

(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
3 mars 2005 (03.03.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/018797 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ : **B01J 19/00**

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/002128

(22) Date de dépôt international : 11 août 2004 (11.08.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
03 09959 14 août 2003 (14.08.2003) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **INSTITUT CURIE** [FR/FR]; 26, rue d'Ulm, F-75248 Paris Cedex 05 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE** [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris Cédex 14 (FR). **VIOVY, Jean-Louis** [FR/FR]; 26, rue de l'Espérance, F-75013 Paris (FR). **PSYCHORI, Eléni** [GR/FR]; 22 rue Berthollet, F-75005 Paris (FR).

(74) Mandataire : **LE COUPANEC, Pascale**; Nony & Associés, 3, rue de Penthievre, F-75008 Paris (FR).

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

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: ASSEMBLY CONSISTING OF PARTICLES AND THE USE THEREOF AS A LABELLING SYSTEM

(54) Titre : ASSEMBLAGE ORGANISE DE PARTICULES ET SON UTILISATION A TITRE DE SYSTEME D'ETIQUETAGE

(57) Abstract: The invention relates to an assembly of particles which are interlinked in a linear or branched manner, characterised in that said particles belong to at least two sub-assemblies that can be identified by at least one property that is specific to each sub-assembly, and succeed each other according to a pre-determined sequence that forms part of a specific code.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un assemblage de particules liées entre elles linéairement ou de façon ramifiée, caractérisé en ce que lesdites particules appartiennent à au moins deux sous-ensembles identifiables par au moins une propriété spécifique à chaque sous-ensemble, et se succèdent selon une séquence prédéterminée constitutive d'un code spécifique.



WO 2005/018797 A2

Assemblage organisé de particules et son utilisation à titre de système d'étiquetage

La présente invention a principalement trait à un assemblage de particules notamment utiles à titre de système d'étiquetage ou de codage pour des objets ou des produits naturels ou artificiels.

5 Avec le développement d'un monde toujours plus complexe, la traçabilité et l'identification jouent un rôle de plus en plus important. En particulier, la traçabilité, qui permet d'identifier sans ambiguïté l'origine d'un produit représente un enjeu important en termes de sécurité. Par exemple, il est important de connaître l'origine d'une denrée alimentaire. Il peut également être important de pouvoir identifier de façon non ambiguë
10 un objet ou un matériau, pour détecter des contrefaçons, que ce soit pour des produits, des documents officiels, des chèques ou des billets de banque. De même, il peut être important d'identifier un matériau de façon univoque, par exemple pour permettre son recyclage ou connaître son fabricant.

Divers modes d'étiquetage ont déjà été développés à cette fin. Les plus courants
15 consistent en des motifs imprimés ou gravés à la surface de l'objet considéré. A titre illustratif de ce mode d'étiquetage en surface, on peut notamment citer les codes barres, les motifs imprimés sur les billets de banque ou les documents officiels. Cependant, quel que soit le soin apporté pour rendre ces documents infalsifiables, des contrefacteurs équipés d'outils d'impression adéquats finissent toujours par fabriquer des contrefaçons difficiles à
20 déceler. Par ailleurs, ces impressions concernant la surface des objets, elles sont relativement fragiles et supportent en général mal une abrasion voire une fusion de l'objet, s'il s'agit par exemple d'une matière plastique.

A titre d'alternative et pour suppléer en partie ces limites d'utilisation, il a été proposé d'intégrer des critères d'identification dans la masse, et non plus seulement en
25 surface, des objets à marquer. Il s'agit par exemple de marqueurs fluorescents ou de filigranes pour les billets de banque. Cependant, là encore certains contrefacteurs arrivent à surmonter ces obstacles et par exemple, à obtenir des marqueurs fluorescents de spectre comparable à celui des billets.

Une autre alternative issue de la microélectronique, consiste à intégrer, par
30 exemple des domaines magnétiques ou des « puces », dans les objets considérés. Ce type de marquage est très utilisé par exemple dans les « cartes magnétiques » et les « cartes à puces ». Cependant, de nombreux faits divers ont montré qu'il était possible, pour des

contrefacteurs bien équipés, de programmer ou reprogrammer des cartes magnétiques ou à puce. Par ailleurs, ces technologies sont assez coûteuses et encombrantes, et leurs applications restent donc limitées à des cartes à usage multiple. Enfin, elles sont assez fragiles et ne résistent pas par exemple à de fortes déformations.

5 Il demeure donc à ce jour un besoin d'un mode d'étiquetage susceptible d'être intégré dans un objet et qui permette d'en identifier la provenance de façon sûre même si ce dernier a été réduit en pièces ou partiellement détruit.

Outre les domaines d'utilisation évoqués précédemment, le domaine des sciences et plus particulièrement celui des sciences de la vie, est également susceptible de
10 tirer profit d'un tel système d'étiquetage.

En effet, le développement de la génomique et de la protéomique, ou celui de la chimie combinatoire implique d'une manière générale l'analyse en parallèle de milliers voire de millions de produits. Pour des raisons évidentes, il serait particulièrement avantageux de pouvoir identifier de façon simple, au cours de ces opérations d'analyse, les
15 produits en question. Or, ce suivi d'analyse est d'autant plus difficile que ces analyses sont effectuées généralement avec des quantités d'échantillon et de réactif aussi réduites que possible. Dans ces conditions, il est très difficile de pouvoir effectuer une analyse d'un grand nombre d'espèces différentes dispersées, dans un mélange.

Une solution, utilisable pour des biomolécules telles que les acides nucléiques
20 ou les protéines, consiste à mettre en œuvre des « puces à ADN », « puces à acides nucléiques » ou « puces à protéines ». Dans les « puces à acides nucléiques », des molécules d'ADN ou des oligonucléotides (les sondes) sont déposés ou synthétisés in situ en des « spots » prédéterminés sur une surface. Chaque spot a une surface typique de 100 microns par 100 microns ou moins, et contient un type unique d'acide nucléique. Cette
25 surface est mise en présence de l'échantillon à analyser, dans des conditions permettant la formation d'une double hélice d'acide nucléique. Si l'échantillon contient un acide nucléique complémentaire de celui fixé sur un spot, cet acide nucléique « cible » va s'hybrider et cette hybridation pourra être détectée, le plus souvent par fluorescence, ou par d'autres techniques. Cette méthode permet de disposer d'un grand nombre de sites de
30 reconnaissance sur une surface limitée et donc d'effectuer un grand nombre d'analyses moléculaires avec une quantité d'échantillon relativement réduite. Toutefois, ces systèmes de type « puce » encore appelés « réseaux d'hybridation », présentent certains

inconvenients. Ainsi, un tel système implique qu'un acide nucléique différent soit déposé ou synthétisé sur chaque spot, et ce pour chaque « puce » ce qui rend la fabrication coûteuse et par conséquent le prix de ces « puces » très élevé. Enfin, la cinétique d'hybridation est significativement ralentie comparativement à une hybridation classique en solution.

Dans WO 00/71243, il est proposé de tester des analytes, en employant un réseau de microsphères disposées sur une surface, les microsphères étant porteuses de différentes fonctionnalités. Toutefois, ce mode d'identification implique de déposer au préalable à des endroits prédéterminés chaque type de sphère, afin de pouvoir ensuite identifier avec quelle sonde une cible a interagi.

Une variante, proposée dans Kohara et al, « Micro Total Analysis Systems 2002 », Vol1, pp 227-229, Y. Baba et al. Eds, Kluwer Academic Publishers consiste à organiser de façon linéaire des billes individualisées dans un capillaire. Chaque bille comporte un type d'oligonucléotide différent sur sa surface permettant ainsi de comparer, dans un même canal, un échantillon à plusieurs types d'oligonucléotides. Cependant, comme dans WO 00/71243, il est nécessaire d'introduire une par une les billes dans le canal. Par ailleurs, la présence d'un microcanal pour catalyser les billes et maintenir leur ordre est indispensable. Tout ceci soulève de nombreuses contraintes en termes de microfluidique.

Pour suppléer en partie cet inconvénient, il a été proposé dans US 5,981,180 (Luminex), de constituer tout d'abord un ensemble de billes regroupant plusieurs sous-ensembles de billes. Dans chaque sous-ensemble, les billes, individualisées les unes par rapport aux autres, sont porteuses d'un ligand spécifique d'une espèce à analyser ainsi que d'une combinaison unique de marqueurs fluorescents. L'ensemble de billes est ensuite mis en présence de l'échantillon contenant les espèces à analyser, pendant un temps suffisant pour que chaque espèce complémentaire d'un ligand caractérisant une des sous-familles de billes s'hybride aux billes de cette sous-famille. L'ensemble des billes est ensuite analysé par cytométrie en flux, selon un mode permettant de mesurer simultanément pour chaque bille la lumière de fluorescence émise dans plusieurs longueurs d'onde et d'identifier de façon univoque les billes appartenant à chacune des sous-espèces et la quantité d'analytes liées aux dites billes. Cette méthode est élégante et performante pour les applications analytiques, mais ses capacités de multiplexage demeurent limitées : en effet, les spectres

d'émission des molécules fluorescentes sont assez larges et il est difficile ou impossible d'en utiliser un grand nombre si l'on souhaite prévenir tout recouvrement au niveau de ces spectres ou s'affranchir de toute incertitude sur l'identification de la bille correspondante.

Plus récemment, le document WO 01/25002 décrit des particules colloïdales sous forme de bâtonnets c'est-à-dire de forme linéaire, constitués de plusieurs segments de métaux conducteurs différents et contigus. Chaque segment métallique peut être caractérisé par une propriété qui lui est spécifique telle que sa dimension ou ses propriétés de réflectivité. L'ensemble des segments constitue ainsi un code qui permet de l'identifier avec une combinatoire bien plus riche que celle des systèmes proposés dans le document US 5,981,180. Cependant, de tels systèmes présentent également des inconvénients. En particulier, la densité des métaux étant élevée, ces bâtonnets métalliques ont tendance à sédimenter rapidement lorsqu'on les met en suspension dans l'eau ou dans les solutions aqueuses. Par ailleurs, les particules métalliques de très petites tailles autres que celles constituées de métaux nobles, sont rapidement corrodées dans l'eau et dans la plupart des tampons biologiques. Par conséquent, pour mettre efficacement en œuvre l'invention proposée dans WO 01/25002 on doit le plus souvent utiliser des particules constituées à partir d'or, de platine ou d'argent, et donc coûteuses. Enfin, les dites particules sont limitées à une petite dimension, typiquement au plus une cinquantaine de microns, par leur procédé de fabrication et par leur rigidité qui les rend fragiles pour des dimensions plus importantes.

En conséquence, pour les raisons évoquées précédemment, il n'existe pas à ce jour, également dans le domaine des sciences de la vie, un système d'étiquetage donnant totalement satisfaction en terme de coût, de simplicité de mise en œuvre et de fiabilité.

L'invention a précisément pour objet de proposer un nouveau système d'étiquetage, utile pour marquer de façon univoque tout type d'objets, que ce soit des matériaux ou des composés biologiques, naturels ou artificiels.

Plus précisément, la présente invention concerne selon un premier de ses aspects, un assemblage de particules liées entre elles linéairement ou de façon ramifiée, caractérisé en ce que lesdites particules appartiennent à au moins deux sous-ensembles identifiables par au moins une propriété spécifique à chaque sous-ensemble, et se succèdent selon une séquence prédéterminée constitutive d'un code spécifique.

L'invention vise en particulier un assemblage linéaire ou ramifié de particules liées entre elles de façon permanente, ledit assemblage présentant selon sa longueur une succession de propriétés prédéterminées portées par les particules, ladite succession constituant un code caractéristique dudit assemblage.

5 Ce code est dit caractéristique dans la mesure où il permet de distinguer l'assemblage considéré vis-à-vis d'autres assemblages comportant soit d'autres propriétés soit le même ensemble de propriétés mais avec celles-ci disposées dans un ordre de succession différent.

10 Plus particulièrement, les particules sont liées de façon permanente ou encore irréversible et sous une forme linéaire dans les assemblages selon l'invention.

Au sens de l'invention, on appellera indifféremment « chaîne de particules », ou « assemblage linéaire de particules », un assemblage de particules liées les unes aux autres de façon à constituer un objet présentant au moins localement une forme allongée, étant entendu que l'architecture de cet assemblage n'est pas constituée ou imposée par un support préexistant audit assemblage de particules, tel qu'un fil, une surface, un ruban, ou tout autre élément physique non constitutif des particules elles-mêmes sur lesquelles les particules seraient attachées, mais est au contraire constituée directement par la cohésion des particules entre elles. Selon une variante privilégiée, cette cohésion est assurée par un ou plusieurs liens moléculaires covalents comme cela est exposé ci-après. Différents
15 exemples de telles chaînes de particules selon l'invention sont présentés en figures 1a à 1d.

Elles peuvent ainsi se présenter sous la forme d'un « collier de perles », dans lequel la largeur de la chaîne est essentiellement celle d'une particule, comme cela est représenté dans les figures 1a, 1c, ou 1d. Elles peuvent également se présenter en « colonnes », dans lequel chaque section de la chaîne comporte plusieurs particules.

25 Dans tous les cas, les assemblages linéaires de particules selon l'invention présentent un rapport d'aspect (rapport de la longueur à la plus grande dimension d'une section) significativement supérieur à 1, typiquement supérieur à 3, et notamment supérieur à 5. Toutefois, pour de nombreuses applications, des rapports d'aspect nettement plus élevés, de 10 ou plus, voire supérieurs à 100 et allant jusqu'à 10 000, peuvent
30 également s'avérer avantageux.

Entre également dans le cadre de l'invention, un assemblage ramifié de particules comportant plusieurs chaînes linéaires reliées entre elles, pourvu que l'une au

moins des dites chaînes présente un rapport d'aspect supérieur à 3, et notamment supérieur à 5. Un exemple d'une telle chaîne ramifiée selon l'invention est représenté dans la figure 1e.

Que ce soit sous une forme de chaîne(s) linéaire(s) ou de chaîne(s) ramifiée(s),
5 les assemblages selon l'invention se distinguent clairement des agrégats compacts tridimensionnels de particules dans lesquels l'organisation des particules entre elles est totalement arbitraire et donc non reproductible.

Les assemblages selon l'invention peuvent présenter des dimensions, en terme de diamètre moyen et de longueur, très variables. Typiquement, leur diamètre moyen varie
10 de 10 nm à 1 mm, en particulier de 10 nm à 400 µm, et tout particulièrement de 10 nm à 100 µm, notamment encore de 100 nm à 5 µm. Leur longueur varie typiquement de 200 nm à 5 mm, en particulier de 200 nm à 500 µm, et notamment de 1 µm à 100 µm.

En général, la section des assemblages de particules selon l'invention est essentiellement circulaire. Toutefois, elle peut également être de toute autre forme, dans la
15 mesure où la plus grande dimension de cette section reste inférieure à la plus grande longueur de la chaîne colloïdale à raison d'un facteur d'au moins 3.

Plusieurs méthodes connues de l'homme de l'art peuvent être utilisées pour mesurer la flexibilité d'objets linéaires microscopiques tels que ceux mis en œuvre dans l'invention. Une méthode simple consiste par exemple à laisser évaporer une suspension
20 diluée d'assemblages selon l'invention sur un support transparent, puis d'observer ceux-ci au microscope. Si l'assemblage est constitué de particules micrométriques (typiquement comprises entre 500 nm et une centaine de microns), la méthode la plus simple consiste à déposer les assemblages sur une lamelle de microscope, et à les observer par microscopie. Par exemple, on peut par cette méthode observer que les assemblages de particules
25 présentés dans les figures 4a, 4b et 4c, sont du type semi-rigide : elles présente en effet plusieurs zones courbées, dont le rayon de courbure local est comparable à la longueur de l'assemblage.

Par « comparable », on entend typiquement un rayon de courbure compris entre 10 fois la longueur et 0,2 fois la longueur de l'assemblage.

30 Pour des mesures plus précises et pour effectuer une statistique sur un grand nombre de particules, il est également possible de déterminer automatiquement l'axe de l'assemblage et son rayon par un logiciel automatisé d'analyse d'image. Pour des

assemblages de plus petites tailles, par exemple de diamètre inférieur à 500 nm, il pourra s'avérer plus précis d'utiliser un microscope électronique au lieu d'un microscope optique. Dans ce cas, les assemblages sont de préférence déposés sur une grille de microscopie électronique et ombrés avec une technique connue de l'homme de l'art, telle que le dépôt
5 de carbone ou de métal.

Les assemblages de particules selon l'invention peuvent être relativement rigides (adoptant essentiellement la forme d'un bâtonnet), comme représenté dans la figure 1a, semi-rigides (capables de présenter de façon réversible un rayon de courbure comparable à leur longueur), comme présenté dans la figure 1d, ou flexibles (capables de
10 présenter de façon réversible un rayon de courbure très inférieur à leur longueur), comme présenté dans la figure 1c. Dans le cas de chaînes flexibles, la longueur dans la description ci-dessus s'entend le long de l'abscisse curvilinéaire de ladite chaîne.

Selon une variante privilégiée, lesdits assemblages de particules selon l'invention sont flexibles ou semi-rigides. Autrement dit, on préfère, dans le cadre de la
15 présente invention, les assemblages non monolithiques. En effet, de tels assemblages sont avantageux à plusieurs titres. D'une part, ils glissent plus facilement les uns vis à vis des autres. D'autre part, ils sont au repos sous une forme repliée et à ce titre occupent moins d'espace et sont plus facilement maintenus en suspension sans qu'ils s'enchevêtrent. Enfin, ils peuvent être facilement alignés dans un écoulement, par exemple dans la chambre à flux
20 d'un dispositif de cytométrie en flux. Cette dernière propriété est particulièrement significative pour les assemblages semi-rigides qui constituent donc un compromis particulièrement privilégié.

Selon un mode de réalisation particulier de l'invention, les assemblages de particules revendiqués sont organisés linéairement de manière à former une chaîne
25 irréversible ou un ensemble de chaînes irréversibles de particules.

Au sens de la présente invention, on entend caractériser par le terme irréversible l'incapacité des chaînes linéaires des particules à se défaire spontanément et/ou à bref délai en l'absence de champ externe. En l'occurrence, sont exclues du domaine de l'invention des chaînes de particules dont l'organisation linéaire requiert le maintien en
30 permanence d'un champ externe, magnétique ou électrique.

Le caractère irréversible des assemblages de particules selon ce mode de réalisation particulier de l'invention s'entend par contre dans des conditions données de

composition du fluide dans lequel elles sont suspendues. Ainsi, de tels assemblages seront considérés comme irréversibles, même s'il est possible de les dissoudre en les diluant dans un liquide de composition ou de pH significativement différent de celui du liquide dans lequel elles ont été formées.

5 Au sens de l'invention, on entend par particule, tout objet tridimensionnel compact constitué d'une multitude d'atomes ou de molécules, et susceptible d'être maintenu en suspension dans un fluide.

 Les dimensions d'une particule selon l'invention sont typiquement comprises entre quelques dizaines de nanomètres et quelques centaines de microns, typiquement entre
10 10 nm et 400 μ m, en particulier entre une centaine de nanomètres et une dizaine de microns, typiquement entre 100 nm et 150 nm. A titre d'exemple, des sphères de latex, des microgels ou des billes magnétiques de dimension micronique ou submicronique, des nanocristaux ou des microcristaux isolés constituent des particules au sens de l'invention, dès lors que leur mode d'obtention permet de les obtenir ou de les mettre en suspension
15 dans un fluide.

 Les particules mises en œuvre pour constituer les assemblages selon l'invention sont de préférence de forme essentiellement sphérique par exemple sous forme de billes.

 Par forme essentiellement sphérique, on entend un objet qui apparaît
20 visuellement comme une sphère peu ou pas déformée, présentant typiquement des défauts de sphéricité inférieurs à 30%, et de préférence inférieurs à 15%.

 Cette forme présente plusieurs avantages. D'une part, il est facile de se procurer dans le commerce des particules colloïdales sphériques, généralement dénommées « microbilles » ou « nanobilles », ou encore « latex », déjà porteuses de différentes
25 propriétés telles que différentes couleurs ou différents spectres d'absorption ou d'émission de fluorescence, et également porteuses sur leur surface de fonctions chimiques ou biologiques utiles pour les applications. D'autre part, les particules sphériques ont tendance d'une manière générale à former, quand on les aligne dans un champ électrique ou magnétique, une chaîne plus régulière que des particules anisotropes, qui peuvent
30 s'associer entre elles en présentant différentes orientations.

 Avantageusement, les particules utilisées pour la préparation d'assemblages selon l'invention sont de composition homogène. Selon une variante, elles peuvent

toutefois être revêtues en surface d'une ou plusieurs couches de compositions distinctes. Dans tous les cas, cependant, c'est-à-dire si on fait abstraction de cet enrobage éventuel, les particules utilisées pour la préparation d'assemblages selon l'invention ne sont pas multisegmentées en terme de composition. Plus précisément, elles ne sont pas constituées
5 par un enchaînement de plusieurs segments de compositions distinctes.

De façon privilégiée, les particules utilisées pour former les assemblages selon l'invention présentent une faible polydispersité en taille, notamment inférieure à 2 et en particulier inférieure à 1,5. Comme indiqué précédemment, ceci permet de faire des assemblages plus réguliers.

10 Au sens de l'invention, on entend par « propriété » une caractéristique en particulier physique, chimique, optique, électrique, magnétique ou biologique, mesurable ou détectable, qui permet de différencier les particules entre elles. A titre d'exemple, ces propriétés peuvent être des propriétés optiques (absorption ou émission de lumière, de fluorescence, ou de luminescence (couleur), ou plus généralement des propriétés relevant
15 d'interaction avec un rayonnement électromagnétique ou radioactif, des propriétés magnétiques, des propriétés de dimension, de forme, ou de densité.

Selon une première variante, ces propriétés sont des propriétés relevant d'interaction avec un rayonnement électromagnétique.

20 Selon une seconde variante, les propriétés détenues par les particules sont des propriétés optiques.

Selon une troisième variante, ces propriétés concernent le spectre d'absorption de lumière.

25 Selon une autre variante, lesdites propriétés optiques sont des propriétés d'émission de fluorescence à une ou plusieurs longueurs d'ondes prédéterminées, sous l'action d'une excitation à une ou plusieurs longueurs d'ondes prédéterminées.

Selon une autre variante également privilégiée, les dites propriétés optiques concernent le spectre d'émission de luminescence, ou des propriétés de luminescence à une ou plusieurs longueurs d'ondes prédéterminées, de façon spontanée ou sous l'action d'un stimulus tel que la présence d'un substrat ou l'application d'un champ électrique.

30 Par « code », on entend au sens de l'invention faire référence à l'enchaînement de l'ensemble des propriétés présentes au sein de l'assemblage des particules et en particulier le long de la dite chaîne linéaire de particules.

A titre d'exemple, et selon un mode de codage dit « digital », la chaîne de la figure 1a représente un assemblage de particules caractérisé par le code de propriétés ABBACAB, où A, B et C représentent différentes propriétés, par exemple des couleurs différentes. A l'exception des chaînes ramifiées, les codes au sens de l'invention sont réversibles le long de la chaîne, c'est à dire que le code ABBACAB par exemple, est équivalent au code BACABBA. A titre d'un autre exemple, la chaîne de la figure 1d représente le code ABBCABCA.

On peut également, dans le cadre de l'invention, utiliser une autre variante de codage dit « global » utilisant la succession des propriétés le long de la chaîne, sans tenir compte du nombre de particules présentant la dite propriété. Selon ce mode de lecture, par exemple, l'assemblage présenté en figure 1a répond au code ABACAB, et celle présentée en 1d répond au code ABCABCA. Ce mode de codage plus global s'avère plus particulièrement avantageux lorsque la méthode de détection utilisée pour lire le code n'est pas très précise, lorsque les particules sont très petites et/ou lorsque le mode de fabrication des assemblages ne permet pas d'assurer de façon certaine un nombre fixe de particules consécutives présentant une propriété donnée.

On peut de même utiliser un mode de codage intermédiaire, dit « analogique », tenant compte de la succession de différentes propriétés portées, non pas par chaque particule, mais conjointement par plusieurs particules sur une certaine longueur. Dans cette variante, le codage peut porter à la fois sur l'ordre de succession des propriétés, et sur la longueur de la chaîne affectée à une ou plusieurs des propriétés considérées. Par exemple, la chaîne présentée dans la figure 1b est caractérisée par le code A(11)B(12)C(13)A(14), où 11, 12, 13 et 14 sont, respectivement, les longueurs sur lesquelles la chaîne est constituée de particules portant les propriétés A, B, C et A. Ce mode de codage est particulièrement adapté pour des chaînes en « colonne », comme représenté schématiquement dans la figure 1b, ou encore pour des particules de faible taille.

Dans le cas de chaînes ramifiées, le code peut présenter une structure plus complexe. La chaîne ramifiée de la figure 1e, par exemple, porte, selon un mode de codage dit « digital », le code ABC(AB)BAAB(CCA)CC, selon une notation dans laquelle la première parenthèse représente le code porté par une sous-chaîne portée par la troisième particule de la chaîne principale présentant la propriété C, et la deuxième parenthèse renferme le code porté par une seconde sous-chaîne, portée par la septième particule de la

chaîne principale, porteuse de la propriété B. Les ramifications permettent avantageusement de multiplier de façon considérable le nombre de combinaisons possibles.

5 Les particules utilisées pour constituer les chaînes selon l'invention peuvent être organiques, minérales ou organominérales. Comme déjà précisé précédemment, de nombreux types de particules organiques ou organominérales sont disponibles dans le commerce ou connues de l'homme de l'art. Elles permettent de construire des chaînes colloïdales selon l'invention dotées de propriétés très diverses.

10 Dans le cas de la présente invention, les particules peuvent avantageusement être des particules diélectriques, non conductrices compatibles avec un alignement par champ électrique. Il peut également s'agir de particules magnétiques compatibles avec un alignement dans un champ magnétique.

15 Convienient également à l'invention des particules constituées au moins en partie de polymère organique comme par exemple les polymères et matériaux macromoléculaires.

Selon une variante préférée, elles sont en tout ou partie de nature organique, ou de nature organominérale, c'est-à-dire présentant à la fois des constituants organiques et des constituants minéraux.

20 De nombreux types de particules organominérales sont disponibles dans le commerce ou connues de l'homme de l'art. Elles permettent avantageusement de combiner des propriétés issues de la partie organique et des propriétés issues de la partie minérale, et donc de construire des assemblages de particules selon l'invention dotés de propriétés très diverses.

25 En ce qui concerne la nature chimique de la partie minérale (ou de l'ensemble de la particule si elle est essentiellement minérale), elle peut également être très variée, et comporter notamment des « quantum dots » dotés de propriétés spécifiques de fluorescence ou d'absorption de la lumière, et/ou des matériaux diélectriques tels que les oxydes métalliques ou de métaux semi-conducteurs. Les matériaux magnétiques, tels que les matériaux superparamagnétiques, ferrimagnétiques, ferromagnétiques conviennent tout
30 particulièrement à l'invention.

Au titre d'oxydes de semi-conducteur, les particules essentiellement constituées d'oxyde de silicium ou de silice ou comportant une enveloppe de silice, sont particulièrement avantageuses.

En ce qui concerne la nature chimique de la partie organique des dites
5 particules, elle peut également être très diverse, et comporter en particulier, à titre d'exemple, des huiles végétales, d'origine pétrolière ou de synthèse, des polymères divers tels que les dérivés d'acrylamide, de polystyrène, de polycarbonate, réticulés ou non, et plus généralement tous les matériaux utilisés pour constituer des latex.

En particulier, conviennent à l'invention des particules comportant un cœur
10 minéral enrobé par une couche organique de type polymère tels que par exemple, des polymères de type polystyrène, polycarbonate, ou dérivant de monomères de type acrylique comme le N-isopropylacrylamide, l'acrylate ou méthacrylate de glycidyle, le 2-hydroxyéthylméthacrylate (HEMA), ou l'éthylène diméthacrylate (EDMA). Il peut également s'agir de polyméthylméthacrylate.

15 Une enveloppe organique est particulièrement avantageuse dans la mesure où elle offre, via la présence de ses fonctions organiques de surface, des possibilités de greffage pour des sites de reconnaissance et/ou des composés annexes et des facilités pour l'organisation linéaire desdites particules. Toutes sortes de fonctions réactives, bien connues de l'homme de l'art, peuvent être utilisées en tant que fonctions réactives de
20 surface. Il peut s'agir, à titre d'exemple et de façon non limitative, de fonctions carboxylique, amine, alcool, thiol, de fonctions polymérisables comme des doubles ou triples liaisons, en particulier les fonctions allyle ou acrylique, ou encore des polyols, des hydrazines et/ou des époxydes. Il peut également s'agir de sites de liaison forte pour des métaux de transition, tels que les « cages histidines » pour le nickel.

25 Bien entendu, on pourra avantageusement utiliser dans le cadre de l'invention des particules présentant toute combinaison des caractéristiques privilégiées énoncées ci-dessus, comme, à titre d'exemple, des particules à la fois organominérales, diélectriques et magnétiques, et présentant diverses fonctions de surface.

De manière avantageuse, les particules sont choisies de manière à conférer aux
30 assemblages linéaires selon l'invention une densité inférieure à 2. En particulier, cette densité est inférieure à 1,8 et plus particulièrement inférieure à 1,6. Idéalement, cette densité peut varier de 0,7 à 1,4.

Ces différentes variantes sont particulièrement avantageuses lorsque lesdits assemblages doivent être, pendant un certain temps, maintenus en suspension dans un fluide, et en particulier un fluide aqueux, comme c'est le cas pour des applications biologiques. En effet, dans ces applications, une faible densité évite aux assemblages de
5 sédimenter, favorise leur interaction avec les cibles avec lesquelles ils doivent réagir, et rend leur analyse ultérieure, par exemple par cytométrie en flux, plus facile.

Comme précisé précédemment, les particules sont organisées au sein des assemblages selon l'invention de manière à former une séquence prédéterminée caractéristique d'un code spécifique. Plus particulièrement, ces particules sont organisées
10 sous forme d'au moins une chaîne linéaire, le cas échéant portant une ou plusieurs ramifications. Une telle organisation implique le maintien d'une cohésion entre lesdites particules. Cette cohésion permet aux chaînes de particules d'être maintenues en suspension, déposées sur une surface, ou dispersées dans une matrice, sans altérer la séquence de propriétés figurant le code qui permet de les identifier.

15 Dans les chaînes de particules selon l'invention, la cohésion entre les particules peut être assurée par des liens covalents, notamment établis directement ou non entre lesdites particules. En effet, ces liens peuvent également résulter d'un pontage à l'aide de molécules ou de macromolécules.

Plus généralement, ce lien covalent met en jeu des interactions spécifiques soit
20 directement entre lesdites particules soit entre les particules et des molécules ou macromolécules, via des fonctions réactives présentes à la surface de ces particules. Les fonctions réactives peuvent être des fonctions amine, carboxylique, alcool, aldéhyde, thiol, époxyde, hydrazine, des atomes d'halogène et/ou des doubles liaisons. Toutefois, la constitution et le maintien d'une organisation linéaire entre les particules peuvent
25 également mettre en jeu des interactions électrostatiques, hydrophobes ou de type Van der Waals. Ils peuvent également être obtenus par interpénétration entre des polymères initialement portés par des particules différentes.

Pour certaines applications, en particulier pour l'analyse d'espèces ou de fluides biologiques, il peut être intéressant que les chaînes de particules selon l'invention
30 portent en outre sur leur surface des molécules capables d'éviter des phénomènes d'adsorption non spécifiques. De telles molécules sont bien connues de l'homme de l'art. Il peut s'agir en particulier de polymères hydrophiles tels que le polyxyéthylène, le

polypropylène glycol, les polysaccharides et en particulier le dextrane ou encore le polyacrylamide, ou des polymères hydrophiles d'acrylamide, tels que le « Duramide », le poly-N-acryloylamino-propanol, le poly-N-acryloylaminoéthanol, l'alcool polyvinylique, la polyvinyl-pyrrolidone, le polydiméthylacrylamide ou les copolymères de diméthylacrylamide et d'allyl-glycidyl éther. De tels polymères peuvent être greffés sur la surface des particules soit au cours de la préparation desdites particules, soit après la formation desdites chaînes, en utilisant des fonctions réactives intégrées à la surface desdites particules, soit par adsorption directe.

La présence d'un lien entre les particules, de préférence irréversible, et dans tous les cas suffisant pour assurer la cohésion entre les dites particules pendant une durée suffisante pour l'utilisation qu'on voudra faire des assemblages selon l'invention, en l'absence d'un champ externe ou d'un canal confinant les dites particules, confère à l'invention des avantages significatifs, par exemple par rapport aux billes de l'art antérieur discutées précédemment. En effet, les assemblages selon l'invention s'avèrent parfaitement compatibles avec une utilisation tant en volume que dans un canal. Par ailleurs, si on choisit d'utiliser lesdits assemblages dans un microcanal, on peut dans le même microcanal mettre en œuvre un grand nombre de ces assemblages, ce qui est avantageux en termes de nombre d'analyses.

Selon une variante privilégiée, particulièrement intéressante pour l'analyse d'espèces, l'assemblage de particules selon l'invention peut en outre être porteur d'au moins un type de site(s) de reconnaissance pour une espèce.

Au sens de l'invention, on entend par espèces des molécules ou macromolécules, particules, atomes, ions, objets d'origine organique naturelle ou artificielle, tels que des acides nucléiques, des protéines, des enzymes, des anticorps, des antigènes, des peptides, des polypeptides, des haptènes, des polysaccharides, des protéoglycanes, des organelles, des virus, des cellules, des ensembles de cellules, des microorganismes et des colloïdes. Il peut également s'agir de nano- ou micro-particules d'origine naturelle ou artificielle, de molécules organiques ou organominérales, de drogues, de médicaments, de produits alimentaires, vétérinaires ou cosmétiques et de polluants.

Par site de reconnaissance, ou encore « sonde » on entend une molécule, un ion, un élément de surface, ou encore une portion spécifique d'une molécule ou d'un ion,

capable de donner lieu à une interaction attractive ou à une réaction chimique avec une espèce particulière ou une catégorie particulière d'espèces.

Les sites de reconnaissance présents sur les chaînes de particules selon l'invention peuvent également être choisis parmi des fonctions chimiques capables de reconnaître de façon spécifique d'autres espèces chimiques, par exemple en se liant à elles (comme, à titre d'exemple, des éthers couronnes capables de lier des métaux de transition ou réciproquement). Ils peuvent également être constitués par des ligands spécifiques de métaux, des empreintes moléculaires, des sites catalytiques, des groupements hydrophobes ou plus généralement les fonctionnalités utilisées en chromatographie pour donner à des colonnes une affinité spécifique pour certaines espèces. En particulier, les sites de reconnaissance, présents sur les assemblages et notamment les chaînes de particules selon l'invention, peuvent être choisis parmi les composés comprenant des fonctions chimiques aromatiques ou hétérocycliques, ou des sites capables de donner lieu à des liaisons hydrogène.

Plusieurs types distincts de sites de reconnaissance peuvent être présents au niveau d'un assemblage de particules conforme à l'invention et en particulier portés par une chaîne linéaire de particules constituant ou composant ledit assemblage. Cependant, dans la majorité des applications, un assemblage donné de particules selon l'invention porte un unique type de sites de reconnaissance, qui peut être identifié de façon univoque par le code constitué par la séquence de propriétés spécifiques portée par ailleurs par ledit assemblage. Ceci constitue un avantage déterminant pour l'analyse d'espèces. En effet, on peut préparer dans une solution un ensemble d'assemblages de particules selon l'invention, comprenant plusieurs sous-ensembles d'assemblages. Chaque sous-ensemble est caractérisé par un code particulier associé à une séquence spécifique de propriétés sur sa longueur et les assemblages constitutifs dudit sous-ensemble sont par ailleurs porteurs d'un type particulier de sondes. On peut ensuite mettre cet ensemble d'assemblages de particules, en présence d'un échantillon contenant un ensemble d'espèces (cibles), dont on veut savoir si elles interagissent avec les sondes. Grâce à la présence d'une multiplicité de chaînes microscopiques, on peut ainsi tester un échantillon vis à vis d'un grand nombre de sondes, comme dans les techniques dites de « puces à ADN », de « puces à protéines », ou de puces à ARN, ou plus généralement dans les techniques dites de « réseaux

d'hybridation », mais avec, comparativement à ces puces ou réseaux, les avantages suivants :

5 D'une part, comme les assemblages de particules selon l'invention occupent l'espace de façon tridimensionnelle, on peut travailler avec le même nombre moyen de sondes dans un volume beaucoup plus petit, ce qui permet de diminuer les besoins en échantillon et en réactifs, d'augmenter la concentration en cibles pour une quantité d'échantillon donné et donc d'augmenter la cinétique. La cinétique peut être encore augmentée du fait que les assemblages de particules selon l'invention peuvent être mis en suspension dans un liquide, et peuvent donc être agités plus efficacement que, par exemple, 10 des sondes fixées sur une surface.

On peut détecter la fixation d'une espèce cible sur une chaîne de particules selon l'invention, à l'aide d'une technique connue de l'homme de l'art, et en particulier par fluorescence, si on a préalablement marqué les cibles avec un marqueur fluorescent, ou par une réaction de chimioluminescence, ou encore par des propriétés d'absorption de lumière, 15 cette liste étant donnée à titre d'exemple et de façon non limitative. On peut ensuite identifier de façon univoque les sondes avec lesquelles a interagi une cible donnée, grâce à l'association univoque existant entre lesdites sondes et le code caractérisant l'assemblage de particules portant les dites sondes. Il existe de nombreuses façons d'éviter que cette détection de la fixation de cibles sur les chaînes selon l'invention ne vienne interférer avec 20 la reconnaissance du code :

Selon une variante privilégiée, on peut par exemple utiliser pour le codage et pour le marquage des cibles des marqueurs fluorescents ou luminescents émettant à des longueurs d'onde différentes ou avec des constantes de temps différentes, ou des marqueurs d'absorption de lumière absorbant à des longueurs d'onde différentes.

25 Selon une autre variante privilégiée, compatible avec la précédente, le code caractérisant la chaîne peut être porté par une certaine portion de la longueur des chaînes selon l'invention, les sondes étant portées par une autre portion. Plusieurs exemples de tels assemblages sont présentés dans la figure 2, où on voit :

Un premier assemblage, porteur du code AABBCDDAA et du site de reconnaissance V, un deuxième assemblage porteur du code BBAAAACCB et du site de reconnaissance T, et un troisième assemblage porteur du code BBBBDDAABB et du site de reconnaissance I 30

Bien entendu, pour des raisons de simplicité on a décrit ci-dessus seulement un certain nombre de variantes privilégiées dans lesquelles un seul type de sonde peut être associé de façon univoque à un seul code. Cependant, pour d'autres applications, et par exemple pour le développement de multiplexage, ou encore pour s'appuyer sur la redondance en vue de diminuer les incertitudes, on peut utiliser dans le cadre de l'invention une combinatoire plus complexe entre les sondes et les codes.

L'invention a également pour objet un ensemble d'assemblages de particules liées entre elles linéairement ou de façon ramifiée, composé de plusieurs sous-ensembles d'assemblage conformes à l'invention, les assemblages appartenant à un sous-ensemble donné étant porteurs d'un code déterminé spécifique audit sous-ensemble, notamment défini par une séquence spécifique de propriétés le long de leur longueur, et porteurs en outre d'au moins un type de site(s) de reconnaissance spécifique du dit sous-ensemble.

Un ensemble d'assemblage réunissant trois assemblages selon l'invention appartenant à trois sous-ensembles différents est illustré par la figure 2.

La présente invention a en outre pour objet un procédé pour préparer au moins un assemblage notamment linéaire de particules liées entre elles, présentant dans sa longueur une succession de propriétés prédéterminées constitutive d'un code spécifique, comprenant au moins les étapes consistant à :

A/ mettre en suspension dans un milieu notamment fluide, des particules appartenant à au moins deux sous-ensembles identifiables par au moins une propriété spécifique à chaque sous ensemble, et capables de se lier entre elles,

B/ activer au moins un moyen conduisant à leur organisation dans ledit milieu sous une forme essentiellement linéaire, et

C/ obtenir un pontage irréversible entre les particules pendant leur état d'alignement.

L'invention concerne également un procédé pour constituer au moins un assemblage de particules liées entre elles de façon linéaire, comprenant au moins les étapes consistant à :

A/ préparer un milieu fluide comportant des monomères capables de se lier par polymérisation ou polycondensation,

B/ mettre en suspension dans ledit milieu, des particules porteuses de fonctions capables de réagir avec les dits monomères,

C/ activer au moins un moyen conduisant à leur organisation dans ledit milieu sous une forme linéaire, et

D/ obtenir un pontage irréversible entre les particules pendant leur état d'alignement.

5 L'invention concerne aussi un assemblage de particules liées entre elles linéairement ou de façon ramifiée susceptible d'être obtenu par l'un des deux procédés décrits ci-dessus.

Comme précisé précédemment, les procédés selon l'invention peuvent comprendre une étape préliminaire comprenant l'introduction dans le milieu, de molécules
10 capables de se lier par polymérisation ou polycondensation entre elles et de réagir avec lesdites particules.

Selon cette variante, le milieu de départ peut comprendre en outre un système d'amorçage tel que la réaction de polymérisation ne soit pas terminée au moment de l'étape C mais donne lieu à un pontage entre les particules pendant leur maintien sous une
15 forme alignée. Selon une variante également privilégiée, le système d'amorçage est un couple redox.

Selon une variante privilégiée, les monomères sont du type acrylique. Parmi les monomères utilisables pour ponter les particules dans le cadre des procédés décrits ci-dessus, conviennent tout particulièrement l'acrylamide, les dérivés d'acrylamide portant
20 des fonctions acide et particulièrement l'acide acrylique, les dérivés d'acrylamide portant des fonctions amine et plus particulièrement le chlorhydrate de N-(3-aminopropyl)méthacrylamide, et les copolymères de ces différents monomères.

Selon une variante privilégiée des procédés décrits précédemment, ledit pontage est obtenu à l'aide d'un stimulus. Ce stimulus peut correspondre à un changement
25 de température, notamment une augmentation de température et/ou à une activation à l'aide de la lumière, d'un champ électrique, d'un champ magnétique, d'un champ électromagnétique, et/ou d'un rayonnement radioactif.

Dans le cas où l'amorçage est effectué par un champ électromagnétique, le milieu peut avantageusement contenir en plus des monomères un photoinitiateur tel que, à
30 titre d'exemple, l'AIBN (Azobis-isobutyronitryle), ou le bleu de méthylène. Par exemple, on pourra utiliser le bleu de méthylène en présence d'un système redox, comme décrit dans Righetti et Caglio, Electrophoresis, 1993, 14, 573.

Selon une variante privilégiée, les procédés décrits ci-dessus comportent en outre une étape visant à récupérer à l'issue de l'opération de pontage, ledit assemblage de particules sous forme linéaire.

Lorsque les particules sont des particules constituées pour tout ou partie de silice, on pourra avantageusement utiliser pour le pontage entre ces particules des monomères acryliques dans la solution, et fonctionnaliser la surface des particules avec des doubles liaisons, soit en utilisant des macromonomères à propriétés d'adsorption de surface, tels que par exemple des molécules de poly-diméthylacrylamide portant à leur extrémité une double liaison, soit en greffant sur la surface des dites particules un silane présentant une fonction polymérisable, tel que du 3-propylméthacrylate de triméthoxyxyle (Bind silane, Aldrich).

Lorsque les particules sont des particules de latex porteuses de fonctions amine, on pourra avantageusement utiliser dans la suspension de l'étape A, des monomères acryliques ou allyliques, additionnés éventuellement d'un couple amorceur redox et/ou d'un photoinitiateur et d'un photoactivateur, et activer préalablement les particules avec du N-hydroxysulfosuccinimide (sel de Sodium, Fluka), éventuellement additionné d'1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (sigma)).

Un procédé particulièrement intéressant pour préparer de grandes quantités ou encore une multiplicité d'assemblages de particules liées entre elles, lesdits assemblages présentant selon leur longueur une succession de propriétés prédéterminées selon l'invention, comprend au moins les étapes consistant à

A/ préparer dans un premier récipient des particules identifiables par au moins une propriété spécifique à ces particules, ou une composition comportant des particules et au moins un réactif permettant de conférer au cours du temps ou sous l'action d'un stimulus aux dites particules une telle propriété,

B/ préparer dans au moins un second récipient des particules identifiables par au moins une propriété spécifique, ou une composition comportant des particules et au moins un réactif permettant de conférer au cours du temps ou sous l'action d'un stimulus aux dites particules une telle propriété, la dite propriété étant différente de celle caractérisant les particules ou les réactifs contenus dans le premier récipient,

C/ introduire dans un microcanal, par au moins deux canaux d'arrivée distincts, les solutions préparées dans les étapes A et B, et éventuellement d'autres

solutions par d'autres canaux d'arrivée, de telle façon que lesdites solutions forment dans le canal principal des veines liquides essentiellement laminaires et parallèles,

D/ activer, au sein du dit canal, au moins un moyen induisant l'organisation des particules en chaînes linéaires,

5 E/ lier entre elles les particules dans leur état linéaire, et

F/ récupérer ledit assemblage ainsi obtenu.

Bien entendu, le procédé peut s'appliquer à un plus grand nombre de types de particules et à un plus grand nombre de canaux d'arrivée. La possibilité de pouvoir disposer de plusieurs modes de succession des particules définissant le code caractérisant
10 les assemblages, d'un plus grand nombre de types de particules et de canaux autorise une combinatoire plus complexe.

Selon une variante privilégiée, lesdits moyens comprennent un champ externe essentiellement perpendiculaire aux plans séparant les différentes veines liquides. Cette variante est particulièrement avantageuse, puisqu'elle permet d'obtenir directement le long
15 de la chaîne de particules, une séquence de propriétés, prédéterminée par les propriétés des particules ou des marqueurs contenus dans les différents liquides, utilisés pour constituer les différentes veines liquides dans le canal principal.

Selon une variante privilégiée, des procédés décrits ci-dessus, les moyens permettant d'organiser les particules en chaîne linéaire comprennent l'application d'un
20 champ électrique. Selon une autre variante privilégiée, lesdits moyens comprennent l'action d'un champ magnétique. Selon une troisième variante privilégiée, les dits moyens comprennent l'action d'un champ électromagnétique ou d'un rayonnement radioactif. Selon une quatrième variante privilégiée, lesdits moyens comprennent un écoulement hydrodynamique.

25 Selon une variante privilégiée, les particules sont magnétiques et lesdits moyens comprennent l'application d'un champ magnétique.

Selon une autre variante privilégiée, les particules sont diélectriques et lesdits moyens comprennent l'application d'un champ électrique. De préférence, ce champ électrique est alternatif, et de façon encore plus privilégiée de fréquence comprise entre
30 200 kHz et 5 MHz.

Pour aligner des particules diélectriques dans un champ électrique, il peut être également intéressant d'utiliser une suspension desdites particules dans un solvant

organique tel que, à simple titre d'exemple l'éthanol, le méthanol, l'acétonitrile, ou dans un mélange d'eau et d'un solvant organique miscible à l'eau. On obtient ainsi un milieu moins conducteur que l'eau, et on peut appliquer sans échauffement des champs électriques plus élevés ce qui facilite la mise en colonnes des particules.

5 Par analogie avec les procédés définis précédemment, l'étape E est généralement réalisée selon les protocoles proposés ci-dessus. En particulier, l'étape E vise à fixer de manière permanente les particules sous une forme linéaire.

Comme précisé précédemment, l'assemblage selon l'invention s'avère particulièrement avantageux pour marquer des objets, notamment des fluides ou des
10 matériaux. Ces assemblages constituent des systèmes de marquage efficaces à l'échelle microscopique porteurs d'un code extrêmement difficile à contrefaire.

La présente invention concerne donc également, selon un autre de ses aspects, un système de marquage pour objet, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un assemblage ou ensemble d'assemblages conformes à l'invention.

15 Comme il ressort de la description qui suit, ces objets peuvent être solides ou fluides, notamment liquides et de toute nature.

En ordonnant des particules portant ces marqueurs, dans un ordre prédéterminé, au sein d'assemblages selon l'invention, on peut constituer un code présentant un nombre extrêmement élevé de combinaisons (10 milliards avec seulement 10
20 marqueurs différents et 10 zones le long de l'assemblage), alors que les techniques de marquage classiques par fluorescence, ne présentent pour la même famille de marqueurs qu'un nombre beaucoup plus limité, en raison de la superposition des spectres. La possibilité de distinguer spatialement les différents types de marqueur est un avantage déterminant, qui peut être facilement mis à profit avec un microscope à épifluorescence, un
25 microscope confocal, ou des systèmes de type « scanneur ».

D'autre part, contrairement par exemple aux « codes barres », les chaînes de particules selon l'invention peuvent être très petites, typiquement de dimensions microscopiques. Ainsi, elles peuvent être dispersées au sein ou à la surface d'un matériau comme par exemple une matière plastique ou un papier, et permettre son identification
30 même après que l'objet ait été cassé ou même fondu. Ceci offre de nouveaux outils avantageux pour la traçabilité industrielle et alimentaire, le recyclage des déchets, les applications de police ou militaires, ou la prévention de contrefaçon.

De même, l'invention a également pour objet un procédé utile pour marquer un objet, notamment un fluide, ou un solide de type denrée ou un matériau, caractérisé en ce qu'il comprend l'association audit objet, d'au moins un assemblage linéaire ou ramifié de particules, présentant dans sa longueur une succession de propriétés prédéterminées portées par les particules, ladite succession étant constitutive d'un code spécifique audit assemblage. Plus précisément, ce procédé peut mettre en œuvre à titre de système de marquage, un assemblage ou un ensemble d'assemblages conformes à l'invention.

Le code figuré par ledit assemblage permet de différencier celui-ci vis-à-vis d'autres assemblages comportant soit d'autres propriétés soit le même ensemble propriétés mais avec celles-ci disposées dans un ordre de succession différent.

Cette association à l'objet à marquer peut être réalisée par dispersion dudit assemblage soit en surface soit au sein dudit objet.

Bien entendu, on peut également utiliser dans la mise en œuvre des assemblages selon l'invention, une multiplicité d'assemblages différents pour augmenter le nombre de combinaisons possibles, ou effectuer un codage selon plusieurs critères. Cependant, dans de nombreuses applications concernant le marquage, la combinatoire permise par les assemblages selon l'invention est suffisante pour autoriser l'utilisation d'un seul type d'assemblage par produit.

L'invention a également pour objet un procédé permettant la détection ou l'analyse des assemblages de particules tels que décrits précédemment, ainsi que la reconnaissance d'espèces par les dits assemblages.

Ces procédés peuvent mettre en œuvre divers moyens connus de l'homme de l'art. Selon une variante privilégiée, elle est effectuée par microscopie conventionnelle ou confocale, après dépôt des chaînes selon l'invention sur une surface. Selon une variante encore plus privilégiée, lesdites chaînes sont déposées en présence d'un écoulement ou par passage d'un ménisque, comme dans Bensimon et al, Phys Rev Lett. 1995, 74, 4754-4757. Elles sont ainsi toutes alignées dans la même direction, et ainsi plus faciles à analyser de façon automatique.

Selon une autre variante privilégiée, cette détection peut être effectuée par cytométrie en flux. Les assemblages et notamment les chaînes selon l'invention sont particulièrement intéressantes en combinaison avec la cytométrie en flux. En effet, d'une part le flux a tendance à aligner les chaînes, et d'autre part les différentes particules

constituant une chaîne, passent devant le détecteur de façon séquentielle. On dispose ainsi pour l'analyse d'une double information, à la fois sur les propriétés d'émission de lumière et sur la séquence temporelle de ces propriétés, ce qui constitue un avantage majeur par rapport aux techniques de l'art antérieur discutées précédemment.

5 La présente invention a également pour objet, selon un autre de ses aspects, un procédé pour analyser, identifier, doser, purifier ou préparer un échantillon, mettant en œuvre au moins une étape consistant à mettre ledit échantillon en contact avec au moins un assemblage de particules conforme à l'invention.

Optionnellement, ce procédé comprend en outre une étape de lavage au cours
10 de laquelle certains produits contenus dans l'échantillon sont éliminés et/ou au cours de laquelle certains produits sont récupérés.

L'invention a également pour objet, selon un autre de ses aspects, un procédé pour analyser l'interaction d'espèces contenues dans un échantillon vis à vis d'un multiplicité de sites de reconnaissance ou sondes, comprenant au moins les étapes
15 consistant à :

A/ mettre en présence ledit échantillon, avec un ensemble d'assemblages de particules liées entre elles linéairement ou de façon ramifiée, composé de plusieurs sous-ensembles, chaque sous-ensemble étant caractérisé par un code et par au moins un type de sites de reconnaissance qui lui sont spécifiques, et

20 B/ rechercher et éventuellement quantifier la fixation d'espèces sur au moins certains des dits sous-ensembles d'assemblages.

A titre d'exemple et de façon non limitative, les assemblages de particules selon l'invention, et les différents composants et dispositifs mettant en œuvre lesdits assemblages, peuvent être utilisés pour :

25 - le diagnostic in vivo ou in vitro,
- l'identification et /ou la préparation de molécules, de macromolécules, de particules, d'atomes, d'ions, d'objets d'origine naturelle ou artificielle tels que des acides nucléiques, des protéines, des enzymes, des anticorps, des peptides, des polypeptides, des polysaccharides, des protéoglycanes, des organelles, des cellules cancéreuses, des cellules
30 rares, des cellules épithéliales, des cellules endothéliales, des cellules foetales, des organismes génétiquement modifiés ou des produits issus d'organismes génétiquement modifiés, des organismes ou des agents pathogènes, des virus, des microorganismes ;

- l'identification et/ou la préparation de matières actives chimiques comme les produits toxiques, les drogues, les polluants; les médicaments, les suppléments alimentaires.

- 5
- la reconnaissance de variétés animales végétales ou microorganismes ;
 - la détection de mutations ;
 - la recherche d'allergies ;
 - le génotypage ;
 - la recherche de gènes impliqués dans des maladies ;
 - la recherche et /ou la préparation de produits de réactions issus de
- 10 protocoles de chimie combinatoire.

A titre d'exemple et de façon non limitative également, les assemblages de particules selon l'invention, peuvent être utilisés à des fins d'identification pour :

- marquer des produits industriels, stratégiques ou alimentaires, des emballages, des liquides, des matériaux, des matières plastiques, des papiers et cartons, des
- 15 armes, des véhicules à des fins de traçabilité, et pour pouvoir identifier a posteriori leur origine, et
- marquer des outils monétaires et fiduciaires tels que des billets de banque, des cartes de crédit ou des chèques, des documents officiels tels que des passeports, laissez-passer, cartes d'identité, des produits couverts par des marques et modèles ou des droits
- 20 d'auteur tels que des vêtements, des articles de maroquinerie, des supports audio ou audiovisuels tels que des CD ou DVD, afin d'identifier d'éventuelles contrefaçons.

Les exemples et figures qui suivent sont présentés à titre illustratif et non limitatif du domaine de l'invention.

25 **Figures**

Figure 1 : Variantes d'assemblages de particules selon l'invention.

1a : assemblage linéaire rigide, du type « collier de perles », porteur du code digital « ABBACAB » ;

1b : assemblage linéaire rigide, du type « colonne », porteur d'un code

30 combinant une information de propriété des particules et une information de longueur affectée à la dite propriété. Le code porté par cet exemple spécifique est

A(11)B(12)C(13)A(14), où 11, 12, 13 et 14 sont, respectivement, les longueurs sur lesquelles la chaîne est constituée de particules portant les propriétés A, B, C et A.

1c : assemblage du type « collier de perles », flexible.

1d : assemblage du type « collier de perles », semi-rigide.

- 5 1e : Assemblage du type « collier de perles », ramifié. L'assemblage particulier représenté porte le code digital ABC(AB)BAAB(CCA)CC, selon une notation dans laquelle la première parenthèse représente le code porté par une sous-chaîne portée par la troisième particule de la chaîne principale présentant la propriété C, et la deuxième parenthèse renferme le code porté par une seconde sous-chaîne, portée par la septième
- 10 particule de la chaîne principale, porteuse de la propriété B.

Figure 2 : Représentation schématique de trois assemblages de particules selon l'invention, combinant un code et un type de sites de reconnaissance pour une ou plusieurs espèces. On présente, de haut en bas : Un premier assemblage, porteur du code digital AABCCDDAA (ou du code global ABCDA) et du site de reconnaissance V, un

15 deuxième assemblage porteur du code digital BBAAAACCB (ou du code global BACB) et du site de reconnaissance T, et un troisième assemblage porteur du code BBBBDDAABB et du site de reconnaissance I

Figure 3 : Schéma de principe d'une cellule microfluidique pour la fabrication en grande quantité d'assemblages de particules porteuses d'un code particulier, à partir de

20 particules magnétiques porteuses des propriétés spécifiques A,B,C,D dans un ordre prédéterminé et d'un type de site de reconnaissance T.

Figures 4 et 5 : Différents assemblages de particules porteuses de propriétés spécifiques d'absorption et d'émission de fluorescence, préparées selon l'exemple 1 et visualisées selon l'exemple 2.

25

Exemple 1 :

Préparation de chaînes de particules magnétiques, porteuses d'un code constitué par une succession de différentes couleurs en fluorescence.

A/ Préliminairement, on sélectionne 100 microlitres d'une suspension

30 contenant 1% d'un échantillonnage de billes magnétiques fluorescentes porteuses de fonctions amines et présentant des propriétés de fluorescence prédéterminées : Dans cet exemple, est plus particulièrement choisi un mélange 1:1:1 de billes 2,6 µm, amino,

« yellow », ref PFAM-2052, 2, μm , amino, « pink », ref PFAM-2058, et 2,5 μm , amino, non fluorescentes, ref PMN-2,5 (Kisker GbR). Les billes sont lavées 5 fois avec du tampon phosphate 0,1 M à pH 7.3 en les sédimentant avec un séparateur magnétique (Dynal) et en les resuspendant dans le tampon. On resuspend les billes dans 100 microlitres d'une solution de tampon Phosphate de pH 7,3 à 0,1 M, contenant de l'EDC (1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (sigma)), à raison de 15 mg pour 10 ml et du S-NHS (N-hydroxysulfosuccinimide (sel de Sodium, Fluka)), à raison de 2,5 mg/10 ml, préparée immédiatement avant l'emploi. On agite vigoureusement et on laisse incubé, sous agitation douce, pendant une nuit à 4°C.

10 B/ on prépare par ailleurs une solution B, à 1% en poids d'acrylamide, dans un tampon phosphate à pH 7,3, qu'on dégaze pendant au moins 2 h.

C/ on sédimente les billes préparées en A, et on les resuspend dans 800 microlitres de solution B. La solution contenant les billes est dégazée pendant deux heures, en faisant buller de l'azote.

15 D/ on prépare par ailleurs une solution C, de persulfate d'ammonium à 10%, et une solution D, de TEMED à 10%

E/ on rajoute à 100 microlitres de la suspension préparée en C, rapidement, 14 microlitres de la solution C et 14 microlitres de la solution D. L'ensemble est agité vigoureusement.

20 F/ la solution correspondante est placée immédiatement dans une cellule à faces parallèles, dans laquelle on crée un champ magnétique, perpendiculaire aux faces de la cellule, d'au moins 20 mTesla.

G/ après une heure d'incubation, on interrompt le champ magnétique. On obtient un grand nombre d'assemblages linéaires de particules selon l'invention comme ceux présentés dans la figure 2, pontées par des polymères de polyacrylamide. Ils peuvent être observé comme décrit dans l'exemple 2, ou triés selon la séquence des couleurs pour un usage ultérieur, par cytométrie en flux.

Exemple 2 :

30 Observation et détermination du code d'assemblages de particules selon l'invention, préparés selon l'exemple 1.

Les assemblages sont déposés par sédimentation sur une lamelle de microscope, et observés en épifluorescence, dans un microscope inversé Zeiss Axiovert 100 équipé d'un objectif 100X à immersion, d'un dispositif d'épifluorescence et d'une caméra CCD intensifiée (LHESA), (les Ulis). On utilise deux conditions d'observation en
5 fluorescence : un jeu de filtres 09 de Carl Zeiss, avec excitation entre 450 et 490 nm (bleu), et émission au dessus de 512 nm (vert et au delà), et un jeu de filtres 15 de Carl Zeiss, avec excitation à 546 nm (vert) et émission au delà de 590 nm. On utilise également un éclairage en transmission qui permet de voir les particules indépendamment de leur fluorescence et qui peut être combiné à la fluorescence.

10 Les trois types de particules, non fluorescentes, « pink » et « yellow », sont visibles en transmission. Avec le jeu de filtres 09, les particules « yellow », dont c'est l'optimal d'absorption, sont brillantes, et les particules « pink », fluorescent plus faiblement. Enfin, avec le jeu de filtres 15, seules les particules « pink » sont visibles. Par souci de concision, on attribuera la lettre P aux particules « pink », la lettre Y aux
15 particules « yellow » et la lettre N aux particules non-fluorescentes.

Les figures 4a et 4b présentent le même assemblage, en transmission (4a) et avec le jeu de filtres 09 (4b). La figure 4a nous donne le nombre de particules, 6, et la figure 4b permet de distinguer aisément les deux particules Y, très brillantes à gauche, et les quatre particules faiblement brillantes, à droite : le code de cet assemblage est YYPPP.

20 Les figures 4c à 4d représentent un autre assemblage en transmission (4c), avec le filtre 09 (4d) et avec une combinaison du filtre 15 et de la transmission.

Sur les figures 4c et 4e, on compte aisément 7 particules. La figure 4e indique que seule la deuxième, en partant de la gauche, est P, et on voit sur 4d que la 3ème et la septième sont également D, puisqu'elle ne donne pas de signal sur 4e. Le code est donc
25 NPYNNNY.

Les figures 4f à 4h présentent un ensemble de deux assemblages présentant un code différent, en éclairage respectivement en transmission et filtre 15, en filtre 09 seul, et en transmission plus filtre 15. L'assemblage du haut présente 5 particules, et répond au code NNNPY, tandis que l'assemblage du bas comporte trois particules, et répond au code
30 NNP. (on peut noter à droite une particule isolée, du type N, et en bas une particule isolée, du type P, et constater qu'elles n'interfèrent pas avec l'analyse).

On voit ainsi qu'en combinant un nombre limité de conditions d'observation, on peut identifier sans ambiguïté le code d'un grand nombre d'assemblages selon l'invention. La même identification a également été effectuée, de façon encore plus facile, à l'aide d'une caméra couleur installée sur le microscope.

5

Exemple 3 :**Observation d'un assemblage du type ramifié.**

Les conditions sont identiques à celles de l'exemple 2, la figure 5d correspond à un éclairage en transmission, et la figure de droite à un éclairage avec le filtre O9.

10 L'assemblage présente une chaîne principale de 6 particules, et une ramification de deux particules portée par la troisième particule. Le code est NNN(YY)NNN. .

Exemple 4 :**Fabrication en série dans une cellule microfluidique**

15 Cet exemple décrit un mode de préparation d'assemblages de particules selon l'invention, porteurs d'un code et d'un type de sites de reconnaissance sur une zone distincte du code. Ce mode de préparation est tout particulièrement avantageux pour obtenir une grande quantité d'assemblages présentant tous le même code.

20 A/ on opère comme dans l'exemple 1 jusqu'à l'étape E, mais on prépare quatre récipients, contenant respectivement des billes magnétiques fluorescentes de type P, Y et N, et des billes magnétiques non fluorescentes porteuses de streptavidine PMSt-2.0 (kisker, Steinfurt). Les différents canaux d'arrivée 1, 2, 3, 4, 5, 10, sont connectés respectivement à un tube eppendorf contenant les solutions de particules Y,N,P,Y,P et streptavidine. L'autre différence avec l'exemple 1, est que la solution d'acrylamide
25 (solution B dans l'exemple 1) contient en outre du bleu de méthylène à la concentration de (100 µM) en présence d'un système redox (1 mM sodium toluène acide sulfinique, et 50 µM chlorure de diphenyliodonium (Fluka)),

30 B/ on connecte immédiatement chacun des récipients à un des canaux d'entrée (1-4) d'un système microfluidique tel que celui représenté dans la figure 3, préparé en PDMS selon Xia, Y. & Whitesides, G. M. Soft lithography. Angew. Chem. Int. Ed. 37, 550-575 (1998) et on induit un écoulement permanent du contenu de ces récipients sous forme d'une veine liquide laminaire dans le canal principal 12, vers le réservoir de

collection 14 en exerçant au dessus dudit réservoir une dépression. Un microscope inversé, identique à celui utilisé dans l'exemple 2, est avantageusement utilisé pour contrôler le bon déroulement des opérations et la formation des assemblages. Un champ magnétique essentiellement uniforme et perpendiculaire aux interfaces entre les veines liquides, d'au moins 10 mTESLA, est créé à l'aide d'un électroaimant dont les pièces polaires sont usinées de façon à ne pas créer de gradient de champ magnétique important dans le canal principal 12 et dans le conduit reliant le dit canal avec le réservoir de collection 14.

C/ une fois le régime permanent établi, le canal principal 12 est éclairé de façon intense par une lampe UV, afin d'induire la photopolymérisation rapide de l'acrylamide et le pontage des particules. On collecte ainsi dans le réservoir 14 des assemblages de particules selon l'invention, dont le code de couleurs est donné par l'ordre des couleurs des particules contenues dans les récipients reliés respectivement aux canaux 1 à 5, soit dans l'exemple proposé ici YNPYP (dans ce mode de réalisation, les veines liquides ne permettent pas de contrôler le nombre de particules de façon exacte, et on a donc recours à un codage du type « global »). La présence de streptavidine sur la zone supérieure des particules est aisément vérifiée en incubant les particules avec de la biotine fluorescente (Molecular Probes).

D/ en répétant l'opération en intervertissant les récipients, et en changeant le réservoir de collection 14, on peut ainsi obtenir un grand nombre d'assemblages de particules selon l'invention, sans avoir à recourir à un tri après leur synthèse.

REVENDICATIONS

1. Assemblage de particules liées entre elles linéairement ou de façon ramifiée, caractérisé en ce que lesdites particules appartiennent à au moins deux sous-ensembles identifiables par au moins une propriété spécifique à chaque sous-ensemble, et se succèdent selon une séquence prédéterminée constitutive d'un code spécifique.

2. Assemblage selon la revendication 1, caractérisé en ce que les particules sont liées entre elles de façon permanente et sous une forme linéaire.

3. Assemblage selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est flexible ou semi-rigide.

4. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les particules sont sous forme essentiellement sphérique.

5. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il présente un diamètre moyen variant de 10 nm à 1 mm, notamment de 10 nm à 100 μ m, en particulier de 100 nm à 5 μ m et une longueur variant de 200 nm à 5 mm notamment de 200 nm à 500 μ m, et en particulier de 1 μ m à 100 μ m.

6. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il présente une densité inférieure à 2, en particulier inférieure à 1,6, et plus particulièrement variant de 0,7 à 1,4.

7. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les dites particules sont liées entre elles par des liens covalents.

8. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les particules sont liées entre elles par pontage à l'aide de molécules ou macromolécules.

9. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les dites particules sont des particules diélectriques ou magnétiques.

10. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les particules sont de nature organiques, minérales ou organominérales.

11. Assemblage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les propriétés détenues par les particules sont des propriétés d'interaction avec un rayonnement électromagnétique, des propriétés optiques de type

émission de fluorescence et/ou de luminescence ou des propriétés concernant le spectre d'absorption de lumière.

12. Assemblage de particules selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il est en outre porteur d'au moins un type de site(s) de reconnaissance pour une espèce.

13. Ensemble d'assemblages de particules liées entre elles linéairement ou de façon ramifiée composé de plusieurs sous-ensembles d'assemblages selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, lesdits assemblages appartenant à un sous-ensemble donné étant porteurs à la fois d'au moins un type de site(s) de reconnaissance spécifique audit sous-ensemble et d'un code déterminé également spécifique audit sous-ensemble.

14. Procédé utile pour préparer au moins un assemblage de particules liées entre elles, ledit assemblage présentant dans sa longueur une succession de propriétés prédéterminées constitutive d'un code spécifique, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes consistant à :

A/ mettre en suspension dans un milieu, des particules appartenant à au moins deux sous-ensembles identifiables par au moins une propriété spécifique à chaque sous ensemble, et capables de se lier entre elles,

B/ activer au moins un moyen conduisant à l'organisation desdites particules au sein dudit milieu sous une forme linéaire, et

C/ obtenir un pontage irréversible entre les particules pendant leur état d'alignement.

15. Procédé utile pour constituer au moins un assemblage de particules liées entre elles de façon linéaire, comprenant au moins les étapes consistant à :

A/ préparer un milieu fluide comportant des monomères capables de se lier par polymérisation ou polycondensation,

B/ mettre en suspension dans ledit milieu, des particules elles-mêmes porteuses de fonctions capables de réagir avec les dits monomères,

C/ activer au moins un moyen conduisant à l'organisation desdites particules au sein dudit milieu, sous une forme linéaire et

D/ obtenir un pontage irréversible entre les particules pendant leur état d'alignement.

16. Procédé utile pour préparer une multiplicité d'assemblages de particules liées entre elles, lesdits assemblages présentant selon leur longueur une succession de propriétés prédéterminées, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes consistant à :

5 A/ préparer dans un premier récipient des particules identifiables par au moins une propriété spécifique à ces particules, ou une composition comportant des particules et au moins un réactif permettant de conférer au cours du temps ou sous l'action d'un stimulus aux dites particules une telle propriété,

10 B/ préparer dans au moins un second récipient des particules identifiables par au moins une propriété spécifique, ou une composition comportant des particules et au moins un réactif permettant de conférer au cours du temps ou sous l'action d'un stimulus aux dites particules une telle propriété, la dite propriété étant différente de celle caractérisant les particules ou les réactifs contenus dans le premier récipient,

15 C/ introduire dans un microcanal, par au moins deux canaux d'arrivée distincts, les solutions préparées dans les étapes A et B, et éventuellement d'autres solutions par d'autres canaux d'arrivée, de telle façon que les dites solutions forment, dans le canal principal des veines liquides essentiellement laminaires et parallèles,

D/ activer, au sein du dit canal, au moins un moyen induisant l'organisation des dites particules sous une forme linéaire,

20 E/ lier entre elles les particules dans leur état linéaire, et

F/ récupérer lesdits assemblages ainsi obtenus.

17. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, caractérisé en ce que lesdites particules sont telles que définies aux revendications 9 à 11.

25 18. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 17, caractérisé en ce que les assemblages sont tels que définis aux revendications 1 à 12.

30 19. Procédé selon l'une des revendications 14 à 18, caractérisé en ce que les dites particules se lient entre elles directement ou par le biais d'un agent de couplage, en réponse à un stimulus correspondant à un changement de température et/ou l'action de la lumière, d'un champ électrique, d'un champ magnétique, d'un champ électromagnétique, et/ou d'un rayonnement radioactif.

20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 ou 16 et 17 à 19, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape préliminaire comprenant

l'introduction dans le milieu de molécules capables de se lier par polymérisation ou polycondensation entre elles et de réagir avec lesdites particules.

21. Procédé selon la revendication 16 ou 20, caractérisé en ce que lesdites molécules sont des monomères de type acrylique.

5 22. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 21, caractérisé en ce que les moyens induisant l'organisation des dites particules sous une forme linéaire sont choisis parmi un champ magnétique et un champ électrique.

23. Système de marquage pour objet, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un assemblage selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou un ensemble
10 d'assemblages selon la revendication 13.

24. Procédé utile pour marquer un objet, caractérisé en ce qu'il comprend au moins une étape consistant à associer audit objet, au moins un assemblage de particules selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou un ensemble d'assemblages selon la revendication 13.

15 25. Procédé pour analyser, identifier, doser, purifier ou préparer un échantillon, mettant en œuvre au moins une étape consistant à mettre ledit échantillon en contact avec au moins un assemblage de particules selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, ou un ensemble d'assemblages selon la revendication 13.

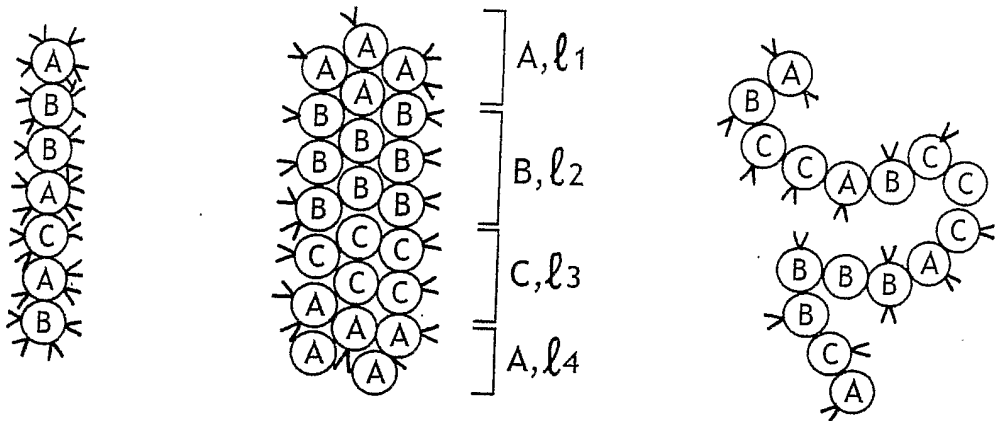
20 26. Procédé pour analyser l'interaction d'espèces contenues dans un échantillon vis à vis d'une multiplicité de sites de reconnaissance ou sondes, comprenant au moins les étapes consistant à :

A/ mettre en présence le dit échantillon avec un ensemble d'assemblages selon la revendication 13, et

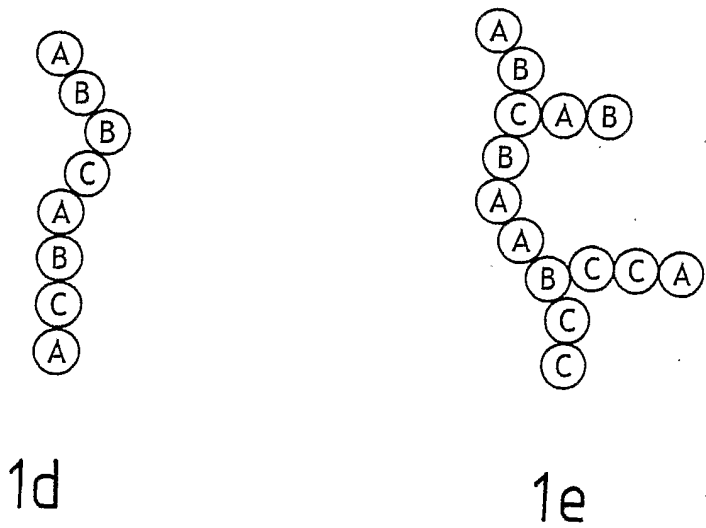
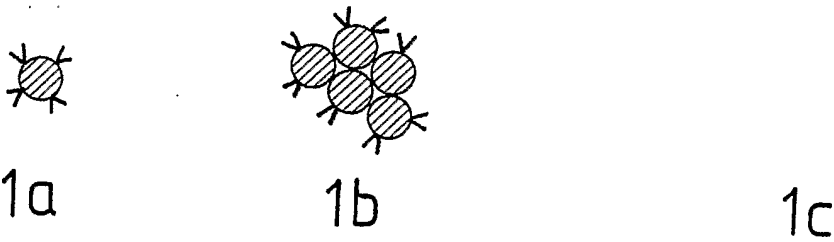
25 B/ rechercher et éventuellement quantifier la fixation d'espèces sur au moins un des dits sous-ensembles d'assemblages identifiés par leur code.

FIG.1

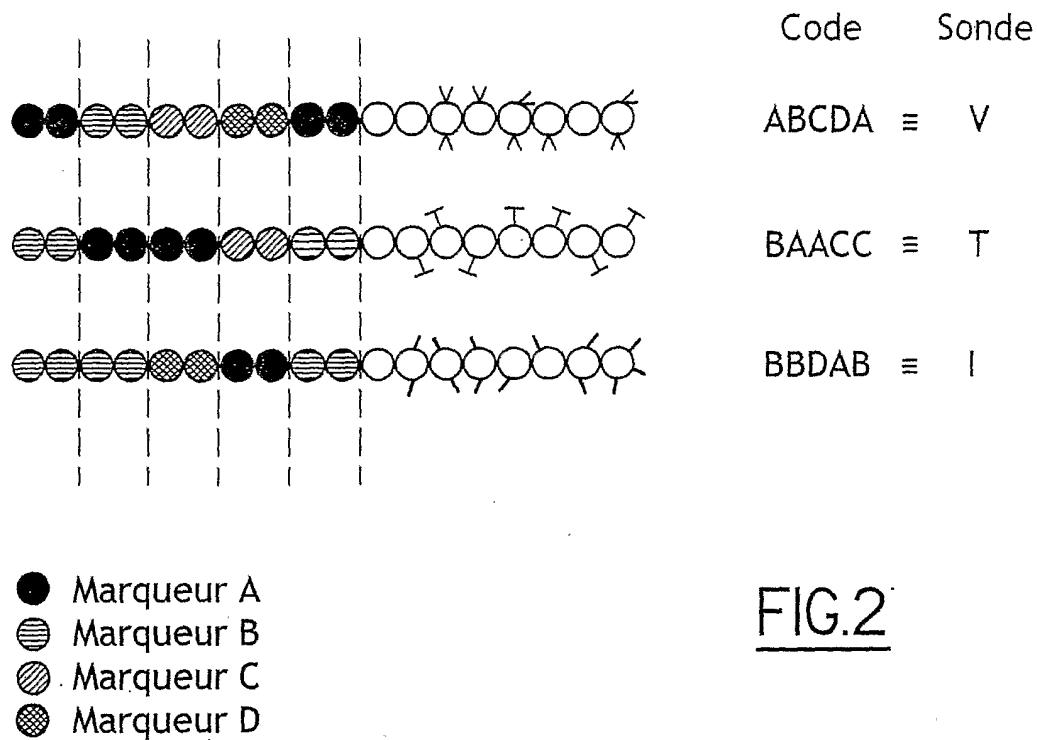
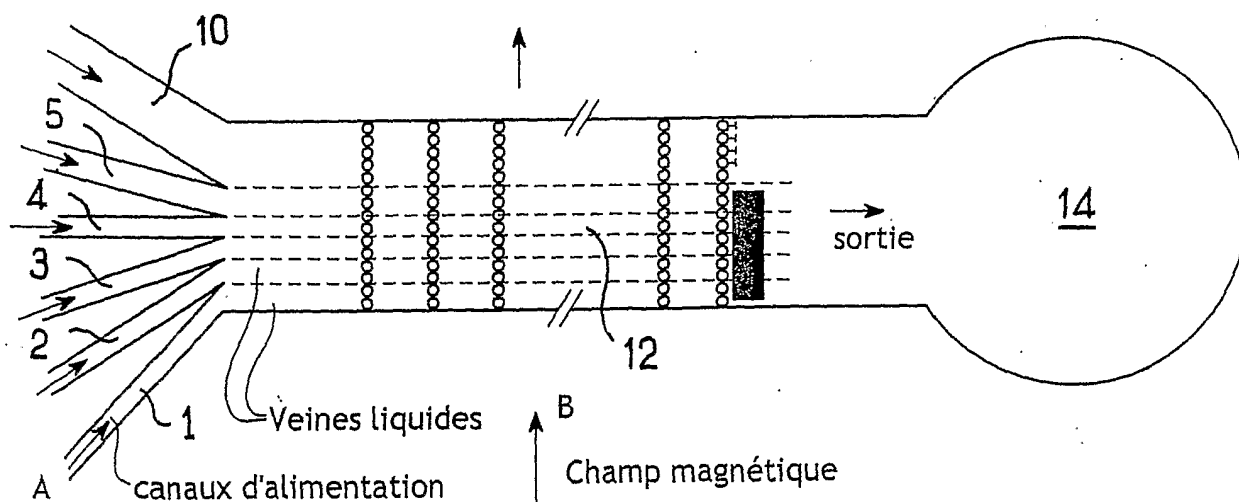
Vue latérale



Coupe

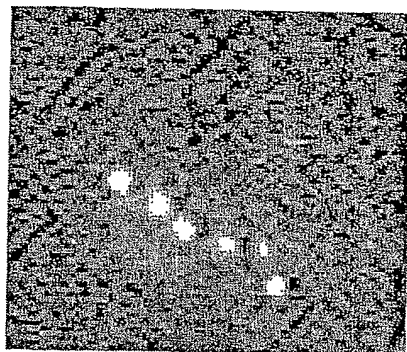


2 / 4

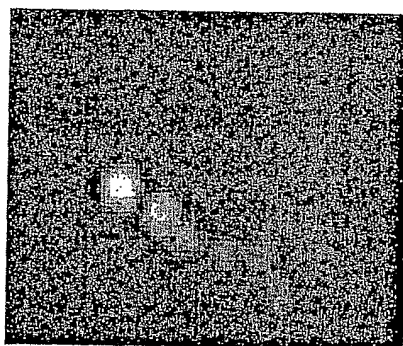
FIG.2FIG.3

3 / 4

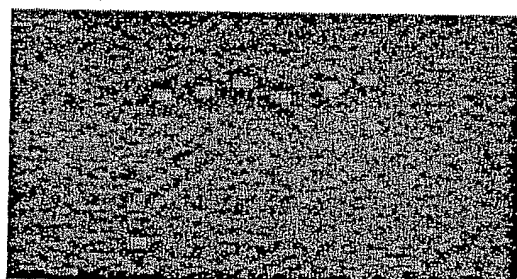
FIG. 4



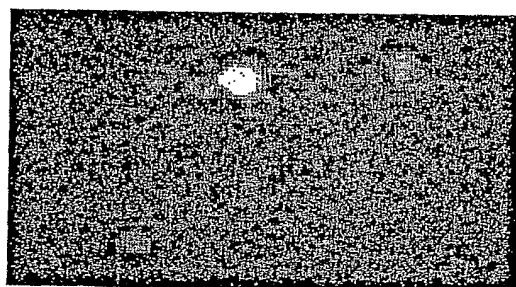
4a



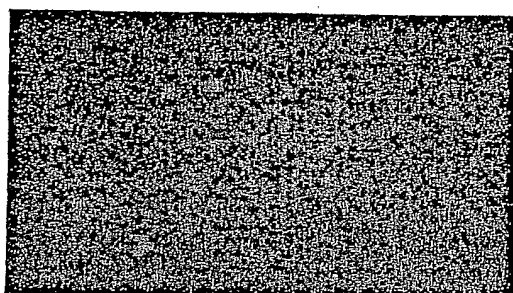
4b



4c

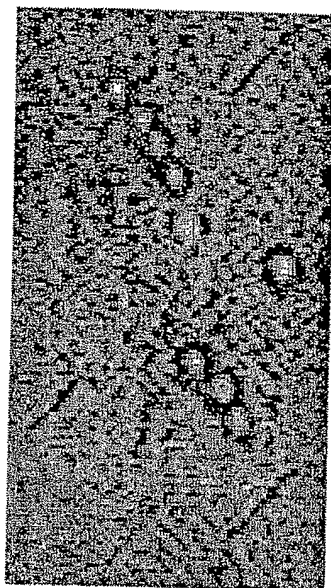


4d

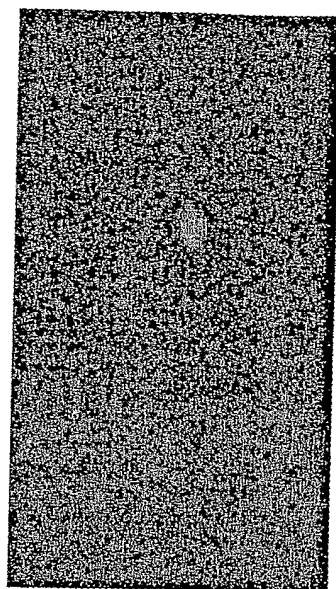


4e

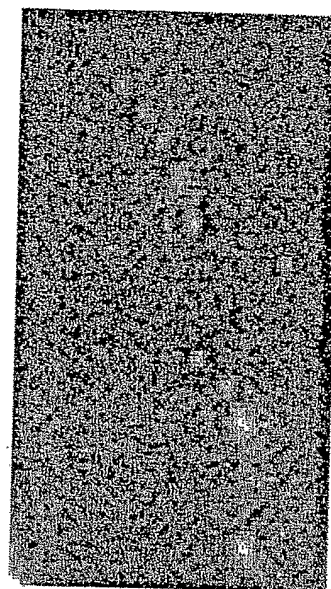
4 / 4



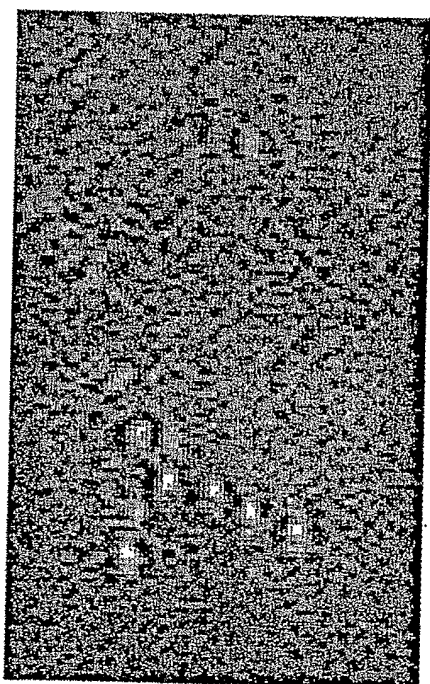
5a



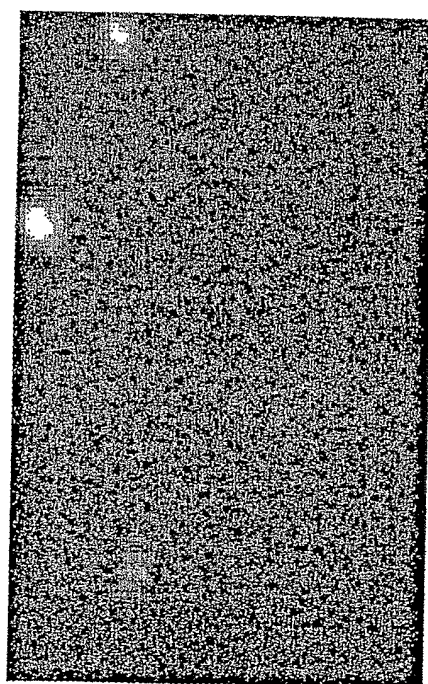
5b



5c



5d



5e

FIG. 5