·研究论文·

# 具有抗蛋白黏附与抗菌性能的蝌蚪状单链粒子刷的构筑

朱 杰1 吴乃冰1 赵晓雅1 范艳斌2 黄霞芸1\* 陈道勇1\*

(<sup>1</sup>聚合物分子工程国家重点实验室 复旦大学高分子科学系 上海 200438) (<sup>2</sup>陶氏化学公司 上海 201203)

摘 要 基于蝌蚪状单链粒子与硅片表面的多位点协同非共价作用,发展了一种兼具操作便捷性和优异 "生物防污"性能的PEG刷接枝策略.通过原子转移自由基聚合(ATRP)制备了聚乙二醇-b-聚(4-乙烯基吡 啶)(PEG-b-P4VP)嵌段共聚物,利用"静电介导"法对PEG-b-P4VP的P4VP嵌段进行链内交联,进一步 加入过量的碘乙烷,制备得到P4VP"头部"完全季铵化的蝌蚪状单链粒子(TSCP-Q).在简单的溶液浸泡 接枝过程中,充分交联塌缩的"头部"与硅片表面通过多位点非共价协同作用,显著减少其在表面的吸附面 积,而充分舒展的PEG"尾部"则通过体积排斥效应,确保了TSCP-Q刷在表面的接枝均匀性.因此,所 获得的TSCP-Q刷可在硅片表面实现了稳定且均匀地接枝,其中PEG"尾部"位于P4VP"头部"锚定层 上方并有效遮蔽锚定层电荷.实验表明,TSCP-Q刷具有优异的抗牛血清蛋白(BSA)黏附性能(4.8 ng/cm<sup>2</sup>), 并且能够有效抑制金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)的繁殖(抗菌率可达81%).

关键词 蝌蚪状单链粒子,聚合物刷,聚乙二醇,抗蛋白黏附,抗菌

引用:朱杰,吴乃冰,赵晓雅,范艳斌,黄霞芸,陈道勇.具有抗蛋白黏附与抗菌性能的蝌蚪状单链粒子刷的构 筑.高分子学报,2024,55(7),900-909

Citation: Zhu, J.; Wu, N. B.; Zhao, X. Y.; Fan, Y. B.; Huang, X. Y.; Chen, D. Y. Rational design of tadpole-like single-chain particle brush with anti-protein and antibacterial performance. *Acta Polymerica Sinica*, **2024**, 55(7), 900–909

在医疗植入器械<sup>[1]</sup>和航海工业<sup>[2]</sup>等领域,材 料表面因遭受污损微生物(如细菌和硅藻)附着和 生长而发生的"生物污损"(biofouling)会带来植 入器械生物相容性下降,材料腐蚀加速以及船体 阻力增加等一系列问题<sup>[3,4]</sup>.因此,在这些领域实 现材料表面的"生物防污"(anti-biofouling)具有 重要意义.已有研究表明<sup>[5]</sup>,蛋白质在材料表面 的快速吸附能够形成富含营养的生物膜.这种生 物膜会诱导污损微生物在材料表面的附着和聚 集,从而降低材料的使用寿命.因此,赋予材料 表面优异的抗蛋白黏附性能往往是实现生物防污 的关键先决条件[6].

目前,实现材料表面抗蛋白黏附的主要方法 包括接枝聚合物刷和构筑表面微纳结构,其核心 都是通过调控材料表面的物理化学性质以减弱蛋 白质与材料表面的非特异性相互作用<sup>[7]</sup>.其中, 聚合物刷接枝策略由于其易于加工、环境自适应 性强且成本较低等优势被广泛使用<sup>[8]</sup>.常用的聚 合物刷材料包括聚乙二醇(PEG)<sup>[9]</sup>、两性离子聚 合物<sup>[10]</sup>和两亲性聚合物<sup>[11]</sup>等.其中,研究最为广 泛的是 PEG 刷的接枝策略.在已报道的工作中, 由于 PEG 难以原位聚合,PEG 刷均采用"Grafting

庆祝复旦大学高分子科学系成立30周年专辑; 2023-12-30收稿, 2024-03-15录用, 2024-04-10网络出版; 国家自然科学 基金(基金号 22071032, 51721002, 52293473)、科技部国家重点研发计划(项目号 2022YFA1203001)和陶氏化学公司资 助项目.

<sup>\*</sup> 通信联系人, E-mail: huangxiayun@fudan.edu.cn; chendy@fudan.edu.cn

doi: 10.11777/j.issn1000-3304.2023.23303

to"方法制备,包括共价和非共价策略<sup>[12]</sup>.在共 价策略中,所获得的PEG 刷具有良好的接枝稳 定性且表现出较高的抗蛋白黏附水平,但其制备 步骤较为复杂[13].例如: Gong等[14]首先在金片表 面预聚合聚多巴胺层, 然后通过酰胺化偶联反应 将羧基单端修饰的PEG共价接枝到聚多巴胺层. 该PEG刷的牛血清蛋白(BSA)黏附量仅为5 ng/cm<sup>2</sup>. Haag 等[15]使用三乙基硅烷单端修饰的PEG 与玻 璃表面硅羟基反应制备PEG刷,其BSA 黏附量为 3.6 ng/cm<sup>2</sup>. 与共价策略相比, 非共价策略的操作 更为便捷.为获得与共价接枝策略相当的接枝稳 定性,通常采用多位点协同策略来提升非共价接 枝PEG刷的接枝稳定性. Konradi等[16]合成了以 聚赖氨酸(PLL)为骨架的梳状聚合物PLL-g-PEG, 并进一步利用PLL和氧化铌表面的多重静电相互 作用制备PEG刷,其BSA黏附量为80 ng/cm<sup>2</sup>. Zeng等[17]合成了聚(3-丙烯酰胺基多巴胺)-b-聚乙 二醇(PDN-b-PEG),并利用PDN嵌段侧链邻苯二 酚与云母表面的多重氢键作用,在云母表面非共 价接枝PEG刷,其BSA黏附量为280 ng/cm<sup>2</sup>.虽 然借助多位点协同强相互作用的确能够提升 PEG 刷的接枝稳定性,但同时强相互作用也会导致协 同作用嵌段占据较大的接枝表面积,从而使得所 制得的PEG刷接枝均匀性较差,因而其抗BSA 黏附性能也相对较差.通过上述工作不难看出, 具有良好接枝稳定性的共价接枝策略可获得抗蛋 白黏附性能优异的PEG刷,但是其操作过程往 往较为复杂. 而操作便捷的非共价接枝策略却因 其难以实现 PEG 刷的均匀接枝而具有较差的抗 蛋白黏附性能.因此,提出一种同时兼具操作便 捷性和优异抗蛋白黏附性能的 PEG 刷接枝策略 显得尤为重要.

在本工作中,我们采用"静电介导"法将两 嵌段聚合物聚乙二醇-b-聚(4-乙烯基吡啶)(PEG-b-P4VP)中的P4VP嵌段链内交联,并在此基础上 进一步对P4VP"头部"进行完全季铵化处理, 成功制备了可溶解于水中且带正电的蝌蚪状单链 粒子(TSCP-Q).在该粒子中,P4VP"头部"充分 塌缩,具有较小的体积、高的活性基团密度以及 高的正电荷密度,而线性PEG"尾部"则充分伸 展.小尺寸"头部"高密度的活性基团有利于其 通过多位点协同作用与硅片表面紧密结合,确保 TSCP-Q 刷在表面的接枝稳定性.另一方面,充 分伸展的PEG"尾部"通过体积排斥效应又确保 TSCP-Q刷的接枝均匀性.位于TSCP-Q刷表面的 PEG刷层通过其体积排斥效应、快速构象转变和 紧密水合层,有效抵抗蛋白黏附.此外,PEG刷 层具有细胞膜穿透性,并且位于PEG刷层下方 高正电荷密度的P4VP季铵盐"头部"锚定层又 具有较好的杀菌性,因此TSCP-Q刷也表现出优 异的抗菌性能.

## 1 实验部分

## 1.1 主要原料

聚乙二醇单甲醚(PEG-OH, M<sub>n</sub>=5000 g/mol) 购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司. 三(2-二甲氨基乙基)胺(Me6TREN, >98.0%), 1,5-二碘 戊烷(DIP,>98.0%)购于上海阿拉丁生化科技股份 有限公司.4-乙烯基吡啶(4VP)、碘乙烷(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>I, GC)购置于梯希爱(上海)化成工业发展有限公司. 2-氯丙酰氯(98%)购于北京伊诺凯科技有限公司. 磷酸缓冲盐溶液(PBS)购于上海泰坦科技股份有 限公司.牛血清蛋白(BSA, 98.5%)购于毕得医药 科技股份有限公司.二氯甲烷(DCM, AR)、三乙 胺(TEA, AR)、氯化亚铜(CuCl, AR)、异丙醇 (AR)、正己烷(AR)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF, AR)、碳酸氢钠(NaHCO3, AR)购于国药集团化学 试剂有限公司.在上述药品中,TEA 经氢化钙干 燥、蒸馏后使用; CuCl经浓盐酸纯化, 冰醋酸、 乙醚依次洗涤、干燥后使用;4VP使用碱性氧化 铝柱除去阻聚剂后使用.其余药品均直接使用.

### 1.2 TSCP-Q蝌蚪状单链粒子的制备

首先,以DCM为溶剂、TEA作为缚酸剂, 通过2-氯丙酰氯与PEG-OH的亲核取代反应制 备大分子引发剂PEG-Cl<sup>[18,19]</sup>.具体地,将20.0g PEG-OH (*M*<sub>n</sub>=5000 g/mol, 4 mmol)溶解于80 mL DCM中.向其中加入TEA (2.8 mL, 20 mmol),在 冰水浴中冷却后缓慢滴加2-氯丙酰氯(1.55 mL, 16 mmol),随后回复到室温,反应48 h.反应结 束后,将反应液加入300 mL冰乙醚中进行沉降, 抽滤干燥得到粗产物.将粗产物溶解于300 mL饱 和NaHCO<sub>3</sub>溶液中,用DCM萃取,浓缩有机相. 将浓缩液沉降入过量冰乙醚中,抽滤干燥获得 PEG-Cl粉末.

接着,以PEG-Cl为大分子引发剂,CuCl/ Me<sub>6</sub>TREN为催化剂和配体,异丙醇为溶剂,进行 原子转移自由基聚合(ATRP)制备PEG-*b*-P4VP<sup>[20]</sup>. 在反应瓶中依次加入PEG-Cl (1 g, 0.2 mmol)、 Me<sub>6</sub>TREN (115 mg, 0.5 mmol)、4VP (8.23 g, 89 mmol)和8 mL异丙醇,完全溶解后冻融循环 3次.在体系中快速加入CuCl (25 mg, 0.25 mmol) 后,再冻融循环2次.将反应瓶放置于45 ℃反应 1 h.反应完成后,将反应液在液氮中淬灭,并加 入 DCM 稀释后使用中性氧化铝柱除去铜催化 剂.收集浓缩后沉降入冰乙醚中,抽滤干燥后获 得 PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>112</sub>.此外,采用类似方法合成了 PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>195</sub> (0.2 mmol PEG-OH, 0.5 mmol Me<sub>6</sub>TREN, 0.25 mmol CuCl, 155 mmol 4VP, 45 ℃, 1 h).

称取PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>112</sub>溶解于DMF中,配置 1 mg/mL聚合物溶液.在其中加入10 mg/mL碘乙 烷DMF溶液(*n*(4VP):*n*(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>I) = 1:0.4),在60 ℃ 搅拌反应12 h.随后,在反应液中加入4.1 mL 10 mg/mL DIP DMF溶液(*n*(4VP):*n*(DIP) = 1:0.23), 在80 ℃搅拌反应48 h.再向反应液中加入1 mL 碘乙烷,在60 ℃搅拌反应48 h.在反应结束后, 将反应液对甲醇透析,浓缩反应液并加入少量 CHCl<sub>3</sub>,将其加入正己烷中进行沉降,抽滤干燥后 获得TSCP-Q-1.此外,采用类似方法以PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>195</sub>为聚合物前驱体制备了TSCP-Q-2.

## 1.3 TSCP-Q在硅片表面的接枝

将洗净的硅片(10 mm×10 mm)经氧等离子体 (80 W, 1 min)处理后,放入3 mL1 mg/mLTSCP-Q 水溶液中进行接枝.接枝完成后,使用大量水冲 洗,并用氩气吹干.氧化硅涂层QCM-D芯片表 面的TSCP-Q接枝使用QSense®流动模块,使用 1 mg/mLTSCP-Q水溶液为接枝液、去离子水为 洗涤液.

#### 1.4 抗蛋白黏附实验

分别将未接枝和TSCP-Q接枝的QCM-D芯 片置于QSense®流动模块中,依次通入PBS缓冲 液、1 mg/mL BSA的PBS溶液和PBS缓冲液.通 过跟踪频率和耗散的变化,并使用Kelvin-Voigt 粘弹性模型计算BSA吸附量.

## 1.5 抗菌实验

使用金黄色葡萄球菌(S. aureus, ATCC 6538) 对TSCP-Q接枝后的硅片表面进行抗菌评价,并 以未接枝的硅片作为空白对照组.参考文献制备 细菌悬浮液<sup>[21]</sup>,并经过离心、洗涤和定容获得 2×10<sup>5</sup> CFU/mL的工作液.将工作液滴在TSCP-Q 接枝和未接枝样表面,置于恒温培养箱中繁殖 24 h.待繁殖结束后,加入PBS溶液将细菌分散 于PBS液中,并将细菌液铺展到Luria-Bertani琼 脂培养基孵育24 h.抗菌率(Killing efficacy)按照 以下公式计算,其中TSCP-Q修饰的硅片表面菌 落数记为*N*<sub>TSCP-Q</sub>,而空白硅片(对照组)表面的菌 落数记为*N*<sub>Blank</sub>.

Killing efficacy = 
$$\frac{N_{\text{Blank}} - N_{\text{TSCP-Q}}}{N_{\text{Blank}}} \times 100\%$$
 (1)

### 1.6 测试与表征

核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H-NMR)采用瑞士Bruker公司的AVANCE III HD (400 MHz)测定.聚合物分子量及其分布的测定采用美国Agilent/Wyatt公司的1260型高效凝胶渗透色谱(GPC),流动相为DMF,标样为聚苯乙烯.TSCP-Q流体力学直径和Zeta电位的测定采用英国Malvern公司的ZS 90-2026电位仪,试样浓度为1 mg/mL.水接触角(water contact angle, WCA)的测定采用德国Dataphysics公司的全自动接触角测量仪(OCA20),液滴体积为3 µL,每个试样随机测量3个位置后取平均.蝌蚪状单链粒子接枝量与蛋白质黏附量的测试采用瑞典Biolin Scientific AB公司的Q-Sense QCM-D E4 四通道耗散型石英晶体微天平,测试使用基频为5 MHz的芯片,测试温度为25 ℃.

## 2 结果与讨论

#### 2.1 TSCP-Q蝌蚪状单链粒子的制备

TSCP-Q蝌蚪状单链粒子的制备包括PEG-b-P4VP嵌段共聚物的合成、"静电介导"法<sup>[22,23]</sup>链内 交联P4VP嵌段制备蝌蚪状单链粒子(TSCP)、进 一步对P4VP"头部"进行完全季铵化处理,制得 TSCP-Q,如图1所示."静电介导"法引入了长程 静电排斥,有效避免了聚合物的链间交联,可在 较高浓度下实现蝌蚪状单链粒子的高效制备<sup>[24-27]</sup>.

首先,在三乙胺缚酸剂的催化下,2-氯丙酰 氯和PEG-OH通过亲核取代反应,生成PEG-CI. 如图2(a)和2(b)所示,反应后(c)处的化学位移因 羰基的诱导效应而向低场移动(由原来的 $\delta$ =3.81 变为4.32).  $\delta$ =1.69 (a)和3.38 (e)的核磁共振峰积 分面积为1:1,说明PEG-OH已完全转化为PEG-CI.以PEG-CI为大分子引发剂,使用ATRP合成 PEG-b-P4VP.其中, $\delta$ =8.21 (a)和6.62 (b)对应



**Fig. 2** <sup>1</sup>H-NMR spectra of (a) PEG-OH, (b) PEG-Cl, (c) PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>112</sub> and corresponding TSCP-Q-1, and (d) PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>195</sub> and corresponding TSCP-Q-2.

P4VP吡啶基团中N原子邻位和间位的氢原子特征 峰,δ=3.63 (d)则对应PEG主链上的氢原子特征 峰.通过两嵌段中特征峰积分面积比值(图2(c)和 2(d))可知,所合成的嵌段共聚物分别为PEG<sub>113</sub>-b-P4VP<sub>112</sub>和PEG<sub>113</sub>-b-P4VP<sub>195</sub> (下标为相应嵌段的 聚合度),其对应的分子量分布(PDI)分别为1.4和 1.3 (图3).

通过"静电介导"法链内交联P4VP嵌段制备TSCP,并进一步对P4VP"头部"进行完全季铵化后,TSCP-Q可溶解在水中.<sup>1</sup>H-NMR显示TSCP-Q-1和TSCP-Q-2"头部"的吡啶基团氢原子特征峰均完全向低场移动(其邻位氢原子的化



**Fig. 3** GPC curves of (a) PEG-Cl, (b) PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>112</sub> and corresponding TSCP-Q-1, and (c) PEG<sub>113</sub>-*b*-P4VP<sub>195</sub> and corresponding TSCP-Q-2. (d) DLS curves of TSCP-Q-1 and TSCP-Q-2.

学位移由δ=8.21移动到8.62,间位氢原子的化学 位移由δ=6.62移动到7.72,图2(c)和2(d)).这是 吡啶季铵化后,N原子带正电,通过诱导效应导 致邻位和间位氢原子的电子密度降低所致.上述 完全的位移表明了TSCP-Q-1和TSCP-Q-2"头 部"均被完全季铵化.对比PEG-b-P4VP和 TSCP-Q GPC曲线(图3(b)和3(c)),发现TSCP-Q 的流体力学尺寸显著降低(表现为流出时间变 长),这表明P4VP嵌段仅发生链内交联.链内交 联后,TSCP-Q-1和TSCP-Q-2的流体力学直径分 别为21和34 nm (图3(d)),Zeta电位分别为39和 46 mV.综上,TSCP-Q-1和TSCP-Q-2 已被成功 制备.

#### 2.2 TSCP-Q在硅片表面的接枝

TSCP-Q在硅片表面的接枝动力学使用耗散 型石英晶体微天平(QCM-D)进行跟踪.TSCP-Q-1 和TSCP-Q-2均呈现出快吸附-慢结构调整的吸附 特性(图4(a)). 在吸附初期(10 min 内), f<sub>3</sub>快速下 降,说明TSCP-Q被快速地被吸附到氧化硅芯片 表面.随着时间的延长,f<sub>3</sub>会极缓慢地降低,直 至吸附饱和(约1.5 h).此时,少量与表面结合不 紧密的TSCP-Q会以脱附-重新吸附的方式进行结构重整,从而获得与表面结合更为稳定结合的TSCP-Q刷.根据Kelvin-Voigt黏弹性模型计算,TSCP-Q-1和TSCP-Q-2的接枝量分别是113.3和99.8 ng/cm<sup>2</sup>.代入TSCP-Q单链粒子的分子量计算可知,TSCP-Q-1的接枝密度高于TSCP-Q-2(为TSCP-Q-2的1.6倍).这是由于TSCP-Q-2中P4VP嵌段较长(其P4VP聚合度为TSCP-Q-2中P4VP嵌段较长(其P4VP聚合度为TSCP-Q-1的1.7倍),导致TSCP-Q-2"头部"尺寸略大且带有更多正电荷.当"头部"与表面作用时,"头部"间产生较强的体积排斥和静电排斥效应,从而使得TSCP-Q-2刷的接枝密度较低.

水接触角研究发现,上述饱和吸附的TSCP-Q-1和TSCP-Q-2刷的水接触角分别为35°和38°, 而完全季铵化P4VP的水接触角仅为7°(图4(b)). 此外,将TSCP-Q刷浸泡在BSA的PBS溶液中 (pH = 7.2~7.4),结果显示BSA在TSCP-Q-1和 TSCP-Q-2刷表的吸附量极低(分别为4.8 ng/cm<sup>2</sup> 和24.6 ng/cm<sup>2</sup>,图5(a)).这都表明TSCP-Q能够 均匀地接枝在硅片表面.位于上层的PEG"尾部" 能够遮蔽其下方高正电荷密度的P4VP季铵盐亲



Fig. 4 (a) QCM-D plots of the TSCP-Q-1 and TSCP-Q-2 brush. The concentrations of TSCP-Q-1 and TSCP-Q-2 aqueous solutions was fixed at 1 mg/mL, and the flow rate was 10  $\mu$ L/min. (b) Water contact angles of Si wafer (blank), QP4VP, TSCP-Q-1 grafted Si wafer, and TSCP-Q-2 grafted Si wafer.



Fig. 5 (a) Representative time traces of frequency shifts in the third harmonic of the QCM-D crystal sensor grafted with TSCP-Q-1 or TSCP-Q-2 in BSA protein solutions. The concentrations of BSA PBS solutions was fixed at 1 mg/mL, and the flow rate was 10  $\mu$ L/min. (b) Schematic illustration of the anti-protein adsorption on the TSCP-Q grafted Si wafer. (c) Summary of BSA adsorption in this work and reported work using PEG brush. The degree of polymerization of PEG was fixed at 113.

水 "头部" 锚定层,从而有效防止带负电的BSA 与带正电 "头部" 的静电相互作用.

## 2.3 TSCP-Q刷的抗蛋白黏附性能

TSCP-Q刷的抗蛋白黏附性能研究选用被广 泛使用的模型蛋白BSA<sup>[28]</sup>,并使用QCM-D跟踪 BSA在TSCP-Q刷表面的吸附动力学.相较于未 修饰的氧化硅芯片,TSCP-Q刷修饰的氧化硅芯 片的BSA吸附量显著减少,且吸附平衡时间明 显缩短(图5(a)).根据Kelvin-Voigt黏弹性模型计 算,BSA在未修饰芯片、接枝TSCP-Q-1和接枝 TSCP-Q-2刷表面的吸附量分别是188.1、4.8和24.6 ng/cm<sup>2</sup>,表明TSCP-Q刷均表现出良好的抗BSA 黏附性能(图5(b)).由于TSCP-Q-1具有更高的接枝密度,因而能够形成比TSCP-Q-2更厚且紧密的PEG水合层,进而表现出比TSCP-Q-2更为优异的抗BSA 黏附性能.与已有报道相比,TSCP-Q-1刷表现出了与共价接枝PEG刷相媲美的优异抗BSA 黏附性能(4.8 ng/cm<sup>2</sup>,图5(c)).

在接枝过程中,充分塌缩的TSCP-Q"头部" 既提供了高密度的作用位点,通过协同强相互作 用确保的TSCP-Q刷的接枝稳定性,还占据了较 小的接枝表面积.充分伸展的PEG"尾部"通过 体积排斥效应,成功实现了TSCP-Q粒子间的均 匀分割,确保TSCP-Q刷的接枝均匀性.在作用于 表面后,位于上层的PEG"尾部"又能很好地遮 蔽其下方充分塌缩的季铵盐亲水"头部"锚定层.

#### 2.4 TSCP-Q刷的抗菌性能

TSCP-Q刷抗菌性能研究发现,TSCP-Q刷可 以较好地抑制金黄色葡萄球菌(S. aureus)的生长, 其中TSCP-Q-1和TSCP-Q-2的杀菌率分别为81% 和73% (图6(a, b)). 尽管PEG自身不具有显著的 杀菌性,但是PEG能够与细胞膜上的两亲性分 子发生亲疏水相互作用,并动态地融入细胞膜; 其作为细胞融合剂已经广泛被用于制备大肠杆 菌-酿酒酵母嵌合体<sup>[29]</sup>以及酵母-哺乳动物细胞融 合体<sup>[30]</sup>. 这表明*S. aureus*能够被位于TSCP-Q刷表 面的PEG刷穿透.进一步,位于PEG刷层下方的 高正电荷密度的季铵盐"头部"锚定层又具有杀 菌作用<sup>[31,32]</sup>, *S. aureus*将在接触到完全季铵化的 锚定层后死亡.因此,TSCP-Q刷通过表层PEG 刷穿透*S. aureus*、锚定层季铵盐杀死*S. aureus*的 机制均表现出较好的抗菌性能(图6(c)).



**Fig. 6** (a) The colony number of *S. aureus* on Si wafer (blank), TSCP-Q-1 grafted Si wafer, and TSCP-Q-2 grafted Si wafer and (b) corresponding killing efficacy. (c) Schematic illustration of the anti-bacterial process on TSCP-Q grafted Si wafer.

## 3 结论

采用简单的溶液浸泡接枝方法,通过充分塌 缩的P4VP"头部"的多位点非共价协同作用以 及舒展PEG"尾部"的体积排斥效应,成功实现 了TSCP-Q在硅片表面稳定且均匀的接枝.实验 表明,TSCP-Q刷具有优异的抗牛血清蛋白黏附 性能和抑菌性能.位于TSCP-Q刷上层的PEG "尾部"能够遮蔽其下方的"头部"锚定层,从 而有效屏蔽带负电的BSA与带正电"头部"的静电相互作用.上层的PEG刷则通过其体积排斥效应、快速构象转变和紧密水合作用,表现出与共价接枝PEG刷相媲美的优异抗BSA 黏附性能(4.8 ng/cm<sup>2</sup>).利用PEG 的细胞膜穿透性和P4VP季铵盐"头部"杀菌性的协同作用,TSCP-Q刷对*S. aureus*的抗菌率可达81%.该单链粒子刷构筑方法具有一定的普适性,为各类功能表面的构筑提供了有效途径.

#### REFERENCES

- 1 Lee, Y.; Chung, Y. W.; Park, J.; Park, K.; Seo, Y.; Hong, S. N.; Lee, S. H.; Jeon, H.; Seo, J. Lubricant-infused directly engraved nano-microstructures for mechanically durable endoscope lens with anti-biofouling and anti-fogging properties. *Sci. Rep.*, **2020**, 10(1), 17454.
- 2 Tesler, A. B.; Kim, P.; Kolle, S.; Howell, C.; Ahanotu, O.; Aizenberg, J. Extremely durable biofouling-resistant metallic surfaces based on electrodeposited nanoporous tungstite films on steel. *Nat. Commun.*, **2015**, *6*, 8649.
- 3 Liu, S.; Guo, W. W. Anti-biofouling and healable materials: preparation, mechanisms, and biomedical applications. *Adv. Funct. Mater.*, **2018**, 28(41), 1800596.
- 4 He, Z. K.; Lan, X. R.; Hu, Q. S.; Li, H. M.; Li, L. M.; Mao, J. Y. Antifouling strategies based on super-phobic polymer materials. *Prog. Org. Coat.*, 2021, 157, 106285.
- 5 Baier, R. E. Applied Chemistry at Protein Interfaces. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1975, 319–335.
- 6 Qian, P. Y.; Cheng, A. F.; Wang, R. J.; Zhang, R. Marine biofilms: diversity, interactions and biofouling. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2022, 20(11), 671–684.
- 7 Deng, Z. J.; Zhu, R. T.; Ma, L.; Zhou, K. C.; Yu, Z. M.; Wei, Q. P. Diamond for antifouling applications: a review. *Carbon*, **2022**, 196, 923–939.
- 8 Maan, A. M. C.; Hofman A. H.; de Vos W. M.; Kamperman M. Recent developments and practical feasibility of polymer-based antifouling coatings. *Adv. Funct. Mater.*, 2020, 30(32), 2000936.
- 9 Nagasaki, Y. Construction of a densely poly(ethylene glycol)-chain-tethered surface and its performance. *Polym. J.*, 2011, 43(12), 949–958.
- 10 Dai, G. X.; Xie, Q. Y.; Ai, X. Q.; Ma, C. F.; Zhang, G. Z. Self-generating and self-renewing zwitterionic polymer surfaces for marine anti-biofouling. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2019**, 11(44), 41750–41757.
- 11 Xu, B. B.; Feng, C.; Hu, J. H.; Shi, P.; Gu, G. X.; Wang, L.; Huang, X. Y. Spin-casting polymer brush films for stimuliresponsive and anti-fouling surfaces. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8(10), 6685–6692.
- 12 Yokoyama, H. New developments in polymer brush fabrication: concepts and physical properties of dynamic polymer brushes. *Polym. J.*, **2023**, 55, 735–742.
- 13 Halperin, A.; Fragneto, G.; Schollier, A.; Sferrazza, M. Primary versus ternary adsorption of proteins onto PEG brushes. *Langmuir*, 2007, 23(21), 10603–10617.
- 14 Xing, C. M.; Meng, F. N.; Quan, M.; Ding, K.; Dang, Y.; Gong, Y. K. Quantitative fabrication, performance optimization and comparison of PEG and zwitterionic polymer antifouling coatings. *Acta Biomater*, **2017**, 59, 129–138.
- 15 Weinhart, M.; Becherer, T.; Schnurbusch, N.; Schwibbert, K.; Kunte, H. J.; Haag, R. Linear and hyperbranched polyglycerol derivatives as excellent bioinert glass coating materials. *Adv. Eng. Mater.*, **2011**, 13(12), B501–B510.
- 16 Pidhatika, B.; Möller, J.; Vogel, V.; Konradi, R. Nonfouling surface coatings based on poly(2-methyl-2-oxazoline). *Chimia*, 2008, 62(4), 264–269.
- 17 Li, L.; Yan, B.; Zhang, L.; Tian, Y.; Zeng, H. B. Mussel-inspired antifouling coatings bearing polymer loops. *Chem. Commun.*, 2015, 51(87), 15780–15783.
- 18 Sidorov, S. N.; Bronstein, L. M.; Kabachii, Y. A.; Valetsky, P. M.; Soo, P. L.; Maysinger, D.; Eisenberg, A. Influence of metalation on the morphologies of poly(ethylene oxide)-block-poly(4-vinylpyridine) block copolymer micelles. *Langmuir*, 2004, 20(9), 3543–3550.
- 19 Zhao, W. F.; He, C.; Wang, H. Y.; Su, B. H.; Sun, S. D.; Zhao, C. S. Improved antifouling property of polyethersulfone hollow fiber membranes using additive of poly(ethylene glycol) methyl ether-*b*-poly(styrene) copolymers. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2011, 50(6), 3295–3303.
- 20 Kennemur, J. G. Poly(vinylpyridine) segments in block copolymers: synthesis, self-assembly, and versatility. *Macromolecules*, 2019, 52(4), 1354–1370.
- 21 Zhang, D. H.; Liu, J. J.; Chen, Q.; Jiang, W. N.; Wang, Y. B.; Xie, J. Y.; Ma, K. Q.; Shi, C.; Zhang, H. D.; Chen, M. Z.; Wan, J. L.; Ma, P. C.; Zou, J. C.; Zhang, W. J.; Zhou, F.; Liu, R. H. A sandcastle worm-inspired strategy to functionalize wet hydrogels. *Nat. Commun.*, **2021**, 12(1), 6331.
- 22 Xiang, D.; Chen, X.; Tang, L.; Jiang, B. Y.; Yang, Z. Z. Electrostatic-mediated intramolecular cross-linking polymers in concentrated solutions. *CCS Chem.*, **2019**, 1(5), 407–430.

- 23 Shao, Y.; Wang, Y. L.; Tang, Z. A.; Wen, Z. D.; Chang, C.; Wang, C. Y.; Sun, D. Y.; Ye, Y. L.; Qiu, D.; Ke, Y. B.; Liu, F.; Yang, Z. Z. Scalable synthesis of photoluminescent single-chain nanoparticles by electrostatic-mediated intramolecular crosslinking. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61(27), e202205183.
- 24 Xiang, D.; Jiang, B. Y.; Liang, F. X.; Yan, L. T.; Yang, Z. Z. Single-chain Janus nanoparticle by metallic complexation. *Macromolecules*, 2020, 53(3), 1063–1069.
- 25 Shao, Y.; Ye, Y. L.; Sun, D. Y.; Yang, Z. Z. Polymer-derived Janus particles at multiple length scales. *Macromolecules*, 2022, 55(15), 6297–6310.
- 26 Shao, Y.; Yang, Z. Z. Progress in polymer single-chain based hybrid nanoparticles. Prog. Polym. Sci., 2022, 133, 101593.
- 27 叶一兰, 孙大吟, 杨振忠. 高分子单链-胶体杂化纳米颗粒的合成进展与挑战. 高分子学报, 2022, 53(12), 1429-1444.
- 28 Ketrat, S.; Japrung, D.; Pongprayoon, P. Exploring how structural and dynamic properties of bovine and canine serum albumins differ from human serum albumin. *J. Mol. Graph. Model.*, **2020**, 98, 107601.
- 29 Mehta, A. P.; Supekova, L.; Chen, J. H.; Pestonjamasp, K.; Webster, P.; Ko, Y.; Henderson, S. C.; McDermott, G.; Supek, F.; Schultz, P. G. Engineering yeast endosymbionts as a step toward the evolution of mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci.* U. S. A., 2018, 115(46), 11796–11801.
- 30 Brown, D. M.; Chan, Y. A.; Desai, P. J.; Grzesik, P.; Oldfield, L. M.; Vashee, S.; Way, J. C.; Silver, P. A.; Glass, J. I. Efficient size-independent chromosome delivery from yeast to cultured cell lines. *Nucleic Acids Res.*, 2017, 45(7), e50.
- 31 Nadagouda, M. N.; Vijayasarathy, P.; Sin, A.; Nam, H.; Khan, S.; Parambath, J. B. M.; Mohamed, A. A.; Han, C. Antimicrobial activity of quaternary ammonium salts: structure-activity relationship. *Med. Chem. Res.*, 2022, 31(10), 1663–1678.
- 32 Kalelkar, P. P.; Riddick, M.; García, A. J. Biomaterial-based antimicrobial therapies for the treatment of bacterial infections. *Nat. Rev. Mater.*, 2022, 7, 39–54.

#### **Research Article**

# Rational Design of Tadpole-like Single-chain Particle Brush with Anti-protein and Antibacterial Performance

Jie Zhu<sup>1</sup>, Nai-bing Wu<sup>1</sup>, Xiao-ya Zhao<sup>1</sup>, Yan-bin Fan<sup>2</sup>, Xia-yun Huang<sup>1\*</sup>, Dao-yong Chen<sup>1\*</sup> (<sup>1</sup>The State Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Department of Macromolecular Science, Fudan University, Shanghai 200438) (<sup>2</sup>The Dow Chemical Company, Shanghai 201203)

Abstract Based on the synergistic non-covalent interaction of tadpole-like single-chain particles with multiple sites on the wafer surface, a PEG brush grafting strategy has been developed that combines ease of handling and excellent "biofouling" properties. Specifically, the block copolymer poly(ethylene glycol)-*b*-poly(4-vinylpyridine)



\* Corresponding authors: Xia-yun Huang, E-mail: huangxiayun@fudan.edu.cn Dao-yong Chen, E-mail: chendy@fudan.edu.cn (PEG-*b*-P4VP) was synthesized by atom transfer radical polymerization (ATRP). The P4VP block was then intrachain cross-linked using the "electrostatic-mediated" strategy, and the P4VP "head" was completely quaternized by further addition of excess ethyl iodide, yielding tadpole-like single-chain particles with completely quaternized "heads" (TSCP-Q). By simple solution immersion grafting method, the completely cross-linked and collapsed "head" significantly reduces its adsorption area on the silicon wafer through multi-site non-covalent synergistic interaction, while the extended PEG "tail" ensures grafting uniformity of TSCP-Q brushes on the surface through volume repulsion effect. As a result, the obtained TSCP-Q brushes achieve stable and uniform grafting on the silicon wafer, with PEG "tail" overlying the P4VP "head" anchoring layer and effectively masking the charge of the anchoring layer. The TSCP-Q brushes were shown to have excellent anti-bovine serum albumin (BSA) adsorption (4.8 ng/cm<sup>2</sup>) and could effectively inhibit the colonization of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (killing efficacy up to 81%).

Keywords Tadpole-like single-chain particle, Polymer brush, Poly(ethylene glycol), Anti-protein adsorption, Antibacterial