



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108025910 A

(43)申请公布日 2018.05.11

(21)申请号 201680048837.0

(22)申请日 2016.07.21

(30)优先权数据

62/195,175 2015.07.21 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.02.23

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/043303 2016.07.21

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/015444 EN 2017.01.26

(71)申请人 DNP123公司

地址 美国爱荷华州

(72)发明人 阿伦·T·桑托斯

德雷克·M·莱昂斯

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 郑斌 彭鲲鹏

(51)Int.Cl.

B82B 1/00(2006.01)

B82Y 5/00(2006.01)

B82Y 40/00(2006.01)

C12P 19/34(2006.01)

C25B 9/16(2006.01)

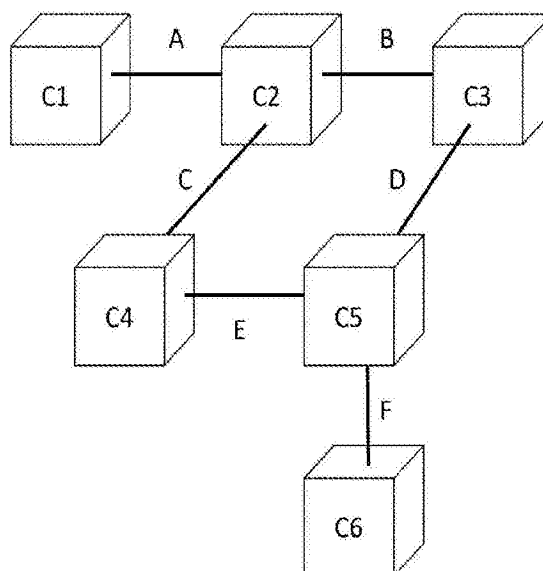
权利要求书6页 说明书22页 附图23页

(54)发明名称

可编程、自组装的具补丁纳米颗粒以及相关装置、系统和方法

(57)摘要

本发明一般地涉及纳米制造,并且在一些实施方案中涉及合成选择性结合具补丁纳米颗粒的方法和可由其制成的装置。在一些实施方案中,本发明涉及由具补丁纳米立方体组装任意形状结构的方法以及后续的装置和用途。例如,可如下对纳米立方体构建块打补丁:用选择性结合化学物质(例如,DNA、抗体-抗原对,等)冲压其表面,或者使用自组装来使可对不相混性预编程的多种选择性结合补丁物质附接于纳米立方体。然后,可通过决定哪些面将在某一目标结构中彼此接合并将在这些面上具有选择性结合补丁的纳米立方体组合来设计和组装任意形状的结构。本发明的另一些方面还涉及制备这样的纳米立方体或其他纳米颗粒的方法、形成这样的纳米立方体的方法。



1. 组合物,其包含:

含有至少三个纳米颗粒的超结构,所述纳米颗粒以面对面接触相连接,以形成所述超结构,所述超结构的每个面对面接触由各接触纳米颗粒之间的结合相互作用限定,其中纳米颗粒的所述超结构中的每种所述结合相互作用占纳米颗粒的所述超结构中总结合相互作用的不超过10%。

2. 权利要求1所述的组合物,其中纳米颗粒的所述超结构中的每种结合相互作用是独特的。

3. 权利要求1或2中任一项所述的组合物,其中至少一些所述结合相互作用是核酸相互作用。

4. 权利要求1至3中任一项所述的组合物,其中至少一些所述结合相互作用是氢键相互作用。

5. 权利要求1至4中任一项所述的组合物,其中至少一些所述结合相互作用是共价偶联。

6. 权利要求1至5中任一项所述的组合物,其中至少一些所述结合相互作用是疏水相互作用。

7. 权利要求1至6中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是多面体纳米颗粒。

8. 权利要求1至7中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

9. 权利要求1至8中任一项所述的组合物,其中所述超结构中的每个所述纳米颗粒是纳米立方体。

10. 权利要求1至9中任一项所述的组合物,其中所述超结构中的每个所述纳米颗粒是纳米立方体。

11. 权利要求1至10中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒的最大内部尺寸小于约1微米。

12. 权利要求1至11中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒包含金属。

13. 权利要求1至12中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒包含金。

14. 权利要求1至13中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒包含铜。

15. 权利要求1至14中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒包含半导体。

16. 权利要求1至15中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒包含硅。

17. 权利要求1至16中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含至少10个纳米颗粒。

18. 权利要求1至17中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含至少100个纳米颗粒。

19. 权利要求1至18中任一项所述的组合物,其中所述超结构中的每个所述纳米颗粒包含独特的补丁布置。

20. 权利要求1至19中任一项所述的组合物,其中形成稳定超结构的所述纳米颗粒的不超过50%是相同的。

21. 权利要求1至20中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含在混悬液中。

22. 权利要求1至21中任一项所述的组合物,其中所述超结构是稳定的。

23. 组合物,其包含:

含有通过特异性结合相互作用接合在一起的至少三个纳米颗粒的超结构,其中纳米颗

粒的所述超结构中的每种所述结合相互作用占纳米颗粒的所述超结构中总结合相互作用的不超过10%。

24. 权利要求23所述的组合物,其中形成所述超结构的所述纳米颗粒之间的每种结合相互作用在所述超结构中是独特的。

25. 权利要求23或24中任一项所述的组合物,其中至少一些所述结合相互作用是核酸相互作用。

26. 权利要求23至25中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

27. 权利要求23至26中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含至少10个纳米颗粒。

28. 权利要求23至27中任一项所述的组合物,其中形成所述超结构的所述纳米颗粒的不超过50%是相同的。

29. 权利要求23至28中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含在混悬液中。

30. 组合物,其包含:

含有至少三个纳米颗粒的稳定超结构,其中至少两个所述纳米颗粒在所述超结构中彼此不接触。

31. 权利要求30所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是多面体纳米颗粒。

32. 权利要求31所述的组合物,其中所述超结构由以面对面接触定位的所述多面体纳米颗粒形成。

33. 权利要求30至32中任一项所述的组合物,其中所述稳定超结构包含在混悬液中。

34. 权利要求30至33中任一项所述的组合物,其中所述稳定超结构中的每个所述纳米颗粒包含独特的补丁布置。

35. 权利要求30至34中任一项所述的组合物,其中形成所述稳定超结构的所述纳米颗粒的不超过50%是相同的。

36. 权利要求30至35中任一项所述的组合物,其中形成所述稳定超结构的所述纳米颗粒面对面接触。

37. 权利要求30至36中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

38. 权利要求30至37中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含至少10个纳米颗粒。

39. 权利要求30至38中任一项所述的组合物,其中形成所述超结构的所述纳米颗粒的不超过50%是相同的。

40. 权利要求30至39中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含在混悬液中。

41. 组合物,其包含:

由多个纳米颗粒形成的稳定超结构,其中形成所述超结构的所述纳米颗粒的不超过50%是相同的。

42. 权利要求41所述的组合物,其中形成所述稳定超结构的所述纳米颗粒面对面接触。

43. 权利要求41或42中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

44. 权利要求41至43中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含至少10个纳米颗粒。

45. 权利要求40至44中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含在混悬液中。

46. 组合物,其包含:

多种由通过非共价相互作用结合在一起的纳米颗粒形成的超结构,其中至少50%的所述超结构包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的。

47. 权利要求46所述的组合物,其中形成稳定超结构的所述纳米颗粒面对面接触。

48. 权利要求46或47中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

49. 权利要求46至48中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含至少10个纳米颗粒。

50. 权利要求46至49中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含在混悬液中。

51. 权利要求46至50中任一项所述的组合物,其中纳米颗粒的所述超结构中的每种所述非共价相互作用是独特的。

52. 组合物,其包含:

多种超结构,所述超结构由以面对面接触相连接以形成所述超结构的纳米颗粒形成,其中至少50%的所述超结构包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的。

53. 权利要求52所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

54. 权利要求52或53中任一项所述的组合物,其中至少一些所述超结构包含至少10个纳米颗粒。

55. 权利要求52至54中任一项所述的组合物,其中形成所述超结构的所述纳米颗粒的不超过50%是相同的。

56. 权利要求52至55中任一项所述的组合物,其中所述超结构包含在混悬液中。

57. 权利要求52至56中任一项所述的组合物,其中以面对面接触相连接以形成所述超结构的所述纳米颗粒通过非共价相互作用连接。

58. 权利要求57所述的组合物,其中至少一些所述非共价相互作用是核酸相互作用。

59. 权利要求57或58中任一项所述的组合物,其中每种所述非共价相互作用在超结构中是独特的。

60. 组合物,其包含:

含有多种由纳米颗粒形成的稳定超结构的混悬液,其中所述混悬液中至少30%的所述超结构包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的。

61. 权利要求60所述的组合物,其中所述混悬液中至少50%的所述超结构包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的。

62. 权利要求60或61r和任一项所述的组合物,其中所述混悬液中至少90%的所述超结构包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的。

63. 权利要求60至62中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

64. 权利要求60至63中任一项所述的组合物,其中至少一些所述超结构包含至少10个纳米颗粒。

65. 权利要求60至64中任一项所述的组合物,其中形成所述超结构的所述纳米颗粒的不超过50%是相同的。

66. 权利要求60至65中任一项所述的组合物,其中所述纳米颗粒以面对面接触相连接以形成所述超结构。

67. 权利要求66所述的组合物,其中所述纳米颗粒通过非共价相互作用连接。

68. 权利要求67所述的组合物,其中至少一些所述非共价相互作用是核酸相互作用。

69. 权利要求67或68中任一项所述的组合物,其中每种所述非共价相互作用在超结构中是独特的。

70. 组合物,其包含:

第一纳米颗粒,所述第一纳米颗粒包含含有第一结合配偶体的第一面、含有第二结合配偶体的第二面和含有第三结合配偶体的第三面;以及

第二纳米颗粒,所述第二纳米颗粒包含含有结合配偶体的第一面,其中所述第二纳米颗粒的所述结合配偶体能够与所述第一纳米颗粒的所述第一结合配偶体特异性结合而不与所述第二或第三结合配偶体特异性结合。

71. 权利要求70所述的组合物,其中所述第一结合配偶体包含第一相混性,所述第二结合配偶体包含与所述第一相混性不相容的第二相混性,并且所述第三结合配偶体包含与所述第一和第二相混性不相容的第三相混性。

72. 权利要求70或71中任一项所述的组合物,其中所述第一结合配偶体包含第一核酸,所述第二结合配偶体包含第二核酸,并且所述第三结合配偶体包含第三核酸。

73. 权利要求70至72中任一项所述的组合物,其中所述纳米颗粒是纳米立方体。

74. 权利要求70至73中任一项所述的组合物,其中所述纳米颗粒的最大内部尺寸小于约1微米。

75. 权利要求70至74中任一项所述的组合物,其中所述纳米颗粒包含金属。

76. 权利要求70至75中任一项所述的组合物,其中所述结合配偶体覆盖所述纳米颗粒的所述第一面的至少50%。

77. 权利要求70至76中任一项所述的组合物,其中所述结合配偶体覆盖所述纳米颗粒的所述第一面。

78. 权利要求70至77中任一项所述的组合物,其中所述第一结合配偶体包含核酸。

79. 权利要求70至78中任一项所述的组合物,其中所述第一结合配偶体包含DNA。

80. 权利要求70至79中任一项所述的组合物,其中所述第一结合配偶体包含RNA。

81. 权利要求70至80中任一项所述的组合物,其中所述第一结合配偶体包含聚合物。

82. 权利要求81所述的组合物,其中所述聚合物包含具有不同亲水性的单体。

83. 权利要求70至82中任一项所述的组合物,其中所述第一结合配偶体包含抗体。

84. 权利要求70至83中任一项所述的组合物,其中至少一种所述结合配偶体能够通过氢键与另一结合配偶体特异性结合。

85. 权利要求70至84中任一项所述的组合物,其中至少一种所述结合配偶体能够通过共价偶联与另一结合配偶体特异性结合。

86. 权利要求70至85中任一项所述的组合物,其中至少一种所述结合配偶体能够通过疏水相互作用与另一结合配偶体特异性结合。

87. 组合物,其包含:

至少包含各自包含面的第一和第二纳米颗粒的多个纳米颗粒,所述第一和第二纳米颗粒各自的所述面具有不同的结合配偶体布置,其中所述第一纳米颗粒的仅一个面和所述第二纳米颗粒的一个面具有可彼此特异性结合的结合配偶体。

88. 权利要求87所述的组合物,其中至少一些所述结合配偶体包含核酸。

89. 权利要求87或88中任一项所述的组合物,其中至少一些所述纳米颗粒是纳米立方体。

90. 权利要求87至89中任一项所述的组合物,其中超结构包含至少10个纳米颗粒。

91. 权利要求87至90中任一项所述的组合物,其中超结构包含在混悬液中。

92. 装置,其包含:

含有传导通路的电子电路,所述传导通路由以面对面接触相连接以形成所述传导通路的多个多面体纳米颗粒限定。

93. 物品,其包含:

具有内部空间的超结构,所述超结构由多个多面体纳米颗粒形成。

94. 物品,其包含:

定位成形成超结构的多个纳米颗粒,其中所述超结构具有至少一个由形成所述超结构的至少一些所述纳米颗粒的面限定的表面。

95. 物品,其包含:

由多个纳米立方体形成的片,其中所述片具有由单个纳米立方体的厚度限定的厚度。

96. 包括以下的方法:

向多个包含面的纳米颗粒的第一面施加第一涂层而不向所述纳米颗粒的第二面施加所述涂层;

向所述纳米颗粒的所述第二面施加第二涂层而不向所述纳米颗粒的所述第一面施加所述涂层;以及

在具有所述第一和第二面的特定布置的纳米颗粒中富集所述多个纳米颗粒。

97. 合成具补丁纳米立方体的方法,其包括用三种或更多种种类的选择性结合补丁冲压纳米立方体的面。

98. 合成包含具补丁纳米立方体的超结构的方法,其包括在溶液中将纳米立方体与三种或更多种种类的包含具有不同相混特性之区域的序列的选择性结合化学物质组合。

99. 权利要求97或98所述的方法,其中至少一些所述纳米立方体包含金属。

100. 权利要求99所述的方法,其中所述金属选自Au、Ag、Cu或Pt。

101. 权利要求97至100中任一项所述的方法,其中至少一些所述纳米立方体是半导体。

102. 权利要求101所述的方法,其中所述半导体选自硅、铜的硒化物、铜的氧化物或铯的氧化物。

103. 权利要求97至102中任一项所述的方法,其中至少一些所述纳米立方体是磁性的。

104. 权利要求97至103中任一项所述的方法,其中至少一些所述纳米立方体包含铁的氧化物。

105. 权利要求97至104中任一项所述的方法,其中至少一些所述选择性结合补丁包含DNA和/或RNA。

106. 权利要求97至105中任一项所述的方法,其中至少一些所述选择性结合补丁包含抗体和/或抗原。

107. 合成任意形状的结构的方法,其包括在溶液中将使用权利要求97至106中任一项所述方法合成的纳米立方体的一定组合相组合,并使不同纳米立方体上的互补选择性结合

补丁结合。

108. 权利要求107所述的方法, 其中至少一些所述纳米立方体通过氢键结合。

109. 权利要求107或108中任一项所述的方法, 其中至少一些所述纳米立方体通过共价偶联结合。

110. 权利要求107至109中任一项所述的方法, 其中至少一些所述纳米立方体通过亲水/疏水/氟化相互作用结合。

111. 权利要求107至110中任一项所述的方法, 其中所述结构包含取向特异性补丁。

112. 权利要求107至111中任一项所述的方法, 其中所述结构包含重复亚单元。

113. 合成超结构的方法, 其包括在溶液中将纳米结构与三种或更多种种类的包含具有不同相混特性之区域的序列的选择性结合化学物质组合。

114. 合成具补丁纳米结构的方法, 其包括用三种或更多种种类的选择性结合补丁冲压纳米结构的面。

可编程、自组装的具补丁纳米颗粒以及相关装置、系统和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2015年7月21日提交的美国临时专利申请序列号62/195,175的权益,其通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本发明一般地涉及纳米制造,并且在一些实施方案中涉及合成选择性结合具补丁纳米颗粒(selectively binding patched nanoparticle)的方法和可由其制成的装置。

背景技术

[0004] 本说明书通篇对现有技术的任何讨论不应以任何方式视为承认这样的现有技术是本领域中公知的或者形成本领域中公知常识的一部分。

[0005] 研究人员已经擅长于合成球体、立方体、棱镜、管、颗粒晶格以及多种尺寸小于1微米的相同颗粒的其他高度对称的单分散系统。然而,使用当前可用的方法,合成这些尺寸的更复杂的不对称形状是非常困难且过于复杂的。虽然我们的车床、3D打印机和多种其他形状模塑方法可用于在宏观尺度产生复杂的形状,但是目前的技术不能够产生具有纳米尺寸的所有可能几何形状的完全集(complete set)。

[0006] 例如,很多团队已经实现使用DNA寡聚物来提供可编程性,并且这已激发了整个DNA折纸(DNA origami)领域。DNA折纸是利用DNA可编程性来实现不对称的复杂纳米结构的技术。这种技术具有几个主要缺点。首先,在发生DNA错配并且抑制超结构形成之前,只能组装相当简单的结构。因此,复杂的结构以相对较低的产率形成。其次,DNA折纸不具有纳米颗粒固有的功能。

[0007] 另外,经DNA涂覆的纳米颗粒已经合成出近20年。尽管这些结构可以以多种形状(例如球体、圆柱体、立方体)制成,但是其通常具有仅一种或至多两种不同种类的DNA涂覆单一纳米颗粒的表面。此外,使用当前可用的技术难以控制不同DNA补丁(DNA patch)在纳米颗粒表面上的相对位置。因此,难以以任何可容易推广的方式对复杂结构的组装进行编程。

[0008] 通过将补丁冲压(stamping)到纳米立方体上已经示出具有两种种类(即亲水性和疏水性)补丁的纳米立方体的产生。由于用仅两种种类补丁只能制成有限种类的形状,这种组装方法不能够产生任意形状的结构。此外,由于纳米立方体之间的疏水相互作用相对较弱,因此局限于由少数纳米立方体制成的结构。尽管已经表明用多种选择性补丁打补丁的纳米立方体的某些实施方案在理想条件下是理论上稳定的,但是这些理论结果具有若干缺点。首先,其是理论性的。其没有提供任何实际组装具补丁纳米颗粒(patched nanoparticle)的实验方法;其仅表明如果可找到合成颗粒的方法,则颗粒将是热力学上稳定的。这样的理论研究也假定补丁之间的可调不相混性(immiscibility),而没有解释这样的情况如何实际地在实验上出现。其也没有提供以下的任何解释:这样的补丁如何可以是选择性的,哪些材料可用于产生这样的补丁,或这样的补丁如何可被选择性地仅冲压在纳

米立方体的特定位置上。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明一般地涉及纳米制造,并且在一些实施方案中涉及合成选择性结合具补丁纳米颗粒的方法和可由其制成的装置。在一些情况下,本发明的主题涉及相互关联的产品、特定问题的可替换解决方案和/或一种或更多种系统和/或物品的多种不同用途。

[0011] 例如,本发明的一些实施方案一般地涉及与产生可用于构建(例如通过自组装)任意形状纳米结构的可编程构建块(building block)相关的装置、系统和方法。在一些实施方案中,这些方法可用于产生具补丁纳米颗粒,其上可存在三种或更多种选择性结合补丁。描述了多种系统和方法,详细讨论了其中独特的DNA补丁存在于纳米颗粒的面上的情况,但是这些应视为仅是示例性的,并且本发明的另一些实施方案适用于在纳米颗粒上任何位置(包括顶点和边缘)的其他选择性结合材料的补丁。

[0012] 本文中讨论的某些实施方案涉及用三种或更多种选择性结合补丁组装纳米颗粒的多种方法和由这些具补丁纳米颗粒组装任意形状结构的多种方法。在某些方面,公开了具补丁纳米颗粒组装方法,其包括用三种或更多种种类的选择性结合化学补丁冲压面。在另一个实施方案中,公开了具补丁纳米颗粒组装方法,其包括在溶液中将纳米立方体与三种或更多种种类的包含具有预定相混特性(miscible property)之区域的序列的选择性结合化学物质组合。在另一个实施方案中,公开了合成任意形状纳米结构的方法,其包括在溶液中连接使用上述方法合成的纳米颗粒的一定组合,并使不同颗粒上的互补选择性结合补丁结合。这些方法可允许形成这样的结构,其在多个实施方案中:(1) 可被预编程以具有任何任意期望形状;(2) 以简单的设计规则为特征;(3) 表现出纳米颗粒功能性(例如电学、光学、催化特性等),和/或(4) 可扩展到更大的结构。

[0013] 根据另一方面,本发明一般地涉及组合物。在一些实施方案中,该组合物包含多个纳米颗粒。在某些实施方案中,该组合物是超结构(例如包含纳米颗粒)。

[0014] 在一组实施方案中,该组合物包含超结构,所述超结构包含以面对面接触(face-to-face contact)相连接(join)以形成超结构的至少三个纳米颗粒。在一些实施方案中,超结构的每个面对面接触由各接触纳米颗粒之间的结合相互作用限定。在一些情况下,纳米颗粒的超结构中的每种结合相互作用占纳米颗粒的超结构中总结合相互作用的不超过10%。

[0015] 在另一组实施方案中,该组合物包含超结构,所述超结构包含通过特异性结合相互作用接合(bond)在一起的至少三个纳米颗粒。在一些情况下,纳米颗粒的超结构中的每种结合相互作用占纳米颗粒的超结构中总结合相互作用的不超过10%。

[0016] 在另一组实施方案中,该组合物包含含有至少三个纳米颗粒的稳定超结构,其中至少两个纳米颗粒在超结构中彼此不接触。

[0017] 根据另一组实施方案,该组合物包含由多个纳米颗粒形成的稳定超结构,其中形成超结构的纳米颗粒的不超过50%是相同的。

[0018] 在另一组实施方案中,该组合物包含多种由通过非共价相互作用结合在一起的纳米颗粒形成的超结构。在一些情况下,超结构的至少50%包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的(indistinguishable)。

[0019] 另一组实施方案一般地涉及多种超结构,其中超结构由以面对面接触相连接以形

成超结构的纳米颗粒形成。在某些情况下,超结构的至少50%包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的。

[0020] 在另一组实施方案中,该组合物一般地涉及包含多种由纳米颗粒形成的稳定超结构的混悬液。在一些情况下,混悬液中超结构的至少30%包含至少三个纳米颗粒并且是不可区分的。

[0021] 在一组实施方案中,该组合物包含第一纳米颗粒和第二纳米颗粒,所述第一纳米颗粒包含含有第一结合配偶体(binding partner)的第一面、含有第二结合配偶体的第二面和含有第三结合配偶体的第三面,所述第二纳米颗粒包含含有结合配偶体的第一面。在某些情况下,第二纳米颗粒的结合配偶体能够与第一纳米颗粒的第一结合配偶体特异性结合而不与第二或第三结合配偶体特异性结合。

[0022] 根据另一组实施方案,该组合物包含多个纳米颗粒,其至少包含各自含有面的第一和第二纳米颗粒。在一些实施方案中,第一和第二纳米颗粒各自的面具有不同的结合配偶体布置。在某些情况下,第一纳米颗粒的仅一个面和第二纳米颗粒的一个面具有可彼此特异性结合的结合配偶体。

[0023] 另一组实施方案一般地涉及包含传导通路(conductive pathway)的电子电路(electronic circuit),所述传导通路由以面对面接触相连接以形成传导通路的多个多面体纳米颗粒限定。

[0024] 另一组实施方案一般地涉及具有内部空间的超结构。该超结构可由多个多面体纳米颗粒形成。

[0025] 另一组实施方案一般地涉及定位成形成超结构的多个纳米颗粒。根据某些实施方案,超结构可具有至少一个由形成超结构的至少一些纳米颗粒的面限定的表面。

[0026] 另一组实施方案一般地涉及由多个纳米立方体形成的片(sheet)。在一些情况下,该片具有由单个纳米立方体、两个纳米立方体、三个纳米立方体或更多个纳米立方体的厚度限定的厚度。

[0027] 本发明的另一方面一般地涉及方法。在某些情况下,该方法包括以下方法:形成纳米颗粒;向纳米颗粒添加补丁、结合实体等;和/或组装纳米颗粒以形成超结构,例如如本文中讨论的。本发明的一些实施方案还一般地涉及由这些方法制成的物品,或者使用这样的物品的套件(kit)或方法。

[0028] 在一些实施方案中,该方法包括向多个包含面的纳米颗粒的第一面施加第一涂层而不向纳米颗粒的第二面施加该涂层;以及向纳米颗粒的第二面施加第二涂层而不向纳米颗粒的第一面施加该涂层。在一些情况下,该方法包括在具有第一和第二面的特定布置的纳米颗粒中富集多个纳米颗粒。

[0029] 另一组实施方案一般地涉及合成具补丁纳米立方体的方法,其包括用三种或更多种类的选择性结合补丁冲压面。另一组实施方案一般地涉及合成具补丁纳米立方体的方法,其包括在溶液中将纳米立方体与三种或更多种类的选择性结合补丁冲压面。另一组实施方案一般地涉及合成具补丁纳米立方体的方法,其包括在溶液中将纳米立方体与三种或更多种类的选择性结合补丁冲压面。

[0030] 在另一组实施方案中,该方法包括合成具补丁纳米立方体,其包括用三种或更多种类的选择性结合补丁冲压纳米立方体的面。另一组实施方案一般地涉及合成包含具补丁纳米立方体的超结构的方法,其包括在溶液中将纳米立方体与三种或更多种类的选择性结合补丁冲压面。

具有不同相混特性之区域的序列的选择性结合化学物质组合。

[0031] 在另一组实施方案中,该方法一般地涉及合成超结构的方法。在一些情况下,该方法包括在溶液中将纳米结构与三种或更多种种类的包含具有不同相混特性之区域的序列的选择性结合化学物质组合。在另一组实施方案中,该方法一般地涉及合成具补丁纳米结构的方法,其包括用三种或更多种种类的选择性结合补丁冲压纳米结构的面。

[0032] 在另一方面,本发明涵盖实现本文中所述一个或更多个实施方案(例如表现出选择性结合的纳米颗粒)的方法。在另一方面,本发明涵盖使用本文中所述的一个或更多个实施方案(例如表现出选择性结合的纳米颗粒)的方法。

[0033] 当结合附图考虑时,本发明的另一些优点和新特征将通过以下对本发明多个非限制性实施方案的详细描述而变得明显。

[0034] 附图简述

[0035] 将参照附图以实例的方式对本发明的非限制性实施方案进行描述,所述附图是示意性的而不旨在按比例绘制。在附图中,所示的每个相同或几乎相同的组件通常由一个数字表示。为了清楚起见,并非每个组件在每个附图中都标记,也没有示出本发明每个实施方案的每个组件,其中图示对于本领域普通技术人员理解本发明而言不是必要的。在附图中:

[0036] 图1A至1F是三个纳米立方体的一些可能结合布置的示意图;

[0037] 图2A至2B是用于任意形状结构的某个实施方案的组装设计的示意图;

[0038] 图3是根据某些实施方案的纳米立方体组装的示意图;

[0039] 图4A至4C是根据某些实施方案的不相混性补丁形成的示意图;

[0040] 图5A至5B示出了根据某些实施方案的聚合物的示例性化学结构;

[0041] 图6示出了根据某些实施方案的聚合物的另外的示例性化学结构;

[0042] 图7是根据某些实施方案补丁在纳米颗粒表面上自组装的示意图;

[0043] 图8是根据某些实施方案给定化学物质当限制在纳米立方体的面上时可呈现的可能构造的示意图;

[0044] 图9A至9D是根据某些实施方案的补丁冲压操作的示意图;

[0045] 图10A至10C是根据某些实施方案的纳米颗粒组装的示意图;

[0046] 图11示出了根据某些实施方案的纳米立方体结合;

[0047] 图12A至12B是根据多个实施方案的纳米立方体结合的示意图;

[0048] 图13A至13C是根据某些实施方案的方向特异性选择性结合补丁的示意图;

[0049] 图14A至14B是根据某些实施方案的另一种方向特异性选择性结合补丁的示意图;

[0050] 图15A至15C是根据某些实施方案的可控柔性纳米线组装的示意图;

[0051] 图16A至16C是根据某些实施方案的可控传导性纳米线组装的示意图;

[0052] 图17A至17B是根据某些实施方案的纳米片(nanosheet)组装的示意图;

[0053] 图18A至18C是根据某些实施方案的可控柔性纳米片组装的另一些示意图;

[0054] 图19A至19C是根据某些实施方案的多孔纳米片组装的示意图;

[0055] 图20A至20C是根据某些实施方案的纳米螺旋体(nanohelix)组装的示意图;

[0056] 图21A至21B是根据某些实施方案的晶体管组装的示意图;

[0057] 图22A至22D是根据某些实施方案的药物递送装置的组装和操作的示意图;

[0058] 图23A至23B是根据某些实施方案的分子识别装置的组装和操作的示意图;以及

[0059] 图24示出了在另一个实施方案中未杂交立方体和杂交纳米立方体之间的吸光度谱位移。

[0060] 发明详述

[0061] 本发明一般地涉及纳米制造,并且在一些实施方案中涉及合成选择性结合具补丁纳米颗粒的方法和可由其制成的装置。在一些实施方案中,本发明涉及由具补丁纳米立方体组装任意形状结构的方法以及由此产生的装置和用途。例如,可如下对纳米立方体构建块打补丁:用选择性结合化学物质(例如DNA、抗体-抗原对,等)冲压其面或使用自组装来使可对不相混性预编程的多种选择性结合补丁物质附接于(attach to)纳米立方体。然后,可通过决定哪些面将在某一目标结构中彼此接合并将在这些面上具有选择性结合补丁的纳米立方体组合来设计和组装任意形状的结构。本发明的另一些方面还涉及制造这样的纳米立方体或其他纳米颗粒的方法,将这样的纳米立方体或其他纳米颗粒形成为装置的方法,由这样的纳米立方体或其他纳米颗粒形成的装置,包含这样的纳米立方体、纳米颗粒或装置的套件,等。

[0062] 目前公开的装置、系统和方法的某些方面使用“构建块”来通过自组装或本文中所述的其他技术构建复杂的任意形状超结构。在一些情况下,这样的组装方法可被认为是可编程的或预定的,例如,如此最终超结构可基于多个构建块彼此结合的初始设计来确定。

[0063] 这些构建块可利用以下纳米立方体(或其他纳米颗粒),在所述纳米立方体上三种或更多种选择性结合化学“补丁”物质部分地或完全地覆盖每个面。通常,“补丁”主要存在于一个面(或在一些情况下,多于一个面)上,但不会以显著量存在于其他面上。当前公开的技术的一些实施方案也利用这样的“打补丁”来将纳米结构组装成可用于广泛多种应用(包括本文中讨论的那些)的超结构。

[0064] 通过一些方法组装的“构建块”或纳米颗粒可具有多个优点。例如,一些实施方案涉及任意形状超结构的自组装。这些可利用纳米立方体的简单立方体形状和/或纳米立方体或其他纳米颗粒的多个面上的多种选择性结合补丁来形成,所述纳米立方体或纳米颗粒可以是例如面心的(face-centered)、可编程的、可堆叠的,等。

[0065] 并入立方体或其他可堆叠几何体和多种选择性结合补丁可实现多种实质性且变革性的改进。例如,通过并入多于两种补丁,可添加可编程性,例如以允许由多个纳米立方体或其他纳米颗粒组装任何任意或设计的超结构。在一些实施方案中,可实现纳米颗粒上补丁中的模式化可编程选择性结合化学物质,这可用于组装超结构,例如组装成多种装置。

[0066] 例如,在一些实施方案中,可编程性可允许预先设计最终目标超结构的形状。在一些情况下,纳米立方体或其他纳米颗粒的几何结构可允许面对面结合。由于纳米颗粒可彼此齐平地结合并且可在直线直角坐标网上或以其他可预测形式(取决于纳米颗粒)排列,平面可几乎彼此平行地连结,使得设计目标超结构变得简单。该几何结构可允许设计和组装更大的超结构。

[0067] 因此,这样的可编程性可允许基于不同纳米颗粒结合(例如,在特定构造或布置中)从而形成超结构的能力来限定超结构。这样的设计在一些情况下甚至可发生在合成纳米颗粒之前。在一些情况下,这样的可编程性可允许由纳米颗粒设计和组装仅一种或相对少数的最终超结构。例如,在组装之后,至少50%或更多的超结构可共享形成超结构的纳米颗粒的基本上相同的构造。

[0068] 作为一个非限制性实例,现在讨论由多个纳米立方体形成超结构。应理解,在本文中讨论纳米立方体仅是为了便于展示和理解,但本发明不仅限于纳米立方体。在如本文中所讨论的另一些实施方案中,作为纳米立方体的补充和/或替代,也可使用其他纳米颗粒。

[0069] 在一组实施方案中,可产生以下纳米立方体(或其他纳米颗粒),其面包含“补丁”,例如可编程选择性结合化学物质的“补丁”,例如本文中所讨论的。纳米立方体的每个面可被独立地控制以具有补丁(或缺乏补丁),并且纳米立方体的不同面可独立地具有相同或不同的补丁。这可允许能够设计大量不同形状的超结构。因此,例如,对于纳米立方体,6个侧面各自可例如用选择性结合化学物质打补丁。在图1A中,作为一个具体实例,可合成一组立方体(C1),使得每个面被单一DNA序列覆盖,其中没有两个面具有相同的序列。可以以相同的方式合成第二组立方体(C2),不同之处在于一个面包含与第一组纳米立方体上另一序列互补的DNA序列。这些面之间的连接可称为A,如图1A所示。

[0070] 还可合成第三组立方体(C3),使得其一个面包含C2上之面的互补序列,使得立方体C2和C3形成由B标记的连接。产生连接B的C2面可以在五个非A位置(与A侧面相邻的四个面以及与A侧面相对的侧面)中的任一个处,从而允许可编程地形成五种不同的几何结构,如图1B至1F中所示。注意,在C1与C3之间没有合适的结合连接。迭代连接包含可编程选择性结合化学补丁的面的这种结合方法允许根据面连接体(例如,A、B、C、D、E和F,等)的布置以任何期望的任意形状产生任意数量纳米立方体(例如,C1、C2、C3、C4、C5、C6)的经编程超结构,如图2中所示(在图2A中用连接A、B、C、D、E和F示出,并且在图2B中隐藏连接)。

[0071] 由于单链DNA通常仅与其互补链结合,因此这些不同的纳米立方体仅在互补面处结合在一起。这允许控制哪些面将结合在一起以形成特定的纳米立方体二聚体。为了形成超结构,可通过合成很多各自具有其自身独特DNA补丁(例如,如图1中所示)的纳米立方体来重复或迭代该过程。在这些实施方案中,例如,如图2中所示,每个纳米立方体可被认为是较大超结构中的“像素(pixel)”或“体素(voxel)”,并且这样的纳米立方体可组装在一起成为二维或三维形状。

[0072] 应理解,图1和图2中所示纳米立方体的构造仅是为了说明,并且在另一些实施方案中,可例如使用纳米立方体或其他纳米颗粒(例如本文中所讨论的那些)形成其他超结构。

[0073] 因此,本发明的某些方面涉及纳米颗粒。这样的纳米颗粒可容易地商购获得,和/或如本文中所讨论的合成。在一个实施方案中,纳米颗粒可以是纳米立方体。纳米立方体通常是基本上立方体形状的,但实际上,不期望这样的纳米立方体是数学上完美的立方体。实际上,这样的纳米立方体的尺寸和/或角度可相应地相对于理想的数学立方体有所变化。例如,纳米立方体可具有其他尺寸的变化小于20nm、小于15nm、小于10nm或小于5nm的高度、长度或宽度,和/或限定纳米立方体的角度可以不是精确的90°,而是可以是80°至100°、或85°至95°,等。

[0074] 除纳米立方体之外,纳米颗粒还可具有其他形状,例如圆柱体、板、棱柱体、长方体(其可具有或不具有正方形面,并且其可以是正交的或者在二维或三维中可以是倾斜的或非正交的)或其他柏拉图立体(platonic solid)(例如,四面体、八面体、十二面体或二十面体)。因此,在另一些实施方案中,可合成多种其他有小面(faceted)纳米颗粒形状,包括四面体、八面体和二十面体等。在一些情况下,纳米颗粒具有使得其可无间隙地堆叠在一起

的形状,例如立方体、菱形十二面体、截角八面体、四面体/八面体蜂窝体(honeycomb)或其他三维镶嵌形状(tessellation shape)。在一些实施方案中,纳米颗粒还可具有半规则或不规则的形状。在某些实施方案中,纳米颗粒的外表面由基本上平坦的平面表面限定,例如如多面体中。可存在任意合适数量的限定纳米颗粒的平坦表面,例如4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16等。面可独立地具有相同或不同的形状和/或尺寸,并且可以是规则的或不规则的。在一些情况下,纳米颗粒具有至少一对彼此平行的相对侧面,并且在某些情况下,纳米颗粒可具有两对、三对或更多对彼此平行的相对侧面。

[0075] 纳米立方体或其他纳米颗粒通常具有小于约1微米的最大内部尺寸(largest internal dimension),例如使得其以纳米量级测量。例如,在一些情况下,纳米颗粒的最大内部尺寸可以是小于约900nm、小于约800nm、小于约700nm、小于约600nm、小于约500nm、小于约400nm、小于约300nm、小于约200nm、小于约100nm、小于约90nm、小于约80nm、小于约70nm、小于约60nm、小于约50nm、小于约40nm、小于约30nm、小于约20nm、或小于约10nm。

[0076] 纳米颗粒可由任何合适的材料形成。可用于本发明多个实施方案的纳米颗粒组合物的实例包括金属(例如,金、银、铂、铜和铁等)、半导体(例如,硅、硅、铜的硒化物(copper selenide)、铜的氧化物(copper oxide)、铯的氧化物(cesium oxide)等)、磁性材料(例如铁的氧化物(iron oxide))等。这些的组合也是可能的,例如金-银纳米颗粒、金-铜纳米颗粒等。在一些情况下,纳米颗粒包含2、3或更多种金属的合金。实施例9中描述了金-铜纳米颗粒的一个非限制性实例。制备具有不同组成和/或几何结构的纳米颗粒的方法是本领域中已知的。

[0077] 例如,在一组实施方案中,可使用多元醇介导的合成来产生纳米颗粒。多元醇介导的纳米颗粒合成在一些情况下可通过在高温下将金属盐还原成金属离子来起始。封端剂(capping agent)可与纳米颗粒表面相互作用以影响纳米颗粒的尺寸和形状。在多个实施方案中,除了封端剂(例如聚乙烯吡咯烷酮和鲸蜡基三甲基溴化铵(CTAB))和还原剂(例如氢硫化钠和抗坏血酸)之外,多元醇乙二醇可同时用作还原剂和封端剂。

[0078] 在一些实施方案中,纳米颗粒的组成可由所使用金属盐的身份决定。例如,可使用硝酸银合成银纳米颗粒,并且可使用氯化金合成金纳米颗粒。另一些金属纳米颗粒(例如本文讨论的那些)可使用相应的金属盐(例如金属氯化物或金属硝酸盐)来制备。

[0079] 在多个实施方案中,可通过控制反应条件来控制纳米颗粒的尺寸和形状,所述反应条件例如反应时间、反应组分的身份(例如封端剂和还原剂)和/或反应中组分的浓度。例如,可通过在期望的时间猝灭合成反应来控制纳米颗粒的尺寸。在一些实施方案中,可通过控制封端剂和/或还原剂的浓度来控制纳米颗粒的形状。例如,金纳米立方体可使用低CTAB和高抗坏血酸浓度来形成,而高CTAB和低抗坏血酸浓度可有利于在某些实施方案中形成八面体形状。

[0080] 在一组示例性实施方案中,利用金纳米颗粒。例如,可将盐形式的金溶解于溶剂中并通过还原剂进行还原。可通过向反应中添加封端剂来控制金纳米颗粒的尺寸和形态。可使封端剂附着于金纳米颗粒的表面,在动力学上或在热力学上抑制另外的原子并入晶体。可通过多种方法纯化金纳米颗粒,包括离心、柱色谱和凝胶电泳。

[0081] 在一些情况下,可存在多于一种纳米颗粒,包括任何本文中所讨论那些的任意组合。例如,如果存在多于一种类型的纳米颗粒,则纳米颗粒可基于形状、尺寸、材料等和/或

其组合而独立地不同。例如,可存在两种、三种或更多种尺寸的纳米立方体,和/或可存在多种不同形状的纳米颗粒(例如,纳米四面体和/或纳米八面体),和/或可存在多种包含不同材料的纳米颗粒。

[0082] 在一些实施方案中,存在的纳米颗粒可具有窄的尺寸分布。例如,纳米颗粒的分布可使得少于约30%、少于约20%、少于约10%、少于约5%的纳米颗粒的最大内部尺寸为所有纳米颗粒的平均最大内部尺寸的大于120%或小于80%、或大于110%或小于90%。

[0083] 如所讨论的,在多个方面,纳米颗粒可在一个或更多个面上包含一个或更多个“补丁”。例如,可用能够选择性结合其他化学物质(例如,附接于其他纳米颗粒的面的化学物质)的化学物质修饰纳米颗粒的面。因此,可将面描述为具有选择性结合化学物质或“补丁”。补丁然后可用于将纳米颗粒组装在一起成为超结构。

[0084] 补丁可存在于纳米颗粒的一个或更多个面上,例如存在于纳米颗粒的2、3、4、5、6、7、8个或更多个面上。纳米颗粒的每个面上的补丁可独立地相同或不同。另外,如上文所讨论的,不同的纳米颗粒可在其上具有不同的补丁,例如以允许使用纳米颗粒产生更复杂的结构。

[0085] 因此,至少一些补丁可用于使纳米颗粒结合或附接于其他纳米颗粒,例如以形成纳米颗粒的超结构。补丁可用于建立面对面结合或接触,例如在不同纳米颗粒之间,并且在一些情况下,纳米颗粒的排列可位于中心或偏离中心。在一些情况下,补丁可以是相对独特的,例如一种补丁可以能够与超结构中其他补丁中的仅一种(或少数)特异性结合。这种特异性可允许纳米颗粒之间发生仅少数结合相互作用,从而允许形成特定超结构。例如,在形成超结构的所有结合相互作用中,每种结合相互作用可形成形成超结构的所有结合相互作用的不超过50%、不超过40%、不超过30%、不超过20%、不超过10%、不超过5%或不超过2%。不同的结合相互作用可以是彼此不可互换的,例如使得仅某些结合配偶体组合(并且因此仅某些纳米颗粒能够彼此稳定地接触)。在一些情况下,纳米颗粒的超结构中的每种结合相互作用是独特的。

[0086] 补丁可独立地覆盖纳米颗粒(例如纳米立方体)的面的全部或仅一部分。例如,补丁可覆盖纳米颗粒(例如纳米立方体)的面的可用表面积的至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、或基本上整个面和/或不超过90%、不超过80%、不超过70%、不超过60%、不超过50%、不超过40%、不超过30%、不超过20%、或不超过10%。纳米立方体的不同面可独立地显示出补丁的不同覆盖量(或没有覆盖),并且纳米颗粒的不同面可显示出相同或不同的补丁,例如通过在化学上相同或不同、识别不同的结合配偶体等。

[0087] 为了简洁起见,一些实施方案在本文中将被称为“打补丁系统(patching system)”,但是这并不意味着将这些实施方案局限于一种特定形式,因为相关装置和方法也在考虑之中。因此,在本发明的一些实施方案中,所公开的打补丁方法将多种选择性结合化学补丁分离在纳米立方体的单独面上。在某些实施方案中,可使用“有补丁颗粒(patchy particle)”(意指在其上至少一个明确限定的补丁与其他颗粒产生各向异性的定向相互作用的颗粒)。

[0088] 在一些情况下,补丁可由结合配偶体产生,所述结合配偶体可以是特异性的或非特异性的。在一些实施方案中,补丁能够仅与超结构中的另一种特定补丁结合而不能与

超结构中的其他不相容性补丁稳定结合。

[0089] 由于其简单的序列依赖性自组装特征,DNA可用作补丁的结合配偶体,例如如本文中所讨论的。然而,应理解,在此作为一个实例描述DNA,并且在另一些实施方案中可使用其他结合系统(或结合系统的组合),例如下文所讨论的。在一些实施方案中,例如,可使DNA分离在纳米立方体或其他纳米颗粒的面上,这可简化可编程性或组装等,如本文中所讨论的。

[0090] 术语“结合配偶体”或“结合化学物质”通常是指以下分子,其可与特定配偶体结合,通常达到比其他分子显著更高的程度,例如特异性结合。例如,特异性结合配偶体之间的结合相互作用可以是存在的任何其他结合配偶体的至少 $10\times$ 、 $100\times$ 或 $1000\times$ 大。在一些情况下,结合配偶体之间的结合可以是基本上不可逆的。因此,例如,在受体/配体结合对的情况下,配体将特异性地和/或优先地从复杂的分子混合物中选择其受体,反之亦然。酶将与其底物特异性结合,核酸将与其互补物特异性结合,抗体将与其抗原特异性结合,等。结合配偶体之间的结合相互作用可以是例如氢键、范德华力、疏水相互作用、共价偶联等。

[0091] 因此,作为除DNA杂交(和/或其他核酸的杂交)之外的另一些实例,合适的补丁系统包括锁和钥匙蛋白相互作用,例如亲和素-生物素或酶-底物相互作用、抗体-抗原对、共价偶联相互作用、亲水/疏水/氟化相互作用等。这些中一些的实例在本文中进行讨论。如上所述,DNA由于其简单的可编程序列依赖性结合规则而可特别地有用,但是本发明不限于仅DNA补丁。另外,在一些实施方案中,可使用多于一种这样的系统,例如在同一补丁中、在同一纳米颗粒上的不同补丁中、在不同的纳米颗粒上,等。

[0092] 在一组实施方案中,可使不同的核酸链附接于纳米颗粒的不同面,这可用于在纳米颗粒的一些或全部面上形成独特的补丁。核酸链可包括DNA、RNA、PNA、XNA、和/或这些的任意合适组合、和/或其他合适的聚合物,并且可包含天然存在的碱基和/或非天然存在的碱基。在一些情况下,由于独特核酸链彼此的特异性,可在不同纳米颗粒上的不同补丁之间实现选择性结合。核酸链可具有任意合适数量的核苷酸,并且不同的补丁可具有含有相同或不同数目的核苷酸的核酸链。作为一些非限制性实例,核酸链可包含至少6、至少7、至少10、至少12、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35、至少40、至少45、至少50、至少55、至少60、至少70、至少80、至少90或至少100个核苷酸,这可适合于产生大量相对独特的补丁。作为一个举例说明性实例,仅使用4种天然存在的核苷酸,具有10个核苷酸的DNA核酸链将具有 $4^{10}=1,048,576$ 种可用组合(尽管不是其中所有都需要使用)。

[0093] 在一组实施方案中,补丁的相混性(miscibility)可以是不同的。这样的相混性可例如通过使用具有不同亲水性/疏水性模式的部分(moiety)来控制。例如,可利用具有补丁的每个面上的独特相混性来在纳米颗粒的面上产生独特的补丁。基于这样的相混性,具有相容相混性的结合配偶体将能够与面结合,而具有不相容相混性的结合配偶体将不能够与面结合。以这种方式,可在纳米颗粒的一些或全部面上产生独特的补丁。

[0094] 在一些情况下,可使用具有多种亲水性和/或疏水性基团(例如在限定的序列中)的聚合物来产生用于纳米颗粒的面的相混性。应理解,“亲水性”和“疏水性”基团通常针对相混性以相对含义使用,即亲水性基团通常偏好与其他亲水性基团而不是疏水性基团缔合,反之亦然,以这样的方式,位于聚合物中的一系列不同亲水性基团和疏水性基团(例如,如图4A中由白色球和黑色球所表示的)可限定聚合物的相混性。还应理解,在另一些实施方案中可使用亲水/疏水相互作用之间的其他相互作用来限定聚合物的多种相混性;例如,这

样的相混性可由聚合物中的带电部分限定。

[0095] 图5至6描述了包含化学部分(例如用于控制相混性)的聚合物的化学结构的一些实施方案的一些实例。可例如通过使单体化学偶联在一起以产生化学官能团模式来合成聚合物。这些实例中的聚合物可在一个末端包含与纳米颗粒表面结合的部分(例如巯基)并且在另一端包含展示化学选择性补丁的接头。为了举例,这些附图中的“B”可表示见于核酸聚合物中的五种常规含氮碱基中的任一种(即,腺嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、尿嘧啶或鸟嘌呤)。“n”表示重复以构建聚合物的单一单体单元的数目。“R”表示用于提供聚合物之间化学相互作用的任何类型的化学官能团。这些实例代表可用于聚合物之间化学相互作用的化学官能团的类型,但不是囊括性列表。

[0096] 图5A示出了使用亚磷酸胺方法来使单体化学偶联而合成的聚合物。接头区引入具有不同程度的不相混化学特性(例如疏水性、氢/共价/离子键合等)的单体的模式。图5B示出了引入到聚合物中由“R”表示的位置处的不同化学官能团的一般非限制性实例。

[0097] 亲水性和疏水性基团的非限制性实例示于图6中。在多个实施方案中,所述基团可存在于聚合物的骨架结构中和/或作为侧基或侧链基团(side or pendant groups)。图6提供了使用肽合成中标准的酰胺偶联化学方法合成的聚合物的一个非限制性实例。氨基酸单体可提供可用于聚合物之间化学相互作用的化学官能团的模式化。氨基酸半胱氨酸可提供用于将聚合物连接至纳米颗粒的巯基部分。图6中的聚合物A示出了其中核酸序列通过肽与寡核苷酸接头部分连接的基于肽的聚合物的一个实例。图6中的聚合物B在基于肽核酸的单体中引入含氮碱基,消除了对肽与寡核苷酸之接头部分的需要。引入到聚合物中由“R”表示的位置处的不同化学官能团的一些非限制性实例是所有的常规氨基酸化学官能团(例如,丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸),以及疏水性从疏水性烃和卤代化合物到亲水性、阴离子和阳离子化学官能团的非常规官能团。

[0098] 疏水性官能团的代表性实例是可能具有不同不饱和度的直链、支链或环状结构形式的烃。己基、2-甲基-戊基、反式-2-己烯基和环己基是代表性烃“R”基团。芳族官能团可表示“R”基团,如苯基或萘基。卤代官能团(如三氟甲基)可引入在“R”基团中。亲水性官能团可以是非离子性或离子性的。包括醚、酯、醇、缩醛、胺、酰胺、醛、酮、腈、羧酸、硫酸酯、磺酸酯、磷酸酯、膦酸酯和硝基的代表性官能团可引入到“R”基团中,例如如乙二醇或丁腈。“R”基团的不存在可由氢或不饱和表示。这些实例代表可用于聚合物之间化学相互作用的化学官能团的类型,但不是囊括性列表。

[0099] 聚合物可包含任意合适数量的亲水性和疏水性基团,例如以形成适合于将合适的结合配偶体附接于纳米颗粒的面的独特相混性。在一些情况下,可存在至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少10、至少12、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35、至少40、至少45、至少50、至少55、至少60、至少70、至少80、至少90或至少100个这样的基团。这样的数值可允许产生相对大量的独特相混性。例如,在包含可含有亲水性部分或疏水性部分的聚合物的系统中,3个单体将允许 $2^3=8$ 种可能性,而10个单体将允许 $2^{10}=10^{24}$ 种可能性。以这样的方式,可在多个纳米颗粒中使用相对大量的独特补丁来构建超结构。

[0100] 以下是如何可使用这样的补丁系统来将纳米颗粒组装成超结构的一个非限制性

实例。在该实例中,可将六种独特的化学结合补丁添加至多个纳米立方体的六个面中的每一个。出于仅举例说明的目的,将这些化学补丁设想为特定ssDNA序列是有帮助的,但是该技术通常也适用于其他化学物质,包括例如本文中所讨论的抗体-抗原或其他补丁技术。作为解释,将该实例中对纳米立方体使用的ssDNA称为A、B、C、D、E和F。由于所有的未经修饰ssDNA序列具有相似的疏水性,因此在所有六种序列的混合物中每个面将被均匀地涂覆。为了诱导六种不同ssDNA序列之间在表面上的分离,可修饰ssDNA的相混性。一种方法涉及使ssDNA配体上接头的化学功能性(例如,疏水性)多样化。例如,在一个实施方案中,可用交替亲水性-疏水性部分的短序列修饰DNA配体的头部。当这些配体与表面结合时,配体头部中交替亲水性-疏水性区域的排列诱导不相似物质之间的排斥相互作用,类似于油与水之间的排斥。通过调整亲水性-疏水性区域的大小和序列,可产生多种具有可编程疏水性序列的补丁。由于这两种分子中包含的不同疏水性模式,可产生全ssDNA-A或全ssDNA-B的独特补丁。类似地,通过控制亲水性和疏水性区域的模式,立方体的整个表面可在每个侧面上涂覆有不同的独特ssDNA补丁。

[0101] 图4A至4C描述了该实例中使用具有相混性单体和不相混性单体之模式的聚合物的补丁在纳米颗粒表面上的自组装。在图4A中,示出了单体的化学相互作用。白色球和黑色球代表不同类型的单体。相同类型的单体有利地相互作用并吸引,而不相似的单体不利地相互作用并排斥。在图4B中,在溶液或混悬液中混合多种由仅一种类型的相似化学官能团构建的聚合物可引起在纳米颗粒的表面上分开(demixing),这使得纳米颗粒表面在仅两种可能聚合物中的一种进行涂覆。在图4C中,构建具有以不同序列模式化的多种类型化学官能团的聚合物,这允许通过使不相混性物质分开来进行补丁形成。

[0102] 图4示出了使用具有相混性单体和不相混性单体之模式的聚合物的补丁在纳米颗粒表面上的自组装。图4A示出了单体的化学相互作用。白色球和黑色球代表不同类型的单体。相同类型的单体有利地相互作用并吸引,而不相似的单体不利地相互作用并排斥。图4B显示,在溶液或混悬液中混合多种由仅一种类型或相似化学官能团构建的聚合物引起在纳米颗粒的表面上分开,这使得纳米颗粒表面以仅两种可能聚合物中的一种进行涂覆。图4C显示,以不同化学官能团的模式构建具有多种类型化学官能团的聚合物允许由相混性/不相混性序列控制的可编程组装。

[0103] 在多个方面,本文中公开了在纳米立方体或其他纳米颗粒的表面上形成补丁的多种方法。作为一个举例说明性的非限制性实例,在此提供了一种使用帽交换来使分子与纳米颗粒的面选择性地结合的方法,如实施例9中所述。

[0104] 在另一个实施方案中,例如,可将纳米颗粒如纳米立方体(例如,如本文中讨论的产生或获得的)的混悬液沉积到基底上,在一些情况下,所述基底可以是原子级平滑的,例如云母、硅片等,如图9A所示。如图9B所示,可用以补丁分子A(PM-A)涂墨的PDMS印模(stamp)来印刷基底。为了举例说明的目的,补丁可包含DNA、抗体/抗原或本文中所讨论的其他结合配偶体。在用补丁涂覆顶面之后,可移除印模,并且可将纳米颗粒浸入例如包含第二补丁分子B(PM-B)的混悬液或溶液中,如图9C所示,所述第二补丁分子B(PM-B)覆盖纳米颗粒的未经涂覆侧面。在侧面已被涂覆后,可移除PM-B,并且可从表面移出系统。这可通过例如在浴中对基底进行声处理或通过其他合适的技术来完成。然后,可将纳米颗粒浸入包含第三补丁分子(PM-C)的溶液或混悬液中。可使用声处理或其他合适技术来从基底移出纳

米颗粒,暴露纳米颗粒的底部,其随后将在PM-C中进行涂覆。这例如可用于产生在纳米颗粒的相对面上具有补丁A和C并且在其余面上具有B补丁的纳米颗粒。

[0105] 在另一个实施方案中,由图9B,可在溶液或混悬液中对经PM-A涂覆的纳米颗粒进行声处理。然后,可去除溶剂,并且纳米颗粒在表面上再次干燥,这可影响涂覆纳米颗粒的某些面的可能性。例如,对于纳米立方体,通过选择与补丁A不利地相互作用的平坦表面,补丁A可至多1/6次在顶部,1/6次在底部,并且至少2/3次在其侧面。选择对某些补丁分子具有亲和力的平坦表面可导致显著更高的产率。例如,通过印刷以PM-B涂墨的PDMS印模,可将补丁定位在纳米结构的相邻面上。在图9D中,在一些实施方案中可重复例如上述那些的步骤以在纳米颗粒的一个或更多个(或全部)面上产生独特的补丁。如本文中讨论的,还可对纳米颗粒进行纯化。

[0106] 在另一个实施方案中,可使用冲压来形成纳米颗粒。例如,在一些情况下,如下制备补丁:首先将例如纳米立方体的纳米颗粒沉积在表面上,并在向上的面上冲压选择性结合补丁分子。在一些情况下,可将纳米颗粒浸入含有第二选择性结合补丁分子的溶液或混悬液中,其可涂覆未经冲压的侧面。在另一个实施方案中,可将纳米颗粒重悬,再次沉积在平坦的表面上,并再次用不同的选择性结合化学物质进行冲压。可重复这一操作,直到纳米颗粒的至少三个侧面被打补丁。这种方法的多个实施方案和改进包括但不限于:将纳米颗粒重悬于包含另一种种类补丁分子的溶液或混悬液中以同时对多个面打补丁、用在合成中稍后可被替代的弱结合补丁分子将面封闭、使用平坦表面来封闭化学补丁的添加、使用多种经化学修饰的平坦表面来提高产率,等。

[0107] 在另一组实施方案中,可使用与具有不同不相混性的多种选择性结合物质的帽交换(cap exchange)。举例来说,考虑将经化学修饰的DNA核苷酸插入到DNA配体中。当配体不相混时,可在纳米颗粒的表面上发生相分离(phase separation)。可例如用交替亲水性-疏水性部分的短序列修饰DNA配体的头部。当配体与紧密堆积的颗粒表面结合时,配体头基中交替亲水性-疏水性区域的强制排列可诱导不相似的配体在表面上的相分离。通过调整亲水性-疏水性区域的大小和序列,可产生多种补丁。为了产生至少六种独特的补丁(每个立方体面一种),可向DNA的头基添加三种亲水性-疏水性“聚体(-mer)”单元。通过在纳米颗粒上组装多种具有不同DNA序列的补丁,可将超结构组装指令直接编码到纳米颗粒表面上。

[0108] 为了将纳米颗粒组装成任意形状的超结构,可有用的是,一些实施方案将选择性结合补丁可控地定位在纳米颗粒的面上。为了实现这一点,在一组实施方案中,可使用熵效应。由于有小面纳米颗粒的各向异性曲率,这些效应诱导空间上庞大的配体优先地排列在多面颗粒的边缘和顶点。打补丁系统通过向配体添加支链基团来提高“庞大(bulkiness)”的程度。这些较庞大的配体优先地沿边缘和顶点排列。因此,打补丁系统允许产生和分选在每个面上具有特异性结合区的纳米颗粒,从而允许纳米颗粒超结构的特定布置,如本文中所述。

[0109] 在一些实施方案中,可使用曲率诱导的构象配体熵差异将选择性结合化学补丁定位在纳米立方体或其他纳米颗粒的面上来实现补丁在纳米颗粒的面上的分离。由于基底曲率指示SAM的组装,因此有小面颗粒的各向异性曲率可提供控制表面组装的方式。由于有小面纳米颗粒的各向异性曲率,熵效应可诱导空间上庞大的配体优先地排列在有小面颗粒的边缘和顶点上。然而,在一些实施方案中,可通过向配体添加支链基团来提高“庞大”的程

度。当两种配体附接于有小面纳米颗粒的表面时,配体物质中的较庞大者可优先地沿边缘和顶点排列。例如,图7示出了在有小面纳米立方体上的配体分离。在该示例性描绘中,当存在第三庞大配体时,两种不相混性配体在纳米立方体的面上形成补丁。这与预期在相同厚度的配体下在球形颗粒和有小面颗粒二者上出现的无序状态形成对比。这种效应在例如四面体的多面体和其中小面 (facet) 以锐角连接的立方体中显著。

[0110] 例如,在图7的实例中,当将不相混性化学物质 (在此用B、C、D和E表示) 添加至包含纳米立方体A的溶液或混悬液时,可发生补丁形成。在存在第三较庞大补丁分子F的情况下,不相混性补丁可由F控制,使得补丁在立方体的面上居中。

[0111] 因此,当使多种细小不相混性配体加一种另外的空间上庞大的配体附接于有小面颗粒的表面时,庞大配体在一些实施方案中可将不相混性配体“关住 (corral)”,使其在单独的面上分离。这可用于在纳米立方体构建块的表面上形成自发自组装的不对称选择性结合化学补丁。在多个实施方案中,当允许自组装时,这些构建块可用于形成复杂的任意形状超结构。

[0112] 在一些情况下,具补丁纳米颗粒的合成可产生其中随机布置补丁的纳米颗粒。例如,一些立方体的具有补丁A的面可与包含补丁B的面相邻,而另一些立方体的补丁A和补丁B会在立方体的相对侧面上。为了将纳米颗粒用作更大结构的有效构建块,在一些情况下,可使不同的纳米颗粒分离或分开。这可通过本领域中公知的多种方法来实现,包括但不限于电泳、柱色谱和离心。因此,在一组实施方案中,可分离或富集纳米颗粒以产生具有期望补丁布置的纳米颗粒。

[0113] 出于举例说明的目的,考虑以下实例。已经合成在每个面上具有六种可能的不同种类ssDNA的具补丁纳米立方体。这些不同种类应被称为A、B、C、D、E和F。在反应之后,一些立方体的特征是一个包含序列A的ssDNA的覆盖了面的补丁。另一些立方体包含多个序列A补丁。还有另一些包含零个序列A补丁。在图8中,示出了对于补丁A可用的10种可能的布置。其在该图中被标记为0、1、2a、2b、3a、3b、4a、4b、5和6,其中数字是指包含序列A的面的数目,并且字母区分具有相同数目的序列A覆盖的面的不同形态。

[0114] 为了从混合物中分离产物,可将图8所示的纳米立方体混合物添加至包含与A结合的长分子链的溶液或混悬液。例如,一个实施方案可涉及添加与序列A互补的60个核苷酸长的寡核苷酸A'。重要的是,该寡核苷酸可被设计成仅与纳米立方体上包含序列A所在补丁的面杂交。因此,在图8中,涂覆有序列A的纳米立方体面示出为具有从表面延伸的长配体。实际上,多种长配体可与不同纳米颗粒的不同表面结合。长ssDNA A' 仅与含有序列A的补丁杂交。具有零个含有序列A的面的那些立方体不会与互补链A' 杂交。因此,其具有最小的有效半径。那些正好包含一个经序列A标记的面的纳米立方体含有一个与长互补链A' 杂交的面。这些纳米立方体具有第二最小有效半径。因此,可使用本领域中公知的操作从混合物中分离不同的纳米立方体。例如,可在琼脂糖凝胶中使用非变性凝胶电泳来分离立方体,例如使得具有最小有效半径的颗粒以最大速率移动通过凝胶。每种不同的补丁布置在凝胶中产生不同的迁移率。在从凝胶基质中物理提取纳米立方体之后,可分离具有包含序列A之补丁的不同纳米立方体。可对剩余DNA序列中的每一种重复该操作。可使用多至六种不同的序列来分离图8中的纳米立方体,使得纯化和分离DNA纳米立方体上 $6^6=46,656$ 种独特补丁布置中的任一种或全部,然后可将其子集选择性地添加至混合物以产生特定形状的超结构。

[0115] 图8中所示的每种补丁布置的可能性通过在合成期间的动力学、热力学和链的化学计量比来确定。并不是所有的面配体布置都是等同可能的,其也不是同等有用的。例如,如果希望组装纳米立方体的线性线(linear wire),则可仅需要选择性结合补丁在纳米立方体的相对端。为了在立方体表面上获得这种特定模式,在一个实施方案中,可添加仅一个选择性结合补丁以及非功能性“垃圾”补丁。“垃圾”补丁可以是不与其他颗粒上补丁结合的与纳米立方体表面结合的任何化学物质。

[0116] 然而,应理解,这样的方法不仅限于立方体形状的纳米颗粒,而是可扩展到任何其他纳米颗粒系统。例如,在多个实施方案中,可使核酸链与纳米颗粒的某些面选择性地结合,例如怀疑含有期望补丁的某些面,并使用凝胶电泳或本文中讨论的其他技术分离纳米颗粒。例如,核酸链可包含与认为存在于纳米颗粒之面上(例如在“补丁”区中)的核酸基本上互补的部分。例如,核酸链可包含至少4、5、6、7、8、9或10个与认为存在于纳米颗粒之面上的序列互补的连续序列。

[0117] 核酸链可具有任何合适的长度。在一些情况下,核酸链可以是单链的,或者具有没有显著自身互补性的序列(例如,使得该序列不能够与自身结合而形成稳定的双链结构;这些互补序列的长度通常为至少6、7、8或更多个连续核苷酸)。例如,该序列的长度可以是至少30、至少50、至少70、至少100、至少200、至少300、至少500、至少700或至少1000个核苷酸。然而,应理解,在另一些实施方案中,核酸链可具有一个或更多个包含显著自身互补区域的序列。

[0118] 在一个方面,可由纳米颗粒(例如本文中所述的那些)形成多种超结构。这些可使用自组装或其他技术来形成。例如,可例如在溶液或混悬液中将具有以选择性结合补丁为特征的面的纳米颗粒(例如纳米立方体)与其他在其一个或更多个面上具有互补补丁的纳米颗粒组合。在一些情况下,可通过搅拌或其他机械动作来促进这一过程。

[0119] 在一组实施方案中,超结构可包含至少2、至少3、至少5、至少8、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少40、至少50、至少60、至少70、至少80、至少90、至少100、至少150、至少200、至少300、至少400、至少500、至少750、至少1000、至少3000、至少5000、或至少10,000个纳米颗粒。在一些情况下,每个纳米颗粒具有独特的补丁布置。然而,在另一些情况下,超结构中的一些纳米颗粒可彼此相同。

[0120] 当互补补丁结合在一起时可形成二聚体聚集体。在多个实施方案中还可形成由更多个纳米颗粒构成的更大聚集体,代表用于合成任意形状三维超结构的一般性方法,无论目标结构可以是怎样各向异性的或复杂的。

[0121] 在一些情况下,纳米颗粒可被视为代表二维或三维上较大超结构中的“像素”(例如纳米立方体像素)。可对补丁进行选择以确定每个“像素”将在超结构中出现的位置。通过控制补丁在单独纳米颗粒上的位置,可获得具有几乎任何合适形状的复杂超结构。在一些情况下,合成可涉及仅一种类型的构建块(例如,仅一种类型的纳米颗粒),这可降低组装过程的复杂性,而同时扩大可被构建的超结构的复杂性。因此,这种方法降低组装多种不同形状所需的合成技术的数量,并且可被用作组装多种种类超结构的标准化技术。然而,应理解,在另一些实施方案中,可存在多于一种类型的纳米颗粒,例如具有不同的形状、尺寸、材料等,如本文中所讨论的。

[0122] 为了举例说明的目的,设想合成面各自包含某种预定ssDNA序列的补丁的一组立

方体。每个面被一种ssDNA序列覆盖。现在设想以相同的方式合成第二组立方体,不同之处在于一个面包含与第一组纳米立方体上另一种序列互补的DNA序列。由于单链DNA会仅与其互补链结合,因此这些立方体在互补面处结合在一起。这允许控制哪些面结合在一起以形成二聚体。为了形成超结构,可合成很多纳米立方体,其中一些或全部可具有多种独特DNA补丁以形成超结构。

[0123] 在多个实施方案中,可将纳米颗粒组合成任意形状的更大结构。很多组合方法是可能的。图10示出了使经ssDNA涂覆的纳米颗粒(例如,纳米立方体)连接的数种示例性机制,包括直接连接(顶部)、单链接头(中部)和双链接头(底部)。(应理解,虽然在此示出了DNA,但这仅是举例,并且在另一些情况下,可使用其他核酸例如RNA、PNA、XNA或核酸的组合,例如具有例如图10中所示那些的结合构造)。另外,在一些实施方案中,可使用这些和/或其他方法的组合。为了简洁起见,该图示仅示出了每个纳米颗粒的一个面,并不代表纳米颗粒的表面上DNA配体的预期数目或纳米颗粒的形状。图11示出了具有在低温(左管)和高温(右管)下添加的接头的DNA-纳米立方体的混悬液作为一个具体实例。在较低的温度下,纳米立方体聚集并呈现红色。在高温下,聚集体解开并呈现蓝色。相应地,可控制纳米立方体的结合。

[0124] 在一个实施方案中,纳米颗粒彼此直接连接,例如以面对面取向,以形成超结构。应理解,取向可以是准确的,或者在一些情况下,纳米颗粒的排列可以是偏离中心的。作为一个具体的非限制性实例,覆盖一个纳米颗粒的面的DNA配体可与另一纳米颗粒的面上的DNA配体杂交。通过如本文中讨论的预先制备具有已知DNA序列的纳米颗粒面并随后在溶液或混悬液中将纳米颗粒组合,当经DNA涂覆的面与包含互补链的其他面结合时,可形成聚集体。如果连接是独特的,则可仅形成特定的超结构,例如可编程或预定的超结构。

[0125] 然而,尽管在所有实施方案中不一定使用接头DNA,但是在一些情况下可使用接头DNA。例如,在形成大的结构时,如果杂交反应以一定的顺序进行,则动力学可导致较高的产率。在进展中添加接头链(例如向包含纳米颗粒的溶液或混悬液添加)可控制纳米颗粒结合在一起以形成更大结构的顺序。

[0126] 另一个实施方案利用添加ssDNA(或其他合适的核酸)作为接头来起始多个纳米颗粒的杂交。为了由纳米颗粒构建结构,可在溶液或混悬液中将待连接纳米颗粒与合适的ssDNA接头链组合。在一些情况下,添加接头可允许指定纳米颗粒与彼此结合的顺序。在一些情况下,例如,这可通过避免动力学陷阱来提高超结构的产率,例如,在不能够形成正确超结构的情况下。

[0127] 例如,如图10B和10C所示,在一些情况下,在一些情况下,两个面可具有以下核酸,其不与彼此直接特异性结合但是各自可与一种或更多种接头链结合,所述接头链进而允许在纳米颗粒的面之间有效地发生特异性结合。应理解,接头链可以是任何合适的核酸,例如本文中讨论的那些,并且可独立地与纳米颗粒的面上的链相同或不同。

[0128] 在一些实施方案中,可通过UV-Vis光谱术或其他合适的技术来表征自组装。可随表面等离子体共振的位移来观察纳米颗粒的聚集,所述位移改变溶液或混悬液的颜色,例如如图11的实例中所示从红色变为蓝色。

[0129] 结合DNA的另一个示例性实施方案利用双链DNA作为“螺栓(bolt)”来使纳米颗粒连接。双链“螺栓”具有两个黏性单链末端,其与将被结合的面上的ssDNA互补。当添加至具

有纳米颗粒的溶液或混悬液时,螺栓可与ssDNA包含螺栓之黏性末端的互补序列的任何立方体面结合。这允许纳米颗粒在面上具有核酸的一个末端被修饰(例如,硫醇化5'端,如图10A所示)的核酸。在一些情况下,这可允许控制纳米颗粒结合的顺序,例如通过在合适的时间添加螺栓接头。

[0130] 本发明的某些方面一般地涉及如本文中所讨论形成的超结构。在一些情况下,例如,可诱导合适的纳米颗粒组装在一起以形成超结构,例如自发地(例如,自组装),和/或通过添加其他试剂,例如接头链或螺栓以引起组装发生。在一些情况下,由纳米颗粒组装单种超结构;然而,在另一些情况下,可组装多于一种这样的超结构,例如当使用多个基本上相同的纳米颗粒时。因此,在一些实施方案中,形成多种超结构。在一些情况下,形成的超结构中的至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或基本上所有可共享形成这些超结构的纳米颗粒的基本上相同构造。在一组实施方案中,在包含纳米颗粒的溶液或混悬液中形成超结构。在一些情况下,形成的超结构是固体或由纳米颗粒稳定地形成,例如,超结构在环境条件下(例如,在室温和室压下)具有明确限定的形状或结构。在一些实施方案中,超结构甚至当包含在溶液或混悬液中时也可以是稳定的或具有固体形式,例如使得超结构当在室温和环境压力下,甚至在溶液或混悬液中存在正常的流体流动下静置时通常不解离或“分解”。在某些情况下,超结构的形状可被编程或预定,例如,如本文中所讨论的。

[0131] 例如,在图12中,使用通过Watson-Crick碱基配对相互作用的含氮碱基来组装多个纳米颗粒。图12A示出了通过表面上的聚合物通过互补含氮碱基序列直接相互作用而组装的纳米颗粒。在图12B中,具有非互补含氮碱基序列的聚合物可通过向每种聚合物中添加包含互补序列的寡核苷酸接头来组装。

[0132] 图13作为非限制性实例示出了具补丁纳米立方体组装的一个示例性实施方案的示意图。在图13A中,示出了具有在每个面上分离的选择性结合补丁的具补丁纳米立方体。每种补丁种类在该图中由位于纳米立方体之面中心的不同灰色阴影来表示。在图13B中,通过布置多个构建块的表面上的补丁,可设计任意形状的目标结构,因为这些颗粒将仅以特定方式结合。通过简单地布置结构中相邻面上的互补结合补丁,可将组装指令直接预编程在颗粒表面上。在图13C中,在溶液或混悬液中的具补丁纳米立方体的混合物自组装成预先设计的结构。自组装可通过引起有小面颗粒面对面结合的选择性结合相互作用来发生。通过将选择性结合配体在不同面上分离,可控制组装,因为特定面将仅与另一个面结合(如果其包含互补配体的话)。

[0133] 作为一个举例说明性的非限制性实例,考虑将八个纳米立方体融合成一个更大的立方体构建块。这些构建块由于其由已在单独合成中打补丁的较小立方体构成而可在每个面上包含多种选择性结合补丁。考虑两个这样的构建块,其中第一个包含已经用物质A和B打补丁的面,且第二个已经用物质A'和B'打补丁,如图14B的二聚体所示。在此,二聚体具有两个各自由8个较小的立方体构成的立方体构建块。假设补丁A'和B'分别与A和B互补。当组合时,这些立方体将形成方向特异性接合,如图14B的右手侧所示。通过以其他方式取向补丁,可获得图14A的右手侧所示四种可能结合取向中的任一种。

[0134] 根据本发明的多个方面,这样的超结构可用于广泛多种应用。本文中讨论了使用这些系统的应用的非限制性实例,并且其包括例如包括胶体晶体合成、乳剂、电子墨

(electronic ink)、新光学性质、传感器、流变学探针、形状移位器(shape shifter)和自愈材料。另一些实例包括但不限于以下:生物医学装置(例如药物递送、人工酶等);用于医药、农业、能源技术等的有机/化学合成的催化;生物传感器和诊断;光子学晶体(photonic crystal);信息技术和纳米电子学(包括纳米线);晶体管;2D/3D电路阵列;计算机存储器和信息存储以及量子计算机的量子比特(quantum bit);纳米机器人学(nanorobotics);材料(例如,聚合物、纤维、膜、陶瓷、热电体(thermoelectrics)、压电体(piezoelectrics)等);纯化和分离;清洁能源技术(包括能量储存(即电池)和能量收集(例如人工光合作用和生物燃料的催化合成));以及向纳米级系统(例如天线)的能量转移。在下面的实施例中讨论了这些中的一些具体代表性实例。

[0135] 2015年7月21日提交的美国临时专利申请序列号62/195,175在此通过引用整体并入本文。

[0136] 尽管已经参照一些优选实施方案描述了本公开内容,但是本领域技术人员将认识到,可在形式和细节上进行改变而不脱离所公开的装置、系统和方法的精神和范围。以下实施例旨在对本发明的某些实施方案进行举例说明,但并不是例示本发明的全部范围。

[0137] 实施例1

[0138] 在一个示例性实施例中,可构建纳米线。在这样的一个实施方案中,将纳米立方体组装成在相对面上具有选择性结合补丁。出于举例说明的目的,补丁可由ssDNA构成。在该实施方案中,纳米立方体的面包含三种补丁:(1)在立方体顶部的序列A的ssDNA;(2)在立方体顶部的序列B的ssDNA;和(3)在围绕立方体的圆周的四个剩余面上的序列C的ssDNA。可使用例如单链接头方法使A与B接合。当添加至纳米立方体的溶液或混悬液时,接头的互补“黏性”末端与DNA补丁A和B杂交,在纳米线中连接相邻立方体。立方体是重复亚单元,其本质上如同纳米颗粒聚合物中的重复单体。

[0139] 接头DNA链可以以可变长度以及结合区和非结合区的不同比例合成。非结合区保持单链。根据溶剂条件,ssDNA区的柔性可以是双链区的很多倍大。包含大单链DNA区的螺栓将产生非常柔性的纳米立方体线(图15A)。通过缩短单链区的长度,纳米立方体线将变得柔性更小且刚性更大(图15B)。通过完全消除单链区,纳米立方体线变成不具柔性的刚性线束(图15C)。注意,这些线使第三选择性结合补丁C保持开放,可向其添加多种可能官能团中的任一种。

[0140] 这些纳米线的多个实施方案可用于调节其传导性。根据湿度、温度和其他环境条件,已表明DNA在短距离内传导电,但长距离则不能。相比之下,金属立方体以任意可评估的量传导。通过改变立方体的尺寸以及结合DNA长度,可将纳米线调整为在纯DNA和纯金之间具有任意传导率值。由长DNA链连接的金属纳米立方体将主要是绝缘的,因为DNA仅在短距离内传导电荷(图16A)。如图16B所示,通过降低DNA链长度,线的传导性提高,并且电流可沿线的长度上下行进。如图16C所示,如果通过由另一组经DNA涂覆纳米立方体提供的支架使传导性纳米立方体保持在位,则可完全去除传导性纳米立方体之间的DNA。在这种布置下,传导性将接近块金(bulk gold)的传导性。

[0141] 实施例2

[0142] 在另一个示例性实施方案中,可由纳米立方体产生片。作为一个实例,再次考虑具有三种补丁的纳米立方体:在顶面上的补丁A,在底面上的补丁B和在围绕圆周的四个面上

的补丁C(图17A)。在该实施方案中,使补丁C与自身互补。当在溶液或混悬液中组合时,这些纳米立方体面对面地接合以组装片(图17B)。立方体是重复亚单元,其如同纳米颗粒聚合物中的重复单体。与纳米线一样,未结合的补丁(在这种情况下为补丁A和B)可用于向片添加功能性。

[0143] 在合成期间调节立方体的厚度可控制片的厚度。片的柔性和传导性可以以类似于纳米线的方式进行调整。作为举例说明,可合成围绕其圆周具有选择性结合DNA补丁的纳米立方体,如图18所示。向溶液或混悬液中添加第三DNA链(立方体之间的黑色直线)(图18A)。这种DNA包含与纳米立方体表面上的DNA补丁互补的黏性末端。单链DNA的区域使这些黏性末端分离。大的单链DNA区产生更具柔性的片。通过降低螺栓中单链DNA的长度,自组装纳米立方体片将变得柔性更小且刚性更大(图18B)。通过完全消除单链区,使得相邻立方体上的DNA彼此直接结合,纳米立方体片变成不具柔性的刚性平面(图18C)。

[0144] 实施例3

[0145] 在另一个示例性实施方案中,产生多孔片。合成在立方体的两个相对面上具有DNA补丁A而其余四个补丁包含非特异性结合补丁的一组纳米立方体(图19A)。合成在围绕其圆周的四个面上包含互补性补丁A'而顶部和底部包含未指定结合补丁的第二组立方体(图19B)。通过将这两种纳米立方体组合,获得其中每个孔(白色正方形)被4个第一种类型的立方体(浅灰色)和4个第二种类型的立方体(深灰色)所包围的多孔片。未指定的结合补丁可再次用于向片添加功能性。该实施方案的可能应用包括催化反应器表面、多孔过滤系统和纳米孔。

[0146] 实施例4

[0147] 另一个示例性实施方案是螺旋体。在该实施方案中,如图20所示,首先以L形组装单独的具补丁纳米立方体。这可通过将(1)多种种类的在相对面上包含两个结合补丁的立方体与(2)在相邻面上包含两个结合补丁的立方体组合来直接完成。在此,后者利用前面描述的定向结合补丁。L形表示螺旋体内的重复单体单元。补丁A和A'表示在此添加另外单体单元的互补选择性结合定向补丁(图20A)。图20B示出了第二单体L形单元的补丁A'如何与在来自图20A的原始L形之下的补丁A接合。重复添加单体L形单元产生纳米立方体的螺旋体(图20C)。

[0148] 螺旋结构的示例性应用包括螺线管、感应器、转换器、变压器、继电器、人造鞭毛和电磁体。例如,可使螺旋线圈与一些需要电力的纳米级装置连接。通过将纳米级装置放置在变化磁场(例如,通过脉冲NMR产生的磁场)内并通过线圈传送磁通量的猝发(short burst),法拉第定律(Faraday's law)指出将在线圈内部产生电动势(electric motive force, emf)。该emf在提供电力的装置中产生电流。

[0149] 实施例5

[0150] 在另一个示例性实施方案中,可将具补丁纳米立方体组装成晶体管和逻辑门。在该实施方案中,如图21A所示,纳米立方体自组装成用于场效应晶体管的源极(source)、漏极(drain)和栅极(gate)。支架(未示出)用于相对于彼此定位源极、漏极和栅极。在一些实施方案中,支架本身可由纳米立方体构成。源极、漏极和栅极通过纳米线(未示出)与其他电路连接。较小的纳米颗粒量子点通过接头分子与源极和漏极二者连接。

[0151] 晶体管的操作对于本领域任何人员来说都是熟悉的。简言之,在源极和漏极之间

施加电压差 V_{ds} 。当向栅极施加偏置电压 V_g 时,可打开/关闭源极和列极之间的电流,如图21B的图所示。例如,当给予栅极负偏置电压时,由于相似电荷之间的库仑排斥,电子不能传递至量子点。如果制造得足够小(约5nm),量子点作为单电子晶体管工作,其中单独电子打通和关闭量子点岛。电荷-电荷排斥产生众所周知的库仑阻塞。模块化晶体管的产生允许产生更复杂的逻辑门(例如,AND、OR、XOR、NAND、NOR,等),其可组合以产生计算装置。

[0152] 实施例6

[0153] 在另一个示例性实施方案中,可构建药物递送笼状物(cage)。在一个这样的实施方案中,笼状物以中空芯为特征以能够容纳药物。通过控制选择性结合补丁在单独立方体上的位置,超结构可被设计成使得其可以是几乎任何形状。在一个实施方案中,如图22A所示,将包含盒状物(box)的立方体添加至包含药物分子的溶液或混悬液中。当盒状物自组装时,其将一些药物分子捕获在内部(图22B)。患者摄入盒状物。这些盒状物在患者体内扩散(图22C)。一些盒状物进入患病区域(灰色圆圈),而其余那些则分散在整个患者体内。然后,通过多种可能的方法选择性地打开盒状物。举例来说,向仅患病区域施加变化磁场将通过在感应焊中感应地加热金属的相同过程感应地加热该区域中的盒状物。这种加热使患病区域中盒状物周围的温度局部升高,而使身体的其余部分不受影响。温度升高使将盒状物保持在一起的补丁接合解开,并且纳米立方体彼此分离。在该过程中,药物仅在患病区域中释放,而健康的区域免于药物的副作用。

[0154] 实施例7

[0155] 另一个实施方案涉及检测不同的化学物质。在该实施方案中,如图23所示,在不同通道中组装数个纳米立方体线。每个通道包含足够大以适合目的分子的间隙。间隙的边缘涂覆有目的分子的受体。受体已通过使其与立方体的补丁的互补物化学接合而添加至该立方体。参见图23A。当分子存在时(例如,图23B),其与受体结合。通过结合,通道2的电特性(例如电容、电导率等)被改变,这用于确定分子的存在。

[0156] 实施例8

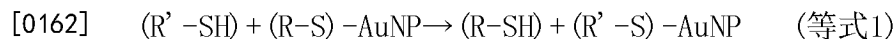
[0157] 该实施例举例说明平均边长为45nm的银纳米颗粒的合成。将6mL乙二醇添加至25mL圆底瓶。在油浴中将乙二醇加热至160℃,同时用Teflon涂覆的磁性搅拌棒搅拌1小时。向反应物添加0.008mL在乙二醇中的新鲜制备3mM NaHS溶液。向反应混合物中添加20mg/mL粉状聚乙烯吡咯烷酮(平均分子量约55,000)的乙二醇溶液,然后快速添加0.5mL在乙二醇中的50mg/mL AgNO₃溶液。纳米立方体的形成可在观察到随着反应进行形成和分解的对于不同纳米颗粒形态显著的可见颜色变化之后。最初观察到为浅黄色的小的银纳米颗粒,其在30至45分钟后变为不透明的赭绿色,指示形成边长为45nm的银纳米立方体。在室温水浴中淬灭反应。将纳米立方体用丙酮洗涤一次并用水洗涤三次。将纳米立方体在4℃下储存在水中。

[0158] 实施例9

[0159] 该实施例举例说明了金-铜纳米颗粒的合成。将乙酰丙酮铜(II)和氯化金(HAuCl₄)与1,2-十六烷二醇(HDD)在二苯醚溶剂中组合。HDD(一种温和的还原剂)同时还还原铜和金离子,其聚集在一起作为单一Cu-Au合金。然后,添加烷硫醇1-十二烷硫醇(DDT)作为封端剂(capping agent)以抑制纳米级尺寸的Cu-Au晶体的生长。图3是位于Au-Cu纳米立方体表面上的1-十二烷硫醇(DDT)和1-金刚烷羧酸(')封端剂的举例说明。

[0160] DDT本身并不会破坏表面的对称性,这产生球体纳米颗粒而不是立方体纳米颗粒。添加第二种庞大的封端剂1-金刚烷羧酸(ACA)以形成立方体形态。ACA以更大的自由体积迁移至纳米颗粒表面的区域,从而形成边缘和面。然后,可通过离心分离纳米立方体。将包含多种反应副产物的上清液倾倒以弃掉。然后,洗涤纳米立方体并将其重悬于甲苯中。

[0161] 如上所示,可通过例如以下位置交换反应来交换金纳米颗粒(AuNP)表面上官能化烷硫醇配体的单层:



在该通用反应中,以R基团官能化的硫醇交换以R'基团官能化的硫醇。为了确保交换,可向反应物过量添加R'-SH。

[0163] 使用这种配体交换方法,可使烷硫醇封端基团(例如DDT)与两亲性6-巯基己酸(MHA)进行交换以促进在水性溶剂中的溶解。将过量的MHA添加至甲苯中的纳米颗粒并加热。通过离心纯化所得到的经MHA封端的纳米颗粒并洗涤,随后将其重悬于水性缓冲液中。

[0164] 实施例10

[0165] 该实施例举例说明了在水溶液中通过配体交换向银纳米立方体表面施加DNA。合成具有在序列上与间隔物相邻的末端单巯基的经HPLC纯化DNA寡核苷酸(Integrated DNA Technologies)。单巯基位于寡核苷酸的任一末端。寡核苷酸均含有15个碱基的互补序列。通过将DNA在具有100倍摩尔过量的三(2-羧乙基)膦的缓冲水溶液(10mM磷酸盐,pH 7.5)中在室温下孵育2小时而使二硫化物脱保护。

[0166] 将3.5μM去保护单链DNA溶液与悬浮于缓冲水溶液(10mM磷酸盐,pH 7.5,0.15M NaCl)中的0.1nM纳米立方体孵育12小时。通过用缓冲水溶液(10mM磷酸盐,pH 7.5,0.15M NaCl)洗涤纳米立方体三次而从溶液中去除过量的游离DNA。

[0167] 实施例11

[0168] 该实施例举例说明通过接触冲压向银纳米立方体表面施加DNA。通过将0.2mL悬浮在乙醇中的0.1mM纳米立方体溶液施加到新鲜切割的1cm云母盘(Ted Pella, Inc.)产生纳米立方体的单层。用氮气流蒸发乙醇。将0.02mL含末端单巯基的去保护DNA寡核苷酸在磷酸盐缓冲液(300mM磷酸盐,pH 9.0)中的0.01mM溶液施加至聚二甲基硅氧烷(PDMS)印模(Sylgard 184,Dow Corning)的平坦表面。使DNA溶液在印模表面上孵育0.5分钟,随后在氮气流下干燥。将印模的经DNA涂覆面人工施加至云母盘上的纳米立方体单层并保持位置2分钟。用水性缓冲液(300mM磷酸盐,pH 9.0)清洗云母盘。通过将盘在水性缓冲液(300mM磷酸盐,pH 9.0)中进行声处理从云母表面移出纳米立方体。

[0169] 实施例12

[0170] 该实施例举例说明了根据一些实施方案的形成超结构的纳米立方体的结合。通过用10mM磷酸钠和1.0M浓度NaCl缓冲至pH 7.4的水溶液中组合官能化纳米颗粒将具有互补结合面的纳米立方体组装在一起。纳米立方体的终浓度为0.1nM。在23℃下孵育5小时允许互补DNA序列发生杂交。通过监测最大吸收可见波长的减小观察互补结合纳米立方体的组装(Agilent Carey 60UV-Vis)。由于表面等离子体共振,边长为45nm的未杂交银纳米立方体在约420nm波长显示出强可见光吸收。纳米立方体的杂交引起等离子体共振的最大吸收波长向更高波长位移,导致吸收光谱显著变化而使得在420nm下的消光系数减小(图24)。

[0171] 可通过反应条件调节成功组装的结构的比例。例如,可通过NaCl或MgCl₂浓度来控

制水溶液的离子强度。可精确地控制水溶液的温度,例如使用干加热块。水溶液中组分的浓度可通过添加至溶液的每种组分的体积和初始浓度以及添加组分的速率来控制。

[0172] 虽然本文中已经描述和举例说明了本发明的数个实施方案,但是本领域普通技术人员将容易想到用于执行本文中所述功能和/或获得本文中所述结果和/或一个或多个优点的多种其他装置和/或结构,并且这样的变化和/或修改各自被视为在本发明的范围内。更一般地,本领域技术人员将容易理解,本文中所述的所有参数、尺寸、材料和构造均旨在是示例性的,并且实际的参数、尺寸、材料和/或构造将取决于使用本发明教导的特定应用。本领域技术人员将认识到,或仅使用常规实验就能够确定本文中所述本发明具体实施方案的许多等同方案。因此,应理解,前述实施方案仅以实例的方式提供,并且在所附权利要求书及其等同文件的范围内,本发明可以以与具体描述和要求保护的方式不同的方式实施。本发明涉及本文中所述的每个单独的特征、系统、物品、材料、套件和/或方法。另外,如果这样的特征、系统、物品、材料、套件和/或方法不相互不一致,则两个或多个这样的特征、系统、物品、材料、套件和/或方法的任意组合都包括在本发明的范围内。

[0173] 在本说明书和通过引用并入的文件包括矛盾和/或不一致的公开内容的情况下,应以本说明书为准。如果通过引用并入的两个或多个文件相对于彼此包括相互矛盾和/或不一致的公开内容,则以具有较晚生效日期的文件为准。

[0174] 本文中限定和使用的定义均应理解为以下为准:字典定义、通过引用并入的文件中的定义和/或所限定术语的通常含义。

[0175] 除非明确指出相反,否则本文中在说明书和权利要求书中使用的没有数量词修饰的名词应理解为意指“至少一个/种”。

[0176] 本文中在说明书和权利要求书中使用的短语“和/或”应理解为意指如此连结的要素,即在一些情况下接合地存在而在另一些情况下分离地存在的要素中的“任一或二者”。随“和/或”列出的多个要素应以相同的方式解释,即如此连结的要素中的“一个或多个”。除由“和/或”子句明确确定的要素之外可任选地存在另一些要素,不管与明确确定的那些要素相关或不相关。因此,作为一个非限制性实例,当与例如“包含/包括”的开放式语言联合使用时,提及“A和/或B”在一个实施方案中可仅指A(任选地包括除B之外的要素);在另一个实施方案中,仅指B(任选地包括除A之外的要素);在另一个实施方案中,指A和B二者(任选地包括其他要素);等。

[0177] 如本文中在说明书和权利要求书中使用的,“或/或者”应理解为具有与上文限定的“和/或”相同的含义。例如,当在列表中分开术语时,“或/或者”或“和/或”应解释为包括性的,即包括多个要素或要素列表中的至少一个要素,但也包括多于一个要素,并且任选地包括另外的未列出项目。只有清楚地指出相反的术语,例如“仅有之一”或“正好之一”,或者当在权利要求书中使用时,“由...组成”将指包括多个要素或要素列表中的正好一个要素。一般来说,当前面有排他性术语例如“任一”、“之一”、“仅有之一”或“正好之一”时,本文中使用的术语“或/或者”应仅解释为表示排他性备选方案(即“一个或另一个但不是二者”)。

[0178] 如本文中在说明书和权利要求书中使用的,在提及一个或多个要素的列表时,短语“至少一个”应理解为意指选自要素列表中任意一个或多个要素的至少一个要素,但不一定包括要素列表中具体列出的每个和各个要素中的至少一个,并且不排除要素列表中要素的任意组合。该定义还允许除短语“至少一个”所提及的要素列表中明确确定的要素之

外还可任选地存在其他要素,不管与具体确定的那些要素相关或不相关。因此,作为一个非限制性实例,“A和B中的至少一个”(或者等同地,“A或B中的至少一个”,或者等同地“A和/或B中的至少一个”)在一个实施方案中可指至少一个A,任选地包括多于一个A,不存在B(并且任选地包括除B之外的要素);在另一个实施方案中,指至少一个,任选地包括多于一个B,不存在A(并且任选地包括除A之外的要素);在另一个实施方案中,指至少一个,任选地包括多于一个A和至少一个,任选地包括多于一个B(并且任选地包括其他要素);等。

[0179] 当词语“约”当在本文中在提及数字使用时,应理解,本发明的另一个实施方案包括没有经词语“约”的存在修饰的该数字。

[0180] 还应理解,除非明确指出相反,否则在本文中所要求保护的包括多于一个步骤或动作的任何方法中,该方法的步骤或动作的顺序不一定限于所记载的方法步骤或动作顺序。

[0181] 在权利要求书以及以上说明书中,例如“包含”、“包括”、“携带”、“具有”、“含有”、“涉及”、“容纳”、“由...构成”等的所有连接词应理解为是开放式的,即意指包括但不限于。只有连接词“由...组成”和“基本上由...组成”应分别是封闭式或半封闭式连接词,如 United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03中所述。

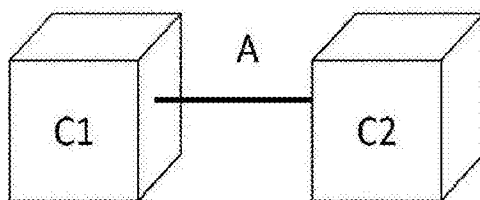


图1A

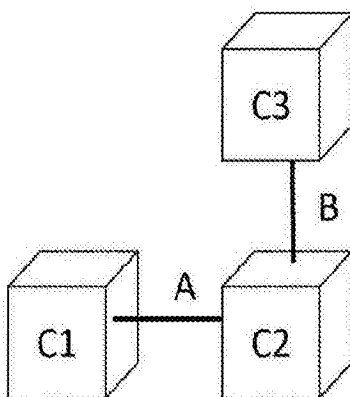


图1B

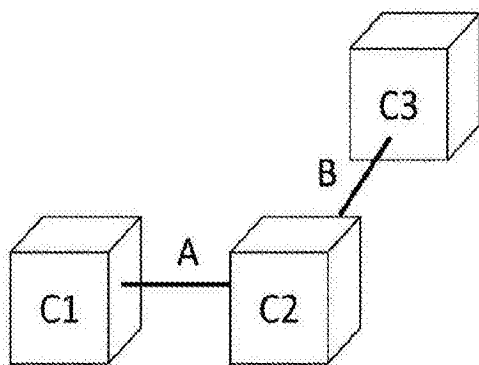


图1C

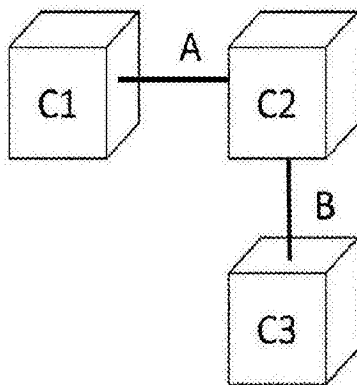


图1D

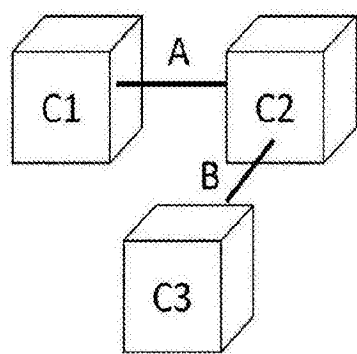


图1E

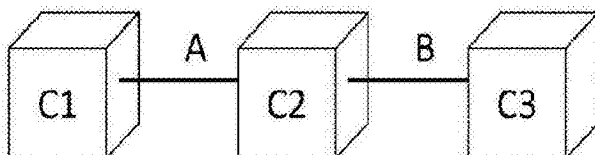


图1F

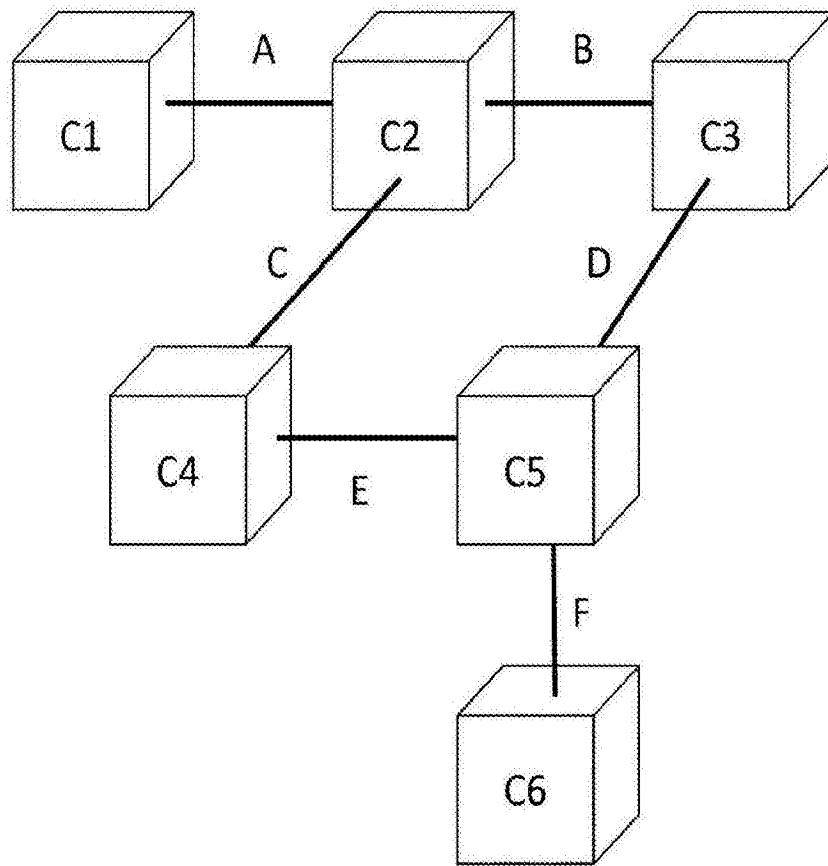


图2A

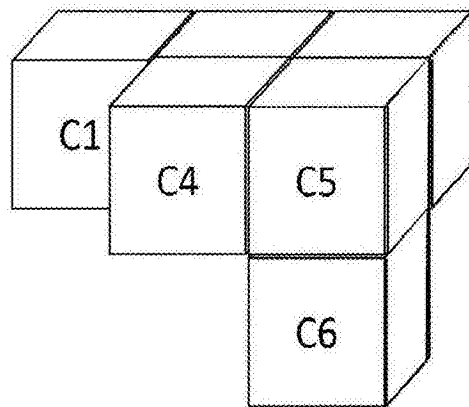


图2B

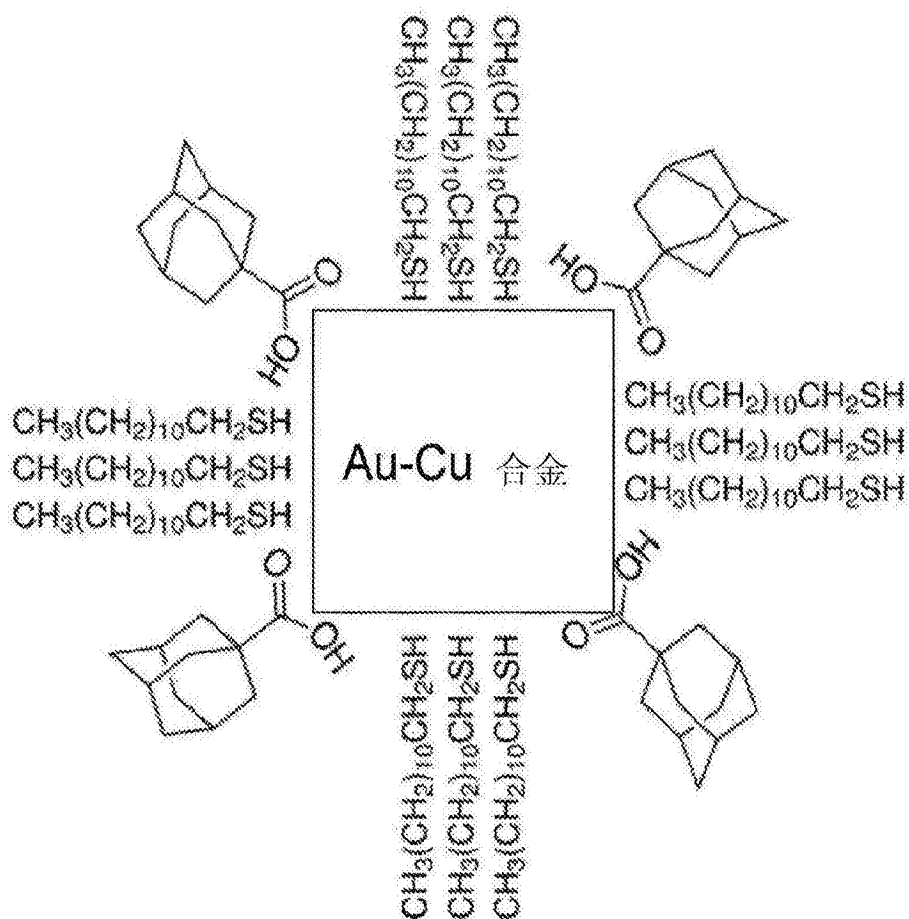


图3



图4A

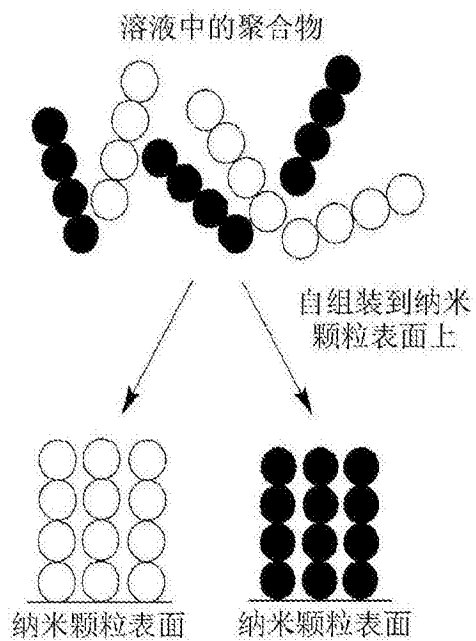


图4B

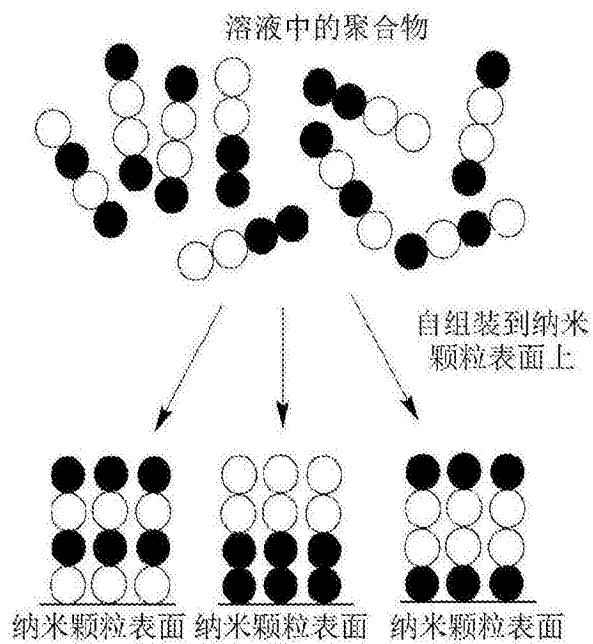


图4C

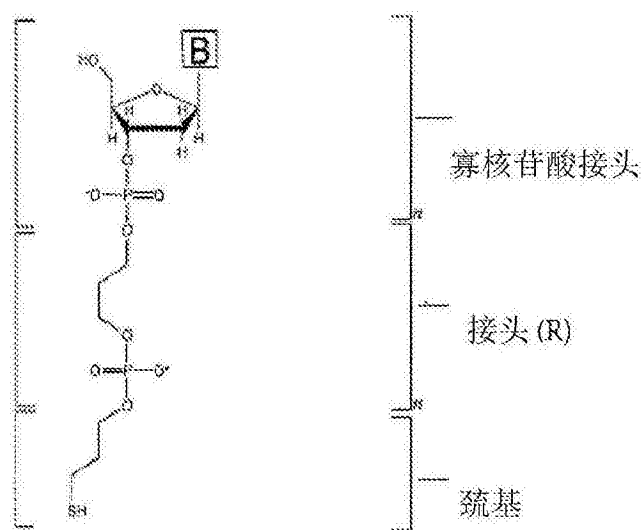


图5A

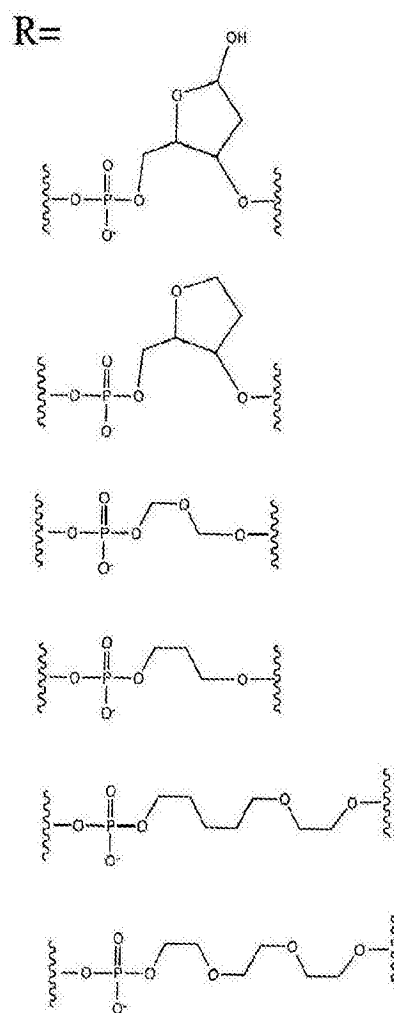
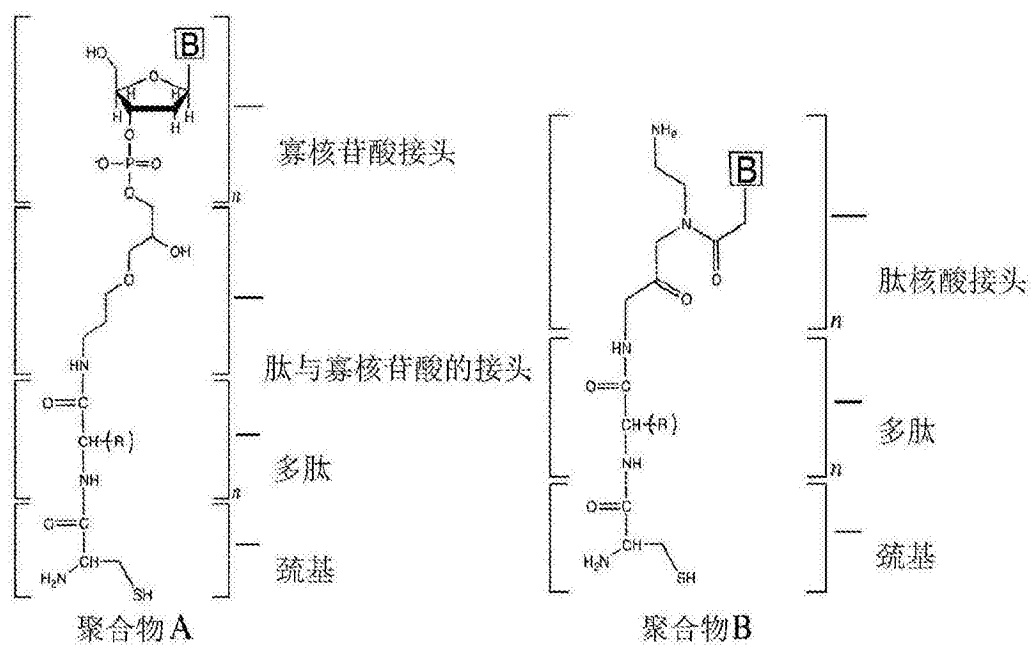
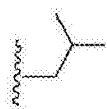


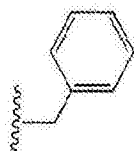
图5B



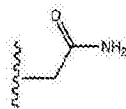
R=



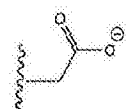
疏水性



芳香族



亲水性



疏水性-带电荷

图6

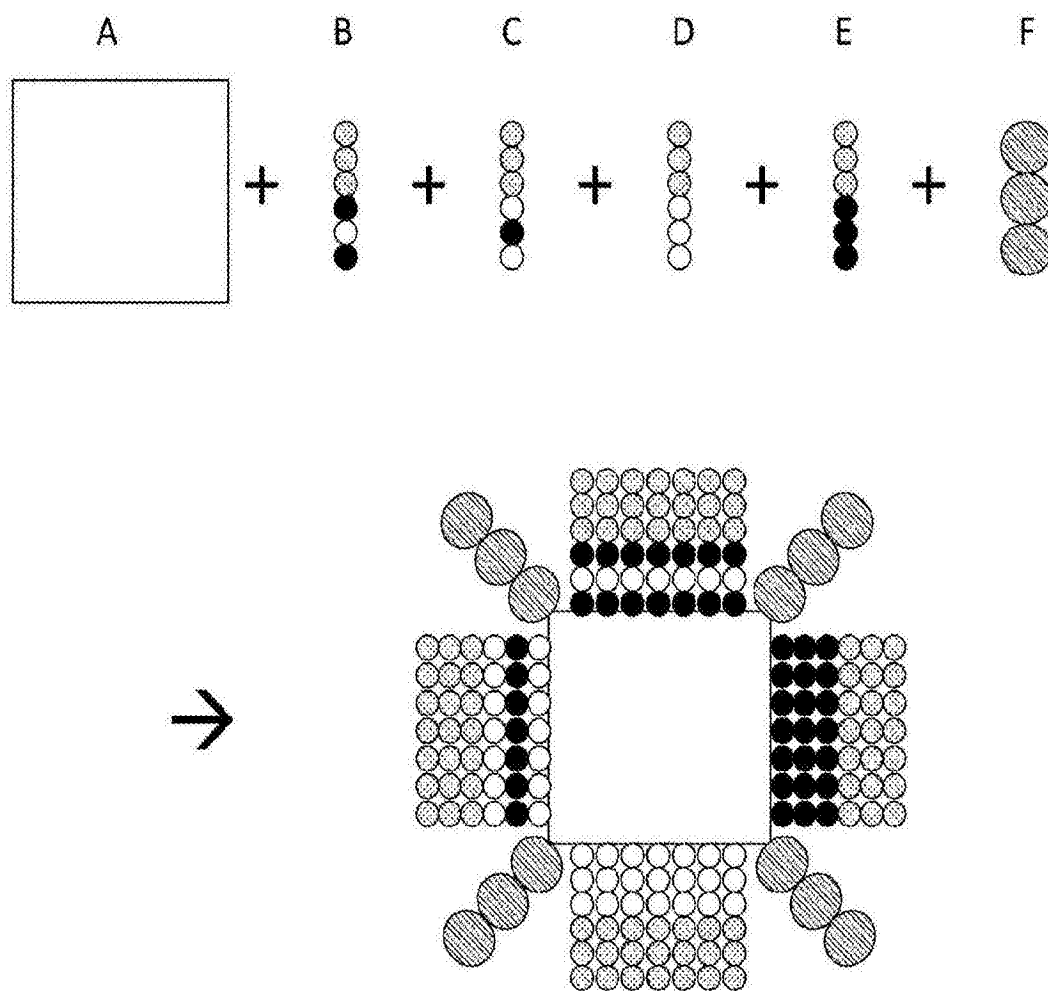


图7

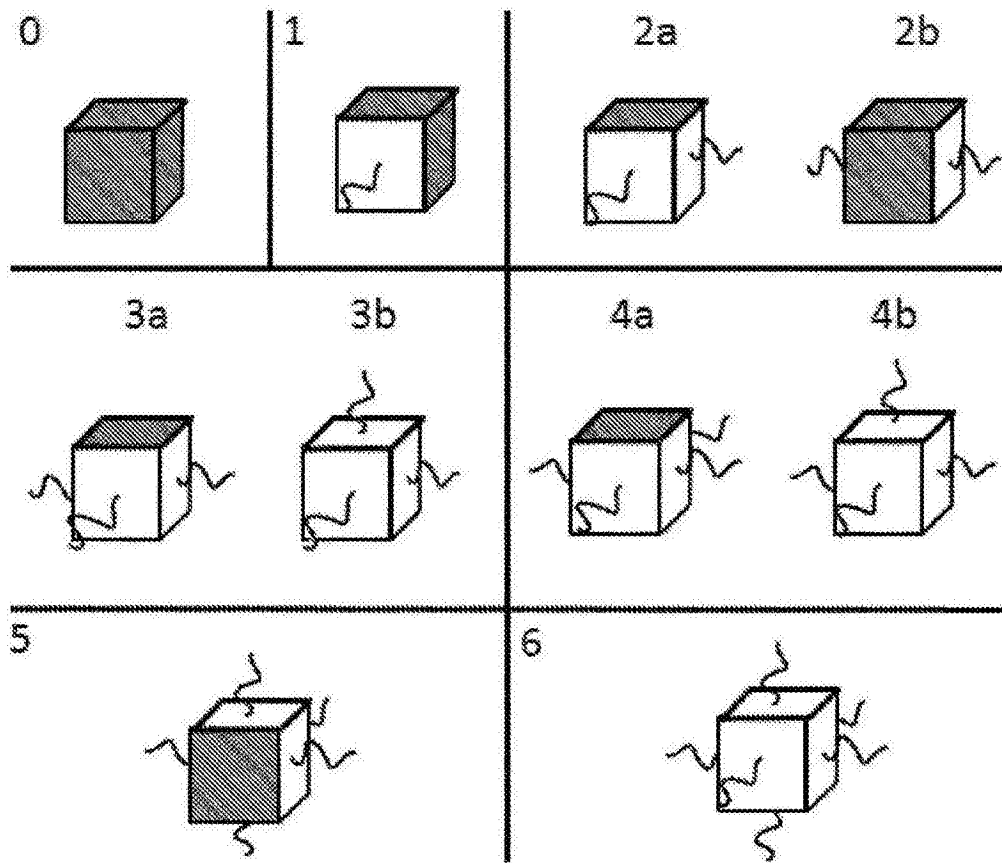


图8

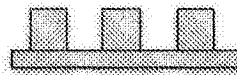
a

图9A

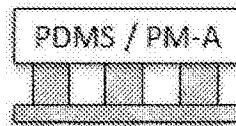
b

图9B

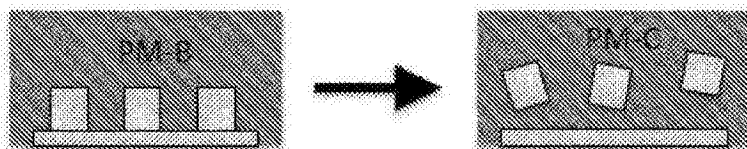
c

图9C

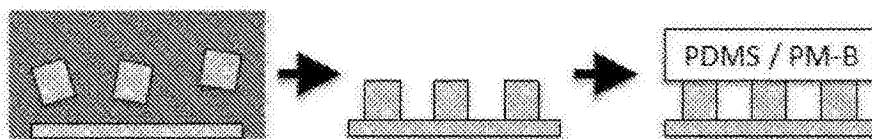
d

图9D

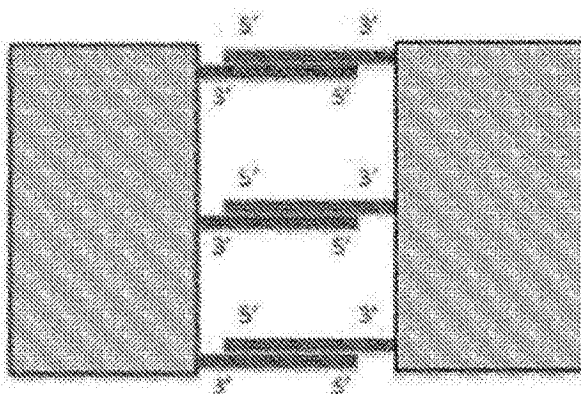
a

图10A

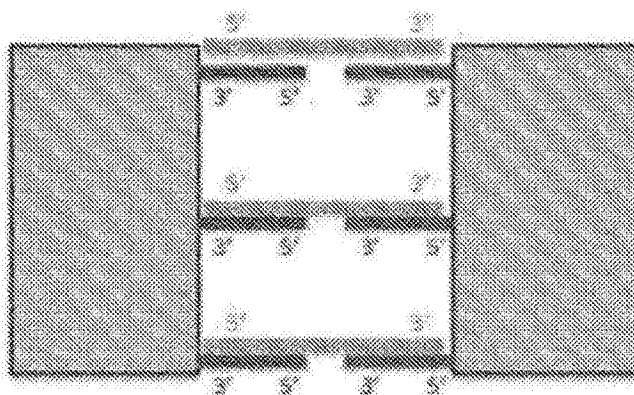
b

图10B

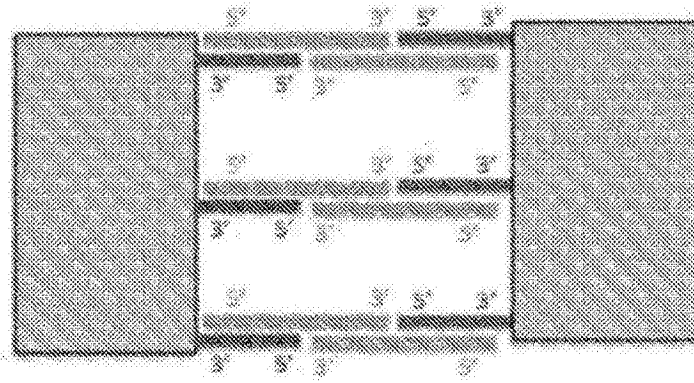
C

图10C



图11

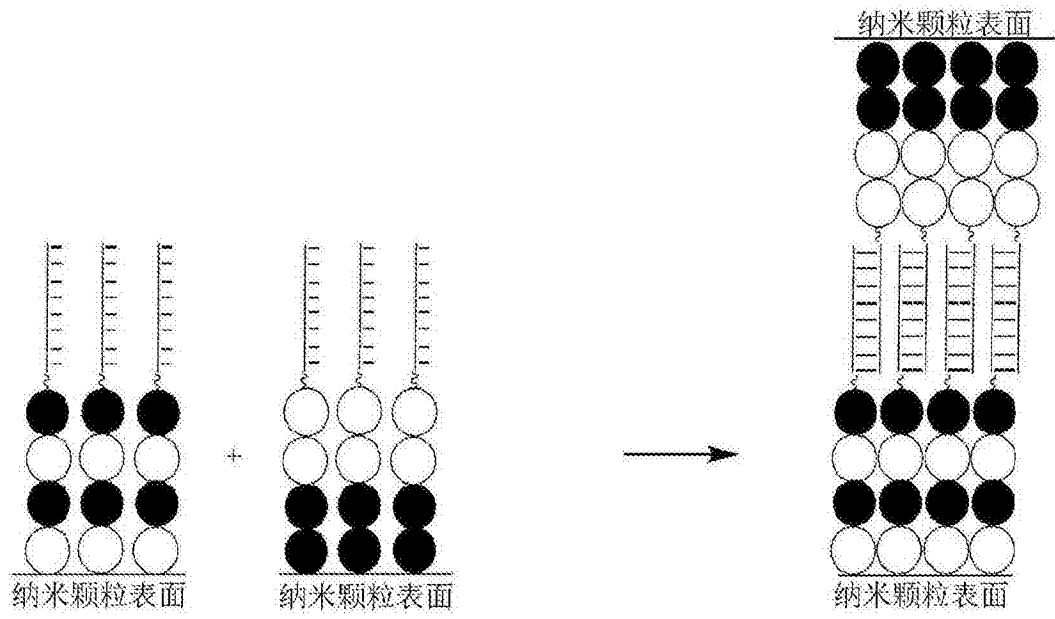


图12A

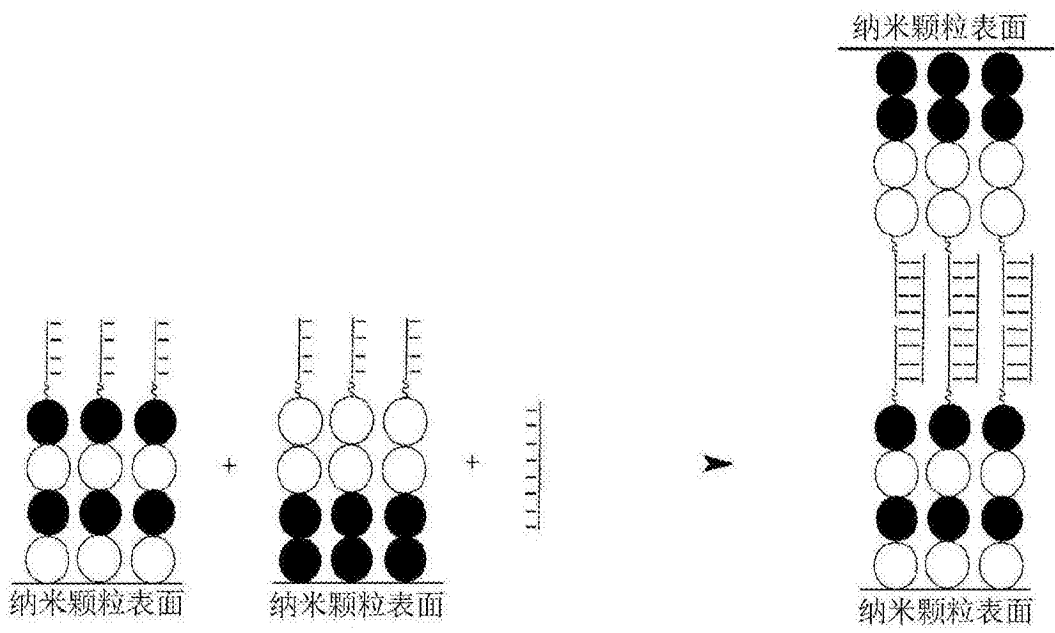


图12B

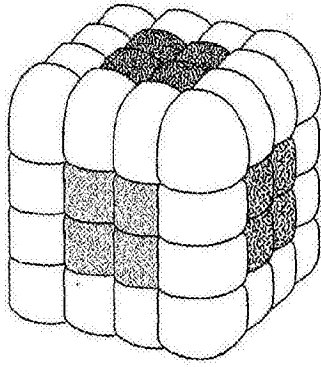


图13A

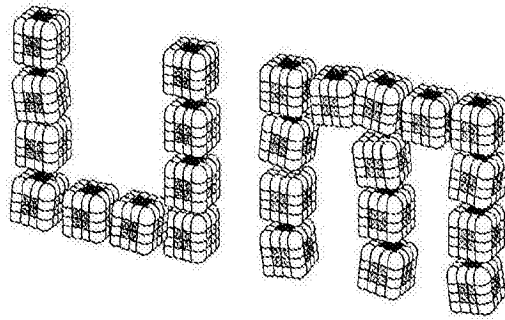


图13B

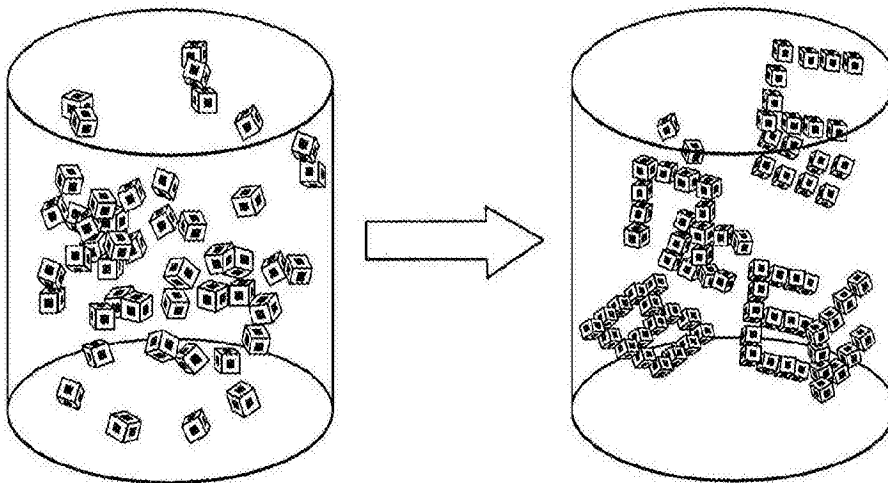


图13C

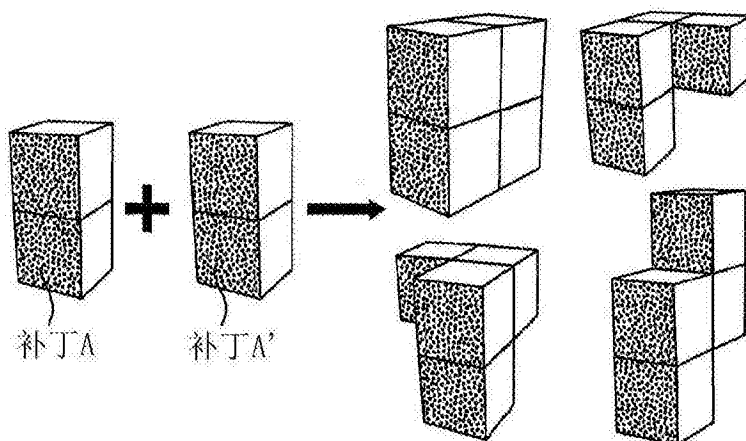


图14A

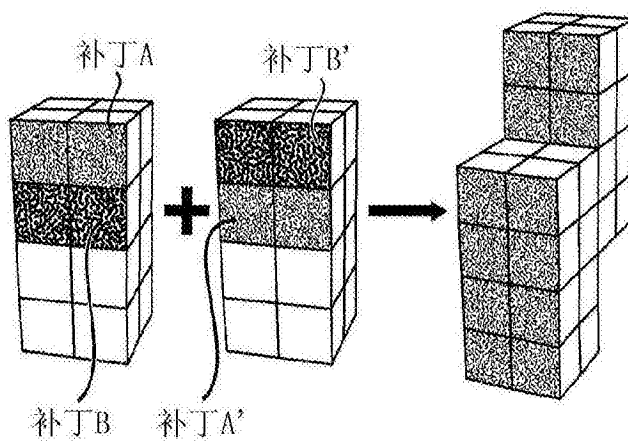


图14B

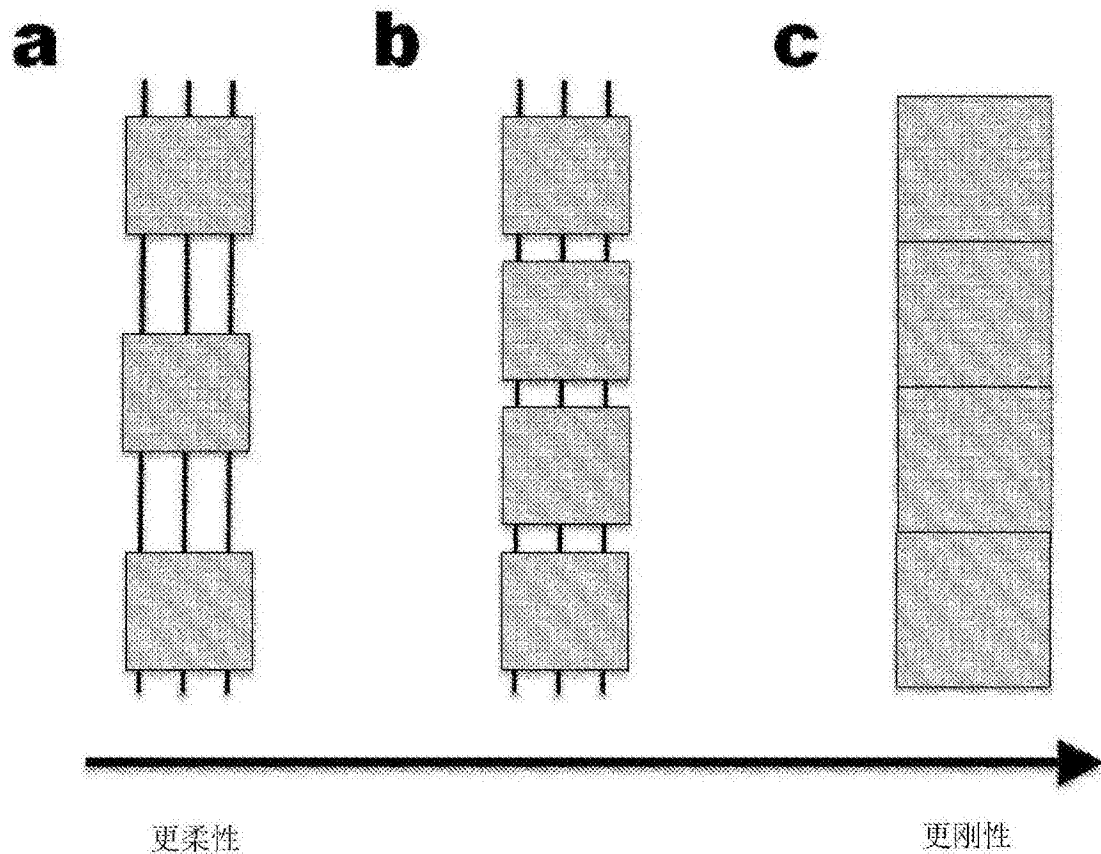


图15A

图15B

图15C

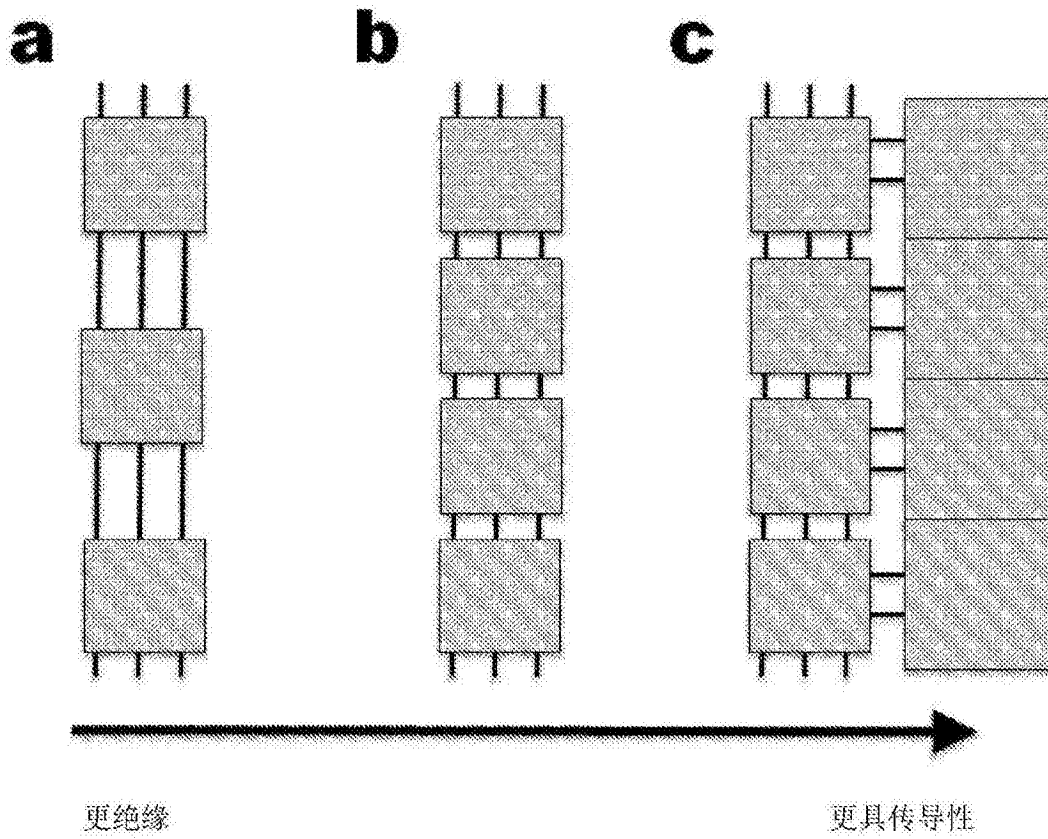


图16A

图16B

图16C

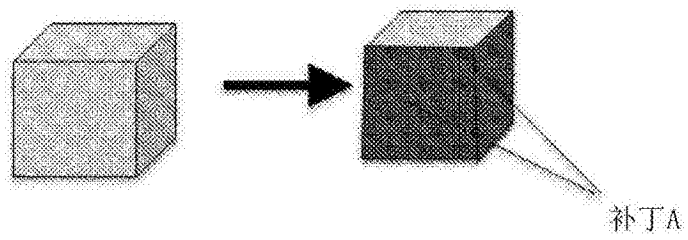
a

图17A

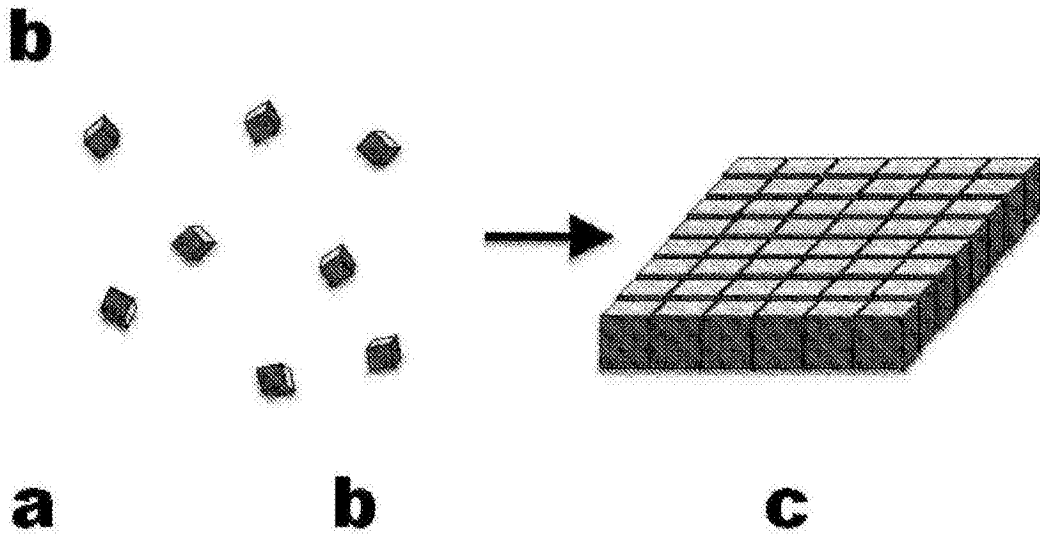


图17B

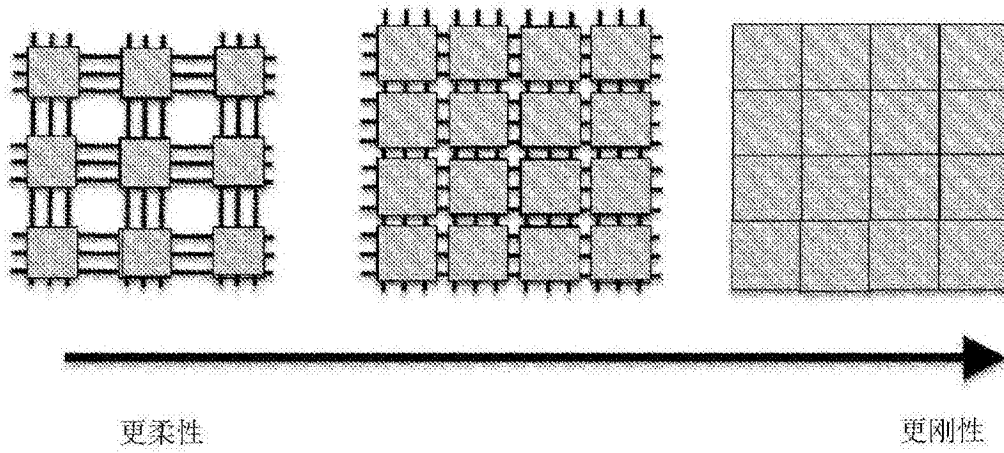


图18A

图18B

图18C

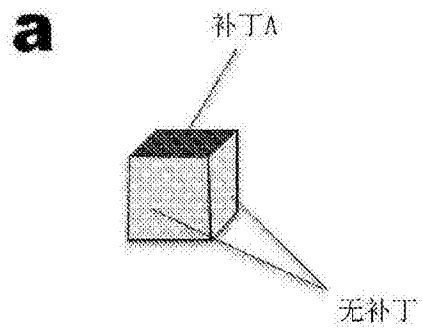


图19A

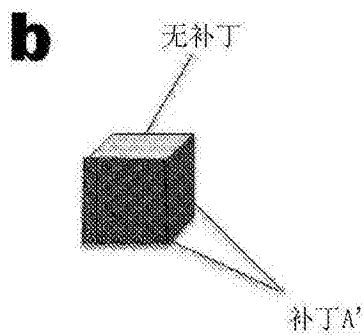


图19B

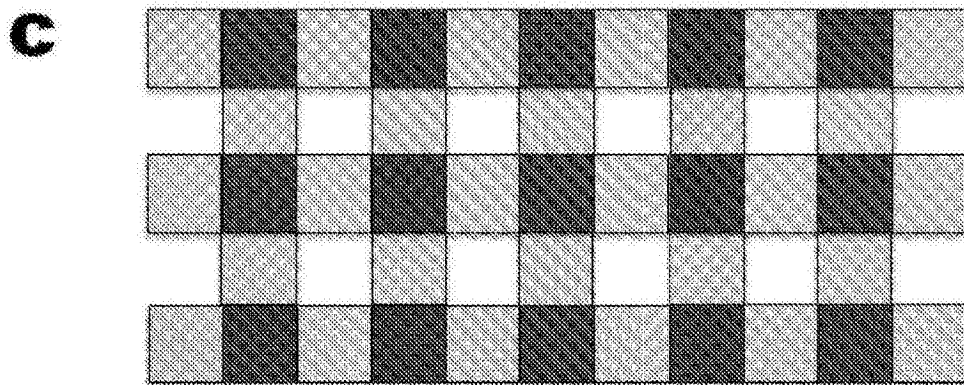


图19C

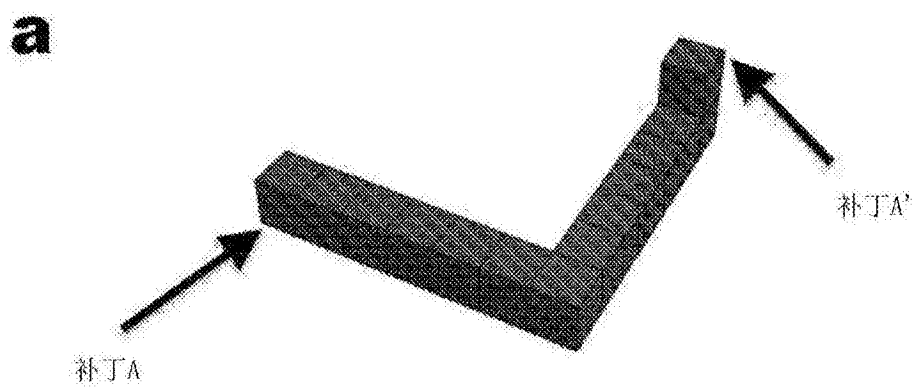


图20A

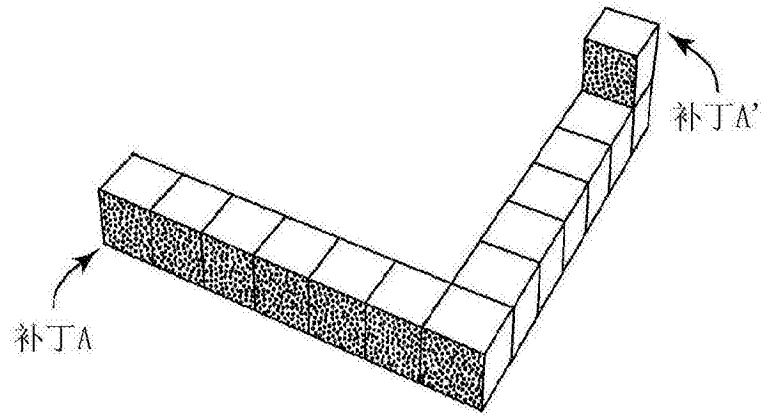


图20A

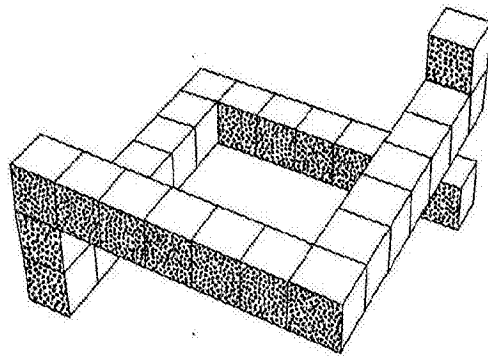


图20B

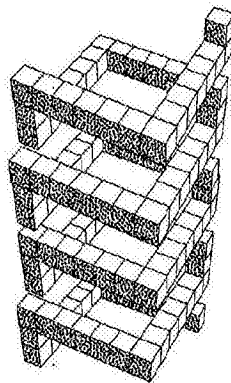


图20C

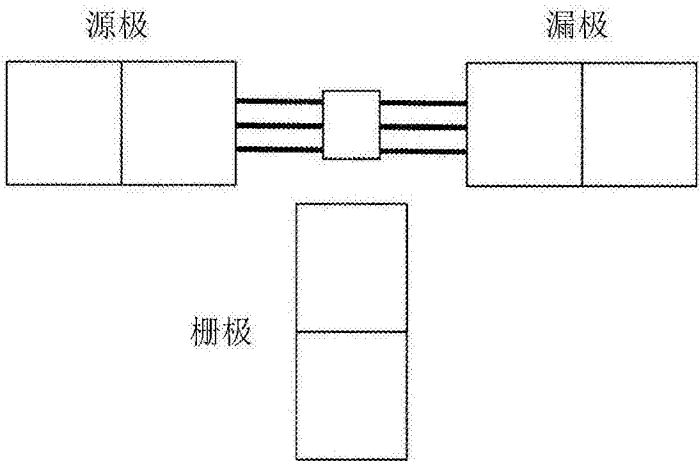


图21A

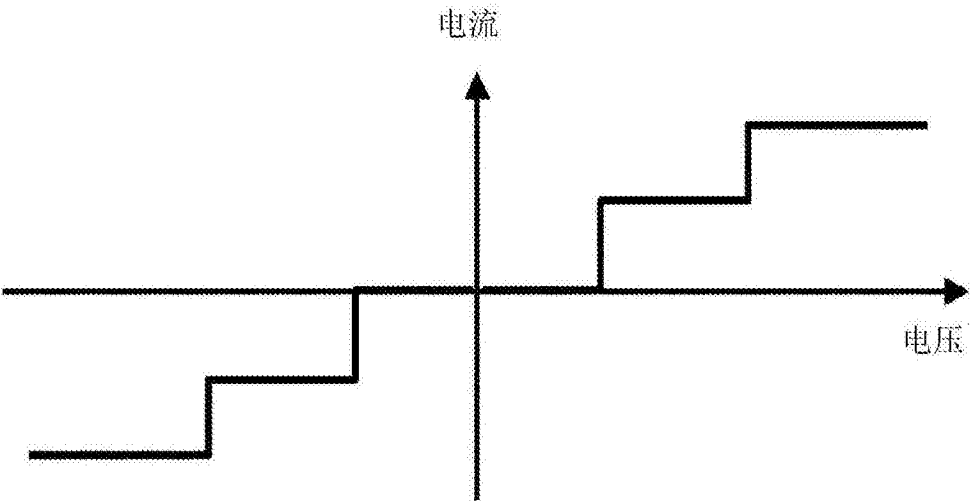


图21B

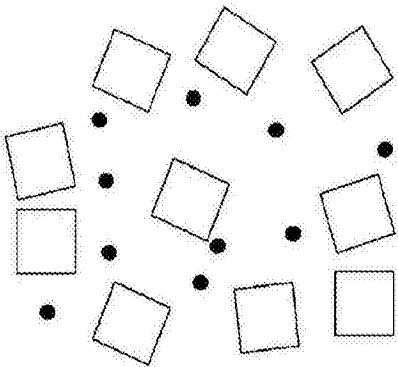


图22A

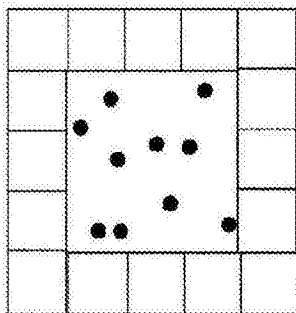


图22B

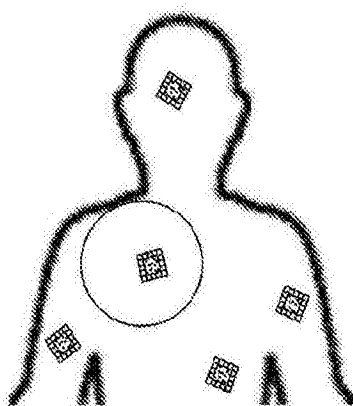


图22C

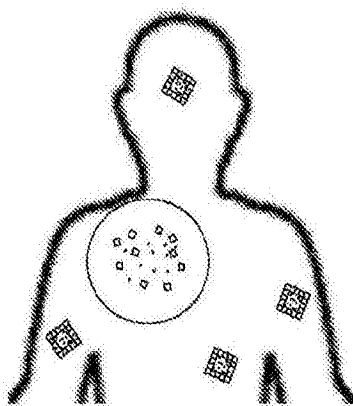


图22D

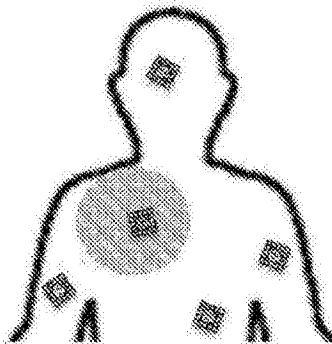
c

图22C

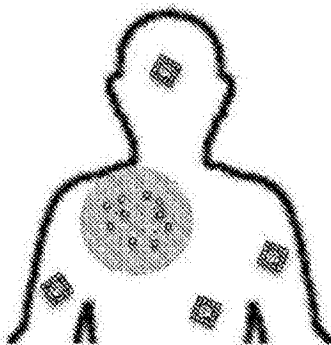
d

图22D

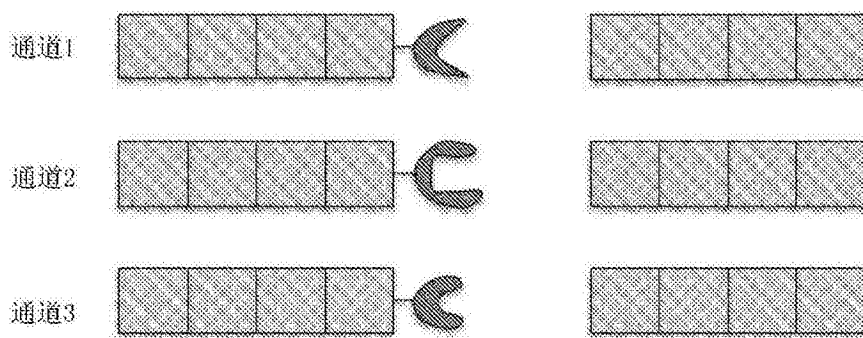
a

图23A

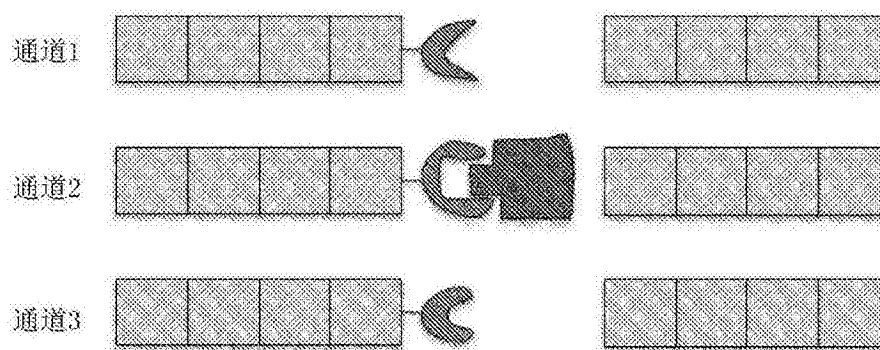
b

图23B

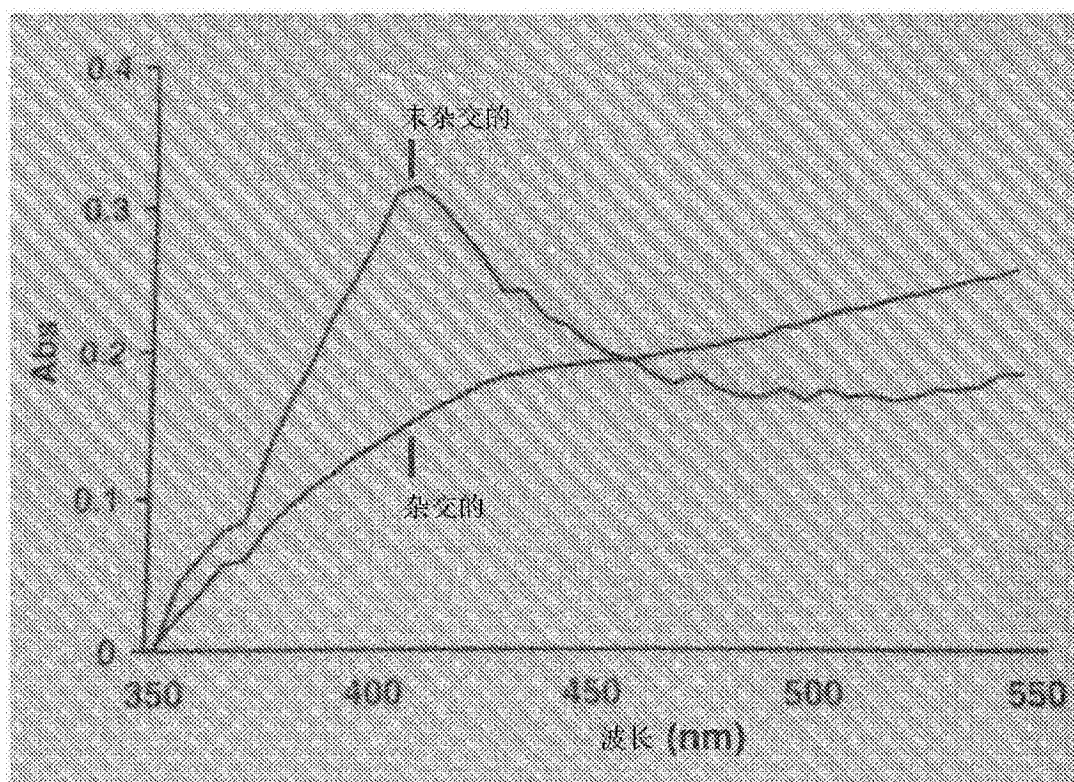


图24