

第十六屆旺宏科學獎

成果報告書

參賽編號：

作品名稱：以帶電度來設計短鏈胜肽進行抗菌測
試

姓名：曾柏皓

關鍵字：雙肽、抗菌

摘要

細菌感染是敗血症最常見的原因。全球抗生素抗藥性感染的頻率正在持續增加中。因此，開發新的抗細菌藥劑是迫切需要的，可以表現出新的藥理機制，以避免多重抗藥性和選擇對細菌而不是正常細胞具有毒性。胛肽長期以來被認為是用作抗細菌的具潛力藥物。在本研究中，我們設計由組胺酸和胱胺酸、賴胺酸和胱胺酸、精胺酸和胱胺酸組成的三種雙肽，並分析抗菌活性。枯草芽孢桿菌或大腸桿菌與三種雙肽進行共同培養並評估細菌生長複製的情況。結果顯示這三種雙肽可以顯著抑制大腸桿菌生長，亦會影響枯草芽孢桿菌。這三種雙肽是具有潛力可用來治療細菌的感染。

當確認過雙肽具抑菌的能力時，我們也進行了雙肽是否對一般細胞株以及巨噬細胞具有毒性的測試。結果顯示三種雙肽皆不會造成正常細胞株的死亡，也不會刺激巨噬細胞形變，顯示本實驗的三種雙肽在未來或許可以廣泛運用到人體上以解決細菌抗藥性的問題。

壹、 研究動機

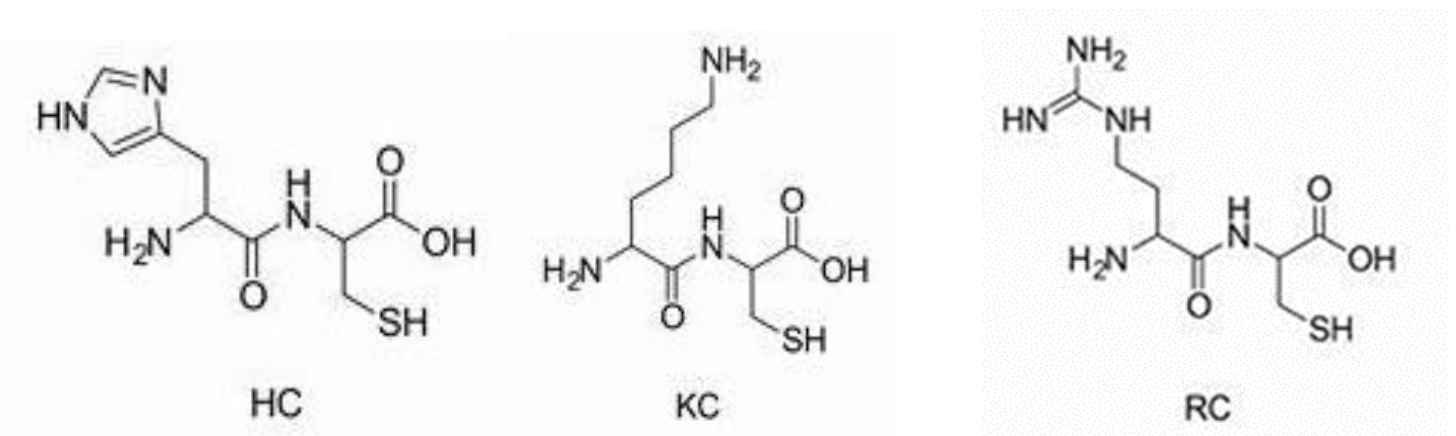
高一時，班上的同學有許多人都長了痘痘，有些人去看了好幾次醫生卻都沒有得到良好的「抗痘成效」。和醫生的討論之下，是由於沒有持續吃抗生素導致有抗藥性的細菌存活下來，因而無法有效的抑制病情，也令我們發現全球抗藥性菌株日趨嚴重的情況，並讓我們思考：「是否有物質能夠殺菌又不會產生抗藥性呢？」

我們在找尋替代抗生素物質的同時，發現抗菌胜肽是近幾年來很熱門的主題。其中有科學家發現利用特定胺基酸序列 (Shu J. Lam, 2016) 可以針對細菌結構進行標定，進而殺菌，我們好奇是否能縮短胺基酸序列同時保留殺菌的特性，如此就能有效利用相同的資源製作出更多或更高濃度的殺菌物質。因此，我們設計了只含有兩種胺基酸的雙肽進行抗菌測試，其結構上是針對細菌的細胞壁進行破壞，我們預計這三種雙肽可以抑制細菌生長，同時不會讓細菌產生抗藥性，進而達到我們的實驗目的。

貳、 研究目的及研究問題

過去的研究曾指出細菌的細胞壁呈現帶負電的狀態，容易吸附在帶正電的材質上面，而且革蘭氏陰性菌比陽性菌較為明顯，因此科學家研發出多種帶正電的胜肽片段針對帶負電的細胞壁進行抑菌的活性測試。以正電為主的胜肽片段來抑制或毒殺細菌有不易產生抗藥性，以及減少服用時產生的副作用等優點。

在先前研究有提出胺基酸中的半胱胺酸(cystine)連續兩個分子形成的雙肽(dipeptide)因結構特性具有抗癌細胞的活性，由於癌細胞的細胞膜相較於正常細胞也是呈現帶負電的狀態，再者，二十種胺基酸中，有三種是帶正電的，分別是組胺酸(Histidine)、賴胺酸(Lysine)與精胺酸(Arginine)，因此我們設計了由組胺酸和半胱胺酸(His-Cys/HC)、賴胺酸和半胱胺酸(Lys-Cys/KC)、精胺酸和半胱胺酸(Arg-Cys/RC)所組成的三種雙肽來進行抗菌活性的測試。在本篇研究中，我們利用自然界常見的革蘭氏陽性菌-枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)，與實驗室常用的革蘭氏陰性菌-大腸桿菌(*Escherichia coli*)，進行雙肽分子在細菌存活率的抑制分析。



參、 研究設備及器材

實驗器材與藥品：

一、 雙肽對細菌的抑制程度實驗

無菌操作台	高溫高壓滅菌釜	水浴槽
細菌培養液(LB broth)	二次蒸餾水(ddH ₂ O)	細菌培養基(LB agar)
枯草芽孢桿菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)	大腸桿菌 (<i>Escherichia coli</i> DH5 α)	微量吸管(Pipetman)
L 型玻棒	雙肽(HC、KC、RC)	15 毫升離心管
迴旋式震盪培養箱	1.5 毫升指管	分光光度計
離心機		



高溫高壓滅菌釜



迴旋式震盪培養箱



細菌培養基(LB agar)



水浴槽



15 毫升離心管



離心機



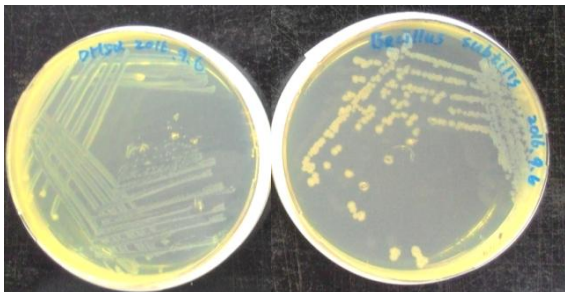
1.5 毫升指管



微量吸管
(Pipetman)



L 型玻棒



大腸桿菌
(DH5 α)

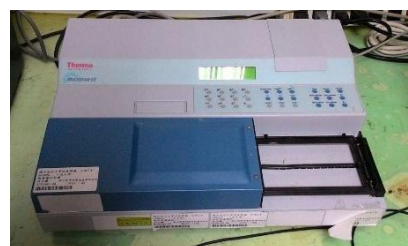
枯草芽孢桿菌
(BS)



二次蒸餾水
(ddH₂O)



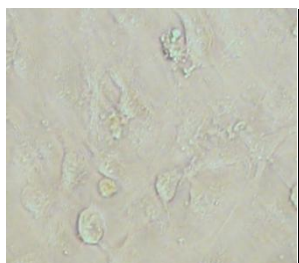
細菌培養液
(LB broth)



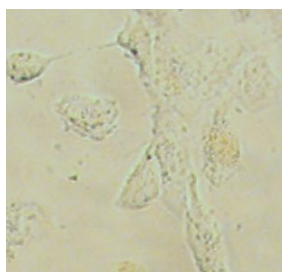
分光光度計

二、雙肽對細胞的影響實驗

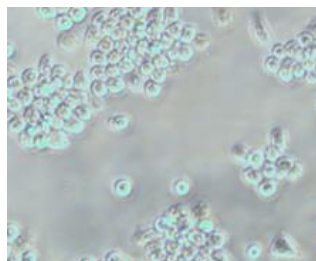
小鼠免疫細胞(Raw264.7)	小鼠呼吸上皮細胞(BEAS-2B 和 BEAS-6)	線蟲
96 微孔盤	氧化矽(silica)	



小鼠呼吸上皮細胞(2B)



小鼠呼吸上皮細胞(6)



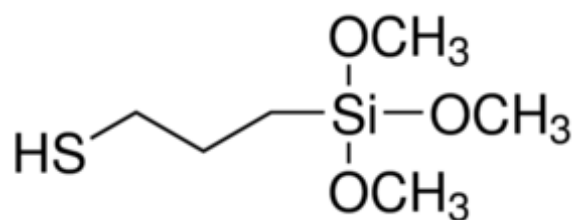
小鼠免疫細胞



線蟲



96 微孔盤



氧化矽

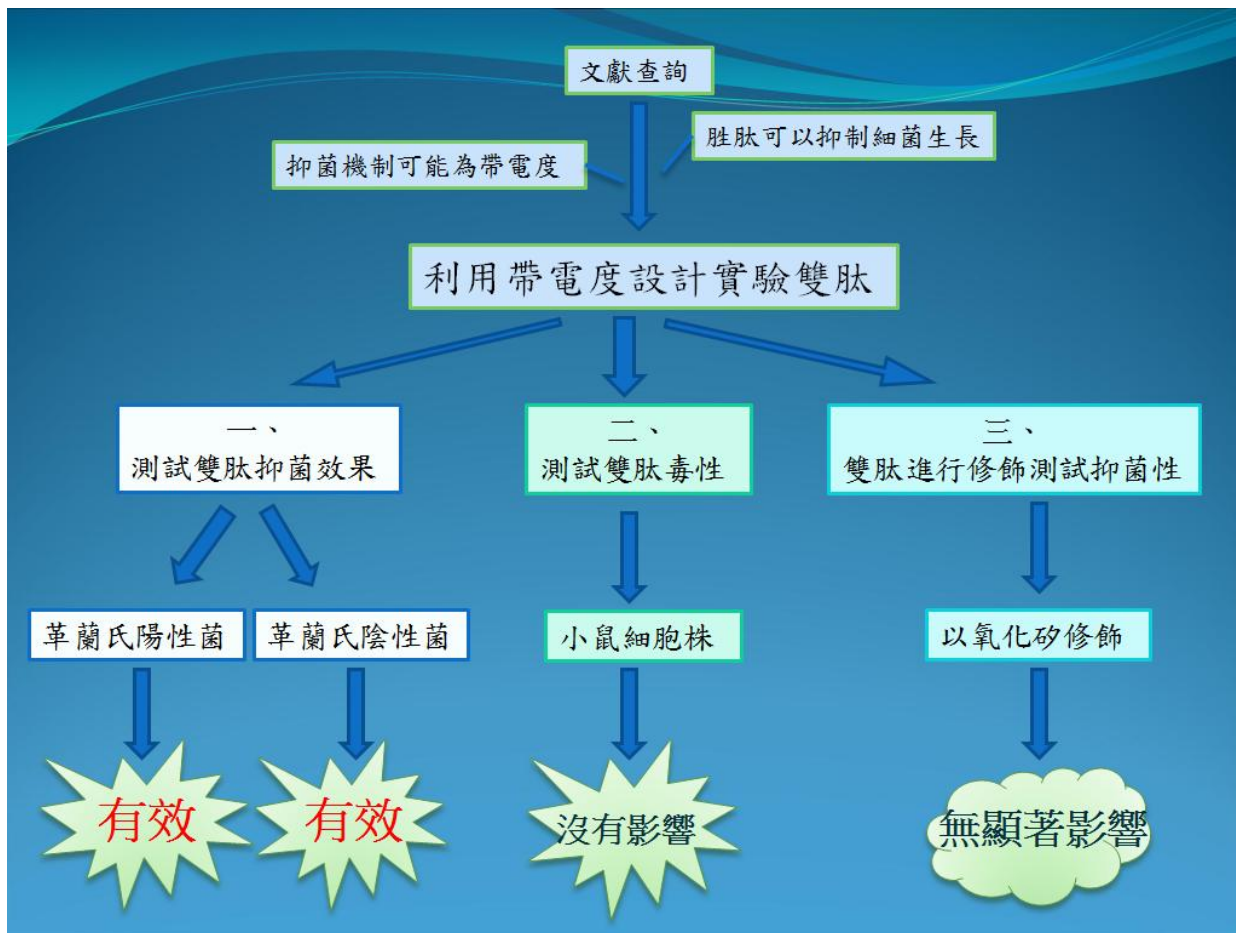
三、單胺基酸對細菌的抑制程度實驗

離胺酸(lysine、帶正電)	天門冬胺酸(aspartic acid、帶負電)	蘇胺酸(Threonine、不帶電)
大腸桿菌(DH5α)	枯草芽孢桿菌(BS)	

四、實驗數據分析軟體

GraphPad Prism

肆、 研究過程或方法及進行步驟



一 前置作業：配置培養基

實驗方法：

- (一) 取一公升的二次蒸餾水並加入 10g Tryptone、5g Yeast extract、5g NaCl、15g Agar，混合均勻
- (二) 放入高溫高壓滅菌釜滅菌。冷卻後分裝至培養皿，並收入冷藏庫待日後使用。

二 實驗一：找出適合觀察的菌落數

實驗方法：

- (一) 為了找出實驗時的最佳菌液濃度，能方便觀察而又不失實驗數據意義。
- (二) 用無菌 Tip 沾取枯草芽孢桿菌及 DH5 α 單一細菌菌落，加入 3 毫升的細菌培養液中，在 35°C 培養箱中連續搖晃 15~17 小時，可得原始菌液。
- (三) 為了較易在培養基上進行計算與觀察，所以目標濃度約在 1000 個菌落形成單位 (CFU, colony-forming unit) 之間。
- (四) 將原始菌液以二次蒸餾水進行十倍序列稀釋，選取稀釋倍數 10^3 至 10^6 的細菌濃度進行塗盤 (二重複)。放置 12 小時後記錄 CFU 數量。

三 實驗二：進行雙肽序列稀釋與枯草芽孢桿菌共同培養

實驗方法：

- (一) 為了確認雙肽對革蘭氏陽性菌有無抑菌能力。
- (二) 將三種雙肽進行序列稀釋，選取實驗濃度(本實驗最終雙肽濃度為 400、800、1600 μ g/ml)。
- (三) 將枯草芽孢桿菌 100 微升(可由實驗一得到合適濃度)分別與三種雙肽 100 微升加入十倍稀釋後的培養液 800 微升中，並置入迴旋式震盪培養箱混和一小時。
- (四) 選取反應後的菌液 100 微升進行塗盤(三重複)。放置 12 小時後記錄 CFU 數量。
- (五) 再置入 2 毫升的培養液，放到迴旋式震盪培養箱培養 14 小時，置入 96 微孔盤測量吸光值(三重複)。

四 實驗三：進行雙肽序列稀釋與大腸桿菌共同培養

實驗方法：

- (一) 為了確認雙肽對革蘭氏陰性菌有無抑菌能力。
- (二) 將三種雙肽進行序列稀釋，選取實驗濃度(本實驗最終雙肽濃度為 400、800、1600 μ g/ml)。
- (三) 將大腸桿菌 100 微升(可由實驗一得到合適濃度)分別與三種雙肽 100 微升加入十倍稀釋後的培養液 800 微升中，並置入迴旋式震盪培養箱混和一小時。
- (四) 選取反應後的菌液 100 微升進行塗盤(三重複)。放置 12 小時後記錄 CFU 數量。
- (五) 再置入 2 毫升的培養液，放到迴旋式震盪培養箱培養 14 小時，置入 96 微孔盤測量吸光值(三重複)。

五 實驗四：進行雙肽序列稀釋與小鼠巨噬細胞以及呼吸上皮細胞共同培養

實驗方法：

- (一) 我們也想確認雙肽會不會對人體正常細胞有傷害，因此在此選定小鼠巨噬細胞以及呼吸上皮細胞做為實驗細胞。
- (二) 取小鼠巨噬細胞以及呼吸上皮細胞與不同濃度雙肽共同培養 1 小時後，測量吸光值並回推存活細胞濃度，並拍下當時細胞的狀態。(本實驗最終雙肽濃度為 0、100、200、400、800、1600 μ g/ml)。
- (三) 將吸光值帶入下式：
(目標濃度的 OD--只加 PBS 的 OD)/(只加 PBS 的細胞的 OD)*100%=存活細胞比例

六 實驗五：進行雙肽修飾

實驗方法：

- (一) 因為雙肽如果要實際應用在抑菌方面勢必要有更強的抑菌力，因此我們想藉著對雙肽進行附加物的修飾並期望能提高其抑菌力。
- (二) 以莫爾數 1:1 的 silica 與三種雙肽混合反應 5 分鐘，再以 7000rpm 離心一分鐘使接附到 silica 的雙肽沉澱下來。
- (三) 取上清液測量 OD 回推接附上 silica 雙肽的量。



(接附 silica 的雙肽(KC))

七 實驗六：以接附上 silica 的雙肽與大腸桿菌共同培養

實驗方法：

- (一) 為了確認修飾過的雙肽對革蘭氏陽性菌有無更佳的抑菌能力。
- (二) 將三種接上金奈米的雙肽進行序列稀釋，選定實驗濃度。
- (三) 將大腸桿菌 100 微升與雙肽 100 微升置入培養液 800 微升中混和一小時。
- (四) 選取混和後菌液 100 微升進行塗盤。
- (五) 再置入 2 毫升的培養液培養 14 小時，測量吸光值。

八 實驗七：以接附上 silica 的雙肽與枯草桿菌共同培養

實驗方法：

- (一) 為了確認修飾過的雙肽對革蘭氏陰性菌有無更佳的抑菌能力。
- (二) 將三種接上 silica 的雙肽進行序列稀釋，選定實驗濃度。
- (三) 將大腸桿菌 100 微升與雙肽 100 微升置入培養液 800 微升中混和一小時。
- (四) 選取混和後菌液 100 微升進行塗盤。
- (五) 再置入 2 毫升的培養液培養 14 小時，測量吸光值。

九 實驗八：進行單胺基酸序列稀釋與枯草芽孢桿菌共同培養

實驗方法：

- (一) 本實驗題目是以帶電度選定雙肽，但本實驗並未比較帶正電雙肽是否較帶負電、不帶電的雙肽抑菌效果還要好。不過因為雙肽的訂製需要比較多的實驗經費以及合成時間，因此我們打算先採用單胺基酸代替雙肽，並期望單胺基酸在濃度高時能聚合成雙肽，達到模擬雙肽的效果。
- (二) 將三種單胺基酸進行序列稀釋，選取實驗濃度(本實驗最終胺基酸濃度為 400、800、1600 μ g/ml)。
- (三) 將枯草芽孢桿菌 100 微升(可由實驗一得到合適濃度)分別與三種單胺基酸 100 微升加入十倍稀釋後的培養液 800 微升中，並置入迴旋式震盪培養箱混和一小小時。
- (四) 選取反應後的菌液 100 微升進行塗盤(三重複)。放置 12 小時後記錄 CFU 數量。
- (五) 再置入 2 毫升的培養液，放到迴旋式震盪培養箱培養 14 小時，置入 96 微孔盤測量吸光值(三重複)。

十 實驗九：進行單胺基酸序列稀釋與大腸桿菌共同培養

實驗方法：

- (一) 將三種單胺基酸進行序列稀釋，選取實驗濃度(本實驗最終胺基酸濃度為 400、800、1600 μ g/ml)。
- (二) 將大腸桿菌 100 微升(可由實驗一得到合適濃度)分別與三種雙肽 100 微升加入十倍稀釋後的培養液 800 微升中，並置入迴旋式震盪培養箱混和一小小時。
- (三) 選取反應後的菌液 100 微升進行塗盤(三重複)。放置 12 小時後記錄 CFU 數量。
- (四) 再置入 2 毫升的培養液，放到迴旋式震盪培養箱培養 14 小時，置入 96 微孔盤測量吸光值(三重複)。

伍、 預期結果、已有初步之結果

一 實驗一：找出適合觀察的菌落數

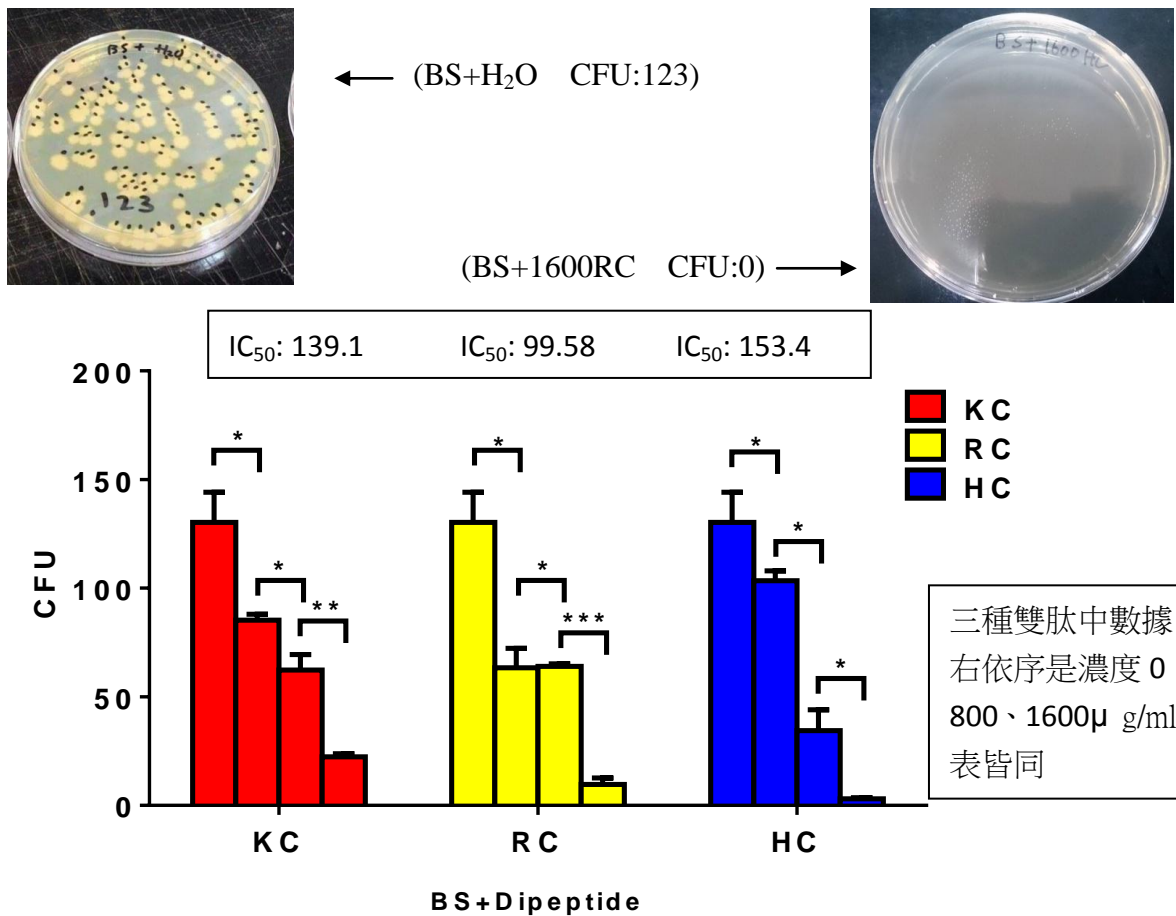
(一)最終選定枯草芽孢桿菌(B.s.)序列稀釋倍率為 10^5 ，DH5 α 的序列稀釋倍率為 10^4 ，如下表：

稀釋倍數	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8	10^9
B.s. (CFU)	無法計算	290/302	35/50	2/3	1/0	0/0
DH5 α (CFU)	250/216	29/32	2/3	0/0	0/0	0/0

因此如果要控制 B.s.在 1000 CFU，就是稀釋 10^5 後取 4 倍原來塗菌的量，離心去掉上清液，回溶適量的細菌培養液，依此類推，控制 DH5 α 在 1000 CFU，就是稀釋 10^4 後取 4 倍原來塗菌的量。

二 實驗二：進行雙肽序列稀釋與枯草芽孢桿菌共同培養

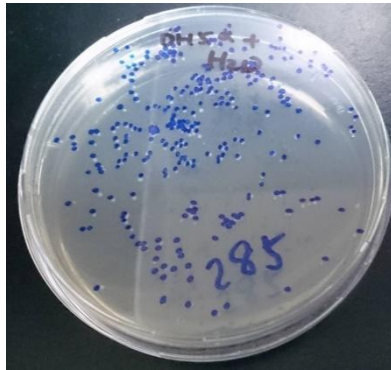
- (一) 塗盤菌落數的結果顯示，與二次蒸餾水對照組相比，三種雙肽有明顯抑菌能力，且有隨著濃度增加讓抑菌效果明顯增加。
- (二) 兩者分析方法呈現三種雙肽分子對革蘭氏陽性菌，枯草芽孢桿菌(B.s.)在 400~1600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 皆有抑制效果。



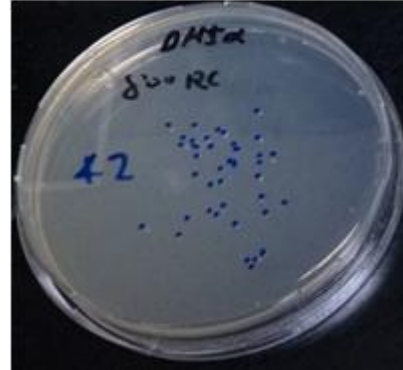
* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ 與二次蒸餾水相比

三 實驗三：進行雙肽序列稀釋與大腸桿菌共同培養

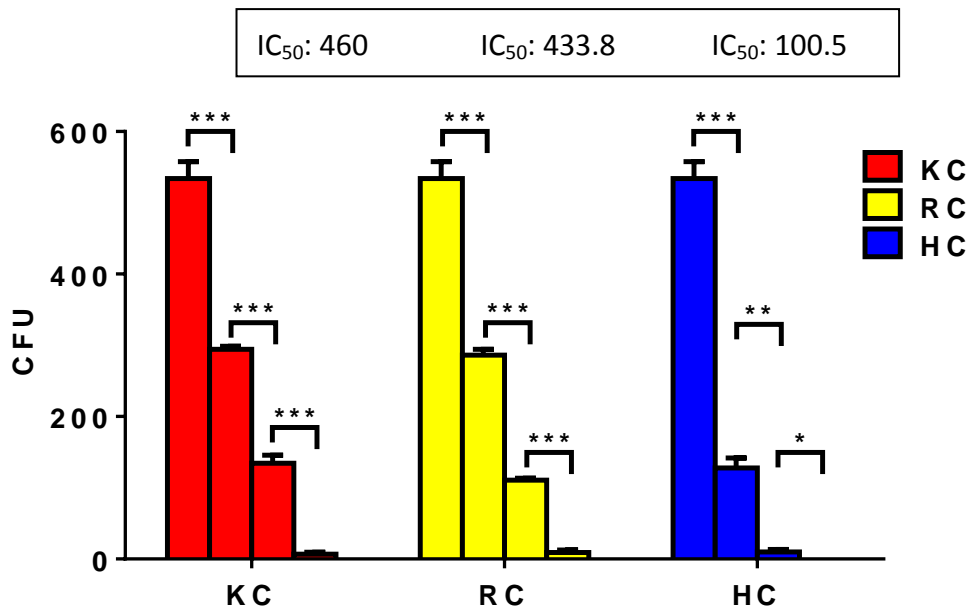
- (一) 塗盤菌落數的結果顯示，與二次蒸餾水對照組相比，三種雙肽具顯著差異，而且有隨著濃度增加讓抑菌效果明顯增加。
- (二) 兩者分析方法呈現三種雙肽分子對革蘭氏陰性菌，大腸桿菌(DH5 α)在 400~1600 $\mu\text{g/mL}$ 有抑制效果。



(DH5 α +H₂O CFU:285)



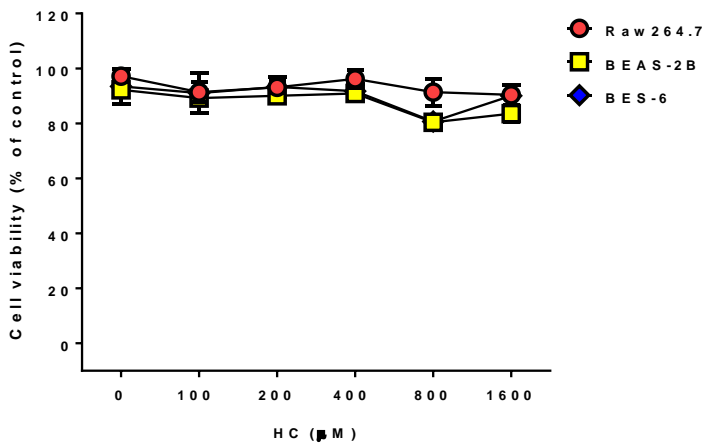
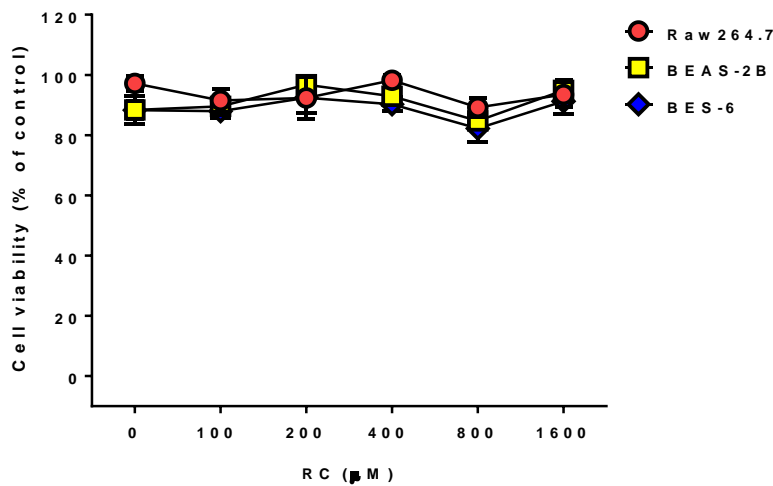
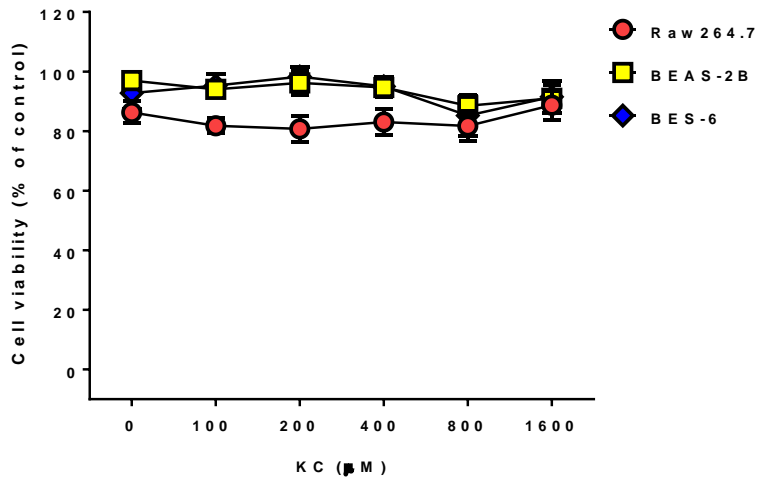
(DH5 α +800RC CFU:42)



*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 與二次蒸餾水相比

四 實驗四：進行雙肽序列稀釋與小鼠巨噬細胞以及呼吸上皮細胞共同培養

- (一) 由下表可知雙肽對於小鼠的巨噬細胞和呼吸上皮細胞並無明顯的負面影響。
- (二) 由照片亦可知巨噬細胞皆呈現正常樣態，顯示雙肽本身並不會刺激巨噬細胞並誘發免疫反應。
- (三) 推測雙肽有可能可以應用在人體方面，但以後能須做進一步的實驗。



Raw 264.7

HC

KC

RC

0 μ g/ml

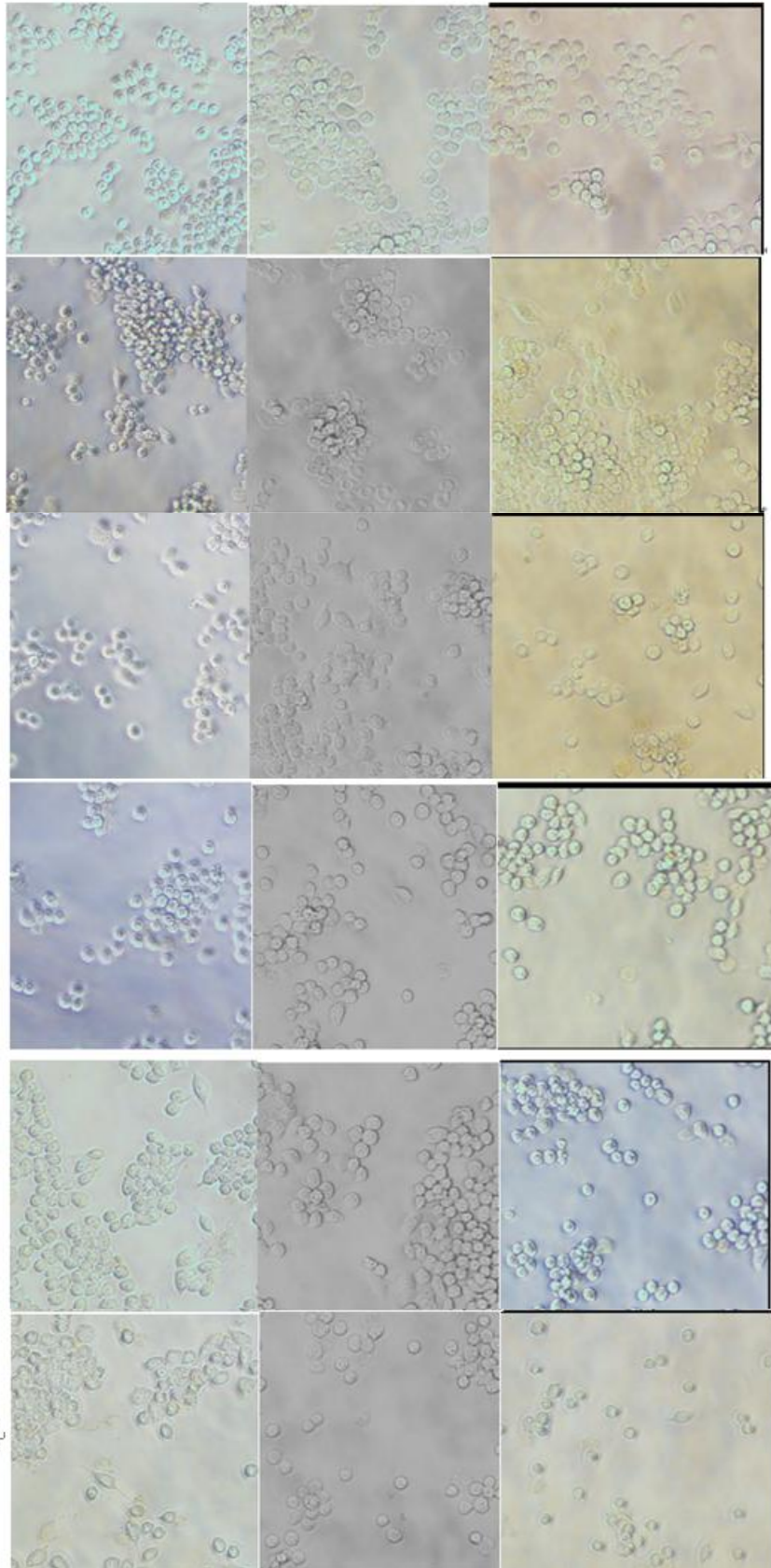
100 μ g/ml

200 μ g/ml

400 μ g/ml

800 μ g/ml

1600 μ g/ml



BEAS-2B

HC

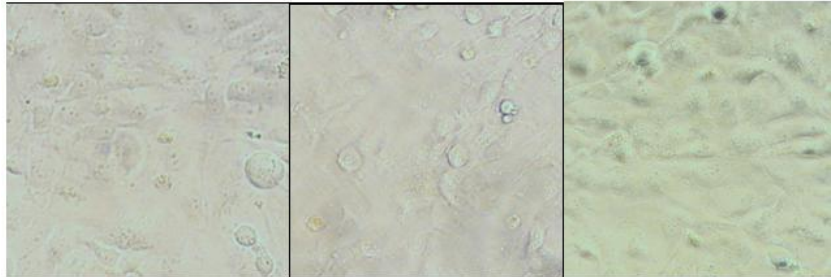
KC

RC

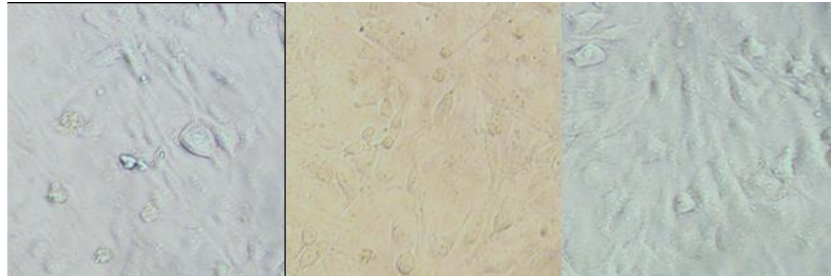
0 μ g/ml



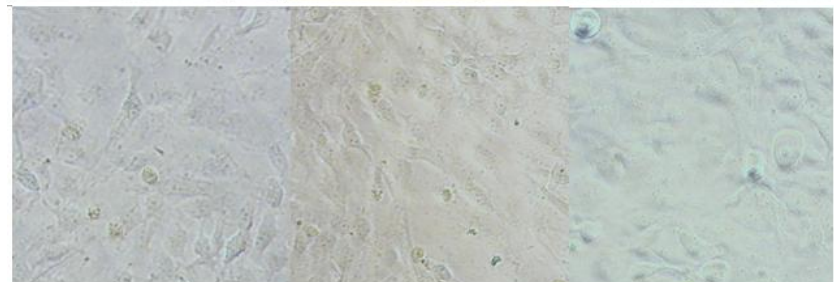
100 μ g/ml



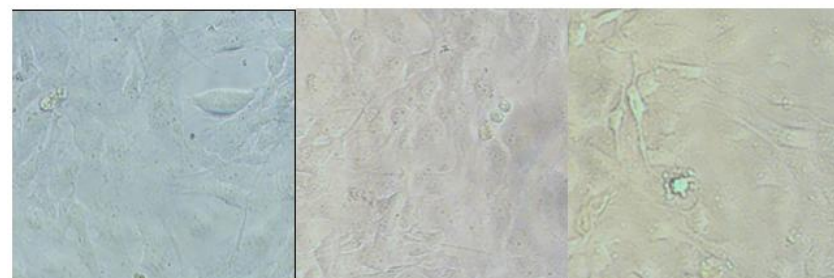
200 μ g/ml



400 μ g/ml



800 μ g/ml



1600 μ g/ml



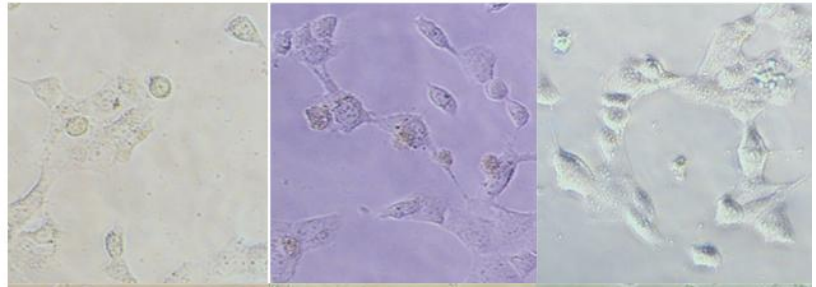
BEAS-6

HC

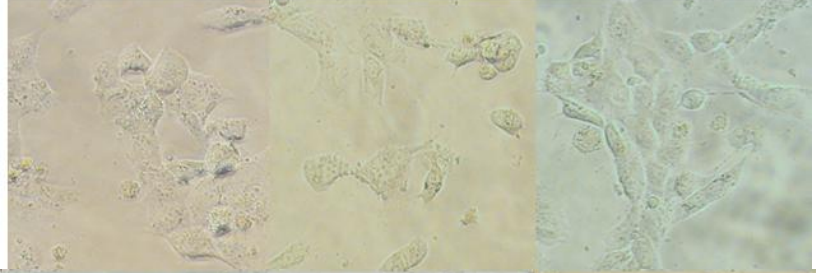
KC

RC

0 μ g/ml



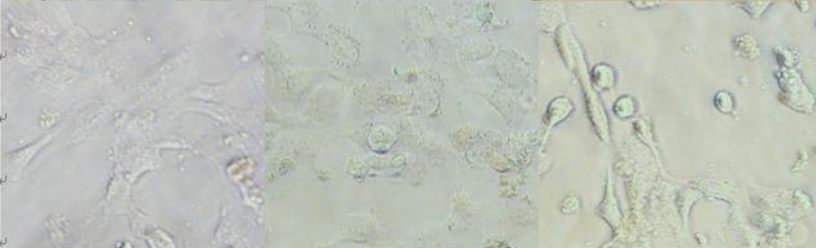
100 μ g/ml



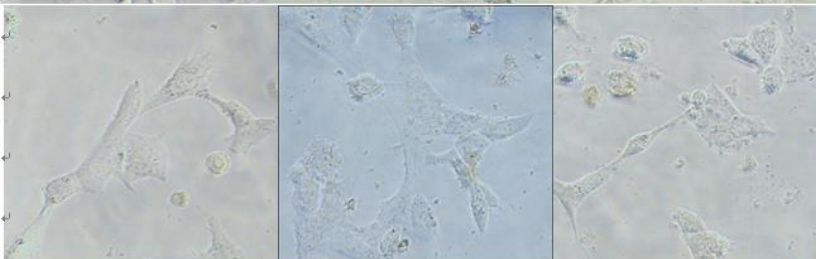
200 μ g/ml



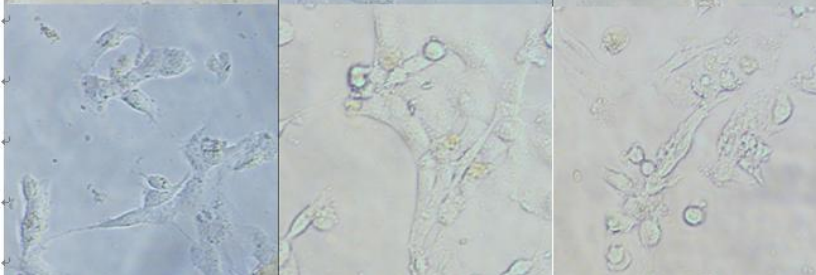
400 μ g/ml



800 μ g/ml

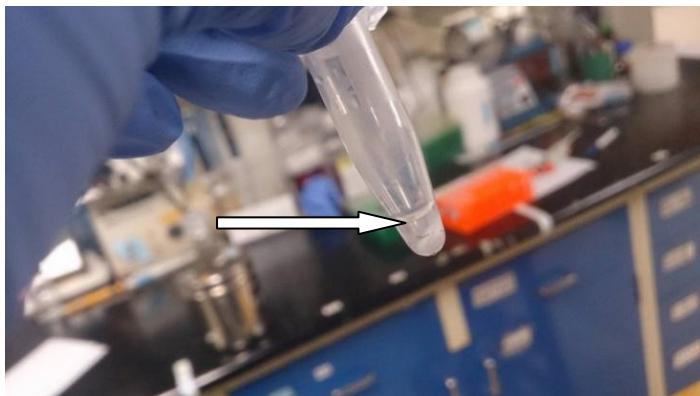


1600 μ g/ml

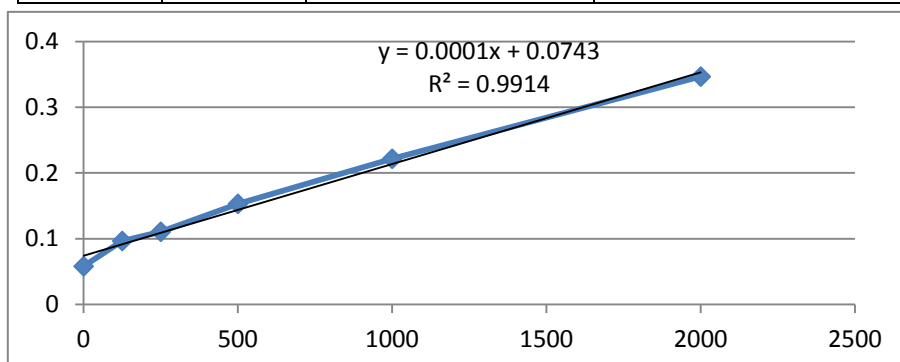


五 實驗五：進行雙肽修飾

- (一) 事先量測各個濃度的雙肽 595nm 吸光值做為濃度-吸光值換算表。
- (二) 藉由量測修飾雙肽剩餘液體(如下圖箭頭處)的吸光值我們可得到懸浮雙肽濃度,與最初我們加入反應的雙肽量相減藉此可得到下表的回推濃度以及接上氧化矽的雙肽量
- (三) 我們預定是一個雙肽接一個氧化矽
- (四) 在此我們已得到用氧化矽修飾過的雙肽

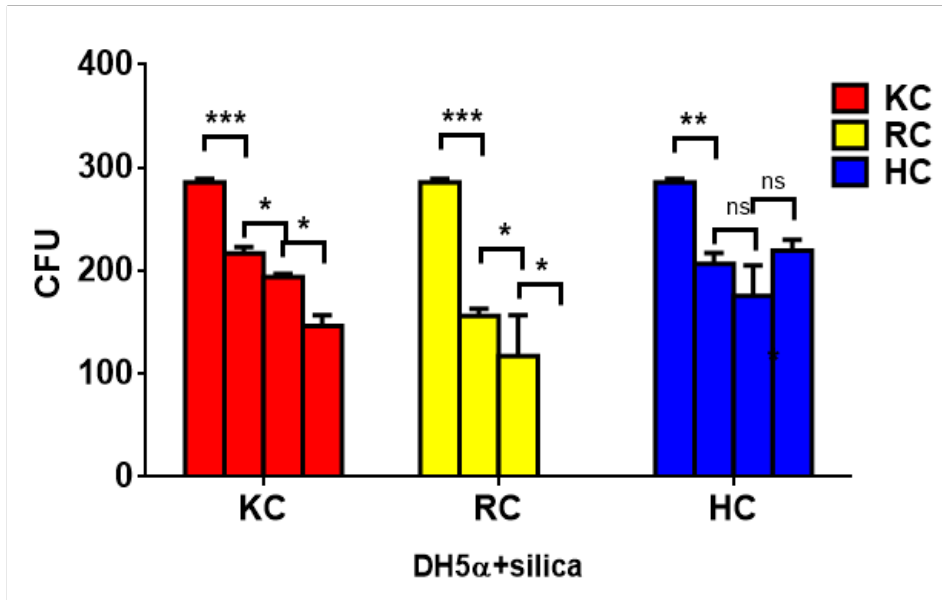


	OD	回推濃度(ug/cc)	接上去的雙肽量(ug)
HC	2.694	19510	3940
KC	2.6295	18865	3897.2
RC	2.5715	2.5715	397.8

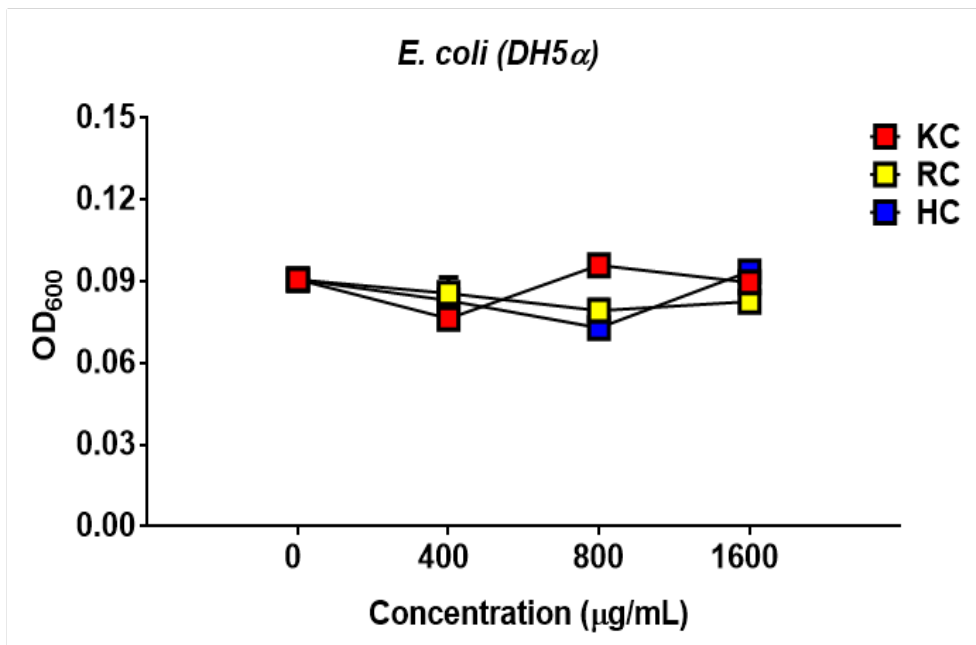


六 實驗六：以接附上 silica 的雙肽與大腸桿菌共同培養

- (一) 塗盤菌落數的結果顯示，與二次蒸餾水對照組相比，三種雙肽無顯著差異，稍微有隨濃度上升而增加抑制效果，但效果不若純雙肽好。
- (二) 菌液吸光值結果顯示，與二次蒸餾水對照組相比，三種雙肽並無差異。
- (三) 本來是打算用帶正電的 silica 附上雙肽以增進接附上細菌細胞壁的程度，不過並不是很理想。目前推測可能是因為 silica 接上雙肽可能會隨時間而脫落，因此實際選取到的濃度會比實際還要低。目前還在考慮實驗改進方式。

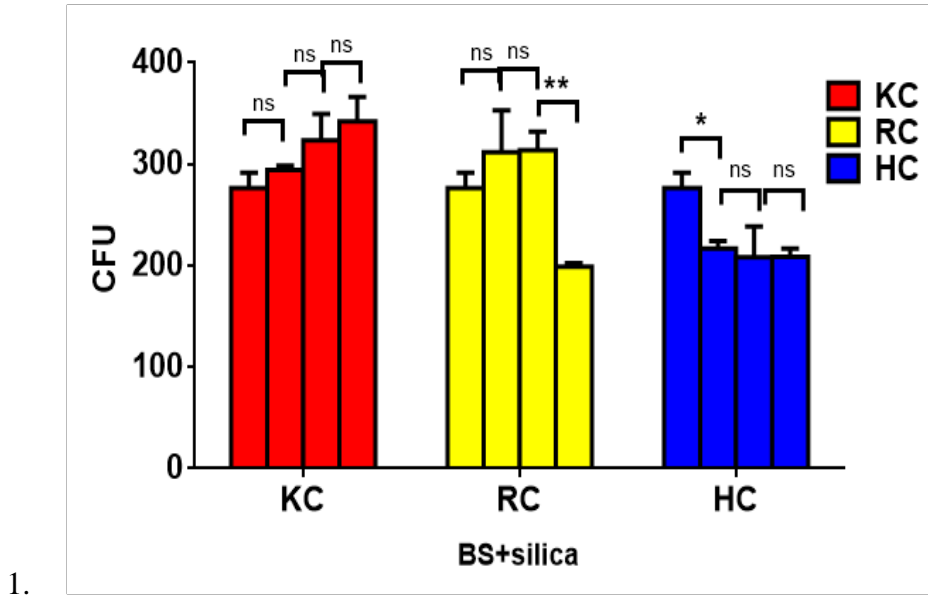


* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 與二次蒸餾水相比

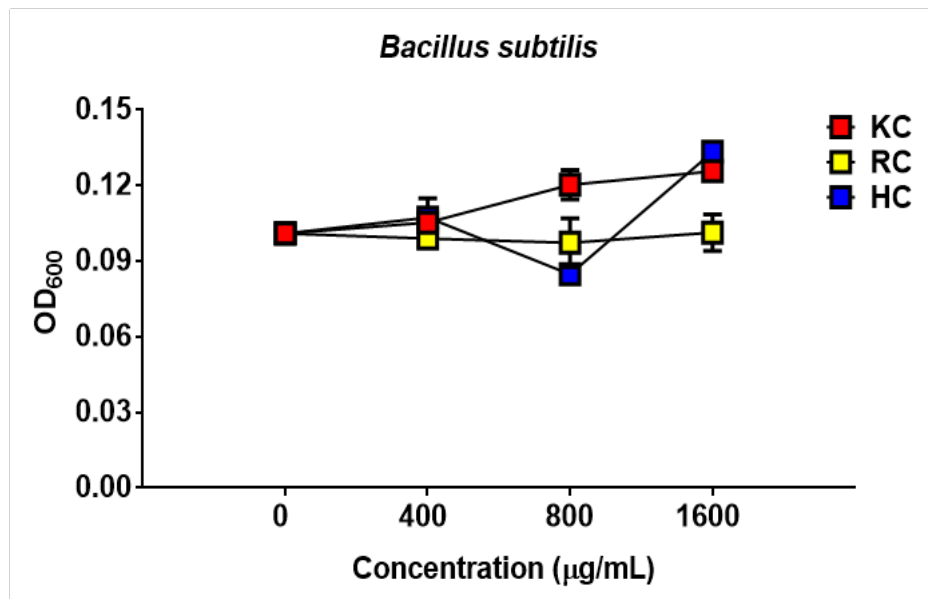


七 實驗七：以接附上 silica 的雙肽與枯草桿菌共同培養

- (一) 塗盤菌落數的結果顯示，與二次蒸餾水對照組相比，三種雙肽沒有差異。
- (二) 菌液吸光值結果顯示，與二次蒸餾水對照組相比，三種雙肽沒有差異
- (三) 原因推測同實驗八。

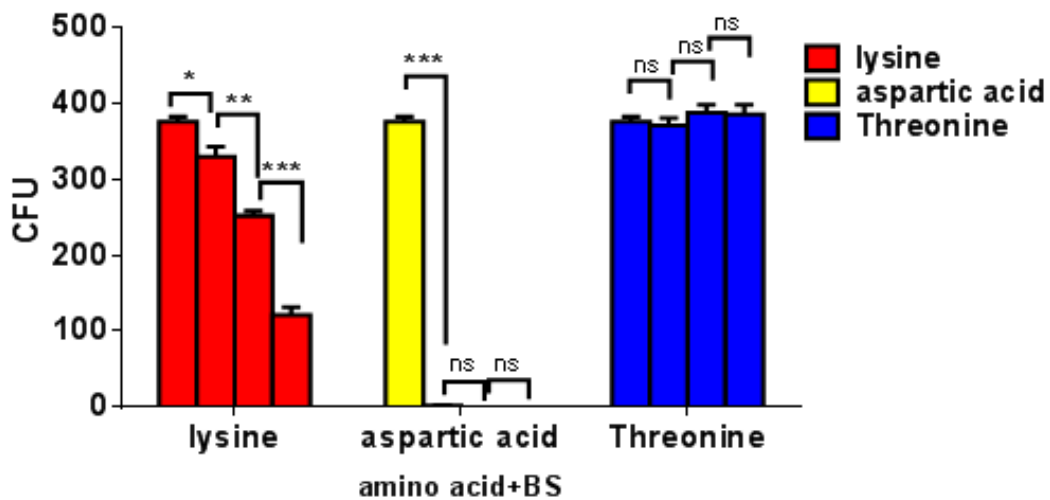


* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 與二次蒸餾水相比

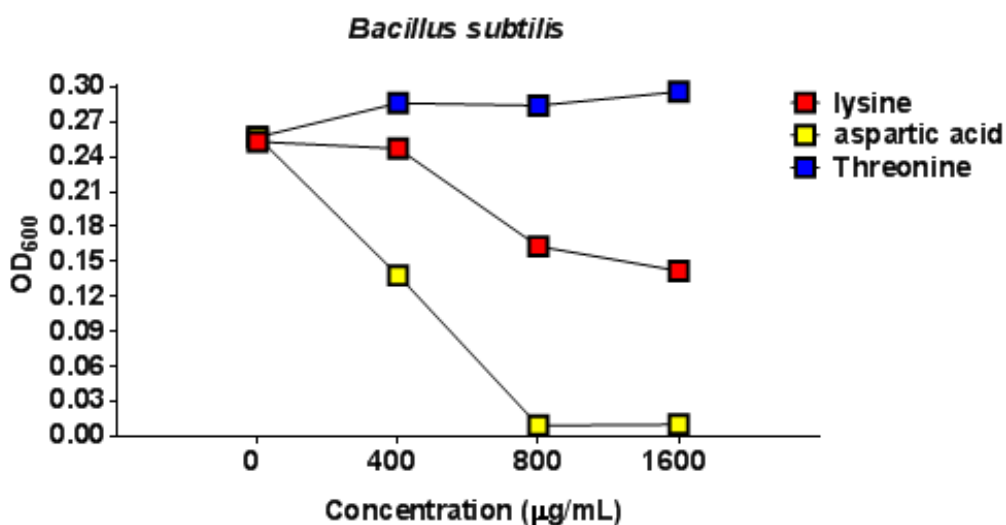


八 實驗八：進行單胺基酸序列稀釋與枯草芽孢桿菌共同培養

- (一) 由塗盤菌落數的結果顯示，就不帶電的蘇胺酸而言，是完全沒有抑菌效果的。帶正電的離胺酸也如我們所預料隨著胺基酸濃度上升抑菌效果也上升，不過帶負電的天門冬胺酸也隨著胺基酸濃度上升抑菌效果也上升，而且效果比離胺酸還顯著。
- (二) 天門冬胺酸 p 值會出現 ns 是因為其菌落數都是 0，並非實驗有問題
- (三) 由菌液吸光值結果可再次驗證上述觀察結果。
- (四) 所以說其實帶負電的物質也可以有抑菌的效果，而且似乎較帶正電者佳。細菌細胞壁本身是帶負電，初步猜測是帶負電的胺基酸可以藉由擠破細菌細胞壁達到抑菌效果，或是其會排斥細菌所需要的其他物質達成抑菌效果，但都須更進一步做實驗來確認
- (五) 如果雙肽選用帶負電的胺基酸會不會提高其抑菌力? 可再研究之

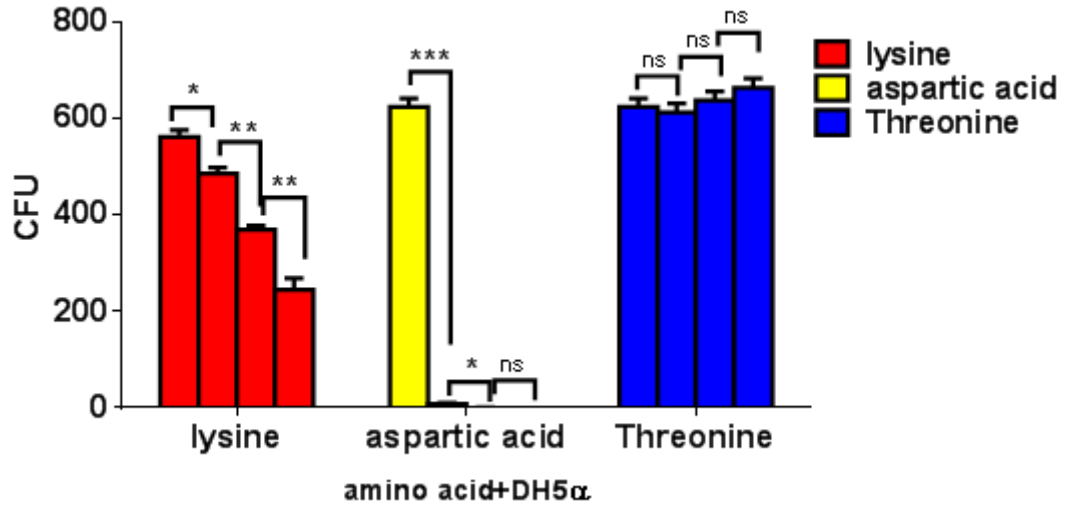


*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 與二次蒸餾水相比



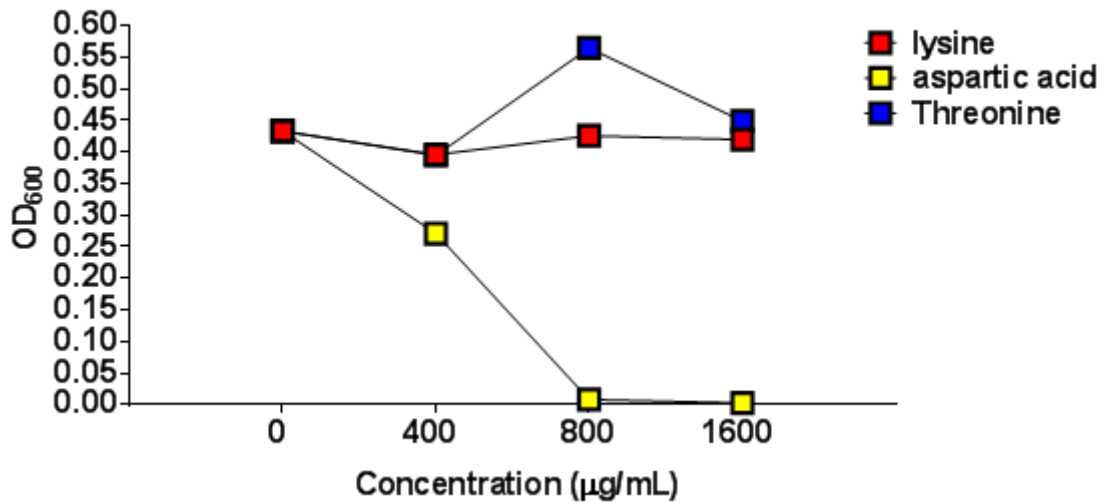
九 實驗九：進行單胺基酸序列稀釋與大腸桿菌共同培養

- (一) 由塗盤菌落數的結果顯示，與二次蒸餾水對照組相比，其結果跟枯草芽孢桿菌結果類似。蘇胺酸沒有抑菌效果，而天門冬胺酸的抑菌能力則又勝過離胺酸。
- (二) 由菌液吸光值結果也可再次驗證上述觀察結果。
- (三) 原因推論同實驗十一對枯草芽孢桿菌的推論



*p < 0.05 , **p < 0.01 , ***p < 0.001 與二次蒸餾水相比

Bacillus subtilis



陸、本計畫之創見性及其未來應用

- (一) 目前有關多肽抑菌的實驗大多都是以三十個以上的多肽進行抑菌測試，但我們嘗試僅以雙肽修飾，並期望雙肽亦有抑菌作用。本實驗目前確認雙肽確實對於革蘭氏陰陽性菌皆有抑制行為。並冀望雙肽能應用在人體上面。
- (二) 由於雙肽僅由兩個胺基酸構成，因此在合成方面或許可以合成一長鏈之後再用酵素切離成雙肽，既節省材料又有效率。
- (三) 雙肽為人體每天所攝入食物的組成成分，因此對人體正常細胞不會有影響，未來可以添加於食品中作為保健食品，既可攝取胺基酸亦可同時有抑菌的效用在。
- (四) 若要作為藥品則可能還要再提升其抑菌的效用，因此必須再給予雙肽額外的修飾。目前初步構想是接附金奈米粒子，或是將本實驗所用的三種雙肽以不同比例混和，期望能在大幅提升雙肽的抑菌效用；本實驗最後的單胺基酸模擬雙肽實驗中，也給了我們或許以帶負電胺基酸形成雙肽能提升其抑菌力
- (五) 實驗最後有用單胺基酸模擬雙肽，而且成功的具有抑菌效果，顯示單胺基酸或許直接就有抑菌力。以製備而言單胺基酸比起雙肽而言還要更為簡單，如果進一步確認之後，那麼單胺基酸或許具有更大的應用性，值得再深入研究。
- (六) 期待未來能多測試其他細菌，尤其是能真正引起人類疾病的菌種。但迫於安全性的考量我們並沒有實行。期待未來有能力能付諸實現。

柒、結論

- (一) 經由本研究我們找到組胺酸和半胱胺酸(HC)、賴胺酸和半胱胺酸(KC)、精胺酸和半胱胺酸(RC)所組成的三種雙肽與菌株共同培養後，確實具有抑制革蘭氏陰性菌以及陽性菌的能力，並推測若是進一步修飾應該可以再提高其抑菌能力。
- (二) 本實驗嘗試以 silica 修飾但發現效果不若純雙肽還要好。所以下次可嘗試以別種藥劑修飾或是將以上三種雙肽以適當比例混合應該也可再提高其抑菌效果。
- (三) 而雙肽也是目前我們發現最短的多肽抑制數目，在生產方面也可直接合成多肽再用酵素切割就好，既能抑菌又可有最大的經濟效益。
- (四) 應用在細胞培養上面是無害的，下一步是要測試對於人體紅血球是否有影響。
- (五) 帶負電的天門冬胺酸效果確實較帶正電的離胺酸還要有效，雙肽可考慮帶換成帶負電的胺基酸提高抑菌力，關於單胺基酸便具有抑菌效果還可再進一步研究
- (六) 未來實驗方向會偏向是驗是否帶負電的雙肽較帶正電者為佳，並深入探討其抑菌機制以及原理，以及著手在對於人體紅血球究竟有沒有傷害。

捌、參考資料及其他

- 一 Dickson, J.S. and M. Koochmaraie, Cell-Surface Charge Characteristics and Their Relationship to Bacterial Attachment to Meat Surfaces. Applied and Environmental Microbiology, 1989. 55(4): p. 832-836.
- 二 Gottenbos, B., et al., Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001. 48(1): p. 7-13.

- 三 Melo, M.N., R. Ferre, and M.A.R.B. Castanho, OPINION Antimicrobial peptides: linking partition, activity and high membrane-bound concentrations. *Nature Reviews Microbiology*, 2009. 7(3): p. 245-250.
- 四 Banerji, B., et al., Potent anticancer activity of cystine-based dipeptides and their interaction with serum albumins. *Chemistry Central Journal*, 2013. 7.
- 五 Hoskin, D.W. and A. Ramamoorthy, Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta*, 2008. 1778(2): p. 357-75.
- 六 Mader, J.S. and D.W. Hoskin, Cationic antimicrobial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment. *Expert Opin Investig Drugs*, 2006. 15(8): p. 933-46.
- 七 Shu J. Lam, Neil M. O'Brien-Simpson, Namfon Pantarat, Adrian Sulistio, Edgar H. H. Wong, Yu-Yen Chen, Jason C. Lenzo, James A. Holden, Anton Blencowe, Eric C. Reynolds, Greg G. Qiao. Combating multidrug-resistant Gram-negative bacteria with structurally nanoengineered antimicrobial peptide polymers. *Nature Microbiology*, 2016. 1: 16162.