



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110887962 A

(43)申请公布日 2020.03.17

(21)申请号 201911235994.4

B82Y 20/00(2011.01)

(22)申请日 2019.12.05

(71)申请人 中国人民解放军军事科学院军事医学研究院

地址 100000 北京市海淀区太平路27号院

(72)发明人 王升启 汪崇文 肖瑞

(74)专利代理机构 北京超凡宏宇专利代理事务所(特殊普通合伙) 11463

代理人 王煥

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

B82Y 40/00(2011.01)

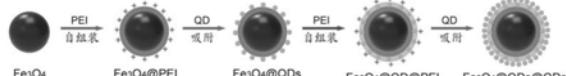
权利要求书2页 说明书6页 附图4页

(54)发明名称

一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备及免疫层析应用

(57)摘要

本发明公开了一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备及免疫层析应用。该双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备方法为：将 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性纳米颗粒用聚乙烯亚胺修饰后吸附一层羧基化量子点，形成单层量子点外壳的磁性复合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ ；然后用PEI再次修饰获得的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 后吸附第二层羧基化量子点，形成具有双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@QDs$ 。由上述双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备的磁性量子点标签在荧光免疫层析检测中的应用，该型磁性量子点标签分散性好、磁响应性强、粒径大小可调、荧光强度高且易于大批量制备，可用于复杂体系中目标物质的捕获、富集及高灵敏检测。



1. 一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,其特征在于:利用阳离子多聚物聚乙烯亚胺(PEI)的层层自组装特性,在四氧化三铁( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )磁性纳米颗粒表面连续吸附两层量子点形成双层量子点外壳结构的磁性复合纳米材料;所述双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料以80~600纳米的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒为磁性内核提供强磁响应性及超顺磁性,以两层聚乙烯亚胺自组装层吸附两层羧基化量子点颗粒来产生超强荧光性能;所述双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的粒径为100~700nm,荧光发射波长范围为400~800nm;所述双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料作为高性能磁性量子点标签用于免疫层析检测的应用。

2. 一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,包括如下步骤:

(1) 将 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒加入到聚乙烯亚胺(PEI)溶液中,超声反应使正电性的PEI在负电性的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒表面自组装,形成第一层PEI修饰的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ );

(2) 将步骤(1)所得的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒与羧基化量子点颗粒1/50(v/v)混合后进行超声反应,利用超声的剧烈作用促使负电性的羧基化量子点颗粒牢固的结合在正电性的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒表面,形成具有第一层量子点外壳的磁性复合颗粒( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ );

(3) 将步骤(2)所得的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 颗粒加入到PEI溶液中,通过超声反应使正电性的PEI在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 颗粒表面再次自组装,形成第二层PEI修饰的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 颗粒( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{PEI}}$ ); $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{PEI}}$ 颗粒磁富集后用去离子水清洗除去溶液中多余的PEI,保存在去离子水中待用;

(4) 将步骤(3)所得的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{PEI}}$ 颗粒与羧基化量子点颗粒1/50(v/v)混合后进行超声反应,利用超声的剧烈作用促使负电性的羧基化量子点颗粒牢固的结合在正电性的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{PEI}}$ 颗粒表面,形成具有第二层量子点外壳的磁性复合颗粒( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{QDs}}$ );制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{QDs}}$ 用磁铁富集后用去离子水清洗两次,重悬于10mL去离子水中。

3. 根据权利要求2所述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备方法,其特征在于,所述步骤(1)中, $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒采用溶剂热合成法制备,表面带负电荷,粒径范围为80~600nm;PEI的分子量为5000~80000,所述PEI溶液的浓度为0.2mg/mL~5mg/mL,优选为1mg/mL;所述超声时间为10~60min,优选为30min。

4. 根据权利要求2所述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备方法,其特征在于,所述步骤(2)中,所述羧基化量子点颗粒为CdSe/ZnS-COOH颗粒,荧光发射波长范围为400~800nm;所述量子点浓度为0.1nmol~1nmol;所述的超声反应时间为10~60min,优选为30min。

5. 根据权利要求2所述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备方法,其特征在于,所述步骤(3)中,所述PEI溶液的浓度为0.2mg/mL~5mg/mL,优选为1mg/mL;所述超声时间为10~60min,优选为30min;所述磁富集后清洗次数为2~4次。

6. 根据权利要求2所述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备方法,其特征在于,所述步骤(4)中,所述羧基化量子点颗粒为CdSe/ZnS-COOH颗粒,荧光发射波长范围为400~800nm;所述量子点浓度为0.1nmol~1nmol;所述的超声反应时间为10~60min,优选为30min。

7. 根据权利要求2~6任一项所述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,其特征在于,所述步骤(1)中,所述 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性核心颗粒的制备方法采用改进的溶剂热合

成法，铁源采用 $\text{FeCl}_3$ 或 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，溶剂采用乙二醇或一缩乙二醇，表面活性剂采用聚乙烯比咯烷酮，还原剂采用无水乙酸钠，反应温度200℃，加热时间8~24小时。

8. 根据权利要求1所述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料作为高性能磁性量子点标签，其特征在于，所述双层量子点外壳磁性复合纳米材料表面还修饰有检测抗体，检测抗体通过量子点外壳羧基基团与检测抗体的氨基端肽链偶联。

9. 根据权利要求1所述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料作为高性能磁性量子点标签，其特征在于，所述抗体修饰的磁性量子点标签在免疫层析系统中作为多用途量子点标签，既可以磁富集溶液中的目标物，又可以作为荧光信号用于目标物定量检测。

# 一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备及免疫层析应用

## 技术领域

[0001] 本发明涉及新型磁性纳米材料及量子点领域,具体而言,涉及一种新型双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备及免疫层析应用。

## 背景技术

[0002] 半导体量子点(QDs)具有强荧光、高光稳定性、尺寸依赖性、宽激发光谱、长荧光寿命等独特的光学和化学性质,近年来在生物分析和生物成像中得到了广泛的应用。近年来,量子点作为新型荧光标签被广泛应用于免疫层析检测系统,这些基于量子点的荧光免疫层析实现了多种生化分子的快速检测。量子点标签产生光稳定的、强劲的、可读的荧光信号用于目标物质的定量检测,因此可以很好的替代传统采用的胶体金标签。但由于常用无机量子点的小尺寸效应(<20纳米)且组成成分毒性较大(镉、碲、硒等),在免疫层析应用中仍然存在一些瓶颈,如小尺寸的量子点在抗体修饰或者材料制备过程中难以离心回收、残留的量子点污染环境等。

[0003] 磁性纳米材料稳定性好、毒性小、可通过磁分离作用分离,因此可以避免离心或者过滤等操作。将磁性纳米颗粒与量子点整合在一个纳米结构上制备出的新型磁性量子点纳米材料既具有量子点优异的光学特性,又具有磁性材料稳定、可富集的优点,是一类高性能的纳米材料。但磁性量子点材料制备工艺复杂,目前报道的少数几种磁性磁性量子点材料难以做到同时具有好的磁性能与分散性能。如2019年Huang等利用氨基化Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>纳米颗粒吸附量子点,制备过程较复杂,只能负载单层量子点,且较厚的SiO<sub>2</sub>壳严重影响了磁性量子点的磁响应性。此外,磁性量子点的荧光性能决定了其用于生化检测的灵敏度,理论上来说负载的量子点颗粒越多,荧光性能越强。目前只有单层量子点外壳的磁性纳米结构报道,尚无多层量子点外壳的磁性纳米结构问世。

[0004] 鉴于此,特提出本发明。

## 发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是克服现有技术的不足,提供一种具有双层量子点外壳、强磁响应性、单分散性的新型磁性量子点纳米材料。这种新型双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备基于聚乙酰亚胺(PEI)层层自组装,制备过程简单、高效、可重复,可用于制备各种粒径的磁性量子点。本发明还提供了上述双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料作为磁性量子点标签应用于免疫层析系统的检测应用。

[0006] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案是:一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料,包括大小可调的磁性Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>内核,双层PEI自组装层及双层羧基化量子点组成的外壳。所述磁性Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>内核粒径为80~600nm,所述PEI自组装层厚度为1~10nm,所述羧基化量子点为CdSe/ZnS-COOH颗粒,荧光发射波长范围为400~800nm。

[0007] 作为一个总的发明构思,本申请还提供一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材

料的制备方法,包括以下步骤:

[0008] (1) 将 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性颗粒加入到PEI溶液中剧烈超声,使PEI在 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性颗粒表面自组装形成表面带强正电的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒;

[0009] (2) 将步骤(1)合成的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒加入到带负电的羧基化量子点溶液中,剧烈超声反应,使上述 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒表面吸附密集的一层的羧基化量子点,获得单层量子点外壳的磁性量子点材料( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ );

[0010] (3) 将步骤(2)所得的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 颗粒加入到PEI溶液中剧烈超声,通过超声反应使PEI在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 颗粒表面自组装,形成第二层PEI修饰的磁性量子点结构( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{PEI}}$ );

[0011] (4) 将步骤(3)所得的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{PEI}}$ 颗粒加入到带负电的羧基化量子点溶液中剧烈超声,通过超声反应使 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{PEI}}$ 颗粒表面吸附密集的羧基化量子点,形成具有两层羧基化量子点外壳的磁性量子点结构( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{QDs}}$ )。

[0012] 上述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,所述步骤(1)中, $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒采用溶剂热合成法制备,颗粒表面带负电荷,粒径范围为80~600nm;PEI的分子量为5000~80000,所述PEI溶液的浓度为0.2mg/mL~5mg/mL,优选为1mg/mL;所述超声时间为10~60min,优选为30min。

[0013] 上述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,所述步骤(2)中羧基化量子点颗粒为CdSe/ZnS-COOH颗粒,荧光发射波长范围为400~800nm;所述量子点浓度为0.1nmol~1nmol;所述的超声反应时间为10~60min,优选为30min。

[0014] 上述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,所述步骤(3)中,PEI溶液的浓度为0.2mg/mL~5mg/mL,优选为1mg/mL;所述超声时间为10~60min,优选为30min;所述磁富集后清洗次数为2~4次。

[0015] 上述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,所述步骤(4)中,羧基化量子点颗粒为CdSe/ZnS-COOH颗粒,荧光发射波长范围为400~800nm;所述量子点浓度为0.1nmol~1nmol;所述的超声反应时间为10~60min,优选为30min。

[0016] 上述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,所述步骤(1)中,所述 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒磁性内核的制备方法包括以下步骤:将含铁的前驱体、表面活性剂和还原剂加入到有机溶剂中,搅拌均匀后放入反应釜中进行溶剂热合成反应,待反应完成后磁富集产物,得到磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒。

[0017] 上述的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法,优选的,所述含铁的前驱体为 $\text{FeCl}_3$ 或 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,所述溶剂为 $\text{FeCl}_3$ 或 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,所述表面活性剂为聚乙烯吡咯烷酮,所述还原剂为无水乙酸钠;所述 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、乙二醇、一缩乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮和无水乙酸钠的比值为540mg:10mL:10mL:2g:1.5g。

[0018] 更优选的,所述溶剂热反应温度为200℃,反应时间为8h~24h。

[0019] 作为一个总的发明构思,本申请还提供一种上述双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料作为免疫层析检测系统的磁性量子点标签的应用。包括以下步骤:在所述核双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料表面修饰上金黄色葡萄球菌的单克隆抗体(捕获抗体)作为多功能磁性量子点免疫标签( $\text{immuno-Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{QDs}}$ );将 $\text{immuno-Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@{\text{QDs}}$ 投入到待测目标溶液中震荡反应30min,通过外加磁场快速富集磁性标签/细菌复合物;用70微升上样液重悬磁性标签/细菌复合物后插入免疫层析试纸条(检测线处划有金黄色葡萄球菌

检测抗体),10分钟后读取免疫层析试纸条检测线处的荧光信号,从而实现复杂溶液中的金黄色葡萄球菌的快速、高灵敏、定量检测。

[0020] 与现有技术相比,本发明的优点在于:

[0021] (1) 本发明提出的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料性能优越,从结构上看,具有双层量子点外壳,可提供超强的荧光信号;具有可调控的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性核心,磁响应性强,便于快速磁回收;此外该材料的分散性好、稳定性强,粗糙的羧基化量子点外壳可直接作为抗体偶联位点,是目前综合性能最先进的磁性量子点材料。

[0022] (2) 本发明提出采用PEI层层自组装法制备双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料,制备方法简单、成熟、可重复性好,可以实现大批量生产。

[0023] (3) 本发明提出的PEI层层自组装法是一种通用的高性能磁性量子点制备方法。通过更换不同粒径的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒(80~600nm)可以制备不同粒径大小的磁性量子点(100~700nm)。

[0024] (4) 本发明提出的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料具有广阔的应用前景,包括用于生化分析、生物传感、快速检测等领域。在双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料表面修饰上捕获抗体,即可作为高性能的磁性量子点免疫标签用于复杂样本中的目标物的快速捕获与磁分离。磁分离过程避免了离心或者过滤,操作方便,稳定性好。

[0025] (5) 本发明提出的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料作为多功能磁性量子点标签用于免疫层析检测,既可以富集目标物质,又可以提供超强荧光信号,因此可以有效提高荧光免疫层析检测的灵敏度,尤其适用于低浓度样本的快速定量检测。

[0026] 综上,本申请发明的PEI层层自组装法,实现了双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的可控制备,路线简单、高效、可重复。制备出的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料具有单分散性、强磁响应性及超强荧光性能,且粒径均一、可调控,材料表面便于抗体修饰,在复杂生物样本检测特别是高灵敏荧光免疫层析检测领域具有广阔的应用前景。

## 附图说明

[0027] 图1为本发明的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法示意图;

[0028] 图2为双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备过程中各组分的透射电子显微镜图(TEM),其中(a)图为 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒,(b)图为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒,(c)图为PEI在 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 表面的自组装厚度,(d)图为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ , (e)图为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@\text{PEI}$ 颗粒,(f)图为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@QDs$ , (g)图为CdSe/ZnS-COOH颗粒,(h)图为局部放大的CdSe/ZnS-COOH颗粒,(i)图为单个 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@QDs$ 及(j)图为双层量子点外壳的局部放大图;

[0029] 图3为本发明的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备过程中的zeta电位变化;

[0030] 图4为本发明的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的元素面扫描结果,从图中可以清晰的看出量子点元素密集的分布在 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性核心表面;

[0031] 图5为实施例1中制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 单层磁性量子点颗粒, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@\text{PEI}$ 颗粒及 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@QDs$ 双层磁性量子点颗粒的磁滞曲线;

[0032] 图6为本发明实施例2的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料表面修饰抗体的制备过程;

[0033] 图7为本发明实施例2的制备的双层磁性量子点捕获材料用于溶液中金黄色葡萄球菌捕获的TEM图；

[0034] 图8为本发明实施例3的双层磁性量子点标签作为高性能磁性荧光标签与免疫层析系统联用检测金黄色葡萄球菌的实验流程图；

[0035] 图9为本发明实施例3的基于双层磁性量子点标签的免疫层析系统检测金黄色葡萄球菌的荧光结果照片及强度-浓度校正曲线；

[0036] 图10为本发明实施例3基于双层磁性量子点标签的免疫层析系统在实际样本中的检测结果。

## 具体实施方式

[0037] 以下实施将结合附图对本发明做进一步说明。

[0038] 实施例1

[0039] 一种本发明的制备的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料，包括 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性内核、两层PEI夹层及两层羧基化量子点组成的量子点外壳，磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒的粒径为150纳米，PEI自组装层的厚度为5nm，吸附的羧基化量子点( $\text{CdSe}/\text{ZnS}-\text{COOH}$ )粒径为10nm，该磁性量子点的最终粒径约为220nm，具有良好的分散性与磁响应性，磁饱和值为40.1emu/g。

[0040] 一种上述本实施例的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备方法，如图1所示，包括以下步骤：

[0041] (1) 制备超顺磁性的150纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性内核：

[0042] 取0.54g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶解在10mL乙二醇与10mL一缩乙二醇混合溶液中，磁力搅拌30分钟。加入2g无水乙酸钠和1.5g聚乙烯吡咯烷酮，磁力搅拌至反应物完全溶解(大约1h)。将上述混合溶液转移至50mL高压反应釜中并置于鼓风加热烘箱中200℃高温反应，加热持续10小时后取出产物，用去离子水洗涤2次。最后将产物置于真空烘箱中60℃真空干燥6h，得到150纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒干粉备用。

[0043] (2) 制备 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 颗粒：

[0044] 称取150纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 颗粒约10mg并溶解于50mL新鲜配置的PEI溶液中(5mg/mL)，超声反应30分钟。磁富集产物，并用去离子水洗3遍后重悬于5mL去离子水中待用。

[0045] (3) 制备 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 单层磁性量子颗粒：

[0046] 将制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 溶液加入到100mL  $\text{CdSe}/\text{ZnS}-\text{COOH}$ 溶液中，剧烈超声30分钟，带强正电荷的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PEI}$ 大量吸附带负电荷的 $\text{CdSe}/\text{ZnS}-\text{COOH}$ ，形成 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 单层磁性量子颗粒。磁富集产物，用去离子水洗两遍后重悬于5mL去离子水中待用。

[0047] (4) 制备 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@\text{PEI}$ 颗粒：

[0048] 将制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}$ 溶液(5mL)加入到50mL新鲜配置的PEI溶液中(5mg/mL)中，剧烈超声反应30分钟。磁富集产物，并用去离子水洗3遍后重悬于5mL去离子水中待用。

[0049] (5) 制备 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@\text{QDs}$ 双层磁性量子颗粒：

[0050] 将制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@\text{PEI}$ 溶液(5mL)加入到100mL  $\text{CdSe}/\text{ZnS}-\text{COOH}$ 溶液中，剧烈超声30分钟，带强正电荷的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@\text{PEI}$ 大量吸附带负电荷的 $\text{CdSe}/\text{ZnS}-\text{COOH}$ ，形成 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{QDs}@\text{QDs}$ 双层磁性量子颗粒。磁富集产物，用去离子水洗两遍后重悬于5mL去离子水，获得设计的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料。

[0051] 图2为本实施例步骤(1)制得的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性内核颗粒,步骤(2)制得的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PEI颗粒,步骤(3)制得的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs颗粒,步骤(4)制得Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@PEI颗粒,步骤(5)制得的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs颗粒及所用的CdSe/ZnS-COOH颗粒的透射电子显微镜图(TEM)。其中(a)图为150nm Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性内核颗粒的TEM图;(b)图为Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PEI颗粒的TEM图;(c)图为Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PEI颗粒表面PEI夹层厚度的TEM图;(d)图为Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs颗粒的TEM图;(e)图为Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@PEI颗粒的TEM图;(f)图为Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs颗粒的TEM图;(g-h)图为所用的CdSe/ZnS-COOH颗粒的TEM图;(i-j)图为Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs颗粒的双层量子点外壳的TEM图。由上述TEM结果可见,双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料结构均一,层次分明,双层羧基化量子点形成的外壳包裹在Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>颗粒表面,使得产物同时具有优异的磁性能及荧光性能。

[0052] 本实施例所制得的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的zeta电位检测结果如图3所示。本发明提出的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料采用PEI介导的层层自组装法制备,本质上利用的是PEI的强静电吸附作用。由图3可见,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>颗粒和CdSe/ZnS-COOH颗粒都带负电性,分别为-37.7mV及-11.1mV;PEI修饰的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>颗粒为强正电性(+42.6mV);吸附了第一层量子点外壳后,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs颗粒的电位为-3.4mV;包裹第二层PEI后,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@PEI颗粒的电位再次变为强正电性(+34.1mV);吸附了第二层量子点外壳后,最终获得的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs颗粒的电位为-6.6mV。通过zeta电位的变化可以监控自组装反应与吸附反应的进行。

[0053] 图4为实施例1步骤(5)制得的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的元素扫描面分布结果,从图中可以看出最终产物的Fe元素分布在纳米结构的核心位置,量子点元素(Zn,S,Cd,Se)等分布在纳米结构的外壳上,制备的磁性复合纳米材料是典型的核-壳结构。

[0054] 图5为本实施例步骤(1-5)制得的150纳米Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性内核、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PEI、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@PEI及Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs的磁滞曲线。从图5中可以看出制备得到的各阶段磁性纳米材料都是超顺磁性的,且终产物Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs的磁饱和值依然可以达到40.1emu/g。说明本发明制备的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料在外加磁场作用下有足够的磁响应能力,可以方便的进行磁富集。

#### [0055] 实施例2

[0056] 本发明提出的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的最外层为羧基化量子点结构,表面具有大量游离羧基可以用于抗体偶联,可以非常简便的实现纳米材料的表面功能化。本发明的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料表面抗体修饰的步骤如图6所示,包括以下步骤:

[0057] 将1mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs粉末溶解在1mL 2-(N-吗啉)乙磺酸溶液(0.1M,pH5.5)中,然后加入100μL碳二亚胺溶液(0.01M)和20μL N-羟基琥珀酰亚胺溶液(0.1M),超声反应15min活化Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs表面的羧基;然后磁富集回收Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs,重悬于200μL PBST溶液中(0.01M,pH7.4);加入15μg抗体,室温震荡反应2h后加入200μL BSA(10%),继续封闭反应1h后,磁富集产物并用PBST清洗2遍,重悬于100μL PBS中待用。

[0058] 表面抗体修饰的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料可作为高效的磁捕获平台用于溶液中目标物质的捕获。如图7所示,表面修饰金黄色葡萄球菌抗体的磁性量子点在溶液中可以有效的与金葡菌结合,并通过外加磁场进行快速分离。

#### [0059] 实施例3

[0060] 本发明提出的双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料表面修饰抗体后可作为多功能的磁性量子点标签,既可以有效捕获目标物并通过磁富集作用快速分离,又可以作为高性能荧光纳米标签用于免疫层析系统的检测。本实施例采用金黄色葡萄球菌抗体修饰的双层磁性量子点标签与免疫层析系统相结合,检测复杂溶液中不同浓度的金黄色葡萄球菌。图8为本实施例所示的双层磁性量子点标签作为磁性荧光标签与免疫层析系统联用快速检测金黄色葡萄球菌的实验流程图。图9为基于双层磁性量子点免疫层析系统检测金黄色葡萄球菌的测试分析结果。图9a为检测不同浓度金黄色葡萄球菌样本( $10^7$ cells/mL-0cells/mL)的试纸条荧光结果(365nm波长紫外激发)。从图中可见,试纸条检测线(T线)上的荧光强度随着目标细菌浓度的降低而逐渐减弱,肉眼观察灵敏度为 $10^2$ cells/mL,荧光分析仪读值的检测限可达10cells/mL。图9中的b图根据金黄色葡萄球菌浓度和T线荧光信号强度,建立了基于双层磁性量子点标签的荧光信号的校准曲线。误差线为测量五次所得,检测结果的相关系数 $R^2=0.98$ 。图10为建立的基于双层磁性量子点标签的免疫层析系统在真实生物样本中的工作情况。结果显示双层磁性量子点标签具有优越的稳定性,可以实现血液和唾液中目标细菌的高灵敏检测,检测结果与PBS中基本保持一致。上述结果展示了基于双层磁性量子点标签的免疫层析系统具有灵敏度高、特异性好、稳定性好等显著优点。

[0061] 上述实施例只为说明本发明的技术构思和特点,其目的在于让熟悉此项技术的人士能够了解本发明的内容并据以实施,并不能依此限制本发明的保护范围。凡根据本发明精神实质所作的等效变化或修饰,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

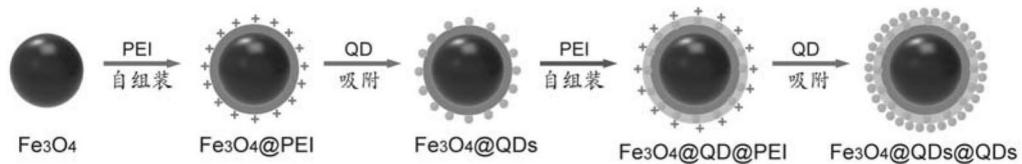


图1

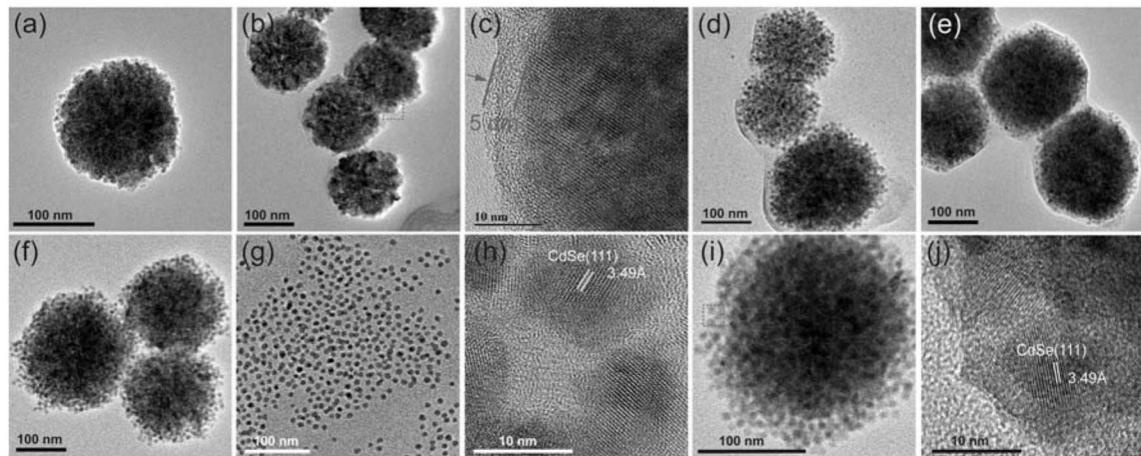


图2

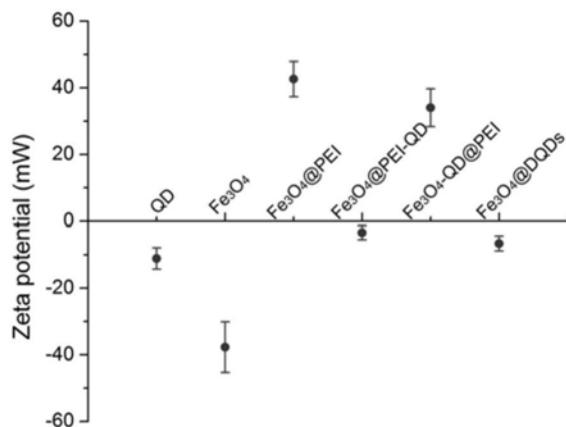


图3

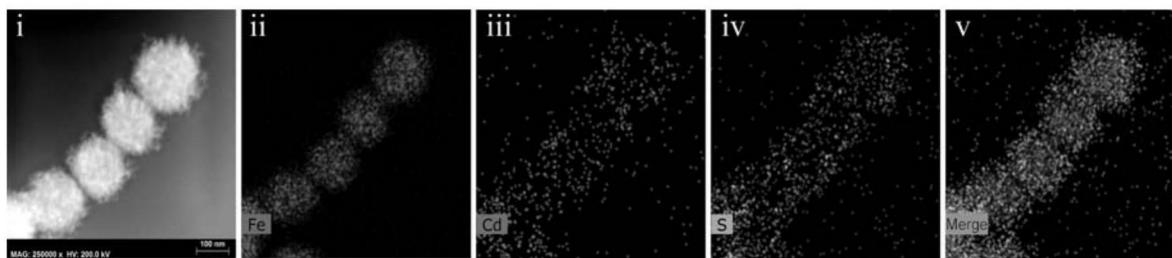


图4

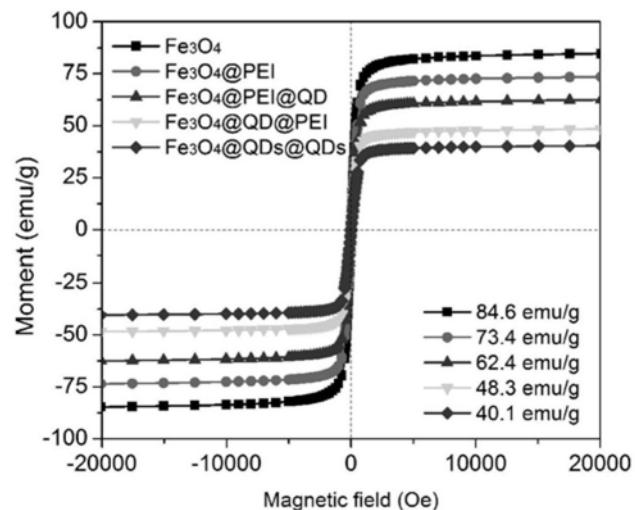


图5

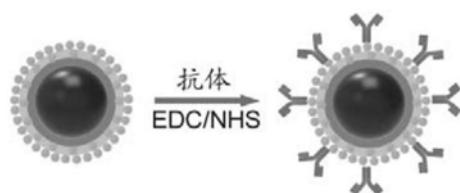


图6

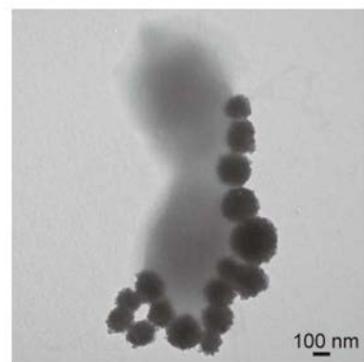


图7

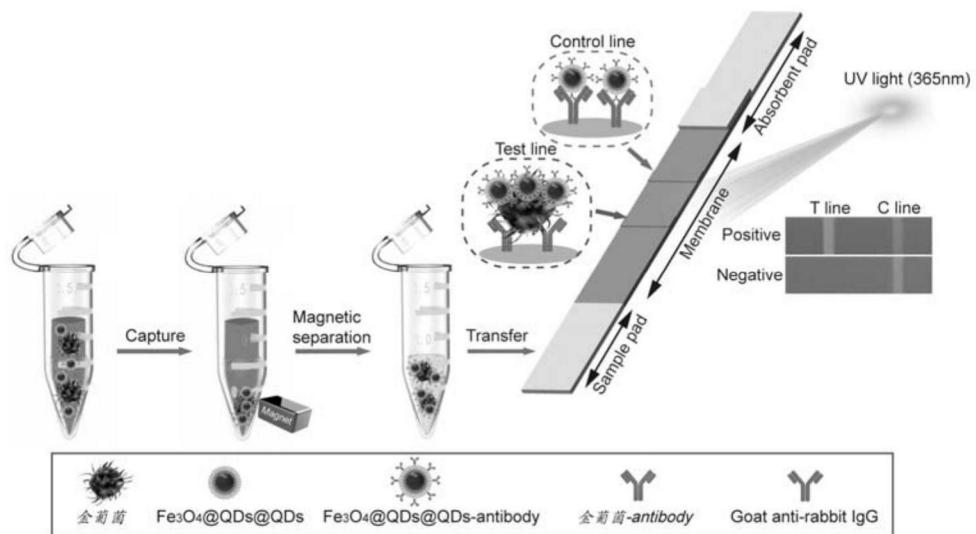


图8

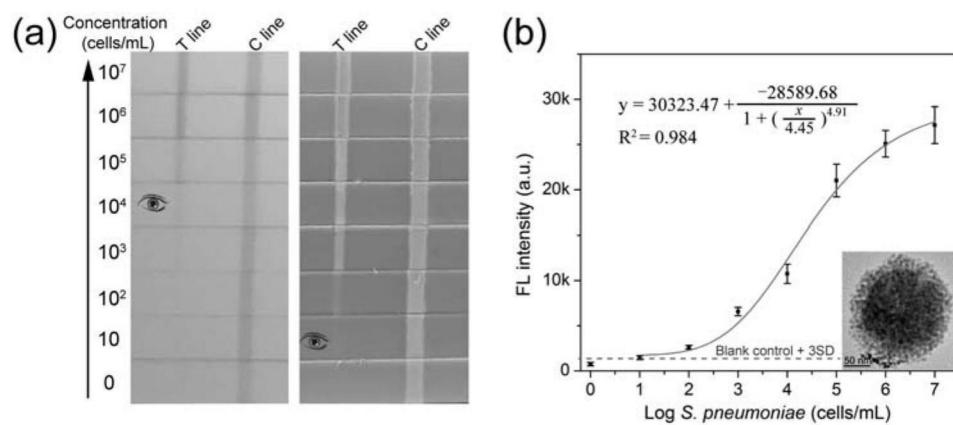


图9

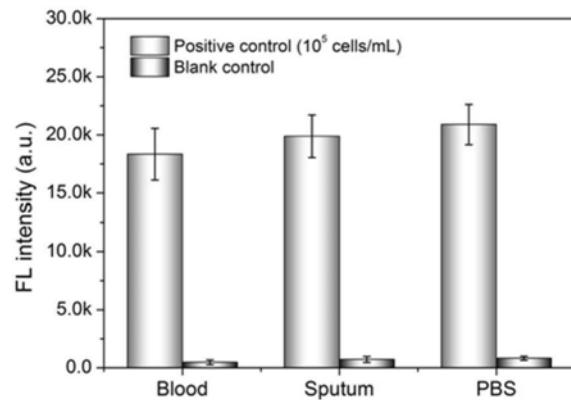


图10

专利名称(译)	一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备及免疫层析应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN110887962A</a>	公开(公告)日	2020-03-17
申请号	CN201911235994.4	申请日	2019-12-05
[标]发明人	王升启 汪崇文 肖瑞		
发明人	王升启 汪崇文 肖瑞		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/533 G01N33/569 G01N21/64 B82Y40/00 B82Y20/00		
CPC分类号	B82Y20/00 B82Y40/00 G01N21/6428 G01N33/533 G01N33/558 G01N33/56938		
代理人(译)	王焕		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

**摘要(译)**

本发明公开了一种双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料的制备及免疫层析应用。该双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备方法为：将Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性纳米颗粒用聚乙烯亚胺修饰后吸附一层羧基化量子点，形成单层量子点外壳的磁性复合物Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs；然后用PEI再次修饰获得的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs后吸附第二层羧基化量子点，形成具有双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@QDs@QDs。由上述双层量子点外壳结构磁性复合纳米材料制备的磁性量子点标签在荧光免疫层析检测中的应用，该型磁性量子点标签分散性好、磁响应性强、粒径大小可调、荧光强度高且易于大批量制备，可用于复杂体系中目标物质的捕获、富集及高灵敏检测。

