

Nghiên cứu đánh giá hoạt tính ức chế sự tăng sinh, di cư và xâm lấn của prodigiosin trên dòng tế bào ung thư gan Hep3B in vitro

Đỗ Minh Trung¹, Đỗ Quyết¹, Hồ Anh Sơn¹, Phạm Thế Tài¹
Nguyễn Linh Toàn¹, Đỗ Thị Tuyên², Mai Thị Minh Ngọc³, Nguyễn Thị Ngọc Hà³

¹Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

²Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trường Đại học Mở Hà Nội

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá hoạt tính của hợp chất prodigiosin (PG) trên dòng tế bào ung thư gan (Hep3B).

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Hợp chất PG tách chiết từ dịch lên men vi khuẩn *S. marcescens* sp HVQY tái tổ hợp được sử dụng để đánh giá hoạt tính ức chế sự tăng sinh, di cư, xâm lấn trên dòng tế bào Hep3B. Hoạt tính PG ức chế sự tăng sinh của tế bào Hep3B được đánh giá bằng xét nghiệm MTT và tính nồng độ ức chế 50% tế bào (IC₅₀). Đánh giá hoạt tính ức chế khả năng di cư và xâm lấn của tế bào bằng cách rạch trên bề mặt tế bào nuôi cấy bằng dụng cụ chuyên dụng. Đo diện tích khoảng trống còn lại của vết rạch sau khi tế bào ung thư di cư, xâm lấn che phủ ở giai đoạn 0 giờ (trước khi tiếp xúc với PG), 24 giờ và 48 giờ.

Kết quả: PG làm thay đổi hình dạng tế bào, ức chế mạnh sự tăng sinh và gây chết tế bào ung thư HEP 3B, với IC₅₀ là 4,8 µg/ml. Sau 24 và 48 giờ,

PG ức chế khả năng di cư và xâm lấn của tế bào Hep3B thông qua diện tích che phủ bề mặt dụng cụ nuôi cấy bị giảm so với nhóm đối chứng.

Kết luận: Prodigiosin ức chế sự tăng sinh, di cư và xâm lấn các tế bào ung thư gan Hep3B in vitro.

Từ khóa: Prodigiosin, Hep3B, *Serratia marcescens*, Tế bào ung thư.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Prodigiosin (PG) là một chất chuyển hóa alkaloid thứ cấp có màu đỏ, công thức hóa học là C₂₀H₂₅N₃O. PG thường được tổng hợp bởi vi khuẩn *Serratia* sp, *Pseudomonas* sp, *Streptomyces* sp và *Vibrio* sp [1]. PG đã được xác định có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm và kháng tế bào ung thư [2]. Từ năm 1952, Wier R.H và cộng sự đã sử dụng PG thử nghiệm lâm sàng và có hiệu quả trong điều trị bệnh nhiễm nấm *Coccidioidomycosis*, gây sốt và tổn thương da cho 14 bệnh nhân [3] PG được chứng minh có khả năng gây chết theo chu trình (apoptosis) tế bào

Ngày nhận bài: 18/11/2020

Ngày phản biện: 16/12/2020

Ngày chấp nhận đăng: 30/12/2020

ung thư, đứt gãy DNA và thay đổi pH nội bào [4]. Nhiều nghiên cứu cho thấy PG có tác dụng kháng mạnh đối với 57 loại tế bào ung thư khác nhau và không có độc tính đối với các tế bào bình thường [5]. Trên cơ sở chế phẩm PG tách chiết, tinh sạch từ dịch lên men chủng vi khuẩn *S. marcescens* sp HVQY tái tổ hợp, chế phẩm PG đã được đánh giá được hoạt tính PG kháng khuẩn, kháng nấm, ức chế một số dòng tế bào ung thư và đánh giá được tính an toàn của chế phẩm PG. Trong nghiên cứu này, cùng nhóm tác giả, chế phẩm PG được tiếp tục đánh giá hoạt tính ức chế sự tăng sinh, di cư và xâm lấn trên dòng tế bào ung thư gan Hep3B nhằm định hướng tạo sản phẩm có hoạt tính kháng tế bào ung thư.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Chế phẩm Prodigiosin được thu nhận từ vi khuẩn *Serratia* sp. HVQY tái tổ hợp được cung cấp từ đề tài mã số ĐT.07.17/CNSHCB do Học viện Quân y chủ trì.

Dòng tế bào ung thư gan Hep3B (hãng ATCC, Mỹ) được sử dụng làm mô hình đánh giá hoạt tính PG ức chế sự tăng sinh, di cư và xâm lấn *in vitro*.

Hóa chất, vật tư tiêu hao và Thiết bị nghiên cứu chính: môi trường RPMI, FBS (Fetal Bovine Serum), Penicillium-Streptomyces, Trypsin-EDTA (Gibco, Mỹ), MTT, DMSO (Sigma, Mỹ), HCl, Isopropanol (Merck, Đức). Flask T75, Plate 96 giếng, Pippet nhựa 5ml, 10ml (Corning, Mỹ) và các hóa chất vật tư khác được cung cấp từ các hãng có uy tín trên thế giới.

Kính hiển vi soi ngược Olympus IX83 (Olympus, Nhật Bản), Hệ thống DTX 880 (Backman Coulter, Mỹ), Tủ cấy (Bioair, Mỹ), Tủ ấm CO₂ (Nuair, Mỹ), Bể ổn nhiệt (Shellab, Mỹ), Máy ly tâm Rotanda 460 (Henttich, Đức)...

Phương pháp nghiên cứu

Nuôi cấy tăng sinh tế bào

Để sử dụng dòng tế bào ung thư gan Hep3B làm mô hình đánh giá hoạt tính kháng tế bào ung thư của prodigiosin. Dòng tế bào Hep3B được giải đông hoặc cấy chuyển được nuôi cấy trong môi trường RMPI (RMPI bổ sung 10% FBS, 1% penicillin và Streptomycin (Gibco, Mỹ), nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂. Tế bào được nuôi cấy đến khi đạt được mật độ khoảng 80% diện tích bề mặt nuôi cấy, tiến hành cấy chuyển mới để tiến hành cho các thí nghiệm tiếp theo.

Đánh giá hoạt tính ức chế sự tăng sinh tế bào Hep 3B của PG bằng kỹ thuật MTT

Đánh giá hoạt tính kháng tế bào ung thư của prodigiosin dựa trên Kỹ thuật MTT (dựa theo Mosmann T., 1983 [6]; Đỗ Minh Trung và CS., 2018 [7]: Tế bào Hep3B được cấy chuyển và nuôi cấy trong đĩa 96 giếng (Corning, Mỹ). Tế bào được tiếp xúc với: prodigiosin được chuẩn bị ở những nồng độ khác nhau (0,25 µg/ml; 0,5 µg/ml; 1 µg/ml; 2 µg/ml; 4 µg/ml; 6 µg/ml; 8 µg/ml và 10 µg/ml); DMSO và nhóm đối chứng (RPMI) là tế bào được nuôi cấy bình thường không tiếp xúc với prodigiosin. Sau 24 giờ tiếp xúc với PG bổ sung dung dịch MTT 5 mg/ml (Sigma, Mỹ) lần lượt được thêm vào các giếng nuôi cấy tế bào. Các tế bào sống hoạt động sinh ra các dehydrogenase gây ra phản ứng khử MTT tạo ra các tinh thể formazan có màu tím. Lượng tinh thể formazan được tạo ra trong thử nghiệm nhiều hay ít sẽ phản ánh hoạt tính ức chế tế bào của PG mạnh hay yếu. Số lượng tinh thể formazan tạo thành được đánh giá bằng phương pháp đo mật độ quang OD ở bước sóng 595nm (Hệ thống DTX 880 - Backman Coulter, Mỹ).

Kết quả đánh giá hoạt tính PG ảnh hưởng đến tế bào nuôi cấy bằng sự nguyên vẹn về hình thái tế bào khi quan sát dưới kính hiển vi soi ngược (Olympus IX83-Olympus, Nhật Bản) và sự tăng sinh của tế bào bằng kết quả đo OD lượng tinh thể formazan

của phản ứng MTT. Các thí nghiệm được lặp lại 6 lần ($n=6$).

Tính liều ức chế 50% tế bào (IC_{50}):

Căn cứ kết quả kết quả thử nghiệm MTT, tính tỷ lệ phần trăm tế bào sống trong các giếng có bổ sung PG tiếp xúc với tế bào so với nhóm chứng không bổ sung PG. Dựa trên tỷ lệ tế bào sống trong các nhóm nghiên cứu và nồng độ PG sử dụng, lập phương trình hồi quy tuyến tính giữa tỷ lệ tế bào sống ($Y, \%$) và nồng độ PG ($X, \mu\text{g/ml}$).

Phương trình hồi quy tuyến tính có dạng: $Y = ax + b$. Từ phương trình hồi quy tuyến tính, tính liều ức chế 50% tế bào (IC_{50}) của PG ở thời điểm 24 giờ và 48 giờ trên các dòng tế bào ung thư theo công thức:

$$IC_{50} = (50 - b) / a$$

(a, b lấy từ phương trình hồi quy tuyến tính $Y = ax + b$)

Thời điểm đánh giá: sau 24 giờ cho tế bào tiếp xúc với các mẫu nghiên cứu trong môi trường nuôi cấy.

Đánh giá hoạt tính PG ức chế khả năng di cư xâm lấn của tế bào ung thư Hep3B

Để đánh giá khả năng xâm lấn và di cư của tế bào ung thư. Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp của Pordi Pijuan và CS [8] có điều chỉnh cho phù hợp với phòng thí nghiệm. Tế bào ung thư được nuôi cấy tăng sinh đủ số lượng sẽ được cấy chuyển sang đĩa 24 giếng và được nuôi cấy đến khi đạt khoảng 80 -90% diện tích bề mặt nuôi cấy thì tiến hành thí nghiệm. Hút loại bỏ môi trường cũ và sử dụng dụng cụ chuyên dụng để tạo ra các vết rạch trên bề mặt tế bào. Rửa tế bào bằng dung dịch PBS để loại bỏ các tế bào bị bong ra do vết rạch. Bổ sung PG và môi trường vào từng giếng ở các nồng độ khác nhau: 1 $\mu\text{g/ml}$; 2 $\mu\text{g/ml}$; 4 $\mu\text{g/ml}$; DMSO (dung dịch pha loãng PG); Đối chứng (nuôi cấy tế bào trong môi trường bình thường không tiếp xúc PG và DMSO). Quan sát, chụp ảnh và đo diện tích vết rạch tế bào ở giai đoạn 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ. Sau 48 giờ tế bào cố

định, nhuộm giemsa tế bào và đo diện tích.

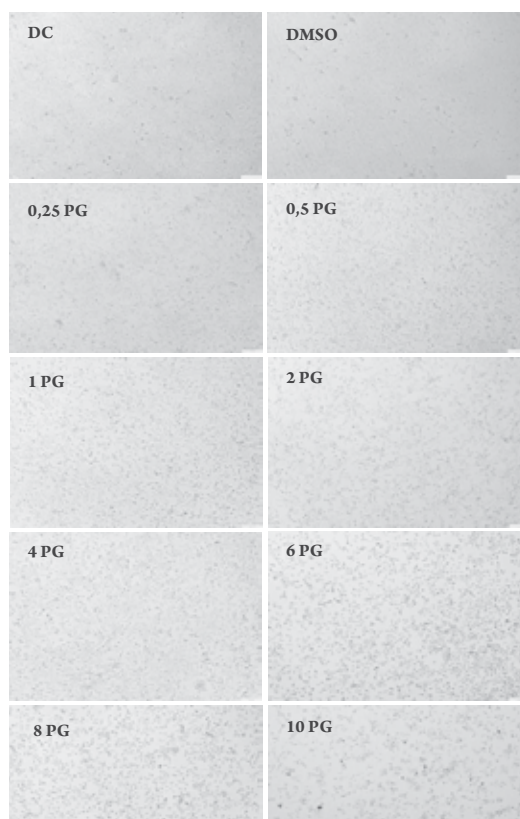
Xử lý số liệu: Các số liệu được nhập và xử lý với phần mềm phần mềm excel và phần mềm thống kê GraphPad Prism 8.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

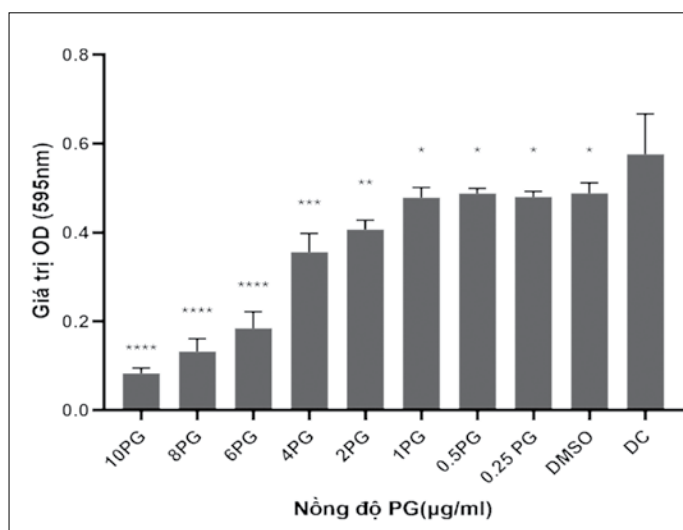
Kết quả đánh giá hoạt tính PG ảnh hưởng đến khả năng tăng sinh của tế bào ung thư gan Hep3B

Tế bào Hep3B được tiếp xúc với PG với các nồng độ: 0,25 $\mu\text{g/ml}$; 0,5 $\mu\text{g/ml}$; 1 $\mu\text{g/ml}$; 2 $\mu\text{g/ml}$; 4 $\mu\text{g/ml}$; 6 $\mu\text{g/ml}$; 8 $\mu\text{g/ml}$ và 10 $\mu\text{g/ml}$. Sau 24 giờ tiếp xúc với PG kết quả được thể hiện ở hình 1, biểu đồ 1 và 2.

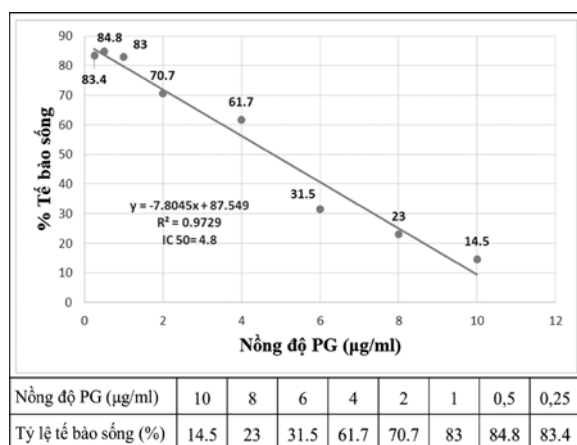
Từ kết quả hình ảnh thu nhận được sau khi tế bào ung thư Hep3B tiếp xúc với PG. Ở thí nghiệm Hep3B tiếp xúc với DMSO (dung dịch pha loãng PG), tế bào Hep3B không ảnh hưởng và gây chết tế bào cũng như không làm thay đổi hình thái tế bào (hình 1-DMSO). Tế bào ở giếng RMPI là tế bào được nuôi cấy trong môi trường bình thường, không tiếp xúc với PG cũng như DMSO, thì tế bào tăng sinh rất tốt, mật độ tế bào dày đặc (hình 1-DC). Ở các nồng độ PG cao như 10 $\mu\text{g/ml}$, 8 $\mu\text{g/ml}$, 6 $\mu\text{g/ml}$ có sự thay đổi về hình dạng tế bào Hep3B và PG ảnh hưởng làm nhiều tế bào Hep3B bị chết (hình 1-6PG, 8PG, 10PG), lượng tinh thể formazan tạo được khá ít nên hệ số đo OD thấp (biểu đồ 1). Ở các nồng độ thấp hơn như 4 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$ PG cũng có ảnh hưởng đến tế bào Hep3B và làm thay đổi về hình thái tế bào cũng như có tác dụng ức chế khả năng tăng sinh của tế bào Hep3B, nhưng lượng formazan tạo được sau khi bổ sung MTT nhiều hơn so với nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$ (biểu đồ 1). Kết quả đo mật độ quang (OD) lượng tinh thể formazan tạo ra của phản ứng MTT cũng tỷ lệ thuận với mật độ tế bào thông qua hình ảnh tế bào. Từ kết quả này cho thấy PG có khả năng ức chế khả năng tăng sinh của tế bào Hep3B.



Hình 1. Tế bào HEP3B tiếp xúc với PG ở các nồng độ khác nhau sau 24 giờ, 100X.
(DC-Nhóm đối chứng - Tế bào được nuôi cấy bình thường; DMSO: Tế bào được nuôi trong môi trường bổ sung DMSO; 0,25PG -10PG: Tế bào được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung PG ở các nồng độ từ 0,25-10 μ g/ μ l)



Biểu đồ 1. Kết quả đo phản ứng MTT của mẫu tế bào ung thư Hep3B tiếp xúc với PG ở các nồng độ khác nhau.
(**** $P < 0,0001$; *** $P < 0,0003$; ** $P < 0,0002$; * $P < 0,05$ so sánh với nhóm đối chứng)



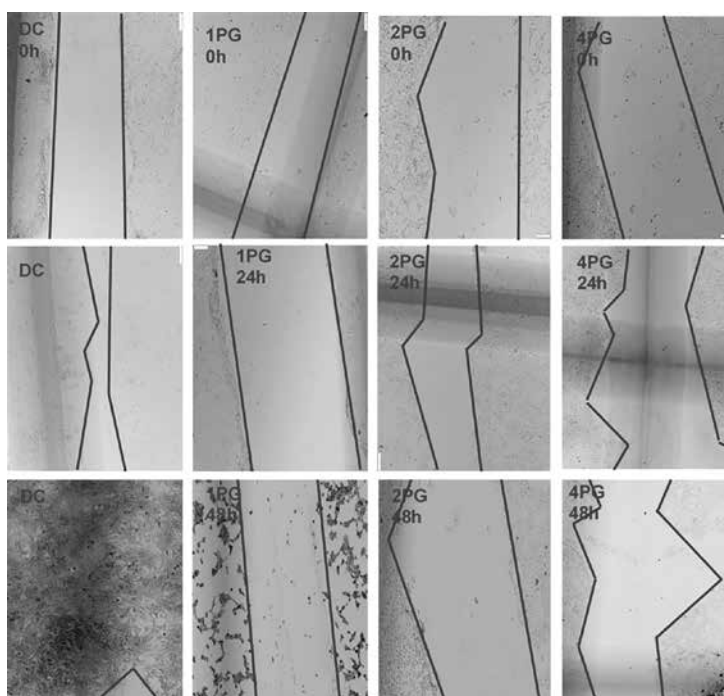
Biểu đồ 2. Phương trình hồi quy tuyến tính sau 24 giờ tiếp xúc PG

Kết quả tính IC 50: Căn cứ kết quả đo OD phản ứng MTT, tính tỷ lệ phần trăm tế bào sống trong các giếng tiếp xúc với PG so với nhóm

chứng không bổ sung PG để xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính giữa tỷ lệ tế bào sống (Y%) và nồng độ PG (X µg/ml). Kết quả xác định được IC50 của PG trên tế bào Hep3B ở thời điểm 24 giờ là 4,8 µg/ml (biểu đồ 2).

Kết quả đánh giá hoạt tính của PG đến khả năng di cư và xâm lấn của tế bào ung thư gan HEP 3B in vitro

Sau khi tế bào Hep3B tiếp xúc với PG ở các nồng độ 1 µg/ml; 2 µg/ml; 4 µg/ml so với mẫu tiếp xúc với DMSO (dung dịch pha loãng PG) và nhóm đối chứng (nuôi cấy Hep3B trong môi trường bình thường không tiếp xúc PG và DMSO). Kết quả xác định diện tích khoảng trống của vết rạch còn lại sau khi tế bào di cư xâm lấn ở thời điểm 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ tiếp xúc với PG, được thể hiện ở hình 2, bảng 1, biểu đồ 3.

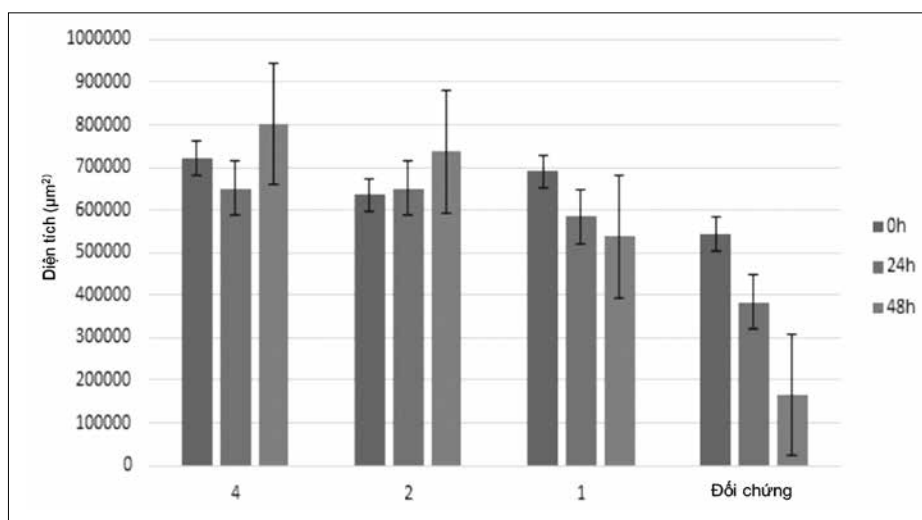


Hình 2. Hình ảnh xác định diện tích khoảng trống của vết rạch còn lại sau khi tế bào Hep3B di cư xâm lấn ở thời điểm 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ tiếp xúc với PG, 100X.

(DC: Nhóm đối chứng - Tế bào được nuôi cấy bình thường; 0,25PG - 10PG: Tế bào được bổ sung PG ở các nồng độ PG từ 0,25-10 µg/µl).

Bảng 1. Kết quả đo diện tích khoảng trống của vết rạch tế bào sau 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ tế bào Hep3B tiếp xúc với PG.

Thời gian Nồng độ PG ($\mu\text{g/ml}$)	0 giờ		24 giờ		48 giờ	
	Diện tích (μm^2)	Tế bào sống (%)	Diện tích (μm^2)	Tế bào sống (%)	Diện tích (μm^2)	Tế bào sống (%)
4	720925,64 ± 84076,60	100	650416,33 ± 140955	90,2	802461,82 ± 96088,63	111,3
2	634932,70 ± 190498,23	100	649833,89 ± 165804,75	102,3	736655,31 ± 249294,17	116,0
1	690087,53 ± 341953,22	100	584453,11 ± 280668,44	84,7	537903,14 ± 213147,15	77,9
DC	748165,96 ± 58915,09	100	382428,54 ± 277995,37	51,1	165835,66 ± 239333,06	22,2



Biểu đồ 2. Kết quả so sánh diện tích tăng sinh, di cư và xâm lấn che phủ khoảng trống của vết rạch tế bào sau 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ tế bào Hep3B tiếp xúc với PG

Kết quả ở hình 2, bảng 1, biểu đồ 3 cho thấy, ở nhóm Đối chứng, diện tích khoảng trống của vết rạch tế bào giảm dần theo thời gian từ 100% (thời

điểm 0 giờ trước khi tiếp xúc với PG) xuống còn 22,2%. Ở nhóm nồng độ PG thử nghiệm là 1 $\mu\text{g/ml}$, diện tích giảm khoảng 10% trong vòng 24 giờ

và 7% sau 48 giờ (từ 100% xuống còn 84,693% sáu 24 giờ và 77,947% sau 48 giờ). Ở nhóm nồng độ PG cao hơn 2 và 4 $\mu\text{g/ml}$ thì diện tích khoảng trống của vết rạch lại tăng dần theo thời gian. Sau 48 giờ, diện tích hai nhóm tăng lên khoảng 11 đến 16%. Ở tất cả các nồng độ PG tiếp xúc với Hep3B, khả năng bám dính của tế bào ung thư đều giảm và sự di cư, xâm lấn của tế bào Hep3B đều giảm so với nhóm đối chứng và tác dụng ức chế sự di cư và xâm lấn của PG cũng phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc và nồng độ.

BÀN LUẬN

Xâm lấn và di căn khối u ác tính là giai đoạn quan trọng nhất của sự tiến triển khối u. Chìa khóa để kiểm soát sự phát triển của khối u là ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư và di căn. Do đó, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành nhằm tìm các loại thuốc mới, có hiệu quả cao hơn. Có nhiều sản phẩm, chế phẩm tách chiết từ các nguồn khác nhau, như thực vật, tổng hợp hóa học, từ vi sinh vật.. Trong các nguồn này nguồn từ vi sinh vật là một trong những nguồn được sử dụng rộng rãi hiện nay để tìm thuốc chống ung thư cũng như nhiều loại thuốc khác và đã được ứng dụng trong điều trị. Từ những năm 1952, Wier R.H và CS đã thử nghiệm prodigiosin trên lâm sàng trong điều trị nấm *C.immitis*, kết quả có sự phục hồi trên 14 bệnh nhân [3]. Những năm gần đây đã có nhiều nghiên cứu được tiến hành nhằm chứng minh hoạt tính kháng một loạt các tế bào ung thư, kết quả PG có hoạt tính kháng lại hơn 60 dòng tế bào ung thư với nồng độ ức chế trung bình 2.1 μM [4].

Năm 2000, Beatriz Montaner và CS., đã công bố công trình nghiên cứu về đánh giá ảnh hưởng dịch nuôi cấy từ chủng vi khuẩn *Serratia marcescens* 2170 (CS-2170) có chứa PG đến khả năng sống sót và khả năng gây apoptosis trên các dòng tế bào ung thư máu khác nhau (Jurkat, NSO, HL-60 và Ramos) và tế bào bình thường (NIH-3T3 và MDCK) [9]. Sau khi thử

thử nghiệm số lượng tế bào giảm nhanh sau 4 giờ bằng xét nghiệm MTT. Tác dụng gây độc tế bào này là do quá trình apoptosis. Kết quả nghiên cứu này cho thấy prodigiosin có khả năng gây ra apoptosis trong các tế bào ung thư máu nhưng không có độc tính khi thử nghiệm trên tế bào bình thường [9]. Yamamoto và cộng sự đã chứng minh rằng tác dụng chống ung thư của PG là do PG kích hoạt kênh vận chuyển xuyên màng của H^+ và Cl^- , dẫn đến sự phân giải của enzyme V-ATPase, làm axit hóa dịch tế bào và gây apoptosis [10]. Năm 2018, nghiên cứu Yongze Liu và cộng sự đã nghiên cứu thử nghiệm PG và fluorouracil (5-FU) ức chế di cư và xâm lấn của tế bào ung thư biểu mô ung thư vòm họng người CNE2 và tế bào NP69 biểu mô vòm họng của người bình thường, tương tự như một loại thuốc hóa trị liệu thông thường. Kết quả cả prodigiosin và 5-FU đều ức chế sự di căn và xâm lấn của tế bào ung thư [5].

Cũng tương tự như các nghiên cứu khác về đánh giá hoạt tính PG. Trong nghiên cứu này, sau PG tách chiết, tinh sạch từ dịch lên men chủng vi khuẩn *S. marcescens* sp HVQY tái tổ hợp. PG được đánh giá hoạt tính ức chế sự tăng sinh, di cư, xâm lấn trên dòng tế bào ung thư gan Hep3B. Đối với kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự tăng sinh sau khi cho tế bào Hep3B tiếp xúc với PG ở các nồng độ khác nhau (0,25 $\mu\text{g/ml}$; 0,5 $\mu\text{g/ml}$; 1 $\mu\text{g/ml}$; 2 $\mu\text{g/ml}$; 4 $\mu\text{g/ml}$; 6 $\mu\text{g/ml}$; 8 $\mu\text{g/ml}$ và 10 $\mu\text{g/ml}$). Sau 24 giờ, ở nồng độ PG cao tế bào ung thư trong giếng nuôi cấy bị chết và tách ra khỏi bề mặt nuôi cấy (hình 1,2 - 10 $\mu\text{g/ml}$) và hầu hết không còn chức năng chuyển hóa MTT thành tinh thể formazan và kết quả đo OD phản ứng MTT có hệ số thấp. Ở nồng độ PG thấp hơn, mức độ ảnh hưởng của PG trên tế bào cũng khác nhau từ số lượng tế bào chết nhiều cho đến chết ít hoặc ảnh hưởng rất ít. Tác dụng ức chế của PG ức chế tế bào Hep3B cũng phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc và nồng độ, tuy nhiên ở hầu hết các nồng độ PG trong thử nghiệm đều làm thay

đổi hình dạng, gây chết tế bào ung thư Hep3B sau 24 giờ tiếp xúc. Với giá trị IC₅₀ của PG trên tế bào Hep3B là 4,8 µg/ml.

Đối với kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự di cư và xâm lấn của PG trên tế bào Hep3B *in vitro*. Kết quả, ở nhóm đối chứng (không cho tế bào Hep3B tiếp xúc với PG), tế bào ung thư có khả năng tăng sinh, di cư và che phủ khoảng trống của vết rạch và diện tích giảm dần theo thời gian từ 100% (thời điểm 0 giờ trước khi tiếp xúc với PG) xuống còn 22,2%. Ở các nhóm có tế bào ung thư được tiếp xúc với PG, diện tích tế bào che phủ khoảng trống của vết rạch tăng lên, do nhiều tế bào bị chết, khả năng bám dính và sự di cư, xâm lấn của tế bào Hep3B đều giảm so với nhóm đối chứng và tác dụng ức chế sự di cư và xâm lấn của PG cũng phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc và nồng độ. Kết quả trên tại thời điểm đánh giá cũng khá phù hợp với Yongze Liu và cộng sự năm 2018 đã công bố trước đó về PG có hoạt tính ức chế trên một số dòng tế bào ung thư.

KẾT LUẬN

Prodigiosin có hoạt tính ức chế sự tăng sinh, di cư và xâm lấn các tế bào ung thư gan Hep3B *in vitro*. Prodigiosin làm thay đổi hình dạng, gây chết tế bào ung thư Hep3B sau 24 giờ tiếp xúc, xác định được IC₅₀ của PG trên tế bào Hep3B là 4,8 µg/ml. Ở tất cả các nồng độ PG tiếp xúc với Hep3B, khả năng bám dính, sự di cư và xâm lấn của tế bào ung thư Hep3B đều giảm so với nhóm đối chứng. Tác dụng ức chế sự di cư và xâm lấn của PG cũng phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc và nồng độ tiếp xúc.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài mã số ĐT.07.17/CNSHCB do Học viện Quân y chủ trì. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn Học viện Quân y, Viện Nghiên cứu hệ Gen, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã ủng hộ, tạo điều kiện và tích cực hợp tác trong quá trình nghiên cứu.

SUMMARY

Evaluating the prodigiosin ability to inhibit proliferation, migration and invasion of human liver cancer cells (Hep3B) *in vitro*

Objectives: To evaluate the activity of prodigiosin (PG) on human liver cancer cell (Hep3B).

Subjects and research methods: Prodigiosin extracted from the recombinant *S. marcescens* sp HVQY bacterial fermentation broth was used to evaluate the PG activity of inhibiting proliferation, migration and invasion on Hep3B. PG activity inhibiting the proliferation of Hep3B cells was assessed by MTT assay and value of the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀). The inhibitory activity of cell migration and invasion was evaluated by making scratch on the surface of cultured cells with specialized equipment. Measurement of the area of the remaining space of the incision after the cancer cell migration and invasion cover was performed at the 0 hour (before PG exposure), 24 hours and 48 hours after exposure.

Results: PG changed cell morphology, inhibited Hep3B cancer cell proliferation, and caused cell death with the IC₅₀ values of 4.8 µg/ml. After 24 and 48 hours of PG exposed Hep3B cells, the migration and invasion through the surface of the culture plastic dish was reduced as compared with the control group.

Conclusion: Prodigiosin inhibits the proliferation, migration and invasion of Hep3B *in vitro*.

Keywords: Prodigiosin, Hep3B, *Serratia marcescens*, Cancer cells.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Dan Li, Jun Liu, et al (2018)**, *Biological Potential and Mechanism of Prodigiosin from Serratia marcescens Subsp. lawsoniana in Human Choriocarcinoma and Prostate Cancer Cell Lines*. International Journal of Molecular Science. 19(11): p. 3465.
2. **Esabi Basaran Kurbanoglu, Murat Ozdal, Ozlem Gur Ozdal, Omer Faruk Algur, (2015)**, *Enhanced production of prodigiosin by Serratia marcescens MO-1 using ram horn peptone*. Brazilian Journal of Microbiology. 46(2): p. 631-637.
3. **Robert H. Wier, Roger O. Egeberg, et al (1953)**, *A clinical trial of prodigiosin in disseminated coccidioidomycosis*.
4. **N. Darshan, H. K. Manonmani (2015)**, *Prodigiosin and its potential applications*. Journal of Food Science and Technology. 52(9): p. 5393-5407.
5. **Yongze Liu., et al (2018)**, *Prodigiosin Inhibits Proliferation, Migration, and Invasion of Nasopharyngeal Cancer Cells*. Cellular Physiology and Biochemistry. 48(4): p. 1556 - 1562.
6. **Mosmann Tim (1983)**, *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. Journal of immunological methods. Journal of Immunological Methods. 65(1-2): p. 55-63.
7. **Đỗ Minh Trung, Nguyễn Minh Phương, Phạm Thế Tài, Lê Văn Đông, (2015)**, *Đánh giá hoạt tính độc tố tả tách chiết từ môi trường nuôi cấy trên dòng tế bào Hepa-1c1c7 và H4-II-E-C3*. Tạp chí Sinh lý học Việt Nam. 19(2): p. 18-25.
8. **Jordi Pijuan, Carla Barceló, David F. Moreno, Oscar Maiques, Pol Sisó, Rosa M. Marti, Anna Maci, Anaïs Panosa, (2019)**, *In vitro Cell Migration, Invasion, and Adhesion Assays: From Cell Imaging to Data Analysis*. Frontiers in Cell and Developmental Biology.
9. **Montaner B., et al (2000)**, *Prodigiosin from the supernatant of Serratia marcescens induces apoptosis in haematopoietic cancer cell lines*. Br. J. Pharmacol: p. 585-593.
10. **Daigo Yamamoto, Yoshiko Uemura, et al (2000)**, *Cycloprodigiosin hydrochloride, H(+)/CL(-) symporter, induces apoptosis and differentiation in HL-60 cells*. International Journal of Cancer. 88(1): p. 121-128.