

# تخلیص و شناسایی برخی خصوصیات ایمونوگلوبولین سرم در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

محمدرضا کلباسی<sup>(۱)</sup>؛ علی مصطفایی<sup>(۲)</sup> و جعفر مجیدی<sup>(۳)</sup>

Kalbas\_m@modares.ac.ir

- ۱ - گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۴۴۴۱۴  
۲ - گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، کرمانشاه  
صندوق پستی: ۱۵۶۸-۶۷۱۴۵  
۳ - گروه ایمونولوژی و انکلسناسی، دانشکده پزشکی تبریز، تبریز صندوق پستی: ۴۳۱۶۱-۵۱۵۷۶  
تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۲

## چکیده

در این مطالعه ایمونوگلوبولین سرم تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) خالص و برخی خصوصیات آن از جمله وزن زنجیره‌های سبک و سنگین و توزیع مولکولی تعیین گردید. ایمونوگلوبولین تاسماهی ایرانی از مخلوط سرم این ماهی با استفاده از روشهای ترسیب نمکی، کروماتوگرافی تعویض یون و ژل فیلتراسیون خالص گردید. در کروماتوگرافی تعویض یون و ژل فیلتراسیون بترتیب از ستون دی‌اتیل آمینو اتیل سفارز و ستون سفارز سی ال - ۶ بی استفاده شد. خلوص محصولات، وزن مولکولی زنجیره‌های سبک و سنگین و توزیع مولکولی ایمونوگلوبولین با روش SDS-PAGE در شرایط احیایی و غیراحیایی تعیین گردید. ایمونوگلوبولین خارج شده از ستون سفارز سی ال - ۶ بی شامل دو بخش تک واحدی یا ایمونوگلوبولین با وزن مولکولی بالا (HMW Ig) بود. این دو بخش در SDS-PAGE احیایی الگوی یکسانی داشتند و محتوای پروتئینی هر یک شامل دو باند ۲۷-۲۹ و ۷۳ تا ۷۵ کیلو دالتونی بود. در کروماتوگرافی تعویض یون، ایمونوگلوبولین تاسماهی به صورت سه بخش تقریباً مجزا خارج گردید. در این میان بخش اول منحصراً شامل ایمونوگلوبولین تک واحدی و بخش‌های دیگر حاوی مخلوطی از ایمونوگلوبولین‌های تک واحدی و چند واحدی بود. این مطالعه که نخستین گزارش منتشره در خصوص ویژگیهای ایمونوگلوبولین سرم تاسماهی ایران است، حاوی نتایج قابل توجهی در مقایسه با نتایج مطالعات انجام شده بر روی ایمونوگلوبولین سایر گونه‌های ماهیان است و نشان می‌دهد که ایمونوگلوبولین تاسماهی از نظر اشکال مولکولی، تفاوت نقطه ایزوالکتریک و نوع زنجیره سبک همگون نیست. چنین تنوع ساختمانی می‌تواند ناشی از وجود بیش از یک ژن برای تولید زنجیره سبک و یا سنگین آنتی بادی و یا تغییرات پس از نسخه‌برداری ژن و یا ترجمه mRNA باشد.

**کلمات کلیدی:** تاسماهی ایرانی، *Acipenser persicus*، ایمونوگلوبولین، تخلیص، سرم

## مقدمه

در سرم ماهی عمدتاً یک کلاس ایمونوگلوبولینی دیده می‌شود (Bourmaud *et al.*, 1995); (Reinisch & Litman, 1989). برغم مطالعات چندی که در ماهی‌ها صورت گرفته است، هنوز اطلاعات کاملاً روشنی در مورد ساختمان، انواع زنجیره‌ها و توزیع مولکولی ایمونوگلوبولین در بسیاری از گونه‌های ماهی وجود ندارد (Hordvik, 1998; Wilson & Warr, 1992). نتایج مطالعات انجام گرفته حاکی از وجود یک کلاس ایمونوگلوبولین شبیه IgM پستانداران در ماهی‌ها است که عمدتاً به صورت چهار واحدی و به میزان کمتر در اشکال سه، دو و تک واحدی دیده می‌شود (Press, 1998; Wilson & Warr, 1992). تاس ماهی دریای خزر یکی از گونه‌های ماهیان خاویاری است که به دلیل عدم ارتباط دریای خزر با سایر آبهای سطح زمین، به این دریا منحصر می‌شود و از نظر فیلوژنی و اقتصادی جایگاه ویژه‌ای دارد. این ماهی به صورت مصنوعی تکثیر گردیده و سالانه میلیونها عدد بچه تاس ماهی ۳ تا ۵ گرمی به دریای خزر رها سازی می‌گردد. به منظور کاهش تلفات این ماهی در هنگام پرورش اولیه، اخیراً در خصوص ایمن‌سازی این ماهیان قبل از رهاسازی به دریا مطالعاتی صورت پذیرفته است (کلباسی، ۱۳۷۹) و در ادامه مطالعات روی این گونه ماهی، ایمونوگلوبولین‌های سرم تخلیص و بعضی از خصوصیات آن از جمله وزن مولکولی زنجیره‌های سبک و سنگین و توزیع مولکولی آنتی بادی تعیین گردید.

## مواد و روش کار

نمونه‌های سرم: نمونه‌های سرم مورد استفاده شامل مخلوطی از سرم تاس ماهیان نر و ماده سه ساله پرورشی بود که از انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری تأمین گردید و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شده بودند.

جداسازی گلوبولین‌های سرم: سرم دو نوبت با بافر فسفات نمکی (PBS) با  $\text{pH} = 7/2$  رقیق و به هر حجم از آن، یک حجم محلول سولفات آمونیوم اشباع در PBS اضافه گردید. مخلوط مذکور به مدت ۳۰ دقیقه در  $3000 \text{g}$  در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد. رسوب حاصل از سانتریفوژ که حاوی بخش ایمونوگلوبولینی سرم ماهی بود، برای مرحله بعد نگهداری گردید.

گروماتوگرافی تعویض یون: رسوب حاصل از مرحله قبل در بافر تریس ۰/۰۵ مولار با  $\text{pH}=7/7$  حل و به مدت یک شب در برابر این بافر دیالیز گردید. محلول دیالیز شده سپس به ستون XK 16/20 حاوی رزین دی اتیل آمینو اتیل سفارز (فارماسیا) که با بافر تریس به تعادل رسیده بود، وارد شد. پس از عبور مقدار کافی بافر از ستون، شیب پیوسته یا ناپیوسته کلرید سدیم در بافر تریس بر ستون اعمال گردید.

ژل فیلتراسیون: ژل فیلتراسیون در ستون XK 26/100 و رزین سفارز سی ال ۶- بی (فارماسیا) صورت گرفت. محتوای پروتئینی بخش غنی از ایمونوگلوبولین با سولفات آمونیوم رسوب داده شد. رسوب در برابر بافر فسفات ۰/۱ مولار با  $\text{pH}=7/5$  حاوی کلرید سدیم ۰/۵ مولار دیالیز گردید و در غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر به ستون ژل فیلتراسیون که با بافر فسفات به تعادل رسیده بود، وارد شد. برای خروج تمامی پروتئین‌ها از ستون، حداقل یک حجم ستون از بافر با سرعت ۲۵ میلی لیتر در ساعت از ستون عبور داده شد.

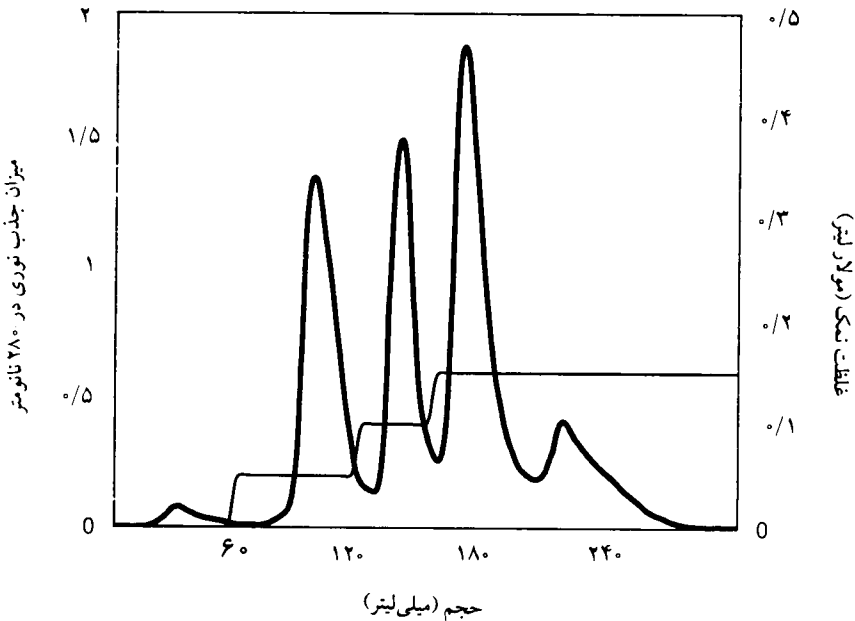
الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید (SDS- PAGE): الکتروفورز پروتئین‌ها براساس روش Laemmli (Laemmli, 1970) در شرایط احیایی و غیر احیایی انجام گرفت. در الکتروفورز احیایی از ژل جداکننده ۱۰ درصد و در الکتروفورز غیراحیایی از ژل جداکننده ۴ درصد استفاده شد. در هر حالت، یک حجم بافر نمونه (۵ X) به ۴ حجم نمونه (با غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر) اضافه و ۵ دقیقه در آب جوش قرار داده شد و سپس ۱۵ میکرولیتر از هر نمونه به چاهک‌ها اضافه شد و الکتروفورز در ولتاژ ۱۵۰ ولت تا رسیدن رنگ نشانگر به انتهای ژل ادامه یافت. برای رنگ‌آمیزی پروتئین‌ها از کوماسی آبی R-۳۵۰ (فارماسیا) استفاده شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین: غلظت پروتئین‌ها به روش برادفورد (Bradford, 1976) با استفاده از گاماگلوبولین گاوی (به عنوان استاندارد) و به منظور تنظیم آن در مراحل کار (خالص سازی و آنالیز محصول) اندازه‌گیری و برابر ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر تعیین گردید.

## نتایج

با اعمال شیب غلظت کلرید سدیم تا ۱۵۰ میلی مولار، بخش عمده ایمونوگلوبولین تاس‌ماهی

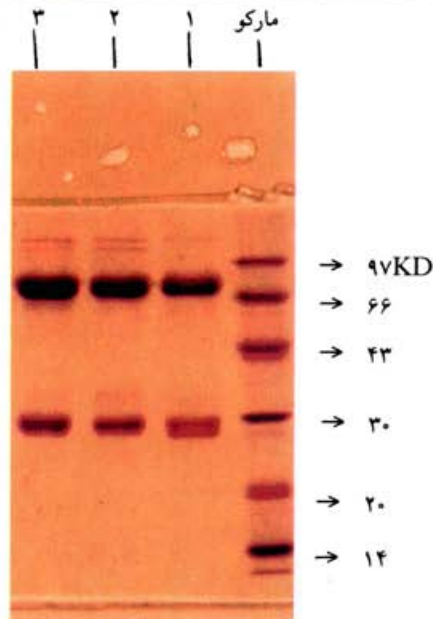
به صورت سه بخش (قله) پروتئینی نسبتاً مجزا از ستون خارج گردید (شکل ۱).



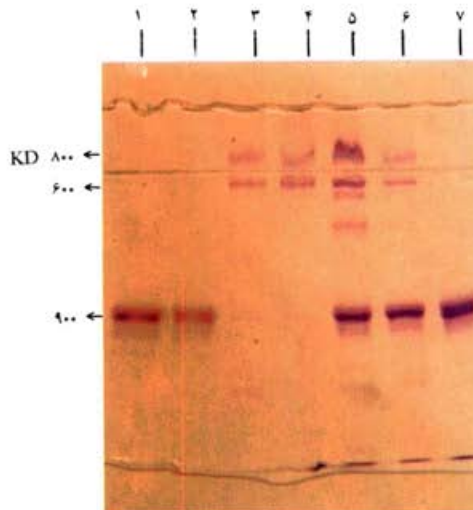
شکل ۱: کروماتوگرافی تعویض یون ایمونوگلوبولین تاس ماهی در ستون DEAE سفارز

بررسی الگوی الکتروفورز این قله‌ها در شرایط احیایی نشان داد که محتوای پروتئینی هر یک عمدتاً شامل دو باند ۲۷ تا ۲۹ و ۷۳ تا ۷۵ کیلو دالتونی است که بترتیب موقعیت زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلوبولینی را نشان می‌دهند (شکل ۲). برغم تشابه کلی موقعیت باندهای پروتئینی در این سه قله، در موقعیت زنجیره سبک قله اول، دو باند پروتئینی با اختلاف وزنی جزئی مشاهده گردید (ستون ۳ شکل ۲).

الگوی الکتروفورز غیر احیایی قله‌های پروتئینی خارج شده از ستون تعویض یون در شکل ۳ (ستون‌های ۵ تا ۷) آمده است. همانگونه که این شکل نشان می‌دهد، در قله اول یک باند پروتئینی در موقعیت وزنی حدود ۱۹۰ کیلو دالتون دیده می‌شود (ستون ۷). در قله دوم، سه باند (ستون ۶) و در قله سوم، پنج باند پروتئینی دیده می‌شود (ستون ۵) که عمده‌ترین آنها در موقعیت وزنی حدود ۱۹۰ و ۸۰۰ کیلو دالتون قرار دارند.

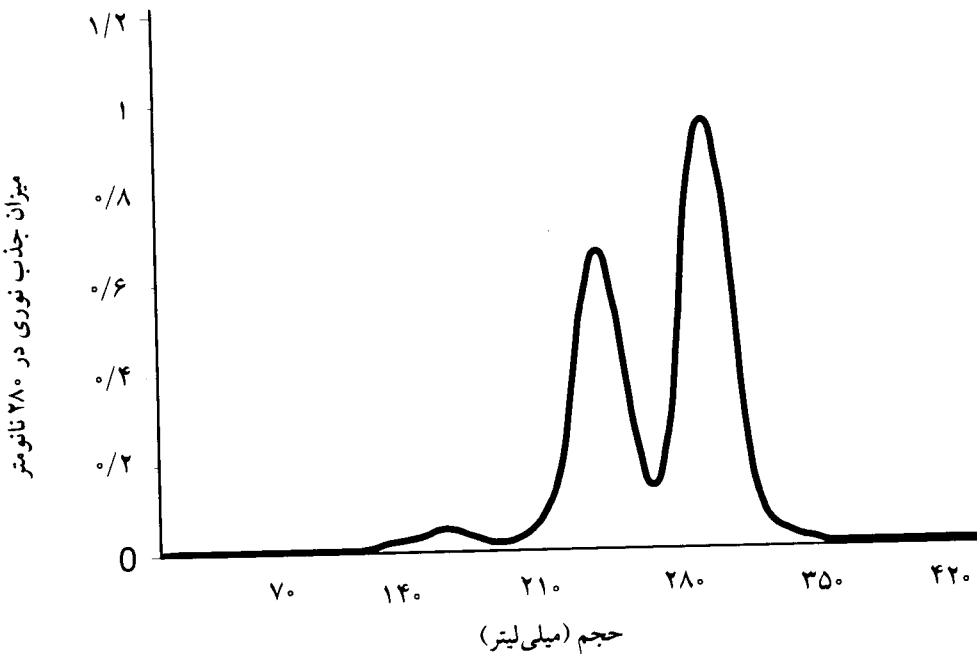


شکل ۲: SDS-PAGE احیایی ایمونوگلوبولین تاس ماهی ایرانی در ژل پلی اکریل آمید ۱۰ درصد. ستون‌های ۱ و ۲، ۳ به ترتیب محتوای پروتئینی بخش‌های ۱، ۲ و ۳ جدا شده در ستون تعویض یون را نشان می‌دهند. ستون M مربوط به مارکرها با اوزان ۹۷، ۶۶، ۳۰، ۲۰، ۱۴ کیلو دالتون است.

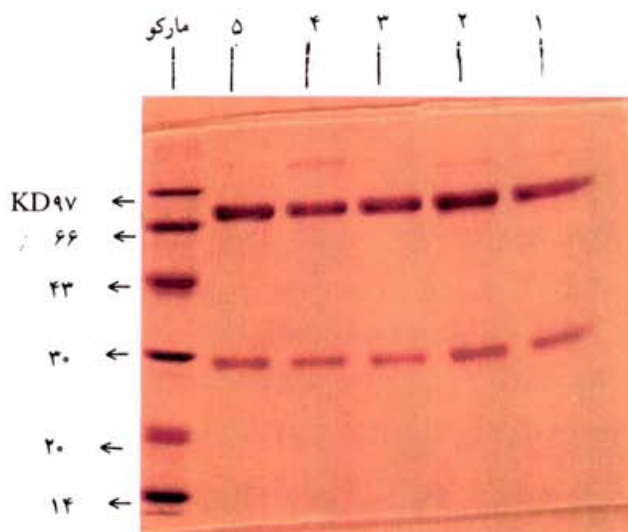


شکل ۳: SDS.PAGE غیر احیایی ایمونوگلوبولین تاس ماهی ایرانی در ژل پلی اکریل آمید ۴ درصد.

در ژل فیلتراسیون در ستون سفارز سی ال - ۶ بی، ایمونوگلوبولین تاس ماهی به دو بخش پروتئینی تفکیک گردید (شکل ۴). این دو بخش الگوی الکتروفورزی یکسانی در شرایط احیایی داشتند و درجه خلوص ایمونوگلوبولین بدست آمده در هر یک از آن دو بیش از ۹۵ درصد بود (شکل ۵). در الکتروفورز احیایی (ستون‌های ۳ و ۴ شکل ۳) قله اول پروتئینی که کمتر از نیمی از ایمونوگلوبولین سرم تاس ماهی را تشکیل می‌داد شامل دو باند پروتئینی عمده با وزن مولکولی تخمینی ۶۰۰ و ۸۰۰ کیلودالتون بود. قله دوم که بیش از نیمی از ایمونوگلوبولین را تشکیل می‌داد، تنها شامل یک باند پروتئینی در موقعیت ۱۹۰ کیلو دالتونی بود (ستون‌های ۱ و ۲ شکل ۳).



شکل ۴: فیلتراسیون ایمونوگلوبولین تاس ماهی ایرانی در ستون سفارز CL-6B



شکل ۵: SDS-PAGE احیایی ایمونوگلوبولین تاس ماهی ایرانی بعد از ژل فیلتراسیون. ستون‌های ۱ و ۲ بترتیب مربوط به نوک و بخش پایین رو قله اول، و ستون‌های ۳ و ۴ به ترتیب مربوط به نوک و بخش پایین رو قله دوم ژل فیلتراسیون است. ستون M شامل مارکرها با اوزان ۱۴، ۲۰، ۳۰، ۴۳، ۶۶ و ۹۷ کیلو دالتون است.

## بحث

مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای است که به خالص سازی ایمونوگلوبولین سرم تاس ماهی ایرانی در دریای خزر پرداخته و بعضی از خصوصیات این مولکولها را با نتایج مطالعات مشابه روی سایر گونه‌های ماهی مورد مقایسه قرار داده است. در این مطالعه خالص سازی ایمونوگلوبولین‌های سرم تاس ماهی مبتنی بر جداسازی بخش گلوبولینی سرم با سولفات آمونیوم و تفکیک اجزای آن با دو روش کروماتوگرافی تعویض یون و ژل فیلتراسیون بود. نتایج کروماتوگرافی تعویض یون نشان داد که تا غلظت ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در بافر، بخش عمده ایمونوگلوبولین خارج می‌گردد و

بخش بسیار کمی از آن در ستون باقی می ماند. ایمونوگلوبولین خارج شده از ستون تا غلظت ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، بخصوص در بخش اول، از درجه خلوص بالایی برخوردار بود. الگوی الکتروفورز این مولکولها در هر سه بخش شامل دو باند ۲۷ تا ۲۹ و ۷۳ تا ۷۵ کیلو دالتونی بود که با نتایج مطالعات دیگران مشابه می باشد (Adkison *et al.*, 1996; Partula & Charlemagne, 1993). این دو باند بترتیب موقعیت زنجیره های سبک و سنگین ایمونوگلوبولین را نشان می دهند و از نظر وزنی قابل مقایسه با زنجیره های سبک و سنگین IgM در پستانداران هستند (Reinisch & Litman, 1989; Wilson & Warr, 1992). به همین دلیل، ایمونوگلوبولین ها در ماهی به شبه IgM معروفند. برغم تشابه الگوی الکتروفورز سه قله خارج شده از ستون تعویض یون در شرایط احیایی، بررسی این بخش ها در SDS-PAGE غیر احیایی نشان داد که قله اول منحصراً حاوی ایمونوگلوبولین تک واحدی است و در محدوده وزنی ۱۹۰ کیلو دالتون قرار دارد (ستون ۷، شکل ۳). در مقابل، در قله های دوم و سوم علاوه بر ایمونوگلوبولین تک واحدی، ۲ تا ۴ باند پروتئینی دیگر در موقعیت های وزنی بالاتر دیده شد (ستون های ۵ و ۶، شکل ۳). این باندها مربوط به اشکال چند واحدی ایمونوگلوبولین در تاس ماهی ایرانی است که در مطالعات Partula و Charlemagne (۱۹۹۳) و همچنین Adkison و همکاران (۱۹۹۶) روی گونه های ماهیان خاویاری *A. baeri* و *A. transmontanus* نیز گزارش شده است. عمده ترین این باندها در موقعیت وزنی ۸۰۰ کیلو دالتون قرار داشت و مربوط به مولکولهای چهار واحدی ایمونوگلوبولین بود. نتایج این بخش از مطالعه حاضر نشان داد که ایمونوگلوبولین تاس ماهی ایرانی از نظر میل اتصال به رزین تعویض یون و در نتیجه نقطه ایزوالکتریک همگون نبوده، حداقل دارای سه بخش است. بخش اول که نقطه ایزوالکتریک بالاتری داشت و به صورت یک قله مجزا از ستون خارج گردید، منحصراً حاوی ایمونوگلوبولین تک واحدی بود. بخش های دوم و سوم که در شیب خطی کلرید سدیم نیز به صورت دو قله نسبتاً مجزا خارج می شدند، حاوی مخلوطی از اشکال تک واحدی و چند واحدی ایمونوگلوبولین بودند. از دیگر نتایج قابل توجه این مطالعه، وجود دو نوع زنجیره سبک در



ایمونوگلوبولین این گونه ماهی است. این دو نوع زنجیره سبک که تفاوت وزنی بسیار کمی دارند، تنها در ایمونوگلوبولین تک واحدی بخش اول کروماتوگرافی تعویض یون دیده شد (ستون ۳، شکل ۲) و در دیگر بخشها قابل مشاهده نبود. ناهمگونی ایمونوگلوبولین ماهی از نظر نقطه ایزوالکتریک و تفاوت زنجیره سبک در چندین مطالعه روی گونه‌های مختلف ماهی‌های استخوانی گزارش شده است (Acton *et al.*, 1971 ; Bourmand *et al.*, 1995). برای مثال در چند مطالعه روی ماهی‌های استخوانی، وجود حداقل دو فراکسیون ایمونوگلوبولینی با نقطه ایزوالکتریک متفاوت در سرم نشان داده شده (Havarstein *et al.*, 1988) یا به وجود بیش از یک نوع زنجیره سبک اشاره شده است (Partula *et al.*, 1996). با این وجود، تاکنون اطلاعات دقیقی در مورد وضعیت و آرایش ژن‌های ایمونوگلوبولینی و وقایع پس از نسخه‌برداری و ترجمه در ماهی‌های خاویاری در دست نیست.

در این مطالعه همچنین معلوم گردید که ایمونوگلوبولین تک واحدی بیش از نیمی از ایمونوگلوبولین‌های سرم تاس ماهی را شامل می‌شود و شکل چهار واحدی آنتی بادی کمتر از نیمی از محتوای ایمونوگلوبولینی را به خود اختصاص می‌دهد. این نتیجه با نتایج مطالعات انجام گرفته روی گونه‌های دیگر ماهی مشابه نیست، چرا که نتایج این مطالعات حاکی از غالب بودن شکل چهار واحدی ایمونوگلوبولین از نظر مقدار است (Acton *et al.*, ; Adkison *et al.*, 1996). بررسی محتوای پروتئینی هر یک از دو قله خارج شده از ستون سفارز سی ال - ۶ بی نشان داد که الگوی SDS-PAGE آنها در شرایط احیایی کاملاً مشابه و میزان خلوص ایمونوگلوبولین در هر دو بخش نیز بسیار بالا می‌باشد. چنین فرآورده‌ای را می‌توان در جهت اهداف مختلفی از جمله تولید Anti-sturgeon IgM (به منظور انجام آزمایشات تشخیصی ایمونولوژیک از قبیل الیزا و غیره)، مطالعات ایمن سازی و یا تعیین توالی اسیدهای آمینه به کار برد. در مقابل، در SDS-PAGE غیر احیایی معلوم گردید که بخش اول منحصراً حاوی اشکال چند واحدی (عمدتاً ۳ و ۴ واحدی) ایمونوگلوبولین تاس ماهی و بخش دوم حاوی شکل تک واحدی آنتی بادی است.

در جمع‌بندی نهایی می‌توان اظهار نمود مطالعه حاضر روی ایمونوگلوبین سرم تاس ماهی ایرانی، حاوی نتایجی است که بعضاً در مطالعات مشابه دیده نمی‌شود. در این مطالعه با روشی نسبتاً ساده، ایمونوگلوبولین سرم تاس ماهی ایرانی با درجه خلوص بالا بدست آمد و روشن گردید IgM تک واحدی، بخش قابل توجهی از ایمونوگلوبولین سرم را به خود اختصاص می‌دهد. ایمونوگلوبولین چند واحدی نیز از نظر تعداد واحدها توزیع متفاوتی دارد ولی بخش عمده آن به صورت چهار واحدی است. اشکال مولکولی IgM مخصوصاً نوع تک واحدی، رفتار همگونی در کروماتوگرافی تعویض یون ندارد و به ۲ تا ۳ بخش از نظر نقطه ایزوالکتریک قابل تقسیم است و بیش از یک نوع زنجیره سبک در ساختمان ایمونوگلوبولین این گونه از ماهی وجود دارد. این ناهمگونی ساختاری در ایمونوگلوبولین می‌تواند ناشی از وجود بیش از یک ژن برای تولید زنجیره سبک یا سنگین آنتی بادی و یا تغییرات پس از نسخه برداری ژن یا ترجمه mRNA باشد که در صورت مطالعات بیشتر می‌توان به روشن ساختن بسیاری از نکات آن پرداخت.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری صمیمانه ریاست و پرسنل محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری در اجرای این تحقیق قدردانی نمایند.

## منابع

کلباسی، م.ر.، ۱۳۷۹. ایمن‌سازی و مطالعه پاسخ ایمنی در تاس ماهی ایرانی. رساله دکترا شیلات. دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس. ۸۵ صفحه.

Acton, R.T. ; Weinheimer, P.F. ; Hall, S.J. ; Niedrmeier, W. ; Sheiton, E. and Bennett, J.C. , 1971. Tetrameric immune macroglobulins in three orders of bony fishes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 68, pp.107-111.

- Adkison, M.A. ; Basurco, B. and Hedrick, R.P. , 1996.** Humoral immunoglobulins of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*: partial characterization of and recognition with monoclonal antibodies. Dev. Comp. Immunol. Vol. 20, pp.285-298.
- Bourmaud, C.A. ; Romestand, B. and Bouix, G. , 1995.** Isolation and characterization of IgM-Like seabass immunoglobulin. Aquaculture, Vol. 132, pp.53-58.
- Bradford, M.M. , 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. Vol. 72, pp.248-254.
- Havarstein, L.S. ; Aasjord, P.M. ; Ness, S. and Endersen, C. , 1988.** Purification and partial characterization of an IgM-Like serum immunoglobulin from Atalatic Salmon. Dev. Comp. Immunol. Vol. 12, pp.773-785.
- Hordvik, I. , 1998.** The impact of ancestral tetraploidy on antibody heterogeneity in salmonid fishes. Immunological Rev., Vol. 166, pp.153-157.
- Laemmli, U.K. , 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, Vol. 227, pp.680-685.
- Partula, S. and Charlemagne, J. , 1993.** Characterization of serum immunoglobulins in chondrosteian fish, *Acipenser baeri*. Dev. Comp. Immunol. Vol. 17, pp.515-524.
- Partula, S. ; Schwager, J. ; Timmusk, S. and Pilstrom, I. , 1996.** A second immunoglobulin light chain isotype in the rainbow trout. Immunogenetics, Vol. 45, pp.44-51.
- Press, C. , 1998.** Immunology of fishes. Immunoglobulins *In*: Handbook of

---

vertebrate immunology. (Eds. P.P. Pastoret ; P. Gnebel ; H. Bazin and A. Govaerts). Academic Press, london, UK.pp.16-25.

**Reinisch, C.L. and Litman, G.W. , 1989.** Evolutionary immunology. Immunology Today, Vol. 10, pp.287-280.

**Wilson, M.R. and Warr, G.W. , 1992.** Fish immunoglobulin and the genes that encode them. Ann. Rev. Fish Dis., Vol. 2, pp.201-221

# Purification and Partial Characterization of Serum Immunoglobulin from Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*)

Kalbassi M.R.<sup>(1)</sup> ; Mostafaie A.<sup>(2)</sup> and Majidi J.<sup>(3)</sup>

kalbas\_m@modares.ac.ir

- 1- Faculty of Natural Resources and Marine Science, Tarbiat Modarres University, P.O.Box: 46414-356 Noor, Iran
- 2- Research Center of Medical Biology, Kermanshah University of Medical Sciences, P.O.Box: 67145-1568 Kermanshah, Iran
- 3- Immunology School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, P.O.Box: 151576-43161 Tabriz, Iran

Received : January 2002

Accepted : September 2003

**Key words :** *Acipenser persicus*, Immunoglobulin, Purification, Serum, Caspian Sea, Iran

## ABSTRACT

In this study, immunoglobulins from serum of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) were purified and partially characterized. Immunoglobulins were purified from the pooled sera by a combination of salt precipitation, ion-exchange chromatography and gel filtration methods. DEAE sepharosefast flow and sepharose CL-6B columns were used for ion exchange-chromatography, and gel filtration, respectively. The purity, molecular weight and molecular distribution of the immunoglobulin preparations was determined by gel electrophoresis (SDS-PAGE) in reducing and non-reducing situations.

In gel filtrated immunoglobulins two distinct peaks, high molecular weight

(HMW Ig) and low molecular weight (LMW Ig) were obtained. Both HMW Ig and LMW Ig had identical heavy and light chains of 72-75 KDa and 27-29 KDa, respectively, in reducing SDS-PAGE. HMW Ig contained a group of bands, including two major bands in non-reducing SDS-PAGE. In contrast LMW Ig contain more than half of the total immunoglobulin, was 190 KDa. In ion exchange chromatography, immunoglobulins were eluted in three peaks. The first was exclusively monomer and others were mixture of monomer and polymers.

This is the first report on persian sturgeon immunoglobulins. Results of this investigation showed that persian sturgeon immunoglobulins was not homogenous in respect of molecular distribution, PI and the type of light chain. The presence of more than one genes for light and/or heavy chains or post transcriptional and/or post modifications may be responsible for these variations.