

生物相容 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒的合成及应用

李文兵, 周蓬蓬, 余龙江, 朱敏, 鲁明波

(华中科技大学生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430074)

摘要:总结了磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒的制备方法, 例如共沉淀法、高温热分解法、微乳液法、气-溶胶法及趋磁细菌合成法等, 同时详细概述了生物相容磁性 Fe_3O_4 纳米微粒在生物活性物质的固定、修饰、分离、检测、靶向药物、癌症治疗及磁共振成像等生物医学方面的应用, 并对前景进行了展望。

关键词:四氧化三铁; 磁性纳米颗粒; 生物相容材料; 生物技术

中图分类号: O614.81

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2006)S1-0322-05

Synthesis and application of biocompatible magnetite magnetic nanoparticles

LI Wen-bing, ZHOU Peng-peng, YU Long-jiang, ZHU Min, LU Ming-bo

(School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: This paper summarized the preparation methods of magnetic magnetite nanoparticles, such as coprecipitation method, high-temperature decomposition method, microemulsion method, aerosol method and synthesis by magnetotactic bacteria, etc. Particularly the application of magnetic magnetite nanoparticles in biomedicine such as immobilization, modification, isolation and determination of biologically active compounds, targeting drug cancer therapy and magnetic resonance imaging was described in detail. The prospect of synthesis and potential application of biocompatible nanoparticles was also made.

Key words: magnetite; magnetic nanoparticles; biocompatible materials; biotechnology

20 世纪 60 年代第一次人工制造出了磁性纳米颗粒, 而地球上的生物早已能合成磁性纳米颗粒^[1]。虽然物理或化学方法制备的磁性纳米材料能达到纳米尺寸, 但其尺寸分布较宽, 而且表面裸露, 易发生聚集, 使磁性材料失去单畴磁极, 失去纳米材料特有的性质; 生物体的磁小体 Fe_3O_4 纳米颗粒, 是在生物体胞内的囊泡矿化而成的, 受基因调控, 大小均匀, 形态相似, 再者其外包裹有一层磷脂膜, 能阻止磁小体颗粒聚集^[2]。

磁性纳米微粒为生命科学和生物技术提供了多种可能, 主要是由于磁性纳米微粒尺寸微小、具有磁性, 遵守库仑定律, 易受外部磁场的控制以及具有较大的比表面积, 易被修饰。应用于生物技术的纳米颗粒需要苛刻的物理、化学以及药理学特性, 包括化学组成、颗粒的均匀性、晶体结构、磁性能、表面结构、吸附性能、溶解性能及较低毒性^[3-5]。合成这种超精细颗粒的主要困难是控制颗粒的纳米级尺寸。因此, 研究磁性纳米颗粒的简洁合成方法, 并得到预计的尺寸、合适的粒径分布且没有聚集, 是研究的重

点, 而趋磁细菌的发现为制备生物相容的磁性纳米微粒提供了可能, 磁小体线度一般为 35 ~ 100 nm, 磁小体的膜能被各种物质修饰, 结合多种活性物质, 使其具有独特的生物医学功能^[6]。因此制备与研究生物相容纳米微粒一直是人们十分感兴趣的课题。本文介绍了最常用的合成生物相容 Fe_3O_4 磁性纳米微粒的方法, 以及磁性纳米微粒在诸如生物活性物质的固定、分离、检测、靶向药物、温热疗法和 MRI 等生命科学和生物技术领域的应用。

1 四氧化三铁的合成方法

1.1 共沉淀法

共沉淀法是目前使用最为普遍的方法之一, 将 $\text{Fe}(\text{II})$ 和 $\text{Fe}(\text{III})$ 盐溶液按物质的量比为 1:2 (或 2:3) 的比例混合后, 用过量的氨水或 NaOH 等溶液作为沉淀剂, 在一定的温度和 pH 下, 高速搅拌进行反应, 高速离心得到沉淀, 将沉淀洗涤、干燥, 就可以得到纳米级 Fe_3O_4 磁性微粒。安丽娟等^[7]用化学共沉淀方法制备了平均粒径为 10 nm、饱和磁化强度

收稿日期: 2005-09-01

作者简介: 李文兵 (1973-), 男, 博士研究生; 余龙江 (1966-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事资源生物与技术研究; 周蓬蓬 (1963-), 女, 副教授, 主要从事微生物工程与技术研究, 通讯联系人, enyaz9@163.com, 027-62050221。

σ_s 为 62.5 emu/g 的 Fe₃O₄ 超顺磁性纳米微粒,并用油酸(十八烯酸)和十二烷基苯磺酸钠为双层表面活性剂进行表面修饰,制备了稳定的水分散性纳米 Fe₃O₄ 聚合磁流体,然后将苯乙烯、甲基丙烯酸和 Fe₃O₄ 磁流体通过乳液聚合方法制备了平均粒径为 130 nm、饱和磁化强度 σ_s 为 17.1 emu/g 的超顺磁性高分子微球。还可利用 Fe(II) 氢氧化物的悬浮液部分地被氧化来制备磁性微球,比如用温和的氧化剂(NO₃⁻)氧化 Fe(II) 盐就能得到平均粒径为 30 ~ 100 nm、粒径窄分布的 Fe₃O₄ 球状微粒^[8]。Lellouche 等^[9]利用氧化沉淀 Fe(II) 盐法制备了 Fe₃O₄ 纳米微粒。此外,在溶液中按化学计量投加 Fe(OH)₂ 和 Fe(OH)₃,并控制沉淀介质的 pH 和离子强度,才能得到同一数量级粒径均一的 Fe₃O₄ 或磁赤铁矿(γ -Fe₂O₃)球状微粒^[10]。共沉淀法制备生物相容的纳米微粒,设备简单,反应条件温和,工艺简洁,但影响微粒粒径和磁学性能的因素较多,必须严格控制,否则会出现团聚现象,影响微粒的磁学性能。

1.2 有机金属前体的高温分解法

高温分解铁有机物法是将铁有机前体(有机金属化合物),如 Fe(CO)₅、Fe(CuP)₃,快速地注入到加有表面活性剂的热溶液中,高温分解产生铁原子,再由铁原子生成铁纳米颗粒,将铁纳米颗粒氧化得到 Fe₃O₄。这种方法制得的纳米颗粒结晶度高,粒径可控,且分布很窄,及能分散^[11]。Sun 等^[12]用此方法,通过热分解乙酰丙酮铁、乙酰丙酮钴和乙酰丙酮锰制备了单分散性的铁氧体纳米磁铁,并提出了一种通过添加两性的表面活性剂,把疏水性的纳米微粒转化成亲水性纳米微粒的简便方法。此外在油酸和油酸胺存在下,他们还用乙酰丙酮铂和热分解五羰基铁[Fe(CO)₅]同时进行还原,制备了单分散性的 Fe-Pt 纳米微粒。值得一提的是 Jeyadevan 等人也用此方法制得了一定程度上具有正方晶形、有序排列的 Fe-Pt 纳米微粒^[13]。

1.3 微乳液法

微乳液是由表面活性剂、油相、水相及助溶剂等在适当比例下混合自发形成的热力学稳定体系,具有透明或者半透明、低黏度、各向同性和分散相液滴微小且均匀等特点^[14]。根据分散相和连续相的不同,微乳液一般分为 2 种类型,即油包水型(W/O 型)和水包油型(O/W 型)。微乳液的微小液滴是一个“微型反应器”,化学反应被限制在液滴微腔内,微粒的核化、生长及粒径受微腔大小的控制,并能有效

地避免微粒之间的团聚。W/O 型微乳液被广泛地用来制备纳米微粒^[15]。Deng 等^[16]在 AOT-甲苯微乳液体系中,用氮气保护,把丙烯酰胺和引发剂 AIBN 加入到铁的氧化物纳米微粒中进行聚合反应,反应完成后,用磁分离法去除乳化剂 AOT 和溶剂甲苯,就制得亲水性磁性超微细微粒。López-Quintela 等^[17]在 AOT-庚二醇体系中,加入一定物质的量 Fe(II) 和 Fe(III) 氯化物,充分反应后离心,再用庚烷丙酮洗涤,经干燥得到纳米 Fe₃O₄ 微粒。任非等^[18]以氨水为沉淀剂,用化学共沉淀微乳液中 Fe(II) 与 Fe(III) 离子制备了正癸酸稳定的纳米磁性水基 Fe₃O₄ 颗粒。而 Gupta 和 Wells^[19]近来也利用 W/O 微乳液合成了具有窄的尺寸范围及均匀的化学和物理性质的超顺磁性 Fe₃O₄ 纳米颗粒。

1.4 气溶胶法

喷射和激光高温分解法可用来直接地连续地制备较好晶型的磁性纳米微粒。喷射高温分解法是通过喷射溶液到反应器形成气溶胶,气溶胶的微滴中发生溶剂蒸发和溶质浓缩,沉淀的颗粒然后在高温下热分解及干燥就得到固体物质^[20]。最近这种方法被用来制备中空或致密球状的、具有超顺磁性磁赤铁矿的纳米微粒胶体聚合体,及其能在二氧化硅表面富集^[21-22]。需要指出的是这种方法也能制备出包裹在二氧化硅或氧化铝里能稳定存在空气中的、具有超顺磁性的 α -Fe 和 FeCo 纳米磁铁^[23-24]。

激光高温分解法是用持续的二氧化碳波加热一种流动的气态混合物,用激光来引发和维持化学反应^[25]。在一定的压力和激光功率下,在反应区域发生晶核富集,形成均匀的微粒核化,然后用惰性气体传送到过滤器。激光高温分解法有 3 个重要特征:形成的颗粒小、颗粒具有窄的粒径分布和几乎没有聚集发生。Bautista 等^[26]利用持续的激光高温分解 Fe(CO)₅ 蒸汽得到 γ -Fe₂O₃ 纳米微粒(5 nm),然后制备出生物相容的磁性分散体。

1.5 Fe₃O₄ 的生物控制合成

趋磁细菌是一类能够沿着磁力线运动的特殊细菌,其细胞含有对磁场有敏感性、起到运动导向作用的磁小体^[6]。趋磁细菌是生物控制矿化作用的典型代表,所生成的磁性矿物,粒度精细均一、结晶度高且纯、晶形特殊及呈链状排列。细菌成因磁铁矿在现代生物和医学应用方面也展露出了非凡的魅力^[27]。因此趋磁细菌的磁小体研究已受到人们的广泛关注。特别是趋磁细菌磁小体的形成一直是人们非常关注的问题之一。Frankel 等^[28]用 Mössbauer

谱研究了 *M. magnetotacticum* 中主要铁的化合物性质,并提出磁铁矿生物矿化模型:首先 Fe(III)被细胞主动吸收,当 Fe(III)进入细胞体时通过细胞膜时被还原为 Fe(II),进入细胞膜后 Fe(II)重新被氧化形成低密度水合 Fe(III)氧化物,然后再脱水形成高密度的 Fe(III)氧化物(水铁矿),最后 1/3 的 Fe(III)被还原并进一步脱水生成磁铁矿 Fe_3O_4 。该过程可以用下面路线来描述: $\text{Fe(III)} \rightarrow \text{Fe(II)} \rightarrow \text{低密度水合 Fe}_2\text{O}_3 \rightarrow 5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4$ 。Schüler^[29]对 *M. gryphiswaldense* 的磁小体 Fe_3O_4 生物矿化也得到近似的模型。

近年人们从功能蛋白和基因的调控等方面来研究趋磁细菌的生物矿化作用^[30]。Bertani 等^[31]发现 *M. magnetotacticum* 的基因组是 4.3 Mb 长的单一环状结构。人们对 *Magnetospirillum* AMB-1 的研究发现, *magA* 基因对铁的吸收有贡献^[32]。Schüler 及其合作者^[29,33-34]研究分析了 *M. gryphiswaldense* 的磁小体 Fe_3O_4 膜蛋白以及它们在磁铁矿颗粒生长过程中功能的变化,发现磁小体 Fe_3O_4 膜包含了其他趋磁细菌共有的 MamA 蛋白和其本身所特有的 MamC 和 MamF 蛋白。有理由相信,基因组学和蛋白组学等分子水平的研究将全面揭示趋磁细菌生物矿化机理,人们就能方便地制造出满足需要的磁性纳米微粒。

2 磁性纳米的 Fe_3O_4 应用

2.1 生物活性物质的固定和修饰

酶、抗体、寡核苷酸和其他的生物活性物质的固定是一种非常重要的技术,能应用在生命科学和生物技术的不同领域。固定在磁性载体上的生物活性物质通过外加磁场能从系统里移除,或能锚到预期的位置。被固定了的物质能在特定的部位表现其活性(如固定化酶),或者能作亲和和配位体标记以网捕或修饰靶分子或细胞。从趋磁细菌得到的磁性纳米颗粒用于固定不同的酶,例如葡萄糖氧化酶、尿酸酶、抗体和寡核苷酸等^[35]。

Demirel 等^[36]采用溶剂蒸汽法制备了树脂状聚苯乙烯磁性颗粒,用蒸馏水清洗磁性颗粒后,取 1.4 g 磁性颗粒与 15 mL 果胶 Ultra SP-L 酶溶液(6% 体积分数)混合,通过连续搅拌使酶固定在磁性纳米颗粒上,而果胶酶的活性没有变化。Holschuh 等^[37]以磁性纳米 Fe_3O_4 颗粒作载体,表面固定 Protein A,借助于磁分离器,对结合有老鼠 Ig2b 抗体进行了分离。

2.2 生物活性物质的分离

亲和配体技术是目前用于筛选和收集生物活性物质的最有效工具。在磁性分离载体表面偶联各种各样的特异性配基,通过亲和和吸附、解吸和磁场分离等操作从未经处理的含有杂志的样品中分离目标分子,其速度要比标准的液相色谱法快得多。例如,将 oligo(dT) 固定在磁性纳米颗粒上,用来分离真核的 poly(A)⁺ mRNA,也可在细菌磁性纳米颗粒上固定低聚核苷酸来实现分离;Protein A 固定在磁性纳米颗粒被用来纯化单克隆抗体。用铁磁流体修饰过的 5'-AMP-琼脂糖 4B 作为亲和吸附剂来分离酒精脱氢酶和乳酸脱氢酶,而铁流体修饰的 2',5'-ADP-琼脂糖 4B 被用作分离葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和 6-磷酸葡萄糖酸脱水酶^[1]。

2.3 生物活性物质的检测

在免疫学研究中,利用抗体-抗原特异性可逆结合的原理可以测定免疫活性组分的存在和浓度。特定的抗体和抗原被固定在精细的磁性颗粒上,用于检测不同生物活性物质。磁性分析被证明是一种简单、快速和灵敏的测定方法,主要是利用酶、放射性同位素、荧光物质或化学发光体偶联上抗体-抗原,制成一种磁性检测试剂,就可以对标本中抗体或抗原进行快速地检测。目前,磁性免疫检测技术已经成为免疫分析的重要方法之一,部分已经实现商业化。Španova 等^[38]用磁性纳米级 poly(HEMA-co-EDMA)和 poly(HEMA-co-GMA)作为载体,固定沙门菌抗体和蛋白酶 K,用磁分离器来分离和检测沙门菌细胞。固定抗老鼠 IgG 抗体和 Protein A 的磁性纳米颗粒应用于老鼠 IgG 的酶连免疫反应分析(ELISA),分析时间比传统的方法短^[1]。

2.4 靶向药物

在生物医学领域,磁性载体可以用于药物的传递,负载有缓释药物的磁性颗粒能够借助于外加磁场的导向作用,将药物运送到人体预定的病变部位进行控制释放。磁性纳米 Fe_3O_4 颗粒具有稳定、靶向性强、药物包含率高及释放速度可控等特点,故可作为靶向药物治疗的有效的载药载体。靶向药物对磁性载体颗粒要求比较严格,如生物相容性好、可生物降解、无毒性、颗粒小、磁性强等。Chen 等^[39]用可磁化的血管支架(MIS)作为磁性药物靶向体系,这个体系包括磁性药物载体颗粒、外部磁场及 MIS 等,并对其进行了理论分析,为磁性药物载体的应用提供指导。洪小平等^[40]以乙醇-水为分散体系,对磁流体 Fe_3O_4 表面进行苯乙烯和丙烯酸共聚反应,得到

了粒径均匀、分散性好的磁性微球,然后将阿霉素固定在磁性微球上,就得到了能用于靶向药物治疗的磁性阿霉素微球。此外,磁性颗粒的尺寸、电荷及表面化学等性质影响磁性颗粒的利用度。

2.5 磁性流体的温热疗法

温热疗法是依据病毒或病变部位对热特别敏感而发展起来的一种疾病治疗方法,磁性颗粒的使用不仅为其提供了载体,而且也是热量的来源。热量的产生量依赖磁性材料的性质和磁场等参数。磁流体热疗法是基于在磁性颗粒的子域外部 AC 磁场中不同的能量散失产热,是一种有前途的癌症治疗方法,加热目标组织使其温度在 42 ~ 46℃ 之间,减少癌症细胞的活性及增加其对化疗和放射疗法的敏感性。不像化疗和放射疗法,热疗本身很少有副作用。如果磁性颗粒只在肿瘤组织里聚集,癌症的特异性发热是可以利用的。Ito 等^[41]制备了包有 Fe₃O₄ 纳米颗粒的 anti-HER2 磁性脂质体(其与治疗 anti-HER2 抗体的温热疗法结合),在体外装载有 Fe₃O₄ 纳米微粒的 anti-HER2 脂质体对 SHBr3 乳腺癌细胞有抗增生的作用,约 60% Fe₃O₄ 纳米颗粒融入 SKBr3,然后用交流磁场加热至 42.5℃,能产生强的细胞毒性效果,杀死癌细胞。Wada 等^[42]利用葡聚糖包裹的 Fe₃O₄(DM)微粒用于口癌的热疗法。他们把含 DM 的悬浮液局部地注射到舌头的肿瘤部位,然后通过 500 kHz 的 AC 磁场加热舌头至 43.0 ~ 45.0℃,结果表明舌癌的生长显著地被抑制,并且加热组中的存活率比对照组高得多;通过组织检验还发现肿瘤边缘的间质中聚集着 DM 微粒,肿瘤细胞在邻近 DM 聚集的地方消失。此外温热疗法与化疗或基因疗法的相结合,能得到更佳的治疗效果。

2.6 磁共振成像(MRI)的衬比材料

MRI 本质上是 NMR 质子作用于组织,在 MRI 中,每个组织产生对射频脉冲的不同扫描的响应,形成不同的信号强度图像衬比。这个响应依赖于质子强度和磁性释放时间,所以 MRI 的衬比依赖于化学化合物(特别是水或脂分子的浓度)和组织的分子结构^[3,26]。超顺磁粒子能充当 MRI 外源衬比源,及作为研究非损伤性生物过程的一种重要的不可缺少的工具。超顺磁-dextran 纳米颗粒能改变质子从激发态到稳定态衰变的速率,因而包含超顺磁对照试剂的区域在 MRI 中显现的比没有对照试剂的区域暗些。老鼠 T 细胞用超顺磁 Fe₃O₄ 纳米颗粒标记,有炎症的老鼠睾丸吸附结合了 Fe₃O₄ 的 T 细胞,能促进睾丸的 MRI 信号降低^[1]。

3 结语

在长时间内,应用于生命科学的纳米 Fe₃O₄ 主要是化学法制备的磁性纳米 Fe₃O₄ 微粒,故改进磁性纳米 Fe₃O₄ 微粒的化学合成方法,以得到粒径分布范围窄、操作简单和成本低的纳米 Fe₃O₄ 仍然是人们关注的重点;而磁性微粒在生命科学领域的应用及作用也是人们研究的热点^[43];生物(趋磁细菌)的方法合成纳米磁性微粒也是一种非常有前途的方法,一直是人们研究和关注的焦点。纳米磁性 Fe₃O₄ 已经与生命系统紧密相联。人们近期在火星陨石上发现了磁性纳米 Fe₃O₄ 颗粒,这可能是地外生命存在的第一手证据之一^[44]。生物合成的磁小体 Fe₃O₄ 具有较大比表面值,外有生物膜包被,不产生细胞毒性,能被各种活性物质固定、修饰,可作为新一代医用材料,在生物工程和临床医药等领域有着不可估量的应用前景;为此欧美日争相开展对趋磁细菌的生物矿化的研究,取得了一系列重要成果^[6,28-35],而我国在此领域还处于落后地位。笔者所在研究小组从淡水水体中分离得到螺形趋磁细菌,其体内最多可产达 15 颗、线度为 20 ~ 100 nm 的纳米 Fe₃O₄,并以此菌株作为研究对象,初步研究了其生物控制合成磁性纳米 Fe₃O₄ 微粒的条件及其调控机制。趋磁细菌磁性纳米颗粒生物矿化过程的未来研究,将不但从基础研究方面,而且从大规模合成磁性生物相容纳米颗粒方面都能引起人们广泛兴趣的。基因工程菌生产磁小体的生物技术及其磁小体的产量是人们最感兴趣的,这些技术可能成为生产磁性纳米颗粒制备的标准方法^[6]。

参考文献

- [1] Šafarik I, Šafarikova M. Magnetic nanoparticles and biosciences[J]. Monatshefte für Chemie, 2002, 133: 746 - 754.
- [2] Frankel R B. Biological permanent magnets[J]. Hyperfine Interactions, 2003, 151/152: 145 - 153.
- [3] Tartaj P, Morales M P, Gonzalez-Carreño T, et al. Advanced in magnetic nanoparticles for biotechnology applications[J]. J Mag Mag Mater, 2005, 290 - 291: 28 - 34.
- [4] Berry C C, Curtis A S G. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine[J]. J Phys D: Appl Phys, 2003, 36: R198 - R206.
- [5] Pankhurst Q A, Connolly J, Jones S K, et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine[J]. J Phys D: Appl Phys, 2003, 36: R167 - R181.
- [6] Bazylinski D A. Magnetosome formation in prokaryotes[J]. Nat Rev Microbiol, 2004, 2: 217 - 230.
- [7] 安丽娟,李兆强,徐妮,等.超顺磁性高分子微球的制备与表征

- [J]. 高等学校化学学报, 2005, 26: 366 - 369.
- [8] Sugimoto T, Matijevic E. Formation of uniform spherical magnetite particles by crystallization from ferrous hydroxide gels[J]. J Colloid Interface Sci, 1980, 74: 227 - 243.
- [9] Lellouche J P, Perlman N, Joseph A, et al. New magnetically responsive polycarbazole-magnetite nanoparticles[J]. Chem Commun, 2004, (5): 560 - 561.
- [10] Jolivet J P. Metal oxide chemistry and synthesis: From solutions to solid state[M]. New York: Wiley, 2000.
- [11] Hyeon T. Chemical synthesis of magnetic nanoparticles[J]. Chem Commun, 2003(8): 927 - 934.
- [12] Sun S, Zeng H, Robinson D B, et al. Monodisperse MFe_2O_4 ($M = Fe, Co, Mn$) nanoparticles[J]. J Am Chem Soc, 2004, 126: 273 - 279.
- [13] Jeyadevan B, Urakawa K, Hobo A, et al. Direct synthesis of Fe_3O_4 nanoparticles by chemical route[J]. Jap J Appl Phys, 2003, 42: L350 - L352.
- [14] Bagwe R P, Kanicky J R, Palla B J, et al. Improved drug delivery using microemulsions: rationale, recent progress, and new horizons[J]. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2001, 18(1): 7 - 140.
- [15] Tartaj P, Tartaj J. Microstructural evolution of iron-oxide-doped alumina nanoparticles synthesized from microemulsions[J]. Chem Mater, 2002, 14: 536 - 541.
- [16] Deng Y, Wang L, Yang W, et al. Preparation of magnetic polymeric particles via inverse microemulsion polymerization process[J]. J Mag Mag Mater, 2003, 257: 69 - 78.
- [17] López-Quintela M A, Rivas J. Magnetic iron oxide nanoparticles synthesized via microemulsions[J]. J Colloid Interface Sci, 1993, 158: 446 - 451.
- [18] 任非, 陈建海, 陈志良. 正癸酸包覆的 Fe_3O_4 水基磁流体的制备与性质研究[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2004, 32: 59 - 64.
- [19] Gupta A K, Wells S. Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization and cytotoxicity studies[J]. IEEE Trans Nanobiosci, 2004, 3: 66 - 73.
- [20] Messing G L, Zhang S, Jayanthi G V. Ceramic powder synthesis by spray pyrolysis[J]. J Am Ceram Soc, 1993, 76: 2707 - 2726.
- [21] Tartaj P, Gonzalez-Carreno T, Serna C J. Magnetic behavior of $\gamma-Fe_2O_3$ nanocrystals dispersed in colloidal silica particles[J]. J Phys Chem B, 2003, 107: 20 - 24.
- [22] Tartaj P, Gonzalez-Carreno T, Serna C J. From hollow to dense spheres: Control of dipolar interactions by tailoring the architecture in colloidal aggregates of superparamagnetic iron oxide nanocrystals[J]. Adv Mater, 2004, 16: 529 - 533.
- [23] Tartaj P, Gonzalez-Carreno T, Bomati-Miguel O, et al. Magnetic behavior of superparamagnetic Fe nanocrystal inside submicron-sized spherical silica particles[J]. Phys Rev B, 2004, 69: 094401.
- [24] Tartaj P, Gonzalez-Carreno T, Ferrer M L, et al. Metallic nanomagnets randomly dispersed in spherical colloids: toward a universal route for the preparation of colloidal composites containing nanoparticles[J]. Angew Chem Int Ed, 2004, 43: 6304 - 6307.
- [25] Bomati-Miguel O, Morales M P, Serna C J, et al. Magnetic nanoparticles prepared by laser pyrolysis[J]. IEEE Trans Magn, 2002, 38: 2616 - 2618.
- [26] Bautista M C, Bomati-Miguel O, Zhang X, et al. Comparative study of ferrofluids based on dextran-coated iron oxide and metal nanoparticles for contrast agents in magnetic resonance imaging[J]. Nanotechnology, 2004, 15: S154 - S159.
- [27] Naik R R, Stringer S J, Agarwal G, et al. Biomimetic synthesis and patterning of silver nanoparticles[J]. Nat mater, 2002, 1: 169 - 172.
- [28] Frankel R B, Papaefthymiou G G, Blakemore R P, et al. Fe_3O_4 precipitation in magnetotactic bacteria[J]. Biochim Biophys Acta, 1983, 763: 47 - 159.
- [29] Schüller D. The biomineralization of magnetosomes in *Magnetospirillum gryphiswaldense*[J]. Int Microbiol, 2002, 5: 209 - 214.
- [30] Matsunaga T, Sakaguchi T. Molecular mechanism of magnet formation in bacteria[J]. J Biosci Bioeng, 2000, 90: 1 - 13.
- [31] Bertani L E, Weko J, Philips K V, et al. Physical and genetic characterization of the *recA* gene of *Aquaspirillum magnetotacticum* strain MS-1[J]. Gene, 2001, 264: 257 - 263.
- [32] Nakamura C, Burgess J G, Otto A, et al. An iron-regulated gene, *magA*, encoding an iron transport protein of *M. sp* strain AMB-1[J]. J Biol Chem, 1995, 270: 28392 - 28396.
- [33] Schüller D. Molecular analysis of a subcellular compartment: The magnetosomes membrane in *magnetospirillum gryphiswaldense*[J]. Arch Microbiol, 2004, 181: 1 - 7.
- [34] Grünberg K, Müller E C, Otto A, et al. Biochemical and proteomic analysis of the magnetosome membrane in *magnetospirillum gryphiswaldense*[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70: 1040 - 1050.
- [35] Matsunaga T, Nakayama H, Okochi M, et al. Fluorescent detection of cyanobacterial DNA using bacterial magnetic particles on a MAG-microarray[J]. Biotechnol Bioeng, 2001, 73: 400 - 405.
- [36] Demirel D, Özdural A R, Mutlu M, et al. Preparation and characterization of magnetic duolite-polystyrene composite particles for enzyme immobilization[J]. J Food Engineering, 2004, 62: 203 - 208.
- [37] Holschuh K, Schwämmle A. Preparative purification of antibodies with protein A: an alternative to conventional chromatography[J]. J Mag Mag Mater, 2005, 293: 345 - 348.
- [38] Španova A, Rittich B, Horak D, et al. Immunomagnetic separation and detection of Salmonella cells using newly designed carriers[J]. J Chromatography A, 2003, 1009: 215 - 221.
- [39] Chen H T, Ebner A D, Rosengart A J, et al. Analysis of magnetic drug carrier particle capture by a magnetizable intravascular stent: I. Parametric study with single wire correlation[J]. J Mag Mag Mater, 2004, 284: 181 - 194.
- [40] 洪小平, 彭图治. 功能高分子磁性微球的制备及分析应用[J]. 分析化学, 2003, 31: 789 - 793.
- [41] Ito A, Kuga Y, Honda H, et al. Magnetite nanoparticle-loaded antiHER2 immunoliposomes for combination of antibody therapy with hyperthermia[J]. Cancer Letters, 2004, 212: 167 - 175.
- [42] Wada S, Tazawa K, Furuta I, et al. Antitumor effect of new local hyperthermia using dextran magnetite complex in hamster tongue carcinoma[J]. Oral Dis, 2003, 9(4): 218.
- [43] Gupta A K, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications[J]. Biomaterials, 2005, 26: 3995 - 4021.
- [44] McKay C P, Friedmann E I, Frankel R B, et al. Magnetotactic bacteria on earth and on Mars[J]. Astrobiology, 2003, 3: 263 - 270. ■