شناسایی دو گونه همجای
Mus macedonicus R&R 1983 & Mus musculus L.1766
(Muridae , Rodentia)

جمشید درویش

دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

چکیده

در مآخذ مربوط به فون ایران فقط یک گونه از جنس Mus به نام موش خانگی M.musculus L. 1766 گزارش شده است. حال آنکه مطالعه ژنتیک بیوشیمیائی انجام شده در مورد ۱۸ جایگاه ژنی مربوط به موشهای منطقه قزوین به روش الکتروفورز افقی روی ژل نشاسته نشان میدهد که در این منطقه دوگونه زیستی همجا (Sympatric) وجود دارد: گونه موش خانگی معمولی M.musculus که بصورت همزیست با انسان در داخل شهر قزوین و گونه دیگر موش مقدونیه M.macedonicus که دور از محیط زیست انسان، در حاشیه جویبارهای روستای دستجرد قزوین (´۱۵ °۳۶ عرض شمالی ´۴۵ °۴۹ طول شرقی و ارتفاع ۱۳۱۰ متر از سطح دریا) یافت می‌شود.

J.of Sci. Univ. Tehran, Vol 21 (1995), no 1, p.1-9

Presence of two sympatric species of Mus musculus L 1766 and Mus macedonicus R&R 1983 (Muridae. Rodentia) in Qazvin region IRAN.

Jamshid Darvish

Dept. of Biology, Faculty of Science Ferdowsi Unirersity of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

The refrences which concern Iranian Fauna admit the presence of one species from genus Mus which is called Mus musculus L. 1766.

However our studies of Biochemical Genetics of some individual from Qazvin city and

Dastjerd village (Lat. 35°15′ N and Lon. 49°45′ E) which are based on the technique of starch Gel Electroforesis, Indicate that there are two species of Gnus Mus "Mus musculus Linnaeus 1766 and Mus mecedonicus Petrov and Ruzic 1983 in sympartic at this region where M. macedonicus exist outdoors and M.musculus indoors.

مقدمه

وجود گونه موش خانگی Mus musculus مورد تأئید کلیه محققین مربوط به فون ایران میباشد. لیکن از مدتها پیش به وجود موشی با دم کوتاهتر از سر وبدن که بصورت وحشی در نواحی جنوب غرب دریای خزر و شمال غربی ایران زندگی می‌کند در کتب و مقالات مربوط به فون ایران اشاره شده است. بعضی از محققین این موش را متعلق به گونه موش خانگی، زیر گونه M.m.spicilegus دانسته‌اند [1,2,3] بعضی دیگر آنرا متعلق به موش ابوتی M.abbotti [4] یا موش گنبدساز M-spicilegus زیرگونه M.s. tataricus دانسته‌اند. [5]

بنابراین بین مؤلّفین مختلف در رابطه با موضع تاکسونومیکی موش دم کوتاه شمال غرب ایران اتفّاق نظر وجود نداشته و مطالعات مورفولوژیک و بیومتریک نتوانسته‌اند این مشکل را حل کنند. لذا به کمک مطالعات ژنتیکی نمونه‌ها با استفاده از روش الکتروفورز ژل نشاسته و مقایسه نتایج با داده‌های مربوط به سایر گونه‌ها این مشکل حل شده است.

محل نمونه برداری :

تعداد ۴ نمونه موش خانگی دم بلند از داخل شهر قزوین و ۲ نمونه موش دم کوتاه از حاشیه روستای دستجرد واقع در جنوب قزوین به روش تله‌گذاری جمع‌آوری شده است.

روش مطالعه :

با استفاده از روش الکتروفورز ژل نشاسته پروتئینهای آنزیمی و غیر آنزیمی از دیدگاه ژنتیک بیوشیمیائی جمعیت‌ها بررسی شده است.

اصول الکتروفورز

پروتئینها نتیجه ارتباط و ترکیب اسیدهای آمینه‌اند و قادرند در یک محلول اسیدی یا بازی یونیزه شوند. لذا بارکلی هر پروتئین ناشی از بار اسیدهای آمینه باردار موجود در آن است که سبب می‌شود در یک میدان الکتریکی بر اساس وزن ملکولی شکل فضائی و بار الکتروفورتیک به سوی قطب مثبت یا منفی حرکت کنند.

این روش به ما امکان میدهد تا تغییرات موجود در بار الکتریکی پروتئین‌ها راکه محصول فعالیت ژنهای ساختاری هستند و دارای کنش آنزیمی یا غیرآنزیمی می‌باشند مطالعه کرده تغییرات حادث در ساختمان اولیه هر پروتئین را مشخص نمائیم و نهایتاً بر اساس آن میزان پولی مرفیسم آنزیمی و ژنتیکی موجود در یک جمعیت رابرآورد کنیم.

همچنین اختلافات تاکسونومیکی بین نمونه‌های متعلق به گونه‌های متفاوت را نمایش دهیم. اکنون ۵۰ سال پس از آنکه مایر رده‌بندی نوین را پایه‌گذاری نموده ژنتیک بیوشیمیائی به کمک الکتروفورز توانسته مسئله گونه (مکانیزمهای گزینشی و گونه‌زائی) را از دیدگاهی کاملاً و اساساً جدید مورد مطالعه و بررسی قرار دهد.

تهیه نمونه‌ها

a) تشریح :

موش را به کمک اتر بیهوش می‌کنیم سپس شکافی در ناحیه سینه جانور ایجاد می‌نمائیم و پس از مشخص شدن قلب آنرا باز نموده خون را در ظرف کوچکی که حاوی یک قطره هپارین ۵٪ است می‌ریزیم و قدری بهم میزنیم تامنعقد نشود. سپس کلیه‌ها، قلب و کبد جانور را جدا نموده ودر ۷۰C نگهداری میکنیم و طول دم و سر وتنه جانور را اندازه میگیریم و بعداً جمجمه جانور را جدا نموده تمیز می‌کنیم.

b) تهیه پلاسما و همولیزا

خون بدست‌آمده از هر نمونه را جداگانه با حجم برابر محلول کلرورسدیم ۸/۵ در هزار رقیق می‌کنیم و در لوله سانتریفوژ میریزیم

سپس در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در ۴°C سانتریفوژ می‌کنیم. بدین صورت پلاسمای خون را که محلولی نسبتاً شفاف و بی‌رنگ است جدا می‌کنیم و آنرا بلافاصله در ۷۰°C- ذخیره می‌کنیم سپس قسمت رسوب شده در لوله سانتریفوژ را طی ۳ مرحله متوالی در ده برابر حجم کلرورسدیم ۸/۵ در هزار با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه شستشو میدهیم. پس از آخرین شستشو، گلبولها را باضافه نمودن یک حجم آب مقطر فاقد یون همولیز می‌کنیم و به کمک تلوئن چربیهای موجود در همولیزا را از بین می‌بریم و آنرا با سرعت ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ میکنیم تا همولیزای خالص بدست آید و آنرا در ۷۰°C- ذخیره می‌کنیم.

c) تهیه هموژنای اندامها:

اندامها را به طور جداگانه در داخل لوله سانتریفوژ قرار میدهیم، سپس بوسیله میلهٔ شیشه‌ای آنها را خرد می‌کنیم و اندام خرد شده را در محلول هموژنا ($Tris\text{-}EDTA+NADP+H_2o$) با PH برابر ۶/۸ قرار میدهیم دو برابر جحم اندام خرد شده آب مقطر فاقد یون و ۱/۲ حجم آن تلوئن اضافه می‌کنیم. سپس محلول حاصله را در ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای C ۴° سانتریفوژ می‌کنیم و قسمت فوقانی راکه مایع است جدا نموده ودر C ۸۰°- ذخیره می‌کنیم.

سوار نمودن دستگاه الکتروفورز :

a) تهیه ژل نشاسته :

نشاسته سیب زمینی بندر و هوباین (Bender & Hubein) را به کمک روش مورتی (۱۹۷۵) هیدرولیز می‌کنیم. سپس ۴۸ گرم نشاسته هیدرولیز شده در ۴۰۰cc بافر انتخاب شده (با توجه به نوع پروتئین مورد مطالعه) در ارلن ریخته، حرارت می‌دهیم تا آنکه به حالت ویسکوز درآید سپس هوای ژل را به کمک خرطوم آبی خارج می‌نمائیم و ژل حاصل را در قالب‌های پلاستیکی به ابعاد ۱×۲۱×۹۱ سانتیمتر میریزیم و در هوای آزمایشگاه یا داخل یخچال قرار می‌دهیم تا سرد شود و روی آنرا بوسیله ورق پلاستیکی نازک می‌پوشانیم تا خشک نشود. ژل حداقل ۱۲ ساعت باید در محیط آزمایشگاه بماند.

b) قرار دادن نمونه‌ها

قبل از شروع الکتروفورز نمونه‌های پلاسما، همولیزا و هموژنارا از فریزر یا ازت مایع خارج می‌کنیم و قطعات کاغذ واتمن نمره ۳ که به ابعاد ۱۰×۴mm بریده شده به آنها آغشته می‌کنیم. سپس در یک طرف ژل نشاسته شکافی طولی ایجاد میکنیم و کاغذ واتمن متعلق به هر نمونه را از سمت چپ به ردیف در داخل آن قرار میدهیم البته نخستین نمونه متعلق به موش استاندارد / C57 BL 6j است. سپس در مسیر شکاف نمونه‌ها بوسیله اسپاتول مقداری برومونفول (Bromophenol) ریخته می‌شود تا حداکثر سرعت حرکت مواد داخل ژل را در جریان عمل دستگاه الکتروفورز نشان دهد.

c) شروع بکار دستگاه

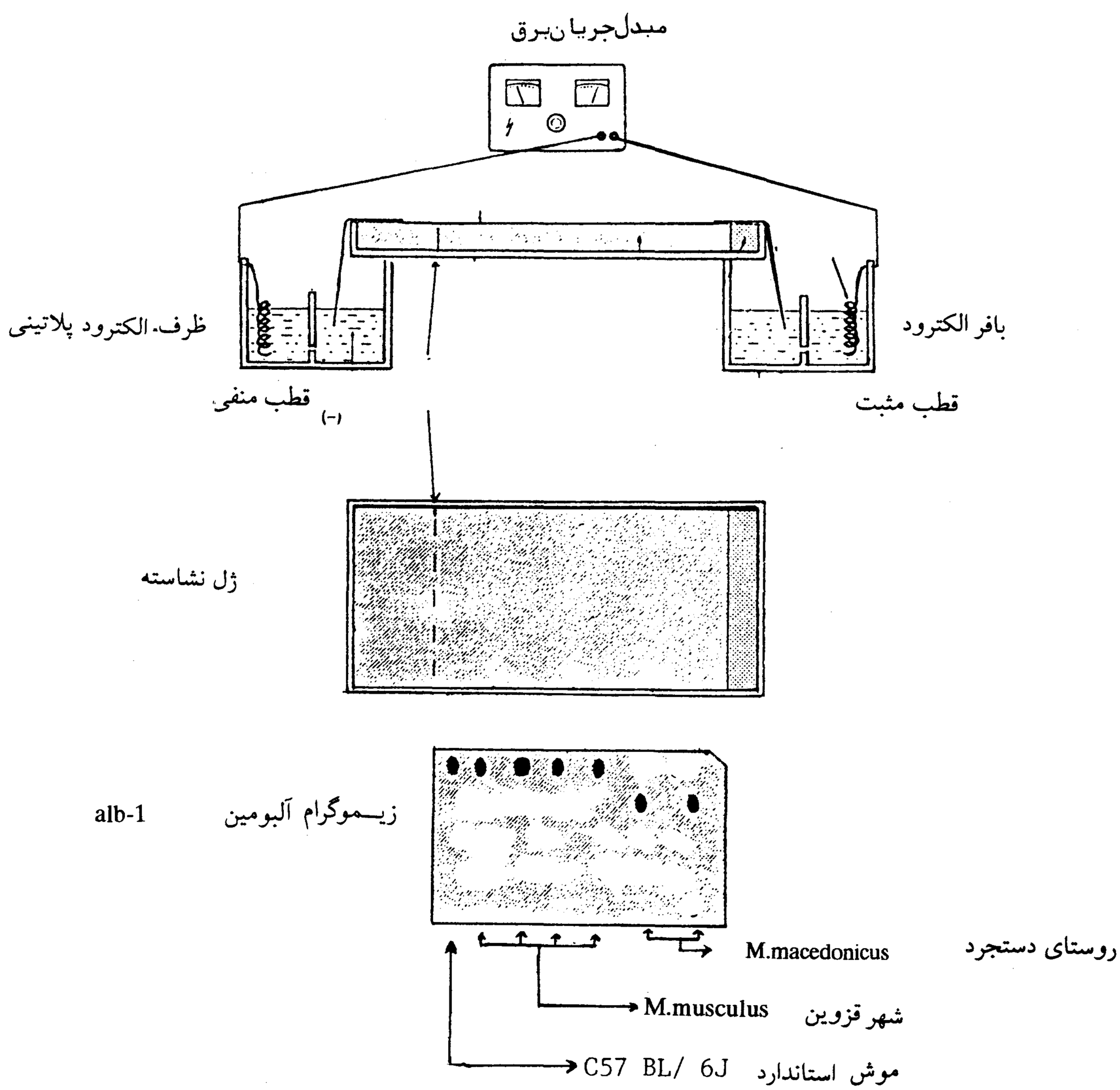
دو ظرف مکعب مستطیل انتخاب و بافر مربوط به سیستم الکتروفورز را در درون آنها می‌ریزیم (ضمیمه) سپس داخل ظروف مذکور الکترود پلاتینی قرار می‌دهیم و قالب ژل را روی دو لبه ظروف الکترود مطابق (شکل ۱) سوار می‌کنیم و به کمک اسفنج پارچه‌ای بین محلول بافر الکترودها و لبه ژل ارتباط برقرار میکنیم. لازم به یادآوری است که نمونه‌ها در سمت قطب منفی دستگاه قرار می‌گیرندسپس الکترودها به مبدل جریان وصل میشوند. در آغاز کار جریان ۱۲۰-۱۰۰ ولت و شدت جریان حدود ۷۰ MA میباشد ولی تدریجاً ولتاژ به ۲۰۰ ولت افزایش می‌یابد. برای جلوگیری از داغ شدن ژل روی آن صفحه شیشه‌ای گذاشته می‌شود و سپس تشتک حاوی یخ خرد شده روی آن گذاشته می‌شود و در زیر ژل نیز ظرف یخ گذاشته می‌شود. [6]

رنگ‌آمیزی و ثبوت ژل

پس از آنکه نوار آبی رنگ برومونفول به ۴ سانتیمتری لبه مقابل ژل نشاسته رسید، مبدل برق را خاموش نموده قالب ژل را برمی‌داریم و سپس ژل را از داخل قالب درآورده روی صفحه برش قرار می‌دهیم و بوسیله اره پلاتین آنرا به لایه‌هائی به ضخامت ۲mm میبریم و هر لایه را در داخل ظرف رنگ‌آمیزی جداگانه قرار

می‌دهیم.بدین صورت ۳ الی ۴ برش قابل استفاده تهیه می‌شود که می‌تواند برای مطالعه ۳ الی ۴ نوع آنزیم یا پروتئین استفاده شود.

برای رنگ‌آمیزی الوزیم‌ها و یا پروتیئن‌ها (از قبیل آلبومین یا هموگلوبین) با استفاده از دستور مربوطه (ضمیمه مقاله) ژل را رنگ‌آمیزی می‌کنیم. پس از ظاهر شدن الوزیم‌ها آنرا در محلول ثبوت (ضمیمه مقاله) قرار میدهیم. پس از مدتی ژل را با آب مقطر میشوئیم و زیموگرام را بر اساس مفاهیم مربوط به ژنتیک بیوشیمیائی مطالعه می‌کنیم [6].



شکل ۱ : نمایش چگونگی سوار نمودن دستگاه الکتروفورز و زیموگرام آلبومین یک

نتایج مطالعه الکتروفورزی

مطالعه ۱۸ جایگاه ژنی نشان میدهد که ۵ جایگاه ژنی در موشهای دستجرد دارای آللهائی هستند که در موشهای شهر قزوین و موش خانگی سایر مناطق جغرافیائی (M.musculus) یافت نمی‌شود. این آللها عبارتند از , Es-2^{107} , Es-3^{70} , Es-12^{110} , Es-1^{b} , Alb^{98} آللهای مذکور دارای حالت مونومورف و معرف جدائی تولید مثلی بین نمونه‌های روستای دستجرد و گونه موش‌خانگی M.musculus [7] است. جایگاه ژنی Es-3 دارای حالت پولی مورف می‌باشد. (جدول ۱)

توضیح اینکه: اعداد و حروف معرف میزان حرکت الوزیمهای

نمونه‌های مطالعه شده از قزوین و روستای دستجرد در مقایسه C 57 BL/ 6 J ,- انتخاب شده است.
با میزان حرکت الوزیمهای سویه خالص موش

جدول ۱ـ مقایسه اشکال اللی جایگاههای ژنی مطالعه شده در موشهای شهر قزوین و روستای دستجرد

جایگاه ژنی Locus	مشخصات	نوع نمونه	سیستم بافر	M.musulus		M.macedonicus	
				اروپا	ایران	بلغارستان	ایران
				Bonhomme et al(1978)	شهرقزوین	Orsini(1983)	روستای‌دستجرد
1	alb-1	پلاسمای خون	LioH	100	100	98	98
2	Hbb	همولیزای خون	Tris-Hcl	s.d	s,d	d	d
3	Es-1	هموژنای خون	LioH	a	a,b	b	b
4	Es-2	"	LioH	100.98	100	107	107
5	Es-3	"	LioH	102	102	90-70	100 70
6	Es-12	همولیزای خون	LioH	90-100	-	110	110
7	Ldr-1	هموژنای کبد	Tris-citrate I	a.b	a,b	a.b	a
8	Adh	هموژنای کلیه	Phosphat-citrate	100-35	100	35	35
9	Ldh-A	"	Tris-citrat II	100	100	100	100
10	Ldh-B	"	"	100	100	100	100
11	Idh-1	"	"	a,b	a,b	100	100
12	Idh-2	"	"	100	100	100	100
13	Mor-1	"	"	100	100	100	100
14	Mot-2	"	"	100	100/120	100	100
15	Got-1	"	"	100	100	100	100
16	Got-2	"	"	S,F	F	F	F
17	Gpd	"	"	100	100	-	-
18	Ipo	"	"	100,80	100	100	100

Alb-1 : آلومین
Hbb : هموگلوبین
Es - 1 : استراز ۱
Es - 2 : استراز ۲
Es - 3 : استراز ۳

Idh - B : کدکننده آنزیم لاکتات دزئیدروژناز
Idh - 1 : ایزوسیترات دزئیدروژناز ۱
Adh : الکل دزئیدروژناز
Idh - 2 : ایزوسیترات دزئیدروژناز ۲
Mor - 1 : مالات دزئیدروژناز ۱
Got - 1 : گلوتامیک اوکسالواستیک ترانس آمیناز

Es -12 : استراز ۱۲

Ldr - 1 : جایگاه ژنی تنظیم کنندهٔ آنزیم لاکات دزئیدرورژناز

Ldh - A : قسمت کدکننده آنزیم لاکتات دزئیدروژناز

Got - 2 : گلوتامیک اوکسالواستیک ترانس آمیناز

α-Gpd : آلفاگلسیروفسفات دزئیدروژناز

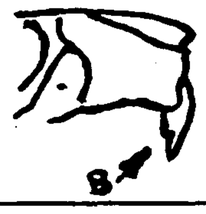
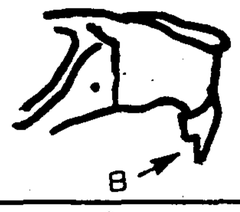
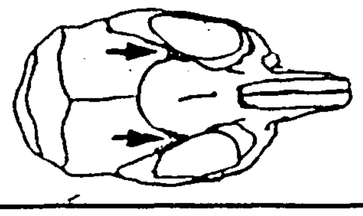
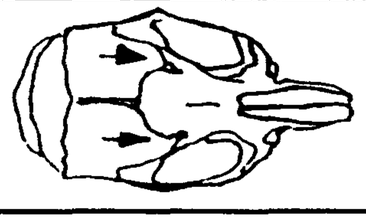
Ipo : ایندوفنول اکسیداز

* در مورد سیستمهای بافرژل، الکترود و رنگ‌آمیزی به ضمیمه انتهای مقاله رجوع شود.

مطالعه صفات مورفومتریک و مورفولوژیک

نمونه‌های مربوط به شهر قزوین دارای رنگ موهای پشت خاکستری روشن و موهای شکم سفید برفی است نسبت طول دم به سروبدن ($C= \frac{\text{طول دم}}{\text{طول سر وبدن}} \times ۱۰۰$) در آنها بین ۹۱٪ تا ۱۰۶٪ است.

نمونه‌های مربوط به روستای دستجرد دارای رنگ موههای پشت قهوه‌ای روشن و رنگ شکم سفید است. نسبت طول دم به سروبدن در آنها ۷۶٪ تا ۸۱٪ می‌باشد. همچنین این نمونه‌ها در مقایسه با موشهای شهر قزوین دارای دندان پیشین فوقانی با بریدگی داخلی کم عمق‌تر، بال شکمی استخوان آهیانه‌ای عمیق‌تر و مثلثی، صفحه ماضغه‌ای عریض‌تر است و دوّمین دندان آسیای آرواره بالای آنها دارای برجستگی شماره۳ کاملاً مشخص است و اثر برجستگی tE روی دومین دندان آسیای تحتانی دیده نمی‌شود (شکل ۲)

گونه / صفات ریختی	M.macedonicus روستای دستجرد	M.musculus شهر قزوین
اثر سومین برجستگی روی دومین دندان آسیای فوقانی		
اثر برجستگی قدامی لبی (CAL) و برجستگی tE روی دومین دندان آسیای تحتانی		
صفحه شکمی کمان ماضغه‌ای A بریدگی دندان پیش B		
بال شکمی استخوان آهیانه‌ای		

شکل ۲ : نمایش اختلافات مورفولوژیک در ۴ نمونه متعلق به گونه M.musculus و دو نمونه متعلق به گونه M.macedonicus منطقه قزوین (صفات مورد نظر با پیکان نشان داده شده است)

بحث و نتیجه گیری

سابقاً محققین موشهای دم کوتاه و دم بلند نواحی جنوب‌غربی دریای خزر را دو تیپ متفاوت از گونه موش خانگی دانسته و در زیر گونه‌های مختلف جای داده‌اند. حال آنکه این عمل با تعریف زیر-گونه مطابقت ندارد. زیرا زیر-گونه دارای مفهوم جغرافیائی است و به جمعیت‌هایی از این گونه گفته میشود که در یک منطقه جغرافیایی وجود دارند و با جمعیت‌های سایر مناطق از نظر بعضی صفات ریختی و مقیاسی و ظاهری اختلاف آماری دارند. بنابراین موش دم کوتاه و موش دم بلند منطقه قزوین نمی‌توانند زیر-گونه‌های یک گونه تلقی شوند، مگر آنکه آنها را مورفوتیپ‌های یک جمعیت به

شمار آوریم. در این صورت هر دو متعلق به یک زیر-گونه خواهند بود. حال آنکه با توجه به تفاوت ژنتیکی و مورفولوژیکی موشهای شهر قزوین و روستای دستجرد بایست پذیرفت که این دو متعلق به دو گونه متفاوتند موش دم بلند شهر قزوین همانطور که قبلاً گفته شد متعلق به گونه موش خانگی M.musculus است ولی موش دم کوتاه روستای دستجرد متعلق به گونه دیگری است و همانطور که در پیشگفتار مقاله اشاره شد هر یک از محققین آنرا به گونه‌ای خاص نسبت داده‌اند. معهذا موش دم کوتاه روستای دستجرد، متعلق به گونه M.musculus نبوده بلکه به یکی از گونه‌های M.macedonicus یا M.spicilegus تعلق دارد که هر دو دارای طول دم کوتاه‌تر از بدن هستند. از آنجا که موش گنبدساز یا M.spicilegus مربوط به نواحی شمالی اروپای مرکزی و شرقی و موش مقدونیه M.macedonicus مربوط به نواحی اروپای جنوب‌شرقی است. نظر به اینکه این دو گونه از نظر صفات ظاهری بهم شبیه هستند و در قسمتی از دامنه پراکندگی خود در اروپا (یونان، بلغارستان و رومانی) حالت همجا دارند، به عنوان دو گونه همزاد (Sibling species) شناخته می‌شوند و تشخیص افراد متعلق به هر یک از این دو نیاز به مطالعات ژنتیکی دارد. به همین سبب برای شناسائی موش دم کوتاه روستای دستجرد و همچنین اثبات جدائی آن از موش دم بلند شهر قزوین از روش الکتروفورز استفاده شده است. مقایسه داده‌های ژنتیکی موشهای منطقه قزوین با مشخصات الوزیمی گونه‌های مختلف جنس Mus نشان میدهد که موشهای خانگی شهر قزوین به گونه M.musculus و موشهای دم کوتاه روستای دستجرد متعلق به گونه موش مقدونیه M.macedonicus میباشد. [7,8,9,10,11,12] بدین صورت اسامی زیر-گونه‌ای M.m.spicilegus, M.s.tataricus در مورد موش دم کوتاه قزوین از درجه اعتبار ساقط می‌شود و مشخص میگردد که در منطقه قزوین گونه‌های M.musculus و M.macedonicus به صورت همجا زیست می‌کند ولی اکوتیپهای متفاوت دارند، زیرا موش خانگی همزیست با انسان است حال آنکه موش مقدونیه به صورت وحشی در نواحی دارای آب و هوای مدیترانه‌ای معتدل و نیمه خشک زندگی می‌کند و ظاهراً نواحی جنوب غربی دریای خزر محدود شرق دامنه پراکندگی آن محسوب می‌شود.

References

[1] Ellerman,J.R.,Morrison, and scott, T.C.S.; Checklist of Palaearctic and Indian mammals; London British Mumseum (1951)(Nat-Hist).

[2] Misonne, X.; Analyse zoogeogr aphique des Mammifères de l'Iran; Institut Royal des sciences Naturels de Belgique- Memoires (1959) Deuxième série, Fasic. 59.

[3] Darviche,Dj., Benmehdi,F.,Britton-Davidian, J.and Thaler L.;Données préliminaires sur la systématique Biochimique des genres Mus et Apodemus en Iran;Mammalia, **43** (1979) 427-429.

[4] Marshall, J. T.and SAGE,R.D.; Taxonomy of the house mouse symp; zool, Soc., London, **477** (1981) 12-25.

[5] Marshall,T.; Systematics of the genus Mus Curr, top. top.; in Microbiol Immunol, **127** (1986) 12-18.

[6] Pasteur, N., Pasteur,G.,Bonhomme,F. Catalan, and Britton-Davidian, J.; Manuel tecnique de génétique par electrophorèse des proteines; Lavoisier Tec-and Doc.Paris (1987)

[7] Bonhomme, F., Brittion- Davidian, J.,Thaler, L.and Triantaphylidis.C.; SUR 1 exiatance en Europe de quatre groupes de souris (Genre Mus L) du rang espèce et semi-espèce, demontré par la génétiqu4e biochimique; C. R. Acad. SC. Paris, **287** (1978) Ser, D"631-633.

genre Mus en Europe central et orientale "1" Genetique; Z. saugetiekunde, **48**; (1983) 78-85.

[9] Bonhomme, F.,Catslan, J.,Britton - Davidian, J., Chapman, V. M.,Chapman, K.,Moriwaki, K.,Nevo, E.and Thaler, L.; Biochemical diversity and evolution in the genus Mus; Biochim,Genet,**22** (1984) 275-303.

[10] Orsini,PH.,Benhomme,F., Brittion - Davidan, J.,Crose, H.,Gerassimov,S.and L.Thaler Le complèxe d'espèces du genre Mus en Europe centrale et orientale. ll Critère d'id- dentification, repartition et caracteristiques écologiques; Z.F.Saugetirkunde,**48** (1983) 86-96.

[11] Auffary,J.C., Tchernove, E.and Nevo.E; Origin of the commensalism of the house (Mouse M.m domesticus) in relation to man; C.R.A cad Sc. Paris, **307** (1988) 517-522.

[12] Auffary,J.C.,Tchernov, E.,Bonhomme,F., Heth,G.,Somson,S.and Nevo E.; Presrnce and ecological distribution of Mus musculus dometicus and Mus "spretoides" in Israel; Circum-Mediterranean vicariance in the genus Mus Z-Saugetierkunde, **55** (1990b) 1-10.

ضمیمه

سیستمهای بافرژل و الکترود

۱ - هیدروکسید لیتیم LioH

بافر الکترود : محلول A

بافر ژل : به نسبت ۱ به ۹ محلول A و B را مخلوط میکنیم.

محلول A : M ۳٪ هیدروکسید لیتیم، M۱۰/۹ اسید بوریک PH=۸/۱

هیدروکسید لیتیم - H_2O	۲/۱g
اسید بوریک	۸۹/۱۱g
آب مقطر فاقد یون	۱۰۰۰ml

محلول B: M ۵٪ تریس M۰/۰۰۸ اسید سیتریک، PH= ۸/۴

تریس	۲/۶g
اسید سیتریک H_2O	۱/۶g
آب مقطر فاقد یون	۱۰۰۰ml

توجه : زمان انجام الکتروفورز با ولتاژ ۲۵۰ حدود ۱/۵ ساعت یا تا زمانیکه خط بورات به اسفنج آند برسد.

۲ - تریس HCL، V ۱۰۰ ۳ ساعت ، C ۴۰

بافر الکترود: M ۰/۳ بورات، PH=۸/۲

اسید بوریک	۱۸/۵۵g
هیدروکسید سدیم	۲/۴g
آب مقطر فاقد یون	۱۰۰۰ml

بافر ژل M: ۱٪ تریس HCL، PH=۸/۵

تریس HCL ۱/۲۱g

PH را توسط اسد کلریدریک M۱ تنظیم نمائید.

توجه : زمان انجام الکتروفورز با ولتاژ ۲۵۰ حدود ۱/۵ ساعت است.

۳ - تریس - سیترات پیوسته I

بافرالکترود: M۰/۲۲۳ تریس، M۸۶٪اسیدسیتریک، PH=۶/۳

تریس	۲۷g
اسید سیتریک H_2O	۱۸/۰۷g
آب مقطر فاقد یون	ml۱۰۰۰

PH را توسط هیدروکسید سدیم 1M تنظیم نمائید.

توجه: زمان انجام الکتروفورز با ولتاژ ۱۷۰ حدود ۳ ساعت میباشد.

۴ - تریس - سیترات پیوسته II

بافرالکترود: M۰/۶۷۸تریس، M۰/۱۵۷ اسید ستریک، PH=۸

تریس	۲/۸۳g
اسید ستریک H_2O	۳۰g
آب مقطر فاقد یون	۱۰۰۰ml

بافرژل: mM ۲۲/۸۹ تریس، mM ۵/۲۲ اسید ستریک، PH=۸

تریس	۲/۷۷g
اسید ستریک H_2O	۱/۱g
آب مقطر فاقد یون	۱۰۰۰ml

توجه: زمان انجام الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰ حدود ۴ ساعت می‌باشد.

۵ - فسفات - سیترات

بافرالکترود: M۰/۲۱۴فسفات‌پتاسیم، M۲۷٪اسیدسیتریک، PH=۶/۷

فسفات پتاسیم بازیک	۲۹/۱g
اسید سیتریک H_2O	۵/۷g
آب مقطر فاقد یون	۱۰۰۰ml

بافرژل: mM۶/۰۷فسفات‌پتاسیم، mM۱/۲۱اسیدسیتریک، Ph=۷

هیدروکسید پتاسیم دی‌بازیک	۱۰/۶g
اسید سیتریک - H_2O	۰/۲۵۴g
آب مقطر فاقد یون	۱۰۰۰ml

;fn5,1

توجه : زمان انجام الکتوروفورز با ولتاژ ۱۰۰ حدود ۵ ساعت است.

سیستمهای رنگ‌آمیزی پروتئینها

۱ - پروتئین معمولی: آلبومین، هموگلوبین

آبی کوماسی	۱۰g
متانول	۴۵۰ml
آب فاقد یون	۴۵۰ml
اسید استیک	۱۰۰ml

استرازها: ES-12, ES-5, ES-3, ES-2, ES-1

تریس	۴۹ ml PH=8با 0/2 M-Hcl
الفانفتیل پروپیونات ۱٪ دراستون	۱ml
نمک فست بلو RR	۲۵mg

محلول: ۳۷ ۰C نگهداری شود.

۳ - دزئیدروژنازها: LDR-1, LDH-B, LDH-A

تریس	۲۰ml PH= 8ml با 2% M Hcl
آب مقطر فاقد یون	ml۳۰
لاکتات لیتیوم ۵٪ M DL	۹ml
NAD +	۲۰mg
NBT	۴mg
PMS	۸mg

توجه: محلول در دمای ۳۷ ۰ C نگهداری شود.

۴ - الکل دزئیدروژناز: ADH-1

تریس	۴۰ ml PH=8 با 0/2M-Hcl
اتانول ۹۵٪	۴ml
NAD +	۳۰mg
NBT	۳۰mg
PMS	۵ mg

توجه: محلول در تاریکی نگهداری شود.

ایزوسیترات دزئید روژناز: ID-1 ID-2

تریس	PH=8 50 ml با 0/2M-Hcl
اسید ایزوسیتریک- DL تری سوده	3ml۰/۱M
کلرو منزیم ۰/۲۵	0/2 ml
NAD +	۱۰mg
NBT	۵mg
PMS	vmg

توجه: در دمای ۳۷ ۰ C نگهداری شود.

۶ - مالات دزئیدروژناز Mor-1 , Mor-2

تریس	30 ml PH=8 با 0/2M-Hcl
اسید مالیک ۲/۰M	5ml
NAD +	10 mg
NAD	20 mg
mg c12	20 mg
NBT	20 mg
PMS	5 mg

توجه: محلول در ۳۷ ۰ C نگهداری می‌شود.

۷-گلوتامات اکسالواستات ترانس‌آمیناز Got-2, Got-1

تریس	50ml PH=8 ،0/2 M ، Hcl
پیریدوکسال-۵-فسفات	0/5 mg
اسید اسپارتیک‌ال	200 mg
اسید æکتوگلوتامیک	100 mg
فست بلو BB	۱۵۰mg

۸ - گلسیروفسفات-دزئیدوژناز α - GPD

تریس	50ml PH=8 ،0/2 M Hcl
گلسیرو فسفات DL دی سوده	50 mg
کلرومنیزیم ۰/۱ M	۱ml
NAD +	۱ml
NBT	13 mg
PMS	40 mg

توجه : در ۳۷ ۰ C نگهداری شود.

۹ - ایندوفنول اکسید از ITPO

تریس	50ml PH=8 0/2 M - Hcl
NBT	15 mg
PMS	10 mg

توجه : محلول برابر نور قرار گیرد.

محلول ثبوت:

اسید استیک	یک قسمت
آب مقطر فاقد یون	۴ قسمت
متانول ۱۰۰٪	۵ قسمت