

THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN TIẾN SĨ

1. Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Thị Trang
2. Giới tính: Nữ
3. Ngày sinh: 12/ 11/ 1985
4. Nơi sinh: Bắc Ninh
5. Quyết định công nhận nghiên cứu sinh: số 2741/QĐ-ĐHKHTN ngày 11/09/2020
6. Các thay đổi trong quá trình đào tạo (nếu có):
7. Tên đề tài luận án: *Nghiên cứu định danh vi khuẩn lam phân lập tại một số địa phương ở Việt Nam và đánh giá hoạt tính sinh học của các chủng tiềm năng*
8. Chuyên ngành: Hóa sinh học
9. Mã số: 9420101.16
10. Cán bộ hướng dẫn khoa học:
PGS. TS. Nguyễn Đình Thắng
TS. Phạm Thị Lương Hằng
11. Tóm tắt các kết quả mới của luận án:

Mục tiêu của luận án:

Luận án được thực hiện nhằm với hai mục đích chính là (1) phân lập và định danh các chủng vi khuẩn lam tại một số địa phương ở Việt Nam và (2) đánh giá hoạt tính kháng khuẩn và ức chế tế bào ung thư của một số chủng vi khuẩn lam tiềm năng.

Đối tượng nghiên cứu: là các chủng vi khuẩn lam dạng sợi được phân lập từ mẫu đất ruộng lúa và đất cát ven sông ở Hà Nội, Hưng Yên, Thanh Hóa, Huế, và Đắk Lắk.

Các phương pháp nghiên cứu đã sử dụng:

- 2.1. *Các phương pháp phân lập và phân loại vi khuẩn lam:* bao gồm phương pháp thu mẫu, phân lập, phân tích đặc điểm hình thái bằng kính hiển vi huỳnh quang, các phương pháp phân tích trình tự đoạn gen 16S rRNA gồm các bước sau: (1) tách chiết DNA tổng số; (2) PCR khuếch đoạn gen 16S rRNA với cặp mồi đặc hiệu; (3) giải trình tự đoạn gen 16S rRNA tại công ty FirstBase; (4) đánh giá mức độ tương đồng và xây dựng cây phát sinh chủng loài dựa trên trình tự đoạn gen 16S rRNA của các chủng vi khuẩn lam phân lập được so với các chủng tham khảo trên cơ sở dữ liệu của Ngân hàng Gene (GenBank).
- 2.2. *Các phương pháp nuôi sinh khối và tách chiết dịch chiết tổng số:* Vi khuẩn lam sau khi định danh được nuôi trong môi trường dinh dưỡng BG11 và thu sinh khối khô; sau đó được tách chiết trong dung môi hữu cơ để thu cao chiết tổng số.
- 2.3. *Các phương pháp đánh giá hoạt tính và cơ chế tác động của dịch chiết tổng số từ vi khuẩn lam:* Cao chiết tổng số các chủng vi khuẩn lam được đánh giá hoạt tính kháng

khuẩn bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch và độc tính tế bào bằng phương pháp MTT. Dịch chiết tổng số NK13 được đánh giá cơ chế tác động lên tế bào ung thư HeLa thông qua phương pháp xác định tỷ lệ tế bào chết theo con đường apoptosis bằng kit Annexin V, xác định điểm dừng chu trình tế bào; khả năng xâm lấn của tế bào ung thư và đánh giá mức độ biểu hiện các gen điều hòa con đường apoptosis, chu trình tế bào, khả năng di cư của tế bào ung thư bằng phân tích Real-Time PCR.

2.4. Các phương pháp phân tách, xác định thành phần hoạt chất: bao gồm các phương pháp chiết phân lớp lỏng - lỏng; phân tách các chất bằng sắc ký cột; sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) và sắc ký lỏng khối phổ có độ phân giải cao (LC-HRMS) để xác định hợp chất có hoạt tính sinh học.

Các kết quả chính của luận án:

Luận án thu được 4 kết quả chính như sau:

- Đã xác định danh pháp khoa học của 50 chủng vi khuẩn lam phân lập từ mẫu đất ruộng lúa, đất cát ven sông từ các tỉnh Hà Nội, Hưng Yên, Thanh Hóa, Đắk Lắk và Huế dựa trên đánh giá đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh thái, phân tích trình tự đoạn gen 16S rRNA và mối quan hệ tiến hóa trên cây phát sinh chủng - loại. Kết quả cho thấy 50 chủng được xác định thuộc 24 loài trong 10 chi bao gồm: *Ahomia*, *Aliinostoc*, *Aulosira*, *Desmonostoc*, *Desikacharya*, *Dulcicalothrix*, *Scytonema*, *Hapalosiphon*, *Neowestiellopsis* và *Westiellopsis*.
- Từ 50 chủng vi khuẩn lam, đã sàng lọc được 12 chủng có khả năng tổng hợp hợp chất ức chế một số chủng vi khuẩn gây bệnh ở người là *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27852, trong đó dịch chiết tổng số từ chủng *Desmonostoc* sp. CAVN8204 thể hiện hoạt tính ức chế mạnh chủng vi khuẩn *B. cereus* ATCC 14579 với đường kính vòng vô khuẩn đạt 19 mm. Đồng thời, có 7 chủng trong số đó thể hiện độc tính trên tế bào HeLa, nổi bật là dịch chiết tổng số từ chủng *Scytonema bilaspurense* NK13 gây độc mạnh trên tế bào HeLa, A549, OVCAR-8, HEK293 và HaCaT với giá trị IC₅₀ lần lượt là 3,8; 8,3; 34,2; 0,6 và 21,6 µg/ml.
- Cao chiết tổng số từ chủng *Scytonema bilaspurense* NK13 ức chế tế bào ung thư HeLa theo cơ chế kích hoạt con đường chết theo chương trình (apoptosis) của tế bào cao hơn 5 lần so với đối chứng chủ yếu thông qua cơ chế nội sinh tăng mức độ biểu hiện của gene *BAX*, đồng thời dịch chiết NK13 còn gây ngừng chu trình tế bào ở pha S theo cơ chế không phụ thuộc gene *TP53*; ngăn chặn khả năng di cư của tế bào ung thư bằng cách tăng mức độ biểu hiện các gene *FAK*, *PI3K*, *AKT* và giảm biểu hiện của gene *N-cadherin*.

- Đã phân tách được một phân đoạn có hàm lượng 2,5 mg (phân đoạn F6) từ 13,9 g cao chiết tổng số từ chủng *Scytonema bilaspurense* NK13 thể hiện khả năng ức chế mạnh tế bào HeLa với giá trị IC₅₀ là 3,5 µg/ml. Thành phần hoạt chất trong phân đoạn F6 được phân tích bằng phương pháp LC-HRMS.

* *Kết luận:*

Luận án đã thành công định danh và đánh giá hoạt tính sinh học của 50 chủng vi khuẩn lam phân lập từ các mẫu đất ruộng lúa, đất ven sông một số địa phương ở Việt Nam. Kết quả của luận án đã chỉ ra mức độ đa dạng của vi khuẩn lam ở Việt Nam, đóng góp thêm các trình tự đoạn gene 16S RNA cho ngân hàng GenBank để phục vụ chiến lược xây dựng hệ thống phân loại vi khuẩn lam toàn cầu. Bên cạnh đó, việc phát hiện chủng vi khuẩn lam *Scytonema bilaspurense* NK13 có khả năng tổng hợp các hoạt chất ức chế mạnh đối với một số dòng tế bào ung thư (HeLa, A549, OVCAR-8) và kháng cả chủng vi khuẩn Gram âm, Gram dương chứng minh tiềm năng khai thác và ứng dụng các chủng vi khuẩn lam bản địa trong lĩnh vực dược phẩm ở Việt Nam.

12. Các hướng nghiên cứu tiếp theo:

- ✓ Tinh sạch và xác định cấu trúc cấu tạo của hoạt chất trong phân đoạn F6 của chủng *Scytonema bilaspurense* NK13 bằng phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).
- ✓ Đánh giá cơ chế tác động của các chất tinh sạch trong phân đoạn F6 lên tế bào ung thư HeLa.

13. Các công trình công bố liên quan đến luận án:

1. Pham, H. T.L., **Ngô, T.T.**, Tran, T. V., Duong, T. A., Tran, L. D., Tran, A. T.T., Nguyen, V.T.H. & Nguyen, S. V. (2025) “Classification of Nostoc-like Morphology Cyanobacteria Isolated from Paddy Soil into *Aliinostoc*, *Aulosira* and *Desmonostoc*”. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1581725. doi: 10.3389/fmicb.2025.1581725 (Tạp chí Q1; impact factor: 4,5)
2. **Trang, N. T.**, Bich-Loan, N. T., Kien, K. T., Thanh, N. L., Luong Hang, P. T., & Dinh Thang, N. (2025) Extract of *Scytonema bilaspurense* NK13 strongly exhibits anticancer activities on cervical cancer HeLa cells. *Applied Phycology*, 6(1), 210-222. (Tạp chí Q2, impact factor: 3,0)
3. **Ngô, T. T.**, Nguyen, B. L. T., Duong, T. A., Nguyen, T. H. T., Nguyen, T. L., Kieu, K. T., Do, M.H.T., Nguyen, S.V., Nguyen, T.D. & Pham, H. L.T. (2022) Polyphasic evaluation and cytotoxic investigation of isolated cyanobacteria with an emphasis on potent activities of a *Scytonema* strain. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1025755. (Tạp chí Q1, impact factor: 6,0)

4. Phạm Thị Lương Hằng, **Ngô Thị Trang**, Nguyễn Thị Bích Loan, Nguyễn Đình Thắng (2023) “Chủng vi khuẩn lam *Scytonema* sp. NK1313 thuần khiết về mặt sinh học có khả năng sinh tổng hợp hoạt chất gây ức chế tăng sinh tế bào ung thư, kích hoạt sự chết của tế bào ung thư theo chương trình và kháng khuẩn”. Bằng độc quyền sáng chế, số 37732, Cục Sở hữu Trí tuệ, Bộ Khoa học và Công nghệ, quyết định số 89837/QĐ-SHTT ngày 30/10/2023.
5. **Trang T. Ngo**, Hang T. L. Pham, Tuan A. Duong, Thu-Huyen T. Nguyen, Thang V. Tran, Thanh L. Nguyen, Lien T. Nguyen (2022) “Classification of cyanobacteria isolated in Hanoi based on polyphasic approach”. Presentation at 22nd Symposium of the International Association of Cyanophyte/Cyanobacteria Research, 14th - 18th August 2022, University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Science, České Budějovice, Czech Republic.
6. **Ngô Thị Trang**, Nguyễn Thị Thu Hà, Bùi Lê Đăng Minh, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trần Thị Thùy Anh, Phạm Thị Lương Hằng (2022) “Định danh và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của hai chủng vi khuẩn lam DL1 và DL12.” tr. 467- 473 in: Báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc 2022, Đại học Tây Nguyên, Đak Lak, 4/11/2022, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 1390tr.

Hà Nội, ngày 04 tháng 02 năm 2026

TM. Tập thể hướng dẫn

(Ký và ghi rõ họ tên)

Nghiên cứu sinh

(Ký và ghi rõ họ tên)

PGS. TS. Nguyễn Đình Thắng

Ngô Thị Trang

INFORMATION ON DOCTORAL THESIS

1. Full name: Ngo Thi Trang
2. Sex: Female
3. Date of birth: 12/11/1985
4. Place of birth: Bac Ninh
5. Admission decision number 2741/QĐ-ĐHKHTN dated 11th September 2020 by VNU University of Science, Vietnam National University.
6. Changes in academic process:
7. Official thesis title: Identification of cyanobacterial strains isolated from several regions of Vietnam and evaluation of the biological activities of some potential isolated strains
8. Major: Biochemistry
9. Code: 9420101.16
10. Supervisors: Prof. Nguyen Dinh Thang and Dr. Pham Thi Luong Hang
11. Summary of the new findings of the thesis:

*** Thesis purposes:**

- ✓ Isolation and identification of the cyanobacterial strains from the several regions in Vietnam.
- ✓ Evaluation of the antibacterial and anticancer activities of the potential cyanobacterial strains.

*** Research objectives:** The cyanobacterial strains isolated from the paddy soil and riverside soil at Hanoi, Hungyen, Thanhhoa, Hue, Daklak provinces

*** Research methods**

- *Methods for the Isolation and Classification of Cyanobacteria:* The procedures encompass sampling collection, cyanobacteria isolation, and the analysis of morphological characteristics using fluorescence microscopy; molecular methods including DNA extraction, PCR amplification and sequencing; phylogenetic analyses.

- Batch cultivation and harvesting method; Preparation of total extract

- Methods for evaluating bioactivity of the crude extracts from the cyanobacterial strains and mechanism of action in HeLa cells of the NK13 crude extracts: The crude extracts of cyanobacterial strains were evaluated for antibacterial activity using the agar diffusion method and for cytotoxicity by the MTT assay. The crude extract from strain *Scytonem bilaspurene* NK13 was further investigated for its mechanism of action on HeLa cancer cells, including Annexin V apoptosis assay, cell cycle arrest analysis, migration scratch - wound healing assay and real-time PCR analysis.

- Methods for Separation and Identification of Bioactive Compounds: The procedures include liquid - liquid partition extraction, separation of compounds by column glass chromatography, high-performance liquid chromatography (HPLC), and high-resolution liquid chromatography - mass spectrometry (LC-HRMS) for the identification of bioactive components.

*** The main results of the dissertation include:**

- The scientific nomenclature of 50 cyanobacterial strains isolated from paddy field soils and riverbank soils collected in Hanoi, Hungyen, Thanhhoa, Daklak, and Hue provinces was determined based on morphological characteristics, ecological features, 16S rRNA gene sequence analysis, and evolutionary relationships based on phylogenetic tree. The results showed that these 50 strains were classified into 24 species belonging to 10 genera, including *Aulosira*, *Ahomia*, *Aliinostocs*, *Desmonostoc*, *Desikacharya*, *Dulcicalothrix*, *Scytonema*, *Hapalosiphon*, *Neowestiellopsis*, and *Westiellopsis*.
- 12 out of the 50 isolated cyanobacterial strains possessed the antibacterial activities to against common human pathogenic bacteria, including *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27852. Among these, the crude extract from strain *Desmonostoc* sp. CAVN8204 exhibited strongest inhibitory activity against *B. cereus* ATCC 14579, with an inhibited zone diameter of 19 mm. Additionally, seven of them demonstrated cytotoxic activity on HeLa cells. In which, the crude extract of strain *Scytonema bilaspurens* NK13 showed potent cytotoxicity against five human cells of HeLa, A549, OVCAR-8, HEK293, and HaCaT cell lines, with IC₅₀ values of 3.8; 8.3; 34.2; 0.61; and 21.6 µg/ml, respectively.
- The anticancer effects of NK13 crude extract (NK13E) on HeLa cells were investigated focusing on apoptosis induction, cell cycle arrest, and inhibition of cell invasion. As the result, treatment with NK13E resulted in a 5-fold increase in apoptotic cells compared to that in negative control and significantly upregulated the expression of *BAX*, *CASPASE-8*, and *CASPASE-3* genes. NK13E also induced cell cycle arrest at the S phase independently of p53 gene, with marked increases in the expression of *CDKN1A* and *CDKN2A* genes. Furthermore, the NK13E significantly reduced cell invasion via modulation of *FAK/PI3K/AKT* signaling pathway and downregulation of *N-cadherin* gene, which plays a vital role in regulating the invasion activity of cancer cells.
- On the other hand, a total of 2.5 mg of the F6 fraction was purified from 13.9 g of

NK13E, which possessed strong activity against HeLa cells with an IC₅₀ value of 3.5 µg/ml. The bioactive constituents in the F6 fraction were analyzed using the LC-HRMS method.

12. Further research directions:

- ✓ Purification and structural elucidation of bioactive compounds in fraction F6 from *Scytonema bilaspurense* NK13 using nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy.
- ✓ Assessment of the mechanisms of action of purified bioactive compounds from fraction F6 on HeLa cancer cells

13. Thesis-related publications

1. Pham H. T.L.*, **Ngo T.T.**, Tran T.V., Duong T. A., Tran L.D., Tran A.T.T., Nguyen V.T.H. & Nguyen, S. V. (2025) “Classification of Nostoc-like Morphology Cyanobacteria Isolated from Paddy Soil into *Aliinostoc*, *Aulosira* and *Desmonostoc*”. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1581725. doi: 10.3389/fmicb.2025.1581725 (Q1; impact factor: 4,5)
2. **Trang, N.T.**, Bich-Loan, N.T., Kien, K.T., Thanh N.L., Luong Hang P.T.* & Dinh Thang N.* (2025) Extract of *Scytonema bilaspurense* NK13 strongly exhibits anticancer activities on cervical cancer HeLa cells. *Applied Phycology*, 6(1), 210-222. (Q2, impact factor: 3,0)
3. **Ngo T.T.**, Nguyen B.L.T., Duong T.A., Nguyen T.H.T., Nguyen T.L., Kieu K. T., Do M.H.T., Nguyen S.V., Nguyen T.D. & Pham, H. L.T.* (2022) Polyphasic evaluation and cytotoxic investigation of isolated cyanobacteria with an emphasis on potent activities of a *Scytonema* strain. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1025755. (Q1, impact factor: 6,0)
4. Pham Thi Luong Hang, **Ngo Thi Trang**, Nguyen Thi Bich Loan & Nguyen Dinh Thang (2023) “A biologically pure cyanobacterial strain *Scytonema* sp. NK1313, capable of biosynthesizing bioactive compounds that inhibit cancer cell proliferation, induce programmed cancer cell death (apoptosis), and exhibit antibacterial activity”, Vietnamese Patent No. 37732, Intellectual Property Office of Vietnam (Ministry of Science and Technology), Decision No. 89837/QĐ-SHTT dated 30 October 2023.
5. **Trang T. Ngo**, Hang T. L. Pham*, Tuan A. Duong, Thu-Huyen T. Nguyen, Thang V. Tran, Thanh L. Nguyen, Lien T. Nguyen (2022) “Classification of cyanobacteria isolated in Hanoi based on polyphasic approach”. Presentation at 22nd Symposium of the International Association of Cyanophyte/Cyanobacteria Research, 14th - 18th

August 2022, University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Science, České Budějovice, Czech Republic.

6. **Ngo Thi Trang**, Nguyen Thi Thu Ha, Bui Le Dang Minh, Nguyen Thi Thu Huyen, Tran Thi Thuy Anh, Pham Thi Luong Hang* (2022) “Identification and evaluation of antibacterial and antifungal activities of two isolated cyanobacterial strains DL1 and DL12” p. 467- 473 in: Proceeding of Vietnam National Conference on Biotechnology 2022, Đak Lak, 4/11/2022.

Date: 4th February 2026

On behalf of academic supervisors

PhD. Student

Assoc. Prof. Dr. Nguyen Dinh Thang

Ngo Thi Trang

