

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200510130313. X

[51] Int. Cl.
C08F 2/44 (2006.01)
C08F 2/24 (2006.01)
C08L 25/06 (2006.01)
C08L 31/04 (2006.01)
C08L 33/08 (2006.01)
C08L 33/10 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 1 月 10 日

[11] 公开号 CN 1891720A

[51] Int. Cl. (续)

C08K 9/00 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

[22] 申请日 2005.12.9

[21] 申请号 200510130313. X

[30] 优先权

[32] 2005.7.8 [33] CN [31] 200510012139.9

[71] 申请人 中国科学院化学研究所

地址 100080 北京市海淀区中关村北一街 2 号

[72] 发明人 高明远 杨云华 闻中凯 董宇平

[74] 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司
代理人 李 柏

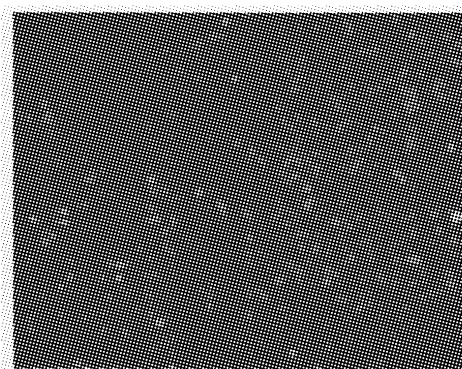
权利要求书 3 页 说明书 18 页 附图 7 页

[54] 发明名称

含无机纳米微粒的聚合物微球及其制备方法和用途

[57] 摘要

本发明属于含有纳米微粒的聚合物微球领域，涉及纳米微粒与聚合物球体之间是通过化学键相连的聚合物微球及其制备方法和在生物学中的应用。利用可反应性表面活性剂，经乳液聚合将水溶性的无机纳米微粒复合到疏水性聚合物中，一步反应得到聚合物微球。采用这种方法能够将不同种类，不同性质的纳米微粒复合到同一个微球中，得到多功能聚合物微球。微球表面带有正电荷，通过静电相互作用将生物分子耦联到微球表面，得到可用于生物检测的微球荧光探针，微球荧光探针可用于免疫检测、多基因染色体组分析、蛋白芯片的联合检测、DNA 测序、基因芯片及细胞或生物组织内不同区域的荧光同步检测中。多功能微球为高灵敏度的生物分析和检测提供了新的应用。



1. 一种含有无机纳米微粒的聚合物微球，其特征是：水溶性无机纳米微粒嵌于聚合物微球的内部，水溶性无机纳米微粒通过可反应性表面活性剂分子链上的碳碳双键与聚合物分子链以化学键结合；

所述的聚合物选自聚苯乙烯，聚二乙烯基苯，聚乙二醇二甲基丙烯酸酯，聚乙酸乙烯酯，聚丙烯酸酯，聚甲基丙烯酸酯中的一种或一种以上的共聚物；

所述的可反应性表面活性剂为烷基链中碳原子的数目在 8~18 之间的双烷基链甲基对乙炔基卞基氯化铵或者三烷基对乙炔基卞基氯化铵；或者烷基链的碳原子数目在 6~18 之间的单烷基链二甲基对乙炔基苄基氯化铵；

所述的无机纳米微粒选自半导体纳米微粒、贵金属纳米微粒或金属氧化物纳米微粒中的一种或一种以上的混合物。

2. 根据权利要求 1 所述的微球，其特征是：所述的含有半导体纳米微粒的聚合物微球中包含有不同荧光发射波长的水溶性半导体纳米微粒。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的微球，其特征是：所述的半导体纳米微粒选自硫化镉、硫化锌、硫化汞、硫化铅、硒化镉、硒化锌、硒化铅、碲化镉、碲化汞、碲化铅或硅纳米微粒中的一种或一种以上的混合物。

4. 根据权利要求 1 所述的微球，其特征是：所述的贵金属纳米微粒选自金、银、铁、铂、镍、钴、钨、钼、锰中的一种或一种以上的混合物，或含有上述金属元素的合金纳米微粒。

5. 根据权利要求 1 所述的微球，其特征是：所述的金属氧化物纳米微粒选自四氧化三铁、三氧化二铁、氧化锰、氧化钴、氧化镍、氧化锌中的一种或一种以上的混合物。

6. 根据权利要求 1 所述的微球，其特征是：所述的含有无机纳米微粒的聚合物微球的粒径是 200 纳米到 5 微米之间。

7. 根据权利要求 2、3、4、5 或 6 所述的微球，其特征是：所述的微粒的粒径是 1~100 纳米之间。

8. 一种根据权利要求 1~7 任一项所述的微球的制备方法，该方法包括水溶性无机纳米微粒、可反应性表面活性剂、溶有引发剂的半导体纳米微粒/单体溶液的制备，其特征是：

(1) 将可反应性表面活性剂 A 溶解于油溶性单体中，向这种单体溶液中加入无机纳米微粒水溶液，搅拌分离得到无机纳米微粒/单体溶液，然后，将引发剂溶解到无机纳米微粒/单体溶液中；可反应性表面活性剂 A 在单体中的浓度为 0.1%~10wt%；以无机纳米微粒的数目计算，无机纳米微粒水溶液的浓度在 $2.5 \times 10^{-7} \sim 2.5 \times 10^{-3}$ mol/L 之间；无机纳米微粒水溶液与单体的体积比在 1:0.2~1:2 之间；引发剂与单体的质量比在 1:20~1:1000 之间；

(2) 将可反应性表面活性剂 B 溶于水中，将步骤 (1) 得到的溶有引发剂的无机纳米微粒/单体溶液加入到上述水溶液中，搅拌，形成水包油型乳液，通惰性气体除氧，乳液体系进行聚合反应；其中可反应性表面活性剂 B 与水的物质的量之比在 1:250~1:10000 之间，无机纳米微粒/单体溶液与水的质量比在 1:4~1:100 之间；反应结束后，离心分离出含有无机纳米微粒的聚合物微球；

所述的单体选自苯乙烯，二乙烯基苯，乙二醇二甲基丙烯酸酯，乙酸乙烯酯，丙烯酸酯类，甲基丙烯酸酯类中的一种或一种以上单体的混合物；

所述的可反应性表面活性剂 A 为双烷基链甲基对乙基卞基氯化铵或者三烷基对乙基卞基氯化铵，烷基链中碳原子的数目在 8~18 之间；

所述的可反应性表面活性剂 B 为单烷基链二甲基对乙基卞基氯化铵，烷基链的碳原子数目在 6~18 之间；

所述的无机纳米微粒选自半导体纳米微粒、贵金属纳米微粒或金属氧化物纳米微粒中的一种或一种以上的混合物。

9. 根据权利要求 8 所述的方法，其特征是：当无机纳米微粒为荧光纳米微粒时，所述的步骤 (2) 的溶有引发剂的纳米微粒/单体溶液为含有不同荧光发射波长的纳米微粒/单体溶液，得到含有各种不同荧光发射波长的半导体纳米微粒的聚合物荧光微球。

10. 根据权利要求 9 所述的方法，其特征是：所述的含有各种不同荧光发射波长的半导体纳米微粒的聚合物荧光微球，其不同荧光发射波长的半导体纳米微粒的荧光强度是通过控制各种不同荧光发射波长的半导体纳米微粒/单体溶液之间的比例实现的。

11. 一种根据权利要求 1~7 任一项所述的含有无机纳米微粒的聚合物微球的用途，其特征是：所述的含有半导体纳米微粒的聚合物荧光微球用于制备用于免疫检测、多基因染色体组分析、蛋白芯片的联合检测、DNA 测序、基因芯片及细胞或生物组织内不同区域的荧光同步检测中的微球荧光探针；

或

所述的含有磁性纳米微粒和荧光纳米微粒的磁性荧光复合微球用于免疫检测、多基因染色体组分析、蛋白芯片的联合检测、DNA 测序、基因芯片及细胞或生物组织内不同区域的荧光同步检测、细菌和病毒的高灵敏度检测；

或

所述的含有磁性纳米微粒聚合物微球用于免疫检测、自身骨髓移植时清除其中的癌细胞、分离其他核细胞、分离细胞器、纯化 DNA 结合蛋白、DNA 序列分析、固相克隆、体外诱变。

含无机纳米微粒的聚合物微球及其制备方法和用途

技术领域

本发明属于含有纳米微粒的聚合物微球领域，特别涉及纳米微粒与聚合物球体之间是通过化学键相连，更具体地说是通过乳液聚合方法得到由无机纳米微粒与聚合物复合形成的微球及其制备方法和在生物医学中的应用。

背景技术

由于其独特的尺寸效应，与相应的本体材料相比，纳米微粒具有很独特的物理化学性质，在各种领域具有广泛的应用前景。目前，用途最广泛的纳米微粒主要有半导体、贵金属以及金属氧化物。将纳米微粒复合到疏水性的聚合物中不但能够使纳米微粒与外界化学环境隔离，使其独特性质不受环境的影响；而且能够赋予微球更多的新功能，从而得到一类在光子晶体、传感器、高通量检测以及生命科学等领域中有着广泛应用的新材料。利用无机纳米微粒的荧光或磁性得到的聚合物微球在分子和生物研究等方面已经展示出广阔的应用。其中，II-VI族荧光半导体纳米微粒（又称为量子点）独特的荧光尺寸可调性使其作为一种标记材料在分子和生物研究等方面前景广阔。将大量的荧光半导体纳米微粒复合到同一个微球中可以得到高荧光强度的荧光微球；另外，将不同种类的荧光纳米微粒按一定比例复合到同一个微球中可以对微球实现荧光编码，从而得到在高通量生物分析和检测中具有重要应用价值的荧光标记材料。同时将具有不同物理性质的无机纳米微粒，如荧光微粒和磁性纳米微粒集成到同一微球内部还可以实现具有多功能的生物标记和分离材料（高明远等，磁性荧光材料及制备方法与应用，专利申请号：200510109318.4）。

目前，含有纳米微粒的聚合物微球的制备方法主要包括在球体中原位合成纳米粒子或者通过静电、氢键以及疏水作用将制备好的纳米微粒复合到微球中。但是，前者不能控制纳米粒子的形貌和结晶度以及纳米微粒的表面结构（*J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7908）；后者由于纳米微粒与聚合物球体之

间没有足够强的相互作用，在一定条件下纳米微粒容易从基体中析出 (*Adv. Mater.* **2005**, *17*(3), 267)。乳液聚合也用来制备含有纳米微粒的聚合物微球，但微球中的纳米微粒出现不可避免的聚集和析出趋势 (*J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13864. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 1346)。

发明内容

本发明的目的之一是提供含有无机纳米微粒的聚合物微球，而且微球具有进一步可修饰加工性能。

本发明的目的之二是提供含有半导体纳米微粒的聚合物荧光微球。

本发明的目的之三是提供含有荧光半导体纳米微粒的聚合物荧光微球，其荧光效率不小于 20%。

本发明的目的之四是提供一种简单的方法将水溶性无机纳米微粒复合到聚合物中，制备出含有无机纳米微粒的聚合物微球，纳米微粒与聚合物基体之间通过化学键相连。

本发明的目的之五是提供含有荧光半导体纳米微粒的聚合物荧光微球的制备方法。

本发明的目的之六是提供含有半导体纳米微粒的聚合物荧光微球的用途，能够用于荧光编码和生物检测等领域。

本发明采用两种可反应性表面活性剂，通过乳液聚合的方法将水溶性无机纳米微粒复合到聚合物中，从而得到多功能性聚合物微球，纳米微粒与基体之间是通过化学键相连，纳米微粒不会从聚合物基体析出。聚合物微球表面带有正电荷，通过静电相互作用方便的将生物分子耦联到微球表面，从而进行生物方面的检测。

本发明首先在水相中制备性质明确的无机纳米微粒，然后利用一种可反应性表面活性剂将水溶性无机纳米微粒从水相转移到油溶性单体中；以水为连续相，单体溶液为分散相。另一种可反应性表面活性剂为乳化剂形成乳液，在一定温度下采用引发剂引发聚合反应。分离得到具有无机纳米微粒的聚合物微球。改变可反应性表面活性剂的用量，一定程度上可以控制聚合物微球的粒径。

本发明的含有无机纳米微粒的聚合物微球，水溶性无机纳米微粒嵌于聚合物微球的内部，水溶性无机纳米微粒通过可反应性表面活性剂分子链上的

碳碳双键与聚合物分子链以化学键结合；

所述的聚合物微球的粒径在 200 纳米到 5 微米之间。

所述的无机纳米微粒的粒径在 1~100 纳米之间。

所述的无机纳米微粒选自半导体纳米微粒、贵金属纳米微粒或金属氧化物纳米微粒中的一种或一种以上的混合物。

所述的半导体纳米微粒选自硫化镉、硫化锌、硫化汞、硫化铅、硒化镉、硒化锌、硒化铅、碲化镉、碲化汞、碲化铅或硅纳米微粒中的一种或一种以上的混合物。

所述的贵金属纳米微粒选自金、银、铁、铂、镍、钴、钯、锰中的一种或一种以上的混合物，或含有上述金属元素的合金纳米微粒。

所述的金属氧化物纳米微粒选自四氧化三铁、三氧化二铁、氧化锰、氧化钴、氧化镍、氧化锌中的一种或一种以上的混合物。

所述的聚合物选自聚苯乙烯、聚二乙烯基苯、聚乙二醇二甲基丙烯酸酯、聚乙酸乙烯酯、聚丙烯酸酯类、聚甲基丙烯酸酯类中的一种或一种以上的共聚物。

所述的聚丙烯酸酯类是聚丙烯酸甲酯、聚丙烯酸乙酯、聚丙烯酸丙酯、聚丙烯酸丁酯中的一种。

所述的聚甲基丙烯酸酯类是聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸乙酯、聚甲基丙烯酸丙酯、聚甲基丙烯酸丁酯中的一种。

本发明的含有无机纳米微粒的聚合物微球的制备方法，该方法包括以下步骤：

(1) 水溶性无机纳米微粒按照已有文献制备。半导体纳米微粒以 II-VI 族半导体碲化镉纳米微粒 (M. Y. Gao *et al*, *J. Phys. Chem.*, **1998**, *102*, 8360) 为例具体过程如下：将镉盐 (包括氯化镉、醋酸镉、高氯酸镉) 配制成 0.001 mol/L~0.15 mol/L，优选 0.005 mol/L~0.05 mol/L 之间的溶液，随后加入巯基修饰剂 (镉盐与巯基修饰剂的摩尔比在 1:1~1:3 之间，优选 1:2.0~1:2.5 之间)，调节其 pH 值调至 10~13，优选 10.5~11.4。将过量稀硫酸溶液与碲化铝 (Al_2Te_3) 反应生成的 H_2Te 直接通入上述镉溶液中 (镉与碲的摩尔比在 1:0.2~1:0.8 之间，优选 1:0.4~1:0.6)，搅拌 10~20 分钟后加热回流该溶液。控制回流时间，得到荧光发射中心波长在 430 纳米至 650 纳米之间任意调变的碲化镉纳米微粒。贵金属纳米微粒以金溶胶为代表 (Michael J. Natan *et al*, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 735)，具体过程如下：将 0.15 毫升 2wt% 的氯金酸加入到 30

毫升水中，沸腾时加入 0.45 毫升 2wt%柠檬酸钠水溶液，回流 30 分钟就得到金溶胶。金属氧化物以四氧化三铁为代表 (M.Y. Gao et al, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 1001)。具体过程如下：将 10 mmol 乙酰丙酮铁，5mmol 双羧基聚乙烯醇加入到 100mL α -吡咯烷酮中，回流 5~20 小时就得到四氧化三铁纳米微粒。

(2) 可反应性表面活性剂按照文献制备 (Aoyagi, T. *et al*, *J. Controlled Release* **1990**, *13*, 63)，具体过程如下：将等摩尔的叔胺和 4-乙烯基卞基氯溶于丙酮，在 40℃回流 2~48 小时，得到白色固体；重结晶后真空干燥即得可反应性表面活性剂。

(3) 将步骤 (2) 的可反应性表面活性剂 A 溶解于油性单体中，向这种单体溶液中加入步骤 (1) 的无机纳米微粒水溶液，搅拌分离得到无机纳米微粒/单体溶液，然后，将引发剂溶解到无机纳米微粒/单体溶液中；可反应性表面活性剂 A 在单体中的浓度为 0.1%~10wt%，无机纳米微粒水溶液的浓度在 $2.5 \times 10^{-7} \sim 2.5 \times 10^{-3}$ mol/L 之间（以纳米微粒的数目计算），无机纳米微粒水溶液与单体的体积比在 1:0.2~1:2 之间，引发剂与单体的质量比在 1:20~1:1000 之间。

(4) 将可反应性表面活性剂 B 溶于水中，将步骤 (3) 得到的溶有引发剂的无机纳米微粒/单体溶液加入到上述水溶液中，搅拌，形成水包油型乳液，通惰性气体除氧，乳液体系在 70~80℃下聚合反应 5~12 小时；其中可反应性表面活性剂 B 与水的物质的量之比在 1:250~1:10000 之间，无机纳米微粒/单体溶液与水的质量比在 1:4~1:100 之间。反应结束后，离心分离出含有无机纳米微粒的聚合物微球，再经水洗涤除去多余的可反应性表面活性剂 B 后，重新分散在水相中，形成稳定的含有无机纳米微粒的聚合物微球水分散体系。

当无机纳米微粒为荧光纳米微粒时，步骤 (4) 所述的溶有引发剂的无机纳米微粒/单体溶液为含有不同荧光发射波长的水溶性纳米微粒的聚合物单体溶液，得到的是含有各种不同荧光发射波长的纳米微粒的聚合物荧光微球。

当无机纳米微粒为荧光纳米微粒和磁性纳米微粒时，步骤 (4) 所述的溶有引发剂的纳米微粒/单体溶液为含有不同荧光发射波长的水溶性半导体纳米微粒和磁性纳米微粒的聚合物单体溶液，得到的是含有各种不同荧光发射波长的半导体纳米微粒的磁性聚合物荧光微球。

对于具有不同荧光发射波长的半导体纳米微粒/单体溶液，是将几种具有单一发射波长的半导体纳米微粒/单体溶液按任意比例混合得到的。

所述的含有各种不同荧光发射波长的半导体纳米微粒的聚合物荧光微

球，其不同荧光发射波长的半导体纳米微粒的荧光强度是通过控制各种不同荧光发射波长的半导体纳米微粒/单体溶液之间的比例实现的。

所述的无机纳米微粒选自半导体纳米微粒、贵金属纳米微粒或金属氧化物纳米微粒中的一种或一种以上的混合物。

所述的单体选自苯乙烯，二乙烯基苯，乙二醇二甲基丙烯酸酯，乙酸乙烯酯，丙烯酸酯类，甲基丙烯酸酯类中的一种或任意两种单体的混合物。

所述的半导体纳米微粒选自硫化镉、硫化锌、硫化汞、硫化铅、硒化镉、硒化锌、硒化铅、碲化镉、碲化汞、碲化铅或硅纳米微粒中的一种或一种以上的混合物。

所述的巯基修饰剂选自巯基乙酸、巯基丙酸、硫辛酸中的一种或一种以上的混合物。

所述的贵金属纳米微粒选自金、银、铁、铂、镍、钴、钯、锰中的一种或一种以上的混合物，或含有上述金属元素的合金纳米微粒。

所述的金属氧化物纳米微粒选自四氧化三铁、三氧化二铁、氧化锰、氧化钴、氧化镍、氧化锌中的一种或一种以上的混合物。

所述的叔胺选自单烷基链二甲基胺，双烷基链甲基胺，三烷基胺中的一种或一种以上，烷基链中碳原子的数目在6~18之间。

所述的引发剂选自偶氮二异丁氰，过氧化苯甲酰或其它油溶性引发剂中的一种。

所述的可反应性表面活性剂A为双烷基链甲基对乙烯基卞基氯化铵或者三烷基对乙烯基卞基氯化铵，烷基链中碳原子的数目在8~18之间。

所述的可反应性表面活性剂B为单烷基链二甲基对乙烯基苄基氯化铵，烷基链的碳原子数目在6~18之间。

所述的惰性气体是氩气、氮气、氦气等。

本发明的含有荧光半导体纳米微粒的聚合物荧光微球表面由于可聚合的阳离子表面活性剂而带正电荷，通过静电吸附的方法将生物分子直接吸附到荧光微球的表面，得到可以对生物体系进行识别的微球荧光探针。将上述方法制备的微球荧光探针用于生物检测：微球荧光探针可以用于免疫检测、多基因染色体组分析、蛋白芯片的联合检测、DNA测序、基因芯片及细胞或生物组织内不同区域的荧光同步检测中。微球荧光探针还可以用于高灵敏度的免疫检测，具体作法是用修饰有抗体的基片作为检测载体，将基片先后浸入待测溶液和荧光探针溶液中，当待测溶液中有抗原出现时，微球荧光探针会

自动通过抗体-抗原的特异性识别作用吸附到固体基片表面，使固体基片产生荧光。由于微球中含有大量的荧光微粒，微球荧光探针的使用将大大地提高免疫检测的灵敏度。

所述的含有磁性纳米微粒和荧光纳米微粒的磁性荧光复合微球用于免疫检测、多基因染色体组分析、蛋白芯片的联合检测、DNA 测序、基因芯片及细胞或生物组织内不同区域的荧光同步检测、细菌和病毒的高灵敏度检测。

所述的含有磁性纳米微粒聚合物微球用于免疫检测、自身骨髓移植时清除其中的癌细胞、分离其他核细胞、分离细胞器、纯化 DNA 结合蛋白、DNA 序列分析、固相克隆、体外诱变。

本发明制备过程简单，操作方便，能够将高质量水溶性无机纳米微粒复合到聚合物微球中，得到多功能性聚合物微球。纳米微粒与聚合物基体之间通过化学键相连。聚合物微球可以进一步修饰，便于同生物分子偶联，在生物检测上有很大的应用前景。

附图说明

图 1 本发明实施例 1 所得水溶性碲化镉半导体纳米微粒的荧光光谱图。

图 2A 本发明实施例 10 所得聚合物荧光微球的明场。

图 2B 本发明实施例 10 所得聚合物荧光微球的荧光照片。

图 3 本发明实施例 10 所得聚合物荧光微球的荧光光谱图。

图 4A 本发明实施例 11 所得聚合物荧光微球的明场。

图 4B 本发明实施例 11 所得聚合物荧光微球的荧光照片。

图 5A 本发明实施例 12 所得聚合物荧光微球的明场。

图 5B 本发明实施例 12 所得聚合物荧光微球的荧光照片。

图 6A 本发明实施例 15 所得聚合物荧光微球的明场。

图 6B 本发明实施例 15 所得聚合物荧光微球的荧光照片。

图 7 本发明实施例 15 所得聚合物荧光微球经甲苯溶胀后上层液体的吸收和荧光光谱。

图 8A 本发明实施例 21 所得聚合物荧光微球的明场。

图 8B 本发明实施例 21 所得聚合物荧光微球的荧光照片。

图 9A 本发明实施例 22 所得聚合物荧光微球的明场。

图 9B 本发明实施例 22 所得聚合物荧光微球的荧光照片。

图 10 本发明实施例 22 所得聚合物荧光微球的荧光光谱图。

图 11A 本发明实施例 23 所得聚合物荧光微球的明场。

图 11B 本发明实施例 23 所得聚合物荧光微球的荧光照片。

图 12A 本发明实施例 27 所得含有金的聚合物微球的扫描电镜照片。

图 12B 本发明实施例 27 所得含有金的聚合物微球的超薄切片透射电镜照片。

图 13A 本发明实施例 28 所得含有四氧化三铁的聚合物微球的扫描电镜照片。

图 13B 本发明实施例 28 所得含有四氧化三铁的聚合物微球的超薄切片透射电镜照片。

具体实施方式

实施例 1:

称取 1.315 g 高氯酸镉 ($\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 加入到 150 mL 除氧的二次水中, 随后加入 0.55 mL 巯基乙酸作为修饰剂, 用 1 M 的氢氧化钠溶液将其 pH 值调至 11.2, 形成含有巯基化合物和镉离子的溶液。另一方面, 取 30 mL 0.5 M 硫酸溶液注入到盛有 0.39g 碲化铝 (Al_2Te_3) 的烧瓶中, 将生成的 H_2Te 全部通入上述镉离子溶液中, 搅拌 15 分钟后, 加热回流 1 分钟到 10 天, 得到巯基乙酸稳定、荧光发射中心波长在 430~650 纳米之间的碲化镉半导体纳米微粒水溶液。荧光光谱见图 1。

实施例 2:

称取 1.031 g 氯化镉 ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$) 加入到 150 mL 除氧的二次水中, 随后加入 0.55 mL 巯基丙酸作为修饰剂, 用 1 M 的氢氧化钠溶液将其 pH 值调至 11.2, 形成含有巯基化合物和镉离子的溶液。其余步骤同实施例 1, 得到巯基丙酸稳定、荧光发射中心波长在 430~650 纳米之间的碲化镉半导体纳米微粒水溶液。

实施例 3:

称取 1.031 g 氯化镉 ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$) 加入到 150 mL 除氧的二次水中, 随后加入 0.65 mL 硫辛酸作为修饰剂, 用 1 M 的氢氧化钠溶液将其 pH 值调至 11.2, 形成含有巯基化合物和镉离子的溶液。其余步骤同实施例 1, 得到硫辛酸稳定、荧光发射中心波长在 430~650 纳米之间的碲化镉半导体纳米微粒水

溶液。

实施例 4:

称取 1.315 g 高氯酸镉 ($\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 加入到 150 mL 除氧的二次水中, 随后加入 0.55 mL 巯基乙酸作为修饰剂, 用 1 M 的氢氧化钠溶液将其 pH 值调至 11.2, 形成含有巯基化合物和镉离子的溶液。另一方面, 取 30 mL 0.5M 硫酸溶液注入到盛有 0.26g 硒化铝 (Al_2Se_3) 的烧瓶中, 将生成的 H_2Se 全部通入上述镉离子溶液中, 得到巯基乙酸稳定的硒化镉纳米微粒水溶液。

实施例 5

取 10 mmol 十八烷基二甲基胺和 10 mmol 4-乙烯基卞基氯溶于 5 mL 丙酮, 在 40°C 回流两小时; 冷却后的固体重结晶后真空干燥, 制得十八烷基二甲基对乙烯基卞基氯化铵。

实施例 6:

取 10 mmol 十六烷基二甲基胺和 10 mmol 4-乙烯基卞基氯溶于 5 mL 丙酮, 在 40°C 回流两小时; 冷却后的固体重结晶后真空干燥, 制得十六烷基二甲基对乙烯基卞基氯化铵。

实施例 7:

取 10 mmol 二(十八烷基)甲基胺和 10 mmol 4-乙烯基卞基氯溶于 5 mL 丙酮, 在 40°C 回流 48 小时。冷却后的固体重结晶后真空干燥, 制得二(十八烷基)甲基对乙烯基卞基氯化铵。

实施例 8:

取 10 mmol 二癸烷基甲基胺和 10 mmol 4-乙烯基卞基氯溶于 5 mL 丙酮, 在 40°C 回流 48 小时。冷却后的固体重结晶后真空干燥, 制得二癸烷基甲基对乙烯基卞基氯化铵。

实施例 9:

取 10 mmol 三辛基胺和 10 mmol 4-乙烯基卞基氯溶于 5 mL 丙酮, 在 40°C 回流 48 小时。冷却后的固体重结晶后真空干燥, 制得三辛基对乙烯基卞基

氯化铵。

实施例 10:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.0150 g, 溶解于 2 mL 苯乙烯中, 取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉纳米微粒 (荧光发射中心波长在 630 纳米) 水溶液 1 mL, 浓度 0.0125 mol/L, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到碲化镉/苯乙烯溶液。称取 0.0300 g 偶氮二异丁氰, 溶解于 1.5 g 碲化镉/苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1200 g, 溶于 20 mL 水当中。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/苯乙烯溶液加到水相中, 搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟, 然后在 80°C 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中。由荧光照片和明场照片 (图 2A 和图 2B) 对比可知, 制得了含有碲化镉半导体纳米微粒的聚苯乙烯荧光微球。从图 3 可以看出聚合, 聚合过程并没有影响到碲化镉的荧光性质, 即荧光发射中心波长不变。聚合物微球中碲化镉的荧光量子产率约为 26%。聚合物荧光微球的粒径为 1.5 微米。

实施例 11:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 1 的巯基乙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒 (荧光发射中心波长在 580 纳米) 水溶液 10 mL, 浓度 0.00125 mol/L, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到碲化镉/苯乙烯溶液。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰, 溶解于 1.5 g 碲化镉/苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1000 g, 溶解于 20 mL 水当中, 得到溶有表面活性剂的水溶液。将碲化镉/苯乙烯溶液加入到水溶液中, 搅拌形成乳液。向此乳液当中通氮气 20 分钟左右, 然后在 80°C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中。由荧光照片和明场照片 (图 4A 和图 4B) 对比可知, 制得了含有碲化镉纳米微粒的聚苯乙烯荧光微球。

实施例 12:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g, 溶解于 2.0 mL 甲基丙烯酸甲酯中, 取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒 (荧光发射中心波长在 630 纳米) 水溶液 1.0 mL, 浓度 0.0130 mol/L, 在

搅拌下加入到上述单体中，分离得到溶有碲化镉/甲基丙烯酸甲酯溶液。称取 0.0300 g 偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 g 碲化镉/甲基丙烯酸甲酯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙基基卞基氯化铵 0.1000 g，溶解于 20 mL 水当中，得到溶有表面活性剂的水溶液。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/甲基丙烯酸甲酯溶液加到水溶液中，搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟左右，然后在 80℃ 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。由荧光照片和明场照片（图 5A 和图 5B）对比可知，制得了含有碲化镉纳米微粒的聚甲基丙烯酸甲酯荧光微球。

实施例 13:

称取实施例 8 的二癸烷基对乙基基苄基甲基氯化铵 0.0150 g，溶解于 2.0 mL 甲基丙烯酸甲酯中。取实施例 1 的巯基乙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒（荧光发射中心波长在 600 纳米）水溶液 1.0 mL，浓度 0.0150 mol/L，加入到甲基丙烯酸甲酯溶液中，分离得到碲化镉/甲基丙烯酸甲酯溶液。称取 0.0150 g 偶氮二异丁氰，溶解于 1.0 g 碲化镉/甲基丙烯酸甲酯中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙基基卞基氯化铵 0.3000 g，溶解于 20 mL 水中。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/甲基丙烯酸甲酯溶液加到水相中，搅拌形成乳液。向此乳液中通氮气 20 分钟左右，然后在 80℃ 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中，制得了含有碲化镉纳米微粒的聚甲基丙烯酸甲酯荧光微球。荧光微球的粒径为 500 纳米。

实施例 14:

称取实施例 7 的二（十八烷基）甲基对乙基基苄基氯化铵 0.3000 g，溶解于 2 mL 乙二醇二甲基丙烯酸酯单体中，取实施例 1 的巯基乙酸表面修饰的碲化镉纳米微粒（荧光发射中心波长在 600 纳米）水溶液 5 mL，浓度 0.0025 mol/L，在搅拌下加入到上述单体中，分离得到碲化镉/乙二醇二甲基丙烯酸酯溶液。称取 0.0300 g 偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 g 碲化镉/乙二醇二甲基丙烯酸酯溶液中。称取实施例 6 的十六烷基二甲基对乙基基卞基氯化铵 0.1400 g，溶解于 20 mL 水当中。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/乙二醇二甲基丙烯酸酯溶液加到水相中，搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟，然后在 80℃ 的水浴中反应 10 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中，得到了含有碲化镉纳米微粒的聚乙二醇二甲基丙烯酸酯荧光微球。

实施例 15:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.0150 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯和 0.2 mL 二乙烯基苯的混合单体中。取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒(荧光发射中心波长在 630 纳米)水溶液 1.5 mL, 浓度 0.0135 mol/L, 加入到单体溶液中, 分离得到碲化镉/单体溶液。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰, 溶解于 2.0 g 碲化镉/单体溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1000 g, 溶解于 20 mL 水当中, 得到乳化剂水溶液。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/单体溶液加入到水溶液中, 搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟左右, 然后在 80℃的水浴中反应 8 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中。由荧光照片和明场照片对比可知(图 6A 和图 6B), 制得了含有碲化镉半导体纳米微粒的苯乙烯/二乙烯基苯共聚物的荧光微球。用甲苯溶胀微球 24 后离心分离, 上层清夜的荧光光谱和吸收光谱如图 7 所示, 表明碲化镉纳米微粒完全保留在聚合物球体中, 从而说明纳米微粒与聚合物球之间是通过化学键相连。

实施例 16:

称取实施例 8 的二癸烷基对乙烯基苄基甲基氯化铵 0.0150 g, 溶解于 2.0 mL 甲基丙烯酸甲酯中。取实施例 1 的巯基乙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒(荧光发射中心波长在 600 纳米)水溶液 1.0 mL, 浓度 0.0150 mol/L, 加入到甲基丙烯酸甲酯溶液中, 分离得到碲化镉/甲基丙烯酸甲酯溶液。称取 0.0150 g 偶氮二异丁氰, 溶解于 1.0 g 碲化镉/甲基丙烯酸甲酯中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1000 g, 溶解于 20 mL 水中。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/甲基丙烯酸甲酯溶液加到水相中, 搅拌形成乳液。向此乳液中通氮气 20 分钟左右, 然后在 80℃的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中, 制得了含有碲化镉半导体纳米微粒的聚甲基丙烯酸甲酯荧光微球。

实施例 17:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.0150 g, 溶解于 2 mL 丙烯腈中, 取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒(荧光发射中心波长在 640 纳米)水溶液 1 mL, 浓度 0.0125 mol/L, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到碲化镉/丙烯腈溶液。称取 0.0300 g 偶氮二异丁氰,

溶解于 1.5 g 碲化镉/丙烯腈溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙基苄基氯化铵 0.1200 g，溶于 20 mL 水当中。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/丙烯腈溶液加到水相中，搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟，然后在 80 °C 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。制得了含有碲化镉半导体纳米微粒的聚丙烯腈荧光微球。

实施例 18

称取实施例 8 的二癸烷基对乙基苄基甲基氯化铵 0.0150 g，溶解于 2.0 mL 丙烯酸甲酯中。取实施例 4 的巯基乙酸表面修饰的硒化镉半导体纳米微粒（荧光发射中心波长在 610 纳米）水溶液 1.0 mL，浓度 0.0150 mol/L，加入到丙烯酸甲酯溶液中，分离得到硒化镉/丙烯酸甲酯溶液。称取 0.0150 g 偶氮二异丁氰，溶解于 1.0 g 硒化镉/丙烯酸甲酯中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙基苄基氯化铵 0.1000 g，溶于 20 mL 水中。将溶有偶氮二异丁氰的硒化镉/丙烯酸甲酯溶液加到水相中，搅拌形成乳液。向此乳液中通氮气 20 分钟左右，然后在 80 °C 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中，制得了含有硒化镉半导体纳米微粒的聚丙烯酸甲酯荧光微球。

实施例 19

称取实施例 8 的二癸烷基对乙基苄基甲基氯化铵 0.0150 g，溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取巯基乙酸表面修饰的硫化镉纳米微粒（荧光发射中心波长在 550 纳米）水溶液 1.0 mL，浓度 0.0150 mol/L，加入到苯乙烯中，分离得到硫化镉/苯乙烯溶液。称取 0.0150 g 偶氮二异丁氰，溶解于 1.0 g 硫化镉/苯乙烯。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙基苄基氯化铵 0.1000 g，溶于 20 mL 水中。将溶有偶氮二异丁氰的硫化镉/苯乙烯溶液加到水相中，搅拌形成乳液。向此乳液中通氮气 20 分钟左右，然后在 80 °C 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中，制得了含有硫化镉半导体纳米微粒的聚苯乙烯荧光微球。

实施例 20:

称取实施例 9 的三辛基对乙基苄基氯化铵 0.0163 g，溶解于 2 mL 甲基丙烯酸丁酯中，取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒（荧

光发射中心波长在 630 纳米) 水溶液 1 mL, 浓度 0.0250 mol/L, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到碲化镉/甲基丙烯酸丁酯溶液。称取 0.0221 g 过氧化苯甲酰, 溶解于 1.5 g 碲化镉/甲基丙烯酸丁酯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基卞基氯化铵 0.1000 g, 溶解于 20 mL 水当中。将溶有过氧化苯甲酰的碲化镉/甲基丙烯酸丁酯溶液加到水相中, 搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟, 然后在 75°C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中, 制得了含有碲化镉半导体纳米微粒的聚甲基丙烯酸丁酯荧光微球。

实施例 21:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.0150 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯和 1.0 mL 甲基丙烯酸甲酯的混合单体中。取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒 (荧光发射中心波长在 630 纳米) 水溶液 1.5 mL, 浓度 0.0135 mol/L, 加入到单体溶液中, 分离得到碲化镉/单体溶液。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰, 溶解于 2.0 g 碲化镉/单体溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基卞基氯化铵 0.1000 g, 溶解于 20 mL 水当中, 得到乳化剂水溶液。将溶有偶氮二异丁氰的碲化镉/单体溶液加入到水溶液中, 搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟左右, 然后在 80°C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中。由荧光照片和明场照片对比可知 (图 8A 和图 8B), 制得了含有碲化镉半导体纳米微粒的苯乙烯/甲基丙烯酸甲酯共聚物的荧光微球。

实施例 22:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.0150 g, 溶解于 1.0 mL 苯乙烯单体中。取实施例 1 的巯基乙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒 (荧光发射中心波长在 630 纳米) 水溶液 5 mL, 浓度 0.0025 mol/L, 加入到单体溶液中, 分离得到溶有红色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液。称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.0300 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒 (荧光发射中心波长在 580 纳米) 水溶液 2.0 mL, 浓度 0.0125 mol/L, 加入到苯乙烯溶液中, 分离得到溶有绿色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液。取溶有红色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液 225 μ L, 与 1.8 mL 溶有绿色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液混合。称取 0.0250 g 偶

氮二异丁氰，溶解于 1.6 g 上述苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙炔基卞基氯化铵 0.1000 g，溶解于 20 mL 水中，得到乳化剂水溶液。将溶有偶氮二异丁氰的苯乙烯溶液加入到水溶液中，搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟左右，然后在 80℃ 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。图 9A 和图 9B 为聚苯乙烯荧光微球的荧光照片和明场照片，荧光微球显示黄色荧光；对比荧光微球的荧光光谱图（图 10）可知，两种不同荧光发射波长的碲化镉同时复合到了聚苯乙烯微球中。

实施例 23:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙炔基苄基氯化铵 0.0150 g，溶解于 1.0 mL 苯乙烯单体中。取实施例 1 的巯基乙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒（荧光发射中心波长在 630 纳米）水溶液 6 mL，浓度 0.00125 mol/L，加入到单体溶液中，分离得到溶有红色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液。称取实施例 7 的二癸烷基甲基对乙炔基苄基氯化铵 0.0300 g，溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 2 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒（荧光发射中心波长在 580 纳米）水溶液 2.0 mL，浓度 0.0125 mol/L，加入到苯乙烯溶液中，分离得到溶有绿色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液。取溶有红色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液 450 μ L，与 1.8 mL 溶有绿色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液混合。称取 0.0250 g 偶氮二异丁氰，溶解于 1.6 g 上述苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙炔基卞基氯化铵 0.1000 g，溶解于 20 mL 水中，得到乳化剂水溶液。将溶有偶氮二异丁氰的苯乙烯溶液加入到水溶液中，搅拌形成乳液。向此乳液通氮气 20 分钟左右，然后在 80℃ 的水浴中反应 6.5 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。图 11A 和图 11B 为聚苯乙烯荧光微球的荧光照片和明场照片，荧光微球显示红棕色荧光，表明荧光微球中发射中心波长在 630 纳米的碲化镉含量增加了，与初始投料比中该种微粒浓度增加相对应。

实施例 24:

将实施例 11 得到的荧光微球与抗 CEA 嵌合抗体混合分离得到抗 CEA 嵌合抗体—荧光微球耦联物溶液。在结肠癌病人手术标本石蜡切片经常规的脱腊入水处理后，滴加相应抗体浓度为 10 mg/L 的抗体—荧光微球耦联物，

37 度孵育 30 分钟，洗涤 3 次后透明、封片，显微镜下观察代表 CEA 阳性的荧光的强弱和位置。不同发射波长的荧光微球与对应的抗体耦联，可以用于多抗原同时检测。

实施例 25:

取 2 wt% 的氯金酸水溶液 0.15 mL 加入到 30 mL 水中，加热至沸腾；沸腾时加入 2 wt% 的柠檬酸钠水溶液 0.45 mL，回流 30 分钟，冷却得到金溶胶。

实施例 26:

取 5 毫摩尔乙酰丙酮铁和 2.5 毫摩尔双羧基聚乙二醇加入到 50 mL α -吡咯烷酮中，回流 10 小时，冷却得到四氧化三铁纳米微粒。

实施例 27:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g，溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 25 的金溶胶 30 mL，在搅拌下加入到上述单体中，分离得到金/苯乙烯溶液。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 g 金/苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1000 g，溶解于 20 mL 水当中，得到溶有表面活性剂的水溶液。将金/苯乙烯溶液加入到水溶液中，搅拌形成乳液。向此乳液当中通氮气 20 分钟左右，然后在 80 °C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。由扫描电镜 (12A) 和超薄切片投射电镜照片 (12B) 可知，制得了含有金纳米微粒的聚苯乙烯微球。

实施例 28:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g，溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 26 的四氧化三铁水溶液 3 mL，在搅拌下加入到上述单体中，分离得到四氧化三铁/苯乙烯溶液。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 g 四氧化三铁/苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1000 g，溶解于 20 mL 水当中，得到溶有表面活性剂的水溶液。将四氧化三铁/苯乙烯溶液加入到水溶液中，搅拌形成乳液。向此乳液当中通氮气 20 分钟左右，然后在 80 °C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。由扫描电镜 (13A) 和超薄切

片投射电镜照片(14B)可知,制得了含有四氧化三铁纳米微粒的聚苯乙烯微球。

实施例 29:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 25 的金溶胶 10 mL, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到金/苯乙烯溶液。称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取柠檬酸钠稳定的银纳米微粒水溶液 10 mL, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到银/苯乙烯溶液。将两种溶液混合得到同时含有金和银纳米微粒/苯乙烯溶液。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰, 溶解于 1.5 g 含有金和银纳米微粒/苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1000 g, 溶解于 20 mL 水当中, 得到溶有表面活性剂的水溶液。将含有金和银纳米微粒/苯乙烯加入到水溶液中, 搅拌形成乳液。向此乳液当中通氮气 20 分钟左右, 然后在 80°C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中。得到了含有金和银纳米微粒的聚苯乙烯微球。

实施例 30:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取铂化铁纳米微粒水溶液 3 mL, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到铂化铁/苯乙烯溶液。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰, 溶解于 1.5 g 铂化铁/苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.1000 g, 溶解于 20 mL 水当中, 得到溶有表面活性剂的水溶液。将铂化铁/苯乙烯溶液加入到水溶液中, 搅拌形成乳液。向此乳液当中通氮气 20 分钟左右, 然后在 80°C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后, 离心, 用水洗涤除去多余乳化剂, 最后分散在水相中。制得了含有铂化铁纳米微粒的聚苯乙烯微球。

实施例 31

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 26 的四氧化三铁水溶液 3 mL, 在搅拌下加入到上述单体中, 分离得到四氧化三铁/苯乙烯溶液。称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g, 溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取表面双羧基聚乙二

醇修饰的氧化钴纳米 3 mL，在搅拌下加入到上述单体中，分离得到氧化钴/苯乙烯溶液。将两种溶液混合。称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 g 混合溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基卞基氯化铵 0.1000 g，溶解于 20 mL 水当中，得到溶有表面活性剂的水溶液。将含有四氧化三铁和氧化钴纳米微粒/苯乙烯溶液加入到水溶液中，搅拌形成乳液。向此乳液当中通氮气 20 分钟左右，然后在 80°C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。得到了含有四氧化三铁和氧化钴纳米微粒的聚苯乙烯微球。

实施例 32:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.2000 g，溶解于 2.0 mL 苯乙烯中。取实施例 26 的四氧化三铁水溶液 3 mL，在搅拌下加入到上述单体中，分离得到四氧化三铁/苯乙烯溶液。取实施例 1 的巯基乙酸表面修饰的碲化镉半导体纳米微粒（荧光发射中心波长在 630 纳米）水溶液 5 mL，浓度 0.0025 mol/L，加入到单体溶液中，分离得到溶有红色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液。将两种纳米微粒/苯乙烯溶液混合，称取 0.0150 g 的偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 g 得到的混合溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基卞基氯化铵 0.1000 g，溶解于 20 mL 水当中，得到溶有表面活性剂的水溶液。将溶有引发剂的混合单体溶液加入到水溶液中，搅拌形成乳液。向此乳液当中通氮气 20 分钟左右，然后在 80°C 的水浴中反应 8 小时。结束反应后，离心，用水洗涤除去多余乳化剂，最后分散在水相中。得到同时具有荧光和磁性的多功能微球。

实施例 33:

首先将四种不同的抗体（抗 HER2、抗 CEA 嵌合抗体、单抗 9E10、单抗 1E2）分别固定到 KRYSTAL™（英国 Porvair 公司）黑色 24 孔板中的四个孔的孔壁上，然后，加入细胞培养液待用。将按照实施例 32 制备得到的磁性荧光微球（发射波长 530 纳米）和抗 HER2 混合，孵育过夜；将实施例 32 制备的磁性荧光微球（发射波长 650 纳米）和抗 CEA 嵌合抗体混合，孵育过夜，分别进行磁分离，即可得到抗体—磁性荧光微球偶联物。把抗 HER2—磁性荧光微球偶联物和抗 CEA—磁性荧光微球偶联物混合液滴入人胃癌细胞 N87（细胞膜表面高表达 HER2 抗原）、人结肠癌细胞 LS180（细胞膜表面高表达 CEA

抗原)与其他正常胃黏膜和小肠黏膜细胞混合液中,经 37℃ 孵育过夜,再经磁分离富集抗体-磁性荧光微球-癌变细胞(细胞膜表面高表达相应抗原)复合物,接下来,把所富集的物质经重新分散得到的富集液分别滴入以上固定有抗体的微孔中,孵育 30 分钟后,用溶有 0.25% BSA 的 PBS 溶液反复吹洗 3 次,最后,多孔板置于荧光显微镜下观察:固定抗 HER2 的位置,出现绿色荧光,表明混合细胞液中出现人胃癌细胞 N87;固定抗 CEA 的位置,出现红色荧光,表明混合细胞液中出现人结肠癌细胞 LS180。

实施例 34

将得到的含有四氧化三铁的磁性微球与抗 HER2 抗体结合,然后注入被人胃癌细胞 N87(细胞膜表面高表达 HER2 抗原)与其他正常胃黏膜和小肠黏膜细胞混合液中,经 37℃ 孵育过夜,再经磁分离就将人胃癌细胞 N87 从其它正常细胞分离出来。

从上述各个实施例以及其余的实验中,我们可以得出以下结论:(1)利用两种反应型表面活性剂,通过自由基聚合将不同表面稳定剂修饰的无机纳米微粒复合到聚合物中,得到功能性聚合物微球。(2)能够将不同荧光发射波长的半导体纳米微粒复合到同一个聚合物微球中,得到同时发射不同颜色荧光的微球;调整投料比,可控制荧光微球中不同颜色荧光的强度,有望实现荧光编码。(3)将多功能微球与抗体直接混合,通过静电吸附作用得到耦联有抗体的荧光微球,可用于高灵敏度的生物检测。

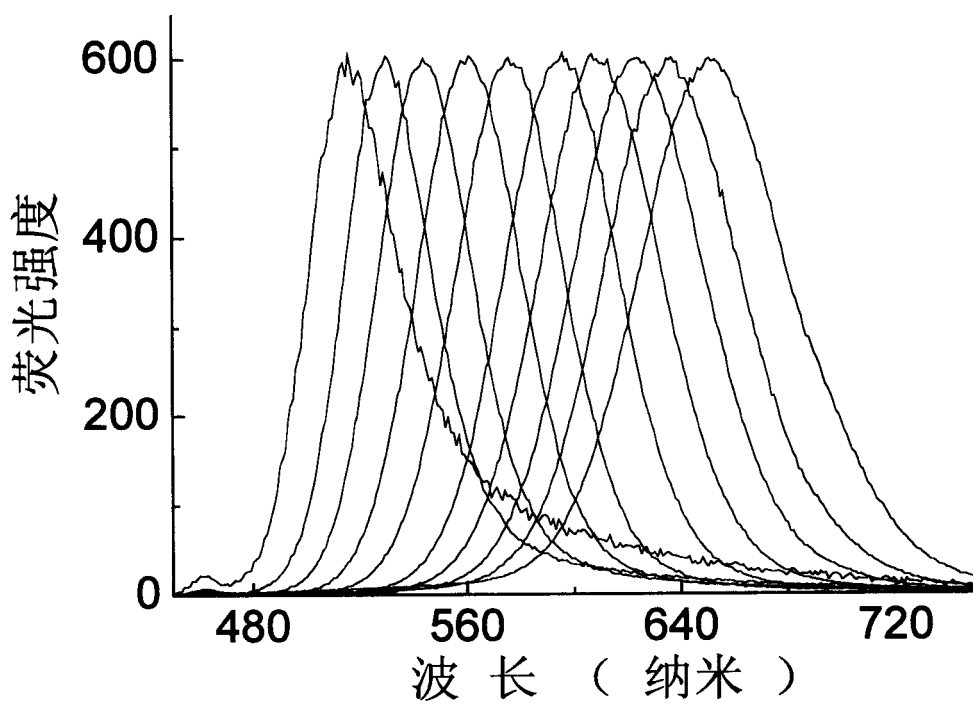


图 1

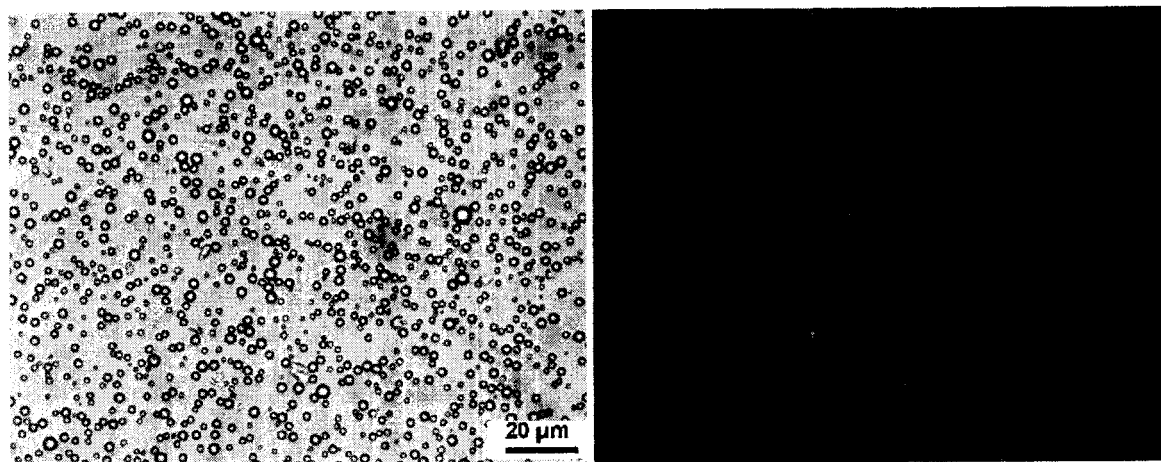


图 2A

图 2B

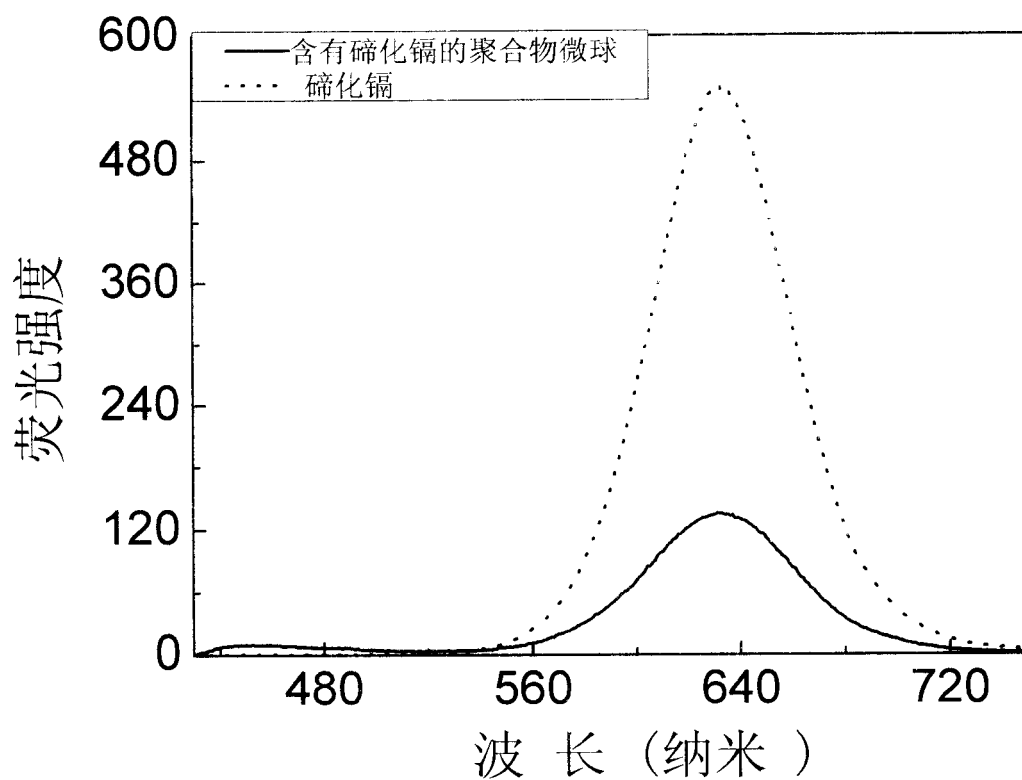


图 3

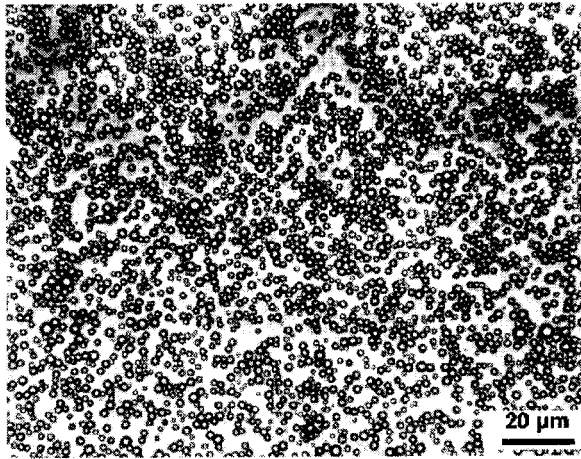


图 4A

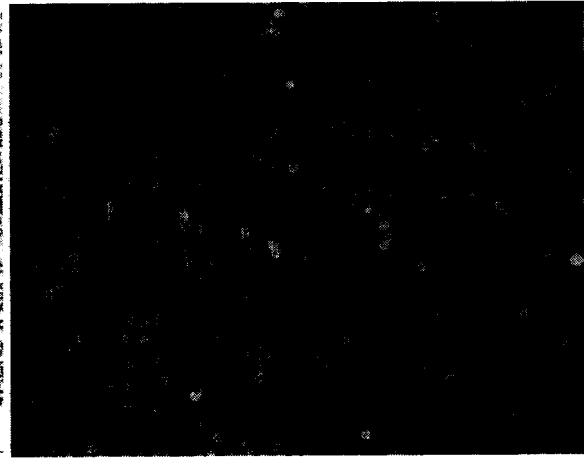


图 4B

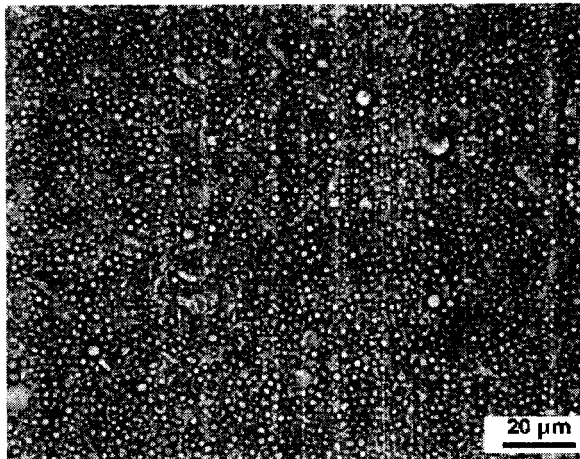


图 5A

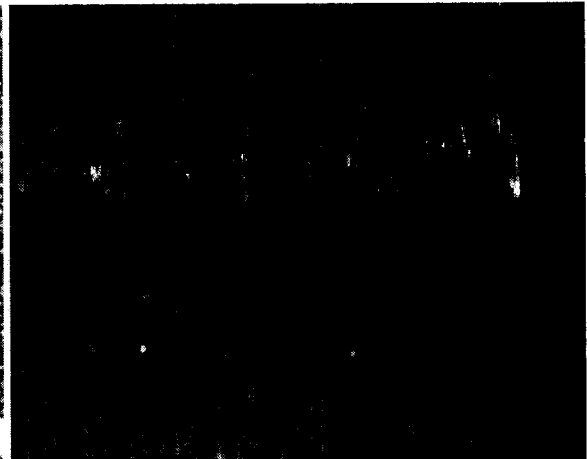


图 5B

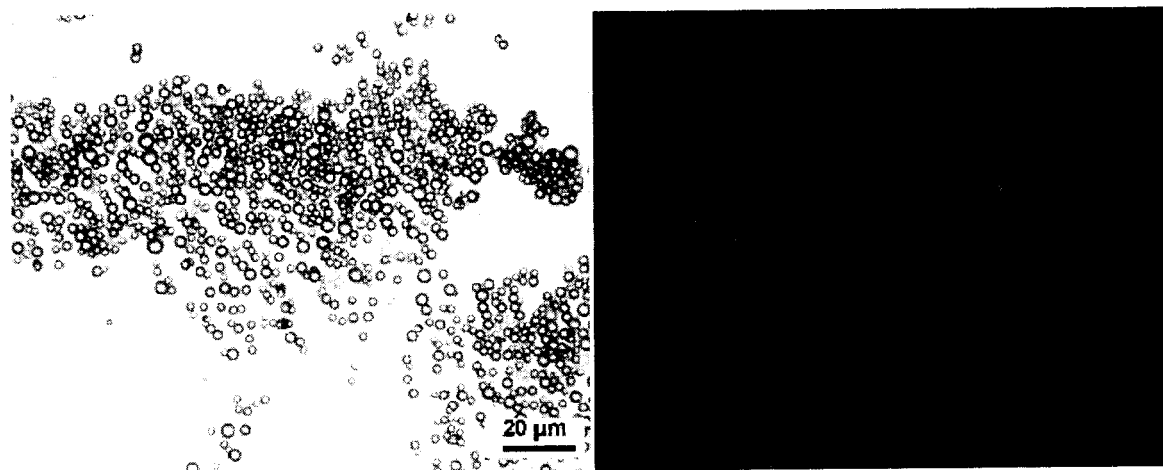


图 6A

图 6B

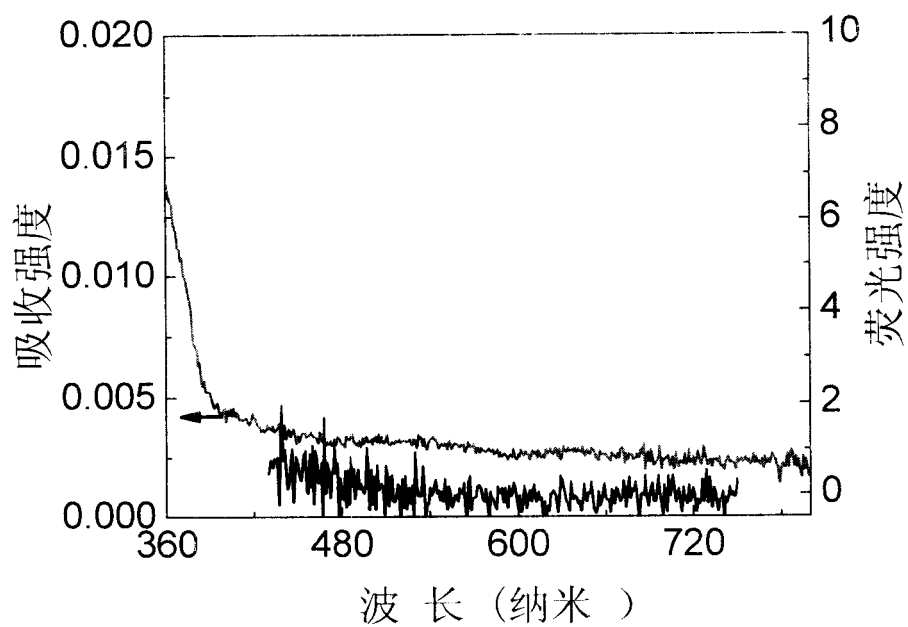


图 7

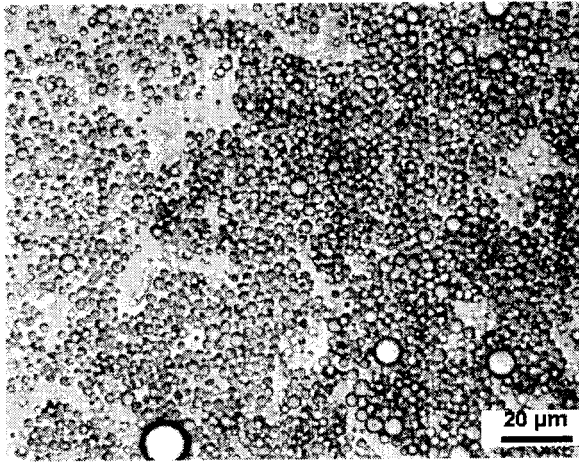


图 8A

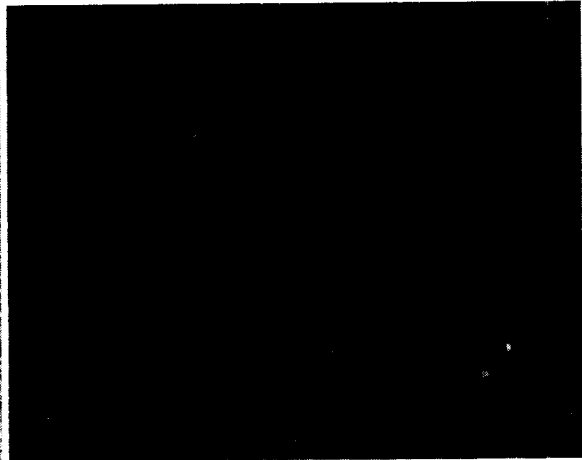


图 8B

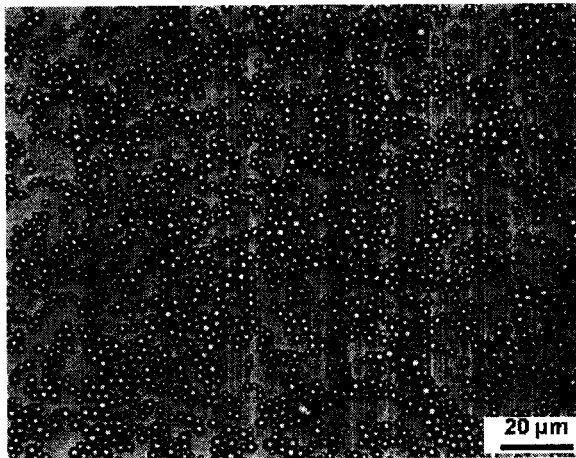


图 9A

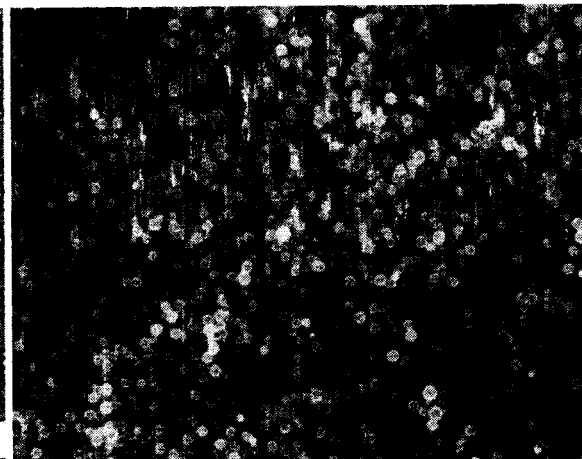


图 9B

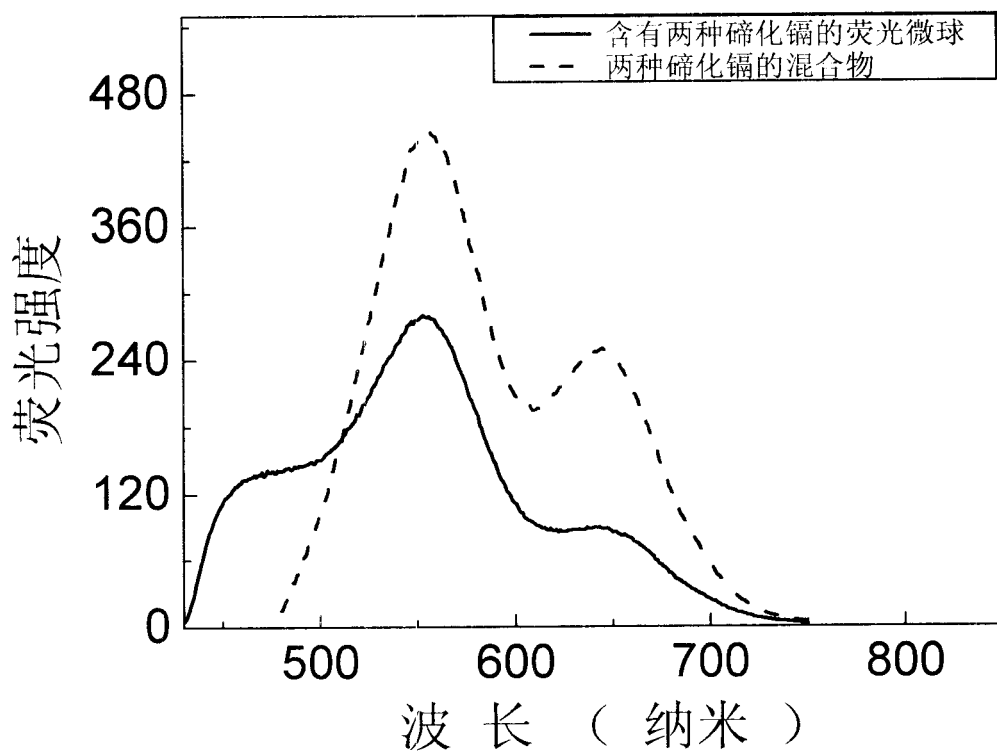


图 10

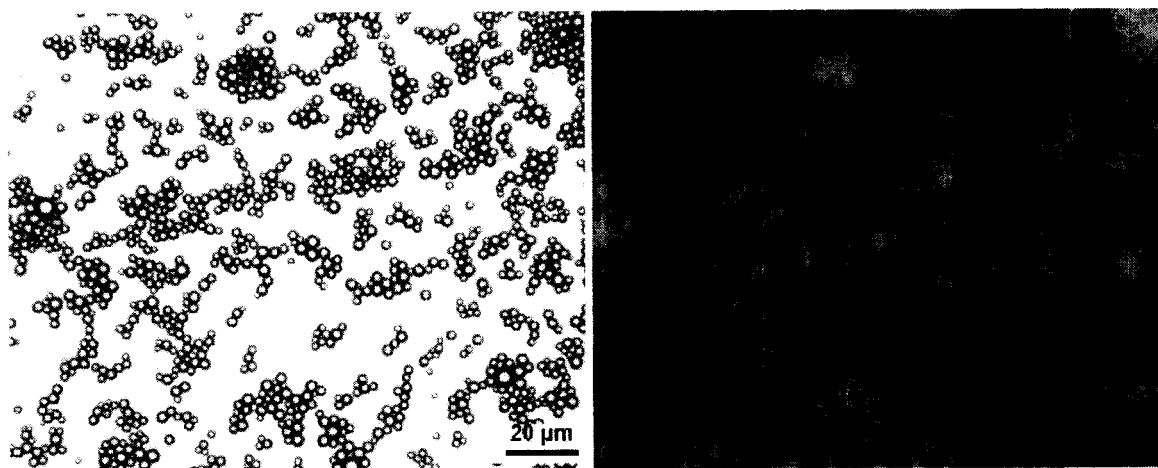


图 11A

图 11B

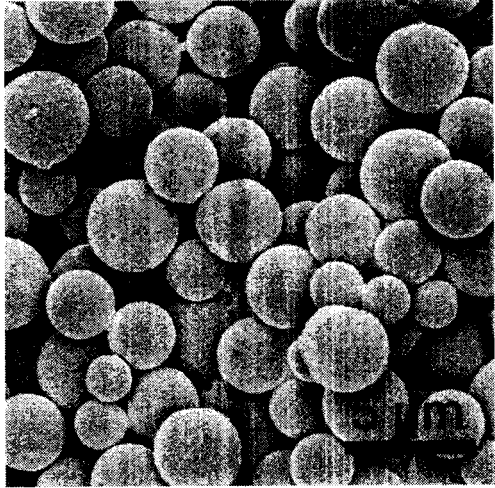


图 12A

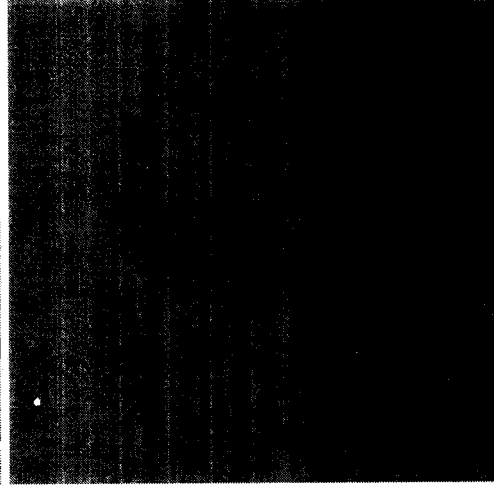


图 12B

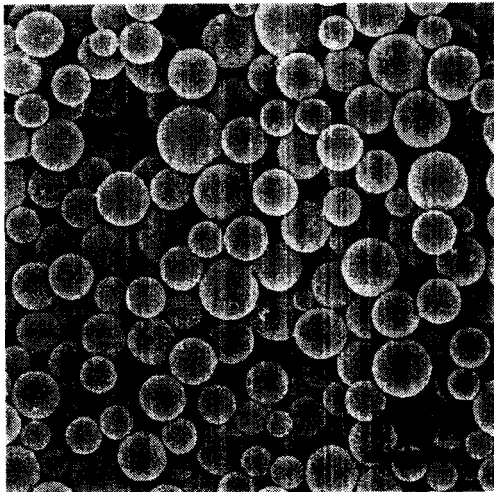


图 13A

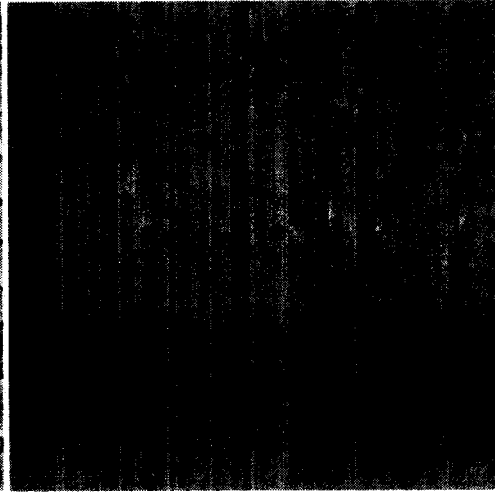


图 13B

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 含有无机纳米微粒的聚合物微球及其制备方法和用途 | | |
| 公开(公告)号 | CN1891720A | 公开(公告)日 | 2007-01-10 |
| 申请号 | CN200510130313.X | 申请日 | 2005-12-09 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 中国科学院化学研究所 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 中国科学院化学研究所 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 中国科学院化学研究所 | | |
| [标]发明人 | 高明远 杨云华 闻中凯 董宇平 | | |
| 发明人 | 高明远 杨云华 闻中凯 董宇平 | | |
| IPC分类号 | C08F2/44 C08F2/24 C08L25/06 C08L31/04 C08L33/08 C08L33/10 C08K9/00 G01N33/53 | | |
| 代理人(译) | 李柏 | | |
| 优先权 | 200510012139.9 2005-07-08 CN | | |
| 其他公开文献 | CN100593546C | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明属于含有纳米微粒的聚合物微球领域，涉及纳米微粒与聚合物球体之间是通过化学键相连的聚合物微球及其制备方法和在生物学中的应用。利用可反应性表面活性剂，经乳液聚合将水溶性的无机纳米微粒复合到疏水性聚合物中，一步反应得到聚合物微球。采用这种方法能够将不同种类，不同性质的纳米微粒复合到同一个微球中，得到多功能聚合物微球。微球表面带有正电荷，通过静电相互作用将生物分子耦联到微球表面，得到可用于生物检测的微球荧光探针，微球荧光探针可用于免疫检测、多基因染色体组分析、蛋白芯片的联合检测、DNA测序、基因芯片及细胞或生物组织内不同区域的荧光同步检测中。多功能微球为高灵敏度的生物分析和检测提供了新的应用。

