

Spontaneous emission in nanoscopic dielectrics and investigation of native nuclear membranes by combining atomic force microscopy and optical imaging

Doctoral Thesis

Author(s):

Schniepp, Hannes Christian

Publication date:

2004

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004884973>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS. ETH Nr. 15613

**SPONTANEOUS EMISSION IN NANOSCOPIC DIELECTRICS
AND
INVESTIGATION OF NATIVE NUCLEAR MEMBRANES BY
COMBINING ATOMIC FORCE MICROSCOPY
AND OPTICAL IMAGING**

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN

vorgelegt von

HANNES CHRISTIAN SCHNIEPP

Dipl.-Phys., Universität Konstanz

geboren am
11.03.1971

von
Deutschland

Angenommen auf Antrag von

Prof. Vahid Sandoghdar
Prof. Ataç Imamoglu

2004

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit besteht aus zwei Teilen. Im ersten Teil wird die spontane Emission von Emittern, die in nanoskopisch kleine, dielektrische Medien eingebettet sind, behandelt. Dazu wird eingangs anhand von theoretischen Betrachtungen erläutert, dass für Medien, die deutlich kleiner als die Emissionswellenlänge sind, wesentlich niedrigere spontane Emissionsraten zu erwarten sind als wenn sich die Emitter in makroskopisch großen Medien befinden.

Zur experimentellen Untersuchung dieses Phänomens, wurden farbstoffdotierte, sphärische Kolloide aus Polystyrol verschiedener Durchmesser zwischen 100nm und $2\mu\text{m}$ verwendet. Beim eingebetteten Farbstoff handelt es sich um ein Europium-Chelat mit einer Emissionswellenlänge von 614nm. Die Experimente wurden mit einer selbst gebauten Apparatur, die Konfokal- und Kraftmikroskopie kombiniert, durchgeführt. Mit diesem Aufbau kann die Lebensdauer der spontanen Emission an einzelnen der dotierten Nanosphären mit einer Genauigkeit von circa einem Prozent bestimmt werden.

Bei der ersten systematischen Untersuchung dieser Art haben wir spontanen Emissionsraten als Funktion der Durchmesser der Mikro- und Nanosphären bestimmt. Es zeigte sich, dass unterhalb eines Durchmessers von circa einer Wellenlänge die Emissionsrate kontinuierlich abnimmt, wenn der Durchmesser verringert wird. Bei den kleinsten untersuchten Kugeln mit einem Durchmesser von 100nm konnten wir nachweisen, dass die spontane Emission im Verhältnis zu Emittern in makroskopisch großen Medien um einen Faktor drei unterdrückt ist.

Der zweite Teil der Arbeit handelt von Untersuchungen der Membran, die den Zellkern einhüllt. In dieser Membran befinden sich die *Kernporenkomplexe* – große Proteinkomplexe, die im Zentrum eine Öffnung mit einem Durchmesser von circa 40nm aufweisen. Alle Moleküle und Ionen, die zwischen Zellkern und Zelle ausgetauscht werden, müssen diese Poren passieren. Jedoch sind die Details dieses Transportprozesses noch nicht vollständig verstanden.

Das kombinierte Konfokal- und Kraftmikroskop wurde dafür so erweitert, dass Messungen in wässrigem Milieu möglich sind. Das ermöglichte die Untersuchung der Membran in einer physiologischen Pufferlösung, was der natürlichen Umgebung der Membran sehr nahe kommt. Wir haben die Machbarkeit von Transportmessungen an einzelnen Kernporenkomplexen mithilfe von kombinierter Konfokal- und Kraftmikroskopie untersucht. Dazu ist es notwendig, AFM-Abbildungen an Membranen durchführen zu können, die über kleine Bereiche frei tragend aufgespannt sind. Zu diesem Zweck haben wir in einem Reinraumlabor Glassubstrate mit mikrofabrizierten Löchern mit einem Durchmesser von 200nm hergestellt. Erfolgreiches Abbilden von Kernmembranen, die über solchen löchrigen Substraten aufgespannt waren, konnte demonstriert werden.

Summary

This work consists of two major parts. In the first part, spontaneous emission from emitters inside nanoscopic dielectric media is investigated. In the beginning, a theoretical analysis shows that emitters in dielectrics much smaller than the emission wavelength are expected to have much smaller fluorescence decay rates than emitters embedded in macroscopic dielectrics.

For the experimental investigation of this phenomenon, we have used dye-doped polystyrene spheres with diameters ranging from 100nm to $2\mu\text{m}$. The dye is a europium chelate with an emission wavelength of 614nm. The experimental study was performed by means of a home-built combined atomic force and confocal microscope. This setup allows a determination of lifetimes of individual dye-doped colloids with an accuracy of approximately one percent.

In the first systematic investigation of this kind we have measured the fluorescence decay rates of the emitters inside the spheres as a function of the sphere diameters. We found that the fluorescence decay rates for nanoscopic spheres are significantly below the corresponding values for emitters embedded in bulk dielectrics. For sphere diameters below the emission wavelength the decay rate drops continuously when the sphere diameter is reduced. The smallest spheres with a diameter of 100nm exhibit a spontaneous decay rate which is three times lower than the rate of emitters in bulk dielectrics.

The second part of the work is dedicated to the investigation of the membrane which separates the cell nucleus from the cytoplasm. Large protein complexes, the so-called nuclear pore complexes, are embedded in this membrane. They feature a central opening with a diameter of about 40nm. All molecules and ions which are exchanged between the nucleus and the cell have to pass these pores. The details of this transport process are not yet fully understood.

We have studied these membranes by means of combined confocal and atomic force microscopy (AFM). Our instrument was modified such that measurements in aqueous solutions can be performed. This allows to study nuclear membranes in a physiological buffer solution which comes very close to the natural environment of the membrane. We have investigated the feasibility of combined confocal and atomic force microscopy for real-time transport measurements on the level of individual pore complexes. A necessary prerequisite for such experiments is the ability to image mechanically unsupported membranes by means of AFM. We have therefore produced glass substrates with holes of 200nm diameter in a clean room facility. Successful AFM imaging of membranes attached to those holey substrates was demonstrated.