

**ITSEJÄRJESTÄYTYVÄ DNA-  
KULTANANOPARTIKKELI-RAKENNE  
YHDEN ELEKTRONIN TRANSISTORINA**

Kosti Tapio

Pro Gradu tutkielma  
Jyväskylän Yliopisto, Fysiikan laitos  
16. lokakuuta 2012  
Ohjaaja: Jussi Toppari

## Esipuhe

Tämän Pro Gradu tutkielman kokeelliset mittaukset suoritettiin Jyväskylän Yliopiston, Fysiikan laitoksen Nanoscience Center:ssä vuosina 2010-2012. Tutkimukset tehtiin yhteistyössä *Institute of Photonic Technology:n* (IPHT), Jena, Germany ja Tampereen yliopiston *Biolääketieteellisen teknologian yksikön* (IBT) kanssa.

Haluaisin erityisesti kiittää ohjaajaani tohtori Jussi Topparia mahdollisuudesta työskennellä nanoelektroniikan ryhmässä ja hyvästä ohjauksesta ja lisäksi haluaisin kiittää tohtori Veikko Linkoa ja tohtorikoulutettavaa Boxuan Sheniä heidän avustaan tätä tutkimusta tehdessä. Haluan myös kiittää Vesa Hytöstä ja Jenni Leppiniemeä heidän asiantuntemuksestaan ja jakamistaan tiedoista ja taidoista. Olen myös kiitollinen sekä prof. Janne Ihalaiselle ja hänen ryhmälleen heidän antamistaan arvokkaista tiedoista ja mahdollisuudesta työskennellä biologian laitoksella, että tohtori Andrea Csakille, tohtori Wolfgang Fritzschelle ja heidän ryhmälleen tiedoista ja taidoista, joita tarvitsin tähän tutkimukseen. Lopuksi haluan vielä kiittää perhettäni ja tyttöystävääni heidän tuestaan opintojeni ja tutkimukseni aikana.

Jyväskylässä 16. lokakuuta 2012

Kosti Tapio

## Tiivistelmä

Tässä tutkielmassa selvitettiin kultananopartikkelien ja itsejärjestäytyvän DNA-järjestelmän soveltuvuutta nanoteknologian komponenttina. Työssä yhdistetään funktionalisoituja kultapartikkeleita jo valmiiksi tutkittuun itsejärjestäytyvään DNA-rakenteeseen työnimeltään BAB. Se muodostuu kolmen TX-tiilen ketjusta, johon suunnittelin kandidaatin tutkinnossani kiinnityskohdat kultapartikkeleille. Yhdistämällä kultapartikkelit ja BAB-rakenne saadaan muodostettua kolmen partikkelin ketju, ja tällä rakenteella pyritään muodostamaan yhden elektronin transistori: Toiminta yhden elektronin transistorina pyrittiin havainnoimaan *Coulombin saarron* avulla mittaamalla differentiaalista konduktanssia sekä tasavirtakäyttäytymistä huoneenlämpötilasta aina nestemäisen heliumin lämpötilaan asti.

Kultapartikkelien ja BAB-rakenteen yhdistäminen (konjugointi) havaittiin tehokkaimmaksi, kun liuosta, joka sisälsi kumpaakin ainesosaa, ensin kuumennettiin ja sitten jäähdytettiin hitaasti. Myös liuoksessa olevan magnesiumin määrän havaittiin vaikuttavan konjugointiin, sillä kasvattamalla magnesiumin määrää saatiin enemmän konjugoituja rakenteita mutta myös enemmän aggregaatteja. Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että koska magnesiumia käytetään varjostamaan DNA:n sähköistä varausta, se vähentää funktionalisoitujen kultapartikkelien välisiä Coulombin repulsiota.

Sähköisiä mittauksia varten konjugoidut rakenteet vangittiin käyttäen dielektroforeesia (DEP), jonka havaittiin olevan tehokasta: Konjugointierän saanto ei vaikuttanut juurikaan vangitsemiseen. Vangitsemisessa käytettiin parametreina vaihtojännitteen taajuudelle 12,5 MHz, sen amplitudille noin  $1 V_{pp}$  ja vangitsemisajalle 5-8 min. Onnistunut vangitseminen varmistettiin kuvaamalla näyte atomivoimamikroskopiolla.

Konjugoituja rakenteita mitattiin huoneenlämpötilassa ja yhdelle näytteelle tehtiin mittauksia myös 4,2 K asti. Tutkittavat rakenteet eivät johda ilman mitään erilisiä käsittelyjä johtuen liian suuresta aukosta kultapartikkelien välillä. Näytteitä kasvatettiin kemiallisella kultakasvatuksella, jolloin yhdellä käsittelyllä pystyttiin kasvattamaan kontrolloidusti näytettä 1-8 nm. Yksittäinen näyte vaati useamman kultakasvatuskerran ennen kuin *Coulombin saarto* havaittiin. Kolmelle näytteelle havaittiin *Coulombin saarto* huoneenlämpötilassa. Havaittiin myös, että rakenteen läpi menevä virta oskilloi tai hyppii eri johtavuuksien välillä jopa matalilla jännitteillä ja lämpötiloilla, johtuen todennäköisesti piioksidi alustan varausten liikkeestä. Nämä taustavaraukset pystyvät muuttamaan SET:n kantajännitettä, jolloin myös näytteen johtavuus muuttuisi. Oskillaatio oli sille ominaisella tavalla suurta korkeissa lämpötiloissa ja heikkeni lämpötilan laskiessa. Muita mahdollisia syitä oskillaatiolle ovat resonanssitunneleutuminen kultapartikkelien läpi ja kultapartikkelien liike sähkökentän mukana. Kantajännitteen muutos on kuitenkin todennäköisin syy, sillä kultapartikkelien liike havaittiin varmasti vain yhden näytteen kohdalla ja havaitut oskillaatiot ja hyppy riippuivat lämpötilasta, eikä resonanssitunneleutumisen pitäisi riippua lämpötilasta. Lisäksi kynnysjännite, jolla rakenteet alkoivat johtaa, vaihteli lämpötilan mukana ilman mitään selkeää riippuvuutta, joka myös viittaisi sattumanvaraiseen taustavarausten liikkeeseen.

# Sisältö

<b>1</b>	<b>Johdanto</b>	<b>5</b>
1.1	Konjukoidut rakenteet . . . . .	5
1.2	Yhden elektronin transistori . . . . .	6
<b>2</b>	<b>Menetelmät ja niiden taustat</b>	<b>7</b>
2.1	Teoria ja perusteet . . . . .	7
2.1.1	DNA:n rakenne ja emäksien pariutuminen . . . . .	7
2.1.1.1	Työssä käytetty itsejärjestäytyvä DNA-rakenne . . . . .	7
2.1.2	Kultapartikkelien funktionalisointi . . . . .	9
2.1.3	Konjugoidun rakenteen muodostuminen . . . . .	10
2.1.4	Yhden elektronin transistori . . . . .	11
2.1.4.1	Yhden elektronin transistorin toimintaperiaate . . . . .	12
2.1.5	Maadoitus, kohina ja lämpötilamittaus . . . . .	17
2.1.5.1	Kohina . . . . .	18
2.1.5.2	Maadoitus . . . . .	18
2.1.5.3	Lämpötilan mittaus ja nelipistemenetelmä . . . . .	19
2.1.6	Kemiallinen kullin kasvatusta . . . . .	21
2.1.7	Dielektroforeesi vangitseminen . . . . .	21
2.1.7.1	AC elektro-osmoottinen virtaus, Brownin liike ja konvektio . . . . .	23
2.1.8	UV-VIS spektroskopia . . . . .	25
2.2	Näytteiden valmistus ja mittaukset . . . . .	26
2.2.1	BAB:n muodostaminen . . . . .	27
2.2.2	Kultapartikkelien funktionalisointi . . . . .	27
2.2.3	BAB:n ja kultapartikkelien konjugointi . . . . .	28
2.2.4	Konjugaattirakenteen vangitseminen Dielektroforeesilla . . . . .	30
2.2.5	Konjugaattirakenteen sähköiset mittaukset ja kullin kasvatusta . . . . .	31
<b>3</b>	<b>Tulokset ja havainnot</b>	<b>34</b>
3.1	DNA-rakenteen muodostuminen ja konjugointi . . . . .	34
3.2	Näytteen 38 dielektroforeesi vangitseminen, kultakasvatusta sekä sähköiset mittaukset . . . . .	39
3.3	Muiden näytteiden DEP vangitseminen ja kasvatusta . . . . .	45
3.4	Sähköiset mittaukset ja <i>Coulombin saarto</i> . . . . .	49
3.4.0.1	Näytteen 38 matalan lämpötilan mittaukset . . . . .	50
3.4.0.2	Muiden näytteiden mittaukset . . . . .	54

<i>SISÄLTÖ</i>	v
<b>4 Johtopäätökset</b>	<b>56</b>
4.1 BAB-AuNP konjugaattien muodostaminen ja DEP vangitseminen . .	56
4.2 Sähköiset mittaukset ja rakenteen kasvatus . . . . .	57
<b>Kirjallisuutta</b>	<b>59</b>
<b>Liitteet</b>	<b>63</b>

# Luku 1

## Johdanto

Itsejärjestäytyvät DNA-rakenteet ovat olleet tutkimuksen alla noin 30 vuotta. Alun tutkimus keskittyi rakentamaan DNA-rakenteita yksittäisistä molekyyleistä tai tiilipohjaisia rakenteita pienistä yksiköistä kuten DX-tiilestä (double crossover) [1]. Muita myöhemmin kehitettyjä tapoja on taitella rakenne yhdestä pitkästä DNA-juosteesta ja kiinnittää se lyhyillä ns. niittijuosteilla. Näistä rakenteista käytetään nimeä *DNA origami* [2]. Yleisimpiä käyttökohteita DNA-rakenteille ovat olleet bioanturit ja elektroniikkakomponentit [3]. Tässä työssä selvitän itsejärjestäytyvien DNA-järjestelmien käyttöä elektroniikkakomponentteina lähestyen aihetta tiilipohjaisella rakenteella. DNA:lla on huono sähkönjohtavuus [4], mutta sitä voidaan käyttää runkona erilaisille elektroniikkakomponenteille. Tämä idea on poikunut hyvin monta erilaista rakennetta naruista suunnikkaisiin. Yksi itsejärjestäytyvien DNA-rakenteiden halutuista ominaisuuksista on jäykkyys. Kandidaatin tutkinnossani [5] muodostin onnistuneesti edellisen tutkimuksen [6] pohjalta valmistettuun kolmen TX-tiilen (triple crossover) rakenteeseen kiinnityskohdat kultapartikkeleille. TX-tiilen on huomattu olevan luja rakenne, joten se soveltuu hyvin runkomateriaaliksi.

Nykyinen tekniikan kehitys kohtaa tulevaisuudessa haasteita: prosessorien koon pienentyessä eteen tulevat kvanttimekaaniset ilmiöt, jotka tuottavat ongelmia käytettäessä perinteistä puolijohdetekniikkaa. Nanoteknologia voi tarjota ratkaisun tähän ongelmaan, sillä komponenttien koko saadaan hyvin paljon pienemmäksi kuin perinteisellä puolijohdetekniikalla. DNA-rakenteiden kohdalla tutkitaan käyttöä elektroniikkakomponentteina kuten loogisina porttipiireinä [7]. Lisäksi DNA:n avulla voitaisiin valmistaa eri elektroniikan komponentteja ja muita materiaaleja huomattavasti nopeammin kuin nykyisillä metodeilla kuten elektronisuihkulitografialla. Tällöin ei myöskään tarvittaisi kalliita laitteita.

### 1.1 Konjukoidut rakenteet

Kuten mainittiin yksi tärkeimmistä DNA-rakenteiden sovelluskohteista ovat elektroniikan komponentit. Yksi tämän hetken tutkimuksen suurimmista haaroista on keskittynyt kultapartikkelien ryhmittämiseen tiettyyn muotoon kuten ruudukoiksi, nanolangoiksi tai kolmioksi. Itsejärjestäytyviä DNA-järjestelmiä käytetään runkona näissä rakenteissa [8]. Näissä tutkimuksissa on osoitettu, että tällainen kiinnittyminen on ohjautuvaa ja kiinnittyminen johtuu DNA-juosteiden sidoksista [9]. Muita sovel-

luskohteita ovat biosensorit ja käyttö metamateriaaleina, joiden tutkimus on ollut hyvin laajaa viime vuosina ja asiasta on useita julkaisuja [10, 11]. Esimerkiksi metamateriaaleilla saatavan negatiivisen taitekertoimen avulla pystyttäisiin tutkimaan optisilla mikroskoopeilla pienempiä kappaleita kuin mitä on valon aallonpituus eli alle diffraktiorajan. Tämä on tähän asti rajoittanut kaikkea optista teknologiaa [12]. Metamateriaalien valmistukseen itsejärjestäytyvät DNA-rakenteet sopivat myös erinomaisesti, sillä DNA-rakenteista saadaan halutun muotoisia, rakenteet ovat vahvoja ja niitä saadaan skaalattua muutamasta nanometristä aina mikrometreihin.

On osoitettu, että työssä käytetty DNA-rakenne ei itsessään ole hyvä johde [6], joten halutut sähköiset ominaisuudet pitää saada jollain muulla tavalla. Tämä tarjoaa erinomaisen mahdollisuuden valmistaa erilaisia nanoelektronikan komponentteja. Yksi tapa valmistaa näitä rakenteita on konjugoimalla, jolla tarkoitetaan nanokokoluokan kappaleen lisäämistä DNA-rakenteeseen. Tämä toteutetaan liittämällä kappaleeseen DNA-juoste, jonka vastajuoste on kiinnitetty DNA-rakenteeseen. Yleensä kiinnitettävät kappaleet ovat olleet metallisia nanopartikkeleita tai biologia molekyyliä kuten streptavidin. Toinen tapa on päällystää DNA-rakenteita metallilla kemiallisen käsittelyn kautta, jolloin voidaan saada aikaiseksi halutut sähköiset ominaisuudet.

## 1.2 Yhden elektronin transistori

Yksi tämän hetken tutkituista nanoelektronikan komponenteista on yhden elektronin transistori (single electron transistor, SET) [13]. SET on ollut kuuma tutkimuksen aihe viime vuosina [14, 15, 16], ja yleinen ongelma SET:n toiminnassa on hyvin alhainen toimintalämpötila, jolla transistorin diskreetti, porrasmainen, yksittäisten elektronien tunneloituminen tulee esiin. Toimintalämpötila riippuu transistorin koosta ja rakentamalla nano-kokoluokan transistorin saataisiin diskreettiin tunneloitumiseen vaadittava lämpötila nostettua.

Haasteena itsejärjestäytyvillä järjestelmillä nanoelektronikassa on organisoida palaset yhdeksi komponentiksi, koska järjestelmiä ei pystytä ohjaillusti osa kerrallaan rakentamaan. Itsejärjestäytyvien järjestelmien kokoaminen perustuu osittain satunnaiseen osien toisiinsa kiinnittymiseen. Kuitenkin etuna itsejärjestäytyvissä järjestelmissä verrattuna esimerkiksi perinteiseen elektronisuihkulitografiaan on tarkkojen ohjaussysteemien/laitteiden puute, jossa säännöllisyys ja resoluutio asettavat haasteita näytteiden valmistamiselle. Tämä taas rajoittaa yleensä SET:n toimintalämpötilaa.

SET:iä voitaisiin käyttää esimerkiksi lämpötilamittarina, jolla pystyttäisiin mittaamaan hyvin alhaisia lämpötiloja. Lisäksi sitä voitaisiin käyttää elektronipumppuna, jossa SET:n läpi kulkee makroskooppisia virtoja, vaikka ohjausjännite olisi erittäin pieni, tai virtalähteenä. *Coulombin saarto* lämpömittarit [17] ovat esimerkiksi olleet tutkimuksen alla viime vuosikymmeninä, koska laitteen toiminta ei vaadi kalibraatiota, se on nopea ja eikä tarkkuus kärsi matalissa lämpötiloissa. Näytteen valmistus asettaa kuitenkin haasteita, koska tunneliliitoksen paksuus pitää saada pieneksi. Nämä haasteet pystyttäisiin kenties ylittämään DNA:n avulla.

# Luku 2

## Menetelmät ja niiden taustat

### 2.1 Teoria ja perusteet

#### 2.1.1 DNA:n rakenne ja emäksien pariutuminen

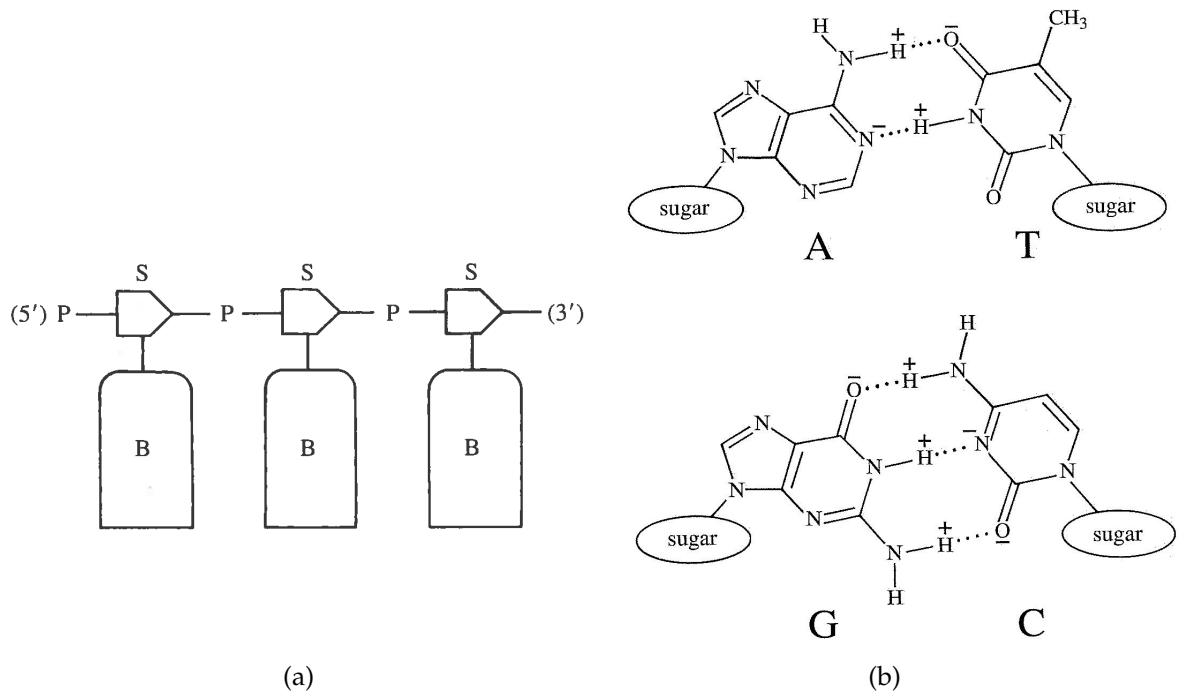
Itsejärjestäytyvien DNA-rakenteiden muodostumisen kannalta on tärkeää ymmärtää niiden sisäinen rakenne. DNA muodostuu nukleotidien ketjusta, ja nukleotidit taas muodostuvat kolmesta osasta: sokeri, fosfaatti ja emäs [18] (ks. kuva 2.1a). Itsejärjestäytyvät järjestelmät perustuvat DNA:n nukleotidien emäsosien - guaniinin, adeniinin, sytosiinin, tymiinin - ohjailtavaan pariutumiseen. Yleisesti ohjautuvuutta mallinnetaan *Watson-Crick*:n mallilla [18]: Guaniini (G) ja sytosiini (C) sekä tymiini (T) ja adeniini (A) pariutuvat keskenään vetysidoksilla, jotka muodostuvat vedyttömiin happiatomien/typpiatomien ja vedyllisten happiatomien/typpiatomien välille. Pariutuminen on esitetty kuvassa 2.1b. Yhden emäksen koko on noin 3,3 Å eli 0,33 nm. Toinen mahdollinen malli on *Hoogsteenin* malli, jossa oletetaan lievästi happamat olosuhteet. Työssä kuitenkin käytetään puskureita, jotka ovat lievästi emäksisiä. Myös mallista poikkeavat pariutumiset esimerkiksi tymiinin ja guaniinin sekä neljän guaniinin välillä ovat mahdollisia, mutta on hyvin paljon todennäköisempää muodostaa sidokset *Watson-Crick*:n mallin mukaan.

DNA pysyy kasassa fosfaatti-sokeri-sidosten avulla, jotka muodostavat DNA:n selkärangan. Fosfaatit ja sokerit yhdistyvät esterisidoksien kautta. Asymmetrisissä DNA-juosteissa päitä nimitetään 5'- ja 3'-päiksi, ja DNA koodaus juoksee 5'- päästä 3'-pään. Kaksoiskierteen juosteet ovat rinnakkain, mutta 5'- ja 3'-päät ovat vastakkaiset kummallakin juosteella. 5'-päässä on kiinni fosfaattiryhmä ja 3'-pään on kiinnittynyt hydroksyyli-ryhmä. Tietyt entsyymit, kuten ligaasi, pystyvät yhdistämään 5' ja 3'-pään yhteen fosforylaatiolla muodostaen fosforidiesteri sidoksen. Reaktiossa 5'-päästä yksi happi korvataan 3'-pään hydroksyyli-ryhmän hapella ja hydroksyyli-ryhmän vety sekä korvattu happi muodostavat reaktiossa hydroksyyli-ionin, josta voi ylimääräisen vedyn kanssa muodostua vettä. Usein juosteista halutaan poistaa fosfaattiryhmät 5'-päistä, ettei fosforylaatiota pääse tapahtumaan ennen aikaisesti.

##### 2.1.1.1 Työssä käytetty itsejärjestäytyvä DNA-rakenne

Työssä käytetään TX-tiili rakennetta nimeltään BAB, johon voidaan kiinnittää kultatartikkeleita. Kuvassa 2.2 on esitetty ko. rakenne: Periaatteessa rakenne koostuu

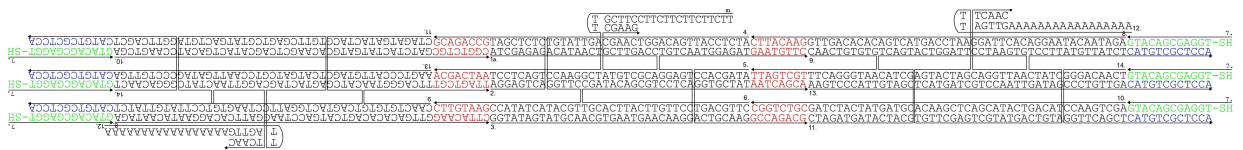




Kuva 2.1: (a)DNA rakenne (b=emäs, s=sokeri, p=fosfaatti) ja (b)Watson-Crick:n mallin mukainen emästen pariutuminen [18].

kolmesta kaksoiskierteestä, jotka ovat vierekkäin, ja joissa juosteet risteävät eri kaksoiskierteiden välillä. Tarkempi analyysi osoittaa, että kaksoissidokset ovat jaoteltu kolmeen osaan eli kolmeksi TX-tiileksi. Laidoilla on B-tiilet ja keskellä A-tiili, ja tästä tulee nimitys BAB. Sen pituus on noin 165 emäsparia eli noin 55 nm ja korkeus on noin 1-2 nm. Juosteet löytyvät liitteestä. Itsejärjestäytyvät DNA-rakenteet muodostetaan useasta DNA-juosteesta eli nukleotidiketjusta. Nämä juosteet pariutuvat keskenään niin, että yksittäinen juoste on kiinni useassa muussa juosteessa. Kuvassa 2.2 osa juosteista kulkee kokonaisen tiilen matkalta, jolloin lopputuloksena on vakaa rakenne. Itsejärjestäytyvyys tulee siitä, että tietty DNA-sekvenssi pariutuu mielellään itselleen komplementtisen sekvenssin kanssa. Suunniteltaessa juosteita pyritään ottamaan huomioon ei-halutut pariutumiset ja etsimään sellainen emäsparien kokoonpano, jolle energisesti suodullisinta on muodostaa haluttu DNA-rakenne.

Yksinkertaisimmillaan rakenne muodostetaan sekoittamalla kaikki juosteet samaan liuokseen, ja lämmittämällä liuos 90 °C. Tällöin kaikki sidokset juosteiden välillä ja yksittäisen juosteiden omien emästen välillä irtoavat. Kun liuosta jäähdytetään, pariutuvat DNA-juosteet todennäköisimmin vastapariensa kanssa, jolloin lopputuloksena on haluttu rakenne. Kuitenkin juosteet valmistetaan ilman 5'-päätä, joita ilman muodostuva rakenne on heikompi: jos kaksoiskierteeseen kohdistuu riittävän suuri venyttävä voima, alkaa se purkautumaan. Jos 5'- ja 3'-päät eivät ole yhdistettyjä, voi koko rakenne purkautua. 5'-pää lisätään käyttäen kinaasi-entsyymiä ja katalyyttinä käytetään ligaasipuskuria. Ligaasipuskuri sisältää ATP:tä, josta kinaasi ottaa tarvittavat fosfaatit. On huomattu, että kinaasireaktio tapahtuu parhaiten



Kuva 2.2: Periaatekuva työssä käytettävästä itsejärjestäytyvästä DNA-rakenteesta, jossa vapaat juosteiden päät ovat kiinnityskohtia kultapartikkeleille [5]. Punaisella merkityt kohdat viittaavat eri tiilien välisiin kiinnityskohtiin, jotka ovat 8 emäsparin mittaisia, ja vihreällä merkityt kohdat viittaavat taas rakenteen päässä oleviin tiiliryhmillä varustettuihin juosteisiin.

37 °C:een lämpötilassa. Rakenteen muodostamisen jälkeen 5'- ja 3'-päät yhdistetään  $T_4$  ligaasilla. Myös juosteiden varaus vaikuttaa myös rakenteiden muodostumiseen. Koska DNA on negatiivisesti varattu, juosteet hylkivät toisiaan ja liuokseen pitää lisätä tarpeeksi pieniä kaksiarvoisia positiivisesti varattuja ioneja, jotka varjostavat juosteita toistensa suhteen, mutta eivät estä juosteita tarttumasta toisiinsa. Puskurissa käytetään yleensä magnesiumia, koska se on jaksollisessa järjestelmässä ylhäällä ja luovuttaa mielellään kaksi elektronia saaden positiivisen varauksen. Valmistettaessa itsejärjestäytyvien rakenteiden saanto on hyvin suuri [2] (90 %) ja BAB tapauksessa saanto on samaa luokkaa. Valmistusprosessissa muodostuu kuitenkin pieniä määriä yksittäisi tiiliä tai kahden tiilen mittaisia rakenteita, sillä todennäköisyyksien mukaan on mahdollista, että yksittäinen tiili voi kohdata vain samanlaisia tiiliä liuoksessa tai vain yhden komplementti-tiilen.

### 2.1.2 Kultapartikkelien funktionalisointi

Tutkimuksessa funktionalisoitiin eli kiinnitettiin nanokultapartikkeleihin DNA-juosteita, joiden tarkoituksena on toimia ohjailtavana kiinnityskohtana BAB-rakenteeseen. Juosteita on kahdenlaista: yksi kumpaakin tiiltä varten. Periaatteessa yksi juoste olisi riittänyt, mutta tutkimuksessa haluttiin testata DNA:n ohjautuvuutta ja välttää mahdollisia ongelmia, mitkä liittyvät kultapartikkelien liian lähelle oleviin kiinnityskohtiin. Kahden eri tiilen muodostamisessa käytettyjen juosteiden sekvenssit on esitetty taulukossa 2.1.

Taulukko 2.1: Kultapartikkeleihin kiinnitettävien DNA-juosteiden sekvenssit. Alaindeksi A viittaa A-tiileen ja B vastaavasti B-tiileen.

Kultapartikkeli	Sekvenssi
$AuNP_A$	AAGAAGAAGAAGAAG
$AuNP_B$	$T_{15}$

Juosteiden kiinnittäminen kultapartikkeleihin on kaksivaiheinen reaktio: fyysikaalinen ja kemiallinen adsorptio sekä juosteiden irrottaminen kullasta NaCl:lla. Fysikaalisessa adsorptiossa juosteet kiinnitetään Van der Waals vuorovaikutusten

avulla kultapartikkelin pintaan vesipohjaisessa liuoksessa. Fysikaalinen adsorptio on kohtuullisen hidas reaktio, joka vaatii huoneenlämpötilan ja pitkän ajan. Kuvassa 2.3 kultapartikkeliä ympäröivät juosteet muodostavat kalvon sen pinnalle. Samalla tapahtuu myös kemiallinen adsorptio eli juosteiden päässä olevat tioli-ryhmät kiinnittyvät kultapartikkeliin muodostaen kovalenttisen sidoksen. Tioli-ryhmän rikki on kemiallisilta ominaisuuksiltaan lähellä happea, joten tioli-ryhmä ja alkoholiryhmä reagoivat hyvin samanlaisesti. Tioli-ryhmä muodostaa sidoksen helposti kullan kanssa pelkistysreaktiolla. Lisäksi rikki muodostaa hapenlailla sidoksia hiili-vetyketjujen kanssa, joten tioli-ryhmä toimii hyvänä siteenä juosteen ja kultapartikkelin välillä.



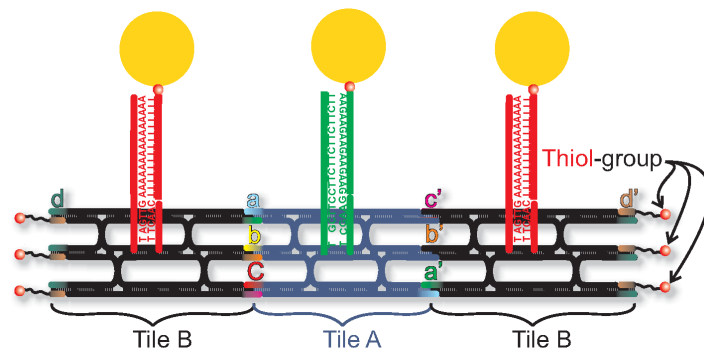
Kuva 2.3: Kultapartikkelien funktionalisointi juosteilla: (vihreät) juosteet kiinnittyvät Van der Waals voimien vaikutuksesta kultapartikkelin pintaan muodostaen kalvon, josta ne sitten irrotetaan osittain adsorboimalla kloori-ioneja kultapartikkelien pintaan, jolloin ionit korvaavat juosteet.

Tiolilla kiinnitetyt DNA-juosteet peittävät koko kultapartikkelin pinnan [19], jolloin niitä ei pysty liittämään BAB-rakenteeseen. Seuraavaksi pyritään irrottamaan juosteet kultapartikkelin pinnasta, jolloin ne pystyvät sitoutumaan BAB:n kiinnityskohtiin. Irrottamiseen käytetään NaCl:a, joka hajoaa vesiliuoksessa ioneiksi. Negatiiviset kloori-ionit pystyvät adsorboitumaan kultapartikkelin pintaan johtuen *Coulombisesta attraktiosta* [19]. DNA on myös negatiivisesti varautunut, mutta varaus on jakautunut isommalle alueelle, joten suhteessa efektiiviseltä kooltaan pienempi kloori pystyy korvaamaan juosteen kultapartikkelin pinnalla. Tiolin ja kullan sidos on vahva, joten se ei irtoa kloorin vaikutuksesta. Tästä seuraa, että kullan pinta peittyy kloori-ioneilla, jotka hylkivät juosteiden päitä, jolloin juosteet suoristuvat. Liiallinen suolan lisäys aiheuttaa kuitenkin kultapartikkelien aggregoitumista johtuen negatiivisten ionien peitosta kultapartikkelien suhteen, joten suolan määrä täytyy säätää tarkasti.

### 2.1.3 Konjugoidun rakenteen muodostuminen

Periaatekuva konjugoidusta rakenteesta on esitetty kuvassa 2.4. Rakenteessa kultapartikkelit ovat kiinni 15 emäsparin matkalta BAB:n kiinnityskohdissa. On osoitettu, että 15 emäsparin pariutuminen on riittävä ohjautuvaan ja lujaan kiinnittymiseen [9]. Funktionalisoitujen kultapartikkelien kiinnittäminen BAB-rakenteeseen perustuu samaan emäsparien ohjautuvuuteen mitä hyödynnetään itsejärjestäytyvien DNA-rakenteiden valmistuksessa.

On kaksi mahdollista konjugointiprosessia, jossa kummassakin tapauksessa kultapartikkelit ja DNA-rakenne on valmistettu erillään ja konjugoitaessa lisätään samaan liuokseen. Ensimmäinen on haudutusprosessi [20], jossa tyypillisesti pidetään



Kuva 2.4: Periaatekuva konjugoidusta BAB-rakenteesta: Sekä A-tiileen että B-tiileen kiinnittyy oma kultapartikkeli johtuen eri kiinnityskohdista.

näytettä, joka sisältää kultapartikkelit ja käytetyn DNA-rakenteen, huoneenlämpötilassa 1-3 h. Toinen on lämmitysprosessi [21], jossa näyte laitetaan esimerkiksi PCR-laitteeseen, lämmitetään liuos tiettyyn lämpötilaan ja jäädytetään takaisin huoneenlämpötilaan. Vapaat tai joko DNA-rakenteessa tai kultapartikkeleissa olevat DNA-juosteet pystyvät kiinnittymään ympäristöön säilytyksen aikana, joten lämmitysprosessi vapauttaa juosteet. Jäädytettäessä on energettisesti suotuisinta, että vapaat juosteet muodostavat sidokset vastaparin kanssa. Tämän takia lämmitysprosessin pitäisi tuottaa parempi saanto kuin haudutusprosessin. Kummassakin prosessissa tärkeitä parametrejä ovat käytettävä puskuri, lämpötila ja valmistusaika. Lämmitysprosessin lämpötilaa ei kuitenkaan kannata nostaa liikaa paremman saannon takia, sillä liian suurissa lämpötiloissa DNA-rakenne purkautuu yksittäisiksi juosteiksi, joka voi haitata konjugaattirakenteiden muodostumista.

Kultapartikkelit hylkivät toisiaan johtuen pinnalla olevien juosteiden negatiivisesta varauksesta. BAB-rakenteessa kiinnityskohdat kullalle ovat noin 20 nm päässä toisistaan, ja johtuen hylkimisestä 3-konjugaattirakenteiden muodostaminen voi olla hankalaa ja energettisesti on suotuisampaa muodostaa vain kahden konjugaatteja. On osoitettu [22], että 2D-hila rakenteessa, jossa oli kiinnityskohtia vuorotteleville kultapartikkeleille, vain joka toinen kultapartikkeli oli kiinnittynyt rakenteeseen. Tämän ilmiön havaittiin riippuvan etäisyydestä, sillä kasvattamalla vuorottelevien kultapartikkelien etäisyyttä saatiin kaikki partikkelit kiinnittymään hilaan. Tässä tapauksessa käytettiin haudutusprosessia. Lämmitys tuo systeemiin enemmän energiaa, jolloin kultapartikkeleilla pitäisi olla riittävästi energiaa voittaakseen sähköiset repulsiot ja kiinnittyä rakenteen juosteisiin.

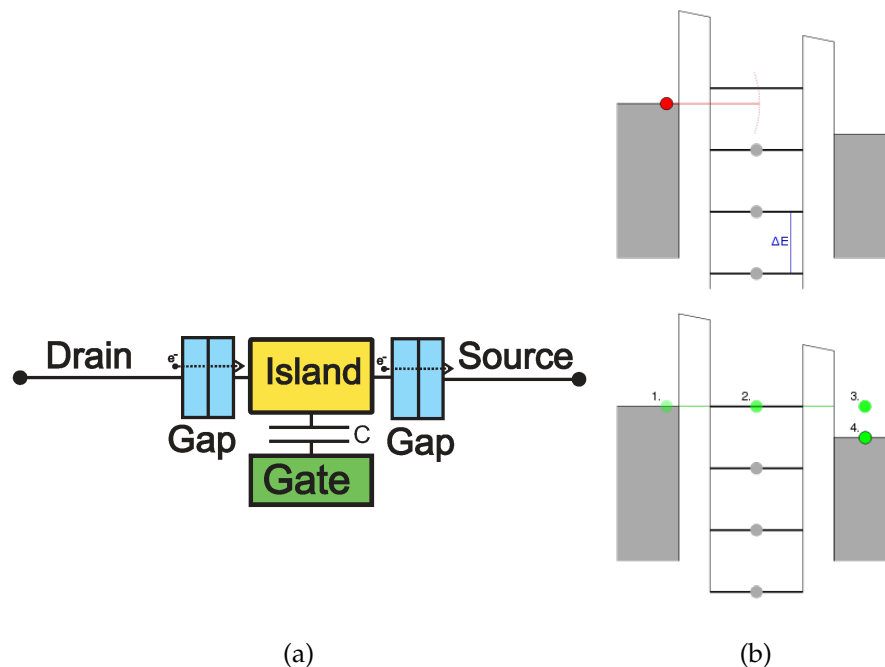
#### 2.1.4 Yhden elektronin transistori

Yhden elektronin transistori (single electron transistor, SET) on elektroniikan komponentti, jossa elektronit siirtyvät tunneloitumalla, toisin kuin perinteisessä puolijohdetekniikassa, jossa elektronit siirtyvät johtumalla puolijohteessa kuten piissä. SET:n toiminta perustuu elektronien tunneloitumiseen ja sen estämiseen varautumisen avulla eli *Coulombin saartoon*: klassisen mekaniikan mukaan kahden eristeellä erotetun johteen välillä ei kulje virtaa, mutta kvanttimekaniikan mukaan johteiden välillä on nollasta eroava todennäköisyys elektronien tunneloitumiselle. Kahden tunneliliitok-

sen eristämälle saarelle pystyy tunneiloitumaan vain tietyn verran elektroneja kuten tullaan selittämään seuraavassa osiossa. SET:n virtaa pystytään ohjaamaan kantajänniteellä, jolloin tunneliliitoksen virta riippuu bias-jännitteestä sekä kantajännitteestä. Tässä mielessä SET muistuttaa tavanomaista transistoria, joskin ominaisvirtakäyrä on täysin erilainen.

### 2.1.4.1 Yhden elektronin transistorin toimintaperiaate

SET muodostuu kahdesta johteesta ja saaresta, joiden välillä on tunneliliitokset (ks. kuva 2.5a). Tunneliliitos käyttäytyy kuin vastus, jonka resistanssi riippuu eksponentiaalisesti tunneliliitoksen paksuudesta. Tällä liitoksella on myös äärellinen kapasitanssi  $C$ , joka vaikuttaa tunneiloitumiseen: tarkastellaan tapausta, jossa yksittäinen elektroni tunneiloituu kahden liitoksen muodostamalle saarekkeelle (ks. kuva 2.5a).

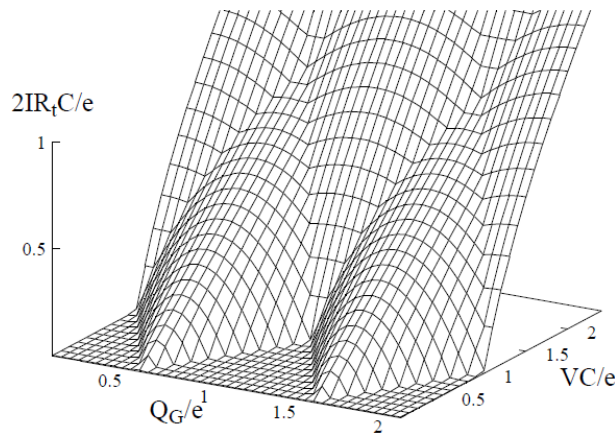


Kuva 2.5: (a) Yhden elektronin transistorin rakenne ja (b) sen toimintaperiaate

Saarella on alussa tietty määrä elektroneja. Kun johteelta tunneiloituu elektroni saarelle, se nostaa saaren energiaa  $U=e^2/2C$  verrattuna lähtöpisteeseen ja seuraavan elektronin on hankalampi tunneiloitua tai, jos kapasitanssi  $C$  on riittävän pieni, sen tunneiloituminen estyy kokonaan. Jotta seuraava elektroni pääsee tunneiloitumaan, vaaditaan riittävä energia voittamaan varautuminen. Näin elektronit muodostavat saarelle tietyt energiatasot kuten on esitetty kuvassa 2.5b. Bias-jännitteellä pystytään säätämään tunneiloituvan elektronin energiatasoa, ja jos se on suurempi kuin alimman saarella olevan miehittämättömän elektronin tila, pystyy tunneiloituminen tapahtumaan. Jos johteiden energiatasot on asetettu kuten kuvassa 2.5b, tunneiloitumista ei tapahdu punaisen elektronin kohdalla, koska saarella ei ole vapaata tilaa. Vihreän elektronin kohdalla tällainen tila löytyy, ja koska oikean puoleisen johteen

energiataso on alempana kuin saaren vihreän elektronin energiataso, voi elektroni tunnelloitua jättäen tyhjän tilan seuraavalle elektronille. Periaatteessa virta kulkee siis laitteen läpi yksi elektroni kerrallaan.

SET:n IV-käyrissä tämä näkyy niin, että tietyn jännitteen alapuolella laite ei johda, koska saarella ei ole vapaita tiloja elektronille. Lisäksi kasvattamalla biasjännitettä havaitaan porrasmainen käytös tunnelointivirrassa. Symmetrisen, ideaalisen SET:n IV-käyrä on esitetty kuvassa 2.6. Kuvassa transistori johtaa aina tietyn bias-jännitteen  $V$  jälkeen. Kuitenkin saaren potentiaalin muutoksilla pystytään säätämään saaren energiatasojen nollakohtaa ja näin ollen tunneloitumisvirtaa siten, että tietyllä kantajännitteen arvoilla virta kulkee kaikilla bias-jännitteillä, kuten voidaan havaita kuvasta 2.6.

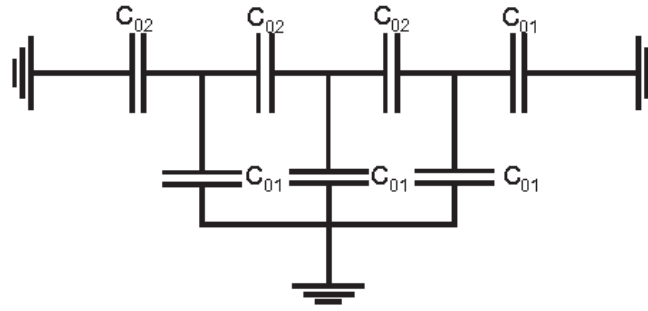


Kuva 2.6: Ideaalinen SET:n IV-käyrä: tietyn kynnsjännitteen jälkeen transistori alkaa johtamaan. Pystyakseli kuvaa kappaleen virtaa,  $Q_G$  vastaa kantajännitettä ja viimeinen akseli kuvaa bias-jännitettä [13].

Tosiasiasa lämpökohina ja muut tekijät pyöristävät käyrää. Yleinen ongelma SET:n toiminnassa on hyvin alhainen toimintalämpötila, jolla transistorin diskreetti, porrasmainen elektronien tunnelloituminen tulee esiin. Korkeissa lämpötiloissa termiset fluktuaatiot peittävät yksittäisten elektronien tunnelloitumisen. Sen kannalta tärkeää on saada alhainen liitoskapasitanssi, joka yleensä saavutetaan pienillä tunneliliitoksen paksuuksilla ja pienentämällä saarekkeen pinta-alaa.

Työssä muodostettava konjugoitu rakenne muodostaa kolme saarekettä (ks. kuva 2.4), jolloin riippuen rakenteen kiinnityksestä ulkoiseen piiriin joko keskimäinen tai kaikki kolme muodostavat kuvan 2.5a SET:n saarekkeen. Määritetään saarekkeiden varaamiseen vaadittava jännite, jolloin myös vältetään käyttämästä liian suuria jännitteitä. On mahdollista, että näytteen läpi kulkee tarpeeksi suuri virta, joka tuhoaa näytteen.

Oletetaan, että konjugoitu rakenne on vangittu kahden johtavan elektrodin väliin. Tällöin on kaksi mahdollisuutta: ensimmäisessä laidalla olevat kultapartikkelit ovat kiinni elektrodeissa (tapaus 1), jolloin keskimäinen muodostaa saarekkeen. Toisessa tapauksessa kaikki kultapartikkelit ovat erillään (tapaus 2), jolloin kaikki kolme kultapartikkelia muodostavat saarekkeet. Tällöin systeemin kapasitanssi, joka on esitetty kuvassa 2.7, pystytään laskemaan kahdelle eri tapaukselle, josta edelleen



Kuva 2.7: Konjugaattirakenteen elektroninen kaaviokuva:  $C_{01}$  on kapasitanssi maapotentiaalin ja kultapartikkelin välillä ja  $C_{02}$  on kapasitanssi kultapartikkelien välillä.

pystytään laskemaan varaukseen vaadittava energia.

Oletetaan, että partikkelien halkaisija on noin 15 nm, niiden etäisyys  $d$  on 2 nm ulkoreunoista mitattuna. Käytännön mittauksissa nämä arvot on havaittu sopiviksi kuvaamaan systeemiä. Etäisyys alustaan ja elektrodeihin on 15 nm, mutta piidioksidipinnan paksuus noin 300 nm, joten kapasitanssi maapotentiaalin ja kultapartikkelin välillä on hyvin pieni verrattuna kultapartikkelien väliseen kapasitanssiin. Kahden pyöreän kappaleen välinen kapasitanssi pystytään laskemaan seuraavasta yhtälöstä [23]:

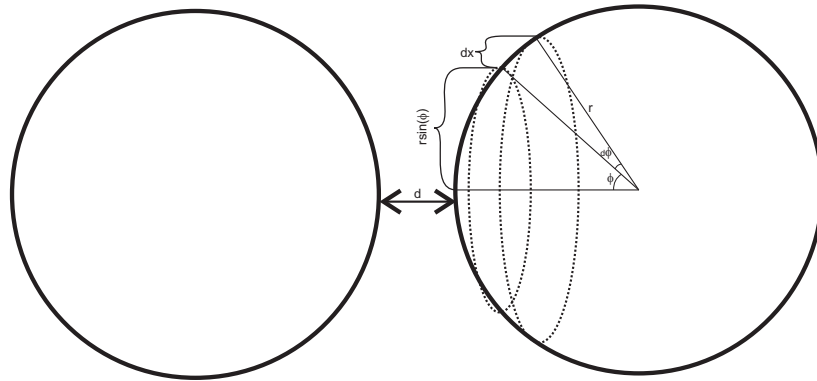
$$C = 2\pi\epsilon a \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\sinh\left(\ln\left(D + \sqrt{D^2 - 1}\right)\right)}{\sinh\left(n \cdot \ln\left(D + \sqrt{D^2 - 1}\right)\right)} \quad (2.1)$$

missä  $a$  on kappaleen säde, vakio  $D = (2a+d)/2a$ ,  $d$  on kappaleiden välinen etäisyys ja  $\epsilon$  on ilman permittiivisyys.

Lisäksi kahden pyöreän kappaleen välinen kapasitanssi voidaan laskea integraalilla, jonka differentiaalisena kapasitanssi alkiona on kahden kohtisuoraan toisiaan vastaan olevan katkaistun ympyräkartion kapasitanssi ja kartiot ovat eri kultapartikkeleista. Tilanne on esitetty kuvassa 2.8. Pinnat eivät kuitenkaan ole kohtisuorassa toisiaan vastaan, joten kapasitanssin laskussa otetaan huomioon pinnan projektiopystysuunnassa eli efektiivinen pinta-ala kultapartikkelien välillä. Tämän projektion paksuutta merkitään  $dx$ , ja se pystytään laskemaan kulman  $\phi$  ja differentiaalisen kulman  $d\phi$  avulla (ks. kuva 2.8). Differentiaalinen kulma-alkio  $d\phi$  oletetaan pieneksi, jolloin kosinin ja sinin sarjakehitelmistä otetaan huomioon vain kaksi ensimmäistä termiä.

$$\begin{aligned} dx &= r(\sin(d\phi + \phi) - \sin(\phi)) = r(\sin(\phi)\cos(d\phi) + \cos(\phi)\sin(d\phi) - \sin(\phi)) \\ dx &= r(\sin(\phi) \cdot 1 + \cos(\phi) \cdot d\phi - \sin(\phi)) = d\phi \cdot r \cdot \cos(\phi) \end{aligned}$$

Differentiaalista kapasitanssia kartioiden välillä arvioidaan levykondensaattorin kapasitanssilla ja otetaan huomioon vain kahden kohtisuoran alkion välinen kapasitanssi. Olkoon  $dA$  kiekon differentiaalinen pinta-ala, jossa kiekon säde määritellään pallon projektiona pystysuunnassa  $r \cdot \sin(\phi)$  ja sen paksuus on  $dx$ .



Kuva 2.8: Kahden kultapartikkelin muodostaman systeemin kapasitanssin lasku. Katkoviivoilla piirretyt ympyrät rajaavat kultapartikkelin pinnalle katkaistun ympyräkartion, joka muodostaa differentiaalisen alkion.

$$\begin{aligned} dA &= 2\pi \cdot r \cdot \sin(\phi) \cdot dx \\ dA &= 2\pi \cdot r \cdot \sin(\phi) \cdot r \cdot \cos(\phi) d\phi \\ dA &= 2\pi \cdot r^2 \cdot \sin(\phi) \cos(\phi) \end{aligned}$$

Kuvasta 2.8 voidaan nähdä, että kahden katkaistun ympyräkartion pintojen välinen etäisyys on  $d + 2r - 2r\cos(\phi)$ . Määritetään kapasitanssi käyttäen peilivarauksen ideaa, jolloin differentiaalinen kapasitanssi  $dC$  tulee muotoon:

$$\begin{aligned} dC &= \frac{\epsilon \cdot dA}{d/2 + r - r\cos(\phi)} \quad (2.2) \\ dC &= \epsilon_r \epsilon_0 \frac{2\pi \cdot r \sin(\phi) \cdot r \cdot \cos(\phi) \cdot d\phi}{d/2 + r - r\cos(\phi)} \\ dC &\stackrel{\epsilon_r \approx 1}{=} \frac{2\epsilon_0 \pi \cdot r^2}{r} \cdot \frac{\sin(\phi) \cos(\phi) \cdot d\phi}{1 + \frac{d}{2r} - \cos(\phi)} = 2\epsilon_0 \pi r \cdot f(\phi) d\phi \end{aligned}$$

Arvioidaan kapasitanssi  $C'_{02}$  yhtälöstä 2.1 *Matlabilla* sekä integroimalla yhtälöä 2.2, kun kappaleen säde on  $a$  on 7,5 nm, ilman suhteellinen permittiivisyys on 1 ja etäisyys  $d$  on 2 nm. Integroinnissa pinta-ala-alkiota  $dA$  integroidaan kulman  $\phi$  suhteen 0:sta  $\pi/2$ :en ja lasketaan kulma-integraali *Matlabilla*.

$$\begin{aligned} C'_{02} &= 2\pi\epsilon a \cdot \sum_n \frac{\sinh\left(\ln\left(D + \sqrt{D^2 - 1}\right)\right)}{\sinh\left(n \cdot \ln\left(D + \sqrt{D^2 - 1}\right)\right)} \\ C'_{02} &= 2\pi\epsilon_0 a \cdot 2,0315 = 2\pi \cdot 8,854 \cdot 10^{-12} \text{ F/m} \cdot 7,5 \text{ nm} \cdot 2,0315 = 0,848 \text{ aF} \\ C_{02} &= \int dC = 2\epsilon_0 \pi r \cdot \int f(\phi) d\phi = 2\pi \cdot 8,854 \cdot 10^{-12} \text{ F/m} \cdot 7,5 \text{ nm} \cdot 1,4254 \\ C_{02} &= 0,594 \text{ aF} \end{aligned}$$



Integrointi sekä kahden pyöreän kappaleen kapasitanssin kaavalla laskettu arvo ovat samaa kokoluokkaa, joten integrointi antaa hyvän arvion kapasitanssista. Lasketaan koko systeemin kapasitanssi kahdelle tapaukselle ja kahdelle eri laskutavalle kuvasta 2.7 ja arvioidaan jännite, joka vaaditaan varaamaan systeemi. Kyseessä on hyvin karkea arvio jännitteelle, mutta tästä saadaan arvio kokoluokalle, joka vaaditaan elektronin siirtämiseen saarekkeelle eli *Coulombin saarron* havaitsemiseen.

Tapaus 1: Keskimmäisen saarekkeen suhteen kapasitanssit ovat rinnan kytkettyjä.

$$C_{\Sigma 1} = C_{02} + C_{02} = 2C_{02} = 2 \cdot 0,594 \text{ aF} = 1,118 \text{ aF}$$

$$C'_{\Sigma 1} = 2 \cdot 0,848 \text{ aF} = 1,696 \text{ aF}$$

$$V_1 = \frac{1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}}{2 \cdot 1,118 \cdot 10^{-18} \text{ C}} = 0,07 \text{ V}$$

$$V'_1 = \frac{1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}}{2 \cdot 1,696 \cdot 10^{-18} \text{ C}} = 0,05 \text{ V}$$

Tapaus 2: Kaksi haaraa, jossa kaksi kapasitanssia sarjaan kytkettynä, on rinnan kytketty. Oletetaan, että jännite jakautuu tasaisesti kultapartikkelien välillä, jolloin vaaditaan 3 kertaa suurempi jännite kuin tapauksessa 1.

$$C_{\Sigma 2} = (C_{02} \parallel C_{02}) + (C_{02} \parallel C_{02}) = 2 \cdot \frac{1}{2} C_{02} = C_{02}$$

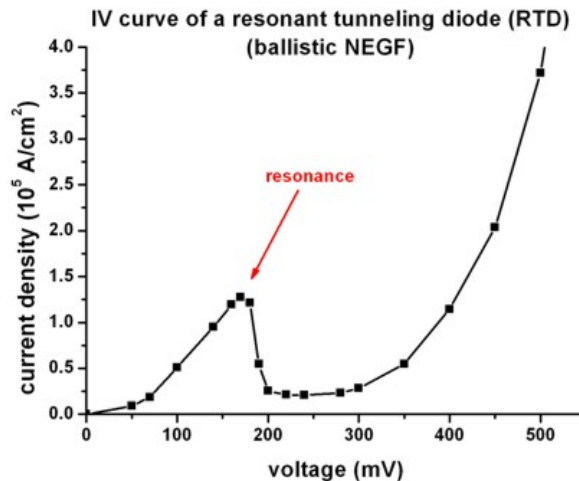
$$V_2 = 3 \cdot \frac{e}{2 \cdot C_{\Sigma 2}} = \frac{3 \cdot 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}}{2 \cdot 0,594 \cdot 10^{-18} \text{ F}} = 0,40 \text{ V}$$

$$V'_2 = \frac{3 \cdot 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}}{2 \cdot 0,848 \cdot 10^{-18} \text{ F}} = 0,28 \text{ V}$$

Tunneliliitosta pystytään tutkimaan myös differentiaalisen konduktanssin avulla: johtuen tunneloitumisesta ja systeemin energiatiloista elektronin tunnelointitaajuus vaihtelee elektronin energian funktiona. Differentiaalisen konduktanssin mittausta käytetään kvanttipisteiden ja muiden nanorakenteiden tutkimukseen, koska se antaa tietoa kappaleen elektronisesta rakenteesta. Esimerkiksi sitä pystytään hyödyntämään puolijohteiden ja hiilinanoputkien energiatilojen tiheyksien määrittämisessä. Mittaukset suoritetaan käyttämällä DC-jännitettä, jonka päälle on lisätty amplitudiltaan pieni, yleensä sinimuotoinen AC-jännite. Muutettaessa DC-jännitettä havaitaan, että differentiaalinen johtavuus muuttuu jännitteen funktiona ja yleensä saavuttaa maksimiarvon, silloin kun elektroni tunnelointitaajuus on suurin (konduktanssi on maksimissaan). Käytännössä differentiaalisen konduktanssin kohdalla mitataan IV-käyrän muutoksia eli derivaattaa, jolloin pystytään havainnoimaan helposti erilaisia transiitiota tai muutoksia mittauksessa. Yhden elektronin transistorin kohdalla *Coulombin saarto* näkyy  $dG, V$ -käyrässä kuoppana, jonka reunat pyöristyvät lämpötilan kasvaessa johtuen lämpöliikkeen aiheuttamasta johtavuudesta.

Tunneliliitosten ympäröimään saarekkeeseen pystyy muodostumaan myös resonanssitunneloitumistila. Kvanttimekaaninen tunnelointitodennäköisyys on aina alle yhden yhdelle tunneliliitokselle, mutta kahden seinämän muodostamalle systeemille on osoitettu olevan olemassa resonanssitila  $E_0$  [24], jolla todennäköisyys elektronin tunneloitumiselle kummankin seinämän läpi on yksi. Tätä kutsutaan resonanssitunneloitumiseksi.

Resonanssi-ilmiö kumpuaa saaren ja sen ympäröivien potentiaalivallien aiheuttamasta diskreetistä energiatasoista, jolloin elektronilla, jonka energia vastaa yhden saaren vapaan energiataason energiaa, on suurin todennäköisyys tunneloitua saarelle ja sieltä pois. Siirtymäkerroin  $T$  kuvaa todennäköisyyttä, millä tahdilla elektroni tunneloituu potentiaalivallin läpi. Resonanssitunneloitumisessa siirtymäkerroin saarekkeen kummallakin puolella on pienempi kuin yksi, mutta globaalsiirtymäkerroin on yksi johtuen samoista energiatasoista saarekkeella ja sen molemmilla puolilla. Elektroni pääsee siis tunneloitumaan suoraan kummankin potentiaalivallin läpi, jolloin ilmiö on hyvin nopea noin pikosekunttien luokkaa. Tämä näkyy IV-käyrässä (ks. 2.9) piikkinä ja negatiivisena resistanssina. Kun energia eroaa resonanssienergiasta, ei elektronilla enää ole suoraa reittiä tunneloitua, ja tunneloitumistodennäköisyys ja virta tippuvat. Resonanssitunneloitumista on havaittu erityisesti puolijohde kvantti-kaivorakenteilla [24], mutta myös hiilinanoputkilla ilmiö on pystytty mittaamaan [25]. Hiilinanoputkilla toimintaperiaate eli saarekkeen muodostuminen tunneliliitosten takia on samanlainen kuin konjugoidulla rakenteella, joten on mahdollista, että konjugoidulla rakenteella esiintyisi resonanssitunneloitumista.



Kuva 2.9: Resonanssitunneloitumisen vaikutus IV-käyrään: tietyllä ulkoisella potentiaalilla elektronien energia vastaa saaren tietyä energiataason energiaa, ja virta kasvaa johtuen suuremmasta tunneloitumistodennäköisyydestä [26].

### 2.1.5 Maadoitus, kohina ja lämpötilamittaus

Mittauksissa esiintyy aina kohinaa, joka voi häiritä mittauksia tai peittää havaittavat ilmiöt. Yleisimpiä virhelähteitä ovat ulkoisen häiriölähteen aiheuttamat virheet, mutta systeemi pystyy myös itse tuottamaan ilmiöitä, jotka haittaavat mittauksia. Tässä

kappaleessa käsitellään yleisimpiä sähköiseen mittaukseen liittyviä ongelmia kuten kohinaa ja maadoitusta. Häiriöt ovat harmillisen tärkeä osa mittauksia, koska työssä mitataan pieniä, nA-luokasta aina pA-luokkaan olevia virtoja.

### 2.1.5.1 Kohina

Lämpökohina on yksi tavallisimmista häiriölähteistä. Se johtuu varauksen kuljettajien satunnaisesta lämpöliikkeestä johdemateriaalissa ja sitä esiintyy kaikilla jännitteillä. Työssä käytettävät saarekkeet muodostavat kapasitiivisen systeemin, jolle lämpökohinan vaikutusta pystytään arvioimaan kapasitanssiin liittyvällä jännitteellä  $v_n$  [27], joka kuvaa häiriöön aiheuttamaa jännitettä systeemissä, ja se voidaan kirjoittaa muodossa

$$v_n = \sqrt{\frac{k_b T}{C}}, \quad (2.3)$$

missä  $k_b$  on Boltzmanin vakio,  $T$  on kappaleen lämpötila ja  $C$  on systeemin kapasitanssi. Yhtälöstä 2.3 voidaan nähdä, että alentamalla lämpötilaa kohinaa saadaan myös vähennettyä. Tunneliliitokseen liittyvän kapasitanssin kasvattaminen vähentää myös lämpökohinan vaikutusta.

Raekohina (eng. shot noise) on elektronisissa systeemeissä esiintyvä kohina, joka viittaa mitattavan signaalin satunnaiseen vaihteluun johtuen mitattavan suuren välittäjähiukkasen diskreetistä luonteesta ja lukumäärän fluktuaatiosta. Kun mitataan suuretta kuten sähkövirtaa, yleensä makroskooppisessa systeemissä mikrotason fluktuaatiot keskiarvoistuvat, jolloin mitattaessa havaitaan ilmiön keskiarvo. Kuitenkin heikoilla signaaleilla kuten pienillä virroilla (eli varauksen kuljettajien määrillä) satunnaistekijät vaikuttavat signaaliin. Sähköisissä mittausjärjestelmissä sähkövirtaa kuljettavat yleensä elektronit, joihin kohdistuu satunnais-fluktuaatiota. Nämä fluktuaatiot eivät riipu lämpötilasta tai signaalin taajuudesta toisin kuin lämpökohina, joten matalissa lämpötiloissa ja pienillä virroilla se voi nousta vaikuttavaksi häiriölähteeksi. Esimerkiksi tunneliliitoksissa esiintyy hyvin usein raekohinaa.

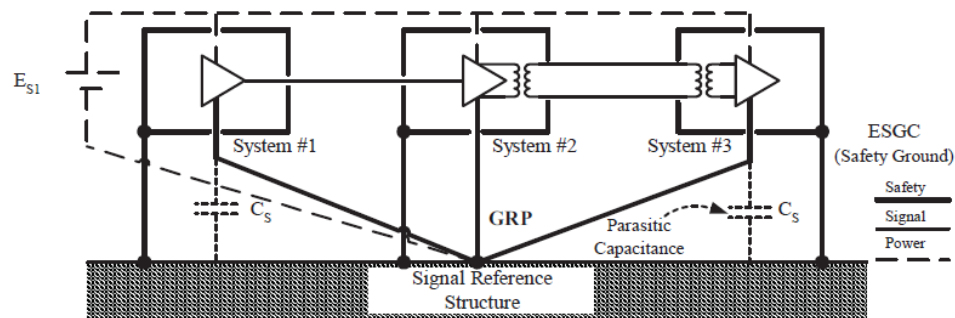
### 2.1.5.2 Maadoitus

Mittausjärjestelmän maadoitus on yksi tärkeä osa mittausta, sillä huonosti maadoitettu järjestelmä synnyttää virtasilmuksia tai on herkempi kytkeytymään ulkoisten häiriöiden kanssa. Periaatekuva työssä käytetystä mittausjärjestelmän signaalikaaviosta on esitetty kuvassa 2.10b. Häiriöt voivat summautua näytteeltä tulevan signaalin kanssa sekä ennen että jälkeen esivahvistimen. Yleensä esivahvistimen jälkeen tulevat virheet eivät haittaa, kunhan vahvistus on riittävän suuri. Tärkeämpää on poistaa tai ainakin minimoida häiriöt ennen vahvistinta. Esimerkiksi häiriölähteitä ovat muuntajat, voimajohdot, matkapuhelimet, staattiset purkaukset ja maavirrat.

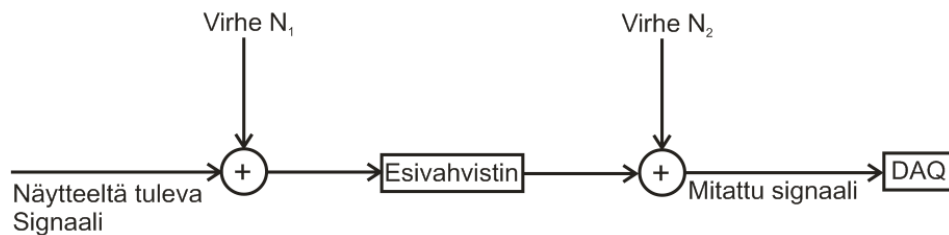
Tärkein huonon maadoituksen aiheuttama häiriö on maavirta tai -silmu. Se syntyy, kun kahden järjestelmän pisteen, joiden pitäisi olla samassa potentiaalissa, välillä on resistiivinen, kapasitiivinen tai induktiivinen kytkeytyminen, johon syntyy

jännitehäviö indusoi piiriin virran. Virta kulkee näiden pisteiden välillä ja se voi aiheuttaa virtapiikkejä tai kytkeytyä ulkoisen häiriön kanssa, joka aiheuttaa mittauksiin virheitä tai voi pahimmassa tapauksessa hajottaa näytteen. Laboratorio-olosuhteissa käytetään yleensä tähtitopologiaa maadoituksessa (ks. kuva 2.10a) [28]. Ideana on, että jokainen systeemin osa on erikseen maadoitettu samaan pisteeseen, jolloin eri osien välillä ei pääse kulkemaan virtaa. Etuna tässä topologiassa on yksinkertaisuus, mutta suurissa systeemeissä pitkät siirtolinjat kytkeytyvät helposti ulkoisen häiriön kanssa. Lisäksi siirtolinjalla on suurempi kapasitiivinen kytkeytyminen muualle piiriin. Tähtitopologiaa käytetään yleensä matalataajuuksisissa piireissä.

Toinen tärkeä asia mittauksissa on kaapelien suojaaminen ulkoista SM-kenttää varten, johon käytetään yleensä koaksiaalikaapeleita. Koaksiaalikaapelissa johdin on ympäröity metallisella vaipalla, joka estää sähköisen kytkeytymisen kaapelin ja ulkoisen kentän välillä. Työssä koaksiaalikaapeli maadoitettiin toisesta päästä aina, joka estää sähkökenttien kytkeytymisen systeemiin. Lisäksi jokainen laite ja linja on erikseen kytketty samaan maahan tähtitopologian mukaan. Erityisesti näytteen ja esivahvistimen välillä pitää olla hyvä maadoitus sekä johtimilla että laitteilla.



(a)



(b)

Kuva 2.10: (a)Maadoituksessa käytetty tähti-topologia. Jokainen systeemin osa on kytketty samaan maadoituspisteeseen omalla kaapelilla [28]. (b) Signaalin kaavio systeemeissä. Virhetermit summautuvat sekä ennen mittausta että mittauksen jälkeen.

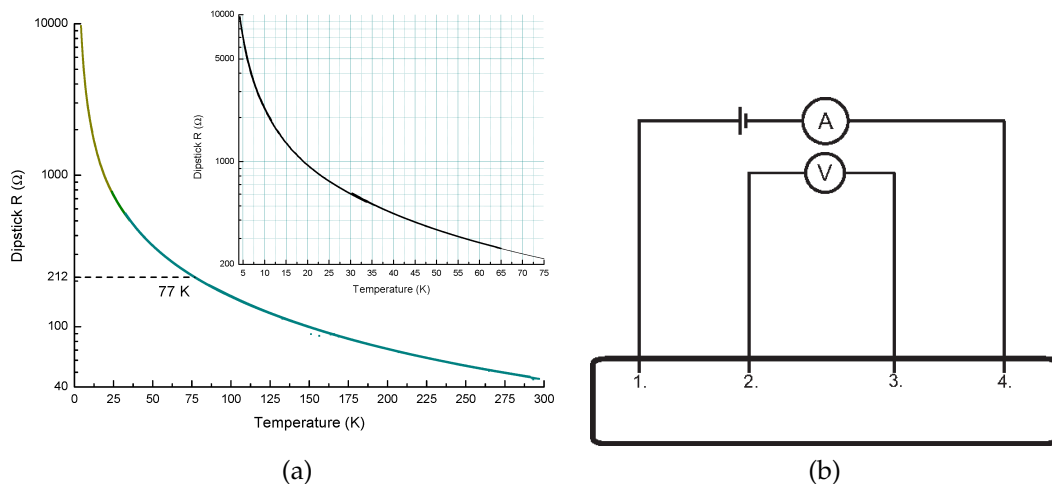
### 2.1.5.3 Lämpötilan mittaus ja nelipistemenetelmä

Työssä mitataan ilmiötä, kuten *Coulombin saarto*, jotka pystytään parhaiten havainnoimaan matalissa lämpötiloissa johtuen esimerkiksi lämpökohinasta sekä erityisesti rakenteen varautumisenergiasta  $E=e^2/2C_\Sigma$ , jonka täytyy olla suurempi kuin lämpöenergian  $k_b T$ . Tämän takia näytteitä mitataan 4,2 K eli nestemäisen heliumin lämpötiloissa.

lasta aina huoneenlämpötilaan. Jäähdytys saadaan aikaan upottamalla näyte, joka on kiinnitetty levyille, tankkiin, joka on täynnä nestemäistä heliumia tai nestemäistä typpeä. Yleensä liian suuren lämpötilagradientin välttämiseksi, joka voi aiheuttaa halkeamia levyyn, näyte jäähdytetään ensin nestemäisellä tyypellä ja sitten heliumilla. Kummassakin tapauksessa upottaminen tulee suorittaa hitaasti, jolloin näyte menee tasapainotilasta toiseen ilman suuria lämpötilan vaihteluita.

Mitattava lämpötila-alue asettaa haasteita käytettävälle mittarille, sillä hyvin usein lämpötila-anturit ovat herkkiä tietyllä kapealla alueella. Työssä käytetään mittaria, joka koostuu ohuesta resistiivisestä kalvosta. Tässä tapauksessa materiaalina käytetään germaniumia. Mittarin toiminta perustuu resistanssin muutokseen lämpötilan funktiona, joten ulkoinen jännitelähde tarvitaan mittauksissa. Näytteen resistanssi määritetään mittaamalla virta ja jännite ja käyttämällä *Ohmin lakia*.

Ohutkalvolämpötilamittareissa resistiivinen materiaali kiinnitetään keraamiselle pinnalle sopivalla litografisella menetelmällä, jolloin muodostuvan kuvion paksuus on 10 - 100 Å. Kuvio on yleensä yhtenäinen mutkitteluva viiva, joka on kytketty molemmista päistä ulkoiseen piiriin. Kalvo päällystetään epoksilla tai lasilla, joka suojaa kerrosta vaurioilta. Etuna ohutkalvolämpötilamittareissa on tarkkuus ja suuri toiminta-alue, mutta ohutkalvolämpötilamittari vaatii kalibroinnin, ja se on hyvin herkkä, joten yleensä mittari vaatii suojakuoren ympärilleen. Mittarin kalibraatiokäyrä on esitetty kuvassa 2.11a. Yleensä mitattava suure on kappaleen resistanssi, joka määritetään kappaleen virran ja jännitteen avulla.



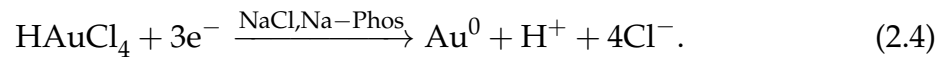
Kuva 2.11: (a) Käytetyn lämpötilamittarin kalibraatiokäyrä ja (b) nelipistemenetelmä.

Vaikka lämpötila-anturi olisikin tarkka, itse mittausjärjestelmä voi asettaa rajoitteita. Perinteisesti kappaleen resistanssi määritetään mittaamalla kappaleen yli oleva jännite sekä sen läpi kulkeva virta, jolloin kontakti kappaleeseen on kahden terminaalien kautta. Tällainen mittausjärjestelmä ei eliminoi kontaktiresistansseja sekä johtimien resistansseja, jotka voivat olla huomattavan suuret johtuen esimerkiksi juotoksista. Nämä virheet pyritään poistamaan käyttämällä nelipistemenetelmää (ks. kuva 2.11b), jossa virta ja jännite mitataan erillisistä terminaleista. Jännite terminaalit ovat kytketty aivan näytteeseen kiinni, jolloin jännitemittarin johtimissa

ei juurikaan kulje virtaa, ja jännite saadaan mitattua hyvin tarkasti. Virta mitataan normaalisti omista terminaaleistaan.

### 2.1.6 Kemiallinen kullan kasvatus

Pieniä kultarakenteita pystytään kasvattamaan kemiallisesti suuremmiksi käyttäen kaupallisia tuotteita. Työssä käytetyn kaupallisen tuotteen [29] ainesosat ja reaktio eivät olleet saatavilla. Kuitenkin peruseriaate kultakasvatuksessa on, että kultasuolaa  $\text{HAuCl}_4$  liitetään kultarakenteisiin pelkistämällä, jolloin pelkistäjänä toimii esimerkiksi trinatriumsitraatti  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ . Trinatriumsitraatti muodostaa myös anionisen kalvon nanopartikkelien päälle. Tämä kalvo hylkii muita kultapartikkeleita, jolloin estetään aggregaattien syntyminen. Kultasuolan pelkistysreaktio on seuraava:



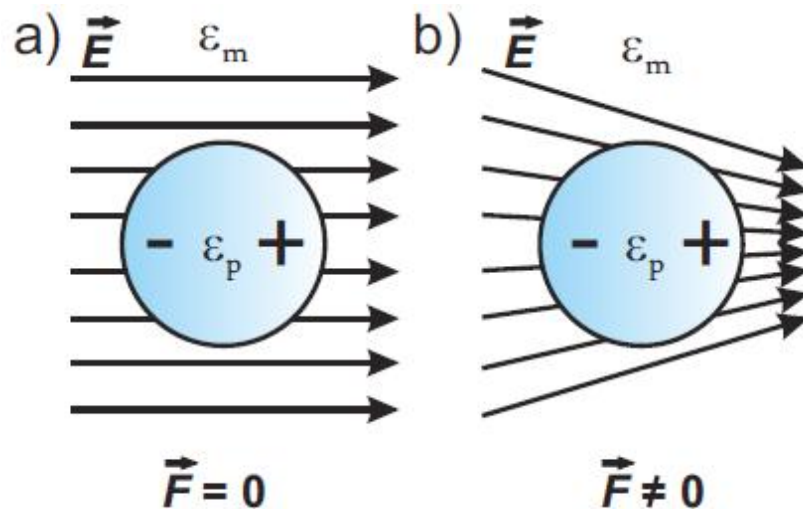
Kullan kasvu pitäisi olla isotrooppista, koska kultasuola pystyy reagoimaan kaikista kulmista näytteen kanssa. Kultasuolaliuos on tyypillisesti vaalean keltainen liuos, joka vaihtaa väriään kultasuolan pelkistyessä yhä isommiksi kokonaisuuksiksi. Tyypillisesti kemialliset reaktiot ovat satunnaisliikkeeseen perustuvia reaktiota, joissa kaksi kappaletta vaikuttaa toisiinsa, jos ne ajautuvat riittävän lähelle toisiaan. Kultakasvatusta pystytään hidastamaan laimentamalla liuosta, jolloin on epätodennäköisempää, että kultasuola reagoisi halutun rakenteen tai muiden molekyylien kanssa. Myös ulkoisen kullan esim. kultapartikkelien lisääminen kultakasvatulusliuokseen pitäisi hidastaa reaktiota, koska osa kultasuolasta reagoi kultapartikkeleiden kanssa. Tässä ongelmana on, että kultapartikkelit voivat tarttua rakenteeseen kiinni, joka aiheuttaa rakeisuutta näytteessä tai pahimmillaan voi pilata näytteen. Työssä kasvatetaan DNA-juosteilla päällystettyjä kultapartikkeleita. DNA-juosteet voivat vaikuttaa kullan kasvuun estämällä kultasuolan pääsyn kasvatettavan rakenteen pinnalle. DNA säilyy kuivana pitkiä aikoja, joten tämä voi aiheuttaa ongelmia kasvatustilaprosessissa.

### 2.1.7 Dielektroforeesi vangitseminen

Elektroforeesilla tarkoitetaan varautuneiden kappaleiden liikettä sähkökentässä kohti vastakkaista sähkövarausta. Dielektroforeesilla tarkoitetaan taas polarisoituvan, neutraalin tai varatun, kappaleen liikettä epähomogeenisessa kentässä. Yleisesti sähkökenttä indusoi kappaleen vastakkaisille pinnoille negatiivisen ja positiivisen varausjakauman (ks. kuva 2.12). Coulombin vuorovaikutus näiden varattujen pintojen ja kentän välillä aiheuttaa voiman kummallekin pinnalle. Jos kyseessä on homogeeninen kenttä, eri voimat kumoavat toisensa ja kappale pysyy paikallaan. Jos kyseessä on epähomogeeninen kenttä, niin kappaleeseen kohdistuu nollasta eroava nettovoima  $F_{DEP}$  [6]:

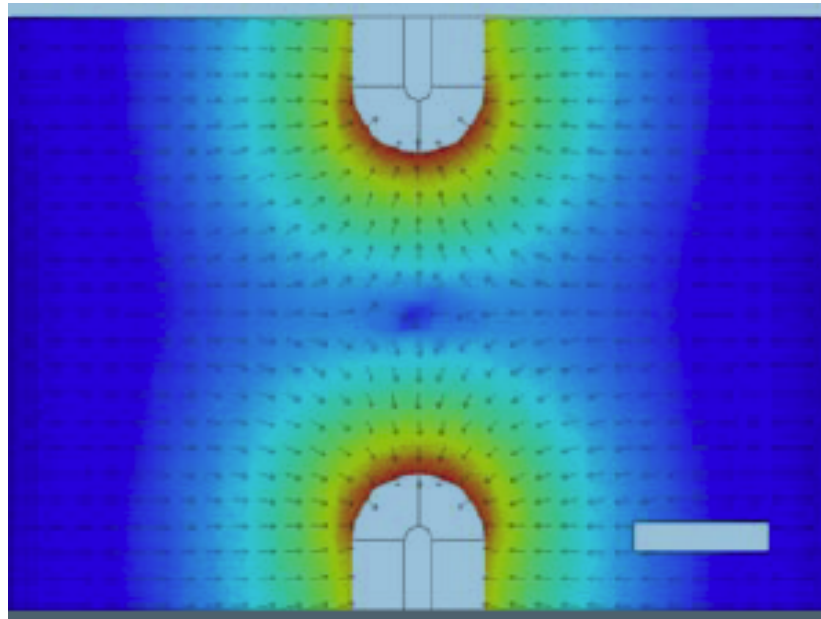
$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_m r_p^2 \cdot \text{Re}(K(\omega)) \text{grad}(E^2) , \quad (2.5)$$

missä  $\epsilon_m$  on välittäjäaineen permittiivisyys,  $r_p$  on kappaleen efektiivinen koko,  $K$  on *Clausius-Mossotti* tekijä, joka riippuu sekä kappaleen että välittäjäaineen permittiivisyydestä, ja  $E$  on ulkoinen sähkökenttä. Riippuen kappaleen ja sähkökentän välittäjäaineen permittiivisyydestä tämä nettovoima (kentän gradientti) siirtää kappaletta joko kohti sähkökentän minimiä tai maksimia: jos kappaleen permittiivisyys on suurempi kuin välittäjäaineen permittiivisyys, siirtyy kappale kohti maksimi ja kappaleen permittiivisyyden ollessa pienempi kuin välittäjäaineen permittiivisyys tilanne on päinvastoin. Yhtälössä 2.5 tämä esiintyy termissä  $K$ . Dielektroforeesia pystytään soveltamaan vaihtojännitekenttiin, koska vain kentän gradientti vaikuttaa kappaleen liikkeeseen, mutta elektroforeesin liike keskiarvoistuu nolliin.



Kuva 2.12: (a) Varattu kappale polarisoituu sähkökentässä, ja jos kyseessä on homogeeninen kenttä, ei nettovoimia kohdistu kappaleeseen. (b) Jos taas kappaleeseen vaikuttava sähkökenttä on epähomogeeninen, kappaleeseen kohdistuu nollosteroavat nettovoima [6].

Dielektroforeesia käytetään näytteen vangitsemiseen kahden toisistaan erillään olevan johtimen väliin. Tämä saavutetaan lisäämällä johdinten ympärille liuosta, jossa on tutkittavaa näytettä, ja kytkemällä johdinten väliin AC-kenttä kuten kuvassa 2.13. Tärkeää on, että näytteen permittiivisyys on oikea, jotta se ajautuisi kohti kentän maksimeja eli jäisi johdinten väliin johtuen kummankin elektrodin maksimin tasavahvasta vaikutuksesta. Vangitsemiseen vaikuttaa myös termiset voimat ja molekyylien satunnaisliike vesiliuoksessa, jotka haittaavat vangitsemista. Seuraavat kappaleet käsittelevät näitä tekijöitä.



Kuva 2.13: Kuvassa on esitetty AC-sähkökentän neliö, jota aiheuttaa polarisoituvien kappaleiden liikkeen kohti kentän maksimeita [6].

Yksi työn haasteista voi olla konjugaattirakenteen kestävyys dielektroforeesi vangitsemisessa: 15 emäsparin kiinnittyminen voi olla liian heikko DEP-toimien rinnalla, sillä kiinnityskohdassa ei ole yhdistetty juosteiden 3'- ja 5'-päitä yhteen ligaasi- ja kinaasikäsitteilyllä. Jos kaksoissidokseen kohdistuu liian suuri voima, alkaa se purkautumaan auki. Koska 3'- ja 5'-päitä ei ole yhdistetty, voi sidos BAB:n ja kultapartikkelien välillä katketa. Aikaisemmissa tutkimuksissa on havaittu [6], että kinaasi- ja ligaasikäsitellyt DNA-rakenteet ovat riittävän vahvoja kestääkseen DEP vangitsemisessa esiintyviä voimia, mutta näissä rakenteissa on 3'- ja 5'-päät yhdistetty toisiinsa.

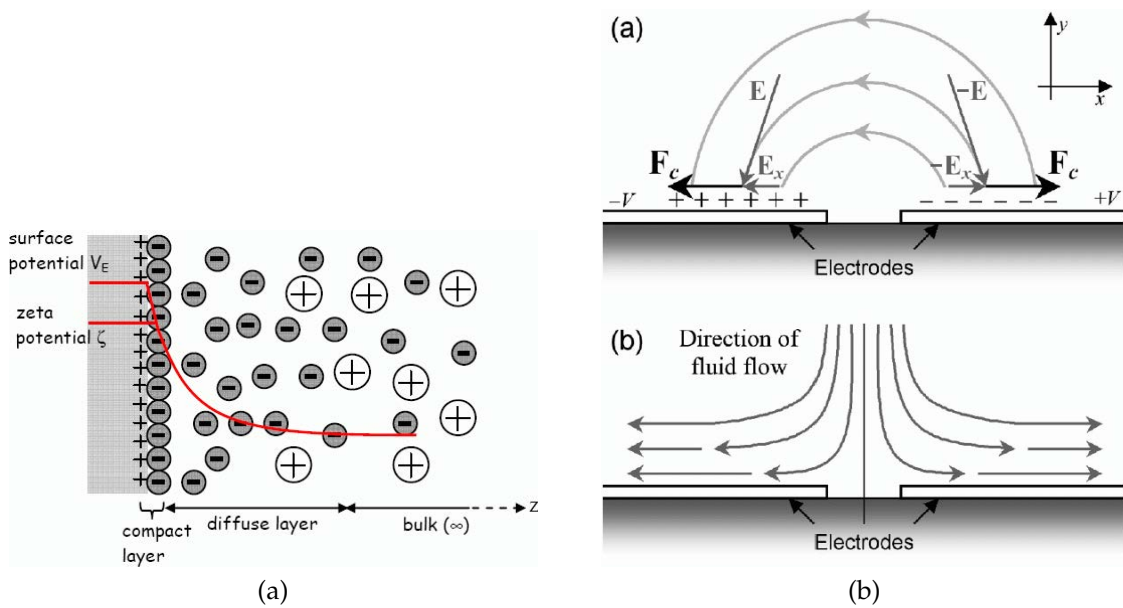
#### 2.1.7.1 AC elektro-osmoottinen virtaus, Brownin liike ja konvektio

Dielektroforeesi vangitseminen perustui epähomogeenisen AC-kentän kykyyn ajaa kappaleita kentän minimiin tai maksimiin. Kuitenkin johtuen liuoksessa olevista varauksista ja molekyyleistä, vangittaviin partikkeleihin kohdistuu virtauksia, jotka voivat olla dielektroforeesille vastakkaisia. Näistä kolme tärkeintä ovat AC elektro-osmoottinen virtaus, Brownin liike ja lämpövirtaukset eli konvektiot.

AC elektro-osmoottinen virtaus perustuu sähköisen kaksoiskerroksen (Electric double layer, EDL, ks. kuva 2.14a) muodostumiseen neste ympäröimän pinnan lähelle. Näyte voi olla esimerkiksi kiinteä kappale, kaasukupla tai huokoinen rakenne. Kerros muodostuu, kun tutkittavaan pintaan adsorboituu ioneja (joko negatiivisia tai positiivisia) kemiallisten vuorovaikutusten kautta. Nämä ionit vetävät puoleensa vastakkaisia varauksia liuoksesta, jolloin kaksoiskerros muodostuu näytteen pinnalle. Kaksoiskerros ei kuitenkaan ole täysin kiinteä, vaan *Sternin mallin* [30] mukaan EDL muodostuu diffuusio- ja kiinteän kerroksen yhdistelmästä. Diffuusiokerros viittaa ionien kykyyn liikkua muodostuneen staattisen kerroksen sisällä. EDL esiintyy



systemeissä, joissa pinta-alan suhde tilavuuteen on suuri, kuten nanorakenteissa. AC elektro-osmoottinen virtaus muodostuu vuorovaikutuksista sähköisen kentän ja EDL:n välillä. Systeemeissä, jossa kahta nanoelektrodia erottaa aukko (ks. kuva 2.14b), sähkökenttä synnyttää potentiaalilin elektrodien välille. Kentän elektrodien suuntainen komponentti ajaa EDL:n ioneja pois aukosta. Koska eri elektrodeilla on eri varaus, on tangentin suunta vastakkainen elektrodeilla ja aina aukosta pois päin. AC elektro-osmoottiseen virtaukseen vaikuttaa EDL:n paksuus, joka riippuu liuoksessa olevien partikkelien konsentraatiosta ja varauksesta eli liuoksen sähkönjohtavuudesta ja lämpötilasta.



Kuva 2.14: (a)EDL:n muodostuminen näytteen pinnalle ja (b) Sähkökentän vaikutus AC elektro-osmoottiseen virtaukseen [31].

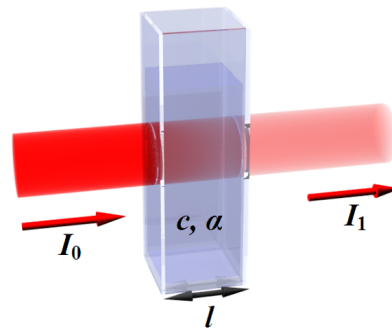
Elektrodirakenteessa sähkökenttä aiheuttaa konvektioliikettä johtuen lokaalista lämpötilan noususta. Liuoksissa esiintyy luonnostaan konvektiota, mutta nämä on osoitettu olevan pieniä verrattuna lämpötilan aiheuttamaan konvektioon. Sekä AC elektro-osmoottisen että lämpökonvektion aiheuttamaa virtausta elektrodirakenteessa on simuloitu [31], jolloin havaittiin, että lämpökonvektio riippuu käytettävästä AC-kentän amplitudista, kentän taajuudesta sekä liuoksen sähkönjohtavuudesta. Simulaatiossa havaittiin myös, että konvektiolle suuri taajuuksiset kentät (yli 12 MHz) ja korkea liuoksen sähkönjohtavuus (yli  $300 \mu S/cm$ ) kohdistavat virtaukset pois aukosta. AC elektro-osmoottisen virtauksen kohdalla vastaavilla parametreilla syntyy pyörteitä aukon kohdalle, jotka voivat edesauttaa vangitsemista. Lisäksi osmoottiset virtaukset ovat elektrodirakenteen suuntaisia, ja aukon kohdalla on virtaus kohti suorasti sitä kohti, joka voi helpottaa vangitsemista.

Brownin liikkeellä tarkoitetaan nesteissä ja kaasuissa olevien partikkelien satunnaisliikettä: nanokokoluokan partikkelit ovat jatkuvassa lämpöliikkeessä ja törmäävät toisiinsa muuttaen suuntaan ja nopeutta. Brownin liike vaikuttaa eniten pieniin partikkeleihin ja partikkelien koon kasvaessa vaikutus pienenee johtuen kappaleiden inertiaasta. Brownin liikkeellä on suuri vaikutus dielektroforeesi vangitsemiseen, kos-

ka kappaleeseen kohdistuma Brownin satunnaisvoima on käänteään verrannollinen tilavuuden kuutiojuureen  $F \propto V^{-1/3}$ . Pienet kappaleet kokevat suuremman satunnaisvoiman kuin suuremmat kappaleet ja niiden aukkoon ohjaamiseen vaaditaan suurempi dielektriforesivoima. Tämä voi toimia etuna, sillä yleensä vangittavat rakenteet ovat suhteessa suuria verrattuna yksittäiseen kultapartikkeliin. Tällöin vain haluttuja rakenteita ajautuu aukkoon ja pienet rakenteet kulkeutuvat pois. Esimerkiksi suodattamalla suuret rakenteet pois saadaan hyvin ohjautuva vangitseminen. On osoitettu [6], että dielektriforesissa käytetyt kentät ovat riittävän suuret, että työssä käytetyn DNA-rakenteen kohdalla Brownin liike ei vaikuta vangitsemiseen. Koska konjugoitu rakenne on suurempi kuin DNA-rakenne, pitäisi Brownin liikkeen haitata tai estää vain ei-haluttujen kappaleiden ajautuminen aukkoon.

### 2.1.8 UV-VIS spektroskopia

Nanokokoluokan partikkelien konsentraation mittaus asettaa haasteita tutkijoille johtuen partikkelien koosta, muodosta ja käytettävästä puskurista. Yksi tapa mitata konsentraatiota on käyttää optimisia menetelmiä kuten valon absorptiomittauksia. Absorptiomittauksissa näytteen, joka on liuoksessa, läpi kohdistetaan halutulla spektrillä valoa (kuva 2.15), jolloin liuos sekä tutkittava näyte absorboivat säteilyä. Määritettäessä näytteen absorptiota pitää laite kalibroida ensin, jolloin poistetaan liuoksen absorptio.



Kuva 2.15: Absorptio mittaus nestemäisestä näytteestä: tulevan valon intensiteetti  $I_0$  tippuu näytteessä, jolloin mittaamalla läpi menneen valon intensiteetti  $I_1$  saadaan näytteen absorptio määritettyä [33].

Havaittu absorptiospektri riippuu sekä liuoksesta että näytteen koostumuksesta, sillä erilaiset näytteet absorboivat eri aallonpituuksia ja tähän vaikuttaa kappaleen vaikutusala  $\sigma_{eff}$ . Esimerkiksi kultapartikkelien absorptio tapahtuu noin 500 nm aallonpituuksilla ja kultapartikkelien koon kasvaessa absorptiomaksimi siirtyy ylemmille aallonpituuksille. Näytteen konsentraatiolle voidaan johtaa *Beer Lambertin* laki [32]:

$$c = \frac{d \cdot A}{\epsilon \cdot l}, \quad (2.6)$$

missä  $A$  on näytteen absorptio mitatulla aallonpituudella,  $d$  on laimennoskerroin,  $l$  on näytepatsaan paksuus mitatusta kohdasta ja  $\epsilon$  on näytteen molaarinen absorptio-kerroin, joka ilmaisee miten hyvin näyte absorboi valoa mitatulla aallonpituudella. Tyypillisesti näytepatsaan paksuus on 1 mm, jota käytettiin myös tässä työssä. Lakia pystytään soveltamaan, jos seuraavat oletukset ovat voimassa [33].

- Näytteen eri partikkelit eivät saa vuorovaikuttaa keskenään.
- Liuoksen tulee olla homogeeninen, eikä liuoksessa saa olla virtauksia tai muita siroamislähteitä.
- Käytettävän valon tulisi olla monokromaattista sekä tulevan valon säteiden pitää kulkea sama matka liuoksessa.
- Käytettävä valo ei saisi aiheuttaa muutoksia tutkittavassa näytteessä esim. optista pumppaamista.

Käyttämällä laimeita liuoksia pystytään vähentämään partikkelien välisiä vuorovaikutuksia. Yleensä myös liuokset ovat kohtuullisen homogeenisiä sekoituksen jälkeen. Yhtälö 2.6 antaa konsentraation yhdelle aallonpituudelle. Nanokultapartikkeli-liuos sisältää usean kokoisia partikkeleita, jolloin koko liuoksen konsentraatio pitäisi laskea integraalinen tai summana kaikista partikkeleista. Osa partikkeleista on kuitenkin paljon pienempiä tai suurempia kuin tutkitut partikkelit, jotka ovat 5-20 nm halkaisijaltaan. Tämän kokoiset kultapartikkelit edustavat hyvin kapeaa aluetta spektristä, ja käytetään kultapartikkeli-liuoksen konsentraation arvioimiseen 520 nm aallonpituuden konsentraatiota, joka vastaa 20 nm kokoisten kultananopartikkelien plasmoniresonanssia.

## 2.2 Näytteiden valmistus ja mittaukset

Työssä käytettiin seuraavaa laitteisto: pinsetti, *Digital Instruments Dimension 3100* atomivoimamikroskooppi, VWR steriilit mikropipetin kärjet 10  $\mu$ l; 100  $\mu$ l ja 1 ml, *Agilent 33220A* funktiongeneraattori, optinen mikroskooppi, *Scientific industries Vortex Genie 2* värinäsekoitin, *Labnet* sentrifugi (kat. # C1301), 100 M $\Omega$  etuvastus, teippi, *Eppendorfin* muovisia koeputkia 200  $\mu$ l ja 1,5 ml, VWR mikropipetti 10  $\mu$ l ja 100  $\mu$ l, *Thermolab-systems* mikropipetti 1 ml, *Stanford research systems Model SR560/SR570* esivahvistin, *Stanford research systems Model SR830 DPS* lukitusvahvistin, jännitelähde JYU, suojattu metallirasia, *Amicon Ultra* sentrifugi-suodatin 100 KDa, VWR sentrifugi-suodatin 0,45  $\mu$ m (Lot.# 11550276), 2 kpl näyterasiaa, *Radiometer Copenhagen CDM3* johtokyky-mittari, *Eppendorf 5415C* sentrifugi, *BIO-RAD MyCycler* PCR-laite, *NanoDrop ND-1000* spektrometri, *BIOFUGE PICE Heraeus* sentrifugi, *AVS-47 picowatt* vastussilta ja *Fluke 75 multimeter* yleismittari. *BIOFUGEN* sentrifugia käytettiin kultapartikkelien konsentroidiin ja valmistukseen. *Eppendorfin* sentrifugia käytettiin näytteiden puhdistamiseen ja suodattamiseen. Esivahvistinta *SR560* käytettiin jännitteen mittaamiseen ja *SR570* toimi virran mittauksessa esivahvistimena. Käsiteltävät näytteet ovat puskurissa, jollei erikseen mainita ja työssä käytettiin seuraavia puskureita/reagensseja: 0,3 M NaCl/10 mM Na–Phos, 10 mM Na–Phos, steriloitu vesi, 1xTAE/500 mM MgAce, 1xTAE ja 6,5 mM Hepes/3 mM NaOH/1,5 mM MgAce.

### 2.2.1 BAB:n muodostaminen

Uuden rakenteen valmistamisessa käytettiin kirjallisuuden reseptiä [6] pienillä muutoksilla: gradientti jäädytyksessä on tiputettu puoleen. Vaikka resepti on tehty vanhemmalle TX-tiili rakenteelle, sen pitäisi toimia myös uudella TX-tiili rakenteella. Reseptissä juosteet pyritään pitämään pH 7.5 liuoksessa, sillä ne eivät pilkkoidu neutraalissa tai vähän emäksisessä liuoksessa. Käytetty Tris-EDTA-etikkahappo-liuos on hieman emäksinen, ja etikkahappoa käytetään tasapainottamaan pH:ta.

Valmis erä suodatetaan 100 kDA:n sentrifugisuodattimella, jolloin käytettiin seuraavaa reseptiä: lisättiin 150  $\mu\text{l}$  näytettä suodattimeen, lisättiin 250  $\mu\text{l}$  1xTAE/12,5 mM magnesiumasetaatti puskuria, asetettiin suodatin sentrifugiin, säädettiin voima 4000 rcf ja pyöritettiin 8 min. Otettiin suodatin osa, jossa suodatettua näytettä oli alle 50  $\mu\text{l}$ , pois putkesta ja laitettiin se uuteen putkeen ylösalaisin. Asetettiin suodatin ja putki uudestaan sentrifugiin ja pyöritettiin 4 min samalla voimalla. Määritettiin 100  $\mu\text{l}$  mikropipetillä saadun erän tilavuus pipetoimalla näyte pipettiin ja tiputtamalla tilavuutta pipetistä, kunnes näyte oli liikkunut kärjen päähän asti. Yleisesti kaikkien suodatettujen erien tilavuus oli alle 50  $\mu\text{l}$ , joten lisättiin riittävästi 1xTAE/12,5 mM magnesiumasetaatti puskuria, kunnes tilavuus oli 50  $\mu\text{l}$ . Tällöin teoreettinen konsentraatio oli  $322 \text{ nM} \cdot 3 = 944 \text{ nM}$ . Varmistettiin lopuksi näytteen saanto kuvaamalla se AFM:llä, jolloin BAB:t adsorboitiin mica-levyn pinnalle seuraavasti: teipillä repäistiin mica-levystä puhdas pinta, jolla pipetoitiin 10  $\mu\text{l}$  näytettä. Annettiin sen inkuboitua 1-2 min ajan, jonka jälkeen pinta pestiin neljä kertaa 60  $\mu\text{l}$  steriloitua vettä juoksuttamalla vesi levyn läpi. Lopuksi levy kuivattiin typpikaasulla.

### 2.2.2 Kultapartikkelien funktionalisointi

Kultapartikkelien funktionalisointi perustuu *Institute of Photonic Technology:n* (IPHT) kehittämään protokolaan [35]. Kultapartikkelit oli valmistettu kirjallisuudesta löytyvällä synteisillä [36, 37] ja ne funktionalisoitiin seuraavasti:

- Kultapartikkelit laitettiin sentrifugiin 2 h ja  $20000 \times g$ . Konsentroidusta liuoksesta poistettiin ylimääräinen liuos ja lisättiin 1 ml vettä.
- Kultapartikkelien konsentraatio määritettiin mittaamalla UV-VIS:llä spektri ja laskemalla absorptiosta konsentraatio.
- Laskettiin vaadittava juosteiden tilavuus, kun oletettiin, että suhteessa juosteita on kymmenkertainen määrä verrattuna kultapartikkeleihin. Lisättiin määrä noin 1 ml kultapartikkeleita.
- Asetettiin partikkelit vorteksiin 16 h huoneenlämpötilaan, jolloin liuosta sekoitettiin hitaasti.
- Lisättiin noin 100  $\mu\text{l}$  1 M NaCl/0,1 M Na-Phos puskuria (pH 7) erissä (esim. 10  $\mu\text{l}$ +30  $\mu\text{l}$ +30  $\mu\text{l}$ +30  $\mu\text{l}$ ) samalla tarkkaillen liuoksen väriä. Kun liuokseen tuli hieman violetti sävy, lisääminen lopetettiin. Värin muutos viittaa aggregoitumiseen, jota ei ole haluttua.
- Asetettiin liuos vorteksiin 40 h huoneenlämpötilaan hitaasti sekoittumaan.

- Konsentroidaan liuokset sentrifugissa  $20000 \times g$  3 h. Poistetaan ylimääräinen liuos ja lisätään saman verran 10 mM Na–Phos liuosta. Pestään näin 2-3 kertaa, mutta viimeisellä kerralla lisätään 0,3 M NaCl/10 mM Na–Phos puskuria (pH 7.0). Tämä siksi, että NaCl:n avulla saadaan juosteet irti kultapartikkelista.
- Säilötään jääkaappiin 4 °C.

### 2.2.3 BAB:n ja kultapartikkelien konjugointi

Konjugointi aloitettiin mittaamalla kultapartikkeli-näytteen spektri ja määrittämällä siitä konsentraatio käyttäen *Beer-Lambertin* lakia yhtälöstä 2.6. Spektrit mitattiin laimentamalla ensin steriloidulla vedellä kultapartikkeli-liuosta sopivasti esim. käyttäen nelinkertaista laimennosta. Annettiin laitteen ensin kalibroida itsensä ja poistettiin taustat mittaamalla veden spektri. Tämän jälkeen puhdistettiin paperilla mitta-anturi ja valonlähde ja asettiin anturille 1,5-2  $\mu\text{l}$  näytettä. Mitattiin näytteen spektri. Ohjearvona on, että absorptio tulee olla alle 0,1. Jos näytteen absorptio oli yli 0,1, laimennettiin liuosta lisää, kirjattiin laimennos ylös ja mitattiin spektri uudestaan. Tällöin taustoja ei poistettu. Kun sopiva spektri saatiin mitattua, tulostettiin se. Puhdistettiin kumpikin mittalaitteen osa näytteestä vedellä ja paperilla, jolloin tarkistettiin spektrin mittauksella, että näytettä ei ollut jäänyt juurikaan anturiin. Mitattiin tämän jälkeen uusi spektri.

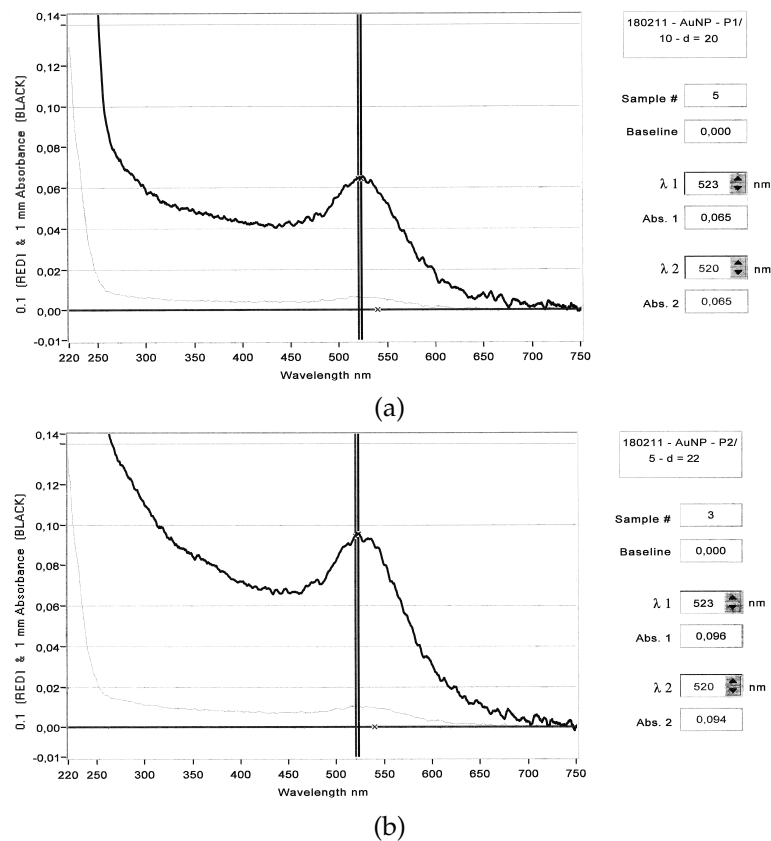
Molaarisen absorptiokertoimen  $\epsilon$  määrittämiseksi tarvittiin kultapartikkelien koko, joka määritettiin adsorboimalla mica-levylle haluttu näyte kuten BAB:ta kuvattaessa ja mittaamalla kultapartikkelien korkeus. Kultapartikkelien koko oli noin 5 nm ja kertoimeksi saatiin  $1 \cdot 10^7 \text{ l/M}\cdot\text{cm}$  [34]. Tulokset on esitetty taulukossa 2.2. Lasketaan konsentraatio kahdelle kultapartikkeli-näytteelle (spektri esitetty kuvissa 2.16a ja 2.16b) käyttäen yhtälöä 2.6 seuraavasti:

$$c_{P_1} = \frac{d \cdot A_{520}}{\epsilon \cdot l} = \frac{20 \cdot 0,065}{0,1 \text{ cm} \cdot 1 \cdot 10^7 \text{ l/M}\cdot\text{cm}} = 1,3 \mu\text{M}$$

$$c_{P_2} = \frac{22 \cdot 0,094}{1,7 \cdot 10^7 \text{ l/M}\cdot\text{cm} \cdot 0,1 \text{ cm}} = 1,216 \mu\text{M} \approx 1,2 \mu\text{M}$$

Taulukko 2.2: Funktionalisoitujen kultapartikkeliliuosten konsentraatiot. Alaindeksit 1/A viittaavat taulukon 2.1 A-tiilen sekvensseihin ja 2/B vastaavasti B-tiilen sekvensseihin.

Kultapartikkelierä	Konsentraatio (nM)
$P_1$	1300
$P_2$	1200
$P_A$	210
$P_B$	600



Kuva 2.16: (a) Kultapartikkelien  $P_1$  spektri. Vahvempi viiva on 1 mm kyvetillä mitattu ja heikempi on 0,1 mm kyvetillä mitattu spektri ja (b) kultapartikkelien  $P_2$  spektri. Vahvempi viiva on 1 mm kyvetillä mitattu ja heikempi on 0,1 mm kyvetillä mitattu spektri.

Kultapartikkelit liitettiin BAB-rakenteeseen käyttäen kahta eri tekniikkaa: kummassakin kahta eri kultapartikkelia sisältävät liuokset ja BAB:ta sisältävä liuos sekoitettiin yhteen tietyssä suhteessa. Erona on, että toisessa tämä seos lämmitettiin PCR-laitteella  $45\text{ }^\circ\text{C}$  ja jäädytettiin  $21\text{ }^\circ\text{C}$  ja toisessa seosta haudutettiin huoneenlämmössä tietty aika. Sekoitussuhteena on tarkoitus käyttää  $\text{BAB:AuNP}_A:\text{AuNP}_B=1:1:2$  tai suurempaa määrää kultapartikkeleita A ja B suhteessa BAB:hen, mutta osassa näytteitä käytettiin suhdetta  $\text{BAB:AuNP}_A:\text{AuNP}_B=1:1:1$ . Säädettiin magnesiumaseptaanin konsentraatio välille 7-8 mM, ja BAB:n puskurin 1xTAE ja kultapartikkelien puskurin 0,3 M NaCl/ 0,01 M Na-Phos suhde noin 1:2. Taulukossa 2.3 on esitetty neljä käytettyä reseptiä. Kun aineet oli sekoitettu keskenään  $150\text{ }\mu\text{l}$  PCR-putkeen, laitettiin putki PCR-laitteeseen. Lämmitettiin näyte  $45\text{ }^\circ\text{C}$ , annettiin stabiloitua 30 s ajan ja annettiin jäähtyä  $0,0025\text{ }^\circ\text{C/s}$  gradientilla  $21\text{ }^\circ\text{C}$ , annettiin stabiloitua 30 s ajan ja siirrettiin säilytykseen  $9\text{ }^\circ\text{C}$ . Jos näytettä haudutettiin, siirrettiin näytteen sisältävä putki pimiöön, jossa sen annettiin olla 3-5 h. Kuvattiin näyte lopuksi AFM:llä, josta pääteltiin konjugointiaste.

Taulukko 2.3: Eri konjugointierien komponenttien/puskurien tilavuudet sekä magnesiumasetaatin konsentraatio.

Erä	$Au_A$ ( $\mu\text{l}$ )	$Au_B$ ( $\mu\text{l}$ )	BAB ( $\mu\text{l}$ )	TAE ( $\mu\text{l}$ )	TAE:MgAce ( $\mu\text{l}$ )/ $C_{Mg}$ (mM)
060511	$P_1: 1$	$P_2: 2$	1	-	4,5/8,3
090511	$P_1: 1$	$P_2: 2$	1	0,8	3,9/7
020211	$P_A: 2,4$	$P_B: 3$	1,5	-	1,5/4,5
090211	$P_A: 2,7$	$P_B: 1,8$	4	1,5	7,5/8,3

## 2.2.4 Konjugaattirakenteen vangitseminen Dielektrofooresilla

Ennen dielektrofooresi vangitsemista näyte suodatettiin  $0,45 \mu\text{m}$  sentrifugisuodattimella, jolloin pyrittiin poistamaan epäpuhtaudet kuten aggregaatit. Vangitsemisessä käytettiin Hepes/NaOH/MgAce puskuria, jonka sähkönjohtokyvyksi mitattiin  $300 \mu\text{S}/\text{cm}$ . Magnesiumasetaattia käytettiin pH:n säätämiseen 7,5:een, sillä pH oli yli 8, kun Hepes ja NaOH oli lisätty veteen. Lisäksi  $\text{Mg}^{2+}$  ionit osaltaan parantavat rakenteiden kestävyyttä. Suodatus sekä vangitseminen tehtiin seuraavasti:

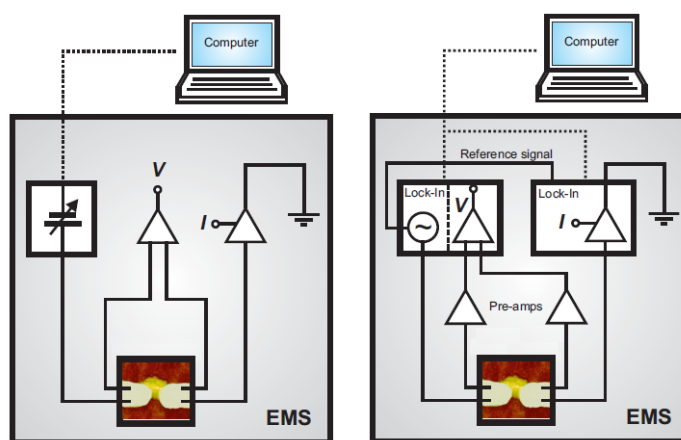
- Laimennettiin  $0,45 \mu\text{m}$  eppendorf-suodattimeen vähintään  $50 \mu\text{l}$  neljäsosaan laimennettua konjugaattirakenneliuosta. Suositus  $50 \mu\text{l}$  tilavuudelle on annattu valmistajan puolesta.
- Asetettiin Eppendorf-suodatin sentrifugiin, käytettiin 2000 rfc voimaa sekä asetettiin ajaksi 6 min.
- Kytettiin elektrodirakenne kiinni vangitsemisalustaan. Pidettiin alusta koko ajan maadoitettuna ja näytettä kiinnitettäessä käytettiin aina maadoitusranneketta. Laitettiin vangitsemisalusta metallilaatikkoon, johon oli kytketty ulostulo koaksiaalikaapelille.
- Kytettiin vangitsemisalusta vaihtojännitelähteeseen käyttäen  $100 \text{M}\Omega$  etuvastusta.
- Suodatettu konjugaattiliuos laimennettiin sopivaksi käyttäen samaa Hepes/NaOH puskuria, lisättiin  $10 \mu\text{l}$  liuosta elektrodirakenteen päälle ja laitettiin jännite päälle.
- Halutun ajan jälkeen jännite kytkettiin pois päältä, poistettiin vangitsemisalusta laatikosta ja irroitettiin näyte vangitsemisalustasta. Pestiin näyte ensin  $6,5 \text{mM}$  Hepes/ $3 \text{mM}$  NaOH liuoksella huuhtelemalla sitä suurella määrällä (n.  $60 \mu\text{l}$ ) kolme kertaa. Tämän jälkeen elektrodirakenteen myötäisesti juoksetettiin noin  $60 \mu\text{l}$  steriloitua vettä neljä kertaa ja kuivattiin se typpikaasulla.
- Kuvattiin elektrodirakenne AFM:llä.

Aluksi ei käytetty  $100 \text{M}\Omega$  etuvastusta, mutta muutaman vangitsemisyriksen jälkeen havaittiin hyvin paljon hajonneita elektrodeja, joten päätettiin rajoittaa mahdollista virtaa lisäämällä etuvastus.

## 2.2.5 Konjugaattirakenteen sähköiset mittaukset ja kullan kasvat- tus

Työssä mitataan aluksi 3-konjugaattirakenteen differentiaalinen konduktanssi sekä IV-käyrät, joissa pyrittiin havaitsemaan *Coulombin saarto*. Käytetty laitteisto on esitetty kuvassa 2.17. Näyte asetettiin ensin maadoitettuna vastaavaan vangitsemisalustaan kuin DEP-vangitsemisessä, ja siirrettiin mittaushuoneeseen metalliseen laatikkoon. Laatikolla pyrittiin estämään ulkoisen SM-kentän vaikutusta mittauksiin. Lisäksi maadoitettiin samaan potentiaaliin koaksiaalikaapelit kummaltakin puolelta näytettä, jolla pyrittiin estämään jännitepiikkien syntyminen, koska näyte on todettu hyvin herkäksi DEP-vangitsemisessä. Mittauksissa käytettiin esivahvistimia, koska mitattu virta oli korkeintaan muutamia nanoampeereja ja yleensä alle pikoampeerin.

Differentiaalisen konduktanssin mittauksessa näytteeseen kytkettiin signaali, joka oli tasajännitteen ja vakio AC-signaalin superpositio. Mitattiin sekä differentiaalista virtaa ja jännitettä että tasajännitettä seuraavasti: tasajännitteellä käytettiin alipäästösuotimella varustettua etuvahvistinta ja differentiaalisissa mittauksissa käytettiin sekä jännitteelle että virralle alipäästösuotimella varustettua esivahvistinta, joka oli kytketty lukitusvahvistimeen. Lukitusvahvistimessa käytettiin seuraavia parametrejä: aikavakio 800 ms, herkkyys 100 mV ja etuvahvistimen herkkyys oli 1 nA/V. AC-mittauksissa sinimuotoisen AC-signaalin taajuus oli 13 Hz ja amplitudi 4 mV. Tiedot siirrettiin koaksiaalikaapelia pitkin tietokoneelle.



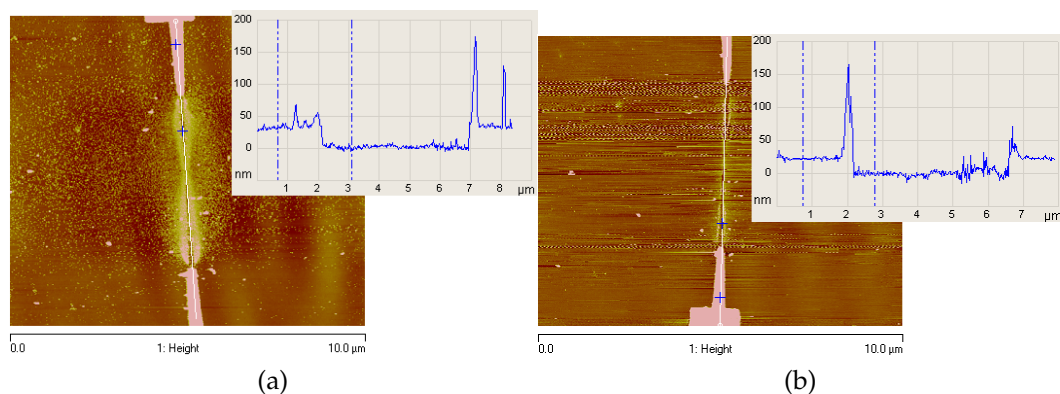
Kuva 2.17: Sähköisissä mittauksissa käytetty mittaustaitteisto: Vasemmalla on IV-käyrien mittauksissa käytetty laitteisto ja oikealla on differentiaalisen konduktanssi mittauksissa käytetty laitteisto.

Havaittiin, etteivät valmistetut 3-konjugaattirakenteet johtaneet itsessään, joka johtuu todennäköisesti liian suuresta aukosta kultapartikkelien välillä. Tämän takia päätettiin kasvattaa kultapartikkeleita *NanoGold*-kultasuolaliuoksella [29]. *NanoGold*-kultasuolaliuos sisältää neljä eri liuosta: Enhancer (liuos A), Activator (liuos B), Initiator (liuos C) ja puskuri 0,05 M Na-Phos/ 0,1 M NaCl (pH 6,1, liuos D). Tavoitteena on saada noin 1-10 nm kasvu säätämällä vain aikaa. Kultakasvatus aloitettiin *NanoGold*-ohjekirjasta löytyneellä reseptillä:



- Laitetaan koeputkeen liuoksia A ja B yhtä paljon. Seos sekoitetaan varovasti mikropipetillä pumppaamalla näytettä edestakaisin.
- Annetaan liuoksen aineosien vaikuttaa keskenään noin 5 minuutin ajan.
- Lisätään liuosta D koeputkeen yhtä paljon kuin A:ta ja B:tä. Lopuksi lisätään liuos C, jota tulee yhtä paljon kuin muitakin aineosia.
- Otetaan mikropipetillä A:n,B:n,C:n ja D:n muodostamaa liuosta 10  $\mu\text{l}$  ja laitetaan se näytteen päälle.
- Annetaan vaikuttaa 1 min.
- Puhdistetaan näyte juoksuttamalla noin 50-60  $\mu\text{l}$  vettä näytteen läpi neljä kertaa.
- Kuivataan lopuksi näyte typpikaasulla.

Valmistajan ohjeilla kokeiltiin kasvattaa ensin tyhjiä kultaelektrodeja 20 s ajan. Tällöin havaittiin 30-40 nm kasvu, joka on paljon suurempi kuin mitä haluttu kasvu. Kasvu mitattiin vertailemalla ennen ja jälkeen kuvien korkeuksia keskenään, jolloin mitattiin korkeuden keskiarvo koko kultaelektrodin matkalta. Tämän jälkeen kokeiltiin laimentaa A:n,B:n,C:n ja D:n liuosta vedellä, jotta saataisiin pienempi kasvunopeus. Ensimmäisessä vaiheessa 6  $\mu\text{l}$ :aan seosta laitettiin 20  $\mu\text{l}$  steriloitua vettä. Tällöin reseptiä noudatettiin muutoin ja havaittiin 7-11 nm kasvu (ks. kuva 2.18a and 2.18b). Vastaavanlaisia kultakasvatuksia kokeiltiin myös parilla muulla näytteellä, jolloin saavutettiin haluttu 1-10 nm kasvu. Kasvatetuista rakenteista tuli kuitenkin hyvin rakeisia, joka voi aiheuttaa sähköisissä mittauksissa piikkejä tai kasvattaa saarekkeen kiinni elektrodeihin.

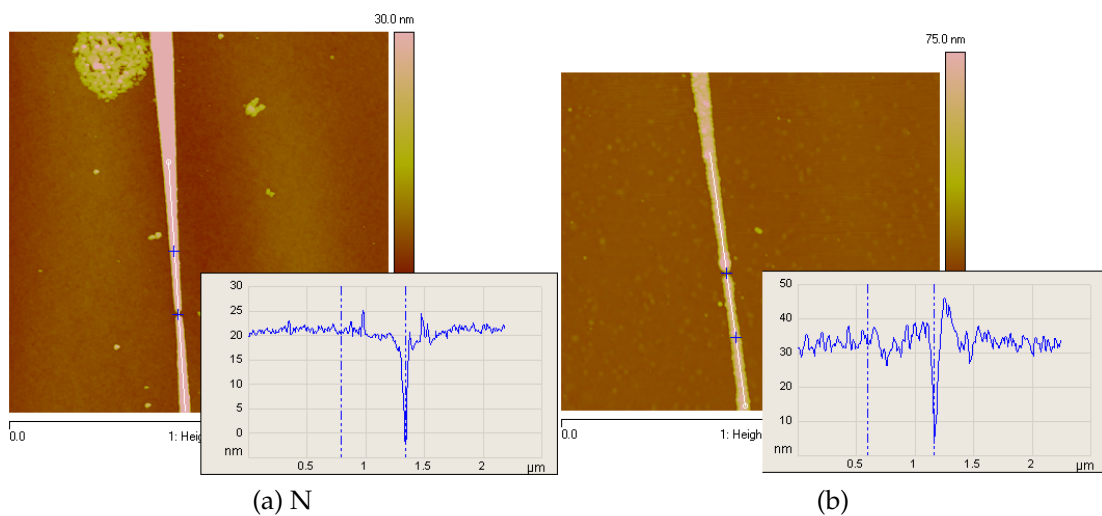


Kuva 2.18: Kultakasvatus näytteelle 9: Oikealla ennen kasvatusta ja vasemmalla jälkeen. Havaittiin noin 7-11 nm kasvu.

Lopulta päädyttiin laimentamaan enhanceria ja bufferia 12 kertaa laimeammaksi, jolloin AFM:llä kuvatessa havaittiin noin 5-8 nm kasvu näytteen 26 kohdalla (ks. kuva 2.19a and 2.19b). Tässä etuna oli vähemmän rakeinen rakenne, joten jokaisessa tulevassa kultakasvatuksessa päädyttiin käyttämään seuraavaa reseptiä: sekoitettiin yhteen ensin kaksitoista kertaa laimennettua A:ta ja B:tä yhtä paljon, odotettiin 5 min,

sekoitettiin joukkoon kaksitoista kertaa laimennettu D:tä ja C:tä saman verran ja lisättiin näytteen elektrodirakenteen päälle, jonka jälkeen odotettiin 15-30 s.

Tyhjillä kultaelektrodeilla tehtyjen kokeiden jälkeen kasvatettiin näytteitä, joissa oli vangittuna konjugaattirakenne. Koska useimmat näytteet eivät johtaneet yhden kultakasvatuksen jälkeen, jouduttiin etsimään sopivia parametrejä, jolla saavutettaisiin alle 2 nm kasvu. Kultakasvatus perustuu kultasuolan pelkistämiseen kullan pinnalle. Tämän takia lisättiin ei-funktionalisoituja kultapartikkeleita liuokseen, jotta saataisiin lisättyä pinta-alaa ja näin ollen pienennettyä kasvunopeutta. Päädyttiin käyttämään kuusi kertaa laimennettu kultapartikkeli-liuosta, jolloin laimennetun kultapartikkeli-liuoksen konsentraatio oli 27 nM. Lisättiin sitä yhtä paljon kuin muita ainesosia ja lisäys tapahtui yhtä aikaa C:n ja D:n kanssa.



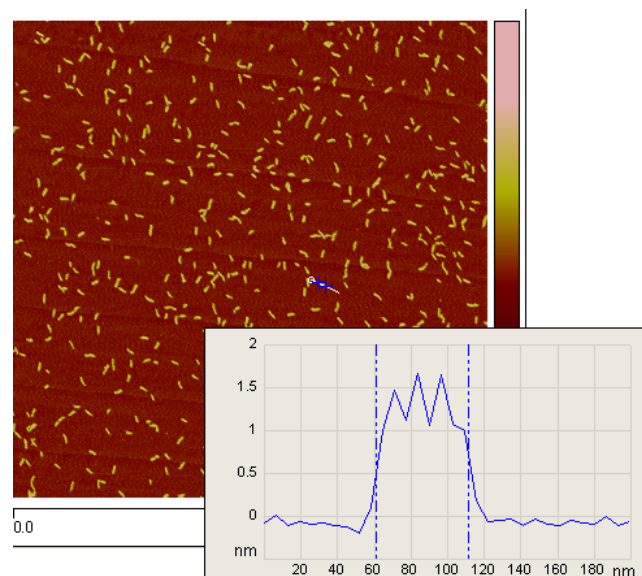
Kuva 2.19: Kultakasvatus näytteelle 26: Vasemmalla ennen kasvatus ja oikealla jälkeen kasvatuksen. Havaittiin noin 7-11 nm kasvu.

Työssä mitattiin myös kappaleen lämpötila käyttäen Cernox-lämpötilamittaria, joka oli valmiiksi kiinni matalan lämpötilan mittauksissa käytetyssä kepissä. Lämpötilan mittausta suoritettiin nelipistemittauksella, jossa kappaleen läpi kulkeva virta ja jännite mitattiin ja tallennettiin tekstitiedostoon. Esivahvistimena käytettiin AVS-47 picowatt-vahvistinta, ja lämpötilamittarin kalibraatiokäyrä on esitetty kuvassa 2.11a.

# Luku 3

## Tulokset ja havainnot

Ennen jokaista konjugointia valmistettiin BAB-erä. BAB-erien suhteen ei havaittu työn aikana eroja, vaan rakenteiden koko oli väliltä 50-70 nm, saanto hyvä ja hyvin usein rakenteen päällä oli havaittavissa piikkejä, jotka vastaavat kolmea kiinnityskohtaa. BAB:n teoreettinen koko on 55 nm, mutta kuivussa DNA voi painua kasaan hieman, jolloin 50 nm koko on mahdollinen. Kuvassa 3.1 on esitetty tyypillinen BAB-erä ja kaikki käytetyt BAB-erät olivat vastaavia.

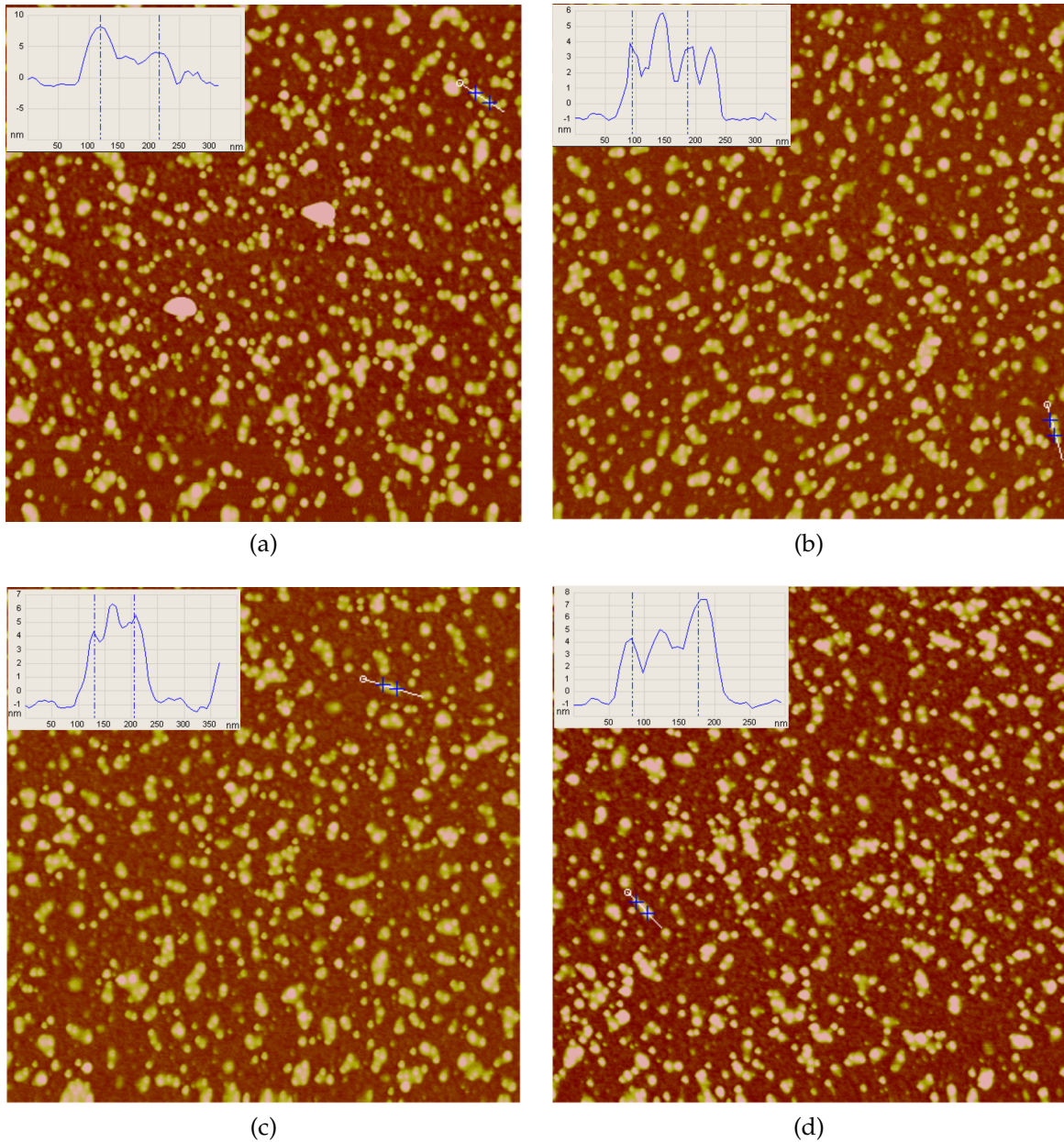


Kuva 3.1: Tyypillinen valmistettu BAB-erä.

### 3.1 DNA-rakenteen muodostuminen ja konjugointi

Työssä tarkastellaan neljää eri konjugaattierää, joista osaa käytettiin myöhemmin dielektriforeesi vangitsemisessa. Osa eristä on valmistettu haudutusprosessissa ja osa lämmitysprosessilla. Ensimmäinen oli erä 060511 (valmistettu lämmitysprosessilla), joka tuotti hyvän 3-konjugaatti saannon. Kuvista 3.2a, 3.2b, 3.2c ja 3.2d on havaittavissa, että näytteessä esiintyy paljon 3-konjugaatteja ja lisäksi 2-konjugaatteja, yksittäisi

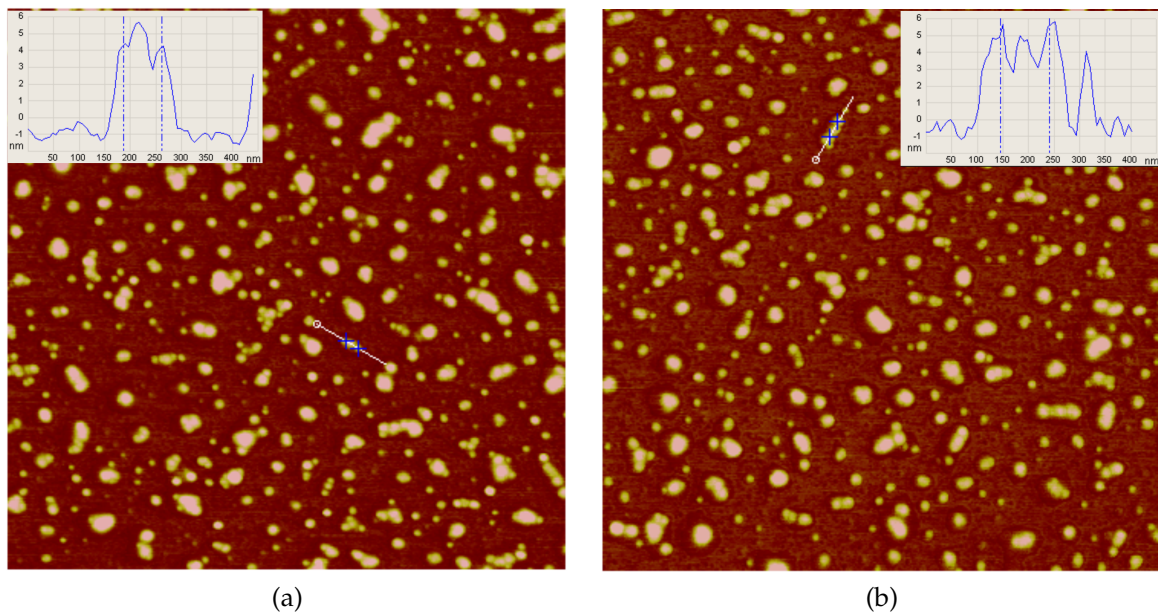
kultapartikkeleja ja aggregaatteja. 2-konjugaattien olemassaolo voisi viitata liian pieneen A-tiilen kultapartikkelien määrään. Kuitenkin esimerkiksi osa yksittäisistä kultapartikkeleista voi olla A-tiilen kultapartikkeleja, jotka eivät ole kiinnittyneet BAB-rakenteeseen johtuen *Coulombin* voimista kultapartikkelien välillä tai konjugoinin geometriaan liittyvistä steerisistä voimista.



Kuva 3.2: BAB-AuNP-conjugaatti erä 060511

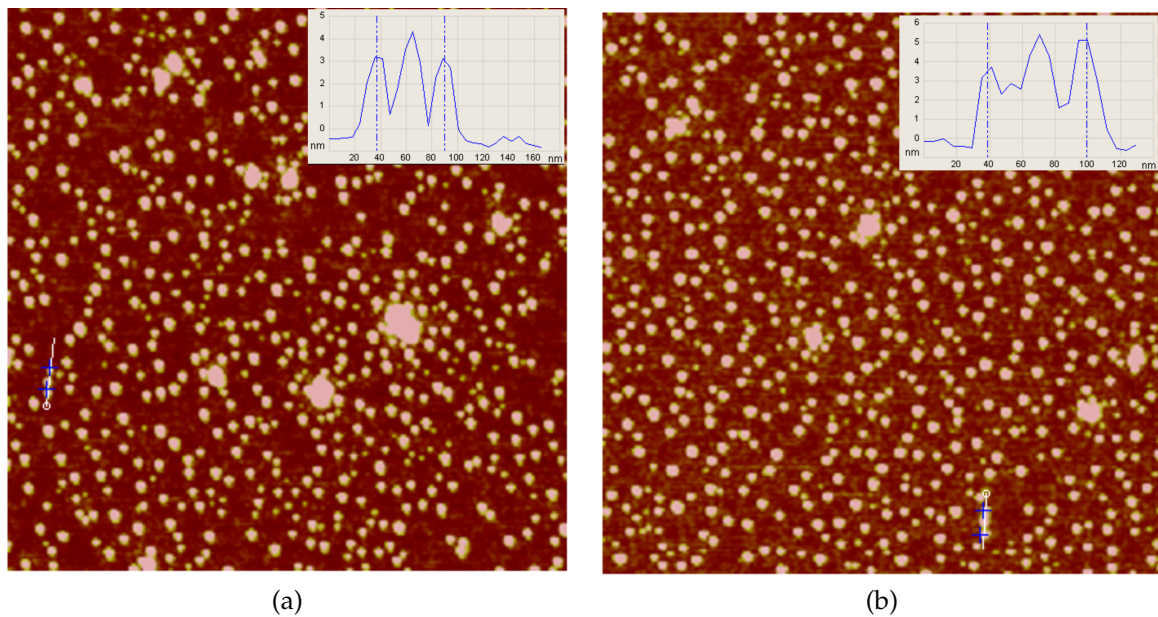
Irrallisia BAB:ta ei esiinny, joten on oletettavaa, että kultapartikkelien kiinnittyvyys BAB:hen on erittäin hyvä. Partikkelien koko on alle 10 nm ja 3-konjugaattirakenteiden pituus on 55 nanometristä aina 100 nanometriin. Todennäköisesti saanto on erässä riittävä, koska dielektriforesivangittamisen pitäisi olla partikkelien koon mukaan selektiivistä, ja suuret rakenteet saadaan vangittua todennäköisemmin kuin pienet.

Erä 100511, joka on esitetty kuvissa 3.3a ja 3.3b, valmistettiin lämmitysprosessilla. Havaittavissa on paljon 3-konjugaatteja sekä suhteessa vähemmän 2-konjugaatteja. Myös löytyy paljon aggregaatteja, jossa todennäköisesti yksi tai useampi kultapartikkeli on kiinnittynyt useaan muuhun BAB:hen. Myös esiintyy paljon yksittäisi kultapartikkeleita, joka viittaisi siihen, että BAB-rakenteita on vähemmän suhteessa kultapartikkeleihin. Erän valmistuksessa käytettiin myös vähemmän magnesiumia, joka vähentää *Coulombista* repulsiota kultapartikkelien välillä. Liian pieni magnesiumin määrä voi aiheuttaa sen, ettei keskimääräinen kultapartikkeli kiinnity rakenteeseen. Kultapartikkelien ympärillä on havaittavissa kalvoja, jotka viittaisivat nesteeseen näytteen ympärillä.



Kuva 3.3: BAB-AuNP-conjugaatti erä 100511

Konjugointierä 030212 valmistettiin haudutusprosessilla (kuvat 3.4a ja 3.4b). Siinä esiintyy hyvin paljon yksittäisi kultapartikkeleja ja suhteessa vähemmän 2- ja 3-konjugaatteja ja lisäksi esiintyy aggregaatteja. Erän valmistamisen aikana havaittiin, että muuten vastaavassa erässä lämmitysprosessissa BAB-rakenteet hajoavat. On mahdollista, että huono saanto johtuu itse lähtöaineissa esiintyvissä epäpuhtauksista, joka pystyisi esimerkiksi pilkkomaan DNA-rakenteita. Tätä puoltaa se fakta, että valmistusprosessi ja laitteet ovat samat kuin edellisissä prosesseissa. Tällöin DNA-rakenteet hajoaisivat, eikä konjugointia juurikaan havaittaisi, ja hajonneet DNA-rakenteet voisivat myös aggregoitua. Havaitut aggregaatit ovat isompia kuin kahdessa edellisessä erässä. Toinen mahdollisuus on, että 3-konjugaatit ovat aggregoituneet johtuen epäpuhtauksista, jolloin kultapartikkelit tarttuisivat toisiinsa kiinni.

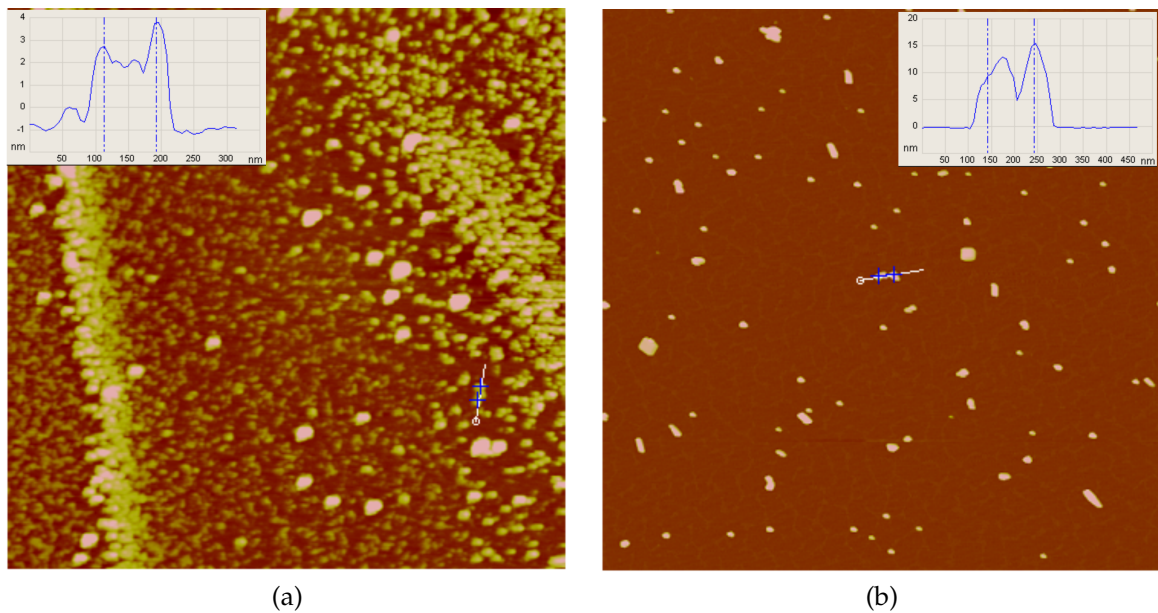


Kuva 3.4: BAB-AuNP-conjugaatti erä 030212.

Konjugaattierässä 090312 (valmistettu hauduttamalla, ks. kuva 3.5a ja 3.5b) havaittiin suhteessa paljon 2-konjugaatteja, mutta myös 3-konjugaatteja löydettiin. Kuvattaessa havaittiin rintamia, jotka todennäköisesti vastasivat kultapartikkelien liikettä kohti pisaran kuivumispiistettä. Optisella mikroskoopilla havaittiin kuivunut pisara lähellä kuvan 3.5a kohtaa. Kuvassa olevat kaksi rintamaa, jotka ovat täynnä 2- ja 3-konjugaatteja (koko alle 10 nm), ovat todennäköisesti kuivumisessa syntyneitä rintamia. Kuva 3.5b on otettu hieman kauempaa kuin 3.5a, jolloin havaittavissa on suurempi kappaleita (koko yli 10 nm). Painavammat kappaleet kulkevat lyhyemmän matkan johtuen kitkasta ja inertiaasta, joten kultapartikkelit pystyvät kerääntymään kuivumisalueilla rintamiksi ja aggregaateiksi. Tämä voi auttaa näytteiden löytämisessä, mutta haitata tarkkoja tutkimuksia. Näytteessä on havaittavissa paljon likaa, joka on todennäköisesti peräisin kultapartikkeli-liuoksesta. Lisäksi huoneenlämmössä osa BAB-rakenteesta on voinut hajota, jolloin muodostuu DNA aggregaatteja.

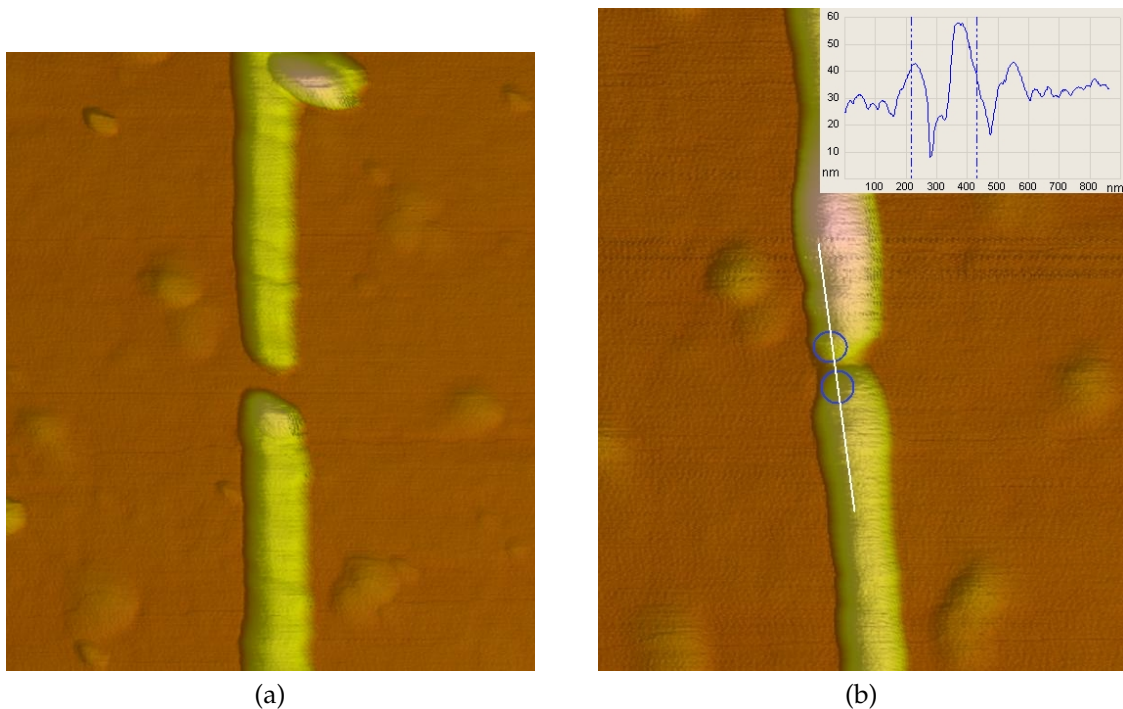
Yleisesti havaittiin, että lämmitysprosessi tehosti kultapartikkelien liittymistä BAB-rakenteeseen. Konjugointia havaittiin myös haudutusprosessissa, mutta saanto oli pienempi johtuen todennäköisesti liittymiseen vaadittavasta energiasta: kultapartikkelit hylkivät toisiaan johtuen DNA:n negatiivisesta osittaisvarauksesta, ja kolmen suhteellisen lähellä olevan kultapartikkelin välille muodostuu vahvoja *Coulombin voimia*. Tämä selittäisi myös 3-konjugoitujen rakenteiden taipumisen, koska steeriset voimat ovat pienemmät taipuneessa konformaatiossa. Näitä taipuneita rakenteita on suhteellisen paljon verrattuna suoriin konjugoituihin rakenteisiin. 3-konjugoitujen rakenteiden koko vaihtelee 55 nanometristä aina 100 nanometriin. Yli 100 nm pidemmät rakenteet muodostuvat todennäköisesti kahdesta BAB:sta, joissa keskimääräinen kultapartikkeli yhdistää ne toisiinsa.

Erät 060511 ja 100511 ovat melkein pä samat erät, mutta jälkimmäisessä on vähemmän magnesiumia. Vertailemalla näitä kahta näytettä huomaa, että 060511 erässä on enemmän aggregaatteja, mutta myös enemmän konjugoituja rakenteita kuin 100511



Kuva 3.5: BAB-AuNP-conjugaatti erä 090312.

erässä. Magnesium peittää kultapartikkelin varausta, jolloin ne pääsevät lähemmäksi toisiinsa. Tällöin pystyy muodostumaan helpommin 3-konjugaatti rakenteita, mutta myös aggregaatteja. Vastaavasti 030212 erässä on vähän magnesiumia suhteessa näihin kahteen erään, mutta myös vähemmän konjugointia. Tämä viittaisi siihen, että magnesiumilla on tärkeä rooli konjugoinnissa, ja sen määrä pitää optimoida prosessin aikana.



Kuva 3.6: (a) Näyte 38 happipuhdistuksen jälkeen ja (b) näyte 38 DEP-vangitsemisen jälkeen. Parametreinä käytettiin  $1 V_{pp}$ , 1 MHz, 5 min ja 28 nM konsentraationa. Mahdolliset kultapartikkelit on korostettu sinisillä ympyröillä.

## 3.2 Näytteen 38 dielektroforeesi vangitseminen, kultakasvatus sekä sähköiset mittaukset

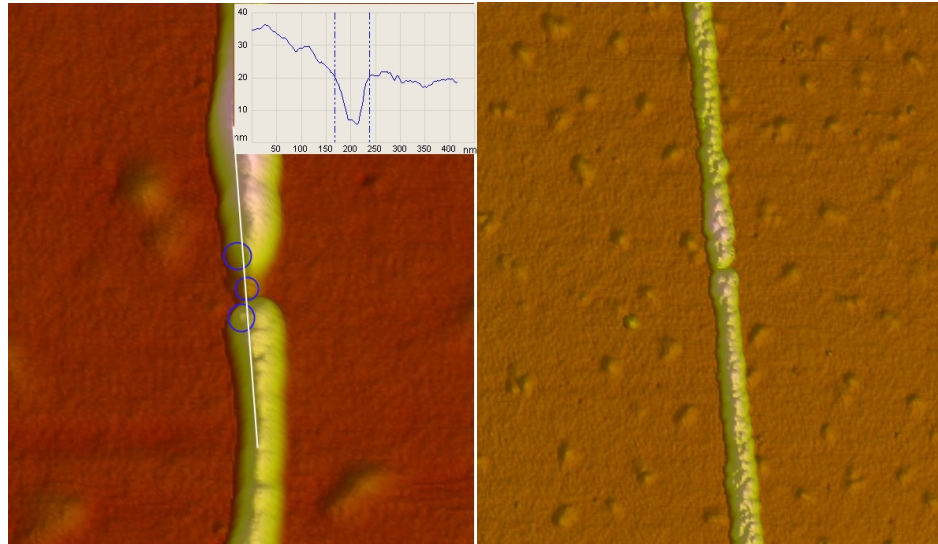
Työssä käsitellään yhden elektronin transistorin muodostamista kahdessa vaiheessa: Ensimmäisessä tarkastellaan yhden näytteen kehitystä dielektroforeesi vangitsemisesta aina usean kultakasvatuksen jälkeisiin mittauksiin. Toisessa vaiheessa käsitellään yleisesti eri näytteitä ja niitä valmistettaessa havaittuja ilmiöitä. Näyte 38 valittiin ensimmäiseen vaiheeseen, koska sen avulla pystytään kuvaamaan parhaiten eri näytteen valmistusvaiheita ja sen kohdalla havaittiin myös *Coulombin saarto*. Näytteitä analysoitaessa viitataan valmistetun elektrodirakenteen numeroon.

Konjugoitu rakenne vangittiin näytteeseen 38 käyttäen dielektroforeesia (ks. kuva 3.6b), jolloin käytettiin parametreinä  $1 V_{pp}$ , 1 MHz, 5 min,  $100 M\Omega$  etuvastusta ja konjugoitujen rakenteiden konsentraatio oli noin 28 nM. Vangitsemisessa käytettiin vastaavaa erää kuin konjugointierä 060511. Verrattuna kuvaan 3.6a kuvasta 3.6b havaitaan, että aukon kohta on täynnä ja elektrodirakenteen pinnalla on havaittavissa kultapartikkeleja. Elektrodirakenteen ympärillä ei myöskään havaittu juurikaan kultapartikkeleita tai konjugoituja rakenteita, joten todennäköisesti lämpövirtaukset ovat ajavat rakenteita pois elektrodirakenteesta. Näyttäisi kuitenkin, että dielektroforeesi vangitsee rakenteita elektrodien väliin.

Näytteeseen 38 sovellettiin kultakasvatuksessa havaittuja keinoja seuraavasti: kasvatettiin sitä viisi kertaa, jossa ensimmäisellä kasvatettiin lisäämällä kaikkia neljää aineosaa  $1,5 \mu\text{l}$  ja lisäämällä sitten  $40 \mu\text{l}$  vettä ja kasvattamalla 20 s. Toisella kasva-

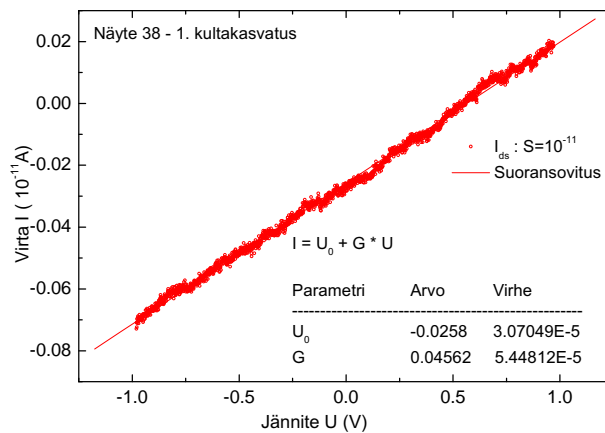


tuskerralla käytettiin vastaavaa reseptiä kuin ensimmäisellä. Kolmannella kerralla käytettiin uudistunutta reseptiä, jossa A ja D laimennetaan, jonka lisäksi lisättiin 25 nM kultapartikkeli-liuosta saman verran kuin muita ainesosia. Neljäs ja viides kasvatuskerta olivat samoja, mutta näissä kultapartikkeleja oli laimennettua 30 nM. Jokaisen kultakasvatus kerran välissä mitattiin IV-käyrä.



(a)

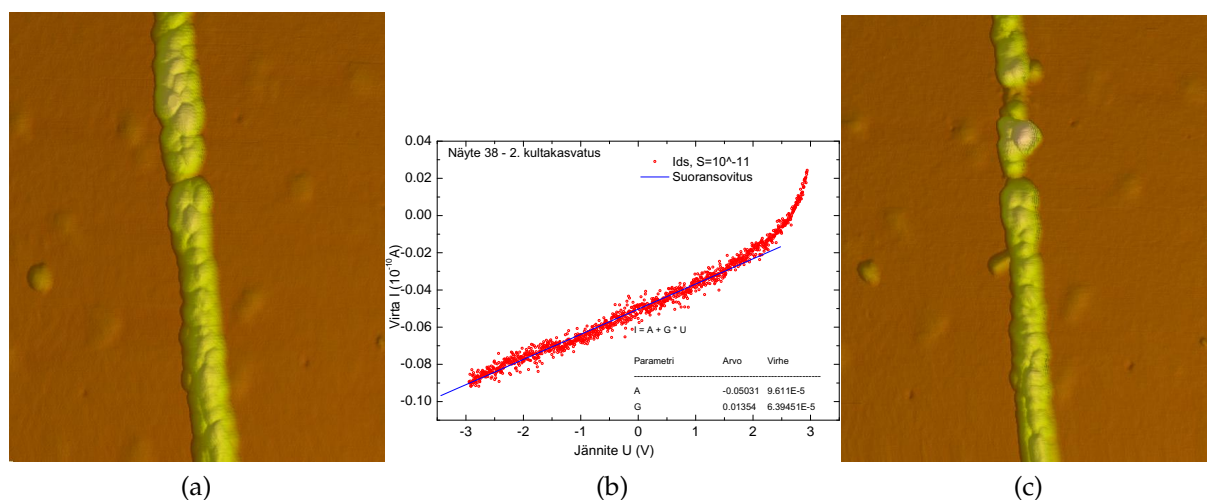
(b)



(c)

Kuva 3.7: (a) Näyte 38 ensimmäisen sähköisen mittauksen jälkeen ennen kultakasvatusta, (b) näyte 38 ensimmäisen kultakasvatuksen jälkeen ja (c) näytteen 38 IV-käyrä ensimmäisen kultakasvatuksen jälkeen. Mahdolliset kultapartikkelit on korostettu sinisillä ympyröillä.

Näytteen 38 kasvatus käyttäen 40  $\mu\text{l}$  vettä laimentamassa noin 6  $\mu\text{l}$  muita aineita aiheutti noin 23 nm kasvun rakenteessa ja noin 16 nm kasvun kultapartikkeleissa. Tarkkaa kultapartikkelin korkeutta on vaikea määrittää, sillä näytteen pinnalla voi olla vettä kultakasvatuksen jälkeen ja lisäksi elektrodit estävät näkyvyyden. Havaittavissa on rakeinen rakenne, joka todennäköisesti johtuu kultasuolan itseiskasvusta



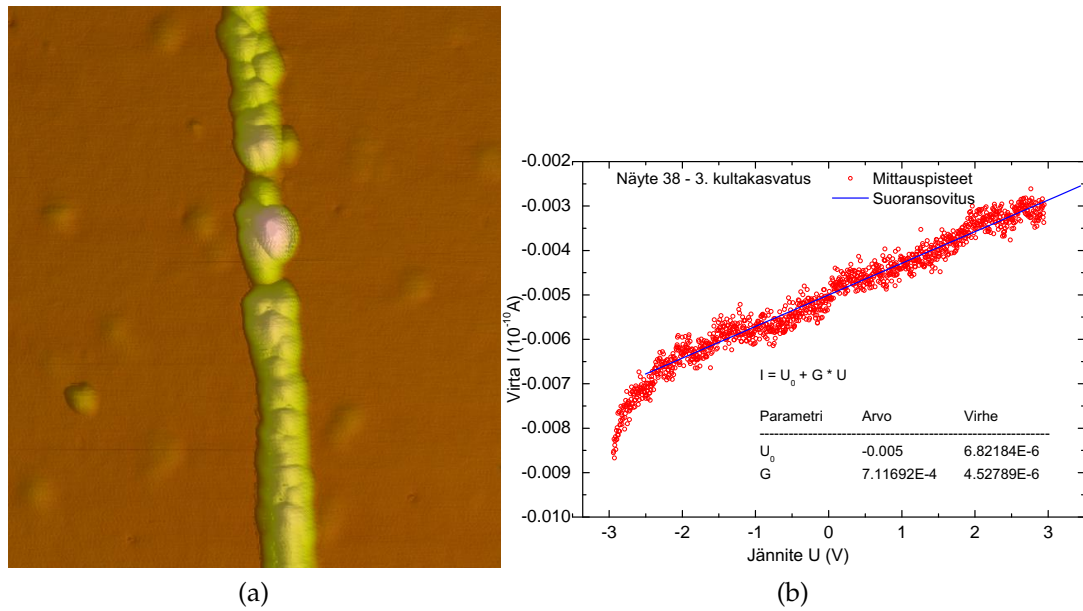
Kuva 3.8: (a) Näyte 38 toisen kultakasvatuksen jälkeen, (b) näytteen 38 IV-käyrä toisen kultakasvatuksen jälkeen ja (c) näyte 38 toisen kultakasvatuksen ja sähköisen mittauksen jälkeen

ja tarttumisesta näytteeseen. Lisäksi käytetty kasvatusaika on lyhyt, joka voi aiheuttaa lokaalia variointia tai anisotrooppisuutta kultarakenteen kasvussa. Kasvatetun rakenteen IV-käyrä mitattiin (ks. kuva 3.7c) ja resistansiksi saatiin noin  $2,2 \text{ T}\Omega$ , joten näyte on erittäin huono johde eikä *Coulombin saartoa havaittu*.

Ensimmäisen mittauksen jälkeen havaittiin, että elektrodien välinen aukko (kuva 3.7a) oli selkeämmin näkyvillä kuin vangitsemisen jälkeen otetussa kuvassa (kuva 3.6b). Todennäköisesti elektrodissa on ollut vettä, joka on ajan kuluessa haihtunut. Tässä tapauksessa on selkeämmin havaittavissa, että aukon keskellä on kultapartikkeli, joka on halkaisijaltaan noin  $7,1 \text{ nm}$ . Elektrodin pinnalla on mahdollisesti kaksi partikkelia, jotka voivat olla elektrodissa kiinni. Myös konjugoidun rakenteen asento on linjassa elektrodirakenteen kanssa, tosin ehkä hieman taipunut. Mahdollisesti elektrodirakenteen aukon pitäisi olla hieman isompi.

Kuvassa 3.8a on esitetty näyte 38 toisen kultakasvatuksen jälkeen. Kultakasvatusprosessi, jossa laimennettiin liuoksia A ja D, aiheutti noin  $3 \text{ nm}$  kasvun rakenteessa ja noin  $1,7 \text{ nm}$  kasvun kultapartikkeleissa. Tässäkin tapauksessa oli havaittavissa rakeisuutta ja resistanssi on  $0,74 \text{ T}\Omega$ , joka on vähemmän kuin ensimmäisessä mittauksessa. Kummassakin mitatussa IV-käyrässä on havaittavissa varautumista, joka johtuu tunneliliitoksen kapasitanssista. Tämä näkyy eksponentiaalisena käyttäytymisenä mittauksen alussa, joka lopulta tasoittuu. Johtuen varautumisesta resistanssi mitataan käyrä loppuosan mukaan, jossa käyrä on lineaarinen, kuten on havainnollistettu kuvassa 3.8b.

Toisen kultakasvatuksen jälkeen esiintyy enemmän kohinaa IV-käyrässä kuin ensimmäisessä mittauksessa, ja kummassakin esiintyy oskillaatiota johtuen todennäköisesti lämpökohinasta ja ulkoisista häiriöistä. Kuvattaessa näytettä sähköisten mittausten jälkeen (ks. kuva 3.8c) havaittiin, että elektrodirakenteesta oli irronnut jotain sähköisten mittausten aikana. Rakeisuuden takia on mahdollista, että elektrodista on irronnut kultapartikkeli. Korkeuskuvasta on havaittavissa, että elektrodi ei

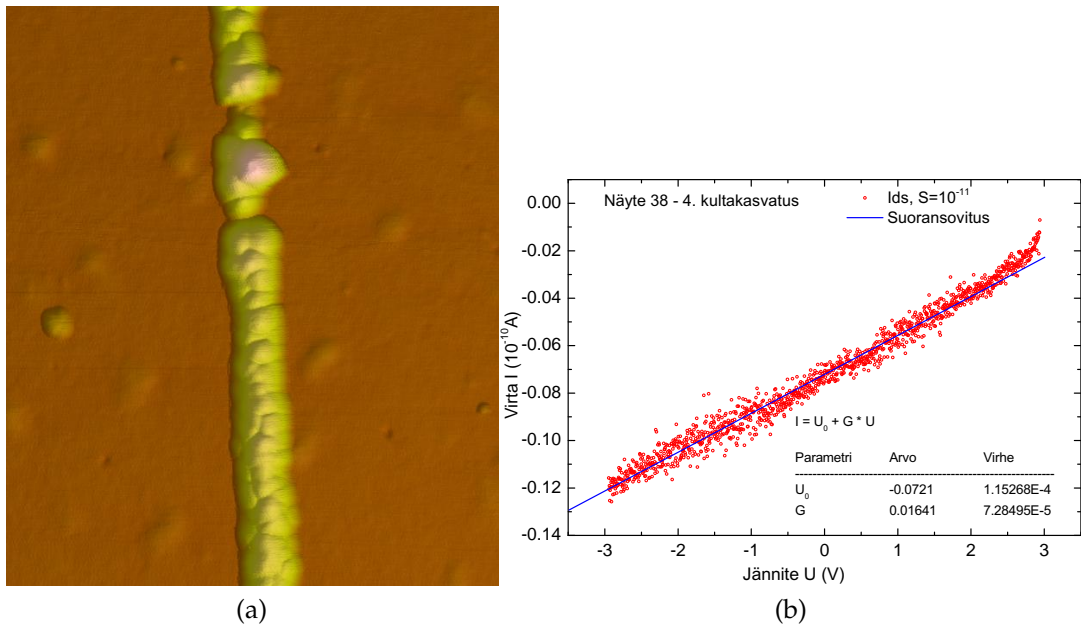


Kuva 3.9: (a) Näyte 38 kolmannen kultakasvatuksen jälkeen ja (b) näytteen 38 IV-käyrä kolmannen kultakasvatuksen jälkeen.

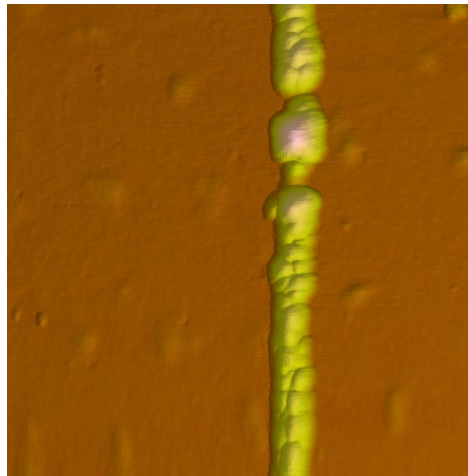
ole poikki vaan hajonneessa kohdassa on vielä noin 15 nm korkea linkki, joka vastaa tyhjän elektrodin korkeutta.

Tehtiin kolmas kultakasvatus muuten samoilla parametreillä kuin toisessa kultakasvatuksessa, mutta liuokseen lisättiin kultapartikkeleita (ks. kuva 3.9a). Tuloksena oli noin 2,6 nm keskimääräinen kasvu elektrodissa ja noin 4,3 nm kasvun kultapartikkelissa, resistanssi oli noin 14 TΩ. Resistanssin kasvu verrattuna toiseen kasvatuskertaan johtuu luultavimmin elektrodirakenteen osittaisesta hajoamisesta, kuten havaittiin kuvassa 3.8c, tai kultapartikkelien liikkumisesta kasvatuksen aikana. Varautumisefekti havaittiin kuvan 3.9b IV-käyrässä, kuten myös oskillaatiota ja kohinaa.

Kasvatettiin rakennetta neljännen kerran (kuvat 3.10a ja 3.10b) samoilla parametreillä kuin kolmannessa kasvatuksessa, jolloin saatiin aikaan noin 1 nm kasvu elektrodirakenteessa ja noin 2 nm kasvun kultapartikkeleissa. Mitatusta IV-käyrästä havaittiin noin 0,61 TΩ resistanssi, joka on pienempi kuin toisella kasvatuskerralla. Selkeästi resistanssi laskee kasvatuskertojen jälkeen, joka viittaisi kultapartikkelien välisten aukkojen pienenemiseen. Kuitenkaan suoraa yhteyttä elektrodien läpi ei ole.



Kuva 3.10: (a) näyte 38 neljännen kultakasvatuksen jälkeen ja (b) näytteen 38 IV-käyrä neljännen kultakasvatuksen jälkeen.



Kuva 3.11: Näyte 38 viidennen kultakasvatuksen jälkeen.

Elektrodia kasvatettiin vielä viidennen kerran vastaavalla tavalla kuin kolmannel- la ja neljännellä kasvatuskerralla. Kuva viidennestä kasvatuskerrasta on esitetty ku- vassa 3.11. Rakenne kasvoi noin 0,8-1 nm verran elektrodirakenteessa ja noin 0,9 nm kasvu oli havaittavissa kultapartikkeleissa. Kullan kasvatus on kohtuullisen tasaista, sillä kolmena kertana kasvu on ollut noin keskimäärin 1-3 nm mitattuna elektrodi- rakenteesta. Kultapartikkeleista mitattuna sama kasvu on ollut 1-4 nm, jotka ovat samaa kokoluokkaa elektrodirakenteen kanssa. Kuitenkin saman kasvukerran sisällä esiintyy useamman nanometrinen eroja elektrodirakenteen ja kultapartikkelin välillä. Tähän voi vaikuttaa esimerkiksi se, että rakenne estää kultapartikkelin tarkan kuvaam- isen. Tämä tarkoittaisi sitä, että AFM:n kärki ei ylety kuvaamaan partikkelia, vaan

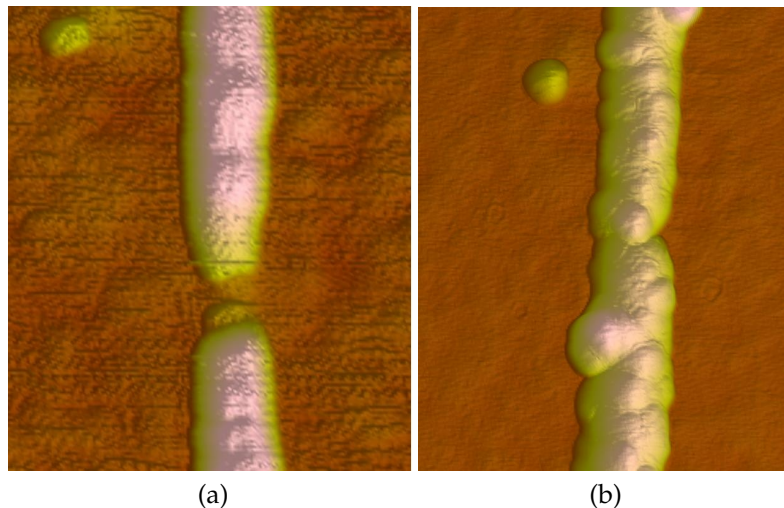
se jää partikkelin yläpuolelle. Tällöin näyttäisi siltä, että kultapartikkeli on kasvanut enemmän kuin elektrodi. Tämä havaittiin myös mittauksissa, jossa kultapartikkeli oli kasvanut enemmän tai yhtä paljon kuin elektrodirakenne. Kuitenkin kuvatessa käytettiin hyvin teräviä AFM:n kärkiä, joiden korkeussuunnan tarkkuus on satojen pikometrien luokkaan. Voidaan siis todeta, että DNA-juosteet kultapartikkelien pinnalla eivät ainakaan heikennä kultapartikkelin kasvua. Sähköisissä mittauksissa havaittiin *Coulombin saarto* viidennellä kasvatuskerralla, jota käydään läpi enemmän tuonnempana sähköisissä mittauksissa.

### 3.3 Muiden näytteiden DEP vangitseminen ja kasvatus

Tarkastellaan kolmea muuta konjugoidun rakenteen vangitsemista. Näytteen 1 kohdalla käytettiin vangitsemiseen parametreja  $1 V_{pp}$ , konjugaattien konsentraation oli 3,2 nM, 100 M $\Omega$  etuvastus, 8 minuuttia ja taajuus oli 12 MHz. Vangitsemisessa käytettiin erää 090311. Vangittu rakenne on esitetty kuvassa 3.12a, jossa havaittiin kolme partikkelia: kaksi kiinni elektrodirakenteessa ja yksi keskellä. Keskimmäisen koko on noin 2,7 nm, joka on hyvin pieni kultapartikkelille. Kyseessä ei kuitenkaan voi olla pelkkä BAB, sillä sen koko on alle 2 nm. Mahdollisesti keskellä on kiinni hyvin pieni, alle 1 nm kultapartikkeli. Myös toinen laidalla oleva partikkeli on hyvin pieni, korkeintaan 1,5 nm korkea. Näyttäisi myös siltä, että rakenne on taipunut, joka voi johtua vangitsemisesta tai partikkelien repulsiosta.

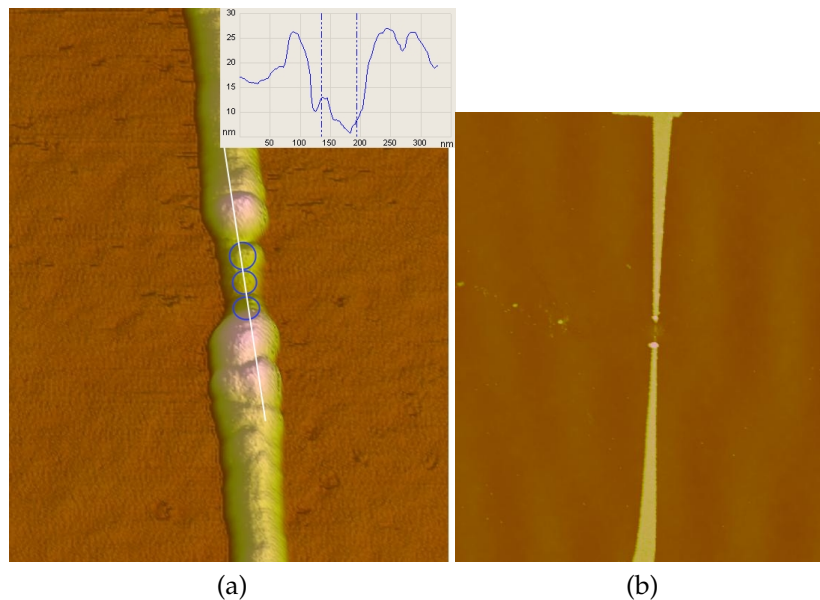
Näytettä 1 kasvatettiin kolme kertaa tutkimusten aikana: ensin laimentamalla A ja D liuosta kaksitoista kertaa ja kasvattamalla 30 s. Sen jälkeen kerran laimentamalla A ja D liuosta kolmekymmentä kertaa, lisäämällä kuudesosaan laimennettua kultapartikkeliliuosta ja kasvattamalla 20 s. Viimeinen kasvatus tehtiin käyttämällä vastaavaa reseptiä kuin toisella kasvatus kerralla, mutta ajaksi valittiin 30 s.

Ensimmäisen kultakasvatuksen kohdalla havaittiin noin 20 nm kasvu, joka oli suurempi kuin edellisissä kultakasvatuksissa. Tämän takia päädyttiin käyttämään kolmekymmentäkertaista laimennosta. Yksi mahdollinen syy kasvun nopeutumiseksi on se, että käytetty kemiallinen kultakasvatusliuos on vanhentunut, jolloin kultasuola olisi aggregoitunut kultapartikkeleiksi. Elektrodirakenne on hyvin rakeinen ja täynnä pyöreitä partikkeleita, joka viittaisi tähän. Toisessa kasvatuksessa ei havaittu juurikaan kasvua. Todennäköisesti aika oli liian lyhyt. Itseasiassa ensimmäisen kultakasvatuksen jälkeen rakenne näyttäisi suuremmalle kuin toisen kultakasvatuksen jälkeen, joten on mahdollista, että kultapartikkeleita on irronnut rakenteen pinnalta. Kolmannen kasvatuksen (ks. kuva 3.12b) jälkeen havaittiin noin 0,5 nm - 1 nm kasvu.



Kuva 3.12: (a) Näyte 1 vangitsemisen jälkeen ja (b) näyte 1 viimeisen kultakasvatuksen jälkeen.

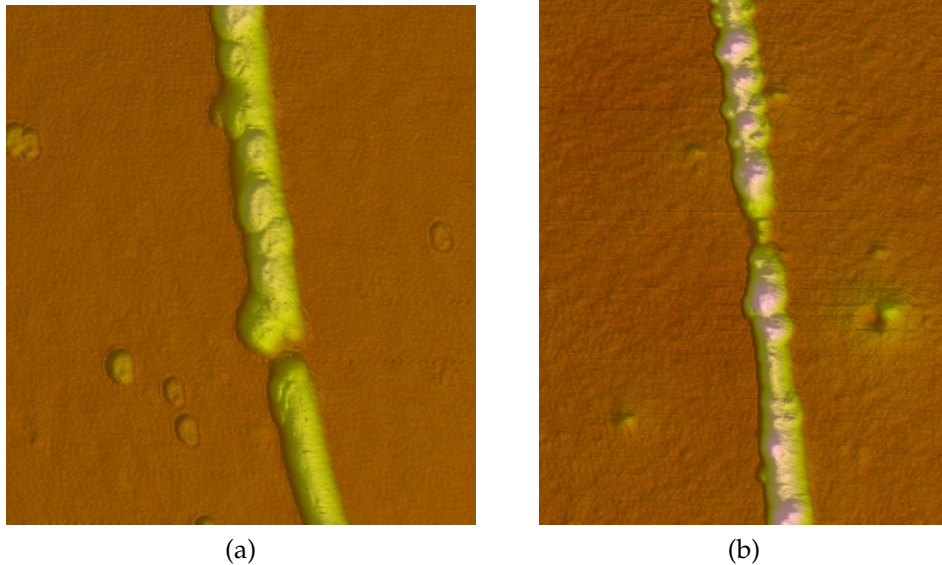
Näytteen 39 kohdalla käytettiin vangitsemisessa parametrejä  $1 V_{pp}$ , 12 MHz,  $100 M\Omega$  etuvastus, 5 min ja konjugoitujen rakenteiden konsentraatio oli noin 8 nM. Vangitsemisessa käytettiin vastaavaa erää kuin erä 060511. Kuvassa 3.13a on havaittavissa kolme kultapartikkelia aukossa, joiden välinen etäisyys on noin 59 nm ja koot ovat 8 nm:stä aina 13 nm:iin. Ensimmäinen kultakasvatus tehtiin kuten näytteen 38 kohdalla, eli koko kullan kasvatusliuosta laimennettiin  $30 \mu\text{l}$  vettä ja annettiin vaikuttaa 20 s ennen pesua. Havaittiin noin 20 nm kasvu ja paljon rakeisuutta. Toinen kasvatuskerta tehtiin taas laimentamalla liuoksia A ja D ja lisäämällä kultapartikkeleita kuten edellä ja odottaen 30 s, jolloin saatiin aikaan noin 2 nm kasvu. Rakennetta kasvatettiin vielä kolmannen kerran vastaavasti kuin toisella kerralla, mutta rakenteen kohdalla ei havaittu juurikaan kasvua. Kolmannen kultakasvatuksen jälkeisen mittauksen aikana näyte tuhoutui, jolloin tyypillisesti aukon lähellä oleva alue hajoaa (ks. kuva 3.13b).



Kuva 3.13: (a) Näyte 39 vangitsemisen jälkeen ja (b) näyte 39 viimeisen kulta kasvatuksen ja sähköisen mittauksen jälkeen. Elektrodin aukon alue on tuhoutunut kuvassa (b).

Näytteen 33 kohdalla vangitsemisessa käytettiin seuraavia parametrejä: 8 min, 12 MHz,  $1 V_{pp}$ ,  $100 M\Omega$  etuvastus ja konjugoitujen rakenteiden konsentraatio oli noin 6,5 nM. Aukossa havaittiin tasainen, noin 5,6 nm korkea ja 56 nm pitkä rakenne, joka on mahdollisesti konjugoitu BAB-rakenne. Sähköisten mittausten jälkeen havaittiin selkeä konjugoitu BAB-rakenne, joka viittaisi siihen, että ennen mittauksia näytteessä on ollut kiinni paljon vettä. Kuva vangitusta rakenteesta sähköisen mittauksen jälkeen on esitetty kuvassa 3.14a. Kultapartikkelien koko on alle 10 nm ja rakenteen koko on noin 50 nm, joka on sama kuin konjugoidun rakenteen pituus. Näytettä 33 kasvatettiin kerran protokollalla, jossa A ja D liuos laimennetaan ja lisätään kultapartikkeleita. Kuvattaessa havaittiin suuri möykky aukon kohdalla, joka oli kooltaan noin 50 nm. Tämä möykky on mahdollisesti kosteutta, johon on liittynyt kultapartikkeleita tai epäpuhtauksia. Möykky yritettiin poistaa pesemällä sekä kuivattamalla

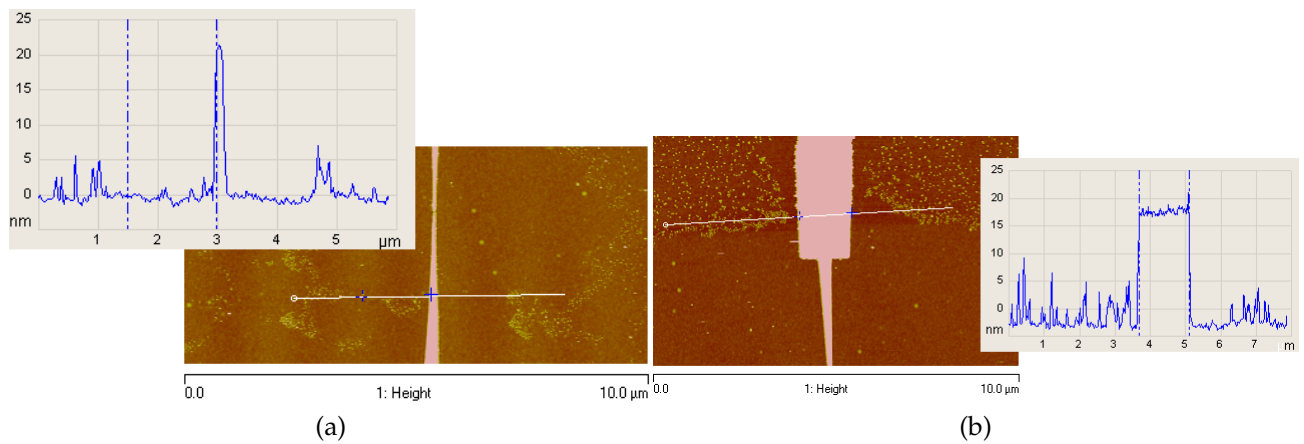
typpikaapissa viikonlopun yli, jolloin havaittiin, että möykyn korkeus tippui noin 20 nm. Kuitenkaan sitä ei saatu koskaan poistettua.



Kuva 3.14: (a) Näyte 33 vangitsemisen jälkeen ja (b) näyte 33 sähköisen mittauksen jälkeen.

Näytteiden 1 ja 2 kohdalla huomattiin, että vangitsemiseen liittyviin virtauksiin vaikuttaa käytettävä AC-kenttä sekä liuoksen sähkönjohtavuus. Kuvissa 3.15a ja 3.15b on havainnoitu näytteiden 2 ja 1 vangitsemisprosessia aukon ulkopuolella. Näissä vangitsemisissä on käytetty muuten samoja parametrejä, mutta AC-kentän amplitudi on puolitettu. Kun AC-kentän huipusta-huippuun arvo on 1 V kuten kuvassa 3.15b, ajautuvat rakenteet pois aukosta ja tietyllä säteellä on havaittavissa rintama. Amplitudin puolittaminen muuttaa tilannetta siten, että lähemmäs aukkoa ajautuu konjugoituja rakenteita ja yksittäisiä kultapartikkeleita. Tämä on havaittavissa kuvassa 3.15a. Tällöin on todennäköisempää, että aukkoon saadaan vangittua haluttu rakenne. DEP vangitseminen toimii ilmeisesti kuitenkin myös hieman huonommilla parametreillä. Jännitteen lisäksi käytettävän konjugointi liuoksen sähkönjohtavuuden pitäisi vaikuttaa DEP-virtauksiin. Käytettyjä liuoksia laimennetaan kuitenkin reilusti Hepes/NaOH-puskurilla, jolloin liuoksien sähkönjohtavuuksien pitäisi olla suunnilleen sama kuin Hepes/NaOH-puskurin. Näin ollen havaitut erot näytteiden 1 ja 2 virtauksissa johtuisivat todella jännitteen muutoksesta eikä eroista sähkönjohtavuuksissa.





Kuva 3.15: (b) näytteen 1 kohdalla AC-kentän amplitudin vaikutus DEP virtauksiin: korkeammalla jännitteellä rakenteet ajautuvat poispäin aukosta ja muodostuu rinta-  
ma  $10\ \mu\text{m}$  päähän aukosta. (a) Näytteen 2 kohdalla virtaukset ovat enemmän aukkoa  
kohti kuin näytteellä 1 johtuen AC-kentän amplitudin laskemisesta.

Vangitsemistuloksista on nähtävillä, ettei konjugointierän saanto ole kriittinen tekijä. Riittää, että yleensäkin on saatu jonkin verran 3-konjugaatteja. DEP-voimat ajavat suuria partikkeleita aukkoon, ja suodatuksen jälkeen 3-konjugaattirakenteet pitäisivät olla suurimpia kappaleita liuoksissa. Jonkin verran myös yksittäisiä partikkeleita ajautuu elektrodirakenteeseen, mutta näitä löytyy niin elektrodien varresta kuin aukosta.

### 3.4 Sähköiset mittaukset ja *Coulombin saarto*

Näytteelle 38 havaittiin mittauksissa *Coulombin saarto* huoneenlämpötilassa (ks. kuva 3.16a). Kynnysjännite on noin 0,5 V kohdalla, vaikka käyrä alkaa nousta kunnolla noin  $\pm 1$  V kohdalla. Käyrä on hieman epäsymmetrinen, sillä keskikohta poikkeaa hieman nollassa ja lisäksi virta kasvaa positiivisella puolella nopeammin kuin negatiivisella. Rakente johtaa mahdollisesti paremmin toiseen suuntaan kuin toiseen suuntaan.

Huoneenlämpötilan mittauksissa havaittiin IV-käyrässä teräviä piikkejä tasaisin välimatkoin, jossa virta nousee nopeasti ja laskee lähelle nollaa. Lisäksi piikkien korkeus kasvaa jännitteen mukana riippumatta jännitteen polariteetistä. Mahdollisia selityksiä tälle käyttäytymiselle on kultapartikkelin liike sähkökentässä: konjugoitu rakenne johtaa hetkittäisesti, mutta virta katkeaa etäisyyden kasvaessa liian suureksi kultapartikkelien välillä. Lisäksi on mahdollista, että piioksidin pinnalla olevat tautavarausten liike aiheuttaa heilahteluja kantapotentialissa, jolloin syntyy piikkejä. Kolmas mahdollisuus on resonanssitunneloituminen.

Näytteen lämpötila ei ole mittausten aikana täysin vakio, vaan kasvaa mittauksen aikana eli lämpömittarin resistanssi kasvaa. Tämä johtuu todennäköisesti näytteen lämpenemisestä mittauksessa, mutta lämpeneminen ei riipu niinkään virrasta sillä lämpötila kasvaa tasaisesti. Kuvassa 3.16b on esitetty lämpötilamittarin antama jännite ajan funktiona. Tekemällä suoransovituksen ko. kuvaan saadaan seuraavanlainen resistanssin riippuvuus lämpötilasta:

$$U = 0,45531 \text{ V} + 2,10816 \frac{\text{V}}{\text{s}} \cdot 10^{-8} \cdot t, \quad (3.1)$$

Määritetään keskimääräinen jännite  $U_{ave}$  integroimalla yhtälöä 3.1, kun mitattu aika on 1078,828 sekuntiin asti.

$$\begin{aligned} U_{ave} &= \frac{1}{1078,828 \text{ s}} \int \left( 0,45531 \text{ V} + 2,10816 \frac{\text{V}}{\text{s}} \cdot 10^{-8} \cdot t \right) dt \\ U_{ave} &= \frac{1}{1078,828 \text{ s}} \left( 0,45531 \text{ V} \cdot 1078,828 \text{ s} + 1/2 \cdot 2,10816 \frac{\text{V}}{\text{s}} \cdot 10^{-8} \cdot (1078,828 \text{ s})^2 \right) \\ U_{ave} &= 0,4552986 \text{ V} \end{aligned}$$

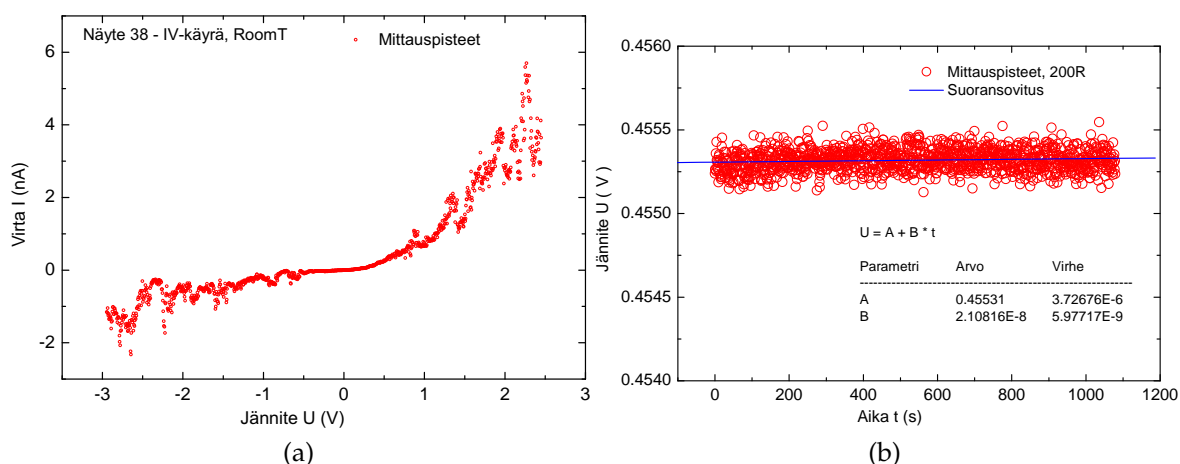
Mittarin jännite saadaan muutettua resistanssiksi kertomalla jännite mittarinherkkydellä, joka oli  $100 \Omega/\text{V}$ . Määritetään resistanssista lämpötila käyttäen kuvan 2.11a kalibraatiokäyrää.

$$\begin{aligned} R_{ave} &= 100 \frac{\Omega}{\text{V}} \cdot 0,4552986 \text{ V} = 45,52986 \Omega \\ T &= 296,71037 \text{ K} = 296,7 \text{ K} = 23,56 \text{ }^\circ\text{C} \end{aligned}$$

Muiden mittausten lämpötilat lasketaan vastaavasti ja kaikkien näytteen 38 matalan lämpötilan mittausten lämpötilat sekä kynnysjännitteet on esitetty taulukossa 3.1.

Taulukko 3.1: Elektroodin 38 kynnysjännitteet eri lämpötiloissa.

Lämpötila (K)	Kynnysjännite (V)
296,7	$\pm 0,40$
$LN_2$	$\pm 1,20$
10,15	$\pm 0,48$
5,94	$\pm 0,46$
5,19	$\pm 0,46$
4,17	$\pm 0,95$

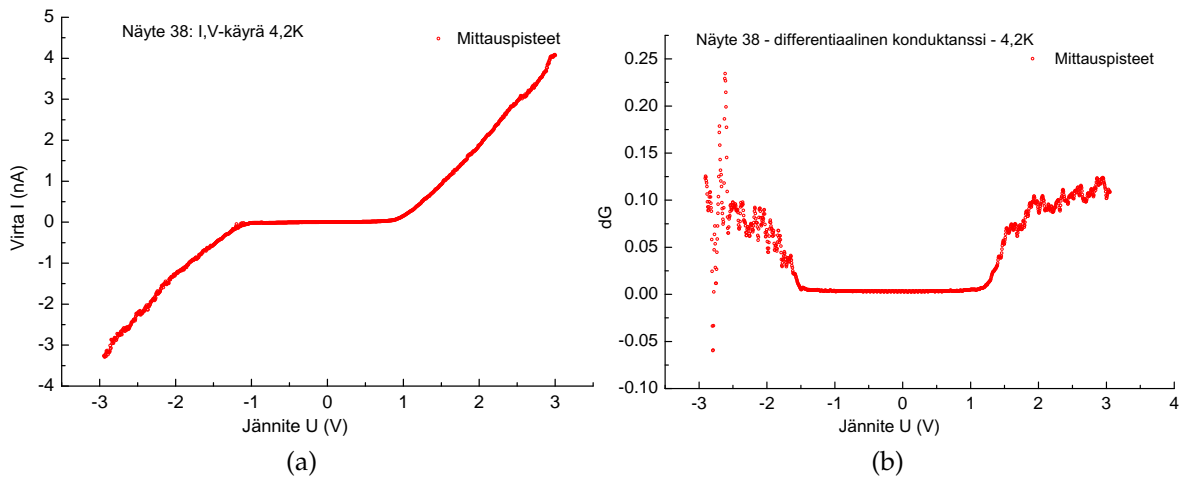


Kuva 3.16: (a) Näytteen 38 sähköisten ominaisuuksien mittaus huoneenlämpötilassa sekä (b) lämpötilan mittaus.

### 3.4.0.1 Näytteen 38 matalan lämpötilan mittaukset

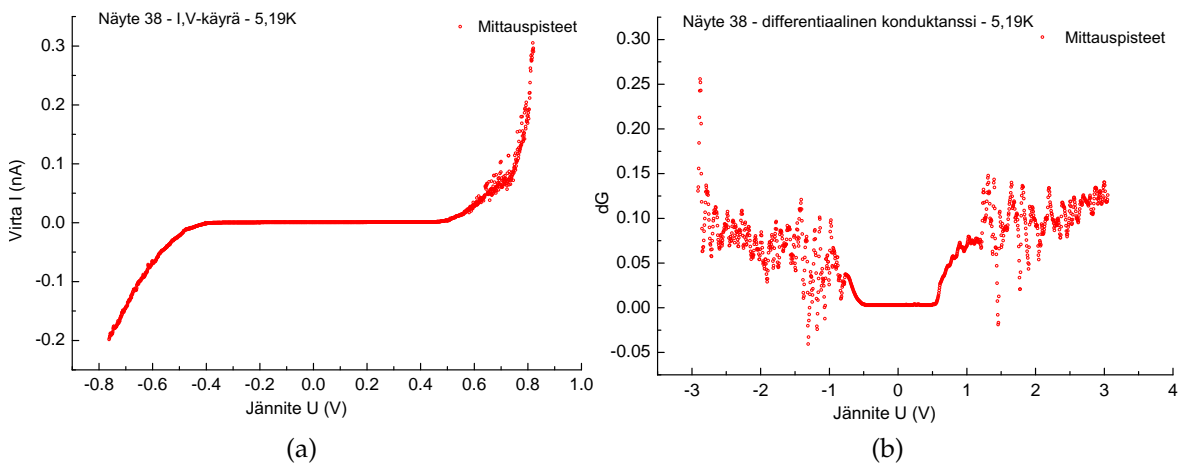
Matalan lämpötilan mittaukset aloitettiin jäähdyttämällä näyte 38 nestemäisessä heliumissa 4,17 K ja mitattiin sekä IV-käyrä että differentiaalinen konduktanssi (ks. kuvat 3.17a ja 3.17b). On mielenkiintoista huomata, että kynnysjännite on noin  $\pm 1$  V, kun taas huoneenlämpötilassa kynnysjännite on noin 0,5 V. Käyrässä esiintyy myös hieman poikkamaa nolasta virran suhteen, joka voi johtua joko näytteen epäsymmetrisyydestä tai mittausjärjestelmän epäideaalisuuksista. Tämä voi johtua esimerkiksi termojännitteistä johtimissa: kahden johtimen, jotka muodostavat virtasilmukan, välille muodostuu jännite-ero, kun johdinten kiinnityskohtien välillä on lämpötila ero. Tässä tapauksessa kaksi johdinta on toisesta päästä kiinni systeemissä, joka on huoneenlämpötilassa, ja toisessa päässä systeemi on matalassa lämpötilassa.

Virta myös nousee nopeammin positiivisella puolella kuin negatiivisella puolella, ja toisin kuin huoneenlämpötilassa käyrässä ei juurikaan esiinny oskillaatiota eikä piikkejä, mutta noin -2,5 V kohdalla on havaittavissa pieni satula, joka voisi vastata huoneenlämpötilan virtapiikkejä. Ero negatiivisen ja positiivisen puolen huippuarvon välillä on 20 % - 30 %. Dynaamisen konduktanssin käyrä on välillä -1,5 V:sta noin 1,3 V:iin pieni, joka myös viittaisi saarekkeeseen.



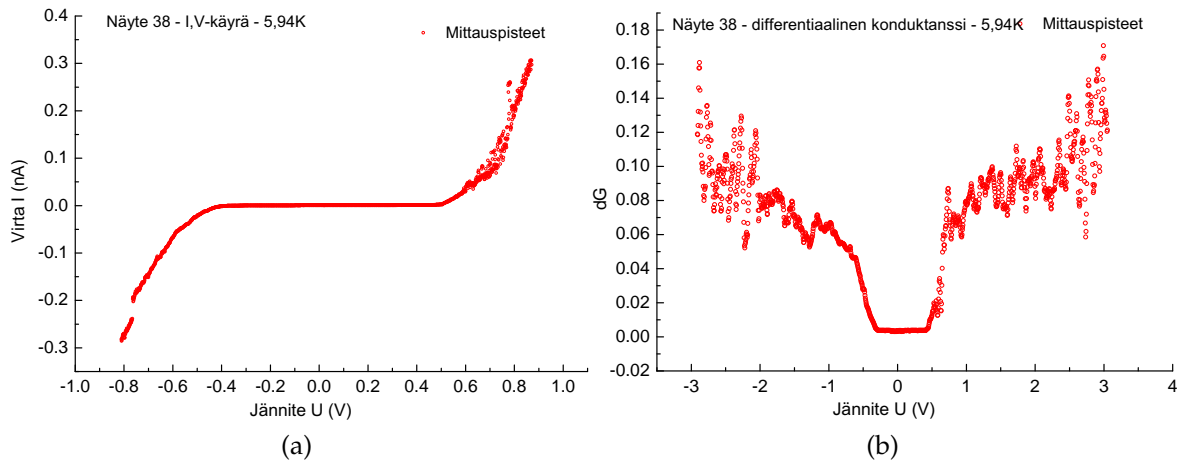
Kuva 3.17: (a) Näytteen 38 I,V-käyrä ja (b) differentiaalinen konduktanssi  $dG$  4,2 K lämpötilassa.

Mittauksia jatkettiin nostamalla näytettä hitaasti ylöspäin nestemäisestä heliudesta. Mitattiin IV-käyrät ja differentiaaliset konduktanssit kolmelle lämpötilalle ja lopuksi siirrettiin näyte nestemäiseen tyypeen. Toinen mittaustemperatura oli 5,19 K, jossa havaittiin *Coulombin saarto* IV-käyrässä sekä kuoppa differentiaalisessa konduktanssissa. Kynnysjännite on jälleen  $\pm 0,5$  V, joka on vastaava kuin huoneenlämpötilassa, mutta virta on yhdenmukainen huoneenlämpötilassa ja nestemäisen heliumin lämpötilassa mitattujen tulosten kanssa. Myös tässä lämpötilassa positiivisella puolella on suurempi virta kuin negatiivisella puolella, joka on samaa kokoluokkaa kuin edellisessä. IV-käyrässä on hieman enemmän hajontaa kuin 4,17 K, muttei huoneenlämpötilan piikkejä tai oskillaatiota ole juurikaan. Differentiaalisen konduktanssin kuoppa on noin -0,5 V noin 0,5 V, joka on pienempi kuin 4,17 K:ssä ja käyrässä on enemmän oskillaatiota.



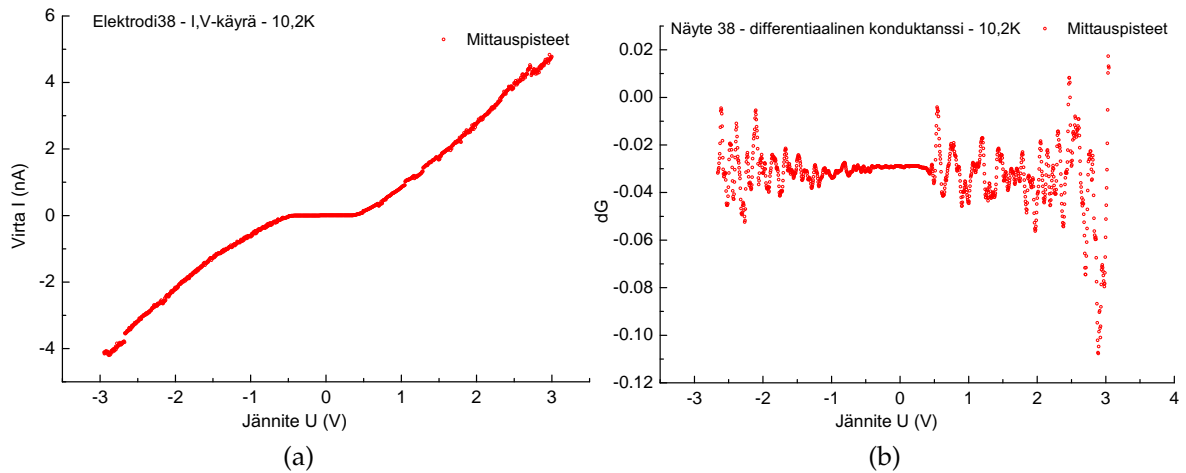
Kuva 3.18: (a) Näytteen 38 I,V-käyrä ja (b) differentiaalinen konduktanssi  $dG$  5,19 K lämpötilassa.

Kolmas mittaus oli 5,94 K lämpötilassa, jossa havaittiin *Coulombin saarto* (ks. kuvat 3.19a ja 3.19b). Kynnysjännite oli noin  $\pm 0,5$  V ja sama positiivisen ja negatiivisen puolen virta ero on havaittavissa kuin muissa lämpötiloissa. Lisäksi virta vastaa edellistä mittausta. Negatiivisella jännitteellä on havaittavissa hyppy, joka voi johtua varautumisesta mittauksen alussa. Differentiaalisessa konduktanssi käyrässä on kuoppa noin -0,4 V:sta noin 0,4 V:iin, joka on pienempi kuin edellisissä mittauksissa.



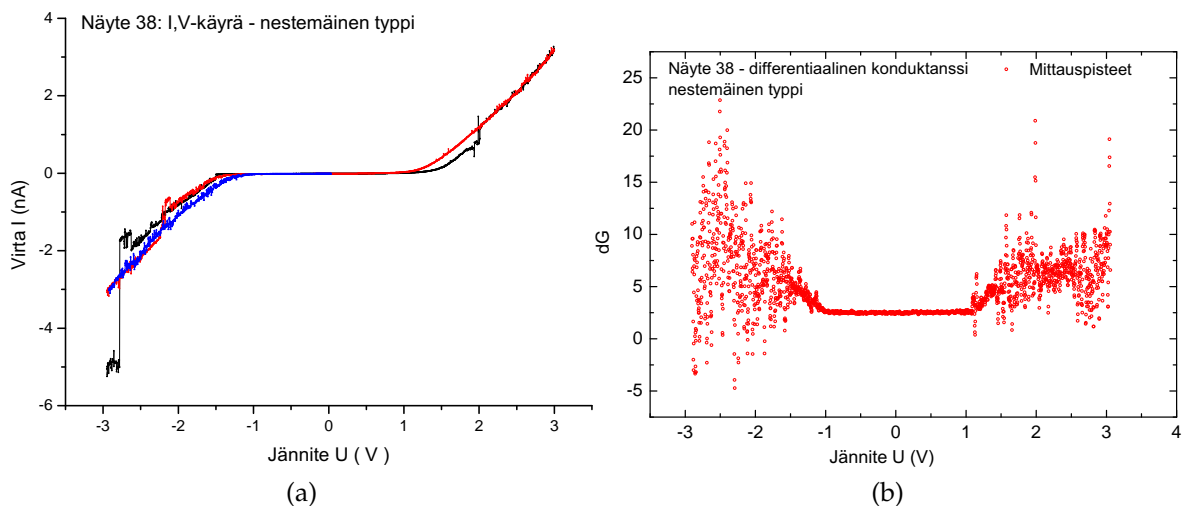
Kuva 3.19: (a) Näytteen 38 I,V-käyrä ja (b) differentiaalinen konduktanssi  $dG$  5,94 K lämpötilassa.

Neljäs mittaus oli 10,15 K, jossa havaittiin myös *Coulombin saarto* (ks. kuvat 3.20a ja 3.20b), mutta differentiaalisessa konduktanssissa oleva kuoppa oli hävinnyt. Mahdollisesti korkean lämpötilan varautuminen sekä lämpöliike peittävät kuopan näkymisen suurilla lämpötiloilla. Kuitenkin todennäköisempää on, että näyte tuhoutui tässä vaiheessa. Lisäksi lämpötilan kasvaessa kohinat kasvavat differentiaalisen konduktanssin käyrässä. Kynnysjännite on  $\pm 0,5$  V IV-käyrässä, joka vastaa kahta edellistä mittausta. IV-käyrässä on myös havaittavissa hyppyjä, joita edellisissä ei juurikaan ollut, jotka voivat liittyä lämpötilakohinaan. Kuitenkin hyppy on noin -2,6 V kohdalla ja lisäksi on havaittavissa toinen satulakohta noin -2,2 V kohdalla, jotka esiintyvät myös huoneenlämpötilassa. Positiivisella puolella hyppyjä esiintyy 1 V kohdalla ja 1,3 V kohdalla, mutta huoneenlämpötilassa vain 1 V kohdalla esiintyy piikki ja toinen on noin 1,5 V kohdalla.



Kuva 3.20: (a) Näytteen 38 I,V-käyrä ja (b) differentiaalinen konduktanssi dG 10,2 K lämpötilassa.

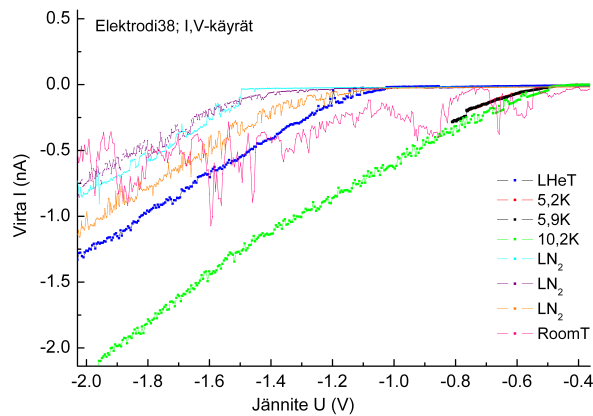
Viides mittaus suoritettiin nestemäisen tyypin lämpötilassa ja IV-käyrä sekä differentiaalinen konduktanssin käyrä on esitetty kuvassa 3.21a ja 3.21b. Differentiaalisessa konduktanssin kuvaajassa on havaittavissa pieni kuoppa välillä -1 V:sta aina 1 V:iin, jota ei havaittu 10,2 K:ssä. Mahdollisesti 10 K mittauksessa on ollut kohinaa, joka hävittää kuopan täysin, tai näyte on hajonnut. Vastaavasti IV-käyrään lämpötila ei vaikuta niin paljoa. Kynnysjännite IV-käyrässä on noin  $\pm 1$  V, joka vastaa huoneenlämpötilaa ja 4,2 K. Lisäksi IV-käyrässä on havaittavissa hyppy noin -2,2 V kohdalla ja pienempi noin -2,6 V kohdalla, jotka ovat samalla kohdalla kuin huoneenlämpötilassa havaitut piikit.



Kuva 3.21: (a) Näytteen 38 I,V-käyrä ja (b) näytteen 38 differentiaalinen konduktanssi dG nestemäisessä tyypessä. I,V-käyrässä on esitetty useamman mittauksen tulokset samalta mittaukskerralta.

Mahdollinen selitys hypyille ja piikeille on saaren potentiaalin muutos johtuen

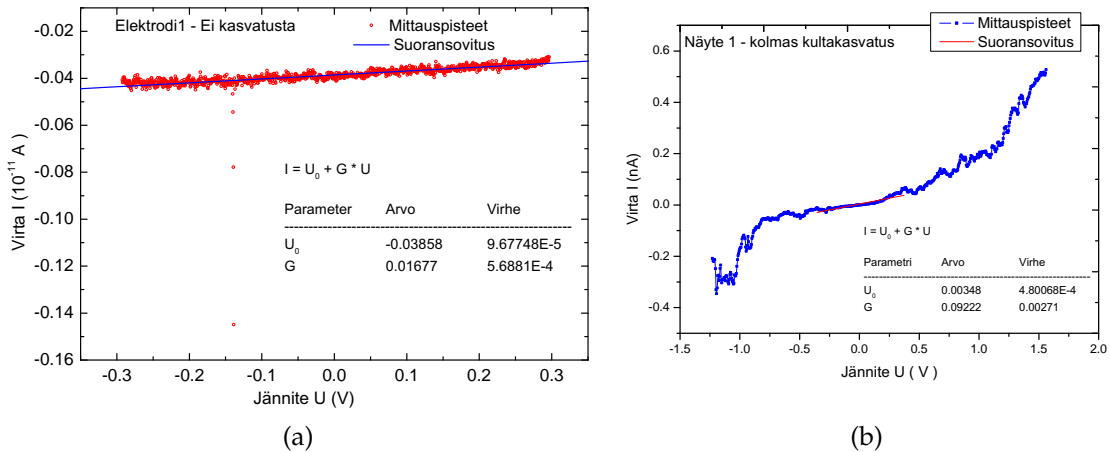
piioksiidiin jääneistä elektroneista, jotka ovat vangittu tiettyyn tilaan. Nämä elektronit pystyvät liikkumaan piioksidin pinnalla muuttaen saarekkeen varausta. Kuvasta 3.22 näkee, että kaikissa lämpötiloissa on havaittavissa hyppyjä, ja esimerkiksi nestemäisen typen mittauksissa on havaittavissa hyppyjä kahden eri ominaiskäyrän välillä. Toinen selitys voi olla resonanssitunneloituminen, joka selittäisi korkeissa lämpötiloissa havaittavat piikit. Hypyt ja harjanteet eivät taas selity resonanssitunneloitumisella ja IV-käyrän ilmiöt ovat lämpötilariippuvaisia toisin kuin resonanssitunneloitumisessa: Tarkastellessa kaikkia tuloksia on selkeää, että koska hilajännite vaihtelee lämpötilan mukana satunnaisesti, ja käyrissä esiintyy hyppyjä vähemmän matalissa lämpötiloissa kuin korkeissa, resonanssitunneloituminen ei todennäköisesti aiheuta muutoksia. Enemminkin tuloksista näkyy, että näytteen virta vaihtelee eri ominaiskäyrien välillä, jolloin syntyy pientä oskillaatiota ja hyppyjä. Myös termiset flukтуаatiot voivat aiheuttaa oskillaatiota, mutta matalissa lämpötiloissa havaitaan myös hyppyjä, jotka eivät selity termisillä flukтуаatiolla.



Kuva 3.22: Näytteen 38 eri lämpötilojen mittaustulokset: kuvissa on havaittavissa hyppyjä, jotka voivat johtua saaren varauksen muutoksista

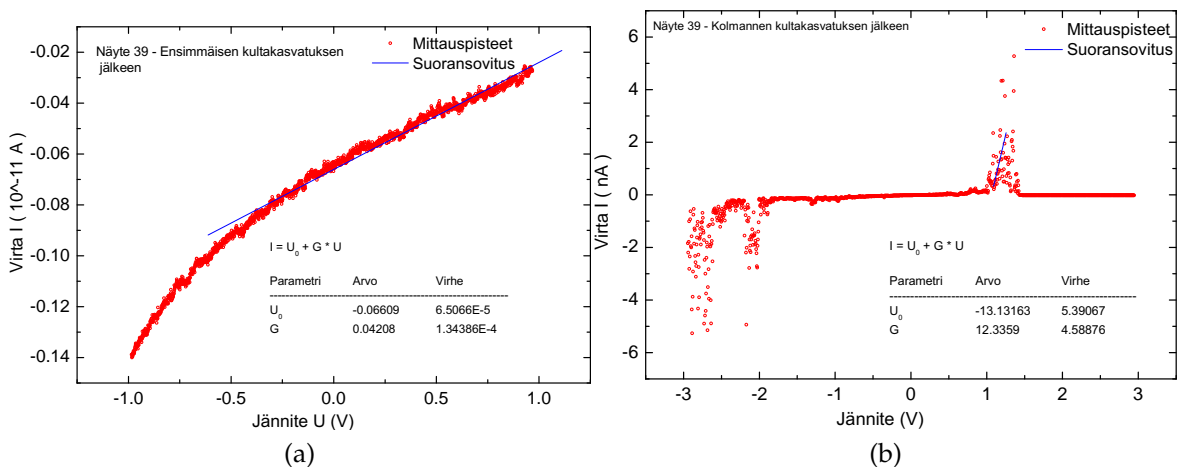
### 3.4.0.2 Muiden näytteiden mittaukset

Näytteen 1 IV-käyrä mitattiin ennen kultakasvatusta sekä viimeisen kultakasvatuksen jälkeen (ks. 3.23a ja 3.23b). Ennen kultakasvatusta näytteen resistanssi on noin  $6\text{ T}\Omega$  ja käyttäytyminen on ohminen lukuun ottamatta pientä virtapiikkiä. Kolmannen kultakasvatuksen jälkeen resistanssi oli noin  $11\text{ G}\Omega$ . Kuten näytteellä 38 myös tällä näytteellä on havaittavissa piikkejä IV-käyrässä, jotka ovat tasaisin välein ja joiden korkeus kasvaa jännitteen kasvaessa. Piikit eivät ole täysin samassa kohtaa kuin näytteellä 38, johtuen todennäköisesti näytteen geometriasta, aukkojen koosta sekä saaren yleisestä rakenteesta. Kynnysjännite on noin  $\pm 0,25\text{ V}$ , joka on pienempi kuin näytteellä 38.



Kuva 3.23: (a) Näytteen 1 IV-käyrä ennen kultakasvatusta ja (b) näytteen 1 IV-käyrä kolmannen kultakasvatuksen jälkeen.

Näytteen 39 huoneenlämpötilassa mitatut IV-käyrät ensimmäisen kultakasvatuksen jälkeen ja kolmannen kultakasvatuksen jälkeen on esitetty kuvissa 3.24a ja 3.24b. Ensimmäisen kultakasvatuksen jälkeen havaittavissa varautumista ja näytteen resistanssin on noin 2,4 TΩ. Kolmannen kasvatus kerran jälkeen on havaittavissa samanlaisia piikkejä kuin näytteillä 38 sekä 1, mutta tässä tapauksessa havaittavissa on vahva piikki noin -2 V kohdalla ja heikommät piikit noin -1,2 V ja 0,9 V kohdalla. Piikkien kohdalla virrassa on paljon enemmän hajontaa, joka viittaisi epävakaampaan rakenteeseen kuin näytteiden 38 tai 1 kohdalla, mutta verrattaessa AFM-kuvia näytteessä 39 esiintyy vähemmän rakeita kuin kahdella muulla. IV-käyrästä löytyy myös origon suhteen poikkeamaa, joka voi liittyä näytteen epäsymmetrisyyteen. Elektrodirakenne hajosi mittauksissa noin 1,2 V kohdalla, sillä käyrä tasoittui nolnaan. Tämä on myös havaittavissa AFM-kuvasta 3.13b.



Kuva 3.24: (a) Näytteen 39 IV-käyrä ensimmäisen kultakasvatuksen jälkeen ja (b) näytteen 39 IV-käyrä kolmannen kultakasvatuksen jälkeen huoneenlämpötilassa.



# Luku 4

## Johtopäätökset

### 4.1 BAB-AuNP konjugaattien muodostaminen ja DEP vangitseminen

Työssä onnistuttiin liittämään kultapartikkelit BAB-rakenteeseen ohjautuvasti ja pystyttiin osoittamaan, että lämmitysprosessi tehostaa kultapartikkelien konjugointia. Vertailukohtana ollut haudutusprosessi toimii myös, mutta vähemmän konjugoituja rakenteita muodostuu prosessissa. Kaksi vahvaa tekijää, jotka vaikuttaa kultapartikkelien kiinnittymiseen DNA-rakenteeseen, ovat niiden kiinnityskohtien geometria BAB-rakenteessa sekä lisätyn magnesiumin määrä. Yleisesti ongelma on, että keskimäinen kultapartikkeli ei välttämättä kiinnity rakenteeseen, joka havaittiin työssä kohtuullisen suurena kahden konjugaattien määränä. Liuoksessa on suhteessa enemmän reunoille kiinnittyviä kultapartikkeleita kuin keskelle kiinnittyviä, joten on todennäköisempää, että ensin kiinnittyy BAB:n laidalle kultapartikkeli. Tästä seuraa, että keskelle on hankalampi kiinnittyä kuin rakenteen toiselle laidalle. Lämpötilaa kasvattamalla kultapartikkelilla on enemmän energiaa voittaa *Coulombin* repulsiot, joka havaittiin parempana saantona konjugoinnista. Tämä ongelma pystyttäisiin myös kiertämään käsittelemällä ensin BAB-rakenne kultapartikkeleilla, jotka kiinnittyvät A-tiileen. Tämän jälkeen lisättäisiin liuokseen B-tiileen liittyvät kultapartikkelit ja jatkettaisiin käsittelyä vastaavasti.

Konjugaatteja valmistattaessa magnesiumin määrällä on myös vaikutusta konjugointiin, sillä suurella magnesiumin konsentraatiolla havaittiin näytteiden aggregoitumista. Magnesium esiintyy pienenä ionina liuoksessa, joka pystyy helposti peittämään kahden kultapartikkelin välistä hylkimistä. Tällöin kultapartikkelit voivat kiinnittyä toisiinsa tai BAB-rakenteeseen ja muodostaa kimppuja. Vastaavasti pienellä magnesiumin konsentraatiolla havaitaan pienempi konjugointisaanto, joten magnesiumin määrä vaatii optimointia. Myös 1xTae puskurin osuudella voi olla vaikutusta, koska konjugoinnissa käytettiin puskuria, joka sisältää sekä 1xTAE:ta että HEPES/NaOH puskuria, ja BAB on stabiilimpi TAE-puskurissa.

Dielektroforeesi vangitseminen onnistui erittäin hyvin, ja työssä pystyttiin määrittämään parametrit, joilla saatiin vangittua 3-konjugaatti rakenne suurella todennäköisyydellä. DEP vangitsee selektiivisesti suuria rakenteita, jolloin suodatetuista näytteistä saadaan 3-konjugaatit vangittu kohtuullisen helposti. Myös jonkin verran yksittäisiä kultapartikkeleita havaittiin aukon ympärillä, mutta ei juurikaan aukossa.

Havaittiin, että puskuri vaikuttaa lämpökonvektioon sekä AC elektro-osmoottiseen virtaukseen, joka näkyy kappaleiden muodostamana rintamana usean kymmenen mikrometrin päässä elektrodin aukosta. Tämä aiheutti sen, että parametrejä piti muuttaa hieman, jotta kappaleet ajautuisivat aukkoon. Työssä käytettiin joka kerta samaa Hepes/NaOH-puskuria vangitsemisessa, mutta jokainen valmistettu konjugointierä on erilainen verrattuna toiseen. Todennäköisesti konjugointiliuoksen ionien määrä eli sähkönjohtavuus vaihtelee, joka taas vaikuttaa mikrovirtauksiin. Lisäksi eri näytteille käytettiin eri laimennoksia, joka määrää miten dominoiva Hepes/NaOH-puskuri on liuoksessa. Kuitenkin hyvänä ohjearvona havaittiin, että liuoksen sähkönjohtavuuden kasvaessa AC-kentän amplitudia pitää pienentää. Konjugaattirakenteiden lisäksi onnistuttiin vangitsemaan kaksi kertaa pelkkä BAB. Vangitsemisen parametrit ovat lähes samat, mitä käytetään BAB:n ja origamien vangitsemiseen, joten on mahdollista, että pelkkä BAB vangitaan.

Vangitsemiseen liittyi alunperin epäilyjä 15 emäsparin kestävydestä. Selkeästi tuloksista näkyy, ettei DEP-voimat ole riittäviä purkamaan kaksoissidosta, koska 3-konjugaatteja saatiin vangittua. Lisäksi elektrodirakenteen ympärillä havaittiin paljon 2- ja 3-konjugaatteja. Tämä viittaisi siihen, ettei tulevissa itsejärjestäytyvien DNA-järjestelmien ja kultapartikkelien konjugaattirakenteissa tarvitse ottaa huomioon kinaasi- ja ligaasikäsittelyä, kunhan kultapartikkelin ja DNA-rakenteen välinen kaksoissidos tehdään vähintään 15 emäsparin pituiseksi.

## 4.2 Sähköiset mittaukset ja rakenteen kasvatus

BAB:n ja kultapartikkelien konjugoitu rakenne ei johtanut ilman ylimääräistä käsittelyä. Tämä johtuu todennäköisesti kultapartikkelien välisistä etäisyyksistä ja mahdollisesti aukosta kultapartikkelin ja elektrodirakenteen välille. Kultakasvatetulle rakenteelle *Coulombin saarto* havaittiin kolmella näytteellä. Tällöin kultapartikkelien välinen etäisyys on alle 2 nm, jonka toteuttaminen on hyvin haastavaa. Havaittu saarto oli hyvin terävä matalissa lämpötiloissa, mutta lämpötilan kasvaessa käyrä pyöristyi ja mukaan tuli oskillaatioita. Korkean lämpötilan oskillaatiot voivat johtua osittain lämpökohinasta, joka kasvaa lämpötilan mukana. Lisäksi havaittiin, että keskimäinen kultapartikkeli pystyy liikkumaan sähkökentän mukana. On mahdollista, että osa nähtävistä oskillaatiosta johtuu kultapartikkelien liikkeestä aukossa: Partikkelin liikkuaessa systeemin kapasitanssi kasvaa ja varautumisenergia on liian suuri tunneloitumiselle. Tällöin sähkövirta tippuu nolnaan. Liike on kuitenkin pientä, sillä pienellä jännitteen kasvattamisella virta alkaa kulkemaan näytteen läpi.

Useasta näytteestä vain kolmelle näytettä onnistuttiin kasvattamaan niin, että *Coulombin saarto* havaittiin. Kultakasvatus asettaa siis haasteita, sillä yleensä yksi kasvatuskerta ei riitä. Lisäksi käytetty kemiallinen kultan kasvatus väline ei ole suunniteltu tämän kaltaisten rakenteiden kasvattamiseen, jolloin kasvatusprosessit aiheuttavat rakeisuutta eikä kasvu ole aina tasaista. Lisäksi kasvatuksessa lisätyt kultapartikkelit, joita käytettiin kasvunopeuden hidastamiseen, voivat lisätä rakeisuutta tai mahdollisesti pilaavat näytteen. Selkeästi paras menetelmä kasvatuksessa on laimentaa liuoksia A ja D. Verrattuna koko liuoksen laimentamiseen tällä keinolla saadaan tuotettua vähennettyä rakeisuutta. Jotta yhden elektronin transistori voitaisiin toteuttaa helposti käyttäen työssä käytettäviä menetelmiä, pitää kultakasvatus-

prosessista saada tasainen ja helposti kontrolloitava. Lisäksi BAB:hen kiinnitettävien kultapartikkelien koko pitää olla homogeeninen.

Työssä oli tarkoitus mitata myös SET:n virtaa hilajännitteen funktiona, mutta yksikään näyte ei kestänyt liiallista kuormitusta tai näytteet hajosivat mittauksien valmistelujen aikana. Kuitenkin IV-käyristä havaittiin hyppimistä, joka todennäköisesti johtuu kantapotentiaalinen muutoksista, jolloin SET:n IV-käyrä muuttuu. Tähän viittaisi se, että huoneenlämpötilassa esiintyy piikkejä ja harjanteita, jotka vastaavat mahdollisesti eri IV-käyriä. Nämä piikit kuolevat lämpötilan laskiessa. Toinen mahdollisuus olisi resonanssitunneloituminen, mutta jos kyseessä olisi resonanssitunneloituminen, lämpötilariippuvuutta ei pitäisi olla. Lisäksi kantapotentiaalinen muutokset ovat mahdollisia, koska on osoitettu, että piioksidipinnalla voi olla loukkuneita elektroneja. Nämä elektronit pystyvät vaikuttamaan kantajännitteeseen tunneloitumalla saarekkeen kohdalle ja pois. Huoneenlämpötilassa tämä tunneloituminen pitäisi olla suurempaa kuin matalammassa lämpötilassa johtuen suuremmasta termisestä energiasta, joka selittäisi lämpötila käyttäytymisen. Myös havainto, että näytteen 38 kynnysjännite vaihtelee eri lämpötiloissa noin 0,5 V ja 1 V välillä, viittaisi enemmänkin kantajännitteen muutoksiin. Mitatut kynnysjännitteet ovat suurempia, kuin mitä teoreettinen lasku antaa. Yksi selitys tälle on, että kultapartikkelien välinen etäisyys on suurempi kuin 2 nm tai niiden välinen efektiivinen pinta-ala on pienempi. Kuitenkin laskettu kynnysjännite on samaa kertaluokkaa kokeellisten tulosten kanssa, joka vahvistaa, että *Coulombin saarto* johtuu tunneliliitoksen aiheuttamasta kapasitiivisesta varautumisesta. Erot kokeellisten ja teoreettisten arvojen välillä voivat johtua kultakasvatuksen rakeisuudesta, jolloin saarekke ei muodostu enää maksimissaan vain kolmesta saarekkeesta vaan saarekkeita voi olla enemmän. Tällöin SET:n kokonaiskapasitanssi pienenee ja kynnysjännite taas kasvaa.

On siis pystytty osoittamaan, että konjugoidun rakenteen käyttö yhden elektronin transistorina on mahdollista. Ongelmana laajemmalle käyttöönotolle on valmistusprosessin optimoiminen, joka vaatisi tasaisen kultakasvatusprosessin. Lisäksi, jotta rakennetta voitaisiin käyttää elektroniikan komponenttina, vaatii se jäähdytystä: Huoneenlämpötilassa rakenteiden läpi virtaavassa virrassa esiintyy liikaa oskillatioita johtuen termisestä kohinasta ja kantapotentiaalinen muutoksista. Lisäksi näytealusta pitää valmistaa niin, että piioksidipinnan varaukset eivät vaikuta transistorin toimintaan.

# Kirjallisuutta

- [1] *DNA in a material world*; Nadrian C. Seeman; Nature, vol. 421; 2003
- [2] *Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns*; Paul W. K. Rothemund; Nature, 2006, 440, s.297-302
- [3] *Challenges and opportunities for structural DNA technology*; Andre V. Pinheiro, Dongran Han, William M. Shih, Hao Yan; Nature technology, 2011
- [4] *The Quest for High-Conductance DNA*; Endres, R. G.; Cox, D. L.; Singh, R. R. P. Colloquium; Rev. Mod. Phys, 2004, 76, s.195–214
- [5] *Kanditaatin tutkinto*; Kosti Tapio, 2010
- [6] *DNA-BASED APPLICATIONS IN MOLECULAR ELECTRONICS*; VEIKKO LINKO, Academic Dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy; 2011
- [7] *Cooperative Hybridization of Oligonucleotides*; David Yu Zhang; J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, s.1077–1086
- [8] *Highly Ordered Assemblies of Au Nanoparticles Organized on DNA*; Hidenobu Nakao et. al.; NANO LETTERS; 2003, Vol. 3, No. 10, s.1391-1394
- [9] *DNA-Templated Self-Assembly of Metallic Nanocomponent Arrays on a Surface*; John D. Le, Yariv Pinto, Nadrian C. Seeman, Karin Musier-Forsyth, T. Andrew Taton and Richard A. Kiehl; NANO LETTERS; 2004, Vol. 4, No. 12, s. 2343-2347
- [10] *DNA-based self-assembly of chiral plasmonic nanostructures with tailored optical response*; Anton Kuzyk, Robert Schreiber, Zhiyuan Fan, Günther Pardatscher, Eva-Maria Roller, Alexander Högele, Friedrich C. Simmel, Alexander O. Govorov & Tim Liedl; Nature, 2012, vol 483, 311

- [11] *Self-Assembly in Micro- and Nanofluidic Devices: A Review of Recent Efforts*; Hwa Seng Khoo, Cheng Lin, Shih-Hao Huang and Fan-Gang Tseng; *Micromachines* 2011, 2, s.17-48
- [12] *Breaking Abbe's diffraction resolution limit in fluorescence microscopy with stimulated emission depletion beams of various shapes*; Thomas A. Klar, Egbert Engel, and Stefan W. Hell; *PHYSICAL REVIEW E*, Volume 64
- [13] *Single Electron Tunneling*; Gerd Schön; 1997
- [14] *Simulation of characteristics of a molecular single-electron tunneling transistor with a discrete energy spectrum of the central electrode*; V. V. Shorokhov, P. Johansson, E. S. Soldatov; *JOURNAL OF APPLIED PHYSICS*, VOLUME 91, NUMBER 5; 2002
- [15] *Top-Down Meets Bottom-Up: Dip-Pen Nanolithography and DNA-Directed Assembly of Nanoscale Electrical Circuits*; Sung-Wook Chung, David S. Ginger, Mark W. Morales, Zhengfan Zhang, Venkat Chandrasekhar, Mark A. Ratner, and Chad A. Mirkin; *small* 2005, 1, No. 1, s64–69
- [16] *Integration of Colloidal Nanocrystals into Lithographically Patterned Devices*; Yi Cui, Mikael T. Bjork, J. Alexander Liddle, Carsten So1nnichsen, Benjamin Bousert, and A. Paul Alivisatos; *NANO LETTERS*; 2004, Vol. 4, No. 6, s.1093-1098
- [17] *Matter and Methods at Low Temperatures*, Frank Pobell, 3rd edition, 2007
- [18] *Understanding DNA - The molecule and how it works*; Chris R. Calladine, Horace R. Drew, Ben F. Luisi, Andrew A. Travers; 3rd edition; 2004
- [19] *Surface Science of DNA Adsorption onto Citrate-Capped Gold Nanoparticles*; Xu Zhang, Mark R. Servos ja Juewen Liu; *American Chemical Society*, 2012, 28, s.3896-3902
- [20] *Programmable DNA Self-Assemblies for Nanoscale Organization of Ligands and Proteins*; Sung Ha Park, Peng Yin, Yan Liu, John H. Reif, Thomas H. LaBean, and Hao Yan; *NANO LETTERS*, 2005, Vol. 5, No. 4, s.729-733
- [21] *Two-Dimensional Nanoparticle Arrays Show the Organizational Power of Robust DNA Motifs*; Jiwen Zheng et al. ; *NANO LETTERS* ; 2006, Vol. 6, No. 7, s.1502-1504

- [22] *Periodic Square-Like Gold Nanoparticle Arrays Templated by Self-Assembled 2D DNA Nanogrids on a Surface*; Junping Zhang, Yan Liu, Yonggang Ke, and Hao Yan; NANO LETTERS, 2006, Vol. 6, No. 2, s.248-251
- [23] *Note on the Capacitance of Two Closely Separated Spheres*; Rawlins, A. D.; IMA Journal of Applied Mathematics , 1985, 34, s.119–120
- [24] *Physics and Applications of Quantum Wells and Superlattices*; E.E. Mendez, K. von Klitzing; 1987
- [25] *Carbon Nanotube Single-Electron Transistors at Room Temperature*; Henk W. Ch. Postma, Tijs Teepen, Zhen Yao, Milena Grifoni, Cees Dekker; SCIENCE, 2001, vol 293
- [26] [http://www.nextnano.de/nextnano3/tutorial/1Dtutorial\\_RTD\\_green.htm](http://www.nextnano.de/nextnano3/tutorial/1Dtutorial_RTD_green.htm)
- [27] *Noise Sources in Bulk CMOS*; Kent H. Lundberg, [http://web.mit.edu/klund/www/papers/UNP\\_noise.pdf](http://web.mit.edu/klund/www/papers/UNP_noise.pdf)
- [28] *Grounds for grounding - A Circuit-to-System Handbook*; Elya B. Joffe, Kai-Sang Lock, 2010, Wiley
- [29] *Nanoprobes Gold<sup>TM</sup> Enhance EM Formulation*, cat. num. 2113, <http://www.nanoprobes.com/instructions/Inf2113.html>
- [30] *Fundamentals of Interface and Colloid Science*; Lyklema, J. ; vol.2, 1995
- [31] *Pro Gradu: Fluid dynamics in DEP trapping of DNA origamis and their functionalization*; Kimmo Laitinen; 7th April 2009; UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ
- [32] *Organic structural spectroscopy*; Joseph B. Lambert, Herbert F. Shurvell, David A. Lightner, R. Graham Cooks; 2001
- [33] [http://www.enotes.com/topic/Beer%E2%80%93Lambert\\_law](http://www.enotes.com/topic/Beer%E2%80%93Lambert_law)
- [34] *Light-Scattering Submicroscopic Particles as Highly Fluorescent Analogs and Their Use as Tracer Labels in Clinical and Biological Applications*; Juan Yguerabide ja Evangelina E. Yguerabide; ANALYTICAL BIOCHEMISTRY 262, s.137–156 (1998)
- [35] *Gold-silver and silver-silver nanoparticle constructs based on DNA hybridization of thiol- and amino-functionalized oligonucleotides*; Steinbrück A, Csaki A, Ritter K, Leich M, Köhler JM, Fritzsche W; J Biophotonics, 2008

[36] J. Turkevich. Colloidal gold. Part II. Gold bulletin, 18(4):125(131), 1985

[37] *Preparing Colloidal Gold for Electron Microscopy*, <http://www.polysciences.com/SiteData/docs/787/f84f6a4bd04961d4a5c4a7cad655cfcf/787.pdf>

# Liitteet

## BAB-rakenteen juosteet 1-14

Juoste	<i>Sekvenssit</i>
1a	ATCGAGAGACATAACTGCTTGACCACGCTGTACGAAG
1b	TTCTTCTTCTTCTTCCTTCGTTTCGGAACCTGACTCCTAATCAGCA
2	AGGAGTCACTCTCGATGCCAGACG
3	GGTATAGTATGCAACGTGAATGAACAAGGTGAGG- TGTC AATGGAGATGAATGTTTC
4	ATCTCCATTGACAGGTCAAGCAGTTATGTGGTTC- TGCATACTATAACCGAATGTTTC
5	ATAGCACC ACTGCAAGGCCAGACG
6	CTTGCAGTCCTTGTTTCATTCACGTCGATACAGCG- TCCTCAGGTGCTATAATCAGCA
7	TGGAGCGACATG
8	AGATAACATAAGGACACTTAGGAATCCAGTACTG- ACACACAGTTGGAACATTC
9	CAACTGTGTGAATGGGACTTTGCTGATT
10	AGCTGAACCTACAGTCATACGACTCGAACACGTAGTATCA- TCTAGCGTCTGGC
11e	CTAGATGATACTACGGCTACTCAGTACTGGATTCCCTAAG- TGAATTGGACTCAAC
12e	AAAAAAAAAAAAAAAAAGTTGATTGATCATGATGTTTCGAGT- CGTATGACTGTACTATCTCCTTATGTTATCTCATGTCGCTCCA
13	AAGTCCCATTGTAGCTCATGATCGTCCAATTGATAGCCCT- GTTGACATGTCGCTCCA
14	TCAACAGGGGGTTCAGCTCATGTCGCTCCA