

• 研究论文 •

阻抗蛋白质吸附载体微球的制备与性能研究

彭钢^{1,2,3*}, 刘白玲³

(1. 衡阳师范学院化学与材料科学学院, 衡阳 410012; 2. 衡阳师范学院湖南省功能金属有机材料
重点实验室, 衡阳 410012; 3. 中国科学院成都有机化学研究所, 成都 610041)

摘要:聚合条件对制备功能化微球起到至关重要的作用。在本文中,通过功能单体、烯丙基聚氧乙醚(APEG)和苯乙烯的分散共聚制备了一种阻抗蛋白质吸附的功能化微球;然后,通过红外光谱(FT-IR)、动态光散射(DLS)和扫描电镜(SEM)等手段分析这些功能微球的粒径、表面形态和性能;最后通过牛血清蛋白(BSA)吸附实验评价其阻抗吸附性能。实验结果表明:APEG兼具功能单体和稳定剂的功能,在合适的条件下,可以得到良好单分散性的微球。此外,每克聚(苯乙烯-烯丙基聚氧乙醚)(P(St-co-APEG))微球的 BSA 吸附量为 0.66 mg,而每克聚(苯乙烯-甲基丙烯酸缩水甘油酯)(P(St-co-GMA))微球的 BSA 吸附量为 4.8 mg。总之,通过分散共聚制备了一种阻抗蛋白质吸附的微球。

关键词:APEG 功能化微球; 阻抗蛋白质吸附; 分散共聚; 表面形态

Preparation and Properties of Functional Microspheres with Resistance of Protein Adsorption

PENG Gang^{1,2,3*}, LIU Bai-ling³

(1. Department of Chemistry and Material Science, Hengyang Normal University, Hengyang 410012, China;
2. Key Laboratory of Functional Metal-Organic Compounds of Hunan Province,
Hengyang Normal University, Hengyang 410012, China;
3. Chengdu Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract: The polymerization condition plays a key role in preparing functional microspheres. In this paper, functional microspheres with impedance protein non-specific adsorption were prepared by the dispersion copolymerization of styrene, functional monomer and allyloxy polyethyleneglycol (APEG) under different polymerization conditions. The particle size, size distribution and functional group of these microspheres were measured by Fourier transform infrared (FT-IR), dynamic light scattering (DLS) and scanning electron microscopy (SEM). It was evaluated resistance non-specific adsorption by mean of immobilized protein on two kinds of functional microspheres. The experimental results indicated that APEG could act as a functional monomer to obtain functional microspheres with narrow size distribution under a certain condition. Moreover, it was found that poly (APEG) could act as a stabilizer in dispersion copolymerization when its molecule weight increased a certain value by self-polymerization under dispersion medium with water. Furthermore, the adsorption capacity of bovine serum albumin (BSA) per gram of P(St-co-APEG) microspheres was 0.66 mg, while that of BSA per gram of P(St-co-GMA) microspheres was 4.8 mg. In a word, APEG functional microspheres with resistance to protein adsorption were successfully prepared by dispersion copolymerization *via* optimizing the polymerization condition.

Keywords: APEG functional microspheres; Resistance of protein adsorption; Dispersion copolymerization; Surface morphology

收稿:2022-03-29;修回:2022-05-27

基金项目:湖南省自然科学基金项目(2019JJ50013),湘江上游重金属污染监测与治理湖南省工程研究中心开放基金(2021HSKFJJ023)和湖南省重点建设学科资助项目

* 通讯联系人:彭钢(1983-),男,讲师,博士,主要从事功能性高分子材料的合成和应用的研究。E-mail:penggang@hynu.edu.cn

doi:10.14028/j.cnki.1003-3726.2023.03.008

蛋白质在材料表面的吸附在生物技术、防污、抗菌、生物传感器和药物释放等多个研究领域具有重要意义^[1, 2]。然而,蛋白质的吸附会导致生物传感器的灵敏度降低、血液在生物材料表面的凝固、生物分离过程中膜的堵塞等,必然会降低或抑制蛋白质的随机吸附^[3, 4]。众所周知,蛋白质分子含有许多相似和不同的氨基酸残基,这些残基通常位于蛋白质的不同结构域。此外,载体材料表面官能团与蛋白质的氨基酸残基之间反应概率是相同的,因此蛋白质可能吸附在载体材料的不同区域。然而,固定化蛋白的生物活性低于游离蛋白,主要是由于活化修饰、酶活性位点被堵塞、多点结合导致结构僵化、定位错误导致蛋白质变性^[2, 3, 5]。因此,结合在载体表面的氨基酸残基对维持蛋白质的生物活性起着至关重要的作用。

为了保持蛋白质的生物活性并抑制蛋白质的吸附,如何精确制备具有生物相容性和抵抗蛋白质吸附功能材料就成为至关重要的问题。在所有具有抗蛋白吸附的功能材料中,PEG 及其衍生物因其特殊的亲水性、链柔性、无毒等特点而被广泛应用^[6~10]。综合考虑,抵抗蛋白质的吸附效果与 PEG 的性质有关,如分子量、链长、链组成、链的接枝密度等^[11~13]。

聚乙二醇功能材料的合成策略多种多样,如物理吸附或共混、化学接枝和原位聚合等^[14~16]。更高层次的方法是合成响应性聚合物和模式聚合物^[17~19]。通过物理方法,PEG 与基体材料之间的作用力较弱,容易脱落,面临时效性差、吸附性能差等问题。一般的改进策略是在聚乙二醇末端链中加入巯基或增加其他力。接枝法分为 graft to (接枝到表面)和 graft from (从表面接枝)两种方法,可以满足不同的需求。Brooks 课题组^[20]通过表面引发原子转移自由基聚合法制备了不同分子量的 PEG 衍生物,然后接枝到聚苯乙烯颗粒上。他们发现,通过 SI-ATRP,PEG 功能材料具有良好的耐水性,随接枝密度的增加,蛋白的吸附量降低。

本文讨论了聚合条件如何影响 P(St-co-APEG)微球的性能。通过苯乙烯与功能单体 APEG 在不同反应条件下的分散共聚,制备了功能微球,设计了含有和不含传统稳定剂 PVP 的两种分散共聚体系;此外,本文还讨论了分散介质的极性对聚合物微球的影响。最后,研究了两种功能微球对蛋白质吸附的阻力。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

苯乙烯,化学纯($\geq 98\%$),购于广东汕头西陇化工厂。使用前,精制去除阻聚剂并保存于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中;2,2'-偶氮二异丁腈(AIBN),分析纯,购于天津科密欧化学试剂公司;聚乙烯吡咯烷酮(PVP),分析纯,平均分子量约 3×10^4 ,购于成都科龙化工试剂厂;无水乙醇,分析纯,购于广东光华化学厂。烯丙基聚乙二醇(APEG,分子量为 2400)购于华威锐科化工有限公司。牛血清蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA,第五组分),美国 Amresco 公司产品。

1.2 APEG 与苯乙烯分散共聚

P(St-co-APEG)微球采用间歇式分散聚合法来制备(见图 1)。首先,将 60 mL 乙醇、0.2 g AIBN、0.4 g PVP 和 14 g 苯乙烯同时加入 100 mL 四口玻璃圆底烧瓶。通入 N_2 保护 30 min 后,在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、250 r/min 的条件下,使其反应 5 h。然后将含有一定量 APEG 的 15 mL 乙醇/水恒速滴加至烧瓶中,总聚合时间为 12 h。反应结束后,将制备的微球先用医用纱布粗过滤,再用乙醇和三重水分别对微球进行洗涤、离心、重分散 2~3 次。最后把分散好的微球置于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的干燥箱中干燥 24 h。对照试验为反应体系中不加入 PVP,其余步骤完全一样。

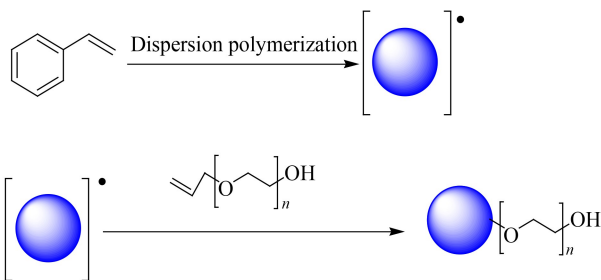


图 1 APEG 和苯乙烯分散共聚制备 APEG 功能化微球示意图

Figure 1 Schematic diagram of the prepared APEG functional microspheres by APEG and St dispersion copolymerization

1.3 粒径及形态测试

取小量待测微球,分散在磷酸缓冲溶液中($\text{pH } 8.0$, 0.1 mol/L),保持相同的浓度(2 mg/mL),在 Nano-ZS 纳米粒度与电位分析仪上测定粒径及分布情况。将样品在真空干燥箱中充分干燥,喷金,

采用 Leitz-AMR-1000 的扫描电镜 (SEM) 观察微球表面形貌。

1.4 蛋白质吸附

BSA 吸附实验步骤如下:在离心管中加入一定量的功能化微球和 BSA,并用磷酸盐缓冲溶液 (PBS, 0.1 mol/L, pH 7.0) 将溶液体积调整到 5.0 mL。微球在 25 ℃ 下与 BSA 共同孵化 8.0 h 后,离心分离,收集上清液,并用 2 mL 的缓冲溶液再对固相微球洗涤、离心、分离、再分散,重复上述步骤两次。最后收集所有的上清液,并对上清液中 BSA 的浓度用紫外吸光度法进行测定。微球对 BSA 的固载量可根据 BSA 的质量平衡来计算。

2 结果与讨论

2.1 APEG 与苯乙烯分散共聚

2.1.1 P(St-co-APEG)微球的红外光谱

所制备的 P(St-co-APEG)微球的红外光谱如图 2 所示。从图中可知,3028 和 2929 cm^{-1} 吸收峰分别对应着 O—H 和 C—H 的伸缩振动峰。1148 cm^{-1} 吸收峰对应着醚键,对应着 APEG 的醚键,从而说明 P(St-co-APEG)微球制备成功。此外,1602、1493 和 1452 cm^{-1} 的吸收峰是典型芳香环的碳-碳骨架振动,1026 cm^{-1} 为面内 C—H 弯曲,763 和 698 cm^{-1} 为面外 C—H 振动,这些都验证了苯乙烯参与聚合。总之,红外光谱说明 P(St-co-APEG)微球的成功制备。

2.1.2 APEG 含量

在聚合体系条件不变的情况下,首先考虑

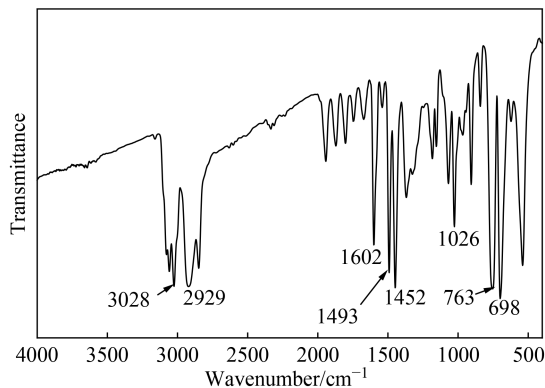


图 2 P(St-co-APEG)微球的红外光谱

Figure 2 FT-IR spectrum of P(St-co-APEG) microspheres

APEG 含量对制备微球性能的影响,结果如图 3 和图 4 所示。从图 3 可知,所制备的聚合物微球呈球形,表面光滑,无缺陷。然而,随着 APEG 加入量的增加,得到更多的小粒径粒子,使微球单分散性变差。APEG 加入量为 0.2 g 时,开始出现了小的粒子;随着 APEG 加入量的增加,出现了越来越多的小粒子。出现这种现象的原因可能与 APEG 自身聚合到一定分子量也能起到稳定剂的作用,干扰了 PVP 的稳定剂作用有关。其次,可能 APEG 自身能形成微球,所以 APEG 加入量越大,小颗粒就越多。此外,APEG 加入量越大,对初始反应体系的极性改变就越大,导致粒径分布更宽。类似的结果也见诸报道^[21]。图 3 则说明随着 APEG 加入量的增加,其粒径开始增加,在 0.8 g APEG 的加入量时达到最大,为 4.85 μm 。而粒径分布数据说明,大部分的情况下,其粒径分

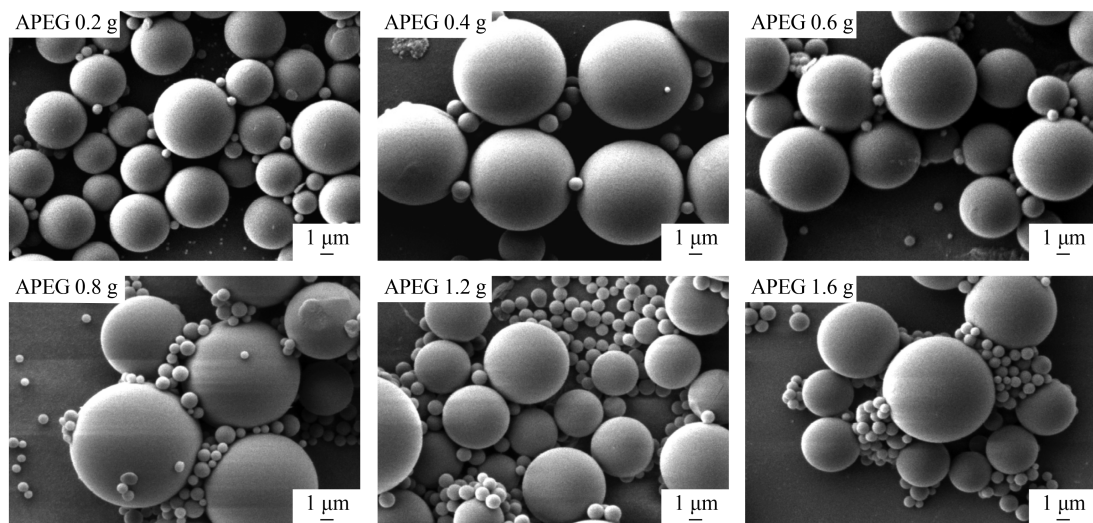


图 3 不同 APEG 加入量的微球的扫描电镜图

Figure 3 SEM images of functional microspheres with different adding amounts of APEG in polymerization

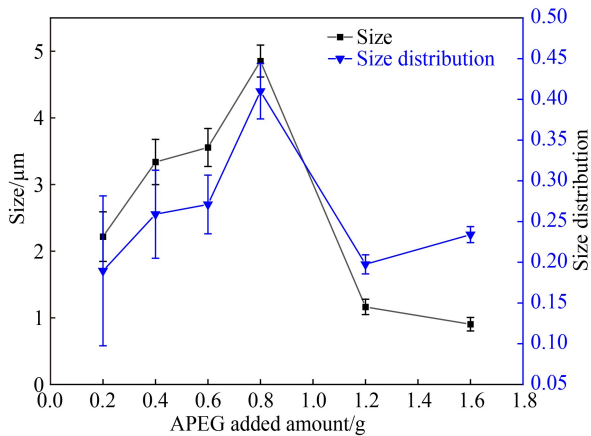


图 4 APEG 加入量对微球粒径及粒径分布的影响

Figure 4 The effect of APEG added amount on the average particle size and the size distribution

布数据都小于 0.3, 只有加入 APEG 的量为 0.8 g 时, 其粒径分布为 0.41。综合考虑图 3 和图 4, APEG 最佳加入量为 0.4 g, 此时制备的微球单分散性较好。

2.2 分散介质

分散介质极性是影响功能微球粒径及粒径分布的主要因素之一, 因为会影响微球初始成核的临界链长^[22]。苯乙烯的分散聚合多在水乙醇中进行, 但是 APEG 不溶于水乙醇, 溶于水中, 所以在分散聚合时, 以水/乙醇为分散介质。溶解度参数(γ)可以用于表征分散介质的极性。对于聚苯乙烯(非晶聚合物)($\gamma=16.4(\text{J}/\text{cm}^3)^{1/2}$), 它可以溶解在 γ 值相近的溶剂中。对于乙醇与水的混合溶剂, 其 γ_m 可采用(1)式计算:

$$\gamma_m = (\varphi_1 \gamma_1^2 + \varphi_2 \gamma_2^2)^{1/2} \quad (1)$$

式(1)中, γ_1 和 γ_2 分别为混合溶剂中两种成分的溶解度参数, φ_1 和 φ_2 分别为两种成分的体积分数。对于水和乙醇, 其溶解度参数分别为 47.43 和 $25.97 (\text{J}/\text{cm}^3)^{1/2}$, 所以采用式(1)可以计算出 6 种乙醇/水混合溶剂的 γ_m , 其结果见表 1。

为了全面考察水对聚合的影响, 先用未减压蒸馏的苯乙烯与 APEG 分散共聚, 在不同水/乙醇比例情况下, 制备得到微球的 SEM 照片和 DLS 测试的结果见图 5 和图 6。

从表 1 可以看出, 随着水含量的增加, 乙醇/水混合溶剂的极性增强。乙醇/水的混合溶剂的极性对微球粒径的影响见图 5 和图 6。从图 5 的 SEM 图片可知, 调节水/乙醇的比例, 并未得到单分散性很好的微球, 存在着明显的小粒子, 呈现出

表 1 不同比例的乙醇: 水的溶剂的溶解度参数

Table 1 Solubility parameter (γ_m) in mixed solvent with different V(ethanol) : V(water)

Number	V(ethanol) : V(water)	Solubility parameter (γ_m) (J/cm^3) ^{1/2}
1	ethanol	25.97
2	29 : 1	27.44
3	28 : 2	27.92
4	27 : 3	28.84
5	26 : 4	29.74
6	25 : 5	30.61
7	24 : 6	31.46
8	Water	47.43

两极分化。相对而言, 图 5(b) 的微球粒径分布相对较好。从图 5(d) 可以发现, 很多小的微粒粘附在大的微球表面。虽然微球的粒径大小不一, 但是所得微球还是呈球形, 表面也光滑, 没有大的缺陷。从图 6 中可以知道微球的粒径随着水体积的增加, 先减少, 后增大, 最后再减少; 而粒径分布是先增大后减少。这一结果与他人报道有差异。Paine 和 Saenz 报道了在乙醇/水的混合溶剂体系中^[23, 24], 苯乙烯的分散聚合制备的微球粒径随着水含量的增加而减少。出现这种现象的原因是, 开始时, 随着水的体积增大, 分散体系的 γ_m 值增大, 降低了分散介质对初始形成的聚苯乙烯的溶解性, 导致成核的临界链长降低, 所以成核的数目增加, 粒径则会减少。然而 APEG 是不溶于乙醇中的, 所以随着水体积的进一步增加, APEG 在水相中也会发生聚合, 这必然影响到微球的粒径。其次, APEG 本身分子量就较大(分子量在 2400), 其聚合难度大于苯乙烯。此外, 使用的苯乙烯是未精制的, 本身就还有残留的微量水和 NaOH, 这必然影响到苯乙烯的成核。总之, 使用的未精制的苯乙烯在实验用水的含量范围内, 所制备的微球粒径分布较差。

从图 7 可知, 相对于使用未精制的苯乙烯制备的微球, 使用精制过的苯乙烯所制备的微球粒径分布要窄得多, 这说明水对苯乙烯分散聚合影响非常明显, 特别是在成核期。仔细观察图 7 可以得出, 水含量为 2/30 时制备的微球大小非常均一, 没有出现小的粒子, 且没有出现残渣, 非常光洁。另外从其放大 10000 倍的照片(图 7f)可以发现表面非常光滑, 没有小粒子的粘附。水含量

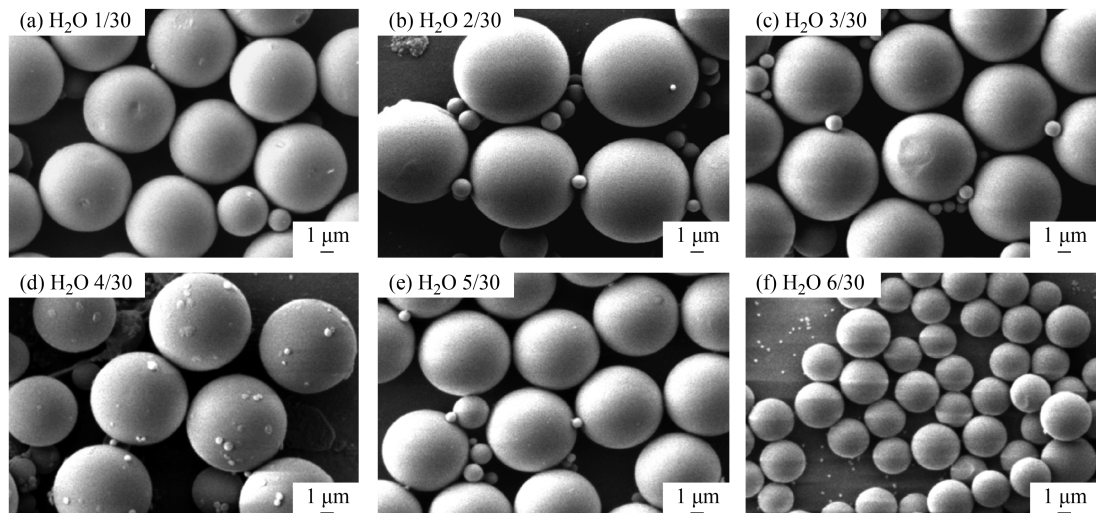


图 5 聚合体系中不同水含量的 APEG 功能化微球的扫描电镜图。溶剂里水的比例: (a) 1/30, (b) 2/30, (c) 3/30, (d) 4/30, (e) 5/30, (f) 6/30。注意: 苯乙烯只采用 5% (wt%) NaOH 洗涤去除阻聚剂

Figure 5 SEM images of APEG functional microspheres with different ratios of water/solvent: (a) 1/30, (b) 2/30, (c) 3/30, (d) 4/30, (e) 5/30 and (f) 6/30 in polymerization systems. Note: St was only treated with 5% (wt%) NaOH to remove the inhibitor

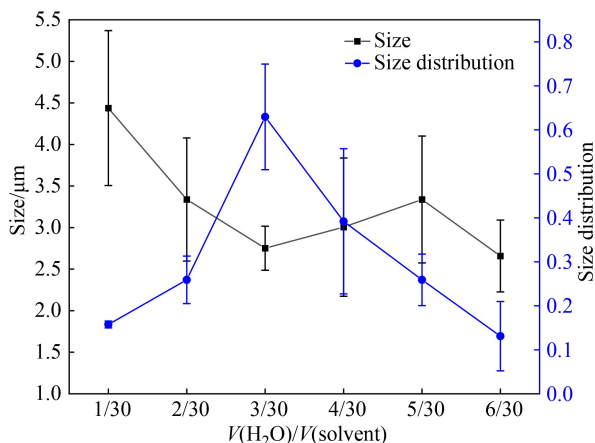


图 6 水含量对微球粒径及粒径分布的影响

Figure 6 The effect of the water content on average particle size and size distribution

增加到 4/30 时,明显出现了小的颗粒,其背景有残渣,不干净,不过其放大 10000 倍的 SEM 照片中(未显示在文中)显示微球表面还是非常光滑的。图 7 (a) 显示未出现小的颗粒,但是从其放大 10000 倍的照片发现(未显示在文中),其表面粘附着小颗粒或者条块状的东西。出现上述的现象,可能与 APEG 在水中聚合有关。APEG 不溶于乙醇而溶于水,所以在水中,APEG 会聚合形成聚合物链。当 APEG 聚合物链的分子量增大到一定程度,它不但起着功能单体的作用,而且起着稳定剂的作用(参见 2.3 节)。在无水的分散体系中,

APEG 不易聚合,而且 APEG 自身或 APEG 形成的聚合物链难以溶解,所以它可能直接沉积在苯乙烯形成的微球表面,同时对 PS 微球的成核产生影响。当水含量越来越大时,APEG 的稳定剂作用越明显。另外,APEG 也可能自身成核,所以当水含量增加到 4/30 时,出现了小的颗粒。总之,在聚合开始时是无水体系,聚合一段时间后加入的 APEG 体系中含有适量的水,这样才能抑制 P(APEG)的稳定剂作用,且有利于 APEG 和 P(APEG)从水相中传递到有机相中,所以所得微球粒径分布很好,而且表面光滑。

从图 8 可以看出,随着聚合体系中水含量的增加,微球的粒径先增大后减少,最后几乎相同;粒径分布都在 0.1~0.2 之间,说明分布情况较好。常规的分散聚合试验结果表明^[23, 24],随着水含量的增加,制备的微球粒径是减少的,而粒径分布是增大。杨万泰课题组^[25]观察了三种不同情况下,水与甲醇体系对微球成核与成长的影响。我们的试验结果与常规分散聚合有明显的差异,其原因可能与 APEG 自身的聚合和不溶解于乙醇中。

2.3 APEG 兼具稳定剂和功能单体的分散聚合

由于 APEG 本身分子量就较大(分子量为 2400)且能聚合,所以在分散聚合中,其自身聚合到一定的分子量后可能起到稳定剂的作用。首

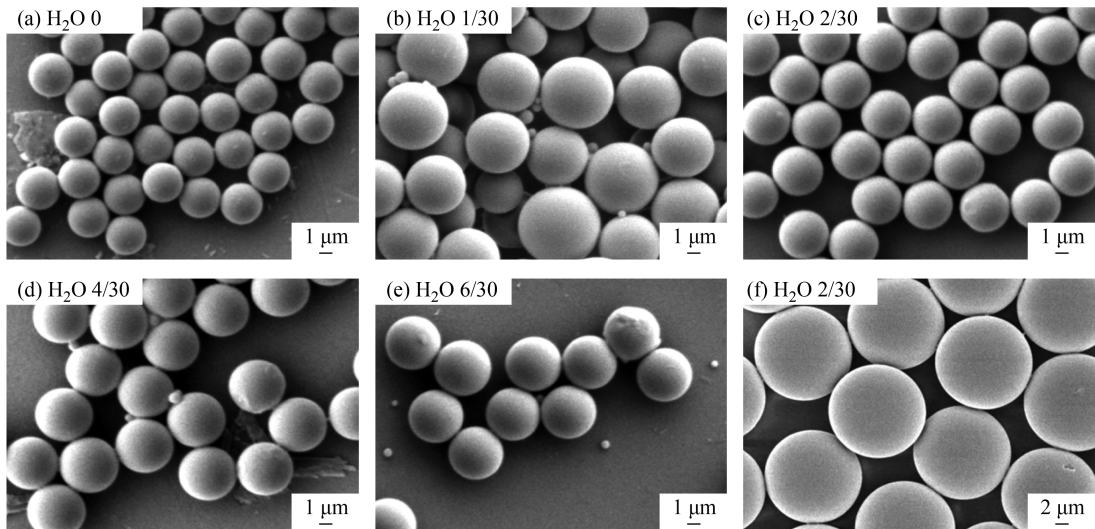


图7 聚合体系中水含量的 APEG 功能化微球的扫描电镜图。溶剂里水的比例:(a) 1/30, (b) 2/30, (c,f) 3/30, (d) 4/30, (e) 5/30。注意:苯乙烯采用减压蒸馏进行精制

Figure 7 SEM images of APEG functional microspheres different ratios of water/solvent: (a) 1/30, (b) 2/30, (c,f) 3/30, (d) 4/30 and (e) 5/30. Note: St was distilled under reduced pressure

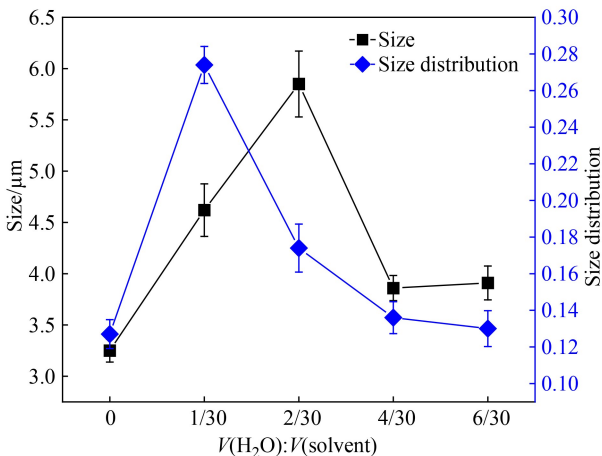


图8 聚合体系中水含量对聚合物微球的粒径和粒径分布的影响

Figure 8 The effect of the volume ratio of H_2O in polymerization system on average particle size and size distribution of obtained microspheres

先,在未加入 APEG 的情况下直接将苯乙烯分散聚合,试验结果表明不能得到微球,所得产物呈溶液状态,说明此时的聚合为溶液聚合。然后在不同水/乙醇比例下,将 0.4 g APEG、0.2 g AIBN、15 mL 苯乙烯和 60 mL 分散剂加入反应体系中,观察制备微球的情况。

当分散体系为无水乙醇时,由于 APEG 不溶于乙醇中,所以聚合前的体系一直未出现澄清的溶液,呈现的是灰白色微弱的浑浊状态。即使在

反应 12 h 后体系也未呈现出牛奶状的乳白色,离心后也未得到微球。如果往体系中加入 PVP 继续反应,则可以得到微球。这一现象说明, APEG 自身没有稳定剂的功能。常规的稳定剂如 PVP-30,其分子量在 $4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$,而 APEG 的分子量只有 2400,所以 APEG 不能起到稳定剂的作用。另外,在没有水的环境中, APEG 自身不能聚合,其分子量不能增大,所以也没有稳定作用。

为了进一步探讨 APEG 在苯乙烯分散聚合中的作用,在水/乙醇体积比例为 1 : 4 时,每隔一段时间取出 3 mL 样品,其状态如图 9 所示。反应开始 2 h 左右时,还只观察到轻微浑浊的溶液,继续进行反应,溶液变得更浑浊,大约在反应 4 h 时,才出现呈牛奶状的乳白色。在常规的分散聚合中,大约 15 min 体系就呈现牛奶状的乳白色,这说明本试验中形成微球的时间要远远慢于常规的分散聚合。其次,该现象更进一步说明 APEG 本身不具有稳定剂的功能,必须聚合到一定的分子量时才能起到稳定剂作用。此外,该现象还说明 APEG 的自身聚合速率较慢。

采用 DLS 测定获得样品的粒径及分布情况,所得数据如图 10 所示。从图中可以看出,反应 4 h 时,微球的粒径很小,但是其单分散性较差。随着反应的进行,微球的粒径逐渐增大,而其粒径分布逐渐变窄;当反应进行到 8 h 时,其粒径增大到最大,之后粒径逐渐减少,而在反应 10 h 时粒径



图 9 分散聚合的反应时间影响:①-⑧分别对应着反应时间为 0.5、1、2、4、6、8、10 和 12 h

Figure 9 The progress of dispersion polymerization with reaction time: 0.5、1、2、4、6、8、10 and 12 h for ①-⑧, respectively

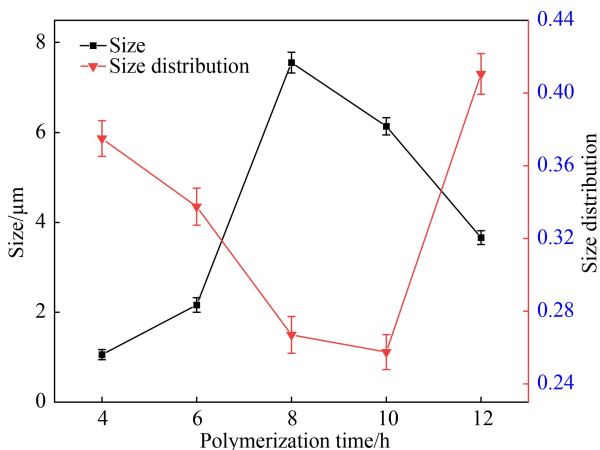


图 10 聚合时间对粒子及粒径分布影响

Figure 10 The change of the size and size distribution along with the polymerization process

分布达到最窄,然后逐渐变宽。

为了探讨水含量对聚合物微球的影响,将水体积分数设计为 5/60、10/60、12/60、15/60 和 20/60。试验发现,当水含量为 20/60 时,出现了凝胶现象,离心也未得到微球。从图 11 的 SEM 图中可看出,没有 PVP 的加入,也能得到微球,且所制备微球都是球形、光滑和没有瑕疵的。同时也发现微球的单分散性较差。这一试验结果表明, APEG 必须在含有一定水的分散体系中,通过自身的聚合达到一定的分子量时才能起到稳定剂的作用。当然, APEG 自身的聚合,其分子量大小并不均一,也会导致其单分散性变差。

从图 12 的 DLS 测试结果发现,当水体积分数为 5/60 时,其制备的微球粒径分布最好,这一结果与图 11 相吻合。随着水含量增加,微球的粒径逐渐减少,粒径分布逐渐变宽。当水体积分数为 10/60 时,粒径最小,随后粒径逐渐增大。粒径分布随着水含量的增大而逐渐变宽的原因是多方面的,首先随着水含量的增加, APEG 更容易聚合,

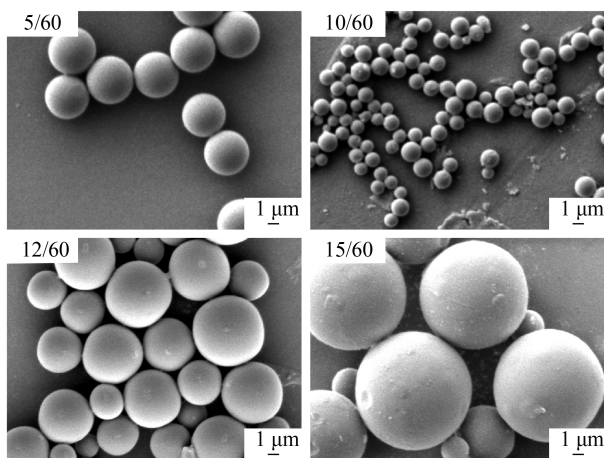


图 11 未加入 PVP 的聚合体系中不同水含量的 APEG 功能化微球的扫描电镜图

Figure 11 SEM images of APEG functional microspheres with different water contents in polymerization systems without PVP

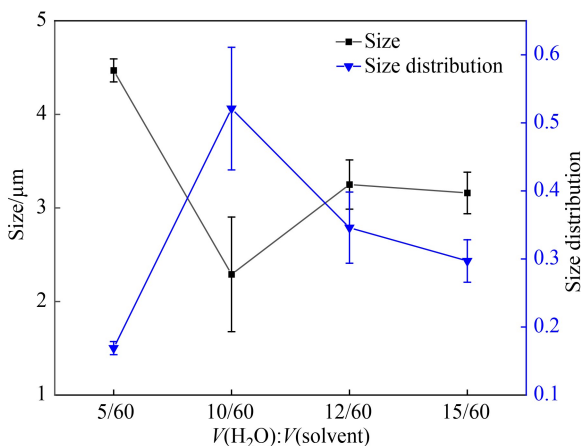


图 12 APEG 用作稳定剂和功能单体的聚合体系中,水体积含量对所制备微球的粒径及粒径分布的影响

Figure 12 The effect of volume ratio of H_2O in polymerization system on average particle size and size distribution of obtained microspheres when APEG was used as a stabilizer and functional monomer

其聚合物的分子量分布更不可控;其次,随着水体积的增大,苯乙烯的分散聚合制备的粒子的粒径分布也是逐渐变宽。此外,在实验中还发现,当水体积分数增大到 20/60 时,不能有效地制备微球。总之,水的含量对制备微球至关重要,当水体积分数为 5/60 时能得到粒径分布相对较好的微球。

2.4 阻抗蛋白质的吸附性能考察

为了考察 APEG 功能化微球对蛋白质吸附的阻抗作用,对比了 P(St-co-APEG)和 P(St-co-GMA)微球(采用同样的分散聚合条件制备)在相同条件下吸附 BSA,分别测定它们吸附的量,其结果如图 13 所示。从图中可以看出,随着 BSA 浓度的增加,P(St-co-GMA)微球吸附蛋白质的量也随之增大,而后达到平衡;从图中可以得出每克微球的 BSA 最大吸附量为 4.8 mg。对于 P(St-co-APEG)微球,其吸附 BSA 的量随着 BSA 浓度的增大而变化非常少,而且其最大吸附量也只有 0.66 mg,远远低于 P(St-co-GMA)微球的吸附量。这一试验结果表明,APEG 能有效阻抗蛋白质的吸附。APEG 与苯乙烯分散共聚制备的微球,其外层的 APEG 分子链可以有效形成水化层,可以抑制蛋白质的吸附。而且 APEG 自身聚合形成的聚合物链,能在微球表面对蛋白质产生空间位阻,也会阻抗蛋白质的吸附。不过,可能是由于 APEG 不能完全有效包裹苯乙烯微球,以及 APEG 上带有的羟基可能通过与 BSA 分子上的氨基或巯基等形成氢键,所以还是有少量的蛋白质能够吸附到载体上。

3 结论

本文以 APEG 和 St 为聚合单体,AIBN 为引发剂,PVP 为稳定剂,水/乙醇为分散介质成功制备了 APEG 功能化微球。实验结果表明,0.4 g APEG、2:28 的水/乙醇、0.2 g AIBN、0.4 g PVP 的反应条件成功合成单分散性较好的微球。然而,APEG 因其分子量较小,其稳定剂效果有待进一步提高。此外,APEG 功能化微球因水屏障和空间位阻效应,能有效阻抗蛋白质的吸附。

参考文献:

- [1] Rahmati, M.; Mozafari, M. Protein adsorption on polymers. *Mater. Today Commun.*, **2018**, 17, 527-540.
- [2] Zdarta, J.; Meyer, A. S.; Jesionowski, T.; Pine-lo, M. Developments in support materials for immobilization of oxidoreductases: a comprehensive review. *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2018**, 258, 1-20.
- [3] Song, J. Y.; Shen, H.; Yang, Y.; Zhou, Z. X.; Su, P.; Yang, Y. Multifunctional magnetic particles for effective suppression of non-specific adsorption and coimmobilization of multiple enzymes by DNA directed immobilization. *J. Mater. Chem. B*, **2018**, 6(36), 5718-5728.
- [4] Ettelt, V.; Ekat, K.; Kämmerer, P. W.; Kreikemeyer, B.; Eppe, M.; Veith, M. Streptavidin-coated surfaces suppress bacterial colonization by inhibiting non-specific protein adsorption. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **2018**, 106(3), 758-768.
- [5] Bernal, C.; Rodríguez, K.; Martínez, R. Integrating enzyme immobilization and protein engineering: an alternative path for the development of novel and improved industrial biocatalysts. *Biotechnol. Adv.*, **2018**, 36(5), 1470-1480.
- [6] Seehuber, A.; Schmidt, D.; Dahint, R. Poly(acrylic acid)-poly(ethylene glycol) layers on positively charged surface coatings: molecular structure, protein resistance, and application to single protein deposition. *Langmuir*, **2012**, 28(23), 8700-8710.
- [7] Röttgermann, P. J. F.; Hertrich, S.; Berts, I.; Albert, M.; Segerer, F. J.; Moulin, J. F.; Nickel, B.; Rädler, J. O. Cell motility on polyethylene glycol block copolymers correlates to fibronectin surface adsorption. *Macromol. Biosci.*, **2014**, 14(12), 1755-1763.

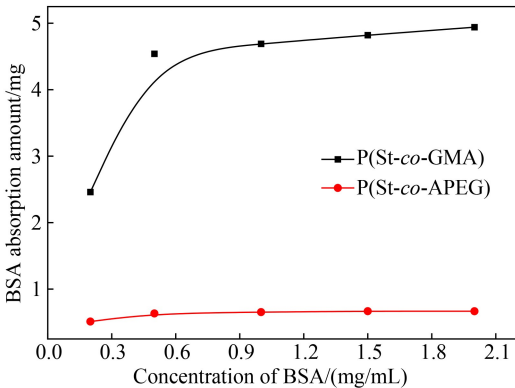


图 13 P(St-co-APEG)和 P(St-co-GMA)微球对 BSA 吸附的阻抗性能

Figure 13 The resistance of P(St-co-APEG) and P(St-co-GMA) to BSA adsorption

- [8] Lowe, S. ; O'brien-Simpson, N. M. ; Connal, L. A. Antibiofouling polymer interfaces: poly(ethylene glycol) and other promising candidates. *Polym. Chem.*, **2015**, 6(2), 198-212.
- [9] Cao, Z. B. ; Adnan, N. N. M. ; Wang, G. Y. ; Rawal, A. ; Shi, B. Y. ; Liu, R. Z. ; Liang, K. ; Zhao, L. Y. ; Gooding, J. J. ; Boyer, C. ; Gu, Z. Enhanced colloidal stability and protein resistance of layered double hydroxide nanoparticles with phosphonic acid-terminated PEG coating for drug delivery. *J. Colloid Interface Sci.*, **2018**, 521, 242-251.
- [10] Zhang, S. Y. ; Cao, J. J. ; Ma, N. ; You, M. ; Wang, X. S. ; Meng, J. Q. Fast and facile fabrication of antifouling and hemocompatible PVDF membrane tethered with amino-acid modified PEG film. *Appl. Surf. Sci.*, **2017**, 428: 41-53.
- [11] Sun, M. C. ; Deng, J. ; Tang, Z. C. ; Wu, J. D. ; Li, D. ; Chen, H. ; Gao, C. Y. A correlation study of protein adsorption and cell behaviors on substrates with different densities of PEG chains. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **2014**, 122, 134-142.
- [12] Wang, X. J. ; Yang, C. P. ; Wang, C. H. ; Guo, L. J. ; Zhang, T. H. ; Zhang, Z. Q. ; Yan, H. S. ; Liu, K. L. Polymeric micelles with α -glutamyl-terminated PEG shells show low non-specific protein adsorption and a prolonged *in vivo* circulation time. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, **2016**, 59, 766-772.
- [13] Qin, G. T. ; Yam, C. M. ; Kumar, A. ; Lopez-Romero, J. M. ; Li, S. ; Huynh, T. ; Li, Y. ; Yang, B. ; Contreras-Caceres, R. ; Cai, C. Z. Preparation, characterization, and protein-resistance of films derived from a series of α -oligo(ethylene glycol)- ω -alkenes on H—Si(111) surfaces. *RSC Adv.*, **2017**, 7(24), 14466-14476.
- [14] Celentano, W. ; Battistella, J. ; Silvestri, I. P. ; Bruni, R. ; Huang, X. Y. ; Li, M. ; Messa, P. ; Ordanini, S. ; Cellesi, F. Engineered polyester-PEG nanoparticles prepared through a “grafting through” strategy and post-functionalization *via* Michael type addition. *React. Funct. Polym.*, **2018**, 131, 164-173.
- [15] Konai, M. M. ; Bhattacharjee, B. ; Ghosh, S. ; Haldar, J. Recent progress in polymer research to tackle infections and antimicrobial resistance. *Biomacromolecules*, **2018**, 19(6), 1888-1917.
- [16] Hattori, G. ; Takenaka, M. ; Sawamoto, M. ; Terashima, T. Nanostructured materials *via* the pendant self-assembly of amphiphilic crystalline random copolymers. *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140(27), 8376-8379.
- [17] Paris, J. L. ; Villaverde, G. ; Cabañas, M. V. ; Manzano, M. ; Vallet-Regi, M. From proof-of-concept material to PEGylated and modularly targeted ultrasound-responsive mesoporous silica nanoparticles. *J. Mater. Chem. B*, **2018**, 6(18), 2785-2794.
- [18] Pei, M. L. ; Jia, X. ; Liu, P. Design of Janus-like PMMA-PEG-FA grafted fluorescent carbon dots and their nanoassemblies for leakage-free tumor theranostic application. *Mater. Des.*, **2018**, 155, 288-296.
- [19] Huynh, C. T. ; Liu, F. Z. ; Cheng, Y. X. ; Coughlin, K. A. ; Alsberg, E. Thiol-epoxy “click” chemistry to engineer cytocompatible PEG-based hydrogel for siRNA-mediated osteogenesis of hMSCs. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10(31), 25936-25942.
- [20] Kizhakkedathu, J. N. ; Janzen, J. ; Le, Y. ; Kainthan, R. K. ; Brooks, D. E. Poly(oligo(ethylene glycol)acrylamide) brushes by surface initiated polymerization; effect of macromonomer chain length on brush growth and protein adsorption from blood plasma. *Langmuir*, **2009**, 25(6), 3794-3801.
- [21] Yang, W. L. ; Yang, D. ; Hu, J. H. ; Wang, C. C. ; Fu, S. K. Dispersion copolymerization of styrene and other vinyl monomers in polar solvents. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2001**, 39(4), 555-561.
- [22] Smeets, N. M. B. ; Hutchinson, R. A. ; McKenna, T. F. L. Determination of the critical chain length of oligomers in dispersion polymerization. *ACS Macro Lett.*, **2012**, 1(1), 171-174.
- [23] Sáenz, J. M. ; Asua, J. M. Kinetics of the dispersion copolymerization of styrene and butyl acrylate. *Macromolecules*, **1998**, 31(16), 5215-5222.
- [24] Paine, A. J. ; Luymes, W. ; McNulty, J. Dispersion polymerization of styrene in polar solvents. 6. Influence of reaction parameters on particle size and molecular weight in poly(*N*-vinylpyrrolidone)-stabilized reactions. *Macromolecules*, **1990**, 23(12), 3104-3109.
- [25] Zhang, F. ; Ma, Y. H. ; Liu, L. Y. ; Yang, W. T. Direct observations of three nucleation/growth processes of charge-stabilized dispersion polymerizations with varying water/methanol ratios. *J. Phys. Chem. B*, **2010**, 114(34), 10970-10978.