

# Bước đầu khảo sát khả năng kháng ung thư của cao chiết ethyl acetate môi trường nuôi cấy xạ khuẩn *Streptomyces* sp. ss7 trên dòng tế bào ung thư phổi người

Trần Hoàng Ngâu<sup>1</sup>, Trương Thị Bích Ngọc<sup>1,2</sup>, Nguyễn Lưu Minh Hạnh<sup>1</sup>, Võ Anh Kiệt<sup>2,3</sup>, Nguyễn Hoàng Chương<sup>2</sup>, Đặng Thị Phương Thảo<sup>1,2,3,\*</sup>



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## TÓM TẮT

Xạ khuẩn thuộc nhóm vi khuẩn Gram dương, là nguồn sản xuất các hợp chất biến dưỡng thứ cấp đóng vai trò quan trọng trong ngành công nghiệp dược phẩm. Các hợp chất từ xạ khuẩn thể hiện đa dạng các hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng virus, ức chế miễn dịch, đặc biệt là hoạt tính kháng ung thư. Nhiều hợp chất kháng ung thư có nguồn gốc từ xạ khuẩn đóng vai trò quan trọng trong lĩnh vực y tế như actinomycin D, mitomycin D, bleomycin, doxorubicin hay streptozotocin. Do đó, trong công cuộc tìm kiếm hợp chất mới có hoạt tính sinh học, các chủng xạ khuẩn từ tự nhiên thu hút được nhiều sự quan tâm từ các nhà khoa học, và một trong những nguồn phân lập mới nổi phải kể đến xạ khuẩn nội sinh trong cây thuốc. Trong bài báo này, cao chiết ethyl acetate dịch môi trường nuôi cấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7 phân lập từ cây Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium*) được thử nghiệm khả năng kháng ung thư trên dòng tế bào ung thư phổi A549 bằng thử nghiệm MTT. Các kết quả cho thấy các giá trị IC<sub>50</sub> thu được trên dòng tế bào này ở các thời điểm 48 và 72 giờ, lần lượt là 645,65 ± 1,88 μg/mL và 767,36 ± 1,04 μg/mL. Ngoài ra, cao chiết SS7-EA cũng ức chế khả năng di động của tế bào A549 khoảng 4 lần, trong thử nghiệm khép vết rạch. Các kết quả từ bài báo này tạo cơ sở để tiếp tục mở rộng nghiên cứu chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7, xác định và phân lập các hợp chất biến dưỡng thứ cấp có hoạt tính sinh học hỗ trợ điều trị ung thư.

**Từ khoá:** *Streptomyces* sp. SS7, *Crinum latifolium*, hoạt tính kháng ung thư, ung thư phổi.

## MỞ ĐẦU

Xạ khuẩn *Streptomyces* sp. là vi khuẩn Gram dương với bộ gene giàu G-C. Chúng có cấu trúc dạng sợi và hình thức sinh sản bằng bào tử vô tính, nhiệt độ tăng trưởng thích hợp trong khoảng 25 - 30°C<sup>1-3</sup>. Xạ khuẩn *Streptomyces* sp. giữ một vai trò quan trọng trong ngành công nghiệp dược phẩm, sản xuất gần 80% các hợp chất có hoạt tính sinh học hiện tại<sup>4</sup>. Xạ khuẩn có khả năng sản xuất nhiều hợp chất thứ cấp với đa dạng các hoạt tính như kháng khuẩn, kháng virus, kháng oxy hóa, ức chế miễn dịch, đặc biệt là khả năng kháng ung thư<sup>1</sup>. Ngoài nguồn phân lập thông thường từ đất, xạ khuẩn cũng được tìm thấy ở các môi trường khác như biển sâu, trầm tích, sa mạc, núi lửa, rừng ngập mặn. Đặc biệt, môi trường sống khắc nghiệt với áp lực chọn lọc cao là yếu tố quan trọng thúc đẩy xạ khuẩn sản xuất ra những hợp chất biến dưỡng thứ cấp như một cơ chế tự bảo vệ<sup>5</sup>, trong số đó có những hợp chất có cấu trúc độc đáo như spiroindimicin A, indimicin, grincamycin, lobophorin, anthracimycin, sungsanpin, chaxalactin,...<sup>6</sup>. Tuy nhiên, việc tiếp cận những

môi trường tự nhiên khắc nghiệt để thu thập mẫu và phân lập xạ khuẩn cũng là một thách thức đối với các nhà khoa học.

Đáng chú ý, gần đây, nguồn phân lập *Streptomyces* sp. nội sinh trong cây thuốc cũng đang được quan tâm nghiên cứu, là nguồn tiềm năng cho việc tìm kiếm, phát hiện các hợp chất với đa dạng hoạt tính sinh học<sup>7-11</sup>. Một trong số đó có cấu trúc mới và độc đáo phải kể đến như cycloheximide, actiphe-nol, diketopiperazine, vinaceuline cyclodipeptides, actinomycin-D, SPE-B11.8 ((Z)-tridec-7-ene-1,2,13-tricarboxylic acid) và pluramycin<sup>12-15</sup>. Xạ khuẩn nội sinh trong mô thực vật không gây hại cho cây, ngược lại chúng giúp thúc đẩy các con đường chuyển hóa hợp chất thứ cấp, thúc đẩy hệ thống đáp ứng các phản ứng stress, góp phần bảo vệ vật chủ sống sót khỏi các tác nhân gây hại<sup>16</sup>. Xạ khuẩn nội sinh trong mô thực vật có thể được phân lập từ các mẫu rễ, lá hoặc thân cây. Sau đó, các mẫu mô được chia thành các mẫu nhỏ, được tiệt trùng bề mặt mẫu, nghiền trong dung dịch và phân lập xạ khuẩn trên môi trường dinh dưỡng bằng phương pháp phù hợp<sup>17</sup>. Ở Việt Nam

<sup>1</sup>Bộ môn Công nghệ sinh học Phân tử và Môi trường, Khoa Sinh học – Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, 227 Nguyễn Văn Cừ, TP.HCM, Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học Quốc Gia Hồ Chí Minh, Võ Trường Toản, Linh Trung, Thủ Đức, TP.HCM, Việt Nam.

<sup>3</sup>Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học Phân tử, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, 227 Nguyễn Văn Cừ, TP.HCM, Việt Nam

### Liên hệ

**Đặng Thị Phương Thảo**, Bộ môn Công nghệ sinh học Phân tử và Môi trường, Khoa Sinh học – Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, 227 Nguyễn Văn Cừ, TP.HCM, Việt Nam

Đại học Quốc Gia Hồ Chí Minh, Võ Trường Toản, Linh Trung, Thủ Đức, TP.HCM, Việt Nam.

Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học Phân tử, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG-HCM, 227 Nguyễn Văn Cừ, TP.HCM, Việt Nam

Email: thaodp@hcmus.edu.vn

**Trích dẫn bài báo này:** Ngâu T H, Ngọc T T B, Hạnh N L M, Kiệt V A, Chương N H, Thảo D T P. **Bước đầu khảo sát khả năng kháng ung thư của cao chiết ethyl acetate môi trường nuôi cấy xạ khuẩn *Streptomyces* sp. ss7 trên dòng tế bào ung thư phổi người.** VNUHCM J. Adv. Res. Nat. Sci. 2026;10 (1):3598-3611.

Bài báo này được xuất bản trong giai đoạn tạp chí đang đổi tên từ Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ - Khoa học Tự nhiên (ISSN: 2588-106X) sang VNUHCM Journal of Advanced Research in Natural Sciences; ISSN mới hiện đang chờ được cấp.

**Lịch sử**

- Ngày nhận: 01-08-2025
- Ngày sửa đổi: 26-01-2026
- Ngày chấp nhận: 27-03-2026
- Ngày đăng: 28-03-2026

DOI: x

**Bản quyền**

© Tạp chí ĐHQG-HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

có một số nghiên cứu về xạ khuẩn nội sinh từ các mô thực vật như cây Quế<sup>3</sup>, Trinh nữ hoàng cung...<sup>18</sup> Trong nghiên cứu của Trương Minh Phụng và cộng sự (2017), xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS004 nội sinh trong cây Trinh nữ hoàng cung cho thấy đặc tính kháng *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, và *Salmonella enteritica*<sup>18</sup>. Tuy nhiên cho đến hiện tại chưa có nghiên cứu về hoạt tính kháng ung thư của xạ khuẩn phân lập từ loài cây này. Do đó, trong nghiên cứu này, chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7 phân lập từ rễ cây Trinh nữ hoàng cung được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng sinh học sẽ được tiến hành khảo sát ban đầu hoạt tính kháng ung thư trên dòng tế bào ung thư phổi người nuôi cấy *in vitro*.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Nguồn vật liệu

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7 được phân lập từ rễ cây Trinh nữ hoàng cung và được cung cấp bởi Trung tâm nghiên cứu và Ứng dụng sinh học. Dòng tế bào A549 sử dụng trong nghiên cứu có nguồn gốc từ ATCC (American Type Culture Collection) (ATCC CCL-185).

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7 là chủng xạ khuẩn nội sinh ở rễ cây Trinh nữ hoàng cung. Quy trình phân lập xạ khuẩn nội sinh được tham khảo từ một công bố trước của Qin và cộng sự năm 2009<sup>19</sup>. Quy trình phân lập, làm thuần được thực hiện như sau: Xử lý sơ bộ mẫu thu thập bằng nước cất để loại bỏ tạp chất, sau đó bảo quản trong túi zip vô trùng. Rửa mẫu thu thập bằng dung dịch 1% của tween-20 và rửa lại bằng nước cất vô trùng. Ngâm bằng nước javel 5% trong 5 phút và chuyển sang dung dịch sodium thio-sulfate 5% trong 10 phút để trung hòa tác động của nước javel. Rửa bằng dung dịch ethanol 70% trong 5 phút và nước cất vô trùng. Rửa mẫu bằng dung dịch sodium bicarbonate 10% trong 10 phút và để khô tự nhiên. Nghiền nát mẫu với dung dịch nước muối vô trùng 0,9% để giải phóng các chủng xạ khuẩn nội sinh. Cấy trải dịch nghiền trên môi trường SFM bổ sung nalidixic acid 30 µg/mL, cycloheximide 50 µg/mL và nystatin 50 µg/mL. Ủ trong điều kiện 28-30 °C trong 5-7 ngày. Quan sát hình thái khuẩn lạc của xạ khuẩn theo thời gian nuôi cấy. Quá trình phân lập cũng có thiết lập mẫu đối chứng âm là dịch rửa của mẫu rễ cây, song song với mẫu phân lập là dịch nghiền nát của mẫu rễ cây. Cả hai mẫu này cùng được cấy trải trên môi trường SFM và quan sát sự phát triển của khuẩn lạc, kết quả cho thấy khuẩn lạc xạ khuẩn chỉ phát triển ở mẫu phân lập, không thấy ở mẫu đối chứng âm. Việc định danh xác định *Streptomyces* sp. SS7 dựa trên đặc

điểm về màu sắc của khuẩn ty cơ chất, màu sắc của khuẩn ty khí sinh, hình thái khuẩn lạc theo hệ thống International Streptomyces Project (ISP), kích thước, cấu trúc của chuỗi bào tử chụp dưới kính hiển vi SEM, đặc điểm sinh hóa của tế bào và trình tự 16S rRNA (dữ liệu chưa công bố). Dịch nuôi cấy chủng *Streptomyces* sp. SS7 đã được thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn ở nồng độ 1 và 10 mg/mL trên 6 chủng vi khuẩn đa kháng kháng sinh hiện nay (ESKAPE), tuy nhiên không thể hiện hoạt tính kháng đối với các vi khuẩn này (dữ liệu chưa công bố).

### Thu nhận cao chiết từ dịch môi trường nuôi cấy xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7

Quy trình nuôi cấy *Streptomyces* sp. SS7 được tham khảo từ các nghiên cứu trước với một số điều chỉnh nhỏ<sup>20-22</sup>. Đầu tiên, các khuẩn lạc đơn của chủng này trên môi trường SFM agar (Manitol 20 g/L (Himedia, Ấn Độ); bột đậu nành 20 g/L (Việt Nam); agar 20 g/L (Xilong, Trung Quốc)) được cấy chuyển vào môi trường LB dạng lỏng (tryptone 10 g/L (Himedia, Ấn Độ), cao nấm men 5 g/L (Merck, Đức), NaCl 10 g/L (Xilong, Trung Quốc)), nuôi cấy lắc 200 vòng/phút trong 24 h ở 30 °C. Sau đó dịch nuôi cấy này được bổ sung tiếp tục với tỉ lệ 5% (v/v) vào môi trường FM3 lỏng (cao nấm men 5 g/L (Merck, Đức), tinh bột 20 g/L (Xilong, Trung Quốc), bột đậu nành 15 g/L (Việt Nam), peptone 2 g/L (Merck, Đức), calcium carbonate 4 g/L (Xilong, Trung Quốc), NaCl 18 g/L (Xilong, Trung Quốc, pH 7,0) và nuôi cấy lắc trong vòng 5 ngày ở 30 °C. Sau quá trình nuôi, dịch môi trường được li tâm 10.000 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ sinh khối và lọc vô trùng, sau đó tách chiết bằng dung môi ethyl acetate (Xilong, Trung Quốc) (SS7-EA) tỉ lệ 1:1 (v/v), lắc mạnh và để đứng trong 24 h để dung dịch tách thành hai pha<sup>23,24</sup>. Pha dung môi hữu cơ được thu nhận và quá trình chiết được lặp lại cho đến khi màu của dung môi không đổi. Tiếp theo đó, cao chiết được cô quay ở nhiệt độ 45 °C trong 20-25 phút để làm bay hơi dung môi (tỉ lệ cô đặc 1:200, v/v). Quy trình nuôi cấy và chiết cao được lặp lại ba lần. Toàn bộ dịch cao chiết sau cô quay được đông khô, cân và hòa tan vào dung môi DMSO (99,9%, v/v) (Merck, Đức), sau đó bảo quản ở nhiệt độ -80 °C cho đến khi tiến hành các thử nghiệm.

### Nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào ung thư phổi A549 được nuôi cấy trong đĩa 60 mm (SPL, Hàn Quốc) sử dụng môi trường DMEM-F12 (Sigma Alrich, Đức) bổ sung 10% huyết thanh thai bò (FBS) (Sigma Alrich, Đức) và dung dịch kháng sinh 1X (100 U/mL penicillin, 100 µg/mL

streptomycin, 250 ng/mL amphotericin B) (Sigma Alrich, Đức). Môi trường nuôi được thay mỗi 2–3 ngày. Tế bào được cấy chuyển khi mật độ đạt 80–90% diện tích bề mặt đĩa nuôi. Điều kiện nuôi cấy là 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, độ ẩm 85–90% trong tủ nuôi tế bào (Esco, Singapore).

### Thử nghiệm độc tính trên tế bào bằng phương pháp MTT

Thử nghiệm độc tính tế bào bằng phương pháp MTT, thường được sử dụng cho mục đích sàng lọc các cao chiết có tác động ức chế đối với tế bào ung thư. Số lượng  $1 \times 10^4$  tế bào trong 100  $\mu\text{L}$  môi trường nuôi được cấy vào mỗi giếng của đĩa thử nghiệm 96 giếng (SPL, Hàn Quốc). Các tế bào được ủ qua đêm cho sự bám trải, sau đó môi trường cũ được thay bằng 100  $\mu\text{L}$  môi trường mới có bổ sung cao chiết ở các nồng độ. Cao chiết sẽ được thử nghiệm trên một dãy các nồng độ từ 3,9  $\mu\text{g/mL}$  đến 1000  $\mu\text{g/mL}$  nhằm xác định giá trị nồng độ ức chế tăng trưởng tế bào 50% (IC<sub>50</sub>) của cao chiết, đồng thời nồng độ DMSO cuối cùng trong giếng được đảm bảo không vượt quá 0,1% (v/v). Giếng đối chứng âm được thực hiện tương tự, không bổ sung cao chiết mà bổ sung DMSO 0,1%. Giếng chứng trắng cũng được thiết lập tương tự nhưng không có tế bào. Đĩa thử nghiệm được ủ trong tủ nuôi trong các khoảng thời gian khảo sát (24, 48 hoặc 72 giờ) và đọc kết quả bằng phương pháp MTT. Trong phương pháp này, 5  $\mu\text{L}$  dung dịch MTT (5 mg/ml) (Sigma Alrich, Đức) được bổ sung vào mỗi giếng thử nghiệm và ủ trong tủ nuôi trong vòng 4 giờ. Tiếp theo đó, 60  $\mu\text{L}$  dung dịch buffer A [30% (w/v) SDS; 0,03 N HCl] và 90  $\mu\text{L}$  dung dịch buffer B [99,9% (v/v) DMSO] được bổ sung vào mỗi giếng để li giải tế bào và hòa tan tinh thể formazan [25]. Mật độ quang của mỗi giếng được đo bằng máy đọc đĩa 96-giếng ở bước sóng 550 nm<sup>25</sup>.

Phần trăm ức chế tăng trưởng của cao chiết trên mỗi dòng tế bào được tính bằng công thức:

$$\text{Phần trăm ức chế tăng trưởng tế bào (I\%)} = \left( 1 - \frac{\text{OD}_{\text{giếng thử nghiệm}} - \text{OD}_{\text{giếng chứng trắng}}}{\text{OD}_{\text{giếng chứng âm}} - \text{OD}_{\text{giếng chứng trắng}}} \right) \times 100$$

### Thử nghiệm khả năng kháng di động của tế bào bằng phương pháp khép vết rạch

Các tế bào A549 được cấy vào đĩa 24 giếng với mật độ tế bào  $5 \times 10^5$  tế bào/mL. Các đĩa thử nghiệm được đặt trong tủ nuôi tế bào (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>) qua đêm cho sự bám dính của tế bào vào bề mặt nuôi cấy. Sau đó, môi trường cũ được loại bỏ, 570  $\mu\text{L}$  môi trường mới + 30  $\mu\text{L}$  mitomycin-C (nồng độ được khảo sát) (Abcam, UK) được thêm vào mỗi giếng, sau đó đĩa

được để trong tủ nuôi trong vòng 2 giờ. Kế tiếp, một vết rạch ở giữa lớp đơn tế bào đơn được tạo ra bằng đầu pipet 200- $\mu\text{L}$ , rửa giếng với dung dịch đệm PBS, sau đó môi trường cũ được thay bằng môi trường chứa 0,5% huyết thanh, bổ sung cao chiết SS7-EA ở nồng độ 600  $\mu\text{g/mL}$ . Đối chứng âm được xử lý tương tự nhưng thay cao chiết bằng 0,1% DMSO. Hình ảnh vết rạch được chụp bằng kính hiển vi camera Nikon Eclipse Ti-U (Nhật Bản) tại mốc thời điểm 0 và 48 giờ, sau đó được xử lý bằng phần mềm ImageJ (Plugin>Macros>Install>Wound\_healing\_size\_tool.ijm) để nhận diện đường viền của vết rạch và tính toán diện tích vết rạch tự động bằng phần mềm ImageJ<sup>26</sup>. Diện tích vết rạch được ghi nhận ở thời điểm 0 và 48 giờ, sau đó tính toán phần trăm khép vết rạch (W%) như công thức bên dưới, so sánh giữa mẫu có và không có xử lý cao chiết<sup>27,28</sup>.

$$\text{Phần trăm khép vết rạch (W\%)} = \left( \frac{A_{0h} - A_{48h}}{A_{0h}} \right) \times 100$$

Trong đó A<sub>0h</sub>: Diện tích vết rạch tại thời điểm 0 giờ, A<sub>48h</sub>: Diện tích vết rạch tại thời điểm 48 giờ

### Thử nghiệm khả năng gây độc của cao chiết SS7-EA lên dòng tế bào thận bình thường Vero

Các tế bào Vero được cấy vào đĩa 96 giếng với mật độ tế bào  $5 \times 10^5$  tế bào/mL, tương tự với mật độ tế bào trong thử nghiệm khép vết rạch. Sau khi tế bào bám trải, môi trường cũ được loại bỏ, 95  $\mu\text{L}$  môi trường mới + 5  $\mu\text{L}$  mitomycin-C (nồng độ cuối 1  $\mu\text{g/mL}$ ) được thêm vào mỗi giếng, để ủ trong tủ nuôi trong vòng 2 giờ, sau đó môi trường trong giếng được thay bằng môi trường chứa 0,5% huyết thanh, bổ sung cao chiết SS7-EA ở nồng độ 600  $\mu\text{g/mL}$ . Đối chứng âm được xử lý tương tự nhưng thay cao chiết bằng 0,1% DMSO. Sau 48 giờ ủ, 5  $\mu\text{L}$  dung dịch MTT (5 mg/mL) được bổ sung vào mỗi giếng thử nghiệm và ủ tiếp trong vòng 4 giờ. Sau đó, 60  $\mu\text{L}$  dung dịch buffer A (30% (w/v) SDS, 0,03 N HCl) và 90  $\mu\text{L}$  dung dịch buffer B (99,9% (v/v) DMSO) được bổ sung vào mỗi giếng để li giải tế bào và hòa tan tinh thể formazan<sup>25</sup>. Mật độ quang của mỗi giếng được đo bằng máy đọc đĩa 96-giếng ở bước sóng 550 nm và tính toán giá trị phần trăm ức chế tăng trưởng tế bào như đã trình bày ở trên<sup>25</sup>.

### Định lượng tương đối biểu hiện gene bằng qRT-PCR

Các tế bào A549 được xử lý cao chiết SS7-EA theo quy trình tương tự như thử nghiệm khả năng di động của tế bào bằng phương pháp vết rạch. Sau 48 giờ ủ, RNA tổng số từ các tế bào A549 được tách chiết bằng

kit FastPure Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2 (Vazyme, Trung Quốc). Sau đó 500 ng RNA tổng số được phiên mã ngược tạo cDNA bằng kit HiScript III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme, Trung Quốc). Tiếp đến, phản ứng qPCR được thiết lập sử dụng SensiFAST™ HRM Kit (Bioline, UK) sử dụng 1  $\mu$ L cDNA khuôn và mỗi bắt cặp đặc hiệu gene mục tiêu (nồng độ mỗi cuối trong phản ứng 250 nM) (Phù Sa, Việt Nam). Các phản ứng PCR được thực hiện trong máy Roche LightCycler® 96 Instrument (Roche Diagnostics, Đức). Điều kiện luân nhiệt như sau: 1 chu kì ở 95°C trong 3 phút, 40 chu kì với 95°C trong 5 giây, 55°C trong 10 giây, 72°C trong 10 giây. Trình tự mỗi được tham khảo từ các nghiên cứu trước<sup>29-34</sup>.  
 EZR (F): 5'-GCTTTTGTATCAGGTGGTAAAGACT  
 EZR (R): 5'-TCCACATAGTGGAGGCCAAAGT  
 FSCN1 (F): 5'-AGCTGCTACTTTGACATCGA  
 FSCN1 (R): 5'-TCATGAGGAAGAGCTCTGAGT  
 VIM (F): 5'-TGTCCAAATCGATGGATGTTTC  
 VIM (R): 5'-TTGTACCATTCTTCTGCCTCCTG  
 ZEB2 (F): 5'-TCTCGCCCGAGTGAAGCCTT  
 ZEB2 (R): 5'-GGGAGAAATTGCTTGATGGAGC  
 TWIST1 (F): GGCTCAGCTACGCCTTCTC  
 TWIST1 (R): TCCTTCTCTGAAAACAATGACA  
 MMP9 (F): GGTTTCAGGGCGAGGACCATAGAG  
 MMP9 (R): TTTGACAGCGACAAGAAGTGGG;  
 CDH2 (F): TGAAACGCCGGGATAAAGAA;  
 CDH2 (R): GGCTCCACAGTGTTCAGGCTG  
 ACTB (F): 5'-TCCTGTGGCATCCACGAAACT  
 ACTB (R): 5'-GAAGCATTTGCGGTGGACGAT.  
 Gene ACTB được sử dụng như gene tham chiếu ở các mẫu. Tỷ lệ biểu hiện gene giữa mẫu có xử lý so với mẫu không xử lý cao chiết SS7-EA được tính toán bằng công thức  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

### Xử lý dữ liệu và thống kê

Việc xử lý dữ liệu và thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism. Dữ liệu từ các lần lặp lại thí nghiệm độc lập được biểu diễn dưới dạng Giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (SD). Đồ thị tương quan giữa log nồng độ cao chiết và giá trị I% được biểu diễn dưới dạng đồ thị hồi quy phi tuyến tính (nonlinear regression). Giá trị IC<sub>50</sub> được phần mềm GraphPad nội suy từ đồ thị này với độ tin cậy 95%. So sánh sự khác biệt giá trị trung bình của hai nhóm thí nghiệm được thực hiện bằng thống kê two-tailed Student's t-test.  $P \leq 0,05$  được xem là sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê.

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

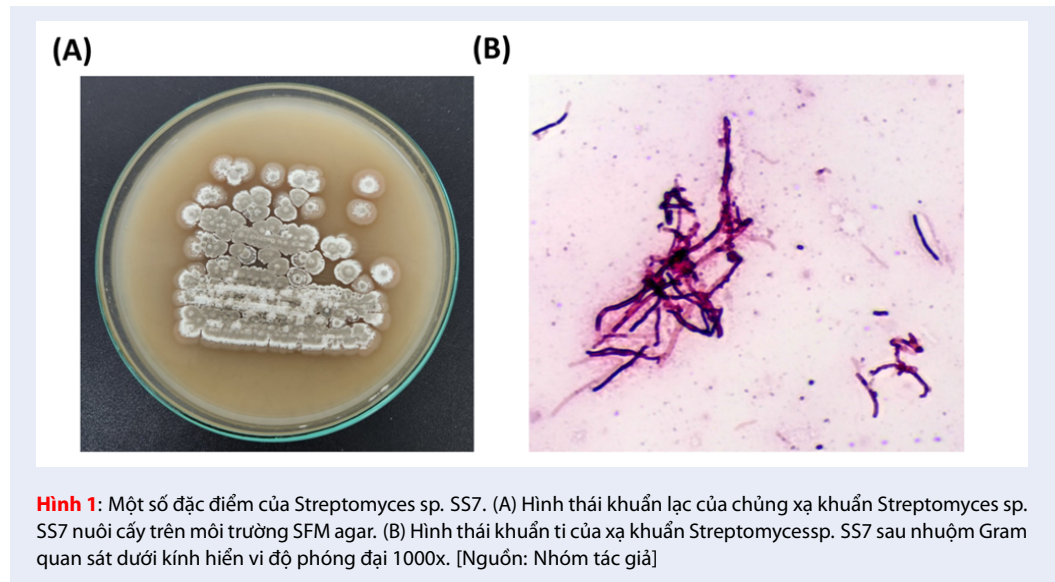
#### Khả năng gây độc của cao chiết SS7-EA trên các tế bào A549

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7 khi nuôi cấy trên môi trường SFM agar có hình thái khuẩn lạc tròn, khô, vùng rìa không đều với các khuẩn ti khí sinh mọc lan, vùng tâm màu xám đậm so với rìa (Hình 1A). Khi quan sát dưới kính hiển vi, vách tế bào của các khuẩn ti của xạ khuẩn bắt màu xanh tím của thuốc nhuộm gram crystal violet, một đặc điểm đặc trưng của vi khuẩn Gram dương (Hình 1B).

Sau khi được nuôi cấy trên môi trường SFM agar, khuẩn lạc được cấy chuyển lần lượt vào các môi trường lỏng là LB và FM3. Tiếp đó, dịch môi trường FM3 đã qua nuôi cấy được chiết với dung môi ethyl acetate (EA), sau đó cô quay và đông khô để thu được cao chiết SS7-EA. Ở nồng độ cao nhất 1000  $\mu$ g/mL, tác động ức chế khả năng tăng trưởng tế bào A549 của cao chiết SS7-EA được thể hiện sau 24 giờ ủ (I% = 37,82%), đạt được khả năng gây độc cao nhất sau 48 giờ (I% = 84,10%) và biểu hiện giảm tại mốc thời điểm 72 giờ (I% = 68,12%) (Hình 2A). Đối với nồng độ 500  $\mu$ g/mL và các nồng độ thấp hơn, tác động gây độc tế bào giảm đáng kể với I% < 50% tại cả ba mốc thời điểm (Hình 2A). Giá trị IC<sub>50</sub> của cao chiết SS7-EA trên tế bào A549 ở thời điểm 24, 48 và 72 giờ lần lượt là > 1000  $\mu$ g/ml, 645,65  $\pm$  1,88  $\mu$ g/mL, và 767,36  $\pm$  1,04  $\mu$ g/mL (Bảng 1).

Về mặt hình thái tế bào, đối với tế bào A549 đối chứng không được xử lý cao chiết, các tế bào bám trải với hình dạng đặc trưng, màng tế bào nguyên vẹn (Hình 2B). Ở nồng độ SS7-EA cao nhất (1000  $\mu$ g/mL), sự thay đổi bất thường về các đặc điểm hình thái của tế bào A549 được ghi nhận ở thời điểm 48 và 72 giờ (Hình 2B). Từ nồng độ 500  $\mu$ g/mL trở xuống, tế bào không thấy có sự thay đổi đáng kể về mặt hình thái khi so sánh với mẫu đối chứng không xử lý.

Trong các nghiên cứu trước, cao chiết ethyl acetate dịch môi trường nuôi cấy chủng xạ khuẩn phân lập từ đất (*Streptomyces lavendulae* SCA5) cho giá trị IC<sub>50</sub> 200  $\mu$ g/mL khi thử nghiệm trên dòng tế bào ung thư phổi A549<sup>35</sup>, hoặc từ biển (*Streptomyces parvulus* VITJS11) với IC<sub>50</sub> 500  $\mu$ g/mL trên dòng tế bào ung thư gan HepG2<sup>36</sup>, hay xạ khuẩn *Streptomyces* sp. BO-07 nội sinh trong cây thuốc *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf A. có giá trị IC<sub>50</sub> dưới 100  $\mu$ g/mL trên nhiều dòng tế bào ung thư gan và cổ tử cung (HepG2, Huh7, HeLa)<sup>37</sup>. Vì thế có thể thấy mặc dù thể hiện hoạt tính ức chế tăng trưởng trên dòng tế bào ung thư phổi nhưng tiềm năng ức chế tăng trưởng tế bào của cao chiết SS7-EA không cao khi so sánh với các nghiên cứu khác. Tuy nhiên các kết quả này cung cấp các dữ liệu đánh giá đầu tiên về hoạt tính kháng ung thư của



**Bảng 1:** Giá trị IC<sub>50</sub> thu nhận được trên dòng tế bào A549 tại các mốc thời điểm [Nguồn: Nhóm tác giả]

		Mốc thời điểm	Dòng tế bào A549
Nồng độ ức chế 50% sự tăng trưởng tế bào (IC <sub>50</sub> ) (μg/ml)	SS7-EA	24h	> 1000
		48h	645,7
		72h	767,4
	Doxorubicin	48h	5,0

xạ khuẩn nội sinh trong cây Trinh nữ hoàng cung nói chung và chủng xạ khuẩn SS7 nói riêng, do hiện tại không có nhiều công bố về *Streptomyces* sp. nội sinh trong loài cây này.

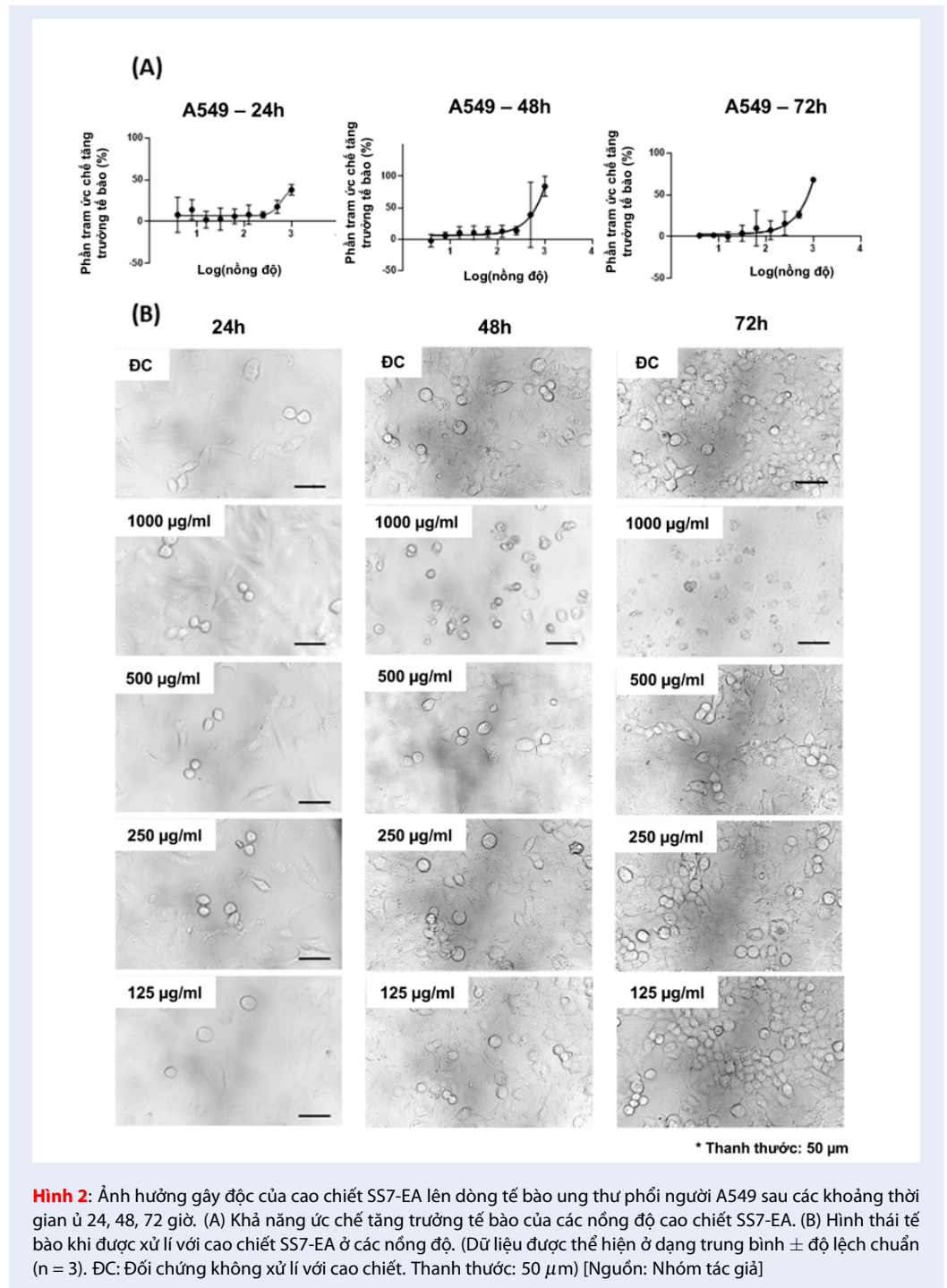
### Nồng độ mitomycin-C cho thử nghiệm khả năng khép vết rạch

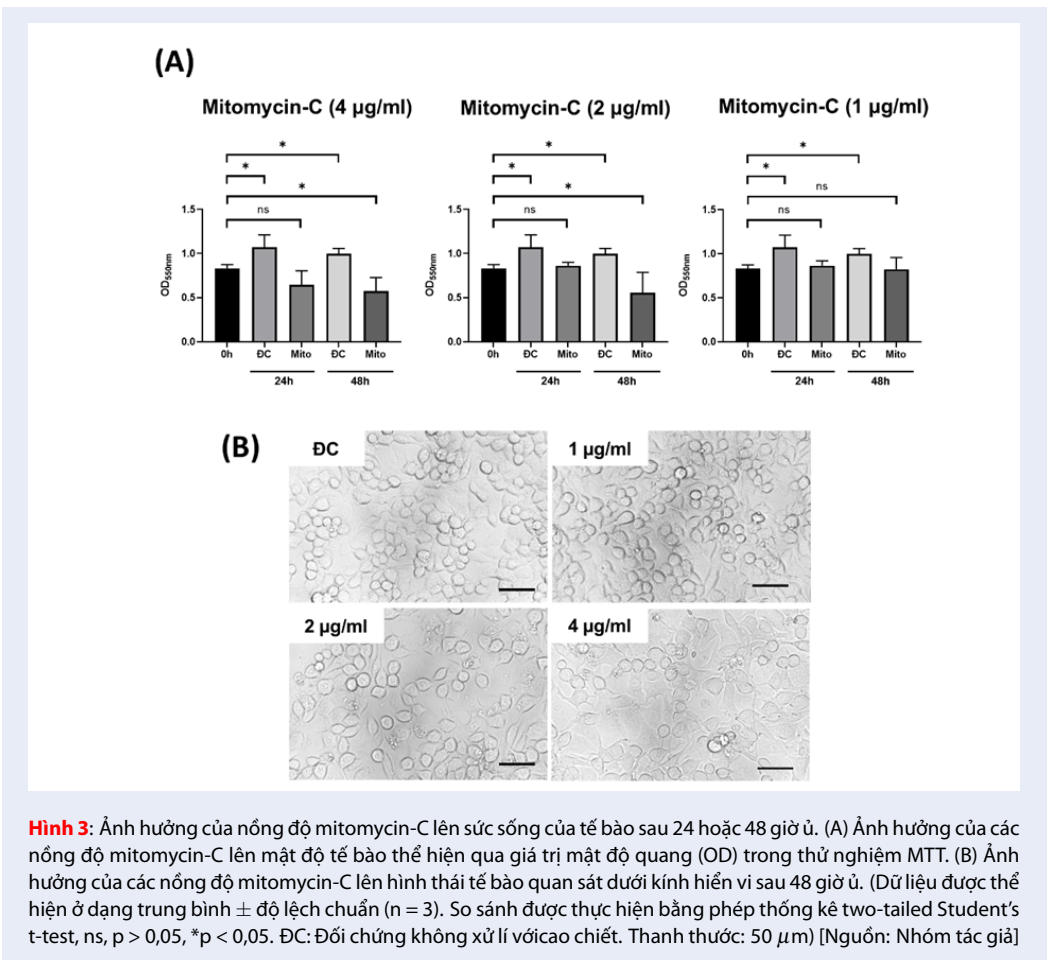
Một trong những vấn đề trong điều trị ung thư hiện nay là sự di căn của khối u, chiếm 90% số trường hợp tử vong do ung thư<sup>38</sup>. Do đó, các nghiên cứu hiện tại đang nỗ lực tìm kiếm các hợp chất có khả năng ức chế sự di động của tế bào ung thư, trong đó sự di động của tế bào được xem là bước đầu tiên của quá trình xâm lấn, di căn. Trong các mô hình thí nghiệm *in vitro*, mô hình khép vết rạch thường được sử dụng nhất cho thử nghiệm sàng lọc hoạt tính kháng sự di động của tế bào<sup>39</sup>, do đó việc sử dụng mô hình này để thử nghiệm hoạt tính của cao chiết SS7-EA. Mitomycin C (Mito-C) là một chất ức chế tổng hợp DNA nhằm hạn chế sự tăng sinh của tế bào<sup>40</sup>. Trong thử nghiệm khả năng di động khép vết rạch của tế bào, Mito-C thường được sử dụng để hạn chế sự tăng sinh của tế bào, đảm bảo loại trừ khả năng sự khép vết rạch trong thử nghiệm

này đến từ sự tăng sinh và mở rộng của quần thể<sup>41, 42</sup>.

Nồng độ Mito-C quá cao có khả năng gây độc tế bào, trong khi nồng độ thấp có thể không đủ để ức chế tăng sinh tế bào. Do đó việc khảo sát chọn ra nồng độ Mito-C phù hợp để vừa có thể ức chế tăng sinh tế bào, vừa không gây độc, đảm bảo khả năng di động của các tế bào thường được khuyến khích trước khi tiến hành thử nghiệm khép vết rạch<sup>41,42</sup>. Việc tối ưu hóa nồng độ Mito-C cho thử nghiệm khả năng khép vết rạch được thử nghiệm ở ba nồng độ: 1, 2 và 4 μg/ml, sau đó sức sống tế bào được đánh giá ở các mốc thời điểm: 0, 24 và 48 giờ. Mật độ của tế bào được đánh giá thông qua giá trị OD<sub>550nm</sub> của thử nghiệm MTT, trong khi hình thái tế bào được quan sát dưới kính hiển vi tại các mốc thời điểm.

Như thể hiện trong Hình 3A, đối với nồng độ Mito-C 4 μg/mL, mật độ tế bào A549 giảm dần theo thời gian so với mốc thời điểm 0 giờ (p = 0,048 < 0,05 tại 48 giờ). Do đó, nồng độ này không được chọn cho thử nghiệm khả năng khép vết rạch. Đối với nồng độ Mito-C là 2 μg/mL, mật độ tế bào A549 cũng giảm tại thời điểm 48 giờ khi so sánh với 0 giờ (p = 0,047 < 0,05). Đối với nồng độ Mito-C là 1 μg/mL, giá trị





OD<sub>550nm</sub> không thay đổi ở cả hai thời điểm 24 và 48 giờ ( $p > 0,05$ ), chứng tỏ sức sống của tế bào không bị ảnh hưởng khi xử lý bằng Mito-C ở nồng độ 1 µg/mL. Ngoài ra tại nồng độ 1 µg/ml này, các tế bào A549 được xử lý Mito-C cho thấy khả năng bám dính tốt vào bề mặt nuôi cấy, mật độ tương tự như các tế bào của lô đối chứng âm không xử lý Mito-C (Hình 3B). Do đó, nồng độ Mito-C 1 µg/mL đã được sử dụng cho thử nghiệm khép vết rạch để ngăn sự tăng sinh tế bào A549 mà vẫn đảm bảo Mito-C không gây ảnh hưởng đến sức sống của tế bào.

### Khả năng ức chế sự di động của tế bào A549 dưới tác động của SS7-EA

Kết quả thử nghiệm khả năng di động của tế bào A549 cho thấy, đối với quần thể tế bào A549 không xử lý cao chiết tại thời điểm 48 h, khả năng di động của các tế bào được ghi nhận với phần trăm khép vết rạch là 25,24%, trong khi phần trăm khép vết rạch của các tế bào A549 được xử lý với cao chiết SS7-EA nồng độ 600 µg/mL là 5,88%, thấp hơn 4,29 lần so với mẫu

đối chứng không xử lý ( $p = 0,0087 < 0,05$ ). Trong một nghiên cứu trước của Prateek Kumar và cs (2021), dịch chiết chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. 196 cũng cho thấy khả năng ức chế sự di động của tế bào ung thư phổi A549 khi được thử nghiệm ở dãy nồng độ từ 100 đến 1000 µg/mL, cụ thể ở nồng độ 100 µg/mL có khả năng ức chế 5,1 lần khả năng di động của tế bào tại mốc thời điểm 48h<sup>43</sup>. Trong một nghiên cứu khác, cao chiết ethyl acetate môi trường nuôi xạ khuẩn *Streptomyces* sp. 801 cũng cho thấy khả năng ức chế sự di động của các tế bào ung thư đại trực tràng SW480 và HCT116 khi được thử nghiệm ở các nồng độ 861 và 294 µg/mL<sup>24</sup>. Do đó, các kết quả đạt được cho thấy cao chiết SS7-EA có khả năng ức chế sự di động của các tế bào ung thư phổi A549, gợi ý về sự hiện diện của hợp chất kháng sự di động tế bào ung thư hiện diện trong cao chiết.

Nhiều nghiên cứu trước đây cũng đã phân lập được các hợp chất có hoạt tính kháng sự di động tế bào ung thư từ môi trường nuôi cấy xạ khuẩn. Thí dụ như hợp chất saquayamycin B phân lập từ *Streptomyces* sp. có

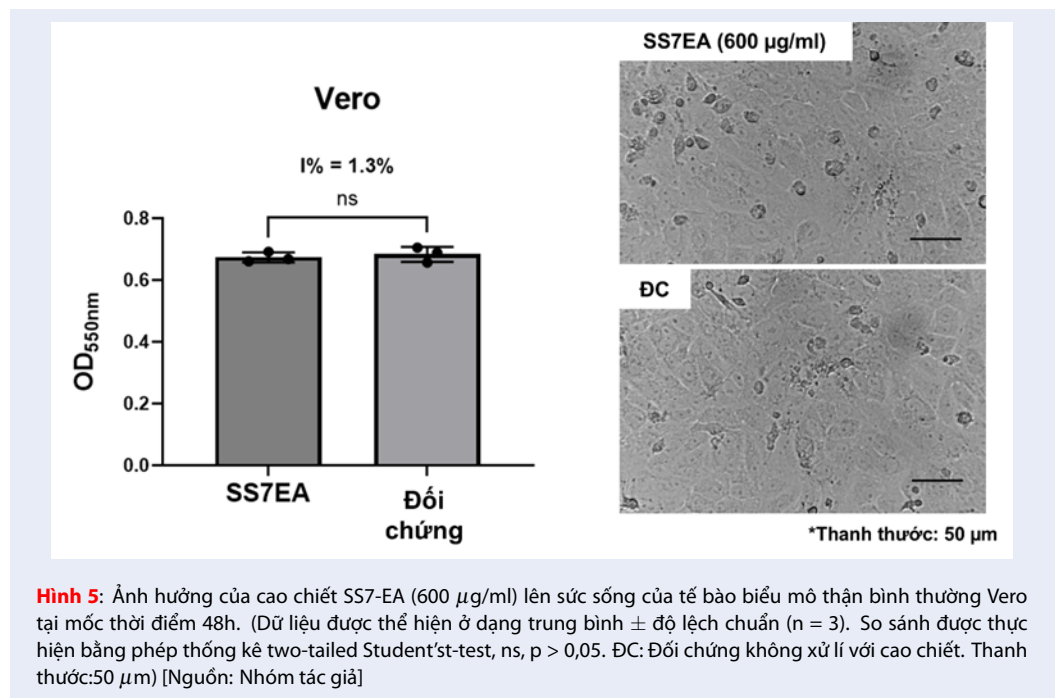
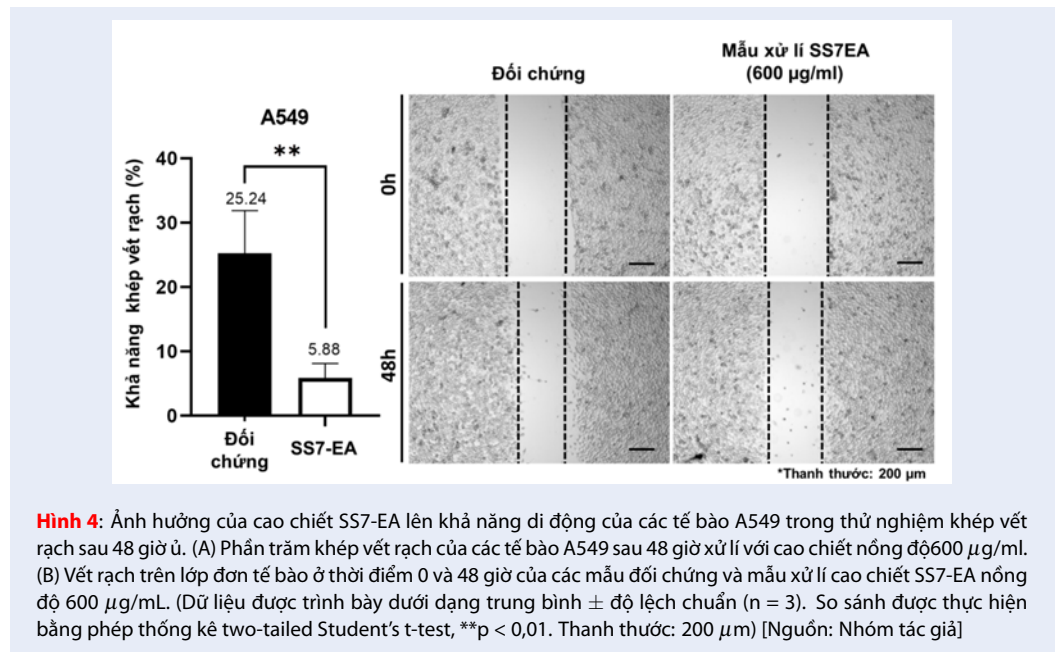
nguồn gốc biển, cho thấy hoạt tính ức chế sự di động của tế bào ung thư vú di căn MDA-MB-231<sup>44</sup>, hay hợp chất thuộc nhóm furan được sản xuất bởi *Streptomyces* sp. VN1, phân lập từ đất ở độ sâu 4 mét dưới mặt nước biển, cũng cho thấy hoạt tính ức chế sự di động trên tế bào ung thư dạ dày AGS<sup>45</sup>. Ngoài các hợp chất từ xạ khuẩn biển, một số hợp chất khác như migracins A và B được tạo ra bởi xạ khuẩn phân lập từ các mẫu đất cũng cho thấy hoạt tính ức chế sự di động của tế bào ung thư vú<sup>46</sup>. Có thể nhận thấy khi so sánh với các xạ khuẩn có nguồn gốc từ đất hoặc biển, số lượng các nghiên cứu về xạ khuẩn nội sinh trong cây thuốc vẫn còn hạn chế. Trong một nghiên cứu năm 2023, JY Xue và cộng sự đã báo cáo các hợp chất anthraquinone từ xạ khuẩn phân lập được ở rễ cây Tam thất [*Panax notoginseng* (Burk.)] có hoạt tính ức chế sự di động của tế bào ung thư phổi A549 và ung thư vú MCF-7<sup>47</sup>. Một nghiên cứu khác của R Polapally và cộng sự, năm 2022 cho thấy phân đoạn sắc tố melanin từ xạ khuẩn *Streptomyces puniceus* RHPR9 phân lập ở vùng rễ cây *Panax notoginseng* (Burk.) cũng có khả năng ức chế sự di động tế bào ung thư cổ tử cung HeLa tại nồng độ 10  $\mu\text{g/ml}$ <sup>48</sup>. Mặc dù số lượng các nghiên cứu còn ít nhưng xạ khuẩn phân lập từ cây thuốc cũng có thể là một nguồn tiềm năng để tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính kháng sự di động của tế bào ung thư. Trong bài báo này, cao chiết ethyl acetate từ dịch môi trường nuôi cấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7 phân lập từ cây Trinh nữ hoàng cung (*Crium latifolium*) cho thấy hoạt tính ức chế khả năng di động của tế bào ung thư phổi, do đó đây có thể là nền tảng cho việc mở rộng nghiên cứu, xác định và phân lập hợp chất có hoạt tính hỗ trợ điều trị ung thư.

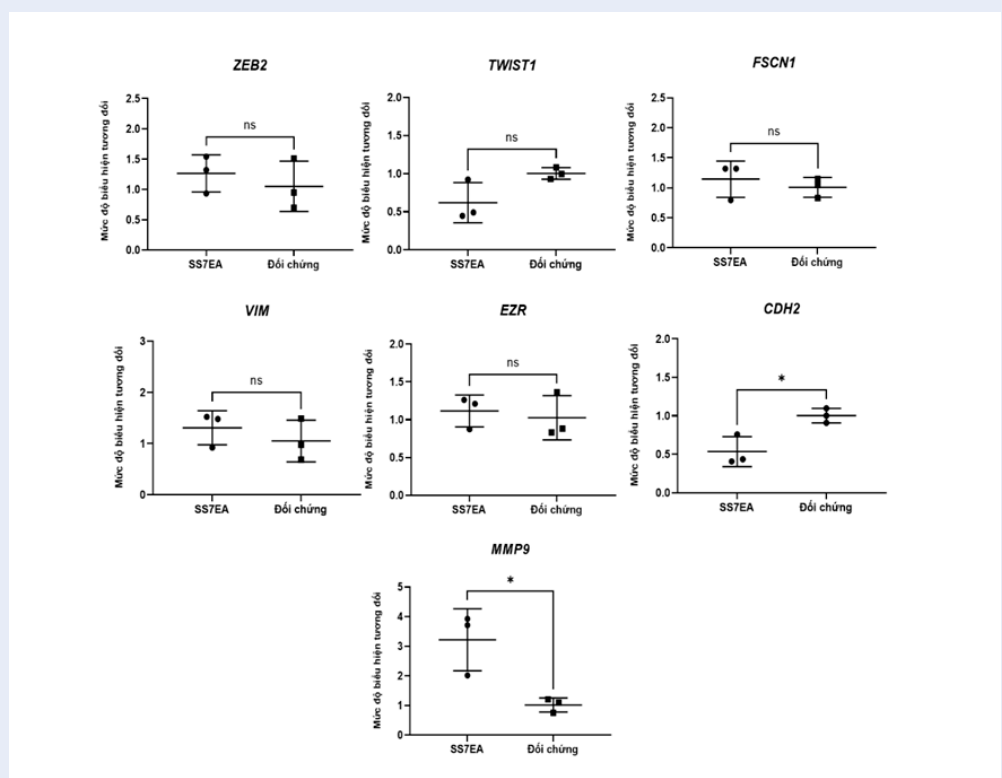
Bên cạnh đó, khi xử lý các tế bào biểu mô thận bình thường Vero với cao chiết SS7-EA tại nồng độ 600  $\mu\text{g/mL}$  cho thấy cao chiết không có ảnh hưởng gây độc lên tế bào biểu mô thận, thể hiện qua giá trị đo OD trong thử nghiệm MTT so sánh giữa mẫu có và không có xử lý cao chiết ( $p > 0,05$ ) và hình thái tế bào khi quan sát dưới kính hiển vi, với giá trị phần trăm ức chế sự tăng trưởng tế bào Vero là 1,3% (Hình 5). Theo tiêu chuẩn ISO-10993-5, trong thử nghiệm sàng lọc độc tính tế bào, giá trị phần trăm ức chế tăng trưởng tế bào lớn hơn 30% thì đối tượng thử nghiệm được xem là có khả năng gây độc tế bào. Do đó, với kết quả này, cao chiết SS7-EA tại nồng độ 600  $\mu\text{g/mL}$  có khả năng ức chế sự di động của tế bào ung thư phổi A549 đến 4,29 lần, trong khi không gây độc trên tế bào biểu mô thận bình thường, kết quả này cho thấy tiềm năng trong việc tiếp tục nghiên cứu các hợp chất hiện diện cao chiết SS7-EA đóng góp vào hoạt tính kháng sự di động của tế bào ung thư phổi.

### Ảnh hưởng của cao chiết SS7-EA lên mức độ biểu hiện mRNA của tế bào A549

Kết quả qRT-PCR kiểm tra mức độ biểu hiện của một số gene điều hòa quá trình di động của tế bào (*EZR*, *FSCN1*, *VIM*) và gene liên quan đến quá trình chuyển dạng biểu mô-trung mô (EMT) của tế bào (*ZEB2*, *TWIST1*) cho thấy không có sự thay đổi biểu hiện có ý nghĩa thống kê giữa mẫu có và không có xử lý cao chiết ( $p > 0,05$ ) (Hình 6). Tuy nhiên, gene *MMP9* mã hóa cho protein Matrix metalloproteinase 9 cũng được ghi nhận có sự gia tăng biểu hiện 2,49 lần trong mẫu có xử lý cao chiết khi so sánh với mẫu đối chứng ( $p = 0,0204 < 0,05$ ) (Hình 6). Trong khi đó, gene *CDH2*, mã hóa cho protein N-CADHERIN, cũng được ghi nhận có sự giảm biểu hiện 1,53 lần ( $p = 0,0499 < 0,05$ ) (Hình 6). Do đó có thể thấy cao chiết SS7-EA đã tác động làm thay đổi biểu hiện của các gene này, và sự thay đổi này có thể liên quan đến cơ chế ức chế quá trình di động của cao chiết dịch môi trường nuôi xạ khuẩn lên tế bào ung thư.

Gene *MMP9* mã hóa cho protein Matrix metalloproteinases-9 có khả năng phân hủy nhiều phân tử chất nền ngoại bào như collagen IV, gelatin, elastin, fibronectin, laminin. Thông thường sự gia tăng biểu hiện của *MMP9* liên quan đến dạng ác tính của khối u, tế bào ung thư có khả năng phá vỡ lớp màng nền (basement membrane) và di căn<sup>49,50</sup>. Tuy nhiên, ghi nhận thấy sự tăng biểu hiện của gene *MMP9* trong mẫu xử lý với cao chiết SS7-EA, trong khi kết quả trong thử nghiệm khép vết rạch lại cho thấy tế bào ung thư phổi A549 bị giảm khả năng di động dưới ảnh hưởng của cao chiết, do đó có hai khả năng như sau: (i) sự tăng biểu hiện của gene *MMP9* là một đáp ứng kháng của tế bào ung thư phổi với tác động của cao chiết, hoặc (ii) sự tăng biểu hiện của *MMP9* có khả năng đã gây ra sự phân hủy mạnh các protein chất nền ngoại bào như fibronectin, laminin, là thành phần hiện diện trong huyết thanh FBS hỗ trợ cho sự bám của tế bào vào bề mặt đĩa nuôi. Do đó sự phân hủy các phân tử này có thể dẫn đến tình trạng là tế bào không còn giá thể để liên kết trong quá trình di động, khiến cho khả năng khép vết rạch của tế bào bị hạn chế<sup>51</sup>. Các phân tử fibronectin, laminin cũng hiện diện trong cơ thể, là thành phần chất nền ngoại bào của các mô trung mô, liên kết với tế bào ung thư trong quá trình di động xâm lấn<sup>52-54</sup>. Ngoài ra sự điều hòa giảm ở mức phiên mã của gene *CDH2*, mã hóa cho protein N-CADHERIN. Sự gia tăng N-CADHERIN thường được ghi nhận có liên quan đến quá trình chuyển dạng EMT, sự gia tăng xâm lấn, di căn và tiên lượng xấu ở nhiều loại ung thư, trong đó có ung





**Hình 6:** Ảnh hưởng của cao chiết SS7-EA (600  $\mu\text{g/ml}$ ) lên sự biểu hiện mRNA của các gene điều hòa quá trình di động của tế bào sau 48h ủ bằng thử nghiệm qRT-PCR. (Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (n = 3). So sánh được thực hiện bằng phép thống kê two-tailed Student's t-test, \*p < 0,05, ns, p > 0,05) [Nguồn: Nhóm tác giả]

thư phổi<sup>55,56</sup>. Do đó sự điều hòa giảm biểu hiện của gene *CDH2* bởi cao chiết SS7-EA trong tế bào ung thư phổi A549 có thể là một tín hiệu tốt góp phần hạn chế sự di động và chuyển dạng ác tính của các tế bào này. Tuy nhiên với các kết quả kiểm tra biểu hiện gene ở mức mRNA vẫn cần thêm các thí nghiệm kiểm tra sự biểu hiện ở cấp độ protein như Western Blot, ELISA, hoặc thí nghiệm knockdown sự biểu hiện một số protein mục tiêu để xác định chính xác hơn về cơ chế tác động ở mức phân tử của cao chiết ảnh hưởng lên sự di động của tế bào ung thư.

Với những kết quả ghi nhận khả năng kháng sự di động tế bào ung thư của cao chiết SS7-EA, có thể cần có thêm những nghiên cứu tiếp tục để khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy lên khả năng sản xuất hợp chất thứ cấp của xạ khuẩn, thí dụ như thời gian, nhiệt độ nuôi cấy, pH ban đầu và sau nuôi cấy, tỉ lệ cấy giống, tốc độ lắc...<sup>57</sup>. Ngoài ra các nghiên cứu tiếp theo cũng có thể thực hiện thêm phân tích phổ hợp chất thứ cấp trong mẫu cao SS7-EA bằng phương pháp khối phổ theo thời gian bay (QTOF) để có thông tin rõ hơn về các thành phần hợp chất trong cao chiết,

tiến đến phân lập và khảo sát khả năng kháng ung thư của các hợp chất hiện diện trong cao chiết ethyl acetate dịch môi trường nuôi cấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7.

## KẾT LUẬN

Các kết quả khảo sát cho thấy cao chiết ethyl acetate dịch môi trường nuôi cấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. SS7 phân lập được từ cây Trinh nữ hoàng cung thể hiện khả năng gây độc, ức chế tăng trưởng các tế bào ung thư phổi A549 ở nồng độ trên 500  $\mu\text{g/mL}$ . Đặc biệt, khi sử dụng ở nồng độ 600  $\mu\text{g/mL}$ , cao chiết SS7-EA có khả năng ức chế sự di động của tế bào ung thư phổi 4,29 lần trong thử nghiệm khả năng khép vết rạch. Các kết quả khảo sát biểu hiện gene cho thấy tác động ức chế sự di động của cao chiết SS7-EA có thể liên quan đến sự điều hòa tăng biểu hiện 2,49 lần của gene *MMP9*, và sự điều hòa giảm biểu hiện của gene *CDH2* 1,53 lần. Do đó nhiều nghiên cứu tiếp theo cần được tiến hành để phân lập và xác định các thành phần hợp chất trong cao chiết đóng góp vào hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi, cũng như làm

rõ hơn về cơ chế ức chế sự động tế bào ung thư phổi ở cấp độ protein, góp phần vào công cuộc tìm kiếm các hợp chất mới có hoạt tính điều trị ung thư di căn.

## DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

OD Optical density  
 cDNA Complementary deoxyribonucleic acid  
 DMSO Dimethyl sulfoxide  
 ĐC Đối chứng  
 IC50 50% cell-growth inhibitory concentration  
 I% Cell-growth inhibitory percentage  
 MTT 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide  
 Mito-C Mitomycin C  
 qRT-PCR Quantitative reverse transcription – polymerase chain reaction

## XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả đồng ý không có bất kỳ xung đột lợi ích nào liên quan đến các kết quả đã công bố.

## ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Trương Thị Bích Ngọc thực hiện thí nghiệm, thu thập, xử lý dữ liệu và viết bản thảo, chỉnh sửa bản thảo sau vòng phản biện.

Nguyễn Lưu Minh Hạnh thực hiện các thí nghiệm, thu thập và xử lý các dữ liệu.

Trần Hoàng Ngâu nuôi cấy xạ khuẩn, phân tích hình thái xạ khuẩn, thu nhận dịch môi trường và chiết cao, sàng lọc sơ bộ hoạt tính kháng ung thư của cao chiết.

Võ Anh Kiệt hỗ trợ nuôi cấy tế bào.

Nguyễn Hoàng Chương cung cấp chủng xạ khuẩn, định hướng nghiên cứu.

Đặng Thị Phương Thảo định hướng nghiên cứu, lên kế hoạch nghiên cứu, góp ý và hoàn chỉnh bản thảo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Procópio RE, Silva IR, Martins MK, Azevedo JL, Araújo JM. Antibiotics produced by Streptomyces. The Brazilian Journal of Infectious Diseases : an Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases. 2012;16(5):466–71. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014>.
2. Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Meier-Kolthoff JP, et al. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR. 2015;80(1):1–43. Available from: <https://doi.org/10.1128/mmb.00019-15>.
3. Nguyễn VTH, Sơn CK, Tuyền PQ. Phân loại và nghiên cứu đặc tính của xạ khuẩn nội sinh YBQ75 phân lập từ cây Quế (Cinnamomum cassia Presl). Tạp Chí Công nghệ Sinh học. 2018;16(1):149–55.
4. Sivalingam P, Hong K, Pote J, Prabakar K. Extreme environment Streptomyces: potential sources for new antibacterial and anticancer drug leads? International Journal of Microbiology. 2019;2019(1). Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/5283948>.

5. Alam K, Mazumder A, Sikdar S, Zhao YM, Hao J, Song C, et al. Streptomyces: the biofactory of secondary metabolites. Frontiers in Microbiology. 2022;13. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.968053>.
6. Sivalingam P, Hong K, Pote J, Prabakar K. Extreme Environment Streptomyces: Potential Sources for New Antibacterial and Anticancer Drug Leads? International Journal of Microbiology. 2019;2019. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/5283948>.
7. Quinn GA, Banat AM, Abdelhameed AM, Banat IM. Streptomyces from traditional medicine: sources of new innovations in antibiotic discovery. Journal of Medical Microbiology. 2020;69(8):1040–8. Available from: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001232>.
8. Passari AK, Mishra VK, Saikia R, Gupta VK, Singh BP. Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinomycetes associated with medicinal plants and screening for their in vitro antimicrobial biosynthetic potential. Frontiers in Microbiology. 2015;6:273. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00273>.
9. Sivalingam P, Easwaran M, Ganapathy D, Basha SF, Poté J. Endophytic Streptomyces: an underexplored source with potential for novel natural drug discovery and development. Archives of Microbiology. 2024;206(11):442. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04169-z>.
10. Passari AK, Leo VV, Singh G, Samanta L, Ram H, Siddaiah CN, et al. In vivo studies of inoculated plants and in vitro studies utilizing methanolic extracts of endophytic Streptomyces sp. strain DBT34 obtained from Mirabilis jalapa L. exhibit ROS-scavenging and other bioactive properties. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(19):7364. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms21197364>.
11. Gos FM, Savi DC, Shaaban KA, Thorson JS, Aluizio R, Possiede YM, et al. Antibacterial activity of endophytic actinomycetes isolated from the medicinal plant Vochysia divergens (Pantanal, Brazil). Frontiers in Microbiology. 2017;8:1642. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01642>.
12. Conti R, Chagas FO, Caraballo-Rodriguez AM, Melo WG, do Nascimento AM, Cavalcanti BC, et al. Endophytic actinobacteria from the Brazilian medicinal plant Lychnophora ericoides Mart. and the biological potential of their secondary metabolites. Chemistry & Biodiversity. 2016;13(6):727–36. Available from: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500225>.
13. Yang X, Yang Y, Peng T, Yang F, Zhou H, Zhao L, et al. A new cyclopeptide from endophytic Streptomyces sp. YIM 64018. Natural product communications 8(12):1934578X1300801225. 2013; Available from: <https://doi.org/10.1177/1934578X130080122>.
14. Shi Y, Zhang X, Lou K. Isolation, characterization, and insecticidal activity of an endophyte of drunken horse grass, Achnatherum inebrians. Journal of Insect Science. 2013;13(1):151. Available from: <https://doi.org/10.1673/031.013.15101>.
15. Khieu TN, Liu MJ, Nimaichand S, Quach NT, Chu-Ky S, Phi QT, et al. Characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effects of Streptomyces sp. HUST012 isolated from medicinal plant Dracaena cochinchinensis Lour. Frontiers in Microbiology. 2015;6:574. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00574>.
16. Thảo PTH, Linh NVM, Liên NTH, Tâm NKB, NV H. Xạ khuẩn nội sinh Streptomyces Parvulus HNR3X4 trên cây Bưởi Diên Hà Nội và tiềm năng sinh tổng hợp chất kháng khuẩn. Tạp Chí Khoa Học ĐHQGHN: Khoa Học Tự Nhiên và Công Nghệ. 2016;32:327–33.
17. Qin S, Li J, Chen HH, Zhao GZ, Zhu WY, Jiang CL, et al. Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. Applied and Environmental Microbiology. 2009;75(19):6176–86. Available from: <https://doi.org/10.1128/AEM.01034-09>.

18. Truong PM, Le HT, Pham HT, Nguyen MT, Nguyen CH. Study of the antimicrobial activity of endophytic Streptomyces strains isolated from *Crinum latifolium*. *Journal of Nature and Science*. 2017;1:69–77.
19. Qin S, Li J, Chen HH, Zhao GZ, Zhu WY, Jiang CL, et al. Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75(19):6176–86. Available from: <https://doi.org/10.1128/AEM.01034-09>.
20. Ngau TH, Ngoc TT, Thi YNL, Chuong NH, Thao DT. Anticancer property of marine coral-derived Streptomyces sp. SS162 against A549 lung adenocarcinoma cancer cells. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2023;13(10):188–98. Available from: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.144118>.
21. Tan LT, Ser HL, Yin WF, Chan KG, Lee LH, Goh BH. Investigation of antioxidative and anticancer potentials of Streptomyces sp. MUM256 isolated from Malaysia mangrove soil. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6:1316. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01316>.
22. Ser HL, Mutalib NSA, Yin WF, Chan KG, Goh BH, Lee LH. Evaluation of antioxidative and cytotoxic activities of Streptomyces pluripotens MUSC 137 isolated from mangrove soil in Malaysia. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6:1398. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01398>.
23. Tangjitjaroenkun J. Evaluation of antioxidant, antibacterial and gas chromatography-mass spectrometry analysis of ethyl acetate extract of Streptomyces omiyaensis sch2. *Evaluation*. 2018;10(10.22159). Available from: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i7.25692>.
24. Kouroshnia A, Zeinali S, Irani S, Sadeghi A. Induction of apoptosis and cell cycle arrest in colorectal cancer cells by novel anticancer metabolites of Streptomyces sp. 801. *Cancer Cell International*. 2022;22(1):235. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02656-1>.
25. Nga NT, Ngoc TT, Trinh NT, Thuoc TL, Thao DT. Optimization and application of MTT assay in determining density of suspension cells. *Analytical Biochemistry*. 2020;610. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113937>.
26. Suarez-Arnedo A, Figueroa FT, Clavijo C, Arbeláez P, Cruz JC, Muñoz-Camargo C. An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. *PLoS One*. 2020;15(7). Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232565>.
27. Almeida VM, Bezerra MA, Nascimento JC, Amorim LM. Anticancer drug screening: standardization of in vitro wound healing assay. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2019;55(6):606–19. Available from: <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20190054>.
28. Modeling and predicting the cell migration properties from scratch wound healing assay on cisplatin-resistant ovarian cancer cell lines using artificial neural network. *Healthcare*. MDP; 2021. Available from: <https://doi.org/10.3390/healthcare9070911>.
29. Zeng H, Xu L, Xiao D, Zhang H, Wu X, Zheng R, et al. Altered expression of ezrin in esophageal squamous cell carcinoma. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*. 2006;54(8):889–96. Available from: <https://doi.org/10.1369/jhc.5A6881.2006>.
30. Rogel MR, Soni PN, Troken JR, Sitikov A, Trejo HE, Ridge KM. Vimentin is sufficient and required for wound repair and remodeling in alveolar epithelial cells. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2011;25(11):3873–83. Available from: <https://doi.org/10.1096/fj.10-170795>.
31. Nam EH, Lee Y, Park YK, Lee JW, Kim S. ZEB2 upregulates integrin  $\alpha 5$  expression through cooperation with Sp1 to induce invasion during epithelial-mesenchymal transition of human cancer cells. *Carcinogenesis*. 2012;33(3):563–71. Available from: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs005>.
32. Guan X, Bidlack FB, Stokes N, Bartlett JD. E-cadherin can replace N-cadherin during secretory-stage enamel development. *PLoS One*. 2014;9(7). Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102153>.
33. Lankadasari MB, Aparna JS, Mohammed S, James S, Aoki K, Binu VS, et al. Targeting S1PR1/STAT3 loop abrogates desmoplasia and chemosensitizes pancreatic cancer to gemcitabine. *Theranostics*. 2018;8(14):3824–40. Available from: <https://doi.org/10.7150/thno.25308>.
34. Xiang T, Li L, Yin X, Yuan C, Tan C, Su X, et al. The ubiquitin peptidase UCHL1 induces G0/G1 cell cycle arrest and apoptosis through stabilizing p53 and is frequently silenced in breast cancer. *PLoS One*. 2012;7(1). Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029783>.
35. Kumar PS, Al-Dhabi NA, Duraipandiyar V, Balachandran C, Kumar PP, Ignacimuthu S. In vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxic properties of Streptomyces lavendulae strain SCA5. *BMC Microbiology*. 2014;14(1):291. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0291-6>.
36. Naine SJ, Devi CS, Mohanasrinivasan V, B V. Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activity of Marine Streptomyces parvulus VITJ511 Crude Extract. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2014;58(2):198–207. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201400173>.
37. Taechowisan T, Chaisaeng S, Phutdhawong WS. Antibacterial, antioxidant and anticancer activities of biphenyls from Streptomyces sp. BO-07: an endophyte in Boesenbergia rotunda (L.) Mansf A. *Food and Agricultural Immunology*. 2017;28(6):1330–46. Available from: <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1339669>.
38. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020;5(1):28. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0134-x>.
39. Mouritzen MV, Jenssen H. Optimized scratch assay for in vitro testing of cell migration with an automated optical camera. *Journal of Visualized Experiments*. 2018;57691(138). Available from: <https://doi.org/10.3791/57691>.
40. Santhiago MR, Netto MV, Wilson SE. Mitomycin C: biological effects and use in refractive surgery. *Cornea*. 2012;31(3):311–21. Available from: <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e31821e429d>.
41. Grada A, Otero-Vinas M, Prieto-Castrillo F, Obagi Z, Falanga V. Research techniques made simple: analysis of collective cell migration using the wound healing assay. *The Journal of Investigative Dermatology*. 2017;137(2):e11–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.11.020>.
42. Varankar SS, Bapat SA. Migratory metrics of wound healing: a quantification approach for in vitro scratch assays. *Frontiers in Oncology*. 2018;8:633. Available from: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00633>.
43. Kumar P, Chauhan A, Kumar M, Kuanr BK, Kundu A, Solanki R, et al. In vitro and in silico anticancer potential analysis of Streptomyces sp. extract against human lung cancer cell line, A549. 2021;11(6):254. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02812-w>.
44. Qu XY, Ren JW, Peng AH, Lin SQ, Lu DD, Du QQ, et al. Cytotoxic, anti-migration, and anti-invasion activities on breast cancer cells of angucycline glycosides isolated from a marine-derived Streptomyces sp. *Marine Drugs*. 2019;17(5):277. Available from: <https://doi.org/10.3390/md17050277>.
45. Nguyen HT, Pokhrel AR, Nguyen CT, Pham VT, Dhakal D, Lim HN, et al. Streptomyces sp. VN1, a producer of diverse metabolites including non-natural furan-type anticancer compound. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1756. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58623-1>.
46. Arai Y, Iinuma H, Ikeda Y, Igarashi M, Hatano M, Kinoshita N, et al. Migracins A and B, new inhibitors of cancer cell migration, produced by Streptomyces sp. *The Journal of Antibiotics*. 2013;66(4):225–30. Available from: <https://doi.org/10.1038/ja.2012.112>.
47. Xue JY, Wu YY, Han YL, Song XY, Zhang MY, Cheng J, et al. Anthraquinone metabolites isolated from the rhizosphere soil

- Streptomyces of Panax notoginseng (Burk.) F. H. Chen target MMP2 to inhibit cancer cell migration. *Journal of Ethnopharmacology*. 2023;312. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116457>.
48. Polapally R, Mansani M, Rajkumar K, Burgula S, Hameeda B, Alhazmi A, et al. Melanin pigment of *Streptomyces puniceus* RHPR9 exhibits antibacterial, antioxidant and anticancer activities. 2022;17(4):e0266676. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266676>.
  49. Gong L, Wu D, Zou J, Chen J, Chen L, Chen Y, et al. Prognostic impact of serum and tissue MMP-9 in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2016;7(14):18458–68. Available from: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7607>.
  50. Barillari G. The impact of matrix metalloproteinase-9 on the sequential steps of the metastatic process. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(12):4526. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms21124526>.
  51. Friedl P, Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*. 2011;147(5):992–1009.
  52. Meng XN, Jin Y, Yu Y, Bai J, Liu GY, Zhu J. Characterisation of fibronectin-mediated FAK signalling pathways in lung cancer cell migration and invasion. *British Journal of Cancer*. 2009;101(2):327–34.
  53. Wang Y, Dong H, Xu M, Xin B, Niu W, Xu D. 37-kDa laminin receptor precursor promotes lung adenocarcinoma cell invasion and metastasis by epithelial-to-mesenchymal transition. *Cancer Gene Therapy*. 2014;21(4):150–7.
  54. Jia D, Yan M, Wang X, Hao X, Liang L, Liu L. Development of a highly metastatic model that reveals a crucial role of fibronectin in lung cancer cell migration and invasion. *BMC Cancer*. 2010;10(1):364.
  55. Cao ZQ, Wang Z, Leng P. Aberrant N-cadherin expression in cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biom&#x00E9;decine & Pharmacoth&#x00E9;rapie*. 2019;118.
  56. Hui L, Zhang S, Dong X, Tian D, Cui Z, Qiu X. Prognostic significance of twist and N-cadherin expression in NSCLC. *PLoS One*. 2013;8(4).
  57. Lertcanawanichakul M, Sahabuddeen T. Characterization of *Streptomyces* sp. KB1 and its cultural optimization for bioactive compounds production. *PeerJ*. 2023;11.

# Anticancer activity of secondary metabolites against human lung cancer cell line from *streptomyces* sp. ss7's cultured medium

Tran Hoang Ngau<sup>1</sup>, Truong Thi Bich Ngoc<sup>1,2</sup>, Nguyen Luu Minh Hanh<sup>1</sup>, Vo Anh Kiet<sup>2,3</sup>,  
Nguyen Hoang Chuong<sup>2</sup>, Dang Thi Phuong Thao<sup>1,2,3,\*</sup>



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## ABSTRACT

*Streptomyces* sp., belonging to Gram-positive bacteria, is well-known as a factory producing secondary metabolites that play a vital role in the pharmaceutical industry. Compounds derived from *Streptomyces* sp. exhibit a wide range of biological activities, such as antioxidant, antibacterial, antiviral, immunosuppressive, and especially anticancer properties. Many important anticancer agents that originated from *Streptomyces* sp. have made significant contributions to the medical field, including actinomycin D, mitomycin D, bleomycin, doxorubicin, and streptozotocin. Therefore, in the quest for new bioactive compounds, *Streptomyces* sp. strains have attracted great interest from scientists, among which endophytic *Streptomyces* sp. from medicinal plants are emerging as a promising source for isolation. The ethyl acetate extract of the culture medium of *Streptomyces* sp. SS7, isolated from the medicinal plant *Crinum latifolium*, was investigated for its anticancer potential on the A549 lung cancer cell line using the MTT assay. The results showed that the IC<sub>50</sub> values of this cell line at 48 h and 72 h were  $645.65 \pm 1.88 \mu\text{g/mL}$  and  $767.36 \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$ , respectively. Furthermore, the SS7-EA extract inhibited A549 cell migration by 4.29 times in the wound-healing assay. These observations lay the groundwork for further research on the *Streptomyces* sp. SS7 strain, aiming to identify and isolate bioactive secondary metabolites with potential applications supporting cancer treatment.

**Key words:** *Streptomyces* sp., *Crinum latifolium*, anticancer activity, lung cancer

<sup>1</sup>Department of Molecular and Environmental Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu, Ho Chi Minh City, Vietnam, 700000

<sup>2</sup>Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vo Truong Toan, Linh Trung, Thu Duc, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Laboratory of Molecular Biotechnology, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu, Ho Chi Minh City, Vietnam

## Correspondence

**Dang Thi Phuong Thao**, Department of Molecular and Environmental Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu, Ho Chi Minh City, Vietnam, 700000

Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vo Truong Toan, Linh Trung, Thu Duc, Ho Chi Minh City, Vietnam

Laboratory of Molecular Biotechnology, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: thaodp@hcmus.edu.vn

**Cite this article :** Ngau T H, Ngoc T T B, Hanh N L M, Kiet V A, Chuong N H, Thao D T P. Anticancer activity of secondary metabolites against human lung cancer cell line from *streptomyces* sp. ss7's cultured medium. VNUHCM J. Adv. Res. Nat. Sci. 2026; 10(1):3598-3611.