

A screening program on anti-metastasis from microbial metabolites

Follow this and additional works at: <https://www.jfda-online.com/journal>

Recommended Citation

Lin, Y.-H.; Tang, C.-H.; Chen, C.-C.; Chen, S.-S.; Chen, C.-Y.; Yuan, G.-F.; and Hwang, S.-M. (1997) "A screening program on anti-metastasis from microbial metabolites," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 5 : Iss. 1 , Article 2.
Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2953>

This Original Article is brought to you for free and open access by Journal of Food and Drug Analysis. It has been accepted for inclusion in Journal of Food and Drug Analysis by an authorized editor of Journal of Food and Drug Analysis.



以動物細胞篩選抗癌症轉移之生物活性物質

林瑩慧 唐建華 陳建州 陳珊珊 陳瓊雲 袁國芳 黃效民*

財團法人食品工業發展研究所菌種中心

摘 要

腫瘤的發生機制至今仍不清楚。腫瘤的可怕，在於其易於轉移，一旦發現時經常已有部分腫瘤細胞轉移至人體其他部位而不易以外科手術方法清除，造成癌症之再次發生。利用具有高度轉移力之細胞株，包括老鼠黑色素瘤細胞B16-F10、人類纖維肉瘤細胞HT-1080與低轉移力之細胞株—老鼠黑色素瘤B16-F1、人類胚胎正常肺纖維細胞MRC-5，作為抗癌症轉移物質之篩選模式，對台灣極端環境，如森林土、溫泉土、湖畔土、果園根圍之土壤中分離之100株本土絲狀真菌分離株之發酵萃取液進行篩選，應用美國國家癌症研究所(US National Cancer Institute; 簡稱NCI)所發展的sulforhodamine (SRB)染色方法進行細胞毒性試驗，篩選對高度轉移力之細胞株B16-F10、HT-1080具有高生長抑制效應，而對低轉移力之B16-F1、MRC-5不具抑制作用或作用極低之生物活性物質，同時以人類肝癌細胞株Hep G2和人類血癌細胞株K562作為篩選物質對不同癌細胞專一性之對照，結果顯示某些分離株萃取物含具有抗癌症轉移作用之生物活性物質存在。本篇報告將介紹此生物活性物質篩選系統之篩選方法並利用此篩選系統所進行之篩選工作。

關鍵詞：細胞培養，生物活性物質，抗癌症轉移，篩選。

前 言

自從青黴素被發現具有抑菌效果並因此造福人類生活後，如何從自然界，特別是從極端環境、海洋，以及尚未經人為破壞之原始熱帶雨林中篩選分離具有特殊功能之生物活性物質一直是科學家所努力的方向⁽¹⁾。根據美國國家癌症研究所於1991年所做的統計顯示，在當時已商業化或已進入臨床試驗階段的癌症治療藥物中，至少有50%以上來自天然物質(natural product)所分離⁽²⁾，足見此類物質具有十足之開發潛力。

所謂的天然物質，主要是指微生物，包括細菌、真菌、酵母菌之代謝物，以及藻類、植物組織等之萃取物。截至目前為止，大多數具生物活性的物質皆由微生物分離而得⁽³⁾。由於

微生物具有易於大量培養，沒有地理環境的限制，並可經由生物合成(biosynthesis)或生物轉換(bioconversion)等遺傳工程技術改變原有產物之特性，而得到不同功能的衍生物及新化合物的優點，使得從微生物中篩選生物活性物質成為目前新藥開發的主流⁽⁴⁾。而根據英國Xenova製藥公司於1989年間所篩選的生物活性物質來源作分析，發現百分之七十五之生物活性物質均分離自絲狀真菌，其地理分佈又以東南亞、中南美洲熱帶雨林為最大宗^(1,3)。

台灣由於地理環境特殊，有高山、湖泊、溫泉、鹽地、沼澤、森林等多種生態分布，加上地處熱帶與亞熱帶氣候，具有多樣性之微生物相，如何建立一套有效率的篩選系統，針對台灣本土所特有的菌株進行篩選，以期發現具有生產潛力之生物活性物質，乃刻不容緩之課

題。本研究以動物細胞篩選抗癌症轉移之生物活性物質，主要根據Fidler⁽⁵⁾所發展之具有不同轉移能力之老鼠黑色素瘤細胞株模式，分別是具有高度轉移力之B16-F10，與低轉移力之細胞株B16-F1，另外加入人類纖維肉瘤細胞HT-1080及人類胚胎正常肺纖維細胞MRC-5作為人類高度轉移力與正常組織細胞之對照，同時以人類肝癌細胞株Hep G2和人類血癌細胞株K562作為篩選物質對不同癌細胞專一性之分析。針對台灣本土極端環境，包括森林土、溫泉土、湖畔土、果園根圈土分離之100株絲狀真菌分離株之發酵萃取液，進行初步篩選對高度轉移力細胞株B16-F10、HT-1080有生長抑制效應而對低轉移力之細胞株B16-F1、MRC-5不具抑制作用或作用極低之生物活性物質。本篇研究報告的目的，在於介紹本所建立之以動物細胞株為模式之生物活性物質篩選與分析系

統，並以本所採集分離之100株台灣本土分離之絲狀真菌發酵萃取液進行初步篩選結果，驗證此一篩選系統之可行性，以提供日後研究開發之參考。

材料與方法

一、細胞株、培養基及藥品

本實驗所使用之細胞，其編號，來源，篩選時之細胞數如Table 1所示。其中除CCRC 60007 K562為懸浮型細胞外，其餘5株均為附著型細胞。細胞培養所使用之培養基，血清，trypsin，磷酸－生理食鹽水緩衝液均採用Gibco-BRL (Life Technologies GIBCO BRL Co. Ltd) 產品。75T培養瓶，96孔培養盤採用Nunc公司產品。所有細胞均經過mycoplasma檢測⁽⁶⁾並以同功酵素電泳圖譜確定其種源正確性⁽⁷⁾。

Table 1. Cell lines used in this study

CCRC No ^a	Name of cell line	Cell type	Cell number/well
60030	B16-F1	melanoma, mouse	5×10 ³
60031	B16-F10	melanoma, mouse	5×10 ³
60037	HT-1080	fibrosarcoma, human	7.5×10 ³
60023	MRC-5	fibroblast, diploid, human	1×10 ⁴
60007	K562	chronic myelogenous leukemia, human	1.5×10 ⁴
60025	Hep G2	hepatocellular carcinoma, human	2×10 ⁴

^aCCRC: Culture Collection and Research Center, Taiwan.

Table 2. Filamentous fungi isolated from soil samples in Taiwan

縣市	地區	樣品	株數
宜蘭	仁澤	溫泉土	2
宜蘭	太平山翠峰湖	湖畔土	4
宜蘭	太平山森林	森林土	26
苗栗	竹崎果園	根圈土	23
嘉義	梅山果園	根圈土	11
嘉義	名間果園	根圈土	13
嘉義	中寮果園	根圈土	1
台南	南化果園	根圈土	20

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C _{only} ^a	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}	C _{only}
B	S ₁ ^b	S ₁	S ₁	S ₂	S ₂	S ₂	S ₃	S ₃	S ₃	S ₄	S ₄	S ₄
C	S ₅	S ₅	S ₅	S ₆	S ₆	S ₆	S ₇	S ₇	S ₇	S ₈	S ₈	S ₈
D	S ₉	S ₉	S ₉	S ₁₀	S ₁₀	S ₁₀	S ₁₁	S ₁₁	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₂	S ₁₂
E	S ₁₃	S ₁₃	S ₁₃	S ₁₄	S ₁₄	S ₁₄	S ₁₅	S ₁₅	S ₁₅	S ₁₆	S ₁₆	S ₁₆
F	S ₁₇	S ₁₇	S ₁₇	S ₁₈	S ₁₈	S ₁₈	S ₁₉	S ₁₉	S ₁₉	S ₂₀	S ₂₀	S ₂₀
G	S ₂₁	S ₂₁	S ₂₁	S ₂₂	S ₂₂	S ₂₂	S ₂₃	S ₂₃	S ₂₃	S ₂₄	S ₂₄	S ₂₄
H	S ₂₅	S ₂₅	S ₂₅	S ₂₆	S ₂₆	S ₂₆	S ₂₇	S ₂₇	S ₂₇	S ₂₈	S ₂₈	S ₂₈

Conly^a: cell culture only and no drug added; S₁^b: sample 1, triplicate.

Figure 1. Microtiter plate format used in this study, 28 different samples were analyzed in each plate.

細胞培養與分殖方法按一般細胞培養步驟。為使操作簡便，所使用之6株細胞株均已馴化培養於minimum essential medium (MEM)含10% heat inactivated fetal bovine serum。篩選過程中為保持菌株之純淨度，皆培養於不含抗生素之細胞培養液中並將使用代數控制在10次(10 passages)以內，一經超過即重新由液氮筒中重新取出新管加以培養。

二、待測樣品之準備

實驗用的台灣本土絲狀真菌分離株，其土壤採集地區如Table 2所示。初步經過(1)稀釋平板法；(2)高溫處理法；(3)酒精處理法和(4)高溫培養法等四種方法分離出生長快速，對高溫、酒精有較高抗性之菌株^(8,9)。菌株之發酵培養⁽¹⁰⁾是將菌株接種在Potato Sucrose agar (potato 20%, sucrose 2%, agar 1.5%)斜面上，室溫下培養兩至三星期後，加入無菌水混合，取0.3 ml孢子懸浮液至內含30 ml 發酵培養基FM-1 (soluble starch 6%, yeast extract 2%, malt extract 5%, NaCl 2%, pH 7.0) 之250 ml三角搖瓶中，於30°C，135 rpm振盪培養七天。發酵培養後，以等體積無水酒精，振盪萃取後，離心

3000 rpm, 10 min，所得之萃取物，取0.6 ml分裝於2 ml之冷凍小管並以真空抽氣乾燥方式去除水和酒精後，於-20°C保存。

三、細胞加藥處理⁽¹¹⁻¹⁶⁾

將待測細胞分殖於96孔細胞培養盤，培養24小時後，另取出保存於-20°C之微生物發酵萃取物，重新懸浮於1.8 ml已回溫之細胞培養液中。以Figure 1所述之排列方式，區分為未加藥處理之細胞(第一排，C_{only})與3重覆測試之樣品(S₁~S₂₈，共計28個樣品)，依序加入於各細胞培養孔中100 μl。加入發酵萃取物之細胞繼續培養48小時後作細胞毒性分析。

四、細胞毒性 (cytotoxicity) 分析⁽¹⁷⁾

本研究之篩選系統採用sulforhodamine (SRB)做為細胞毒性分析之染劑。SRB是一種帶sulfonic基團之陰離子蛋白質染劑，在弱酸的環境下可與蛋白質中帶正電荷部份相結合，再以鹼性unbuffered Tris base溶液萃取後，以ELISA reader測定O.D. 510 nm吸光值，以定量每個培養孔中總細胞蛋白質含量，可換算出細胞生長抑制情形。由於SRB分析方法較Lowry

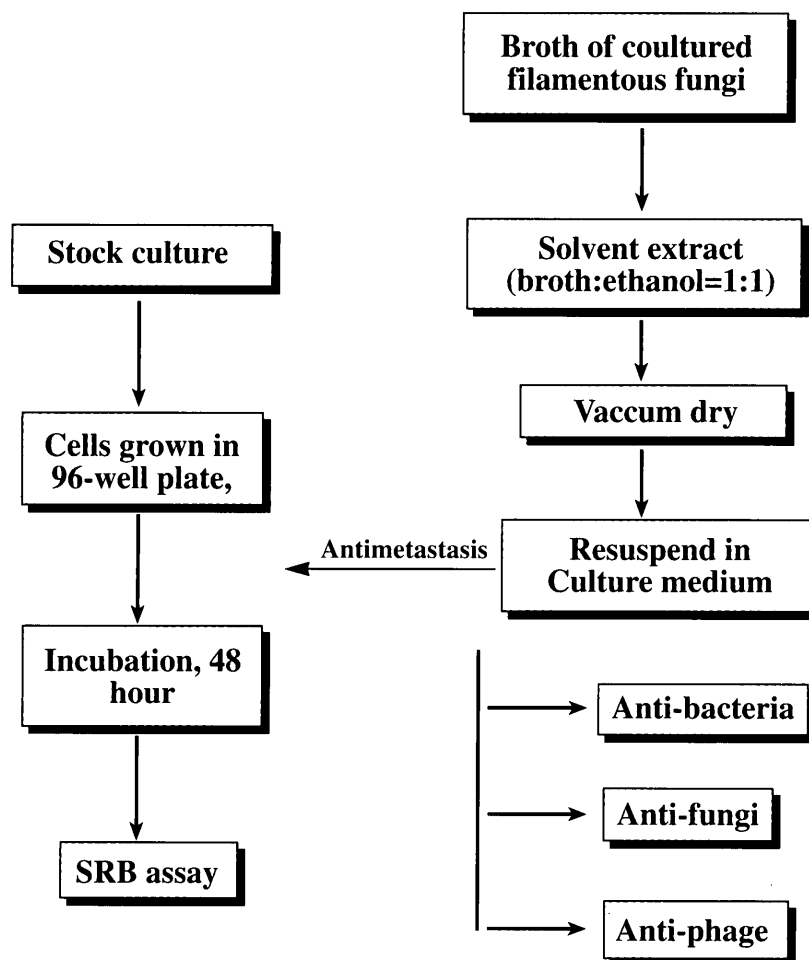


Figure 2. Scheme of screening program in Culture Collection and Research Center. Culture broth of filamentous fungi was tested by antimetastasis, anti-bacterial, anti-fungi and anti-phage.

或Bradford等傳統蛋白質定量法適合96孔細胞培養盤使用，於大量快速篩選(High throughput screening, 簡稱HTS)時經常當作細胞毒性試驗之指標。

結 果

一、建立以動物細胞株探討抑制癌症轉移機制之篩選模式

Figure 2為本所菌種中心所使用之生物活性物質篩選流程圖。絲狀真菌分離株之發酵液經由酒精以1:1混合方式萃取10分鐘後，離心，取其上澄液。將此發酵萃取液以真空抽氣乾燥的目的在於避免萃取溶液中酒精溶劑產生之效應(alcohol effect)，再以細胞培養液溶解並做3倍稀釋，使細胞毒殺效應在不同細胞間產生不同的毒殺效果。

由於本實驗的篩選模式是以細胞經絲狀真菌發酵萃取液中所含物質作用後之生長抑制程度作為篩選指標，6株受試細胞均選擇於log phase進行結果分析。根據先前的試驗顯示(data not show)細胞在藥物處理24小時內並無明顯生長抑制現象，超過96小時則細胞均已停止生長，各樣品間之差異性不大而無法區別，故本研究將已稀釋之各樣品加入培養於96孔培養盤之細胞中，作用48小時作為試驗的終止點(end point)。

二、以SRB做為細胞毒殺效果之指標

Figure 3為利用SRB蛋白質染劑作為細胞毒殺指標之例。細胞經絲狀真菌發酵萃取液所含物質作用後之生長抑制程度，可直接經由SRB原位染色(in situ)後以肉眼所見之顏色深淺判斷。顏色愈深者表示細胞受萃取液所含物質之抑制影響較小，故生長抑制程度較低；反

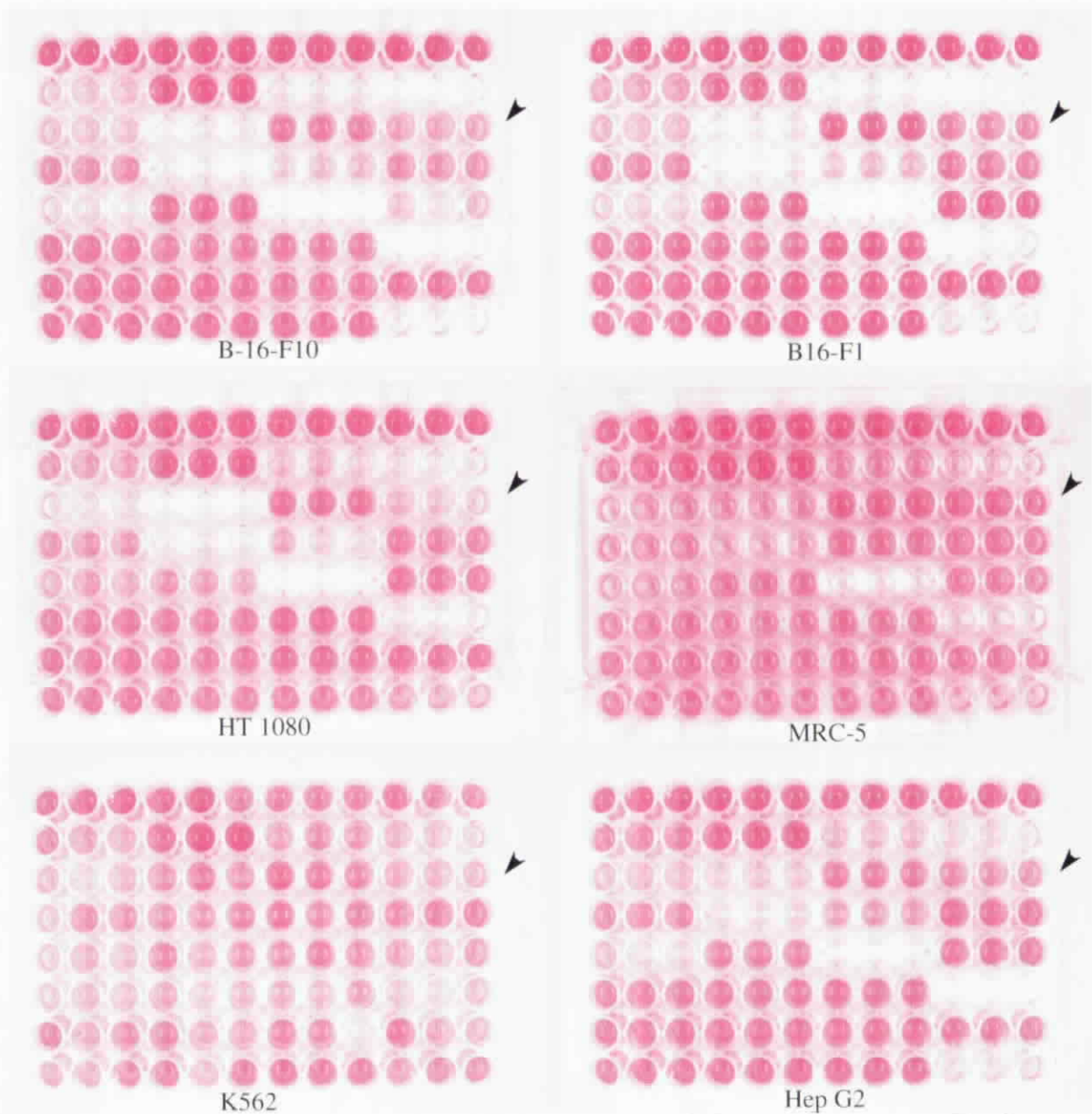


Figure 3. Photograph of an example of the cytotoxicity analysis of this screening program. The first row of plates were cells only. Each sample was tested triplicately. S_8 (►) shows one of the effective sample which could differentiate the high and low metastasis cells used in this study.

之，顏色愈淺者表示細胞受萃取液所含物質之抑制程度較高。實驗中所認定之有效樣品是以對高度轉移力之B16-F10細胞、HT-1080細胞具有高抑制生長效應，而對低轉移力之B16-F1細胞、MRC-5細胞不具抑制作用或作用較低之生物活性物質，同時以人類肝癌細胞株Hep G2和人類血癌細胞株K562作為篩選物質對不同癌細胞專一性之對照，如Figure 3中之 S_8 樣品。進一步以ELISA reader 測定各培養孔之吸光值，取三重複之平均值樣品與未加藥之控制組吸光值

平均值比值即為受測細胞之存活率，如Figure 4所示。Fig. 4中此萃取物對高轉移性之細胞B16-F10與 HT1080之毒性較高，細胞存活率均小於20%，而同一萃取物對K562，Hep G2，B16-F1，和MRC-5細胞之毒性相對較小，存活率較高。將K562，Hep G2，B16-F1，和MRC-5之存活率除以B16-F10，其存活率之比值分別為1.35，1.96，2.15，以及2.95；而同樣細胞對HT-1080之存活率比值分別為2.0，2.96，3.25，以及4.46。由此結果中除了可以觀察計

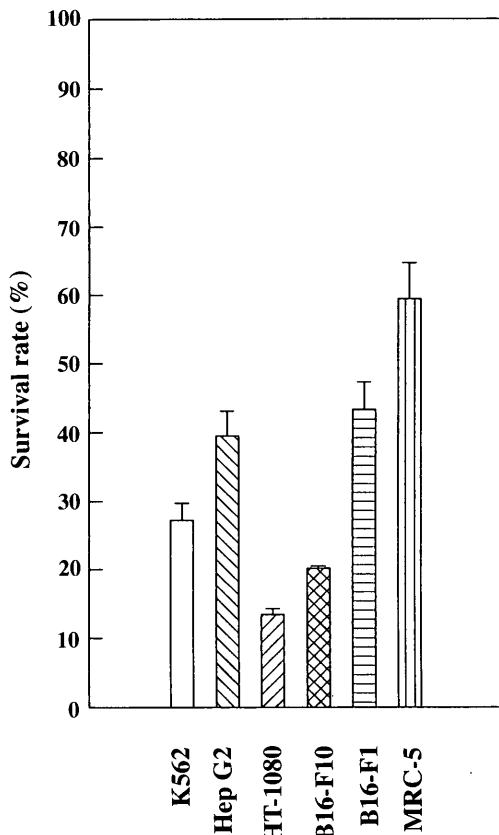


Figure 4. Example of an effective sample analyzed in the screening program.

算某一萃取物對不同轉移力腫瘤細胞存活率之影響外，對不同腫瘤細胞作用之專一性，如本實驗中之血癌細胞K562與肝癌細胞Hep G2，亦可同時加以評估，以期篩選出對某一特定細胞專一性之物質。Fig. 4中萃取物對肝癌細胞Hep G2之毒害作用明顯較低，而對血癌細胞K562之毒害作用較高，表示該萃取物對血癌細胞之作用性較高。惟K562屬惡性之血癌細胞，本身即具有某種程度之轉移特性。

三、初步篩選結果

經由初步篩選100株從台灣各地森林、溫泉、湖畔、果園根圈之土壤所得絲狀真菌之發酵萃取液，發現從中南部之苗栗、嘉義、台南各種果園所分離之5株絲狀真菌可能具有抑制癌症細胞轉移之物質存在，其中2株同時具有抗噬菌體之效果⁽¹⁰⁾。根據文獻顯示，由果園根圈土(rhizosphere)所分離之絲狀真菌多具有可分解大分子之胞外水解酵素，如纖維素，木質素、澱粉、蛋白質、脂質等等生理活性物質存

在⁽⁸⁾，是否因此對人類癌症之轉移產生阻抗效果以及造成細菌抗噬菌體之能力，有待進一步證明。

討 論

利用細胞培養為基礎的體外(*in vitro*)篩選模式已經逐漸取代過去以老鼠所進行之活體試驗而成為當今新藥篩選系統之主流。相較於傳統的動物實驗，以細胞培養模式之篩選工作具有價格低廉，細胞種類眾多，可根據篩選者設定之篩選目標選擇不同種類之癌細胞進行分析，加上藥物作用的反應迅速，可在短時間內得到明顯效果。只要能設計一套好的分析方法及數據管理系統，即可藉助自動化之儀器設備篩選大量樣品。根據美國國家癌症研究所所發展的體外篩選計劃(*cell line-based in vitro screening program*)的統計，其一年可以篩選超過50,000個以上化合物，如再加上利用機械手臂之操作，篩選數目可再增加數倍，篩選的數目非常可觀⁽¹¹⁻¹⁶⁾。

本篇報告即針對癌症之轉移現象建立一套動物細胞株之篩選模式。癌症轉移之機制目前的通說認為是一種“可選擇性的過程”，由臨床與動物實驗的研究均發現某些器官之原位性腫瘤易於轉移至遠方特定位置，此一轉移特性可以反應出個別宿主組織之特異性。本篩選系統使用Fidler所建立之不同轉移能力之老鼠黑色素瘤細胞株模式，分別是具有高轉移能力之B16-F10細胞與低轉移能力之B16-F1細胞。在此模式中，經由篩選對高度轉移力之B16-F10有高抑制生長效應，而對低轉移力之B16-F1不具抑制作用或作用較低之物質，可以分離出具有抗癌轉移之生物活性物質；另一組細胞株為人類高轉移力之纖維肉瘤細胞HT-1080與人類胚胎正常肺纖維細胞MRC-5，作為人類不同轉移能力之比較，同時以肝癌細胞株Hep G2和血癌細胞株K562作為篩選物質對不同癌細胞專一性之對照而構成整個篩選體系。另外，本研究中以SRB作為細胞毒殺之指標，此染色法為美國國家癌症研究所所發展之細胞毒殺試驗，以作為篩選抗癌藥物的初步篩選系統^(14, 15, 16, 17)。當細胞以96孔生長盤培養時，其呈色反應可直接經ELISA reader讀出吸光值後換算出藥物對細胞之毒殺效果。相較於傳統之蛋白質染色必須經過多重萃取及分析步驟，SRB具有快

速、簡便之優點，對於大量樣品之初步篩選計劃，有莫大之幫助。經由 SRB 染色分析法的建立，吾人可針對篩選結果設計一套自動化分析之資料管理系統，有效的整理各種藥物對細胞毒殺的效力並憑估該藥物對癌症轉移是否具有專一性之能力^(18,19)。

生物活性物質的應用範圍很廣，從農業方面的殺虫劑、殺草劑，如 milbemycin, bialaphos, kasugamicin 等，到治療人類心臟血管疾病及癌症的藥物，如 lovastatin, adriamycin, cyclosporin 等，都是由天然物質所分離開發之實例⁽³⁾。由於從微生物中篩選生物活性物質具有很大的市場價值，因此在世界各國皆受到極大的重視，美國⁽¹¹⁻¹⁶⁾、日本⁽²⁰⁾、歐洲⁽¹⁾甚至中國大陸⁽²¹⁾都有大規模之篩選工作正在進行。本研究針對癌症之轉移現象建立以動物細胞株篩選抗癌轉移之生物活性物質模式並利用本土絲狀真菌發酵萃取液進行初步篩選，希望建立一套有計畫的篩選系統以開發台灣的微生物資源。目前本所除了對已獲得之有效樣品進行進一步的有效成份分析與菌種鑑定外，更繼續針對東石紅樹林沼澤區、觀霧火燒山地區所分離之絲狀真菌發酵萃取液進行生物活性物質之篩選。

誌 謝

本文研究承蒙經濟部科技專案研究計畫 85-EC-2-A-17-0133 資助，謹此致謝。

參考文獻

1. Bevan, P., Ryder, H. and Shaw, I. 1995. Identifying Small-molecule Lead Compounds: the Screening Approach to Drug Discovery. *Trends Biotechnol.* 13(3):115-121.
2. Sikic, B.I. 1991. Anticancer Drug Discovery. *J. Natl. Cancer Inst.* 83(11):738-740.
3. Vandamme, E.J. 1994. The Search for Novel Microbial Fine Chemicals, Agrochemicals and Biopharmaceuticals. *J. of Biotechnol.* 37(2):89-108.
4. Driscoll, J.S. 1994. The Design and Synthesis of a New Anticancer Drug Based on a Natural Product Lead Compound: from Neplanocin A to Cyclopentenyl Cytosine (CPE-C). *Stem Cells* 12(1):7-12.
5. Fidler, I.J. 1973. Selection of Successive Tumor Lines for Metastasis. *Nature New Biol.* 242(118):148-149.
6. 黃效民、陳姍姍、林瑩慧、袁國芳。1995。細胞株之收集、保存與複核---細胞株之複核(I): 黴漿菌污染之檢測。食品工業發展研究所第84-981號研究報告。
7. 林瑩慧、陳姍姍、陳瓊雲、黃效民、袁國芳。1996。細胞株之收集、保存與複核---細胞株之複核(II): 動物細胞株同功酵素圖譜分析技術。食品工業發展研究所第85-1053號研究報告。
8. 謝松源、唐忠慈、陳建州、袁國芳。1994。台灣果園土壤真菌之分離及篩選。食品工業發展研究所第83-850-10號研究報告。
9. 謝松源、陳建州、劉桂郁、袁國芳。1995。本土極端與特殊環境真菌之分離。食品工業發展研究所第84-975號研究報告。
10. 陳慶源、謝松源、陳仁治、唐建華、黃英娥、陳建州、袁國芳。1995。台灣本土生物活性物質生產真菌之篩選。食品工業發展研究所第84-974號研究報告。
11. Curt, G.A. 1994. The Use of Animal Models in Cancer Drug Discovery and Development. *Stem Cells* 12(1):23-29.
12. Grever, M.R., Schepartz, S.A. and Chabner, B.A. 1992. The National Cancer Institute: Cancer Drug Discovery and Development Program. *Seminars in Oncol.* 19(6):622-638.
13. Driscoll, J.S. 1984. The Preclinical New Drug Research Program of the National Cancer Institute. *Cancer Treatment Reports* 68(1):63-76.
14. Chabner, B.A. 1990. In Defense of Cell-line Screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82(13):1083-1085.
15. Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A., Gray-Goodrich, M., Campbell, H., Mayo, J. and Boyd, M.R. 1991. Feasibility of a High-flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. *J.*

- Natl. Cancer Inst. 83(11):757-766.
16. Stinson, S.F., Alley, M.C., Kopp, W.C., Fiebig, H.H., Mullendore, L.A., Pittman, A.F., Kenney, S., Keller, J. and Boyd, M.R. 1992. Morphological and Immunocytochemical Characteristics of Human Tumor Cell Lines for Use in a Disease-oriented Anticancer Drug Screen. *Anticancer Research* 12(4):1035-1054.
 17. Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monk, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M.R. 1990. New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-drug Screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82(13):1107-1112.
 18. Paull, K.D., Shoemaker, R.H., Hodes, L., Monks, A., Scudiero, D.A., Rubinstein, L., Plowman, J. and Boyd, M.R. 1989. Display and Analysis of Patterns of Differential Activity of Drugs against Human Tumor Cell Lines: Development of Mean Graph and COMPARE Algorithm. *J. Natl. Cancer Inst.* 81(14):1088-1092.
 19. Weinstein, J.N., Myers, T., Buolamwini, J., Raghavan, K., Osdol, W., Licht, J., Viswanadhan, V.N., Kohn, K.W., Rubinstein, L.V., Koutsoukos, A., Monks, A., Scudiero, D.A., Anderson, N.L., Zaharevitz, D., Chabner, B.A., Grever, M.R. and Paull, K.D. 1994. Predictive Statistics and Artificial Intelligence in the U. S. National Cancer Institute's Drug Discovery Program for Cancer and AIDS. *Stem Cells* 12(1):13-22.
 20. Ubukata, M. 1993. Respinomycins A1, A2, B, C and D, a Novel Group of Anthracycline Antibiotics I: Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *J. Antibiotics* 46(6):936-941.
 21. Han, R. 1994. Highlight on the Studies of Anticancer Drugs Derived from Plants in China. *Stem Cells* 12(1): 7-12.

A Screening Program on Anti-metastasis from Microbial Metabolites

YING-HUI LIN, CHIEN-HUA TANG, CHIEN-CHO CHEN, SHAN-SHAN CHEN,
CHUNG-YUN CHEN, GWO-FANG YUAN AND SHIAW-MIN HWANG*

*Culture Collection and Research Center,
Food Industry Research and Development Institute,
Republic of China*

ABSTRACT

A malignant tumor is hard to eradicate by removing the mass surgically because the abnormal cells often metastasize. How to find and kill these metastatic cells is an important key to cure cancer. We have isolated over 100 filamentous fungi from soil of extreme environments in Taiwan, including forest, hot spring, lake and fruit tree rhizosphere in order to screen some biologically active compounds. Screening of anti-metastatic compounds, we used a set of highly metastatic cell lines, B16-F10 (mouse, melanoma) and HT-1080 (human, fibrosarcoma) and cell lines with low metastatic ability, B16-F1 (mouse, melanoma) and MRC-5 (human, lung,

normal diploid fibroblast). Cultures grown in microtiter plates were assayed by SRB (sulforhodamine B) method. The goal for this screening program is to isolate biologically active compounds that can inhibit the growth of highly metastatic cells such as B16-F10 and HT-1080 but little effect on low metastatic cells such as B10-F1 and MRC-5. Some strains' media showed significant differences in cytotoxicity between the highly metastatic cells and the low metastatic cells. These results suggest that some products in these media may contain metastasis-specific or cell-specific toxins.

Key words: Cell culture, biologically active compound, anti-metastasis, screening.