

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 20720060153282

UDC_____

廈門大學

博 士 学 位 论 文

三种磁性纳米颗粒对人肝癌细胞 BEL-7402
细胞毒性及其机理的研究

Cytotoxic effects and the mechanism of three types of magnetic
nanoparticles on human hepatoma BEL-7402 cells

魏 凯

指导教师姓名: 张其清 教授/博导

专 业 名 称: 高分子物理与化学

论文提交日期: 2011 年 月

论文答辩时间: 2011 年 月

学位授予日期: 2011 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2011 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

中文摘要	IX
Abstract.....	XI
第一章 绪论	1
1.1 纳米材料及纳米科技概述	1
1.2 纳米颗粒特性	1
1.3 磁性纳米材料的应用	3
1.3.1 磁性纳米材料在日常生活中的应用.....	3
1.3.2 磁性纳米材料在环境净化中应用.....	4
1.3.3 磁性纳米材料在农业中的应用.....	4
1.3.4 磁性纳米材料在生物医学中的应用.....	5
1.4 磁性纳米材料的安全评价	8
1.4.1 磁性纳米材料的体内分布.....	9
1.4.2 磁性纳米材料毒性研究现状.....	10
1.5 纳米材料对细胞毒性可能的作用机制	11
1.5.1 纳米材料阻滞细胞周期进程.....	11
1.5.2 纳米材料诱导细胞凋亡.....	11
1.5.3 纳米材料损伤细胞线粒体.....	12
第二章 三种磁性纳米颗粒的表征及分析.....	14
2.1 引言.....	14
2.2 试验材料与方法	14
2.2.1 试验材料与仪器.....	14
2.2.2 试验方法.....	15
2.3 结果与讨论	16
2.3.1 三种磁性纳米颗粒的物相分析.....	16
2.3.2 三种磁性纳米颗粒的 XPS 分析	17
2.3.3 三种磁性材料的红外光谱分析.....	20
2.3.4 三种磁性材料的形貌分析.....	22

2.3.5 三种磁性纳米颗粒的表面电荷分布.....	23
2.4 本章小结	24
第三章 三种磁性纳米颗粒致人肝癌细胞 BEL-7402 的细胞毒作用研究.....	26
3.1 引言.....	26
3.2 试验材料与方法	27
3.2.1 试验材料.....	27
3.2.2 主要试剂和仪器.....	27
3.2.3 试验方法.....	28
3.2.3.1 三种磁性纳米颗粒的处理.....	28
3.2.3.2 主要试剂配制.....	29
3.2.3.3 细胞培养用玻璃器皿处理.....	30
3.2.3.4 细胞培养.....	30
3.2.3.5 细胞生长周期测定.....	30
3.2.3.6 倒置显微镜观察三种磁性材料对 BEL-7402 细胞影响.....	30
3.2.3.7 TEM 观察三种磁性材料对 BEL-7402 细胞影响	31
3.2.3.8 MTT 法检测三种磁性纳米粒子对 BEL-7402 的细胞毒作用	32
3.2.3.9 WST-1 法检测三种磁性纳米粒子对 BEL-7402 的细胞毒作用	33
3.2.3.10 统计分析.....	33
3.3 结果与讨论	34
3.3.1 BEL-7402 细胞生长规律.....	34
3.3.2 三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞显微形态的影响.....	35
3.3.3 TEM 观察三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞形态结构的影响和进入方式及细胞内定位.....	37
3.3.4 MTT 法检测三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞的增殖抑制影响	42
3.3.5 WST-1 法检测三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞的增殖抑制作用 .	44
3.4 本章小结	50
第四章 三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞周期及细胞凋亡的影响	52
4.1 引言.....	52

4.2 试验材料与方法	52
4.2.1 试验材料.....	52
4.2.2 主要试剂和仪器.....	52
4.2.3 试验方法.....	54
4.2.3.1 三种磁性纳米颗粒的处理.....	54
4.2.3.2 细胞培养.....	54
4.2.3.3 PI 染色流式细胞术分析细胞周期.....	54
4.2.3.4 AnnexinV/PI 双染流式细胞术检测细胞凋亡率	55
4.2.3.5 统计分析.....	55
4.3 结果与讨论	56
4.3.1 三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞周期的影响.....	56
4.3.1.1 Fe ₃ O ₄ 和 OA-Fe ₃ O ₄ 纳米颗粒对 BEL-7402 细胞周期的影响	57
4.3.1.2 C-Fe 纳米颗粒对 BEL-7402 细胞周期的影响.....	63
4.3.2 三种磁性纳米颗粒诱导 BEL-7402 细胞凋亡.....	66
4.4 本章小结	70
第五章 线粒体介导的细胞凋亡通路.....	72
5.1 引言.....	72
5.2 试验材料与方法	73
5.2.1 试验材料.....	73
5.2.2 主要试剂和仪器.....	73
5.2.3 试验方法.....	75
5.2.3.1 三种磁性纳米颗粒的处理.....	75
5.2.3.2 细胞培养.....	76
5.2.3.3 主要试剂配制.....	76
5.2.3.4 Western Blot 检测细胞质中 Bax 蛋白表达	77
5.2.3.5 免疫印记法检测线粒体内 Cyto C 蛋白表达	79
5.2.3.6 流式细胞术分析线粒体膜电位改变.....	81
5.2.3.7 紫外分光光度法检测 Caspase-3 活性	81
5.2.3.8 统计分析.....	82
5.3 结果与讨论	82
5.3.1 三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞 MMP 的影响	82

5.3.2 三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞 Bax 和线粒体内 Cyto C 蛋白表达的影响.....	86
5.3.3 三种磁性纳米颗粒对 BEL-7402 细胞 Caspase-3 活性的影响	89
5.4 本章小结	92
第六章 全文总结	94
6.1 全文总结	94
6.1 工作展望	95
参 考 文 献	96
在读期间发表和交流论文	113
致 谢	114

Table of Contents

Abstract in Chinese.....	IX
Abstract in English	XI
Chapter 1 Review.....	1
1.1 Overview of nanomaterial, nanoscience and technology	1
1.2 Speciality of nanomaterial.....	1
1.3 Applications of MNPs	3
1.3.1 Daily applications of MNPs.....	3
1.3.2 Environmental restoration applications of MNPs.....	4
1.3.3 Agriculture applications of MNPs.....	4
1.3.4 Biomedical applications of MNPs.....	5
1.4 Security assessment of MNPs.....	8
1.4.1 Tissue distribution of MNPs.....	9
1.4.2 Toxicity studies of MNPs.....	10
1.5 The Possible cytotoxicity mechanism of nanomaterial.....	11
1.5.1 Nanomaterial influence on the cell cycle.....	11
1.5.2 Nanomaterial induce apoptosis.....	11
1.5.3 Nanomaterial injure mitochondria.....	12
Chapter 2 characterization and analysis of three types of MNPs.....	14
2.1 Introduction.....	14
2.2 Materials and methods	14
2.2.1 Materials and instruments.....	14
2.2.2 Methods.....	15
2.3 Results and discussion	16
2.3.1 XRD assay of three types of MNPs.....	16
2.3.2 XPS assay of three types of MNPs.....	17
2.3.3 FTIR assay of three types of MNPs.....	20
2.3.4 Morphology assay of three types of MNPs.....	22
2.3.5 Surface change assay of three types of MNPs.....	23

2.4 Summary	24
Chapter 3 Cytotoxic effects of three types of MNPs on human hepatoma BEL-7402	26
3.1 Introduction	26
3.2 Materials and methods	27
3.2.1 Materials	27
3.2.2 Reagents and instruments	27
3.2.3 Methods.....	28
3.2.3.1 Preparation of MNPs.....	28
3.2.3.2 Preparation of reagents	29
3.2.3.3 Glassware treatment of cell culture.....	29
3.2.3.4 Cell culture.....	30
3.2.3.5 Test of cell grow.....	30
3.2.3.6 Inverted microscope analysis.....	30
3.2.3.7 TEM analysis	30
3.2.3.8 MTT assay.....	32
3.2.3.9 WST-1 assay.....	33
3.2.3.10 Statistical analysis.....	33
3.3 Results and discussion	34
3.3.1 The growth regularity of BEL-7402 cells.....	34
3.3.2 Morphological changer of NEL-7402 cells observed by inverted microscope.....	35
3.3.3 Cell microstructure, internalization and localization of MNPs studied by TEM.....	37
3.3.4 BEL-7402 cell viabilities detected by the MTT assay	42
3.3.5 BEL-7402 cell viabilities detected by the WST-1 assay.....	44
3.4 Summary.....	50
Chapter 4 Cell cycle and apoptosis effects of three types of MNPs on BEL-7402 cells.....	52
4.1 Introduction.....	52

4.2 Materials and methods	52
4.2.1 Materials	52
4.2.2 Reagents and instruments	52
4.2.3 Methods.....	54
4.2.3.1 Preparation of MNPs.....	54
4.2.3.2 Cell culture.....	54
4.2.3.3 Cell cycle assay.....	54
4.2.3.4 Detection of apoptosis by Annexin V assay.....	55
4.2.3.5 Statistical analysis	55
4.3 Results and discussion	56
4.3.1 Three types of MNPs influence on the cell cycle	56
4.3.1.1 Fe ₃ O ₄ and OA-Fe ₃ O ₄ MNPs influence on the cell cycle.....	57
4.3.1.2 C-Fe MNPs influence on the cell cycle	63
4.3.2 Three types of MNPs induced apoptosis of BEL-7402 cells	66
4.4 Summary.....	70
Chapter 5 Mitochondrial-dependent apoptosis pathway	72
5.1 Introduction.....	73
5.2 Materials and methods	73
5.2.1 Materials	73
5.2.2 Reagents and instruments	73
5.2.3 Methods.....	75
5.2.3.1 Preparation of MNPs.....	75
5.2.3.2 Cell culture.....	76
5.2.3.3 Preparation of reagents	76
5.2.3.4 Western Blot Analysis of Bax	77
5.2.3.5 Western Blot Analysis of Cytochrome C in mitochondria.....	79
5.2.3.6 Mitochondrial membrane potential measurement	81
5.2.3.7 Caspase-3 activity assay	81
5.2.3.8 Statistical analysis	82
5.3 Results and discussion	82
5.3.1 Three types of MNPs induced loss of MMP	82

5.3.2 Three types of MNPs induced Bax over-expression and Cytochrome C release	86
5.3.3 Three types of MNPs affected Caspase-3 activity	89
5.4 Summary.....	92
Chapter 6 Conclusions and Prospective	94
6.1 Conclusions.....	94
6.2 Prospective.....	95
References.....	96
Selected Publications and Conference Presentations	113
Acknowledgement.....	114

中文摘要

纳米科技的高速发展使得纳米材料被越来越多的应用在各个领域。磁性纳米颗粒因其独特的性质，在生物医学、工业、农业、军事等领域的应用受到人们广泛的关注。随着接触机会的增多，其对人体的潜在危害引起各方面的格外关注。

本研究以人肝癌细胞 BEL-7402 细胞为模型，分别研究了 Fe_3O_4 ，OA- Fe_3O_4 和 C-Fe 三种磁性纳米材料的细胞毒性及其产生的机理，并对诱导的细胞凋亡通路进行了研究。主要结果如下：

1. 利用透射电镜、X 射线衍射、X 射线光电子能谱、傅里叶红外光谱、Zeta 粒径分析对本试验选取的磁性纳米颗粒进行表征分析，结果表明：三种颗粒粒径均为 10 nm 且粒径分布均一；杂质含量少，纯度较高，达 99.89% 以上； Fe_3O_4 ，OA- Fe_3O_4 和 C-Fe 纳米颗粒 Zeta 电位分别为：14.4，4.7 和 23.4 mV。

2. 通过倒置显微镜及 TEM 观察显示：三种磁性纳米颗粒与细胞共培养 6 h，即可通过胞吞作用进入 BEL-7402 细胞，并以团块的形式聚集在细胞溶酶体内。0.5 mg/mL 处理 24 h，细胞出现线粒体肿胀（嵴减少或消失）、细胞核染色质凝集、凋亡小体形成等典型凋亡症状。

3. WST-1 和 MTT 结果显示：WST-1 方法更适合于磁性纳米材料的细胞毒检验。三种磁性纳米颗粒对细胞活性的影响存在剂量依赖关系。细胞增殖抑制作用大小分别为 C-Fe > Fe_3O_4 > OA- Fe_3O_4 。结果推测，可能与细胞表面电荷不同引起的细胞内吞量不同有关。同时，随着作用时间的延长，细胞增殖率出现两极化，即低剂量处理组细胞增殖能力随作用时间的延长而有所恢复，而高剂量组的细胞增殖抑制作用进一步增加。

4. 运用流式细胞分析术对细胞周期及凋亡进行分析结果表明：细胞毒性改变的原因一方面是因为 Fe_3O_4 和 OA- Fe_3O_4 将细胞阻滞在 G1 期，而 C-Fe 则将细胞阻滞在 G2 期，细胞周期的阻滞阶段不同可能与材料表面修饰不同有关。另一方面是这三种磁性纳米颗粒诱导了细胞凋亡的产生。同时随着作用时间的延长，受损较轻的细胞在损伤修复后能继续完成细胞周期的其他期进而恢复增殖；而无法修复损伤的细胞则直接从被阻滞的细胞周期中激活凋亡，细胞走向死亡，细胞增

殖抑制进一步加深。

5. 运用流式细胞术、Western blot、和化学显色法分别分析了线粒体膜电位丢失、细胞质 Bax 和线粒体细胞色素 C 蛋白表达以及 Caspase-3 活性改变。结果表明：三种磁性纳米材料能使 BEL-7402 细胞促凋亡蛋白 Bax 表达上调，过表达的 Bax 锚定到线粒体膜上，通过打开线粒体膜孔或独自在线粒体膜上形成孔道使线粒体膜通透性增加，从而线粒体膜电位降低，进一步使原本仅存在于线粒体内外膜间隙间的促凋亡蛋白细胞色素 C 被释放入细胞质中而造成线粒体内含量下降。进入胞浆中的细胞色素 C 进一步激活 Caspase 级联反应，最终活化 Caspase-3 蛋白酶，引起细胞凋亡的不可逆发生。

上述试验证明：三种磁性纳米颗粒诱导 BEL-7402 细胞凋亡是通过线粒体介导的凋亡通路实现的。同时，凋亡程度受作用剂量及材料不同的影响而不同。即随着作用剂量的增加，细胞凋亡程度加重；相同作用剂量下，凋亡诱导程度大小依次为 C-Fe > Fe₃O₄ > OA-Fe₃O₄。与 WST-1 以及细胞周期、凋亡结果相吻合。

关键词：磁性纳米颗粒；细胞毒性；凋亡；细胞周期；线粒体介导通路

Abstract

As nanotechnology and materials science has progressed incredibly swiftly, nanomaterials have been widely applied in many fields. Due to their multifunctional properties, magnetic nanoparticles (MNPs) are explored for various applications such as biomedicine, industry, agriculture, military. Along with the expanding applications of MNPs, the potential toxic effects of MNPs have been widely concerned.

In the present study, human hepatoma BEL-7402 cell line was selected as the model specimen for cytotoxic assessment, and the aim was to evaluate the cytotoxicity of Fe_3O_4 , oleic acid-coated Fe_3O_4 (OA- Fe_3O_4), and carbon-coated Fe(C-Fe), and further elucidate molecular mechanism and the apoptosis pathway. The main contents and results are as follows:

(1) Three types of MNPs were characterized by TEM, XRD, XPS, FTIR and Zeta-potential analysis. The results revealed that the sizes of all three MNPs were 10 nm, the purity were great than 99.89%, the surface charge of Fe_3O_4 , OA- Fe_3O_4 , and C-Fe were 14.4 mv, 4.5 mv and 23.4 mv, respectively.

(2) TEM images results showed that all three kinds of MNPs were incorporated into BEL-7402 cells after 6 h incubation. Lysosomes containing MNPs and swollen mitochondria with lysing cristae were present in MNPs treated cells after 24 h incubation at 0.5 mg/mL of concentration. Some cells showed chromatin condensation, typical of apoptotic cell death, and plenty of cytoplasmic vacuoles.

(3) WST-1 and MTT results showed that WST-1 was further right down cytotoxicity assay in the nanotoxicity study. WST-1 assay demonstrated that the cytotoxicity of three types of MNPs was in a dose-dependent manner. Moreover, the cytotoxic effects of MNPs would be: C-Fe > Fe_3O_4 > OA- Fe_3O_4 , in the same concentration. The cytotoxicity is very likely caused by surface charge of MNPs. Cellular proliferation moved forwards polarization direction with the extending time. Cell proliferation recovered in the low-dose group, while further inhibited in the

high-dose groups.

(4) G1 (Fe_3O_4 and OA- Fe_3O_4) phase and G2 (C-Fe) phase cell arrests and apoptosis induced by MNPs were detected by flow cytometry analysis. The mechanism of C-Fe MNPs on the cell cycle might be different with that of Fe_3O_4 , and OA- Fe_3O_4 MNPs. With the increase of incubation time, The cells with a litter damage which successfully repair the damage will re-enter the cell cycle, and those with massive damage will not be able to repair the DNA effectively and undergo apoptosis.

(5) To further elucidate the apoptosis pathway, the mitochondrial membrane potential, the Bax and Cytochrome C protein expression, and Caspase-3 activity were investigated. The results revealed that all three types of MNPs can induce the Bax over-expression. High level of Bax can translocate to the outer mitochondrial membrane and inserts into it. Then, Bax forms oligomers that are thought to be important in the formation of the mitochondrial permeability transition pore (MPTP). The opening of the MPTP can lead to the loss of mitochondrial membrane potential (MMP) and a release of Cytochrome C from mitochondria into cytosol. Once released from the mitochondria. Cytochrome C combines with procaspase-9 to form the “apoptosome”, which further activates Caspase-3.

(6) To sum up, our results indeed suggested that all three types of MNPs can induce apoptosis in BEL-7402 cells through mitochondria-dependent pathway. Moreover, the influence potency of MNPs on the mitochondria-dependent apoptosis would be: C-Fe > Fe_3O_4 > OA- Fe_3O_4 , and all in a dose-dependent manner. This trend was consistent with results shown in WST-1, cell cycle and apoptosis assay.

Key words: magnetic nanoparticles; cytotoxicity; apoptosis; cell cycle; Mitochondrial-dependent pathway

第一章 绪论

1.1 纳米材料及纳米科技概述

纳米 (nanometer, nm) 是长度单位, $1\text{ nm}=10^{-9}\text{ m}$, 即十亿分之一米。1-100 nm 范围内的几何尺度称为纳米尺度 (nanoscale)。纳米技术 (nanotechnology) 是指至少有一维在纳米尺度内, 通过操纵和加工原子、分子得到的具有纳米尺度独特性质和功能的新结构、装置或系统的技术。纳米科技 (nanoscience and technology) 是指研究纳米尺度物质的特性和相互作用, 以及利用这些特性的多学科交叉的科学技术。它涉及几乎所有现代科学技术领域, 是现代科学与先进工程技术结合的产物。

而运用纳米技术制造出来的在三维空间尺度上至少有一维上处于纳米量级的物质称为纳米材料 (nanomaterial), 如直径为 1-100 nm 的纳米线, 厚度为 1-100 nm 的纳米薄膜。通常将三维都在 1-100 nm 的纳米材料称为纳米颗粒 (nanoparticle), 也称为超微颗粒 (ultrafine particle, UFP), 包括商品化的纳米颗粒和空气中的超细颗粒物 (UFPs) 以及在生物医学方面应用的纳米粒子^[1]。

纳米材料是纳米科技的基础和先导, 随着纳米技术的不断发展和应用, 纳米材料已经成为世界各国科学技术发展的热点。美国 IBM 公司首席科学家 Armstrong 指出: 正如微电子技术产生了信息革命, 纳米技术及材料的研究将成为下一代信息的核心。美国国会 2003 年通过预算方案决定在未来 3 年投资 2316 亿美元用于包括纳米材料的纳米技术研究和开发。欧盟计划在 2002-2006 的 4 年间拨款 13 亿欧元用于纳米方面的研究。我国也高度重视纳米科技及材料的发展, 在国家纳米科技工作会议上提出了纳米科技的发展计划, 并在各个科技项目如 973 和 863 申报上给予纳米方面课题极大的资金资助, 同时鼓励社会投入, 目前累计社会投入超过 30 亿元人民币。

1.2 纳米颗粒特性

与宏观块状材料不同, 纳米颗粒是一种处于宏观和微观水平之间的介观结构

粒子。当同一种物质的材料随着尺寸进入纳米量级时，由于其表面原子与材料总原子数之比随着粒径尺寸的减少而急剧增大，其物理、化学性质与宏观材料相比将发生明显的改变，显示出纳米颗粒独有的物理化学性质，主要表现出四种基本的特殊效应^[2]：

(1) 表面效应：表面效应是指纳米颗粒表面原子数与总原子数之比随粒径变小而急剧增大。纳米颗粒具有很大的比表面积，大的比表面积的改变导致一系列热力学性质的改变，熔点随颗粒尺寸的减少而降低。如金的熔点为 1063℃，而纳米金的熔点温度却降至 330℃；银的熔点为 960.3℃，而纳米银仅为 100℃。同时随着粒径减小，表面原子数随而迅速增加，使得颗粒表面有许多的空悬键，具有不饱和性质，易于和其他原子结合，表现出很强的化学活性^[3]。如同样是银，金属银是大家公认的惰性金属，而纳米银却具有很强的活性，现已被应用于日常用品及器具的杀菌作用。纳米颗粒的表面效应还表现在吸附及催化等与表面有关的性质方面，如纳米金具有很强的催化作用，而碳纳米则被普遍应用于吸附^[4-6]。

(2) 小尺寸效应：由于纳米颗粒体积小，所包含的原子数少，相应总质量也小，非晶态纳米粒子的颗粒表面层附近原子密度减少，导致声、光、电、磁、热力学等呈现新的特征，即为小尺寸效应。

特殊的光学特性：如正常状态下的金属都具有自己独特的颜色，而随着粒径的减小，当进入纳米范畴内所有金属均呈现黑色，且尺寸越小颜色越黑。最近的研究发现，纳米银在特定条件下能够产生荧光，可应用于细胞分选和示踪等方面。

特殊的热学特性：磁性纳米颗粒在外磁场存在具有自动控温、恒温的作用，在肿瘤热疗中受到广泛重视。

特殊的力学特性：与体积相比，纳米材料具有大的表面积，界面的原子排列是相当混乱的，因此在外力作用下表面原子很容易迁移，从而表现出很好的韧性与延展性。如由超微颗粒压制成的纳米陶瓷就具有良好的韧性，可应用在骨修复和牙齿整形^[7]。

特殊的磁学性质：当常规物质小到纳米尺寸时，抗磁性物质可呈现出超顺磁性。如超顺磁 Fe_3O_4 纳米颗粒等。

纳米颗粒的小尺寸效应还表现在介电性能、声学特性以及化学性能等方面。

(3) 量子尺度效应：当颗粒尺寸下降到一定程度时，费米能级附近的电子

能级由准连续变为离散能级并使能隙变宽的现象被称为量子尺寸效应。如，原本导电的金属在纳米范畴内可以变成绝缘体；颗粒发射能级增加，光学吸收发生红移；比热反常变化等。

(4) 宏观量子隧道效应：宏观量子隧道效应是基本的量子现象之一，即当微观粒子的总能量小于势垒高度时，该粒子仍能穿越这一势垒。近年来，人们发现一些宏观量，例如纳米颗粒的磁化强度，量子相干器件中的磁通量等亦有隧道效应，称为宏观的量子隧道效应^[8]。这一效应与量子尺寸效应，确定了微电子器件进一步微型化的极限，也确定了采用磁带磁盘进行储存的最短时间，即量子隧道效应。

正因为纳米材料与宏观物质相比，表现出这样独一无二的特性。因此，自从上世纪 60 年代纳米正式进入人们的视野开始，就迅速成为机械、电子、光学、农学、环境、生物医学等诸多领域研究的热点。

1.3 磁性纳米材料的应用

传统的磁性材料一般仅指 Fe 及其氧化物，而随着研究的不断深入发现，除了 Fe 及其氧化物外，Fe、Co、Ni 等的氧化物或氮化物也具有磁性，并可根据实际情况适当掺入其他金属，如 Mn、Zn、Mg 等来调节磁性材料的磁学、光学等性质。因此磁性纳米材料就是纳米尺寸下这些物质的统称。其中磁性纳米颗粒 (magnetic nanoparticles, MNPs) 是应用前景最广的一种纳米材料。

由于磁性纳米材料除了具有一般纳米所具有的表面效应、小尺寸效应、量子尺度效应和宏观量子隧道效应这四大效应，被广泛运用到日常生活中外，还因其特殊的磁性能，而在生物及医学领域有着广阔的应用前景。成为近十几年间纳米材料研究领域的新宠。

1.3.1 磁性纳米材料在日常生活中的应用

磁性纳米材料与信息化、自动化、机电一体化、国防，国民经济的方方面面紧密相关。

磁记录材料至今仍是信息工业的主体，磁性纳米材料作为原料做成的磁记录介质能大幅度提高磁记录密度。利用磁纳米线存储特性，记录密度预计可达 400

Gh/in²，由超顺磁性所决定的极限磁记录密度理论值约为 6000 Gh/in²。磁性纳米材料的应用使磁记录介质向“量子磁盘”方向发展的梦想不再遥远。

磁性液体 (MF) 最先用于宇航工业，后应用于民用工业，也是十分典型的纳米颗粒的应用。磁性液体是由超顺磁性的纳米微粒包覆了表面活性剂，然后弥散在基液中而构成，广泛地应用于旋转密封，如磁盘驱动器的防尘密封、高真空旋转密封等，以及扬声器、阻尼器件、磁印刷、润滑等应用^[9]。美国早在 1968 年就成立了磁性液体公司，日本 2000 年磁性液体领域的产值就达到约 1.7 亿美元，我国在磁性液体方面的研究也有十多年历史。全球每年的磁性液体产量达数百万吨。这些数据均说明了磁性液体突飞猛进的发展及广泛的应用前景。

纳米软磁材料具有十分优异的性能，高磁导率，低损耗、高饱和磁化强度，已应用于开关电源、变压器。传感器等。可实现器件小型化、轻型化、高频化以及多功能化，近年来发展也十分迅速。

除此以外，磁性纳米材料还应用到装饰材料、油墨、着色剂等日常用品中^[10]，同时在磁屏蔽和吸波等高科技军用装备上显示出巨大的应用前景^[11]。

1.3.2 磁性纳米材料在环境净化中应用

近年来，磁性纳米材料在环境修复尤其是污水处理中的应用开始受到关注。Zhang D 等发现，粒径为 15 nm 的 C-Fe 磁性纳米材料对污水中 Cr (VI) 显示出很强吸附能力，通过 C-Fe 外层碳壳的物理吸附作用能将超过 95% 的 Cr (VI) 清除出去，远远大于 Fe 纳米颗粒的吸附能力^[12]。同样的研究也发现，C-Fe₃O₄ 磁性纳米材料中^[13]。Y. F. Shen 等研究发现，Fe₃O₄ 磁性纳米颗粒对水处理也具有一定的净化能力，并且随着粒径的减小，对水中金属离子如 Ni (II)、Cu (II)、Cd (II) 和 Cr (VI) 等的清除能力不断增加，其原因可能和粒径减少而比表面积增大有关。同时 Fe₃O₄ 磁性纳米颗粒的吸附能力还与水环境的 PH 值及环境温度有关，在 PH = 4，20℃ 的情况下，纳米 Fe₃O₄ 的吸附量最大，为 35.46 mg/g^[14]。

1.3.3 磁性纳米材料在农业中的应用

利用磁性纳米材料的磁共振作用，将其作为造影剂用来研究植物的水动力代谢也在农业上进行应用^[15]。同时，P. Gonzalez-Melendih 等将纳米 C-Fe 与西葫芦体外共培养，通过不同方式的显微观察发现 C-Fe 能进入西葫芦的各个组成细胞，并能在梯度磁场的作用下聚集在目标部位^[16]。同样的研究结果也发现于南瓜^[17]。

这些研究发现为携带各种药物的磁性纳米材料在农业生产尤其是控制作物传染病方面提供理论依据。

1.3.4 磁性纳米材料在生物医学中的应用

由此可见,随着研究和开发的不断深入,磁性纳米材料将越来越多的在各种领域得到应用。然而由于其独特的磁性能,磁性纳米材料在生物医学领域的应用仍然是现在及未来研究的核心所在。主要应用于以下几个方面:

(1) 磁分选:就目前而言,磁性分离方法仍然是一种优于传统柱状分离方法的分离技术和预浓缩目标成分的实验方法^[18, 19]。这种方法是将磁性载体加入到待分离溶液中,利用其表面的化学修饰与特定细胞、DNA、蛋白质等发生识别而相结合,目标体被吸附后被磁场分离出来^[20]。用磁性纳米颗粒代替磁性的微米颗粒,可以在存在外磁场的条件下获得更稳定的沉淀^[21]。图 1.1 显示的是采用磁性纳米颗粒进行蛋白质分离的示意图。

近年来,采用磁性纳米颗粒与传统的电泳、超速离心等方法相结合来分离 DNA 和蛋白质的报道日益增多。Doyle 等利用磁性纳米颗粒在微通道器件中形成间隙为 5.7 μm 的磁柱结构,并结合脉冲电场琼脂糖电泳方法,成功地在 15 min 内实现了 γ -DNA 与两 DNA 碎片的分离^[22]。通过这种方法能将近 100kbp 的 DNA 分离出来,是传统方法分离 DNA 长度的 100 倍,同时分离速度也大大加快。

同时磁分选在细胞免疫分离中的应用也是细胞生物学和药学研究的重要方法之一。大量的磁免疫分离都是基于磁性纳米颗粒或微球表面的抗体与细胞抗原之间的相互作用来实现细胞快速分离的。应用磁性纳米材料分离细胞最大的优点在于在整个分离过程中磁性纳米颗粒不会破坏细胞并且对细胞的功能、活性也不会有丝毫影响,分离后的细胞存活率达到 90%以上,并且分离过程简单快捷,分离纯度可达 95-99%^[1]。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库