

[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 200510109318.4

[51] Int. Cl.

C08L 25/04 (2006.01)

C08L 33/08 (2006.01)

C08L 31/04 (2006.01)

C08K 3/22 (2006.01)

C08F 2/22 (2006.01)

C08F 2/44 (2006.01)

[43] 公开日 2007年4月18日

[11] 公开号 CN 1948383A

[51] Int. Cl. (续)

G01N 33/533 (2006.01)

C12Q 1/00 (2006.01)

[22] 申请日 2005.10.14

[21] 申请号 200510109318.4

[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 涂赤枫 杨云华

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司  
代理人 周长兴

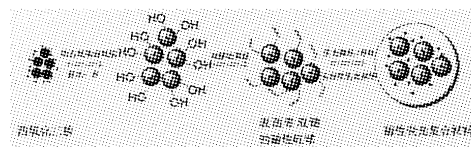
权利要求书3页 说明书12页 附图7页

[54] 发明名称

磁性荧光复合材料及制备方法与应用

[57] 摘要

一种磁性荧光复合材料，主要由修饰过的磁性晶体材料、修饰过的荧光半导体晶体材料以及基体材料组成；其中修饰磁性晶体材料是用带有 -NH<sub>2</sub>、-C=C、-SH、-S-S 或者环氧基的硅烷化试剂；修饰荧光半导体晶体材料是用可反应型表面活性剂。本发明的复合材料既有优异的荧光特性又具备明显的磁响应性质，其优点不仅在于荧光纳米晶体与磁性纳米微粒通过化学键同具有致密结构的基体材料相连，还在于荧光和磁性的集成为高灵敏度的生物分析和检测提供了新的应用。



1. 一种磁性荧光复合材料，主要由修饰过的磁性晶体材料、修饰过的荧光半导体晶体材料以及基体材料组成；

其中修饰磁性晶体材料是用带有 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}=\text{C}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{S}-\text{S}$  或者环氧基的硅烷化试剂；

修饰荧光半导体晶体材料是用可反应型表面活性剂。

2. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述硅烷化试剂为：四乙氧基硅氧烷、3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷、3-氨丙基三甲氧基硅烷和/或 3-巯基丙基三甲氧基硅烷。

3. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述可反应型表面活性剂为：双烷基链-甲基对乙炔基卞基氯化铵、双烷基链-甲基对乙炔基卞基溴化铵、单烷基链-二甲基对乙炔基卞基氯化铵、单烷基链-二甲基对乙炔基卞基溴化铵、三烷基-对乙炔基卞基氯化铵或三烷基-对乙炔基卞基溴化铵，其中烷基链的碳原子数目为 4-18。

4. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述基体材料为：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单体的均聚物或两种单体的共聚物。

5. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述复合材料为规则或不规则的球形、方形、哑铃形以及椭圆形的颗粒状。

6. 如权利要求 1 或 5 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述复合材料的直径为 100 纳米至 10 微米。

7. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述磁性晶体材料为：超顺磁、顺磁或铁磁性的金属或金属氧化物。

8. 如权利要求 7 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述金属或金属氧化物为：铁、钴、镍、锰及其氧化物、 $\text{MO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$  和  $\gamma$ -三氧化二铁；M 为 Fe、Ni、Co、Mn、Zn、Mg 的二价金属离子。

9. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料，其特征在于，所述荧光半

导体晶体材料包括具有核壳结构或合金结构的 CdTe、CdSe、InP、InAs、CdSe/CdS、CdSe/ZnS、CdSe/ZnSe、CdTe/ZnS、CdHgTe/ZnS、HgTe/HgCdS 中的一种或几种的混合。

10. 如权利要求 9 所述磁性荧光复合材料, 其特征在于, 所述荧光半导体晶体材料的荧光发射中心波长为 430-750 纳米。

11. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料, 其特征在于, 修饰后的磁性物质其粒径为 3 纳米至 10 纳米。

12. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料, 其特征在于, 所述复合材料的荧光性质取决于被复合的量子点的种类和数量, 该复合材料在外磁场作用下有明显的磁学响应。

13. 一种制备权利要求 1 所述磁性荧光物质的复合材料的方法, 该方法中所使用的材料包括水溶性荧光半导体晶体、磁性四氧化三铁与二氧化硅形成的复合微粒、可反应型表面活性剂、自由基反应引发剂和自由基单体, 其步骤如下:

a) 将可反应型表面活性剂 A 溶解于油溶性单体中, 向单体溶液中加入荧光半导体纳米晶体水溶液, 搅拌分离得到荧光半导体纳米晶体/单体溶液, 然后, 将引发剂溶解到荧光半导体纳米晶体/单体溶液中;

b) 将可反应型表面活性剂 B 溶于水中, 把表面修饰有双键的二氧化硅磁性球溶于少量乙醇后与该水溶液混合; 将步骤 a 得到的溶有自由基反应引发剂的荧光半导体纳米晶体/单体溶液加入到该水溶液中, 搅拌, 形成水包油型乳液, 乳液体系进行聚合反应;

c) 反应结束后离心分离、洗涤得到磁性荧光复合颗粒材料;

所述单体选自苯乙烯、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两种单体的混合物;

所述可反应型表面活性剂 A 为双烷基链甲基对乙烯基卞基氯化铵、双烷基链甲基对乙烯基卞基溴化铵、三烷基对乙烯基卞基氯化铵或三烷基对乙烯基卞基溴化铵, 烷基链中碳原子的数目在 6-18 之间;

所述可反应型表面活性剂 B 为单烷基链二甲基对乙烯基卞基氯化铵

或者单烷基链二甲基对乙烯基苄基溴化铵，烷基链的碳原子数目在 4-18 之间；

所述自由基反应引发剂为油溶性引发剂，包括偶氮二异丁氰或过氧化苯甲酰。

14. 如权利要求 1 所述磁性荧光复合材料在高通量生物分析和检测领域的应用，其磁学性质用于对低浓度检测物的富积，而荧光性质用于高灵敏度的检测。

15. 如权利要求 14 所述磁性荧光复合材料的应用，其特征在于，所述复合材料用于免疫检测、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、细菌和病毒的检测。

## 磁性荧光复合材料及制备方法与应用

### 技术领域

本发明涉及一种磁性荧光复合材料。

本发明还涉及上述材料的制备方法。

本发明还涉及上述材料的用途。

### 背景技术

II-VI族荧光半导体纳米晶体(量子点)以其独特的荧光性质,作为一种生物标记材料在生物学和生命科学研究中具有广阔的应用前景;无机磁性纳米晶体在生物分子及细胞的分离和标识等领域具有重要的应用价值。结合两者的优势,将磁性纳米晶体和荧光量子点相结合形成一种新型的复合材料目前正成为磁性及荧光纳米材料生物应用的一个新的研究热点,上述两种纳米材料的有机结合将对分子生物学、细胞生物学及生命科学的基础研究以及纳米材料在生物分析和检测中的应用提供更光明的前景。

目前,制备同时具有磁性和荧光性质的复合材料的方法主要有以下几种:第一种采用反相胶束法,在环己烷中以 Igepal CO-520 为乳化剂同时将油溶性  $\gamma$ -三氧化二铁和硒化镉包裹进  $\text{SiO}_2$  微球,制备出以磁性晶体和荧光晶体为核的二氧化硅微球,粒径在 50—80 纳米之间。(Ying, J.Y *et al*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 4990)。第二种采用溶胀包裹法,即通过预先制备的水溶性磁性纳米颗粒和荧光量子点向被溶胀微球内部的扩散,将磁性纳米晶体和荧光量子点引入到微球内部,形成同时具有荧光和磁性的微球材料,详见庞代文等的专利申请书(CN10111290)。第三种方法主要是通过磁性纳米晶体表面原位生长不同种类的稀土荧光材料,再以无机材料包覆,得到粒径小于 1 微米的复合材料,详见卢华晶等人已经公开的专利申请(CN03153215)。

荧光及磁性复合微球材料在生物检测和分析中的应用要求尽可能地提高荧光材料的荧光亮度，而磁性氧化铁材料在可见光区域内又有较强的吸收。因此，解决该问题的惟一方法是将磁性材料尽可能地固定在微球中心附近，同时使荧光材料更接近表面，这样量子点材料的荧光强度不会因为磁性材料的吸收而降低。

上述第一、二种方法从根本上不能解决磁性及荧光复合材料中磁性氧化铁材料因吸收而降低复合材料荧光亮度的问题。另外，方法二中描述将水溶性的量子点和水相合成的磁性纳米晶体分散于氯仿/正丁醇混合溶剂中的可行性令人怀疑；上述第三种方法采用稀土荧光材料制备的磁性及荧光复合材料由于其激发波长及激发效率的限制，其应用范围远小于采用量子点荧光材料制备的磁性及荧光复合材料。

#### 发明内容

本发明的目的之一在于提供一种磁性荧光复合材料。

本发明的又一目的在于提供一种制备上述材料的方法。

为实现上述目的，本发明提供的磁性荧光复合材料，由修饰过的磁性晶体材料、修饰过的荧光半导体晶体材料以及基体材料组成；

其中修饰磁性晶体材料是用带有 $-NH_2$ 、 $-C=C$ 、 $-SH$ 、 $-S-S$  或者环氧基的硅烷化试剂；

修饰荧光半导体晶体材料是用可反应型表面活性剂。

所述磁性荧光复合材料，其中硅烷化试剂为：四乙氧基硅氧烷、3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷、3-氨基丙基三甲氧基硅烷和/或 3-巯基丙基三甲氧基硅烷。

所述磁性荧光复合材料，其中可反应型表面活性剂为：双烷基链-甲基对乙炔基卞基氯化铵、双烷基链-甲基对乙炔基卞基溴化铵、单烷基链-二甲基对乙炔基卞基氯化铵、单烷基链-二甲基对乙炔基卞基溴化铵、三烷基-对乙炔基卞基氯化铵或三烷基-对乙炔基卞基溴化铵，其中烷基链的碳原子数目为 4-18。

所述磁性荧光复合材料，其中基体材料为：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单体的均聚物或两种单体的共聚物。

所述磁性荧光复合材料，其中复合材料为规则或不规则的球形、方形、哑铃形以及椭圆形的颗粒状，一般主要以球形为主。

所述磁性荧光复合材料，其中复合材料的直径为 100 纳米至 10 微米。

所述磁性荧光复合材料，其中磁性晶体材料为：超顺磁、顺磁或铁磁性的金属或金属氧化物。

所述磁性荧光复合材料，其中金属或金属氧化物为：铁、钴、镍、锰及其氧化物、 $MO \cdot Fe_2O_3$  和  $\gamma$ -三氧化二铁；M 为 Fe、Ni、Co、Mn、Zn、Mg 的二价金属离子。

所述磁性荧光复合材料，其中荧光半导体晶体材料包括具有核壳结构或合金结构的 CdTe、CdSe、InP、InAs、CdSe/CdS、CdSe/ZnS、CdSe/ZnSe、CdTe/ZnS、CdHgTe/ZnS、HgTe/HgCdS 中的一种或几种的混合。

所述磁性荧光复合材料，其中荧光半导体晶体材料的荧光发射中心波长为 430-750 纳米。

所述磁性荧光复合材料，其中修饰后的磁性物质其粒径为 3 纳米至 10 纳米。

所述磁性荧光复合材料，其中复合材料的荧光性质取决于被复合的量子点的种类和数量，该复合材料在外磁场作用下有明显的磁学响应。

本发明提供的制备上述磁性荧光复合材料的方法，该方法中所使用的材料包括水溶性荧光半导体晶体、磁性四氧化三铁与二氧化硅形成的复合微粒、可反应型表面活性剂、自由基反应引发剂和自由基单体，其步骤如下：

a) 将可反应型表面活性剂 A 溶解于油溶性单体中，向单体溶液中加入荧光半导体纳米晶体水溶液，搅拌分离得到荧光半导体纳米晶体/单体溶液，然后，将引发剂溶解到荧光半导体纳米晶体/单体溶液中；

b) 将可反应型表面活性剂 B 溶于水中，把表面修饰有双键的二氧化

硅磁性球溶于少量乙醇后与该水溶液混合；将步骤 a 得到的溶有自由基反应引发剂的荧光半导体纳米晶体/单体溶液加入到该水溶液中，搅拌，形成水包油型乳液，乳液体系进行聚合反应；

c) 反应结束后离心分离、洗涤得到磁性荧光复合颗粒材料；

所述单体选自苯乙烯、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两种单体的混合物；

所述可反应型表面活性剂A为双烷基链甲基对乙基苄基氯化铵、双烷基链甲基对乙基苄基溴化铵、三烷基对乙基苄基氯化铵或三烷基对乙基苄基溴化铵，烷基链中碳原子的数目在6-18之间；

所述可反应型表面活性剂B为单烷基链二甲基对乙基苄基氯化铵或者单烷基链二甲基对乙基苄基溴化铵，烷基链的碳原子数目在4-18之间；

所述自由基反应引发剂为油溶性引发剂，具体包括偶氮二异丁腈，过氧化苯甲酰等。

本发明提供的磁性荧光复合材料可应用在高通量生物分析和检测领域中，其磁学性质用于对低浓度检测物的富积，而荧光性质用于高灵敏度的检测，尤其应用于免疫检测、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、细菌和病毒的检测。

## 附图说明

图 1 本发明所制备磁性荧光复合材料的流程示意图。

图 2 本发明实施例 1 所得水溶性碲化镉荧光半导体纳米晶体的荧光光谱图。

图 3 本发明实施例 3 所得的水溶性四氧化三铁纳米晶体的透射电镜照片。

图 4 本发明实施例 4 所得的表面带双键的磁性硅球的透射电镜照片。

图 5 本发明实施例 4 所得的表面带双键的磁性硅球的红外光谱。

图 6A 本发明实施例 10 所得磁性荧光复合微球的明场照片。

图 6B 本发明实施例 10 所得磁性荧光复合微球的荧光照片。

图 7 本发明实施例 10 所得磁性荧光复合微球的透射电镜照片。

图 8 本发明实施例 10 所得磁性荧光复合微球的荧光光谱图。

图 9A 本发明实施例 11 所得磁性荧光复合微球的明场照片。

图 9B 本发明实施例 11 所得磁性荧光复合微球的荧光照片。

图 10 本发明实施例 11 所得磁性荧光复合微球经甲苯溶胀后上层液体的荧光和吸收光谱。

图 11A 本发明实施例 13 所得磁性荧光复合微球的明场照片。

图 11B 本发明实施例 13 所得磁性荧光复合微球的荧光照片。

图 12A 本发明实施例 14 所得磁性荧光复合微球的明场照片。

图 12B 本发明实施例 14 所得磁性荧光复合微球的荧光照片。

图 13 本发明实施例 10 和实施例 11 所制得磁性荧光复合微球的磁响应图片。

图 14 本发明实施例 16 的实验示意图

## 具体实施方式

本发明制备磁性荧光复合材料的方法基本是：

(1) 磁性物质的修饰以四氧化三铁纳米晶体为例，把按照已有文献 (M. Y. gao *et al*, Chem. Mater., 2004, 16, 1391; 高明远等人的中国专利申请 03136275. 3) 制备的磁性四氧化三铁纳米晶体与乙醇和水互溶，再加入四乙氧基硅氧烷 (TEOS) 和 3-甲基丙烯酰氧基丙基-三甲氧基硅烷 (MPS)，随后加入氨水搅拌反应一段时间，离心分离得到表面修饰有双键的磁性二氧化硅微球。

(2) 可反应型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-乙基基卞基氯溶于丙酮，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型表面活性剂。

(3) 荧光物质的修饰以碲化镉 (CdTe) 为例，首先按照已有文献 (M.

Y. gao *et al*, J. Phys. Chem., 1998, 102, 8360) 制备出荧光碲化镉 (CdTe) 纳米晶体水溶液, 再加入采用步骤 (2) 制备的可反应型表面活性剂及油性自由基单体, 如苯乙烯, 经搅拌、分离得到表面修饰有可反应型表面活性剂的荧光碲化镉 (CdTe) 纳米晶体的单体溶液。

(4) 将采用步骤 (3) 得到荧光纳米晶体/单体溶液、采用步骤 (1) 制备的表面修饰双键的磁性纳米颗粒及油性引发剂混合, 在 60~90℃ 下反应 4~7 小时得到磁性荧光复合材料。

本发明所涉及的磁性荧光复合微球的制备步骤如下:

其制备过程主要包括 4 个步骤, 其中前三个步骤与磁性荧光复合材料的制备步骤相同, 第四步如下:

将采用步骤 (2) 制备的可反应型表面活性剂 (作为乳化剂)、采用步骤 (3) 得到荧光纳米晶体/单体溶液、按步骤 (1) 制备的表面修饰双键的磁性纳米颗粒及油性引发剂分散于水溶液中形成水包油型乳液, 在 60~90℃ 下反应 4~7 小时, 离心分离得到磁性荧光复合微球。

以上磁性荧光复合材料的详细制备过程见图 1 所示

本发明所描述的磁性荧光复合微球的特点之一是通过磁性物质和荧光物质的表面修饰, 使其与基体材料通过化学键相联, 从而大大地提高了上述功能材料在复合体系中的稳定性。磁性荧光复合微球的特点之二是基体材料具有致密结构, 从而有效地隔绝外部化学环境对纳米功能材料性质的影响。磁性荧光复合微球的特点之三是其表面带有电荷, 生物分子可以通过静电相互作用被固定到微球表面; 同样利用静电相互作用也可以先将具有活性反应基团的聚电介质修饰到微球表面, 再利用聚电介质的活性反应基团与生物分子进行共价耦联, 得到上述磁性荧光微球与生物分子的耦联物。

利用磁性荧光复合微球以上特点, 可以把不同种类和数量的荧光纳米粒子共价键合进复合微球, 在复合微球表面固定上不同的生物抗体或抗原后, 利用生物分子间的特异性识别作用, 如: 抗体-抗原的特异性识别作用进行高通量的生物检测。理论上, 如果磁性荧光复合微球复合有六种不

同颜色纳米晶体，每种颜色纳米晶体又有十种不同数量就可以产生大概一百万种编码，这样得到的荧光微球就非常适合复杂生物体系的高通量检测，如：DNA 测序，病毒检测等，同时也可以用于药物的高通量筛选。

综上所述，本发明的突出优点之一是在所得到的磁性荧光复合材料内部，磁性物质和荧光物质与基体材料间存在化学键，这种结构一方面大大地提高了磁性和荧光材料在不同化学环境中的稳定性，另一方面从根本上解决了实际应用过程中磁性和荧光材料容易析出的难题。本发明的突出优点之二是磁性材料较荧光材料更集中于微球的中心部位，有利于提高复合微球的荧光亮度；本发明的突出优点之三是得到的磁性荧光微球，其荧光性质可以通过所复合的荧光材料的种类和数量进行调控，从而实现对微球的荧光编码；本发明的突出优点之四是得到的磁性荧光微球，其基体材料具有致密结构，可以更有效地降低生物分子在微球内部的非特异性吸附。本发明的突出优点之五是得到的磁性荧光微球可以简单地通过外磁场进行操控。本发明的突出优点之六是得到的磁性荧光微球其表面具有可修饰性。本发明的突出优点之七是所得到的磁性荧光微球在生物检测和分析中有广阔的应用前景，具体表现在高通量生物分析与检测及药物筛选。本发明的突出优点之八是所得到的磁性荧光微球可以简化传统上分别采用磁性和荧光材料对生物分子首先进行富积，然后再进行分析和检测的步骤。本发明的突出优点之九是根据所得到的磁性荧光微球的独特性质，可以建立全新的生物分析和检测方法。

此外，本发明的磁性荧光复合材料表面由于含有可聚合的阳离子表面活性剂而带正电荷，在静电相互作用下能吸附一些表面带负电荷的生物分子，从而方便实现与多种生物分子的耦联，该耦联物不仅可以被用于对目标生物分析或体系（如细胞、细菌或病毒）进行富积和分离，还可以被用于对所分离或富积的生物分子或体系进行荧光检测。具体应用在细胞显影与成像、磁分离和筛选、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等方面。

以下举例说明本发明的具体实施方式，但是发明内容不仅限于所举例子。

#### 实施例 1:

称取 1.315 克高氯酸镉 ( $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 加入到 150 毫升除氧的二次水中，随后加入 0.55 毫升巯基丙酸作为修饰剂，用 1 摩尔/升氢氧化钠溶液将其 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 毫升 0.5 摩尔/升硫酸溶液注入到盛有 0.39 克碲化铝 ( $\text{Al}_2\text{Te}_3$ ) 的烧瓶中，将生成的  $\text{H}_2\text{Te}$  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，得到巯基丙酸稳定、荧光发射中心波长在 430~650 纳米之间的碲化镉荧光半导体纳米晶体水溶液。荧光光谱见图 2。

#### 实施例 2:

称取 1.315 克高氯酸镉 ( $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 加入到 150 毫升除氧的二次水中，随后加入 0.55 毫升巯基乙酸作为修饰剂，用 1 摩尔/升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 毫升 0.5 摩尔/升硫酸溶液注入到盛有 0.26 克硒化铝 ( $\text{Al}_2\text{Se}_3$ ) 的烧瓶中，将生成的  $\text{H}_2\text{Se}$  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晶体水溶液。

#### 实施例 3:

取 0.3 克三乙酰丙酮铁加入 50 毫升  $\alpha$ -吡咯烷酮，回流 30 分钟后，离心分离得到黑色沉淀，甲醇洗三遍。得到的四氧化三铁纳米晶体的透射电镜图谱见图 3

#### 实施例 4:

在 40 毫升体积比为 9:1 的乙醇和水混合溶剂中加入实施例 2 中得到的四氧化三铁纳米晶体 0.01 毫克，再添加 4 毫升(1 摩尔/升)氨水、20 毫升体积比为 5:1 的正硅酸乙酯和 3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷混合液，水解反应 4 小时后再离心分离得到表面带有双键的磁性硅球。透射电镜图谱见图 4，红外图谱见图 5。

#### 实施例 5:

取等摩尔的十八烷基二甲基胺和 4-乙烯基卞基氯溶于丙酮中，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:

取等摩尔的十六烷基二甲基胺和 4-乙烯基卞基氯溶于丙酮，在回流两小时；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:

取等摩尔的二（十八烷基）甲基胺和 4-乙烯基卞基氯溶于丙酮，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:

取等摩尔的二癸烷基甲基胺和 4-乙烯基卞基氯溶于丙酮，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:

取等摩尔的三辛基胺和 4-乙烯基卞基氯溶于丙酮，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卞基氯化铵 0.015 克，溶解于 2 毫升苯乙烯中，取实施例 1 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉纳米晶体（荧光发射中心波长在 650 纳米）浓度为  $1.25 \times 10^{-2}$  摩尔/升的水溶液 1 毫升，在搅拌下加入到上述单体中，分离得到红色荧光碲化镉/苯乙烯溶液。称取 0.03 克偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 克碲化镉/苯乙烯溶液中。称取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基卞基氯化铵 0.12 克，溶于 20 毫升水当中；再把实施例 4 中得到的 5 毫克磁性硅球溶于 2 毫升乙醇，一起融入 20 毫升水。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。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，最后将所得产物分散在水相中。由明场照片和荧光照片（图 6A 和图 6B）与图 7 透射电镜照片对比可知，制得了含有碲化镉荧光半导体纳米晶体和磁性硅球的聚苯乙烯磁性荧光复合材料。从荧光光谱图 8 可以看出，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基本不变。

#### 实施例 11

按照实施例 10 的方法，取巯基丙酸修饰的碲化镉纳米晶体（荧光发射中心波长在 530 纳米），最后得到的产物由明场照片和荧光照片（图 9A 和图 9B）可知得到含有碲化镉荧光纳米晶体和磁性硅球的磁光聚苯乙烯球。

#### 实施例 12

把实施例 11 所制备的磁性荧光复合微球用甲苯溶胀微球 24 小时后离心分离，上层清液用透射电镜观察没有发现小粒径硅球，而其荧光光谱和吸收光谱如图 10 所示，表明碲化镉纳米晶体和磁性硅球完全保留在聚合物球体中，从而说明磁性材料和荧光材料与聚合物球之间是通过化学键相连。

#### 实施例 13:

称取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.250 克，溶解于 2.0 毫升甲基丙烯酸甲酯中，取实施例 1 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉荧光半导体纳米晶体（荧光发射中心波长在 650 纳米）水溶液 1.0 毫升，浓度  $1.3 \times 10^{-2}$  摩尔/升，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 0.020 克偶氮二异丁氰，溶解于 1.5 克碲化镉/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烯基苄基氯化铵 0.100 克，溶解于 20 毫升水当中，得到溶有表面活性剂的水溶液。再把实施例 4 中得到的 5 毫克磁性硅球溶于 2 毫升乙醇，一起融入 20 毫升水。然后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。由明场照片和荧光照片（图 11A 和图 11B）对比可知，制得了含有碲化镉纳米晶体的聚甲基丙烯酸甲酯荧光微球。

#### 实施例 14:

取实施例 8 的二癸烷基甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.015 克溶解于 2 毫升苯乙烯中，再取实施例 1 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉纳米晶体（荧光发射中心波长在 650 纳米）水溶液 1 毫升，浓度  $1.25 \times 10^{-2}$  摩尔/升，在搅拌下加入到上述单体中，分离得到红色荧光碲化镉/苯乙烯溶液。取实施例 1 的巯基丙酸表面修饰的碲化镉荧光半导体纳米微粒（荧光发射中心波长在 530 纳米）水溶液 4.0 毫升，浓度  $1.25 \times 10^{-2}$  摩尔/升，用同样的方法转入到苯乙烯溶液中，分离得到溶有绿色荧光的碲化镉/苯乙烯溶液；取实施例 5 的十八烷基二甲基对乙烯基苄基氯化铵 0.10 克溶解于 20 毫升水中，再把实施例 4 中得到的 5 毫克磁性硅球溶于 2 毫升乙醇，一起融入 20 毫升水。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。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，最后将所得产物分散在水相中。由明场照片（图 12A）和荧光照片（图 12B）可知得到磁性荧光微球显示黄色荧光。

#### 实施例 15:

如图 13 所示，在紫外灯（激发波长 365 纳米）照射下，实施例 10 和实施例 11 所制备的磁性荧光复合微球放置在磁铁边 15 分钟后，复合微球都被磁铁吸附在瓶壁上。

#### 实施例 16:

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™ 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。将实施例 11 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 10 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, 把所富积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。

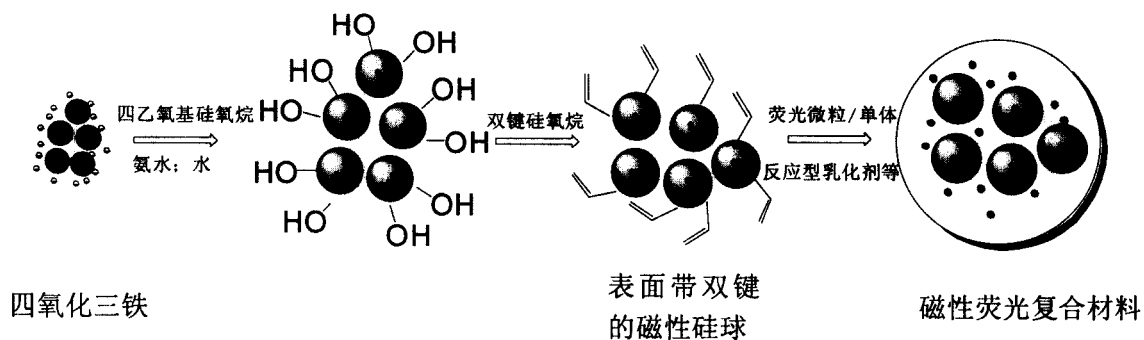


图 1

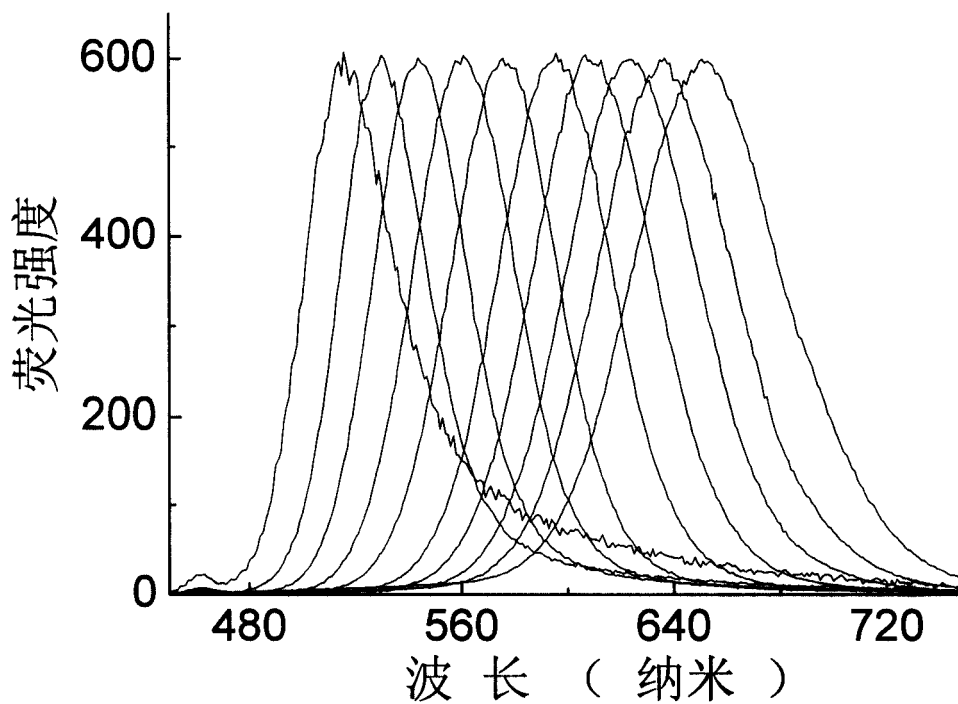


图 2

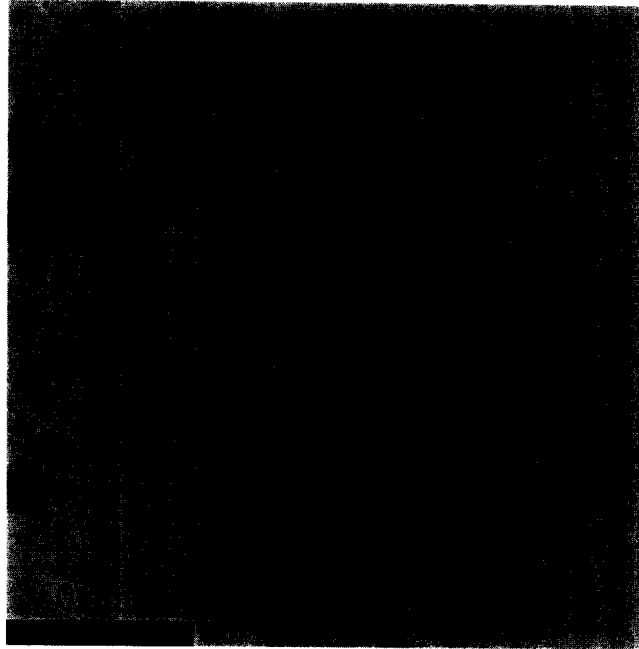


图 3

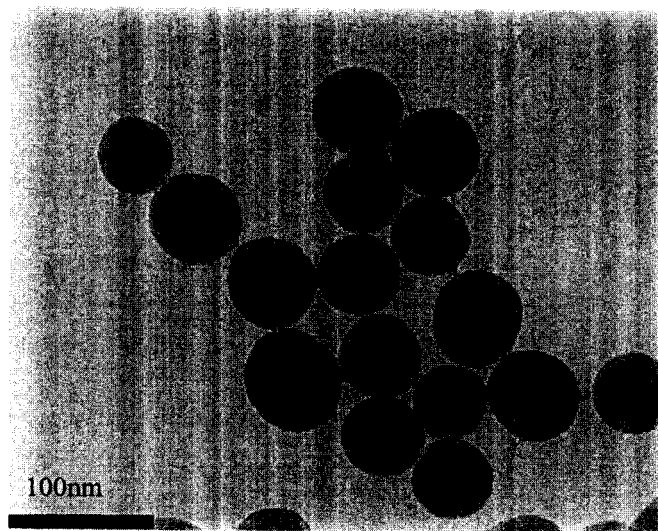


图 4

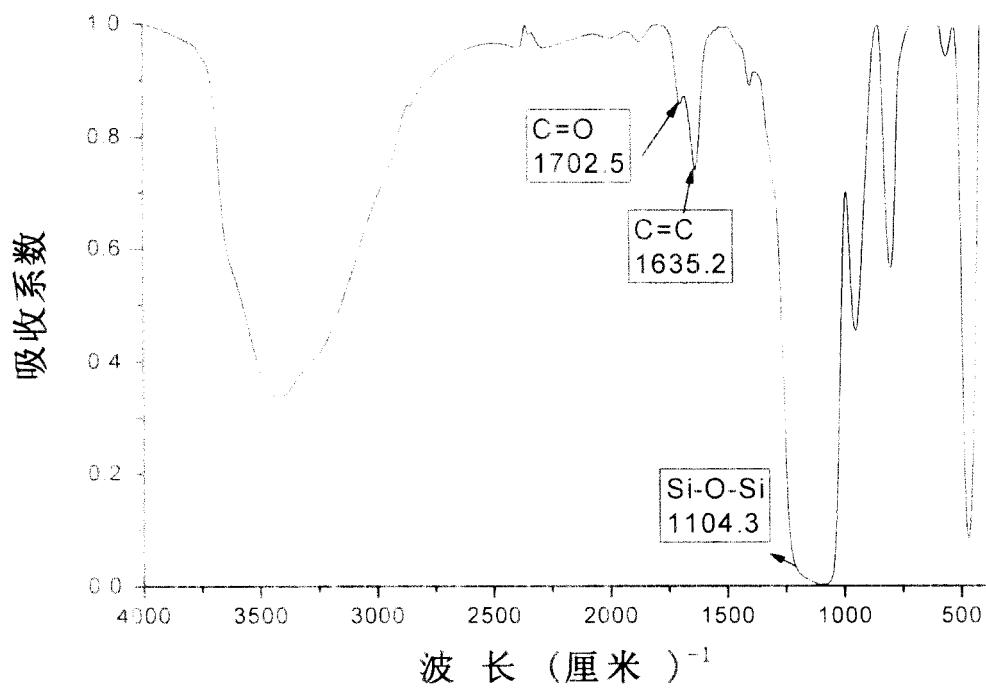


图 5



图 6A



图 6B

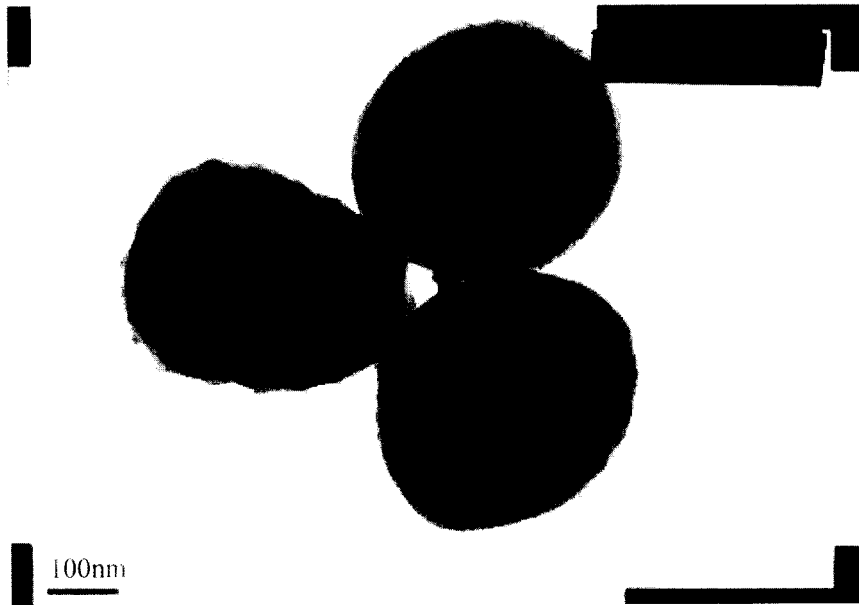


图 7

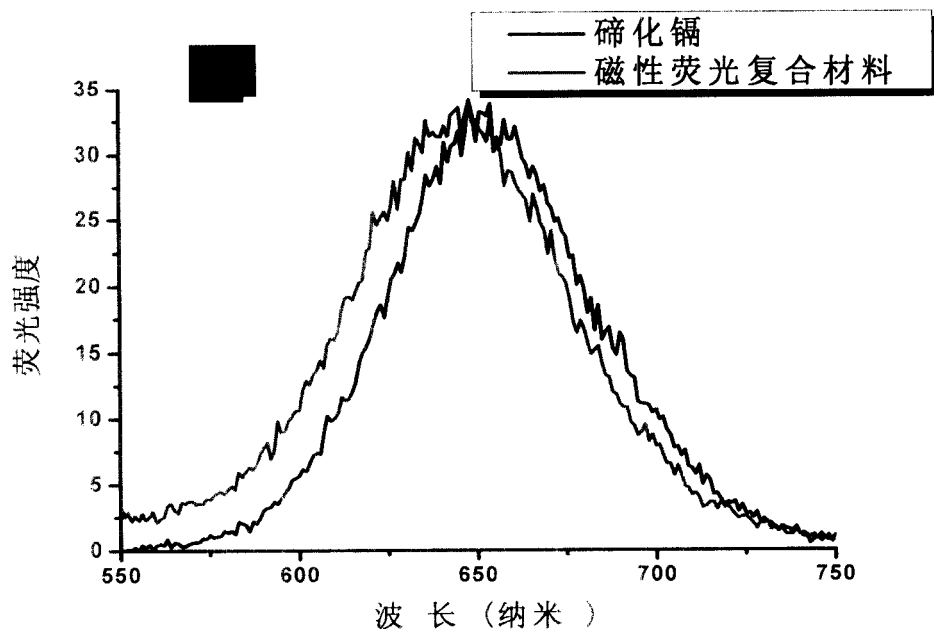


图 8

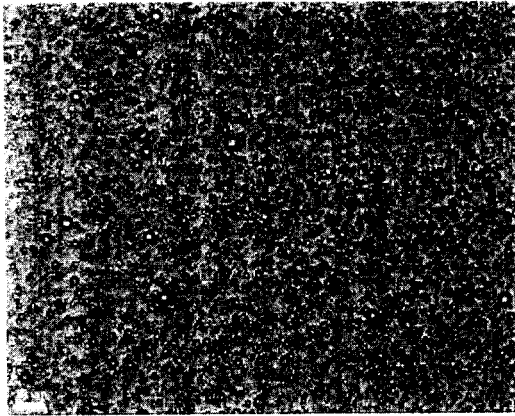


图 9A

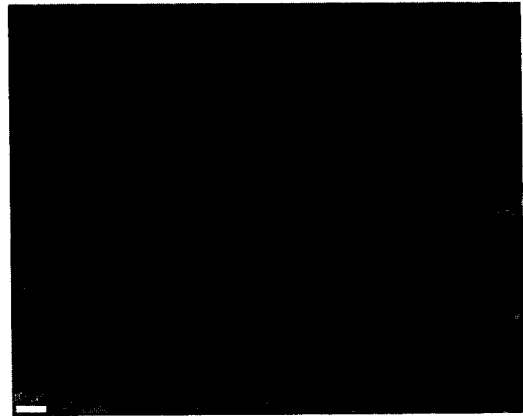


图 9B

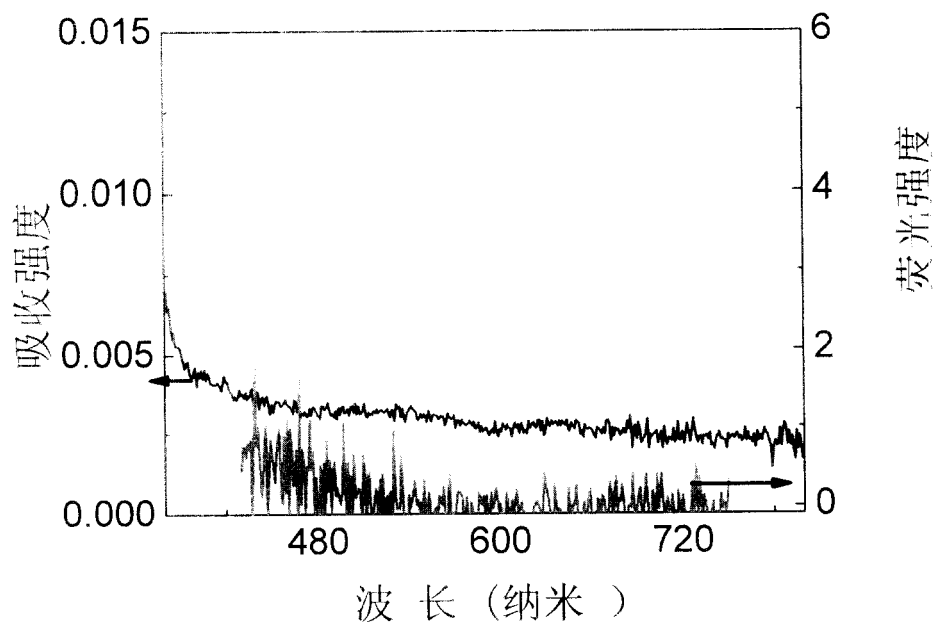


图 10

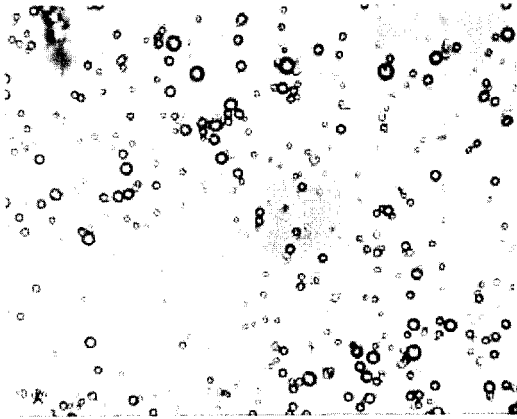


图 11A

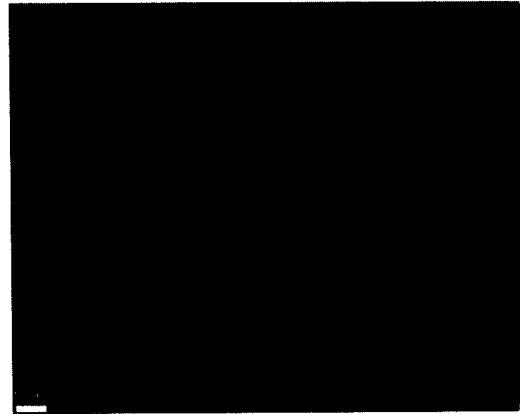


图 11B

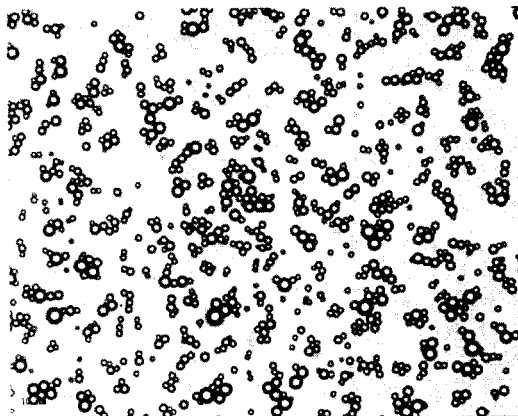


图 12A

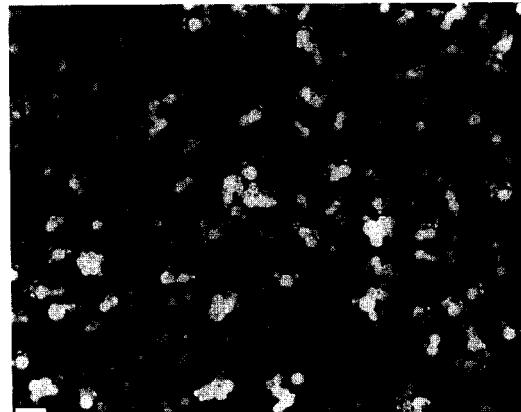


图 12B

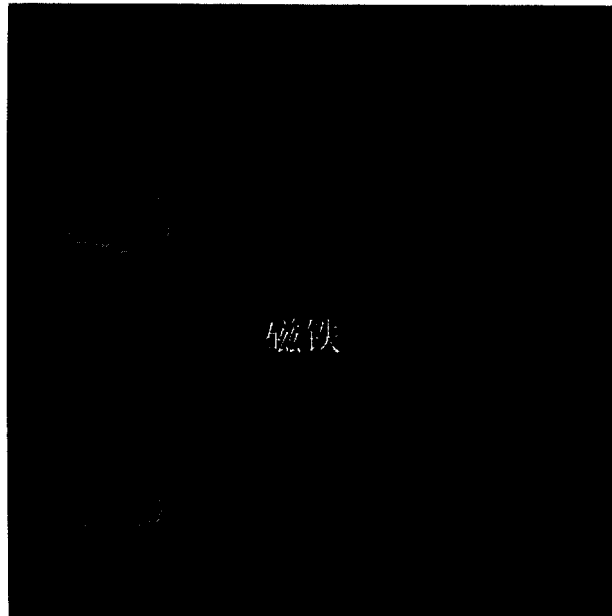


图 13

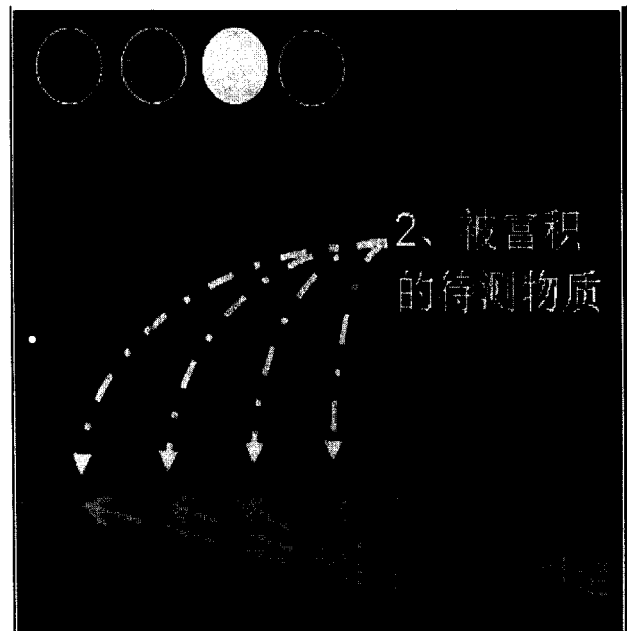


图 14

专利名称(译)	磁性荧光复合材料及制备方法与应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN1948383A</a>	公开(公告)日	2007-04-18
申请号	CN200510109318.4	申请日	2005-10-14
[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 涂赤枫 杨云华		
发明人	高明远 涂赤枫 杨云华		
IPC分类号	C08L25/04 C08L33/08 C08L31/04 C08K3/22 C08F2/22 C08F2/44 G01N33/533 C12Q1/00		
代理人(译)	周长兴		
其他公开文献	CN1948383B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

一种磁性荧光复合材料，主要由修饰过的磁性晶体材料、修饰过的荧光半导体晶体材料以及基体材料组成；其中修饰磁性晶体材料是用带有 -NH<sub>2</sub>、-C=C、-SH、-S-S 或者环氧基的硅烷化试剂；修饰荧光半导体晶体材料是用可反应型表面活性剂。本发明的复合材料既有优异的荧光特性又具备明显的磁响应性质，其优点不仅在于荧光纳米晶体与磁性纳米微粒通过化学键同具有致密结构的基体材料相连，还在于荧光和磁性的集成为高灵敏度的生物分析和检测提供了新的应用。

