

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4502208号  
(P4502208)

(45) 発行日 平成22年7月14日(2010.7.14)

(24) 登録日 平成22年4月30日(2010.4.30)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 33/543 (2006.01)

GO 1 N 33/552 (2006.01)

GO 1 N 33/543 5 2 5 C

GO 1 N 33/543 5 4 1 A

GO 1 N 33/543 5 7 5

GO 1 N 33/552

GO 1 N 33/543 5 2 5 U

請求項の数 12 (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2005-507480 (P2005-507480)  
 (86) (22) 出願日 平成15年8月13日(2003.8.13)  
 (65) 公表番号 特表2007-506934 (P2007-506934A)  
 (43) 公表日 平成19年3月22日(2007.3.22)  
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2003/000666  
 (87) 国際公開番号 W02005/015213  
 (87) 国際公開日 平成17年2月17日(2005.2.17)  
 審査請求日 平成18年7月31日(2006.7.31)  
 (31) 優先権主張番号 03153215.2  
 (32) 優先日 平成15年8月8日(2003.8.8)  
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 598098331  
 ツインファ ユニバーシティ  
 中華人民共和国 ベイジン 100084  
 , ハイダン ディストリクト  
 (73) 特許権者 504278260  
 キャピタルバイオ コーポレーション  
 中華人民共和国 ベイジン 102206  
 , チャンピン ディストリクト, ライ  
 フ サイエンス パークウェイ 18  
 (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74) 代理人 100062409  
 弁理士 安村 高明  
 (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蛍光性磁性ナノ粒子および調製のプロセス

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

りん光体フッ化物で覆われた磁性粒子を含むナノ粒子を調製するプロセスであって、該プロセスは以下：

a) ナノメートルサイズにされた磁性粒子および水性のフッ化物含有化合物を脱イオン水中に分散させる工程であって、該磁性粒子は、金属酸化物である、工程；

b) 工程 a) の該混合物と、りん光体ホストの可溶塩、吸収体/エミッタ対および希土類金属キレート剤を含む水溶液とを、該磁性粒子の周りに被膜を形成するりん光体フッ化物の沈殿物の形成を可能にするために十分な時間攪拌することにより接触させる工程；および

c) 約 300 から約 450 までの範囲の温度で、約 1 時間から約 10 時間の範囲の時間にわたって工程 b) の該りん光体被膜を有する該磁性粒子を加熱し、長波長の光によって励起された場合に可視波長領域の光を放出する該りん光体フッ化物で覆われた磁性粒子を得る工程、  
を包含する、プロセス。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記ナノメートルサイズにされた磁性粒子および水性フッ化物含有化合物が、超音波処理によって前記脱イオン水中に分散される、プロセス。

【請求項 3】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記工程 c ) のりん光体フッ化物で被覆された磁性粒子を被膜層で被覆する工程をさらに包含する、プロセス。

【請求項 4】

請求項 3 に記載のプロセスであって、前記被膜層が、 $\text{SiO}_2$  を含む、プロセス。

【請求項 5】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記ナノ粒子の表面が、官能基を含むように修飾される、プロセス。

【請求項 6】

請求項 5 に記載のプロセスであって、前記官能基が、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{S}-\text{S}-$ 、エポキシ基およびトリメトキシシリル基からなる群より選択される、プロセス。

10

【請求項 7】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記りん光体ホストがイットリウム、ランタンおよびガドリニウムからなる群より選択される、プロセス。

【請求項 8】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記吸収体が、イッテルビウムであり、そして前記エミッタがエルビウム、ホルミウム、テルビウムおよびツリウムからなる群より選択される、プロセス。

【請求項 9】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記希土類金属キレート剤が、エチレンジアミン四酢酸、トリエチレントトラアミン六酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸、ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸、1, 2 - ジアミノシクロヘキサン四酢酸、エチレングリコールビス (b - アミノエチルエーテル) 四酢酸およびそれらの塩からなる群より選択される、プロセス。

20

【請求項 10】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記水性フッ化物含有化合物が、 $\text{NaF}$ 、 $\text{KF}$ 、 $\text{NH}_4\text{F}$  および  $\text{HF}$  からなる群より選択される、プロセス。

【請求項 11】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記水性フッ化物含有化合物が、前記りん光体ホストの可溶塩、前記吸収体 / エミッタ対および前記希土類金属キレート剤の可溶塩との水溶液との接触の前、または該接触と同時に、水溶液中に含まれる、プロセス。

30

【請求項 12】

請求項 1 に記載のプロセスであって、前記りん光体ホスト可溶塩および前記吸収体 / エミッタ対が、塩酸または硝酸中で対応する金属酸化物を溶解し、そして引き続き該残留酸を取り除くことによって得られる、プロセス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、ハイブリッドナノ粒子およびそれらの作製プロセスに関する。より詳細に述べると、本発明はナノメートルサイズにされた磁氣的に応答する蛍光性粒子およびそれらの作製プロセスに関する。

40

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

生体磁気粒子は、イムノアッセイ、遺伝子工学、細胞分離などに広く用いられている表面修飾された磁氣的に応答する微小球である。Roy A. Whitehead および Lee Josephson らは、広範な種々の分子が付着し得る磁性粒子の調製のプロセスを提供した。これらの粒子は、金属酸化物コアとして、強磁性、超常磁性または常磁性の鉄の酸化物、コバルトの酸化物またはニッケルの酸化物を含み、一般的にこのコアは、

50

吸着により結合したかまたは共有結合したシースまたは被膜に囲まれている。このシースまたは被膜は有機官能基を有し、これらの官能基に生親和的吸着剤が共有結合され得る。磁性粒子は、放射免疫アッセイ、細胞分離、アフィニティークロマトグラフィー、固定化酵素系、核酸のハイブリダイゼーションおよび他の生物学的系における生物学的分類において有用である。特許文献 1 ~ 3 を参照。

#### 【 0 0 0 3 】

蛍光免疫測定法 ( F I A ) もまた生物学において広く用いられている。蛍光標識として用いられ得る多くの蛍光材料があり、例えば有機蛍光性色素、量子ドット、ダウンコンバーティング希土類蛍りん光体ナノ粒子およびアップコンバーティング蛍りん光体ナノ粒子などがある。

10

#### 【 0 0 0 4 】

W a n g らは、1 から 1 0 0 ミクロン範囲のサイズを有する磁氣的に応答する蛍光性ポリマー粒子を調製するプロセスを提供した。その蛍光性物質はこれらの粒子の数を求めるのに用いられた。これらのポリマー粒子はポリマーのコア粒子を含み、そのコアはポリマー層で一様に被覆され、このポリマー層は、生化学研究および免疫学研究のための高感度な定量試薬として、磁氣的に応答する金属酸化物を含む。これらの磁氣的に応答するポリマー粒子の表面は、さらに官能基化されたポリマーの別の層で被覆され得る。これらの磁氣的に応答する蛍光性ポリマー粒子は、生体物質 ( 例えば抗原、抗体、酵素 ) の受動的付着または共有結合的付着に用い得られ、または DNA / RNA ハイブリダイゼーションに用い得られる。そしてこれらの蛍光性ポリマー粒子は、種々のタイプのイムノアッセイ、DNA / RNA ハイブリダイゼーションプローブアッセイ、アフィニティー精製法、細胞分離ならびに他の医学的応用、診断的応用、および工業的応用のための固相として用いられ得る。特許文献 4 を参照。

20

#### 【 0 0 0 5 】

C h a n d l e r らは、磁氣的に応答する蛍光標識された粒子を調製するプロセスを提供した。これらのハブリッド微小球は、蛍光性微小球または発光性微小球および磁性ナノ粒子を用いて構成されている。その得られる粒子の表面上にある反応性部分は、生物学的に活性な分子の付着のために利用され得、このようにして選択的分離および分析学的アッセイが行われることを可能にする。識別可能な微小球の一部は、蛍光強度をもとに構成され得、そして分離は磁性含有量の可変の程度に基づき影響され得る。このように構成された複数の粒子集合は、多数の分野において有用性を見出し、この分野としては、臨床生物学的アッセイが挙げられる。米国特許出願第 0 9 / 8 2 6 , 9 6 0 号を参照。

30

【特許文献 1】米国特許第 4 , 5 5 4 , 0 8 8 号明細書

【特許文献 2】米国特許第 4 , 6 7 2 , 0 4 0 号明細書

【特許文献 3】米国特許第 4 , 6 2 8 , 0 3 7 号明細書

【特許文献 4】米国特許第 6 , 0 1 3 , 5 3 1 号明細書

#### 【発明の開示】

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【 0 0 0 6 】

( 発明の簡単な要旨 )

40

本発明は、ナノメートルサイズにされた蛍光性磁性粒子およびそのナノメートルサイズにされた蛍光性磁性粒子の調製プロセスを提供する。これらのナノ粒子は、無機層または有機層で被覆され得、そして表面修飾され得る。蛍光性色素、蛍光性量子ドット、ダウンコンバーティング希土類蛍りん光体、またはアップコンバーティング蛍りん光体のような蛍光性物質を用いてそれらのナノ粒子は構成され得る。これらのナノ粒子のためのその磁性物質は、 $Fe_3O_4$ 、 $\gamma-Fe_2O_3$ 、または他のコバルト、ニッケルもしくはマンガンの酸化物のような、超常磁性、常磁性または強磁性の金属酸化物ナノ粒子であり得る。これらのナノ粒子は、磁石によって操作され得る固相キャリアと、種々のタイプのイムノアッセイ、DNA / RNA ハイブリダイゼーション、アフィニティー精製法、細胞分離ならびに他の医学的応用、診断的応用および工業的応用のための蛍光標識との両方として使

50

用され得る。

【0007】

1つの局面において、本発明は、コア粒子を含むナノ粒子に関する。このコア粒子は、磁性物質および蛍光性物質を含み、そして、このナノ粒子は約1マイクロメートル未満の粒子サイズを有する。

【0008】

別の局面において、本発明は、りん光体フッ化物で覆われた磁性粒子を含むナノ粒子を調製するプロセスに関する。そのプロセスは、以下：

a) ナノメートルサイズにされた磁性粒子および水性のフッ化物含有化合物を脱イオン化水中に分散させる工程；b) 工程a)の混合物とりん光体ホストの可溶塩、吸収体/エミッター対および希土類金属キレート剤を含む水溶液とを、この磁性粒子の周りに被膜を形成するりん光体フッ化物の沈殿物の形成を可能にするために十分な時間攪拌することによって接触させる工程；および、c) 約300 から約450 までの範囲の温度で、約1時間から約10時間の範囲の時間にわたって工程b)のりん光体被膜を有する磁性粒子を加熱し、長波長の光によって励起された場合に、可視波長領域の光を放出するりん光体フッ化物で覆われた磁性粒子を得る工程、を含む。

【0009】

別の局面において、本発明はシリカで被覆された蛍光性粒子および磁性粒子を含むナノ粒子を調製するプロセスに関する。そのプロセスは以下：

a) ナノメートルサイズにされた磁性粒子およびナノメートルサイズにされた蛍光性粒子をアルコール中に分散させる工程；b) 脱イオン水および約28% (w/w)の濃度を有するアンモニアを工程a)の混合物に約20 から約80 までの範囲の温度で添加する工程；および、c) 工程b)の混合物にケイ酸n-エチル(TEOS)を加えた後、その混合物を約0.5時間から約8時間の範囲の時間にわたって攪拌し、ナノ粒子を得る工程、を含む。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

(本発明の詳細な記述)

限定目的ではなく、記述の明瞭さのために、本発明の詳細な記述は、以下の小節に分類されている。

【0011】

(A. 定義)

別な方法で定義されていない場合、本明細書中で使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明の属する分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書中で言及される全ての特許、出願、出願公開、およびその他の刊行物は、それら全体が参考として援用される。この節で述べられた定義が、本明細書中に参考として援用される特許、出願、出願公開、およびその他の刊行物で述べられる定義と反する、またはそうでなく不一致な場合、この節で述べられた定義が、参考によって本明細書中に援用された定義より優先する。

【0012】

本明細書中で使用される場合、「a」または「an」は「少なくとも」または「一つまたはそれ以上」を意味する。

【0013】

本明細書中で使用される場合、「りん光体」は、光学的な励起によって発光を示す固体の無機物の結晶性物質を意味する。

【0014】

本明細書中で使用される場合、「りん光体ホスト」は、りん光体中の3つの構成成分の一つ(通常は主要なもの)であって、光の吸収または光の発生プロセスに関与しないが、構造上の環境を他の2つの成分に提供する、ものを意味する。

【0015】

本明細書中で使用される場合、「吸収体／エミッター対」はりん光体中の２つの構成成分であって、一方が、より長い波長の光を吸収し、そして他方が、より短い波長の光を発して、アップコンバーティングプロセスを完了する、２つの構成成分を意味する。

【００１６】

（Ｂ．蛍光性磁性ナノ粒子）

本発明は、ナノメートルサイズにされたハイブリッド蛍光性磁性粒子およびこれらの作製プロセスに関する。これらの粒子はナノメートルスケールであり、そしてこれらの粒子は、光で励起された場合、蛍光を発し得る磁気的に応答するハイブリッド微小球体である。本発明は、多数の分野において有用性を見出し得、この分野としては、生物学的分離および生物学的検出を含む。

10

【００１７】

一つの局面において、本発明はコア粒子を含むナノ粒子を提供する。そのコア粒子は、磁性物質および蛍光性物質を含み、そしてそのナノ粒子は約１マイクロメートル未満のサイズを有する。

【００１８】

本発明のナノ粒子は、約７５０ナノメートル未満、約５００ナノメートル未満または約３００ナノメートル未満のサイズを有し得る。いくつかの実施形態において、粒子サイズは約３５ナノメートルから約２００ナノメートルまでにおよぶ。いくつかの実施形態において、粒子サイズは約８０ナノメートルから約２００ナノメートルまでにおよぶ。

【００１９】

例示的な磁性物質は、超常磁性物質、常磁性物質および強磁性物質を含む。いくつかの実施形態において、磁性物質は、コバルト、ニッケル、マンガン、および鉄の酸化物のような金属酸化物である。特定の実施形態において、金属酸化物は  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  である。別の実施形態において、金属酸化物は  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  である。

20

【００２０】

いくつかの実施形態において、ナノ粒子の飽和磁化は、約  $5 \text{ emu/g}$  と約  $60 \text{ emu/g}$  の間ある。

【００２１】

例示的な蛍光性物質としては、蛍光性色素、蛍光性有機金属化合物、アップコンバーティング蛍りん光体、ダウンコンバーティング蛍りん光体および蛍光性量子ドットが挙げられる。アップコンバーティング蛍光性物質はりん光体フッ化物であり得、例えば  $\text{YF}_3$  :  $\text{Yb}$ ,  $\text{Er}$ 、または  $\text{NaYF}_4$  :  $\text{Yb}$ ,  $\text{Er}$  の式を有するりん光体フッ化物である。いくつかの実施形態において、アップコンバーティングりん光体は、モリブデンを含む。ダウンコンバーティングりん光体は、 $\text{CaS}$  :  $\text{Eu}^{3+}$  または  $\text{SiAlO}_2$  :  $\text{Eu}^{3+}$  の式を有し得る。本発明の蛍光性量子ドットは、 $\text{CdSe/CdS}$ 、 $\text{ZnS/CdSe}$ 、または  $\text{GaAs}$  であり得る。

30

【００２２】

本発明のナノ粒子は、コア粒子に対して種々の構造を有し得る。例えば、本発明のコア粒子は、磁性物質の層で覆われたナノメートルサイズにされた蛍光性粒子を含み得る。ナノメートルサイズにされた蛍光性粒子は、蛍光性物質を含むポリマー粒子またはシリカ粒子であり得る。あるいは、コア粒子は、蛍光性物質の層で覆われた磁性粒子を含み得る。別の構造として、このコア粒子は磁性物質でドーブされた蛍光性粒子、または蛍光性物質でドーブされた磁性粒子を含み得る。別の構造として、コア粒子は、磁性粒子、蛍光性粒子、およびこの磁性粒子とこの蛍光性粒子とを結合するための物質を含む。その結合物質は  $\text{SiO}_2$  であり得る。いくつかの実施形態において、コア粒子は被覆層を有する。例えば、そのコア粒子は  $\text{SiO}_2$  で覆われ得る。被覆層の厚さは変化し得、そしてナノ粒子および飽和磁化の大きさは、この被覆層の厚さによって決まる。

40

【００２３】

いくつかの実施形態において、ナノ粒子の表面は官能基を含むように修飾され得る。例示的な官能基としては、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{S}-\text{S}-$ 、エポキ

50

シ基およびトリメトキシシリル基が挙げられる。いくつかの実施形態において、この官能基はナノ粒子の表面に固定化されている。

【0024】

いくつかの実施形態において、生体分子は、共有結合または非共有結合で、ナノ粒子に結合または結合体化され得る。例示的な生体分子として、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ビタミン、単糖、オリゴ糖、炭水化物、脂質およびこれらの複合体が挙げられる。これらの生体分子は、化学的な官能基を介して、またはナノ粒子の表面に含まれる別の生体分子（例えば、ビオチン、ストレプトアビジンおよびプロテインA）と結合することによって、ナノ粒子に結合体化し得る。

10

【0025】

ナノ粒子は、任意の適切な形状でも有し得、例えば四角形、円、楕円もしくは他の規則的な形状または不規則な形状が挙げられる。好ましくは、このナノ粒子は球の形状を有する。

【0026】

（C．蛍光性磁性ナノ粒子の調製プロセス）

別の局面において、本発明はりん光体フッ化物で覆われた磁性粒子を含むナノ粒子を調製するプロセスに関する。このプロセスは以下：a）ナノメートルサイズにされた磁性粒子および水性のフッ化物含有化合物を脱イオン水中に分散させる工程：b）工程a）の混合物と、りん光体ホストの可溶塩、吸収体/エミッタ対および希土類金属キレート剤の可溶塩を含む水溶液とを、磁性粒子の周りに被膜を形成するりん光体フッ化物の沈殿物の形成を可能にするために十分な時間攪拌することにより接触させる工程：およびc）約300 から約450 までの範囲の温度で、約1時間から約10時間の範囲の時間にわたって工程b）のりん光体被膜を有する磁性粒子を加熱し、長波長の光によって励起された場合に可視波長領域の光を放出するりん光体フッ化物で覆われた磁性粒子を得る工程、を含む。

20

【0027】

ナノメートルサイズにされた磁性粒子および水性フッ化物含有化合物は、任意の適切な方法、例えば超音波処理によって脱イオン水中に分散され得る。

【0028】

本プロセスは、工程c）のりん光体フッ化物で被覆された磁性粒子を、例えば $\text{SiO}_2$ 層のような被覆層で被覆する工程をさらに含み得る。ナノ粒子の表面は、官能基を含むようにさらに修飾され得る。例示的な官能基としては、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{S}-\text{S}-$ 、エポキシ基およびトリメトキシシリル基が挙げられる。

30

【0029】

本プロセスは、例えば生体分子のような任意の望ましい部分を、りん光体フッ化物粒子に固定化する工程をさらに包含し得る。例えば、本プロセスは、 $\text{SiO}_2$ で保護された粒子に生体分子を固定化する工程をさらに含み得る。任意の適切な生体分子が、用いられ得る。例示的な生体分子として、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ビタミン、単糖、オリゴ糖、炭水化物、脂質およびこれらの複合体が挙げられる。

40

【0030】

本プロセスにおいて、任意の適切なりん光体ホストが用いられ得る。例えば、本プロセスにおいて、イットリウム、ランタン、またはガドリニウムがりん光体ホストとして用いられ得る。本プロセスにおいて、任意の適切な吸収体が用いられ得る。例えば、本プロセスにおいて、イッテルビウムは吸収体として用いられ得る。本プロセスにおいて、任意の適切なエミッタが用いられ得る。例えば、本プロセスにおいて、エルビウム、ホルミウム、テルビウムまたはツリウムがエミッタとして用いられ得る。特別な実施形態において、吸収体がイッテルビウムであり、そしてエミッタがエルビウム、ホルミウム、テルビウムまたはツリウムである。

50

## 【0031】

本プロセスにおいて、任意の適切な希土類金属キレート剤が用いられ得る。例えば、エチレンジアミン四酢酸、トリエチレンテトラアミン六酢酸、ジエチレントリアミン五酢酸、ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸、1, 2 - ジアミノシクロヘキサン四酢酸、エチレングリコールビス (b - アミノエチルエーテル) 四酢酸およびそれらの塩が、本プロセスにおいて希土類金属キレート剤として用いられ得る。

## 【0032】

本プロセスにおいて、任意の適切な水性フッ化物含有化合物が用いられ得る。例えば、本プロセスにおいて、 $\text{NaF}$ 、 $\text{KF}$ 、 $\text{NH}_4\text{F}$  および  $\text{HF}$  が、水性フッ化物含有化合物として用いられ得る。水性フッ化物含有化合物は、りん光体ホストの可溶塩、吸収体 / エミッター対および希土類金属キレート剤の可溶塩の調製された水溶液との接触の前、または接触と同時に、水溶液中に含まれ得る。この水溶液中における、希土類金属キレート剤の量と全希土類イオンの量は、任意の適切な比を有し得る。例えば、この希土類金属キレート剤の量は、水溶液中における全希土類イオンの量の約 0 - 1 倍であり得る。

## 【0033】

りん光体ホストおよび吸収体 / エミッター対の可溶塩は任意の適切な方法で調製される。例えば、りん光体ホストおよび吸収体 / エミッター対の可溶塩は、塩酸または硝酸に対応する金属酸化物を溶解し、そして引き続きこの残留酸を取り除くことによって得られる。

## 【0034】

別の局面において、本発明はシリカで被覆された蛍光性粒子および磁性粒子を含むナノ粒子を調製するプロセスに関する。このプロセスは以下：a) ナノメートルサイズにされた磁性粒子およびナノメートルサイズにされた蛍光性粒子をアルコール中に分散させる工程；b) 脱イオン水および約 28% (w/w) の濃度を有するアンモニアを工程 a) の混合物に約 20 から約 80 までの範囲の温度で添加する工程；および、c) 工程 b) の混合物にケイ酸 n - エチル (TEOS) を加えた後、混合物を約 0.5 時間から約 8 時間の範囲の時間にわたって攪拌し、ナノ粒子を得る工程、を含む。

## 【0035】

任意のナノメートルサイズにされた磁性粒子が、本プロセスに用いられ得る。例示的な磁性粒子として、超常磁性体、常磁性体および強磁性体のナノメートルサイズにされた粒子、ならびにコバルト、ニッケルおよびマンガンのナノメートルサイズにされた磁性酸化物が挙げられる。

## 【0036】

本発明の蛍光性粒子は、 $\text{YF}_3 : \text{Yb}, \text{Er}$  の式を有し得る。この蛍光性粒子はまた、 $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}, \text{Er}$  の式を有し得る。この蛍光性粒子は、フルオレセインでドーブされたシリカ粒子であり得る。

## 【0037】

ナノ粒子の表面は、官能基を含むために修飾され得る。例示的な官能基として、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{S}-\text{S}-$ 、エポキシ基およびトリメトキシシリル基が挙げられる。

## 【0038】

本プロセスは、例えば生物学的分子のような任意の望ましい部分を、りん光体フッ化物粒子に固定化することをさらに含み得る。例えば、本プロセスは、 $\text{SiO}_2$  で保護された粒子に生物学的分子を固定化する工程をさらに含み得る。任意の適切な生物学的分子が、用いられ得る。例示的な生物学的分子として、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ビタミン、単糖、オリゴ糖、炭水化物、脂質およびこれらの複合体が挙げられる。

## 【0039】

いくつかの実施形態において、本プロセスで用いられるアルコールは、3 - プロパノールである。

10

20

30

40

50

## 【0040】

他の実施形態において、ナノメートルサイズにされた磁性粒子およびナノメートルサイズにされた蛍光性粒子は、超音波処理によって約0.5時間から約1時間までの範囲の時間にわたってアルコール中に分散される。

## 【0041】

(D. 例示的な実施形態)

本発明は、ナノメートルサイズにされたハイブリッドな蛍光性磁性粒子およびそれらの作製プロセスに関する。本発明のナノ粒子およびそれらの作製プロセスのいくつかの実施形態は、下部において、および実施例において、より詳細に記述されている。

## 【0042】

いくつかの実施形態において、本発明のナノ粒子は、図1に示される3層構造を有する。この図における黒色領域は、ナノメートルサイズにされた磁性粒子である。この図における灰色領域は、ナノメートルの厚さの蛍光性物質層であり、この物質として例えば無機蛍光性物質、有機蛍光性物質またはポリマーの蛍光性物質が挙げられる。外部シェルは、シリカのような無機物質またはポリマーの有機化合物であり得る。

## 【0043】

あるいは、黒色領域はナノメートルサイズにされた蛍光性粒子であり、そしてこの蛍光粒子としては、無機蛍光性物質、有機蛍光性物質、またはポリマーの蛍光物質粒子が挙げられる。灰色領域は、ナノメートルの厚さの磁性物質層である。磁性物質は、磁性物質、およびポリマー物質またはいくつかの他の物質から作られるハイブリッド物質であり得る。外部シェルは、シリカのような無機物質、またはポリマーの有機化合物であり得る。

## 【0044】

磁性物質は、超常磁性物質の、常磁性物質のまたは強磁性物質のナノメートルにされた粒子、もしくは鉄の酸化物、コバルトの酸化物、ニッケルの酸化物、またはマンガンなどの酸化物のような他のナノメートルにされた磁性酸化物であり得る。

## 【0045】

蛍光性物質は、アップコンバーティング蛍光性物質（例えばりん光体フッ化物ナノ粒子（Yi Guangshunら, CN: 02116679.X）、モリブデンのアップコンバーティングのりん光体ナノ粒子（Yi Guangshunら, CN: 01134861.5）など）；ナノメートルサイズにされたダウンコンバーティング希土類金属物質（例えばCaS:Eu<sup>3+</sup>, SiAlO<sub>2</sub>:Eu<sup>3+</sup>など）；蛍光性量子ドット（例えばCdSe/CdS, ZnS/CdSe, GaAsなど）；および、蛍光性のナノメートルサイズにされた粒子（例えば蛍光性物質を含むナノメートルサイズにされたポリマー粒子（Taylor J Rら Anal. Chem., 2000, 72: 1979-1986）および発光団をドーブしたシリカのナノ粒子（Santra Sら, Anal. Chem., 2001, 73: 4988-4993）など）であり得る。

## 【0046】

Yiの特許（CN: 02116679.X）を参照すると、ある型の3層のアップコンバーティングの蛍光性磁性ナノ粒子は以下の方法で調製され得る。ナノメートルサイズにされた磁性粒子および水性フッ化物含有化合物は、超音波処理によって脱イオン水中に分散される。りん光体ホストの可溶塩、吸収体/エミッター対および希土類金属キレート剤の水溶液が、この溶液に加えられる。十分な時間の激しい攪拌の後、りん光体フッ化物の沈殿物が磁性粒子の周りに被覆層として形成される。2層構造が形成される。そして、約300 から450 までの範囲の温度で約1時間から約10時間の範囲の時間にわたって、りん光体フッ化物層の沈殿の付着した粒子は加熱され、赤外線によって励起された場合に可視波長領域の光を放出するりん光体フッ化物物質のシェルを有する2層の磁性粒子を得る。これらの均一な粒子は、150 nm未満のサイズを有する。この2層の蛍光性磁性粒子の周りにシリカ層またはポリマー層を被覆する工程によって、3層構造が形成され得る。さらに、これらの3層の粒子は、種々の基で表面修飾され得る。これらの粒子は300 nm未満のサイズを有する。プロセスは、実施例8において詳細にさらに記述され

10

20

30

40

50

ている。

【0047】

それらの蛍光性磁性粒子は、アミノ基、エポキシ基、トリメトキシシリル基、スルフヒドリル基および他の官能基による表面修飾を有し、これらの表面修飾を有する粒子は3-アミノプロピル-トリメトキシシラン(APS)、3-グリシドキシプロピル-トリメトキシシラン(GPMS)、g-メタクリルオキシプロピルトリメトキシ-シラン(MPS)、3-メルカプトプロピルトリメトキシシラン(MPTS)および他の官能性のシラン試薬とそれぞれ反応させことによって得られ得る。それからエポキシ修飾された粒子は、アルデヒドで修飾された粒子を得るために、0.01 mol/L塩酸および0.2 mol/L過ヨウ素酸ナトリウム溶液で引き続き処理され得る。

10

【0048】

いくつかの実施形態において、本発明のナノ粒子は、コア-シェル構造(図2)を有するナノメートルスケールにされた球体であり、そしてこのコアは磁性物質および蛍光性物質から構成される一様な組成を有する。このシェルは、表面活性官能基を有する無機物質またはポリマー物質の保護被膜である。

【0049】

このコアは、磁性物質でドーブされた蛍光性物質または蛍光性物質でドーブされた磁性物質であり得る。

【0050】

この磁性物質は、超常磁性、常磁性、強磁性の、ナノメートルサイズにされた物質、あるいは鉄、コバルト、ニッケル、またはマンガンの、他のナノメートルサイズにされた磁性酸化物であり得る。

20

【0051】

蛍光性物質は、アップコンバーティング蛍光性物質(例えばりん光体フッ化物ナノ粒子(Yi Guangshunら, CN: 02116679.X)、モリブデンのアップコンバーティングのりん光体ナノ粒子(Yi Guangshunら, CN: 01134861.5)など); ナノメートルサイズにされたダウンコンバーティング希土類金属物質(例えばCaS: Eu<sup>3+</sup>, SiAlO<sub>2</sub>: Eu<sup>3+</sup>など); 蛍光性量子ドット(例えばCdSe/CdS, ZnS/CdSe, GaAsなど); および、蛍光性のナノメートルサイズにされた粒子(例えば蛍光性物質を含むナノメートルサイズにされたポリマー粒子(Taylor J Rら Anal. Chem., 2000, 72: 1979-1986)および発光団をドーブしたシリカのナノ粒子(Santora Sら, Anal. Chem., 2001, 73: 4988-4993)など)であり得る。

30

【0052】

それらの蛍光性磁性粒子は、アミノ基、エポキシ基、トリメトキシシリル基、スルフヒドリル基および他の官能基による表面修飾を有し、これらの表面修飾を有する粒子は3-アミノプロピル-トリメトキシシラン(APS)、3-グリシドキシプロピル-トリメトキシシラン(GPMS)、g-メタクリルオキシプロピルトリメトキシ-シラン(MPS)、3-メルカプトプロピルトリメトキシシラン(MPTS)および他の官能性のシラン試薬とそれぞれ反応させことによって得られ得る。それからエポキシ修飾された粒子は、アルデヒドで修飾された粒子を得るために、0.01 mol/L塩酸および0.2 mol/L過ヨウ素酸ナトリウム溶液で引き続き処理され得る。

40

【0053】

他の実施形態において、本発明のナノ粒子は、蛍光性ナノ微小球体、磁性ナノ微小球体およびそれらを共に結合する物質を含む(図3)。

【0054】

ナノメートルサイズにされた磁性粒子および蛍光性ナノ粒子は、約0.5時間から約1時間の範囲の時間にわたり超音波処理によって3-プロパノール中に分散され得る。脱イオン水と28%アンモニア(NH<sub>3</sub>・H<sub>2</sub>O)は、約20 から80 までの範囲の温度で添加される。それから、ケイ酸n-エチル(TEOS)が加えられ、そしてこの混合物

50

は約 0.5 時間から 8 時間の範囲の時間にわたって攪拌される。シリカで被覆された蛍光性磁性粒子が得られる。

【0055】

表面修飾されたナノ粒子を得るために、種々のシランが、上記の反応混合物に添加され得、ある時間にわたって反応され得る。これらのナノ粒子はマグネティックコンセントレーター (Pro Mega Co. より購入された) を用いて分離され、そしてこれらのナノ粒子は 3 - プロパノール、蒸留水およびエタノールで洗浄される。それから、これらのナノ粒子は 40 から 110 までの温度で乾燥される。種々の基の表面修飾を有するナノ粒子が、得られる。

【0056】

磁性物質は、超常磁性、常磁性、または強磁性の、ナノメートルサイズにされた粒子、あるいは鉄、コバルト、ニッケルまたはマンガンなどの、他のナノメートルサイズにされた磁性酸化物であり得る。

【0057】

蛍光性物質は、アップコンバーティング蛍光性物質 (例えばりん光体フッ化物ナノ粒子 (Yi Guangshun ら, CN: 02116679.X)、モリブデンのアップコンバーティングのりん光体ナノ粒子 (Yi Guangshun ら, CN: 01134861.5) など); ナノメートルサイズにされたダウンコンバーティング希土類金属物質 (例えば  $\text{CaS:Eu}^{3+}$ ,  $\text{SiAlO}_2\text{:Eu}^{3+}$  など); 蛍光性量子ドット (例えば  $\text{CdSe/CdS}$ ,  $\text{ZnS/CdSe}$ ,  $\text{GaAs}$  など); および、蛍光性のナノメートルサイズにされた粒子 (例えば蛍光性物質を含むナノメートルサイズにされたポリマー粒子 (Taylor J R ら Anal. Chem., 2000, 72: 1979-1986) および発光団をドープしたシリカのナノ粒子 (Santra S ら, Anal. Chem., 2001, 73: 4988-4993) など) であり得る。

【0058】

蛍光性物質と磁性物質とを共に結合する物質はまた、上記のシリカの代わりにポリマーの有機化合物であり得る。

【0059】

蛍光性磁性粒子は、アミノ基、エポキシ基、トリメトキシシリル基、スルフヒドリル基および他の官能基による表面修飾を有し、これらの表面修飾を有する粒子は 3 - アミノプロピル - トリメトキシシラン (APS)、3 - グリシドキシプロピル - トリメトキシシラン (GPMS)、g - メタクリルオキシプロピルトリメトキシ - シラン (MPS)、3 - メルカプトプロピルトリメトキシシラン (MPTS) および他の官能性のシラン試薬とそれぞれ反応させことによって得られ得る。それからエポキシ修飾された粒子は、アルデヒドで修飾された粒子を得るために、0.01 mol/L 塩酸および 0.2 mol/L 過ヨウ素酸ナトリウム溶液で引き続き処理され得る。

【0060】

上記の本プロセスにおいて調製された、ナノメートルサイズにされた蛍光性磁性粒子は、以下の特性を有し得る:

1) この粒子のサイズは、ナノメートルスケールであり、約 50 nm から約 200 nm までの範囲であり得る。この粒子のサイズは、コアのサイズおよび被覆層の厚さに依存する。

2) これらの粒子は、約 5 emu/g から約 60 emu/g までの範囲の飽和磁化を有し得る。この飽和磁化は、被覆層の厚さに従って変化し得る。これらの粒子は、非常に低い保磁力 (例えば 20 G 未満) を有し得る。全てのこれらの特色は、生物学的分離に対する条件を満たす。

3) ナノメートルサイズにされた無機蛍光性物質 (例えば量子ドットまたはアップコンバーティング蛍光性物質) を埋め込んだこれらの粒子は、蛍光性色素を用いる場合と比べ、より十分な蛍光特性、より大きなストークスシフト、より低いバックグラウンドおよびより大きな信号雑音比を有する。

10

20

30

40

50

4) これらの粒子は、アミノ基、エポキシ基、アルデヒド基、または、タンパク質、核酸および他の生体分子をこれらの粒子表面に結合することに使用され得る他の官能基で被覆され得る。

5) これらのナノ粒子は、分離における固相キャリアとしてと、種々のタイプのイムノアッセイ、DNA/RNAハイブリダイゼーションおよび検出、アフィニティー精製法、細胞分離、ならびに他の医学的応用、診断的応用および工業的応用のための蛍光標識との両方に使用され得る。

#### 【実施例】

#### 【0061】

(E. 実施例)

(実施例1：蛍光性磁性ナノ粒子の調製)

1) ナノメートルサイズにされた磁性粒子を調製するために、1.622 gの塩化鉄(III) ( $\text{FeCl}_3$ )と5.560 gの硫酸鉄(II) ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )を、一晚窒素の泡で脱酸素した200 mlの脱イオン水中に溶解した。この鉄(III)イオンの濃度 ( $[\text{Fe}^{3+}]$ ) は0.05 mol/Lで、この鉄(II)イオンの濃度 ( $[\text{Fe}^{2+}]$ ) は0.10 mol/Lであった。1.0 gのポリグリコール-4000をこの混合物中に加え、超音波処理によって30分間分散させた。この混合物を、60 °Cの温度で急速に攪拌した。次いで10 mlの28%アンモニアを、この混合物に急速に加えた。この混合物を、常に窒素雰囲気下で30分間急速に攪拌した。この超常磁性粒子を、マグネティックコンセントレーターを用いて分離し、脱イオン水とアルコールで数回洗浄した。これらの粒子を、60 °Cの温度で一晚真空乾燥した。濃い茶色のナノメートルサイズにされた磁性粒子を、すりつぶした後に得た。

#### 【0062】

2) 工程1)において調製された15 mgの磁性粒子とCN: 02116679.Xに従い調製した15 mgのYF3: Yb, Erを、100 mlの3-プロパノール中へ超音波処理によって30分間より長時間分散させた。その結果これら2種類の粒子は、この溶液中へ十分に分散した。それから、8.94 mlの28%アンモニアを触媒として混合物に加え、そして7.5 mlの脱イオン水を加水分解試薬として加えた。この混合物を油浴中において40 °Cの温度で温めた。それから、0.2 mlのケイ酸n-エチル(TEOS)を混合物に加え、その後3時間攪拌した。これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして3-プロパノール、脱イオン水、およびアルコールで数回洗浄した。この蛍光性磁性粒子を、110 °Cの温度で6時間真空乾燥した。

#### 【0063】

(実施例2：赤色蛍光を有する磁性粒子の調製)

1) 赤色蛍光を有する磁性ナノ粒子を調製するために、実施例1で調製した30 mgの磁性粒子と、30 mgのナノメートルサイズにされた希土類粒子CaS:  $\text{Eu}^{3+}$  とを、80 mlの3-プロパノール中へ超音波処理によって30分間より長時間分散させた。十分な超音波処理の後、この混合物は、十分に分散した溶液となった。8.94 mlの28%アンモニアを触媒として混合物中に加え、そして7.5 mlの脱イオン水を加水分解試薬として加えた。この混合物を油浴中において40 °Cの温度で温めた。それから0.15 mlのケイ酸n-エチル(TEOS)を混合物中に加え、約3時間攪拌した後に、この反応を止めた。

#### 【0064】

2) それからこれらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして3-プロパノール、脱イオン水、およびアルコールで数度洗浄した。それからこれらの粒子を、60 °Cの温度で5時間真空乾燥した。赤色蛍光を有する磁性粒子を得た。

#### 【0065】

(実施例3：表面にアミノ基を有する蛍光性磁性ナノ粒子の調製)

1) 表面にアミノ基を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得るために、実施例1において調製された30 mgの磁性粒子と、CN: 02116679.Xに従って調製された20 mg

10

20

30

40

50

の Y F 3 : Y b , E r とを、30 分間より長い時間の超音波処理によって 80 ml の 3 - プロパノール中に分散した。その結果これらの粒子は、この溶液中に十分に分散された。8.94 ml の 28 % アンモニアを触媒としてこの混合物中に加え、そして 7.5 ml の脱イオン水を加水分解試薬として加えた。この混合物を油浴中において 40 の温度で温める。次いで 0.1 ml のケイ酸 n - エチル ( T E O S ) をこの混合物中に加え、そしてこの混合物を約 2 時間攪拌した。次いで 0.1 ml の 3 - アミノプロピル - トリメトキシシラン ( A P S ) をこの混合物中に加えた。この反応をさらに 1 時間続けた。

【 0 0 6 6 】

2 ) それから、これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして 3 - プロパノール、脱イオン水およびアルコールで数度洗浄した。次いでこの蛍光性磁性粒子を 50 の温度で 6 時間真空乾燥した。表面にアミノ基を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得た。

【 0 0 6 7 】

( 実施例 4 : 表面にアルデヒド基を有する蛍光性磁性ナノ粒子の調製 )

1 ) 表面にアルデヒド基を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得るために、実施例 1 において調製された 30 mg の磁性粒子と、C N : 0 2 1 1 6 6 7 9 . X に従って調製された 30 mg の Y F 3 : Y b , E r とを、30 から 40 分間の超音波処理によって 160 ml の 3 - プロパノール中に分散した。その結果これらの粒子は、この溶液中に十分に分散された。17.8 ml の 28 % アンモニア水を触媒としてこの混合物に加え、そして 15.0 ml の脱イオン水を加水分解試薬として加えた。この混合物を油浴中において 40 の温度で温めた。次いで 0.1 ml のケイ酸 n - エチル ( T E O S ) をこの混合物中に加えた。約 2 時間攪拌した後、この反応を止めた。

【 0 0 6 8 】

2 ) それから、これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして 3 - プロパノール、脱イオン水およびアルコールで数度洗浄した。アセトンで洗浄した後、10 % 3 - グリシドキシプロピル - トリメトキシシラン ( G P M S ) を含む 3 ml トルエン溶液をこれらの粒子と混合し、そしてこの反応を振とう台の上で一晩行なった。次いでこれらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そしてトルエンとアセトンで数回洗浄した。次いでこれらの粒子を、110 の温度で 2 時間真空乾燥した。

【 0 0 6 9 】

3 ) これらの乾燥された粒子を、4 ml の 0.01 mol / L の塩酸で酸性にし、そしてこの混合物を振とう台の上で 0.5 時間攪拌した。次いでこれらの粒子を、脱イオン化水で数回洗浄した。これらの粒子を、0.2 mol / L の濃度の 4 ml 過ヨウ素酸ナトリウム溶液で 1 時間酸化した。次いでこれらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、脱イオン水で洗浄した。これらの粒子を、60 の温度で 6 時間真空乾燥した。表面にアルデヒド基を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得た。

【 0 0 7 0 】

( 実施例 5 : 表面にエポキシ基を有する蛍光性磁性ナノ粒子の調製 )

1 ) 表面にエポキシ基を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得るために、実施例 1 において調製された 30 mg の磁性粒子と、C N : 0 2 1 1 6 6 7 9 . X に従い調製された 30 mg の Y F 3 : Y b , E r とを、30 分より長い時間の超音波処理によって 160 ml の 3 - プロパノール中に分散した。その結果これらの粒子は、この溶液中に十分に分散された。17.8 ml の 28 % アンモニアを触媒として混合物中に加え、そして 15.0 ml の脱イオン水を加水分解試薬として加えた。この混合物を油浴中において 40 の温度に温めた。0.1 ml のケイ酸 n - エチル ( T E O S ) をこの混合物中に加えた。約 2 時間攪拌した後、0.1 ml の 3 - グリシドキシプロピル - トリメトキシシラン ( G P M S ) をこの混合物中に加えた。この反応をさらに 1 時間続け、それからこの反応を止めた。

【 0 0 7 1 】

2 ) それから、これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして 3 - プロパノール、脱イオン水およびアルコールで数度洗浄した。次いでこれらの蛍光性磁

性粒子を60の温度で6時間真空乾燥した。表面にエポキシ基を有する蛍光性磁性粒子を得た。

【0072】

(実施例6：薄い被膜層を有する蛍光性磁性ナノ粒子の調製)

1) 薄い被覆層を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得るために、実施例1において調製された30mgの磁性粒子と、CN：02116679.Xに従って調製された30mgのYF3：Yb，Erとを、30分より長い時間の超音波処理によって160mlの3-プロパノール中に分散した。その結果これらの粒子は、この溶液中に十分に分散された。17.8mlの28%のアンモニア水を触媒としてこの混合物中に加え、そして15.0mlの脱イオン水を加水分解試薬としてこの混合物中に加えた。この混合物を油浴中で40の温度で温めた。0.05mlのケイ酸n-エチル(TEOS)をこの混合物中に加えた。約2時間攪拌した後、この反応を止めた。

10

【0073】

2) それから、これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして3-プロパノール、脱イオン水およびアルコールで数度洗浄した。これらの粒子を、60の温度で6時間真空乾燥した。薄い被膜層を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得た。

【0074】

(実施例7：厚い被膜層を有する蛍光性磁性ナノ粒子の調製)

1) 厚い被膜層を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得るために、実施例1において調製された30mgの磁性粒子と、CN：02116679.Xに従って調製された30mgのYF3：Yb，Erとを、30分より長い時間の超音波処理によって160mlの3-プロパノール中に分散した。その結果これらの粒子は、この溶液中に十分に分散された。17.8mlの28%のアンモニア水を触媒としてこの混合物に加え、そして15.0mlの脱イオン水を加水分解試薬として混合物に加えた。この混合物を油浴中で40の温度で温めた。この混合物を攪拌している間に、0.2mlのケイ酸n-エチル(TEOS)をこの混合物中に加え、そしてこの反応を約2時間続けた。

20

【0075】

2) それから、これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして3-プロパノール、脱イオン水およびアルコールで数度洗浄した。これらの粒子を、60の温度で6時間真空乾燥した。比較的厚い被膜層を有する蛍光性磁性ナノ粒子を得た。

30

【0076】

(実施例8：3層構造を有する蛍光性磁性ナノ粒子の調製)

1) 実施例1において調製された100mgの磁性粒子と、2.1gのフッ化ナトリウムとを120mlの脱イオン水中に溶解し、そして40分より長い時間の超音波処理によって十分に分散されたコロイド溶液を調製した。

【0077】

2)  $YCl_3$  (0.2mol/L)、 $YbCl_3$  (0.2mol/L) および  $ErCl_3$  (0.2mol/L) の原液を、100mLのビーカー中に16.0mL：3.40mL：0.60mLの体積比で混合した。この混合物中におけるランタニドのイオンのモル比は、 $Y^{3+} : Yb^{3+} : Er^{3+} = 80 : 17 : 3$ であった。

40

【0078】

3) 20mlの0.2M EDTA溶液を、工程2)で調製された溶液中に導入した。次いでこの混合溶液を、1時間にわたって急速に攪拌しながら、工程1)で調製した溶液中に導入した。

【0079】

4) これらの磁性粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして磁性粒子でない粒子を洗浄溶液が澄むまで脱イオン水で洗浄により除去した。次いでこれらの磁性粒子をマッフル炉で常時水素雰囲気の下で5時間加熱した。そして、2層構造を有する磁性粒子を得た。

【0080】

50

5) 工程4)で調製された30mgの粒子を、30分より長い時間の超音波処理によって80mlの3-プロパノール中に分散した。その結果これらの粒子は、この溶液中に十分に分散された。8.94mlの28%アンモニア水をこの混合物中に触媒として加え、そして7.5mlの脱イオン水を加水分解試薬として加えた。この混合物を油浴中において40の温度で加熱した。0.1mlのケイ酸n-エチル(TEOS)を、この混合物中に加えた。約3時間攪拌した後、この反応を止めた。

【0081】

6)それから、これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして3-プロパノール、脱イオン水およびアルコールで数回洗浄した。これらの粒子を、110の温度で6時間真空乾燥した。約80から約200nmの範囲のサイズを有する3層構造の蛍光性磁性ナノ粒子を得た。

【0082】

(実施例9：表面にアルデヒド基を有するFITC蛍光性磁性粒子の調製)

1)実施例1において調製された30mgの磁性粒子と、20mgのFITCでドーブされたシリカのナノ粒子とを、30分より長い時間の超音波処理によって160mlの3-プロパノール中に分散した。その結果これらの粒子はこの溶液中に十分に分散された。17.8mgの28%アンモニア水を触媒としてこの混合物中に加え、そして15.0mlの脱イオン水を加水分解試薬として加えた。この混合物を、油浴中で40の温度で加熱した。0.1mlのケイ酸n-エチル(TEOS)をこの溶液に加えた。約2時間の攪拌の後、0.1mlの3-グリシドキシプロピル-トリメトキシシラン(GPMS)を、この混合物中に加えた。この反応をさらに1時間続け、そしてこの反応を止めた。

【0083】

2)それから、これらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして3-プロパノール、脱イオン水およびアルコールで数度洗浄した。次いでこれらの粒子を60の温度で6時間真空乾燥した。表面にエポキシ基を有するFITC蛍光性磁性ナノ粒子を得た。

【0084】

3)乾燥されたこれらの粒子を、0.01mol/Lの濃度の4mlの塩酸で酸性化し、この混合物を振とう台の上で0.5時間攪拌した。次いでこれら粒子を、脱イオン水で数度洗浄した。これらの粒子は0.2mol/Lの濃度の4mlの過ヨウ素酸ナトリウム溶液で1時間酸化した。次いでこれらの粒子をマグネティックコンセントレーターで分離し、そして脱イオン水で洗浄した。次いで、これらの粒子を60の温度で6時間真空乾燥した。表面にアルデヒド基を有するFITC蛍光性磁性ナノ粒子を得た。

【0085】

上記の実施例は、例証となる目的のためだけに含まれたのであって、本発明の範囲を限定することを意図されていない。上記の実施例に対する多くの変化があり得る。上記の実施例に対する修飾や変化が当業者に明らかであるので、本発明は添付の特許請求の範囲の範囲のみによって限定されることを意図されている。

【図面の簡単な説明】

【0086】

【図1】図1は、3層構造を有するナノメートルサイズにされた粒子を図示する。黒色領域は、ナノメートルサイズにされた磁性粒子または蛍光性粒子であり得る。灰色領域は、蛍光性物質層または磁性物質層であり得る。斜線部領域は外部シェルである。

【図2】図2は、磁性物質および蛍光性物質から構成されるコア、ならびにシェル(斜線部)を有するナノメートルサイズにされた粒子を図示する。そのコアは磁性物質(灰色)でドーブされた蛍光性物質(黒色)、または蛍光性物質(灰色)でドーブされた磁性物質(黒色)であり得る。

【図3】図3は、蛍光性ナノ球体(黒色)、磁性ナノ球体(灰色)、およびそれらを付着させる物質(斜線部)を含むナノメートルサイズにされた粒子を図示する。

【図4】図4は、実施例1で記述されたプロセスによって調製された蛍光性磁性粒子の2

10

20

30

40

50

00,000倍の透過型電子顕微鏡写真(TEM)を示す。

【図5】図5は、実施例1で記述されたプロセスによって調製された蛍光性磁性粒子の80,000倍の透過型電子顕微鏡写真(TEM)を示す。

【図6】図6は、実施例1で記述されたプロセスによって調製された蛍光性磁性粒子の80,000倍の別の透過型電子顕微鏡写真(TEM)を示す。

【図7】図7は、実施例1で記述されたプロセスによって調製された蛍光性磁性粒子の磁性ヒステリシスループを示す。

【図8】図8は、実施例1で記述されたプロセスで調製された蛍光性磁性粒子のアップコンバーティング蛍光(980nmで励起)の発光曲線を示す。

【図9】図9は、実施例2で記述されたプロセスで調製されたカゼイン<sup>+</sup> 蛍光性磁性粒子のダウンコンバーティング蛍光の発光曲線を示す。

【図10】図10は、実施例8で記述されたプロセスによって調製された3層の蛍光性磁性粒子の50,000倍の透過型電子顕微鏡写真(TEM)を示す。

【図11】図11は、実施例8で記述されたプロセスによって調製された3層の蛍光性磁性粒子の100,000倍の透過型電子顕微鏡写真(TEM)を示す。

【図12】図12は、実施例8で記述されたプロセスで調製された3層の蛍光性磁性粒子のアップコンバーティング蛍光(980nmで励起)の発光曲線を示す。

【図13】図13は、実施例8で記述されたプロセスによって調製された3層の蛍光性磁性粒子の磁性ヒステリシスループを示す。

【図1】

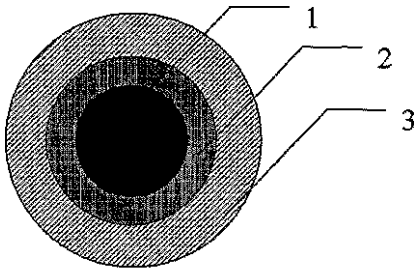


Fig. 1

【図3】

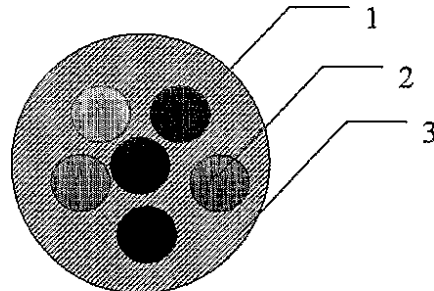


Fig. 3

【図2】

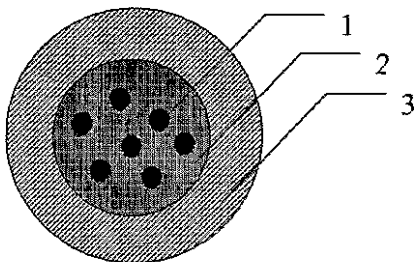


Fig. 2

【図 4】

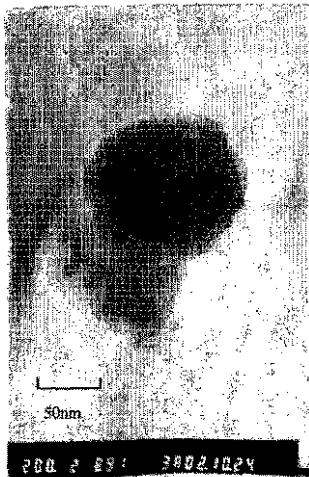


Fig. 4

【図 5】

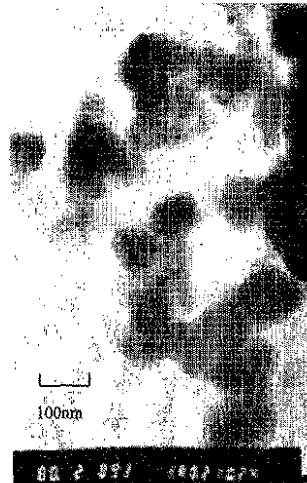


Fig. 5

【図 6】



Fig. 6

【図 7】

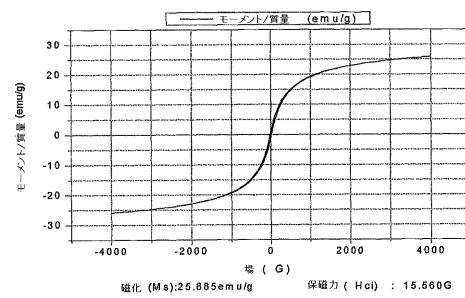


Fig. 7

【図 8】

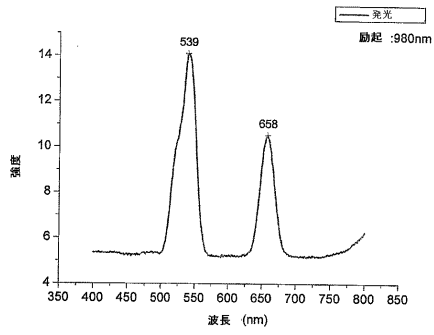


Fig. 8

【図 9】

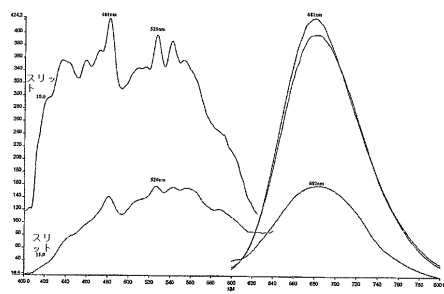


Fig. 9

【図 10】

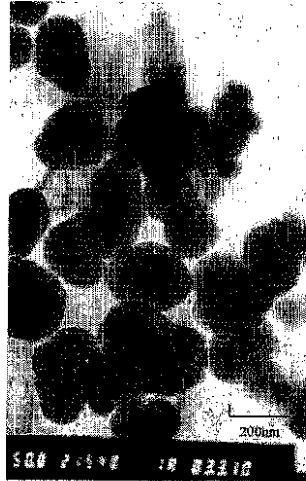


Fig. 10

【図 11】

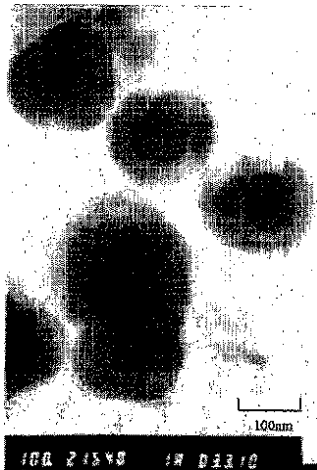


Fig. 11

【図 12】

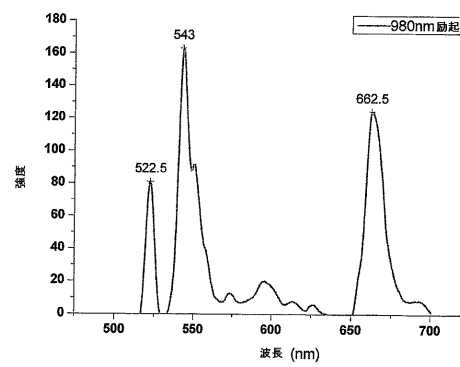


Fig. 12

【図 13】

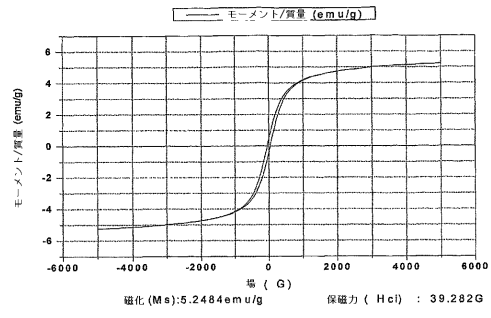


Fig. 13

---

フロントページの続き

- (72)発明者 ルー, ファチャン  
中華人民共和国 ペイジン 100084, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユ  
ニバーシティ
- (72)発明者 イー, グアンシュン  
中華人民共和国 ペイジン 100084, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユ  
ニバーシティ
- (72)発明者 チェン, ディブ  
中華人民共和国 ペイジン 100084, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユ  
ニバーシティ
- (72)発明者 グオ, リャンホン  
中華人民共和国 ペイジン 100084, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユ  
ニバーシティ
- (72)発明者 チェン, ジン  
中華人民共和国 ペイジン 100084, ハイディアン ディストリクト, ツインファ ユ  
ニバーシティ

審査官 長谷 潮

- (56)参考文献 特開2003-513093(JP, A)  
国際公開第01/088540(WO, A1)  
中国特許出願公開第1376759(CN, A)  
米国特許出願公開第2002/0164271(US, A1)  
特開平09-028397(JP, A)  
国際公開第02/072154(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/543

G01N 33/552