

Preparation of Fluorescence Tunable Multicolor Nanoparticles by One-Step Method

Jian Chen, Pei-sheng Zhang, Xian-yong Yu, Xiao-fang Li, Hong-wen Tao, Ping-gui Yi

School of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China

Email: cj0066@gmail.com

Abstract: Fluorescence tunable polymer nanoparticles were prepared by incorporating two hydrophobic fluorescent dyes (9, 10-diphenylanthracene: DPA and nitrobenzoxadiazolyl: NBD) into polymethylmethacrylate (PMMA) nanoparticles via one-step miniemulsion polymerization method. The prepared fluorescent nanoparticles exhibit the spectral properties of both DPA and NBD dye, indicating that the two fluorophores have been incorporated into the nanoparticles. Moreover, by varying the doping ratio of the two hydrophobic dyes, the polymer nanoparticles exhibit tunable and distinguishable emission characteristics under a single wavelength excitation via occurring fluorescence resonance energy transfer (FRET).

Keywords: Fluorescence tunable; Polymer nanoparticles; FRET; Miniemulsion

一步法制备荧光可调的多色纳米粒子

陈建, 张培盛, 于贤勇, 李筱芳, 陶洪文, 易平贵*

湖南科技大学化学化工学院 湖南省湘潭市 中国 411201

Email: cj0066@gmail.com

摘要: 根据荧光共振能量转移 (FRET) 原理, 先选定了能级匹配的给体 (9,10-二苯基蒽 (DPA)) 和受体 (硝基苯并二恶唑基 (NBD)), 采用一步细乳液聚合方法将这两种生色团引入单个的聚合物纳米粒子。制得的荧光纳米粒子兼有 DPA 和 NBD 两种染料的光谱特性, 证明了两生色团已经成功结合入纳米粒子中。并且通过改变这两种疏水染料的掺杂比例, 在单一波长激发下, 通过发生荧光共振能量转移, 聚合物纳米粒子表现出多色, 及可调控、可区分的荧光发射信号。

关键词: 荧光可调; 聚合物纳米粒子; FRET; 细乳液

1 引言

近年来, 多重信号和生物分析法在许多应用中起重要的作用, 如基因检测、新药物的高通量筛选以及临床诊断等方面^[1-3]。多重生物鉴定常常需要大量的荧光标签, 这些标签能够在单波长激发下产生可区别的多种荧光发射信号, 这在很大程度上促进了荧光可调纳米粒子的发展。荧光可调的纳米粒子通常是通过把两种或更多的能发生能量转移的荧光染料结合进单个纳米粒子中来制备^[4-6]。与传统的有机染料相比, 荧光可调纳米粒子具有许多优点。例如, 它们不仅具有高亮点、改良的光学稳定性和生物相容性, 而且具有设计灵活、合成简便、高灵敏度。同时, 其制备过程温和且可控, 可作为

一种非常通用有效的 FRET 载体, 广泛应用在发展新型灵活可调的生物或环境传感器上, 而且通过改变染料的掺杂比例, 使纳米粒子在单一波长激发下通过 FRET 原理产生多色的可调发射信号^[4]。

本论文根据 FRET 原理, 选定能级匹配的给体 (DPA) 和受体 (NBD); 然后采用一步细乳液聚合方法^[5]将两种生色团 (DPA 和 NBD) 引入单个的纳米粒子中; 再结合 FRET 原理, 通过改变 DPA 和 NBD 的掺杂比例, 在单一波长激发下, 可对含两种染料 (DPA 和 NBD) 的纳米粒子进行荧光信号的多次调控。

2 实验部分

2.1 主要试剂

十六烷 (HD, 99 %, Aldrich), 过硫酸钾 (KPS,

资助信息: NSFC 基金资助项目 (51003026, 20772027, 20971041)。

99 %, Aldrich), 十二烷基硫酸钠(SDS, 99 %, Aldrich), 9,10-二苯基蒽(DPA, Aladdin), 直接使用。甲基丙烯酸甲酯(MMA, 99 %, Aldrich) 化学纯, 精制冷藏使用。硝基苯并二恶唑基(NBD), 实验室合成, 密封避光使用。所有水均为二次去离子水。

2.2 细乳液聚合制备含 DPA 和 NBD 的荧光纳米粒子

将混合后的单体溶液(包含 MMA, DPA, NBD, HD 四种疏水物质)加到 SDS 的水溶液中, 在常温下搅拌混合 15 分钟后, 放入冰水浴中(20 °C)超声(99 %)乳化 20 分钟便可得到稳定的细乳液。然后将细乳液转入带冷凝管、磁力搅拌的 50 ml 圆底烧瓶中, 搅拌 30 分钟后升温至 60 °C, 加入用水溶解好的引发剂 KPS 引发聚合, 210 分钟后停止反应, 冷却至室温, 抽滤得到所需的含 DPA/NBD 纳米粒子分散液。

2.3 表征与分析

样品溶液的吸收光谱采用 SHIMADZU 公司的紫外-可见分光光度(UV-2501PC 型)测得。样品的荧光光谱采用 SHIMADZU 公司的荧光光谱仪(RF5301PC 型)测定, 激发光和发射光的狭缝选用 2.5 nm, 各样品均稀释至有效的浓度。纳米粒子的大小及粒度分布采用日本 Seiko 公司的 SII400 型原子力显微镜(AFM)测定。

3 结果与讨论

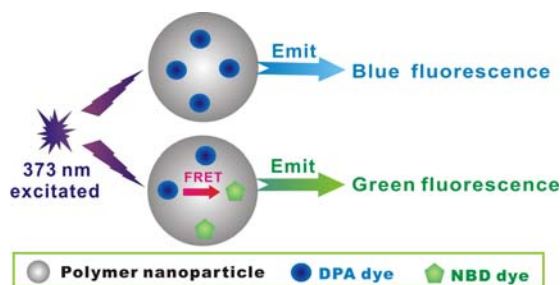


Figure 1. Schematic illustration of fluorescence tunable polymer nanoparticles containing one or two fluorescent dyes (DPA) and (NBD) at a single wavelength excitation

图 1. 包含一种或两种荧光染料(DPA 和 NBD)的荧光可调聚合物纳米粒子在单一波长激发下的示意图

在本研究中, 我们采用细乳液聚合法合成含 DPA 和 NBD 的荧光可控纳米粒子, 首先将一定量的 DPA、NBD 溶解到 MMA 单体中, 再加入助乳化剂 HD 混合均匀, 然后将混合体系加入到含 SDS 表面活性剂的水中超声分散均匀, 形成稳定的细乳液, 最后加入水溶性

引发剂 KPS 引发聚合反应, 即可得到含 DPA/NBD 的荧光可控纳米粒子(图 1)。所合成的纳米粒子样品的原子力显微镜图像如图 2 所示, 从图中可以发现, 大部分聚合物粒子是均匀分散的球形, 其直径大约在 65-80 nm 之间。

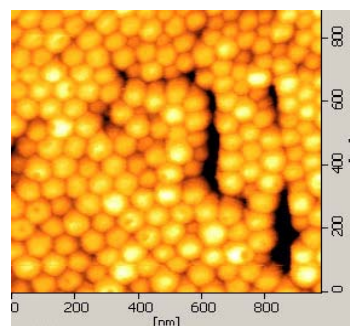


Figure 2. AFM image of two-dye-doped nanoparticles
图 2. 含两种染料的纳米粒子的原子力显微镜图像

为了证明 DPA 和 NBD 两种生色基团是否被包裹入纳米粒子中, 我们对这两种染料在不同环境下的吸收光谱进行了研究。从图 3 可知, DPA 和 NBD 在水中几乎无峰, 而在二氯甲烷溶液中都有明显的吸收峰, 这是因为 DPA 和 NBD 是非极性的, 不溶于水, 但易溶于非极性溶剂。此外, 通过细乳液聚合法把两种荧光染料结合进纳米粒子后, 该荧光纳米粒子在 375 nm、393 nm 和 459 nm 左右具有很明显的吸收带, 这和 DPA 和 NBD 两种染料在疏水低极性溶剂二氯甲烷中的吸收带相似, 这表明染料分子已经成功结合进纳米粒子中, 并处于一个疏水低极性的 PMMA 基体环境。

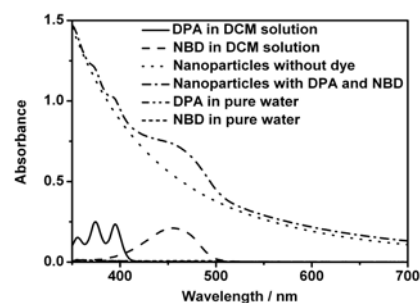


Figure 3. Absorption spectra for DPA dye and NBD dye in pure water, in dichloromethane solution and in nanoparticle dispersions respectively

图 3. DPA 和 NBD 分别在纯水、二氯甲烷溶液和纳米粒子分散液中的吸收光谱

对于多重生物鉴定而言, 要求所使用的荧光材料具

有能在单一波长激发下发射出可辨别的荧光信号。本研究中，我们通过改变纳米粒子中两种染料的掺杂比例，在单一波长激发下，其纳米粒子的荧光发射特征能够发生相应的改变。并且随着 DPA 和 NBD 的掺杂比例的增加（从样品 NP-A 至 NP-F 增加），给体的荧光发射强度逐渐降低，而受体的发射强度稳定增加。同时，在 365 nm 处紫外光激发下，纳米粒子分散液的颜色也逐渐的从蓝色变成绿色（图 4）。

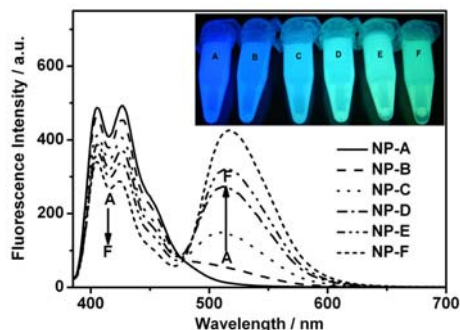


Figure 4. Fluorescence emission spectra and photographs (under the dark environment excited by UV light) of six nanoparticle samples with different NBD feeds

图 4. NBD 含量不同的六组纳米粒子样品的荧光发射光谱及各样品在紫外光激发下的照片

4 结论

综上所述，通过一步细乳液聚合的方法，我们成功地将两种荧光染料（DPA 和 NBD）结合进聚合物纳米粒子中。在单个纳米粒子中，这两种生色团的数量和比例可通过改变投料比来实现，还可以用这个方法进一步对纳米粒子中荧光强度和能量转移的效率进行调控。由于在单一波长的激发下，荧光可调控的纳米粒子能发出可调的荧光发射信号，因此，它可能在生物领域得到应用，比如多重生物分析、成像和检测等方面。

References (参考文献)

- [1] Wang H. Q., Wang J. H., Li Y. Q., et al. Multi-color encoding of polystyrene microbeads with CdSe/ZnS quantum dots and its application in immunoassay [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007, 316:622-627.
- [2] Sapsford K. E., Berti L., Medintz I. L. Materials for fluorescence resonance energy transfer analysis: beyond traditional donor-acceptor combinations [J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2006, 45(28):4562-4588.
- [3] Smith A. M., Dave S., Nie S. M., et al. Multicolor quantum dots for molecular diagnostics of cancer [J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2006, 6(2):231-244.
- [4] Wang L., Tan W. H. Multicolor FRET silica nanoparticles by single wavelength excitation [J]. *Nano Letters*, 2006, 6(1):84-88.
- [5] Markus A., Landfester K. Polyreactions in miniemulsion [J]. *Progress in Polymer Science*, 2002, 27(4):689-757.