NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.12/45 , 2022

Scan online to view this article

Evaluation of the cytotoxicity of antagonist actinomycetes on colorectal cancer cell line

Arghavan Kouroshnia[1], Sirous Zeinali[2], Shiva Irani[1], Akram Sadeghi[3*]

1. Department of Biology, Islamic Azad University Science and Research Brach, Tehran, Iran
2. Biotechnology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
3. Department of Microbial Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Abstract

Aim and Background: Actinomycetes are a good resource to discover new drugs based on their abundant secondary metabolites. Because both fungal and human cells are eukaryotes, the metabolites of fungal antagonist actinomycetes may also inhibit the growth of cancer cells.

Materials and Methods: The antagonistic activity of 24 actinomycete strains that inhibited the growth of cells of a plant pathogen, Phytophthora capsici, was investigated against 4 other plant pathogens. The siderophores production of two selected strains that showed the highest antagonistic activity against pathogens was evaluated. The cytotoxicity effects of two strains on the SW480 cell line was measured using MTT assay in vitro and the IC50 percentage was determined.

Results: Only two selected strains had 30 and 54% inhibitory effect against *Phytophthora drechsleri*, respectively. The strain 408 had no inhibitory effect against *Pythium ultimum*, while the strain 6010 completely prevented *Pythium ultimum* growth. The strain 6010, unlike the strain 408, controlled the growth of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* pathogens about 70%. Only the strain 408 was able to produce siderophore. The significant effect of the treatment on colorectal cancer cells was observed at 2.47 and 2.71% (v/v) concentrations for both 408 and 6010 strains, respectively.

Conclusion: The results of this study confirmed our hypothesis that secondary metabolites of antagonistic actinomycetes can lead to cancer cells death. The use of fungal or oomycete cells is introduced as an easy, safe, and inexpensive method for screening actinomycetes that are candidates for the discovery of new anticancer drugs.

Keywords: Colorectal Neoplasms, Actinomycetes, Cell Viability, Iau Science.

Corresponding author:
Department of Microbial Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
Email: aksadeghi@abrii.ac.ir

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۲ - شماره۴۵ - زمستان ۱۴۰۰
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی اثر سمیت سلولی سویه‌های اکتینومیستی انتاگونیست بر روی رده سلولی سرطان کلورکتال

ارغوان کورش‌نیا[۱]، سیروس زینلی[۲]، شیوا ایرانی[۱]، اکرم صادقی[۳*]

۱. گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران
۳. بخش بیوتکنولوژی میکروبی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

چکیده

سابقه و هدف: اکتینومیست‌ها به‌دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه فراوان منبع خوبی برای کشف داروهای جدید هستند. از آنجا که سلول‌های قارچی و انسانی هر دو یوکاریوت هستند به‌احتمال متابولیت‌های اکتینومیست‌های آنتاگونیست قارچی، رشد سلول‌های سرطانی را نیز مهار می‌کنند. هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضد سرطانی دو سویه اکتینومیست بر روی سلول‌های سرطانی کلورکتال است.

مواد و روش‌ها: فعالیت آنتاگونیستی ۲۴ سویه اکتینومیستی که از رشد سلول‌های یک بیمارگر گیاهی، *Phytophthora capsici* ممانعت می‌کردند بر علیه ۴ عامل بیمارگر گیاهی دیگر بررسی شد. دو سویه منتخب که بیش‌ترین فعالیت آنتاگونیستی را بر علیه بیمارگرها نشان دادند، از نظر تولید سیدروفور بررسی شدند. اثر سیتوتاکسیسیتی این دو سویه با استفاده از تست MTT در in vitro بر روی رده سلولی SW480 مورد سنجش قرار گرفته و درصد IC_{50} تعیین شد.

یافته‌ها: تنها دو سویه منتخب بر علیه بیمارگر *Phytophthora drechsleri* به‌ترتیب ۳۰ و ۵۴ درصد اثر بازدارندگی داشتند. سویه ۴۰۸ بر علیه *Pythium ultimum* تأثیر ممانعت کننده نداشت در حالی‌که سویه ۶۰۱۰ به‌طور کامل از رشد آن جلوگیری کرد. این سویه برخلاف سویه ۴۰۸، رشد دو بیمارگر *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* را نیز در حدود ۷۰ درصد کنترل کرد. تنها سویه ۴۰۸ قادر به تولید سیدروفور بود. تأثیر معنی‌دار تیمار بر سلول‌های‌سرطانی روده به‌ترتیب در غلظت‌های ۲/۴۷ و ۲/۷۱ درصد (حجمی/حجمی) معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه فرضیه ما را که متابولیت‌های ثانویه اکتینومیست‌های آنتاگونیست می‌توانند موجب مرگ سلول‌های سرطانی بشوند اثبات کرد. استفاده از سلول‌های قارچی و یا اوومیستی به‌عنوان روشی ساده، ایمن و ارزان برای غربال اکتینومیست‌های کاندید کشف داروهای ضد سرطان جدید معرفی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نئوپلاسم‌های کولورکتال، اکتینومیست ها، قابلیت زیستی سلول، Iau Science

مقدمه

سرطان روده بزرگ یا کولورکتال (Colorectal (CRC) cancer) که با رشد غیرعادی تومورها در روده بزرگ ایجاد شده است، چهارمین سرطان شایع در دنیا و سومین عامل شایع مرگ و میر سرطان در جهان است (۱). بر اساس داده‌های مربوط به نرخ مرگ و میر سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization) و پیش‌بینی‌های انجام شده، تا سال ۲۰۳۵ این بیماری افزایش چشم‌گیری در تمام دنیا به‌خصوص در کشورهای

نویسنده مسئول:
بخش بیوتکنولوژی میکروبی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
پست الکترونیکی: aksadeghi@abrii.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۶

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

اروپای شرقی، اغلب کشورهای آسیایی، خاورمیانه و شمال آفریقا و برخی از کشورهای آمریکای جنوبی خواهد داشت (۲).

اگرچه تاکنون داروهای زیادی توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration) جهت بهبود سرطان روده بزرگ تأیید شده است اما این داروها عوارض جانبی مختص‌به خود را دارند. از جمله می‌توان به دو داروی FU-5 (نام تجاری Adrucil® شرکت Teva) و Capecitabine (نام تجاری XELODA® شرکت Roche) اشاره کرد که سمیت نسبی دارند. علاوه‌بر این عوارض این داروها در افراد مختلف، متفاوت و غیر قابل پیش‌بینی بوده است (۲).

اکتینومیست‌ها (Actinomycetes) باکتری‌های گرم مثبت و رشته‌ای هستند که به‌صورت آزاد، ساپروفیت و گاه هم‌زیست با گیاهان دیده می‌شوند. این باکتری‌ها را می‌توان از تمام اکوسیستم‌ها از جمله خاک، آب، رسوبات دریایی و آب‌های گرم جداسازی کرد (۳). اکتینومیست‌ها دارای پتانسیل بالایی در تولید متابولیت‌های ثانویه مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، قارچ‌کش‌ها، مواد ضد سرطان و دیگر ترکیب‌های مفید هستند. حدود ۲۳۰۰۰ نوع متابولیت ثانویه شامل آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیب‌های ضد میکروبی فعال توسط میکروارگانیسم ها تولید می‌شود که اکتینومیست‌ها بیش از ۷۵ درصد آن‌ها را تولید می‌کنند. حدود ۱۴۰-۱۳۰ فرآورده میکروبی و تعداد مشابهی از مشتقات آن‌ها در پزشکی به‌خصوص شیمی درمانی و دامپزشکی کاربرد دارد و حدود ۲۰-۱۵ فرآورده نیز در بخش کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). کشف متابولیت‌های ارزشمند موجود در منابع طبیعی بر دانش تجربی در مورد میکروب‌ها متمرکز است. پرکاربردترین گروه‌های میکروبی مورد توجه دانشمندان اکتینومیست‌ها و قارچ‌های رشته‌ای هستند.

به‌طور کلی اکتینومیست‌ها از مهم‌ترین باکتری‌های خاک و شامل جنس‌های مهمی مانند *استرپتومایسس* (*Streptomyces*) و *فرانکیا* (*Frankia*) است (۵). اکتینومیست‌ها به‌خصوص جنس *استرپتومایسس* با تولید متابولیت‌های ثانویه محلول در آب و یا فرار قابلیت کنترل اکثر قارچ‌های بیماریزای گیاهی را دارند (۷،۶). بررسی قابلیت ممانعت از رشد یا آنتاگونیستی قارچ‌های بیمارگر گیاهی در شرایط آزمایشگاهی کاری بی‌خطر و کم هزینه است. سویه‌های اکتینومیستی بسیاری بر اساس این سیستم غربالگری، جداسازی، شناسایی و معرفی شده‌اند (۸).

با توجه‌به این‌که سلول‌های انسانی و قارچی هر دو از نظر ساختاری به یوکاریوت‌ها تعلق دارند بنابراین، احتمال این‌که یک متابولیت با قابلیت بازدارندگی از رشد (آنتاگونیستی) و یا مرگ سلول‌های قارچی اثرهای مشابه‌ای بر سلول‌های انسانی داشته باشد زیاد است. استفاده از سلول‌های قارچی به‌جای سلول‌های انسانی در مراحل اولیه غربالگری می‌تواند موجب صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌های آزمایشگاهی تحقیق شود. مطالعه حاضر با هدف غربال سویه‌های تولید کننده متابولیت‌های محلول با اثر کشندگی بر یک رده سلولی سرطان کولون (SW480) از میان ۲۴ سویه اکتینومیستی آنتاگونیست قارچ *Phytophthora capsici*، عامل ایجاد بیماری مرگ گیاهچه فلفل (۹) انجام شد.

مواد و روش‌ها

جداسازی، کشت و بررسی خاصیت آنتاگونیستی اکتینومیست‌ها

بیست و چهار سویه اکتینومیستی که پیشتر اثر آنتاگونیستی آن‌ها بر علیه اوومیست فیتوفترا کپسیسی (*Phytophthora capsici*) بررسی شده بود از کلکسیون میکروبی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران[1] تهیه شد. از روش کشت متقابل (۱۰) برای ارزیابی فعالیت ضد قارچی این سویه‌ها بر علیه چهار عامل بیمارگر گیاهی دیگر شامل *Phytophthora drechsleri*، پیتیوم اولتیموم (*Pythium ultimum*)، ریزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) و فوزاریوم اکسیسپوروم (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (ABRIICC 10294)) (۱۱) استفاده شد.

بیمارگرهای *P. drechsleri* strain AZ94 (شماره دسترسی: GenBank MF138111) توسط دکتر Azimi عضو هیات علمی موسسه تحقیقات گیاه پزشکی

[1] Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

ایران[2] و بیمارگرهای *R. solani* AG-2-2 (سویه Rh133) و *P. ultimum* (سویه MK1248) توسط دکتر کاکوئی نژاد عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند[3] تهیه شدند.

جهت کشت متقابل یک لوپ پر از میسلیوم و اسپور کشت جوان هر سویه باکتری به‌صورت خطی در دو سمت پلیت حاوی محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار (PDA[4]) کشت داده شد. یک پلاک مربع شکل به ضلع ۰/۵ سانتی‌متر از کشت جوان هر بیمارگر در مرکز پلیت قرارد داده شد. سویه‌های باکتری و بیمارگرها به‌صورت هم‌زمان کشت داده شدند تا بتوان کارآمدترین باکتری‌های آنتاگونیست را جدا کرد. کشت هم‌زمان و گرمخانه گذاری در شرایط بهینه قارچ به‌جای شرایط بهینه باکتری نیز موجب انتخاب باکتری‌هایی می‌شود که پتانسیل کنترل رشد قارچ را حتی در شرایطی که به سود باکتری نیست دارند (۱۲). پلیت‌ها به‌مدت پنج روز در دمای ۲۳°C انکوبه شدند. درصد مهار رشد با استفاده از فرمول $n = (a - b)/a \times 100$ محاسبه شد، جایی که "n" درصد مهار رشد، "a" شعاع رشد عامل بیمارگر در محیط کنترل (بر حسب سانتی‌متر) و "b" فاصله رشد بیمارگر در جهت باکتری‌ها (بر حسب سانتی‌متر) است. این آزمایش دو بار تکرار شد.

تولید سیدروفور

تولید سیدروفور بر روی محیط کشت جامد حاوی کروم آزورول (CAS[5]) ارزیابی شد (۱۳). محیط آگار CAS تهیه و در پتری دیش ریخته شد. سویه‌های باکتریایی به صورت لکه‌ای بر روی سطح محیط کشت شدند. پلیت‌ها به‌مدت سه روز در دمای ۲۹° C انکوبه شدند. نسبت قطر منطقه هاله نارنجی اطراف باکتری به قطر کلنی محاسبه و ثبت شد.

خصوصیت‌های ژنوتیپی

جداسازی DNA طبق روش تریپاتی و راوال (۱۴) انجام شد. فرآیند PCR ژن *16S rRNA* طبق پروتکل Yuan و Crawford DL (۱۵) و با استفاده از جفت آغازگر 27F(5′- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) و 1525R (5′- AAAGGAGGTGATCCAGCC-3′) انجام شد. توالی طول کمابیش کامل ژن *16S rRNA* هر دو سویه در پایگاه داده GenBank با شماره‌های دسترسی MN889432 (سویه ۴۰۸) و MN888938 (سویه ۶۰۱۰) ثبت شد. توالی‌های به‌دست آمده با توالی سایر اکتینومیست‌های موجود در پایگاه داده‌های GenBank، EMBL و DDBJ با استفاده از BLAST به‌صورت دستی هم تراز شدند (۱۶).

تهیه سری رقت‌های مختلف از روشناور سویه‌های ۴۰۸ و ۶۰۱۰

هر یک از سویه‌های ۴۰۸ و ۶۰۱۰ در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت ISP2[6] (۱۰ گرم در لیتر عصاره مالت، ۴ گرم در لیتر عصاره مخمر، ۴ گرم در لیتر گلوکز با اسیدیته ۷/۲) درون ظروف ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری کشت داده شدند. ارلن‌ها به‌مدت ۵ روز در داخل شیکر انکوباتور با دمای ۲۹°C و سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه انکوبه شدند (۱۷). روشناور باکتری‌ها با استفاده از سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ rpm) جدا و جهت تیمار سلول‌های سرطانی در یخچال ۴°C نگهداری شد. روشناور باکتری‌های مورد بررسی به‌دلیل حساسیت بالای رده سلولی به آلودگی، کامل صاف و فیلتر شده است.

کشت سلول

رده سلولی SW480 (رده سلولی سرطان روده بزرگ انسان)

از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران (کد C506) تهیه شد. سلول‌ها در محیط کشت DMEM High glucose (شرکت زیست فناوری کوثر) که با سرم جنین گاوی (FBS) ۱۰٪ (Gibco) و آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (۱۰۰ گرم بر میلی‌لیتر) و پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر) غنی شده بود، کشت و در انکوباتور با دمای ۳۷°C و دی اکسیدکربن ۵ درصد انکوبه شدند (۱۸).

بررسی میزان سمیت سلولی با روش MTT assay

ابتدا سلول‌های SW480 با کمک تریپسین از فلاسک ۲۵ میلی‌لیتری جدا و به فالکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل شدند. رسوب سلولی با استفاده از سانتریفیوژ (۵ دقیقه در ۱۵۰۰ rpm) تهیه شد. به رسوب حاصل ۲ میلی‌لیتر

[2] Iranian Research Institute of Plant Protection
[3] Sugar Beet Seed Institute
[4] Potato Dextrose Agar
[5] Chrome Azurol S
[6] International Streptomyces Project-2

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

محیط کشت کامل اضافه شد. ۱۰ میکرولیتر از آن جهت شمارش سلولی بر روی لام نئوبار قرار داده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت حاوی 10^4 سلول به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه، اضافه شد (۱۹).

محیط کشت سلول‌ها پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون که سلول‌ها دارای کانفلوانسی ۸۰٪ رسیده اند، تخلیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی روشناور باکتری با غلظت ۲۰، ۱۰، ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ درصد (حجمی-حجمی) به هر چاهک اضافه شد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

جهت خوانش نمونه‌ها در ۲۴ ساعت اول و دوم، ابتدا ۰/۰۰۵ گرم از پودر MTT تهیه شده از شرکت سیگما در یک میلی لیتر بافر فسفات (PBS) حل شد و سپس محیط کشت حاوی MTT ۱۰٪ تهیه و به ازای هر چاهک پلیت، ۱۰۰ میکرولیتر از این محیط کشت جایگزین محیط قبلی شد. در مرحله بعد پلیت ۹۶ خانه به‌مدت چهار ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار داده شد. پس از خارج کردن پلیت از انکوباتور و تخلیه محیط سلول‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر DMSO (Dimethyl sulfoxide) به هر چاهک اضافه و پلیت به‌مدت ۱۰ دقیقه در شیکر مخصوص قرار داده شد. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه خوانش الایزا اندازه گیری شد. محاسبات آماری بر اساس تحلیل XY و رگرسیون غیرخطی توسط نرم‌افزار Graphpad prism انجام شد.

نتایج

اثرهای آنتاگونیستی سویه‌های اکتینومیستی بر بیمارگرهای گیاهی اوومیستی و قارچی

نتایج حاصل از بررسی خصوصیت‌های آنتاگونیستی ۲۴ سویه اکتینومیستی (شکل ۱) نشان داد که تنها دو سویه ۴۰۸ و ۶۰۱۰ (شکل ۲) که بر علیه بیمارگر اوومیستی فیتوفترا کپسیسی فعالیت آنتاگونیستی داشتند و رشد آن را به‌ترتیب ۲۰ و ۱۰۰ درصد مهار می‌کردند بر علیه بیمارگر *P. drechsleri* نیز به‌ترتیب ۳۰ و ۵۴ درصد اثر بازدارندگی از رشد داشتند. سویه ۴۰۸ بر علیه دیگر بیمارگر اوومیستی مورد مطالعه پیتیوم اولتیموم، تأثیر ممانعت کننده نداشت (در شکل ۱ با فلش قرمز مشخص شده است) در حالی‌که سویه ۶۰۱۰ به‌طور کامل از رشد آن جلوگیری کرد (در شکل ۱ با فلش سبز مشخص شده است). پلیت شاهد یا قارچ بیمارگر بدون تیمار باکتری در وسط قرار دارد.

این سویه آنتاگونیست برخلاف سویه ۴۰۸، رشد دو عامل بیمارگر قارچی شامل ریزوکتونیا سولانی و فوزاریوم اکسیسپوروم را نیز در حدود ۷۰ درصد کنترل کرد (جدول ۱).

تولید سیدروفور توسط سویه‌های اکتینومیست

با بررسی نتایج حاصل از ارزیابی تولید سیدروفور با معرف CAS مشخص شد که تنها در اطراف سویه ۴۰۸ هاله نارنجی رنگ تشکیل شده است (شکل ۳).

هم‌چنین عدم تشکیل هاله نارنجی در اطراف سویه ۶۰۱۰ نشان دهنده ناتوانی آن در تولید سیدروفور بود.

شناسایی ژنتیکی سویه های منتخب

جهت شناسایی باکتری‌ها، توالی‌یابی ژن *16SrRNA* سویه‌ها انجام گرفت و نتایج آن در GeneBank ثبت شد.

سویه ۴۰۸ (MN889432) و ۶۰۱۰ (MN888938) با شباهت بالای ۹۹٪ متعلق‌به جنس *استرپتومایسس* و بیشترین شباهت را به ترتیب به *S. thinghirensis* و *S. monomycini* داشتند (جدول ۱).

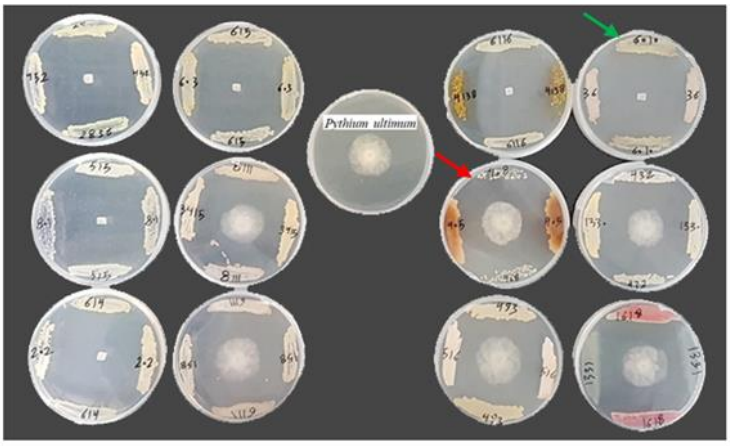
بررسی اثر سمیت سلولی روشناور کشت سویه‌های منتخب

یافته‌ها نشان داد که سویه‌های ۴۰۸ و ۶۰۱۰ سمیت و توان کشندگی رده سلولی سرطان روده بزرگ (SW480) را دارند. هم‌چنین نشان داده شد که این اثر وابسته به غلظت روشناور است (شکل ۴) که بر اساس تحلیل XY و رگرسیون غیرخطی محاسبه شد.

در واقع با افزایش غلظت، اثر بازدارندگی روشناور بر روی رده سلولی سرطانی روده بزرگ افزایش پیدا کرد. چهل و هشت ساعت پس از تیمار سلول‌ها ۵۰٪ مرگ سلولی (IC_{50}) سویه‌های ۴۰۸ و ۶۰۱۰ به‌ترتیب در غلظت‌های حجمی_حجمی ۲/۴۷٪ و ۲/۷۱ ٪ مشخص شد. بررسی آماری نشان داد که بازدارندگی سویه‌های ۴۰۸ و ۶۰۱۰ بر سلول‌های SW480 با غلظت‌های حجمی_حجمی ۲/۴۷٪ و ۲/۷۱ ٪ دارای اختلاف معنی‌داری است

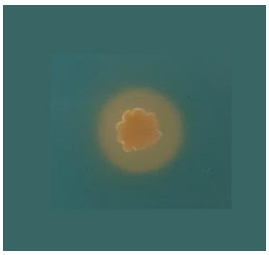
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

($P<$ ۰/۰۵) است. با توجه‌به این نتایج می‌توان گفت که اثر بازدارندگی سویه ۴۰۸ ((v/v) ۲/۴۷٪) نسبت‌به سویه



شکل ۱. مهار رشد عامل بیمارگر اوومیستی *P. ultimum* در شرایط *in vitro* توسط ۲۴ سویه اکتینومیستی

شکل ۲. مورفولوژی کلنی‌های دو سویه منتخب



شکل ۳. تولید هاله نارنجی در اطراف سویه ۴۰۸ که نشان دهنده تولید سیدروفور توسط این باکتری است.

جدول ۱: فعالیت آنتاگونیستی، تولید سیدروفور و مشخصات ژنتیکی سویه های منتخب

سویه	محصول میزبان	درصد فعالیت ضد قارچی					تولید سیدروفور	سویه ی استاندارد با بیشترین میزان شباهت	شماره دسترسی
		P. capsici	*P. drechsleri*	*P. ultimum*	*R. solani*	*F. oxysporum*			
۴۰۸	گوجه فرنگی	۲۰	۳۰	-	-	-	+	*S. thinghirensis* DSM 41919T (FM202482)	MN889432
۶۰۱۰	گندم	۱۰۰	۵۴	۱۰۰	۶۹	۷۰	-	*S. monomycini* NRRL B-24309^{T} (JNYL01000005)	MN888938

۶۰۱۰ ((v/v) ۲,۷۱٪) در شرایط یکسان به‌طور معنی داری بیش‌تر است. غلظت صفر (ستون سبز رنگ) در نمودار هر دو سویه به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شده و در واقع معرف چاهکی است که تیمار نشده است. سلول-

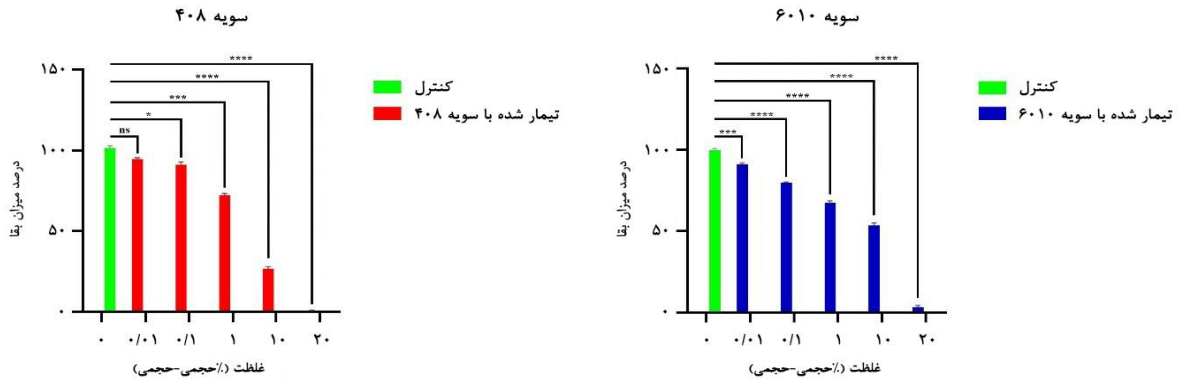
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

های تیمار شده با غلظت (v/v) ۰/۰۱٪ از سویه ۴۰۸ هم-چنان در سطحی نزدیک به سطح کنترل (حدود ۸٪ مرگ سلولی) قرار دارد.

پس از افزایش ۱۰ برابری غلظت معادل (v/v) ۰/۱٪ مرگ سلولی به میزان بسیار ناچیزی (حدود ۱۰٪ مرگ سلولی) از سطح کنترل فاصله گرفت. در غلظت (v/v) ۱٪ کمابیش کمی به IC_{50} نزدیک شد (حدود ۳۰٪ مرگ سلولی).

تیمار با غلظت‌های بالاتر معادل (v/v) ۱۰٪ و (v/v) ۲۰٪ مرگ سلولی بالایی (حدود ۸۰٪ مرگ سلولی) را نشان داد. در تیمار با غلظت (v/v) ۰/۰۱٪ از روشناور سویه ۶۰۱۰ نیز مرگ سلولی نزدیک‌به کنترل (حدود۱۰٪ مرگ سلولی) بود. در غلظت (v/v) ۰/۱٪ از کنترل فاصله بیش-تری گرفته و به حدود ۲۵٪ مرگ سلولی رسید. در غلظت (v/v) ۱٪ مرگ دربه‌طور تقریبی نیمی از سلول‌ها (حدود ۴۰٪ مرگ سلولی) مشاهده شد. در غلظت ۱۰٪ مرگ هم‌چنان نزدیک‌به ۵۰ درصد بود. در حالی‌که در تیمار با غلظت ۲۰٪ (v/v) بیش از ۹۰٪ مرگ سلولی مشاهده شد.



	سویه ۴۰۸	سویه ۶۰۱۰
IC_{50}	۲/۴۷۹	۲/۷۱۴
R Squared	۰/۹۷۱۶	۰/۸۲۳۰

شکل ۴. نمودار اثرهای سلولی روشناور ۴۰۸ و ۶۰۱۰ بر روی رده سلولی SW480

بحث

هدف از این مطالعه، بررسی اثرهای ضد سرطانی سویه‌های اکتینومیستی جدا شده از خاک بر روی سلول‌های سرطانی روده بود. از آنجایی‌که داروهای شیمیایی موجود در دنیا جهت درمان سرطان روده دارای عوارض جانبی از جمله ریزش مو، زخم‌های دهان، آسیب عصبی (نوروپاتی)، خونریزی، عفونت، اسهال و استفراغ به‌صورت شایع هستند، بنابراین درمانی با عوارض کم‌تر در اولویت‌های بهداشت جهانی قرار دارد. بنابراین، منابع طبیعی با خواص ضد سرطانی و عوارض کم‌تر مورد توجه چشمگیری قرار دارند (۲۰).

اکتینومیست‌ها یکی از منابع طبیعی هستند که در زیستگاه خاک و آب به‌وفور مشاهده می‌شوند و به‌عنوان امیدوارکننده‌ترین منبع داروهای جدید برای سرطان به-شمار می‌روند. این منابع نامحدود برای صنایع بیوتکنولوژی و دارویی مهم هستند زیرا انواع بسیار زیادی از میکروارگانیسم‌ها شامل جنس‌ها و گونه‌های باکتریایی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

در خاک وجود دارد که تاکنون موفق به شناسایی و بررسی آن‌ها نشده‌ایم (۲۱).

Dhaneesha و همکاران خاصیت ضد سرطانی *Streptomyces artemisiae MCCB 248* در برابر رده سلولی سرطان ریه انسان (NCI-H460) را نشان دادند.

Prashanthi و همکاران نیز با بررسی *Streptomyces griseoaurantiacus JUACT 01* بر روی رده سلول‌های سرطانی کبد (Hep G2)، تأثیر آن را بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی نشان دادند.

Davies و همکاران در طی مطالعه‌ای اثرهای ضد سرطانی عصاره *Streptomyces bingchenggensis* ULS14 را بر روی تمام رده‌های سلولی نشان دادند. پس از بررسی ساختار ماده مؤثره مشخص شد که از نظر ساختاری مشابه استاروسپورین و کیگامایسین است (۲۲).

Silva و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای دیگر اثرهای ضد سلولی متابولیت‌های ثانویه جدا شده از سویه‌های مختلف متعلق‌به اکتینومیست‌ها را بر روی چندین رده سلول سرطانی بررسی کردند، که در نهایت مشخص شد ترکیب‌های دو سویه CMAA 1527 و CMAA 1653 مؤثر بودند (۲۳). هر روز بر تعداد اکتینومیست‌های جدیدی که شناسایی می‌شوند اضافه می شود (۲۴).

جهت تأیید خاصیت آنتاگونیستی اکتینومیست‌ها، ۲۴ سویه که در ابتدا بر علیه اوومیست فیتوفترا کپسیسی فعالیت ضد قارچی از خود نشان داده بودند، بر علیه ۴ قارچ و اوومیست دیگر بررسی شدند. در نهایت دو سویه ۴۰۸ و ۶۰۱۰ پس از تأیید خاصیت آنتاگونیستی آن‌ها برای بررسی اثرهای ضد سلولی انتخاب شدند. تأثیر ضد قارچی و ضد اوومیستی اکتینومیست‌ها به‌وفور گزارش شده است. Sadeghi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که ترکیب‌های فرار و محلول در آب دو سویه از جنس *استرپتومایسس* توانایی مهار عامل بیمارگر *P. drechsleri* را در شرایط آزمایشگاه و گلخانه دارد (۲۵).

Abbasi و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تولید سیدروفور توسط سویه‌های SS14 و IT20 توانایی خوبی در کنترل بیماری تحت شرایط گلخانه‌ای دارند (۹).

ترکیب‌های محلول در آب سویه ۶۰۱۰ توانست به‌خوبی از رشد سلول‌های سرطانی ممانعت کند. این نتیجه با خصوصیت آنتاگونیستی این سویه بر علیه پنج بیمارگر قارچی و اوومیستی بررسی شده مطابقت داشت. ارتباط میان خاصیت آنتاگونیستی و ضد سرطانی بودن سویه‌های اکتینومیست‌ها در مطالعه‌های دیگر نیز مشاهده شده است. Abdel-Aziz و همکاران (۲۰۱۹) اثرهای ضد سرطانی (رده سلولی HepG2)، ضد قارچی، ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی سه *استرپتومایسس* جدا شده از خاک را نشان دادند (۲۶).

سویه ۴۰۸ در مقایسه با سویه ۶۰۱۰ تأثیر آنتاگونیستی کم‌تری داشت و تنها دو بیمارگر اوومیستی را کنترل کرد. هر چند تأثیر ضد سلولی خوبی حتی بهتر از سویه ۶۰۱۰ نشان داد. اثرهای ضد سلولی برخی ترکیب‌های سیدروفوری گزارش شده است. کارونا و همکاران (۲۰۱۷) و پیو و همکاران (۲۰۱۹) اثرهای ضد سرطانی سیدروفور را بر روی چندین سلول سرطانی انسانی گزارش کردند (۲۸،۲۷). از آنجا که سویه ۴۰۸ قادر به تولید سیدروفور است شاید بتوان تأثیر ضد سلولی آن را به این ویژگی نسبت داد. از طرفی ممکن است این سویه با استفاده از دو مکانیسم مختلف یعنی تولید متابولیت‌های محلول در آب و سیدروفور موجب مرگ سلولی شده باشد. فعالیت ضد سرطانی متابولیت‌های جدا شده از *Streptomyces* به اثبات رسیده است. سویه استرپتومایسسی *MUM256* اثرهای ضد سلول‌های سرطانی کولون دارد (۲۹).

در این مطالعه سمیت سلولی سویه‌های ۴۰۸ و ۶۰۱۰ در برابر رده سلولی سرطانی روده انسان با روش MTT که روشی است برای ارزیابی کارایی دارو مورد بررسی قرار گرفت و مقادیر IC_{50} توسط اکتینومیست‌های ۴۰۸ و ۶۰۱۰ بر روی رده سلول سرطانی کولورکتال (SW480) نشان داده شد.

یک داروی درمانی ایده‌آل باید از سمیت بالایی برخوردار باشد و بتواند بر روی سلول‌های سرطانی با گرید بالا نیز اثر کند. به‌همین منظور این دو سویه بر روی رده سلولی SW480 که دارای گرید چهارسرطانی است، مورد بررسی قرار گرفت و توانست در برخی از دوزهای تعیین شده مرگ بالای ۵۰٪ را نمایش دهد. در حالی‌که، بسیاری از داروهای ضد سرطان مورد استفاده هنوز فاقد

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

خاصیت دارویی ضد سرطانی بر روی این سلول‌های سرطانی هستند (۳۰).

نتایج این تحقیق نشان داد سویه‌های آنتاگونیست بیمارگرهای قارچی و اوومیستی کاندیدهای خوبی برای بررسی اثرهای ضد سلولی هستند. بنابراین به‌دلیل پر هزینه بودن تست‌های سلولی پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌های مربوط به انتخاب سویه‌هایی با ترکیب‌های مؤثر از سویه‌های آنتاگونیست بیمارگرهای قارچی گیاهان استفاده شود. تأیید اثرهای ضد قارچی و هم‌چنین تولید سیدروفور توسط این سویه‌ها برای اطمینان از کارآیی سویه ساده، ایمن و ارزان است. لازم‌به ذکر است با توجه-به محدودیت‌هایی از جمله این‌که امکان دارد سلول‌های سرطانی نسبت‌به این سویه‌ها از خود مقاومت نشان دهند (۳۱). بنابراین ضروری است در مراحل بعدی با شناسایی متابولیت(های) مؤثر موجود در روشناور، مقاومت دارویی نیز بررسی شود. در نهایت این دو سویه ما را یک قدم به معرفی دارویی جدید برای درمان سرطان روده نزدیک‌تر خواهد کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه اثرهای ضدسرطانی قوی روشناور دو سویه اکتینومیستی را بر روی رشد سلول‌های SW480 سرطان روده بزرگ انسان نشان داد. این دو سویه طی یک مرحله غربالگری ساده، ایمن و ارزان از میان ۲۴ سویه اکتینومیستی انتخاب شدند. با توجه‌به اثرهای ضد سلولی قوی مشاهده شده ادامه مطالعه برای جداسازی و شناسایی متابولیت(های) مؤثر از این دو سویه به‌عنوان محصول طبیعی که به‌طور بالقوه این امکان وجود دارد که موجب درمان سرطان شود، پیشنهاد داده می شود که بر روی آن‌ها بررسی بیش‌تری انجام شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

منابع

1. Rawla, P., Sunkara, T., & Barsouk, A. 2019. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. Przeglad gastroenterologiczny, 14(2), 89.

2. Araghi, M., Soerjomataram, I., Jenkins, M., Brierley, J., Morris, E., Bray, F., & Arnold, M. 2019. Global trends in colorectal cancer mortality: projections to the year 2035. International journal of cancer, 144(12), 2992-3000.

3. Balagurunathan, R., Radhakrishnan, M., Shanmugasundaram, T., Gopikrishnan, V., & Jerrine, J. 2020. Sample Collection, Isolation, and Diversity of Actinobacteria. In Protocols in Actinobacterial Research (pp. 1-24). Springer, New York, NY.

4. Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. 2017. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. Microbial pathogenesis, 111, 458-467.

5. Hug, J. J., Bader, C. D., Remškar, M., Cirnski, K., & Müller, R. 2018. Concepts and methods to access novel antibiotics from actinomycetes. Antibiotics, 7(2), 44.

6. Mahajan, G. B., & Balachandran, L. 2012. Antibacterial agents from actinomycetes-a review. Front Biosci (Elite Ed), 4(4), 240-53.

7. Sakineh, A., Ayme, S., Akram, S., & Naser, S. 2021. Streptomyces strains modulate dynamics of soil bacterial communities and their efficacy in disease suppression caused by Phytophthora capsici. Scientific reports, 11(1), 1-14.

8. Abbasi, S., Safaie, N., Sadeghi, A., & Shamsbakhsh, M. 2019. Streptomyces strains induce resistance to Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici race 3 in tomato through different molecular mechanisms. Frontiers in Microbiology, 10, 1505.

9. Abbasi, S., Safaie, N., Sadeghi, A., & Shamsbakhsh, M. 2020. Tissue-specific synergistic bio-priming of pepper by two Streptomyces species against Phytophthora capsici. PloS one, 15(3), e0230531.

10. Yuan, W. M., & Crawford, D. L. 1995. Characterization of Streptomyces lydicus WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. Applied and Environmental Microbiology, 61(8), 3119-3128.

11. Alexander, D. B., & Zuberer, D. A. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biology and Fertility of soils, 12(1), 39-45.

12. Tripathi, G., & Rawal, S. K. 1998. Simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from Streptomyces aureofaciens. Biotechnology techniques, 12(8), 629-631.

13. Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic acids research, 25(17), 3389-3402.

14. Das, R., Romi, W., Das, R., Sharma, H. K., & Thakur, D. 2018. Antimicrobial potentiality of actinobacteria isolated from two microbiologically unexplored forest ecosystems of Northeast India. BMC microbiology, 18(1), 1-16.

15. Jahangiri, B., Khalaj-Kondori, M., Asadollahi, E., & Sadeghizadeh, M. 2019. Cancer-associated fibroblasts enhance cell proliferation and metastasis of colorectal cancer SW480 cells by provoking long noncoding RNA UCA1. Journal of cell communication and signaling, 13(1), 53-64.

16. Abdulrehman, G., Xv, K., Li, Y., & Kang, L. 2018. Effects of meta-tetrahydroxyphenylchlorin photodynamic therapy on isogenic colorectal cancer SW480 and SW620 cells with different metastatic potentials. Lasers in medical science, 33(7), 1581-1590.

17. Kaufmann-Molnàr, I., & Fringer, A. 2019. Chemotherapeutic side effects in colon cancer. A qualitative study from the point of view of those affected. Pflege, 32(3), 129-136.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

18. Pham, J. V., Yilma, M. A., Feliz, A., Majid, M. T., Maffetone, N., Walker, J. R., ... & Yoon, Y. J. 2019. A review of the microbial production of bioactive natural products and biologics. Frontiers in microbiology, 10, 1404.

19. Davies-Bolorunduro, O. F., Adeleye, I. A., Akinleye, M. O., & Wang, P. G. 2019. Anticancer potential of metabolic compounds from marine actinomycetes isolated from Lagos Lagoon sediment. Journal of pharmaceutical analysis, 9(3), 201-208.

20. Silva, L. J., Crevelin, E. J., Souza, D. T., Lacerda-Júnior, G. V., de Oliveira, V. M., Ruiz, A. L. T. G.,. & Melo, I. S. 2020. Actinobacteria from Antarctica as a source for anticancer discovery. Scientific reports, 10(1), 1-15.

21. Dhaneesha, M., Naman, C.B., Krishnan, K.P., Sinha, R.K., Jayesh, P., Joseph, V., Singh, I.B., Gerwick, W.H. and Sajeevan, T.P., 2017. Streptomyces artemisiae MCCB 248 isolated from Arctic fjord sediments has unique PKS and NRPS biosynthetic genes and produces potential new anticancer natural products. 3 Biotech, 7(1), p.32.

22. Prashanthi, K., Suryan, S. and Varalakshmi, K.N., 2015. In vitro anticancer property of yellow pigment from Streptomyces griseoaurantiacus JUACT 01. Brazilian Archives of Biology and Technology, 58, pp.869-876.

23. Duangupama, T., Intaraudom, C., Pittayakhajonwut, P., Suriyachadkun, C., Tadtong, S., Sirirote, P., & Thawai, C. 2021. Streptomyces musisoli sp. nov., an actinomycete isolated from soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 71(7), 004857.

24. Sadeghi, A., Koobaz, P., Azimi, H., Karimi, E., & Akbari, A. R. 2017. Plant growth promotion and suppression of Phytophthora drechsleri damping-off in cucumber by cellulase-producing Streptomyces. BioControl, 62(6), 805-819.

25. Abbasi, S., Sadeghi, A., & Safaie, N. 2020. Biocontrol of Cucumber Damping-off by Streptomyces Strains Producing Siderophore and Cellulase under Extreme Condition. Biol J Microorganism, 9, 1-13.

26. Abdel-Aziz, M. S., Hathout, A. S., El-Neleety, A. A., Hamed, A. A., Sabry, B. A., Aly, S. E., & Abdel-Wahhab, M. A. 2019. Molecular identification of actinomycetes with antimicrobial, antioxidant and anticancer properties. Comunicata Scientiae, 10(2), 218-231.

27. Gokarn, K., Sarangdhar, V., & Pal, R. B. 2017. Effect of microbial siderophores on mammalian non-malignant and malignant cell lines. BMC complementary and alternative medicine, 17(1), 1-11.

28. Saha, P., San Yeoh, B., Xiao, X., Golonka, R. M., Kumarasamy, S., & Vijay-Kumar, M. 2019. Enterobactin, an iron chelating bacterial siderophore, arrests cancer cell proliferation. Biochemical pharmacology, 168, 71-81.

29. Tan, L. T. H., Chan, C. K., Chan, K. G., Pusparajah, P., Khan, T. M., Ser, H. L., ... & Goh, B. H. 2019. Streptomyces sp. MUM256: A source for apoptosis inducing and cell cycle-arresting bioactive compounds against colon cancer cells. Cancers, 11(11), 1742.

30. Neugut, A. I., Lin, A., Raab, G. T., Hillyer, G. C., Keller, D., O'Neil, D. S., ... & Hershman, D. L. 2019. FOLFOX and FOLFIRI use in stage IV colon cancer: analysis of SEER-medicare data. Clinical colorectal cancer, 18(2), 133-140.

31. Gao, Y., Shang, Q., Li, W., Guo, W., Stojadinovic, A., Mannion, C., Man, Y.G. and Chen, T., 2020. Antibiotics for cancer treatment: A double-edged sword. Journal of Cancer, 11(17), p.5135.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.6.5]