

Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển; Tập 17, Số 2; 2017: 169-185
DOI: 10.15625/1859-3097/17/2/8365
<http://www.vjs.ac.vn/index.php/jmst>

VI SINH VẬT BIỂN: NGUỒN CÁC CHẤT TỰ NHIÊN CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC ỨNG DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU DƯỢC

Phạm Thị Miên*, Đào Việt Hà

Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*E-mail: mien.pham@gmail.com

Ngày nhận bài: 26-5-2016

TÓM TẮT: Vi sinh vật biển hiện đang là đối tượng mà các nhà khoa học trên toàn thế giới quan tâm nghiên cứu cho mục đích tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học. Ngoài những vi sinh vật cổ hữu trong trầm tích biển, vi sinh vật sống cùng sinh vật biển khác gần đây được nghiên cứu nhiều hơn và thu được nhiều thành quả đáng kể, ứng dụng tìm kiếm thuốc chữa bệnh trong vài thập kỷ qua. Trong bài này, chúng tôi điềm lại những mốc quan trọng trong quá trình tìm kiếm “thuốc từ biển”, đồng thời tổng quan một số kết quả nghiên cứu nổi bật gần nhất được công bố trên các tạp chí uy tín trên thế giới về sự đa dạng của vi sinh vật biển sống cùng động vật không xương sống và tiềm năng ứng dụng nghiên cứu dược của chúng.

Từ khóa: Vi sinh vật biển, các chất tự nhiên có hoạt tính sinh học, ứng dụng nghiên cứu dược.

GIỚI THIỆU

Vi sinh vật biển tuy được quan tâm muộn hơn so với vi sinh vật trên cạn, tính đến nay đã có khoảng hơn 1 triệu loài khác nhau được công bố. Tuy nhiên, sự hiểu biết của chúng ta về vi sinh vật biển có thể chỉ là 0,01% về sinh thái, di truyền và đặc tính sinh học, trong khi vi sinh vật có thể nuôi cấy ước tính chỉ khoảng 0,1% trong số các loài được phát hiện [1]. Vi sinh vật biển sớm được nghiên cứu trong nước và trầm tích biển, vì chúng đóng vai trò quan trọng trong chuỗi thức ăn và lưới thức ăn. Bất kể ở môi trường giàu hay nghèo dinh dưỡng, vi sinh vật cũng có mặt và càng không thể thiếu trong thành phần tham gia vào quá trình tuần hoàn vật chất đặc biệt như C, N, P, và S trong đại dương. Gần đây, vi sinh vật được nghiên cứu nhằm tìm kiếm các chất tự nhiên có hoạt tính sinh học vì chúng được xem là nguồn chứa các hợp chất này và là nguyên liệu cho nghiên cứu phát triển thuốc mới từ thế kỷ 20 [2]. Mặc dù có lịch sử phát triển rất ngắn so với thực vật và sinh vật trên cạn, 10% các chất tự nhiên có

hoạt tính đang thử nghiệm sinh học lâm sàng hiện nay có nguồn gốc từ vi sinh vật. Điều đó cho thấy vi sinh vật biển là đối tượng đang được quan tâm nhất đồng thời cũng là đối tượng có tiềm năng để nghiên cứu các sản phẩm sinh học có hoạt tính [3].

Ngày càng có nhiều bằng chứng xác thực về “nhà sản xuất chính” của các chất tự nhiên quan trọng, vốn dĩ được cho là do sinh vật biển (hải miên, san hô, bryozoan, hải tiêu...) nhưng lại được chứng minh là vi sinh vật tạo ra, cụ thể nhất là hải miên [4], san hô... Ví dụ Pseudopterosin một chất tự nhiên thuộc Diterpene có khả năng kháng viêm được phân lập từ san hô *Pseudopteroorgia elisabethae* [5]. Tuy nhiên khi nghiên cứu sinh tổng hợp Pseudopterosin thì phát hiện chính *Symbiodinium* sp., một loài tảo cộng sinh với vật chủ san hô mới chính là vi sinh vật tạo ra Pseudopterosin [6]. Một vấn đề nữa vô cùng quan trọng, đã được đề cập và thảo luận, khi sự thật cho thấy từ những nghiên cứu tìm kiếm các chất có hoạt tính từ sinh vật biển đó là: Phải

khai thác cả tần hải miên, hải tiêu hay bryozoa, để có được 1 g chất tinh sạch lần lượt là halichondrin, ecteinascidin hay bryostatin, chưa kể đến những vấn đề không thể giải quyết được khi thực hiện nuôi trồng các sinh vật biển kể trên để thu nguyên liệu thô cho những nghiên cứu tiếp theo, ví dụ như dùng các chất thu được để thực hiện các thử nghiệm sinh học ở nhiều cấp độ trong quá trình nghiên cứu thuốc [7, 8]. Với đặc tính ưu việt của vi sinh vật về thời gian và tốc độ sinh trưởng cũng như đặc tính sinh học khác, thực sự vi sinh vật biển đang được nghiên cứu và chúng là đối tượng tiềm năng cho nghiên cứu thuốc trong tương lai gần [4, 9, 10]. Trong bài báo tổng quan này, chúng tôi sơ lược những mốc nghiên cứu trong quá trình tìm kiếm “thuốc từ biển”, đồng thời tổng quan những kết quả nổi bật về nghiên cứu vi sinh vật biển, vi sinh vật sống cùng động vật không xương sống biển cho mục đích tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học ứng dụng trong nghiên cứu y dược được đăng tải trên các tạp chí có uy tín trên thế giới.

CHẤT TỰ NHIÊN CÓ HOẠT TÍNH TỪ NGUỒN BIỂN

Những mốc tiền triển quan trọng trong nghiên cứu “thuốc từ biển”

Vào năm 1967 một hội thảo chuyên đề đã được tổ chức tại Rhode Island, Hoa Kỳ với chủ đề đầy tham vọng “Thuốc từ biển-Drug from the sea”. Khẩu hiệu của hội thảo đã phải trải qua vài thập kỷ như là một ngụ ý nghiên cứu phát triển thuốc từ các chất tự nhiên có nguồn gốc biển, nhưng phải trải qua một thời gian rất lâu sau đó thì thuốc từ biển mới được tìm ra. Thuốc từ biển đầu tiên trên thế giới được FDA (Food and Drug Administration) phê chuẩn vào tháng 12/2004 là thuốc có thành phần ziconotide với tên gọi thương mại là Prialt® (Elan Pharmaceuticals). Loại thuốc giảm đau cột sống mãn tính thần kỳ này được phát hiện tìm thấy đầu tiên từ ốc nón (Cone snail) *Conus magus* sống ở biển nhiệt đới. Tính từ lúc được phát hiện, phát triển, tổng hợp thành công và trải qua các thử nghiệm lâm sàng đến lúc được phê chuẩn làm thuốc là hơn 20 năm. Chất tự nhiên có hoạt tính sinh học được công bố lần đầu vào cuối những năm 1950 bởi Bergmann [7]. Sự khám phá ra arabino và ribo-pentosyl

nucleosides “không bình thường” ở hải miên biển *Tethya crypta* đã chứng minh rằng, trong tự nhiên nucleosides có thể tìm thấy các loại đường khác ngoài ribose và deoxyribose. Nghiên cứu sinh tổng hợp hóa học đã tìm ra các dẫn xuất có tên là Ara-A (vidarabine) có khả năng kháng virus và Ara-C (cytarabine) có khả năng kháng tế bào ung thư. Cả hai chất này đã trải qua những thử nghiệm lâm sàng trong vài thập kỷ. Vào năm 2010, vidarabine được phê chuẩn làm thuốc chữa bệnh chống virus với tên thương mại Vira-A® (King Pharmaceuticals) còn cytarabine được phê chuẩn làm thuốc chống ung thư với tên thương mại là Cytosar-U® (Bedford, Enzon).

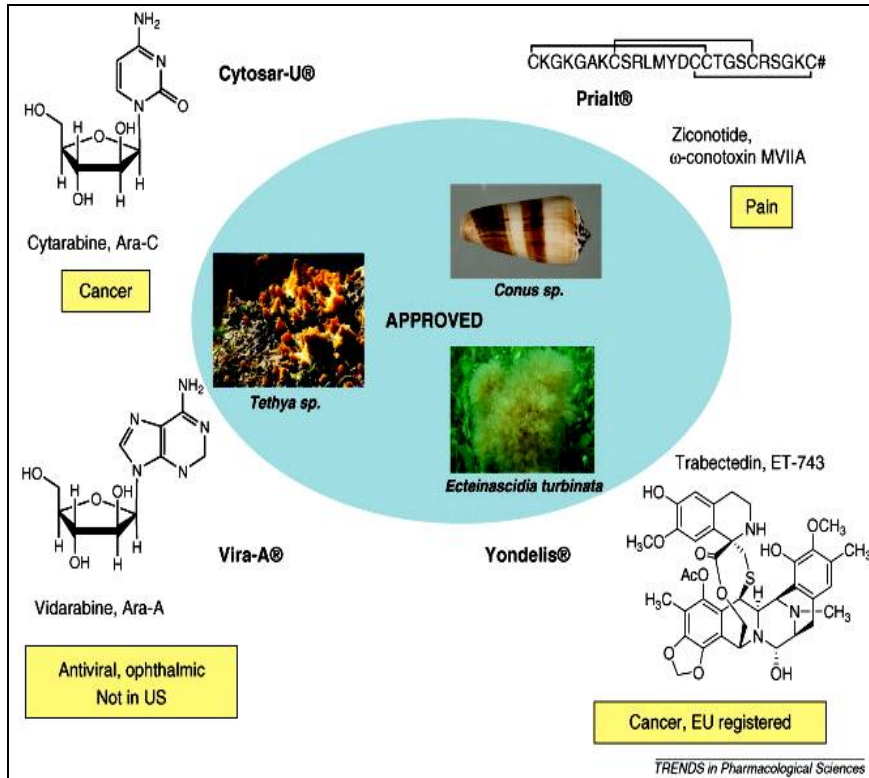
Như hầu hết các chất chống ung thư hiệu quả, bryostatin được phát hiện đầu tiên từ động vật hình rêu- bryozoa *Bugula neritina* và đã được nghiên cứu từ đầu những năm 1980. Tuy nhiên mọi cố gắng như sinh tổng hợp hóa học và nuôi trồng đều không mang lại kết quả nào. Sự khám phá ra gen sinh tổng hợp chất bryostatin được tìm thấy ở vi khuẩn không nuôi cấy được (unculturable bacteria) sống cùng với *Bugula neritina* mà không tìm thấy trong bản thân vật chủ, đã mở ra những cơ hội mới cho sự sinh tổng hợp một chất giả thuyết bryostatin -0: chất này đã chứng tỏ thực sự là chất cơ bản chung của 20 bryostatin đã được biết đến và hội tụ đầy đủ các yếu tố được cốt lõi để có thể phát triển thành thuốc [11]. Hiện tại bryostatin-1 đã đang được thử nghiệm lâm sàng pha I và pha II (trong tổng số 4 pha) làm thuốc chống ung thư và thuốc điều trị bệnh Alzheimer (<http://clinicaltrials.gov>, 2011).

Một chất chống ung thư hiệu quả khác có nguồn gốc sinh vật biển đó là ecteinascidin 743 (hình 1) được phát hiện đầu tiên từ động vật không xương sống (nhóm có bao-tunicate) *Ecteinascidia turbinata*. Nếu không có sự tính toán và áp dụng công nghệ sinh học thì lượng chất tự nhiên có hoạt tính tìm thấy trong tunicate này không thể đủ cho các thí nghiệm sinh học và không thể trở thành thuốc chống ung thư như hiện nay. Nguyên liệu cung cấp cho các thí nghiệm lâm sàng được thu từ nguồn tunicate nuôi biển tự nhiên, và bán tổng hợp sử dụng kỹ thuật công nghệ tổ hợp sinh học, mà tiền chất cyanosafracin B được sản sinh từ việc

Vi sinh vật biển: Nguồn các chất tự nhiên...

lên men vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* [13]. Ecteinascidin 743 đã được phê chuẩn ở Châu Âu bởi EMA (European Medicines Agency) vào tháng 10 năm 2007 với tên thương mại Yondelis® (PharmaMar, Spain) và trở thành thuốc chống ung thư đầu tiên được

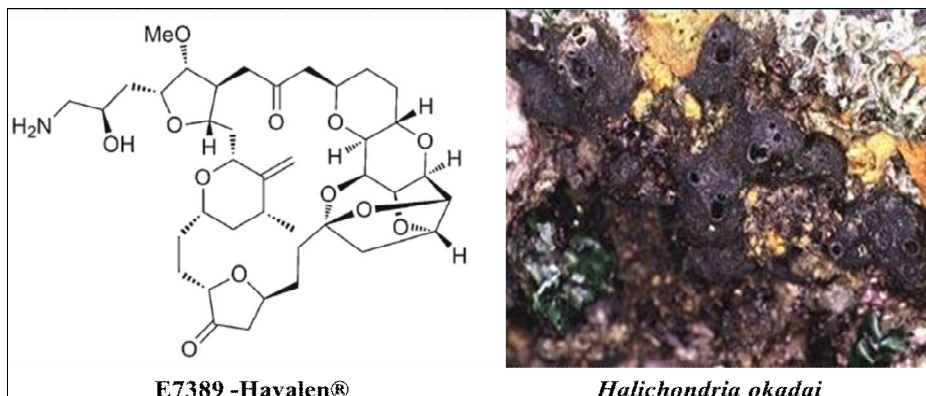
phân lập từ nguồn sinh vật biển, chất này được sử dụng vào việc xử lý tế bào mô mềm sarcoma trong điều trị ung thư buồng trứng, tuyến tiền liệt. Chất này cũng đang trong giai đoạn thử nghiệm lâm sàng ở cấp độ cao hơn ở Mỹ trong việc điều trị nhiều loại bệnh ung thư khác.



Hình 1. Một số chất tự nhiên đã được phê chuẩn làm thuốc chữa bệnh từ sinh vật biển [12]

Một câu chuyện dài về việc khám phá và phát triển thuốc từ sinh vật biển cũng được thêm

vào với cái tên Havalen® là thuốc chống ung thư vú mới được phê chuẩn năm 2010 (hình 2).



Hình 2. Havalen® -thuốc chống ung thư từ hải miên *Halichondria okadai*

Chất tự nhiên có hoạt tính sinh học halichondrin được công bố tìm thấy từ hải miên *Halichondria okadai* sống ở biển Nhật Bản từ năm 1986 nhưng phải trải qua một thời gian dài nghiên cứu để có được nguồn cung cấp nguyên liệu thô phục vụ cho quá trình nghiên cứu phát triển thuốc, cũng như tốn thời gian để tìm hiểu và xác định cấu trúc hóa học rất phức tạp của chất này, và cuối cùng thuốc chống ung thư Havalen® cũng được phê chuẩn. Điều đáng kể là trong quá trình nghiên cứu, các nhà khoa học đã chứng minh được chính vi sinh vật sống cùng hải miên mới là nhà sản xuất chính ra được liệu quý giá này qua con đường PKS [14].

Các khám phá mới về các chất tự nhiên từ vi sinh vật biển

Vi sinh vật sống cùng hải miên và các chất có hoạt tính sinh học của chúng

Gần đây có rất nhiều nghiên cứu sự đa dạng của vi sinh vật biển sống cùng động vật không xương sống, trong đó hải miên biển là đối tượng tiên phong. Hải miên biển là vật chủ cho nhiều giới vi sinh vật bao gồm những vi sinh vật có nhân thật, vi khuẩn cổ và vi khuẩn. Ngoài ra, virus và các bacteriophage cũng được phát hiện thấy trong mô của hải miên. Vi sinh vật là nguồn cung cấp dinh dưỡng chính cho hải miên vì đặc tính ăn lọc cho nên vi sinh vật được đưa vào cơ thể hải miên một cách không chọn lọc từ môi trường bên ngoài, ước tính mỗi g trọng lượng ướt hải miên có thể đếm được 10^8 đến 10^{10} các tế bào vi khuẩn. Vi sinh vật chiếm 40% đến 60% tổng số sinh khối hải miên với mật độ vi khuẩn vượt quá 10^9 tb/cm cơ hải miên, con số này vượt hơn 3 đến 4 lần mật độ vi khuẩn ngoài môi trường nước biển (10^6 ml/l) [15]. Tuy có số lượng rất lớn trong mô của hải miên nhưng chúng ở đó theo một kiểu chọn lọc đặc hiệu và được xác định là cấu phần không thể thiếu của hải miên, chúng cũng có thể chỉ là người bạn đến thăm cho nên người ta không xác định chúng là vi sinh vật “cộng sinh” mà chỉ là vi sinh vật “sống cùng”. Rất nhiều nghiên cứu đưa ra kết luận về “sponge-specific” và những bằng chứng về sự có mặt rất đặc biệt của vi sinh vật trong vật chủ hải miên riêng biệt, có thể tóm tắt ngắn gọn là mỗi vật chủ hải miên riêng biệt có hệ vi sinh vật sống cùng nó cũng rất riêng biệt với khu hệ vi sinh vật ở loài hải

miên khác và ngoài môi trường biển [15-18]. Đã có nhiều công trình nghiên cứu công bố về sự di truyền thẳng (Vertical transmission) của hệ vi sinh vật sống cùng một loài hải miên riêng biệt. Ấn tượng nhất là công trình của Sharp và nnk., (2007) [19]. Trong đó các tác giả đã sử dụng gen 16sRNA và phương pháp lai tại chỗ có đánh dấu huỳnh quang (fluorescence in situ hybridization) để phân tích sự đa dạng vi sinh vật sống cùng hải miên và xác định vị trí chiếm đóng của các tế bào vi sinh vật trong vật chủ hải miên. Các tác giả đã đưa ra bằng chứng thuyết phục về di truyền thẳng của cả quần xã vi sinh vật sống cùng hải miên *Corticium* sp. qua việc phát hiện sự có mặt các nhóm vi sinh vật trong phôi và trong quá trình phát triển từ phôi lên cá thể hải miên trưởng thành. Thành tựu của nghiên cứu này là bằng chứng cho biết sự đa dạng vi sinh vật sống cùng hải miên có tính ổn định rất cao, đồng thời khẳng định thêm sự tương tác giữa vật chủ hải miên và vi sinh vật sống cùng là “sponge-specific”. Những tiến bộ gần nhất khi áp dụng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới (next generation pyrosequencing) đã công bố có hơn 110.000 trình tự của vi khuẩn có nguồn gốc hải miên, trong đó có 36-65% trình tự từ các cá thể hải miên được xác định là có tương đồng với các trình tự từ vi sinh vật có mối quan hệ mật thiết với hải miên (sponge-specific clusters) đã được công bố trước đó [20]. Làm thế nào để vật chủ hải miên nhận diện vi sinh vật là thức ăn hay là bạn đồng hành? Các nhà khoa học cũng đã đưa ra những bằng chứng để phân tích mối quan hệ này. Những bằng chứng khẳng định vật chủ và vi sinh vật sống cùng liên kết để nhận ra nhau qua các tín hiệu sinh học (signals) mà thực chất là các phân tử hóa học được hoạt hóa trong tế bào sống. Các tín hiệu đó là những yếu tố thiết yếu (factors) như là những phân tử thể hiện chức năng gắn kết vật chủ và bạn đồng hành (bacterial Ig-like domain...), những protein liên kết (adhesion-related proteins) hay những đoạn peptide lặp (tetratricopeptide repeat). Ví dụ, bằng phương pháp mới nhất, hiện đại nhất và hiệu quả nhất hiện nay là phương pháp đọc trình tự thế hệ mới. Phương pháp này được ứng dụng để phân tích toàn bộ hệ gen của một vi sinh vật, vi khuẩn *Poribacteria* được xác định là mixotrophic bacteria với autotrophic cố định

CO₂. *Poribacteria* có thành tế bào của vi khuẩn Gram âm, mang ít nhất 2 gen nhóm polyketide synthase (PKSs) một là gen PKS riêng biệt từ hải miên (sponge-specific Sup type PKS), những yếu tố thiết yếu (factors) thể hiện sự cộng sinh bắt buộc với vật chủ như yếu tố gắn kết (bacterial Ig-like domain, lamininin G domain proteins). Ngoài ra, protein liên kết yếu tố gắn (adhesion-related proteins như ankyrin, fibronectin type III) và những đoạn peptide tetratrico lặp (tetratrico peptide repeat domain encoding proteins) cũng được phát hiện từ chúng này [21].

Kết quả nghiên cứu sự đa dạng của nấm sống cùng hải miên *Tethya aurantium* cho thấy có 81 chủng nấm được phân lập thuộc 21 genera, phổ biến là các chủng thuộc genera *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* và *Trichoderma*. Ngoài ra, một chất tự nhiên mới lần đầu được công bố có tên là cillifuranone được phân lập từ *Penicillium chrysogenum* LF066, chất này kháng nhẹ vi khuẩn gây bệnh *Xanthomonas campestris* (24% kìm hãm sự phát triển với nồng độ 100 µM) và *Septoria tritici* (20%, 100 µM) [22]. Tandyukisins B-D được phân lập từ nấm *Trichoderma harzianum* OUPS-111D-4 sống cùng hải miên *Halichondria okadai* ở Osaka, Nhật Bản được xem như chất tiềm năng cho nghiên cứu các chất có khả năng chống ung thư, mặc dù khi làm thí nghiệm cùng lúc với 39 dòng tế bào ung thư khác nhau ở người thì chất này thể hiện khả năng kháng lại tế bào ung thư tương đối yếu, tuy nhiên lại thể hiện sự tác động có chọn lọc lên sự sinh trưởng của một số dòng tế bào như kìm hãm mạnh dòng tế bào ung thư thần kinh trung ương SNB-75. Nghiên cứu cấu trúc của chất này cũng cho thấy đây là một chất tự nhiên mới, có thể thu được khi vi sinh vật được nuôi trong môi trường hữu cơ chi phí thấp dễ thực hiện và ít tốn thời gian [23]. *Streptomyces carnosus* AZS17 phân lập từ hải miên *Hymeniacidon* sp. sống ở Biển Đông sản sinh các chất tự nhiên lobophorin C và D. Kết quả thử nghiệm khả năng độc tế bào của các chất này cho thấy lobophorin C có khả năng kháng mạnh với dòng tế bào ung thư gan 7402 ở người, trong khi lobophorin D thể hiện kháng mạnh dòng tế bào ung thư vú MDA-MB435 [24]. Chất chiết

thô từ nấm *Myrothecium verrucaria* 973023 nuôi cấy được phân lập từ hải miên *Spongia* sp. sống ở Hawaii thể hiện hoạt động hiệu quả chống lại dòng tế bào ung thư máu L1210 ở chuột (murine lymphocytic leukemia L1210) và dòng tế bào ung thư dạ dày H116 ở người (human colon tumor H116 cell lines). Những nghiên cứu sâu hơn cho thấy sự có mặt của 3 chất tự nhiên mới bản chất là trichothecenes, bao gồm 3-hydroxyroridin E, 13'-acetyltrichoverrin B và miophytocen C. Ngoài ra, 9 chất tự nhiên đã được công bố như roridin A, L, M, isororidin A, epiroridin E, verrucaridin A, M, trichoverrin A và B cũng được tìm thấy trong dịch chiết. Ngoại trừ miophytocen C, tất cả các chất tự nhiên tìm thấy ở trên đều có khả năng kháng mạnh đối dòng tế bào ung thư máu ở chuột và ung thư dạ dày ở người [25]. Chủng nấm biển *Talaromyces* sp. LF458 được phân lập từ hải miên *Axinella verrucosa* ở Punta di Fetovaia, đảo Elba (Biển Địa Trung Hải, Ý) được công bố là một ứng viên sáng giá để nghiên cứu các chất tự nhiên có hoạt tính. Trong số 8 chất tự nhiên đó, 4 chất có hoạt tính sinh học bao gồm hoạt tính kháng sinh (talaromycesone A, B và AS-186c), hoạt tính kìm hãm acetylcholinesterase (talaromycesone A, talaroxanthenone, và AS-186c), ngoài ra chất talaroxanthenone còn thể hiện khả năng kháng lại phosphodiesterase PDE-4B2 với IC₅₀ 7,25 µM, AS-186c với IC₅₀ 2,63 µM [26].

Vi sinh vật sống cùng san hô

Sau hải miên, san hô là đối tượng thứ hai được nghiên cứu về vi sinh vật nhiều nhất trong vòng 20 năm qua. Các nhà khoa học cho rằng mỗi cá thể san hô sống ngoài môi trường tự nhiên là một holobiont mà ở đó có rất nhiều sinh vật cùng sinh sống bao gồm bản thân san hô, tảo cộng sinh, vi khuẩn, virus, nấm, động vật nguyên sinh (protozoa), tảo cát (diatom) và thậm chí cả nhiều thành phần khác chưa được nghiên cứu [27, 28]. Có thể thấy rõ những nghiên cứu vi sinh vật trên đối tượng san hô, ban đầu tập trung vào vi khuẩn gây bệnh cho san hô tạo rạn mà thành phần chủ yếu là san hô cứng (san hô nấm, san hô sừng). Trong phần này chúng tôi chỉ tập trung tổng quan những nghiên cứu đa dạng vi sinh vật sống cùng san hô mềm cho mục đích tìm kiếm các nguồn gen

mới cũng như các chất trao đổi bậc hai mới. Thực sự san hô cứng với khối lượng cơ thể chủ yếu là bộ xương, san hô cứng hay san hô tạo rạn chỉ có tối đa 0,05% trọng lượng là mô cơ nên đối tượng này khác hẳn với san hô mềm và hải miên là những cơ thể mềm (soft body) có những trâm xương rất nhỏ, cơ thể có đến hơn 95% là mô cơ. Chính vì thế, san hô cứng gần như không được chú ý như là nguồn của sự đa dạng vi sinh vật. San hô cứng và hợp phần của chúng được nghiên cứu sinh thái học rạn san hô nhiều hơn là nghiên cứu về tìm kiếm các chất có hoạt tính [29]. Cũng tương tự vi sinh vật sống cùng hải miên, vi sinh vật sống cùng san hô cũng được chứng minh rằng chúng sống có chủ đích trong vật chủ, khác biệt với hệ vi sinh vật ngoài tự nhiên và có tính riêng biệt đối với từng vật chủ. Nghiên cứu vi sinh vật sống cùng 3 loài san hô khác nhau theo không gian và thời gian cho thấy vi sinh vật có mối liên quan đặc biệt với vật chủ mà nó sống cùng bất kể thời gian và không gian [27]. Webster và Bourne [30], qua nghiên cứu đa dạng vi sinh vật sống cùng san hô mềm *Alcyonium antarcticum* đã chứng minh rằng hệ vi sinh vật sống cùng san hô mềm này rất ổn định. Nói cách khác hệ vi sinh vật sống cùng rất chuyên biệt đối với loài san hô mềm mặc dù các mẫu san hô mềm được lấy ở các vị trí địa lý khác nhau. Vi sinh vật sống cùng có vai trò nhất định đối với vật chủ san hô, là những nhà cung cấp chất dinh dưỡng cho san hô [28] tham gia vào cơ chế phòng vệ tự nhiên, chống lại các vi sinh vật gây bệnh qua việc sản sinh ra các chất có khả năng kháng vi sinh vật, ví dụ như peptides và thuốc kháng sinh [31, 32] và sự điều hòa cạnh tranh giữa các loài vi sinh vật trong cùng vật chủ [33]. Vi sinh vật sống cùng vật chủ có thể có cơ chế điều và kiểm soát quần thể trong vật chủ mà nó sống cùng. Chúng có thể là những người bạn đồng hành cùng vật chủ như trong giả thuyết “Coral Probiotic” [34, 35]. Nghiên cứu sự đa dạng vi sinh vật sống cùng san hô cho thấy vi sinh vật có mặt trong vật chủ thực sự thể hiện qua cách nó dùng nguồn dinh dưỡng. Những vi khuẩn sản sinh và sử dụng nitơ được tìm thấy trong mô của san hô có mối liên quan với vật chủ mà thực chất là mối liên quan rất mật thiết về dinh dưỡng [36, 37]. Trong những điều kiện sống nhất định, vi sinh vật đồng hành với vật chủ có thể trở thành mối đe dọa đối với vật chủ, những

vi sinh vật này thường là vi sinh vật gây bệnh cơ hội. Ví dụ, bệnh tẩy trắng ở san hô *Oculina patagonica* là do vi khuẩn gây bệnh cơ hội *Vibrio shiloid* [38] còn *Vibrio coralliilyticus* gây bệnh tẩy trắng cho san hô *Pocillopora damicornis* [39]. Tuy nhiên, những nghiên cứu tìm nguyên nhân kể trên được thực hiện sau khi san hô bị tẩy trắng. Vấn đề truy tìm thủ phạm gây bệnh tẩy trắng vẫn là vấn đề đang tranh cãi, khi có nghiên cứu khẳng định vi sinh vật không phải nguyên nhân chính gây ra bệnh này như trong trường hợp san hô *Oculina patagonica* ở biển Địa Trung Hải [40]. Nghiên cứu đa dạng vi sinh vật sống cùng san hô mềm *Dendronephthya* sp. sống ở Port Shelter, Hồng Kông đã cho thấy quần xã vi sinh vật sống cùng bao gồm *Gammaproteobacteria* chiếm nhiều nhất với 55%, tiếp đó đến *Alphaproteobacteria* với 27%, *Bacteroidetes* với 17% [41]. Những vi khuẩn sống cùng san hô mềm *Dendronephthya* sp. được phát hiện góp phần vào khả năng chống lại những sinh vật gây hại của vật chủ như kháng lại sự kết dính của ấu trùng giun ống (tubeworms) *Hydroides elegans* [42]. Một nghiên cứu sự đa dạng vi sinh vật sống cùng san hô mềm *Alcyonium antarcticum* sống ở biển Ross Sea, Antarctica đã được thực hiện để so sánh với quần xã vi sinh vật sống trên cùng một loài san hô sống ở các vùng sinh thái khác nhau. Nghiên cứu này đã áp dụng nuôi cấy truyền thống và sinh học phân tử như kỹ thuật điện di gel gradient biến tính-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), tạo dòng gen 16S rRNA, và phương pháp lai huỳnh quang (FISH) để so sánh sự đa dạng vi sinh vật ở các cùng một loài san hô mềm nhưng ở vị trí địa lý khác nhau. Kết quả cho thấy vi khuẩn sống cùng chủ yếu là những vi khuẩn ưa lạnh rất gần gũi với hệ vi sinh vật ưa lạnh vùng cực nơi mà san hô sinh sống với nhóm được quan sát nhiều nhất thuộc về *Gammaproteobacteria*. Đồng thời nghiên cứu này cũng chỉ ra vi sinh vật sống cùng san hô có tính đặc trưng đối với loài san hô mềm *Alcyonium antarcticum* [30].

San hô biển và vi sinh vật sống cùng cũng đã được khai thác các chất chống ung thư đã được thử nghiệm lâm sàng, các dòng tế bào ung thư khác nhau đang được điều trị bằng cyclic thiodepsipeptide thiocoraline (pha 3 với liều

IC₅₀ 2 nM) phân lập từ xạ khuẩn *Micromonospora* sp. sống cùng với một loài san hô biển chưa được định danh [43, 44]. Một nghiên cứu đáng chú ý khác công bố chủng *Alternaria* sp. ZJ-2008003 phân lập từ san hô mềm *Sarcophyton* sp. sống ở Biển Đông có thể sản sinh ra nhiều chất tự nhiên có hoạt tính sinh học. Trong đó đáng kể là những chất mới được công bố tìm thấy từ vi sinh vật này có hoạt tính sinh học rất đáng chú ý. Ví dụ, chất mới tetrahydroaltersolanol C- một dẫn xuất của hydro anthraquinone có khả năng kháng virus sản sinh porcine và cản trở hô hấp PRRSV với IC₅₀ 65 μM, trong khi những đồng phân khác của alterporriol-type anthranoid cũng là một chất mới được khám phá có tên là alterporriol Q có tác dụng ở IC₅₀ 39 μM, và alterporriol P có hoạt động độc tế bào đối với dòng tế bào PC-3 và HCT-116 tương ứng với IC₅₀ 6,40 μM và 8,60 μM [45]. *Fusarium* spp. PSU-F14 và PSU-F135 được phân lập từ san hô sừng *Annella* sp. sống ở biển Hin Ran Pet, Thái Lan sinh các chất có hoạt tính: Một octahydroanthraquinone có tên là fusarathraquinone và 4 chất mới khác 3 chất là hydronaphthoquinones có tên là fusarnaphthoquinone A, B, C (từ chủng PSU-F14), một cyclopentanone có tên là fusarone (từ chủng PSU-F15). Ngoài ra, hai chủng nấm này còn có thể sản sinh đến 18 chất tự nhiên khác. Trong số những chất đã được phân lập có hoạt tính sinh học, chỉ có fusarnaphthoquinone A- 1 chất trong số 5 chất mới, có hoạt tính độc tế bào đối với dòng tế bào KB (IC₅₀ 130 μM), dòng tế bào MCF-7 (IC₅₀ 22 μM). Fusarnaphthoquinone A được sử dụng để thực hiện các thí nghiệm sinh học kháng vi sinh vật như kháng vi khuẩn kháng thuốc *Staphylococcus aureus* MRSA, nấm *Cryptococcus neoformans*. Chất này cũng được thử nghiệm đối với *Plasmodium falciparum* (ký sinh trùng gây bệnh sốt rét) và *Mycobacterium tuberculosis* (vi khuẩn gây bệnh lao) nhưng cho kết quả âm tính. Trong khi đó, fusarnaphthoquinone B thể hiện khả năng kháng yếu đối với nấm *Cryptococcus neoformans* và *Microsporium gypseum* với MIC > 200 μM [46].

Vi sinh vật sống cùng những sinh vật biển khác

Vi sinh vật sống cùng tảo (algae) đã được quan tâm nghiên cứu từ vài thập kỷ trước, tuy nhiên nó vẫn được xem như là mới bắt đầu vì những thông tin cũng như giá trị của mối quan hệ giữa vi sinh vật và vật chủ ngoài tự nhiên vẫn đang là vấn đề tranh cãi hiện nay. Vi sinh vật sống cùng tảo, cũng giống như sống cùng hải miên hay san hô, chúng có vai trò và chức năng nhất định đối với vật chủ, tương tác đa chiều trong một hệ phức tạp. Ngoài những nghiên cứu về đa dạng sinh học thì nghiên cứu các chất có hoạt tính từ vi sinh vật sống cùng tảo cũng được quan tâm và thu được những thành quả có thể ứng dụng cho công nghệ sinh học như dehalogenases (enzyme phân giải dung môi và thuốc trừ sâu gốc Cl), chất kháng sinh, những polysaccharides như agarases, carrageenans và alginate lyases. Những thành quả thu được đã khẳng định nguồn vi sinh vật sống cùng tảo thực sự góp phần lớn vào những nghiên cứu ứng dụng phát triển công nghệ sinh học trong tương lai [47]. Vi sinh vật sống cùng tảo đã được xác định gồm vi khuẩn, nấm men, động vật đơn bào và có thể cả những thành phần chưa được nghiên cứu như virus hay tảo đáy. Đa số những bài báo hiện có tập trung đến vi khuẩn sống cùng tảo và thực tế vi khuẩn được nghiên cứu nhiều hơn các loài khác bằng phương pháp sinh học phân tử. Mật độ của vi khuẩn có thể dao động từ 10⁶ đến 10⁹ /cm² bề mặt tảo [48]. Nghiên cứu mối tương quan giữa vật chủ và vi sinh vật sống cùng nó bằng cách sử dụng ngân hàng gen 16Sr RNA để phân tích sự đa dạng của vi khuẩn sống cùng 3 loài sinh vật khác nhau trong cùng một nơi sống như trong nghiên cứu của Longford và nnk., (2007) [49]. Đây là nghiên cứu đầu tiên về sự đa dạng vi khuẩn sống cùng 3 vật chủ khác nhau trong hệ sinh thái. Kết quả của nghiên cứu này khẳng định mối tương quan giữa vi sinh vật sống cùng và vật chủ thực sự là có tính chuyên biệt (host specific). Cụ thể, hệ vi khuẩn sống cùng hải miên demosponge *Cymbastela concentrica* có độ đa dạng cao với 7 ngành (phyla) nhưng lại có sự đa dạng về thành phần loài thấp với 24 loài, trong khi hệ vi khuẩn sống cùng tảo đỏ *Delisea pulchra* cũng bao gồm 7 ngành và độ đa dạng loài cao với 79 loài, hệ vi khuẩn sống cùng tảo xanh (green alga) *Ulva australis* chỉ gồm có 4 ngành với 36 loài. Alpha-Delta và Gammaproteobacteria được tìm thấy phổ biến

ở cả 3 vật chủ, ngược lại Planctomycetes và Bacteroidetes tương đối phổ biến trong hệ vi khuẩn sống cùng hai loài tảo nhưng gần như không được tìm thấy trong hải miên. Đáng kể là không có sự trùng lặp loài ở mức độ vật chủ (hải miên - tảo). Về sự đa dạng của vi khuẩn sống cùng hai loài tảo, kết quả cho thấy rằng hệ vi sinh vật sống cùng hai loài tảo trên là rất tương đồng ở mức độ ngành (phylum), nhưng ở mức độ loài thì có sự trùng lặp tương đối thấp [49]. Vi sinh vật sống cùng tảo đóng góp vào cơ chế bảo vệ, hấp thu dinh dưỡng và thúc đẩy sự sinh trưởng và phát triển của tảo, đồng thời vi sinh vật cũng có thể là nguyên nhân gây bệnh cho tảo. Ngoài ra, vi sinh vật cũng đóng góp vào sự hình thành các chất có hoạt tính sinh học [47, 50]. Bên cạnh đó, nghiên cứu vi sinh vật sống cùng 3 loài tảo lớn *Fucus vesiculosus*, *Gracilaria vermiculophylla* và *Ulva intestinalis* ở cùng một nơi sống nhưng vào thời gian khác nhau bằng phương pháp Gradient biến tính (DGGE) và dựa vào gen 16Sr RNA đã chỉ ra hệ vi sinh vật sống cùng không chỉ khác đáng kể ở mỗi vị trí thu mẫu mà còn khác nhau ở thời gian thu mẫu, nhưng hệ vi sinh vật ở mỗi vị trí thu mẫu đối với từng loài tảo khác nhau lại tương đối ổn định theo mùa. Tuy nhiên chỉ có 7-16% các đoạn trình tự là tương đồng ở mức độ loài đối với từng vật chủ. Kết quả này chỉ ra mỗi vật chủ tảo đều có những vi sinh vật riêng biệt, hệ vi sinh vật sống cùng tảo có sự thích ứng cao đối với nơi ở cùng với sự thay đổi môi trường sống của vật chủ [51].

Những nghiên cứu đa dạng vi sinh vật sống cùng các động vật biển khác có số lượng tương đối hạn chế. Tiếp theo hải miên, san hô, tảo, vi sinh vật sống cùng hải sâm cũng được thực hiện để nghiên cứu sự đa dạng sinh học và tìm kiếm các chất có hoạt tính. Ví dụ nghiên cứu trên hải sâm *Holothuria atra* cho thấy hệ vi sinh vật sống trong ruột non của hải sâm có số lượng thấp hơn nhiều so với hệ vi sinh vật trong trầm tích biển nơi thu mẫu hải sâm [52]. Nghiên cứu hệ vi sinh vật sống trong ruột non hải sâm *Holothuria leucospilota* cho thấy có 2 trong số 23 loài được tìm thấy phổ biến ở hải sâm, trong đó *Bacillus* và *Vibrio* được phát hiện với mật độ cao nhất [53]. Hệ vi sinh vật sống trong ruột non hải sâm *Apostichopus*

japonicus được công bố rất đa dạng với 53 loài, trong đó 8 loài cũng được tìm thấy phổ biến trong trầm tích nơi thu mẫu hải sâm. *Bacillus*, *Oceanobacillus* và *Virgibacillus* được quan sát có độ đa dạng loài cao, tuy nhiên không phát hiện *Vibrio* trong nghiên cứu này [54]. Một nghiên cứu khác về vòng đời và những sinh vật liên quan đến quá trình lắng đọng của ấu trùng cũng như hình thành cá thể trưởng thành của loài hải tiêu (ascidian) *Cystodytes dellechiaiei* sống ở Đại Tây Dương, Thái Bình Dương, Ấn Độ Dương và Địa Trung Hải được mô tả rất đầy đủ. Thêm vào đó, hệ vi sinh vật cũng được nghiên cứu trong mô tunic của những cá thể trưởng thành và ấu trùng của hải tiêu. Kết hợp FISH, DGGE và tạo dòng gen 16Sr RNA đã cho thấy vi sinh vật hiện diện ở bề mặt trong của tunic cả ở hải tiêu giai đoạn trưởng thành và giai đoạn ấu trùng, trong khi tảo đáy (diatoms) và những sinh vật giả nhân khác được tìm thấy ở bề mặt ngoài của hải tiêu. Phân tích ngân hàng gen 16S và DGGE, FISH chỉ ra quần xã vi sinh vật trong mô tunic ở các cá thể trưởng thành cũng như ở ấu trùng có mặt nhiều nhất với vi khuẩn thuộc *Alphaproteobacteria*, trong khi *Gammaproteobacteria* và *Bacteroidetes* được phát hiện có mặt nhiều nhất ở cá thể trưởng thành. Nhiều đoạn trình tự của 16Sr RNA trong mô của tunic được cho là có quan hệ gần gũi với nhóm vi sinh vật quang hợp hiếu khí (aerobic anoxygenic phototrophs (AAP), như *Roseobacter* sp. và *Erythrobacter* sp. [55].

Một nghiên cứu khác của Martínez-García và nnk., (2007) [56] chỉ ra rằng hải tiêu là nhà sản xuất chính của các chất tự nhiên Pyridoacridine alkaloids- chất có khả năng tác động lên các nhiều dòng tế bào ung thư ở người như tế bào ung thư phổi A-549, ung thư dạ dày H-116, ung thư tuyến thượng thận PSN-1 và ung thư vú SKBR3. Mặc dù hoạt động của các chất chống ung thư mạnh nhất được tìm thấy ở mô tunic nơi có sự có mặt của hệ vi sinh vật dày đặc, tuy nhiên các chất tự nhiên có hoạt tính được xác định là không phải các chất trao đổi bậc hai ở vi sinh vật mà thực chất được sản sinh từ hải tiêu *Cystodytes dellechiaiei*. Trong trường hợp ở hải tiêu *Lissoclinum patella*, sự sinh tổng hợp những oligopeptide patellamide được xác định là do vi khuẩn cộng sinh bắt

buộc với vật chủ hải tiêu mới là nhà sản xuất chính khi nghiên cứu các đoạn trình tự gen tổng hợp ra patellamide A và C [57]. Một nghiên cứu khác trên nấm biển, chủng nấm *Microsporium* sp. MFS-YL được phân lập từ tảo đỏ *Lomentaria catenata* ở Guryongpo, Nam Gu, PoHang, Hàn Quốc sản sinh physicon có khả năng kháng lại tế bào ung thư. Trong nghiên cứu cơ chế tác động của physicon lên tế bào ung thư cổ tử cung dòng tế bào Hela, Wijesekara và nnk., (2014) đã chứng minh rằng physicon dẫn dắt tế bào ung thư đi vào pha chết (apoptosis) thông qua expressions p53, p21, điều hòa ngược pro-apoptosis protein Bax, điều hòa xuôi anti-apoptosis protein Bcl, caspase-9 và caspase-3 proteins [58]. Gần đây, Liang và nnk., (2014) cũng đưa ra những công bố quan trọng về Gliotoxin được sinh ra bởi nấm *Neosartorya pseudofischeri* phân lập từ mô trong của sao biển *Acanthaster planci* có khả năng kháng lại vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ATCC29213 với MIC 12,20 μ M, *S. aureus* R3708 với MIC 1,5 μ M và *Escherichia coli* ATCC25922 với MIC 24,50 μ M. Ngoài ra, chất này còn có khả năng kháng lại các dòng tế bào ung thư phôi thận (human embryonic kidney) HEK 293 với IC₅₀ 1,58 μ M, dòng tế bào ung thư dạ dày HCT-116 với IC₅₀ 1,24 μ M và RKO với IC₅₀ 0,80 μ M [59]. Một công trình gần đây nhất của Nguyen công bố đã phân lập và đánh giá được sự hoạt động kháng tế bào ung thư của Gliotoxin từ *Aspergillus* sp. chủng YL-06 từ bề mặt tảo nâu (Brown alga) ở Ulsan, Hàn Quốc. Trong nghiên cứu này, tác giả đã chứng minh được Gliotoxin dẫn đến quá trình chết của dòng tế bào Hela (dòng tế bào ung thư cổ tử cung ở người) và SW1353 chondrosarcoma cell (dòng tế bào ung thư xương và mô mềm sarcoma ở người) qua sự hoạt hóa các enzyme caspase-3, caspase-8 và caspase-9, điều hòa xuôi Bcl-2 và điều hòa ngược Bax đồng thời giải phóng cytochrome c (cyt c) [60].

Ngoài ra còn có một vài nghiên cứu sự đa dạng vi sinh vật sống cùng các sinh vật không xương sống biển khác như nghiên cứu vi sinh sống cùng thân mềm, bryozoa, tunicates. Đa số những nghiên cứu này ngoài mục đích nghiên cứu đa dạng vi sinh vật sống cùng và tìm kiếm nguồn các chất trao đổi bậc hai từ vi sinh vật

phục vụ cho những nghiên cứu sâu hơn trong tương lai như nghiên cứu phát triển thuốc chữa bệnh [7, 8].

Chất tự nhiên có hoạt tính từ nguồn vi sinh vật trong trầm tích biển

Chất tự nhiên có hoạt tính sinh học đầu tiên từ vi sinh vật được công bố năm 1975 là chất kháng sinh SS-228Y. Đó là hợp chất perihydroxyquinone được sản sinh bởi xạ khuẩn biển *Chainia purpurogena* [61]. Từ những năm đầu của thế kỷ thứ 21, xạ khuẩn biển, đặc biệt là giống *Salinispora* và *Marinispora* được phát hiện có khả năng sản sinh những sản phẩm trao đổi chất có hoạt tính với cấu trúc hóa học rất khác lạ so với các chất trao đổi bậc hai đã được biết đến từ trước. Ví dụ, β -lactone-gamma lactams salinosporamides phân lập từ *Salinispora tropica* là một chất tự nhiên mới có hoạt tính chống lại những tế bào ác tính [62]. Hiện tại Nereus Pharmaceuticals- một công ty dược đang thực hiện những nghiên cứu lâm sàng bước đầu tiên (phase I clinical trials) đối với chất Salinosporamid A (NPI-0052) ở những bệnh nhân có bệnh bạch huyết, bệnh về tủy, bạch cầu, lympho bào và những khối u đặc (solid tumor-có thể là khối u mới được hình thành mà không phải ung thư, hoặc là khối u ung thư do khối u khác di căn [12]. Khởi đầu với trầm tích ngoài khơi, đại dương là nguồn để phân lập những chủng thuộc giống *Micromonospora* được biết đến là xạ khuẩn sản sinh ra Marinomycins A-D. Đây là những đại diện của nhóm chất polyketides mới, trong đó chất có tiềm năng nhất là Marinomycin A có tác động một cách chọn lọc lên một số dòng tế bào ung thư ở người với IC₅₀ 5 nM cho dòng tế bào ung thư SK-MEL5 [63].

Một ví dụ về chất có hoạt tính tiềm năng hiện đang được quan tâm cho những nghiên cứu tiếp theo là proximicins A-C được sản sinh bởi *Verrucosipora* sp. MG-37 phân lập ở trầm tích biển. Chúng là những chất kim hãm sự phân chia tăng sinh của các tế bào ung thư thông qua ngăn chặn sự điều hòa đầu p53 và kim hãm sự hoạt động của cyclin kinase inhibitor p21 [64]. Cơ chế tác động của các chất tự nhiên Gliotoxin lên quá trình chết của tế bào ung thư gần đây được công bố bởi Sun và nnk., (2012) và được xem như là một bước tiến

trong nghiên cứu chất có độc tính tế bào “cytotoxic” thành tác nhân kháng ung thư “anticancer agent”. Sự giải phóng cytochrome khỏi ti thể được xem như là khởi đầu của quá trình chết tế bào (apoptosis pathway). Quá trình này diễn ra khi có sự kích thích khiến cho cytochrome C thoát ra khỏi ti thể và một loạt các quá trình sinh học tiếp theo như sự hoạt động của những protein liên quan gọi chung là BH123 protein, trong đó có pro-apoptosis protein Bax, anti-apoptosis protein Bcl-2. Quá trình chết của tế bào liên quan mật thiết đến sự hoạt động của các enzyme, đặc biệt là caspase-9 ở bước apoptosis tách ra khỏi procaspase-9 và dẫn đến sự hoạt động của các caspase khác và quá trình apoptosis thực sự được bắt đầu. Gliotoxin là thành viên của lớp epipolythiodiketopiperazine được công bố là thành phần trao đổi chất của một vài nấm biến như *Penicillium* sp. JMF034 phân lập từ trầm tích biển ở vịnh Suruga, Nhật Bản [65].

XU HƯỚNG, TRIỂN VỌNG TRONG NGHIÊN CỨU, TÌM KIẾM CÁC CHẤT CÓ HOẠT TÍNH, CƠ HỘI VÀ THÁCH THỨC ĐỐI VỚI NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC

Xu hướng và triển vọng

Các chất tự nhiên được khai thác từ nguồn động vật không xương ở những vùng biển thuộc các nước Châu Á chiếm hơn một nửa (55,1%) trong tổng số các chất khai thác được trong 20 năm qua. Nếu tính đến các nhóm chất mới cũng như cấu trúc hóa học mới, chất được phân lập từ động vật không xương ở các nước Châu Á cũng chiếm tỷ lệ cao nhất là 67%. Đặc biệt là chất có bản chất terpenoids được khám phá với số lượng tăng đột biến từ 2000 - 2009 [10, 29].

Ngày nay, người ta có thể nuôi cấy cả những vi khuẩn cực khó nuôi cấy trong phòng thí nghiệm bằng cách tối ưu hóa môi trường nuôi, không những ở thành phần dinh dưỡng mà còn thiết kế các dụng cụ để tạo ra môi trường sống của vi sinh vật như điều kiện tự nhiên ngoài môi trường nơi mà chúng được phân lập. Số lượng vi sinh vật đếm được trên bề mặt của động vật không xương sống có thể đạt 10^6 - 10^8 nhưng chỉ rất ít phần trăm trong số đó được nuôi cấy thành công. Hiện nay đã có

những nghiên cứu tìm ra phương pháp và công cụ phục vụ cho việc tăng năng suất nuôi cấy phân lập vi sinh vật từ môi trường. Thực tế, với những tiến bộ về khoa học kỹ thuật có thể nuôi cấy và phân lập được đến 40% tổng số vi sinh vật bằng những buồng nuôi đặc biệt gọi là growth chamber [66]. So với phương pháp nuôi cấy trên đĩa petri truyền thống thì những buồng nuôi đặc biệt cho kết quả cao hơn rất nhiều về số lượng vi sinh vật với kiểu hình mới cũng như sự đa dạng về loài và cả về khả năng có thể nuôi cấy được trong phòng thí nghiệm [67]. Với những nỗ lực tìm kiếm các phương pháp nuôi cấy đặc biệt để phân lập vi sinh vật từ môi trường mà trước đây chưa từng được phân lập trên đĩa petri thông thường, một số vi sinh vật vốn tồn tại ngoài tự nhiên nhưng không thể phân lập nay đã có thể, ví dụ như nhóm vi khuẩn *Deltaproteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Spirochaetes*, và *Acidobacteria* [68]. Với phương pháp nuôi cấy vi sinh vật sống cùng hải miên trong các buồng nuôi đặc biệt (diffusion growth chamber) đã có những bước tiến lớn trong việc nuôi cấy những vi khuẩn trước đây chưa được nuôi cấy thuộc *Bacteroidetes* và *Proteobacteria* (*Alpha* và *Gamma* classes). Áp dụng đầu tiên với vi khuẩn sống cùng hải miên “diffusion growth chamber” còn mở đường cho những nghiên cứu tăng hiệu quả nuôi cấy vi sinh vật từ môi trường [69].

Các nhà khoa học đã tìm ra cách khắc phục trở ngại về nuôi cấy phân lập vi sinh vật biển. Tuy nhiên cho dù có những đặc tính ưu việt nhưng buồng nuôi cấy đặc biệt không thể áp dụng cho tất cả các vi sinh vật biển ở các vùng sinh thái khác nhau. Do đó, bằng cách kết hợp nuôi cấy, tối ưu môi trường và điều kiện nuôi cấy cũng như áp dụng các phương pháp sinh học phân tử để sàng lọc gen ví dụ gen (PKS/NRPS) mã hóa cho các chất có hoạt tính [9, 70, 71] cũng đã được thử nghiệm. Những nỗ lực đó, cho mục đích cuối cùng là tìm kiếm các chủng vi sinh vật biển sản sinh các chất có hoạt tính ứng trong nghiên cứu dược cũng đã và đang là xu thế nghiên cứu hiện nay.

Cơ hội và thách thức đối với nghiên cứu trong nước

Hải miên là một trong nhóm sinh vật được biết đến đã tồn tại lâu nhất [72]. Chúng phân bố

toàn cầu và có khoảng hơn 8.370 loài đã được mô tả chi tiết trong “The World Porifera Database”, bao gồm 680 giống trong 4 lớp Calcarea, Hexactinellida, Demospongiae và Homoscleromorpha. Hải miên phân bố ở biển Việt Nam thì gần như chưa được nghiên cứu, sự thật chỉ có một vài công trình của Lindgren vào năm 1898, Dawydoff năm 1952, Levi năm 1961 và Calcinais và nnk., năm 2006 công bố nghi nhận sự có mặt của hải miên ở vùng biển của Việt Nam. Ghi nhận về hải miên ở Biển Đông của Hooper và nnk., (2000) [73] công bố có khoảng 161 cá thể hải miên thuộc lớp Demospongiae được tìm thấy, trong đó biển Việt Nam có 106 cá thể được định danh đến loài.

Sự thật cho thấy những nghiên cứu về hải miên, san hô cũng như sinh vật biển Việt Nam còn rất hạn chế và đa số tập trung nghiên cứu phân loại học, độ phủ và mật độ. Những công bố quốc tế trên các đối tượng động vật biển sống ở biển Việt Nam rất hạn chế với những công trình tiêu biểu sau: Chất triterpene glycosides từ hải sâm *Holothuria scabra* ở Cát Bà, Hải Phòng [74], một chất squalene mới có khả năng kháng lại tế bào ung thư phổi và ung thư trực tràng, 3 cembranoid diterpenes và 2 sterols từ san hô mềm *Lobophytum* sp. ở Côn Cỏ, Quảng Trị [75]. Một số các chất mới và cả các chất đã được công bố có hoạt động kháng lại nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau từ san hô mềm *Lobophytum laevigatum* ở Khánh Hòa [76, 77]. Polyoxygenated steroids có khả năng kháng viêm từ san hô mềm *Sarcophyton pauciplicatum* ở Hải Phòng [78], cembranoid diterpenoids thể hiện khả năng anti-inflammatory từ san hô mềm *Lobophytum crassum* ở Côn Cỏ, Quảng Trị [79] cũng đã được tìm thấy. Norditerpenoids từ san hô mềm *Sinularia maxima* ở Nha Trang [80] một số chất cyclopropane thuộc nhóm sterols có tác động đến một số dòng tế bào ung thư được tìm ra từ hải miên *Ianthella* sp. ở đảo Nam Yết, Trường Sa [81], và sesquiterpene quinones từ hải miên biển Việt Nam *Spongia* sp. được công bố bởi Utkina & Denisenko [82]. Gần đây nhất là công bố của nhóm tác giả Michael [83] đã tìm ra chất angucycline từ xạ khuẩn *Micromonospora* sp. ở Biển Đông, chất này thuộc nhóm chất diterpene có tác dụng như chất có độc tính đối với tế bào ung thư.

Theo chân lý, đa dạng về nơi ở (habitat) hứa hẹn đa dạng về nguồn gen và khi đa dạng về nguồn gen thì sự đa dạng về các sản phẩm trao đổi chất là điều có thể hy vọng [7, 9]. Việc tìm kiếm sự đa dạng về gen cũng như đa dạng về các chất trao đổi chất thực sự mới bắt đầu được nghiên cứu ở Việt Nam trong khoảng 2 thập kỷ qua, do đó có thể thấy rất nhiều vùng biển của Việt Nam vẫn có thể được xem như hoàn toàn chưa được nghiên cứu, nhất là vùng biển nước sâu ngoài khơi do hạn chế về trang thiết bị nghiên cứu. Thực sự, nghiên cứu vi sinh vật biển cho mục đích tìm kiếm các chất có hoạt tính tại biển Việt Nam đang ở ngưỡng bắt đầu theo xu hướng nghiên cứu trên thế giới.

KẾT LUẬN

Trong vòng 50 năm qua, có đến 22.000 chất tự nhiên được khám phá từ nguồn biển cho mục đích y học. Riêng năm 2014, có 283 chất tự nhiên mới được phát hiện từ nguồn hải miên, 201 chất mới từ ruột khoang, hơn 677 chất mới từ vi sinh vật biển sống cùng các sinh vật khác hoặc trong nước và trầm tích không bao gồm vi sinh vật biển sống trong rừng ngập mặn [84]. Tuy nhiên, tính đến nay chỉ có 13 chất tiềm năng đang trong giai đoạn nghiên cứu lâm sàng trong đó có 4 chất từ vi sinh vật biển, 9 chất đa số từ động vật biển không xương sống đã được nghiên cứu thành công và được chấp thuận trở thành thuốc chữa bệnh cho người trên thị trường thế giới [85]. Rất nhiều các chất có hoạt tính từ vi sinh vật đã được dùng làm nền tảng để nghiên cứu được trong thế kỷ thứ 21. Ví dụ có đến 30-80% các chủng xạ khuẩn và nấm được chọn lọc để sinh các chất kháng sinh [86]. Xa hơn thế, mô hình tính toán dựa trên những dữ liệu thu được cho biết con số chất kháng sinh chưa được khám phá từ xạ khuẩn có thể lên đến 10^7 [87].

Tuy nhiên, trung bình để tìm ra một loại thuốc mới cũng phải tốn từ 10 năm đến 20 năm thậm chí là 50 năm [7, 88]. Nghiên cứu tìm kiếm các chất có hoạt tính từ vi sinh vật biển đã và đang diễn ra từ vài thập kỷ trước, kết quả đã đưa ra một số thành quả như đã được trình bày trong bài tổng quan này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Simon, C., and Daniel, R., 2011. Metagenomic analyses: past and future

- trends. *Applied and Environmental Microbiology*, **77**(4), 1153-1161.
2. Monaghan, R. L., and Tkacz, J. S., 1990. Bioactive microbial products: focus upon mechanism of action. *Annual Reviews in Microbiology*, **44**(1), 271-331.
 3. Capon, R. J., 2001. Marine Bioprospecting - Trawling for Treasure and Pleasure. *European Journal of Organic Chemistry*, **2001**(4), 633-645.
 4. Piel, J., 2004. Metabolites from symbiotic bacteria. *Natural product reports*, **21**(4), 519-538.
 5. Roussis, V., Wu, Z., Fenical, W., Strobel, S. A., Van Duyne, G. D., and Clardy, J., 1990. New anti-inflammatory pseudopterosins from the marine octocoral *Pseudopteroorgia elisabethae*. *The Journal of Organic Chemistry*, **55**(16), 4916-4922.
 6. Mydlarz, L. D., Jacobs, R. S., Boehnlein, J., and Kerr, R. G., 2003. Pseudopterosin biosynthesis in *Symbiodinium* sp., the dinoflagellate symbiont of *Pseudopteroorgia elisabethae*. *Chemistry & biology*, **10**(11), 1051-1056.
 7. Imhoff, J. F., Labes, A., and Wiese, J., 2011. Bio-mining the microbial treasures of the ocean: New natural products. *Biotechnology Advances*, **29**(5), 468-482.
 8. Leal, M. C., Sheridan, C., Osinga, R., Dionísio, G., Rocha, R. J. M., Silva, B., Rosa, R., and Calado, R., 2014. Marine microorganism-invertebrate assemblages: perspectives to solve the “supply problem” in the initial steps of drug discovery. *Marine drugs*, **12**(7), 3929-3952.
 9. Fuerst, J. A., 2014. Diversity and biotechnological potential of microorganisms associated with marine sponges. *Applied microbiology and biotechnology*, **98**(17), 7331-7347.
 10. Rocha, J., Peixe, L., Gomes, N., and Calado, R., 2011. Cnidarians as a source of new marine bioactive compounds - An overview of the last decade and future steps for bioprospecting. *Marine drugs*, **9**(10), 1860-1886.
 11. Sudek, S., Lopanik, N. B., Waggoner, L. E., Hildebrand, M., Anderson, C., Liu, H., Patel, A., Sherman, D. H., and Haygood, M. G., 2007. Identification of the putative bryostatin polyketide synthase gene cluster from “*Candidatus Endobugula sertula*”, the uncultivated microbial symbiont of the marine bryozoan *Bugula neritina*. *Journal of Natural Products*, **70**(1), 67-74.
 12. Mayer, A. M., Glaser, K. B., Cuevas, C., Jacobs, R. S., Kem, W., Little, R. D., McIntosh, J. M., Newman, D. J., Potts, B. C., and Shuster, D. E., 2010. The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. *Trends in Pharmacological Sciences*, **31**(6), 255-265.
 13. Cuevas, C., and Francesch, A., 2009. Development of Yondelis® (trabectedin, ET-743). A semisynthetic process solves the supply problem. *Natural Product Reports*, **26**(3), 322-337.
 14. Gerwick, W. H., and Fenner, A. M., 2013. Drug discovery from marine microbes. *Microbial Ecology*, **65**(4), 800-806.
 15. Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., and Wagner, M., 2007. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **71**(2), 295-347.
 16. Naim, M. A., Morillo, J. A., Sørensen, S. J., Waleed, A. A. S., Smidt, H., and Sipkema, D., 2014. Host-specific microbial communities in three sympatric North Sea sponges. *FEMS Microbiology Ecology*, **90**(2), 390-403.
 17. Thiel, V., Leininger, S., Schmaljohann, R., Brümmer, F., and Imhoff, J. F., 2007. Sponge-specific bacterial associations of the Mediterranean sponge *Chondrilla nucula* (Demospongiae, Tetractinomorpha). *Microbial Ecology*, **54**(1), 101-111.
 18. Webster, N. S., and Taylor, M. W., 2012. Marine sponges and their microbial symbionts: love and other relationships. *Environmental Microbiology*, **14**(2), 335-346.
 19. Sharp, K. H., Eam, B., Faulkner, D. J., and Haygood, M. G., 2007. Vertical transmission

- of diverse microbes in the tropical sponge *Corticium* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**(2), 622-629.
20. Lee, O. O., Wang, Y., Yang, J., Lafi, F. F., Al-Suwailem, A., and Qian, P. Y., 2011. Pyrosequencing reveals highly diverse and species-specific microbial communities in sponges from the Red Sea. *The ISME Journal*, **5**(4), 650-664.
 21. Siegl, A., Kamke, J., Hochmuth, T., Piel, J., Richter, M., Liang, C., Dandekar, T., and Hentschel, U., 2011. Single-cell genomics reveals the lifestyle of *Poribacteria*, a candidate phylum symbiotically associated with marine sponges. *The ISME Journal*, **5**(1), 61-70.
 22. Wiese, J., Ohlendorf, B., Blümel, M., Schmaljohann, R., and Imhoff, J. F., 2011. Phylogenetic identification of fungi isolated from the marine sponge *Tethya aurantium* and identification of their secondary metabolites. *Marine Drugs*, **9**(4), 561-585.
 23. Yamada, T., Umebayashi, Y., Kawashima, M., Sugiura, Y., Kikuchi, T., and Tanaka, R., 2015. Determination of the chemical structures of Tandyukisins B-D, isolated from a marine sponge-derived fungus. *Marine Drugs*, **13**(5), 3231-3240.
 24. Wei, R. B., Xi, T., Li, J., Wang, P., Li, F. C., Lin, Y. C., and Qin, S., 2011. Lobophorin C and D, new kijanimicin derivatives from a marine sponge-associated actinomycetal strain AZS17. *Marine Drugs*, **9**(3), 359-368.
 25. Amagata, T., Rath, C., Rigot, J. F., Tarlov, N., Tenney, K., Valeriote, F. A., and Crews, P., 2003. Structures and Cytotoxic Properties of Trichoverroids and Their Macrolide Analogues Produced by Saltwater Culture of *Myrothecium verrucaria*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **46**(20), 4342-4350.
 26. Wu, B., Ohlendorf, B., Oesker, V., Wiese, J., Malien, S., Schmaljohann, R., and Imhoff, J. F., 2015. Acetylcholinesterase inhibitors from a marine fungus *Talaromyces* sp. strain LF458. *Marine Biotechnology*, **17**(1), 110-119.
 27. Rohwer, F., Seguritan, V., Azam, F., and Knowlton, N., 2002. Diversity and distribution of coral-associated bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, **243**, 1-10.
 28. Rosenberg, E., Koren, O., Reshef, L., Efrony, R., and Zilber-Rosenberg, I., 2007. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature Reviews Microbiology*, **5**(5), 355-362.
 29. Leal, M. C., Puga, J., Serôdio, J., Gomes, N. C., and Calado, R., 2011. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades - where and what are we bioprospecting?. *PloS One*, **7**(1), e30580-e30580.
 30. Webster, N. S., and Bourne, D., 2007. Bacterial community structure associated with the Antarctic soft coral, *Alcyonium antarcticum*. *FEMS Microbiology Ecology*, **59**(1), 81-94.
 31. Kvennefors, E. C. E., Sampayo, E., Kerr, C., Vieira, G., Roff, G., and Barnes, A. C., 2012. Regulation of bacterial communities through antimicrobial activity by the coral holobiont. *Microbial Ecology*, **63**(3), 605-618.
 32. Shnit-Orland, M., Sivan, A., and Kushmaro, A., 2012. Antibacterial activity of *Pseudoalteromonas* in the coral holobiont. *Microbial Ecology*, **64**(4), 851-859.
 33. Ritchie, K. B., 2006. Regulation of microbial populations by coral surface mucus and mucus-associated bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, **322**, 1-14.
 34. Reshef, L., Koren, O., Loya, Y., Zilber-Rosenberg, I., and Rosenberg, E., 2006. The coral probiotic hypothesis. *Environmental Microbiology*, **8**(12), 2068-2073.
 35. Rosenberg, E., Kushmaro, A., Kramarsky-Winter, E., Banin, E., and Yossi, L., 2009. The role of microorganisms in coral bleaching. *The ISME Journal*, **3**(2), 139-146.
 36. Raina, J. B., Dinsdale, E. A., Willis, B. L., and Bourne, D. G., 2010. Do the organic sulfur compounds DMSP and DMS drive coral microbial associations?. *Trends in Microbiology*, **18**(3), 101-108.

37. Raina, J. B., Tapiolas, D., Willis, B. L., and Bourne, D. G., 2009. Coral-associated bacteria and their role in the biogeochemical cycling of sulfur. *Applied and Environmental Microbiology*, **75**(11), 3492-3501.
38. Kushmaro, A., Rosenberg, E., Fine, M., and Loya, Y., 1997. Bleaching of the coral *Oculina patagonica* by *Vibrio* AK-1. *Marine Ecology Progress Series*, **147**, 159-165.
39. Ben-Haim, Y., and Rosenberg, E., 2002. A novel *Vibrio* sp. pathogen of the coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology*, **141**(1), 47-55.
40. Ainsworth, T. D., Fine, M., Roff, G., and Hoegh-Guldberg, O., 2008. Bacteria are not the primary cause of bleaching in the Mediterranean coral *Oculina patagonica*. *The ISME Journal*, **2**(1), 67-73.
41. Harder, T., Lau, S. C., Dobretsov, S., Fang, T. K., and Qian, P. Y., 2003. A distinctive epibiotic bacterial community on the soft coral *Dendronephthya* sp. and antibacterial activity of coral tissue extracts suggest a chemical mechanism against bacterial epibiosis. *FEMS Microbiology Ecology*, **43**(3), 337-347.
42. Dobretsov, S., and Qian, P. Y., 2004. The role of epibiotic bacteria from the surface of the soft coral *Dendronephthya* sp. in the inhibition of larval settlement. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **299**(1), 35-50.
43. Baz, J. P., Canedo, L. M., Puentes, J. L. F., and ELIPE, M. V. S., 1997. Thiocoraline, a novel depsipeptide with antitumor activity produced by a marine *Micromonospora*. II. Physico-chemical properties and structure determination. *The Journal of Antibiotics*, **50**(9), 738-741.
44. Romero, F., Espliego, F., Baz, J. P., De Quesada, T. G., Grávalos, D., De La Calle, F. E. R. N. A. N. D. O., and Fernández-Puentes, J. L., 1997. Thiocoraline, a new depsipeptide with antitumor activity produced by a marine *Micromonospora*. *The Journal of Antibiotics*, **50**(9), 734-737.
45. Zheng, C. J., Shao, C. L., Guo, Z. Y., Chen, J. F., Deng, D. S., Yang, K. L., Chen, Y. Y., Fu, X. M., She, Z. G., Lin, Y. C., and Wang, C. Y., 2012. Bioactive hydroanthraquinones and anthraquinone dimers from a soft coral-derived *Alternaria* sp. fungus. *Journal of Natural Products*, **75**(2), 189-197.
46. Trisuwan, K., Khamthong, N., Rukachaisirikul, V., Phongpaichit, S., Preedanon, S., and Sakayaroj, J., 2010. Anthraquinone, cyclopentanone, and naphthoquinone derivatives from the sea fan-derived fungi *Fusarium* spp. PSU-F14 and PSU-F135. *Journal of Natural Products*, **73**(9), 1507-1511.
47. Martin, M., Portetelle, D., Michel, G., and Vandenberg, M., 2014. Microorganisms living on macroalgae: diversity, interactions, and biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **98**(7), 2917-2935.
48. Armstrong, E., Yan, L., Boyd, K. G., Wright, P. C., and Burgess, J. G., 2001. The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. *Hydrobiologia*, **461**(1), 37-40.
49. Longford, S. R., Tujula, N. A., Crocetti, G. R., Holmes, A. J., Holmström, C., Kjelleberg, S., Steinberg, P. D., and Taylor, M. W., 2007. Comparisons of diversity of bacterial communities associated with three sessile marine eukaryotes. *Aquatic Microbial Ecology*, **48**(3), 217-229.
50. Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., and Thomas, T., 2013. The seaweed holobiont: understanding seaweed - bacteria interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, **37**(3), 462-476.
51. Lachnit, T., Meske, D., Wahl, M., Harder, T., and Schmitz, R., 2011. Epibacterial community patterns on marine macroalgae are host-specific but temporally variable. *Environmental Microbiology*, **13**(3), 655-665.
52. Ward-Rainey, N., Rainey, F. A., and Stackebrandt, E., 1996. A study of the bacterial flora associated with *Holothuria atra*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **203**(1), 11-26.

53. Zhang, X., Nakahara, T., Miyazaki, M., Nogi, Y., Taniyama, S., Arakawa, O., Inoue, T., and Kudo, T., 2012. Diversity and function of aerobic culturable bacteria in the intestine of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, **58**(6), 447-456.
54. Zhang, X., Nakahara, T., Murase, S., Nakata, H., Inoue, T., and Kudo, T., 2013. Physiological characterization of aerobic culturable bacteria in the intestine of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, **59**(1), 1-10.
55. Martínez-García, M., Díaz-Valdés, M., Wanner, G., Ramos-Esplá, A., and Antón, J., 2007. Microbial community associated with the colonial ascidian *Cystodytes dellechiaiei*. *Environmental Microbiology*, **9**(2), 521-534.
56. Martínez-García, M., Díaz-Valdés, M., Ramos-Esplá, A., Salvador, N., Lopez, P., Larriba, E., and Antón, J., 2007. Cytotoxicity of the ascidian *Cystodytes dellechiaiei* against tumor cells and study of the involvement of associated microbiota in the production of cytotoxic compounds. *Marine Drugs*, **5**(3), 52-70.
57. Schmidt, E. W., Nelson, J. T., Rasko, D. A., Sudek, S., Eisen, J. A., Haygood, M. G., and Ravel, J., 2005. Patellamide A and C biosynthesis by a microcin-like pathway in *Prochloron didemni*, the cyanobacterial symbiont of *Lissoclinum patella*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**(20), 7315-7320.
58. Wijesekara, I., Zhang, C., Van Ta, Q., Vo, T. S., Li, Y. X., and Kim, S. K., 2014. Physcion from marine-derived fungus *Microsporium* sp. induces apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells. *Microbiological Research*, **169**(4), 255-261.
59. Liang, W. L., Le, X., Li, H. J., Yang, X. L., Chen, J. X., Xu, J., Liu, H. L., Wang, L. Y., Wang, K. T., Hu, K. C., Yang, D. P., and Lan, W. J., 2014. Exploring the chemodiversity and biological activities of the secondary metabolites from the marine fungus *Neosartorya pseudofischeri*. *Marine Drugs*, **12**(11), 5657-5676.
60. Nguyen, V. T., Lee, J. S., Qian, Z. J., Li, Y. X., Kim, K. N., Heo, S. J., Jeon, Y. J., Park, W. S., Choi, I. W., Je, J. Y., and Jung, W. K. (2013). Gliotoxin isolated from marine fungus *Aspergillus* sp. induces apoptosis of human cervical cancer and chondrosarcoma cells. *Marine Drugs*, **12**(1), 69-87.
61. Okazaki, T., Kitahara, T., and Okami, Y., 1975. Studies on marine microorganisms. IV. A new antibiotic SS-228 Y produced by *Chainia* isolated from shallow sea mud. *The Journal of Antibiotics*, **28**(3), 176-184.
62. Feling, R. H., Buchanan, G. O., Mincer, T. J., Kauffman, C. A., Jensen, P. R., and Fenical, W., 2003. Salinosporamide A: a highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora*. *Angewandte Chemie International Edition*, **42**(3), 355-357.
63. Kwon, H. C., Kauffman, C. A., Jensen, P. R., & Fenical, W., 2006. Marinomycins A - D, Antitumor-Antibiotics of a New Structure Class from a Marine Actinomycete of the Recently Discovered Genus "*Marinispora*". *Journal of The American Chemical Society*, **128**(5), 1622-1632.
64. Fiedler, H. P., Bruntner, C., Riedlinger, J., Bull, A. T., Knutsen, G., Goodfellow, M., Jones, Amanda, Maldonado, L., Pathomaree, W., Beil, W., Schneider, K., Keller, S., and Sussmuth, R. D., 2008. Proximicin A, B and C, novel aminofuran antibiotic and anticancer compounds isolated from marine strains of the actinomycete *Verrucosipora*. *Journal of Antibiotics*, **61**(3), 158-163.
65. Sun, Y., Takada, K., Takemoto, Y., Yoshida, M., Nogi, Y., Okada, S., and Matsunaga, S., 2011. Gliotoxin analogues from a marine-derived fungus, *Penicillium* sp., and their cytotoxic and histone methyltransferase inhibitory activities. *Journal of Natural Products*, **75**(1), 111-114.
66. Kaeberlein, T., Lewis, K., and Epstein, S. S., 2002. Isolating "uncultivable"

- microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. *Science*, **296**(5570), 1127-1129.
67. Aoi, Y., Kinoshita, T., Hata, T., Ohta, H., Obokata, H., and Tsuneda, S., 2009. Hollow-fiber membrane chamber as a device for in situ environmental cultivation. *Applied and Environmental Microbiology*, **75**(11), 3826-3833.
68. Bollmann, A., Lewis, K., and Epstein, S. S., 2007. Incubation of environmental samples in a diffusion chamber increases the diversity of recovered isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**(20), 6386-6390.
69. Steinert, G., Whitfield, S., Taylor, M. W., Thoms, C., and Schupp, P. J., 2014. Application of diffusion growth chambers for the cultivation of marine sponge-associated bacteria. *Marine Biotechnology*, **16**(5), 594-603.
70. Li, Z., Hu, Y., Liu, Y., Huang, Y., He, L., and Miao, X., 2007. 16S rDNA clone library-based bacterial phylogenetic diversity associated with three South China Sea (Bien Dong Sea) sponges. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **23**(9), 1265-1272.
71. Schneider, K., Chen, X. H., Vater, J., Franke, P., Nicholson, G., Borriss, R., and Süßmuth, R. D., 2007. Macrolactin is the polyketide biosynthesis product of the pks2 cluster of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Journal of Natural Products*, **70**(9), 1417-1423.
72. Love, G. D., Grosjean, E., Stalvies, C., Fike, D. A., Grotzinger, J. P., Bradley, A. S., Kelly, A. E., Bhatia, M., Meredith, W., Snape, C. E., Bowring, S. A., Condon D, J., and Summons, R. E., 2009. Fossil steroids record the appearance of Demospongiae during the Cryogenian period. *Nature*, **457**(7230), 718-721.
73. Hooper, J. N. A., Kennedy, J. A., and van Soest, R. W. M., 2000. Annotated checklist of sponges (Porifera) of the South China Sea (Bien Dong Sea) region. *The Raffles Bulletin of Zoology*, (8), 125-207.
74. Dang, N. H., Van Thanh, N., Van Kiem, P., Huong, L. M., Van Minh, C., and Kim, Y. H., 2007. Two new triterpene glycosides from the Vietnamese sea cucumber *Holothuria scabra*. *Archives of Pharmacal Research*, **30**(11), 1387-1391.
75. Tung, N. H., Van Minh, C., Van Kiem, P., Huong, H. T., Nam, N. H., Cuong, N. X., Quang, T. H., Nhiem, N. X., Huyn, J. H., Kang, H. K., and Kim, Y. H., 2010. Chemical components from the Vietnamese soft coral *Lobophytum* sp. *Archives of Pharmacal Research*, **33**(4), 503-508.
76. Quang, T. H., Ha, T. T., Van Minh, C., Van Kiem, P., Huong, H. T., Ngan, N. T. T., Nhiem, N. X., Tung, N. H., Thao, N. P., Thuy, D. T. T., Song, S. B., Boo, H. J., Kang, H. K., and Kim, Y. H., 2011. Cytotoxic and PPARs transcriptional activities of sterols from the Vietnamese soft coral *Lobophytum laevigatum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **21**(10), 2845-2849.
77. Quang, T. H., Ha, T. T., Van Minh, C., Van Kiem, P., Huong, H. T., Ngan, N. T. T., Nhiem, N. X., Tung, N. H., Tai, B. H., Thuy, D. T. T., Song, S. B., Kang, H. K., and Kim, Y. H., 2011. Cytotoxic and anti-inflammatory cembranoids from the Vietnamese soft coral *Lobophytum laevigatum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **19**(8), 2625-2632.
78. Thao, N. P., Luyen, B. T. T., Sun, Y. N., Song, S. B., Van Thanh, N., Cuong, N. X., Nam, N. H., Van Kiem, P., Kim, Y. H., and Van Minh, C., 2014. NF- κ B inhibitory activity of polyoxygenated steroids from the Vietnamese soft coral *Sarcophyton pauciplicatum*. *Bioorganic and Medicinal chemistry letters*, **24**(13), 2834-2838.
79. Thao, N. P., Luyen, B. T. T., Ngan, N. T. T., Song, S. B., Cuong, N. X., Nam, N. H., Van Kiem, P., Kim, Y. H., and Van Minh, C., 2014. New anti-inflammatory cembranoid diterpenoids from the Vietnamese soft coral *Lobophytum crassum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **24**(1), 228-232.

80. Thao, N. P., Nam, N. H., Cuong, N. X., Quang, T. H., Tung, P. T., Dat, L. D., Chae, D., Kim, S., Koh, Y. S., Van Kiem, P., Van Minh, C., and Kim, Y. H., 2013. Anti-inflammatory norditerpenoids from the soft coral *Sinularia maxima*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **23**(1), 228-231.
81. Tung, N. H., Van Minh, C., Ha, T. T., Van Kiem, P., Huong, H. T., Dat, N. T., Nhiem, N. X., Tai, B. H., Huyn, J. H., Kang, H. K., and Kim, Y. H., 2009. C 29 sterols with a cyclopropane ring at C-25 and 26 from the Vietnamese marine sponge *Ianthella* sp. and their anticancer properties. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **19**(16), 4584-4588.
82. Utkina, N. K., and Denisenko, V. A., 2011. Sesquiterpene quinones from a Vietnam sea sponge *Spongia* sp. *Chemistry of Natural Compounds*, **47**(1), 135-137.
83. Mallowney, M. W., Ó hAinmhire, E., Tanouye, U., Burdette, J. E., Pham, V. C., and Murphy, B. T., 2015. A Pimarane Diterpene and Cytotoxic Angucyclines from a Marine-Derived *Micromonospora* sp. in Vietnam's East Sea. *Marine Drugs*, **13**(9), 5815-5827.
84. Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H., and Prinsep, M. R., 2016. Marine natural products. *Natural Product Reports*, **33**(3), 382-431.
85. Cragg, G. M., and Newman, D. J., 2013. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **1830**(6), 3670-3695.
86. Basilio, A., Gonzalez, I., Vicente, M. F., Gorrochategui, J., Cabello, A., Gonzalez, A., and Genilloud, O., 2003. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology*, **95**(4), 814-823.
87. Watve, M. G., Tickoo, R., Jog, M. M., and Bhole, B. D., 2001. How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?. *Archives of Microbiology*, **176**(5), 386-390.
88. Gomes, N. G., Lefranc, F., Kijjoo, A., and Kiss, R., 2015. Can some marine-derived fungal metabolites become actual anticancer agents?. *Marine Drugs*, **13**(6), 3950-3991.

MARINE MICROBES: SOURCES OF NATURAL BIOACTIVE COMPOUNDS FOR APPLICATION IN PHARMACEUTICAL RESEARCH

Pham Thi Mien, Dao Viet Ha

Institute of Oceanography, VAST

ABSTRACT: Marine microbiology is currently the topic that scientists worldwide are interested in with the aim of searching for bioactive substances. In addition to the inherent microorganisms in marine sediments, other marine lives - associated microorganisms have recently been more invested and important achievements of pharmaceutical research applications have been gained in the last few decades. In this article, we review the milestones in the process of looking for “drugs from the sea” and focus on remarkable results in marine microbes associated with invertebrate and their potential application in drug investigation from the latest published papers in prestigious international journals.

Keywords: Marine microbes, natural bioactive compounds, application in pharmaceutical research.