

· 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*}

(¹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)

(²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/cm²),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, doi: 10.11777/j.issn1000-3304.2023.23303

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*, doi: 10.11777/j.issn1000-3304.2023.23303

在医疗植入器械^[1]和航海工业^[2]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^[3,4].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^[5],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^[7].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^[8].常用的聚合物刷材料包括聚乙二醇(PEG)^[9]、两性离子聚合物^[10]和两亲性聚合物^[11]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, 网络出版; 国家自然科学基金委(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.

* 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^[12].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/cm².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/cm².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/cm².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/cm².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, $M_n=5000$ 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(Me_6TREN , >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($\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$, GC)购于梯希爱(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(NaHCO_3 , AR)购于国药集团化学试剂有限公司.在上述药品中,TEA经氯化钙干燥、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^[18,19].具体地,将20.0 g PEG-OH ($M_n=5000$ 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_3 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, $\text{CuCl}/\text{Me}_6\text{TREN}$ 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^[20]. 在反应瓶中依次加入 PEG-Cl (1 g, 0.2 mmol)、Me₆TREN (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 °C 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 PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₁₂. 此外, 采用类似方法合成了 PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₉₅ (0.2 mmol PEG-OH, 0.5 mmol Me₆TREN, 0.25 mmol CuCl, 155 mmol 4VP, 45 °C, 1 h).

称取 PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₁₂ 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*(C₂H₅I) = 1:0.4), 在 60 °C 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 °C 搅拌反应 48 h. 再向反应液中加入 1 mL 碘乙烷, 在 60 °C 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 CHCl₃, 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 PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₉₅ 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 mL 1 mg/mL TSCP-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/mL TSCP-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^[21], 并经过离心、洗涤和定容获得

2 × 10⁵ 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 $N_{\text{TSCP-Q}}$, 而空白硅片(对照组)表面的菌落数记为 N_{Blank} .

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

1.6 测试与表征

核磁共振氢谱(¹H-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 °C.

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^[22,23]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^[24-27].

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-Cl. 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-Cl. 以 PEG-Cl 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

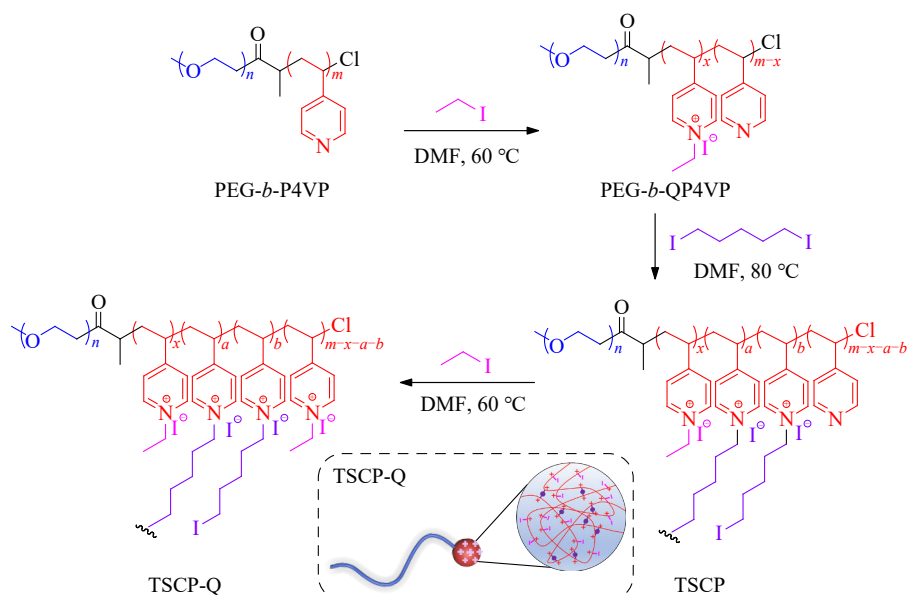


Fig. 1 Synthesis of TSCP-Q.

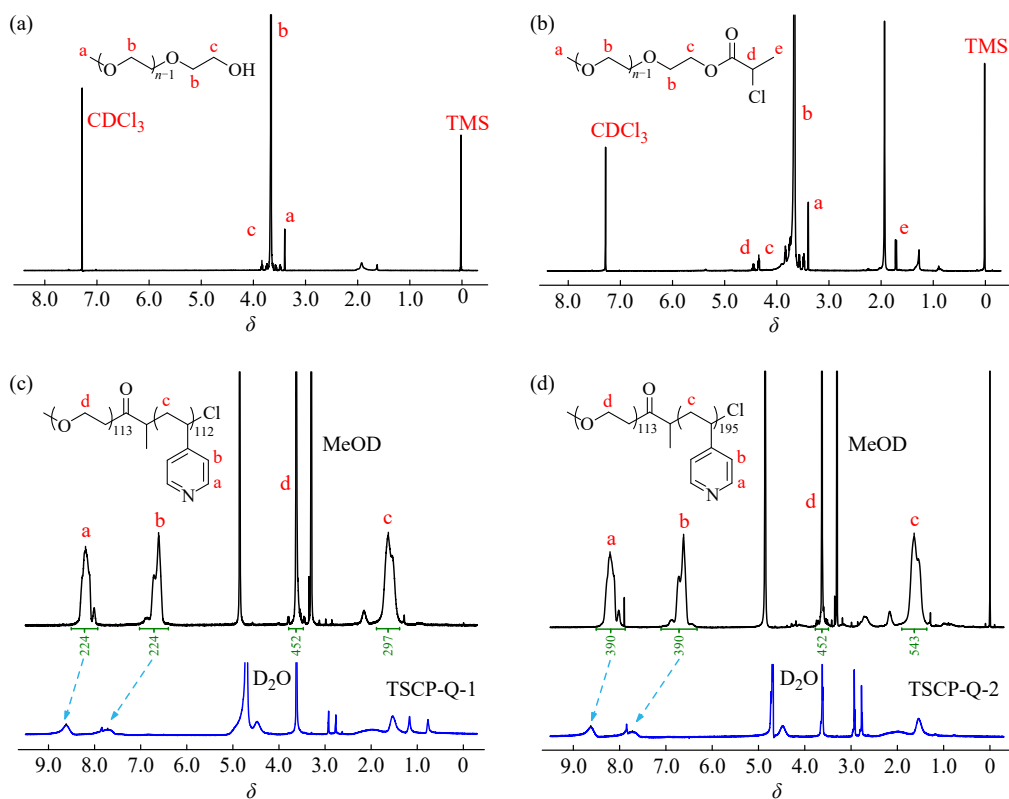


Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectra of (a) PEG-OH, (b) PEG-Cl, (c) PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₁₂ and corresponding TSCP-Q-1, and (d) PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₉₅ and corresponding TSCP-Q-2.

P4VP吡啶基团中N原子邻位和间位的氢原子特征峰, $\delta=3.63$ (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PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₁₂和PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₉₅ (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. $^1\text{H-NMR}$ 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

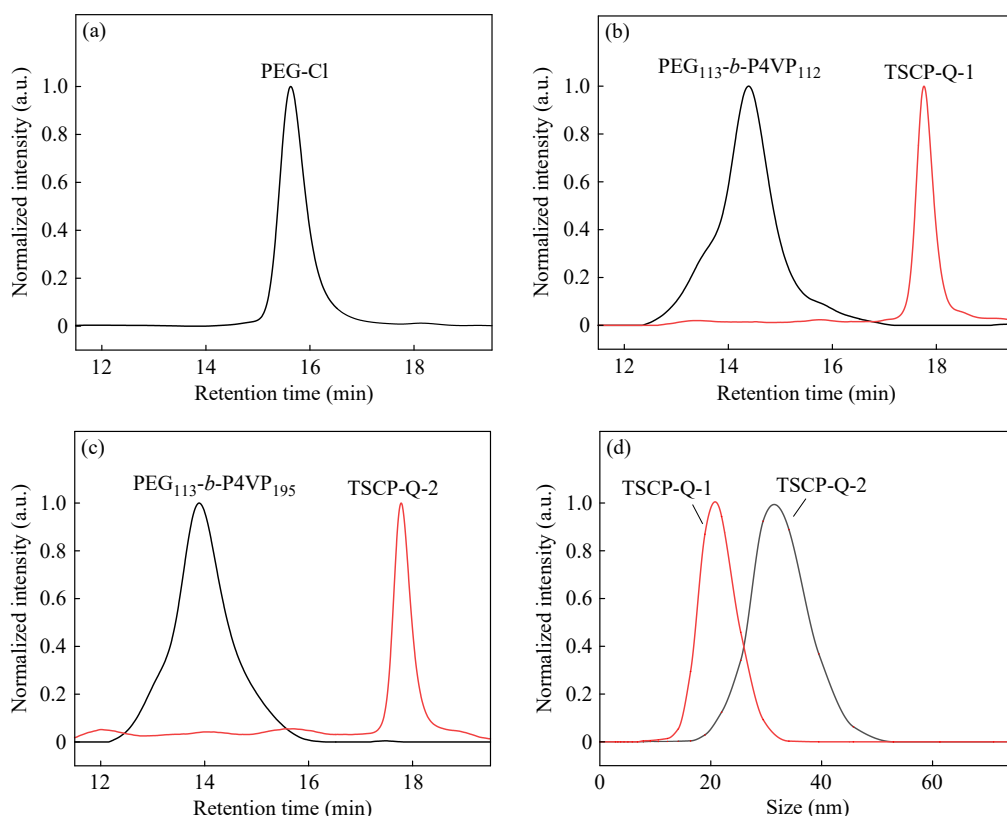


Fig. 3 GPC curves of (a) PEG-Cl, (b) PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₁₂ and corresponding TSCP-Q-1, and (c) PEG₁₁₃-*b*-P4VP₁₉₅ and corresponding TSCP-Q-2. (d) DLS curves of TSCP-Q-1 and TSCP-Q-2.

学位移由 $\delta=8.21$ 移动到 8.62 ，间位氢原子的化学位移由 $\delta=6.62$ 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_3 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_3 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/cm²。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-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($\text{pH}=7.2\sim 7.4$)，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/cm²和 24.6 ng/cm²，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

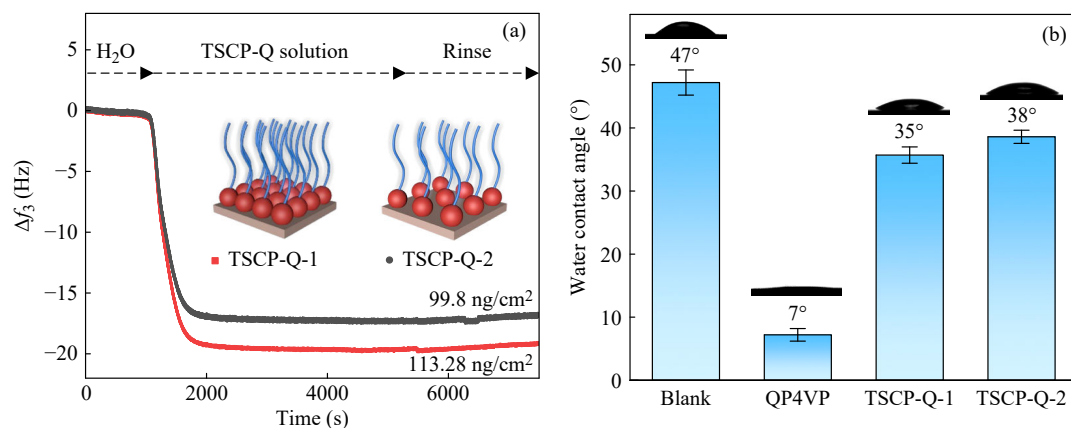


Fig. 4 (a) QCM-D plots of the TSCP-Q-1 and TSCP-Q-2 brush. The concentrations of TSCP-Q-1 and TSCP-Q-2 aqueous solutions was fixed at 1 mg/mL, and the flow rate was 10 μ L/min. (b) Water contact angles of Si wafer (blank), QP4VP, TSCP-Q-1 grafted Si wafer, and TSCP-Q-2 grafted Si wafer.

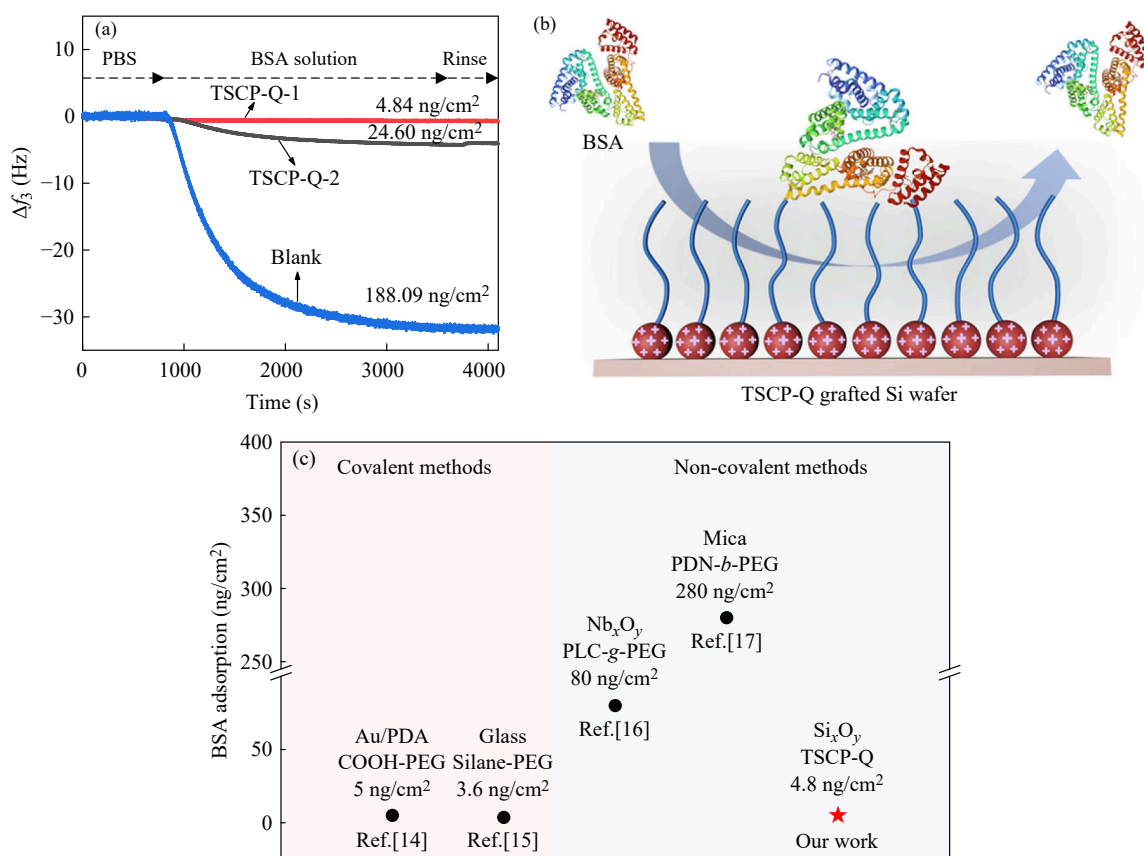


Fig. 5 (a) Representative time traces of frequency shifts in the third harmonic of the QCM-D crystal sensor grafted with TSCP-Q-1 or TSCP-Q-2 in BSA protein solutions. The concentrations of BSA PBS solutions was fixed at 1 mg/mL, and the flow rate was 10 μ L/min. (b) Schematic illustration of the anti-protein 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^[28]，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^2 ，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^2 ，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^[29]以及酵母-哺乳动物细胞融合体^[30]. 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^[31,32]，*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)).

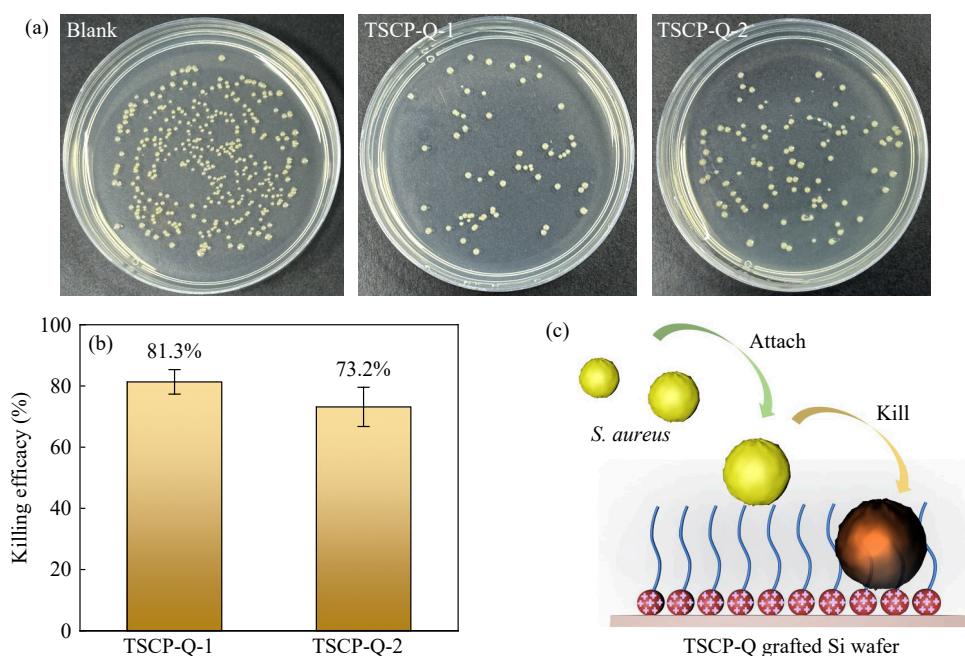


Fig. 6 (a) The colony number of *S. aureus* on Si wafer (blank), TSCP-Q-1 grafted Si wafer, and TSCP-Q-2 grafted Si wafer and (b) corresponding killing efficacy. (c) Schematic illustration of the anti-bacterial process on TSCP-Q grafted Si wafer.

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^2). 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 stimuli-responsive 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.; Japrun, 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.; Pestonjamas, 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

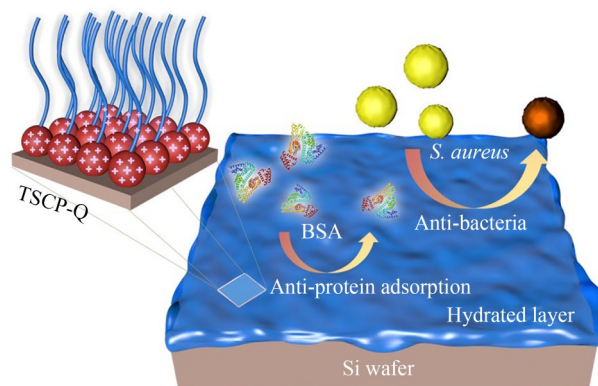
Rational Design of Tadpole-like Single-chain Particle Brush with Anti-protein and Antibacterial Performance

Jie Zhu¹, Nai-bing Wu¹, Xiao-ya Zhao¹, Yan-bin Fan², Xia-yun Huang^{1*}, Dao-yong Chen^{1*}

(¹The State Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Department of Macromolecular Science, Fudan University, Shanghai 200438)

(²The 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 intra-chain 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/cm²) 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