

混合价态铂纳米颗粒对持留菌杀伤作用的探索

涂逸欣, 邹亦文, 周馨涟漪, 陈苏阳, 蒋 瑀, 邓 天*

武汉大学口腔医学院, 湖北 武汉

收稿日期: 2022年5月6日; 录用日期: 2022年6月8日; 发布日期: 2022年6月15日

摘 要

目前有关抗菌方法的研究已经取得了丰硕的成果, 而本项目重点在于联合多种抗菌机制进行高效、准确杀菌, 新型混合价态铂纳米颗粒(dvPtNPs)则是研究的主要对象。本材料以零价铂核以及金属键结合的二价铂离子为核心, 外由有机聚合物包裹, 在近红外光(NIR)照射下, dvPtNPs快速释放出二价铂离子, 发挥光热、光动力学以及化疗的多机制协同的精准可控抗菌作用。在之前研究的基础上, 本项目发现dvPtNPs对于持留菌也有很好的杀伤作用, 并通过多种方法探究了其杀伤持留菌的机制, 包括使细菌RNA泄露、降低膜电位和ATP水平等。该材料有望成为对抗持留菌感染的新型治疗方法。

关键词

抗菌, 混合价态铂纳米颗粒, 杀伤作用

Exploration of the Lethal Effects of the Dual-Valent Platinum Nanoparticles on Persisters

Yixin Tu, Yiwen Zou, Xinlianyi Zhou, Suyang Chen, Yu Jiang, Tian Deng*

Hospital of Stomatology, Wuhan University, Wuhan Hubei

Received: May 6th, 2022; accepted: Jun. 8th, 2022; published: Jun. 15th, 2022

Abstract

Current academic research on antibacterial methods has been fruitful, and our project focuses on efficient and accurate sterilization by combining multiple antibacterial mechanisms. The dual-valent platinum nanoparticles (dvPtNPs) are regarded as the main research object. The core of dvPtNPs is the central zero-valent platinum core and the wrapped divalent platinum ion, and is covered by

*通讯作者。

文章引用: 涂逸欣, 邹亦文, 周馨涟漪, 陈苏阳, 蒋瑀, 邓天. 混合价态铂纳米颗粒对持留菌杀伤作用的探索[J]. 生物医学, 2022, 12(3): 183-192. DOI: 10.12677/hjbm.2022.123022

organic polymer. Under near-infrared light (NIR) irradiation, it rapidly releases the divalent platinum ion, together with the zero-valent platinum core, exerts precise and controllable antibacterial effects integrating multiple mechanisms including photothermal, photodynamic and chemotherapy. On the basis of previous studies, this project found that dvPtNPs also have a good killing effect on persisters through various mechanisms, including causing bacterial RNA leakage, reducing membrane potential and ATP level, etc. This material is expected to be a new treatment method against persistent bacterial infection.

Keywords

Antibacterial, Dual-Valent Platinum Nanoparticles, Lethal Effect

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

持留菌是细菌在受到有效抗菌药物作用时，绝大部分细菌很快死亡的同时残留下的一部分代谢活动低下，具有同基因型多药物耐受(Multidrug Tolerance, MDT)特性的细菌亚群[1]。持留菌的数量少于细菌总体的0.1%，但在遭遇外界压力时，持留菌可作为“幸存者”而成为保证细菌种群生存的重要策略，一旦停止使用抗生素，持留菌又会复苏，成为慢性感染疾病迁延不愈的重要原因。持留菌的生理特点主要是代谢水平极低、蛋白质合成减少、ATP数量减少、抗生素靶点消失等[2]。持留菌的形成是一个高度复杂的过程，涉及多个分子和基因表达的上调或下调[3]，目前，持留菌的形成机制未完全清楚。

随着科学技术的不断发展，各种纳米抗菌材料不断涌现，并在抗菌领域中发挥着重要的作用。在之前的许多研究中，合成了例如金、银、铜等贵金属/合金的纳米材料[4]，或设计了金属氧化物纳米笼，将其作为药物递送载体，均发现其具有优越的抗菌能力，但也受到有效作用浓度时细胞毒性大，有效抗菌效果时温度较高等副作用的限制，使其无法大规模地投入生产应用[5][6]。铂纳米材料优异的生物学特性也引起关注[7]，铂纳米颗粒对细菌的作用机制可能有以下几种：破坏细胞壁和细胞膜[8]、诱发DNA损伤[9]、影响细菌内ATP水平、影响细菌内膜电位、生成活性氧(reactive oxygen species, ROS)[10]等使得细胞凋亡。

混合价态铂纳米颗粒(dvPtNPs)，由中间零价的铂核Pt(0)和周围二价的铂离子Pt²⁺组成。在没有光激发的情况下，具有化疗作用的Pt²⁺离子紧密结合在0价铂核心的表面，dvPtNPs表现出良好的生物相容性。在光线照射下，由于0价铂优良的光热转换能力，产生大量的热并快速释放Pt²⁺，显示其具有优越的抗肿瘤特性[11]。在抗菌领域，在NIR的激发下，dvPtNPs可以释放出大量热量和活性氧(ROS)，从而实现了化疗、光热、光动力三种治疗方法的精确同步，具有良好的抗菌效果。本文以持留菌为研究对象，研究了混合价态铂纳米颗粒对持留菌的抗菌效果及其抗菌的机制。

2. 材料与方法

2.1. 材料与设备

2.1.1. 材料

革兰氏阴性菌大肠杆菌(MG1655)、混合价态铂纳米颗粒(dvPtNPs)[12]、AMO2 荧光工程菌、ATPsensor 荧光工程菌。

2.1.2. 主要设备

莱玻特瑞 ZQPW-70 全温震荡培养箱; NanoDrop2000 紫外-可见分光光度计(Thermo Scientific, USA); 扫描电镜; 红外成像仪; 红外激发器; Spectramaxi3 多功能酶标仪; MolecularDevicesSpectraMaxi3x 多功能酶标仪; 倒置荧光显微镜 Ti2-E (Nikon, 日本)。

2.1.3. 主要试剂

LB 培养基、磷酸盐缓冲液(PBS)、氨苄西林(国药试剂)、戊二醛试剂、乙醇。

2.2. 研究方法

2.2.1. 持留菌诱导与体外菌落形成单位存活百分比的计算

常规培养革兰氏阴性菌大肠杆菌(MG1655)。将常规传代的 MG1655 大肠杆菌以 1×10^9 /ml 的细胞数目取 4 ml 至 LB 液体培养基, 添加 $150 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的氨苄西林(国药试剂), 在 37°C 的需氧环境中诱导 4 h。诱导 4 h 后, 以 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速离心 10 min。将液体吸出, 并将离心管倒置使残留液体流出。每管使用 6 ml 磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细菌。

配好各实验组的材料: PBS 组加入磷酸盐缓冲液 100 μL ; Pt(0)-NP 组材料浓度为 $0.05 \text{ mMol} \cdot \text{L}^{-1}$; 顺铂组材料浓度为 $0.1 \text{ mMol} \cdot \text{L}^{-1}$; dvPtNPs 组材料浓度为 $0.15 \text{ mMol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每组加入菌液 900 μL 。每组用 PBS 将体系补足至 1 ml。震荡混匀后, 将每个样品在 $I = 2.96 \text{ mA}$ 的 NIR 照射下处理 5 min, 并在 37°C 下孵育 2 h。然后, 将所有样品涡旋并用 PBS 溶液稀释, 并将各组样品取 10 μL 悬浮液铺展在固体培养基上。培养 24 h 后观察细菌菌落的数量, 计算各实验组。存活百分比(%)计算如下: 用 dvPtNPs 治疗的组中的 CFU 计数/对照组中的 CFU 计数(PBS 组作为对照)。

2.2.2. 扫描电子显微镜(SEM)与 RNA 泄露的检测

按照常规步骤用材料处理细菌并通过近红外光激发后, 37°C 温箱孵育 2 h, 之后 8000 rpm 离心 10 min, 弃去上清液, 加入 1 mL 2.5% 戊二醛, 涡旋震散后固定过夜; 第二天取固定后的样品 8000 rpm 离心 10 min, 弃去上清液; 依次加入 1 mL 50%、60%、70%、80%、90%、100% 的酒精进行梯度脱水, 每个浓度 15 min; 脱水完成后弃去酒精, 用管内剩余液体震散细菌, 临界点干燥, 扫描电镜下观察细菌表面形态。

使用 nanodrop2000 紫外分光光度计(Thermo Scientific, USA)测量 RNA 浓度, 来评估细菌细胞膜完整性。即有或没有近红外处理的各组在 $I = 2.96 \text{ mA}$ 的 NIR 照射下处理 5 min, 37°C 下孵育 2 h 后, 将样品以 8000 rpm 离心 5 min, 收集上清液并测量。

2.2.3. 持留菌膜电位检测

本实验使用 AMO_2 荧光工程菌, 该菌内转入了编码 mCherry 蛋白和 arklite 蛋白的质粒, mCherry 蛋白可产生红色荧光, arklite 蛋白可产生绿色荧光。在荧光显微镜下观察时, mCherry 蛋白产生的红色荧光为内参荧光, 而 arklite 蛋白产生的绿色荧光为检测持留菌膜电位的指标。用于膜电位检测的细菌在复苏至对数生长期时, 加入 0.01% 的阿拉伯糖来引导 AMO_2 工程菌表达已转录的质粒, 其余处理方式如前所述。在经过纳米材料处理后, 使用倒置荧光显微镜 Ti2-E (Nikon, 日本)观察各组持留菌在 FITC 通道中 arklite 蛋白发出的绿色荧光及 TRITC 通道中 mCherry 蛋白发出的红色荧光, 相对荧光强度 = FITC 通道绿色荧光强度/TRITC 通道红色荧光强度。

2.2.4. 持留菌膜电位检测

本实验使用 ATP sensor 荧光工程菌, 该菌内转入了编码 mCherry 蛋白和 ATP sensor 蛋白的质粒, mCherry 蛋白可产生红色荧光, ATP sensor 蛋白可产生绿色荧光。在荧光显微镜下观察时, mCherry 蛋白产生的红色荧光为内参荧光, 而 ATP sensor 蛋白产生的绿色荧光为检测持留菌 ATP 水平的指标。用于

ATP 水平检测的细菌在复苏至对数生长期时, 加入 0.01% 的阿拉伯糖来引导 ATP sensor 工程菌表达已转录的质粒, 其余处理方式如前所述。在经过纳米材料处理后, 使用倒置荧光显微镜 Ti2-E (Nikon, 日本) 观察各组持留菌在 FITC 通道中 ATP sensor 蛋白发出的绿色荧光及 TRITC 通道中 mCherry 蛋白发出的红色荧光。

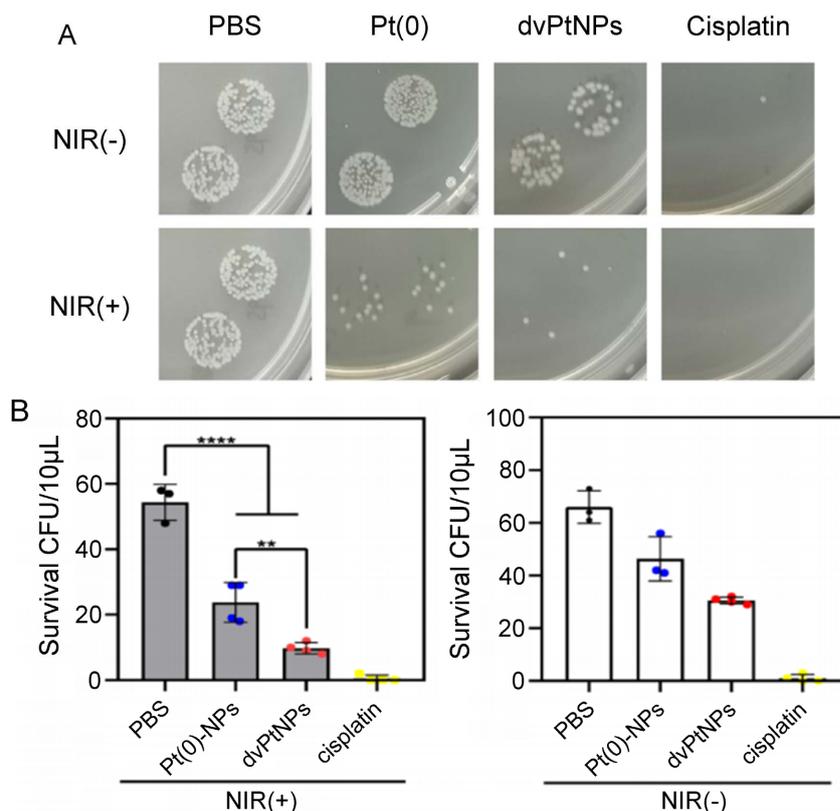
2.3. 体外菌落形成单位存活百分比的统计学分析方法

使用 GraphPadPrism8 统计软件上的单向方差分析(ANOVA)来测量各组之间的统计学显著性差异(p)。所有数据均表示为平均值±标准偏差。p < 0.05 的值被认为具有统计学意义, 并使用星号标记(*p < 0.01, **p < 0.001 和 ***p < 0.0001)。

3. 结果与讨论

3.1. 体外菌落形成单位的测量

在经过近红外激光照射处理后, 由图 1 中可观察到, dvPtNPs 和 Pt(0)-NPs 组的与 PBS 组的菌落数相比, 具有显著的统计学差异, 说明这些铂材料都具有良好的杀菌活性, 其中 dvPtNPs 的杀菌效率达到了 80% 以上。此外, dvPtNPs 组与 Pt(0)-NPs 组的杀菌效率相比, 也有统计学差异, 说明 dvPtNPs 的杀菌活性更优。虽然顺铂组的杀菌效率明显大于 dvPtNPs, 但因顺铂较强的副作用及不良反应, 相比之下混合价态铂纳米颗粒仍具有较好的发展前景。



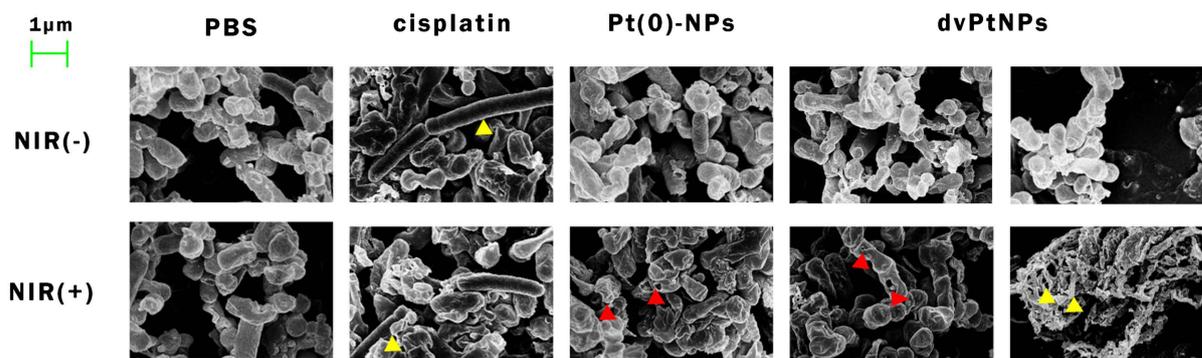
(A.各铂纳米材料及顺铂处理过的体外菌落形成单位的照片; B.各铂纳米材料及顺铂处理过的体外菌落形成单位存活百分比的统计学分析结果, 激光功率密度(808 nm)为 1.5 W cm^{-2})

Figure 1. Photos and quantitative analysis of bacterial colony of Pt NPs and cisplatin *in vitro*

图 1. 各铂纳米材料及顺铂处理过的体外菌落形成单位的照片及定量分析(n = 3)

3.2. 扫描电子显微镜及 RNA 泄露的检测

具有光热作用的铂纳米颗粒可以使细菌壁膜结构的完整性造成破坏, 导致细菌丧失正常的表面形态, 变得无定形、干瘪, 并且当细菌细胞膜发生破坏时, 细胞内容物就会外流, 最终导致细菌死亡。为探究具体机制, 我们使用扫描电镜观察滞留菌在经过包括 dvPtNPs 在内的铂纳米颗粒处理后表面形态的变化, 并通过细菌 RNA 泄露实验来确认细胞内容物外流现象。图 2 显示, 在未光照组中, 对照组、Pt(0)-NPs 组以及 dvPtNPs 组中细菌表面形态无明显异常, 而在顺铂组中出现了丝状变化的大肠杆菌, 这是顺铂损伤细菌 DNA 的标志。



(最左侧两组均为 dvPtNPs 组在不同视野下的 SEM 观测结果)

Figure 2. SEM images of bacteria incubated with dvPtNPs, other Pt NPs, and cisplatin

图 2. 各组铂纳米材料处理过的细菌 SEM 观测结果(红色箭头为细菌表面穿孔、凹陷; 黄色箭头为丝状变化的细菌)

在光照组中, Pt(0)-NPs 组由于其良好的光热效应, 导致细菌表面结构破坏, 出现多处凹陷、穿孔; 顺铂组则与不光照时结果相似, 在顺铂的化学 DNA 损伤作用下, 出现了丝状变化的细菌。而且, dvPtNPs 组的细菌同时出现了表面凹陷穿孔和丝状变化两种异常情况, 这表明 dvPtNPs 在近红外光激发下能够同时造成细菌表面穿孔以及 DNA 损伤。从 dvPtNPs 释放的 Pt²⁺ 离子会像顺铂一样造成 DNA 损伤, 验证了混合价态铂纳米颗粒的光热效应和光化学杀菌的协同作用。同时图 3 显示, 当未受到近红外光的激发时, 所有组细菌上清中 RNA 的含量无明显差别。当受到近红外光的激发时, Pt(0)-NPs 和 dvPtNPs 组上清中 RNA 的含量与 PBS 组的有显著差异。而 Pt(0)-NPs 和 dvPtNPs 组之间上清中 RNA 的浓度无显著差别, 说明这两组细菌细胞膜破坏程度类似。这与 SEM 观察结果一致, 说明 dvPtNPs 的抗菌作用与 Pt(0)-NPs 相同, 与细菌膜的损伤有关。

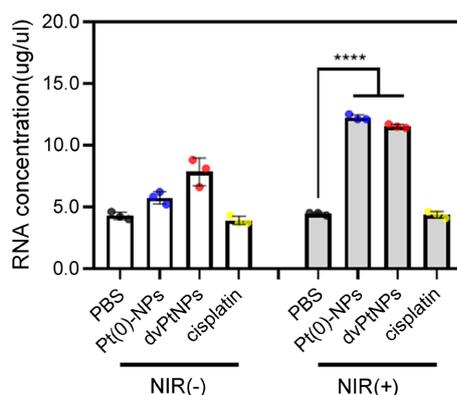
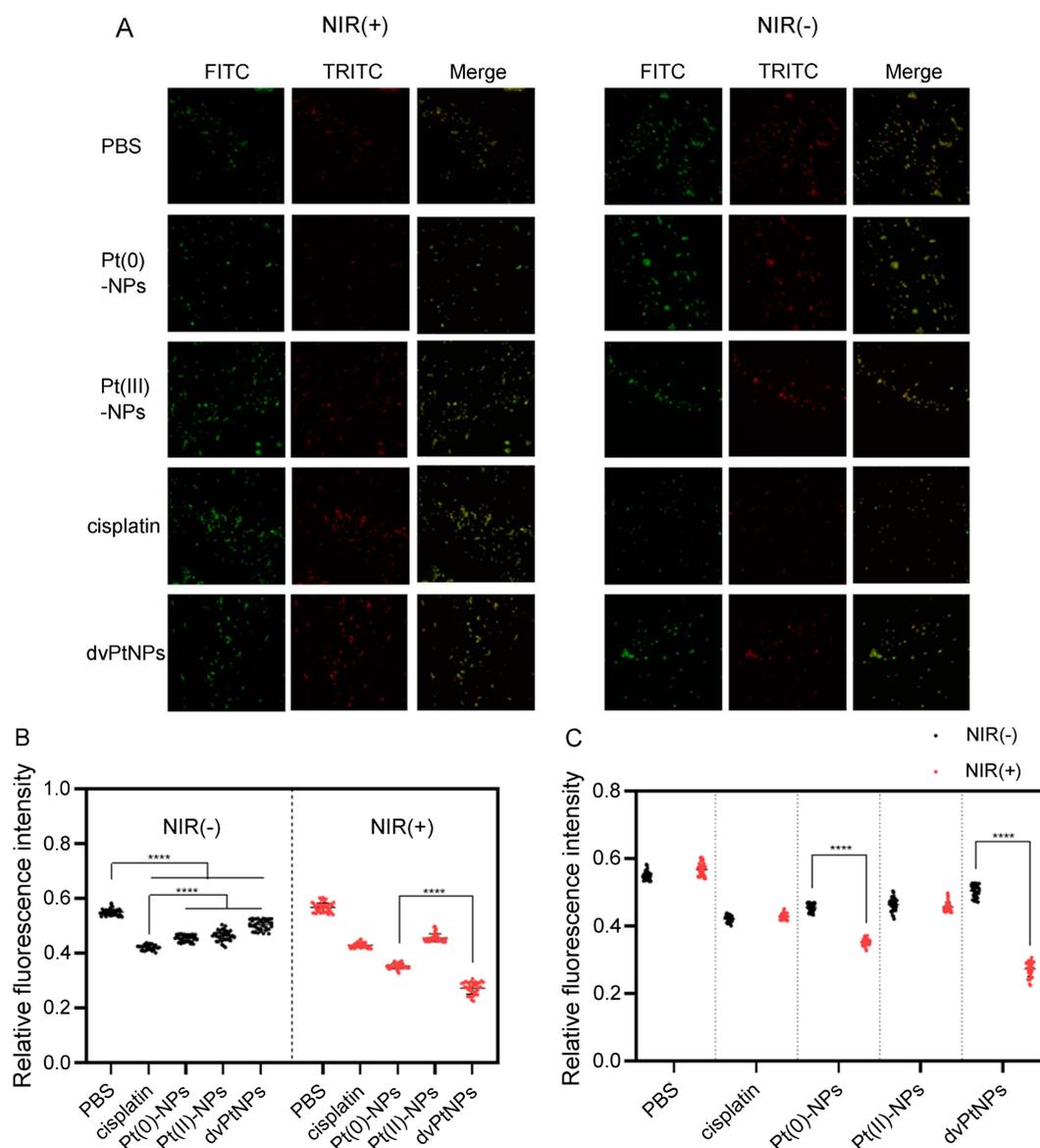


Figure 3. RNA concentration released from bacteria incubated with dvPtNPs, other Pt NPs, and cisplatin (n = 3)

图 3. 各组铂纳米材料及顺铂处理过的细菌 RNA 泄露检测(n = 3)

3.3. 滞留菌膜电位检测

为测定铂纳米材料对于细菌膜电位的影响，我们选用荧光工程菌 AMO₂，以 mCherry 蛋白在 TRITC 通道发出的红色荧光作为内参，以膜电位蛋白 arklite 蛋白在 FITC 通道发出的绿色荧光作为细菌膜电位的标志，使用相对荧光强度(绿色荧光强度/红色荧光强度)来表征细菌膜电位。从图 4 可以得知，在无近红外光激发的情况下，PBS 组的 arklite 蛋白在 FITC 通道发出较强的绿色荧光，将其与 mCherry 在 TRITC 通道发出的红色荧光合并后，整体可观察到较明显的青色荧光，其相对荧光值约为 0.5485。在受到 Pt(0)-NPs、Pt(II)-NPs、dvPtNPs 以及顺铂的处理后，arklite 蛋白发出绿色荧光强度减弱，这几组合并通道后形成的细菌图整体呈现出青黄色。



(A.各组滞留菌不受到和受到近红外激发时膜电位的荧光图，FITC 通道为 arklite 蛋白，TRITC 通道为 mCherry 蛋白；B.C.各组滞留菌不受到和受到近红外激发时膜电位的相对荧光值分析；比例尺为 20 μ m)

Figure 4. Membrane potential detection of bacteria incubated with dvPtNPs, other Pt NPs, and cisplatin

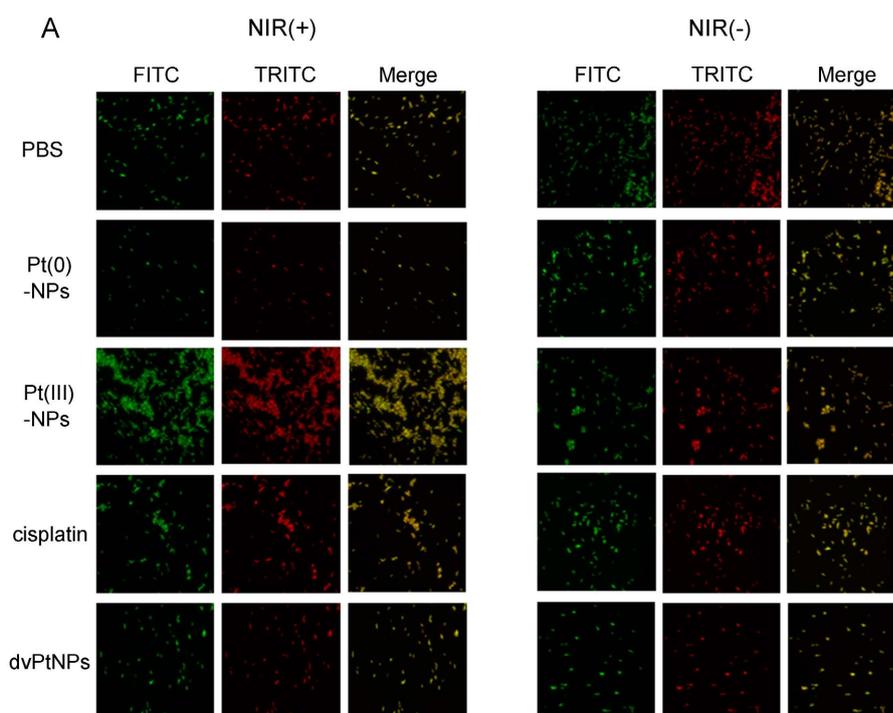
图 4. 各组铂纳米材料及顺铂处理过的膜电位检测

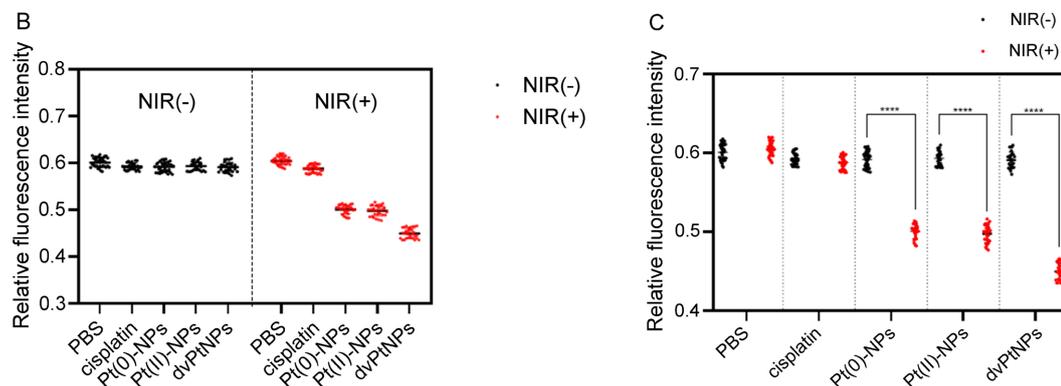
从图 4(B)中也可得知, 与 PBS 组相比, Pt(0)-NPs、Pt(II)-NPs 和 dvPtNPs 组的相对荧光强度显著下降, 说明了只要是加入了铂纳米材料或是顺铂, 都会引起持留菌膜电位的降低。其中, Pt(0)-NPs、Pt(II)-NPs 和 dvPtNPs 对持留菌膜电位的影响无显著差异, 其相对荧光值分别约为 0.4551、0.4634 和 0.5033, 而顺铂对膜电位的影响相比于各铂纳米材料组要明显。当各处理组受到近红外光的照射后, Pt(0)-NPs、Pt(0)-Pt(II)-NPs 和 dvPtNPs 的 arklite 荧光强度显著下降, 细菌在红绿通道合成荧光图呈明显的红点。如图 4(C)所示, Pt(0)-NPs 和 dvPtNPs 的相对荧光强度在近红外激发后显著下降, 其值分别为 0.3524 和 0.2722。而 Pt(II)-NPs 组和顺铂组的相对荧光值在近红外光激发前后并无显著差异。

3.4. 持留菌 ATP 水平的测量

为了探究 dvPtNPs 对持留菌体内 ATP 水平的影响, 我们使用荧光工程菌 ATPSensor 进行实验, 以 mCherry 蛋白在 TRITC 通道发出的红色荧光作为内参, 以 ATPSensor 蛋白在 FITC 通道发出的绿色荧光为 ATP 水平的表征, 用相对荧光强度分析持留菌经过不同处理后的 ATP 水平。从图 5 我们可以得知, 在无近红外光激发的情况下, PBS、Pt(0)-NPs、Pt(II)-NPs 和 dvPtNPs 组的 ATP 感应蛋白在 FITC 通道发出较强的绿色荧光, 混合通道(Merge)中可观察到散发青色荧光的持留菌。

如图 5(B)所示, 持留菌在受到 Pt(0)-NPs、Pt(II)-NPs 和 dvPtNPs 的处理后, 其相对荧光值分别为 0.5915、0.5931 和 0.5909, 与 PBS 组的无显著差别, 说明加入各组铂材料后对持留菌的 ATP 水平无明显影响。与此相反, 顺铂组的合成通道图中可观察到发红光和黄光的持留菌。通过图 5(B)的数据中可知, 即使无近红外光激发, 顺铂组的持留菌 ATP 水平相比于 PBS 组的明显下降。当各组持留菌受到近红外光激发后, 与 PBS 组相比, Pt(0)-NPs 和 dvPtNPs 组的混合通道中持留菌的荧光颜色由青色转变为黄色和红色。通过图 C 的数据中可知, 近红外光照射后, Pt(0)-NPs 和 dvPtNPs 组的相对荧光强度显著下降, 说明铂纳米材料的光热作用对持留菌的能量代谢具有较大的影响。其中, dvPtNPs 组的 ATP 水平相比于 Pt(0)-NPs 和 Pt(0)-Pt(II)-NPs 的更低。而 Pt(II)-NPs 组和顺铂组的相对荧光值在近红外光激发前后并无显著差异, 说明 Pt(II)-NPs 和顺铂无近红外响应性。





(A. 各组持留菌不受到和受到近红外激发时 ATP 的荧光图, FITC 通道为 ATP Sensor 蛋白, TRITC 通道为 mCherry 蛋白; B. C. 各组持留菌不受到和受到近红外激发时膜电位的相对荧光值分析; 比例尺为 20 μm)

Figure 5. ATP detection of bacteria incubated with dvPtNPs, other Pt NPs, and cisplatin

图 5. 各组铂纳米材料及顺铂处理过的 ATP 检测

4. 讨论

已经报道混合价态铂纳米颗粒(dvPtNPs)在近红外激光的照射下可以有效诱导革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的快速死亡和长期抑制,发挥化疗作用、光热作用和光动力作用[12]。在没有光激发的情况下,具有化疗作用的 Pt^{2+} 离子紧密结合在 0 价铂核心的表面, dvPtNPs 表现出良好的生物相容性。暴露在 NIR 的照射下,由于 0 价铂优良的光热转换能力, Pt^{2+} 离子和 0 价铂之间的金属键断裂, Pt^{2+} 离子大量释放,同时 dvPtNPs 可以产生大量热量和活性氧(ROS),从而实现化疗、光热和光动力三种治疗方法的精确同步。本研究使用由革兰氏阴性菌诱导得到的持留菌进行相关研究,发现其对持留菌同样具有十分有效的杀伤作用。

此外,本研究进一步验证了混合价态铂纳米颗粒对持留菌的杀伤效果并探索杀伤机制。首先,利用扫描电子显微镜(SEM)能观察不同处理后细菌的形态,金属 Ag、Au 和 Pt 可导致其表面的非晶态和干枯样改变[8]。在本研究中观察细菌的表面形态改变,也可在细菌的表面可以观察到皱缩和空洞。一旦细胞膜的完整性被破坏,细胞内部的 DNA 或者 RNA 等成分就会逸出[13] [14]。本研究进行了 RNA 泄露检测实验,发现经过光照处理过后, Pt(0)-NPs 和 dvPtNPs 组的 RNA 浓度显著升高,而其他组与对照组保持基线水平。扫描电子显微镜(SEM)结果中还发现一些细丝状的细菌,这是 DNA 损伤的标志[15] [16],表明从 dvPtNPs 释放的 Pt^{2+} 离子会像顺铂一样产生 DNA 损伤。因此, dvPtNPs 在经过近红外激光 NIR 处理后可以导致持留菌的细胞膜穿孔和 RNA 泄露。抗菌药物也可以通过影响细菌膜电位,干扰细菌代谢,信息传递来达到杀菌的目的[17] [18]。本实验中加入铂纳米材料和顺铂后都可以引起持留菌膜电位的降低,而在近红外激光处理之后 dvPtNP 组的持留菌膜电位显著下降。金属纳米颗粒会灭活对 ATP 合成至关重要的酶和蛋白,降低 ATP 的浓度,经过近红外光激发的 dvPtNPs 会降低普通细菌的 ATP 水平。但也有文献指出[19] [20],金铂纳米颗粒(AuPtNPs)会导致细菌体内 ATP 水平升高,这是由于纳米颗粒抑制了蛋白质合成等消耗 ATP 的生化反应。本实验检测了 dvPtNPs 对微生物 ATP 代谢的影响,顺铂组和 NIR 处理后的 dvPtNPs 组的 ATP 水平呈现出下降趋势,说明混合价态铂纳米颗粒对于持留菌的能量代谢有较大影响。

总之,混合价态铂纳米颗粒对持留菌也表现出了多模式抗菌作用,包括化疗、光热和光动力作用,通过破坏细胞完整性、代谢紊乱和 DNA 损伤等机制抗微生物。这种多模式精准同步治疗已经成为抗肿瘤、抗感染领域的趋势,其有望成为对抗持留菌感染的新型治疗方法。

5. 结论

持留菌的存在是临床感染迁延不愈的重要原因之一，基于混合价态铂纳米颗粒(dvPtNPs)对普通细菌的良好杀伤效果、低生物毒性、多种机制联合性以及光动力可控治疗等优点，本项目旨在进一步探究 dvPtNPs 对持留菌的杀伤效果，并结合持留菌形成和产生耐药性的机制，深入研究 dvPtNPs 对持留菌的杀伤原理，从而为持留菌的清除提供一种新的材料，为多种慢性感染性疾病的临床治疗提供新的思路，改善慢性迁延不愈感染难以治愈的现状，以期提高患者的生活质量。

基金项目

国家自然科学基金委员会青年科学基金项目“近红外响应的卟啉银聚合物应用于牙周炎抗菌治疗及机制研究”(项目批准号: 82101021); 省级大学生创新创业训练计划项目“混合价态铂纳米颗粒对持留菌作用的探索”(项目编号: S2020304001)。

参考文献

- [1] 雍江堰, 李燕. 持留菌产生及耐药分子机制的研究进展[J]. 现代预防医学, 2017, 44(22): 4171-4174+4198.
- [2] Pu, Y., Zhao, Z., Li, Y., *et al.* (2016) Enhanced Efflux Activity Facilitates Drug Tolerance in Dormant Bacterial Cells. *Molecular Cell*, **62**, 284-294. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.03.035>
- [3] Dörr, T., Lewis, K. and Vulić, M. (2009) SOS Response Induces Persistence to Fluoroquinolones in *Escherichia coli*. *PLoS Genetics*, **5**, e1000760. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000760>
- [4] 杨莹莹, 冯闪, 马陇豫, 孙梦瑶, 张审, 刘超群. 光热纳米材料在抗菌领域的研究进展[J]. 河南大学学报(医学版), 2021, 40(2): 147-151.
- [5] 许煜. 半导体聚合物纳米诊疗剂的设计及其抗肿瘤/抗菌应用研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京邮电大学, 2020.
- [6] 张灵玲. 基于纳米材料的新型光热/药物协同抗菌体系的设计及应用[D]: [博士学位论文]. 武汉: 武汉大学, 2019.
- [7] Tahir, K., Nazir, S., Ahmad, A., *et al.* (2017) Facile and Green Synthesis of Phytochemicals Capped Platinum Nanoparticles and *in Vitro* Their Superior Antibacterial Activity. *Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology*, **166**, 246-251. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.12.016>
- [8] Chwalibog, A., Sawosz, E., Hotowy, A., *et al.* (2010) Visualization of Interaction between Inorganic Nanoparticles and Bacteria or Fungi. *International Journal of Nanomedicine*, **5**, 1085-1094. <https://doi.org/10.2147/IJN.S13532>
- [9] Kartalou, M. and Essigmann, J.M. (2001) Recognition of Cisplatin Adducts by Cellular Proteins. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **478**, 1-21. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(01\)00142-7](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(01)00142-7)
- [10] Ahmed, K., Raman, T. and Veerappan, A. (2016) Platinum Nanoparticles Inhibit Bacteria Proliferation and Rescue Zebrafish from Bacterial Infection. *RSC Advances*, **6**, 44415-44424. <https://doi.org/10.1039/C6RA03732A>
- [11] Zhao, H., Xu, J., Huang, W., Zhan, G., Zhao, Y., Chen, H. and Yang, X. (2019) Spatiotemporally Light-Activatable Platinum Nanocomplexes for Selective and Cooperative Cancer Therapy. *ACS Nano*, **13**, 6647-6661. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.9b00972>
- [12] Deng, T., Zhao, H., Shi, M., Qiu, Y., Jiang, S., Yang, X., Zhao, Y. and Zhang, Y. (2019) Photoactivated Trifunctional Platinum Nanobiotics for Precise Synergism of Multiple Antibacterial Modes. *Small*, **15**, e1902647. <https://doi.org/10.1002/smll.201902647>
- [13] Wang, Y., Wan, J., Miron, R.J., *et al.* (2016) Antibacterial Property and Mechanisms of Gold-Silver Nanocages. *Nanoscale*, **8**, 11143-11152. <https://doi.org/10.1039/C6NR01114D>
- [14] Sawosz, E., Chwalibog, A., Szeliga, J., *et al.* (2010) Visualization of Gold and Platinum Nanoparticles Interacting with *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Nanomedicine*, **5**, 631-637. <https://doi.org/10.2147/IJN.S12361>
- [15] Rosenberg, B., Camp, L.V., Grimley, E.B., *et al.* (1967) The Inhibition of Growth or Cell Division in *Escherichia coli* by Different Ionic Species of Platinum(IV) Complexes. *Journal of Biological Chemistry*, **242**, 1347-1352. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)96186-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)96186-7)

-
- [16] Johnstone, T.C., Alexander, S.M., Lin, W., *et al.* (2014) Effects of Monofunctional Platinum Agents on Bacterial Growth: A Retrospective Study. *Journal of the American Chemical Society*, **136**, 116-118. <https://doi.org/10.1021/ja411742c>
- [17] Schilling, N.A., Berscheid, A., Schumacher, J., Saur, J.S., Konnerth, M.C., Wirtz, S.N., Beltrán-Beleña, J.M., Zipperer, A., Krismer, B., Peschel, A., Kalbacher, H., Brötz-Oesterhelt, H., Steinem, C. and Grond, S. (2019) Synthetic Lugdunin Analogues Reveal Essential Structural Motifs for Antimicrobial Action and Proton Translocation Capability. *Angewandte Chemie International Edition*, **58**, 9234-9238. <https://doi.org/10.1002/anie.201901589>
- [18] Prindle, A., Liu, J., Asally, M., *et al.* (2015) Ion Channels Enable Electrical Communication in Bacterial Communities. *Nature*, **527**, 59-63. <https://doi.org/10.1021/pr0504079>
- [19] Lok, C.N., Ho, C.M., Chen, R., *et al.* (2006) Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. *Journal of Proteome Research*, **5**, 916-924. <https://doi.org/10.1021/pr0504079>
- [20] Yamanaka, M., Hara, K. and Kudo, J. (2005) Bactericidal Actions of a Silver Ion Solution on *Escherichia coli*, Studied by Energy-Filtering Transmission Electron Microscopy and Proteomic Analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 7589-7593. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7589-7593.2005>