

## Bài báo nghiên cứu

**ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG TĂNG SINH CỦA TẾ BÀO CCL-13  
SAU CẢM ỨNG VI TRỌNG LỰC MÔ PHÒNG****Hoàng Nghĩa Quang Huy, Lê Thành Long, Hoàng Nghĩa Sơn, Hồ Nguyễn Quỳnh Chi\***

Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: Hồ Nguyễn Quỳnh Chi – Email: [quynhchihonguyen@gmail.com](mailto:quynhchihonguyen@gmail.com)

Ngày nhận bài: 18-5-2024; ngày nhận bài sửa: 04-7-2024; ngày duyệt đăng: 20-8-2024

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng tăng sinh của tế bào gan Chang (CCL-13) sau cảm ứng vi trọng lực mô phỏng (Simulated microgravity-SMG) thông qua việc đánh giá số lượng tế bào, sức sống và sự biểu hiện của các gene liên quan đến chu kỳ tế bào. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tế bào ở nhóm SMG có khả năng tăng sinh thấp hơn so với nhóm đối chứng, ngoài ra giá trị OD trong thử nghiệm WST-1 của nhóm SMG cũng thấp hơn so với nhóm đối chứng. Điều kiện SMG cảm ứng sự suy giảm của giá trị cường độ nhân. Sự biểu hiện ở mức phiên mã của một số gene liên quan đến chu kỳ tế bào như *cdk4*, *cdk6*, *cyclin A* và *cyclin D* giảm trong tế bào ở nhóm SMG so với nhóm đối chứng.

**Từ khóa:** tế bào gan; vi trọng lực; khả năng tăng sinh; chu kỳ tế bào

**1. Giới thiệu**

Cơ thể sống luôn chịu tác động dai dẳng của trọng lực, sự thay đổi từ điều kiện trọng lực của Trái Đất sang trạng thái vi trọng lực sẽ gây những ảnh hưởng tới hoạt động sống của cơ thể sinh vật, nó tác động trực tiếp lên nhiều hệ cơ quan khác nhau của cơ thể như hệ thần kinh, hệ thống miễn dịch, xương, da và gan (Crucian et al., 2014; Morey-Holton, 2003; White et al., 2016; Zong et al., 2022). Trong đó, gan là một cơ quan rất quan trọng của các quá trình trao đổi chất thiết yếu, nó hoạt động tương tác với hầu hết mọi mô trong cơ thể con người, tuy nhiên đây cũng là một cơ quan rất nhạy cảm. Tế bào gan chiếm khoảng 80% thể tích gan (Rui, 2014) và mô hình tế bào gan thường được sử dụng là tế bào gan Chang, có chức năng tương tự như tế bào gan bình thường (Yang et al., 2013). Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng gan của loài gặm nhấm rất nhạy cảm với các điều kiện trọng lực trong chuyến bay vũ trụ và thậm chí là ở các thí nghiệm trên mặt đất được thực hiện thông qua các thiết bị mô phỏng (B. Chen et al., 2018; Zong et al., 2022).

Sự tăng sinh của tế bào là một hoạt động quan trọng, đóng vai trò thiết yếu trong sự phát triển của tế bào và toàn bộ cơ thể. Nhiều nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, điều

**Cite this article as:** Hoàng Nghĩa Quang Huy, Lê Thành Long, Hoàng Nghĩa Sơn, & Hồ Nguyễn Quỳnh Chi (2024). The effects of microgravity on CCL-13 cell proliferation. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 21(8), 1531-1540.

kiện vi trọng lực gây ra ảnh hưởng xấu tới sự tăng sinh của tế bào theo nhiều cách khác nhau, tùy thuộc vào loại tế bào và hệ thống mô phỏng điều kiện vi trọng lực. Một nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, điều kiện vi trọng lực mô phỏng có thể gây tổn thương ti thể, làm giảm lượng DNA trong ti thể, qua đó làm giảm khả năng tăng sinh của tế bào (Nguyen et al., 2021). Một nghiên cứu khác trên tế bào gốc trung mô đã cho thấy điều kiện vi trọng lực đã làm giảm khả năng tăng sinh của tế bào, thông qua quá trình tế bào bị lão hóa và gia tăng lượng tế bào đi vào quá trình chết theo chương trình (Pala et al., 2023). Thậm chí, sự ức chế khả năng tăng sinh này còn xuất hiện ở các tế bào khối u ác tính, khi nghiên cứu tế bào khối u BL6-10 dưới điều kiện vi trọng lực mô phỏng (Tan et al., 2018). Ngoài ra, một báo cáo trước đây của nhóm nghiên cứu cũng đã chỉ ra sự giảm khả năng tăng sinh ở tế bào CCL-13 dưới tác động của vi trọng lực mô phỏng, thông qua sự điều chỉnh giảm biểu hiện của các gene liên quan đến chu kỳ tế bào (Ho et al., 2021). Tuy nhiên, khả năng phục hồi của tế bào sau khi chịu tác động của điều kiện vi trọng lực vẫn chưa được làm rõ. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sự phục hồi khả năng tăng sinh của tế bào CCL-13 sau khi trải qua quá trình cảm ứng vi trọng lực mô phỏng.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nuôi cấy tế bào và cảm ứng SMG

Tế bào CCL-13 được nuôi cấy bằng môi trường DMEM F-12/Ham (DMEM-12-A, Capricorn Scientific, Đức) được bổ sung 10% FBS (FBS-HI-22B, Capricorn Scientific, Đức) và 1% Pen/Strep (15140-122, Gibco, United States). Trong thí nghiệm này, tế bào được nuôi cấy trong bình nuôi T-25 và đĩa nuôi 96 giếng với mật độ khác nhau, tùy theo mục đích đánh giá của từng thí nghiệm.

Đầu tiên môi trường nuôi cấy được đổ đầy nhẹ nhàng vào bình T-25 (160430, Thermo Scientific, Hoa Kỳ) và đĩa 96 giếng (161093, Thermo Scientific, Hoa Kỳ) vô trùng để tránh tạo bọt khí. Các bình T-25 và đĩa 96 giếng được cố định trên máy vi trọng lực mô phỏng Gravity Controller Gravite® (AS ONE INTERNATIONAL, INC., Santa Clara, CA, United States) và đặt trong tủ ấm CO<sub>2</sub> (MCO-18AIC, Sanyo Electric Co., Japan) ở điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Các tế bào CCL-13 thuộc nhóm SMG sẽ được nuôi cấy ở điều kiện vi trọng lực (10<sup>-3</sup> G) được tạo ra bởi hệ thống Gravity Controller Gravite và nhóm Đối chứng sẽ được nuôi cấy ở điều kiện trọng lực bình thường (1G). Thử nghiệm vi trọng lực sẽ được tiến hành trong vòng 72 giờ.

Sau khi thử nghiệm vi trọng lực kết thúc, các bình và đĩa nuôi của nhóm SMG sẽ được tháo rời khỏi máy mô phỏng vi trọng lực. Cả hai nhóm thí nghiệm sau đó sẽ được tiếp tục nuôi cấy ở điều kiện trọng lực 1G trong 72 giờ tiếp theo và đánh giá khả năng tăng sinh của tế bào CCL-13 tại thời điểm này.

### 2.2. Phân tích mật độ tế bào và đánh giá cường độ nhân

Thí nghiệm này được tiến hành trên đĩa nuôi 96 giếng. Môi trường nuôi cấy sẽ được lấp đầy vào mỗi giếng với 395 µl dung dịch môi trường nuôi và được cấy với mật độ ban đầu là 1 × 10<sup>2</sup> tế bào/giếng. Đĩa nuôi sẽ được bao phủ bởi parafilm trước khi các tế bào được đưa vào thử nghiệm vi trọng lực mô phỏng. Nhân tế bào được nhuộm bằng Hoechst

33342 (14533, Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) trong 30 phút và sau đó rửa ba lần bằng dung dịch muối đệm phốt phát (PBS) (Gibco, Đức). Sau khi rửa, số lượng tế bào và cường độ nhân của tế bào sẽ được xác định thông qua hệ thống kính hiển vi huỳnh quang Cytell (GE Healthcare, Hoa Kỳ).

**2.3. WST-1 Assay**

Xét nghiệm WST-1 được sử dụng để đánh giá sự tăng sinh tế bào 3T3. Những tế bào này được gieo hạt với mật độ  $1 \times 10^3$  tế bào/giếng trong các đĩa 96 giếng và tạo ra vi trọng lực mô phỏng. Sau thời gian đó, môi trường nuôi cấy cũ trong mỗi giếng được thay thế bằng 100  $\mu$ l môi trường nuôi mới cùng với 10  $\mu$ l dung dịch WST-1 (11644807001, Roche, Thụy Sĩ) và ủ ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub> trong 3,5 giờ. Sau đó, các giếng được tiến hành đo OD bằng GloMax® Explorer Multimode Microplate Reader (Promega, Hoa Kỳ) ở Mật độ quang học 450 (O.D. 450).

**2.4. Realtime qRT-PCR**

Tế bào CCL-13 sau khi được thu hoạch sẽ được rửa hai lần bằng dung dịch PBS. RNA tổng số được chiết xuất bằng cách sử dụng Bộ lọc tinh chế RNA Ribospin™ Total, theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Công nghệ sinh học GeneAll, Seoul, Hàn Quốc). Chất lượng và số lượng của mẫu RNA được đánh giá bằng máy quang phổ (Máy quang phổ NanoVue Plus, GE Healthcare Life Sciences). Các mẫu RNA có tỉ lệ A260/A280 trong khoảng từ 1,8 đến 2,0 được coi sử dụng để tiến hành thử nghiệm Realtime qRT-PCR

Phản ứng Realtime qRT-PCR được chạy bằng máy Real-Time PCR System (Thermo Scientific, Mỹ), sử dụng kit 2x qPCR SyGreen 1-Step Go Hi-ROX kit (PB25.32.03, PCR Biosystem, Anh). Mỗi phản ứng có tổng thể tích là 20  $\mu$ l bao gồm 1  $\mu$ l RNA mẫu, 2  $\mu$ l môi xuôi và ngược, 10  $\mu$ l 2X Mix Hi-ROX, 1  $\mu$ l RTase, và 6  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O. Các gene được đánh giá bao gồm CDK4, CDK6, Cyclin A, Cyclin D và Gene GAPDH được sử dụng để làm đối chứng. Trình tự mỗi của các gene như sau:

**Bảng 1. Trình tự mỗi các gene**

Gene	Trình tự mỗi	Tài liệu tham khảo
<b>CDK4</b>	F: 5'-CCATCAGCACAGTTCGTGAGGT -3' R: 5'-TCAGTTCGGGATGTGGCACAGA-3'	(Ji et al., 2018)
<b>CDK6</b>	F: 5'- TTCCCAGGCAGGCTTTTCAT-3' R: 5'-CTGTATTCAGCTCCGAGGTGTTCT-3'	(Gong et al., 2020)
<b>Cyclin A</b>	F: 5'- TTCATTTAGCACTCTACACAGTCACGG -3' R: 5'- TTGAGGTAGGTCTGGTGGAGGTCC -3'	(Scott et al., 2007)
<b>Cyclin D</b>	F: 5'- TGGAGGTCTGCGAGGAACA -3' R: 5'- TTCATCTTAGAGGCCACGAACAT -3'	(Bahreyni-Toossi et al., 2021)
<b>GAPDH</b>	F: 5'- GAAGGTCGGAGTCAACGGATTT -3' R: 5'- CTGGAAGATGGTGTATGGGATTTTC -3'	(Y. Chen et al., 2013)

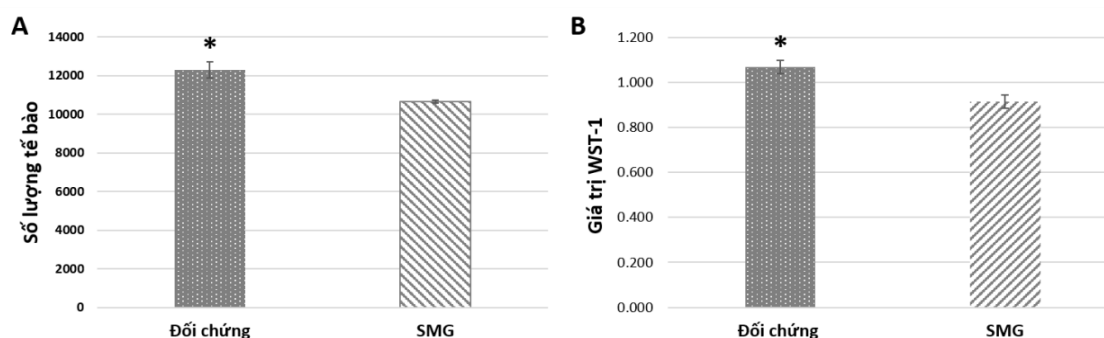
**Bảng 2.** Chu trình nhiệt của phản ứng Realtime qRT-PCR

Phản ứng	Nhiệt độ	Thời gian
Chuyển hóa RNA thành DNA	45°C	10 phút
Tách mạch	95°C	2 phút
40 chu kì	95°C	10 giây
	60°C	15 giây
	62°C	15 giây
71 chu kì	60-95°C	20 giây
Trữ mẫu	4°C	30 phút

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Sức sống của tế bào CCL-13

Trong quá trình nuôi cấy *in vivo*, các tế bào CCL-13 cho thấy sự khác biệt về khả năng tăng sinh sau 72 giờ phục hồi cảm ứng vi trọng lực (Hình 1A). Nhóm SMG đã cho thấy khả năng tăng sinh thấp hơn, khi số lượng tế bào đếm được ở nhóm SMG là  $10662,33 \pm 76,25$  tế bào, trong khi đó lượng tế bào đếm được ở nhóm Đối chứng lại lên tới  $12310,33 \pm 414,87$ . Ngoài ra, sức sống của tế bào còn được đánh giá thông qua giá trị OD của thử nghiệm WST-1. Kết quả của thử nghiệm này cũng phản ánh xu hướng tương tự (Hình 1B), khi giá trị OD đo được ở nhóm SMG ( $0,914 \pm 0,031$ ) là thấp hơn đáng kể so với nhóm Đối chứng ( $1,068 \pm 0,029$ ). Tất cả sự khác biệt này đều có ý nghĩa về mặt thống kê.

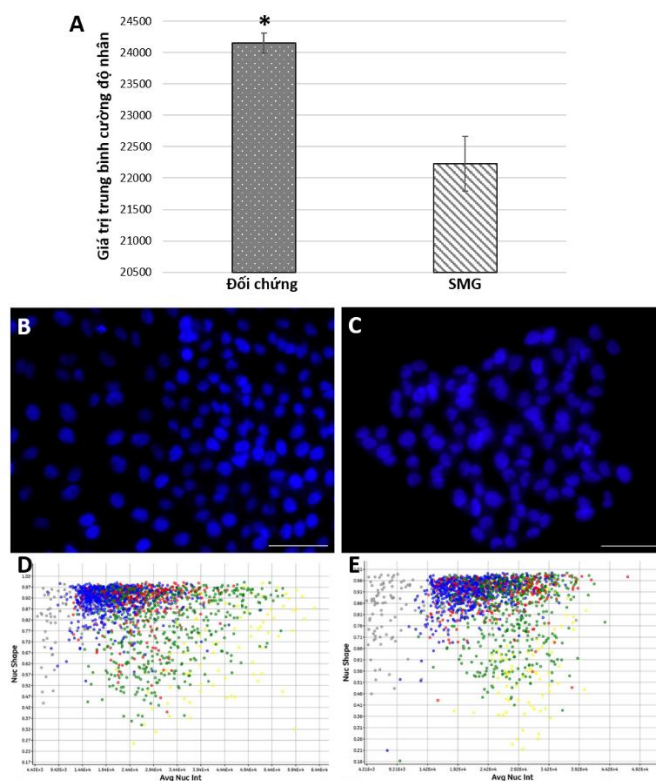


**Hình 1.** Sức sống của tế bào CCL-13. A. Số lượng tế bào; B. Giá trị OD.

Với \* là sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với  $P \leq 0,05$

#### 3.2. Giá trị cường độ nhân

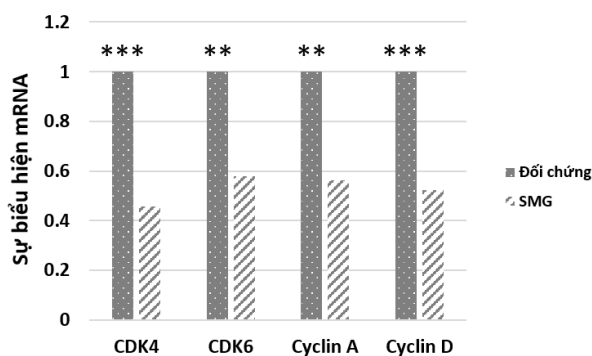
Trong thí nghiệm này, giá trị cường độ nhân của nhóm SMG cho kết quả thấp hơn so với nhóm Đối chứng. Khi giá trị cường độ nhân thu được ở nhóm SMG chỉ đạt  $22224,33 \pm 712,10$ , trong khi đó giá trị này thu được ở nhóm Đối chứng là  $24197,33 \pm 241,89$ . Sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê (Hình 2A). Kết quả hình ảnh chụp nhân tế bào cũng cho thấy những sự khác biệt về cường độ nhân, khi tế bào ở nhóm Đối chứng (Hình 2B) cho hình ảnh nhân sáng hơn rõ rệt so với các tế bào ở nhóm SMG (Hình 2C). Ngoài ra, biểu đồ phân tích cường độ nhân thu được bởi kính hiển vi huỳnh quang Cytell cũng cho thấy, các tế bào thuộc nhóm Đối chứng (Hình 2D) có sự phân bố nhân tại vùng cường độ nhân đạt giá trị cao nhiều hơn so với nhóm SMG (Hình 2E).



**Hình 2.** Giá trị cường độ nhân. A. Giá trị trung bình cường độ nhân; B. Hình ảnh nhân tế bào CCL-13 ở nhóm ĐỐI CHỨNG; C. Hình ảnh nhân tế bào CCL-13 ở nhóm SMG; D. Hình ảnh phân tích cường độ nhân ở nhóm ĐỐI CHỨNG; E. Hình ảnh phân tích cường độ nhân ở nhóm SMG. Với \* là sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với  $P \leq 0,05$

### 3.3. Sự biểu hiện của các gene liên quan đến chu kỳ tế bào

Phân tích Realtime-PCR được sử dụng để đánh giá biểu hiện của các gene liên quan đến chu kỳ tế bào. Kết quả cho thấy biểu hiện của các gene CDK4, CDK6, Cyclin A và Cyclin D ở nhóm SMG cho kết quả thấp hơn rõ rệt so với nhóm ĐỐI CHỨNG (Hình 3).



**Hình 3.** Mức độ biểu hiện gene giữa nhóm ĐỐI CHỨNG và nhóm SMG. Với \*\* là sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với  $0,001 \leq P \leq 0,01$ ; \*\*\* là sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với  $P < 0,001$

### 3.4. Thảo luận

Trong nghiên cứu này, số lượng tế bào thuộc nhóm SMG sau 72 giờ phục hồi có biểu hiện thấp hơn so với nhóm Đối chứng. Ngoài ra, khả năng tăng sinh còn được đánh giá qua sức sống của tế bào. Kết quả OD cho thấy, nhóm thí nghiệm SMG cho kết quả thấp hơn so với nhóm Đối chứng. Sự giảm khả năng tăng sinh này cũng đã từng được ghi nhận ở nhiều nghiên cứu trước đây (Ho et al., 2021; Pala et al., 2023; Tan et al., 2018). Một nghiên cứu gần đây của H. Touchstone và cộng sự (năm 2019) trên tế bào gốc trung mô đã chỉ ra rằng, điều kiện vi trọng lực mô phỏng làm giảm sự tăng sinh tế bào, đồng thời làm tổn hại đến cấu trúc của tế bào (Touchstone et al., 2019). Một nghiên cứu khác trên tế bào gốc trung mô đã chỉ ra rằng sự ức chế tăng sinh này đến từ những sự thay đổi trong chu kỳ tế bào, cụ thể ở nghiên cứu này là việc giảm lượng tế bào đi vào pha G2/M trong điều kiện vi trọng lực (Yan et al., 2015). Ngoài ra, nguyên nhân của tình trạng này còn đến từ việc điều kiện vi trọng lực mô phỏng gây ra sự kích thích các gen biểu hiện của quá trình apoptosis, làm cho con đường apoptosis xảy ra, qua đó làm giảm lượng tế bào đi vào quá trình phân bào (Kang et al., 2011; Tang et al., 2019)

Kết quả đo cường độ nhân và hình ảnh chụp nhân tế bào trong nghiên cứu này cũng đã cho thấy sự giảm biểu hiện ở nhóm thí nghiệm SMG. Người ta đã chỉ ra rằng, khi cường độ nhân tế bào gia tăng cũng chính là lúc quá trình ngưng tụ nhiễm sắc xảy ra mạnh mẽ, đây là điều kiện quan trọng để quá trình nguyên phân có thể xảy ra (Kang et al., 2011). Việc giảm cường độ nhân ở nhóm thí nghiệm SMG cũng phản ánh được sự giảm khả năng sinh trong quần thể tế bào ở nhóm thí nghiệm này. Kết quả này cũng tương tự như kết quả của Minh Thi Tran và cộng sự (năm 2023), khi nghiên cứu tế bào Chang ở điều kiện vi trọng lực mô phỏng (Tran et al., 2023).

Sự tăng sinh tế bào còn đòi hỏi bởi khả năng phân chia tế bào, được kiểm soát bởi các chất điều chỉnh chu kỳ tế bào như Cyclin và Cdks (Sherr & Roberts, 2004). Trong chu kỳ tế bào, CDK4 và CDK6 liên kết với Cyclin D giúp thúc đẩy sự phát triển của chu kỳ tế bào đi từ pha G0/G1 đến pha S (Morgan, 1997; Sherr & Roberts, 2004), ngoài ra một trong những vai trò quan trọng của CDK4/CDK6 là phosphoryl hóa protein Rb giải phóng nhân tổ phiên mã E2F, tạo điều kiện cho quá trình sao chép DNA diễn ra (Bertoli et al., 2013; Dick & Rubin, 2013; Poehlmann et al., 2013). Quá trình phosphoryl hóa và ức chế protein Rb được tạo ra bởi sự kích thích của cyclin D đã góp phần thúc đẩy sự phát triển chu kỳ tế bào (Burkhart & Sage, 2008). Cyclins A1 và A2 được biết là đóng vai trò quan trọng trong pha S và chuyển tiếp G2/M (Arsic et al., 2012; Loukil, 2015). Trong pha S, cyclin A2 chủ yếu nằm trong nhân, nơi nó điều chỉnh sự khởi đầu và tiến triển của quá trình tổng hợp DNA (Pagano et al., 1992). Nồng độ Cyclin A được chỉ ra rằng sẽ tăng cao khi pha S bắt đầu diễn ra (Chibazakura et al., 2011). Trong nghiên cứu này, các gene CDK4, CDK6, Cyclin A và Cyclin D đều cho kết quả giảm biểu hiện ở nhóm SMG. Sự giảm biểu hiện

của gene tham gia vào chu kì tế bào này, sẽ gây ảnh hưởng trực tiếp tới số lượng tế bào tham gia vào các pha phân chia, từ đó làm giảm khả năng tăng sinh của tế bào.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu hiện tại đã chỉ ra rằng, quá trình vi trọng lực mô phỏng ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tăng sinh của tế bào. Tại mốc thời gian 72 giờ sau cảm ứng vi trọng lực mô phỏng, biểu hiện của sự phục hồi khả năng tăng sinh ở tế bào CCL-13 vẫn chưa được nhận thấy rõ rệt. Khi kết quả nghiên cứu cho thấy số lượng tế bào ở cả hai nhóm thí nghiệm vẫn có sự chênh lệch lớn, đặc biệt là giá trị cường độ nhân và mức độ biểu hiện các gene liên quan đến chu kì tế bào ở nhóm SMG vẫn thấp hơn đáng kể so với nhóm Đối chứng. Điều này thể hiện các tế bào ở nhóm SMG vẫn chưa đạt được mức độ ổn định như những tế bào ở nhóm Đối chứng. Ảnh hưởng của vi trọng lực lên tế bào là một hướng nghiên cứu mới tại Việt Nam và chúng tôi là một trong những nhóm đầu tiên tiếp cận nghiên cứu này. Kết quả nghiên cứu không chỉ giúp chúng ta tìm hiểu về những thay đổi sinh lý của tế bào sinh vật sống thông qua việc tìm hiểu ảnh hưởng của vi trọng lực lên sự tăng sinh và cấu trúc tế bào, chúng tôi còn muốn mở rộng nghiên cứu ứng dụng vi trọng lực trong việc sản xuất một số sản phẩm sinh học có nguồn gốc từ tế bào và sinh vật sống trong tương lai.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arsic, N., Bendris, N., Peter, M., Begon-Pescia, C., Rebouissou, C., Gadéa, G., Bouquier, N., Bibeau, F., Lemmers, B., & Blanchard, J. M. (2012). A novel function for Cyclin A2: Control of cell invasion via RhoA signaling. *Journal of Cell Biology*, 196(1), 147-162. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102085>
- Bahreyni-Toossi, M.-T., Azimian, H., Aghaee-Bakhtiari, S. H., Mahmoudi, M., Sadat- Darbandi, M., & Zafari, N. (2021). Radiation-induced DNA damage and altered expression of p21, cyclin D1 and Mre11 genes in human fibroblast cell lines with different radiosensitivity. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 823, 111760. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2021.111760>
- Bertoli, C., Skotheim, J. M., & De Bruin, R. A. M. (2013). Control of cell cycle transcription during G1 and S phases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14(8), 518-528. <https://doi.org/10.1038/nrm3629>
- Burkhardt, D. L., & Sage, J. (2008). Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nature Reviews Cancer*, 8(9), 671-682. <https://doi.org/10.1038/nrc2399>

- Chen, B., Guo, J., Wang, S., Kang, L., Deng, Y., & Li, Y. (2018). Simulated Microgravity Altered the Metabolism of Loureirin B and the Expression of Major Cytochrome P450 in Liver of Rats. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1130. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01130>
- Chen, Y., Liu, J., Yuan, B., Cao, C., Qin, S., Cao, X., Bian, G., Wang, Z., & Jiang, J. (2013). Methylated actinomycin D, a novel actinomycin D analog induces apoptosis in HepG2 cells through Fas- and mitochondria-mediated pathways. *Molecular Carcinogenesis*, 52(12), 983-996. <https://doi.org/10.1002/mc.21943>
- Chibazakura, T., Kamachi, K., Ohara, M., Tane, S., Yoshikawa, H., & Roberts, J. M. (2011). Cyclin A Promotes S-Phase Entry via Interaction with the Replication Licensing Factor Mcm7. *Molecular and Cellular Biology*, 31(2), 248-255. <https://doi.org/10.1128/MCB.00630-10>
- Crucian, B., Simpson, R. J., Mehta, S., Stowe, R., Chouker, A., Hwang, S.-A., Actor, J. K., Salam, A. P., Pierson, D., & Sams, C. (2014). Terrestrial stress analogs for spaceflight associated immune system dysregulation. *Brain, Behavior, and Immunity*, 39, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.01.011>
- Dick, F. A., & Rubin, S. M. (2013). Molecular mechanisms underlying RB protein function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14(5), 297-306. <https://doi.org/10.1038/nrm3567>
- Gong, W., Wang, L., Zheng, Z., Chen, W., Du, P., & Zhao, H. (2020). Cyclin-dependent kinase 6 (CDK6) is a candidate diagnostic biomarker for early non-small cell lung cancer. *Translational Cancer Research*, 9(1), 95-103. <https://doi.org/10.21037/tcr.2019.11.21>
- Ho, C. N. Q., Tran, M. T., Doan, C. C., Hoang, S. N., Tran, D. H., & Le, L. T. (2021). Simulated Microgravity Inhibits the Proliferation of Chang Liver Cells by Attenuation of the Major Cell Cycle Regulators and Cytoskeletal Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4550. <https://doi.org/10.3390/ijms22094550>
- Ji, X., Humenik, J., Yang, D., & Liebhaber, S. A. (2018). PolyC-binding proteins enhance expression of the CDK2 cell cycle regulatory protein via alternative splicing. *Nucleic Acids Research*, 46(4), 2030-2044. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1255>
- Kang, C.-Y., Zou, L., Yuan, M., Wang, Y., Li, T.-Z., Zhang, Y., Wang, J.-F., Li, Y., Deng, X.-W., & Liu, C.-T. (2011). Impact of simulated microgravity on microvascular endothelial cell apoptosis. *European Journal of Applied Physiology*, 111(9), 2131-2138. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-1844-0>
- Loukil, A. (2015). Cyclin A2: At the crossroads of cell cycle and cell invasion. *World Journal of Biological Chemistry*, 6(4), 346. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v6.i4.346>
- Morey-Holton, E. R. (2003). The impact of gravity on life. In *Evolution on planet Earth* (pp. 143-159). Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780125986557500367>
- Morgan, D. O. (1997). CYCLIN-DEPENDENT KINASES: Engines, Clocks, and Microprocessors. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 13(1), 261-291. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.13.1.261>
- Nguyen, H. P., Tran, P. H., Kim, K.-S., & Yang, S.-G. (2021). The effects of real and simulated microgravity on cellular mitochondrial function. *Npj Microgravity*, 7(1), 44. <https://doi.org/10.1038/s41526-021-00171-7>



- Pagano, M., Pepperkok, R., Verde, F., Ansorge, W., & Draetta, G. (1992). Cyclin A is required at two points in the human cell cycle. *The EMBO Journal*, *11*(3), 961–971. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1992.tb05135.x>
- Pala, R., Cruciani, S., Manca, A., Garroni, G., El Faqir, M. A., Lentini, V., Capobianco, G., Pantaleo, A., & Maioli, M. (2023). Mesenchymal Stem Cell Behavior under Microgravity: From Stress Response to a Premature Senescence. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(9), 7753. <https://doi.org/10.3390/ijms24097753>
- Poehlmann, A., Reissig, K., Schönfeld, P., Walluscheck, D., Schinlauer, A., Hartig, R., Lessel, W., Guenther, T., Silver, A., & Roessner, A. (2013). Repeated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exposure drives cell cycle progression in an *in vitro* model of ulcerative colitis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *17*(12), 1619-1631. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12150>
- Rui, L. (2014). Energy Metabolism in the Liver. In R. Terjung (Ed.), *Comprehensive Physiology* (1st ed., pp. 177-197). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>
- Scott, K. D., Nath-Sain, S., Agnew, M. D., & Marignani, P. A. (2007). LKB1 Catalytically Deficient Mutants Enhance Cyclin D1 Expression. *Cancer Research*, *67*(12), 5622-5627. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-0762>
- Sherr, C. J., & Roberts, J. M. (2004). Living with or without cyclins and cyclin-dependent kinases. *Genes & Development*, *18*(22), 2699–2711. <https://doi.org/10.1101/gad.1256504>
- Tan, X., Xu, A., Zhao, T., Zhao, Q., Zhang, J., Fan, C., Deng, Y., Freywald, A., Genth, H., & Xiang, J. (2018). Simulated microgravity inhibits cell focal adhesions leading to reduced melanoma cell proliferation and metastasis via FAK/RhoA-regulated mTORC1 and AMPK pathways. *Scientific Reports*, *8*(1), 3769. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20459-1>
- Tang, N., Hui, T., Ma, J., & Mei, Q. (2019). Effects of miR-503-5p on apoptosis of human pulmonary microvascular endothelial cells in simulated microgravity. *Journal of Cellular Biochemistry*, *120*(1), 727-737. <https://doi.org/10.1002/jcb.27430>
- Touchstone, H., Bryd, R., Loiate, S., Thompson, M., Kim, S., Puranam, K., Senthilnathan, A. N., Pu, X., Beard, R., Rubin, J., Alwood, J., Oxford, J. T., & Uzer, G. (2019). Recovery of stem cell proliferation by low intensity vibration under simulated microgravity requires LINC complex. *Npj Microgravity*, *5*(1), 11. <https://doi.org/10.1038/s41526-019-0072-5>
- Tran, M. T., Doan, C. C., Hoang, S. N., Ly, C. N., Nguyen, M. T. P., To, Q. M., Truong, N. H., Ho, C. N. Q., & Le, L. T. (2023). Changes in the Cell Division of Chang Liver Cells Induced by Simulated Microgravity. *Applied Sciences*, *13*(13), 7351. <https://doi.org/10.3390/app13137351>
- White, O., Clément, G., Fortrat, J.-O., Pavy-LeTraon, A., Thonnard, J.-L., Blanc, S., Wuyts, F. L., & Paloski, W. H. (2016). Towards human exploration of space: The THESEUS review series on neurophysiology research priorities. *Npj Microgravity*, *2*(1), 16023. <https://doi.org/10.1038/npjmgrav.2016.23>
- Yan, M., Wang, Y., Yang, M., Liu, Y., Qu, B., Ye, Z., Liang, W., Sun, X., & Luo, Z. (2015). The effects and mechanisms of clinorotation on proliferation and differentiation in bone marrow mesenchymal stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *460*(2), 327–332. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.03.034>

- Yang, T., Li, C., Zhang, L., Li, M., & Zhou, P. (2013). A Promising Hepatocyte-Like Cell Line, CCL-13, Exhibits Good Liver Function Both In Vitro and in an Acute Liver Failure Model. *Transplantation Proceedings*, 45(2), 688-694. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.11.012>
- Zong, B., Wang, Y., Wang, J., Zhang, P., Kan, G., Li, M., Feng, J., Wang, Y., Chen, X., Jin, R., & Ge, Q. (2022). Effects of long-term simulated microgravity on liver metabolism in rhesus macaques. *The FASEB Journal*, 36(10). <https://doi.org/10.1096/fj.202200544RR>

---

### THE EFFECTS OF MICROGRAVITY ON CCL-13 CELL PROLIFERATION

*Hoàng Nghĩa Quang Huy, Lê Thanh Long, Hoàng Nghĩa Sơn, Hồ Nguyễn Quỳnh Chi\**

*Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam*

*\*Corresponding author: Hồ Nguyễn Quỳnh Chi –Email: quynhchihonguyen@gmail.com*

*Received: May 18, 2024; Revised: July 04, 2024; Accepted: August 20, 2024*

#### ABSTRACT

*This study aimed to evaluate the proliferation of Chang liver cells (CCL-13) after simulated microgravity (SMG) induction, demonstrated by changes in the cell number, viability and expression of the cell cycle related genes. The results showed that cells in the SMG group exhibited a lower proliferation than the control group, and the OD value in the WST-1 assay of the SMG group was also lower than the control group. The value of nuclear intensity also decreased in the cells exposed to SMG conditions. The expression of *cdk4*, *cdk6*, *cyclin A*, and *cyclin D* was reduced in the SMG group compared to the control group.*

**Keywords:** Chang liver cells; cell cycle; microgravity; proliferation