

University of Groningen

Detecting free radicals in single cells using diamond relaxometry

Nusantara, Citra

DOI:
[10.33612/diss.229614020](https://doi.org/10.33612/diss.229614020)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2022

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):
Nusantara, C. (2022). *Detecting free radicals in single cells using diamond relaxometry*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.229614020>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Fluctuaties in het magnetische veld veroorzaakt door paramagnetische soorten, zoals vrije radicalen, is een type magnetisch signaal in het biologische systeem. Vrije radicalen zijn alle moleculaire soorten die een ongepaard elektron in een atomaire baan bevatten. Deze vrije radicalen zijn de belangrijkste oorzaak van veroudering en ziekten die wereldwijd de meeste sterfgevallen veroorzaken.

Diamantmagnetometrie maakt magnetische resonantie metingen op nanoschaal mogelijk door gebruik te maken van fluorescerende defecten in diamant. Deze methode maakt gebruik van een fluorescerend defect in diamant dat magnetische resonantiesignalen omzet in optische signalen.

Dit proefschrift onderzoekt het gebruik van relaxometrie (ook wel T1-meting genoemd), een specifiek type magnetometrie, om magnetische velden te detecteren die worden gegenereerd door vrije radicalen in afzonderlijke cellen.

Hoofdstuk 1 introduceert onderwerpen die belangrijk zijn in dit proefschrift door de wetenschappelijke achtergrond van detectie van vrije radicalen in biologische systemen uit te leggen. Dit hoofdstuk geeft een overzicht van het genereren van vrije radicalen en enkele bestaande methoden voor het detecteren van vrije radicalen met hun beperkingen, namelijk een lage gevoeligheid en een lage ruimtelijke en temporele resolutie. Vervolgens werd relaxometrie geïntroduceerd als een oplossing voor deze beperkingen. De eigenschappen van fluorescerende nanodiamanten en hun gebruik als biosensor werden besproken.

Omdat deze techniek relatief nieuw is, was er nog geen standaard manier om de gegevens te interpreteren. In **hoofdstuk 2**, wilden we een kalibratie voor dit systeem ontwikkelen. We hebben

metingen uitgevoerd in gecontroleerde omgevingen met bekende concentraties gadolinium of radicalen. Meer specifiek volgen we de fotolyse van H₂O₂ en de Haber-Weiss-reactie, die belangrijke reacties zijn in biologische omgevingen. We onderzoeken ook verschillende nanodiamant-sondes en hun vermogen om gadolinium-spinlabels te detecteren. Waar dit tot nu toe alleen in een schone omgeving gebeurde, hebben we rekening gehouden met het effect van zouten en eiwitten die aanwezig zijn in een biologische omgeving. Verrassend genoeg hebben kleinere nanodiamanten, in tegenstelling tot metingen van enkelvoudige defecten, betere coherentietijden. Dit is een belangrijke stap op weg naar het kwantificeren van magnetische resonantiesignalen in een biologische omgeving.

Het is nuttiger om signalen uit specifieke regio's in cellen te hebben. In **hoofdstuk 3** richtten we ons op mitochondriën, de energiefabrieken van de cellen. Het is relevant om te meten in mitochondriën omdat dit ook het gebied is waar het meeste vrije radicalen afval wordt gegenereerd. We hebben onze diamantsensoren gecoat met antilichamen om ze op mitochondriën te richten. Op deze manier konden we onderscheid maken tussen de vorming van vrije radicalen in mitochondriën en ergens anders in de cel. Deze vorming van vrije radicalen werd onderzocht door bepaalde metabolische processen op gang te brengen of te remmen. Het reageert op de trigger wanneer de nanodiamant zich op de mitochondriën bevindt en blijft onaangetast wanneer dat niet het geval is. We hebben ook mitochondriën geïsoleerd en daar dezelfde meting uitgevoerd.

Vrije radicalen spelen een sleutelrol in het verouderingsproces. In **hoofdstuk 4** gebruiken we relaxometrie om de vorming van vrije radicalen in gistcellen te detecteren tijdens oxidatieve stress en veroudering. We zijn in staat om de vorming van vrije radicalen te volgen na het chemisch induceren van stress. Bovendien kunnen

we de vermindering van de radicaalbelasting waarnemen in aanwezigheid van een antioxidant. We konden duidelijk onderscheid maken tussen mutante stammen met een veranderd metabolisme. We ontdekten dat relaxometrie het verouderingsproces kan volgen en onderscheid kan maken tussen jonge en oude cellen en het verouderingsgedrag van mutante stammen kan vergelijken.

Terwijl we eerder relaxometrie gebruikten in levende cellen van een cellijn, hebben we deze techniek in **hoofdstuk 5** toegepast in menselijke primaire cellen. We onderzochten primaire dendritische cellen van verschillende donoren. Deze cellen spelen een sleutelrol in het menselijke immuunsysteem en zijn van groot belang bij veel ziekten. We vergeleken en valideerden onze resultaten met conventionele technieken.

In **hoofdstuk 6** hebben we concentraties van vrije radicalen van individuele bacteriën waargenomen. We ontdekten dat de hoeveelheid vrije radicalen toeneemt in de aanwezigheid van UV-straling en ook afhankelijk is van de dosis antibiotica waaraan de cellen werden blootgesteld. Deze bevinding is zeer waardevol, vooral voor toepassingen bij resistentie tegen geneesmiddelen.

Hoofdstuk 7 wordt afgesloten met een algemene discussie en schetst de toekomstige toepassing van diamantmagnetometrie.