



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109661579 A

(43)申请公布日 2019.04.19

(21)申请号 201780053795.4

上山俊彦

(22)申请日 2017.08.31

(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事务
所(普通合伙) 11277

(30)优先权数据

2016-171157 2016.09.01 JP

代理人 刘新宇 李茂家

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.03.01

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01G 49/08(2006.01)

G01N 33/553(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2017/031323 2017.08.31

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/043633 JA 2018.03.08

(71)申请人 国立大学法人东北大学

地址 日本宫城县

申请人 同和电子科技有限公司

(72)发明人 长尾大辅 今野幹男 石井治之

林久美子 小滨奈月 吉田贵行

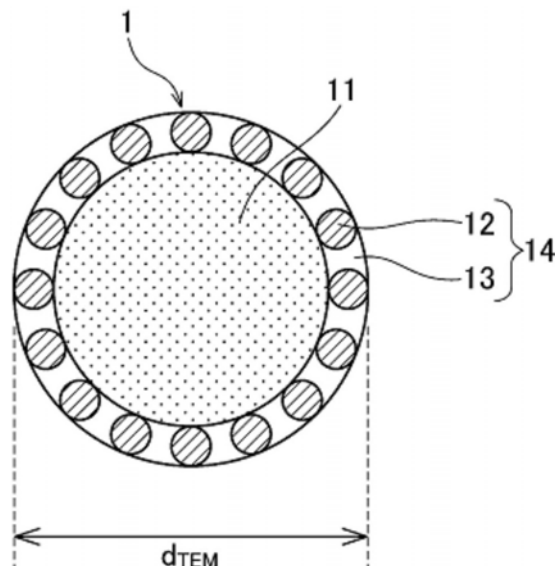
权利要求书1页 说明书13页 附图3页

(54)发明名称

磁性体复合颗粒及其制造方法、以及免疫测定用颗粒

(57)摘要

本发明提供一种磁性体复合颗粒,其通过利用磁性能够在短时间内从样品液体中分离,并且对样品液体的分散稳定性优异。提供一种磁性体复合颗粒,其在包含无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面上形成有外壳,其中,所述外壳中含有磁性纳米颗粒和硅化合物,通过透射电子显微镜测定的所述磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM})的值为30nm以上且210nm以下,通过动态光散射法测定的所述颗粒的粒径(d_{DLS})的值与所述体积平均粒径(d_{TEM})的之比即(d_{DLS})/(d_{TEM})的值为2.0以下。



1. 一种磁性体复合颗粒,其在包含无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面上形成有外壳,其中,

所述外壳中含有磁性纳米颗粒和硅化合物,

通过透射电子显微镜测定的所述磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM})的值为30nm以上且210nm以下,

通过动态光散射法测定的所述颗粒的粒径(d_{DLS})的值与所述体积平均粒径(d_{TEM})的值之比即(d_{DLS})/(d_{TEM})的值为2.0以下。

2. 根据权利要求1所述的磁性体复合颗粒,其中,所述外壳中还含有硅烷偶联剂。

3. 根据权利要求1或2所述的磁性体复合颗粒,其中,所述外壳中含有的磁性纳米颗粒为磁铁矿或 γ 氧化铁。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的磁性体复合颗粒,其具有球形或大致球形的形状。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的磁性体复合颗粒,其中,饱和磁化强度的值为 $30Am^2/kg$ 以上且 $200Am^2/kg$ 以下。

6. 一种磁性体复合颗粒,其在包含无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面上形成有外壳,其中,

所述外壳中含有磁性纳米颗粒和硅化合物,

通过透射电子显微镜测定的所述磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM})的值为30nm以上且210nm以下,

通过施加/解除磁场能够将所述磁性体复合颗粒可逆地控制成簇状态和分散状态。

7. 根据权利要求6所述的磁性体复合颗粒,其中,所述磁性体复合颗粒的簇状态为链状簇状态。

8. 根据权利要求7所述的磁性体复合颗粒,其中,所述链状簇状态时的长边侧长度为 $0.5\mu m$ 以上且 $5\mu m$ 以下。

9. 根据权利要求7或8所述的磁性体复合颗粒,其中,当施加 $0.1T$ 以上且 $0.4T$ 以下的磁场时,所述链状簇状态的磁性体复合颗粒以 $3\mu m/s$ 以上且 $15\mu m/s$ 以下的速度泳动。

10. 一种免疫测定用颗粒,其中,在权利要求1至9中任一项所述的磁性体复合颗粒的外壳中存在有抗体。

11. 一种磁性体复合颗粒的制造方法,其具有:

制备磁性纳米颗粒的悬浮液的工序;

制备核颗粒的工序,所述核颗粒包含无机氧化物或聚合物,由透射电子显微镜图像测定的体积平均粒径的值为20nm以上且200nm以下;

向所述磁性纳米颗粒的悬浮液添加所述核颗粒从而制备杂团聚颗粒的悬浮液的工序;以及,

将硅化合物的水溶液添加到所述杂团聚颗粒的悬浮液中,在所述杂团聚颗粒的表面上设置硅化合物的层,制备磁性体复合颗粒的悬浮液的工序,所述磁性体复合颗粒的由透射电子显微镜图像测定的体积平均粒径(d_{TEM})的值为30nm以上且210nm以下。

磁性体复合颗粒及其制造方法、以及免疫测定用颗粒

技术领域

[0001] 本发明涉及可适宜用于免疫测定等的磁性体复合颗粒及其制造方法,进一步涉及使用该磁性体复合颗粒制备的免疫测定用颗粒。

背景技术

[0002] 对抗原抗体测定法进行了研究,即为了从血液等样品液体中分离和收集各种蛋白质、核酸和细胞等目标物,在规定的颗粒的表面上负载适合于各个目标物质的抗体,并且回收目标物质补充后的颗粒进行分析。

[0003] 近年来,研究了以下的方法:即,在临床检查中需要快速测定、分析的用途中,为了缩短测定时间,通过使用负载了抗体并附加磁性的载体,在捕获目标物质之后自外部赋予磁性,从而快速回收所述磁性附加载体,回收目标物质。

[0004] 为了赋予附加了磁性的固定载体以高的磁分离特性,已知有增加对固定载体附加的磁性材料中所包含的磁性成分的比例、以及使该磁性材料为饱和磁化强度高的磁性材料(尤其是使用饱和磁化强度值大的磁性材料)。

[0005] 专利文献1提出了一种主要用于免疫诊断等的磁性聚合物颗粒,其平均粒径为0.2~4.0 μm ,剩余磁化强度为饱和磁化强度的10~35%。

[0006] 另一方面,本发明人等在专利文献2中公开了一种磁性体包封颗粒,其中,作为附加磁性的固定载体,在具有无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面配置外壳层,在该外壳层中通过使磁铁矿颗粒与硅酸钠共存,体积平均粒径为10~500nm,数均粒径的CV值为8%以下,且在25 $^{\circ}\text{C}$ 下的饱和磁化强度为15emu/g以上。

[0007] 现有技术文献

[0008] 专利文献

[0009] 专利文献1:日本特开2000-306718号公报

[0010] 专利文献2:日本专利第5419199号公报

发明内容

[0011] 发明要解决的问题

[0012] 专利文献2公开的作为附加磁性的固定载体的磁性体包封颗粒发挥了优异的磁分离特性。

[0013] 然而,根据本发明人等的进一步研究,该磁性体包封颗粒在利用磁性从样品液体中分离回收时存在需要花费时间的情况。

[0014] 进一步地,发现了该磁性体包封颗粒具有高的耐自然沉降性也很重要。这是因为,发现当磁性体包封颗粒的耐自然沉降性不足时,有时在样品液体中短时间内发生自然沉降,需要进行进一步的改良。

[0015] 如果该磁性体包封颗粒在样品液体中的分散性不足,则样品液体中的抗原抗体的接触有时会变得不充分,因此存在样品液体中包含的目标物质的补充不完全的情况。其结

果,可以认为可能会忽略样品液体中重要的目标物质的存在而导致误诊。

[0016] 本发明是在这种情况下做出的,所要解决的技术问题是提供一种磁性体复合颗粒,其可以通过利用磁性在短时间内从样品液体中分离,并且对样品液体的分散稳定性优异。

[0017] 用于解决问题的方案

[0018] 为了解决上述问题,本发明人等进行研究,结果想到了一种磁性体复合颗粒,其在包含无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面上形成有外壳,其中,所述外壳中含有磁性纳米颗粒和硅化合物,通过透射电子显微镜测定的所述磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM})的值为30nm以上且210nm以下,通过动态光散射法测定的所述颗粒的粒径(d_{DLS})的值与所述体积平均粒径(d_{TEM})的値之比即(d_{DLS})/(d_{TEM})的値为2.0以下。

[0019] 该磁性体复合颗粒在包含无机氧化物或聚合物的微粒(在本发明中,有时记载为“核颗粒”)的表面上设置的外壳中,使其含有规定量的纳米尺寸的磁性体(在本发明中,有时记载为“磁性纳米颗粒”)。尤其,通过由磁铁矿或 γ 氧化铁形成磁性纳米颗粒,能够表现出高的饱和磁化强度。进一步地,通过利用硅化合物覆盖该磁性体复合颗粒的外壳表面而含有磁性纳米颗粒,可以抑制磁性纳米颗粒从磁性体复合颗粒表面的剥离。

[0020] 其结果,具有该构成的本发明所述的磁性体复合颗粒可以利用磁性在短时间内从样品液体中分离。进一步地,通过具有规定的粒径,可以认为是对样品液体的分散稳定性优异的颗粒。

[0021] 即,解决上述课题的第一方案为:

[0022] 一种磁性体复合颗粒,其在包含无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面上形成有外壳,其中,

[0023] 所述外壳中含有磁性纳米颗粒和硅化合物,

[0024] 通过透射电子显微镜测定的所述磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM})的値为30nm以上且210nm以下,

[0025] 通过动态光散射法测定的所述颗粒的粒径(d_{DLS})的値与所述体积平均粒径(d_{TEM})的値之比即(d_{DLS})/(d_{TEM})的値为2.0以下。

[0026] 第二方案为:

[0027] 根据第一方案所述的磁性体复合颗粒,其中,所述外壳中还含有硅烷偶联剂。

[0028] 第三方案为:

[0029] 根据第一或第二方案所述的磁性体复合颗粒,其中,所述外壳中含有的磁性纳米颗粒为磁铁矿或 γ 氧化铁。

[0030] 第四方案为:

[0031] 根据第一至第三中任一项方案所述的磁性体复合颗粒,其具有球形或大致球形的形状。

[0032] 第五方案为:

[0033] 根据第一至第四方案中任一项所述的磁性体复合颗粒,饱和磁化强度的値为 $30Am^2/kg$ 以上且 $200Am^2/kg$ 以下。

[0034] 第六方案为:

[0035] 一种磁性体复合颗粒,其在包含无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面上形成有外

壳,其中,

[0036] 所述外壳中含有磁性纳米颗粒和硅化合物,

[0037] 通过透射电子显微镜测定的所述磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM})的值为30nm以上且210nm以下,

[0038] 通过施加/解除磁场能够将所述磁性体复合颗粒可逆地控制成簇状态和分散状态。

[0039] 第七方案为:

[0040] 根据第六方案所述的磁性体复合颗粒,其中,所述磁性体复合颗粒的簇状态为链状簇状态。

[0041] 第八方案为:

[0042] 根据第七方案所述的磁性体复合颗粒,其中,所述链状簇状态时的长边侧长度为0.5 μm 以上且5 μm 以下。

[0043] 第九方案为:

[0044] 根据第七或第八方案所述的磁性体复合颗粒,其中,当施加0.1T以上且0.4T以下的磁场时,所述链状簇状态的磁性体复合颗粒以3 $\mu\text{m}/\text{s}$ 以上且15 $\mu\text{m}/\text{s}$ 以下的速度泳动。

[0045] 第十方案为:

[0046] 一种免疫测定用颗粒,其中,在第1至第9中任一项的所述的磁性体复合颗粒的外壳中存在有抗体

[0047] 第十一发明为,

[0048] 一种磁性体复合颗粒的制造方法,其具有:

[0049] 制备磁性纳米颗粒的悬浮液的工序;

[0050] 制备核颗粒的工序,所述核颗粒包含无机氧化物或聚合物,由透射电子显微镜图像测定的体积平均粒径的值为20nm以上且200nm以下;

[0051] 向所述磁性纳米颗粒的悬浮液添加所述核颗粒从而制备杂团聚颗粒的悬浮液的工序;以及,

[0052] 将硅化合物的水溶液添加到所述杂团聚颗粒的悬浮液中,在所述杂团聚颗粒的表面上设置硅化合物的层,制备磁性体复合颗粒的悬浮液的工序,所述磁性体复合颗粒的由透射电子显微镜图像测定的体积平均粒径(d_{TEM})的值为30nm以上且210nm以下。

[0053] 发明的效果

[0054] 本发明的磁性体复合颗粒对样品液体的分散稳定性优异,并且可以利用磁性在短时间内从样品液体中分离。

附图说明

[0055] 图1为本发明的磁性体复合颗粒的示意性截面图。

[0056] 图2为在样品液体中聚集的本发明的磁性体复合颗粒的示意性截面图。

[0057] 图3为施加磁场的装置的示意性透视图。

[0058] 图4为施加磁场的装置的示意性截面图。

[0059] 图5为对磁性体复合颗粒解除磁场时的显微镜照片。

[0060] 图6为对磁性体复合颗粒施加磁场时的显微镜照片。

具体实施方式

[0061] 根据现有技术的磁性颗粒如上所述,存在从样品液体中分离回收时需要花费时间的情况,或者存在由于磁性颗粒在短时间内自然沉降,因此得到的测定结果是否准确有时还需要验证的情况,还可能无法充分应对要求快速准确的测定结果的用途。

[0062] 在这种情况下,本发明人等进行研究,通过制备在包含无机氧化物或聚合物的核颗粒的表面上设置有含有磁性纳米颗粒的外壳的、具有核壳结构的磁性体复合颗粒,解决了上述技术问题。

[0063] 首先,一边参照附图一边对本发明的磁性体复合颗粒进行说明。

[0064] 图1为本发明的磁性体复合颗粒的示意性截面图。

[0065] 本发明的磁性体复合颗粒1在中心部具有核颗粒11,该核颗粒11的表面上吸附有磁性纳米颗粒12。进一步地,核颗粒11被硅化合物的层13覆盖。而且,该硅化合物的层13含有磁性纳米颗粒12并构成外壳14。

[0066] 此处,按照1.磁性纳米颗粒、2.核颗粒、3.硅化合物的层、4.磁性体复合颗粒、5.施加磁场时的磁性体复合颗粒、6.磁性体复合颗粒的合成的顺序进行说明。

[0067] 1.磁性纳米颗粒

[0068] 磁性纳米颗粒12由磁铁矿(Fe_3O_4)或 γ 氧化铁形成,其平均粒径优选为5nm以上且50nm以下。

[0069] 而且,磁性纳米颗粒12的饱和磁化强度的值为 $0.1\text{Am}^2/\text{kg}$ 以上且 $200\text{Am}^2/\text{kg}$ 以下、更优选为 $120\text{Am}^2/\text{kg}$ 以下、进一步优选为 $80\text{Am}^2/\text{kg}$ 以下为宜。这是因为,若饱和磁化强度的值为 $0.1\text{Am}^2/\text{kg}$ 以上,则可以赋予磁性体复合颗粒1充分的磁场响应性,若为 $200\text{Am}^2/\text{kg}$ 以下,则可以避免由剩余磁化强度引起的磁性体复合颗粒1的聚集这样的情况。

[0070] 此外,磁性体复合颗粒1中的磁性纳米颗粒12的负载量优选0.095质量%以上且95质量%以下。这是因为,若负载量为0.095质量%以上,则可以确保磁性体复合颗粒1的磁场响应速度,若为95质量%以下,则磁性体复合颗粒1的密度不会变得过大,可以确保对样品液体的分散性。

[0071] 2.核颗粒

[0072] 核颗粒11包含无机氧化物或聚合物而构成。作为该核颗粒的体积平均粒径,优选20nm以上且200nm以下。作为聚合物,可以例示聚甲基丙烯酸甲酯(在本发明中,有时记载为“PMMA”)、聚苯乙烯(在本发明中,有时记载为“PSt”)。

[0073] 作为无机氧化物,可以例示二氧化硅、滑石、高岭石、碳酸镁、碳酸钙等。

[0074] 作为这些聚合物、无机氧化物所具备的性质,使得密度为 $5.0\text{g}/\text{cm}^3$ 以下、优选为 $4.0\text{g}/\text{cm}^3$ 以下、进一步优选为 $3.0\text{g}/\text{cm}^3$ 以下为宜。通过选择具有该范围内密度的核颗粒,样品液体中分散时的浮力和核颗粒本身的重量处于均衡,可以改善样品液体中的分散性,因而优选。需要注意的是,若浮力过大,则有时核颗粒会漂浮在样品液体上。从避免这种情况的观点出发,根据供试的样品液体的比重,选择核颗粒密度为 $0.3\text{g}/\text{cm}^3$ 以上、优选 $0.5\text{g}/\text{cm}^3$ 以上的颗粒为宜。

[0075] 需要说明的是,在本发明中,针对磁性纳米颗粒12吸附并聚集在核颗粒11的表面的状态的颗粒,有时记载为“杂团聚颗粒”。

[0076] 3.硅化合物的层

[0077] 硅化合物的层13优选由例如正硅酸乙酯($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$) (在本发明中,有时记载为“TEOS”)这样的硅氧化物的聚合物构成。进一步地,该硅化合物的层13进一步优选,例如还包含3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(在本发明中,有时记载为“MPTMS”)这样的硅烷偶联剂,使用2种以上的硅化合物原料聚合而成。这是因为,可以在分子内引入聚合性官能团,并且可以引入作为抗体立脚点的羟基(-OH)。

[0078] 从上述的观点出发,例如在杂团聚颗粒的浓度为0.01容量%以上且1.0容量%以下的情况下,硅化合物的层13中的硅烷偶联剂的量优选为 $0.001\text{mol}/\text{m}^3$ 以上且 $1\text{kmol}/\text{m}^3$ 以下。

[0079] 这是因为,若硅烷偶联剂的量为 $0.001\text{mol}/\text{m}^3$ 以上,则能够发挥作为硅烷偶联剂的效果,若为 $1\text{kmol}/\text{m}^3$ 以下,则可以避免硅烷偶联剂分子彼此的自缩合。

[0080] 作为含有磁性纳米颗粒12的硅化合物的层13的外壳14发挥防止磁性纳米颗粒12从核颗粒11的表面剥离的效果。

[0081] 4. 磁性体复合颗粒

[0082] 磁性体复合颗粒1优选具有球形或大致球形的形状,但其体积平均粒径例如可以由磁性体复合颗粒1的透射电子显微镜图像用卡尺等测量并算出。在本发明中,将由透射电子显微镜图像算出的体积平均粒径记载为(d_{TEM})。

[0083] 需要说明的是,“磁性体复合颗粒1具有球形或大致球形的形状”是指,该磁性体复合颗粒的截面为圆形或大致圆形,该截面中的长径比为例如1.3以下。

[0084] 本发明的磁性体复合颗粒1优选饱和磁化强度的值为 $30\text{Am}^2/\text{kg}$ 以上且 $200\text{Am}^2/\text{kg}$ 以下。这是因为,如果饱和磁化强度的值为 $30\text{Am}^2/\text{kg}$ 以上,则通过使用永磁体等的磁性,可以容易地在短时间内将磁性体复合颗粒1从样品液体中分离。另一方面,若为 $200\text{Am}^2/\text{kg}$ 以下,则可以避免由剩余磁化强度引起的磁性体复合颗粒的聚集这样的情况。

[0085] 图2为在样品液体中聚集的本发明的磁性体复合颗粒1的示意性截面图。

[0086] 在样品液体中,本发明的磁性体复合颗粒1有时单独分散,也存在2个以上多个颗粒聚集的情况。图2是磁性体复合颗粒1为例如3个聚集的状态的示意性截面图。

[0087] 在该样品液体中聚集的磁性体复合颗粒1的粒径例如可以通过动态光散射法测量并算出。在本发明中,将由动态光散射法算出的粒径记载为(d_{DLS})。需要说明的是,也可以将该(d_{DLS})认为是流体力学的直径。

[0088] 磁性体复合颗粒1的(d_{TEM})为30nm以上且210nm以下, (d_{DLS})与(d_{TEM})之比即($d_{\text{DLS}}/d_{\text{TEM}}$)的值为2以下。

[0089] ($d_{\text{DLS}}/d_{\text{TEM}}$)的值为2以下表示在样品液体中作为一体存在的粒径和本来的体积平均粒径几乎相同或极其接近。即,磁性体复合颗粒不会聚集而保持着接近单分散的状态存在于样品液体中。因此,可以使磁性体复合颗粒1在样品液体中的分散稳定性优异。

[0090] 通过使所需的抗体吸附到上述说明的本发明的磁性体复合颗粒上来使用,可以得到在样品液体中在磁场中的响应性良好的免疫测定用颗粒。其结果,可以认为捕获样品液体中存在的抗原而无残留,并可以认为还能够降低误诊的风险。

[0091] 5. 施加磁场时的磁性体复合颗粒

[0092] 如果对在规定的溶剂中分散的本发明的磁性体复合颗粒施加(ON)磁场,则各磁性体复合颗粒聚集,相对于该磁场方向成为簇状态。而且,如果解除(OFF)该磁场,则所述簇状

态崩塌,磁性体复合颗粒回到接近单分散的分散状态。即,本发明的磁性体复合颗粒是通过施加/解除磁场能够将磁性体复合颗粒可逆地控制成簇状态和分散状态的磁性体复合颗粒。

[0093] 而且,还发现该簇状态是相对于磁场方向的链状的簇状态(在本发明中,有时记载为“簇链”)。

[0094] 另一方面,现有技术的磁性体复合颗粒也在施加磁场时成为链状或块状的簇状态。但是,即使解除该磁场,颗粒仍会维持链状或块状的簇状态。

[0095] 本发明的磁性体复合颗粒能够可逆地控制簇链状态和分散状态。通过利用该特征,例如,可以在磁分离操作时通过使其处于簇链状态可以易于分离,解除磁场时可以使其处于分散状态。即,可以以高收率回收规定的供试液中的目标成分,可以从该供试液中快速地回收磁性体复合颗粒,因而优选。

[0096] 换言之,由于即使在制造阶段也可以在不损失的情况下回收液体中生成的磁性体复合颗粒,因此提高了收率,在使用时可以得到高分散的供试试剂。作为本磁性体复合颗粒使用时的功效,在没有磁场的状态下也均匀地分散在液体中,从而减少了供试液中存在的目标成分的损失。另外,在通过作用于供试液并回收目标成分之后,可以对每个包含目标成分的磁性颗粒施加磁场来进行回收,从而有助于快速且可靠地判定。

[0097] 可以认为本发明的磁性体复合颗粒与现有技术的磁性体复合颗粒对于上述磁场的施加/解除的行为差异是由两者的粒径的差异引起的。即,本发明的磁性体复合颗粒与现有技术的颗粒相比粒径更小,因此可以认为受到布朗运动较大的影响,簇状态随着磁场解除而崩塌。其结果,可以认为本发明的磁性体复合颗粒通过施加/解除磁场能够将磁性体复合颗粒可逆地控制成簇状态和接近单分散的形态。

[0098] 由于本发明的磁性体复合颗粒的粒径小,当它们分散在规定的溶剂中时,移动速度低。其结果,例如,担心回收磁性体复合颗粒时需要很长时间。然而,如上所述,由于可以通过施加磁场而使磁性体复合颗粒处于簇链状态,因此能够得到由磁泳带来的提高移动速度的效果。

[0099] 作为具体例,当施加0.1T以上且0.4T以下的磁场时,簇链状态的磁性体复合颗粒以 $3\mu\text{m/s}$ 以上且 $15\mu\text{m/s}$ 以下的移动速度泳动。

[0100] 6. 磁性体复合颗粒的合成

[0101] 针对本发明的磁性体复合颗粒的合成,按照1) 磁性纳米颗粒的合成、2) 核颗粒的合成、3) 杂团聚颗粒的合成、4) 磁性体复合颗粒的合成的顺序进行说明。

[0102] 1) 磁性纳米颗粒的合成

[0103] 作为磁性颗粒的磁性纳米颗粒一般通过称为共沉淀法的方法合成。该方法是仅通过将碱性溶液添加到以1:2的比例含有 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的混合溶液中而生成磁铁矿的磁性纳米颗粒的合成方法。另一方面, γ 氧化铁(磁赤铁矿)是例如将通过上述方法得到的磁铁矿在大气中干燥,然后在低温(350℃左右)下加热氧化而得到的。

[0104] 进一步地,为了赋予生成的磁性纳米颗粒的表面正电荷,使其稳定分散,还优选通过添加偶联剂进行表面改性。

[0105] 需要说明的是,构成磁性纳米颗粒的物质的晶体结构,例如可以在将上述液体涂布在显微镜用标本(プレパラート)上使其自然干燥之后,通过使用X射线衍射进行分析来鉴

定。

[0106] 2) 核颗粒的合成

[0107] 作为体积平均粒径50nm左右的核颗粒的原材料,可以将过硫酸钾、过硫酸铵添加到St单体和MMA单体的混合物中进行聚合,制备聚合颗粒。

[0108] 此外,作为体积平均粒径100nm左右的核颗粒的原材料,可以通过使用MMA单体的无皂乳液聚合法,制备PMMA的聚合颗粒。

[0109] 进而,为了提高生成的聚合颗粒的表面与磁性纳米颗粒的亲合性,并导入可用作反应基点的官能团,在聚合开始后添加聚合性硅烷偶联剂MPTMS并进行共聚,得到体积平均粒径50nm左右至100nm左右的核颗粒。

[0110] 3) 杂团聚颗粒的合成

[0111] 杂团聚颗粒通过振动搅拌混合磁性纳米颗粒和核颗粒来获得。

[0112] 4) 磁性体复合颗粒的合成

[0113] 磁性体复合颗粒的合成通过从杂团聚颗粒的分散液中提取杂团聚颗粒,与硅化合物液体混合,振动搅拌来进行。

[0114] 实施例

[0115] 以下,一边参照实施例一边对本发明进行更具体的说明。需要注意的是,本发明不受这些实施例的限制。

[0116] (实施例1)

[0117] 在实施例1中,合成如下的磁性体复合颗粒:将体积平均粒径为47nm的聚合物颗粒作为核颗粒,在核颗粒表面上形成的外壳中包含 Fe_3O_4 纳米颗粒作为磁性纳米颗粒、包含TEOS和MPTMS作为硅化合物,评价其特性。

[0118] 以下,针对实施例1的磁性体复合颗粒,按照1.磁性纳米颗粒的合成、2.核颗粒的合成、3.杂团聚颗粒的合成、4.磁性体复合颗粒的合成、5.磁性体复合颗粒的特性评价的顺序进行说明。

[0119] 1. 磁性纳米颗粒的合成

[0120] 针对本发明的实施例1的磁性纳米颗粒的合成,按照1)磁性纳米颗粒的原料、2)磁性纳米颗粒的合成的顺序进行说明。

[0121] 1) 磁性纳米颗粒的原料

[0122] 作为实施例1的磁性纳米颗粒即 Fe_3O_4 纳米颗粒的Fe源之一,准备 FeCl_2 (由Kojundo Chemical Lab.Co.,Ltd.制造、纯度99.9%)。此外,作为另一个的Fe源准备 FeCl_3 (由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造)。

[0123] 而且,作为该磁性纳米颗粒的分散稳定剂和用于赋予正电荷的偶联剂,准备N-三甲氧基甲硅烷基丙基-N,N,N-三甲基氯化铵(由GELEST Inc.制造、50%甲醇溶液)(在本发明中,有时记载为“TSA”)。

[0124] 此外,作为合成该磁性纳米颗粒时的pH调节剂准备氨水(由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造、试剂特级28质量%水溶液)。

[0125] 进一步地,作为合成该磁性纳米颗粒时的反应溶剂准备电阻值为 $18.2\text{M}\Omega\text{cm}$ 的去离子水。

[0126] 2) 磁性纳米颗粒的合成

[0127] 作为反应容器使用内径为7.5cm、高度为15cm的可拆式烧瓶。作为搅拌机使用桨叶直径为5cm、倾斜角为45°的4个间隔桨叶,搅拌速度设为300rpm。

[0128] 将通过氮气鼓泡去除溶解氧的去离子水186cm³投入反应容器内,加入2kmol/m³的FeCl₂水溶液5cm³和1kmol/m³的FeCl₃水溶液20cm³在35℃下开始搅拌。在反应容器内填充氮气,进行30分钟的氮气鼓泡。

[0129] 向反应容器内投入氨水11.7cm³以开始反应。从反应开始30秒后加入TSA2.1cm³继续搅拌3小时,进行生成的磁性纳米颗粒的表面改性。

[0130] 对所得到的规定量的磁性纳米颗粒的悬浮液加入2倍重量的乙醇充分混合,进行离心分离(12000rpm、15分钟)去除上清液之后,加入去离子水,得到实施例1的磁性纳米颗粒浓度为1.0质量%的悬浮液。所得到的悬浮液中的磁性纳米颗粒的体积平均粒径为8nm。而且磁性纳米颗粒的饱和磁化强度为58emu/g。

[0131] 2.核颗粒的合成

[0132] 针对本发明的实施例1的核颗粒的合成,按照1)核颗粒的原料、2)核颗粒的合成的顺序进行说明。

[0133] 1)核颗粒的原料

[0134] 作为形成实施例1的核颗粒的单体,准备苯乙烯(St)(由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造、试剂特级、纯度99%)、甲基丙烯酸甲酯(MMA)(由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造、试剂特级、纯度98%)。

[0135] 此外,作为阴离子活性剂,准备十八烷基硫酸钠(SOS)(Ward Hill公司MA、USA)。

[0136] 此时,为了去除该St、MMA中含有的阻聚剂的氢醌,使该St、MMA通过填充有阻聚剂去除剂(由Aldrich Co.,Ltd.制造)的玻璃制柱。

[0137] 作为实施例1的核颗粒合成时的聚合引发剂,准备过硫酸铵(APS)(由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造、试剂特级、纯度98%)。

[0138] 作为实施例1的核颗粒合成时的聚合性硅烷偶联剂,准备3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(MPTMS)(由Shin-Etsu Chemical Co.,Ltd.制造、试剂特级、纯度95%)。

[0139] 2)核颗粒的合成

[0140] 反应中使用容积为500cm³、内径为7.5cm的圆筒形密闭式玻璃反应器反应器,搅拌使用4片的桨叶。

[0141] 首先,向反应器投入SOS的去离子水溶液,进行30分钟氮气鼓泡之后,切换至氮流通。向其中添加St和MMA的单体搅拌20分钟,添加APS开始聚合。搅拌速度设为360rpm。一边继续搅拌一边进行70℃、6小时的聚合反应,得到包含核颗粒的悬浮液。此时,在聚合开始40分钟后添加MPTMS1.40g。

[0142] 此时,该聚合反应的反应体积设为:纯水为250g、St为3.9g、MMA为3.75g、SOS为0.0373g、APS为1.14g。

[0143] 聚合反应完成后,对所得到的悬浮液进行离心分离(12000rpm、15分钟),去除上清液提取核颗粒,通过超声波照射使其在去离子水中再分散并进行离心洗涤。该离心洗涤进行3次,使实施例1的核颗粒分散在去离子水中。所得到的核颗粒的体积平均粒径为47nm。

[0144] 3.杂团聚颗粒的合成

[0145] 向容积50cm³的离心管中加入“2.核颗粒的合成”中合成的核颗粒和“1.磁性纳米

颗粒的合成”中合成的实施例1的磁性纳米颗粒的悬浮液,进行1分钟振动搅拌合成杂团聚颗粒。

[0146] 此时,悬浮液的容量设为20cm³、核颗粒为0.069容量%、磁性纳米颗粒为0.058容量%。

[0147] 对含有该杂团聚颗粒的悬浮液进行12000rpm、10分钟的离心分离,去除上清液和漂浮的颗粒。进行3次通过该离心分离洗涤杂团聚颗粒,得到实施例1的杂团聚颗粒的悬浮液。

[0148] 4. 磁性体复合颗粒的合成

[0149] 将所得到的实施例1的杂团聚颗粒的悬浮液离心分离,提取杂团聚颗粒,向其中添加水,进行1.5小时的超音波分散得到悬浮液。在此,依次添加乙醇、28%氨水0.41cm³、TEOS、MPTMS,在室温下进行24小时的振动搅拌,以向杂团聚颗粒设置硅化合物层。

[0150] 此时,杂团聚颗粒设为0.12容量%、TEOS为10mol/m³、MPTMS为10mol/m³、水为3~13kmol/m³、氨为0.3mol/m³,反应液的容量设为20cm³。

[0151] 对所得到的悬浮液进行12000rpm、10分钟的离心分离,提取沉淀物并再分散于水中,得到实施例1的磁性体复合颗粒的悬浮液。

[0152] 5. 磁性体复合颗粒的特性评价

[0153] 对于所得到的实施例1的磁性体复合颗粒,通过TEM测定磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM}),通过动态光散射光度计测定磁性体复合颗粒的(d_{DLS}),合在一起确认分散性。

[0154] 而且作为磁性体复合颗粒的磁特性,测定饱和磁化强度,其结果记载于表1。

[0155] 需要说明的是,各测定方法如以下说明。

[0156] 1) 通过TEM测定体积平均粒径(d_{TEM})

[0157] 将几滴作为实施例1的生成颗粒的磁性体复合颗粒的悬浮液各自在贴附有火棉胶膜的筛网(JEOL Ltd.制造200目)上展开,充分干燥,作为测定样品。

[0158] 将该测定样品装入STEM装置(Hitachi, Ltd.制造HD-2700),由所得到的TEM图像使用卡尺(Mitutoyo Corporation.制造)直接测定磁性体复合颗粒的体积平均粒径。

[0159] 具体而言,每个样品测定200个左右的粒径,根据式1求出体积平均粒径,将其作为由TEM图像求出的磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM})。

[0160] 需要说明的是,关于磁性纳米颗粒以及核颗粒的体积平均粒径,也可以通过与所述的磁性体复合颗粒的体积平均粒径相同的方法测定。

$$[0161] \quad d_{\text{TEM}} = \left(\frac{\sum_i n_i d_i^3}{\sum_i n_i} \right)^{1/3} \quad \cdots \text{(式1)}$$

[0162] 2) 磁性体复合颗粒的(d_{DLS})的测定

[0163] 实施例1的磁性体复合颗粒的悬浮液中的磁性体复合颗粒的(d_{DLS})测定利用动态光散射光度计进行。

[0164] 具体而言,稀释实施例1的磁性体复合颗粒的悬浮液,将磁性体复合颗粒的浓度调整为0.001容量%得到(d_{DLS})测定用的悬浮液样品,将对其照射了100分钟超音波的样品装入动态光散射光度计(由Otsuka Electronics Co., Ltd.制造、ELSZ-2),测定(d_{DLS})。

[0165] 3) 分散性的确认方法

[0166] 将所述(d_{DLS})测定用的悬浮液样品静置1天,通过目视确认。

[0167] 当磁性体复合颗粒表现出高分散性时,其悬浮状态保持不变。该分散性评价为“高”。实施例1的磁性体复合颗粒具有“高”分散性。

[0168] 另一方面,当不能充分保持分散性时,在悬浮液上部形成上清液(透明的层)。该分散性评价为“中”。

[0169] 进一步地,如果不能保持分散性,则呈现深棕色固体成分沉入容器下方的状态。该分散性评价为“低”。

[0170] 另一方面,当比较并确认多个悬浮液样品的分散性时,可以通过比较作为悬浮液上部的上清液的透明的层的厚度来进行。

[0171] 4) 饱和磁化强度(σ_s)的测定

[0172] 将实施例1的磁性体复合颗粒的悬浮液样品真空干燥12小时以上得到粉末样品。将该粉末样品2mg装入振动样品磁强计(VSM、由Toei Scientific Industry制造、PV-M20-5)。而且,测定范围设为-10000~+100000e,求出在-100000e和+100000e下的实施例1的磁性体复合颗粒的磁化的绝对值的算术平均值,作为饱和磁化强度。

[0173] 以上的结果记载于表1。

[0174] (实施例2)

[0175] 在实施例2中,将体积平均粒径为106nm的聚合物颗粒作为核颗粒,与实施例1相同,得到在其表面具有 Fe_3O_4 纳米颗粒作为磁性纳米颗粒的杂团聚颗粒,进而合成作为硅化合物层包含TEOS和MPTMS的磁性体复合颗粒,评价其特性。

[0176] 以下,针对实施例2的磁性体复合颗粒,按照1.磁性纳米颗粒的合成、2.核颗粒的合成、3.杂团聚颗粒的合成、4.磁性体复合颗粒的合成、5.磁性体复合颗粒的特性评价的顺序进行说明。

[0177] 1.磁性纳米颗粒的合成

[0178] 与上述本发明的实施例1的磁性纳米颗粒的合成相同。

[0179] 2.核颗粒的合成

[0180] 针对本发明的实施例2的核颗粒的合成,按照1)核颗粒的原料、2)核颗粒的合成的顺序进行说明。

[0181] 1)核颗粒的原料

[0182] 作为形成实施例2的核颗粒的单体之一,准备甲基丙烯酸甲酯(MMA)(由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造、试剂特级、纯度98%)。此时,为了去除该MMA中含有的阻聚剂的氢醌,使该MMA通过填充有阻聚剂去除剂(由Aldrich Co.,Ltd.制造)的玻璃制柱。

[0183] 作为形成实施例2的核颗粒的离子性共聚单体之一,准备对苯乙烯磺酸钠(NaSS)(由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造、试剂特级、纯度80%)。

[0184] 作为实施例2的核颗粒合成时的聚合引发剂,准备过硫酸钾(KPS)(由Wako Pure Chemical Industries Ltd.制造、试剂特级、纯度95%)。

[0185] 作为实施例2的核颗粒合成时的聚合性硅烷偶联剂,准备3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(MPTMS)(由Shin-Etsu Chemical Co.,Ltd.制造、试剂特级、纯度95%)。

[0186] 作为实施例2的核颗粒合成时的反应溶剂,准备与上述实施例1相同的去离子水。

[0187] 2)核颗粒的合成

[0188] 反应中使用内容积为110 cm^3 的圆筒形密闭式玻璃反应器反应器,搅拌使用磁力搅

拌器。

[0189] 首先,向反应器投入去离子水进行30分钟氮气鼓泡之后,切换至氮流通。此时,添加MMA和NaSS搅拌20分钟,添加KPS开始聚合。一边继续搅拌一边进行65℃、2小时的聚合反应,得到包含核颗粒的悬浮液。此时,在聚合开始40分钟后添加MPTMS。

[0190] 此时,该聚合反应的反应体积设为 30cm^3 、MMA的浓度为 $200\text{mol}/\text{m}^3$ 、NaSS的浓度为 $1.0\text{mol}/\text{m}^3$ 、MPTMS的浓度为 $6.4\text{mol}/\text{m}^3$ 、KPS的浓度为 $4.0\text{mol}/\text{m}^3$ 。

[0191] 聚合反应完成后,对所得到的悬浮液进行离心分离(12000rpm、15分钟),去除上清液提取核颗粒,通过超声波照射使其在去离子水中再分散并进行离心洗涤。该离心洗涤进行3次,使实施例2的核颗粒分散在去离子水中。

[0192] 3. 杂团聚颗粒的合成

[0193] 本发明的实施例2的杂团聚颗粒合成除了使用实施例2的核颗粒作为核颗粒之外,进行与实施例1的杂团聚颗粒合成相同的操作。

[0194] 而且,得到实施例2的杂团聚颗粒的悬浮液。

[0195] 此时,悬浮液的容量设为 20cm^3 、核颗粒为0.094容量%、磁性纳米颗粒为0.029容量%。

[0196] 4. 磁性体复合颗粒的合成

[0197] 除了使用所得到的实施例2的杂团聚颗粒的悬浮液之外,进行与实施例1相同的操作,合成实施例2的磁性体复合颗粒。

[0198] 此时,杂团聚颗粒设为0.12容量%、TEOS为 $5\text{mol}/\text{m}^3$ 、MPTMS为 $5\text{mol}/\text{m}^3$ 、水为 $3\sim 13\text{kmol}/\text{m}^3$ 、氨为 $0.3\text{mol}/\text{m}^3$,反应液的容量设为 20cm^3 。

[0199] 5. 磁性体复合颗粒的特性评价

[0200] 对于所得到的实施例2的磁性体复合颗粒,进行与实施例1相同的操作,通过TEM测定磁性体复合颗粒的粒径,通过动态光散射光度计测定磁性体复合颗粒的(d_{DLS}),合在一起确认分散性。而且作为磁性体复合颗粒的磁特性,测定饱和磁化强度。

[0201] 以上的结果记载于表1。

[0202] (实施例3)

[0203] 对实施例1所得到的磁性体复合颗粒使用电磁场装置,针对施加/解除磁场时的操作进行说明。

[0204] 需要说明的是,图3为本实施例所使用的施加磁场的电磁场装置的示意性透视图,图4为示意性截面图。

[0205] 作为溶剂选择水,对于1ml的水添加 $1\mu\text{l}$ 的实施例1所得到的磁性体复合颗粒的悬浮液(10质量%)并使其分散,得到0.01质量%的分散液。该分散液23密封入图3、4所示的电磁场装置的载玻片21和盖玻片24之间。液温设为室温(25℃)。需要说明的是,载玻片21和盖玻片24之间设置有间隔件22,载玻片21和盖玻片24均由BSA(牛血清白蛋白)进行亲水化处理。

[0206] 该状态的分散液中的磁性体复合颗粒的显微镜图像如图5所示。

[0207] 接着,使电流通过电磁场装置的电磁铁25,对分散液施加0.38T的磁场。

[0208] 此时,用光学显微镜观察实施例1的磁性体复合颗粒的泳动状态,分散液23中的磁性体复合颗粒的显微镜图像如图6所示。而且,测定该磁性体复合颗粒形成的簇链长度和泳

动速度。需要说明的是,该磁性体复合颗粒形成的簇链长度由显微镜图像算出。另一方面,泳动速度通过用追踪软件(NISA Object Tracking、由Nikon Corporation制造)追踪规定的磁性体复合颗粒来测定。

[0209] 其结果,对所述分散液23施加磁场时的、该磁性体复合颗粒形成的长边侧的簇链的长度为 $0.5\sim 5\mu\text{m}$ 。而且,可以看出该磁性体复合颗粒形成的簇链的泳动速度趋向于与长边侧的簇链长度相关,并发现有簇链长度越长,泳动速度越增大的倾向。

[0210] 具体而言,在长边侧的簇链长度超过 $2\mu\text{m}$ 的条件下,显示出与后述的比较例4的市售的磁性体复合颗粒同等程度(大约 $9\mu\text{m/s}$)的泳动速度。

[0211] 在上述泳动速度测定后解除磁场,结果簇链崩塌,磁性体复合颗粒回到接近单分散的分散状态。

[0212] (比较例1)

[0213] 将体积平均粒径为 217nm 的聚合物颗粒作为核颗粒,与实施例1相同,合成在其表面上形成的外壳中包含 Fe_3O_4 纳米颗粒作为磁性纳米颗粒、包含TEOS和MPTMS作为硅氧化物的比较例1的磁性体复合颗粒,评价其特性。

[0214] 需要说明的是,针对比较例1的磁性体复合颗粒,除“2.核颗粒的合成中的2)核颗粒的合成”之外,1.磁性纳米颗粒的合成、2.核颗粒的合成、3.杂团聚颗粒的合成、4.磁性体复合颗粒的合成、5.磁性体复合颗粒的特性评价与实施例2相同。

[0215] 比较例1的“2.核颗粒的合成中的2)核颗粒的合成”所使用的原料与实施例相同。而且,适当调整核颗粒的合成条件以得到直径为 217nm 的核颗粒。

[0216] 然后,对于所得到的比较例1的磁性体复合颗粒,进行与实施例1相同的操作,通过TEM测定磁性体复合颗粒的体积平均粒径(d_{TEM}),通过动态光散射光度计测定磁性体复合颗粒的(d_{DLS}),合在一起确认分散性。而且,作为磁性体复合颗粒的磁特性,测定饱和磁化强度。

[0217] 以上的结果记载于表1。

[0218] (比较例2)

[0219] 在“4.磁性体复合颗粒的合成”中,对于 1ml 的水,添加 $1\mu\text{l}$ 的市售的磁性体复合颗粒(名称:Sera-Mag Magnetic Streptavidin-coated)的 10mg/ml 颗粒悬浮液,仅添加 30mol/m^3 的TEOS来代替添加 10mol/m^3 的TEOS、 10mol/m^3 的MPTMS,除此之外,进行与实施例1相同的操作,合成比较例2的磁性体复合颗粒,评价其特性。而且,作为磁性体复合颗粒的磁特性,测定饱和磁化强度。

[0220] 以上的结果记载于表1。

[0221] (比较例3)

[0222] 在“4.磁性体复合颗粒的合成”中,除了仅添加 15mol/m^3 的TEOS来代替添加 5mol/m^3 的TEOS、 5mol/m^3 的MPTMS之外,进行与实施例2相同的操作,合成比较例3的磁性体复合颗粒,评价其特性。而且,作为磁性体复合颗粒的磁特性,测定饱和磁化强度。

[0223] 以上的结果记载于表1。

[0224] (比较例4)

[0225] 除了以市售的磁性体复合颗粒($d_{\text{TEM}}740\text{nm}$)代替实施例1所得到的磁性体复合颗粒之外,进行与实施例3相同的操作。

[0226] 于是,通过施加磁场,该市售的磁性体复合颗粒形成簇链,显示出 $9\mu\text{m/s}$ 的泳动速度。

[0227] 而且,即使在泳动速度测定后解除磁场,簇链被保持,磁性体复合颗粒没有回到接近单分散的分散状态。

[0228] [表1]

[0229]

	实施例1	实施例2	比较例1	比较例2	比较例3
核颗粒直径 (nm)	47	106	217	47	106
硅化合物层	TEOS+ MPTMS	TEOS+ MPTMS	TEOS+ MPTMS	仅 TEOS	仅 TEOS
d_{TEM} (nm)	63	112	226	72	144
d_{DLS} (nm)	114	200	330	1130	540
$(d_{\text{DLS}}) / (d_{\text{TEM}})$	1.81	1.79	1.46	15.7	3.75
分散性	高	高	高	低	低
σ_s (Am^2/kg)	44	37	14	24	31

[0230] 附图标记说明

[0231] 1. 磁性体复合颗粒

[0232] 11. 核颗粒

[0233] 12. 磁性纳米颗粒

[0234] 13. 硅化合物的层

[0235] 14. 外壳

[0236] 21. 载玻片

[0237] 22. 间隔件

[0238] 23. 分散液

[0239] 24. 盖玻片

[0240] 25. 电磁铁

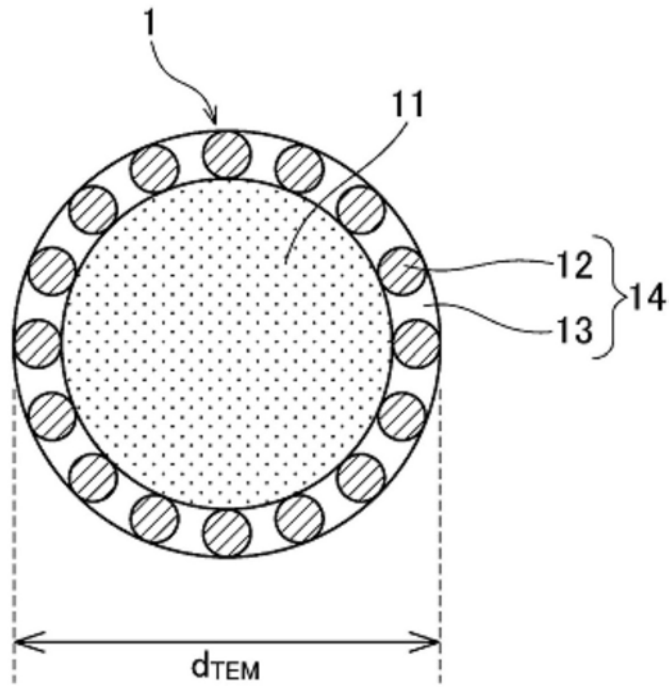


图1

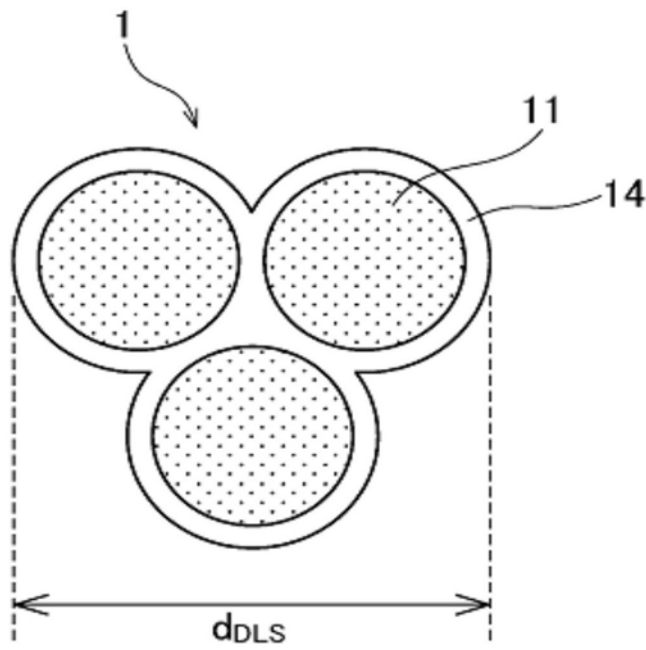


图2

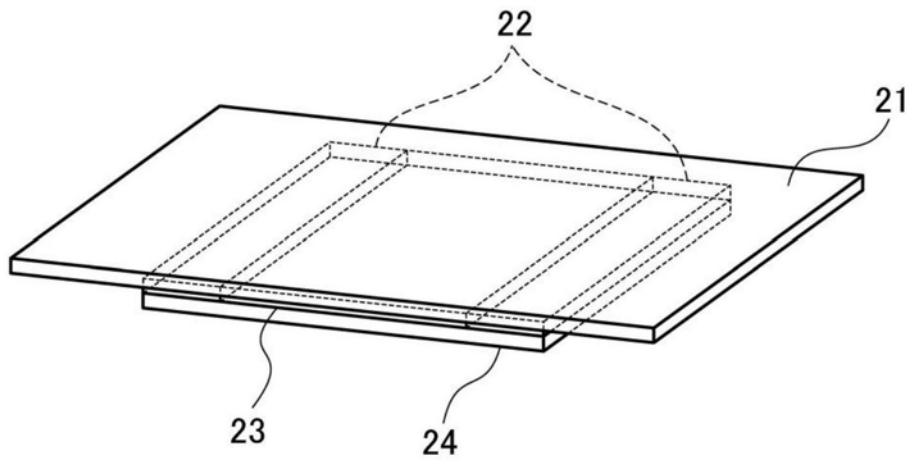


图3

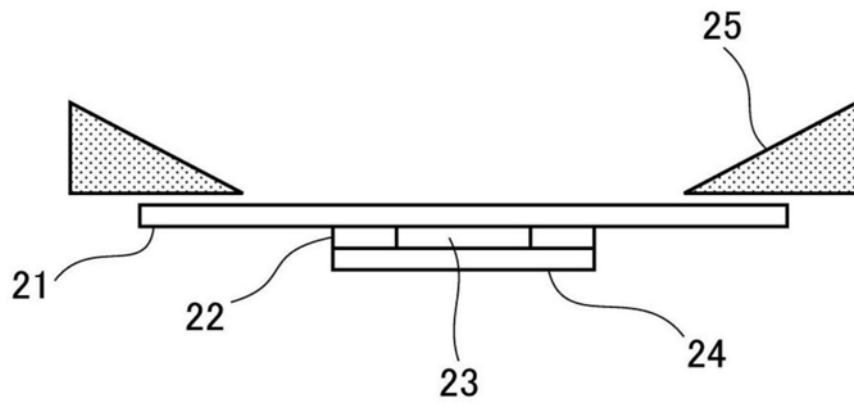


图4

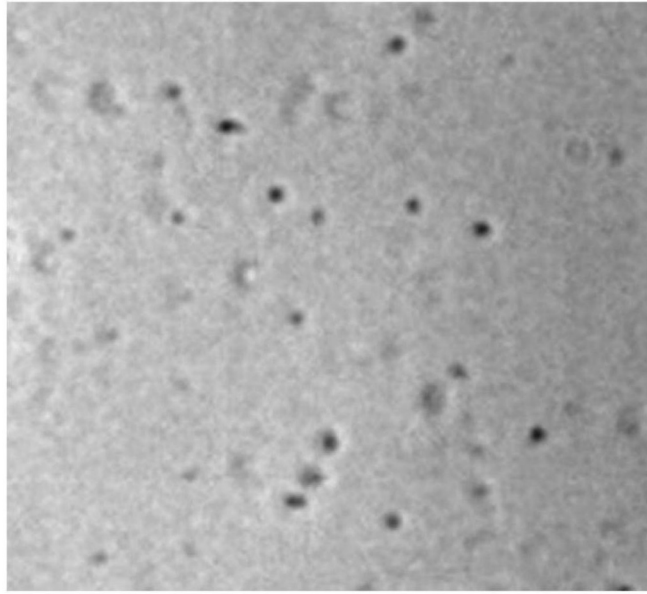


图5

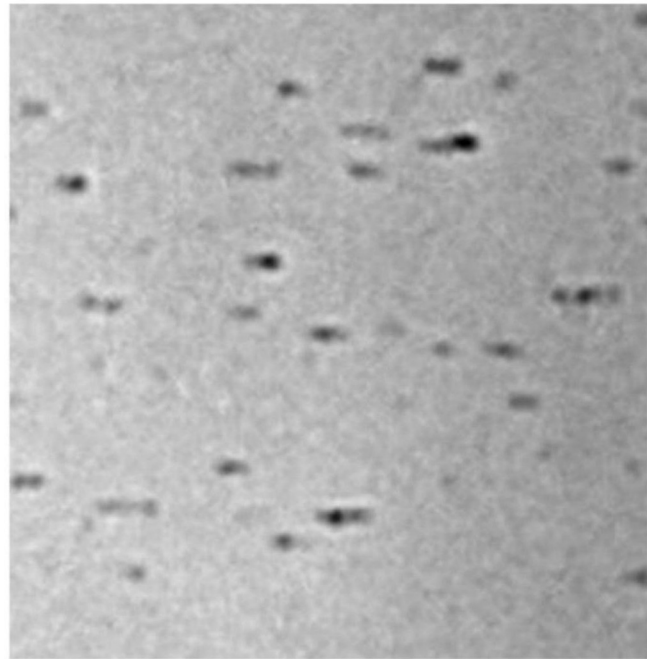


图6