

## NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG ĐÁNH DẤU TẾ BÀO UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG (HT-29) CỦA TỔ HỢP VẬT LIỆU NANO CHỨA ION ĐẤT HIẾM Tb<sup>3+</sup> VỚI KHÁNG THỂ KHÁNG CD133

Lê Nhật Minh<sup>1</sup>, Võ Trọng Nhân<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Nga<sup>2</sup>, Trần Thu Hương<sup>3,4</sup>, Phùng Thị Kim Huệ<sup>1,5</sup>, Đỗ Thị Thảo<sup>2,3,5,✉</sup>

<sup>1</sup>Trường THPT chuyên Hùng Vương Gia Lai, Pleiku, Gia Lai, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>3</sup>Học Viện Khoa học và công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>4</sup>Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>5</sup>Viện Nghiên cứu Sức khỏe và Phát triển Giáo dục Tây Nguyên, Việt Nam

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: thaodo74@yahoo.com

Ngày nhận bài: 24.8.2019

Ngày nhận đăng: 27.9.2019

### TÓM TẮT

Công nghệ nano là một công nghệ chủ chốt mang lại nhiều ứng dụng quan trọng trong nghiên cứu y sinh. Các lanthanit kích thước nano có độ ổn định cao, dễ chế tạo và hoạt hóa bề mặt, trong đó có vật liệu nano chứa ion Tb<sup>3+</sup> có triển vọng lớn. Bên cạnh đó, tế bào gốc ung thư (CSCs) liên quan trực tiếp đến sự kháng thuốc, di căn, ung thư tái phát... Vì thế, CSCs được xem là đích hướng tới cho việc nghiên cứu, tìm kiếm các liệu pháp điều trị ung thư hiệu quả hơn. Phân tử glycoprotein xuyên màng tế bào - CD133, là một trong những dấu ấn phân tử (marker) thường xuất hiện trên bề mặt CSCs. Trong nghiên cứu này, kháng thể kháng đặc hiệu CD133 được tổ hợp với vật liệu nano chứa ion đất hiếm Tb<sup>3+</sup> và ủ với dòng tế bào ung thư đại trực tràng người (HT-29) nhằm đánh giá khả năng đánh dấu CSCs và khả năng phát quang của vật liệu nano chứa ion Tb<sup>3+</sup> trong điều kiện *in vitro*. Kết quả cho thấy các thanh nano chứa ion đất hiếm Tb<sup>3+</sup> được chế tạo bằng phương pháp thủy nhiệt có độ dài khoảng 300 - 800 nm, đường kính khoảng 40 - 50 nm, có cấu trúc dạng hexagonal của terbium phosphate monohydrate, phát quang vùng màu xanh. Các thanh vật liệu nano Tb<sup>3+</sup>TbPO<sub>4</sub>@Silica-NH<sub>2</sub> cũng cho thấy đã được bọc và liên hợp hóa bề mặt vật liệu bằng silica, hoạt hóa bằng amino-silane. Tổ hợp này được cộng hợp thành công với kháng thể đơn dòng kháng CD133. Kết quả là tổ hợp CD133+TbPO<sub>4</sub>@Silica-NH<sub>2</sub> cho thấy có khả năng đánh dấu tế bào ung thư HT-29 và phát quang mạnh khi quan sát bằng kính hiển vi huỳnh quang.

**Từ khóa:** CD133, tế bào ung thư gốc ung thư (CSCs), ung thư đại trực tràng, HT-29, nano đất hiếm, TbPO<sub>4</sub>, TbPO<sub>4</sub>@Silica-NH<sub>2</sub>

### MỞ ĐẦU

Do tác động của môi trường và điều kiện sống, tỷ lệ mắc bệnh ung thư ngày một tăng. Năm 2018, tại Việt Nam, có gần 165.000 ca ung thư mới. Khối u ung thư thường là tập hợp không đồng nhất các tế bào, có sự khác nhau về đặc điểm sinh học và khả năng tự làm mới (Reya *et al.*, 2001). Các nhà khoa học gần đây đã nhận thấy trong khối u *in vivo* cũng như ở trong quần thể tế bào thuộc các dòng tế bào ung thư có chứa một tập hợp nhỏ được gọi là các tế bào gốc ung thư (CSCs) (Singh *et al.*, 2003; Kondo, 2007) liên quan đến kháng thuốc, di căn, ung thư tái phát và ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả điều trị ung thư (Gil *et al.*, 2008). Các con đường tín hiệu Noct và Wnt tham

gia vào việc tự làm mới của CSCs có liên quan đến tính kháng thuốc. Nhiều báo cáo cũng đã ghi nhận sự biểu hiện phổ biến của các dấu ấn (marker) bề mặt như CD133, CD44, CD24 v.v. ở CSCs (Charafe-Jauffret *et al.*, 2009). Chính vì vậy, CSCs hiện được xem là đối tượng để nghiên cứu và tìm kiếm phương pháp điều trị mới, hiệu quả hơn cho căn bệnh ung thư.

Đất hiếm là một loại khoáng sản đặc biệt, ứng dụng trong nhiều lĩnh vực công nghệ kỹ thuật cao có mặt ở nhiều nước tiên tiến trên thế giới (Xiong *et al.*, 2009). Vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm đã được tập trung nghiên cứu y sinh học. Đặc biệt, cấu trúc nano một chiều của các hợp chất chứa ion Tb<sup>3+</sup> như Tb(OH)<sub>3</sub>, TbPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, là đối tượng rất hấp dẫn

do chúng có khả năng phát quang mạnh ngay trong môi trường nước (Huong *et al.*, 2012). Tuy vậy, đất hiếm vẫn còn ít được nghiên cứu và ứng dụng vào công nghệ y khoa trong hỗ trợ phát hiện, điều trị ung thư.

Từ những năm 90 của thế kỷ trước, kháng thể đơn dòng đã được ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị bệnh ung thư. Kháng thể có thể sử dụng trực tiếp trong điều trị, hoặc có thể được gắn với các độc tố tạo các độc tố miễn dịch (immunotoxin), với các enzyme, hoặc các đồng vị phóng xạ... CD133, còn được biết đến dưới tên prominin-1, một glycoprotein xuyên màng tế bào, là một trong những dấu ấn (marker) được nhận thấy xuất hiện rất phổ biến trên bề mặt nhiều loại tế bào ung thư (Li, 2013). Khi tổ hợp xuyên màng, phân tử CD133 có phần biểu hiện ngoại bào là đầu N-terminus, trong khi phần nằm ở nội bào là đầu C-terminus. CD133 xuất hiện ở nhiều CSCs trong các dòng tế bào ung thư nuôi cấy *in vitro*, nhiều loại ung thư và dạng khối u khác nhau (gliomas và carcinomas) với mức độ biểu hiện khác nhau. Vì vậy, hiện nay CD133 được sử dụng như là một kháng nguyên bề mặt đặc trưng để phân lập, phát hiện CSCs (Shackleton, 2010). Việc tổ hợp kháng thể đơn dòng kháng CD133, một marker bề mặt đặc trưng cho tế bào gốc ung thư, với tổ hợp vật liệu nano phát quang từ đất hiếm để đánh dấu tế bào gốc ung thư là một trong những ý tưởng mới nhằm hỗ trợ trong việc phát hiện, điều trị căn bệnh thế kỷ này. Trong nghiên cứu của chúng tôi, khả năng đánh dấu tế bào gốc ung thư từ quần thể tế bào ung thư đại trực tràng người dòng HT-29 từ vật liệu nano đất hiếm TbPO<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub> được tổ hợp với kháng thể đơn dòng kháng CD133 ở mức độ *in vitro* sẽ được nghiên cứu và báo cáo.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu nghiên cứu

Dòng tế bào ung thư đại trực tràng (HT-29) được cung cấp bởi GS. Chi-Ying Huang, Đại học quốc gia Yang-Ming, Đài Loan.

Môi trường DMEM, huyết thanh phôi bò (FBS), kháng sinh (antibiotics-antimycotics), trypsin-EDTA được nhập từ Invitrogen (Carlsbad, CA, USA). Kháng thể Human CD133 monoclonal antibody cộng hợp FITC (FITC-CD133) và kháng thể Human CD133 monoclonal antibody cung cấp bởi Invitrogen (Carlsbad, CA, USA). Các hóa chất khác được cung cấp bởi Sigma Aldrich (St. Louis, MO USA).

### Phương pháp nuôi cấy tế bào

Tế bào HT-29 được nuôi cấy trong môi trường DMEM có thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% huyết thanh phôi bò (fetal bovine serum, FBS). Tế bào được cấy chuyển sau 3 - 5 ngày với tỷ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ẩm ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

### Tổng hợp vật liệu nano TbPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O

Các thanh nano terbium orthophosphate monohydrate TbPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O được chế tạo bằng phương pháp thủy nhiệt. Quy trình thí nghiệm chế tạo như sau: cho Tb(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O, (Sigma, 99,9%) vào dung dịch NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck, 99%). Hỗn hợp này được khuấy từ trong thời gian từ 3 - 12 giờ. pH của dung dịch được điều chỉnh trong khoảng pH = 1 - 12 bằng dung dịch NaOH 10%. Dung dịch thu được chuyển vào bình teflon đựng trong bình thép autoclave và ủ nhiệt ở chế độ 100 - 200°C từ 20 đến 40 giờ. Sản phẩm thu được li tâm và rửa 3 lần bằng dung dịch C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 50%.

Vật liệu thanh TbPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O sau khi tổng hợp được bọc một lớp silica và hoạt hóa bề mặt của các hạt thông qua sự thủy phân của tetraethyl orthosilicate (TEOS) (Aldrich, 99,99%). Để hoạt hóa bề mặt vật liệu bằng cách gắn các nhóm NH<sub>2</sub> chúng tôi dùng dung dịch 3-aminopropyl trimethoxysilane (APTMS) (Aldrich). Thời gian hoạt hóa bề mặt khoảng từ 20 giờ đến 60 giờ. Mẫu thu được mang đi phân tích cấu trúc và tính chất.

### Phương pháp phân tích mẫu

Hình thái học của vật liệu được quan sát trên kính hiển vi điện tử phát trường (FESEM, Hitachi - field emission scanning electron microscopy). Cấu trúc của vật liệu được xác định trên hệ đo nhiễu xạ tia X (Siemens D5000 với  $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ , góc nhiễu xạ trong khoảng  $15^\circ \leq 2\theta \leq 75^\circ$ ). Phổ huỳnh quang của vật liệu được đo trên hệ đo Horiba Jobin Yvon IHR 320 (USA) thuộc Trường Đại học Bách khoa và một số mẫu được đo trên hệ đo Horiba Jobin Yvon IHR 550 (USA).

### Phương pháp tổ hợp kháng thể đơn dòng kháng CD133 với vật liệu nano

Hoạt hóa vật liệu TbPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O-NH<sub>2</sub> + glutaraldehyde (50%) lắc siêu tốc 30 phút. 10  $\mu$ L kháng thể CD133 (clone 13A4, Invitrogen) và 10  $\mu$ L mẫu nano (ở phần trên) được hòa trong 200  $\mu$ L PBS (pH 7,2) và ủ ở 37°C trong 30 phút. Sau khi ủ kháng thể với mẫu nano, hỗn dịch được ly tâm ở 6000 vòng/phút trong thời gian 5 phút ở 4°C, phần

cận thu được tiếp tục được rửa lại bằng PBS sau đó hòa lại trong 30  $\mu\text{L}$  PBS. Mẫu kháng thể được cất ở 4°C trước khi được sử dụng.

### Phương pháp nhuộm tế bào

Tế bào HT-29 được đưa vào các giếng của đĩa 96 giếng với nồng độ 10000 tế bào/giếng và nuôi ổn định trong tủ ấm 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  trong 24 giờ. Sau đó loại bỏ môi trường và cố định tế bào bằng formaldehyde 10% trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Formaldehyde sau đó được loại bỏ và tế bào được rửa lại 3 lần bằng PBS. 10  $\mu\text{L}$  mẫu được hòa trong 190  $\mu\text{L}$  PBS và được đưa vào mỗi giếng tế bào của đĩa thí nghiệm. Tế bào tiếp tục được ủ ở 4°C trong 1 giờ. Lượng mẫu không gắn vào tế bào được loại bỏ và rửa lại bằng PBS thêm 3 lần. Sau đó 100  $\mu\text{L}$  PBS được thêm vào các giếng trước khi tế bào được quan

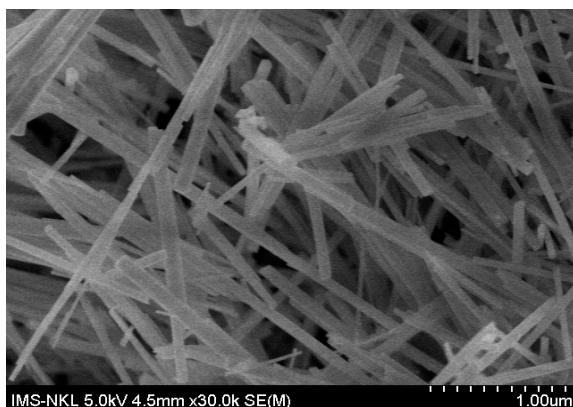
sát ở kính hiển vi huỳnh quang Olympus Scan<sup>R</sup> (Olympus Europa SE & Co.KG, Hamburg, DE).

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### Hình thái và cấu trúc của vật liệu nano $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

##### Hình thái của thanh vật liệu nano $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Hình thái học của các mẫu được quan sát trên kính hiển vi điện tử phát trường. Hình 1 trình bày ảnh FESEM của các mẫu  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  được chế tạo ở các chế độ pH khác nhau pH = 1, 2, 6 được ủ ở nhiệt độ 200°C trong 24 giờ. Qua ảnh FESEM cho thấy vật liệu có dạng thanh với độ dài khoảng 300 - 800 nm, đường kính khoảng 40 - 50 nm.



Hình 1. Ảnh FESEM của các mẫu  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  được ủ ở 200°C trong 24 giờ



Hình 2. Ảnh FESEM của các mẫu  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} @ \text{Silica-NH}_2$

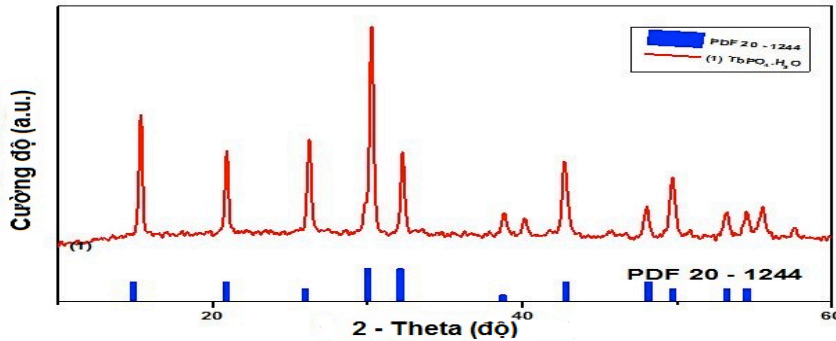
#### Phân tích giản đồ nhiễu xạ tia X của vật liệu nano $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  ủ ở 200°C, 24 giờ được trình bày trên Hình 3. Kết quả phân tích giản đồ nhiễu xạ tia X cho thấy mẫu có các đỉnh nhiễu xạ ở tại các góc  $2\theta$  :14,7; 20,9; 26,1; 29,9; 32,2; 42,7; 49,6° trùng khớp với các đỉnh nhiễu xạ của thẻ chuẩn PDF số 20-1244 chứng tỏ mẫu  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  có cấu trúc pha dạng hexagonal của terbium phosphate monohydrate.

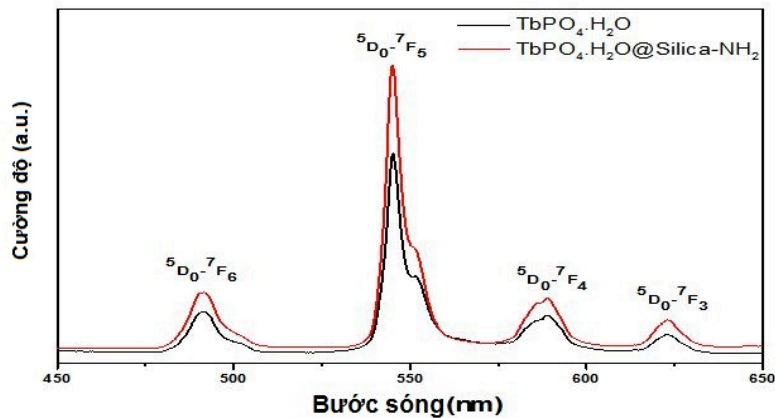
#### Phổ huỳnh quang của vật liệu nano $\text{TbPO}_4$ và $\text{TbPO}_4 @ \text{Silica-NH}_2$

Yêu cầu của vật liệu dùng để ứng dụng trong đánh dấu huỳnh quang y sinh là vật liệu phải phát

quang mạnh sau khi được hoạt hóa bề mặt. Vì vậy, để khẳng định tính phát quang của vật liệu nano  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  chúng tôi tiến hành đo phổ huỳnh quang của mẫu  $\text{TbPO}_4$  và mẫu đã được hoạt hóa bề mặt với các nhóm  $-\text{NH}_2$ :  $\text{TbPO}_4 @ \text{Silica-NH}_2$ . Kết quả ở Hình 4 trình bày phổ huỳnh quang của mẫu  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  tại pH = 2, ủ ở 200°C, 24 giờ và  $\text{TbPO}_4 @ \text{Silica-NH}_2$  được kích thích tại bước sóng 370 nm. Trên kết quả đo phổ huỳnh quang nhận thấy mẫu thu được phát quang mạnh vùng màu xanh ứng với các chuyển dời đặc trưng  ${}^5\text{D}_0-{}^7\text{F}_6$ ,  ${}^5\text{D}_0-{}^7\text{F}_5$ ,  ${}^5\text{D}_0-{}^7\text{F}_4$ ,  ${}^5\text{D}_0-{}^7\text{F}_3$  của ion  $\text{Tb}^{3+}$  và ổn định. Tính chất này làm tiền đề cơ sở khoa học cho việc ứng dụng trong y sinh. Các kết quả này phù hợp với những kết quả chúng tôi thu được trong các nghiên cứu trước đó về loại vật liệu này (Huong *et al.*, 2012).



Hình 3. Giảm đồ nhiễu xạ tia X của mẫu  $TbPO_4 \cdot H_2O$  tại pH = 2, ủ ở 200°C, 24 giờ.



Hình 4. Phổ huỳnh quang của mẫu  $TbPO_4 \cdot H_2O$  tại pH = 2, ủ ở 200°C, 24 giờ và  $TbPO_4 \cdot H_2O @ Silica-NH_2$  được kích thích tại bước sóng 370 nm.

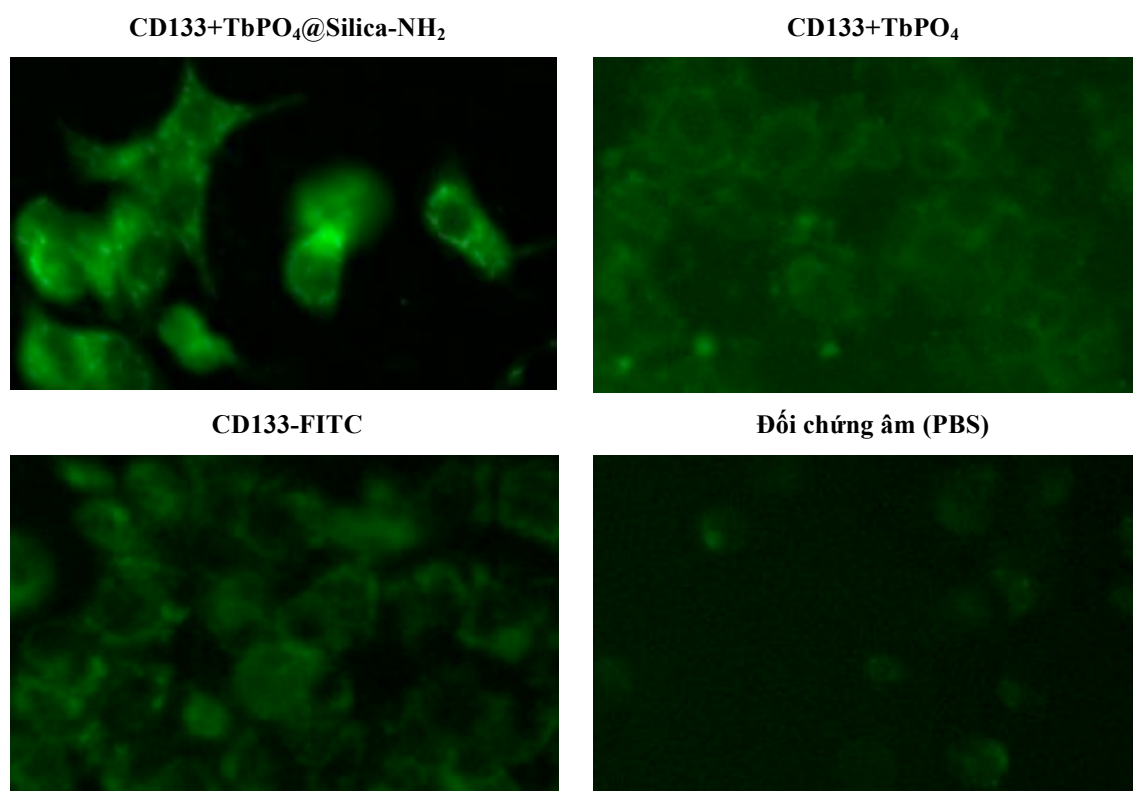
### Đánh giá khả năng đánh dấu tế bào HT-29 của tổ hợp CD133+ $TbPO_4 @ Silica-NH_2$

Với phương pháp tổ hợp vật liệu nano với kháng thể đơn dòng kháng CD133 như đã trình bày ở trên, chúng tôi tiến hành đánh dấu tế bào HT-29 với tổ hợp vật liệu-kháng thể. Kết quả thu được cho thấy tế bào HT-29 khi nhuộm với các tổ hợp kháng thể kháng CD133 đã được phát hiện dưới kính hiển vi huỳnh quang (Hình 5). Đối chứng âm chưa cho thấy hình ảnh tế bào tương ứng. Mẫu đối chứng là kháng thể CD133-FITC có độ phát quang mạnh. Tổ hợp CD133+ $TbPO_4 @ Silica-NH_2$  (đã chức năng hóa bề mặt) cho thấy có sự phát quang mạnh hơn tổ hợp CD133+ $TbPO_4$  (chưa được chức năng hóa bề mặt).

Hiện nay, việc đánh dấu tế bào gốc ung thư rất được quan tâm do tầm quan trọng đặc biệt của CSCs đối với sự di căn, tính kháng thuốc và tái phát ung thư. Việc đánh dấu CSCs còn giúp tìm hiểu cơ chế gây ra những đặc tính quan trọng của CSCs trong các nghiên cứu cơ bản nhằm định hướng cho việc tìm ra phương pháp hiệu quả tiêu diệt chúng để có thể đưa ra giải pháp hiệu quả chữa trị lâm sàng. Đó là báo cáo của Kesh K và Banerjee S (2019) về việc sử dụng  $^{13}C_6$  glucose and  $^{13}C_5$  glutamine để nghiên cứu phân tích dòng vật chất trong quá trình trao đổi chất của CSCs. Tuy nhiên, việc sử dụng các yếu tố phóng xạ để đánh dấu thì nhạy và rất hiệu quả nhưng lại rất độc hại. Như vậy, việc sử dụng vật liệu nano từ  $Tb^{3+}$  tổ hợp kháng thể kháng CD133 cũng có thể là bước tiến đầu tiên để ứng dụng những đặc tính quý của nguyên

tổ đất hiếm này như phát quang mạnh, ít độc hại, thân thiện sinh học vào đánh dấu, phát hiện và điều trị hướng đích đối với tế bào gốc ung thư. Kết quả đánh dấu tế bào HT-29 của tổ hợp CD133+TbPO<sub>4</sub>@Silica-NH<sub>2</sub> thu được ở trên là khả quan và cho thấy tiềm năng

ứng dụng để đánh dấu tế bào ung thư của vật liệu nano chứa đất hiếm. Tuy nhiên, cũng cần đánh giá và tối ưu hóa hiệu suất tổ hợp kháng thể-vật liệu và chế tạo các vật liệu dạng hình cầu Tb<sup>3+</sup> để so sánh với dạng thanh mà chúng tôi đã thu được.



**Hình 5.** Hình ảnh tế bào HT-29 được nhuộm với các mẫu nghiên cứu CD133+TbPO<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>; CD133+TbPO<sub>4</sub>; CD133-FITC trong 1 h và quan sát bằng hệ thống kính hiển vi huỳnh quang Olympus Scan<sup>^</sup>R (độ phóng đại 100X).

## KẾT LUẬN

Vật liệu nano chứa ion đất hiếm Tb<sup>3+</sup> đã được tổng hợp thành công với độ dài khoảng 300 - 800 nm, đường kính khoảng 40 - 50 nm, có cấu trúc dạng hexagonal của terbium phosphate monohydrate, phát quang vùng màu xanh. Các thanh vật liệu nano Tb<sup>3+</sup> cũng cho thấy đã được bọc và liên hợp hóa bề mặt vật liệu bằng silica, hoạt hóa bằng amino-silane. Tổ hợp này được chúng tôi cộng hợp thành công với kháng thể đơn dòng kháng CD133 và thực hiện quá trình ủ, nhận dạng dấu ấn bề mặt của tế bào HT-29. Kết quả là tổ hợp CD133+TbPO<sub>4</sub>@Silica-NH<sub>2</sub> (đã hoạt hóa bề mặt) đã gắn và nhận dạng được tế bào HT-29, đồng thời cho hình ảnh tế bào HT-29 có sự

phát quang mạnh khi quan sát bằng kính hiển vi huỳnh quang.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bao J, Yu R, Zhang J, Yang X, Wang D, Deng J, Chen J, Xing X (2009) Controlled synthesis of terbium orthophosphate spindle-like hierarchical nanostructures with improved photoluminescence. *Eur J Inorg Chem* (16): 2388-92.
- Bonnet D, Dick JE (1997) Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 3(7):730-7.
- Chen K, Huang YH, Chen JL (2013) Understanding and targeting cancer stem cells: therapeutic implications and

- challenges. *Acta Pharmacologica Sinica* 34: 732–740.
- Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Iovino F, Wicinski J, Cervera N, Finetti P, Hur M H, Diebel M E, Monville F, Dutcher J, Brown M (2009) Breast cancer cell lines contain functional cancer stem cells with metastatic capacity and a distinct molecular signature. *Cancer Res* 69(4): 1302-1313
- Clevers H (2011) The cancer stem cell: premises, promises and challenges. *Nature Medicine* 7:313-9.
- Di W, Willinger MG, Ferreira RA, Ren X, Lu S, Pinna N (2008) Citric acid-assisted hydrothermal synthesis of luminescent TbPO<sub>4</sub>: Eu nanocrystals: controlled morphology and tunable emission. *J Phys Chem C* 112(48):18815-20.
- Gil J, Stembalska A, Pesz KA, Szaśiadek MM (2008) Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy. *J. Appl. Genet.* 49(2):193-9.
- Han G, Spitzer M H, Bendall S C, Fantl WJ, & Nolan GP (2018). Metal-isotope-tagged monoclonal antibodies for high-dimensional mass cytometry. *Nat Protoc* doi:10.1038/s41596-018-0016-7.
- Huong TH, Anh TK, Khuyên HT, Tuyên LĐ, Lộc ĐX, Đạt TN, Tú VĐ, Vinh LT, Minh LQ (2012) Nghiên cứu tính chất quang của các thanh nano chứa ion đất hiếm Tb<sup>3+</sup> và Eu<sup>3+</sup> nhằm ứng dụng đánh dấu huỳnh quang y sinh. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 50 (1A): 126-132.
- J Prud'homme G (2012) Cancer stem cells and novel targets for antitumor strategies. *Curr Pharm Des* 18(19):2838-49.
- Kesh K, Banerjee S (2019) Labeling cancer stem cells with <sup>13</sup>C<sub>6</sub> glucose and <sup>13</sup>C<sub>5</sub> glutamine for metabolic flux analysis. *Methods Mol Biol.* 19(96): 207-216.
- Kondo T (2007) Stem cell-like cancer cells in cancer cell lines. *Inflamm. Regen.* 27(5):506-11.
- Li Z (2013) CD133: a stem cell biomarker and beyond. *Exp Hematol Oncol.* 2: 17
- Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 414 (6859):105-111.
- Shackleton M (2010) Normal stem cells and cancer stem cells: similar and different. *Semi. Cancer Biol* 20( 2): 85-92.
- Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB (2003). Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 63(18):5821-5828.
- Vinogradov S and Wei X (2012) Cancer stem cells and drug resistance: the potential of nanomedicine. *Nanomedicine (Lond)* 7(4): 597–615.
- Xiong DB, Zhang ZJ, Gulay LD, Tang MB, Chen HH, Yang XX, Zhao JT (2009) Hydrothermal synthesis, crystal structure and physical properties of a new gadolinium phosphite hydrate. *Inorganica Chimica Acta* 362(9):3013-3018.
- Yang M, You H, Song Y, Huang Y, Jia G, Liu K, Zheng Y, Zhang L, Zhang H (2009) Synthesis and luminescence properties of sheaflike TbPO<sub>4</sub> hierarchical architectures with different phase structures. *J Phys Chem C* 13(47):20173-7.
- Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S (2010) PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed* 99(3), 306-314.
- Zhu H, Yang D, Yang H, Zhu L, Li D, Jin D, Yao K (2008) Reductive hydrothermal synthesis of La(OH)<sub>3</sub>:Tb<sup>3+</sup> nanorods as a new green emitting phosphor. *J. Nanoparticle Res* 10(2): 307-312.

## CONJUGATION OF NANOMATERIALS CONTAINING RARE-EARTH ION Tb<sup>3+</sup> WITH CD133 MONOCLONAL ANTIBODY AND ITS POTENTIALS FOR LABELING COLON CANCER CELLS (HT-29)

Le Nhat Minh<sup>1</sup>, Võ Trong Nhan<sup>1</sup>, Nguyen Thi Nga<sup>2</sup>, Tran Thu Huong<sup>3,4</sup>, Phung Thi Kim Hue<sup>1,5</sup>, Do Thi Thao<sup>2,3,5,✉</sup>

<sup>1</sup>Hung Vuong High School for Gifted Students, Gia Lai, Pleiku, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>3</sup>Institute of Materials Science, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>4</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>5</sup>Institute of Health Research and Educational Development in Central Highlands, Vietnam

### SUMMARY

Nanotechnology is the key technology that brings many important applications in biomedical research. Nanolantanites present high stability, easy fabrication and functionalization. Tb<sup>3+</sup> ion-containing nanomaterial,

a specific type of nanolantanites, possess great prospects. In addition, cancer stem cells (CSCs) are directly related to drug resistance, metastasis, recurrent cancer, etc. Therefore, CSCs are considered as the target for cancer researching and for discovery of more effective therapies. CD133, a trans-membrane glycoprotein, is one of the typical markers that are found to appear very commonly on the surface of many types of CSCs. In this study, CD133 monoclonal antibody (MAb) was conjugated with nanomaterials containing  $Tb^{3+}$ . The coupling between fluorescented nanomaterials containing  $Tb^{3+}$  ions and CD133 MAb was then incubated with human colon cancer cells (HT-29) to evaluate its ability to label CSCs *in vitro*. The results showed that nanorods containing rare-earth based  $Tb^{3+}$  ions which were fabricated by hydrothermal method, present the length of about 300 - 800 nm and the diameter in range of 40 - 50 nm. The  $Tb^{3+}$  nanoparticles also have hexagonal structure of terbium phosphate monohydrate and green illuminant.  $Tb^{3+}$  nanorods were also further surface silica coated and amino-silane functionalized. This nanostructure was successfully combined with monoclonal antibodies against CD133 which labelled the surface marker of HT-29 human colon cancer cells. As a result, the combination of CD133+ $TbPO_4@Silica-NH_2$  (functionalized surface) showed stronger luminescence than the CD133+ $TbPO_4$  unfunctionalized combination.

**Keywords:** CD133, Cancer Stem Cells - CSCs, FESEM, HT-29, nanomaterials,  $TbPO_4$ ,  $TbPO_4@Silica-NH_2$