

## [研究简报]

# 超顺磁 荧光双功能纳米粒子的合成、表征和生物功能化

谭芳<sup>1</sup>, 庄峙厦<sup>1,2</sup>, 杨黄浩<sup>2</sup>, 陈成祥<sup>1</sup>, 王小如<sup>1,2</sup>

(1. 厦门大学化学化工学院化学系, 现代分析科学教育部重点实验室, 厦门 361005;

2. 国家海洋局第一海洋研究所, 青岛 266061)

关键词 超顺磁; 荧光; 纳米粒子; 生物功能化

中图分类号 O657.2; O647

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)08-1483-03

超顺磁纳米粒子由于其在细胞分离纯化、蛋白质固定和运输、免疫测定和靶向药物研究等多方面具有重要的应用价值,因而受到越来越多的关注<sup>[1,2]</sup>。MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>纳米粒子有很低的磁各向异性,与其它铁纳米粒子如Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>和CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>等相比,其矫顽力更高<sup>[2]</sup>。MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>纳米粒子可采用有机相合成的方法<sup>[3]</sup>合成。与水相合成相比,热解法合成的MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>纳米粒子不仅分散性好,而且其粒径大小和分布较易控制。将热解法合成的磁纳米粒子进行一定的修饰,可形成无毒、水溶且可与生物体系相容的纳米粒子。SiO<sub>2</sub>是一种常用的修饰磁纳米粒子的材料, SiO<sub>2</sub>不仅容易进行表面修饰,还具有较好的生物相容性,且可抵抗生物降解作用<sup>[4,5]</sup>。

本研究通过反相微乳液聚合,在热解法合成的MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>纳米粒子表面修饰了一层掺杂有荧光染料(联吡啶钌)的SiO<sub>2</sub>,制备了同时具有超顺磁性和荧光特性的双功能纳米粒子。再通过氨基硅烷的修饰作用,将该双功能纳米粒子与万古霉素结合,所得到的生物功能化的纳米粒子表现出很好的对大肠杆菌的识别和磁性分离能力。

本研究制备的超顺磁 荧光双功能纳米粒子具有磁性强、光稳定性高、制备简单、分散性好和尺寸均匀等优点,可以推断这种新型纳米粒子在生物学、医学和分析化学等领域中将有广阔的应用前景。

## 1 实验部分

1.1 试剂与仪器 乙酰丙酮铁 [Iron( ) acetylacetonate] 购于 Acros公司; 1,2-十六烷二醇 (1,2-Hexadecandiol)、油胺 (Oleylamine)、Igepal-CO520和联吡啶钌 [Tris(2,2'-bipyridyl) dichlororuthenium( ) hexahydrate] 购于 Aldrich公司; 乙酰丙酮锰 [Manganese( ) 2,4-pentanedionate]、油酸 (Oleic acid)、苯醚 (Diphenyl ether)和 3-氨基丙基三甲基硅氧烷 (3-Aminopropyltrimethoxysilane, APTS) 购于 Alfa Aesar公司; 正硅酸乙酯 (Tetraethoxysilane, TEOS) 购于 Avocado公司; 3-三羟基硅烷丙基甲基磷酸一钠盐溶液 (3-Trihydroxysilylpropylmethylphosphonate monosodium salt solution, THMP) 购于 Gelest公司; 多肽缩合剂 HB TU (O-Benzotriazole-N,N,N,N-tetramethyluronium-hexafluorophosphate) 和 N,N-二异丙基乙胺 (N,N-diisopropylethylamine, DIEA) 购于上海吉尔生化试剂公司; 万古霉素 (Vancomycin hydrochloride) 购于 Sigma公司; 大肠杆菌由集美大学水产学院提供。

JEM-1200EX透射电镜 (日本 JEOL公司); Tecnai F30场发射透射电镜 (荷兰 Philips-FEI公司); MPMMS超导量子干涉磁强计 (美国 Quantum Design公司)。

收稿日期: 2006-12-01.

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 20405004)和国家“八六三”计划 (批准号: 2003AA635070, 2006AA09Z168)资助。

联系人简介: 庄峙厦 (1956年出生), 男, 高级工程师, 主要从事化学形态分析、原子光谱、联用技术、化学传感器和环境分析等方面的研究。E-mail: zxzhuan@xmu.edu.cn

1.2  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  磁纳米粒子的合成 参照文献 [3] 的方法, 将 2 mmol  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 、1 mmol  $\text{Mn}(\text{acac})_2$ 、10 mmol 1,2-十六烷二醇、6 mmol 油胺、6 mmol 油酸和 20 mL 苯醚在氮气保护下, 于 110 °C 反应 1 h, 于 210 °C 反应 2 h, 于 295 °C 回流 1 h 冷却至室温, 用乙醇清洗, 磁力收集. 采用 TEM, SQUID 等手段进行表征.

1.3 超顺磁 荧光双功能纳米粒子的制备 将合成的  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  磁纳米粒子溶于环己烷中形成磁流体, 取 300  $\mu\text{L}$  (1.6 mg/mL) 磁流体加入到由 0.56 mmol Igepal-CO520、4.2 mL 环己烷、35  $\mu\text{L}$  掺杂了联吡啶钌 (0.005 mol/L) 的氨水溶液形成的反相微乳液中, 搅拌, 达到平衡后加入 20  $\mu\text{L}$  TEOS, 反应 24 h, 再加入适量的 TEOS, APTS 和 THMP (体积比为 5:1:4), 继续搅拌 24 h, 用丙酮破乳, 用乙醇清洗数次, 烘干后待用. 用 TEM 和 SQUID 进行表征.

1.4 万古霉素修饰的双功能纳米粒子的制备及与大肠杆菌的结合 将双功能纳米粒子溶于适量的 DMF 中, 超声分散, 并加入 HB TU, DIEA 和万古霉素 (摩尔比为 3:5:2), 反应 24 h 产物依次用 DMF 和水清洗数次, 最后分散于水中. 产物与大肠杆菌的结合能力用 TEM 进行表征, 表征前将产物与适量大肠杆菌溶液混合反应 2 h.

## 2 结果和讨论

2.1 纳米粒子的透射电子显微镜 (TEM) 表征和能谱分析 图 1 是纳米粒子的 TEM 图和能谱图. 由图 1 可以看出,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  纳米粒子外形基本呈球形, 粒径分布大约在 9 ~ 12 nm [图 1(A)]. 超顺磁 荧光双功能纳米粒子的核 ( $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ )、壳 ( $\text{SiO}_2$ ) 分明, 分散均匀, 形状呈规则的球形, 粒径分布大约在 40 nm 左右 [图 1(B)]. 从该双功能纳米粒子的能谱线分析图 [图 1(C)] 中可看出, 该纳米粒子含有 Mn, Fe, Ru, Si 和 O 元素, 从而证明所制备的纳米粒子是超顺磁 荧光双功能  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  纳米粒子.

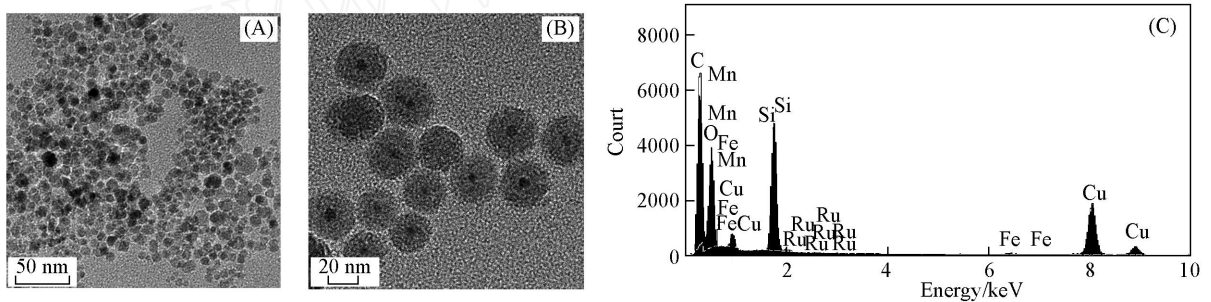


Fig 1 TEM micrograph of  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  nanoparticles deposited from dispersion in n-hexane (A), higher magnification TEM image of bifunctional nanoparticles (B) and EDX micrograph of bifunctional nanoparticles (C)

2.2 双功能纳米粒子的饱和磁矩测定 从双功能纳米粒子在 300 K 时的磁滞回线 (图 2) 可以看出, 在常温下, 磁滞回线无顽磁和剩磁, 在常温下具有超顺磁性, 饱和磁矩约为 1.9 emu/g (图 2).

2.3 双功能纳米粒子的荧光性质和磁分离性能 图 3 为在紫外光照射下超顺磁 荧光双功能纳米粒子在乙醇溶液中的照片. 无外加磁场时 [图 3 (A)], 纳米粒子均匀地分散在溶液中, 并发暗红色荧光. 外加磁场后 [图 3 (B)], 纳米粒子由于磁场作用向左移动, 进而吸附在靠磁铁一侧的比色皿壁上. 该结果进一步证明实验中合成的纳米粒子同时具有超顺磁和荧光两种性能.

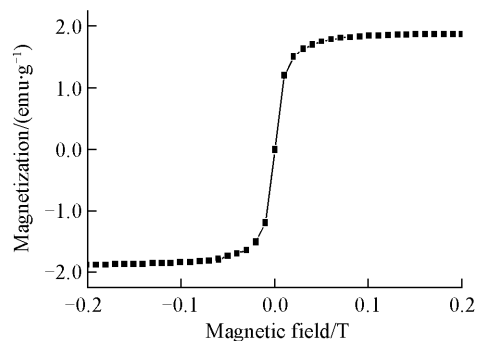
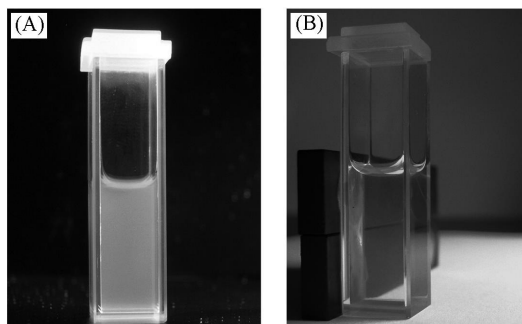


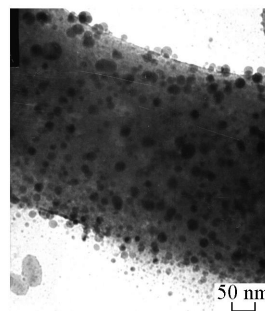
Fig 2 Field-dependent magnetizations of bifunctional nanoparticles at 300 K

2.4 双功能纳米粒子的生物活性 图 4 是万古霉素修饰的双功能纳米粒子与大肠杆菌作用的透射电镜图. 万古霉素可以通过氢键作用与细菌细胞壁的末端肽链 D-Ala-D-Ala 结合, 它是一种常用的抗生素, 并已用于与磁性粒子结合, 进行病原体的检测<sup>[6,7]</sup>. 从图 4 可以看出, 大量的双功能纳米粒子结合到大肠杆菌的表面, 双功能纳米粒子已成功地被万古霉素修饰, 并具有生物活性.



**Fig 3 Luminescent photographs of bifunctional nanoparticles driven by an external magnetic field**

(A) No magnetic field; (B) a magnet placed besides the sample



**Fig 4 TEM micrograph of the interaction between coliform and vancomycin-modified nanoparticles**

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Katz E , Willner I. *Angew. Chem. Int Ed [J]*, 2004, **43**: 6042—6108
- [ 2 ] Stephanie G , Grancharov , Zeng H , *et al.* *J. Phys. Chem. B [J]*, 2005, **109**: 13030—13035
- [ 3 ] Sun S H , Zeng H , Robinson D , *et al.* *J. Am. Chem. Soc [J]*, 2004, **126**: 273—279
- [ 4 ] Tartaj P , Serna C J. *J. Am. Chem. Soc [J]*, 2003, **125**: 15754—15755
- [ 5 ] Yi K D , Selvan T , Lee S S , *et al.* *J. Am. Chem. Soc [J]*, 2005, **127**: 4990—4991
- [ 6 ] Gu H W , Ho P L , Tsang K W T , *et al.* *J. Am. Chem. Soc [J]*, 2003, **125**: 15702—15703
- [ 7 ] KE Shi-Jian (柯诗剑) , JIJian (计剑). *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J]*, 2007, **28**(1): 26—28

## Synthesis, Characterization and Biological Functionalization of Superparamagnetic/Fluorescent Bifunctional Nanoparticles

TAN Fang<sup>1</sup> , ZHUANG Zhi-Xia<sup>1,2\*</sup> , YANG Huang-Hao<sup>2</sup> , CHEN Cheng-Xiang<sup>1</sup> , WANG Xiao-Ru<sup>1,2</sup>

(1. *The Key Laboratory of Analytical Sciences of MOE, Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005, China;*

2. *The First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061, China)*

**Abstract** A novel class of fluorescent/superparamagnetic bifunctional nanoparticles was synthesized via the reverse microemulsion technique. These nanoparticles were studied with transmission electron microscopy (TEM) and SQUID microscopy. The results show that these nanoparticles have a typical diameter of 40 nm and a saturated magnetic moment of 1.9 emu/g at room temperature. The experiment results also show that these nanoparticles exhibit a strong excitonic photoluminescence. Then, these bifunctional nanoparticles were modified with vancomycin for binding. The results show that these vancomycin modified nanoparticles can capture selectively bacteria.

**Keywords** Superparamagnetics; Fluorescence; Nanoparticle; Biological functionalization

(Ed : H, J, Z)