

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/37043> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Markešević, Nemanja

Title: Optical properties of DNA-hosted silver clusters

Issue Date: 2015-12-16

Samenvatting

Het onderzoeksgebied nanotechnologie kreeg een enorme impuls op het moment dat ontdekt werd dat DNA kon worden geprogrammeerd voor taken verschillend van de functies die in levende cellen plaatsvinden. Vanaf dat moment was DNA meer dan slechts een molecuul dat verantwoordelijk is voor de overdracht van genetische informatie van de ene generatie van organismen naar de volgende. Het werd een bouwsteen voor uitgebreide programmeerbare structuren, een drager van medicijnen, een mechanisme voor accurate afstandsbevestigingen, en een dynamisch systeem dat op afroep van vorm en functie kan veranderen. De complementaire binding tussen DNA baseparen, de mogelijke chemische aanpassingen van de DNA-strengen, en het bevestigen van organische kleurstoffen en eiwitten zijn slechts enkele voorbeelden van de eigenschappen die er voor zorgen dat DNA nanotechnologie een zeer dynamische wetenschapstak is.

Dit proefschrift richt zich op kleine zilverclusters (typisch bestaand uit 10-20 atomen) die gestabiliseerd worden door korte DNA-strengen. Deze door DNA gebonden zilverclusters (Ag:DNAs) zitten in het overgangsgebied tussen individuele zilveratomen en grote zilverdeeltjes met plasmonische eigenschappen. De volgorde van de DNA baseparen, die de zilverclusters stabiliseren, bepalen ook hun grootte en vorm. Hierdoor worden ook de absorptie- en emissie-eigenschappen van de clusters bepaald door de basenvolgorde. De emissiegolflengte kan aangepast worden over een bereik van 400-900 nm. Omvat door DNA, worden deze fluorescerende nanodeeltjes veel gebruikt voor de detectie van zware ionen en mutaties van enkele basen in DNA, maar ook als bio-markers voor het afbeelden van cellen.

Sinds hun ontdekking zijn Ag:DNAs intensief onderzocht, en zijn het onderzoeksgebied en de toepassingsmogelijkheden zeer uitgebreid. In dit proefschrift leggen wij de nadruk op fundamentele vraagstukken gerelateerd

aan hun structuur en vorm, de optische eigenschappen, en de temperatuurbestendigheid. Om dit te onderzoeken maken wij gebruik van verscheidene experimentele technieken, zoals UV-spectrografie, fluorescentiespectroscopie, cryogene spectroscopie- en polarisatiemetingen, en tijds-opgeloste metingen bij kamertemperatuur.

In het algemeen kunnen metingen van een verzameling van emitters iets leren over de gemiddelde eigenschappen van de verzameling. In veel gevallen is dit voldoende, maar voor veel fundamentele en praktische vraagstukken is het essentieel om individuele emitters te onderzoeken. In dat geval kan extra informatie achterhaald worden die tijdens het middelen over de verzameling verloren gaat.

Gedemobiliseerd in polyvinylalcohol (PVA) worden de emitters gekoeld tot cryogene temperaturen (1.7 K). Ten eerste observeren wij dat de emissie-intensiteit toeneemt als de temperatuur afneemt. Ten tweede, hun excitatie- en emissiespectra blijken erg breed te zijn ondanks het feit dat de vibrationele vrijheidsgraden van de omgeving onderdrukt worden. Gebaseerd op de experimentele resultaten en daaropvolgende theoretische voorspellingen, concluderen wij dat Ag:DNAs zich gedragen als plasmonische deeltjes ondanks het bescheiden aantal elektronen dat deelneemt in de optische processen.

Verder hebben wij polarisatiemetingen verricht op de gedemobiliseerde emitters. Deze resultaten laten zien dat de emissie sterk lineair gepolariseerd is, terwijl de excitatie niet sterk afhankelijk is van de polarisatie van het excitatielicht. Onze polarisatiemicroscopiestudie bewijst dat Ag:DNAs zich anders gedragen dan het karakteristieke gedrag van moleculaire of metaalachtige nano-deeltjes. Gezuiverde en ongezuiverde monsters van Ag:DNAs hebben vergelijkbare resultaten laten zien.

De complementariteit van DNA-strengen zorgt ervoor dat vooraf geprogrammeerde DNA oligonucleotidestrengen op gecontroleerde wijze aan elkaar binden. Hierdoor vormen korte strengen micrometerlange structuren met een geprogrammeerde periodiciteit en functionaliteit.

Het feit dat vijf verschillende soorten DNA strengen grotere structuren kunnen vormen is gebruikt om DNA tegels en nano-buisjes met DNA lussen (DX tubes) te vormen, welke zilverclusters kunnen stabiliseren. Wij onderzoeken de optische eigenschappen en de thermische stabiliteit van de emitters die op de tegels en buisjes binden, en vergelijken deze met vrije emitters in een oplossing. Vrije emitters in een oplossing vallen uit elkaar bij ver-

hoogde temperaturen, terwijl de emitters die gevormd worden op de tegels en buisjes beter temperatuurbestendig zijn. Deze laten zelfs een toename van de fluorescentie zien bij hogere temperaturen welke wij toeschrijven aan een reorganisatie van de zilverclusters in de haarspeldstructuren. De verandering van de absorptiespectra na het opwarmen suggereert dat nieuwe emitters van eenzelfde soort gevormd zijn.

DNA buisjes maken het mogelijk om heel precies Ag:DNAs op vooraf bepaalde posities te positioneren. Tien verschillende zorgvuldig geprogrammeerde oligonucleotides vormen HX buisjes met enkel-strengs uitsteeksels, welke als 'bindplaats' voor zilverdeeltjes fungeren. In dit geval is de minimale afstand tussen de bindingsplaatsen 7.1 nm. Gezuiverde Ag:DNAs met linkers (een onderdeel van de oligonucleotide dat niet deelneemt aan de clusterformatie) binden complementair aan de bindingsplaatsen en laderen zo de DNA buisjes. Ons idee is dat nabijgelegen emitters met elkaar een interactie zullen hebben die gedetecteerd kan worden door middel van een verandering van de fluorescentielevensduur. Individuele Ag:DNAs gedomobiliseerd in PVA worden gebruikt als referentie en laten een enkelvoudig exponentieel verval zien. De levensduur verandert slechts lichtjes tijdens de blootstellingsperiode. Fluorescentieverval van emitters die met een hoge dichtheid gedeponeerd zijn en de emitters op de DNA buisjes laten echter bij benadering een dubbel exponentieel verval zien. De waarde van de lange levensduur is vergelijkbaar met het geval van individuele emitters, terwijl de kortere levensduur wordt toegeschreven aan de interactie tussen de emitters.

Niet alleen kunnen zij Ag:DNAs stabiliseren, maar de HX buisjes zijn ook een uitstekend raamwerk voor de organisatie van colloïdale deeltjes wiens diameter twee ordegroottes groter is dan de diameter van de buisjes. Superparamagnetische colloïdale deeltjes vormen strengen in een magneetveld. Deze strengen zijn instabiel en thermische beweging breekt hen. Echter, colloïdale deeltjes waaraan korte DNA strengen zijn toegevoegd die complementair zijn aan de bindingsplaatsen op de HX buisjes, kunnen stabiele strengen vormen in een magneetveld. Deze werken als het ware als nanolijm en maken het systeem stabiel zelfs in afwezigheid van een magnetisch veld. De structuren zijn erg flexibel en maken daardoor de weg vrij voor toepassingen.

Samenvattend, in dit proefschrift presenteren wij de eerste gedetailleerde analyse van de spectrale en polarisatie eigenschappen van individuele

Ag:DNAs. Ons werk laat zien dat DNA aan de eisen voldoet van de moderne wetenschap en technologie om DNA structuren op grote schaal en met nanometer precisie te fabriceren.