

纳米材料表面化学在生物分析中的应用

朱祥龙

指导老师

高锦豪

厦门大学

厦门大学博硕士学位论文摘要库

学校编码: 10384  
学号: 20520130153895

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_  
UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

纳米材料表面化学在生物分析中的应用

Surface Chemistry of Nanomaterials and Its  
Applications in Bioanalysis

朱祥龙

指导教师姓名: 高 锦 豪 教 授

专 业 名 称: 化 学 生 物 学

论文提交日期: 2016 年 7 月

论文答辩时间: 2016 年 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2016 年 7 月



# **Surface Chemistry of Nanomaterials and Its Applications in Bioanalysis**

A Dissertation Submitted to the Graduated School in Partial Fulfillment  
of the Requirements for the Degree of Doctor Philosophy

By

**Xianglong Zhu**

Supervised by

**Prof. Jinhao Gao**

Department of Chemistry

Xiamen University

July, 2016

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 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):

2016 年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 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）：

2016 年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库



摘 要.....	I
ABSTRACT.....	III
<b>第一章 绪论</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. 功能化无机纳米材料</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2. 无机纳米材料表面化学</b> .....	<b>3</b>
1.2.1. 表面物理化学性质改变 .....	3
1.2.2. 靶向修饰 .....	5
1.2.3. 药物运输和可控释放 .....	6
1.2.4. 生物传感和检测 .....	7
<b>1.3. 纳米材料表面化学在细胞分析中的应用</b> .....	<b>8</b>
1.3.1. 纳米探针对细胞微环境的响应 .....	9
1.3.2. 纳米探针对酶活力的检测 .....	13
<b>1.4. 纳米材料表面化学在癌症诊疗中的应用</b> .....	<b>20</b>
1.4.1. 纳米药物体内靶向肿瘤途径简介 .....	21
1.4.2. 纳米材料表面化学在肿瘤成像、治疗中的应用 .....	25
<b>1.5. 本论文的选题依据和研究内容</b> .....	<b>28</b>
<b>1.6. 参考文献</b> .....	<b>31</b>
<b>第二章 基于量子点电子转移的荧光淬灭作用动态分析酪氨酸酶活力</b> .....	<b>43</b>
<b>2.1. 引言</b> .....	<b>43</b>
<b>2.2. 实验部分</b> .....	<b>45</b>
2.2.1. 实验仪器 .....	45
2.2.2. 实验试剂 .....	45
2.2.3. 实验步骤 .....	46
2.2.4. 样品表征 .....	50
<b>2.3. 结果与讨论</b> .....	<b>51</b>
2.3.1. 实验设计与 QD-Tyr 纳米复合物组装 .....	51

2.3.2. 对于游离 LA-Tyr 分子的酶反应.....	54
2.3.3. 多巴素标定方程.....	58
2.3.4. 动力学分析.....	60
2.3.5. 细胞内分析.....	66
<b>2.4. 本章小结.....</b>	<b>68</b>
<b>2.5. 参考文献.....</b>	<b>69</b>
<b>第三章 基于 T<sub>1</sub> 弛豫恢复效应对基质金属蛋白酶 2 的动力学分析..</b>	<b>75</b>
<b>3.1. 引言.....</b>	<b>75</b>
<b>3.2. 实验部分.....</b>	<b>78</b>
3.2.1. 实验仪器.....	78
3.2.2. 实验试剂.....	78
3.2.3. 实验步骤.....	80
3.2.4. 样品表征.....	84
<b>3.3. 结果与讨论.....</b>	<b>84</b>
3.3.1. 实验设计与合成 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -pep-Gd 纳米-底物复合体.....	84
3.3.2. 静态弛豫率测定.....	87
3.3.3. 对 MMP-2 的动力学分析.....	88
3.3.4. 细胞水平分析.....	92
<b>3.4. 本章小结.....</b>	<b>94</b>
<b>3.5. 参考文献.....</b>	<b>96</b>
<b>第四章 磁共振造影成像分析监测诊疗纳米颗粒的体内行为.....</b>	<b>100</b>
<b>4.1. 引言.....</b>	<b>100</b>
<b>4.2. 实验部分.....</b>	<b>103</b>
4.2.1. 实验仪器.....	103
4.2.2. 实验试剂.....	104
4.2.3. 实验步骤.....	105
4.2.4. 样品表征.....	109
<b>4.3. 结果与讨论.....</b>	<b>110</b>
4.3.1. 超薄钯纳米片的表面修饰与表征.....	110
4.3.2. 不同表面修饰的钯片在血清中的稳定性.....	111
4.3.3. 弛豫率测定.....	113
4.3.4. 细胞毒性.....	114

---

4.3.5. 不同表面修饰的 Pd 片的体内行为研究.....	115
4.3.6. Pd@PEI-Gd 的光热治疗效果.....	121
4.4. 本章小结.....	124
4.5. 参考文献.....	126
<b>第五章 结论与展望 .....</b>	<b>132</b>
5.1. 结论.....	132
5.2. 展望.....	133
博士期间发表的论文情况 .....	136
致 谢.....	138

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>III</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Function inorganic nanomaterials</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2. Surface chemistry of inorganic nanomaterials</b> .....	<b>3</b>
1.2.1. Changing of physical-chemistry properties on surface .....	3
1.2.2. Targeting modification .....	5
1.2.3. Drug delivery and controlled release.....	6
1.2.4. Biosensing and detection .....	7
<b>1.3. Applications in cell-analysis of nanomaterials surface chemistry</b> .....	<b>8</b>
1.3.1. Nanoprobes responding to cellular microenvironments.....	9
1.3.2. Nanoprobes to detect enzyme activity.....	13
<b>1.4. Applications in cancer diagnosis and treatemtn of nanomaterials surface chemistry</b> .....	<b>20</b>
1.4.1. Tumor targeting routes of nanodrugs .....	21
1.4.2. Nanomaterials surface chemistry in tumor imaging and treatment.....	25
<b>1.5. Objectives and conception of this thesis</b> .....	<b>28</b>
<b>1.6. References</b> .....	<b>31</b>
<b>Chapter 2 Kinetic and sensitive analysis of tyrosinase activity using electron transfer complexes based on fluorescence quenching</b> .....	<b>43</b>
<b>2.1. Introduction</b> .....	<b>43</b>
<b>2.2. Experimental section</b> .....	<b>45</b>
2.2.1. Experimental equipments .....	45
2.2.2. Experimental reagents .....	45
2.2.3. Experiemental procedures .....	46
2.2.4. Sample characterizations .....	50
<b>2.3. Results and discussion</b> .....	<b>51</b>

2.3.1. Experiment design and construction of QD-Tyr conjugates .....	51
2.3.2. Enzymatic reaction with free substrate.....	54
2.3.3. Dopachrome calibration .....	58
2.3.4. Kinetic analysis .....	60
2.3.5. Cellular sensing .....	66
<b>2.4. Summary .....</b>	<b>68</b>
<b>2.5. References .....</b>	<b>69</b>
<b>Chapter 3 Kinetic and sensitive analysis of matrix metalloprotease 2</b>	
<b>based on activatable T<sub>1</sub>-relaxation recovery .....</b>	<b>75</b>
<b>3.1. Introduction .....</b>	<b>75</b>
<b>3.2. Experimental section.....</b>	<b>78</b>
3.2.1. Experimental equipments .....	78
3.2.2. Experimental reagents .....	78
3.2.3. Experimental procedures .....	80
3.2.4. Sample characterizations.....	84
<b>3.3. Results and discussion.....</b>	<b>84</b>
3.3.1. Experiment design and construction of Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -pep-Gd conjugates .....	84
3.3.2. Static relaxivity measurement to evaluate the signal amplification .....	87
3.3.3. Kinetic Analysis of MMP-2 .....	88
3.3.4. Cellular sensing .....	92
<b>3.4. Summary .....</b>	<b>94</b>
<b>3.5. Reference.....</b>	<b>96</b>
<b>Chapter 4 Real-time monitoring in vivo behaviors of theranostic</b>	
<b>nanoparticles by contrast-enhanced T<sub>1</sub> imaging.....</b>	<b>100</b>
<b>4.1. Introduction .....</b>	<b>100</b>
<b>4.2. Experimental section.....</b>	<b>103</b>
4.2.1. Experimental equipments .....	103
4.2.2. Experimental reagents .....	104
4.2.3. Experimental procedures .....	105
4.2.4. Sample characterizations .....	109
<b>4.3. Results and discussion.....</b>	<b>110</b>

---

4.3.1. Construction of ultrasmall Pd nanosheets with different surface coatings .....	110
4.3.2. Stability of SPNSs with different coatings in serum .....	111
4.3.3. Relaxivity measurements.....	113
4.3.4. Cytotoxicity .....	114
4.3.5. MRI study on their different in vivo behaviors .....	115
4.3.6. Photothermal Therapy Using Pd@PEG-Gd.....	121
<b>4.4. Summary .....</b>	<b>124</b>
<b>4.5. Reference.....</b>	<b>126</b>
<b>Chapter 5 Conclusions and outlook .....</b>	<b>132</b>
5.1. Conclusions .....	132
5.2. Outlook.....	133
<b>List of publications.....</b>	<b>136</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>138</b>

## 摘要

纳米材料是目前最为热门的材料科学研究方向，在能源、化工、医药、电子器件和环境保护等领域已经取得诸多应用。除了材料本身的性质之外，纳米材料由于比表面积大，因而表面性质同样是纳米材料的重要性质。对于能源、化工等领域，人们也许更关注于裸露晶面、活性原子和化学势等因素。而在生物医学方面，则需要进行表面修饰。表面修饰不仅带来水溶性和生物相容性，更能够赋予纳米材料特殊的生物功能，对纳米材料的生物医学应用意义重大。

第一章，我们简要介绍了纳米材料表面化学对于纳米材料在生物应用中的重要作用，主要探讨了如何将无机纳米材料进行生物功能化以及生物功能化的重要意义。我们分析了纳米表面化学是如何实现纳米材料对生物分子、微环境等因素响应，并进行生物分析。并引出了纳米探针对酶的反应以及活体体内行为的分析。阐明毕业论文的选题依据和主要内容。

第二章，我们构建了量子点-酪氨酸纳米复合体，并将其应用于试管内和细胞内的酪氨酸酶活力分析。量子点表面偶联的酪氨酸可以被酪氨酸酶氧化生成多巴素。多巴素具有较低的还原电位，可以吸收量子点的激发态电子而造成量子点荧光淬灭。荧光淬灭与多巴素个数之间存在的线性关系，使得我们可以实时监测酶反应的动力学过程。通过对反应过程的米氏方程拟合，我们获得了酶在氧化 QD-Tyr 时的动力学常数，同时也发现了意想不到的现象并且揭示了隐藏的机理。酶在面对纳米底物时所表现出的活力提高现象，进一步提升了响应的灵敏度，这个体系中对酪氨酸酶检测限可以低至 1 nM。我们认为纳米颗粒表面相对较高的底物浓度使得酶与底物的接触碰撞更容易，因而提升了酶的活力。荧光共聚焦显微镜和流式细胞实验展示出 B16 黑色素瘤细胞中的酪氨酸酶可以将量子点-酪氨酸纳米复合体氧化造成荧光淬灭。

第三章，我们基于超顺磁纳米颗粒对其附近的  $T_1$  造影剂的纵向弛豫淬灭效应构建了四氧化三铁-钆纳米-底物复合体实现对基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 的体外和细胞水平分析。MMP-2 将连接四氧化三铁与钆配合物的肽链水解，钆配合物因而从纳米颗粒表面脱离，释放到溶液中。四氧化三铁的磁场屏蔽作用随距

离增大而快速下降，Gd 配合物自身的纵向弛豫效果恢复。得益于信号放大，检测限和灵敏度都得到有效提升。释放的 Gd 配合物浓度与其恢复的纵向弛豫贡献呈良好的现行关系，这使得我们可以对酶与纳米-底物复合体的水解反应过程进行实时监测。我们使用积分形式的米氏方程对反应曲线进行拟合，并挑战性地定量了反应的动力学参数，这对于我们更好地解释异常的反应现象和揭示未知反应机理具有重要意义。

第四章，我们利用磁共振成像，实时监测了三种典型修饰(PEG、ZW 和 PEI)的钆纳米片的体内行为。不同的修饰分子带给钆纳米片独特的表面性质，并对钆片的体内行为造成巨大影响。PEG 修饰的钆纳米片具有相当长的血液循环时间，并可以通过 EPR 效应被动靶向到肿瘤组织。借助钆片的光热效果，PEG 修饰的钆片可以对肿瘤进行光热治疗，并成为一种诊疗试剂。两性离子和聚醚酰亚胺修饰的钆纳米片都从血液中被快速清除，不同的是两性离子钆片通过肾清除，聚醚酰亚胺修饰的钆片则被单核巨噬细胞摄取富集在肝脏中。这些不同的表面修饰所带来的差异化体内行为可以帮助我们更深入地理解并操纵纳米药物与活体系统地相互作用。而且，我们所使用的通过偶联钆配合物并进行  $T_1$  加权成像的策略可以作为一种通用的、实时监测纳米颗粒体内行为的分析方法，对纳米药物的生物应用和临床转化提供支持。

**关键字：** 纳米材料表面化学；荧光淬灭；酶活力；体内行为；弛豫恢复；肿瘤靶向



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts 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](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.