وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه بین المللی امام خمینی

IMAM KHOMEINI INTERNATIONAL UNIVERSITY

دانشکده فنی و مهندسی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

همسانه سازی ژن GTP سیکلوهیدرولاز I (*gchI*) از گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum* L.)

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی کشاورزی

گرایش بیوتکنولوژی

نگارش:

نفیسه ابوفاضلی

اساتید راهنما:

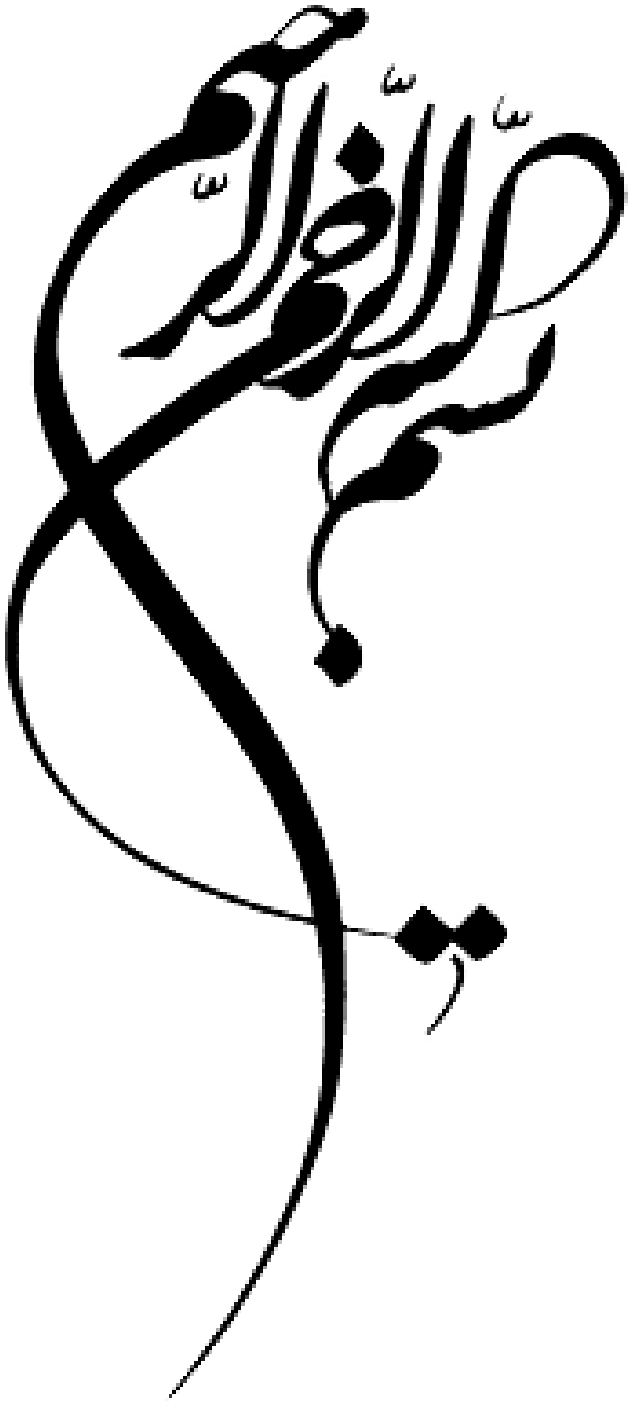
دکتر رحیم حداد

دکتر امیرحسین بیکی

استاد مشاور:

دکتر جعفر احمدی

شهریور ۱۳۸۹



تقدیم به آنانکه:

فکرشان مایه ی آرامش روح و ذکرشان مایه ی روشنی بخش وجودم است.

پدر و مادری که با دست های پر مهرشان زندگی مرا عاشقانه ساختند.

و تقدیم به برادر عزیزم.

با تشکر و سپاس فراوان از:

اساتید بزرگوار آقای دکتر رحیم حداد و دکتر امیرحسین بیکی که با راهنمایی های شایسته خود مـرا در انجام رساندن این پایان نامه یاری نمودند.

استاد گرامی آقای دکتر جعفر احمدی که در تمام این مدت از مشاوره ایشان بهره مند بودم.

اساتید گرامی آقای دکتر مختار جلالی و دکتر قاسمعلی گروسی که قبول زحمت فرمودند و با شـرکت در کمیته داوران مرا مورد عنایت خویش قرار دادند.

استاد گرامی آقای دکتر رامین حسینی که در این راه از هیچ گونه همدلی و کمکی دریغ نفرموده اند.

کارشناس آزمایشگاه بیولوژی گیاهی آقای مهندس سلیمانی.

و با تشکر فراوان از دوست عزیزم خـانم مهنـدس طـاهره رئـوف زاده و کلیـه دوسـتانم در آزمایشـگاه بیولوژی گیاهی.

دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)

معاونت آموزشی – مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم تأییدیه‌ی هیأت داوران جلسه‌ی دفاع از پایان‌نامه/رساله

بدین وسیله گواهی میشود جلسه دفاعیه از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم **نفیسه ابوفاضلی** دانشجوی رشته بیوتکنولوژی گرایش کشاورزی تحت عنوان همسانه سازی ژن GTP سیکلوهیدرولاز I (*gchI*) از گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum*) در تاریخ ۱۳۸۹/۷/۱۳ در دانشگاه برگزار گردید و این پایان نامه با نمره ۱۹/۴۵ و درجه عالی مورد تایید هیئت داوران قرار گرفت.

ردیف	سمت	نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی دانشگاهی	دانشگاه یا مؤسسه	امضا
۱	استاد راهنما	دکتر رحیم حداد	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۲	استاد راهنما	دکتر امیر حسین بیکی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۳	استاد مشاور	دکتر جعفر احمدی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۴	داور خارج	دکتر مختار جلالی	استادیار	دانشگاه تربیت مدرس	
۵	داور داخل	دکتر قاسمعلی گروسی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۶	نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر محمد مهدی ضرابی			

بسمه تعالی

دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)
معاونت آموزشی دانشگاه- مدیریت تحصیلات تکمیلی
(فرم شماره ۲۶)

تعهد نامه اصالت پایان نامه

اینجانب **نفیسه ابوفاضلی** دانشجوی رشته **بیوتکنولوژی کشاورزی** مقطع تحصیلی **کارشناسی ارشد** بدین وسیله اصالت کلیه مطالب موجود در مباحث مطروحه در پایان نامه / رساله تحصیلی خود، با عنوان **همسانه سازی ژن GTP سیکلوهیدرولاز I (*gchI*) از گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum* L.)** را تأیید کرده، اعلام می نمایم که تمامی محتوی آن حاصل مطالعه ، پژوهش و تدوین خودم بوده و به هیچ وجه رونویسی از پایان نامه و یا هیچ اثر یا منبع دیگری، اعم از داخلی، خارجی و یا بین المللی، نبوده و تعهد می نمایم در صورت اثبات عدم اصالت آن و یا احراز عدم صحت مفاد و یا لوازم این تعهد نامه در هر مرحله از مراحل منتهی به فارغ التحصیلی و یا پس از آن و یا تحصیل در مقاطع دیگر و یا اشتغال و ... دانشگاه حق دارد ضمن رد پایان نامه نسبت به لغو و ابطال مدرک تحصیلی مربوطه اقدام نماید. مضافاً اینکه کلیه مسئولیت ها و پیامدهای قانونی و یا خسارت وارده از هر حیث متوجه اینجانب می باشد.

نام و نام خانوادگی دانشجو: نفیسه ابوفاضلی

امضاء و تاریخ

۱۳۹۱/۷/۹

چکیده

یکی از آنزیم هایی که در فرآیند تولید اسید فولیک نقش قابل توجهی دارد، آنزیم GTP سیکلوهیدرولاز I است. با افزایش بیان ژن کد کننده GTP سیکلوهیدرولاز I می توان به گیاهان تراریخته ای دست یافت که دارای میزان بالاتری از این ویتامین می باشند. با توجه به اینکه ژن GTP سیکلوهیدرولاز I در بافت میوه گوجه فرنگی بیان می شود، ابتدا RNA کل در مرحله سبز، از بافت میوه گوجه فرنگی استخراج گردید و پس از سنتز cDNA، با استفاده از فن آوری واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) و آغازگرهای اختصاصی، ژن GTP سیکلوهیدرولاز I (*gchI*) تکثیر شد. در مرحله بعد، به منظور تخلیص و نگهداری ژن *gchI*، درون فاژمید pBluescript همسانه سازی گردید و سازه حاصل pBlue-GCHI نام گرفت تا بتوان از آن در سایر تحقیقات مولکولی، از جمله انتقال ژن، استفاده نمود. ژن GTP سیکلوهیدرولاز I به طول ۱۳۷۱ bp در جهت سنس، در ناقل دوگانه pBI121 همسانه سازی و ناقل نوترکیب فوق به داخل باکتری اگروباکتریوم pGV3101 انتقال داده شد و بدین ترتیب این ژن برای انتقال به گیاهان مختلف آماده گردید. توالی نوکلوتیدی بدست آمده از ژن GTP سیکلوهیدرولاز I در رقم مِموری ۱، ۹۹ درصد تشابه را با توالی نوکلوتیدی موجود در بانک ژنی NCBI، مربوط به واریته میکروتوم، نشان داد. آنالیز توالی اسید آمینه این ژن با استفاده از نرم افزار EditSeq نشان داد که وزن مولکولی این پروتئین برابر ۵۰ KD می باشد. مقایسه توالی اسید آمینه ای بدست آمده با توالی های ثبت شده در بانک ژنی NCBI مربوط به گیاهان گوجه فرنگی واریته میکروتوم، گندم، جو، آرابیدوپسیس، برنج و ذرت درصد تشابه بین ۵۰ تا ۹۹ درصد را نشان داد.

واژگان کلیدی: فولات، گوجه فرنگی، cDNA، همسانه سازی ژن.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده

فصل اول: مقدمه

۱-۱- ویتامین ها ۱
۱-۱-۱- تاریخچه ۱
۱-۱-۲- انواع ویتامین ها ۳
۱-۱-۳- ویتامین های محلول در آب ۳
۱-۲- اسید فولیک ۴
۱-۲-۱- اهمیت فولات ۴
۱-۲-۱-۱- اسید فولیک و بیماری قلبی ۵
۱-۲-۱-۲- اسید فولیک و سرطان ۶
۱-۲-۱-۳- اسید فولیک و سکته مغزی ۶
۱-۲-۱-۴- اسید فولیک و باروری ۷
۱-۲-۱-۵- اسید فولیک و بارداری ۷
۱-۲-۱-۶- اسید فولیک و آلزایمر ۸
۱-۲-۱-۷- اسید فولیک و ویتامین B_{12} ۸
۱-۲-۲- کمبود اسید فولیک ۹
۱-۲-۳- اثرات جانبی اسید فولیک ۹
۱-۳- ساختمان فولات ۱۰
۱-۴- مسیر بیوسنتزی فولات ۱۲
۱-۴-۱- بخش پترین ۱۳
۱-۴-۲- بخش پارا-آمینو بنزوئیک اسید ۱۵
۱-۴-۳- سنتز فولات از بخش های پترین و پارا-آمینو بنزوئیک اسید ۱۶
۱-۵- منابع فولات ۱۶
۱-۶- گیاه گوجه فرنگی ۱۷

۱-۷- انتقال فولات ۱۸
۱-۸- هیدرولیز فولات ۱۹
۱-۹- همسانه سازی ژن ۲۱
۱-۹-۱- همسانه سازی cDNA ۲۲
۱-۱۰- غنی سازی زیستی ۲۲

فصل دوم: بررسی منابع
۲-۱- مهندسی متابولیکی مسیر سنتز فولات در گیاهان ۲۴
۲-۲- همسانه سازی ژن های موجود در مسیر بیوسنتز فولات ۲۶
۲-۳- افزایش میزان فولات در گیاهان..... ۲۹

ضرورت انجام تحقیق ۳۲

فصل سوم: مواد و روش ها
۳-۱-مواد گیاهی ۳۴
۳-۲- سویه باکتری ۳۴
۳-۳- ناقل ۳۴
۳-۴- آغازگرها ۳۵
۳-۵- تجهیزات آزمایشگاهی ۳۶
۳-۶- محیط های کشت ۳۶
۳-۶-۱- محیط کشت LB ۳۶
۳-۶-۲- محیط کشت SOB ۳۷
۳-۶-۳- محیط کشت SOC ۳۸
۳-۷- محلول ها و معرف ها ۳۸
۳-۷-۱- محلول اتیدیوم بروماید ۳۸
۳-۷-۲- محلول بروموفنول بلو ۳۸
۳-۷-۳- محلول X-gal ۳۹
۳-۷-۴- محلول IPTG ۳۹
۳-۷-۵- محلول های لازم برای استخراج پلاسمید..... ۳۹

۳-۷-۵-۱- محلول قلیایی شماره یک ۳۹
۳-۷-۵-۲- محلول قلیایی شماره دو ۴۰
۳-۷-۵-۳- محلول استات پتاسیم (۵M)..... ۴۰
۳-۷-۵-۴- محلول قلیایی شماره سه ۴۰
۳-۷-۶- رنگ بارگذاری DNA ۴۱
۳-۷-۷- رنگ بارگذاری RNA ۴۱
۳-۷-۸- محلول های آنتی بیوتیک ۴۱
۳-۷-۹- محلول TBE ۴۲
۳-۷-۱۰- بافر استخراج RNA ۴۲
۳-۷-۱۱- بافر الکتروفورز MOPS ۴۳
۳-۷-۱۲- بافرهای کیت تخلیص DNA ۴۳
۳-۷-۱۲-۱- Binding buffer ۴۳
۳-۷-۱۲-۲- بافر شستشو ۴۳
۳-۸- کیت های مورد استفاده ۴۴
۳-۹- ضد عفونی وسایل و محلول های استخراج RNA ۴۴
۳-۱۰- روش ها ۴۴
۳-۱۰-۱- استخراج RNA ۴۵
۳-۱۰-۱-۱- روش RNA کل..... ۴۵
۳-۱۰-۱-۲- روش مبتنی بر CTAB ۴۵
۳-۱۰-۲- اندازه گیری غلظت RNA ۴۶
۳-۱۰-۳- واکنش نسخه برداری معکوس ۴۷
۳-۱۰-۴- واکنش زنجیره ای پلیمراز ۴۸
۳-۱۰-۴-۱- نحوه انجام PCR اختصاصی ۴۸
۳-۱۰-۵ الکتروفورز ژل آگارز-فرم آلدئید ۱/۲ درصد ۴۹
۳-۱۰-۶- الکتروفورز ژل آگارز ۵۰
۳-۱۰-۷- خالص سازی محصولات PCR از ژل ۵۱
۳-۱۰-۸- استخراج پلاسمید ۵۲
۳-۱۰-۹- هضم آنزیمی قطعات DNA وناقل ۵۳
۳-۱۰-۱۰- هضم آنزیمی محصول PCR جهت همسانه سازی ۵۳

۳-۱۰-۱۱- هضم آنزیمی فاژمید pBluescript توسط آنزیم *Bam*HI ۵۴
۳-۱۰-۱۲- تغلیظ DNA با استفاده از اتانول ۵۵
۳-۱۰-۱۳- حذف فسفر پایانه ´۵ ناقل برش شده ۵۶
۳-۱۰-۱۴- همسانه سازی ژن در فاژمید pBluescript ۵۷
۳-۱۰-۱۵- واکنش اتصال قطعه DNA در ناقل ۵۸
۳-۱۰-۱۶- انتخاب نسبت DNA هدف به ناقل ۵۸
۳-۱۰-۱۷- اشرشیاکولی سویه DH5α ۵۹
۳-۱۰-۱۸- آماده سازی سلول های مستعد ۵۹
۳-۱۰-۱۹- تراریختی سویه های اشرشیاکلی ۶۰
۳-۱۰-۲۰- انتخاب باکتری های تراریخت شده ۶۰
۳-۱۰-۲۰-۱- آزمون سفید-آبی ۶۱
۳-۱۰-۲۰-۲- بررسی کلونی ها از طریق PCR ۶۲
۳-۱۰-۲۰-۳- Toothpick Minipreperation ۶۲
۳-۱۱- تعیین جهت ژن همسانه سازی شده در pBluescript ۶۴
۳-۱۲- تعیین توالی ۶۴
۳-۱۳- مطالعات بیوانفورماتیکی ۶۵
۳-۱۴- هضم آنزیمی ناقل دوگانه pBI121 و محصول PCR ۶۵
۳-۱۵- اتصال ژن *gchI* به ناقل دوگانه pBI121 ..... ۶۶
۳-۱۶- انتقال ناقل نوترکیب pBI121 به باکتری مستعد ۶۶
۳-۱۷- استخراج ناقل نوترکیب pBI121 از باکتری *E. coli* ۶۶
۳-۱۸- بررسی ناقل نوترکیب pBI121-GCHI ۶۷
۳-۱۹- انتقال ناقل نوترکیب به اگروباکتریوم ۶۷
۳-۱۹-۱- تهیه سلول مستعد اگروباکتریوم ۶۷
۳-۱۹-۲- انتقال ناقل نوترکیب به سلول های مستعد اگروباکتریوم ۶۸
۳-۱۹-۳- استخراج ناقل نوترکیب pBI121-GCHI از اگروباکتریوم ۶۹
۳-۱۹-۴- بررسی ناقل نوترکیب pBI121-GCHI ۷۰

فصل چهارم: نتایج

۴- نتایج ۷۱

۴-۱- شناسایی ژن GCHI در گیاه گوجه فرنگی ۷۱
۴-۲- طراحی آغازگر ۷۱
۴-۳- استخراج RNA کل ۷۲
۴-۴- واکنش نسخه برداری معکوس و سنتز cDNA ۷۵
۴-۵- واکنش زنجیره ای پلیمراز ۷۶
۴-۶- خالص سازی ژن GCHI از روی ژل آگارز ۷۷
۴-۷- استخراج فاژمید pBluescript ۷۸
۴-۸- هضم آنزیمی ژن GCHI و ناقل فاژمیدی ۷۹
۴-۹- واکنش اتصال ژن GCHI و فاژمید pBluescript ۸۱
۴-۱۰- انتقال فاژمید نوترکیب به سلول مستعد *E. coli* ۸۱
۴-۱۱- تایید فاژمید های نوترکیب ۸۲
۴-۱۲- تعیین توالی cDNA ژن GCHI در فاژمید pBlue-GCHI ۸۵
۴-۱۳- نتایج بررسی و مقایسه توالی و روابط فیلوژنتیکی ۸۹
۴-۱۴- بررسی ساختارهای پروتئینی ژن همسانه سازی شده ۹۰
۴-۱۵- هضم آنزیمی محصول PCR و ناقل دوگانه pBI121 ..... ۹۴
۴-۱۶- همسانه سازی قطعه ژن هدف در ناقل دوگانه pBI121 ..... ۹۵
۴-۱۷- انتقال ناقل نوترکیب pBI121 به سلول های مستعد *E. coli* ۹۶
۴-۱۸- تایید ناقل نوترکیب pBI121 پس از انتقال به سلول های *E. coli* مستعد ۹۷
۴-۱۹- انتقال ناقل نوترکیب pBI121 به سلول مستعد اگروباکتریوم ۹۹

نتایج کلی ۱۰۱
پیشنهادات ۱۰۳
منابع و ماخذ ۱۰۴
پیوست ها ۱۱۴
چکیده انگلیسی ۱۳۰

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

۳-۱- ناقلین مورد استفاده و تهیه شده در این تحقیق ۳۵
۳-۲- آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *gchI* ۳۵
۳-۳- ترکیبات محیط کشت LB ۳۶
۳-۴- ترکیبات محیط کشت SOB ۳۷
۳-۵- ترکیبات محیط کشت SOC ۳۸
۳-۶- ترکیبات محلول قلیایی شماره یک ۳۹
۳-۷- ترکیبات محلول قلیایی شماره دو ۴۰
۳-۸- تریبات محلول قلیایی شماره سه ۴۰
۳-۹- ترکیبات رنگ بارگذاری DNA ۴۱
۳-۱۰- ترکیبات رنگ بارگذاری RNA ۴۱
۳-۱۱- ترکیبات بافر TBE ۴۲
۳-۱۲- ترکیبات و غلظت بافر استخراج RNA ۴۲
۳-۱۳- ترکیبات و غلظت مواد بافر الکتروفورز MOPS ۴۳
۳-۱۴- ترکیبات Binding buffer ۴۳
۳-۱۵- ترکیبات بافر شستشو ۴۳
۳-۱۶- مقدار و غلظت ترکیبات PCR اختصاصی با استفاده از PCR Master Mix ۴۸
۳-۱۷- چرخه حرارتی PCR اختصاصی ۴۹
۳-۱۸- واکنشگرها برای هضم آنزیمی محصول PCR ۵۴
۳-۱۹- واکنشگرها برای هضم آنزیمی فاژمید pBluescript ۵۴
۳-۲۰- ترکیبات واکنش اتصال ۵۸
۳-۲۱- مقدار و غلظت ترکیبات هضم آنزیمی به منظور تعیین جهت ژن همسانه سازی شده ۶۴
۳-۲۲- مقدار و غلظت ترکیبات هضم آنزیمی ناقل دوگانه pBI121 و محصول PCR ۶۵
۴-۱- نتایج اسپکتروفتومتری RNA کل استخراجی از بافت میوه گوجه فرنگی ۷۴

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

۱-۱- ساختار شیمیایی تتراهیدروفولات ۱۱
۱-۲- ساختار شیمیایی اسید فولیک (شکل مصنوعی) ۱۲
۱-۳- مسیر بیوسنتزی تتراهیدروفولات ۱۴
۱-۴- انتقال فولات ها و پیش سازهای آن در گیاهان ۱۹
۱-۵- مکان های فعالیت آنزیم های تجزیه ای ۲۰

۴-۱- الگوی استخراج RNA از میوه سبز گوجه فرنگی ۷۵
۴-۲- سنتز cDNA ژن *gchI* از میوه گوجه فرنگی ۷۶
۴-۳- نتیجه واکنش RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ۷۷
۴-۴- الکتروفورز محصول PCR ۷۸
۴-۵- الکتروفورز ژن *gchI* پس از خالص سازی از ژل ۷۸
۴-۶- فاژمید استخراج شده به روش مینی پرپ قلیایی ۷۹
۴-۷- الکتروفورز محصولات هضم آنزیمی ۸۰
۴-۸- شناسایی کلونی های نوترکیب در محیط کشت SOB جامد به رنگ سفید و غیر تراریخت به رنگ آبی ۸۲
۴-۹- مقایسه اندازه فاژمیدهای حاوی قطعه مورد نظر از فاژمیدهای فاقد قطعه از طریق روش اختلاف اندازه ۸۳
۴-۱۰- تایید فاژمید pBlue-GCHI حاوی DNA هدف با استفاده از روش PCR ۸۳
۴-۱۱- تایید فاژمید pBlue-GCHI با استفاده از روش هضم آنزیمی ۸۴
۴-۱۲- نقشه فاژمید pBlue-GCHI نوترکیب حاوی قطعه ژن هدف ۸۴
۴-۱۳- توالی نوکلئوتیدی و پروتئینی ژن همسانه سازی شده ۸۶
۴-۱۴- مقایسه ترتیب توالی نوکلئوتیدی و پروتئینی ژن همسانه سازی شده با ژن ثبت شده در NCBI ۸۸
۴-۱۵- درخت فیلوژنتیکی ژن همسانه سازی شده ۸۹
۴-۱۶- جایگاه فعال پروتئین GCHI ۹۰
۴-۱۷- نواحی حفاظت شده توالی پروتئینی ژن همسانه سازی شده ۹۱

۴-۱۸- ساختار سه بعدی پروتئین ژن همسانه سازی شده ۹۲
۴-۱۹- ساختار ثانویه ژن همسانه سازی شده ۹۳
۴-۲۰- هضم آنزیمی *Bam*HI و الکتروفورز محصول PCR و ناقل دوگانه pBI121 ..... ۹۴
۴-۲۱- بررسی قطعه ژن *gchI* همسانه سازی شده ۹۵
۴-۲۲- تشکیل کلونی های نوترکیب در محیط کشت LB جامد ۹۶
۴-۲۳- بررسی ناقل نوترکیب pBI121 با آغازگرهای اختصاصی و فن آوری PCR ۹۷
۴-۲۴- الکتروفورز ناقل نوترکیب pBI121 پس از هضم آنزیمی با *Bam*HI و *Sac*I ۹۸
۴-۲۵- کلونی اگروباکتریوم تراریخت شده با ناقل دوگانه نوترکیب pBI121 ..... ۹۹
۴-۲۶- واکشت کلونی های اگروباکتریوم تراریخت شده با ناقل دوگانه نوترکیب pBI121 ..... ۱۰۰

اصطلاحات و اختصارات

PCR	Polymerase chain reaction
cDNA	complementary DNA
RNA	Ribonucleic Acid
LB	Luria-Bertani medium
IPTG	Isopropyl thio- β- D- Galactoside
PVP	Polyvinyl Pyrrolidone
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
X-Gal	5-Bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-Galactoside
DMSO	Dimethylsulfoxide
Amp	Ampicillin
UV	Ultra Violet
ROS	Reactive Oxygen Species
GCHI	GTP Cyclohydrolase I
ADC	4- amino-4-deoxychorismate
pABA	p-aminobenzoate
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
THF	Tetrahydrofolate
DHN	Dihydroneopterin
DHF	Dihydrofolate

فصل اول

مقدمه

۱-۱- ویتامین ها

ویتامین ها[1]، این ترکیبات حیاتی مورد نیاز بدن، مواد آلی و پیچیده ای هستند که مقدار کمی از آنها برای انجام بسیاری از اعمال بدن لازم می باشد. معمولاً فقط چند میکرو گرم یا میلی گرم از ویتامین ها برای تأمین نیازهای روزانه بدن مورد نیاز است، اما این مقدار کم نیز برای سلامتی بدن بسیار ضروری می باشد. از آنجا که بدن انسان قادر به تولید ویتامین ها نمی باشد، لذا نیاز بدن به آنها می بایست مرتباً و به مقادیر لازم توسط مواد غذایی تأمین گردد (لیبرمن و برونینگ[2]، ۱۹۹۰).

گرچه ویتامین ها نقشی در تولید انرژی ندارند، اما اهمیت آنها در انجام پدیده های حیاتی بدن به اندازه ای است که فقدان یا کمبود هر یک از آنها منجر به پیدایش اختلال شدید در یک عضو یا در تمام بدن می گردد. ویتامین ها عملکردهای گوناگونی در بدن دارند، برخی از آنها جزء مهم و ضروری آنزیم ها بوده و برخی دیگر ضد اکسنده هایی هستند که از صدمه رساندن اکسیژن به بدن ممانعت می کنند. عوارض ناشی از فقدان و یا کمبود ویتامین ها و نیز عوارض فزونی ویتامین ها که به علت رژیم غذایی نادرست یا تغذیه غلط و شرایط جسمانی نامطلوب رخ می دهد، در بدن آثاری هستند که به دلیل ناهنجاری واکنش های بیوشیمیایی به صورت بیماری بروز نموده و می توانند به بیماری های ناشی از کمبود ویتامین منجر شوند (بولندر[3]، ۲۰۰۶).

۱-۱-۱- تاریخچه

در تاریخ تغذیه، ویتامین ها بسیار دیر کشف شدند، زیرا اغلب به مقادیر بسیار کمی در غذاها وجود داشته و نیاز روزانه به آنها را با واحد میکرو گرم و میلی گرم اندازه گیری می نمایند. ویتامین ها به طور نامنظمی در غذاها توزیع شده و متعلق به هیچ گروه ویژه ای از ترکیبات آلی نمی باشند. برای تشخیص وجود ویتامین ها، خالص کردن ماده ی شیمیایی، یافتن ماهیت شیمیایی و کشف عملکردهای متابولیکی ویتامین ها، پژوهش های دقیق و بسیار مشکلی انجام

[1] Vitamins
[2] Lieberman & bruning
[3] Bolander

شده است. در ابتدا ویتامین ها از سه راه پژوهشی که همه به یک نتیجه واحد می رسید، یعنی مطالعه ی بیماری ها در مردمی که با رژیم های غذایی بسیار محدود زندگی می کردند، کشف بیماری های مشابه در حیوانات و خوراندن مواد غذایی بسیار خالص در ابتدا به حیوانات و سپس به انسان کشف شدند.

در سال ۱۹۱۲ در بریتانیا و آلمان به طور همزمان این سه راه پژوهشی به یکدیگر رسیده و نتیجه گرفته شد که یک فاکتور ضروری غذایی که پروتئین، چربی، کربوهیدرات و مواد معدنی نیست، به مقدار کم در سبوس برنج، شیر، مخمر و آب کلم صحرائی وجود دارد (کالم[۱]، ۱۹۹۷). به این ماده نام موقتی ویتامین[۲] یعنی آمینی که برای ادامه ی زندگی حیاتی است، داده شد. چون بسیاری از ویتامین ها از نظر شیمیایی آمین نیستند، حرف e از آخر کلمه لاتین ویتامین حذف شد، ولی لغت مزبور باقی ماند (فانک و همکاران[۳]، ۱۹۲۲).

به فاصله کمی از آن مشخص شد که در طبیعت بیش از یک نوع ویتامین وجود دارد. در اواسط دهه ی ۱۹۲۰ روشن شد که آنچه به نام ویتامین "B" شناخته شد در واقع بیش از یک ماده است، از این رو آن را به ویتامین "B_1" و "B_2" تقسیم کردند. تا سال ۱۹۴۵، ۱۰ ماده ی مختلف در ویتامین "B" اولیه پیدا شده و بلافاصله پس از این تاریخ دو ماده ی دیگر مشخص شدند. دو ویتامین دیگر محلول در چربی، در سال های ۱۹۳۰ کشف شدند که به آنها حروف "E" و "K" داده شد (بلیس[۴]، ۲۰۰۵).

پس از مشخص شدن ساختمان شیمیایی و عملکرد ویتامین های مختلف در بدن به جای حروف الفبا از اسامی شیمیایی آنها استفاده گردید. این نام ها بر اساس محل عمل ویتامین، ماهیت شیمیایی آن و یا بیماری که توسط ویتامین مزبور از آن جلوگیری می شود، انتخاب شدند. نام ویتامین"A" رتینول[۵]، "B_2" که از بری بری جلوگیری می کند آنورین[۶] (ضد نوریت)[۷] یا تیامین[۸] (به علت آن که حاوی سولفور است) نامیده شدند. حال آن که ویتامین "C" را اسید اسکوربیک[۹] خواندند زیرا که از ایجاد اسکروی که نام لاتین آن اسکوربوت است جلوگیری می کند.

---

[1] Challem
[2] Vitamine
[3] Funk *et al.*
[4] Bellis
[5] Retinol
[6] Aneurine
[7] Neuritis
[8] Thiamine
[9] Ascorbic Acid

مهمترین یافته ی تحقیقی که در سال ۱۹۳۳ توسط لوسی ویلز[1] انجام شد منجر به شناسایی فولات به عنوان ماده ی غذایی مورد نیاز برای جلوگیری از کم خونی در دوران بارداری شد. دکتر ویلز ثابت کرد که نوعی مخمر می تواند از کم خونی جلوگیری کند. البته در آن زمان دکتر ویلز این ویتامین را نمی شناخت، این بنیان فعال از لحاظ بیولوژیکی اسید فولیک بود.

تلاش محققین دیگر در اواخر ۱۹۳۰ منجر به کشف فاکتور خون ساز زیستی با عنوان N-(4-{((2-amino-4-hydroxy-6-pteridinyl)methyl)amino}benzoyl)glotamicacid شد.

در سال ۱۹۴۱، این ماده توسط میشل و همکارانش[2] از برگ های اسفناج استخراج گردید و و تحت عنوان پترویل گلوتامیک اسید[3] شناخته شد، سپس این محققین نام جایگزین اسید فولیک[4] را پیشنهاد کردند. در سال ۱۹۴۶ برای اولین بار این ماده توسط محققی هندی به نام یلاپرُگادا یاباراُ[5] سنتز شد.

۱-۱-۲- انواع ویتامین ها

به طور کلی، ویتامین ها به دو گروه محلول در چربی و محلول در آب تقسیم می شـوند. در بدن انسان ۱۳ ویتامین وجود دارد، که ۴ تای آن محلول در چربی و ۹ تـای بقیـه محلـول در آب هستند. این ویتامین ها عبارتند از :

۱) ویتامین های محلول در چربی: A,D,E,K.

۲) ویتامین های محلول در آب: B_{12},B_9,B_6,B_5,B_3.

۱-۱-۳- ویتامین های محلول در آب

ویتامین های محلول در آب به آسانی در آب حل شده و معمولاً به سهولت نیز از بدن دفع می شوند. به طوری که ادرار یک نشانگر قوی میزان مصرف این گونه ویتامین ها می باشد (شیباتا

[1] Lucy Wills
[2] Mitchell *et al.*
[3] Pteroylglutamic acid
[4] Folic acid
[5] Yellaprogada Sabbarao