



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20220267

NIR 控制的复合型纳米 MOF 用于耐药菌灭活

闫泳, 郑硕, 毛丽颖, 高霞
(天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 伴随抗生素的大规模使用甚至滥用, 细菌耐药性问题日趋严重。发展快速有效的耐药菌灭活方法对遏制耐药菌的传播至关重要。基于此, 首先制备了一种富有叠氮基团的金属有机骨架 (UiO MOF)。其次, 通过在其中组装客体分子吲哚菁绿 (ICG) 和全氟己烷 (PFH), 外层修饰细菌靶向适配体 (aptamer), 构建了复合型 MOF 纳米材料 (UiO/ICG/PFH@aptamer, 缩写为 UIP@Apt)。结果表明: 在近红外光 (NIR) 照射下, UIP@Apt 可用于耐药菌的光热和自供氧光动力协同灭活, 体外杀菌率达 96.5%, 并可有效抑制生物膜的形成。该方法简单有效, 长期副作用小且不产生显著耐药性, 可为耐药菌的灭活提供有益参考。

关键词: 耐药菌; 金属有机骨架; 光热灭活; 光动力灭活

中图分类号: TQ453.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2023)05-0015-08

NIR-Controlled MOF Nanoconjugates for Drug-Resistant Bacteria Inactivation

YAN Yong, ZHENG Shuo, MAO Liying, GAO Xia

(College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: With the large-scale use and abuse of antibiotics, bacterial resistance is becoming more and more serious. Developing rapid and effective inactivation methods for drug-resistant bacteria is of great significance to curb their spread. Therefore, in our current study a nano metal-organic frameworks rich in azide groups (UiO MOF) was first prepared. Then, the nano-MOF were loaded with guest molecules including indocyanine green (ICG) and perfluorohexane (PFH), and further modified with bacteria-targeted aptamers, resulting MOF nanoconjugates called UIP@Apt (simplified from UiO/ICG/PFH@aptamer). The results showed that under the irradiation of near-infrared light (NIR), the as-prepared UIP@Apt could be used for the synergistic inactivation of drug-resistant bacteria via photothermal effect as well as oxygen self-supplied photodynamic therapy. In this regard, an in vitro bactericidal rate of 96.5% could be reached, and the formation of biofilms could also be effectively inhibited. This method is simple, effective, exhibiting low long-term side effects, and does not produce obvious bacterial resistance, which may provide a new methodology for the inactivation of drug-resistant bacteria.

Key words: drug-resistant bacteria; MOF; photothermal inactivation; photodynamic inactivation

由病原微生物感染引发的传染病一直是世界范围内举足轻重的公共卫生问题^[1-3]。准确、快速识别并杀灭病原微生物对疾病控制至关重要。这对致病性细菌来说尤其如此。数据显示每年全球约有 5.5 亿人因致病菌住院, 并至少有 3 300 万人因此死亡^[4]。在已知的病原体中, 金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 是最

常见的食源性致病菌之一, 它们在极低的传染剂量下即可导致严重疾病, 除常见的食物中毒外, 其继发性感染更是会导致脑膜炎、脊髓炎、败血症等, 甚至死亡^[5-7]。

1929 年, 弗莱明发现青霉素, 开启了抗生素对抗细菌感染的辉煌时代。但是, 伴随抗生素的大规模使

收稿日期: 2022-11-29; 修回日期: 2023-02-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (22304126)

作者简介: 闫泳 (1998—), 女, 辽宁铁岭人, 硕士研究生; 通信作者: 高霞, 讲师, xgao@tust.edu.cn

用甚至滥用,细菌的耐药性问题日趋严重,对人类生命健康造成巨大的威胁^[8-9]。某些致病菌对其常用抗生素的耐药检出率已达 50%以上,如耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌的平均检出率为 76%,大肠埃希菌对头孢曲松或头孢噻肟的耐药率已达 54.2%^[10-11]。据世界卫生组织估计,到 2050 年,由细菌耐药性引发的全球死亡人数将达 1 000 万人^[12]。我国在 2016 年颁布了《遏制细菌耐药国家行动计划(2016—2020 年)》,旨在遏制细菌耐药性,维护人民群众健康。因此,发展快速有效的耐药菌灭活方法,及时遏制细菌的传播具有十分重要的现实意义。

近年来,光致细菌灭活法尤其是光热疗法(photothermal therapy, PTT)和光动力疗法(photodynamic therapy, PDT),因其具有侵入性小、长期副作用小、成本低且不产生显著耐药性等优点而备受关注^[13-16]。PTT 是指利用近红外光吸收剂将光转化为热进行杀菌的一种方式,而 PDT 是利用光敏剂在光激发下将氧气(O₂)转化为生物毒性活性氧(reactive oxygen species, ROS)进行杀菌。与此同时,纳米材料及技术的日新月异也为耐药性细菌的高效灭活提供了契机^[17-19]。金属有机骨架(metal-organic frameworks, MOF)材料就是一类可以用来构建光致细菌灭活平台的理想材料^[20-22]。MOF 是以金属离子为连接点,有机配体为支撑构成的空间 3D 延伸的多孔性材料,具有多种优异性能,如大的比表面积、可调控的空间结构以及易于修饰的表面。MOF 具有孔隙结构,可以用来负载光热剂和光敏剂;其结构具有灵活性,可通过对其表面的功能化实现对目标病原菌的特异性识别。

因此,本研究构建了基于复合型 MOF 材料(UiO/ICG/PFH@aptamer, 缩写为 UIP@Apt)的细菌灭活平台。区别于传统的抗生素,UIP@Apt 具有制备方法简单、成本低、周期短、具有广谱性杀菌能力且不易产生显著的细菌耐药性的优势;同时,其具有良好的生物相容性和细菌靶向性,长期副作用小,其主要功能成分吡啶菁绿(indocyanine green, ICG)已被食品药品监督管理局批准用于临床。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

2-叠氮对苯二甲酸(BDC-N₃),南京圣赛化工有限公司;八水合氧氯化锆(ZrOCl₂·8H₂O)、吡啶菁绿(ICG)、全氟己烷(perfluorohexane, PFH), Sigma-

Aldrich 公司;N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、冰醋酸、溴化钾,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;营养琼脂、胰蛋白胨、牛肉膏、氯化钠、酵母提取物,北京索莱宝科技有限公司;钙黄绿素、碘化丙啶,北京华威锐科化工有限公司。所用 aptamer(3'-DBCO-ATATACACCCACCTCGCTCCCGTGACACTAATGCTATTTTTT-5')^[23]在生工生物工程(上海)股份有限公司合成。所有溶液均用电阻率为 18 MΩ·cm 去离子水制备。

Talos 型透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM),FEI 公司;D/max-2500 型 X 射线衍射仪,日本理学集团公司;LUMINA 型荧光光谱仪,赛默飞世尔科技公司;UV-2600 型分光光度计,日本岛津公司;Tensor-27 型傅里叶变换红外光谱仪,德国布鲁克公司;倒置荧光显微镜,日本尼康公司;JY600 C 型聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)仪,北京君意东方电泳设备有限公司。

1.2 UIP@Apt 的合成

将 50 mg BDC-N₃ 和 21 mg ZrOCl₂·8H₂O 溶于 1 mL DMF 溶液中。将混合溶液超声处理 10 min 后,与 750 μL 乙酸一并转移到聚四氟乙烯不锈钢高压反应釜中,在 90 °C 烘箱中加热 18 h,得到 UiO-66-N₃。待反应液慢慢冷却至室温后,用 DMF 溶液和纯净水分别洗涤 3 次(12 000 r/min 离心 10 min),将其置于 60 °C 真空干燥 12 h,得到 UiO-66-N₃ 纳米晶体的金属有机骨架。最后将所得纳米颗粒悬浮于纯净水中,放在 4 °C 冰箱中保存。

将 100 μg/mL UiO-66-N₃ 与 40 μg/mL ICG 水溶液混合后,在机械摇床上室温避光振荡 12 h,随后用纯净水清洗 3 次(12 000 r/min 离心 10 min)去除游离 ICG。所得的 UiO@ICG 沉淀与 100 μL 4% PFH 避光孵育 6 h,再洗涤 3 次后复溶于纯净水中,得到 UIP 复合材料。随后将其在 60 °C 真空干燥箱中干燥过夜,可得 UIP 粉末样品。

将 100 μg/mL UIP 与 2 μmol/L 二苯并环辛炔(dibenzocyclooctyne, DBCO)修饰的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)核酸适配体(DBCO-aptamer)混合于 pH 8.5 碳酸钠-碳酸氢钠溶液中,置于机械摇床上,在室温下振荡过夜。最后,用纯净水洗去游离 aptamer,重新悬浮纳米材料获得 UIP@Apt。

UIP@Apt 的合成及其用于 MRSA 灭活的原理如图 1 所示。以耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)为模型菌,在有近红外光(NIR)照射时,一方面 ICG

可作为光热剂产热杀菌,另一方面 ICG 也是光敏剂,可将 O_2 转化为单线态氧 (1O_2) 进行杀菌。同时,PFH 具有相转变特性,在受热时可瞬间释放 O_2 ,促使 ICG

产生更多 1O_2 ,进一步增强其杀菌能力。因此,利用构建的 UIP@Apt 纳米平台,可实现对耐药菌的快速精准识别与灭活。

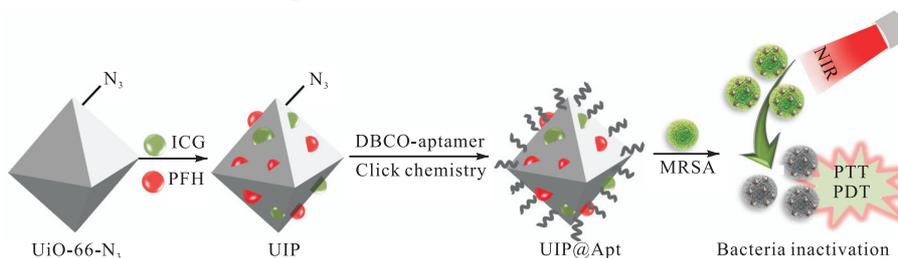


图1 UIP@Apt的合成及其用于MRSA灭活的原理图

Fig. 1 Synthesis of UIP@Apt and its application for MRSA inactivation

1.3 细菌培养

挑取活化好的 MRSA 菌落置于 LB 液体培养基,200 r/min、37 °C 培养 12 h;3 500 r/min 离心 5 min 除去培养基,再用 PBS 缓冲液洗涤 3 次,最后重新悬浮于 PBS 缓冲液中。采用平板涂布法确定细菌的浓度,利用分光光度计测定不同细菌浓度下 600 nm 处的吸光度 (A_{600}),将平板涂布浓度 (CFU/mL) 与 A_{600} 建立对应关系,后续致病菌浓度可通过 A_{600} 计算。

1.4 体外杀菌

将 MRSA (1×10^5 CFU/mL) 与 PBS (10 mmol/L, 20 μ L)、UiO、UiO/ICG 及 UIP@Apt (终质量浓度均为 200 μ g/mL) 孵育 10 min 后接种到 96 孔板中,用 808 nm 激光以每孔 0.5 W/cm² 辐射照度照射 10 min。将 20 μ L 稀释 100 倍的细菌悬浮液转移到 LB 固体培养基上,37 °C 孵育 12 h。根据 LB 固体培养基上的菌落分布计数,计算不同处理条件下的杀菌效率。此外,利用钙黄绿素和碘化丙啶对不同条件处理下的细菌进行染色,通过激光扫描共聚焦显微镜 (confocal scanning laser microscope, CLSM) 观察细菌的生存情况。利用扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 对对照组 (PBS) 和最终处理组 (UIP@Apt + NIR)

的 MRSA 细菌形貌进行观察,评估其杀菌机制。

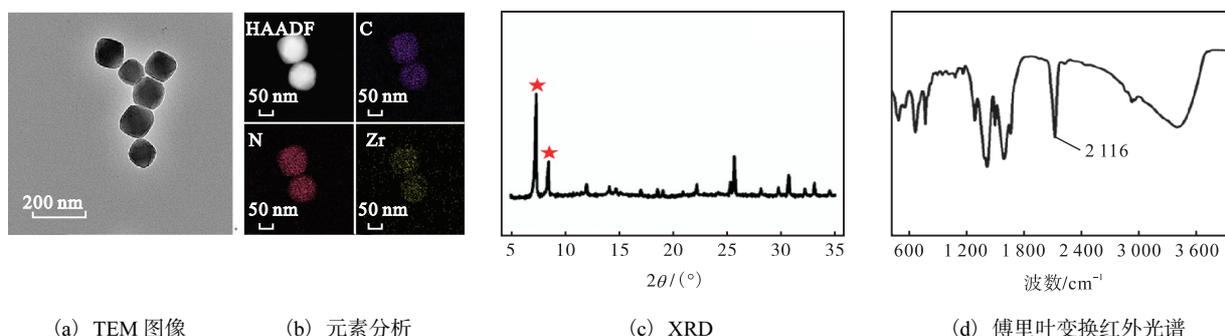
1.5 生物膜抑制

将高浓度 MRSA 细菌 (1×10^7 CFU/mL) 置于 96 孔板中,在胰酪大豆胨液体培养基 (TSB) 37 °C 培养 6 h 后,分别进行 PBS (10 mmol/L, 20 μ L) 和 UIP@Apt + NIR (UIP@Apt 终质量浓度分别为 200 μ g/mL 和 400 μ g/mL,激光照射时间为 10 min) 处理,随后继续置于 37 °C 培养箱中培养 18 h。如此进行 3 个周期,即 72 h 后对孔板中的生物膜进行结晶紫染色,通过检测其在 590 nm 处的吸光度,并对结晶紫染色的面积进行统计分析,以此评估 UIP@Apt + NIR 处理对生物膜的抑制效果。同时,对生物膜进行钙黄绿素和氧化丙啶染色,通过 3D CLSM 图像观察 UIP@Apt + NIR 对生物膜中 MRSA 细菌的杀菌效果。

2 结果与分析

2.1 UiO-66-N₃ 的表征

以 2-叠氮对苯二甲酸为配体,以锆 (氧氯化锆) 为中心金属,通过水热法一步合成了富含叠氮基团的 UiO-66-N₃ (图 2)。



(a) TEM 图像

(b) 元素分析

(c) XRD

(d) 傅里叶变换红外光谱

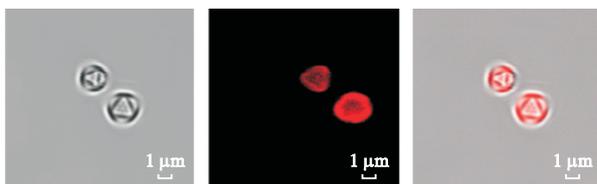
图2 UiO-66-N₃的TEM图像、元素分析、XRD和傅里叶变换红外光谱表征

Fig. 2 TEM image, element mapping, XRD and Fourier transform infrared spectrum spectra of UiO-66-N₃

对合成的 UiO-66-N₃ 进行了 TEM 表征,如图 2(a)所示,合成的 UiO-66-N₃ 尺寸在纳米级别,并呈现出典型的八面体结构,这与文献报道的一致^[23-24]。对其进行了元素分析,如图 2(b)所示,配体中含有的碳元素、氮元素及中心离子铈元素均出现在了合成的材料中,初步说明 UiO-66-N₃ 已经成功合成。为了进一步验证这一结论,对合成材料进行了 X 射线衍射(XRD)表征〔图 2(c)〕和傅里叶变换红外光谱表征〔图 2(d)〕。合成的纳米粒子在小角度范围内(小于 10°)呈现出了其特征的 XRD 峰^[24],且在 2 116 cm⁻¹处出现了叠氮基团的红外光谱特征吸收峰,这些结果进一步验证了 UiO-66-N₃ 的成功合成。

2.2 UIP@Apt 的表征

以 UiO-66-N₃ 为初始材料,通过包覆 ICG 和 PFH,并通过点击化学反应修饰 MRSA 靶向适配体,制备了 UIP@Apt 复合纳米 MOF 材料。为了验证材料的成功合成,对其进行了相应的表征。利用 CLSM 考察 ICG 是否已经被包裹在 UiO-66-N₃ 中。由于纳米级别的材料难以被 CLSM 观察到,在此合成了具有完全一致结构的微米尺寸的 UiO-66-N₃^[25]。如图 3 所示,微米级别的 UiO-66-N₃ 在明场下同样呈现出典型的八面体结构,当以相同的方法包裹 ICG 后,可观察到明显的荧光信号,且其位置与 UiO-66-N₃ 完全耦合,说明 ICG 成功被包裹在 UiO-66-N₃ 中。



(a) 明场图 (b) 暗场图 (c) 两者叠加图

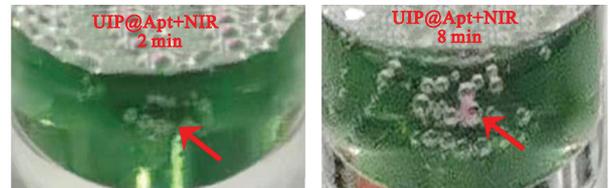
图 3 微米尺寸 UiO-66-N₃ 的 CLSM 图

Fig. 3 CLSM diagram of micron sized UiO-66-N₃

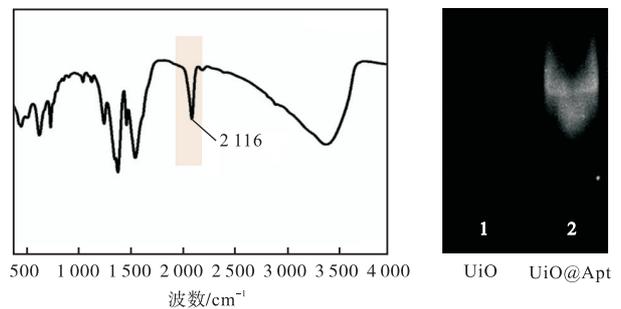
对 UIP@Apt 的水溶液进行 808 nm 激光照射,随着激光照射时间的延长,可在溶液中观察到明显的气泡〔图 4(a)〕。这是由于 ICG 吸收了近红外激光产热后,触发了 PFH 的相转变特性释放出 O₂,这一结果间接证明了 PFH 也被成功包裹在 UiO-66-N₃ 中。

为了验证 DBCO 修饰的细菌适配体已通过点击化学反应键合在 UiO-66-N₃ 上,首先对两者的反应产物进行了傅里叶变换红外光谱表征。如图 4(b)所示,在与 DBCO 修饰的适配体反应完成后,UiO-66-N₃ 在 2 116 cm⁻¹ 处的特征峰强度明显降低,说明其上存在的叠氮基团已部分与 DBCO 发生了点击化学反应。

此外,对单纯的 UiO-66-N₃ 及适配体修饰的 UiO-66-N₃ (UiO@Apt) 进行了凝胶分析。如图 4(c)所示,单纯的 MOF 材料没有呈现出任何的条带,而 UiO@Apt 可呈现出明显的 DNA 条带,进一步说明了 aptamer 已键合在了 UiO-66-N₃ 上。



(a) UIP@Apt 水溶液 808 nm 激光照射图像



(b) UiO@Apt 的傅里叶变换红外谱图

(c) 凝胶分析

图 4 UIP@Apt 的表征

Fig. 4 Characterization of UIP@Apt

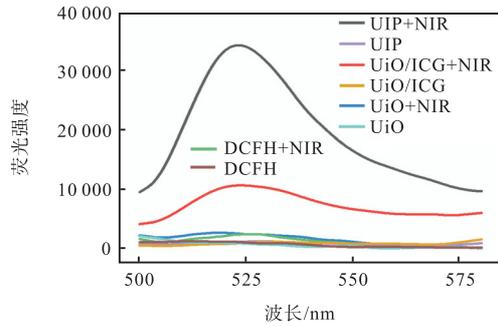
2.3 UIP 杀菌机理的验证

ICG 是一种近红外荧光染料,其在 NIR 照射下,既可产热杀菌又可产 ROS 杀菌。为了验证其在 UIP 中仍具备此双重功能,首先用 DCFH-DA 探针对 UIP 产 ROS 的能力进行验证。DCFH-DA 是一种可以用来检测体系中是否存在 ROS 的荧光探针。当有 ROS 存在时,其在 525 nm 处会产生特征的荧光发射峰。如图 5(a)和图 5(b)所示,只有当 ICG 存在且有 NIR 照射时,材料(UiO/ICG 和 UIP)才会产生 ROS〔图 5(a),红线和黑线〕,且随着 PFH 的进一步引入,材料(UIP)产 ROS 的能力大大增强〔图 5(a),黑线〕。结果说明:一方面,ICG 在 NIR 照射下具备产 ROS 的能力;另一方面,PFH 的引入确实会大大增强这一能力。

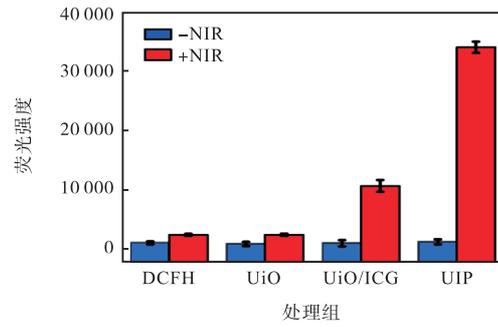
为了进一步验证 PFH 的存在确实会产生 O₂,考察了[Ru(dpp)₃]Cl₂(RDPP)探针在不同乏氧体系中的荧光强度变化。RDPP 是一种可以特异性检测 O₂ 存在的荧光探针,其在 615 nm 处的特征荧光发射峰会被 O₂ 猝灭。如图 5(c)和图 5(d)所示,在乏氧情况下,当材料中不存在 PFH 时,无论是否有激光照射,体系中 RDPP 的荧光强度变化范围均不大;而当有

PFH存在且有NIR照射时, RDPP的荧光强度急剧下降〔图5(c), 黑线〕, 说明体系中有大量的 O_2 产生。这一结果间接验证了复合型UIP材料在NIR照射时, 其光热作用可使PFH发生相转变释放 O_2 , 从而增强ICG的光动力效果。这一结果也说明了包覆在MOF中的ICG仍然保留了其光热性能。如图5(e)所示, 单纯的MOF在NIR照射下温度基本恒定

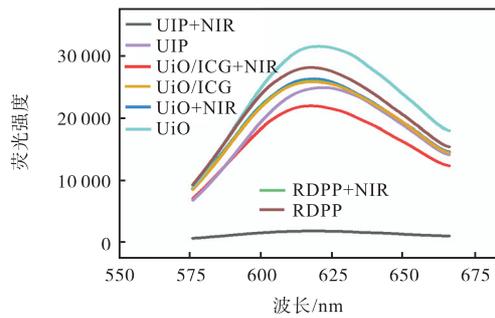
(黑线), 而包覆了ICG的UiO/ICG和UIP的温度随着激光照射时间的延长而升高, 进一步验证了ICG在被包覆在MOF中后仍保留了其光热性能。这里需要说明的是, UIP的光热效应(蓝线)略微低于UiO/ICG(红线), 这可能是由于PFH的加入占据了MOF的部分孔隙结构, 导致ICG的包覆量降低引起的。



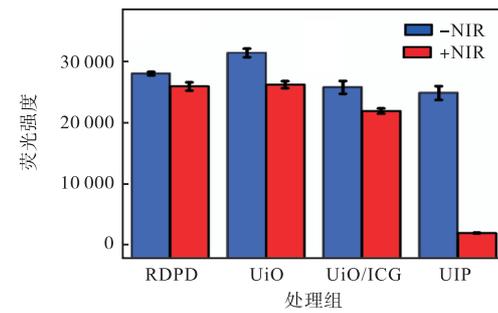
(a) DCFH-DA 探针在不同体系中的荧光图谱



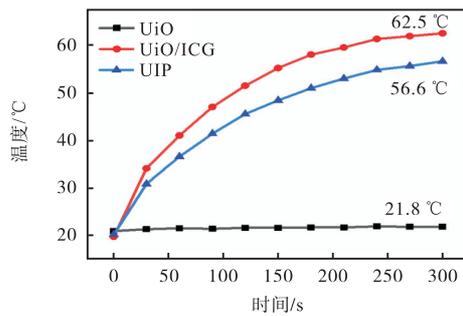
(b) DCFH-DA 探针在不同体系中相应的特征峰强度值



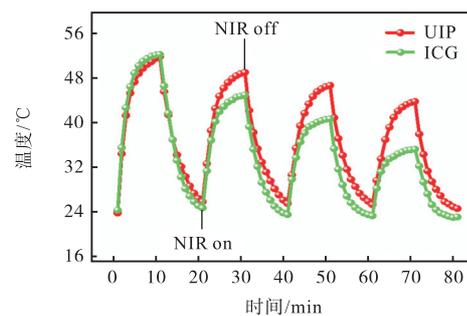
(c) RDPP 探针在不同体系中的荧光图谱



(d) RDPP 探针在不同体系中相应的特征峰强度值



(e) 不同溶液随激光照射时间的温度变化



(f) UIP 和 ICG 的光热循环图

图5 UIP杀菌机理的验证

Fig. 5 Validation of UIP sterilization mechanism

此外, 图5(f)的实验结果显示被包覆在MOF中的ICG具有更好的抗光漂白能力, 相较于单纯的ICG, UIP具有更好的光热循环性能。在经过4次光热循环实验后, 单纯ICG可达到的最高温度已从 $52^{\circ}C$ 降低到 $35^{\circ}C$, 而UIP仍可以达到近 $44^{\circ}C$ 。上述实验结果均为UIP用于后续的杀菌实验提供了理论依据。

2.4 UIP@Apt体外杀菌性能

为了考察UIP@Apt复合纳米材料对MRSA的杀菌性能, 设置了不同的处理组: PBS对照组、PBS+NIR组、UiO处理组、UiO+NIR组、UiO/ICG处理组、UiO/ICG+NIR组、UIP@Apt处理组、UIP@Apt+NIR组。首先采用了平板培养法考察不同处理组中MRSA的生长情况, 直观地了解不同处

理方法对 MRSA 的杀菌效果。如图 6(a)所示,在无 NIR 照射时,4 个处理组中 MRSA 的生长活性基本没有显著差异,其菌落数量也很相近〔图 6(b)〕。这一结果说明单纯的材料处理没有明显的杀菌作用,而当引入 NIR 照射时,各组之间 MRSA 的生长情况发生变化。由于 PBS 和 UiO 材料本身都不具备光热剂或光敏剂的作用,因此其菌落数与无 NIR 时的基本一致,细菌的生长并不受太大的影响。不同的是,在 UiO/ICG + NIR 组中,MRSA 菌落数显著降低,这是 ICG 在激光照射下同时产热和产 ROS 杀菌导致的,其杀菌率在 47.9%左右。当进一步引入 PFH 后,ICG 在产热的同时,还可促使 PFH 释放 O₂,此后 ICG 又进一步在 NIR 照射下将 O₂转换为 ROS 杀菌。ROS 只能在较短距离内发挥作用,而 aptamer 的存在大大拉近了 UIP 材料与细菌之间的距离,可使产生的 ROS 充分发挥其杀菌作用。基于此,在 UIP@Apt 的靶向作用以及光热和自供氧光动力协同作用下,UIP@Apt + NIR 处理组对 MRSA 的杀菌率达到了 96.5%。

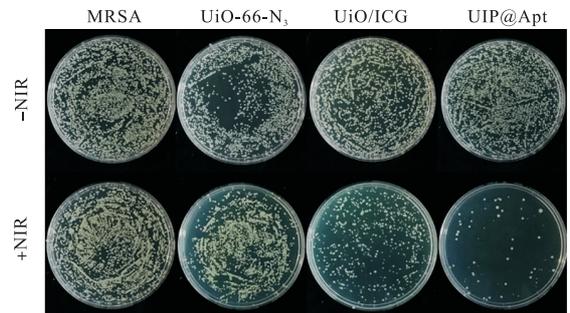
对不同组别处理后的细菌进行了荧光染色实验,其中:钙黄绿素可以特异性染色活细菌,呈现绿色荧光;碘化丙啶可特异性染色死细菌,呈现红色荧光。染色结果如图 6(c)所示,在没有激光照射时,4 个处理组都呈现出了大量的绿色荧光,说明细菌活性并没有受到太大影响。在有 NIR 照射时,除 PBS + NIR 组和 UiO + NIR 组内细菌仍保持较好活性外,UiO/ICG + NIR 和 UIP + NIR 处理后的细菌均呈现出了显著的红色荧光,说明已有大量的细菌被灭活。图 6(d)的 SEM 图片也验证了这一结论,经 UIP@Apt + NIR 处理后的 MRSA 细菌已出现了显著的皱缩和变形。

上述体外数据均说明 UIP@Apt 具有 NIR 触发的杀菌特性,其杀菌能力一方面来自其光热性能,另一方面来自其自供氧型的光动力杀菌能力。这种联合杀菌行为可大大提高杀菌效率,使 UIP@Apt 在低剂量(微克级别)时即可达到较好的杀菌效果。同时,这一杀菌机理具有广谱适用性,既可以用于杀灭普通细菌且不产生耐药性,又可以直接用于多药耐药菌的灭活。

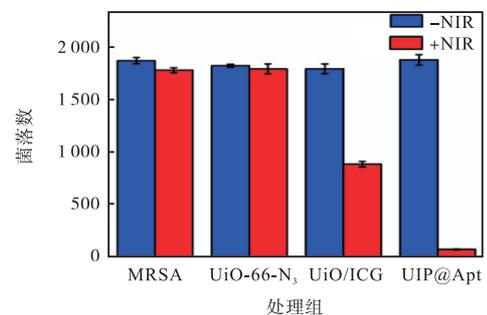
2.5 UIP@Apt 用于生物膜抑制

生物膜由于其外排泵、分离效应和基因突变,对传统的抗菌药物具有更强的耐药能力。因此,抗生素在用于生物膜治疗时,往往由于耐药性和穿透效果不佳而使治疗效果不理想^[26]。基于此,除杀菌性能外,

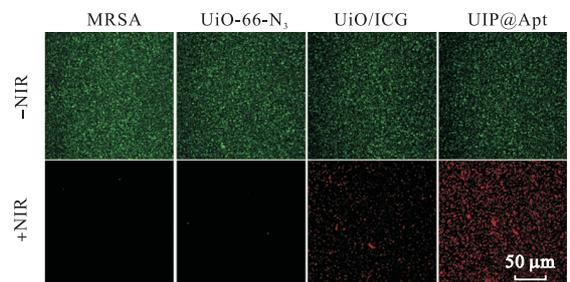
还研究了 UIP@Apt 体外抑制 MRSA 生物膜形成的能力。



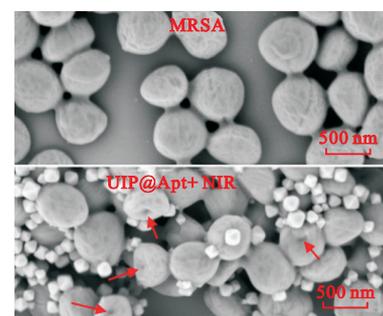
(a) 不同条件处理细菌后的涂板图像



(b) 不同条件处理细菌后的菌落数



(c) 不同条件处理细菌后的荧光染色图像



(d) PBS 和 UIP@Apt + NIR 处理后细菌的 SEM 图

图 6 UIP@Apt 体外杀菌性能

Fig. 6 In vitro bactericidal performance of UIP@Apt

将高浓度的 MRSA 置于 96 孔板中,然后分别添加 PBS、200 μg/mL UIP@Apt+NIR 及 400 μg/mL UIP@Apt+NIR,考察其生物膜的生长情况。经过相同

时间培养后,对各处理组内的生物膜进行结晶紫染色,检测其在 590 nm 处的吸光度并统计其结晶紫染色面积,结果如图 7 所示。PBS 处理组的生物膜形成较为致密完整, A_{590} 较大,而 UIP@Apt + NIR 处理的生物膜相对轻薄甚至透明且呈现出较小的 A_{590} ,说明 UIP@Apt + NIR 可以有效抑制 MRSA 生物膜的形成。由 A_{590} 计算得出,200 $\mu\text{g/mL}$ UIP@Apt 在 NIR 照射下对生物膜形成的抑制率为 33.5%,400 $\mu\text{g/mL}$ UIP@Apt + NIR 对生物膜形成的抑制率为 68.5%。此外,生物膜结晶紫染色的面积统计结果也支持了这一

结论,在 NIR 照射下,相较于 PBS 对照组,UIP@Apt 处理后的 MRSA 生物膜呈现出较小的结晶紫染色面积。

对不同方法处理后的生物膜进行钙黄绿素染色,并利用 3D CLSM 技术对其进行成像,如图 7(d)所示。不论是从 3D 视角还是从俯视视角,均能观察到 UIP@Apt + NIR 处理后的生物膜中存活的细菌数量明显减少,生物膜变薄且更加透明,进一步验证了 UIP@Apt + NIR 对 MRSA 生物膜的生长有良好的抑制作用。

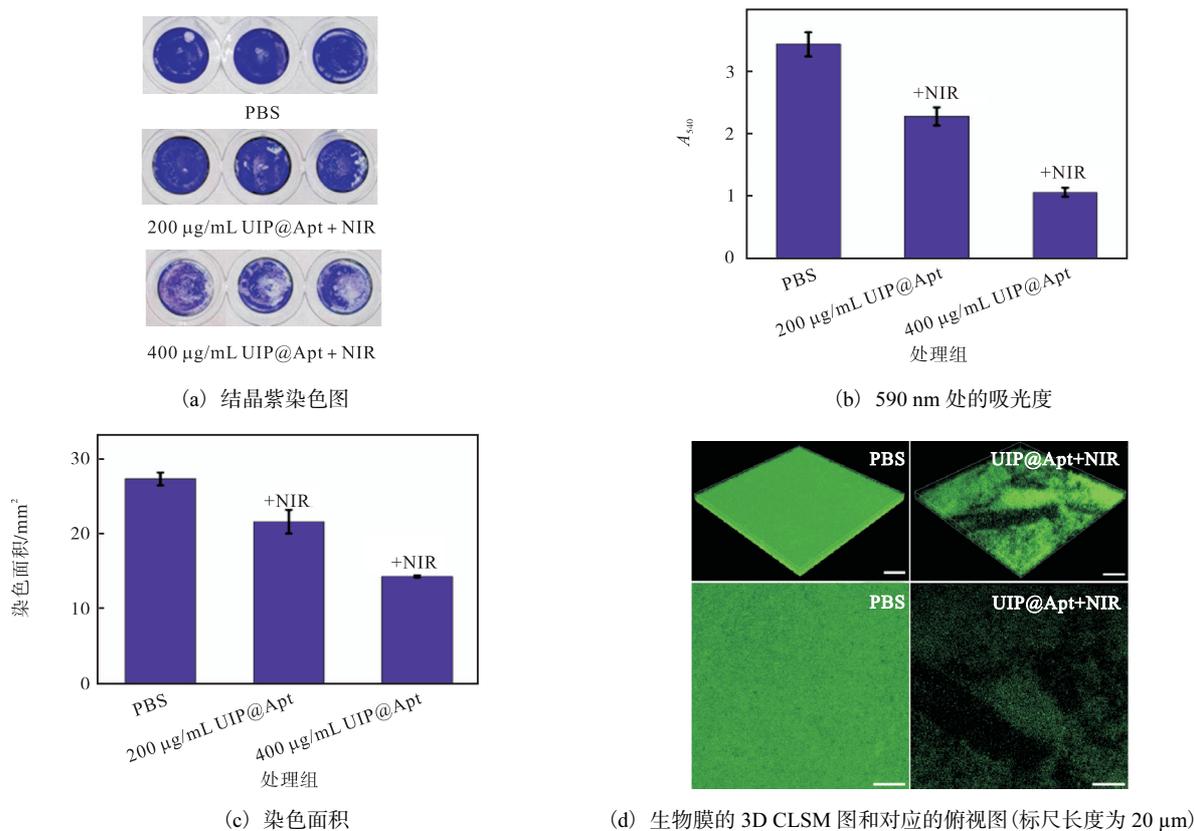


图 7 UIP@Apt 体外抑制 MRSA 生物膜形成的能力

Fig. 7 UIP@Apt ability to inhibit the formation of MRSA biofilm in vitro

3 结论

基于 MOF 的易修饰性和多孔特性,结合光化学机理,本实验设计并合成了一种复合型 MOF 纳米材料,其不但具备对目标细菌的靶向性,且在 NIR 的触发下可进行光热和自供氧光动力协同杀菌,具有侵入性小、长期副作用小且不产生显著耐药性等优点。以 MRSA 为模型菌,经验证,在 NIR 控制下其体外杀菌率可达 96.5%。相较于传统治疗方法,UIP@Apt 能有效抑制生物膜的形成。该方法简单有效,可为耐药性

细菌的早期识别与灭活提供有益参考。

参考文献:

- [1] SHEN Y, ZHANG Y, GAO Z F, et al. Recent advances in nanotechnology for simultaneous detection of multiple pathogenic bacteria[J]. *Nano today*, 2021, 38: 101121.
- [2] JIAO K, LIU G, ZUO X, et al. Bioassay development for public health emergency[J]. *The innovation*, 2022, 3(6): 100331.
- [3] LAMBERT M L, SUETENS C, SAVEY A, et al. Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European in-

- tensive-care units: a cohort study[J]. *The lancet infectious diseases*, 2011, 11(1): 30–38.
- [4] SHEN W, WANG C, ZHENG S, et al. Ultrasensitive multichannel immunochromatographic assay for rapid detection of foodborne bacteria based on two-dimensional film-like SERS labels[J]. *Journal of hazardous materials*, 2022, 437: 129347.
- [5] LEVIN-REISMAN I, RONIN I, GEFEN O, et al. Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance[J]. *Science*, 2017, 355(6327): 826–830.
- [6] WHO. World Health Organization (2010) health systems financing: the path to universal coverage[R]. Genève: WHO, 2010.
- [7] BRECHER M E, HAY S N. Bacterial contamination of blood components[J]. *Clinical microbiology reviews*, 2005, 18(1): 195–204.
- [8] PANG X, XIAO Q, CHENG Y, et al. Bacteria-responsive nanoliposomes as smart sonotheranostics for multidrug resistant bacterial infections[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(2): 2427–2438.
- [9] KEMPKER J A, MARTIN G S. A global accounting of sepsis[J]. *The lancet*, 2020, 395(10219): 168–170.
- [10] WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance[R]. Genève: WHO, 2014.
- [11] 张萍, 褚东辰, 陈可仁, 等. 细菌耐药性的拉曼光谱快速检测研究进展[J]. *北京工业大学学报*, 2020, 46(12): 1417–1424.
- [12] O'NEILL J. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations review on antimicrobial resistance[M]. London: Wellcome Trust and UK Government, 2014.
- [13] CIEPLIK F, DENG D, CRIELAARD W, et al. Antimicrobial photodynamic therapy-what we know and what we don't[J]. *Critical reviews in microbiology*, 2018, 44(5): 571–589.
- [14] WAINWRIGHT M, MAISCH T, NONELL S, et al. Photoantimicrobials are we afraid of the light?[J]. *The lancet infectious diseases*, 2017, 17(2): 49–55.
- [15] HU X, ZHANG H, WANG Y, et al. Synergistic antibacterial strategy based on photodynamic therapy: progress and perspectives[J]. *Chemical engineering journal*, 2022, 450: 138129.
- [16] 王唯, 于滨, 吕凯旋, 等. 新型纳米酶马达的制备及其抗菌性能研究[J]. *分析化学*, 2021, 49(12): 1995–2004.
- [17] 田娜, 褚洪迁, 孙照刚. 纳米药物递送系统在结核病治疗中的研究进展[J]. *中国防痨杂志*, 2022, 44(7): 732–737.
- [18] 夏金兰, 王春, 刘新星. 抗菌剂及其抗菌机理[J]. *中南大学学报(自然科学版)*, 2004, 35(1): 31–38.
- [19] KASHEF N, HAMBLIN M R. Can microbial cells develop resistance to oxidative stress in antimicrobial photodynamic inactivation?[J]. *Drug resistance updates*, 2017, 31: 31–42.
- [20] ZHENG Q, LIU X, ZHENG Y, et al. The recent progress on metal-organic frameworks for phototherapy[J]. *Chemical society reviews*, 2021, 50(8): 5086–5125.
- [21] DOONAN C, RICCO R, LIANG K, et al. Metal-organic frameworks at the biointerface: synthetic strategies and applications[J]. *Accounts of chemical research*, 2017, 50(6): 1423–1432.
- [22] GUAN Q, LI Y A, LI W Y, et al. Photodynamic therapy based on nanoscale metal-organic frameworks: from material design to cancer nanotherapeutics[J]. *Chemistry an Asian journal*, 2018, 13(21): 3122–3149.
- [23] XU L Q, DAI Q Q, SHI Z Y, et al. Accurate MRSA identification through dual-functional aptamer and CRISPR-Cas12a assisted rolling circle amplification[J]. *Journal of microbiological methods*, 2020, 173: 105917.
- [24] MORRIS W, BRILEY W E, AU YEUNG E, et al. Nucleic acid-metal organic framework (MOF) nanoparticle conjugates[J]. *Journal of the American chemical society*, 2014, 136(20): 7261–7264.
- [25] GAO X, SUN G M, WANG X K, et al. RhB/UiO-66-N₃ MOF-based ratiometric fluorescent detection and intracellular imaging of hydrogen sulfide[J]. *Sensors and actuators B: chemical*, 2021, 331: 129448.
- [26] ZHOU C Y, WANG Q, JIANG J, et al. Nanozybotics: nanozyme-based antibacterials against bacterial resistance[J]. *Antibiotics*, 2022, 11: 390.

责任编辑: 郎婧