

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 33/533 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680033070.0

[43] 公开日 2008年10月8日

[11] 公开号 CN 101283276A

[22] 申请日 2006.9.8
 [21] 申请号 200680033070.0
 [30] 优先权
 [32] 2005.9.8 [33] US [31] 11/220,969
 [32] 2005.11.23 [33] KR [31] 10-2005-0112245
 [86] 国际申请 PCT/KR2006/003569 2006.9.8
 [87] 国际公布 WO2007/029980 英 2007.3.15
 [85] 进入国家阶段日期 2008.3.10
 [71] 申请人 比特里斯株式会社
 地址 韩国京畿道
 [72] 发明人 李振奎 赵明行 朴承范 尹态钟
 金俊成 金炳杰 柳敬楠

[74] 专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司
 代理人 周建秋 王凤桐

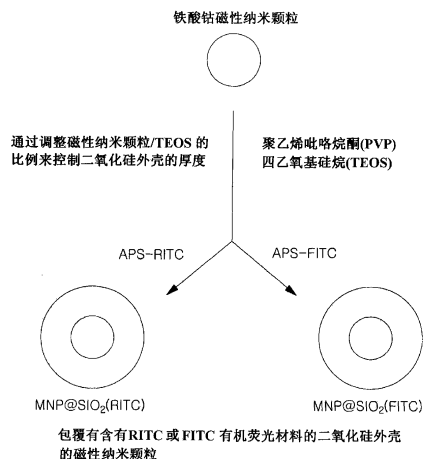
权利要求书 4 页 说明书 18 页 附图 11 页

[54] 发明名称

具有荧光性的磁性纳米颗粒及其制备方法和应用

[57] 摘要

公开了一种具有荧光性的磁性纳米颗粒(MNPs)及其制备方法和应用。本发明的磁性纳米颗粒既具有光学性能也具有磁性能,因此能够广泛地应用于生物领域。通过使用亲水性的材料对磁性纳米颗粒的二氧化硅表面进行处理,能够将多种化学官能团引入至纳米尺寸的材料中。另外,通过使用这种被化学修饰的纳米尺寸的材料,能够提高或降低磁性纳米颗粒向细胞中的渗透性能,并且能够提高只作用于预期的特定细胞的选择性。



1、一种磁性纳米颗粒，该纳米颗粒包括核和包覆在该核上的表面修饰的二氧化硅外壳，该核含有磁性材料，该外壳含有有机荧光材料，其中，该纳米颗粒的尺寸小于 100nm，并且是水溶性的。

2、根据权利要求 1 所述的纳米颗粒，其中，该磁性纳米颗粒包括选自由钴的氧化物、铁的氧化物、锰的氧化物、锌的氧化物、镍的氧化物、和铜的氧化物所组成的组中的一种金属氧化物。

3、根据权利要求 1 所述的纳米颗粒，其中，所述有机荧光材料为异硫氰酸罗丹明 B 或异硫氰酸荧光素。

4、根据权利要求 1 所述的纳米颗粒，其中，所述二氧化硅外壳的表面被带电荷的材料所修饰。

5、根据权利要求 4 所述的纳米颗粒，其中，所述带电荷的材料为具有离子官能团的有机硅化合物。

6、根据权利要求 5 所述的纳米颗粒，其中，所述具有离子官能团的有机硅化合物为选自由 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{6-9}\text{CH}_3$ 、 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{PO}_2(\text{OCH}_3)\text{Na}$ 、 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$ 、和 3-氨基丙基三乙氧基硅烷所组成的组中的一种化合物。

7、根据权利要求 1 所述的纳米颗粒，其中，所述磁性纳米颗粒渗入细胞，并且通过施加磁通密度为 0.3 特斯拉的外部磁场，所述磁性纳米颗粒以 0.5-1 毫米/秒的速率移动。

8、根据权利要求 7 所述的纳米颗粒，其中，所述细胞为真核细胞、人细胞、动物细胞或植物细胞。

9、一种结合有基因的磁性纳米颗粒，其中，带负电荷的基因结合于如权利要求 1-8 中的任意一项所述的磁性纳米颗粒的表面修饰的二氧化硅外壳的表面。

10、根据权利要求 9 所述的纳米颗粒，其中，所述带负电荷的基因为质粒 DNA。

11、根据权利要求 10 所述的纳米颗粒，其中，所述质粒 DNA 为 pcDNA3.1/CT-GFP。

12、一种基因送递系统，该系统包括如权利要求 9 所述的结合有基因的磁性纳米颗粒。

13、一种结合有核酸的磁性纳米颗粒，其中，带负电荷的核酸分子结合于如权利要求 1-8 中的任意一项所述的磁性纳米颗粒的表面修饰的二氧化硅外壳的表面。

14、一种基因送递系统，该系统包括如权利要求 13 所述的结合有核酸的磁性纳米颗粒。

15、一种结合有抗体的磁性纳米颗粒，其中，抗体结合于如权利要求 1-8 中的任意一项所述的磁性纳米颗粒的表面修饰的二氧化硅外壳的表面。

16、根据权利要求 15 所述的纳米颗粒，其中，所述表面修饰的二氧化硅外壳的表面被 3-氨基丙基三乙氧基硅烷所修饰。

17、根据权利要求 16 所述的纳米颗粒，其中，所述 3-氨基丙基三乙氧基硅烷的氨基被马来酰亚胺丁酸处理，从而在氨基中引入马来酰亚胺基。

18、根据权利要求 17 所述的纳米颗粒，其中，所述抗体具有通过与 2-巯基乙胺反应而形成的巯基。

19、根据权利要求 18 所述的纳米颗粒，其中，所述抗体为抗白血病细胞的 CD-10 抗体、或抗乳腺癌细胞的 Her2 抗体。

20、一种细胞染色剂，该染色剂包括如权利要求 15 所述的结合有抗体的磁性纳米颗粒。

21、一种磁性纳米颗粒的制备方法，该方法包括：

1) 使用聚乙烯吡咯烷酮聚合物对水溶性磁性纳米颗粒的表面进行处理，将该纳米颗粒转变成可分散于乙醇的颗粒，随后进行离心分离；

2) 将步骤 1 中分离的聚合物稳定的磁性纳米颗粒分散于用于二氧化硅包覆的乙醇中；

3) 将由 3-氨基丙基三乙氧基硅烷处理的有机荧光材料的溶液和四乙氧基硅烷溶液加入到步骤 2 中得到的溶液中，并在该混合溶液中加入 NH_4OH ，以诱导在含有有机荧光材料的磁性纳米颗粒的表面上形成二氧化硅；和

4) 使用硅化合物对步骤 3 中得到的磁性纳米颗粒的二氧化硅外壳的表面进行处理。

22、一种结合有带负电荷的基因的磁性纳米颗粒的制备方法，该方法包括：

1) 在 N-(2-羟乙基)-哌嗪-N'-(2-乙磺酸)缓冲溶液中，加入带负电荷的基因和带正电荷的 MNP@SiO₂ (RITC)-PTMA，并进行孵育；

2) 将 CaCl₂ 加入到步骤 1 中孵育后的溶液中，并进一步孵育该溶液 2 小时；和

3) 将杜氏改良培养基加入到步骤 2 中孵育后的溶液中，并调节 Ca²⁺离子浓度至 4.5mM，然后进一步孵育该溶液 4 小时，之后用磷酸盐缓冲液对该溶液进行洗涤。

23、一种结合有抗体的磁性纳米颗粒的制备方法，该方法包括：

1) 使用 Si-PEG/3-氨基丙基三乙氧基硅烷对含有有机荧光材料的磁性纳米颗粒的表面进行共处理；

2) 将步骤 1 中得到的磁性纳米颗粒与马来酰亚胺丁酸反应，从而在位于磁性纳米颗粒的二氧化硅外壳的表面上的氨基中引入马来酰亚胺基；

3) 使抗体与 2-巯基乙胺反应，以形成具有巯基的抗体；和

4) 将步骤 3 中得到的抗体与步骤 2 中得到的磁性纳米颗粒的二氧化硅外壳的表面上的马来酰亚胺基进行结合。

24、一种分析试剂，该试剂通过使用如权利要求 1-8 中的任意一项所述的磁性纳米颗粒而能够同时进行荧光分析和核磁共振成像分析。

具有荧光性的磁性纳米颗粒及其制备方法和应用

技术领域

本发明涉及一种具有荧光性的磁性纳米颗粒(MNPs)及其制备方法和应用。

背景技术

磁性材料在包括医学诊断和生物传感器在内的常规的生物学应用中十分重要。因此,目前,大量的调查和研究均集中于使用纳米颗粒的细胞染色(生物成像)、细胞的分离、体内药物的传递、和体内基因送递。特别地,在生物领域利用纳米颗粒的方法受到了极大的关注,开始于使用发光量子点纳米颗粒通过量子点的细胞内的吸收来进行量子点的荧光的外部检测的研究(见授予 Barbera-Guillem Emilio 的名称为 "Lipophilic, Functionalized Nanocrystals and Their Use for Fluorescence Labeling of Membranes" 的 US 6194213, 以及授予 Bawendi Mounji G.、Mikulec Frederic V.和 Sundar Vikram C 的名称为 "Biological applications of quantum dots" 的 US 6306610)。

然而,由于大多数包括量子点的纳米颗粒是由重金属如镉(Cd)、锌(Zn)、钴(Co)等组成的,为了增强它在生物领域的适应性,合成的纳米颗粒的表面应该具有生物相容性。因此,积极地展开了对纳米颗粒进行表面处理的各种尝试,例如,通过在合成的纳米颗粒的表面引入已知对活体组织无毒副作用的无机或有机化合物如二氧化硅(SiO₂)或聚乙二醇(PEG),从而提高了纳米颗粒的亲水性并延长了该纳米颗粒在体内的循环时间(Shuming Nie et al., *In vivo Cancer Targeting And Imaging With Semiconductor Quantum Dots Nat. Biotechnol.*, 2004 (22), 969)。

然而,这种常规的量子点的合成方法涉及复杂且苛刻的合成条件,并且

在进行表面处理后，存在总产率较低的问题。

近年来，对癌细胞的识别的研究进行了尝试，通过在量子点表面引入抗体以在其上结合特定的癌细胞，从而对癌细胞进行识别。对量子点的发光进行检测和定位的方法是研究难点之一并且对体外研究来说是十分重要的，但在体内研究中具有局限性。这是由于深层浓厚的生物组织的屏蔽，因此对量子点的发光进行检测存在困难(Mark Stroh et al., "Zooming In and Out With Quantum Dots", Nat. Biotechnol., 2004 (22), 959)。

作为克服上述问题的另一种途径，进行了关于磁性纳米颗粒的研究。这是由于在体内引入磁性纳米颗粒能够很方便地通过施加外部强磁场如核磁共振成像(MRI)来对磁性材料的磁性能进行检测(见授予 Gref Ruxandra 等的名称为"Biodegradable Injectable Particles for Imaging"的 US 5565215)。

因此，最近为了克服与量子点在生物领域的利用相关的问题，国内外的调查和研究团体和机构已经付出了大量的努力，例如，通过合成具有磁性能的纳米颗粒以及在其上引入二氧化硅外壳，从而使其适合用于生物领域。不幸的是，与纳米颗粒的表面处理相反，这种利用外部强磁场的方法不易适用于体外研究，如细胞研究。

在利用磁性能的另一传统领域中，使用了将粒径为 300nm 至几微米的聚合物凝聚物与若干磁性纳米颗粒结合的材料（以搅炼的形式）。在上述经过处理的材料表面引入特定的化合物如万古霉素后，可以通过施加外部磁场对特定的细菌进行识别和分离。然而，有机聚合物在体内具有毒性，并且由于其合成的材料的尺寸过大，因而也不适合用于血管内的循环。

另外，为了得到预期的表面处理水平，具有有机聚合物外壳的这种材料必须经过非常复杂的合成过程，因此它的应用具有很大的局限性。也就是说，该合成材料的尺寸和表面可处理性对确保潜在的应用如体内的药物输送和基因送递而言是十分重要的因素。

发明内容

因此，着眼于上述问题而提出了本发明，本发明的一个目的是为了提供一种具有荧光性的磁性纳米颗粒。

本发明的另一个目的是为了提供一种磁性纳米颗粒以及含有该颗粒的基因送递系统 (gene delivery system)，其中，具有荧光性的磁性纳米颗粒与带负电荷的基因或核酸分子相结合。

本发明的又一个目的是为了提供一种磁性纳米颗粒以及含有该颗粒的基因送递系统，其中，具有荧光性的磁性纳米颗粒与带负电荷的核酸分子相结合。

本发明的再一个目的是为了提供一种磁性纳米颗粒以及含有该颗粒的细胞染色试剂，其中，具有荧光性的磁性纳米颗粒与抗体相结合。

本发明的另一个目的是为了提供一种上述磁性纳米颗粒的制备方法。

也就是说，由于对能够解决上述问题的并且能够在体内和体外应用的磁性纳米颗粒进行大量广泛而深入的研究和实验，本发明的发明人成功地合成并发表了具有生物相容性的含有被聚乙二醇(PEG)修饰的二氧化硅外壳的磁性纳米颗粒(Tae-Jong Yoon et al., "Multifunctional Nanoparticles Possessing a Magnetic Motor Effect for Drug or Gene Delivery", *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005 (44), 1068-1071)。然而，由于聚乙二醇不带有电荷，因此很难与带电荷的生物分子如 DNA 分子相结合。

为了克服该问题，本发明的发明人发明了一种用带电荷的材料对磁性纳米颗粒的表面进行修饰的方法，该颗粒含有有机荧光材料并包覆有二氧化硅外壳。结果，我们合成了一种磁性纳米颗粒，该颗粒包覆有含有有机荧光材料的二氧化硅外壳并被带电荷的材料进行了表面修饰；并且我们还证实了，在细胞中引入该磁性纳米颗粒后，通过施加外部磁场能够对引入的纳米颗粒进行定位和控制，并且还能够通过简单方便的荧光检测在体内或体外研究中

有效地使用该颗粒。基于这些发现完成了本发明。

根据本发明的一个方面，本发明的上述和其它目的可以通过提供具有含有磁性材料的核和表面修饰的二氧化硅外壳的磁性纳米颗粒来实现，所述外壳含有有机荧光材料并包覆在所述核上，该纳米颗粒的尺寸小于 100nm 并且是水溶性的。

根据本发明的另一个方面，提供了一种磁性纳米颗粒以及含有该颗粒的基因递送系统，其中，该磁性纳米颗粒与带负电荷的基因或核酸分子相结合。

根据本发明的又一个方面，提供了一种磁性纳米颗粒以及含有该颗粒的基因递送系统，其中，具有荧光性的磁性纳米颗粒与带负电荷的核酸分子相结合。

根据本发明的再一个方面，提供了一种磁性纳米颗粒以及含有该颗粒的细胞染色试剂，其中，具有荧光性的磁性纳米颗粒与抗体相结合。

根据本发明的另一个方面，提供了一种制备上述磁性纳米颗粒的方法。

本发明的磁性纳米颗粒具有可视性能和磁性能，能够适用于生物领域。通过该纳米颗粒的高度的亲水性能和简单的化学表面处理技术，能够使用多种化合物将化学官能团引入至纳米尺寸的材料中。使用这种化学修饰的纳米尺寸的材料能够提高或降低磁性纳米颗粒向细胞中的渗透性能。此外，使用带有正电荷的纳米尺寸的材料，通过将期望的质粒 DNA 转移至靶细胞中，该磁性纳米颗粒能够有效地用作基因递送系统；使用合适的表面处理技术，基于能够将纳米颗粒选择性地与特定的细胞相结合，并能够对结合有该颗粒的细胞进行识别的技术，该磁性纳米颗粒还能够有效地用于细胞的染色。另外，通过施加外部强磁场，能够对选择性识别的细胞进行分离和纯化。

附图说明

通过以下详细的描述并结合附图，可以更清楚地理解本发明的上述或其

它目的、特征和其它优点，附图为：

图 1 为含有有机荧光材料并包覆有二氧化硅外壳的磁性纳米颗粒(MNP @ SiO₂ (RITC 或 FITC))的制备方法的示意图；

图 2A-2C 为含有有机荧光材料并包覆有二氧化硅外壳的磁性纳米颗粒(MNP @ SiO₂ (RITC 或 FITC))的透射电子显微镜(TEMs)图像；

图 3 为使用多种硅化合物对本发明的磁性纳米颗粒(MNP@ SiO₂ (RITC 或 FITC))的表面进行化学处理的示意图；

图 4 为对本发明的磁性纳米颗粒进行各种表面处理后，检测到的所有磁性纳米颗粒的表面电荷变化的 ζ 电位曲线图(黑色：未进行表面处理的 MNP@SiO₂(RITC)，红色： $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PEG}$ -表面处理的 MNP@SiO₂(RITC)-PEG，淡绿色： $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PMP}$ -表面处理的 MNP@SiO₂(RITC)-PMP，和蓝色： $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PTMA}$ -表面处理的 MNP@SiO₂(RITC)-PTMA)；

图 5A-5D 为显示了 MNP@SiO₂(RITC)-PEG、MNP@SiO₂(RITC)-PTMA、MNP@SiO₂(RITC)和 MNP@SiO₂(RITC)-PMP 在乳腺癌细胞中的渗透率的共聚焦激光扫描(confocal laser scanning)的显微照片；

图 6A-AH 为显示了在相同的条件下以相同的量向乳腺癌细胞中注射了 MNP@SiO₂(RITC)-PEG 和 MNP@SiO₂(RITC)-PMP 之后，纳米颗粒在细胞内的定位的共聚焦激光扫描的显微照片(6A-6D：注射了 MNP@SiO₂(RITC)-PEG 的显微照片，6E-6H：注射了 MNP@SiO₂(RITC)-PMP 的显微照片；6A 和 6E：红色荧光显微照片，6B 和 6F：光学显微照片，6C 和 6G：经过 DAPI 核染色确认的荧光显微照片，和 6D 和 6H：分别为 6A-6C 和 6E-6G 的叠加显微照片)；

图 7 为显示了使用 MNP@SiO₂(RITC)、MNP@SiO₂(RITC)-PEG、MNP@SiO₂(RITC)-PMP、和 MNP@SiO₂(RITC)-PTMA 分别对乳腺癌细胞系(MCF-7)、肺癌细胞系(A549)和正常(非恶性)的肺上皮细胞系(NL20)进行细胞

毒性试验(MTT 分析)的结果的柱状图;

图 8 为通过将 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{RITC})\text{-PTMA}$ 与质粒 DNA 相结合, 而将其用作基因送递系统的示意图;

图 9A-9D 为通过使用结合有质粒 DNA 的 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{RITC})\text{-PTMA}$ 进行基因送递而转染的细胞的共聚焦激光扫描的显微照片(9A: 蓝色荧光显微照片, 9B: 光学显微照片, 9C: 红色荧光显微照片, 和 9D: 9A、9B 和 9C 的叠加显微照片);

图 10 为使用 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PEG}$ 和 3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APS)对 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})$ 的表面进行共处理、在 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})$ 表面的胺基中引入马来酰亚胺基、和引入用于对特定细胞进行识别的抗体的过程的示意图;

图 11A-11D 为在细胞染色中使用了结合有抗体的 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})\text{-PEG/APS-MaI}$ 的共聚焦激光扫描的显微照片;(11A: 蓝色荧光显微照片, 11B: 光学显微照片, 11C: 红色荧光显微照片, 和 11D: 11A、11B 和 11C 的叠加显微照片); 其中, 渗入细胞的材料为发射红色荧光的 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{RITC})$, 结合于细胞膜的材料为发射蓝色荧光的 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})\text{-PEG/APS-MaI-Her2}_{\text{Ab}}$ (下文称作 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})\text{-Her2}_{\text{Ab}}$);

图 12A-12F 为显示了被引入到蓝色纳米颗粒中以后, 具有 CD10 抗体的、能够选择性地结合于白血病细胞(SP2/O)的细胞膜上的 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})\text{-CD10}_{\text{Ab}}$ 的选择性的显微照片, 其中, $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})\text{-CD10}_{\text{Ab}}$ 选择性地结合于白血病细胞(SP2/O)的细胞壁上(12A-12C), 但没有与肺癌细胞(A549)相结合(12D-12F);

图 13A 和 13B 为光学显微照片, 该照片显示了 $\text{MNP} @ \text{SiO}_2(\text{FITC})\text{-CD10}_{\text{Ab}}$ 被白血病细胞的细胞壁选择性地识别, 然后被外部磁场所捕获(A: 不施加外部磁场, 和 B: 对红色虚线区域施加外部磁场, 然后引起细胞向特定区域移动); 和

图 14 显示了在对小鼠腹膜内注射了 MNP@SiO_2 (RITC) 以后, 以预定的时间间隔进行核磁共振成像分析的结果, 其中, 对照为未注射磁性纳米颗粒的小鼠的显微照片, 其余的为使用合成的磁性纳米颗粒对小鼠进行注射 15 分钟、30 分钟、1 小时、1 天、和 3 天后的显微照片。

具体实施方式

在下文中将对本发明进行更加详细的描述。

本发明的磁性纳米颗粒含有位于颗粒内部的磁性材料, 并且该颗粒的核的外部包覆有非磁性二氧化硅外壳, 该外壳含有有机荧光材料并被带电材料进行了表面修饰。因此, 本发明的磁性纳米颗粒既具有光学性能也具有磁性能, 能够广泛的应用于生物领域。

本发明的磁性纳米颗粒可以通过包括以下步骤的方法制备得到:

1) 使用聚乙烯吡咯烷酮(PVP)聚合物对水溶性磁性纳米颗粒的表面进行处理, 将该纳米颗粒转变成可分散于乙醇中的颗粒, 随后进行离心分离;

2) 将步骤 1 中分离得到的聚合物稳定的磁性纳米颗粒分散于用于二氧化硅包覆的乙醇中;

3) 将由 3-氨基丙基三乙氧基硅烷(ASP)处理的有机荧光材料的溶液和四乙氧基硅烷(TEOS)的溶液加入到步骤 2 中得到的溶液中, 并在该混合溶液中加入 NH_4OH 以诱导在含有有机荧光材料的磁性纳米颗粒的表面形成二氧化硅; 和

4) 使用硅化合物对步骤 3 中得到的磁性纳米颗粒的二氧化硅外壳的表面进行处理。

根据相应的步骤, 下文中将对本发明的磁性纳米颗粒的制备方法进行更加详细的描述。

在步骤 1 中, 所述水溶性磁性纳米颗粒可以通过本领域中已知的常规方

法制备得到，例如，湿法、干法或真空法。这些方法的例子包括但不限于，对大尺寸材料进行研磨、从溶液中沉淀、共沉淀法、微乳化作用、多聚法（polyol process）、有机前驱体的高温降解、溶液技术、气溶胶/气泡法（aerosol/bubble method）、喷雾热解法、等离子喷雾法、和激光热解法。优选情况下，本发明的水溶性磁性纳米颗粒可以通过共沉淀法制备得到。

所述水溶性磁性纳米颗粒包括钴(Co)和铁(Fe)的氧化物，并且可以包括过渡金属如锰(Mn)、锌(Zn)、镍(Ni)、铜(Cu)等的氧化物。

在步骤3中，所述有机荧光材料优选为异硫氰酸罗丹明B(RITC)或异硫氰酸荧光素(FITC)，但不限制于这些，还可以包括现有的有机荧光材料的化学变体。例如，它们可以由亚历克莎(Alexa Fluor)、罗丹明红X(Rhodamine Red-X)、德克萨斯红(Texas Red)、四甲基罗丹明、瀑布蓝(Cascade Blue)、DAPI(4',6-二脒基-2-苯基吲哚)、香豆酮、荧光黄(Lucifer Yellow)、和丹酰基胺(Dansylamine)制成。

本发明的二氧化硅的原料TEOS的量的增加将导致磁性纳米颗粒的二氧化硅外壳的厚度的增加。因此，通过控制TEOS的量能够控制所述磁性纳米颗粒的大小。

在步骤4中，用于对所述二氧化硅外壳进行表面修饰的硅化合物优选为带电荷的材料，即，具有离子官能团的有机硅化合物。例如，该有机硅化合物可以包括引入有 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si}$ -官能团的特定的功能化合物如离子化合物、水溶性化合物和药物。特别地，能够用于本发明的硅化合物可以包括但不限于选自 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PEG}[(\text{CH}_3\text{O})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{6-9}\text{CH}_3]$ 、 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PMP}[(\text{CH}_3\text{O})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{PO}_2(\text{OCH}_3)\text{Na}]$ 、 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PTMA}[(\text{CH}_3\text{O})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-]$ 、和3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APS)所组成的组中的一种化合物。

本发明的磁性纳米颗粒对包括乳腺癌细胞系(MCF-7)、肺癌细胞系(A549)

和正常（非恶性的）肺上皮细胞系(NL20)在内的所有种类的细胞均未显示出毒性。

将本发明的磁性纳米颗粒摄入到细胞内之后，将该细胞暴露于外部磁场，磁性纳米颗粒的量未达到引起细胞毒性的量，但已经足够使细胞显示出能够诱导移动的磁性。上述细胞可以包括真核细胞、人细胞、动物细胞、和植物细胞。所述磁性颗粒的平均粒径为约小于 100nm，优选为约 30-80nm。

通过施加磁通密度为 0.3 特斯拉的外部磁场(ca. 0.3 tesla, T)，渗入有磁性纳米颗粒的细胞以 0.5-1 毫米/秒的速率移动。所述外部磁场的强度和移动的速率并不限于上述范围。

另外，通过将表面修饰的二氧化硅外壳的表面与多种材料如带负电荷的基因、或核酸分子和抗体相结合，本发明的包覆有含有有机荧光材料的二氧化硅外壳并且表面被带电荷的材料修饰的磁性纳米颗粒可以用于多种领域。

例如，在本发明的磁性纳米颗粒的表面修饰的二氧化硅外壳的表面上，带正电荷的 MNP@SiO_2 (RITC)-PTMA 与带负电荷的基因相结合。

结合有带负电荷的基因的磁性纳米颗粒可以通过包括以下步骤的方法制备得到：

1) 在 HEPES[N-(2-羟乙基)-哌嗪-N'-(2-乙磺酸)]缓冲溶液中，加入带负电荷的基因和带正电荷的 MNP@SiO_2 (RITC)-PTMA 并进行孵育；

2) 将 CaCl_2 加入到步骤 1 中孵育后的溶液中，并进一步孵育该溶液 2 小时，和；

3) 将杜氏改良培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM)加入到步骤 2 中孵育后的溶液中，并调节 Ca^{2+} 离子浓度至 4.5mM，然后进一步孵育该溶液 4 小时，之后用磷酸盐缓冲液(PBS)对该溶液进行洗涤。

当与带负电荷的基因结合的磁性纳米颗粒 { 质粒 DNA-[MNP@SiO_2 (RITC)-PTMA]} 进入靶细胞时，它们穿过细胞膜并将带负

电荷基因送递到细胞中，然后该颗粒与基因分离而作为残留在细胞质中的磁性纳米颗粒（红色荧光）。此外，可以确认，在细胞质中合成了由送递的 DNA 编码的蓝色蛋白质(见图 8)。

优选情况下，所述带负电荷的基因包括但不限于质粒 DNA，特别是 pcDNA3.1/CT-GFP。因此，根据本发明的磁性纳米颗粒可以与多种基因相结合。

除了能够与带负电荷的基因结合外，根据本发明的磁性纳米颗粒还可以与带负电荷的核酸分子结合。

因此，通过将该颗粒附着于带负电荷的基因或核酸分子，本发明的磁性纳米颗粒可以有效地用于基因送递系统。

此外，通过将抗体引入到本发明的磁性纳米颗粒的表面修饰的二氧化硅外壳的表面，该磁性纳米颗粒可以选择性地与特定的细胞相结合。引入到细胞中的磁性纳米颗粒可以通过施加外部磁场诱导它们移动而被分离出。

结合有抗体的磁性纳米颗粒可以通过包括以下步骤的方法制备得到：

1) 使用 Si-PEG/3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APS)对含有有机荧光材料的磁性纳米颗粒的表面进行共处理；

2) 将步骤 1 中得到的磁性纳米颗粒与马来酰亚胺丁酸反应，从而在位于磁性纳米颗粒的二氧化硅外壳的表面上的氨基中引入马来酰亚胺基(MaI)；

3) 使抗体与 2-巯基乙胺反应以生成具有巯基的抗体；和

4) 将使步骤 3 中得到的抗体与位于步骤 2 中得到的磁性纳米颗粒的二氧化硅外壳的表面上的马来酰亚胺基(MaI)进行结合。

步骤 4 中可用的抗体的例子包括抗白血病细胞的 CD-10 抗体和抗乳腺癌细胞的 Her2 抗体。然而，能用于本发明的抗体并不限于此，可以包括多种细胞的抗体如干细胞的抗体。

因此，通过将纳米颗粒与感兴趣的抗体结合，本发明的磁性纳米颗粒可以有效地用作细胞染色剂。

另外，在使用该纳米颗粒对小鼠进行腹膜内给药以后，在小鼠的肝脏内可以观察到显示为黑色磁性信号的本发明的磁性纳米颗粒。

因此，本发明的磁性纳米颗粒可以有效地用于细胞染色（生物成像）、细胞分离、体内的药物输送、和体内的基因送递。

此外，本发明的磁性纳米颗粒还可以用作能够同时进行荧光分析和核磁共振成像分析的分析试剂。

实施例

下面通过参考以下实施例对本发明进行更加详细的说明。提供这些实施例仅仅是为了对本发明进行说明而不应该理解为对本发明的范围和宗旨的限制。

实施例 1：本发明的磁性纳米颗粒的制备

1、含有有机荧光材料并被二氧化硅外壳包覆的磁性纳米颗粒的制备

在 34.7ml 的铁酸钴磁性纳米颗粒的水溶液中加入 0.65ml 的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)水溶液（浓度为 25.6g/L），并在室温下搅拌 1 天。将水和丙酮的比例为 1：10 的溶液加入到由聚乙烯吡咯烷酮稳定的磁性纳米颗粒溶液中，将得到的混合溶液在 4000 rpm 的条件下离心 10 分钟。倒掉上清液，将沉淀的纳米颗粒重新分散于 10ml 的乙醇中。在得到的分散体中加入有机荧光材料溶液，如用 3-氨基丙基三乙氧基硅烷(ASP)处理的 RITC（异硫氰酸罗丹明 B）或 FITC（异硫氰酸荧光素），和四乙氧基硅烷(TEOS)的乙醇溶液（摩尔比为 0.04：03）。将 0.86ml 的含 30 重量% NH_3 的 NH_4OH 加入到该混合溶液中，从而诱导在磁性纳米颗粒的表面形成二氧化硅。使用高速离心机将包覆

有含有有机荧光材料的二氧化硅外壳的磁性纳米颗粒在 18,000rpm 的条件下离心 30 分钟，然后用水和乙醇对沉淀物进行洗涤。得到的材料可以迅速地分散于水或醇中。

图 1 显示了包覆有含有有机荧光材料的二氧化硅外壳的磁性纳米颗粒 (MNP@SiO₂ (RITC 或 FITC))的制备方法，和图 2 显示了包覆有含有有机荧光材料的二氧化硅外壳的磁性纳米颗粒(MNP @ SiO₂ (RITC 或 FITC))的透射电子显微镜(TEMs)图像。

如图 2 所示，作为二氧化硅的原料的 TEOS 的量的增加将导致磁性纳米颗粒的尺寸增加。因此，通过控制 TEOS 的量能够将所述磁性纳米颗粒的外壳厚度调节至预期的范围内。

2、包覆有含有有机荧光材料的二氧化硅外壳并且表面被带电荷的材料修饰的磁性纳米颗粒的制备

将 45mg 在部分 1 中制得的磁性纳米颗粒(MNP@SiO₂(RITC))分散在 10mL 的乙醇中，在该分散液中各自加入 0.02mmol 的硅化合物[125mg 的 (CH₃O)₃Si-PEG, (CH₃O)₃SiCH₂CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)₆₋₉CH₃; 238mg 的(CH₃O)₃Si-PMP, (CH₃O)₃SiCH₂CH₂CH₂PO₂(OCH₃)Na; 和 257mg 的(CH₃O)₃Si-PTMA, (CH₃O)₃SiCH₂CH₂CH₂N⁺(CH₃)₃Cl⁻]，然后用 NH₄OH 将溶液的酸度调至 pH 值为 12。在 60℃下剧烈振荡该溶液 3 小时。然后使用高速离心机在转速为 18,000rpm 的条件下对该溶液离心 30 分钟，从而使表面处理的纳米颗粒沉淀。过量的硅化合物残留在滤液中。使用水和乙醇洗涤沉淀的纳米颗粒 3 次，并进行纯化和分离。这样制得的纳米颗粒在水中显示出很高的稳定性。

图 3 显示了使用多种硅化合物对本发明的磁性纳米颗粒的表面进行化学处理过程，图 4 显示了对本发明的磁性纳米颗粒进行各种表面处理后，检测到的全部磁性纳米颗粒的表面电荷变化的 ζ 电位曲线。

从图 3 和 4 中可以看出，未进行表面处理的 MNP@SiO₂(RITC) (黑线)

的电荷值为-16.8mV； $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si}$ -PEG-表面处理的 $\text{MNP}@SiO_2$ (RITC)-PEG（红线）的电荷值为 2.4mV； $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si}$ -PMP-表面处理的 $\text{MNP}@SiO_2$ (RITC)-PMP（淡绿线）的电荷值为-50mV； $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si}$ -PTMA-表面处理的 $\text{MNP}@SiO_2$ (RITC)-PTMA（蓝色线）的电荷值为+35.7mV。

实验实施例 1：本发明的磁性纳米颗粒的细胞渗透性

为了检测本发明的磁性纳米颗粒的细胞渗透性，特进行以下实验。

从 ATTC(American Type Culture Collection)购得乳腺癌细胞系(MCF-7)。将该乳腺癌细胞系置于 DMEM 培养基中进行培养，该培养基含有 40 μ l 的 10% 的牛胎血清(FBS)、2mg/mL 的实施例 1 中制得的未进行表面处理的磁性纳米颗粒[MNP@SiO (RITC)]、和 2 mg/ mL 的实施例 1 中制得的硅表面处理的磁性纳米颗粒[MNP@SiO₂ (RITC)-PEG，MNP@SiO₂ (RITC)-PMP，或 MNP@SiO₂ (RITC)-PTMA]。将所有细胞置于 Lab-Tek 腔室玻片（glass chamber slide）上培养并通过共聚焦激光扫描(CLSM)进行观察。

在相同的条件下，向乳腺癌细胞中注射相同量的未进行表面处理的磁性纳米颗粒[MNP@ SiO₂(RITC)]和硅表面处理的磁性纳米颗粒[MNP@SiO₂ (RITC)-PEG, MNP@SiO₂ (RITC)-PMP 或 MNP@SiO₂ (RITC)-PTMA]，所述纳米颗粒在细胞中的渗透性如图 5 所示。另外，在相同的条件下，向乳腺癌细胞中注射相同量的 MNP@SiO₂(RITC)-PEG 和 MNP@SiO₂(RITC)-PMP，所述纳米颗粒在细胞中的渗透性如图 6 所示。

如图 5 所示，在相同的条件下，向乳腺癌细胞中注射相同量的硅表面处理的磁性纳米颗粒，检测到的这些纳米颗粒在细胞中的渗透性的强度依次为：MNP@SiO₂(RITC)-PEG >MNP@SiO₂(RITC)-PTMA = MNP@SiO₂(RITC) > MNP@SiO₂(RITC)-PMP。

此外，如图 6 所示，6A-6D 为注射了 MNP@SiO₂ (RITC)-PEG 的显微照

片, 6E-6H 为注射了 $\text{MNP}@SiO_2(\text{RITC})\text{-PMP}$ 的显微照片; 6A 和 6E 为红色荧光显微照片, 6B 和 6F 为光学显微照片, 6C 和 6G 为经过 DAPI 核染色确认的荧光显微照片, 和 6D 和 6F 分别为 6A-6C 和 6E-6G 的叠加显微照片。使用 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PEG}$ 进行表面处理的磁性纳米颗粒具有中性电性能并且其在渗透入细胞内后在细胞质中呈现不规则的分布, 而 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PMP}$ 表面处理的磁性纳米颗粒具有负电型电性能并分散于核膜的周围。

也就是说, 根据修饰部分的种类, 本发明的包覆有含有有机荧光材料的二氧化硅外壳并且表面被带电荷的材料修饰的磁性纳米颗粒在细胞上具有不同的定位, 因此通过使用本发明的磁性纳米颗粒的表面电荷能够诱导该纳米颗粒在细胞内的定位发生变化。

实验实施例 2: 细胞毒性试验(MTT 分析)

为了检测本发明的磁性纳米颗粒的细胞毒性, 进行了以下实验。

从 ATTC(American Type Culture Collection) 购得乳腺癌细胞系(MCF-7)、肺癌细胞系(A549)和正常(非恶性)肺上皮细胞系(NL20)。将 MCF-7 细胞系置于 DMEM 培养基中进行培养, 该培养基含有 $40\mu\text{l}$ 的 10% 的牛胎血清(FBS)和 2mg/mL 的本发明的纳米颗粒。在相同的培养条件下, 将 A549 细胞系和 NL20 细胞系在 RPMI 培养基(含有 10% 的 FBS、 2mM 的 L 谷氨酰胺、 1mM 的丙酮酸钠、 $1\times$ 非必需氨基酸、和 5mM 的 2-巯基乙醇)中进行培养。将所有细胞置于 Lab-Tek 腔室玻片上培养以便于通过共聚焦激光扫描(CLSM)进行观察。

将每个细胞系各自置于 96 孔培养板上进行培养, 孵育结束后向各孔中加入 $50\mu\text{l}$ 的 MTT[3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑盐溴化物], 然后加入磷酸盐缓冲液(PBS, 0.2 mg/mL , pH 7.2)使最终的细胞毒性(MTT)浓度为 0.4mg/mL 。将细胞在 5% 的 CO_2 环境下在 37°C 下进一步孵育 4 小时。用移

液器小心地移除培养基，将通过负责存活细胞的细胞呼吸的线粒体脱氢酶的作用而形成的甲月替晶体(formazan crystals)溶解于 150 μ l 二甲基亚砷(DMSO)中。使用振荡器将得到的溶液振荡 10 分钟，并分别检测其在 490nm 和 620nm 处的光密度值(OD)。

结果如图 7 所示。

如图 7 所示，根据本发明的磁性纳米颗粒对所有种类的细胞均未显示出毒性[乳腺癌细胞系(MCF-7)、肺癌细胞系(A549)、和正常(非恶性)的肺上皮细胞系(NL20)]。

实施例 2：结合有质粒 DNA 的 MNP@SiO₂(RITC)-PTMA 的制备
使用 pcDNA3.1/CT-GEP 作为质粒 DNA 基因。

将质粒 DNA 和 MNP@SiO₂(RITC)-PTMA 置于 30 μ l 的 HEPES[N-(2-羟乙基)-哌嗪-N'-(2-乙磺酸)]缓冲液中，将得到的杂交产物在 4 $^{\circ}$ C 下孵育 2 小时，随后加入 30 μ l 的 100mM 的 CaCl₂。将得到的溶液进一步孵育 2 小时，然后转移至 24 孔培养板中。随后，在培养板中加入 0.6ml 的 DMEM，并将 Ca²⁺ 离子浓度调节为 4.5mM。在 37 $^{\circ}$ C 下进一步孵育 4 小时后，使用 PBS 溶液对结合有 DNA 的纳米颗粒进行洗涤。将结合有 DNA 的纳米颗粒加入到细胞中，并观察基因送递的信号。

图 8 显示了通过将用(CH₃O)₃Si-PTMA 对本发明磁性纳米颗粒进行表面处理得到的 MNP@SiO₂(RITC)-PTMA 与质粒 DNA 进行结合来作为基因送递系统的过程。图 9 为通过使用结合有质粒 DNA 的 MNP@SiO₂(RITC)-PTMA 进行基因送递而转染的细胞的共聚焦激光扫描的显微照片。

如图 8 所示，一旦进入细胞，与作为质粒 DNA 基因的 pcDNA3.1/CT-GFP 结合的带正电荷的纳米颗粒(MNP@SiO₂(RITC)-PTMA)穿过细胞膜，然后该颗粒从质粒 DNA 上分离下来，从而将磁性纳米颗粒留在细胞质中（红色荧

光) 并将质粒 DNA 转移至细胞。该转移的 DNA 在细胞质中合成了蓝色的蛋白。

如图 9 所示, 9A 为蓝色荧光显微照片, 9B 为光学显微照片, 9C 为红色荧光显微照片, 和 9D 为 9A、9B 和 9C 的叠加显微照片。红色斑点与 $\text{MNP}@SiO_2(\text{RITC})\text{-PTMA}$ 相对应, 蓝颜色表示通过 DNA 转染在细胞质中显示的 GFP 荧光。

因此, 通过与质粒 DNA 基因结合, 本发明的磁性纳米颗粒能够有效地用作基因递送系统。

实施例 3: $\text{MNP}@SiO_2(\text{FITC})\text{-PEG/APS-MaI}$ 材料的制备

根据与实施例 1 相同的方法制备 $\text{MNP}@SiO_2(\text{FITC})\text{-PEG/APS}$, 不同在于在用实施例 1 部分 1 中的 $(\text{C}_3\text{HO})_3\text{Si-PEG}$ 化合物对磁性纳米颗粒($\text{MNP}@SiO_2(\text{FITC})$)进行处理时, 使用 3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APS)进行共处理。

将 $\text{MNP}@SiO_2(\text{FITC})\text{-PEG/APS}$ 的无水二甲基甲酰胺溶液[36.5 mL; $\text{Si-PEG/APS} = 5/1$ (摩尔比), 22.9 mg/mL, 胺浓度为 6.5mmol/g], 加入到马来酰亚胺丁酸(0.96 g, 1.4 mmol)、PyBOP(六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧-三吡咯烷基磷)(0.43 g, 0.826 mmol)、和 HOBt (N-羟基苯并三唑)(0.19 g, 1.4 mmol)在无水二甲基甲酰胺中的溶液中。接下来, 将纯化的二异丙基乙胺(0.2ml)加入到混合物中, 然后在室温下振荡 20 小时。将反应材料转移至 Eppendorf 管中, 并用二甲基甲酰胺 (DMF) 洗涤数次。将纳米颗粒重分散于 0.8ml 的 DMF 中, 在避光状态下室温保存。

图 10 显示了使用 $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{Si-PEG}$ 和 3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APS)对 $\text{MNP}@SiO_2(\text{FITC})$ 的表面进行共处理、在 $\text{MNP}@SiO_2(\text{FITC})$ 表面的胺基中引入马来酰亚胺基、和引入用于对特定细胞进行识别的抗体的过程。

实施例 4: 在本发明的纳米颗粒中引入抗体生物分子以及细胞染色

用 10 μ l 的 0.5M 的 EDTA 对抗体(CD-10 或 Her2_{Ab}) 在 PBS 中的溶液(200 μ g/ml) 进行预处理。将 2-巯基乙胺(5 μ l, 0.779mmol) 在 500 μ l 的 PBS 中的溶液加入到抗体溶液中, 然后在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 90 分钟。通过此步骤, 抗体被分为使用置于实施例 3 中得到的 MNP@SiO₂(FITC)-PEG/APS-MaI(0.8ml, 22.9mg/mL PBS) 中的 Sephadex G-25 进行纯化的部分和在 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 小时的部分。在转速 13,000rpm 的条件下, 对结合有抗体的纳米颗粒进行离心沉淀 20 分钟, 随后进行过滤。将 1ml 的 PBS 加入到过滤物中使结合有抗体的纳米颗粒重新分散, 并在 4 $^{\circ}$ C 下保存。

图 11 显示了在细胞染色中使用了结合有抗体的磁性纳米颗粒的共聚焦激光扫描的显微照片。

图 12 显示了在用于白血病细胞和肺癌细胞的细胞染色中, 使用了结合有抗体的磁性纳米颗粒的共聚焦激光扫描的显微照片。

如图 11 所示, 渗入细胞的材料为发射红色荧光的 MNP@SiO₂(RITC), 结合于细胞膜的材料为发射蓝色荧光的 MNP@SiO₂(FITC)-PEG/APS-MaI-Her2_{Ab}; 11A: 蓝色荧光显微照片, 11B: 光学显微照片, 11C: 红色荧光显微照片, 和 11D: 11A、11B 和 11C 的叠加显微照片。

如图 12 所示, CD10 抗体选择性地结合于白血病细胞(SP2/O)的细胞壁上(12A-12C), 但没有与肺癌细胞相结合(12D-12F)。

实施例 5: 用本发明的磁性纳米颗粒对小鼠进行腹腔内给药(体内试验) 为了检测根据本发明的磁性纳米颗粒的体内作用, 进行了以下实验。

作为本次实验的实验室动物, 将无特定病原的、4 周鼠龄的雄性 ICR 小鼠(n=12)在条件维持在温度为 22 \pm 3 $^{\circ}$ C 的、湿度为 55 \pm 10%的、和光暗循环为 12:12 小时的实验室的选育室中进行饲养。在进行实验前, 将小鼠在实验

室的选育室的新环境中驯化 1 周。使用实验室动物饲料（用于鼠，来自 Cheiljedang Corporation, Seoul, Korea）和灭菌后的双蒸水对动物进行饲养。

使用本发明的 $MNP@SiO_2(RITC)$ 通过腹膜内注射对小鼠进行给药，每隔 15 分钟通过核磁共振成像进行观察。对照组没有使用本发明的纳米颗粒进行给药。

结果如表 14 所示。

如图 14 所示，在使用该纳米颗粒对小鼠进行给药以后，在小鼠的肝脏内可以观察到黑色磁性信号。

工业适用性

本发明的磁性纳米颗粒既具有光学性能也具有磁性能，可以广泛地应用于生物领域。由于该纳米颗粒的高度的亲水性能和简单的化学表面处理技术，能够通过使用多种化合物将化学官能团引入至纳米尺寸的材料中。

虽然以说明的目的在此公开了本发明的优选实施方式，但本领域技术人员在不背离所附权利要求所公开的本发明的范围和宗旨的情况下，能够容易地进行各种可能的修改、补充和替换。

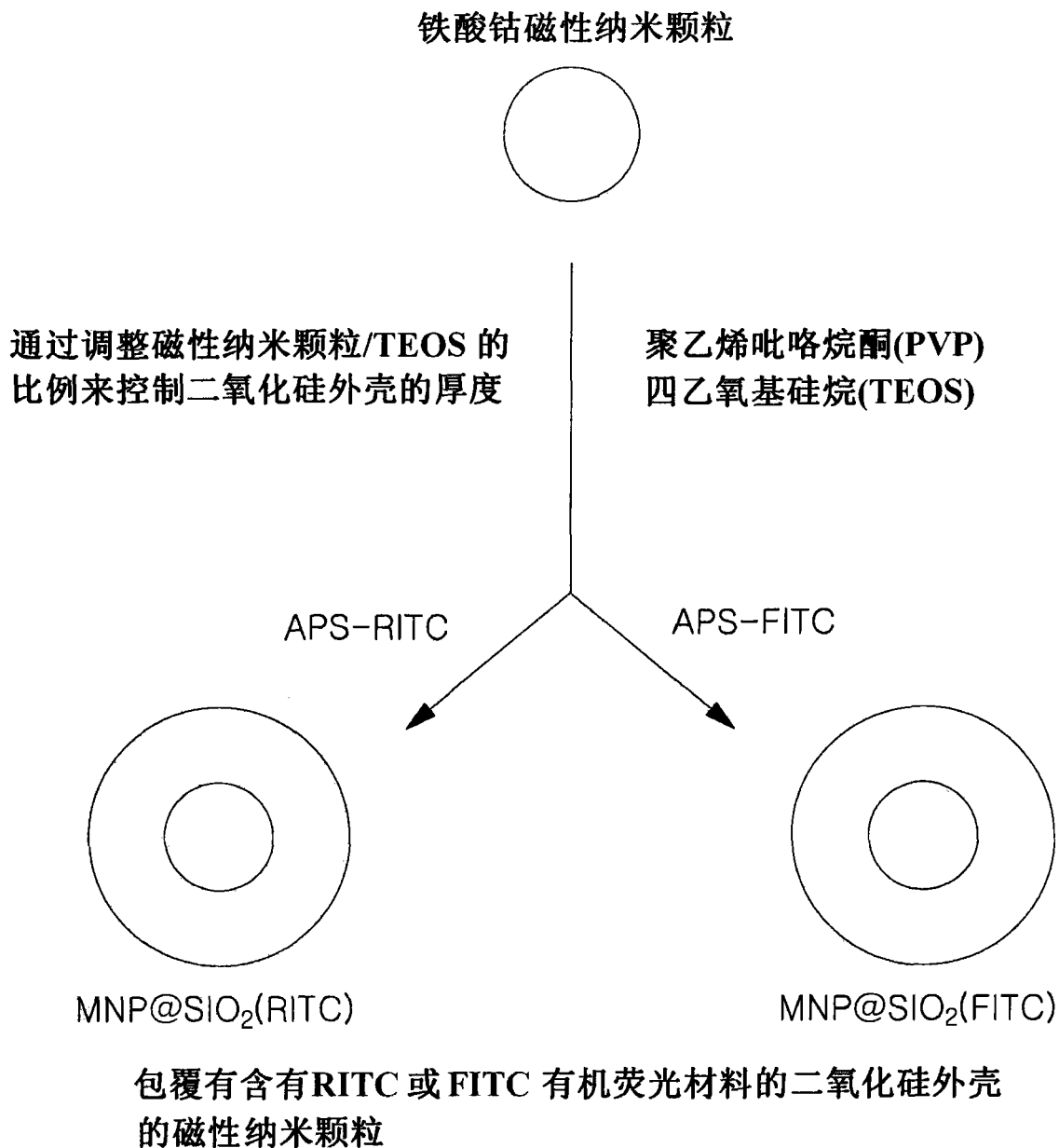


图 1

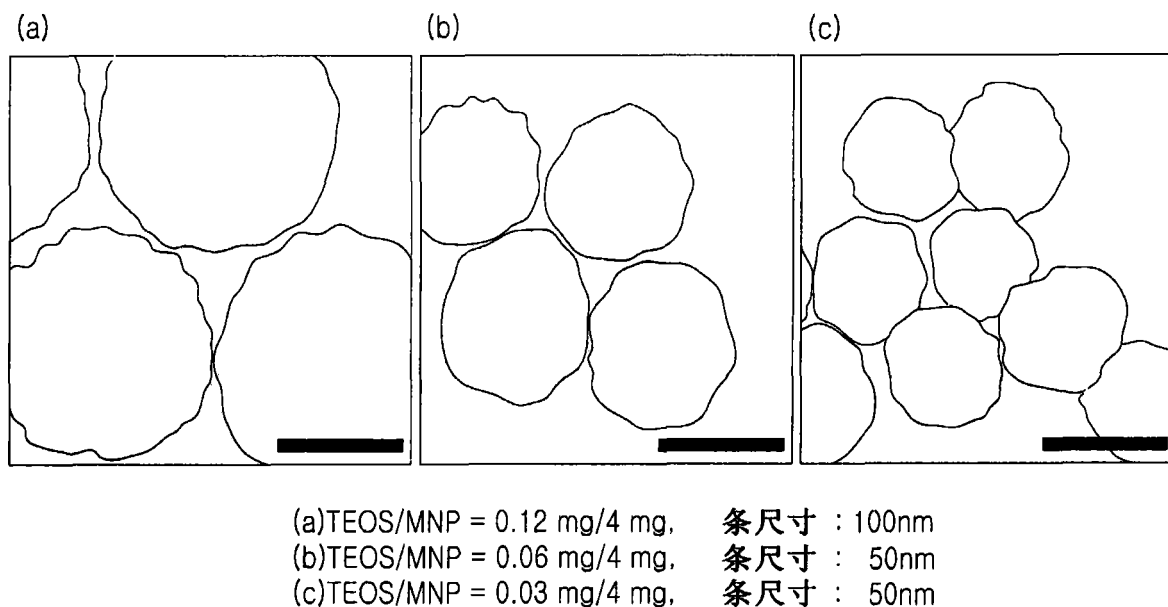


图 2

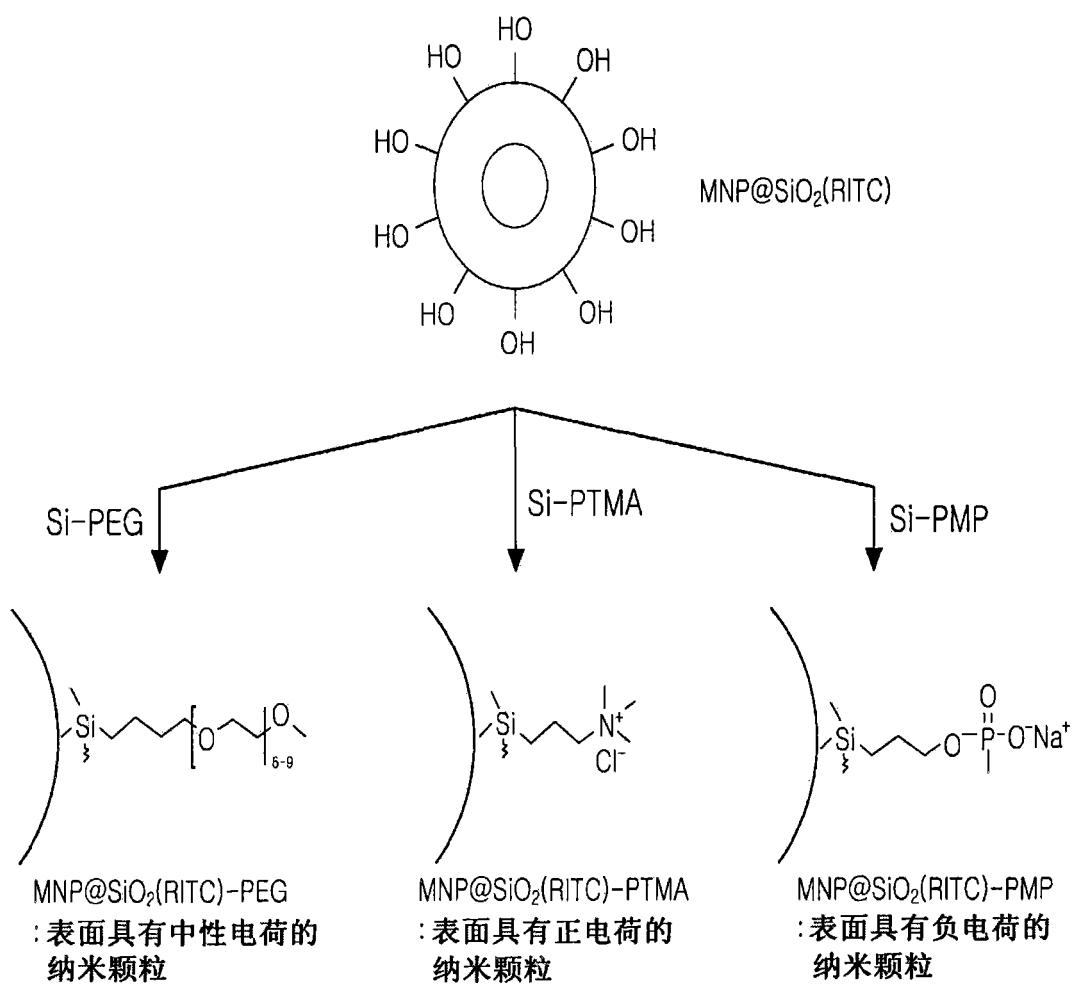


图 3

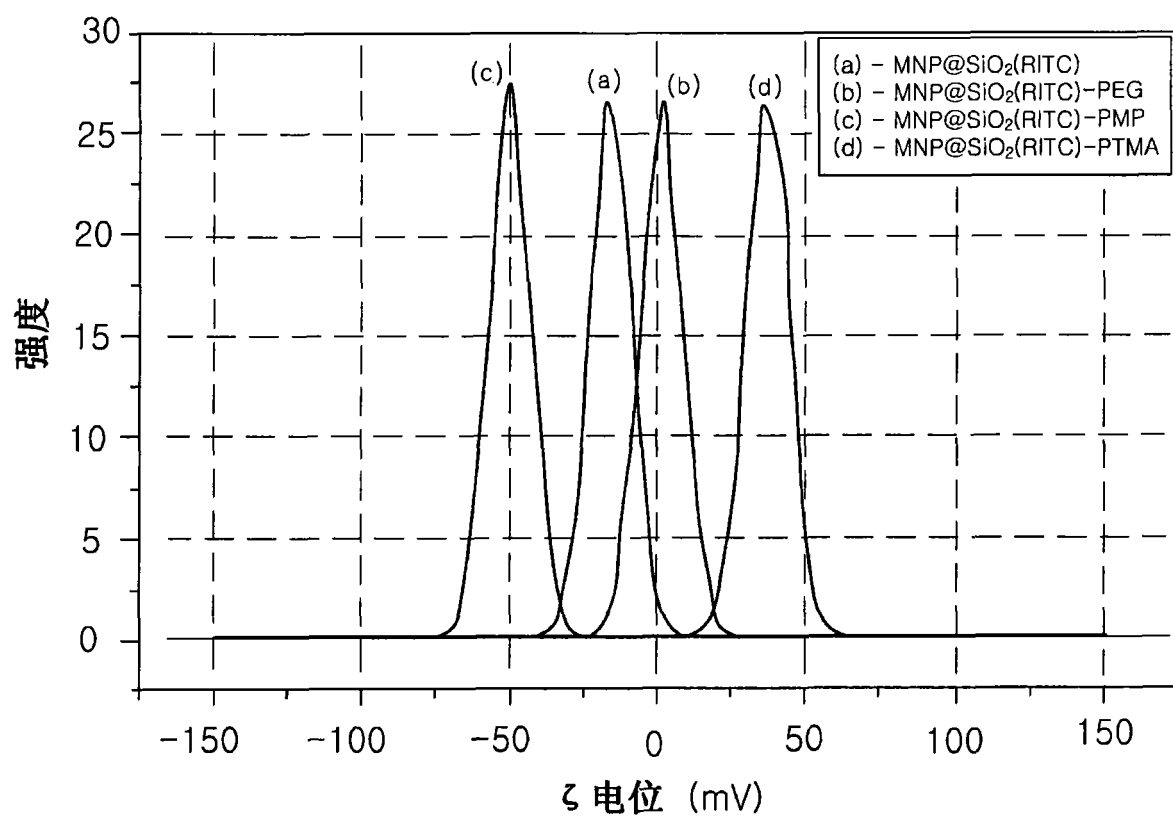


图 4

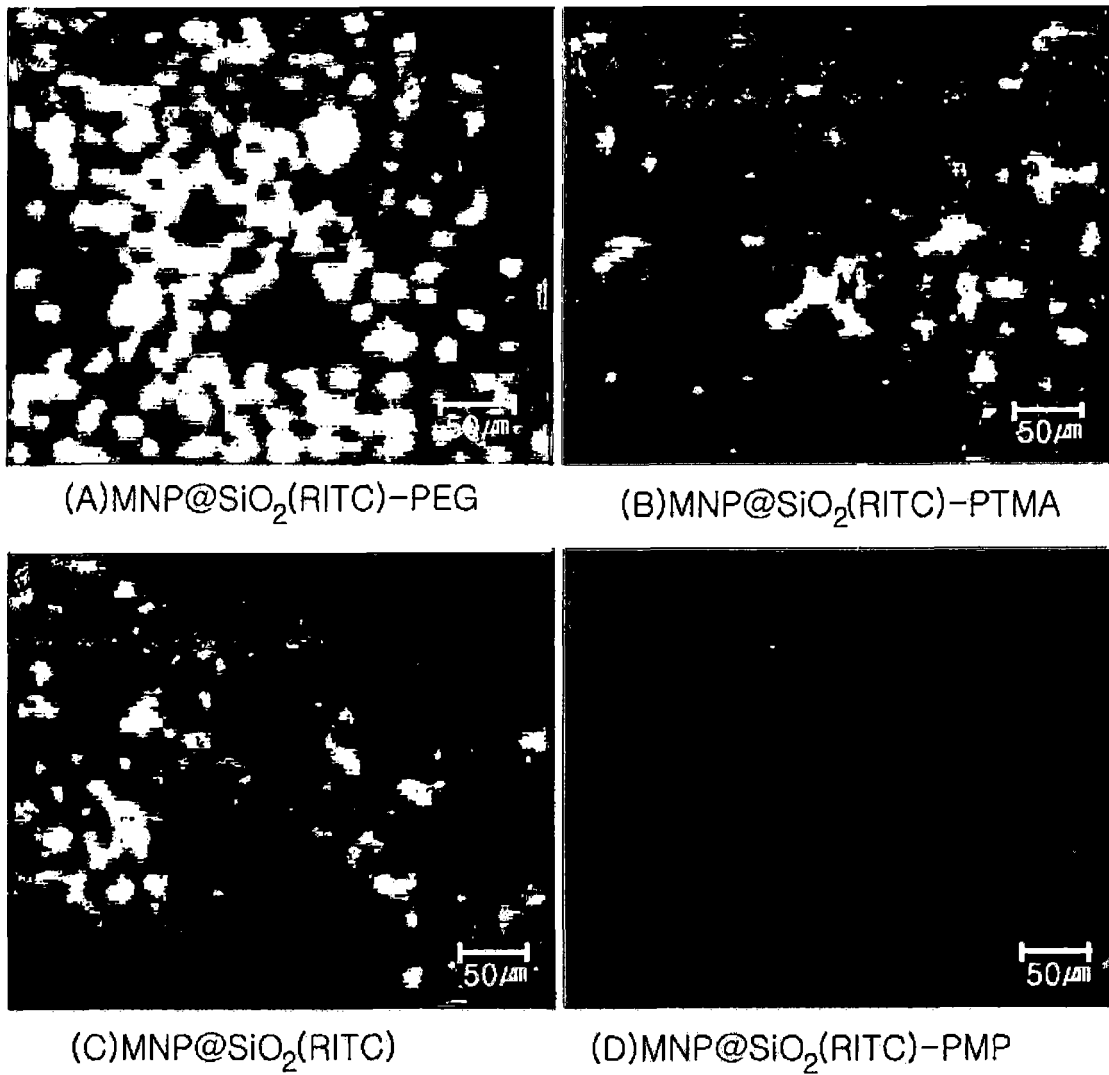


图 5

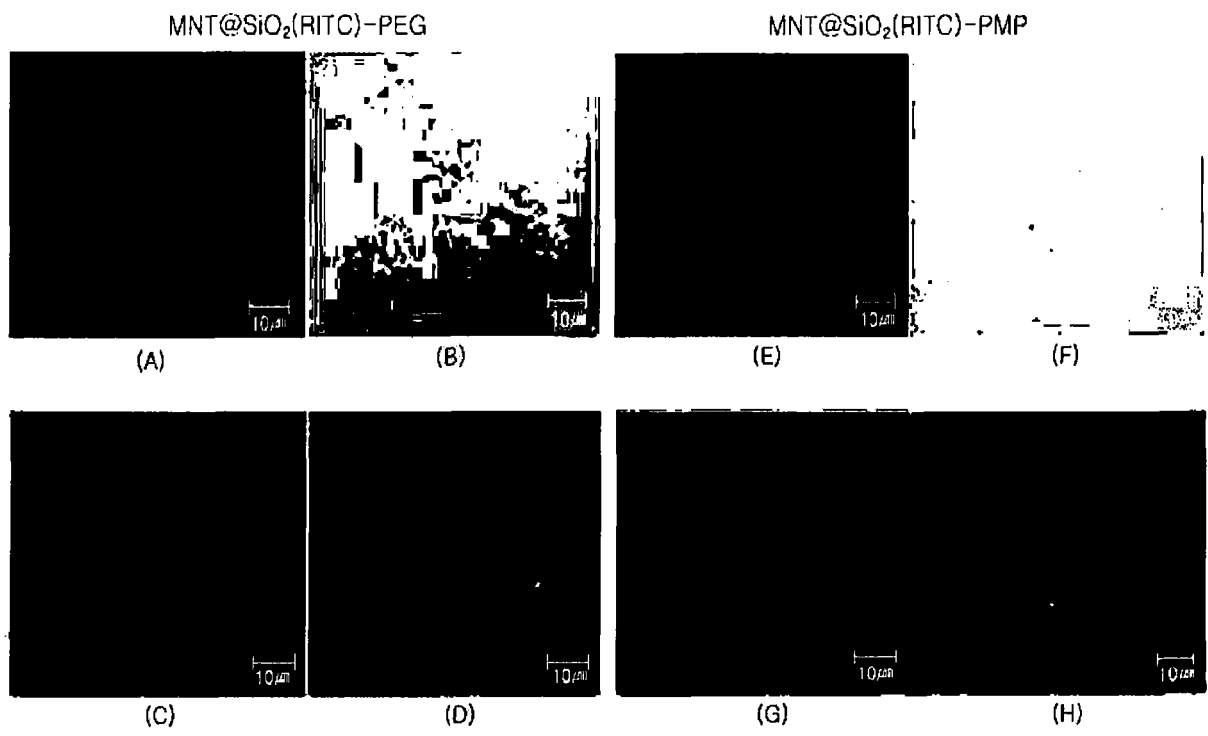


图 6

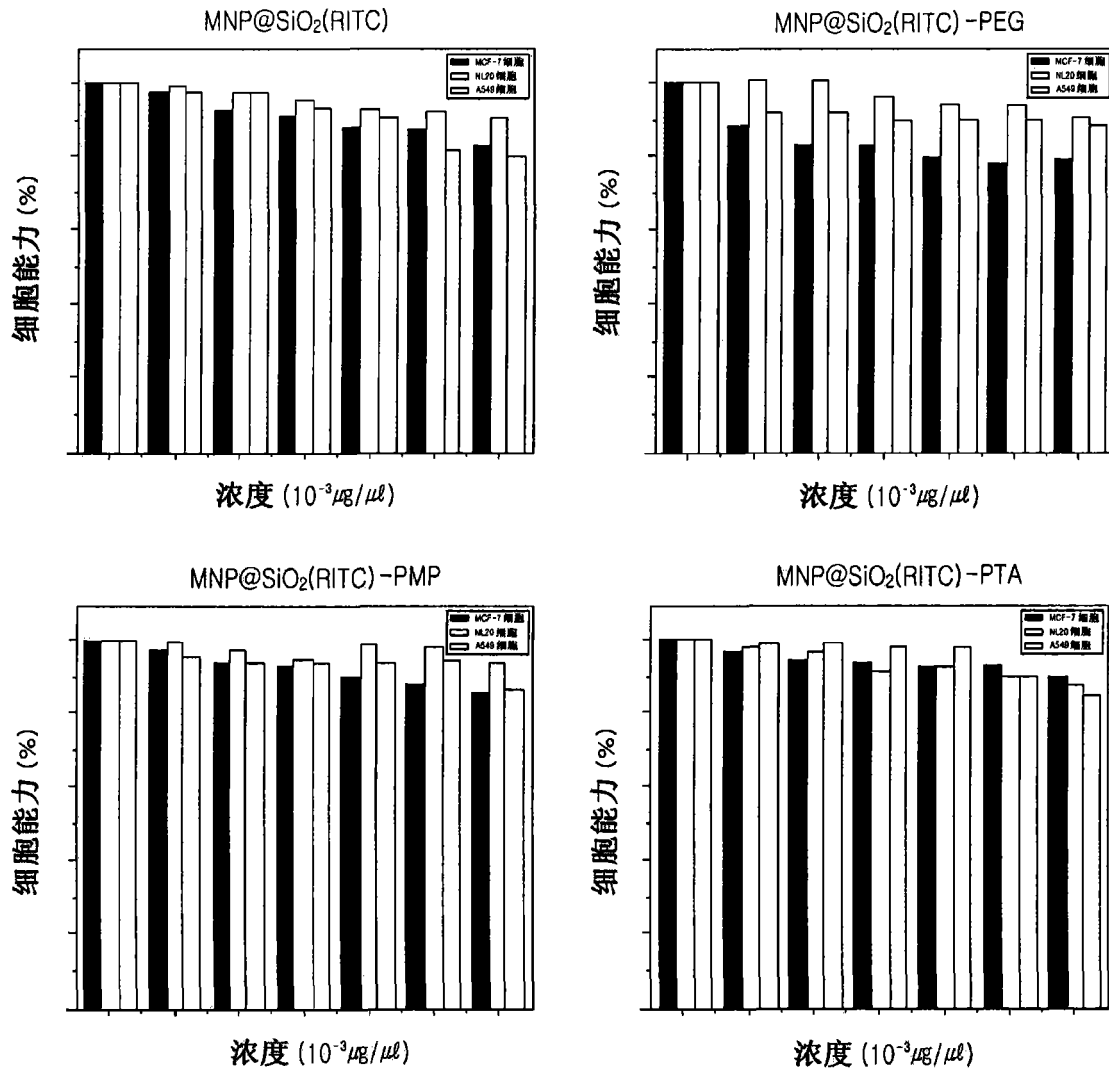


图 7

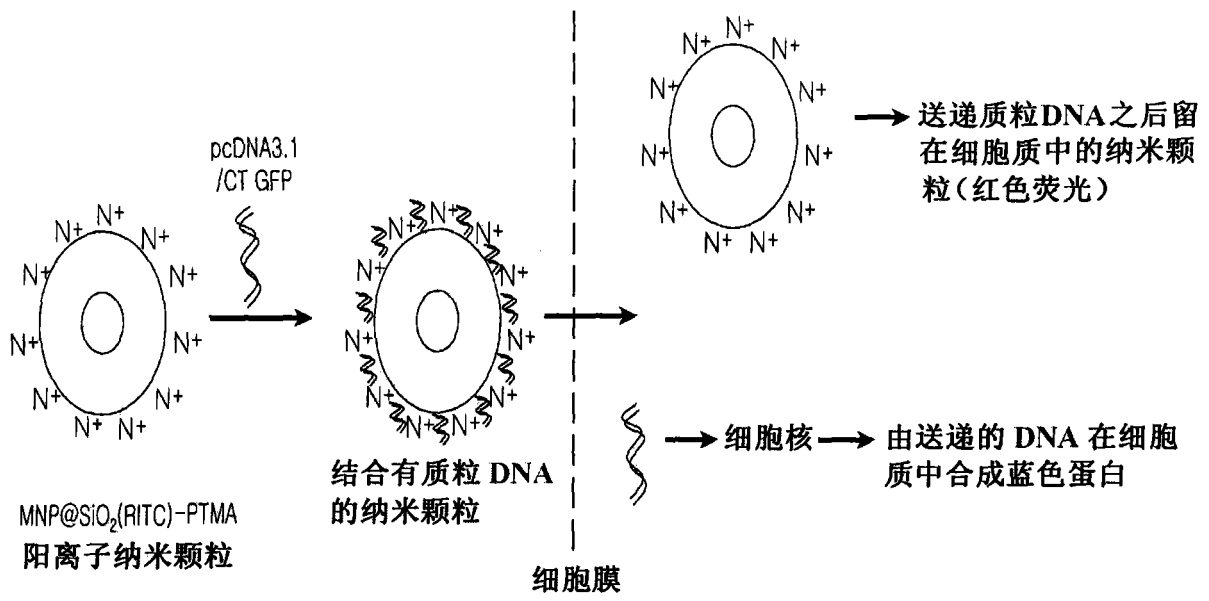


图 8

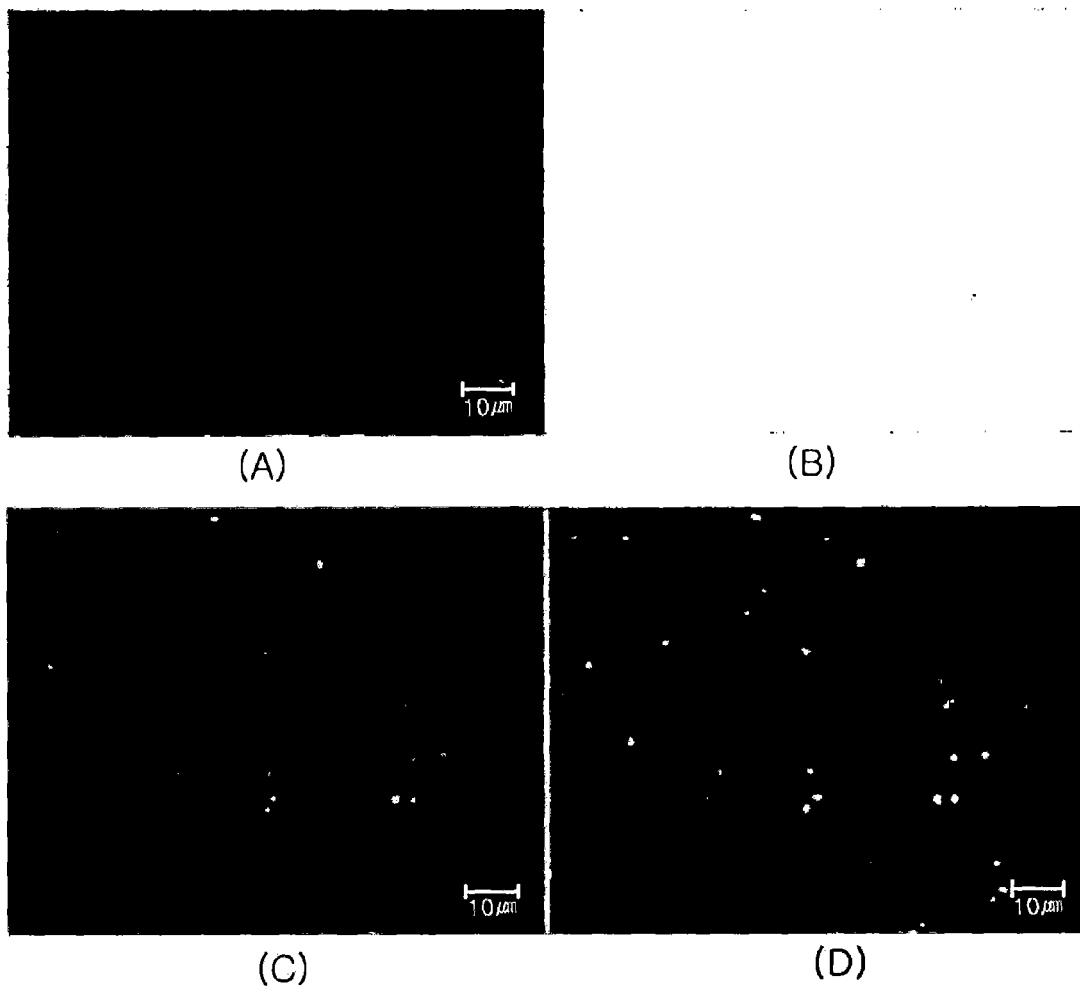


图 9

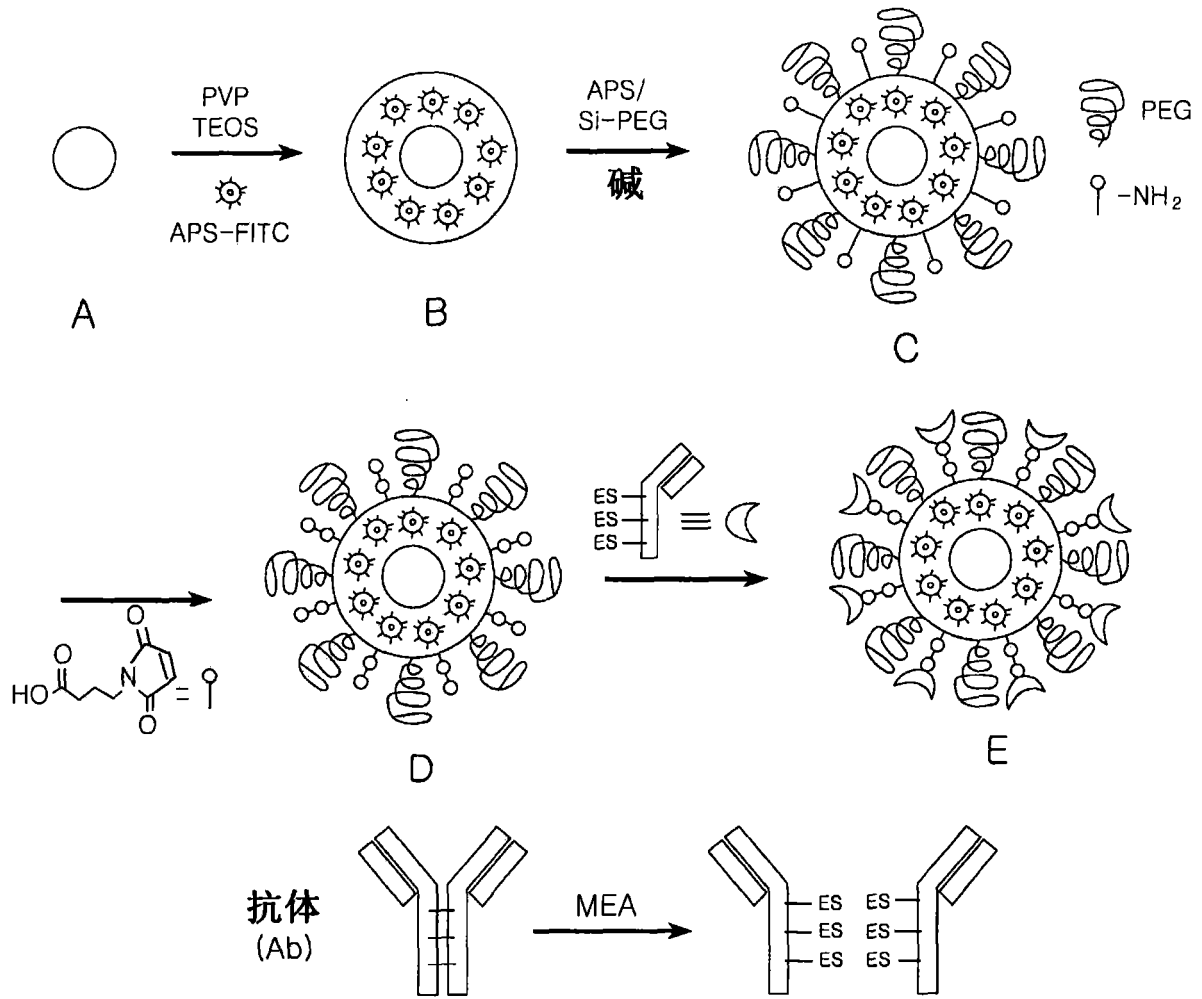


图 10

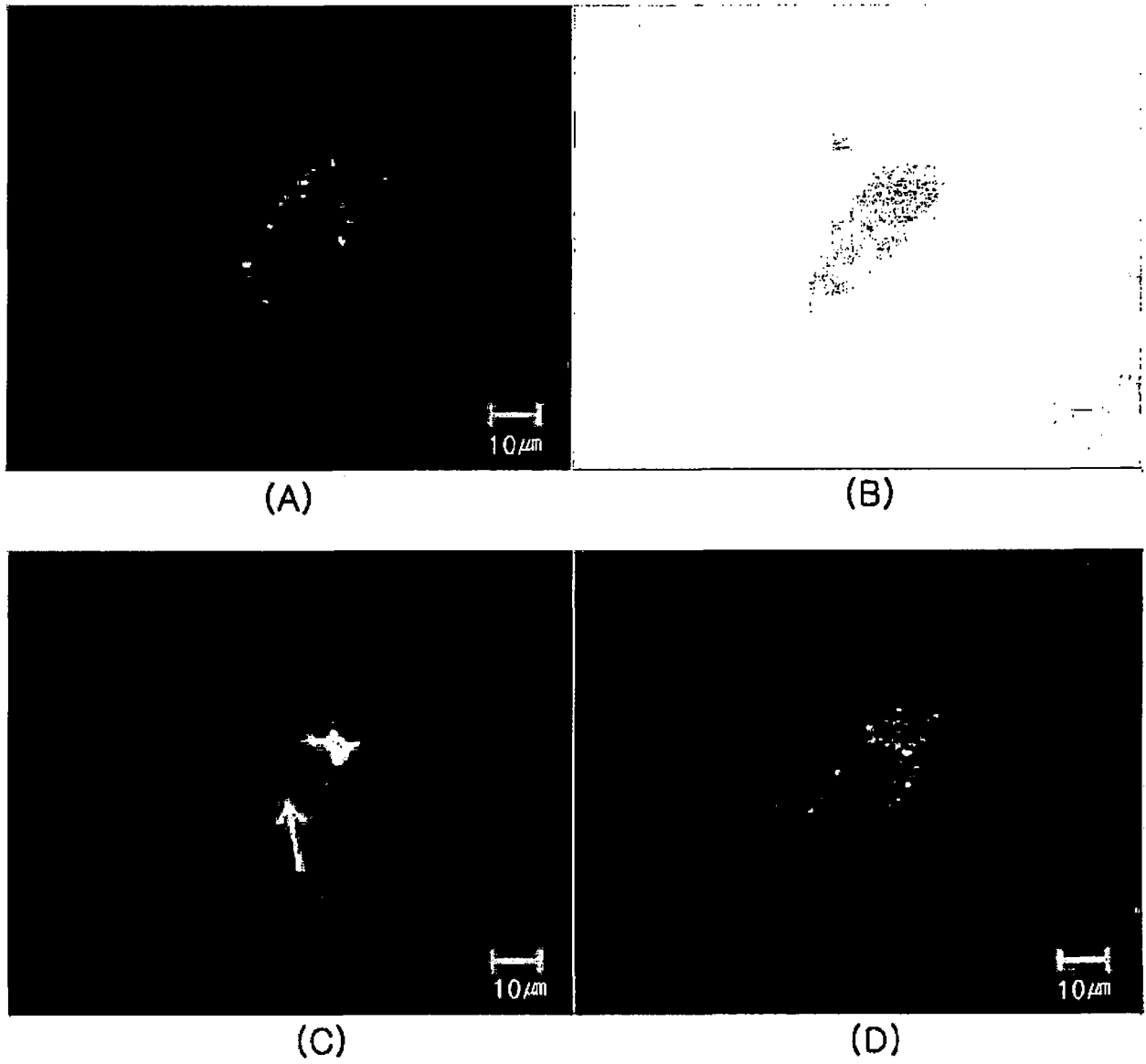


图 11

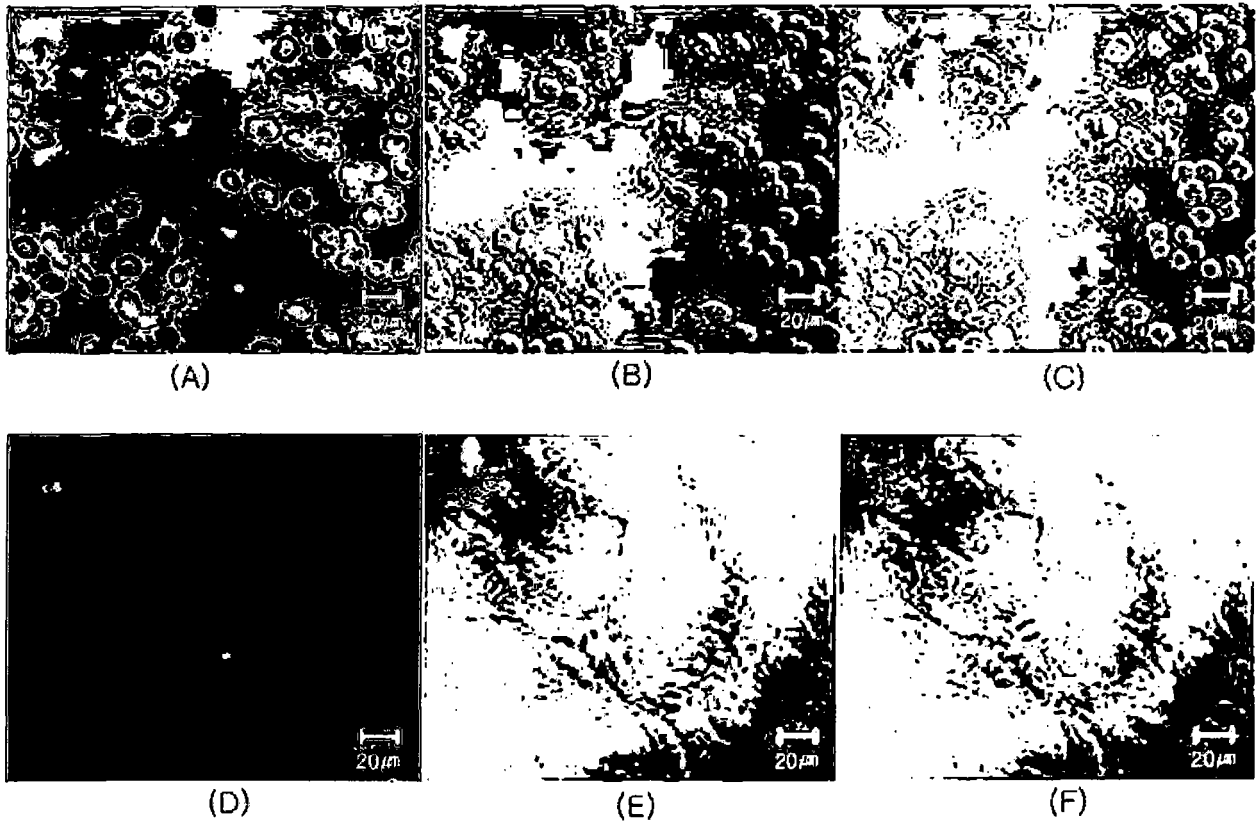


图 12

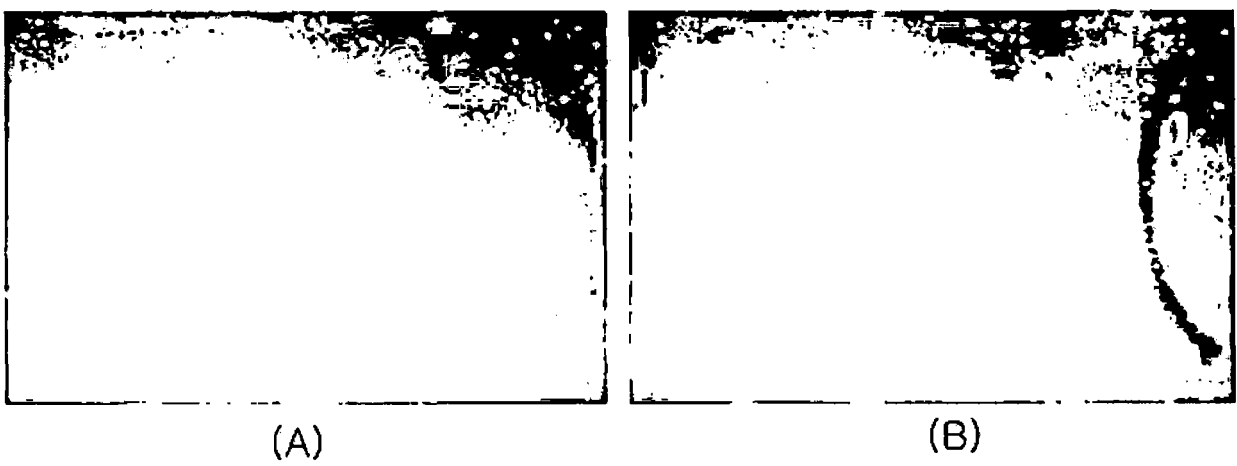


图 13

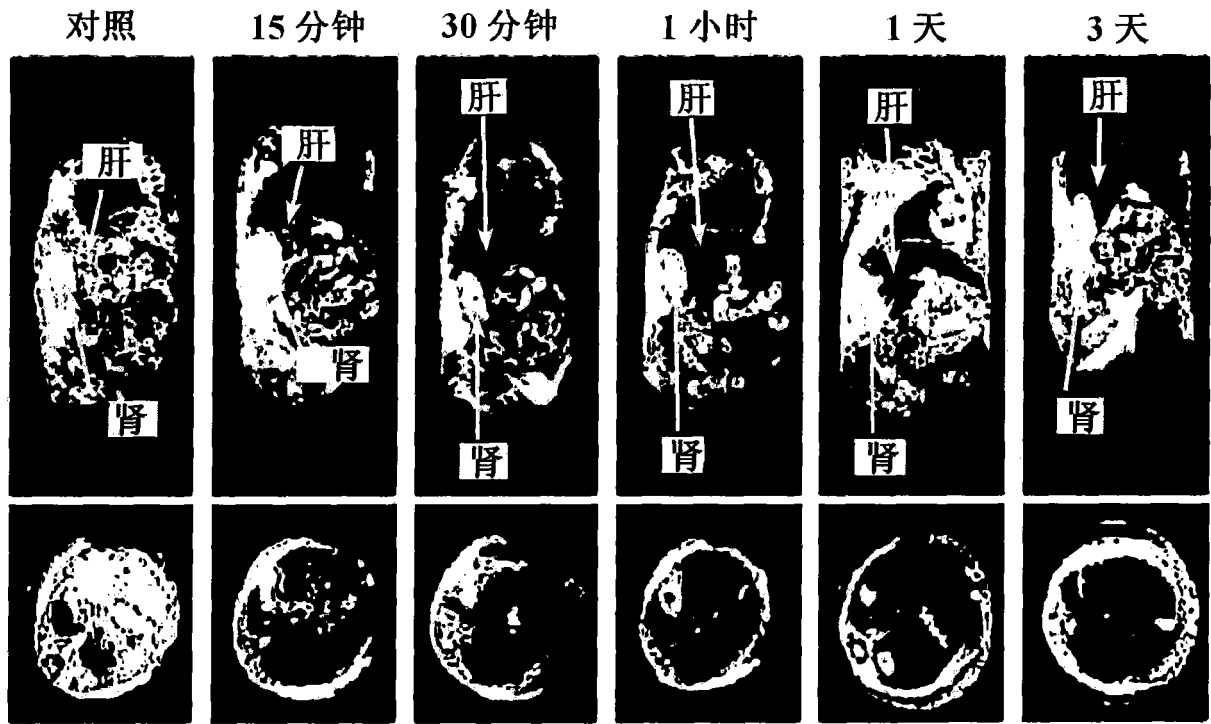


图 14

专利名称(译)	具有荧光性的磁性纳米颗粒及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN101283276A	公开(公告)日	2008-10-08
申请号	CN200680033070.0	申请日	2006-09-08
[标]发明人	李振奎 赵明行 朴承范 尹态钟 金俊成 金炳杰 柳敬楠		
发明人	李振奎 赵明行 朴承范 尹态钟 金俊成 金炳杰 柳敬楠		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	A61K49/0041 A61K49/1875 A61K49/0043 G01N33/587 A61K49/0093 A61K49/186 B82Y5/00 A61K49/1848 A61K49/183 A61K49/0002		
代理人(译)	周建秋 王凤桐		
优先权	1020050112245 2005-11-23 KR 11/220969 2005-09-08 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

公开了一种具有荧光性的磁性纳米颗粒(MNPs)及其制备方法和应用。本发明的磁性纳米颗粒既具有光学性能也具有磁性能，因此能够广泛地应用于生物领域。通过使用亲水性的材料对磁性纳米颗粒的二氧化硅表面进行处理，能够将多种化学官能团引入至纳米尺寸的材料中。另外，通过使用这种被化学修饰的纳米尺寸的材料，能够提高或降低磁性纳米颗粒向细胞中的渗透性能，并且能够提高只作用于预期的特定细胞的选择性。

通过调整磁性纳米颗粒/TEOS的比例来控制二氧化硅外壳的厚度

聚乙烯吡咯烷酮(PVP)
四乙氧基硅烷(TEOS)

