Universiteit Leiden
The Netherlands

Optoplasmonic detection of single particles and molecules in motion

Asgari, N.

Citation
Asgari, N. (2023, November 28). *Optoplasmonic detection of single particles and molecules in motion*. *Casimir PhD Series*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/3665158

Version:	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/1887/3665158

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

Samenvatting

Het detecteren van nanoscopische objecten speelt vooral in de nanowetenschap een belangrijke rol en specifiek het snelgroeiende vakgebied van de nanobiologie. De voorloper van de moderne superresolutiemicroscopie voor onderzoek van één molecuul, is fluorescentiemicroscopie. Fluorescentie als contrastmechanisme brengt echter verschillende beperkingen met zich mee. Deze omvatten (1) het gebruik van het label zelf, wat artefacten bij de interpretatie kan introduceren, (2) de beperkte foto-emissie budget veroorzaakt door fotobleken en fotoknipperen, evenals (3) de lage bandbreedte van de emissie. Fluorescentie-vrije alternatieven zijn dus zeer wenselijk om deze beperkingen te overwinnen. Optische detectie van individuele eiwitten met hoge bandbreedte is veelbelovend voor het begrijpen van belangrijke biologische processen op nanoschaal en korte tijdschaal. In dit proefschrift onderzoeken we labelvrije optoplasmonische detectie van afzonderlijke eiwitten en deeltjes in beweging. Het analyseren van de gegevens levert informatie op over het hydrodynamische volume van de partikel en interacties zoals binding evenements.

Optoplasmonische biodetectie test gewoonlijk de respons van plasmonische nanostructuren op veranderingen in hun diëlektrisch omgeving. Het nauwkeurig detecteren van entiteiten op de nanoschaal, zoals virusdeeltjes en eiwitten, vereist optimalisatie van meerdere experimentele parameters. In Hoofdstuk 2 van dit proefschrift introduceren we fotothermische spectromicroscopie als benchmarking instrument voor de karakterisering en optimalisatie van optoplasmonische detectie methodes. We tonen aan dat de fotothermische signaal-ruisverhouding (SNR) direct schaalt met de SNR die wordt gevonden voor gemiddelde verstoringen veroorzaakt door kleine nanodruppeltjes die het nabije veld van een nanostaafje binnenkomen en verlaten. In Hoofdstuk 3 gebruiken wij een geimmobilizeerde gouden nanostaafje als opto-plasmomische sensor en observeren veranderingen in zijn resonantie frequentie van licht verstrooiing en observeren daardoor afzonderlijke eiwitten terwijl ze het plasmonische nabije veld van

individuele gouden nanostaafjes doorkruisen. We hebben de parameters van het experiment geoptimaliseerd door middel van fotothermische spectroscopie. We hebben aangetoond dat de transiënt gedetecteerd kan worden van afzonderlijke eiwitten, met massa's zo laag als 64 kDa, die in slechts 100 ns de sub-attoliter volumes doorkruisen die door het plasmonische nabije veld wor de pannen, met een SNR groter dan 5. Uit onze experimenten hebben we de hydrodynamische radius bepaald die goed overeenkomen met de literatuurwaarden en met complementaire DLS-metingen.

De rotatie-Brownse dynamiek heeft een enorme impact gehad op gebieden variërend van fysische chemie tot biologie. Het monitoren van de rotatiediffusie vereist sterke en anisotrope verstrooiers zoals plasmonische nanodeeltjes. Gouden nanostaafjes (GNR's) zijn zulke sterke, anisotrope plasmonische verstrooiers, die chemisch inert en zeer fotostabiel zijn bij de lage intensiteiten die nodig zijn voor verstrooiingsmetingen. In Hoofdstuk 4 van dit proefschrift, hebben we experimenteel de rotatiediffusie van individule GNR's bestudeerd terwijl ze door het confocale volume van de microscoop diffunderen. We besturden het effect van de polarisatieconfiguratie op de rotatiecorrelatie. We onderzochten ook de verandering in de tuimel snelheid als gevolg van de hete Brownse rotatie van de nanostaafjes. Ten slotte hebben we bestudeerd hoe het tuimelen van deze deeltjes verandert in de aanwezigheid van zeer lage (tientallen ppb tot 100 ppm) concentraties van een polymeer deettje (PVA) in de oplossing. We ontdekten dat dit proces wordt beschreven door een Langmuir isotherm voor heterogene bindingsplaatsen. Daardoor is het mogelijk door de studie van van rotatiediffunderende plasmonische probes, specifieke adsorptieplaatsen aan het licht brengen en, lokale mobiliteiten met hoge resolutie in tijd en ruimte te bepalen.

In Hoofdstuk 5 van dit proefschrift, onderzoeken we opto-plasmonische detectie door de rotatie diffusie van plasmonische analyten als model de nemen. Onze detectiemethode is gebaseerd op het monitoren de donkerveldverstrooiing van een groot gouden sensor nanostaafje (40 nm in diameter, 112 nm lang) terwijl kleinere plasmonische analyten het nabije veld van de sensor pass even. We observeren de rotatiebeweging van enkele kleine gouden nanostaafjes (rond 5 nm in diameter en 15.5, 19,1 en 24.6 nm lang) in realtime met een tijdresolutie beter dan 100 ns. Plasmonische koppeling verbetert het signaal van de analyt nanostaafjes, die een orde van grootte kleiner zijn in volume (ongeveer 300 nm^3) dan die gebruikt zijn in eerdere rotatiediffusie-experimenten. Omdat de winst in gevoeligheid van opto-plasmonische koppeling vergeleken met confocale metingen bescheiden is, lijkt het onwaarschijnlijk dat deze verbeterde gevoeligheid op zichzelf de inspanningen zal rechtvaardigen om betrouwbare plasmonische goniometers te bouwen.