

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه پژوهشی امام خمینی



دانشکده فنی و مهندسی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

تاریخت کردن گیاه کلزا با زن ۶- توکوفرول متیل ترانسفراز

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی

گرایش کشاورزی

نگارش

مهران بابایی

استاد راهنمای

دکتر رامین حسینی

استاد مشاور

دکتر رحیم حداد

شهریور ماه ۱۳۹۲

چکیده

ویتامین‌ها ترکیبات آلی هستند که نقشی حیاتی در زندگی موجودات ایفا می‌کنند. شناسایی ویتامین‌ها چندان به عقب باز نمی‌گردد. از جمله این ویتامین‌ها، ویتامین E است. ویتامینی محلول در چربی، دارای خاصیت آنتی اکسیدانتی که تنها در گیاهان سنتز می‌گردد. این ویتامین شامل چندین ایزوفرم است، که این ایزوفروم‌ها به دو گروه توکوفرول و توکوتريينول تقسیم می‌شوند که هر کدام ۴ ایزوفروم آلفا، بتا، گاما و دلتا را شامل می‌شود که آلفا توکوفرول فعال‌ترین ایزوفروم این گروه است. دیگر ایزوفروم‌ها حالت پیش‌ساز دارند و توانایی تبدیل شدن به آلفا توکوفرول را دارند. یکی از این ایزوفروم‌ها گاما توکوفرول است که توسط آنزیم گاما توکوفرول متیل ترانسفراز توانایی تبدیل شدن به آلفا توکوفرول را دارد. ژن مربوط به این آنزیم قبل از گیاه گوجه فرنگی استخراج و به فاژمید PBluscript منتقل شده و مورد استفاده قرار گرفت. این ژن با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و به وسیله روش PCR از روی فاژمید PBluscript تکثیر شد. سپس محصول PCR و ناقل بیانی PBI121 توسط آنزیم XbaI برش داده شد و ژن TMT- γ توسط آنزیم T4 لیگاز و در طی واکنش اتصال به ناقل ۱۲۱ منتقل گردید. در مرحله بعد به سلول‌های مستعد *E. coli* منتقل شد. بعد از آزمایش با PCR و هضم، ناقل بیانی حاوی ژن TMT- γ به آگرروباکتریوم تومیفاشینس منتقل شد و به روش مالونی به کوتیلدون (برگ‌های لپه) گیاه کلزا انتقال یافت. بعد از وارد نمودن ژن مراحل القا، ساقه زایی و ریشه زایی در گیاه صورت پذیرفت و نمونه‌هایی که در محیط حاوی آنتی بیوتیک کانامایسین و سفوتاکسیم توانایی رشد را داشتند، جهت بررسی آزمون تاریخت شدن از نمونه‌های گیاهی DNA استخراج و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، PCR گردید و در نهایت ویتامین E استخراج و توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد.

فهرست مطالب

.....	فصل اول
..... مقدمه
۱	۱-۱. ویتامین ها
۲	۱-۱-۱. انواع ویتامین ها
۴	۱-۲. تاریخچه ویتامین E
۷	۱-۳: منابع ویتامین E
۱۱	۱-۴. ساختمان شیمیایی ویتامین E
۱۴	۱-۵. چگونگی جذب و حمل و نقل توکوفرول در بدن
۱۵	۱-۶. محل ذخیره ویتامین E در بدن
۱۶	۱-۷. میزان مصرف ویتامین E
۱۷	۱-۸-۱. نقش ویتامین E در بدن
۱۷	۱-۸-۱-۱. نقش آنتی اکسیدانسی ویتامین E
۲۰	۱-۸-۱-۲. نقش ویتامین E در تولید مثل
۲۰	۱-۸-۱-۳. نقش ویتامین E در تنفس سلولی
۲۰	۱-۸-۱-۴. نقش ویتامین E در تهیه و سنتز ترکیبات لازم بدن
۲۲	۱-۸-۱-۵. ویتامین E و بیماری های قلبی و عروقی
۲۳	۱-۸-۱-۶. ویتامین E و سرطان
۲۴	۱-۸-۱-۷. ویتامین E و بیماری های مغز و اعصاب
۲۵	۱-۸-۱-۸. ویتامین E و دیابت

۲۶	۹-۸-۱. ویتامین E و کلیه
۲۷	۱۰-۸-۱. ویتامین E و چشم
۲۷	۹-۱. کمبود
۲۹	۱۰-۱. نحوه دفع ویتامین
۲۹	۱۱-۱. مسمومیت
۲۹	۱۲-۱. مسیر بیوستز ویتامین E
۳۳	۱۳-۱. مصارف صنعتی ویتامین E
۳۴	۱۴-۱. خانواده شببوها (چلپائیان)
۳۶	۱۵-۱. کلزا
۳۶	۱-۱۵-۱. تاریخچه
۳۷	۱-۱۵-۱. گیاه شناسی کلزا
۳۸	۱-۱۵-۱. ارقام کلزا
۳۸	۱-۱۵-۱. ترکیبات شیمیایی
۴۱	۱-۱۵-۱. اهمیت اقتصادی
۴۱	۱-۱۶-۱. بیوفورتیفیکاسیون
۴۳	۱-۱۷-۱. آگروباکتریوم
۴۳	۱-۱۷-۱. چرخه زندگی پاتوژن
۴۵	۱-۱۷-۱. اساس ایجاد تومور و پلازمید (Ti)
۴۵	۱-۱۷-۱. تاریختی به کمک آگروباکتریوم
	فصل دوم

بررسی منابع

۴۷	۱-۲- مهندسی مسیرهای بیو سنتز ویتامین E
۴۷	۱-۱- بررسی مسیرهای تولید و بیوسنتزی ویتامین E
۴۹	۱-۲- افزایش توکوفرول
۵۰	۱-۳- افزایش میزان کل توکوکروماتول ها
۵۱	۱-۴- انتقال ژن به گیاه کلزا
۵۳	۲-۱- ضرورت انجام تحقیق

فصل سوم

مواد و روش ها

۵۴	۱-۳- مواد شیمیایی
۵۴	۲-۳- باکتری ها
۵۴	۳-۳- آغازگرها
۵۵	۴-۳- ناقل ها
۵۷	۵-۳- آنتی بیوتیک ها
۵۷	۶-۳- هورمون ها
۵۷	۱-۶-۳- هورمون BAP
۵۸	۲-۶-۳- هورمون IBA
۵۸	۷-۳- محیط های کشت
۵۸	۱-۷-۳- LB
۵۹	۲-۷-۳- محیط های کشت SOC و SOB
۶۰	۳-۷-۳- محیط کشت گیاهی MS
۶۱	۸-۳- استخراج پلاسمید حاوی ژن <i>TMT</i> - γ - <i>E.coli</i>

۶۳	۹-۳. اندازه‌گیری کمیت و کیفیت DNA
۶۴	۱۰-۳. تکثیر ژن <i>TMT-γ</i> -توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۶۵	۱۱-۳. الکتروفورز ژل آگارز
۶۵	۱۱-۳-۱. بافر (10X) TBE
۶۶	۱۱-۳-۲. تهیه ژل آگارز
۶۶	۱۱-۳-۳. تهیه بافر نمونه گذاری
۶۷	۱۱-۳-۴. تهیه محلول اتیدیوم بروماید
۶۷	۱۱-۳-۵. بررسی کمیت و کیفیت PCR و محصول DNA روی ژل آگارز
۶۷	۱۲-۳. استخراج محصول PCR از ژل
۶۸	۱۳-۳. استخراج پلازمید بیانی <i>E. coli</i> PBI121 از باکتری
۶۸	۱۴-۳. هضم آنزیمی محصول PCR جهت همسانه سازی
۷۰	۱۶-۳. حذف فسفر پایانه ⁵ ' ناقل PBI121 برش خورده
۷۱	۱۷-۳. اتصال ژن <i>TMT-γ</i> به ناقل PBI121
۷۲	۱۸-۳: تهیه سلول‌های مستعد باکتری
۷۳	۱۹-۳: ذخیره سازی سلول‌های مستعد
۷۳	۲۰-۳. انتقال ناقل حامل ژن <i>TMT-γ</i> به باکتری <i>E. coli</i>
۷۴	۲۱-۳: تایید سازه حاوی ژن <i>TMT-γ</i> .
۷۴	۲۱-۳-۱. تکنیک colony PCR
۷۴	۲۱-۳-۲. تکنیک هضم آنزیمی
۷۵	۲۲-۳. ذخیره طولانی مدت نمونه
۷۵	۲۳-۳. بررسی سنس یا آنتی سنس بودن ناقل
۷۶	۲۴-۳. انتقال PBI121 حامل ژن <i>TMT-γ</i> به آگروباکتریوم
۷۶	۲۴-۳-۱. مراحل مستعد سازی آگروباکتریوم
۷۷	۲۵-۳. تایید ساختار PBI121 حاوی <i>TMT-γ</i> با استفاده از PCR

۷۸	۲۶-۳. تاریخت نمودن گیاه کلزا با استفاده از آگروباکتریوم
۷۹	۲۷-۳: استخراج DNA زنومی از کلزا
۸۱	۲۸-۳. اندازه‌گیری کمیت، کیفیت و هم غلطت نمودن نمونه‌ها
۸۱	۲۹-۳. بررسی و آنالیز نمونه‌ها در سطح DNA
۸۱	۳۰-۳. استخراج ویتامین E
۸۲	۳۱-۳. بررسی با اسپکتروفومتر FTIR

فصل چهارم.....**نتایج و بحث**

۸۳	۱-۴. استخراج فاژمید حاوی ژن و تکثیر ژن <i>TMT</i> -
۸۴	۲-۴. تخلیص ناقل بیان PBI121 و هضم آن
۸۶	۳-۴. انتقال قطعه ژن <i>TMT</i> - به ناقل بیانی PBI121
۸۸	۴-۴. آزمون تعیین جهت قرار گرفتن ژن نسبت به پیش‌بر
۸۹	۵-۴. انتقال ژن به آگروباکتریوم
۹۰	۶-۴. تاریخت کردن گیاهان با استفاده از روش آگروباکتریوم
۹۰	۷-۴. مراحل رشد گیاه کلزا
۹۲	۸-۴ PCR نمونه‌ها در سطح DNA و بررسی وجود ژن <i>TMT</i> - با استفاده از PCR
۹۴	۹-۴. استخراج ویتامین E
۹۵	۱۰-۴. پیشنهاد

منابع.....**منابع**

فهرست جداول‌ها

۲.....	جدول (۱-۱) انواع ویتامین‌ها و خصوصیات آن‌ها.....
۹.....	جدول (۲-۱) میزان توکوفرول چربی و فراورده‌های چربی دار.....
۹.....	جدول (۳-۱) میزان توکوفرول غلات و فرآورده‌های غله‌ای.....
۱۰.....	جدول (۴-۱) میزان الفا توکوفرول و گاما توکوفرول در برخی گیاهان.....
۱۱.....	جدول (۱-۵) مقدار توکوفرول در چند روغن نباتی انتخاب شده (ppm).....
۱۷.....	جدول (۱-۶) نیاز روزانه بدن به ویتامین E در سنین مختلف.....
۲۹.....	جدول (۷-۱) میزان مواد موجود در گیاه کلزا.....
۵۴.....	جدول (۱-۳) آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن γ-TMT.....
۵۷.....	جدول (۲-۳) غلظت آنتی بیوتیک در محلول مادری و مقدار مصرف در محیط‌های کشت.....
۵۸.....	جدول (۳-۳) مواد محیط LB.....
۵۹.....	جدول (۴-۳) مواد محیط SOB و SOC.....
۶۰.....	جدول (۳-۵) ترکیبات محیط کشت (Murashige and Skoog, MS 1962).....
۶۱.....	جدول (۶-۳) مواد لازم استخراج پلازمید.....
۶۴.....	جدول (۷-۳) ترکیب محلول واکنش PCR.....
۶۵.....	جدول (۸-۳) مواد ساخت محلول (10X) TBE.....
۶۶.....	جدول (۹-۳) مواد تهیه بافر نمونه و غلظت آن‌ها.....

فهرست جدول‌ها

۶۸.....	جدول (۱۰-۳) مقدار و غلظت ترکیبات هضم آنزیمی محصول PCR.....
---------	--

جداول (۱۱-۳) مقدار و غلظت ترکیبات هضم آنزیمی ناقل PBI	۶۹
جدول (۱۲-۳) مواد واکنش اتصال ناقل PBI با ژن γ -TMT	۷۱
جدول (۱۳-۳) مواد واکنش هضم آنزیمی ناقل PBI121	۷۶
جدول (۱۴-۳) ترکیبات محیط کشت مورد استفاده در باززایی گیاهان تراریخت	۷۸
جدول (۱۵-۳) بافر استخراج DNA	۷۹
جدول (۴-۱) نتایج اسپکترومتری FTIR در رقم هایولا	۹۵
جدول (۴-۲) نتایج اسپکترومتری FTIR در رقم زرفام	۹۶

فهرست شکل

شکل (۱-۱) انواع ساختارهای مختلف ویتامین E	۱۲
---	----

- ۱۳.....شکل (۲-۱) انواع ایزومرهای توکوفرول و توکوتینول.
- ۳۲.....شکل (۳-۱) مسیر بیوسنتری توکوفرول.
- ۳۶.....شکل (۴-۱) گیاه کلنزا.
- ۴۶.....شکل (۵-۱) ساختار آگروباکتریوم و نحوه انتقال به گیاه.
- ۵۵.....شکل (۱-۳) نقشه ساختار و محلهای برشی PBluscription II SK/KS (-).
- ۵۶.....شکل (۲-۳) نقشه ساختار و محلهای برشی PBI 121.
- ۷۰.....شکل (۳-۳) نقشه باز با محلهای برشی برای پلازمید PBI 121.
- ۸۳.....شکل (۴-۱) محصول PCR ژن *TMT*- γ از ناقل PBluscript.
- ۸۴.....شکل (۲-۴) جایگاه برشی آنزیم *Xba*I بر روی دو سر ژن گاما توکوفرول متیل ترانسفراز.
- ۸۴.....شکل (۳-۴) فاژمید نوترکیب حاوی ژن گاما توکوفرول متیل ترانسفراز مربوط به گیاه گوجه فرنگی.
- ۸۵.....شکل (۴-۴) استخراج پلازمید PBI121 و دایجست با آنزیم *Xba*I.
- ۸۵.....شکل (۵-۴) نقشه PBI121 و محل برشی برای آنزیم *Xba*I.
- ۸۶.....شکل (۴-۶) تایید همسانه سازی ژن در ناقل PBI121.
- ۸۷.....شکل (۷-۴) نحوه قرار گرفتن ژن *TMT*- γ در ناقل بیانی PBI121.
- ۸۷.....شکل (۴-۸) هضم آنزیمی ناقل نوترکیب با استفاده از آنزیم *Xba*I.
- ۸۸.....شکل (۹-۴) بررسی برش با آنزیم *Nco*I.

فهرست شکل‌ها

شکل (۱۰-۴) تایید حضور ژن γ -TMT در آگرروباکتریوم ۸۹

شکل (۱۱-۴) مراحل رشد گیاه کلزا در شرایط آزمایشگاه ۹۱

شکل (۱۲-۴) بررسی گیاهچه باززایی شده رقم هایولا ۴۰۱ در سطح DNA با استفاده از تکنیک PCR و آغازگر ژن γ -TMT ۹۲

شکل (۱۳-۴) بررسی گیاهچه باززایی شده رقم زرفام در سطح DNA با استفاده از تکنیک PCR و آغازگر ژن ۹۳

پیوست‌ها

پیوست ۱: توالی mRNA ژن گاما توکوفرول متیل ترانسفراز گیاه گوجه فرنگی که در NCBI ثبت شده است.....	۱۰۳
پیوست ۲: لیست آنزیم‌های که ژن گاما توکوفرول ترانسفراز را برش نمی‌دهند.....	۱۰۵
پیوست ۳: لیست آنزیم‌های که ژن گاما توکوفرول متیل ترانسفراز را برش می‌دهند.....	۱۰۶
پیوست ۴: توالی PBI121 در سایت NCBI ثبت شده است.....	۱۱۳
پیوست ۵: آنزیم‌های که PBI121 را برش نمی‌دهند.....	۱۱۷
پیوست ۶: آنزیم‌های که PBI121 را برش می‌دهند.....	۱۱۷
پیوست ۷: نتیجه همدیفی ژن گاما توکوفرول ترانسفراز گیاه گوجه فرنگی با توالی مشابه به خصوص مربوط به گیاه کلزا در سایت NCBI	۱۳۵
پیوست ۸: نتایج اسپکتروفوتومتر FTIR	۱۴۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱. ویتامین‌ها

ویتامین‌ها ترکیباتی آلی هستند که به عنوان ماده مغذی و حیاتی در مقادیر محدود برای یک موجود زنده لازم است. این ترکیبات شیمیایی آلی (و یا ترکیبات مرتبط) است که توسط ارگانیسم‌ها نمی‌تواند سنتز گردد و باید از طریق رژیم غذایی به دست آید (لیمبرمن و بورنینگ^۱، ۱۹۹۰).

اصطلاح ویتامین شامل ویتامین‌ها و سایر مواد مغذی ضروری است که شامل مواد معدنی موجود در رژیم غذایی، اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای آmine ضروری که در مقادیری بالاتر از ویتامین و تعدادی زیادی مواد مغذی دیگر، که اغلب کمتر در سطح سلامت مورد نیاز است (مانتون^۲، ۱۹۹۳).

در سال ۱۹۱۰، مجموعه ویتامین‌ها برای اولین بار توسط شخصی ژاپنی به نام یومیتاوو سوزوکی^۳ در کمپلکس محلول در آب سبوس برنج استخراج گردید و موفق به استخراج عناصر کم مصرف شد که در آن زمان با نام اسید ابریک^۴ در مجله‌ای ژاپنی منتشر گردید. این موفقیت بدست آمده تبلیغی شد که در سال ۱۹۱۲ بیوشیمیست لهستانی کازیمر فانک^۵ مجموعه همان عناصر کم مصرف را (در زمانی که در موسسه لیستر^۶ مشغول کار بود) استخراج کند. مجموعه ویتامین مرکب از دو کلمه vita amine توسط نیرنستین^۷ یکی از دوستان او در دانشگاه بریستول پیشنهاد شد (کومبز^۸، ۲۰۰۸)، (فانک^۹، ۱۹۲۲).

ویتامین‌ها دارای کاربرد شیمیایی متنوعی می‌باشند. بعضی از آن‌ها دارای عملکرد هورمونی هستند، مانند تنظیم متابولیسم معدنی (ویتامین E) و برخی دیگر تنظیم کننده رشد سلولی، بافت و تمایز (برخی از اشکال ویتامین A) می‌باشند. گروهی دیگر به عنوان آنتی‌اکسیدانت (مانند ویتامین E و گاهی ویتامین C) عمل می‌کنند. بزرگ‌ترین

¹ Lieberman& Bruning

² Maton

³ Umetaro suzuki

⁴ Acid Aberic

⁵ Kazimierz Funk

⁶ lister

⁷ Nierenstein

⁸ Combs

⁹ Funk

گروه ویتامین‌ها (ویتامین B) به عنوان کوفاکتور آنزیمی عمل می‌کند که آنزیم‌ها در این واکنش‌ها به عنوان کاتالیزور در سوخت و ساز بدن عمل می‌کنند (بندر^۱، ۲۰۰۳).

ویتامین‌ها ترکیباتی هستند که به مقدار کم در بدن مصرف شده و استفاده آن‌ها بیشتر در تنظیم سیستم بدنی می‌باشد. ویتامین‌ها توسط فعالیت‌های بیولوژیکی، شیمیایی و نه ساختاری طبقه بندی شده و بعضی از ویتامین‌ها شامل ترکیباتی به نام ویتامر^۲ است که نشان دهنده فعالیت بیولوژیکی یک ویتامین می‌باشد.

۱-۱-۱. انواع ویتامین‌ها

ویتامین‌ها یکی از ضروری‌ترین مواد مغذی مورد نیاز بدن می‌باشند که شامل ۱۳ نوع ویتامین که در دو گروه محلول در آب و محلول در چربی تقسیم می‌شوند. ویتامین‌های محلول در آب شامل ۹ گروه (۸ گروه ویتامین B و یک گروه C) و ویتامین‌های محلول در چربی شامل ۴ گروه (ویتامین‌های A, E, D, K) هستند.

ویتامین‌های محلول در آب جذب آسانی دارند. اکثر آن‌ها در بدن ذخیره نمی‌شوند، به همین خاطر بهتر است که این گروه‌ها به صورت روزانه در رژیم غذایی افراد گنجانده شود. مازاد این ویتامین‌ها از طریق کلیه دفع شده و ایجاد مسمومیت نمی‌کنند.

ویتامین‌های محلول در چربی تابع جذب چربی‌ها بوده و چنانچه در غذا چربی نباشد یا جذب چربی در بدن مختلط گردد، جذب این ویتامین مختلط شده، ویتامین‌های محلول در چربی نسبت به حرارت مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهند.

¹Bender

²: تبدیل یک فرم ویتامین به فرم فعال آن در بدن Vitamer

جدول (۱-۱) انواع ویتامین‌ها و خصوصیات آن‌ها

نام عمومی / نام توصیفی	پیش ویتامین‌ها / نام و نام شیمیایی	قابلیت حل	مقدار توصیه شده در رژیم غذایی (مرد، سن ۲۰-۱۹)	کمبود و بیماری‌های غذایی	بیشترین سطح استفاده UL/day	بیماری ناشی از استفاده بیش از حد	منبع غذایی	محلول	قرار گرفتن در معرض هوا	قرار گرفتن در معرض نور	قرار گرفتن در حوارت
A ویتامین	رینیول، شبکیه، و چهار کارتینوئید از جمله بتا کاروتون	چربی	900 µg	شب کوری، Hyperker atosis, and Keratomalacia	3,000 µg	ناراحتی‌های حاصله در اثر ازدیاد ویتامین در بدن	پرتقال، میوه‌ها، زرد رسیده، سبزیجات برگی- دار، هویج، کدوتبلی، کدو، اسفناج، جگر، شیر سوپا، شیر	خیر	تا حدی	تا حدی	نسبتاً با ثبات
B1 ویتامین	تیامین	آب	1.2 mg	بری بری، سندروم WernickeKors -akoff	N/D	خواب آلودگی و یا شلی عضلانی با در دوز های بالا	گوشت خوک، بلغور جودوس، برنج قهوه‌ای، سبزیجات، سبیب زمینی، جگر، تخم مرغ	زیاد	خیر	?	> 100°C
B2 ویتامین	ریوفلاوین	آب	1.3 mg	آریو فلاونویسیس	N/D		فراآوردهای لبني، مو، ذرت بو داده، لوبیا سبز، مارجوبه	کمی	خیر	در محلول	خیر
B3 ویتامین	نیاسین، نیاسین آمید	آب	16.0 mg	پلاستو	35.0 mg	آسیب کبدی (دوزهای < 2g/day) و مشکلات دیگر (هاردمان ^۱ ، ۱۹۹۲)	Meat, fish, eggs, many vegetables, mushrooms, tree nuts	بله	خیر	خیر	خیر
B5 ویتامین	پانتوتئیک اسید	آب	5.0 mg	Paresthesia	N/D	اسهال، احتمالاً تهوع و سوزش سر دل	گوشت، بروکلی، آوکادو و	کاملاً پایدار	؟	؟	بله
B6 ویتامین	پیریدوکسین، پیریدوکس، آمین، پیریدوکسال	آب	1.3-1.7 mg	کم خونی نوروباتی محیطی.	100 mg	اختلال در حس عمقی، آسیب عصبی (دوز ۱۰۰ میلی گرم / روز)	گوشت، سبزیجات، آجیل درختی، موز	بله	؟	بله	؟
B7 ویتامین	بیوتین	آب	30.0 µg	درماتیت، اسهال	N/D	---	زرده خام تخم مرغ، جگر، پادام زمینی، بعضی سبزیجات	مقدار ی	؟	؟	خیر

¹Jacob

²Hardman

در درجه حرارت بالا	در شرایط خشک	؟	بله	سبزیجات برگ دار، هاکارونی، نان، غلات، کبد	افرات دیگر، ممکن است علائم کمبود ویتامین B12 را پیوشنند	1,000 µg و Megaloblast کمبود در دوران بارداری با نقص‌های هنگام تولد	آب	400 µg	ویتامین B9	فولیک اسید، فولینیک اسید
خیر	بله	؟	بله	سبزیجات و دیگر تولیدات حیوانی	آنه مانند راش (علیت است، به طور قاطع مشخص نشده است).	N/D	کم خونی مکالو بلاستیک	2.4 µg	ویتامین B12	سیانو کوبالامین، هیدروکسی کوبالامین، متیل کوبالامین
بله	بله	بله	بله	بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات، کبد ناپایدا ر	بسیاری از میوه‌ها	C megadosage	Scurvy	90.0 mg	ویتامین C	اسکوربیک اسید
خیر	خیر	خیر	خیر	ماهی، تخم مرغ، چکن، قارچ	دوز بالا مصرف D	50 µg	Rickets and Osteomalacia	10 µg	ویتامین D	Cholecalciferol
نه خیر	بله	بله	بله	بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات، آجیل و دانه	افزایش نارسانی قلب که در بیک مطالعه بزرگ تصادفی دیده می‌شود.	1,000 m g	کمبود بسیار نادر است و کم خونی همولیتیک خفیف در نوزادان تازه متولد شده است.	15.0 mg	ویتامین E	توکوفرول‌ها، توکوتربنول‌ها
خیر	بله	خیر	بله	سبزیجات برگ سبز مانند اسفناج، زرد تخم مرغ، کبد	عامل انعقادی در بیمارانی که وارفارین را افزایش می‌دهند. (رود ۲۰۰۷)	N/D	خونریزی یا حساسیت نسبت به چیزی	120 µg	ویتامین K	فلوکوبنون، مناکوبنون‌ها

۱-۲. تاریخچه ویتامین E

تاریخ کشف ویتامین E به سال ۱۹۲۲ توسط ایوانز و بیشاپ^۱ به هنگام مشاهده علائم کمبود آن در دستگاه تولیدمثل موش بر می‌گردد. آن‌ها متوجه شدند که غیر از ویتامین B و C ویتامین ناشناخته دیگری وجود دارد، آنچه در این میان جایش خالی بود ترکیبی از روغن‌های گیاهی بود که شامل ویتامین E می‌شد. رفتار این ماده ناشناخته مانند الکل بود که در آن زمان به این نتیجه رسیدند که یکی از اتم‌های اکسیژن بخشی از گروه هیدروکسیل است (آسف^۲). در سال ۱۹۲۴ شور^۳ این ماده را ویتامین E نامید و ایوانز در سال ۱۹۳۶ این

¹ Rohde

² Evans & bishop

³ Assif

⁴ Sure

ماده را از جوانه گندم جدا کرد و فرمولاسیون آن مشخص گردید و توسط اوанс^۱ آلفا توکوفروول نام گرفت. این نام مشتق از دو کلمه یونانی Tokos به معنی تولد کودک و Pherein به معنی دنیا آوردن است و پسوند ol نیز بیانگر عامل الکلی موجود در ساختمان ویتامین E می‌باشد (ایتنمیلر و لاندن^۲، ۱۹۹۷).

سال ۱۹۳۸ کارر^۳ به صورت مصنوعی این ویتامین را تولید و در همین سال فرنو نولز^۴ ساختمان توکوفروول را تشریح کرد. نام علمی این ویتامین آنتیستریلیتیک لی د-آلfa-توکوفروول می‌باشد. در سال‌های بعد دو ساختار دیگر ویتامین E به نام‌های بتا و گاما توکوفروول از روغن‌های گیاهی استخراج گردید که نسبت به آلفا توکوفروول دارای فعالیت بیولوژیکی کمتری بود و مشخص گردید، که فعال‌ترین و موثرترین فرم ویتامین E همان آلفا- توکوفروول است.

ویتامین E اصطلاحی همگانی است که معمولاً برای مشخص کردن کل توکوفروول‌های مختلف بکار می‌رود. این ماده عامل باروری، تولید مثل و تقویت عضلانی است. یکی از خصوصیات مهم خاصیت آنتی اکسیدانتی آن است یک عامل سم زدا در مقابل اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن (رادیکال‌های آزاد^۵) که به عنوان عامل محافظتی عمل می‌کنند. این ماده استفاده از اسیدهای چرب غیر اشباع و حفاظت از مواد دیگر نظیر ویتامین A، آنزیم‌ها و هورمون‌ها را امکان پذیر می‌سازد. ویتامین E به صورت خالص، روغنی چسبنده و زرد کمرنگ است که به دلیل روغنی بودن در آب نامحلول و در چربی‌ها، روغن‌ها و حلال‌های آلی (استون-کلروفرم) قابل حل است.

این ویتامین در مقابل حرارت، اسیدها و مواد قلیایی مقاوم است و نسبت به اکسیداسیون و نور، به ویژه اشعه ماوراء بنفش حساس است. به همین دلیل باید همیشه ویتامین‌ها را در شیشه کاملاً در بسته نگهداری کرد (سوکو^۶، ۱۹۸۸).

¹ Ovanes² Eltenmiller and Landen³ Karer⁴ Fernonolz⁵ ROS= Reactive oxygen species⁶ Soko

اولین استفاده از ویتامین E به عنوان یک عامل درمانی توسط ویندن بایر^۱ (۱۹۳۸) بر می‌گردد، با استفاده از مکمل روغن جوانه گندم بر روی ۱۷ نوزاد نارس که مبتلا به نارسايي رشد بودند توانست ۱۱ نوزاد را بهبود و قادر به ادامه رشد طبیعی کند (ماتن و همکاران^۲، ۱۹۹۳).

مواد غذایی متعددی دارای ویتامین E می‌باشند، آجیل، دانه‌ها، روغن‌های گیاهی از جمله بهترین منابع آلفا-توکوفول هستند و مقدار قابل توجهی ویتامین E در سبزیجات برگ سبز و غلات غنی شده در دسترس هستند (بندر^۳، ۲۰۰۳).

بررسی اثر توکوفول بر ثبات پویایی چربی غشا (مدل تقلید شده از ترکیبات چربی غشا) نشان داد که وجود هر دو غلظت پایین و بالای ویتامین E منجر به ایجاد یک غشا بی ثبات می‌گردد (دارک^۴، ۲۰۰۸).

محققان به تفاوت معنی‌داری در میزان مصرف ویتامین E بیماران مبتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی (حوادث غیر کشنده مانند حملات قلبی، سکته مغزی، مرگ و میر قلبی و تمام علل مرگ و میر در افراد) پی برده‌اند. این مطالعه دو نتیجه مثبت را در برداشت، نتیجه اول مصرف ویتامین E توسط زنان که با کاهش ۲۴٪ میزان مرگ و میر روبرو شدند و دوم کاهش ۲۶٪ حملات قلبی غیر کشنده و همچنین کاهش ۴۹٪ میزان مرگ و میر قلبی و عروقی در کسانی که بالاتر از ۶۵ سال سن داشتند را در بر داشت. نمونه موردی این تحقیق در سلامتی قلبی و عروقی شامل ۱۵۰۰۰ نفر پزشک سالم بیشتر از ۵۰ سال سن بود که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند و هر روز میزان ۴۰۰ آلفا توکوفول و ۵۰۰ لیکوپین^۵ ویتامین C دریافت می‌کردند (بیورینگ و همکاران^۶، ۲۰۰۸).

در مورد استفاده از مکمل ویتامین E تحقیقات نشان داد که کور شدن عدسی چشم در آن‌ها که ویتامین E دریافت کرده‌اند کنتر از دیگران صورت می‌پذیرد (چاسکیوز و همکاران^۷، ۲۰۰۵). اما در پی تحقیقات اثر ویتامین E بر روی چشم در دادگاه AREDS انجام گرفت که در آن مکمل‌های ویتامین E هیچ تاثیری بر آب

¹ Windenbauer

² Maton et al

³ Bender

⁴ Dirk

⁵ Buring et al

⁶ Jacques et al