



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Applications for DNA-encapsulated silver clusters in physics, biology and medicine

Bruin, D. de

Citation

Bruin, D. de. (2024, October 29). *Applications for DNA-encapsulated silver clusters in physics, biology and medicine*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4106838>

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/1887/4106838>

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

Samenvatting

Nucleïnezuur-oligomeren zijn een betrouwbaar hulpmiddel voor het positioneren van objecten voor toepassingen in de nanotechnologie. Deze betrouwbaarheid komt voort uit de sterke en voorspelbare Watson-Crick basenparen, waardoor ze ideaal zijn voor experimenten op nanometerschaal. Door clusters van een klein aantal zilverionen en -atomen te integreren, ontstaan Ag-DNA constructies, opgebouwd uit zilverclusters van typisch slechts 10 tot 20 atomen en enkelstrengs DNA. De optische eigenschappen van deze constructies zijn bijzonder gevoelig voor het DNA-raamwerk, wat ze zeer geschikt maakt voor het detecteren van omgevingsveranderingen. Dit is vooral interessant voor toepassingen in de experimentele biofysica, of diagnostische en therapeutische toepassingen.

Deze nanostructuren kunnen dienen als veelzijdige fluorescerende emitters en bieden nieuwe mogelijkheden voor toepassingen in chemie, biologie, geneeskunde en materiaalkunde. Fluorescerende Ag-DNA's vertonen een breed scala aan emissiekleuren, van blauw tot infrarood, afhankelijk van de gebruikte DNA- of RNA-oligomeren en omgeving. De zilver nanoclusters in Ag-DNA's hebben de vorm van neutrale, staafvormige ketens omgeven door Ag⁺ ionen. Deze constructies zijn eenvoudig te combineren met DNA-nanotechnologie en DNA-origami, waarbij DNA uitstekende aanhechtingsplaatsen biedt voor specifieke doelwitten en herkenningselementen.

Dit proefschrift verkent verschillende toepassingen van dit materiaal. Hoofdstuk 2 introduceert een nieuwe methode om DNA-hybridisatie in therapeutica te begrijpen. Met behulp van fluorescerende clusters kunnen we DNA-hybridisatie bestuderen met grote precisie en toepasbaarheid. Dit is van groot belang in therapeutica, waar antisense-oligonucleotiden (AONs) veelbelovende kandidaten zijn voor het moduleren van splicing, om genetische ziektes te behandelen. De hier geïntroduceerde 19b-Probe methode, die een 19-base DNA-sequentie gebruikt met specifieke fluorescente emissie bij toevoeging van zilver, biedt inzicht in de efficiëntie van DNA-DNA-binding. Deze methode heeft aangetoond dat de impact van een basemismatch varieert afhankelijk van de locatie ervan, waarmee het ontwerp van AONs verbeterd kan worden.

In Hoofdstuk 3 wordt de ontwikkeling van een instrument voor afstandsmetingen op de sub-nanometer schaal besproken, als gevolg van een energieoverdracht naar

de kleine zilverclusters in de Ag-DNA constructies. Precisie op nanometerschaal is cruciaal voor verschillende onderzoeksdoeleinden, vooral bij levende biologische systemen. Hoewel optische microscopie waardevolle inzichten biedt, heeft het beperkingen bij het observeren van bewegende objecten, en bij resoluties van enkele nanometers. Hier wordt het potentieel van Nano Surface Energy Transfer (NSET) verkend. NSET, een interactie tussen een fluorescente kleurstof en een metalen oppervlak, berust op energieoverdracht van een geactiveerd dipool naar beeld-dipolen op het metalen oppervlak, in dit geval het zilvercluster. Deze techniek toont potentieel voor biologisch onderzoek, vooral bij het bestuderen van eiwitinteracties of nucleïnezuuractiviteiten. Ag-DNAs, met deeltjesgroottes van 5-20 atomen, maken het mogelijk zeer kleine metalen oppervlakken te integreren die nog steeds de eigenschappen van grotere metaaldeeltjes vertonen, om deze toepassing waar te maken.

Hoofdstuk 4 richt zich op de ontwikkeling van ionensensoren voor real-time meting van concentraties in levende cellen. De chemische samenstelling van biologische omgevingen is cruciaal voor ons begrip van hun functioneren. Het monitoren van ionische onevenwichtigheden, zoals in kalium, natrium, magnesium of calcium, kan ons inzicht geven in de interne activiteit van cellen. Ag-DNA constructies worden gebruikt als een testmethode, waarbij hun fluorescentiegedrag gekoppeld is aan de verschillende ion concentraties in een oplossing. Door gebruik te maken van co-localisatie technieken in fluorescentiemicroscopie, kunnen we de nucleaire omgeving scheiden van het omringende cytoplasma en een meetbaar verschil aantonen tussen de twee.

In Hoofdstuk 5 wordt een innovatieve benadering voor kankerbehandeling onderzocht: het gebruik van lichtgevoelige Ag-DNA constructies, genaamd de 9C-PC agent. Deze structuren zijn van nature niet-toxisch, maar kunnen door laag-intensiteit licht worden geactiveerd tot een toxische staat, waardoor gerichte uitschakeling van kankercellen mogelijk wordt. Ons onderzoek toont de effectiviteit aan, met de mogelijkheid om individuele cellen en groepen met hoge precisie te vernietigen. De techniek is ook functioneel in 3D-weefselmodellen, wat aantoont dat er een significant potentieel is voor Ag-DNA constructies in de precieze behandeling van kanker. De uitwerking en valorisatie van deze technologie wordt besproken in Hoofdstuk 7, waar het complexe pad van validatie van een nieuwe medische behandeling bekeken wordt.

Hoofdstuk 6 bespreekt grotere DNA-objecten die ontworpen zijn voor gecontroleerde geneesmiddelafgifte. Grotere DNA-origami structuren, van ongeveer 10 nanometer, worden ontworpen als gesloten structuren die verschillende moleculen kunnen bevatten. De programmeerbaarheid, uitstekende bio compatibiliteit en structurele stabiliteit van dubbelstrengs DNA maken het een veelbelovend hulpmiddel voor dit soort toepassingen. Deze DNA-structuren vertonen twee mechanismen voor het afleveren van het materiaal: thermische fluctuaties en nuclease-afbraak van de DNA-structuur. We gebruiken fluoresceïne als model payload om de dynamiek van moleculaire afgifte in real-time te bestuderen. Deze DNA-structuren tonen significant potentieel als nieuwe geneesmiddelafgifte technieken.

Dit proefschrift biedt een uitgebreid overzicht van de veelzijdige toepassingen van DNA-gestabiliseerde zilverclusters en DNA-origami. Dit werk bevindt zich op het snijvlak van fysica, biologie en chemie, en streeft ernaar nieuwe onderzoeksrichtingen en toepassingen mogelijk te maken met behulp van dit unieke en veelzijdige materiaal.