



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Association morphologies of amphiphilic polyelectrolyte diblock copolymers

Korobko, Alexander Viktorovitch

Citation

Korobko, A. V. (2006, December 12). *Association morphologies of amphiphilic polyelectrolyte diblock copolymers*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/5568>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/5568>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

Dit proefschrift bevat een gedetailleerde studie naar structuurvorming in systemen met een relatief lage concentratie polyelectrolyt twee-blok copolymeren. De copolymeren bestaan uit twee chemisch aan elkaar verbonden stukken met ieder een specifieke lading en chemische compositie. Afhankelijk van de concentratie ontstaan na toevoeging van dit copolymeer aan een oplosmiddel spontaan druppels (micellen), met een kern en een corona, of blaasjes (vesicles) waarin binnen- en buitenkant van elkaar zijn afgesloten door een (geladen) membraan. Hoewel de structuren in deze twee hoofdklassen uiteenvallen, kunnen de details binnen een klasse (op het moleculaire niveau) nogal verschillen. Mijn onderzoek is erop gericht de factoren die dit detail bepalen beter te begrijpen en, waar mogelijk, deze kennis te gebruiken in biotechnologische toepassingen.

De invloed van de experimentele condities op de interne structuur van de druppels (micellen) is als eerste onderzocht. In het algemeen leiden oplopende pakkingsfracties tot een reductie in volume. Deze reductie, die weliswaar bescheiden blijft, is onafhankelijk van de specifieke lading van de corona en de ionische sterkte van het omringende medium. Een aantal andere factoren kunnen als oorzaak worden aangemerkt: de wisselwerking tussen verschillende druppels, hogere opname van de tegenionen, en/of de zogenaamde Donnan zout-partitionering tussen de buitenste delen van de corona en het omringende medium (in alle gevallen is de functionaliteit dankzij de glasachtige kern gelijk). Om de eventuele oorzaken van elkaar te onderscheiden is een aantal zaken nader onderzocht. Allereerst vonden we dat de ketenstatistiek in de corona grotendeels onafhankelijk is van de wisselwerking tussen de druppels. In de afwezigheid van zout zijn de coranaketens met voldoende hoge lading bijna geheel uitgestrekt. Voor lage ladingen zijn de ketens opgerold, en kan men aan de structuurfactor afleiden dat de lading zich vooral aan de buitenkant van de druppels bevindt. De oorzaak hiervan is een recombinatie/dissociatie evenwicht van het

zwakke polyzuur. Voor een overmaat aan zout is de afname in monomeren-dichtheid (als functie van de straal) gelijk aan die van stervormige vertakte polymeren. Dit geldt voor het gehele concentratie-gebied. De tegen-ionen zelf zijn sterk gecorreleerd met de corona-vormende ketensegmenten en hebben hetzelfde radiële dichtheidsprofiel, onafhankelijk van de specifieke pakkingsfractie. De gebruikte experimentele methoden staan ons niet toe te bepalen of tegen-ionen effectief twee-dimensionaal rondom de gestrekte coronaketens zijn geordend of drie-dimensionaal gecondenseerd zijn in de gehele corona. Het feit dat de tegen-ionen zich in de corona bevinden, resulteert in druppels met een relatief kleine netto lading.

Deze bevindingen hebben een aantal gevolgen. Doordat de specifieke lading in de corona er tot op zekere hoogte niet toe doet (hij wordt afgeschermd door absorptie van tegen-ionen) kunnen de druppels voldoende goed beschreven worden door een model met harde bollen. Uit een analyse van de vorm en oplossing structuurfactoren in beide systemen concluderen we dat, in afwezigheid van zout, de corona's van voldoende geladen druppels elkaar penetreren boven een bepaalde druppel-concentratie. Deze kritische concentratie komt overeen met een druppel-volumefractie van 0.53 ± 0.02 ; een waarde die ook geldt voor hogere pakkingsfracties. Voor een lagere lading van de corona treedt interpenetratie (overlap van corona's) alleen op voor hogere (gewichts) concentraties. De interpenetratie heeft ook invloed op het rheologisch gedrag van deze vloeistoffen. Een voorbeeld is het gedrag van een zoutvrije oplossing met druppels waarvan de corona voor 50% geladen is. De viscositeit in deze oplossing neemt significant (drie orden van grootte) toe wanneer de concentratie boven de kritische waarde stijgt. Bovendien wijst het schalingsgedrag van de dynamische moduli op de formatie van netwerken, dwz het geheel gedraagt zich als een fysische gel. Echter, in oplossingen met een overmaat van zout, dwz waarin de corona veel minder uitrekt, is de viscositeit gelijk aan die van de vloeistof zelf. We concluderen dat de penetratie van corona's een bepalende factor is voor het rheologische gedrag.

Hetzelfde copolymeer materiaal wordt ook gebruikt om grotere, blaasvormige structuren te maken, de zogenaamde vesicles. Hierin wordt het membraan gestabiliseerd door het samengaan van cationische copolymeren met het tegengesteld geladen polyelectrolyt en het, door de kwaliteit van het oplosmiddel veroorzaakte, opvouwen van het hydrofobe blok. De bereidingsmethode maakt gebruik van een enkele emulsificatie stap. Dit deel van het onderzoek was gericht op het gebruik van deze blaasjes in biotechnologische toepassingen.

We hebben laten zien dat we met behulp van deze techniek in staat zijn tot efficiënte inkapseling en minimaal tienvoudige volumereductie van een kort DNA

fragment (150 base paren). Het voordeel van deze techniek is dat er a) geen beperking is aan het moleculaire gewicht van het in te pakken DNA, en b) geen gebruik wordt gemaakt van bestaande deeltjes om het materiaal op neer te slaan, omdat het zich al in de emulsie-druppels bevindt voordat het membraan is gevormd. Een ander en aantrekkelijk voordeel is dat de grootte van de blaasjes gereguleerd kan worden tijdens de emulsificatie procedure, door de grootte van de emulsie-druppels te variëren. Ten gevolge van de volume-reductie in het blaasje wordt het DNA sterk samengedrukt en neemt de vorm aan van een vloeibaar kristal. Dit vloeibare kristal vertoont het karakteristieke dubbelbrekende verstrooiing onder een microscoop met gepolariseerd licht. Uit de concentratie kunnen we de afstand tussen DNA-moleculen bepalen als 3.3 nm, in overeenstemming met andere gemeten waarden voor gecondenseerd DNA en DNA in de kop van fagen. We hebben ook laten zien dat de synthetische membranen gemakkelijk kleine moleculen doorlaten, zoals fluoriserende moleculen, in experimenten met fluoriserend licht. Bovendien vormen deze membranen geen barrière voor ionen. Zeer hoge zout concentraties kunnen derhalve worden gebruikt voor het vrijmaken van het DNA uit de blaasjes.

Als voorbeeld van een biotechnologische toepassing, hebben we het synthetische blaasje gebruikt voor het vervoer en het bezorgen van plasmide DNA in in-vitro gecultiveerde HeLa kankercellen. In dergelijke experimenten groeien de cellen op een glasplaat. Op het glas is materiaal geïmmobiliseerd waarmee de functie van het DNA (en daarmee de aanwezigheid in de cel) kan worden aangetoond. Deze methode verschilt van de klassieke methoden waarin het DNA wordt toegevoegd aan drie-dimensionale clusters van cellen. Potentiële voordelen zijn meervoudig: deze nieuwe techniek is bruikbaar voor grote hoeveelheden en uiteenlopende soorten DNA, er is controle op de afgifte, het blaasje beschermt de inhoud tegen nucleasen die door de cellen worden gemaakt en er bestaat een mogelijkheid om het blaasje specifieke cellen binnen te laten dringen door functionele groepen te plaatsen aan de buitenkant. We denken bovendien dat deze techniek, vanwege de eenvoudige en efficiënte neerslag op een glazen ondergrond en de controle op de functionaliteit, waardevol kan zijn voor de verdere ontwikkeling van geautomatiseerde technieken waarmee de relatie tussen DNA en functie kan worden onderzocht.

Onze inkapselingsprocedure is geenszins beperkt tot DNA. Hij kan ook worden toegepast voor de inkapseling van andere (bio)polymeren met lading. Om dit te bewijzen, hebben we een zgn “inverse” systeem geprepareerd: capsules van cationisch poly(ethylene imine) ingekapseld door een anionisch poly(styrene-*b*-acrylic acid) copolymeer. Het copolymeer maakt hierin deel uit van het membraan; de chemische

compositie en moleculair gewicht ervan bepaalt daarom mede de stabiliteit en de functionaliteit van het blaasje, en moeten voor de toepassing worden geoptimaliseerd. Een veelbelovende oplossing voor de stabiliteitskwestie bestaat uit het creëren van een netwerk (het verbinden van de ketens door polymerisatie) in het membraan. Andere veelbelovende voordelen van deze techniek zijn de eigenschappen die kunnen worden verkregen door de juiste keuze van het polymeer. Hierbij kan men denken aan de mogelijkheid tot beheersbaarheid van de bio-afbreekbaarheid en weefsel-specifieke aanpassingen.