimique d'un réseau de pores, de façon homogène ou non, en adsorbant ou en déposant des espèces sur la paroi du pore

- Activation secondaire : contrôle des propriétés électrochimiques d'espèces préalablement greffées ou déposées sur la paroi du pore par activation primaire

- Contrôle d'un pore en fonctionnalisant des molécules électrochimiquement actives, par l'application d'un champ électrique et par l'application ou non de lumière

- Activation de propriétés électrochimiques d'espèces confinées dans le pore (électrochimiluminescence par exemple).

Les pores traversent une membrane semi-conductrice de part en part (figure 1), ou bien ils sont planaires (figures 5a à 5c), réalisés par lithographie (ou tout autre procédé issus des micro nanotechnologies) sur une membrane semi-conductrice.

La membrane semi-conductrice est par exemple une membrane en silicium intrinsèque ou faiblement dopé couvert par une couche diélectrique (de préférence en silice).

Le procédé selon l'invention est applicable à tout matériau permettant la génération d'excitons sous activation lumineuse et leur séparation sous forme de paires électron-trou sous application d'un champ électrique connexe.

Le ou les pores uniques, ou réseau de pores en série et/ou en parallèle sont remplis par une solution électrolytique, contenant des espèces électrochimiquement actives dans le cas d'une activation primaire ou d'électrolyte additionné ou non d'espèces électroinactives dans le cas d'une activation secondaire

Un champ électrique est obtenu par l'application d'une différence de potentiel ou d'un courant, via l'électrolyte en utilisant deux électrodes situées de part et d'autre du pore, c'est-à-dire aux extrémités du pore et/ou à distance de cette extrémité, que le pore soit un pore traversant
5 ou un pore planaire.

La propriété électrochimique de la surface intérieure du pore est contrôlée par un faisceau de lumière proche ultra-violet visible ou proche infra-rouge. Le flux de photons et leur longueur d'onde sont des paramètres importants. En effet, la lumière a pour fonction de générer des excitons dans
10 le matériau semi-conducteur, et par conséquent, seule la lumière apte à traverser l'électrolyte aqueux et la couche de silice (par exemple 4 μm) qui recouvre le pore. Il s'agit en pratique de lumière visible ou proche infra-rouge. Toute lumière dont la longueur d'onde correspond à une énergie supérieure à la largeur de bande interdite (0,8 eV pour le Si) et capable de traverser
15 l'électrolyte et la couche de silice convient.

Il est possible d'opérer à la lumière du jour ou bien encore avec une lampe par exemple halogène à travers une fibre optique, la puissance électrique de la lampe halogène pouvant atteindre par exemple 150 W. La quantité de matière disposée dépend de l'intensité lumineuse
20 appliquée, car c'est elle qui module la conductivité de la membrane (paroi en matériau semi-conducteur).

Le phénomène d'activation duale champ électrique/lumière est inversible, c'est-à-dire que la surface est activée quand la zone autour du pore est éclairée par le faisceau de lumière, et que la surface redevient
25 inactive quand la lumière est retirée. On peut également, en gardant la lumière, appliquer ou non le champ électrique pour activer ou dé-activer la surface.

Le diamètre du faisceau de lumière (par exemple 1 à 2 cm) correspond à la surface que l'on veut activer et/ou à la localisation du dépôt
30 sur un (ou plusieurs) pore(s) d'un réseau. Elle peut déborder de cette région, car en dehors de la région de striction qui définit le pore, le champ électrique est bien plus faible et ne permet en général pas un dépôt.

La présente invention permet d'induire la fonctionnalisation ou la modulation des propriétés physico-chimiques d'un pore unique ou d'un ou
35 plusieurs pores répartis dans un réseau de pores série et/ou parallèle.

Le procédé selon l'invention met à profit la technique décrite dans la Demande WO 2009/109727 précitée. Ce procédé connu utilise un champ électrique comme élément inducteur de l'électrodépôt sans contact de couches fonctionnelles (monocouches, îlots, films) sur les parois d'un pore unique synthétique généré dans une membrane isolante.

La présente invention permet d'étendre le domaine d'application via l'utilisation de la lumière comme élément de « co-induction » avec le champ électrique qui peut être appliqué soit par une différence de potentiel entre deux électrodes situées de part et d'autre du pore soit par une circulation de courant entre les dites électrodes. Le fait de diriger ou de focaliser de la lumière sur un endroit précis du support rend possible la fonctionnalisation électrochimique sélective d'un pore dans un réseau de pores, même si un potentiel est appliqué à tous les pores du réseau. Les pores sont en effet ménagés dans des matériaux semi-conducteurs capables de générer des excitons (rôle de la lumière) et d'obtenir une séparation de charges sous champ électrique (rôle de l'activation électrique). Le procédé permet ainsi non seulement de fonctionnaliser la paroi d'un pore, mais surtout de contrôler les propriétés électriques (électrochimiques) de la paroi et/ou de molécules électro-activables éventuellement greffées sur celle-ci notamment grâce à la co-activation que permet le procédé.

Cette « co-induction » permet notamment un multiplexage, c'est-à-dire une différenciation de l'activation des pores au sein d'un réseau série et/ou parallèle de pores. Dans cette application, les pores peuvent être tridimensionnels (traversants) ou planaires.

Par pore tridimensionnel ou pore traversant, on entend un trou présentant une striction de son diamètre et traversant une membrane isolante de part en part.

Par pore planaire, on entend un canal micro-fluidique élaboré par gravure, emboutissage ou encore moulage de la surface d'un matériau plan et présentant une striction localisée qui comporte une paroi en matériau semi-conducteur.

En l'absence soit du champ électrique soit de la lumière aucune modification électrochimique de la paroi du pore n'a pu être observée.

Le pore est fabriqué dans un matériau permettant de générer des excitons par irradiation lumineuse, en l'occurrence un semi-conducteur, et passivé par une couche diélectrique, le champ électrique permettant alors, en

combinaison avec l'excitation lumineuse, d'obtenir une séparation de charge suffisamment efficace pour générer la polarisation des parois du pore, par exemple une membrane en silicium intrinsèque recouverte de silice. Notons que ce protocole peut être mis en œuvre avec un matériau non passivé en surface mais semi-conducteur comme le diamant polycristallin, dont la
5 résistivité est suffisamment élevée pour qu'une couche de passivation ne soit pas nécessaire pour obtenir la génération d'excitons.

La figure 1 présente de manière schématique le dispositif utilisé pour la modification d'un pore unique 3 ayant une surface interne par
10 exemple cylindrique 3' par co-activation électrique et photonique.

Un champ électrique est appliqué au travers du pore 3 par injection de courant ou application d'une différence de potentiel (générateur 7) entre les deux électrodes 1 et 2 en métal noble par exemple en Pt ou Au. Tout autre métal ou électrode de première espèce (par exemple Cu) ou de
15 seconde espèce (par exemple Ag/AgCl) peut être utilisé. On notera que les métaux (ou alliages) se différencient par leur stabilité électrochimique (corrosion, dissolution, passivation) et/ou par la stabilité du potentiel interfacial du matériau (électrode de seconde espèce).

Conjointement, la membrane 61 solidaire d'un substrat 6 dans
20 laquelle est percé le pore est soumise à un rayonnement lumineux par exemple dans le sens de la flèche F par exemple au travers d'une fibre optique. D'autres moyens d'injection de photons peuvent être considérés : objectif optique, objectif à immersion, pointe SNOM, (nanopointe utilisée en microscopie optique en champ proche) guide d'onde....

Il est à noter ici que la longueur d'onde minimale exploitable
25 est fixée par la fenêtre spectrale baignant la membrane du pore. La co-induction photoélectrique permet de générer une polarisation de la surface du pore qui se conduit alors comme un couple d'électrodes. Au-delà d'une densité de courant critique passant dans le pore, la polarisation électrique par
30 application d'une différence de potentiel ou d'un courant permet d'induire à la surface du pore des réactions électrochimiques (électrodéposition, électrogreffage, électropolymérisation, électroprécipitation, électroadsorption) aboutissant à la fonctionnalisation électrochimique du pore par toute molécule présentant un groupement électroactivable ou par tout ion pouvant être
35 électrodéposé dans le solvant utilisé dans les compartiments 4 et 5. Typiquement, dans un tampon phosphate salin PBS classique (pour 1 litre de

PBS, 137 mM NaCl, 2,7 mM KCl et un tampon phosphate par exemple, 10 mM Na_2HPO_4 , 1,76 mM KM_2PO_4), cette densité de courant critique est d'environ 3 A/cm². La valeur de la densité de courant critique est modulée par la concentration saline et se situe dans ce cas typiquement entre 0,2 A/cm² et 10 A/cm².

Ainsi qu'il sera montré plus précisément dans la suite de la description, la co-activation électrique et lumineuse selon l'invention permet une maîtrise de l'activité électrique/électrochimique.

L'invention permet également par interaction spécifique entre les groupements greffés dans le pore et la surface de l'objet à capturer, la capture d'objets dans un pore fonctionnalisé en vue de réaliser des interactions biologiques spécifiques (fonction biocapteur). Cette capture ne nécessite pas la mise en œuvre de la co-activation. De tels objets biologiques peuvent être par exemple des cellules individuelles, des nano-objets biologiques, par exemple une protéine, pour l'étude des interactions biologiques.

De la même manière toute espèce électroactivable déjà présente sur les parois du pore 3 (et préalablement déposée de préférence par la technique de co-activation électrique et photonique décrite dans la présente Demande) pourrait être électro-activée de manière co-induite électriquement et photoniquement (cf. figures 4a et 4b).

Les figures 5a et 5b illustrent la mise en œuvre de pores planaires 3 situés entre deux canaux 4' et 5' gravés dans un substrat S en matériau semiconducteur.

La largeur de la striction du pore planaire peut être comprise entre 1 nm et 100 μm , de même que sa profondeur. La profondeur des canaux 4' et 5' est supérieure ou égale à celle de la striction et peut être également comprise entre 1 nm et 100 μm .

Le dispositif peut être fermé par un capot par exemple en verre ou en polydiméthylsiloxane (PDMS).

Avec des pores planaires, il est possible d'organiser un réseau de pores ayant ou non des dimensions différentes.

La figure 5c montre des pores (micrométriques ou nanométriques) organisés en parallèle et/ou en série.

On a représenté deux branches 4'₁ et 4'₂ en parallèle (qui forment deux branches d'un Y) et qui comportent des pores planaires en série

respectivement (31, 31' et 31'') et (32, 32' et 32''), et une branche 5' qui présente un pore unique 3. Une extrémité de la branche 4'₁ présente une électrode 1₁. Une extrémité de la branche 4'₂ présente une électrode 1₂. L'extrémité de la branche 5 présente l'électrode 2. La fonctionnalisation d'un pore dans un tel réseau est possible avec la co-activation champ électrique/lumière par exemple en éclairant localement le pore à fonctionnaliser et en appliquant une tension électrique entre l'électrode 1₁ et/ou 1₂ d'une part et l'électrode 2 d'autre part.

La fonctionnalisation d'un pore d'un réseau de pores planaires série et/ou parallèle est ainsi possible quelle que soit son organisation grâce à la co-activation selon l'invention.

La figure 2 présente une variante de multiplexage fonctionnel d'un réseau de pores dans le cas d'une structuration en série des pores. Un substrat 10 en Si présente deux membranes 6₁ et 6₂ dans laquelle sont formés deux pores 3₁ et 3₂ en série. Des fibres optiques 8₁ et 8₂ permettent l'activation de l'un et/ou l'autre des pores 3₁ et 3₂ par de la lumière. La polarisation est assurée comme précédemment par les électrodes 1 et 2 avec application d'un courant ou d'une tension.

La figure 3a présente une extension de ce principe de base. Dans cette extension, la lumière est focalisée par une ou plusieurs fibres optiques 8₁, dont au moins une peut être mobile, ou sur un ou plusieurs pores (3₁₁, 3₁₂, ... 3_{1n}) choisis dans un réseau parallèle de n pores. Cette focalisation permet ainsi une fonctionnalisation différenciée des pores et de fait un "multiplexage" de l'information immobilisée à la surface des parois des pores d'un même réseau. La focalisation lumineuse peut être obtenue par un objectif, une fibre optique ou encore une pointe SNOM dans le cas d'un réseau de nanopores. La fonctionnalisation différenciée peut être obtenue par déplacement d'une ou plusieurs sources ponctuelles de lumière sur la membrane du pore à modifier.

Si l'on conçoit que le choix d'un pore dans un réseau série et/ou parallèle de pores peut être obtenue par focalisation de la lumière, il est aussi important de noter que le champ électrique peut lui aussi être circonscrit par la mise en œuvre d'un processus de confinement des lignes de champ. Dans ce cas, la surface totale du réseau peut être illuminée, et le champ électrique est focalisé par l'utilisation d'au moins une micro ou nanoélectrode 1' mobile montée sur un système de positionnement (xyz) (figure 3b). Dans

l'encadré de la figure 3b, on a représenté une variante d'électrode utilisable à cet effet. Elle comporte un cœur constitué par un fil conducteur 11 par exemple en Pt, dont l'extrémité est gainée de verre 12.

La gaine 12 peut être utilisée pour illuminer le pore si l'on
5 souhaite ne pas recourir à une illumination de la surface totale du réseau de pores.

Un deuxième aspect de l'invention couvre la possibilité d'utiliser le même dispositif pour générer des phénomènes d'activation secondaire. L'idée ici est d'induire, via l'utilisation du couple électrons-
10 photons, une réaction dirigée sur les parois du pore. De fait on peut induire un effet de striction plus ou moins prononcée du pore par activation des effets conformationnels d'un film d'une couche d'espèces dont les propriétés de gonflement, de conformations sont sensibles aux propriétés électrochimiques de la surface du pore (figures 4a et 4b).

15 Par exemple, un pore peut être fonctionnalisé par des brins d'ADN longs. Par application localisée de lumière et d'un champ électrique produisant une charge électrique positive de la paroi, cet ADN se plaque contre la paroi par interaction électrostatique alors que l'application d'une polarisation inverse génère par effet de répulsion une elongation des chaînes.

20 Une autre utilisation se rapporte à la fonctionnalisation de la paroi par un polymère conducteur électronique (par exemple polypyrrole). La maîtrise de la polarisation du pore permet par co-activation électrique et photonique le passage d'un état réduit à un état oxydé, c'est-à-dire à un film dopé plus épais.

25 Le pore peut jouer un rôle de nano(bio)réacteurs par co-activation électrique et photonique de la fonction immobilisée sur les parois (figure 4b). Il est bien sûr important de noter que, une nouvelle fois, ces phénomènes peuvent être générés sur un ou plusieurs pores situés dans un réseau parallèle et/ou série de pores.

30 Le dispositif considéré ci-dessous comporte un pore unique (figures 1 et 2) ou un réseau de pores disposés en parallèle et /ou en série (figures 2, 3a, 3b et 4a) construit dans une membrane diélectrique semi-conductrice passivée (ou non) par une couche d'oxyde.

35 Dans le cas d'un réseau de pores à trois dimensions (traversant une membrane diélectrique, les pores sont fabriqués par exemple par gravure chimique sélective et photolithographie ou par faisceau

électronique. Dans le cadre d'un réseau à deux dimensions, les zones de strictions entre deux compartiments 4 et 5 sont élaborés par exemple par photolithographie d'un substrat semi-conducteur massif (silicium, germanium...) ou par recouvrement d'une forme obtenue par moulage ou
5 emboutissage (par exemple films de diamant synthétique).

Les éléments de focalisation de la lumière et du champ électrique consistent en des dispositifs commerciaux (objectif optique ou fibre optique ou microélectrodes respectivement). Dans un second mode de réalisation, la source de lumière peut être une pointe SNOM obtenue par
10 étirement submicronique d'une fibre-optique. Il est important de noter que dans le cas d'un réseau de pores planaires, les microélectrodes peuvent être introduites par les procédés classiques de microtechnologies à l'intérieur même du compartiment 4' (figure 2) situé entre deux pores série successifs. Le pore possède un compartiment dit donneur qui contient une espèce à transférer
15 vers un autre compartiment dit accepteur. Plus précisément, l'une des microélectrodes doit être située dans le compartiment accepteur du pore sachant que chaque pore étant différencié possède un canal de sortie différencié permettant d'extraire les molécules séparées/modifiées.

Le champ applicatif du dispositif (réseaux de pores) et du
20 procédé de fonctionnalisation selon l'invention est directement lié à la mise en œuvre des couches fonctionnelles introduites à la surface du (des) pore(s). Il se concentre sur, d'une part, les propriétés de reconnaissance, de capture sélective d'espèces cibles par le pore pour :

- leur numération (immobilisations réversible, ou détection
25 du passage par induction d'un effet retard –chromatographie-)
- leur détection (présence, une seule espèce détectée suffit comme pour la contamination bactérienne par exemple)

Un pore peut jouer le rôle d'un micro ou nano bio-réacteur par activité photoélectrique de la fraction immobilisée sur les parois (figure 4a) ;
30 on se reportera en particulier aux exemples VII à IX ci-dessous.

Un autre aspect de l'invention est la possibilité d'utiliser le même dispositif pour générer des phénomènes d'activation secondaire. Il s'agit d'induire par la co-activation électrique-optique dans l'électrolyte et donc l'utilisation du couple électrons-photons, une réaction photo-électrique de
35 nature électrochimique dirigée sur les parois du pore sur lesquelles un dépôt a été préalablement réalisé. Cette co-activation permet par exemple de

catalyser des réactions ou de capturer des objets 30 sur la paroi interne 3' du pore (figure 4b).

Un exemple de pore traversant est représenté à la figure 6a. Il comporte une membrane 61 ménagée au fond d'une ouverture tronconique 62 d'un substrat 6 en Si monocristallin.

Un détail de la membrane 61 d'épaisseur 10 μm est représenté en encadré. Elle comporte un cœur de membrane 63 en Si d'épaisseur 2 μm recouvert d'un revêtement 64 en SiO_2 de 4 μm d'épaisseur.

Le diamètre nominal du pore cylindrique 3 est de 15 μm (figures 6a et 6b) et la rugosité de sa paroi 65 est ici de 0,5 μm .

La figure 6b illustre la mise en œuvre d'une activité sous l'action combinée de la lumière injectée dans le sens de la flèche F et d'un courant ou d'une tension entre les électrodes 1 et 2 disposés de part et d'autre du pore 3. La solution 4 et/ou la solution 5 est un électrolyte (solution aqueuse ou solution organique ionique) qui comporte une entité activable qui permet la fonctionnalisation du pore 3.

Les entités activables sont par exemple :

i) des monomères électropolymérisables, tels que les pyrroles, les thiophènes, les indoles, les anilines, les azines, les phénylènevinylènes, les phénylènes, les pyrènes, les furanes, les sélénophènes, les pyridazines, les carbozoles, les acrylates, les méthacrylates et leur dérivés ;

ii) les ions des métaux, tels que Cu, Ag, Au, Fe, Co, Ni, Cr, Ti, etc. et leurs complexes ou leur oxydes (un exemple de dépôt de métal est décrit par l'exemple I) ;

iii) des dérivés porteurs de fonctions électrogreffables telles que les groupements diazonium ou $-\text{NH}_2$;

iv) les peintures électrophorétiques.

Par exemple, une tension de 2V est appliquée entre les électrodes 1 et 2 distantes de 2 mm à 10 mm, ce qui correspond à un champ de 10^5 V/mm dans le pore. La valeur du champ dans le pore peut être comprise entre 10^3 V/mm et 10^7 V/mm.

La lumière est apportée par exemple par une lampe halogène. Sa longueur d'onde est par exemple comprise entre 0,2 μm et 1 μm .

Elle est préférentiellement amenée à la surface de la membrane 61 par une fibre optique. L'intensité de l'éclairement est

avantageusement comprise entre 100 mW/cm² et 500 W/cm² et plus particulièrement 1 W/cm² et 100 W/cm².

Dans le cas de la fonctionnalisation par co-activation champ électrique lumière, par exemple avec une impulsion de tension de 2 V pendant 100 ms et une intensité lumineuse de 10 W/cm², d'un micropore par un copolymère polypyrrole/polypyrrole-sonde ADN, lorsque le champ électrique et la lumière sont appliqués, on constate une émission de fluorescence émanant de la paroi interne 3' du pore 3. Après la fonctionnalisation, le pore revêtu dudit copolymère est hybridé avec des Biotine-cible ADN, suivi par un couplage avec stéptavidine-phycoérythrine (SAPE) qui est une molécule fluorescente.

Il est également possible de faire circuler un courant constant donné entre les deux électrodes, plutôt que d'appliquer une tension constante.

Avec la même application de lumière que précédemment, on ne constate aucun effet avec un courant de 2 µA. Un effet de fluorescence apparaît avec un courant de 5 µA et avec un courant de 11 µA, l'effet de fluorescence est nettement plus important (figures 5f à 5i). En pratique, à titre d'exemple, on peut donc utiliser pour un pore de diamètre 15 µm, un courant d'intensité comprise entre 5 µA et 20 µA.

En dessous de 5 µA, l'intensité du courant qui traverse le pore génère une différence de potentiel qui est trop faible pour permettre la fonctionnalisation de pore. Au dessus de 20 µA, le dépôt à la surface du pore devient trop important et il n'y a plus à proprement parler une fonctionnalisation locale de la paroi 3' du pore 3 car, le dépôt déborde sur la surface 61' de la membrane 61. Avec un courant de 11 µA (valeur optimale), le copolymère se dépose seulement à la surface intérieure 3' du pore.

Ainsi, dans chaque application, on peut définir un niveau de courant minimal apte à la fonctionnalisation du pore, et un courant maximal pour lequel le dépôt devient trop important.

Un exemple de fonctionnalisation électrochimique d'un nanopore est décrit ci-après.

Il s'agit d'un nanopore de 200 nm de diamètre sur une membrane de silicium recouverte par une couche de silice native (de quelque nanomètres d'épaisseur). L'expérience a été réalisée avec éclairage par lumière, et l'intensité de l'impulsion de courant qui est appliquée est d'environ

1 nA, valeur pour laquelle la densité de courant dans le nanopore est sensiblement égale à celle utilisée pour le micropore de l'exemple précédent.

La densité du courant à travers le nanopore peut être par exemple comprise entre $0,2 \text{ A/cm}^2$ et 10 A/cm^2 .

5 On a préalablement déposé par exemple selon la procédure décrite ci-après dans l'Exemple V un copolymère polypyrrole/polypyrrole-NH₂ dans le nanopore. Ensuite, la membrane est incubée dans un colloïde d'or, et rincée par H₂O. Des nanoparticules d'or sont immobilisées dans le pore par les groupes -NH₂. On voit une forte densité des nanoparticules d'or dans le
10 nanopore fonctionnalisé.

Cette fonctionnalisation électrochimique du nanopore qui permet l'immobilisation de nanoparticules d'or par des groupes NH₂, ne se produit pas dans les deux conditions suivantes :

i) sans lumière sur une membrane semi conductrice par
15 exemple en silicium ;

ii) sur une membrane qui n'est pas semi conductrice par exemple en SiN avec ou sans lumière.

La technique n'est pas limitée par le diamètre de pore. Il est valable pour les micropores, et aussi pour les nanopores; qu'ils soient
20 traversants ou planaires.

Des exemples de caractérisation sont donnés ci-après :

EXEMPLE I : Dépôt de métal dans un micropore

Conditions expérimentales :

a) Le micropore : le schéma (figure 6a) montre une puce qui
25 comporte un micropore de $15 \mu\text{m}$ de diamètre (en encadré). La puce a été nettoyée par un mélange de H₂SO₄/H₂O₂, 3/1 (en volume) pendant 15 min, puis rincé par H₂O et séché sous vide. Avant la fonctionnalisation, la puce avec le micropore est traitée par un plasma O₂ pendant 1 min à 100 W.

La figure 6c montre le montage qu'on utilise pour la
30 fonctionnalisation. Il comporte un dispositif 8 d'éclairement par fibre optique, la lumière étant générée par une lampe halogène. Une puce 6 qui comporte un pore traversant 3 est maintenu entre deux plaques 21 et 22 avec interposition de joints toriques.

L'ensemble est baigné par un électrolyte (figuré en grisé). Une
35 tension électrique continue est appliquée entre les deux électrodes 1 et 2 par un potentiostat 7.

b₁) Electrolyte pour le dépôt d'or: pour 1 litre, H₂AuCl₄ (24 mM) dans une solution aqueuse d'H₂SO₄ (0.1 ~ 1 M).

b₂) Electrolyte pour le dépôt de cuivre: pour 1 litre, CuSO₄ (24 mM) dans une solution aqueuse d'H₂SO₄ (0.1 ~ 1 M).

5 c) Champ électrique : une différence de potentiel de 2V entre les deux électrodes est appliqué par le potentiostat 7 pendant une durée comprise entre 30s et 300 s

d) Lumière : un faisceau de lumière généré par une lampe halogène est amené à la surface d'électrolyte par une fibre optique, le
10 diamètre de faisceau de lumière est de ~ 1 cm.

Commentaire :

Les photos de microscopie électronique à balayage (figures 7a et 7b) montrent clairement que des nanoparticules sont déposées sur la paroi du pore après la fonctionnalisation. L'analyse par spectroscope à rayon
15 X dispersive en énergie EDX confirme que ce sont des nanoparticules d'or.

Une application d'un tel dépôt métallique est la réalisation de vias par dépôt d'une couche métallique dans un canal vertical. Le canal vertical est gravé dans un substrat de silicium pour connecter électriquement la face supérieure et la face inférieure du substrat de silicium. Le dépôt
20 métallique réalisant la connexion électrique dans le via peut être effectué à l'aide d'ions métalliques en solution ou à l'aide de particules métalliques capturées. Des exemples de la capture des particules dans un pore fonctionnalisé sont décrits ci-après (Exemples IV et VI).

EXEMPLE II : Effet de la lumière pendant le dépôt

25 Conditions expérimentales :

a) Micropore et montage: le même type de micropore et le même montage que pour l'Exemple I.

b) Composition de l'électrolyte : pour 1 litre, NaH₂PO₄ 50 mM, NaCl 50 mM, Glycérol 10% v/v, pyrrole 20 mM, pyrrole-sondeZip9 5µM. La
30 pyrrole-sondeZip9 est :

pyrrole-^{5'}(T)₁₀-GAC CAT CGT GCG GGT AGG TAG ACC^{3'}

c) Champ électrique : le montage est mis dans une cage de Faraday, une différence de potentiel de 2V entre les deux électrodes 1 et 2 est appliquée par le potentiostat 7 pendant 100 ms.

35 d) Lumière : un faisceau de lumière généré par une lampe halogène est amené ou non à la surface d'électrolyte par une fibre optique

pendant la fonctionnalisation. Le diamètre de faisceau de lumière est de ~ 1 cm.

Commentaire :

Après l'hybridation avec des cibles Biotine-cibleZip9 et couplage avec des streptavidine-phycoérythrine (SAPE), les micropores sont observés sous microscope à fluorescence. La présence de fluorescence (figure 8b) prouve la présence de copolymères déposés grâce à la fonctionnalisation. On voit clairement (figure 8a) qu'il n'y a pas de dépôt dans le pore s'il n'est pas éclairé pendant la fonctionnalisation, même si une différence de potentiel est appliquée.

(Biotine-cibleZip9 = Biotine-5'GGT CTA CCT ACC CGC ACG ATG GTC 3')

EXEMPLE III : Effet de l'intensité du champ électrique appliqué

Conditions expérimentales :

a) Micropore et montage : Le micropore et le montage sont le même que pour les Exemples I et II. Le copolymère est le même que pour l'exemple III.

b) Electrolyte: pour 1 litre, 20 mM de pyrrole et 5 μ M de py-sondeZip6 en tampon d'électro polymérisation (6g/L Na_2HPO_4 , 2.9 g/L NaCl, 10 % en volume glycérol, 2% en volume acétonitrile), pour le dépôt de copolymère ppy/ppy-ODN.

c) Champ électrique : un courant de 2 μ A (figure 9a), 5 μ A (figure 9b), et 11 μ A (figure 9c) entre les deux électrodes est appliqué respectivement sur trois micropores pendant 100ms par le potentiostat 7.

d) Lumière : un faisceau de lumière généré par une lampe halogène est amené à la surface de l'électrolyte, par une fibre optique. Le diamètre de faisceau de lumière est de ~ 1 cm. On applique des impulsions de 100 ms (A PRÉCISER : espacement des impulsions ; durée de leur application).

Commentaire :

Après l'hybridation et couplage, les micropores sont caractérisés en microscope par fluorescence. On observe très clairement que les morphologies des dépôts sont différentes pour des intensités de courant différentes. Il existe un seuil de courant appliqué (différence de potentiel à travers le pore), au dessus duquel le copolymère est déposé localement dans

le pore. Mais quand le courant est plus grand (figure 9c), le copolymère déposé déborde sur la surface 61 de la membrane 6 supportant le micropore, en formant un anneau concentrique au micropore.

EXEMPLE IV : Capture de microbilles dans un micropore

5 fonctionnalisé

Fonctionnalisation du micropore :

a) Micropore et montage: le micropore et le montage sont le même que pour les exemples I à III.

b) Composition de l'électrolyte : pour 1 litre, NaH_2PO_4 50 mM, NaCl 50 mM, Glycérol 10% en volume, pyrrole 20 mM, pyrrole-sondeZip9 5 μM . Pyrrole-sondeZip9 = pyrrole-^{5'}(T)₁₀-GAC CAT CGT GCG GGT AGG TAG ACC^{3'}

c) Conditions de fonctionnalisation : le montage est mis dans une cage de Faraday, et la surface de la puce est éclairé par une lampe halogène via une fibre optique. Un courant constant de 5 μA est appliqué par les deux électrodes situées de chaque côté du pore pendant 100 ms. La puce est ensuite rincée par H_2O et séchée sous vide. On obtient un micropore fonctionnalisé par un copolymère polypyrrole/polypyrrole-sondeZip9 (ppy/ppy-zip9).

d) Composition des tampons (pour 1 litre)

Tampon PBS : tampon phosphate 10 mM, NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, pH = 7.4.

Tampon de rinçage : tampon phosphate 10 mM, NaCl 537 mM, KCl 2.7 mM, Tween20 0.15% en volume, pH = 7.4.

Tampon d'hybridation : tampon phosphate 10 mM, NaCl 1 M, KCl 2.7 mM, Polysorbate 20 (de marque Tween20) ; 0,15% en volume, de solution Denhart 50X commercialisée par INVITROGEN, 2% en volume d'ADN de sperme de Saumon 10 $\mu\text{g/ml}$, pH = 7.4.

e) Prétraitement des microbilles

0.1 mL d'une suspension de microbilles en polystyrène (PS) de diamètre 10 μm fonctionnalisées par des streptavidines (la suspension est fournie par Bangs Laboratories, Inc) est d'abord rincée trois fois avec le tampon PBS et re-suspendue dans 0,5 mL de tampon de rinçage. Puis 0,1 mL de biotine-cibleZip9 (100 nM) en tampon de rinçage est ajouté dans la suspension de microbilles. Le mélange est agité pendant 30 min. Ensuite les

microbilles sont rincées trois fois avec le tampon de rinçage et re-suspendues dans 0.5 mL de tampon de rinçage.

Biotine-cibleZip9 = Biotine-^{5'}GGT CTA CCT ACC CGC ACG
ATG GTC ^{3'}

5 f) Capture des microbilles dans un micropore fonctionnalisé

La puce qui contient le micropore fonctionnalisé par ppy/ppy-zip9 est suspendue par un support (figure 10a) dans le tampon d'hybridation. Le support 40 comporte un récipient 41 qui contient la solution 42 contenant les micro- ou nano-particules. Un substrat 43 présentant un ou plusieurs
10 micro- ou nanopores 44 est posé sur un support 45 qui permet au substrat 43 de baigner dans la solution 42.

100 µl de la suspension de PS microbilles prétraitées est ajouté à la surface de la puce, et on la laisse incuber pendant 15 min. Ensuite, la puce est rincée par le tampon de rinçage et observée par un microscope
15 optique.

Comme illustré à la figure 10b, la capture se fait par l'interaction spécifique entre la paroi du micropore et la surface des microbilles, à savoir l'hybridation entre le sondeZip9 et la cibleZip9.

La première photo (figure 10c) montre une microbille capturée
20 dans un micropore fonctionnalisé par ppy/ppy-zip9, et l'autre photo (figure 10d) qui correspond à un micropore non-fonctionnalisé montre qu'il n'y a pas de microbille prétraitée capturée dans le micropore non fonctionnalisé.

La matière de la microparticule décrite ici est le polystyrène. On peut utiliser un autre type de polymère ou des particules métalliques, des
25 particules d'oxyde inorganique, ou encore des objets biologiques, tels que des cellules, des bactéries, etc, ayant des diamètres micrométriques (par exemple entre 1 µm et 50 µm).

EXEMPLE V : Fonctionnalisation électrochimique du nanopore par dépôt d'un copolymère :

30 Conditions expérimentales :

Le nanopore: une puce qui comporte un nanopore de 200 nm avec une membrane en silicium. La puce a été nettoyée par un mélange de H₂SO₄/H₂O₂, 3/1, en volume pendant 15 min, puis rincée par H₂O et séchée sous vide. Avant la fonctionnalisation, la puce avec le micropore est traitée
35 par plasma O₂ pendant 1 min à 100 W.

Montage : le même montage que pour les Exemples II à V précédents (figure 5c).

Electrolyte : une solution en acétonitrile contient : pour 1 litre, 0.1 M tétrabutylammonium tétrafluoroborate (Bu_4NBF_4), 20 mM pyrrole et 5 mM pyrrole- NH_2 (Pyrrole- $(\text{CH}_2)_3$ -[O- $(\text{CH}_2)_2$] $_2$ -O- $(\text{CH}_2)_3$ - NH_2).

Champ électrique : une courant constant de 1 nA est appliqué entre les deux électrodes pendant 100 ms.

Lumière : un faisceau de lumière généré par une lampe halogène est amené à la surface de l'électrolyte par une fibre optique ; le diamètre du faisceau de lumière est de ~ 1 cm.

Le copolymère (polypyrrole/polypyrrole - NH_2) est déposé sur les parois du nanopore après la fonctionnalisation.

EXEMPLE VI : Capture de nanoparticules dans un nanopore fonctionnalisé

Un nanopore fonctionnalisé par exemple comme décrit dans l'Exemple V par du polypyrrole/polypyrrole- NH_2 est immergé dans une solution colloïdale d'or (20nm) pendant 18h, puis rincé par H_2O et séché sous vide. Les nanoparticules peuvent être capturées grâce aux groupements - NH_2 . Cette capture peut s'effectuer en incubant le nanopore fonctionnalisé dans une suspension colloïdale d'or. On rince ensuite par H_2O . Cette capture ne nécessite ni champ électrique dans le pore, ni excitation lumineuse du pore. Elle met simplement en œuvre l'interaction spécifique entre les groupements - NH_2 et la surface de l'or.

EXEMPLES VII à IX : Activation secondaire

EXEMPLE VII

La peroxydase du raifort (HRP) est une molécule qui est capable de catalyser la réduction de l'eau oxygénée en H_2O . HRP se réduit après la réduction de l'eau oxygénée.

Dans ce contexte, on peut fonctionnaliser (figure 12) le nanopore par l'HRP par la procédure de co-activation selon l'invention. La procédure décrite ci-dessus par l'Exemple V permet également de fonctionnaliser un nanopore par un copolymère polypyrrole/polypyrrole - HRP à partir de 5 mM de pyrrole HRP. On évapore l'électrolyte et on utilise une circulation d'eau oxygénée. Si on applique à la paroi interne du nanopore fonctionnalisé un potentiel en présence d'une activation photonique, (comme illustré dans la figure 12) la paroi du nanopore est capable de fournir des

électrons au HRP, la réaction de réduction d'eau oxygénée peut être réalisée en continu. On ajoute de l'eau oxygénée dans un compartiment, et on récupère de l'eau dans l'autre compartiment. L'HRP sert à catalyser la réaction d'oxydation de l'eau oxygénée.

5 Grâce à la co-activation, on peut démarrer ou arrêter la réaction en allumant ou en éteignant la lumière même s'il y a toujours un potentiel (ou un courant) appliqué à travers le nanopore. En l'absence de lumière, la fonction de donneur d'électrons remplie par la paroi du pore n'existe plus puisqu'il n'y a plus de génération d'excitons.

10 Ceci est seulement un exemple. Toutes autres réactions d'enzyme catalytique avec échange des électrons peuvent être réalisées dans des nanopores et contrôlées par la co-activation électrique et photonique. Une fois un dépôt réalisé par co-activation, l'application d'un potentiel (ou d'un courant) en présence d'une activation photonique permet de réaliser une
15 réaction dans une solution ionique notamment aqueuse autre que l'électrolyte. Des molécules catalysées par l'enzyme immobilisé sur la paroi du pore sont alors transformées en d'autres molécules.

Si la solution contient un donneur d'électrons carboné ou un accepteur d'électrons si l'enzyme est une réductase (au lieu du pyrrole HRP),
20 on peut alors se dispenser d'appliquer une activation photonique, mais on ne peut plus alors arrêter ou démarrer la réaction qu'en supprimant ou en rétablissant ledit potentiel appliqué à la paroi du nanopore.

EXEMPLES VIII et IX

Les exemples suivants VIII et IX sont illustrés par des
25 schémas représentatifs des nano-valves fabriquées par co-activation à base de polymère conducteur (figure 13 – Exemple VIII) et des ADNs (figure 14 – Exemple IX).

Des polymères conducteurs (Exemple VIII) peuvent être déposés localement sur la paroi d'un nanopore par le procédé de co-
30 activation selon l'invention qui est décrit notamment dans l'Exemple V. L'électrolyte est évacué une fois les polymères déposés.

Un polymère conducteur possède un état oxydé et un état réduit selon le potentiel d'oxydation appliqué sur le support (il s'agit de la paroi du pore). Ce potentiel est par exemple compris entre -0,5 V et +1,5 V. Pour
35 oxyder ou réduire les polymères déposés, il faut remplir le pore avec une solution ionique (qui conduit le courant). Elle peut être aqueuse ou organique.

On peut aussi utiliser un liquide ionique. En fonction de la tension (ou du courant) appliqué, l'état du polymère change, la conformation des chaînes change aussi, ce qui provoque un changement de volume global du polymère, qui permet de fermer au moins partiellement, ou d'ouvrir le pore.

- 5 Les polymères conducteurs peuvent être : polyacétylène (PA); polypyrrole (PPy), polythiophène (PTh); poly-p-phénylène (PPP); polyaniline (PANI); polycarbazole; polyazulène; poly(isothionaphthalène); poly(dithienothiophène); poly(dithiénylbenzène); poly(éthylènedioxythiophène) (PEDOT); poly(3-alkylthiophène); poly(phénylènevinylène)(PPV);
10 poly(thiénylènevinylène); poly(bipyrrole), poly(bithiophène), etc.

- Des nano-valves peuvent être aussi réalisées par fonctionnalisation de la paroi du nanopore par de l'ADN. (exemple IX) Les chaînes ADN ont des charges négatives. Si on applique un potentiel positif sur la paroi du nanopore, les chaînes ADN s'agrègent et collent sur la paroi (l'état
15 ouvert); par contre, si on applique un potentiel négatif sur la paroi, les chaînes s'écartent de la paroi.

REVENDECATIONS

1) Procédé de fonctionnalisation électrochimique d'une paroi interne d'un pore baigné par un électrolyte, caractérisé que ladite paroi est en un matériau semi-conducteur intrinsèque et en ce qu'il met en œuvre une co-activation électrique et photonique, l'activation électrique étant obtenue par application d'une tension ou d'un courant entre des électrodes situées dans l'électrolyte de part et d'autre du pore, et l'activation photonique étant apte à générer des excitons dans la paroi du pore.

2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il met en œuvre au moins deux pores disposés en série entre lesdites électrodes.

3) Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comporte au moins une source lumineuse activant photoniquement un des pores disposés en série.

4) Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce qu'au moins une source lumineuse est déplaçable pour permettre d'activer photoniquement l'un ou l'autre des pores disposés en série.

5) Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il met en œuvre au moins deux pores disposés en parallèle.

6) Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce qu'une première électrode est disposée d'un côté des pores et est commune à l'ensemble des pores et en ce que de l'autre côté au moins une deuxième électrode est disposée en vis-à-vis d'un des pores disposés en parallèle pour le fonctionnaliser sélectivement.

7) Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'au moins une deuxième électrode est déplaçable de manière à être disposée en vis-à-vis de l'un ou l'autre des pores disposés en parallèle.

8) Procédé selon une des revendications 5 à 7, caractérisé en ce qu'il comporte au moins une source lumineuse activant optiquement un des pores disposés en parallèle.

9) Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'au moins une dite source lumineuse est déplaçable pour permettre d'activer photoniquement l'un ou l'autre des pores disposés en parallèle.

10) Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le pore est en un semi-conducteur intrinsèque pourvu d'une couche de passivation.

11) Procédé selon une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que le pore est en un semi-conducteur intrinsèque à très haute résistivité tel que le diamant polycristallin.

12) Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le courant traversant le pore a une densité comprise par exemple entre 0,2 A/cm² et 10 A/cm².

13) Procédé selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il met en œuvre une fonctionnalisation électrochimique à l'aide d'une solution comprenant une entité électro-activable.

14) Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce que l'entité électro-activable est choisie parmi :

i) des monomères électropolymérisables, tels que les pyrroles, les thiophènes, les indoles, les anilines, les azines, les phénylènevinylènes, les phénylènes, les pyrènes, les furanes, les sélénophènes, les pyridazines, les carbozoles, les acrylates, les méthacrylates et leur dérivés ;

ii) les ions des métaux, tels que Cu, Ag, Au, Fe, Co, Ni, Cr, Ti, etc. et leurs complexes ou leur oxydes ;

iii) des dérivés porteurs de fonctions électrogreffables telles que les groupements diazonium ou -NH₂ ;

iv) les peintures électrophorétiques.

15) Procédé selon une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il met en œuvre un dépôt de métal sur la paroi d'au moins un pore, à l'aide d'un électrolyte comportant un acide et un composé comprenant ledit métal.

16) Procédé selon une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il met en œuvre la capture sur la paroi du pore de microbilles à partir d'une suspension dans un tampon d'hybridation de microbilles fonctionnalisées par des molécules cibles, la paroi du pore ayant été fonctionnalisée par co-activation électrique et photonique par des molécules sondes homologues des molécules cibles.

17) Procédé selon une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il met en œuvre une étape de dépôt par ladite co-activation dans un

électrolyte d'un enzyme catalytique assurant une catalyse par échange d'électrons.

18) Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il met en œuvre l'application à ladite paroi du pore d'un potentiel pour
5 générer une réaction catalytique dans une solution ionique traversant le pore, cette solution ionique contenant un type de molécule qui, catalysé par l'enzyme catalytique greffé par co-activation, peut être transformé en un autre type de molécule, une fonction de donneur ou d'accepteur d'électrons étant assurée soit par activation photonique, soit par la présence en solution d'un
10 donneur ou d'un accepteur d'électrons carboné.

19) Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce qu'il met en œuvre une étape de dépôt par ladite co-activation d'une molécule apte à catalyser la réduction de l'eau oxygénée en H_2O et une étape d'application à la paroi interne du nanopore dudit potentiel pour réduire en H_2O de l'eau
15 oxygénée qui circule à travers le pore.

20) Procédé selon une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il met en œuvre une étape de dépôt par ladite co-activation d'une espèce sensible soit à un effet redox provoquant un gonflement, soit à un effet électrostatique de répulsion, par exemple un dépôt d'un polymère conducteur
20 ou d'un ADN, et une étape d'application à ladite paroi du pore d'une tension pour obtenir un changement de volume du polymère ou de l'ADN.

1/7

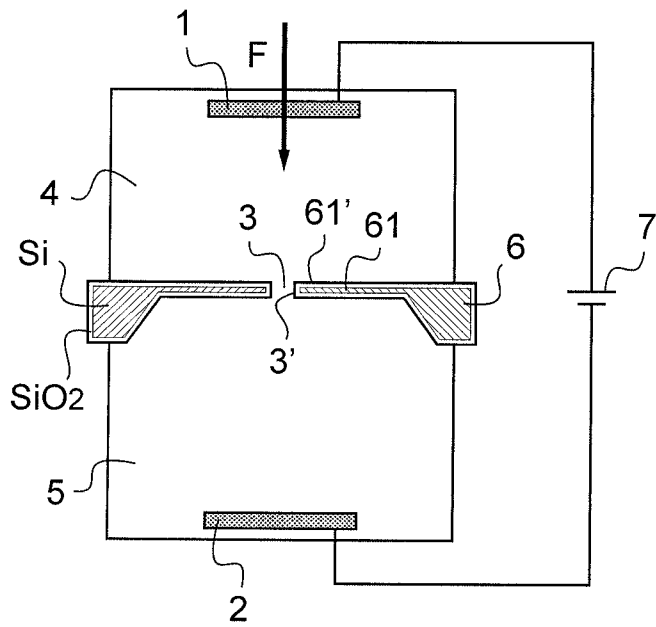


Fig.1

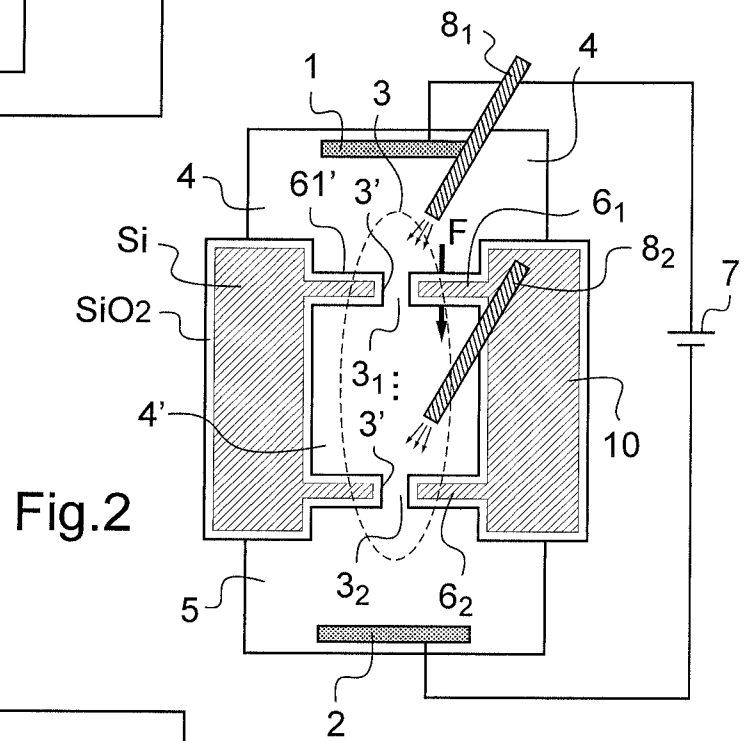


Fig.2

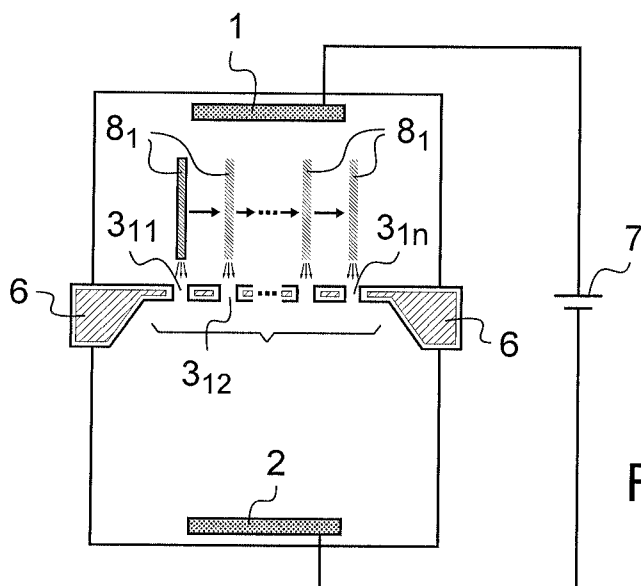
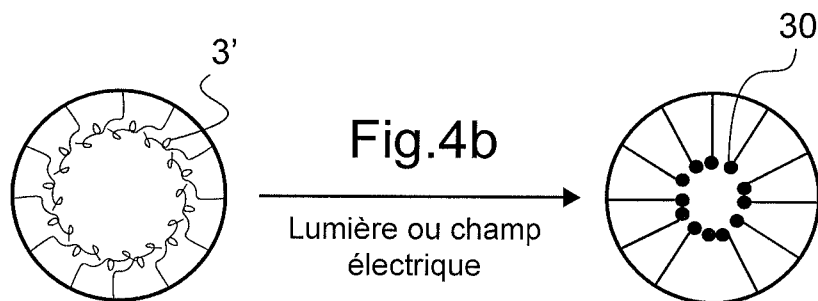
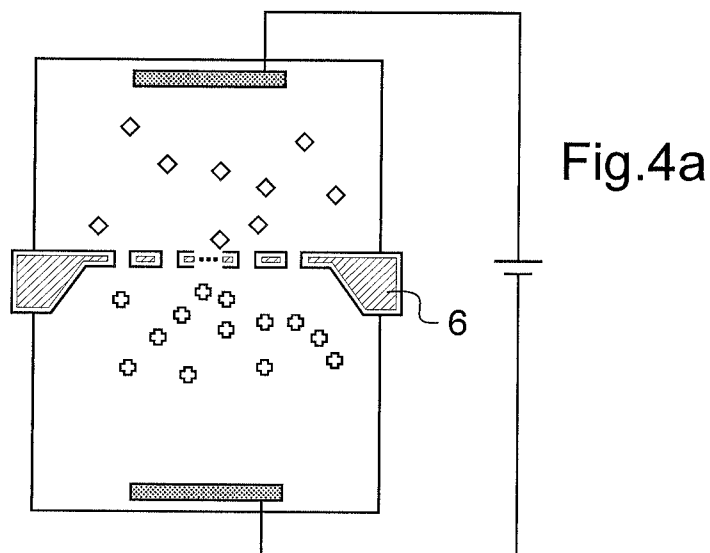
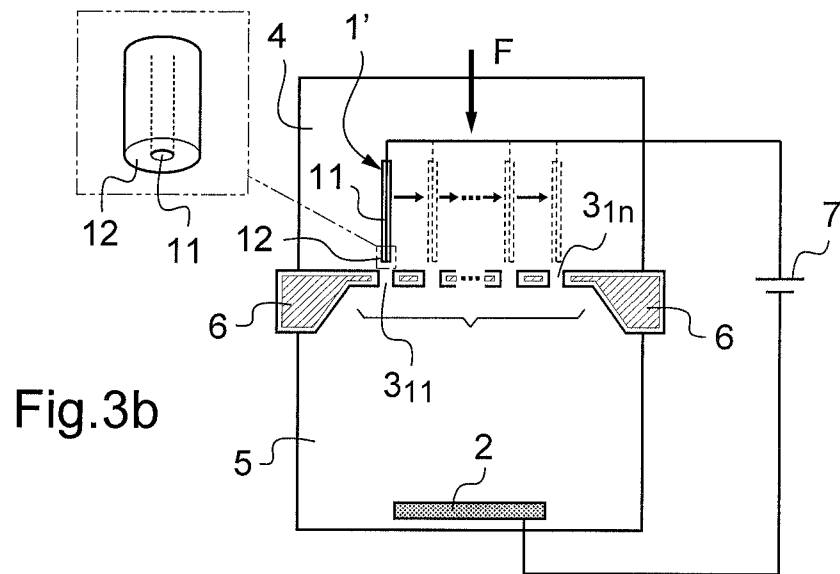
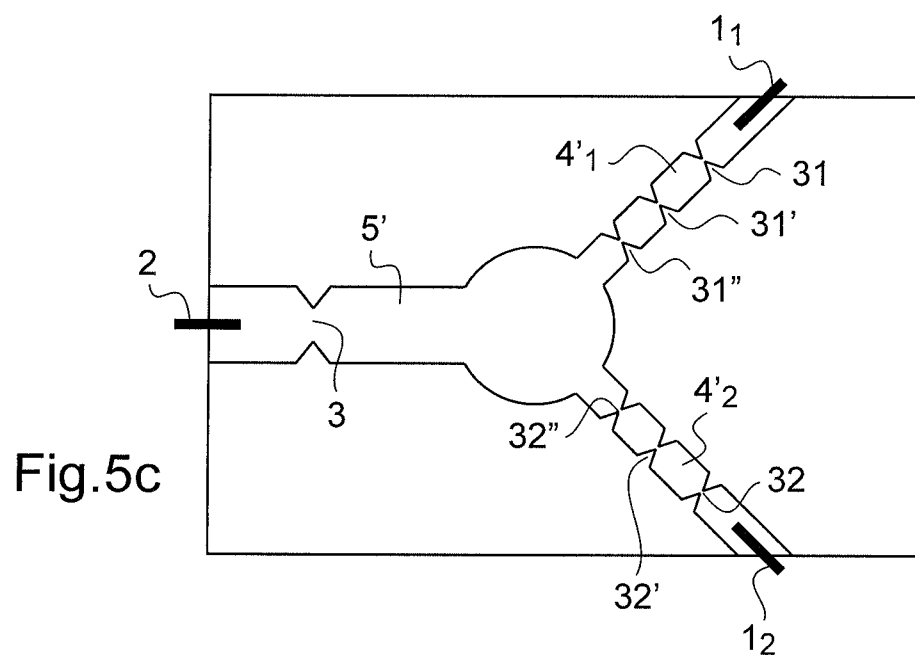
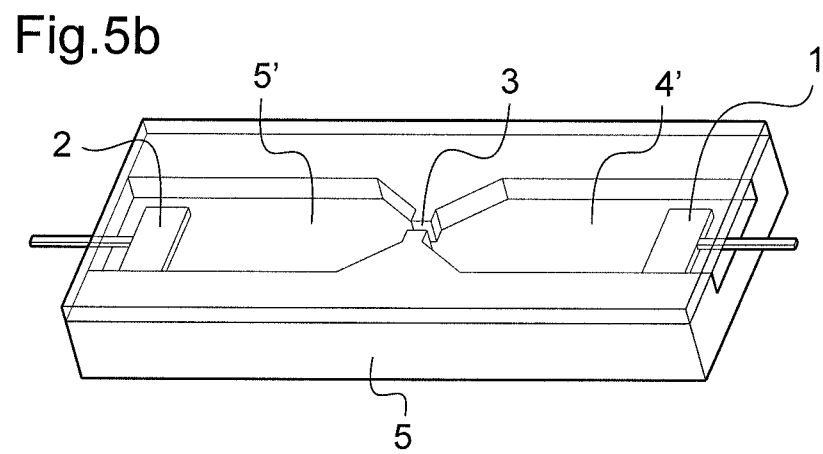
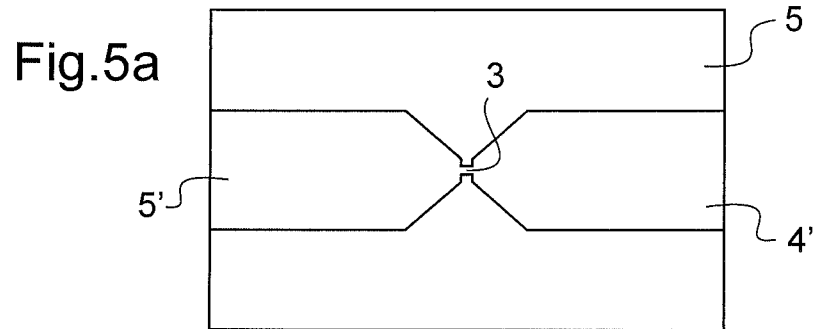


Fig.3a

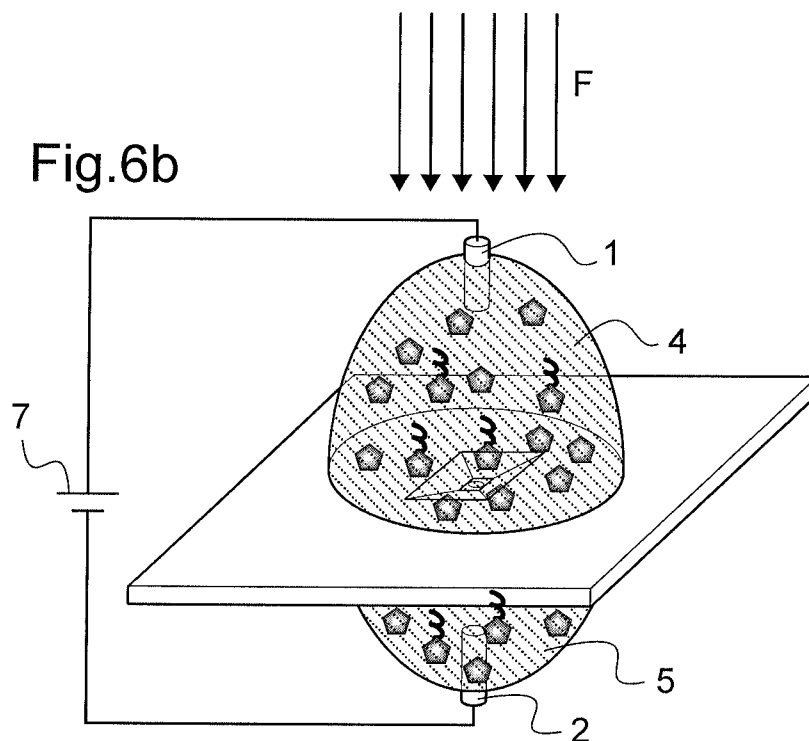
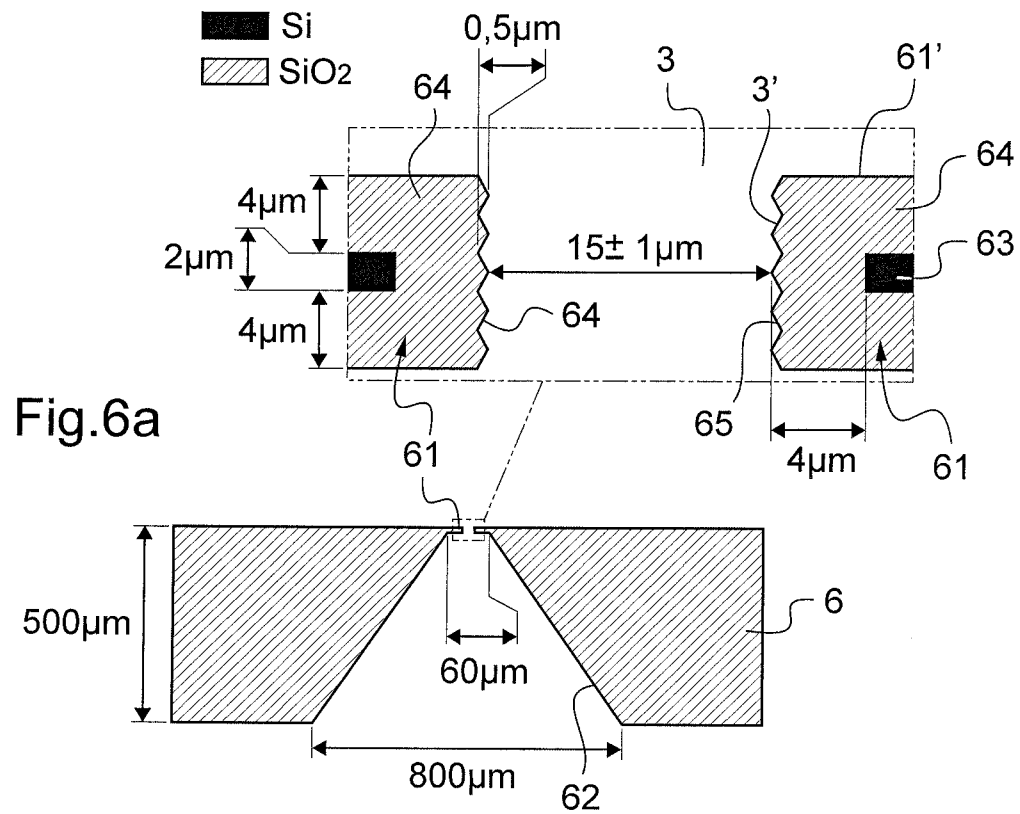
2/7



3/7



4/7



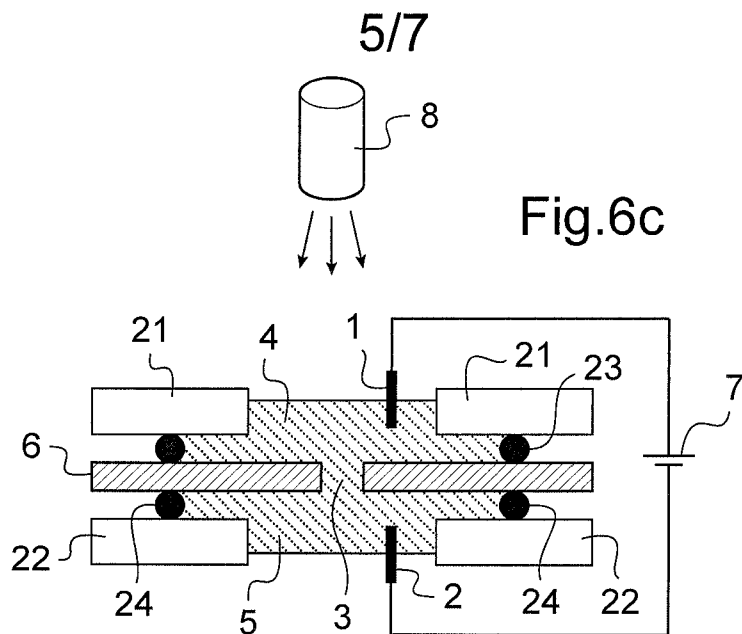


Fig.7a

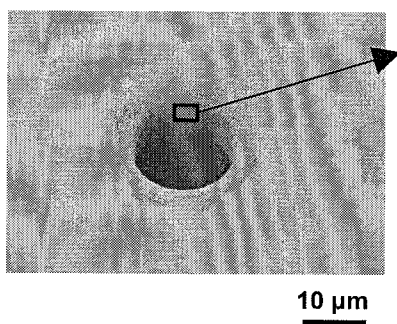


Fig.7b

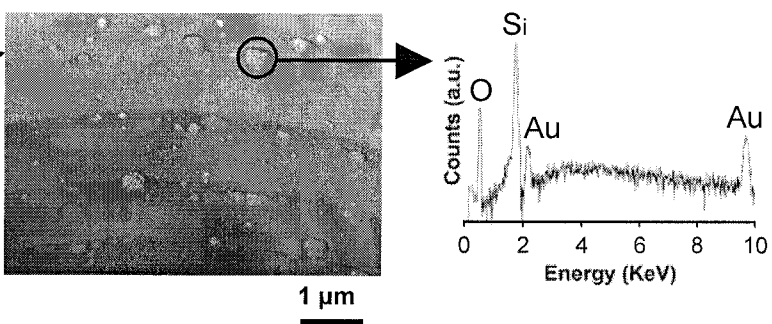


Fig.8a



Fig.8b

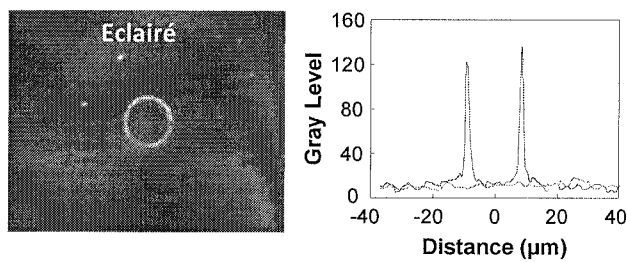


Fig.9a

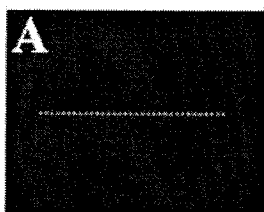


Fig.9b

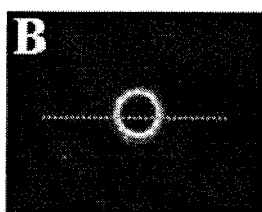
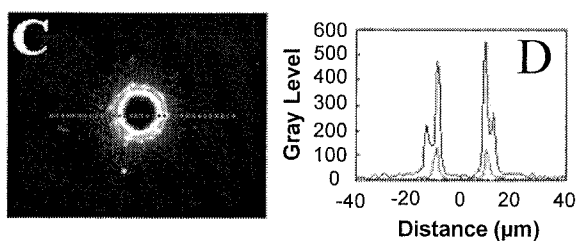


Fig.9c



6/7

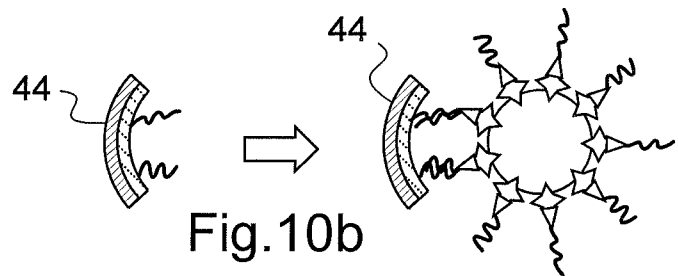
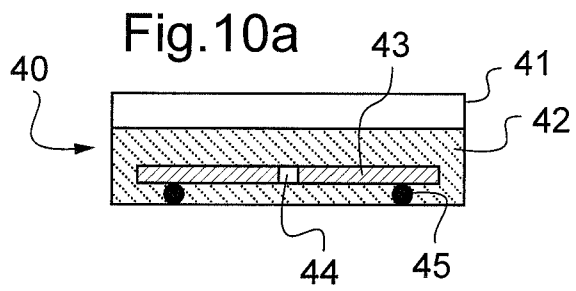


Fig.10c



Fig.10d

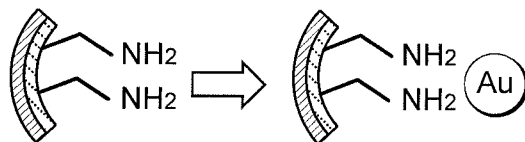
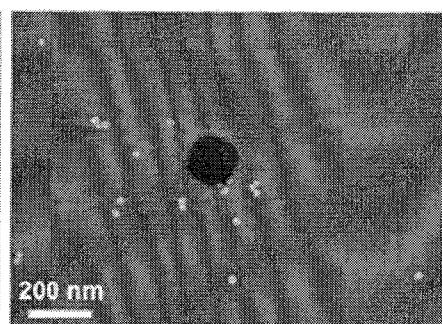
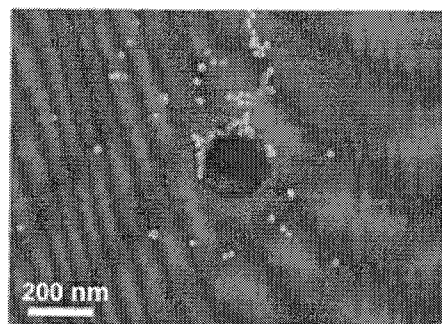


Fig.11b

Fig.11a



7/7

Fig.12

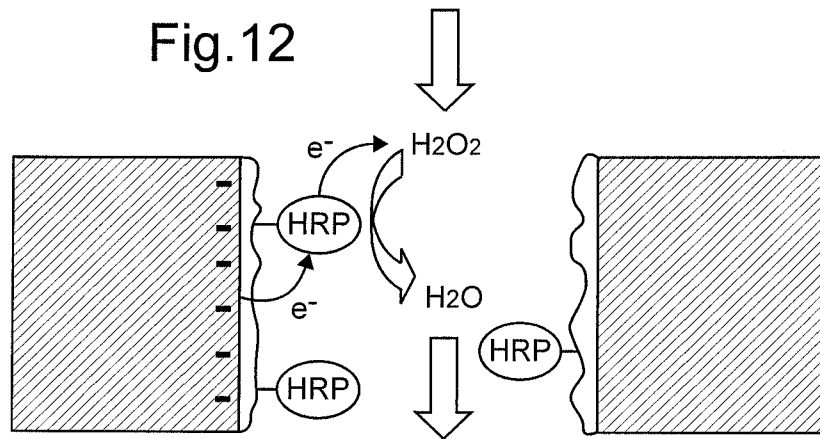


Fig.13

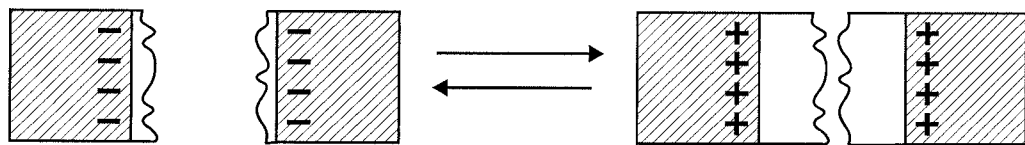
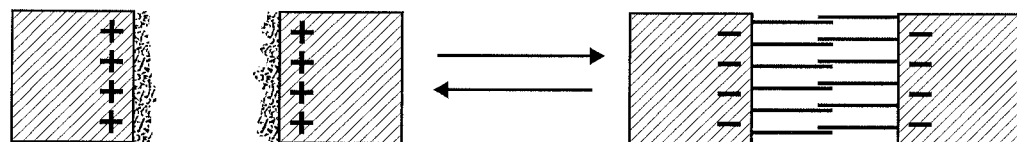


Fig.14



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/052676

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. B81C1/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B81C G01N C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/082075 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; SAILOR MICHAEL J [US]; OROSCO MANUEL M [US]; PAC) 19 July 2007 (2007-07-19)	1-14
A	abstract page 6, lines 13-19 page 8, line 6 - page 12, line 31 page 16, lines 4-20 figures 1A-1F	15-20
A	FR 2 927 169 A1 (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 7 August 2009 (2009-08-07) cited in the application abstract page 6, line 33 - page 22, line 11 ----- -/--	1-20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 July 2012

Date of mailing of the international search report

13/07/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ekoué, Adamah

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/052676

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2010/122907 A1 (STANFORD VINCENT M [US] ET AL) 20 May 2010 (2010-05-20) abstract page 4, paragraphs 41,42 figure 1 -----	1-20
A	WO 2011/027379 A1 (ISTITUTO NAZ PER LA RICERCA SUL CANCRO [IT]; UNIV DEGLI STUDI GENOVA []) 10 March 2011 (2011-03-10) abstract page 14, line 4 - page 17, line 17 figures 1,7 -----	1-20
A	WO 2009/063408 A1 (NXP BV [NL]; GARCIA TELLO PABLO [BE]; ROOZEBOOM FREDDY [NL]) 22 May 2009 (2009-05-22) abstract page 13, line 30 - page 14, line 22 figure 2 -----	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2012/052676

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007082075 A2	19-07-2007	US 2009215191 A1 WO 2007082075 A2	27-08-2009 19-07-2007
FR 2927169 A1	07-08-2009	CA 2714185 A1 EP 2250122 A1 FR 2927169 A1 JP 2011511167 A US 2011174629 A1 WO 2009109727 A1	11-09-2009 17-11-2010 07-08-2009 07-04-2011 21-07-2011 11-09-2009
US 2010122907 A1	20-05-2010	NONE	
WO 2011027379 A1	10-03-2011	EP 2473849 A1 WO 2011027379 A1	11-07-2012 10-03-2011
WO 2009063408 A1	22-05-2009	TW 200935049 A US 2011118128 A1 WO 2009063408 A1	16-08-2009 19-05-2011 22-05-2009

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/IB2012/052676

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. B81C1/00
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
B81C G01N C12Q

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, WPI Data, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 2007/082075 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; SAILOR MICHAEL J [US]; OROSCO MANUEL M [US]; PAC) 19 juillet 2007 (2007-07-19)	1-14
A	abrégé page 6, ligne 13-19 page 8, ligne 6 - page 12, ligne 31 page 16, ligne 4-20 figures 1A-1F	15-20
A	FR 2 927 169 A1 (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 7 août 2009 (2009-08-07) cité dans la demande abrégé page 6, ligne 33 - page 22, ligne 11 ----- -/--	1-20

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

6 juillet 2012

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

13/07/2012

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Ekoué, Adamah

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2012/052676

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 2010/122907 A1 (STANFORD VINCENT M [US] ET AL) 20 mai 2010 (2010-05-20) abrégé page 4, alinéas 41,42 figure 1 -----	1-20
A	WO 2011/027379 A1 (ISTITUTO NAZ PER LA RICERCA SUL CANCRO [IT]; UNIV DEGLI STUDI GENOVA []) 10 mars 2011 (2011-03-10) abrégé page 14, ligne 4 - page 17, ligne 17 figures 1,7 -----	1-20
A	WO 2009/063408 A1 (NXP BV [NL]; GARCIA TELLO PABLO [BE]; ROOZEBOOM FREDDY [NL]) 22 mai 2009 (2009-05-22) abrégé page 13, ligne 30 - page 14, ligne 22 figure 2 -----	1-20

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/IB2012/052676

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2007082075	A2	19-07-2007	US 2009215191 A1	27-08-2009
			WO 2007082075 A2	19-07-2007

FR 2927169	A1	07-08-2009	CA 2714185 A1	11-09-2009
			EP 2250122 A1	17-11-2010
			FR 2927169 A1	07-08-2009
			JP 2011511167 A	07-04-2011
			US 2011174629 A1	21-07-2011
			WO 2009109727 A1	11-09-2009

US 2010122907	A1	20-05-2010	AUCUN	

WO 2011027379	A1	10-03-2011	EP 2473849 A1	11-07-2012
			WO 2011027379 A1	10-03-2011

WO 2009063408	A1	22-05-2009	TW 200935049 A	16-08-2009
			US 2011118128 A1	19-05-2011
			WO 2009063408 A1	22-05-2009
