مهار انتخابی رشد رده سلولی آدنوکارسینومای پستان با استفاده از متابولیت‌های تولیدی سویه بومی *سودوموناس UW4* در آزمایشگاه

مائده پاسیار[1]
لیلا روحی[2*]
زهرا بم‌زاده[1]
سید حسین حجازی[3]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲- مرکز تحقیقات سلولی-تکوینی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳- مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

*نویسنده مسئول: شهرکرد، رحمتیه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده علوم پایه، مرکز تحقیقات سلولی-تکوینی تلفن: ۰۳۸۳۳۳۶۱۰۰۰
E-mail: lrouhi59@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۰٦/۰۷ ویرایش: ۱۳۹۵/۰۹/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۲۹ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۹/۳۰

زمینه و هدف: از آنجایی‌که مهار رشد در سلول‌های سرطانی یکی از روش‌های مناسب برای درمان سرطان بوده و یافتن ترکیبات ضدسرطان جدید به‌ویژه ترکیبات مهارکننده تکثیر، اولویت پژوهشی محسوب می‌گردد. امروزه در خصوص متابولیت‌های تولیدی جنس سودوموناس که علیه سلول‌های سرطان موثر می‌باشند، گزارش‌هایی وجود دارد، بنابراین در این مطالعه متابولیت‌های تولیدی سویه بومی *سودوموناس UW4* جداسازی و اثرات ضدمیکروبی و ضدسرطانی آن بررسی شد.

روش بررسی: مطالعه به‌صورت تجربی در اردیبهشت ۱۳۹٤ در مرکز تحقیقات سلولی-تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد. فعالیت ضدمیکروبی متابولیت‌های تولیدی سویه بومی *سودوموناس UW4* علیه برخی از باکتری‌های بیماری‌زا انجام شد. برای بررسی فعالیت ضدسرطانی، سلول‌های SKBR3 و HU-02 با غلظت‌های مختلف ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ mg/ml برای مدت زمان ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. میزان بقای سلول‌ها با روش رنگ‌سنجی MTS مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که *سودوموناس UW4*، قادر به تولید متابولیت‌های ضدمیکروبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* است. تیمار با متابولیت نشان داد با افزایش غلظت به‌صورت وابسته به دوز و زمان، توان زیستی سلول‌ها کاهش پیدا کرد. به‌طوری که بیشترین تأثیر مربوط به غلظت ۲۰ mg/ml و در زمان ۷۲ ساعت پس از تیمار سلول‌ها بود (P<۰/۰۱). در حالی‌که متابولیت‌ها در غلظت‌های مختلف تاثیر معناداری بر سلول‌های فیبروبلاست نرمال نداشت (P=۰/۲٤).

نتیجه‌گیری: ترکیبات فعال زیستی تولید شده توسط *سودوموناس UW4* می‌تواند برای از بین بردن عفونت‌ها و درمان سرطان پستان SK-BR3 به‌کار برده شود.

کلمات کلیدی: *سودوموناس UW4*، متابولیت، سرطان پستان، توان زیستی، فعالیت ضد میکروبی.

مقدمه

آپوپتوز با ویژگی‌هایی همانند چروکیده شدن سلول، تشکیل اجسام آپوپتوتیک و قطعه‌قطعه شدن کروموزومی DNA شناخته می‌شود، نقش مهمی در رشد جنینی و حفظ هومئوستازی بدن دارد.[1] کاستی در فرآیند آپوپتوز، علت بسیاری از بیماری‌ها همچون سرطان است.[2] بنابراین به‌نظر می‌رسد القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی روشی مناسب برای درمان سرطان باشد.[3] در سال‌های اخیر تلاش‌های فراوانی برای یافتن ترکیبات جدید، به‌ویژه از فرآورده‌های طبیعی که خاصیت ضدسرطانی خود را از طریق القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی مختلف اعمال می‌کنند، صورت گرفته است.[4] برخی از این مواد همانند تاکسول (Taxol)، اتوپوزاید (Etoposide) و سیس‌پلاتین (Cisplatin)، از گیاهان به‌دست می‌آیند و دارای کاربردهای بالینی می‌باشند.[5] افزون بر این، ترکیبات ضدسرطان مختلفی نیز وجود دارند که توسط باکتری‌ها تولید می‌شوند.[6و7] محصولات طبیعی، ترکیبات شیمیایی و یا مواد تولیدشده توسط یک موجود زنده و یا پیدا شده در

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

طبیعت هستند که فعالیت دارویی یا بیولوژیکی دارند. موجودات زنده تولید چندین متابولیت اولیه و ثانویه می‌کنند. متابولیت‌های اولیه برای عملکرد ارگانیسم ضروری می‌باشند درحالی‌که، متابولیت‌های ثانویه ممکن است نقش مهمی برای خود تولیدکننده داشته و یا به‌سادگی مواد زاید باشند.

با این حال متابولیت‌های ثانویه ممکن است برای انسان خواص سودمندی داشته باشند. در بسیاری از موارد می‌توان آن‌ها را به‌عنوان مواد خطرناک علیه بیماری‌های انسان مانند سرطان، بیماری‌های باکتریایی، التهاب و بسیاری از بیماری‌های دیگر استفاده کرد. با این وجود، به تعدادی از این متابولیت‌های ثانویه به‌دلیل دارا بودن فعالیت ضدمیکروبی توجه شده است. تولید مواد فعال زیستی مانند باکتریوسین‌ها که به آنتی‌بیوتیک‌ها شبیه هستند، چندین مزیت را در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. به‌عنوان نمونه، سمیت باکتریوسین‌ها بر روی بافت‌های حیوانی به‌نسبت صفر است.[۸] سنتز متابولیت‌های ثانویه و به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها دارای اهمیت اقتصادی و علمی فراوانی است.[۹]

فرآیند تولید مواد ضدمیکروبی به‌طور معمول شامل غربالگری و جداسازی تعداد وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، آزمایشات و تغییر بهینه‌سازی شرایط تولید می‌باشد. میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک و سایر مکان‌های طبیعی، به‌عنوان منبع مفیدی از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی به‌حساب می‌آیند.[۱۰] همواره، نیاز به آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات ضدمیکروبی به‌عنوان مشکلی مهم ادامه خواهد داشت زیرا هنگامی که تعداد باکتری‌های مقاوم و توزیع جغرافیایی این ارگانیسم‌ها هر دو در حال افزایش است، مقاومت ضدمیکروبی یک نگرانی در حال رشد محسوب می‌گردد. به‌همین دلیل، بنیادهای سلامت در جهان به‌دنبال برنامه‌ای جهت شناسایی ترکیبات طبیعی با فعالیت ضدمیکروبی هستند.[۱۱]

یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که بسیاری از ترکیبات شیمی‌درمانی از طریق القای آپوپتوز منجر به مرگ سلول‌های سرطانی می‌گردند. از آنجایی‌که القای آپوپتوز روش مناسبی برای حذف سلول‌های سرطانی است و بیشتر سلول‌های سرطانی دارای نقص در مکانیسم‌های آپوپتوزی خود می‌باشند بنابراین یافتن ترکیباتی که بتواند باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی گردد یکی از اولویت‌های پژوهشی محسوب می‌گردد.[۱۲]

بنابراین هدف از انجام این پژوهش، مهار رشد رده سرطانی SKBR3 آدنوکارسینومای پستان انسان با استفاده از متابولیت‌های تولیدی سویه بومی *سودوموناس UW4* در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی

مطالعه به‌صورت تجربی از اردیبهشت ۱۳۹٤ تا مرداد ۱۳۹٤ در مرکز تحقیقات سلولی-تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد. در پژوهش کنونی از سوش بومی گرم منفی *سودوموناس UW4* جداسازی‌شده از خاک، استفاده گردید. بدین‌منظور، طی پژوهش‌های پیشین ۷۰ نمونه‌ی خاک از مناطق مختلف استان اصفهان از عمق ۱۰ تا ۱۵ cm کنار ریشه‌ی گیاه جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه جهت جداسازی و شناسایی باکتری‌های مورد نظر انتقال داده شد.[۱۳]

به‌منظور جداسازی متابولیت ضدمیکروبی تولیدی از کشت ۲٤ ساعته‌ی باکتری در محیط TSB، استفاده و کشت‌ها در دور g ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس سلول‌ها از سوپرناتانت جداسازی شد و از سوپرناتانت سلول‌ها جهت بررسی فعالیت ضدمیکروبی و ضدسرطانی استفاده گردید.

با استفاده از پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی (چاهک‌هایی به قطر ۵ mm) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد شد. به‌دنبال آن هر کدام از باکتری‌های *اشرشیاکلی* (PTCC 1399)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC 1154) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1189) به ml ۳ محیط کشت BHI Broth اضافه شدند تا کدورتی معادل کدورت لوله‌ی ۰/۵ مک‌فارلند به‌دست آید، سپس بر روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار به‌وسیله‌ی سوآپ استریل و به‌صورت سفره‌ای کشت داده شدند.

در ادامه µl ۱۰۰ از هر سوپرناتانت به یک چاهک اضافه و در نهایت پلیت‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای °C ۳۷ انکوبه شدند. پس از گذشت ۲٤ ساعت، قطر هاله‌ی عدم رشد برای باکتری‌ها و بود یا نبود فعالیت ضدمیکروبی با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. نمونه‌هایی که دارای هاله عدم رشد بودند را درون لوله فالکون ml ۱۵ ریخته درون سانتریفیوژ با دور rpm ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا سوپرناتانت باکتری *سودوموناس UW4* از خود باکتری جدا شود. سپس مقدار ml ۲ از سوپرناتانت را درون ویال‌های لیوفیلیزه ریخته، و درون فریزر ۲۰- قرار داده و پس از مدت ۲٤ ساعت ویال‌ها درون

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

دستگاه فریز درایر، قرار داده شد و سوپرناتانت ابتدا فریز و سپس خشک گردید و در نهایت نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۲۰- °C نگهداری شدند. سلول‌های رده سرطانی SKBR3 و فیبروبلاست نرمال HU-02 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد و در محیط کشت Dulbecco's modified Eaglea s medium, DMEM (Gibco, Life Technologies, Inc., New York, USA) در حضور Foetal bovine serum (FBS) 10% (Gibco, Life Technologies, Inc., New York, USA)، ۱۰۰ IU/ml پنی‌سیلین/استرپتومایسین در انکوباتور با ۵٪ CO2، رطوبت ۹۸٪ و دمای ۳۷ °C کشت داده شدند.

کیت MTS (Promega Corporation, Madison, WI, USA)، یک آزمونی کمی و رنگی است. احیای MTS، به‌وسیله آنزیم میتوکندریایی سوکسینات دهیدروژناز و تنها در سلول‌های زنده رخ می‌دهد. جهت بررسی در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای 5×10^3 سلول کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت محیط رویی با محیط جدید حاوی غلظت‌های مختلف ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ mg/ml (گروه I، II، III و IV) جایگزین و سلول‌ها برای ۷۲، ۴۸، ۲۴ ساعت در شرایط کشت نگهداری شدند. از سلول‌های بدون تیمار به‌عنوان کنترل استفاده شد. در هر ردیف از چاهک‌های هر پلیت در کنار غلظت‌های مختلف متابولیت یک چاهک به‌عنوان کنترل تیمار در نظر گرفته شد، که فاقد سلول بودند. پس از گذشت زمان‌های مورد نظر، محلول MTS به‌میزان ۲۰ µl به هر چاهک اضافه گردید و به‌مدت چهار ساعت در انکوباتور انکوبه شدند. میزان رنگ تولیدی توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۹۲ nm تعیین شد. تمامی مراحل آزمایش سه بار تکرار شد و داده‌ها به‌صورت میانگین± SD بیان شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA، SPSS software, version 14 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها سطح معنادار آزمون‌ها P<۰/۰۵ بود.

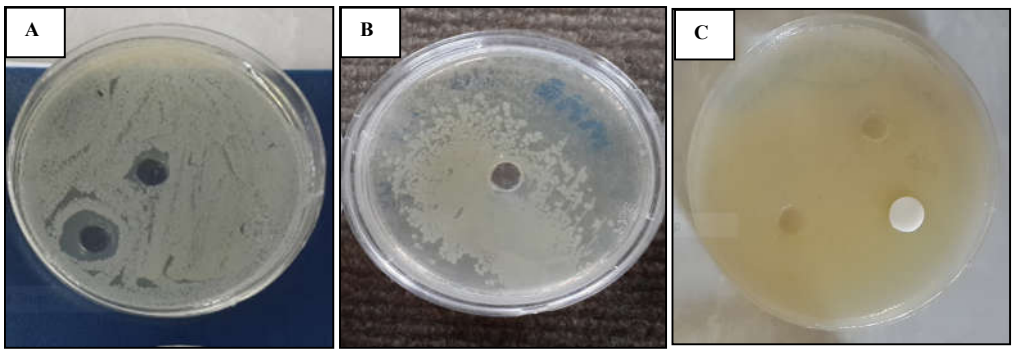
یافته‌ها

نتایج به‌دست‌آمده در این مرحله بر اساس روش Well diffusion assay (WDA) نشان داد که جدایه *سودوموناس UW4*، قادر به تولید متابولیت ضدمیکروبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1189) بوده است (جدول ۱)، (شکل ۱). در پلیت‌های حاوی باکتری‌های بیماری‌زای *اشرشیاکلی* و *باسیلوس سرئوس*، هاله عدم رشد مشاهده نشد.

جدول ۱: اثر ضدمیکروبی متابولیت‌های تولیدی سویه بومی *سودوموناس UW4* (mm)

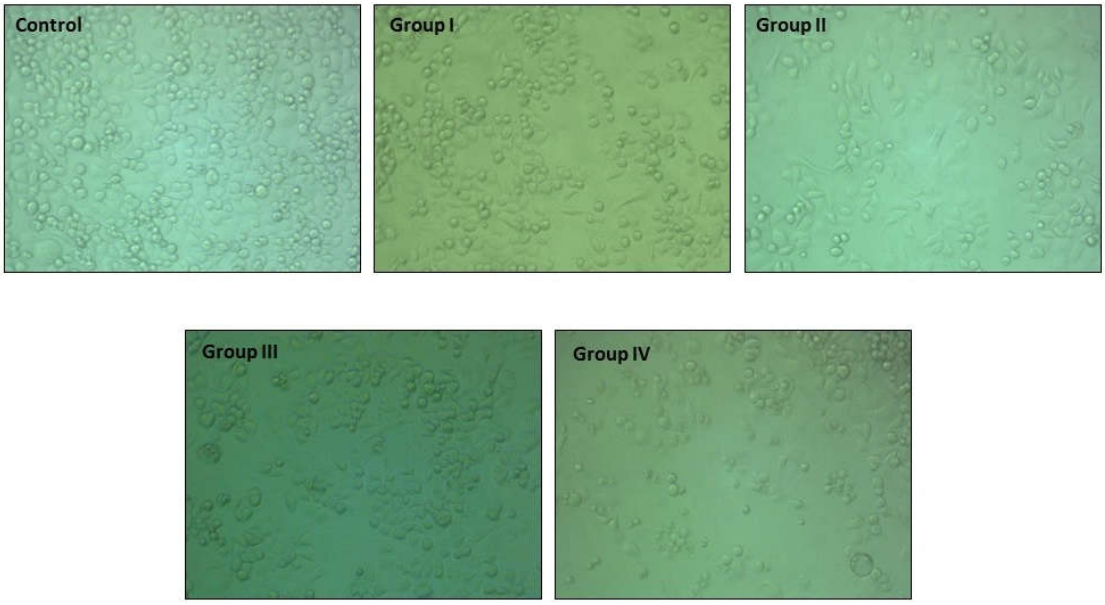
سویه‌های میکروبی	قطر هاله عدم رشد متابولیت‌های تولیدی (mm)
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱
باسیلوس سرئوس	-*
اشرشیا کلی	-

* عدم حساسیت

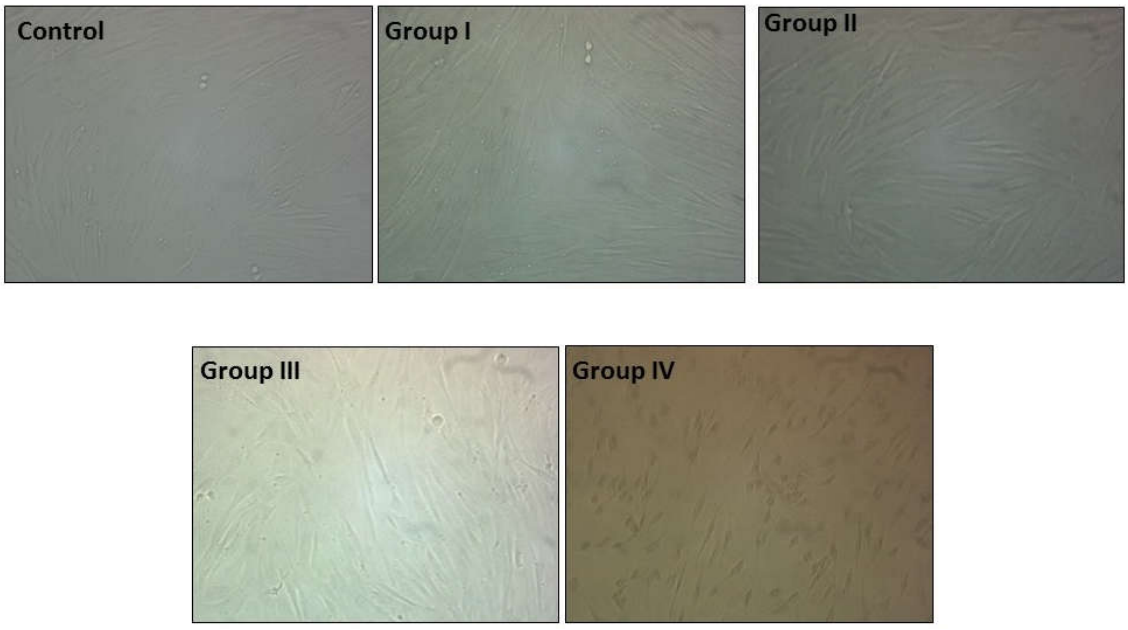


شکل ۱: فعالیت ضدمیکروبی متابولیت تولیدی سویه بومی *سودوموناس UW4* A) هاله عدم رشد در پلیت حاوی باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس*، B) نمایان نشدن هاله عدم رشد در پلیت حاوی باکتری *اشرشیاکلی*، C) نمایان نشدن هاله عدم رشد در پلیت حاوی باکتری *باسیلوس سرئوس*

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

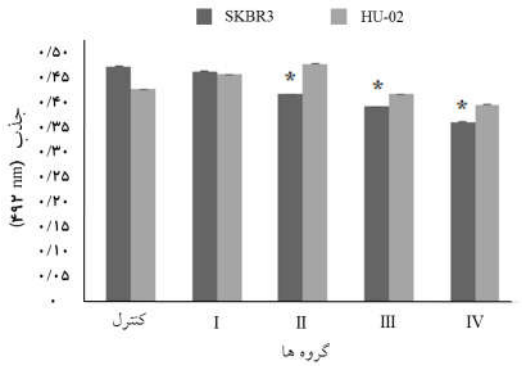


شکل ۲: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت سویه بومی *سودوموناس UW4* بر رده سلول‌های SKBR3 در مدت زمان ۷۲ ساعت انکوباسیون

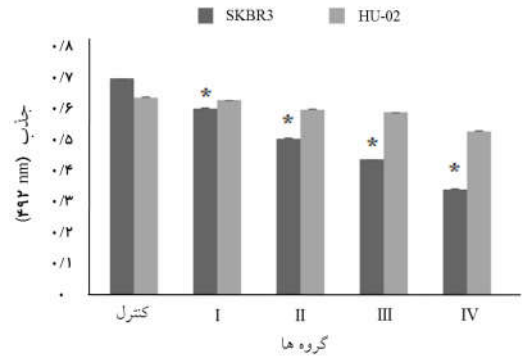


شکل ۳: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت سویه بومی *سودوموناس UW4* بر رده سلول‌های HU-02 در مدت زمان ۷۲ ساعت انکوباسیون

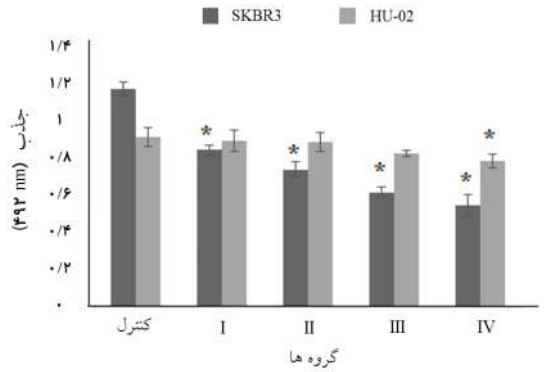
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]



نمودار ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت سویه بومی *سودوموناس UW4* بر توان زیستی رده‌های SKBR-3 و HU-02 در مدت زمان ۲٤ ساعت انکوباسیون
*** P<۰/۰۵ اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل**



نمودار ۲: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت سویه بومی *سودوموناس UW4* بر توان زیستی رده‌های SKBR-3 و HU-02 در مدت زمان ٤٨ ساعت انکوباسیون
*** P<۰/۰۵ اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل**



نمودار ۳: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت سویه بومی *سودوموناس UW4* بر توان زیستی رده‌های SKBR-3 و HU-02 در مدت زمان ۷۲ ساعت انکوباسیون
*** P<۰/۰۱ اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل**

مشاهدات میکروسکوپی نشان‌دهنده کاهش تعداد سلول‌های SKBR3 تیمار شده به‌صورت وابسته به غلظت و زمان می‌باشد (شکل ۲). در صورتی‌که سلول‌های HU-02 تفاوت قابل‌توجهی را نسبت به کنترل نشان ندادند (شکل ۳).

تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت در رده SKBR3 و HU-02 بر میزان بقای سلولی ۷۲، ٤٨، ۲٤ ساعت پس از تیمار اندازه‌گیری شد. در تیمار ۲٤ ساعته، در همه گروه‌ها توان زیستی رده SKBR3 به‌صورت وابسته به دوز کاهش پیـدا کرد که گروه II، III و IV نسبت به گروه کنترل معنادار بودند (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). در تیمار ٤٨ ساعته، در همه گروه‌ها میزان بقا، به‌صورت وابسته به دوز کاهش پیدا کرد که این اختلاف نسبت به گروه کنترل معنادار بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۲). در تیمار ۷۲ ساعته، در همه گروه‌ها میزان بقا، به‌صورت وابسته به دوز کاهش پیدا کرد که همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل معنادار بودند (P<۰/۰۱) (نمودار ۳). در حالی‌که سلول‌های HU-02 تفاوت معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد (P=۰/۲٤).

بحث

تاکنون اثرات مهار رشدی متابولیت‌های حاصل از گونه‌های مختلف باکتری‌ها در رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار گرفته است. به‌عنوان نمونه، متابولیت استرپتوکوردین که از باکتری استرپتومایسس گونه KORDI-3238 به‌دست‌آمده باعث مهار رشد در چندین رده سلول انسانی مانند MDA-MB-231 (سرطان پستان)، HTC-15 (سرطان کلون)، PC-3 (سرطان پروستات) و K562 (لوسمی میلوییدی مزمن) شده است.[۱٤] Phonnok و همکاران، به بررسی متابولیت‌های میکروبیال و نقش آن‌ها در القای آپوپتوز و بررسی آن بر روی سلول‌های سرطانی پرداختند و تأثیر ۳۹٤ عصاره میکروبی را بر فعالیت تکثیری چهار رده از سلول‌های سرطانی را با استفاده از روش MTT ارزیابی کردند. نتیجه این‌که در

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

اثر این عصاره‌ها تغییرات مورفولوژیک سلول مانند چروک خوردن سلول، از دست دادن تماس سطحی و از دست دادن تورم سلولی در تمام سلول‌های سرطانی تیمار شده مشاهده شده است، که می‌تواند تأییدی بر نتیجه پژوهش کنونی باشد.[١٥] در پژوهش‌های بعدی Siao و همکاران به بررسی دو سویه لاکتوباسیلوس بومی و ١٠ باکتری لاکتیک اسید (LAB) دیگر پرداختند. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که سویه‌های لاکتوباسیل بومی فعالیت‌های ضدسرطان و آنتی‌اکسیداتیو قوی دارند. فرآورده‌های تخمیری بعضی از LABها مانند *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدیو باکتریوم*، اثر مهاری روی رشد سلول‌های سرطان پستان داشتند.[١٦]

Jianfeng Zhao و همکاران، به بررسی ساختمان شیمیایی و فعالیت‌های بیولوژیکال سورفاکتانت‌های رامنولیپید تهیه‌شده از *سودوموناس آئروژینوزا* m14808 به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه که از کشت آبگوشت جدا شده و با استفاده از سوبستراهای هیدروفولیک و هیدروفوبیک، مانند هیدروکربن‌های کربوهیدراته، روغن‌های گیاهی یا ضایعات زباله‌های غذایی تهیه می‌شود، به‌طور وسیعی مورد مطالعه قرار داده‌اند که در مطالعات یافت‌شده رامنولیپید اثر مهاری قابل‌توجهی روی رشد سلول‌های سرطان پستان انسانی MCF-7 و رده سلولی حشرات c6/36 داشته است.[١٧] با توجه به این اثرات، مطالعات بیشتر در جهت شناسایی مکانیسم‌های احتمالی کاهش توان زیستی توسط متابولیت‌های سویه بومی *سودوموناس UW4* در این رده سلولی ضروری به‌نظر می‌رسد.

به‌طور کلی، با توجه به نقایص به‌وجود آمده در فرآیند آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و نیز وجود مقاومت دارویی در این سلول‌ها، شناسایی ترکیبات جدید مهارکننده رشد سلولی همانند متابولیت‌های سویه بومی *سودوموناس UW4* می‌تواند برای مطالعات بیشتر در زمینه درمان سرطان کمک‌کننده باشد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی می‌توان نتیجه گرفت که متابولیت‌های سویه بومی *سودوموناس UW4* دارای خاصیت ضد توموری است.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان "تاثیر متابولیت تولیدی سویه بومی *سودوموناس UW4* بر میزان تکثیر و آپوپتوز رده سلولی آدنوکارسینومای پستان انسان (SK-(BR-3" مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد در سال ١٣٩٤ به کد ١٣٣٣٠٥٠٣٩٤١٠١٤ می‌باشد.

References

1. Cho S, Choi E. Apoptotic signaling pathways: caspases and stress activated protein kinases. *JBMB* 2002;35(1):24-7.
2. Han S, Kim Y, Kim T. Role of apoptotic and necrotic cell death under physiologic conditions. *BMB Rep* 2008;41(1):1-10.
3. Russo A, Terrasi M, Agnese V, Santini D, Bazan V. Apoptosis: a relevant tool for anticancer therapy. *Ann Oncol* 2006;17(7):115-23.
4. Hyewon S, Oh H, Lee C. Benzyldihydroxyoctenone, a novel nonsteroidal antiandrogen, shows differential apoptotic induction in prostate cancer cells in response to their androgen responsiveness. *J Microbiol Biotechnol* 2011;21(5):540-4.
5. Taraphdar A, Roy M, Bhattacharya R. Natural products as inducers of apoptosis: Implication for cancer therapy and prevention. *Curr Sci* 2001;80(11):1387-96.
6. Lin X, Wen Y, Li M, Chen Z, Guo J, Song Y, et al. A new strain of Streptomyces avermitilis produces high yield of oligomycin A with potent anti-tumor activity on human cancer cell lines in vitro. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009;81(5):839-45.
7. Lee JW, Shin JG, Kim EH, Kang HE, Yim IB, Kim JY, et al. Immunomodulatory and antitumor effects in vivo by the cytoplasmic fraction of Lactobacillus casei and Bifidobacterium longum. *J Vet Sci* 2004;5(1):41-8.
8. Baserisalehi M, Bahador N. Evaluation of soil origin Pseudomonas sp. for production of ioactive compounds. *J Biol Sci* 2013;13(3):152-7.
9. Rokem JS, Lantz AE, Nielsen J. Systems biology of antibiotic production by microorganisms. *Nat Prod Rep* 2007;24(6):1262-87.
10. Muhammad SA1, Ahmad S, Hameed A. Report: antibiotic production by thermophilic Bacillus specie SAT-4. *Pak J Pharm Sci* 2009;22(3):339-45.
11. Bechard J, Eastwell KC, Mazza G, Shkura B. Isolation and Partial Chemical Characterization of an Antimicrobial Peptide Produced by a Strain of Bacillus subtilis. *J Agric Food chem* 1998;46(12):5355-61.
12. Jeong SY, Han MH, Jin CY, Kim GY, Choi BT, Nam TJ, et al. Apoptosis induction of human leukemia cells by Streptomyces sp. SY-103 metabolites through activation of caspase-3 and inactivation of Akt. *Int J Mol Med* 2010;25(1):31-40.
13. Skandari SH. Isolation and identification of antimicrobial metabolites producers gram-negative bacteria from Isfahan soil [Dissertation]. Shahrekord, Iran: Islamic Azad University, 2015.
14. Jeong SY, Shin HJ, Kim TS, Lee HS, Park SK, Kim HM. Streptokordin, a new cytotoxic compound of the methylpyridine class from a marine-derived Streptomyces sp. KORDI-3238. *J Antibiot (Tokyo)* 2006;59(4):234-40.
15. Phonnok S, Tanechpongtamb WU, Wongsatayanon TB. Anticancer and apoptosis-inducing activities of microbial metabolites. *Electron J Biotechnol* 2010;13(5).
16. Siao AC, Hou CW, Kao YH, Jeng KC. Effect of sesamin on apoptosis and cell cycle arrest in human breast cancer mcf-7 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16(9):3779-83.
17. Zhao J, Wu Y, Tazifua A, Xin X,Yang SH. Chemical structures and biological activities of rhamnolipid biosurfactants produced by Pseudomonas aeruginosa M14808. *J Chem Pharm Res* 2013;5(12):177-82.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

TUMJ Tehran University Medical Journal, December 2016; Vol. 74, No. 9: 614-620 Original Article

In vitro selective growth inhibition of breast adenocarcinoma cell lines by *Pseudomonas sp. UW4* metabolites

Maedeh Pasiar M.D.[1]
Leila Rouhi Ph.D.[2*]
Zahra Bamzadeh Ph.D.[1]
Seyed Hossein Hejazi Ph.D.[3]

1- Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2- Cellular and Developmental Research Center, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
3- Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

[*] Corresponding author: Cellular and Developmental Research Center, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Rahmatieh, Shahrekord, Iran.
Tel: +98 3833361000
E-mail: lrouhi59@gmail.com

Abstract

Received: 28 Aug. 2016 Revised: 09 Dec. 2016 Accepted: 19 Dec. 2016 Available online: 20 Dec. 2016

Background: Breast cancer is a malignant proliferation of epithelial cells that lining the ducts or lobules of the breast. It is the second common cancer, after lung cancer in women. Since growth inhibition is an important strategy in cancer treatment, many attempts are in program to find new apoptotic inducer agents. Today there is some reports about effect of metabolites of *Pseudomonas* on cancer cells, hence, metabolites of *Pseudomonas* sp. UW4, were isolated and anti-cancer and anti-microbial activity of these metabolites was studied.

Methods: This experimental study was performed in cellular and developmental biology of Shahrekord Islamic Azad University from April 2015 to August 2015. Anti-microbial activity of metabolites of *Pseudomonas* sp. UW4 was tested against a pathogenic bacteria, including *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. For anti-cancer activity, in this study SKBR3 cells and normal fibroblast cells (HU-02) were cultured in DMEM medium with 10% fetal bovine serum (FBS). The cells were treated by various concentrations of these metabolites 5, 10, 15 and 20 mg/ml for 24, 48 and 72 h. Cell viability was assessed by MTS assay. Cells were seeded at 5×10^3 cells/ml in 96 well plates and incubated for 24 hr. Then metabolites of bacteria were added, after indicated times MTS (20 µl) was added and the absorbance was measured at 492 nm using ELISA plate reader.

Results: *Pseudomonas* sp. UW4 was able to produce antimicrobial metabolites against *Staphylococcus aureus*. Metabolites decreases the viability of SKBR3 cell line in a time and dose dependent manner, so that the most effective concentration of this substance was 20 mg/ml and 72 h after treatment ($P< 0.01$). While *Pseudomonas* sp. UW4 in various concentrations had no significant effect on normal fibroblast cells ($P= 0.24$).

Conclusion: Bioactive compounds produced by of *Pseudomonas* sp. UW4 could be used for elimination of infections and treatment of breast cancer SK-BR3.

Keywords: anti-microbial activity, breast cancer, cell survival, metabolite, Pseudomonas, viability.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]