Archive of SID

جداسازی زهر عروس دریایی *Rhopilema nomadica* ازسواحل خلیج فارس و بررسی اثر لیز کنندگی آن

حسین جعفری [۱]، حسین هنری [۲*]، جمیل زرگان [۳]، سعید تمدنی جهرمی [۴]

۱- دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی، مرکز علم و فناوری زیست شناسی دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران.

۲- دانشیار، مرکز علم و فناوری زیست شناسی دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران.

۳- استادیار، مرکز علم و فناوری زیست شناسی دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران.

۴- استادیار، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان ،بخش ژنتیک، هرمزگان، بندرعباس، ایران.

یافته / دوره بیست و یکم / شماره ۳ / پاییز ۹۸ / مسلسل ۸۱

چکیده

دریافت مقاله: ۹۸/۵/۱ پذیرش مقاله: ۹۸/۶/۱۰

مقدمه: خلیج فارس یکی از مکانهای زیست گونه های مختلف عروس دریایی میباشد. اکثر گونه های عروس دریایی، سمی هستند. زهر عروس دریایی ***Rhopilema nomadica*** (ازگونه های خلیج فارس) ترکیبی پروتئینی و با اثرات نورتوکسین، سیتولیزین و همولیزین می باشد. هدف از این تحقیق جداسازی و بررسی زهر ***R.nomadica*** و مطالعه اثرات همولیتیکی آن روی سلولهای خونی میباشد.

مواد و روش‌ها: ***R.nomadica*** از ناحیه جزر و مدی ساحل شمالی جزیره قشم نمونه برداری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه بندرعباس با روش بهینه شده ای، زهر آن استخراج و با استفاده از ژل کروماتوگرافی سفادکس ***G200*** جداسازی شد. برای بررسی وزن ملکولی ترکیبات آن از ژل الکتروفورز ***SDS-PAGE*** استفاده شد. میزان کشندگی زهر استخراج شده، با تزریق زیر جلدی به موش نژاد سوری بررسی شد و سپس فعالیت لیزکنندگی زهر روی سلولهای قرمز گونه های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: زهر ***R.nomadica*** با روش بهینه شده ای از نماتوسیتها جداسازی شد و پس از تعیین غلظت پروتئین به مقدار ۱/۷ میلی گرم در میلی لیتر و عبور از ستون ژل کروماتوگرافی ، دو پیک بدست آمد. وزنهای ملکولی ۴۵، ۶۵ و ۹۵ کیلودالتون پس از عبور از ژل الکتروفورز ***SDS-PAGE*** مشخص گردید. مقدار کشندگی زهر (***LD50***) تعیین شد. سپس میزان فعالیت لیزکنندگی زهر مورد ارزیابی قرار گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری: وجود ترکیبات فعال در زهر ***R.nomadica*** موجب آسیب به شناگران میشود ، اثر لیزکنندگی زهر به غلظت زهر و نوع سلول های خونی بستگی دارد و در گونه های مختلف ، متفاوت می باشد . گلبولهای قرمز موش نسبت به انسان و گوسفند قابلیت لیز شوندگی بیشتری دارند.

واژه‌های کلیدی: عروس دریایی، لیزکنندگی، ***R. nomadica***

***آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه جامع امام حسین (ع)، مرکز علم و فناوری زیست شناسی.**

پست الکترونیک: honari.hosein@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

عروس دریایی در شاخه کیسه تنان قرار دارد، بیش از ۹ هزار گونه از کیسه تنان در دریا شناسایی شده اند که حداقل ۱۰۰ گونه از آن برای انسان خطرناک می باشند (۱). عروس دریایی جزو بزرگترین مدوزهای شناخته شده در شاخه کیسه تنان میباشد. گونه های عروس دریایی در سطح گسترده ای در دریاها وجود دارند برخی از آنها می توانند تا ضخامت ۲ متر و با وزن ۲۰۰ کیلوگرم رشد نمایند. آنها در سطح گسترده ای در خلیج فارس و دریای عمان وجود دارند و گاهاً ایجاد بلوم می نمایند (۲). اکثر گونه های عروس دریایی، سمی هستند و هر ساله بیش از ۱۲۰ میلیون نفر در دنیا توسط این جانداران، صدمه می بینند. گرچه اغلب این مصدومین نیاز به اقدامات تکمیلی درمانی ندارند ولی گاهی مرگ حادث می شود (۳). بدن این جانداران از یک قسمت چتر مانند ژلاتینی تشکیل شده که در لبه های آن رشته هایی به نام تنتاکل وجود دارد. در ساختار تنتاکلها، سلولهای اختصاصی وجود دارند که نماتوسیت نامیده میشوند. زهر عروس دریایی در داخل نماتوسیت ، قرار دارد. گزش تصادفی عروس دریایی و تماس آن با پوست می تواند باعث ایجاد آسیب های شدید موضعی و یا سیستمیک شود و گاهی می تواند باعث مرگ گردد (۴). زهر این جانداران، دارای ترکیبات فعال عروقی مانند هیستامین و کیتین میباشد که فوراً موجب درد شدید، آماس و کهیر و گاهی اختلالات گوارشی، اسپاسم عضلانی و دیسترس تنفسی و نارسایی قلبی و عروقی میشود (۵). تزریق زهر عروس دریایی به موش و خوکچه هندی علائمی مشابه گزش در انسان ایجاد می نماید. زهر عروس دریایی ترکیبی پروتئینی است که دارای اثرات کاردیوتوکسین، نوروتوکسین، سیتولیزین، همولیزین می باشد (۶،۷). بررسی زهر عروس دریایی یکی از موضوعات در تحقیقات دارویی می‌باشد. اخیراً مشخص گردیده که زهر عروس دریایی نقش تحریک کننده سیستم ایمنی، ضد ایجاد لخته، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی را دارد (۸) کلاژن جدا شده از عروس دریایی *N.nomurai* به عنوان ماده تحریک کننده تولید ایمونوگلوبین ها و سیتوکینها عمل مینماید (۹). مطالعات بیوشیمیایی و سم شناسی در مورد عروس دریایی نشان می دهد که زهر عروس دریایی متناسب با گونه آن می تواند دارای فعالیت آنزیمی (۱۰)، آنتی اکسیدانی (۱۱)، اثرات قلبی عروقی (۱۲)، مرگ سلولی (۱۳) و اثرات همولتیک (۱۴) و عصبی باشد. زهر عروس دریایی به دلیل ساختار پروتئینی و خاصیت ضد سرطانی و سمیت سلولی و لیزکنندگی سلولی که دارد برای استفاده در تحقیقات دارویی مورد توجه می باشد (۴). آبهای خلیج فارس و دریای عمان یکی از زیستگاههای گونه های مختلف عروس دریایی می باشند، باتوجه به تنوع گونه های عروس دریایی در خلیج فارس و دریایی عمان و ازدیاد جمعیت آنها، گاهاً در فصولی از سال، ایجاد بلوم می نمایند . هر سال در فصول بهار و تابستان با موارد زیادی از گزش عروس دریایی مواجه می باشیم. اگرچه برخی از مصدومین بدون درمان خاصی بهبود می یاند لیکن گاهاً به دلیل گزش توسط گونه ای خاص و یا به دلیل حساسیت فرد گزیده شده نیاز به اقدامات تکمیلی درمانی و بیمارستانی میباشد. بنابراین تحقیق روی این جاندار و جداسازی زهر آن و بررسی میزان کشندگی و آنالیز آن از اهمیت خاصی برخوردار می باشد .

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه و آماده سازی آن

عروس دریایی *Rhopilema nomadica* در شهریورماه ۹۵ در موقعیت 56° 17' 49.53"E و 270° 20' 2.45"N جزیره قشم جمع آوری گردید (شکل۱). بلافاصله تنتاکل های آن جداسازی و در درون یخ قرار داده شد. برای جداسازی زهر، از روش *Bloom* و همکاران (۱۹۹۸) استفاده گردید. بدین منظور تنتاکل

www.SID.ir

Archive of SID

های جدا شده از قسمت چتری، در یک فالکون ۵۰ میلی لیتری قرار داده شد. به ظرف محتوی تنتاکل، به مقدار دو برابر، آب دریا اضافه گردید. ظرف محتوی تنتاکل به مدت ۳ روز دریخچال و در دما ۴°C نگهداری شد. هر روز در زمان های مختلف به مدت ۱ تا ۲ دقیقه به شدت تکان داده شد تا سلول های نماتوسیست ها از بافت تنتاکل جدا شوند. بعد از گذشت این زمان، محلول حاصل، از چهار لایه گاز استریل پزشکی به عنوان فیلتر، عبور داده شد. سپس محلول حاصل، در سانتریفیوژ یخچال دار با ۱۲۰۰۰ دور برای مدت ۲۰ دقیقه، سانتریفیوژ گردید و محلول رویی خارج شد و توسط دستگاه فریزدرایر به پودر خشک تبدیل گردید. پودر حاصل در دمای -20°c نگهداری شد. این پودر، حاوی نماتوسیست های عروس دریایی می باشد که در داخل آن زهر عروس دریایی قرار دارد.

شکل ۱. موقعیت مکانی نمونه برداری عروس دریایی

جداسازی زهر و آماده سازی آن

برای جداسازی زهر موجود در سلولهای نماتوسیست از روش Current و همکاران (۲۰۰۴) و روش Bloom و همکاران (۱۹۹۸) با اندکی تغییر استفاده گردید. برای این منظور پودر حاصل از لئوفلیز شدن نماتوسیست، در آب دو بار تقطیر به نسبت ۱ به ۶ حل گردید. برای تشخیص مقدار سلول های نماتوسیست خارج شده از تناکلها، محلول حاصل در زیر میکروسکوپ بررسی گردید. سپس با استفاده از دستگاه سونیکاتور در سه دوره ۲۰ ثانیه ای و با شدت جریان ۳ میلی آمپر در یخ خشک، سونیکیت گردید. در مرحله بعد، محلول حاصل با سانتریفیوژ یخچالدار برای مدت ۱ ساعت و با ۲۰۰۰۰ دور دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جدا شد و در میکروتیوپ های ۱ میلی لیتری و در دمای -20°c ذخیره گردید .

تعیین غلظت زهر استخراج شده

برای تعیین غلظت زهر، ابتدا مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول پروتئین به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری اضافه گردید و سپس حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. در لوله ای دیگر فقط ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر ریخته شد. سپس برای هر لوله، یک میلی لیتر از محلول برادفورد اضافه گردید و پس از ۵ دقیقه باقی ماندن در دمای اتاق، میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. اعداد بدست آمده با منحنی استاندارد مقایسه و غلظت پروتئین محاسبه گردید.

تخلیص زهر با استفاده از ژل کروماتوگرافی

برای خالص سازی جزیی زهر عروس دریایی *R. nomadica* مقدار ۱ میلی لیتر زهر خام، از ستون ژل کروماتوگرافی سفادکس G200 با ستونی به طول ۴۰ و قطر ۱/۸ سانتیمتر و با استفاده از بافر ۰/۰۵ مولار و ۲/۷ =PH و با سرعت ۶ میلی لیتر در ساعت عبور داده شد و جذب فراکشن های خروجی در ۲۸۰ نانومتر بررسی گردید.

SDS PAGE

الکتروفورز از نمونه زهر استخراج شده طبق روش Laemmli UK (1970) انجام گردید. در این روش از ژل پلی آکریل آمید (۱۲ درصد آکریل آمید و ۴ درصد بیس آکریل آمید) استفاده گردید. بافر ژل شامل تریس-اسیدکلریدریک ۶۲/۵ میلی مولار با PH = ۶/۸، ۱۰ درصد گلیسرول، سدیم دو دسیل سولفات ۲ درصد(SDS) و برموفنل آبی ۰/۰۱ درصد استفاده گردید. بعد از پلیمریزه شدن ژل و تزریق نمونه،

www.SID.ir

Archive of SID

الکتروفورز با ولتاژ ۱۵۰ولت و ۴۰ میلی آمپر انجام گردید. از یک نشانگر وزن ملکولی در محدوده ۵ تا ۲۰۰ کیلودالتون (به نام تجاری Vivantis از شرکت سیگما) استفاده شد. برای رنگ آمیزی ژل از محلول رنگی کوماسی بلو (۰/۱ درصد ، ۴۰ درصد متانول و ۱۰ درصد اسید استیک) برای زمان ۳۰ دقیقه استفاده شد.

بررسی میزان کشندگی زهر

برای تعیین دوز کشندگی زهر (LD50) ، ابتدا آزمون اولیه انجام شد. بدین منظور غلظت های ۱۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم زهر تهیه و به حجم ۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد و هریک از غلظتهای تهیه شده به صورت زیر جلدی به دو سر موش سوری ماده با وزن ۲۵ گرم تزریق شد. پس از بدست آمدن محدوده تقریبی سمیت و کشندگی زهر، آزمون اصلی بررسی سمیت انجام شد. سری رقت های مورد استفاده در آزمون اصلی از دوز ۱۰۰ درصد زنده تا ۱۰۰ درصد کشته شده با ضریب افزایشی۱/۲۵ در PBS تهیه گردید و به صورت زیر جلدی به گروه های چهار تایی موش ۲۵ گرمی تزریق گردید. نتایج آزمون اصلی به روش آماری اسپیرمن – کاربر محاسبه گردید.

بررسی فعالیت لیزکنندگی زهر

برای بررسی فعالیت لیزکنندگی زهر، از خون انسان، موش و گوسفند استفاده شد. نمونه های خون تهیه شده به لوله های دارای ماده ضد لخته منتقل گردید. سپس به ۱ میلی لیتر از خون، مقدار ۲۰ میلی لیتر بافرسالین فسفات (PBS) در PH = ۷/۴ اضافه شد و با دور ۵۰۰۰ برای مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچالدار سانتریفیوژ گردید. ماده رویی تخلیه شد و مجدداً در دور ۵۰۰۰ و برای مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در نهایت از اریتروسیتهای جدا شده رقت ۲ درصد تهیه شد. برای بررسی میزان جذب نوری از یک پلیت ۹۶ خانه ای استفاده شد و به هر چاهک مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از سه نوع از سلولهای خونی (انسان ، موش و گوسفند) با رقت ۲ درصد تلقیح شد و سپس مقدار ۶۰ میکرولیتر از نمونه زهر استخراج شده با غلظت های ۵۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به هریک از چاهکها اضافه گردید. مخلوط زهر و سلولهای خونی برای مدت ۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس مقدار۱۵۰ میکرولیتر از ماده رویی داخل چاهکها خارج گردید و به جای آن۱۵۰ میکرولیتر معرف برادفورد به هر چاهک اضافه شد. در نهایت میزان جذب در ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. چاهک محتوی سوسپانسیون سلول خونی به عنوان کنترل منفی و چاهک دارای بافرسالین فسفات به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد .

یافته‌ها

نمونه برداری

در این تحقیق، نمونه عروس دریایی از نوار ساحلی شمال جزیره قشم نمونه برداری شد و تعداد ۲ عدد نمونه تهیه شده از نظر مورفولوژیک بررسی شد و مشخص گردید نمونه مورد نظر *R. nomadica* می باشد. (شکل ۲)

شکل ۲. عروس دریایی *R. nomadica*

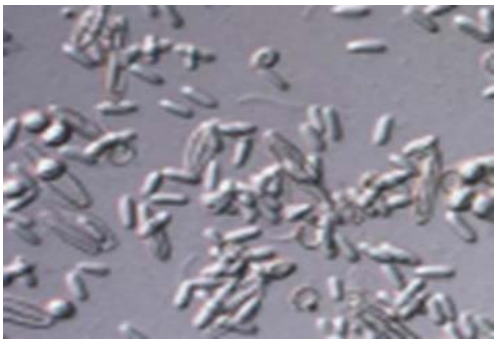
جداسازی نماتوسیتها

برای جداسازی زهر عروس دریایی*R. nomadica* از روش Bloom و همکارانش با اندکی تغییر استفاده شد. بدین صورت که پس از تهیه نمونه و جداسازی نماتوسیتها و لئوفلیز کردن آنها، نماتوسیتها در دمای $20^{o}c$- نگهداری شد. شکل شماره ۳ نماتوسیت های جدا شده ازتنتاکولهای

www.SID.ir

Archive of SID

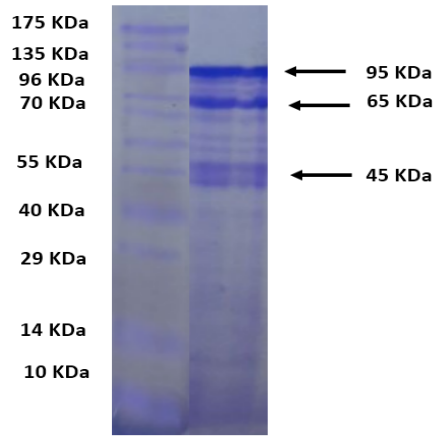
عروس دریایی *R.nomadica* را در زیر میکروسکوپ نوری نشان می دهد. درضمن روش ارائه شده دارای بازدهی مناسبی می باشد (۱۵).



شکل ۳. نماتوسیت های آزاد شده از تنتاکولها با بزرگنمایی ۴۰×۱۰

SDS-PAGE

ترکیبات پروتئین زهر عروس دریایی توسط SDS-PAGE جدا شدند. زهر عروس دریایی *R. nomadica* دارای پروتئینهایی با وزنهای ملکولی مختلف میباشد، لیکن اغلب پروتئینها در سه وزن ملکولی ۴۵ ، ۶۵ و ۹۵ کیلودالتون قرار می گیرند.



شکل ۴- ژل SDS-PAGE زهر عروس دریایی *R. nomadica*

تعیین میزان LD50 زهر عروس دریایی *R. nomadica*

سری رقت‌های مورد استفاده در آزمون اصلی از دوز ۱۰۰ درصد زنده تا دوز ۱۰۰درصد کشته شده حیوان آزمایشگاهی با ضریب افزایشی ۱/۲۵، چینش و تهیه شد. تزریق به‌صورت زیر جلدی به گروه‌های ۴ تایی موشی ۲۰ گرمی انجام گرفت، سپس نتایج با روش آماری اسپیرمن-کاربر طبق معادله زیر محاسبه گردید.

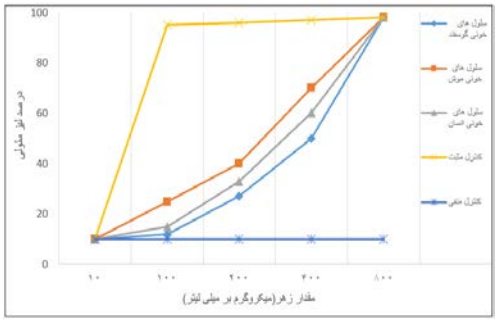
لگاریتم دوز صد در صد کشنده − $\frac{\text{ضریب لگاریتم}}{\text{تعداد تموته در هر دوز}}$ X

($\frac{\text{تعداد های موش استفاده شده در هر دوز}}{۲}$ − مجموع تعداد مرده ها)

در نهایت میزان LD_{50} تزریق صفاقی برای موش Balb/c برابر ۰/۴۵ میکروگرم بر کیلوگرم به دست آمد.

فعالیت همولیتیکی زهر عروس دریایی عروس دریایی R. nomadica

برای بررسی میزان اثر همولیتیکی زهر عروس دریایی *R.nomadica* مقدار ۵۰ تا ۸۰۰ میکروگرم زهر برای تاثیر روی سلولهای خونی انسان، موش و گوسفند استفاده شد. همانطوریکه در نمودار ۱ مشخص شده است با افزایش غلظت زهر، مقدار لیز کنندگی سلولهای خونی نیز افزایش می یابد. زهر عروس دریایی *R. nomadica* در غلظتهای ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر به ترتیب باعث لیز ۵۰ درصد از سلولهای خونی موش، انسان و گوسفند شد.



نمودار ۱. میزان لیز سلولی در سلولهای خونی انسان، موش و گربه بر اساس غلظت زهر *R. nomadica*

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق روش بهینه شده ای برای جداسازی زهر عروس دریایی *R. nomadica* ارائه گردید. به منظور بررسی فعالیت همولیتیک زهر نیاز است که روشی طراحی گردد تا میزان فعالیت زهر کاهش پیدا نکند. در سالهای اخیر گزارشات زیادی از بلوم عروسهای دریایی در مناطق مختلف دنیا مانند ایتالیا، ترکیه و چین ارائه شده

www.SID.ir

Archive of SID

است. اینگونه تغییرات در جمعیت و توزیع عروسهای دریایی خلیج فارس و دریای عمان نیز گزارش گردیده است (دریانبرد و همکاران). گونه های مختلف عروس دریایی همواره مورد توجه محقیقین بوده اند زیرا اینها به دلیل داشتن زهر معمولاً باعث ایجاد صدمه به شناگران در دریا میشوند. اغلب افراد گزیده شده نیاز به اقدامات تکمیلی درمانی و بیمارستانی ندارند ولی برخی نیز دچار عوارض سیستمیک و گاها مرگ میشوند. تغییر در جمعیت عروس های دریایی میتواند باعث بروز تغییراتی در اکوسیستم دریایی و یا خرابی تاسیسات دریایی گردد (۱۵،۱۶).

از طرفی دیگر بافت عروس دریایی دارای ترکیبات مهم بویژه کلاژن میباشد (۱۷،۱۸). به دلیل وجود ترکیبات فعال زیستی در زهر عروس دریایی، مطالعات بیوشیمیایی و شناسایی زهر آن مورد توجه قرار گرفته است و با توجه به فعالیتهای لیز سلولی و سیتوتوکسیسیتی (کشندگی سلول)، زهر آن در تحقیقات دارویی به عنوان ضد سرطان مورد بررسی قرار گرفته است (۱۹،۲۰). زهر عروس دریایی *Moon Jellyfish* نقش فیبرینولیزینی قوی دارد که مورد توجه می باشد (۲۱). خلیج فارس و دریایی عمان از مناطقی هستند که گونه های متنوعی از عروس دریایی در آنها وجود دارد. تنوع زیستی در خلیج فارس و دریای عمان موجب گردیده تا در فصولی از سال و به خصوص در فصل بهار و تابستان شاهد ایجاد بلوم عروس دریایی باشیم (۲۲). در این مطالعه زهر گونه *R. nomadica* که یکی از گونه های موجود در خلیج فارس و از عوامل گزش و مصدومیت در شناگران می‌باشد جداسازی و بررسی گردید. برای استخراج زهر عروس دریایی روشهای مختلفی وجود دارد لیکن در این تحقیق از روش Bloom و همکارانش با اندکی تغییر استفاده گردید. روش مناسب روشی است که علاوه بر بدست آوردن غلظت مناسب از زهر، میزان فعالیت و ترکیبات فعال آن حفظ شود. زهر عروس دریایی به گرما حساس بوده و فعالیت آن به مقدار زیادی کاهش می یابد لیکن در این تحقیق نماتوسیت های جدا شده از عروس دریایی تحت دمای خشک لئوفلیزه شدند. انجام سونیکاسیون مناسب برای آزادسازی زهر از نماتوسیتها نیز از مراحل مهم در افزایش غلظت زهر استخراج شده میباشد. در این تحقیق با اندازه گیری میزان زهر استخراج شده و با اجرای تغییراتی در این مرحله، شرایط بهینه ای را برای استخراج، پیشنهاد نمودیم. این روش در مقایسه با روش های دیگر مانند دهیدراسیون دیالیز و اولتراسانتریفیوژ، بازدهی بهتری دارد. در استفاده از روش دیالیز معمولاً مقادیر زیادی از پروتئین های زهر از دست می روند ولی میزان فعالیت همولیتکی آن حفظ میگردد، برعکس در روش اولتراسانتریفیوژ، غلظت خوبی از پروتئین بدست می آید ولی فعالیت همولیتیکی آن کاهش می یابد (۲۳). در این تحقیق همچنین میزان اثر لیز کنندگی زهر روی سلولهای خونی در گونه های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. از سلول های خونی موش، گوسفند و انسان استفاده گردید و میزان تاثیرغلظت زهر عروس دریایی *R. nomadica* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با تغییر غلظت زهر، میزان لیز سلولی نیز تغییر پیدا می کند و هر چه غلظت زهر افزایش پیدا میکند مقدار لیز سلولی نیز بیشتر میشود. اگرچه افزایش غلظت با میزان لیزکنندگی به صورت یکنواخت افزیش پیدا نمیکند (نمودار۱). همچنین نوع سلول های خونی نیز در میزان لیز شوندگی موثر می باشد (۲۴). Rottini و همکارانش (۱۹۹۵) در بررسی فعالیت همولیتیکی زهر عروس دریایی *Carybdea marsupialis* نشان دادند که گلبول های قرمز گوسفند نسبت به گلبول های قرمز خوکچه و انسان حساسیت بیشتری به زهر این گونه دارند. در حالیکه Torres و همکارانش (۲۰۰۱) نشان دادند که عروس دریایی

www.SID.ir

Archive of SID

cassiopea xamachana فعالیت لیز کنندگی بیشتری را روی گلبول های قرمز خون انسان نسبت به گوسفند دارند. *Changkeun kan* و همکارانش (۲۰۰۹) فعالیت لیز کنندگی سلول های قرمز سگ ، گربه، خوکچه، انسان و خرگوش را توسط زهر عروس دریایی *N. nomuria* بررسی نمودند. آنها نشان دادند که گلبول های قرمز سگ بیشترین حساسیت را دارند. ما در این تحقیق نشان دادیم که میزان لیز شوندگی سلول های خونی موش، گوسفند و انسان توسط زهر عروس دریایی *R. nomadica* متفاوت میباشد و این میزان اولاً با افزایش غلظت زهر افزایش مییابد ثانیاً میزان لیزشوندگی درسلولهای موش، انسان و گوسفند به ترتیب کاهش مییابد. به عبارتی دیگر، در غلظتهای یکسان، زمان کمتری طول میکشد تا سلولهای خونی موش نسبت به انسان و گوسفند لیز شود. میتوان گفت که میزان لیز شوندگی سلول های خونی توسط زهر عروس دریایی غیرقابل پیش بینی می باشد و این به گونه عروس دریایی و میزان غلظت زهر بستگی دارد و این مقدار در سلولهای خونی جانداران مختلف، فرق دارد (۲۵)

تشکر و قدردانی

در پایان از زحمات اساتید، پژوهشگران محترم مرکز و گروه علوم زیستی دانشگاه جامع امام حسین(ع) در تهران و بخش ژنتیک پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در بندرعباس که در به نتیجه رسیدن این پژوهش ما را حمایت معنوی و مالی نمودند سپاسگزاری می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Friedel N, Scolnik D, Adir D, Glatstein M. Severe anaphylactic reaction to mediterranean jellyfish (Ropilhema nomadica) envenomation: Case report. Toxicology reports. 2016 Jan 1;3:427-9.
2. Fu J, Koo K, Sang AX, Shisler DC. Jellyfish envenomation in an ocean swimmer. Internal and emergency medicine. 2014 Feb 1;9(1):103-4.
3. Chakrabarty D, Rastogi A. Hemotoxic Activity of Jellyfish Venom. Clinical Toxinology in Asia Pacific and Africa. 2015:539-52.
4. Kang C, Munawir A, Cha M, Sohn ET, Lee H, Kim JS, et al. Cytotoxicity and hemolytic activity of jellyfish Nemopilema nomurai (Scyphozoa: Rhizostomeae) venom. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 2009 Jul 1;150(1):85-90.
5. Nabipour I, Mohebbi G, Vatanpour H, Vazirizadeh A. Hematological parameters on the effect of the jellyfish venom Cassiopea andromeda in animal models. Data in brief. 2017 Apr 1;11:517-21.
6. Weston AJ, Chung R, Dunlap WC, Morandini AC, Marques AC, Moura-da-Silva AM, et al. Proteomic characterisation of toxins isolated from nematocysts of the South Atlantic jellyfish Olindias sambaquiensis. Toxicon. 2013 Sep 1;71:11-7.
7. Ayed Y, Dellai A, Mansour HB, Bacha H, Abid S. Analgesic and antibutyrylcholinestrasic activities of the venom prepared from the Mediterranean jellyfish Pelagia noctiluca (Forsskal, 1775). Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2012 Dec;11(1):15.
8. Frazao B, Antunes A. Jellyfish bioactive compounds: methods for wet-lab work. Marine drugs. 2016 Apr;14(4):75.
9. Morishige H, Sugahara T, Nishimoto S, Muranaka A, Ohno F, Shiraishi R, et al. Immunostimulatory effects of collagen from jellyfish in vivo. Cytotechnology. 2011 Oct 1;63(5):481.
10. Helmholz H, Ruhnau C, Schütt C, Prange A. Comparative study on the cell toxicity and enzymatic activity of two northern scyphozoan species Cyanea capillata (L.) and Cyanea lamarckii (Péron & Léslieur). Toxicon. 2007 Jul 1;50(1):53-64.
11. Yu H, Liu X, Xing R, Liu S, Li C, Li P. Radical scavenging activity of protein from tentacles of jellyfish Rhopilema esculentum. Bioorganic & medicinal chemistry letters. 2005 May 16;15(10):2659-64.
12. Ramasamy S, Isbister GK, Seymour JE, Hodgson WC. The in vivo cardiovascular effects of the Irukandji jellyfish (Carukia barnesi) nematocyst venom and a tentacle extract in rats. Toxicology letters. 2005 Jan 15;155(1):135-41.
13. Carli A, Bussotti S, Mariottini GL, Robbiano L. Toxicity of jellyfish and sea-anemone venoms on cultured V79 cells. Toxicon. 1996 Apr 1;34(4):496-500.
14. Torres M, Aguilar MB, Falcón A, Sánchez L, Radwan FF, Burnett JW, et al. Electrophysiological and hemolytic activity elicited by the venom of the jellyfish Cassiopea xamachana. Toxicon. 2001 Sep 1;39(9):1297-307.
15. Purcell JE, Uye SI, Lo WT. Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct

www.SID.ir

Archive of SID

consequences for humans: a review. Marine Ecology Progress Series. 2007 Nov 22;350:153-74.
16. Purcell JE. Climate effects on formation of jellyfish and ctenophore blooms: a review. Journal of the Marine Biological Association of the United kingdom. 2005 Jun;85(3):461-76.
17. Addad S, Exposito JY, Faye C, Ricard-Blum S, Lethias C. Isolation, characterization and biological evaluation of jellyfish collagen for use in biomedical applications. Marine drugs. 2011 Jun;9(6):967-83.
18. Zhuang Y, Hou H, Zhao X, Zhang Z, Li B. Effects of collagen and collagen hydrolysate from jellyfish (Rhopilema esculentum) on mice skin photoaging induced by UV irradiation. Journal of food science. 2009 Aug;74(6):H183-8.
19. Maisano M, Trapani MR, Parrino V, Parisi MG, Cappello T, D'Agata A, et al. Haemolytic activity and characterization of nematocyst venom from Pelagia noctiluca (Cnidaria: Scyphozoa). Italian journal of zoology. 2013 Jun 1;80(2):168-76.
20. Lee H, Jung ES, Kang C, Yoon WD, Kim JS, Kim E. Scyphozoan jellyfish venom metalloproteinases and their role in the cytotoxicity. Toxicon. 2011 Sep 1;58(3):277-84.
21. Rastogi A, Biswas S, Sarkar A, Chakrabarty D. Anticoagulant activity of Moon jellyfish (Aurelia aurita) tentacle extract. Toxicon. 2012 Oct 1;60(5):719-23.
22. Gharibi S, Nabipour I, Kim E, Ghafari SM, Hoseiny SM, Kamyab M, et al. Characterization and Pharmacological Activities of Jellyfish, Chrysaora hysoscella Captured in Bushehr Port, Iran. Iranian Journal of Toxicology Vol. 2016 Sep;10(5).
23. Li C, Yu H, Feng J, Chen X, Li P. Comparative analysis of methods for concentrating venom from jellyfish Rhopilema esculentum Kishinouye. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. 2009 Feb 1;27(1):172-6.
24. Ponce D, López-Vera E, Aguilar M, Sánchez-Rodríguez J. Preliminary results of the in vivo and in vitro characterization of a tentacle venom fraction from the jellyfish Aurelia aurita. Toxins. 2013 Dec;5(12):2420-33.
25. Kang C, Munawir A, Cha M, Sohn ET, Lee H, Kim JS, et al. Cytotoxicity and hemolytic activity of jellyfish Nemopilema nomurai (Scyphozoa: Rhizostomeae) venom. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 2009 Jul 1;150(1):85-90.

www.SID.ir

Archive of SID

Extraction the venom of Rhopilema nomadica from the Persian Gulf coast and the investigation of its hemolytical activity

Jafari H[1], Honari H[*2], Zargan J[3], Tamadoni Jahromi S[4]
1.Ph.D. student of nanobiotechnology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein University (IHU), Tehran, Iran
2. Associate professor of genetic, Imam Hossein Comprehensive University (IHU), Tehran, Iran, honari.hosein@gmail.com
3.Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein University (IHU), Tehran, Iran
4.Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Bandar Abass, Iran

Received: *23 July 2019* Accepted: *1 Sep 2019*

Abstract

***Background*:** The Persian Gulf is one of the habitats of different species of jellyfish. Most jellyfish species are venomous. The venom of *Rhopilema nomadica* jellyfish, which is found in the Persian Gulf, is a compound protein with the effects of neurotoxin, cytolysin and hemolysin. The purpose of this study is the isolation and characterization of *R. nomadica* venom and the investigation of its hemolytic effects on blood cells.

Materials and Methods: The *R. nomadica* was sampled from the tidal zone of the northern coast of Qeshm Island. After it was transferred to a laboratory in Bandar Abbas with an optimized method, the venom was extracted and isolated by the Sephadex G200 chromatography gel. SDS-PAGE gel electrophoresis was used to evaluate the molecular weight of its compounds. The lethal dose of the isolated venom was assessed by subcutaneous injection into the mice, and then the hemolytic activity on erythrocytes of different species was evaluated .

Results: *R. nomadica* venom was isolated from nematocytes by an optimized method, and after determining the protein concentration of 1.7 mg / ml and passing the chromatography column, two peaks were obtained. The molecular weights of 45, 65 and 95 kDa were determined by passing through the SDS-PAGE gel electrophoresis. Subsequently, the lethal dose (LD50) was detected, and the rate of activity of the venom was evaluated.

Conclusion: The existence of active compounds in the venom of *R. nomadica* damages swimmers. The effect of the hemolytic activity of the venom that depends on the concentration of venom and the type of blood cells varies in different species. We showed that RBCs of mice are more susceptible to lysis by the venom than human or sheep RBCs.

Keywords: jellyfish, hemolysis, *R. nomadica*.

Citation: Jafari H, Honari H, Zargan J, Tamadoni Jahromi S. Extraction the venom of *Rhopilema nomadica* from the Persian Gulf coast and the investigation of its hemolytical activity. Yafte. 2019; 21(3):86-95.

www.SID.ir