مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره دوم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۲
صفحه ۱۱۸-۱۱۱

# تشخیص مولکولی ذرت‌های تراریخته براساس پیشبر P35S

## PCR detection of transgenic maize on the basis of P35S

دیانا حیدری[۱*]، محمدحسن شاه‌حسینی[۲و۳] و زیور صالحی[٤]
Diana Heidari[1], Mohammad hassan Shahhosseiny[2, 3] and Zivar Salehi[4]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد پردیس‌دانشگاهی دانشگاه گیلان
۲- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- موسسه ایرانیان ژن فناور(IGF)، تهران، ایران
٤- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم‌پایه، دانشگاه گیلان

1- M.Sc student, Department of Biology, Pardis International, University of Guilan.
2- Associate Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University shahre ghods branch, Tehran, Iran.
3- Iranian Gene Fanavar institute (IGF), Tehran, Iran.
4- Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Diana2730@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۹ - تاریخ پذیرش: ۹۳/٦/۲۲)

## چکیده

**در دو دهه‌ی اخیر مهندسی ژنتیک با استفاده از علم بیوتکنولوژی باعث تولید محصولات تراریخته در جهان شده است. آمار رو به رشد سطح کشت محصولات تراریخته در سرتاسر دنیا حاکی از اهمیت ویژه‌ی تراریخته‌ها و افزایش استفاده‌ی عموم مردم از این مواد غذایی است. ذرت یکی از مهمترین محصولات تراریخته است که در بسیاری از کشورها به‌میزان زیادی کشت و مصرف می‌شود. هدف از این پژوهش شناسایی ذرت‌های تراریخته با استفاده از روش مولکولی حساس و اختصاصی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (پی.سی.آر) است که قابلیت جداسازی مواد‌غذایی تراریخته از غیرتراریخته را دارا است. این پژوهش انجام شده با هدف تشخیص ذرت‌های تراریخته در سبدکالای مصرف‌کنندگان ایرانی بر پایه‌ی (پی.سی.آر) و آغازگر اختصاصی P35S است. در پژوهش‌های پیشین در ایران چند نمونه ذرت مشخص یا وارداتی در ایران مورد بررسی قرار گرفته بود. در این پژوهش سه نمونه‌ی تراریخته ذرت از گمرک شیراز تهیه و دی.ان.اِ سی‌وهفت نمونه‌ی ذرت جمع‌آوری شده از بازارمصرف هفت شهر بزرگ و شش نمونه ذرت جهادکشاورزی، به‌روش استاندارد CTAB (ستیل‌تری‌متیل‌آمونیوم‌بروماید) استخراج شد. آزمون پی.سی.آر شناسایی ذرت با استفاده از ژن‌بومی اینورتاز (*IVR* که در تمام ارقام ذرت وجود دارد) انجام شد. جهت شناسایی ذرت‌های تراریخته آزمون پی.سی.آر براساس پیشبر P35S (آغازگر اختصاصی CaMV 35s موجود اکثر وکتورها) با آغازگرهای اختصاصی P35S2 و P35S1 بهینه شد. محصول *IVR* و P35S جهت تعیین توالی و تهیه کنترل مثبت کلون شد. آزمون پی.سی.آر ژن *IVR* و پیشبر P35S بر روی نمونه‌ها بهینه‌سازی و آمپلیکون 226 bp و 195 bp به‌ترتیب تکثیر شد. هر دو محصول پی.سی.آر به‌روش T/A Cloning و با استفاده از پلاسمید pTZ57R و میزبان JM107E.coli کلون شد. از میان چهل و شش نمونه ذرت جمع‌آوری شده از بازارمصرف، گمرک و جهادکشاورزی ۱۰۰ درصد به‌لحاظ ژن‌بومی اینورتاز و ٥٦,٥ درصد (۲٦ عدد) از نمونه‌ها به‌لحاظ اگزوژن P35S دارای جواب مثبت بودند. این پژوهش نشان می‌دهد که درصدبالایی از ذرت‌های مصرفی در بازار ایران براساس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تراریخته است. با این وجود هیچ اقدامی جهت برچسب گذاری و آگاهی مصرف‌کننده صورت نگرفته است.**

واژه‌های کلیدی

پیشبر P35S
ذرت تراریخته
واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
واردات
مهندسی ژنتیک

[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]

## مقدمه

افزایش جمعیت جهان و ازدیاد تقاضا برای مواد غذایی موجب به‌کارگیری روش‌های نوین بیوتکنولوژی درتولید محصول‌های غذایی شده است. امروزه فناوری دی.ان.ای نوترکیب به طور گسترده‌ای در کشاورزی مدرن مورد استفاده قرارگرفته است (Zang and Gou 2011). یکی از کاربردهای بیوتکنولوژی تولید محصولات تراریخته است. موجودات تراریخته، گیاهان یا جانورانی هستند که به واسطه‌ی اصلاحات انجام شده دارای ویژگی‌های جدیدی شده‌اند و یا توانایی سنتز پروتئین اضافی را پیدا کرده‌اند (Gachet *et al.*1999; Ozge Ozgen Arun *et al.* 2013).

یکی از مهمترین مزایای موادغذایی‌تراریخته مقابله با گرسنگی در جهان است. ازدیگر اثرهای مثبت محصولات تراریخته کاهش آسیب‌های اکولوژیکی از طریق کاهش استفاده از آفت‌کش‌ها و جلوگیری از فرسایش‌خاک و افزایش بهره‌وری است (Constable and Jonas *et al.* 2007). تولید محصولات تراریخته برای مقابله با بحران گرسنگی به‌طور چشمگیری سالانه در سراسرجهان در حال افزایش است، تا سال ۲۰۱۰ موجودات تراریخته توسط کشاورزان در ۵۹ کشور کشت شدند و سطح کشت این مواد به ۱۴۸ میلیون هکتار در سال ۲۰۱۰ (James 2011) و ۱۷۰ میلیون هکتار در سال ۲۰۱۲ رسید (James 2012). امروزه از مهندسی ژنتیک جهت بهبود صفات گیاهان زراعی استفاده گسترده‌ای می‌شود. سویا، ذرت، کتان، کانولا از جمله محصولاتی هستند که بیشترین سطح زیرکشت گیاهان تراریخته را به‌خود اختصاص داده‌اند (James 2011). ذرت و سویا محصولاتی هستند که امروزه اجزای اصلی بسیاری از غذاها را تشکیل می‌دهند و درسراسر دنیا به‌میزان زیادی مصرف می‌شوند (Taski-Ajdukovic *et al.* 2009). در این گیاهان با ردیابی توالی‌های معتبر (P35S, T-NOS, nptII...) که برای بیشتر دستکاری‌های ژنتیکی استفاده می‌شود می‌توان وضعیت تراریختی را مورد بررسی قرار داد (Gachet *et al.* 1999).

ملاحظاتی درباره‌ی ایمنی موادغذایی تراریخته منجربه اقداماتی در زمینه‌ی برچسب گذاری آن‌ها در سال‌های اخیر شد. اتحادیه اروپا در سال ۱۹۹۷ میلادی مقررات برچسب گذاری محصولات تراریخته را تصویب کرد. از آن زمان تا سال ۲۰۰۲ میلادی کشورهای انگلستان، ژاپن، استرالیا، برزیل، کره جنوبی، چین، نیوزلند، آفریقا و ... به طور رسمی این قوانین را پذیرفتند (Philips P W and Mc Nill H. 2000; Seong-Hun Lee *et al.* 2004). در خاورمیانه، ترکیه به‌جمع کشورهایی پیوسته که برچسب‌زدن محصولات غذایی شامل تراریخته را اجبار کرده است.(Taski-Ajdukovic *et al.* 2013)

با وجود این‌که حضور محصولات غذایی تراریخته در بازارمصرف در کشور ما هیچ‌گونه اقدامات جدی در زمینه‌ی برچسب‌گذاری این محصولات انجام نگرفته است. روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز پی.سی.آر کمی به‌عنوان استاندارد طلایی جهت شناسایی و تعیین مقدار تراریختی از طرف اتحادیه اروپا مورد قبول است و ثابت شده که یک روش‌حساس، دقیق و ساده است که امروزه به‌طور گسترده‌ای برای تشخیص حضور موجودات تراریخته مورد استفاده قرار می‌گیرد (Meyer 1999; Tenegal *et al.* 2001; Wen-Tao *et al.* 2004).

بنابراین انتظار می‌رود برای هر کشوری که از موادغذایی مهندسی شده یا محصولات آن‌ها استفاده می‌کند، شناسایی و تعیین ظرفیت کمی محصولات تراریخته باید به‌طورکامل در دسترس باشد (Adugna andMesfin 2008). کشور ما نیز از این قاعده جدا نیست و نیاز مبرم به بررسی و کنترل مواد غذایی و تربیت افراد متخصص در این راستا احساس می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی حضور ذرت‌های تراریخته در بازارمصرف شهرهای عمده کشور با استفاده از روش پی.سی.آر است.

## مواد و روش‌ها

**نمونه‌برداری:** مطابق استاندارد ISO 21568 که توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران تهیه و تدوین شده است در مجموع چهل‌وپنج نمونه جمع‌آوری شد: ۱) شش نمونه ذرت استاندارد با نام‌های (TN-05-150)، (TN-05-152)، (TN-05-158)، (TN-05-157) (TN-05-156) و از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال وزارت جهادکشاورزی واقع در کرج تهیه شد. ۲) ده نمونه ذرت تجارتی بسته‌بندی شده با نام‌های خشکپاک، گل‌ها، سایان، برتر، چاوش، سعادت، نازدانه، سیالان،



[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]

برکت، صیتی و یک نمونه ذرت کنسروی از بازارمصرف و فروشگاه‌های سطح شهرتهران جمع‌آوری شد. ۳) بیست‌وشش نمونه ذرت فله از هفت شهر مختلف کشور شامل: تهران، مشهد، اهواز، خرم‌آباد، کرمانشاه، آستارا و رشت جمع‌آوری شد. ٤) سه نمونه ذرت از کشور آرژانتین به‌عنوان ذرت‌وارداتی از گمرک شیراز با نام‌های INCE ILGAZE, MASTRO GIORGIS, AGIOS SOSTIS به‌عنوان کنترل مثبت تهیه شد.

**استخراج دی.ان.اِ:** در ابتدا دی.ان.اِی نمونه‌ها استخراج شد. در این پژوهش از روش ستیل‌تری‌متیل‌آمونیوم‌بروماید مورد استفاده در بیشتر مقاله‌های مرتبط استفاده شد (Gachet *et al*. 1999; Wen-Tao *et al*. 2004; Cantrill 2008; Chaouachi *et al*. 2013; Arun *et al*. 2013).

مراحل استخراج دی.ان.ایِ به‌طورمختصر بدین‌ترتیب صورت گرفت: ۱) ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه به لوله حاوی ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج اضافه و در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه درانکوباتور قرارداده شد. سپس سانتریفیوژ با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۰دقیقه انجام‌شد. ۲) مایع‌رویی به لوله جدید منتقل و سپس ۰,۷ حجم کلروفورم به لوله اضافه شد. سپس سانتریفیوژ با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۵دقیقه انجام شد. ۳) پس از انتقال مایع‌رویی به لوله جدید دو حجم بافر رسوب CTAB به آن اضافه و به‌مدت ٦۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس سانتریفیوژ با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۵دقیقه انجام شد. ٤) مایع‌رویی دور ریخته و به رسوب ۳۵۰ میکرولیتر کلرید سدیم اضافه شد سپس با ورتکس مخلوط شده و ۳۵۰ میکرولیتر کلروفورم اضافه و پس از ۱۰ بار سر و ته کردن لوله سانتریفیوژ با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. ٤) فازرویی به لوله جدید منتقل و ۰/٦ حجم ایزوپروپانول به آن اضافه و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس سانتریفیوژ با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۵دقیقه انجام شد. ۵) مایع‌رویی دور ریخته شد و به رسوب ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد. پس از ۱۰ بار سرو ته کردن لوله سانتریفیوژ با ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۰دقیقه انجام شد. ٦) مایع‌رویی دور ریخته و رسوب در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت تا خشک شود. در نهایت رسوب در ۱۰۰ میکرولیتر بافر TE یا آب حل شد. پس از استخراج، مقدار و کیفیت دی.ان.اِی استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

**آغازگرها:** جهت تکثیر ژن بومی اینورتاز از آغازگرهای *IVR*1A , *IVR*1B استفاده شد، این ژن دلیل قطعی برای شناسایی گونه‌ی ذرت است. جهت تکثیر و شناسایی پیشبر P35S نیز از آغازگرهای (35S1, 35S2 پیشبر ویروس موزاییک گل‌کلم) جدول (۱) استفاده شد (Tengal *et al*. 2001).

**واکنش زنجیره‌ای پلیمراز:** گام بعدی پس از استخراج دی.ان.اِ و تهیه آغازگرها جهت غربالگری موجودات تراریخته انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (پی.سی.آر) است. مقادیر مورد استفاده برای واکنش پی.سی.آر هر دو آزمون شامل: ۲/۵ میکرولیتر بافر X 10 و یک میکرولیتر از هرکدام از آغازگرهای ۱۰ میکرومولار، ۰/۷۵ میکرولیتر کلریدمنیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر dNTP ۰/۵ میلی‌مولار، ۰/٤ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز (5u/µl)، ۱٤ میکرولیتر آب‌استریل دوبار تقطیر شده و ۵ میکرولیتر کنترل مثبت یا دی.ان.اِی الگو است و مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر را درون دستگاه ترموسایکلر با برنامه‌ی بهینه شده در این پژوهش قرار گرفته تا تکثیر انجام شود. پروفایل حرارتی استفاده‌شده در این پژوهش به‌صورت جدول‌های شماره دو است.

**جدول ۱**- ترادف آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش

**Table 1-** Sequences of primers used in this study

| نام آغازگر | توالی آغازگر ('3.....5') | توالی هدف |
|---|---|---|
| *IVR*1A-F | CCGCTGTATCACAAGGGCTGGTACC | *Ivr* (Maize invertase) |
| *IVR*1B-R | GGAGCCCGTGTAGAGCATGACGATC | |
| p35S1 | GCTCCTACAAATGCCATCA | Promoter CaMV |
| p35S2 | GATAGTGGGATTGTGCGTCA | |



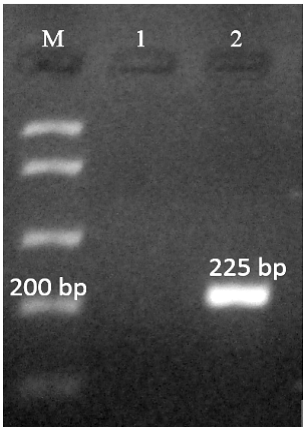
[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]

**جدول ۲**- پروفایل حرارتی بهینه شده برای *Ivr* و P35S.

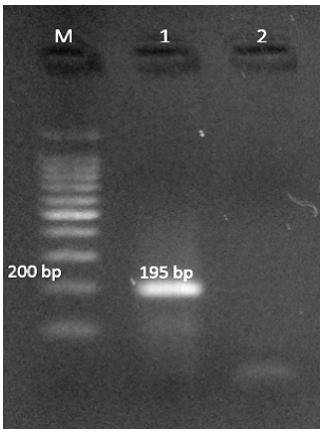
**Table 2-** The thermal profile optimized for *Ivr* and P35S.

| | | *Ivr* Program | |
|---|---|---|---|
| First Denaturation | 95 °C | 12 Min | |
| Denaturation | 95 °C | 30 Second | 35 Cycle |
| Annealing | 64 °C | 30 Second | |
| Extension | 72 °C | 60 Second | |
| Final Extension | 72 °C | 10 Min | |

| | | P35S Program | |
|---|---|---|---|
| First Denaturation | 95 °C | 10 Min | |
| Denaturation | 94 °C | 20 Second | 40 Cycle |
| Annealing | 54 °C | 20 Second | |
| Extension | 72 °C | 60 Second | |
| Final Extension | 72 °C | 3 Min | |




**شکل ۱**- آزمون پی.سی.آر بهینه شده ژن *IVR* . M: سایز مارکر 1 Low Range DNA Ladder fermentas: کنترل منفی ۲: محصول 225 bp




**شکل ۲**- آزمون پی.سی.آر بهینه شده پروموتر P35S. M: سایز مارکر 100 bp DNA Ladder vivantis 1: کنترل مثب: محصول 195 bp، ۲: کنترل منفی

**الکتروفورز ژل‌آگارز:** برای مشاهده محصول پی.سی.آر با قطعات 195 bp (طول‌قطعه P35S) و 225 bp (طول قطعه *Ivr*) از ژل‌آگارز ۲ درصد و نشانگر 100 bp DNA Ladder (THERMO SCIENTIFIC) و رنگ‌آمیزی با سایبرگرین (IN VITROGEN) استفاده شد.

**کلونینگ:** هدف از کلونینگ تعیین توالی، تهیه کنترل مثبت و در نهایت ایجاد مقادیر زیادی الگو جهت ساخت کنترل مثبت کیت تشخیص مولکولی است. برای انجام کلونینگ از کیت T/A Cloning فرمنتاز استفاده شد. بدین‌منظور قطعه 195 bp تکثیر شده با آغازگر P35S درون وکتور PTZ57R قرار گرفت. در مرحله‌ی ترانسفورماسیون وکتور حاوی قطعه ژنی مورد نظر به داخل باکتری E.Coli JM107 انتقال یافت. پلاسمید کلون‌های حاصل، توسط کیت استخراج پلاسمید فرمنتاس استخراج شد.

## نتایج و بحث

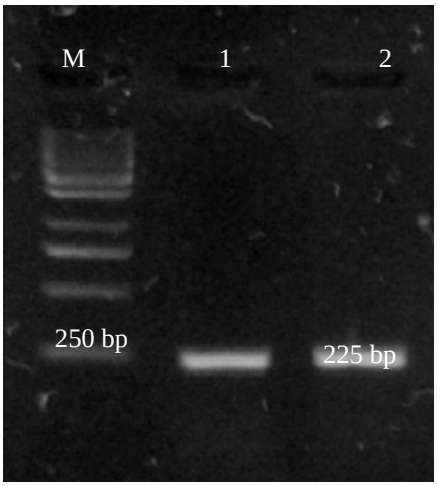
**بهینه کردن آزمون پس.سی.آر:** آزمون پی.سی.آر به لحاظ اجزای آزمون و پروفایل حرارتی بهینه شد و نتیجه آزمون پی.سی.آر بهینه شده ژن *IVR* و P35S بر روی ژل‌آگارز دو درصد به ترتیب در شکل یک و دو مشاهده می‌شود.

**کلونینگ محصول پی.سی.آر:** آمپلیکون ۲۲۵ و ۱۹۵ جفت بازی



[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]

که به ترتیب مربوط به محصول *IVR* و P35S بودند در پلاسمید PTZ 57 R و میزبان E.coli Jm107 کلون شد. در شکل سه نتیجه‌ی کلونینگ محصول پی.سی.آر اینورتاز براساس آزمون تکثیری قابل مشاهده است.

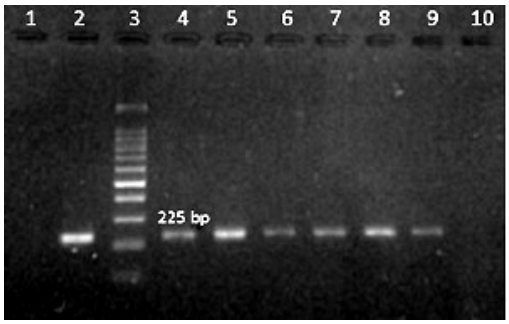



**شکل ۳**- سایز مارکر 1KB DNA Ladder، چاهک شماره ۱: کنترل مثبت، چاهک شماره ۲: باند 225bp محصول کلونینگ *IVR*.

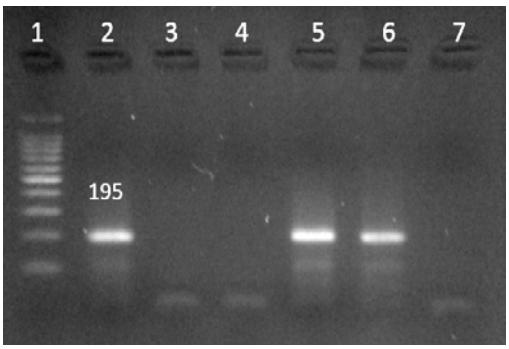
تطابق ترادف به‌دست آمده در NCBI موید تکثیر صحیح هر دو قطعه است.

**غربالگری نمونه‌ها:** برای اثبات حضور ژنوم ذرت در چهل‌وپنج نمونه جمع‌آوری شده ابتدا آزمون پی.سی.آر با آغازگرهای *IVR* و پروفایل حرارتی که در بالا به آن اشاره شد به‌همراه یک کنترل منفی حاوی آب دو بار یونیزه و کنترل مثبت حاوی دی.ان.اِ استخراج شده از نمونه‌های بانک ژن انجام گرفت. سپس محصول پی.سی.آر بر روی ژل‌آگاروز دو درصد و با استفاده از سایز نشانگر ۱۰۰ bp شرکت THERMO SCIENTIFIC بدین‌شرح بارگذاری شد: چاهک شماره (۱) کنترل منفی، چاهک شماره (۲) کنترل مثبت، چاهک شماره (۳) DNA Ladder 100bp شرکت Guangzhou Geneshun Biotech Ltd، چاهک شماره (۹-٤) محصول پی.سی.آر نمونه‌های ذرت، چاهک شماره (۱۰) نمونه‌ی کنترل منفی (شکل ٤). نتایج نمایانگر موفقیت‌آمیز بودن آزمون پی.سی.آر به‌کار رفته جهت تکثیر ژن گیاه‌ذرت است. سپس نمونه‌های مثبت شده با هدف غربالگری ذرت‌های تراریخته با آغازگرهای P35S2 , P35S1 توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بررسی شد. سپس نتایج بر روی ژل‌آگاروز دودرصد و با استفاده از سایز نشانگر ۱۰۰ bp شرکت THERMO SCIENTIFIC بارگذاری شد (شکل ٥).

در نهایت با بررسی و غربالگری چهل‌وپنج نمونه ذرت مصرفی فله و بسته‌بندی تهیه شده از هفت شهر بزرگ ایران و بانک ژن و گمرک توسط آغازگرهای P35S، تعداد بیست‌وپنج نمونه که معادل ٥٦ درصد است دارای جواب مثبت شدند. که به تفکیک بدین‌شرح است. از میان ۱۰ نمونه بسته‌بندی هفت نمونه (۷۰ درصد) و از میان ۲٦ نمونه ذرت فله ۱۲ نمونه (٤٦ درصد) و از شش نمونه بانک ژن دو نمونه (۳۳ درصد) و هر سه نمونه ذرت وارداتی و یک نمونه ذرت کنسروی به لحاظ حضور P35S مثبت بودند.




**شکل ٤**- آزمون پی.سی.آر ژن *IVR* چاهک شماره ۱: کنترل منفی، چاهک شماره (۲) کنترل مثبت، چاهک شماره (۳) DNA Ladder 100bp شرکت Guangzhou Geneshun Biotech Ltd، چاهک شماره (۹-٤) محصول پی.سی.آر نمونه‌های ذرت، چاهک شماره (۱۰) نمونه‌ی کنترل منفی.




**شکل ٥**- آزمون پی.سی.آر بهینه شده ژن P35S 1: سایز نشانگر ۱۰۰ جفت بازی شرکت Thermo Scientific، ۲: کنترل مثبت، ۳ و ٤: نمونه‌های منفی، ٦ و ٥: نمونه‌های مثبت، ۷: کنترل منفی.

این پژوهش به‌منظور آگاهی از وضعیت تراریختی ذرت‌های موجود در بازارمصرف ایران صورت گرفت، طبق نتایج به‌دست آمده ٥٦ درصد ذرت‌های جمع‌آوری شده تراریخته بودند. با توجه به تراریخته بودن حداقل نیمی از نمونه‌ها هیچ یک از ذرت‌های



[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]

موجود حاوی برچسب تراریختی نبودند.

روش استخراج دی.ان.اِ استفاده شده در این پژوهش، روش استاندارد CTAB بود. با وجود این‌که روش‌های متعددی برای این منظور وجود دارد ما توانستیم با استفاده از روش CTAB که کم هزینه‌تر از کیت‌های تجاری مورداستفاده برای این منظور بود به‌خوبی به دی.ان.اِ قابل تکثیری دسترسی پیدا کنیم. در این آزمایش مقدار اولیه‌ی نمونه ۱۰۰ میلی‌گرم بود و به‌صورت اختیاری در صورت نیاز از پروتئیناز K و RNase استفاده شد. در پژوهش‌های گذشته هم‌چون E.Gachet,1999 و همکارانش و همچنین Ozge Ozgen Arun, 2013 نیز از روش استخراج CTAB به‌همراه پروتئین از K و نشانگر P35S جهت غربالگری ذرت استفاده شده بود. Tengal نیز در سال ۲۰۰۱ از آغازگرهای P35S و TNOS جهت شناسایی ذرت‌های تراریخته استفاده کرد. Cankar در سال ۲۰۰۸ از روش q پی.سی.آر و نشانگر P35S جهت شناسایی ذرت‌های تراریخته استفاده کرد. در این پژوهش نیز برای شناسایی یکی از پرکاربردترین این ژن‌ها یعنی CAMV35S مورد بررسی قرارگرفت. در سال ۱۳۹۱ لیلا سرمدی پنج نمونه ذرت آرژانتینی وارداتی با آغازگرهای P35S و TNOS را مورد بررسی قرارداد. در این پژوهش علاوه بر سه نمونه ذرت وارداتی آرژانتین وضعیت تراریختگی سی و شش نمونه ذرت باز و بسته‌بندی موجود در بازار و فروشگاه‌های شهرهای مختلف نیز مورد آزمایش قرارگرفت. مریم ربیعی نیز حضور ذرت‌های نراریخته را در غذاهای فراوری شده که به طور تجاری در ایران عرضه می‌شود را به‌وسیله‌ی آغازگر P35S اثبات کرده است. نتایج مشابه حاصل از همه‌ی این مقاله‌ها نشان می‌دهد که نشانگر P35S یکی از نشانگرهای مفید برای غربالگری محصولات تراریخته است. اگرچه استفاده از نشانگرهای دیگر هم‌چون T NOS (پایانبر) و nptII (ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک نئومایسین) در کنار P35S نتایج را تقویت می‌کند.

روشی که جهت تشخیص و تکثیر ذرت مورد استفاده قرار گرفت روش حساس و دقیق پی.سی.آر است که ثابت شده است یک روش قابل اطمینان به‌جهت غربالگری محصولات تراریخته از میان روش‌های تشخیصی برپایه دی.ان.اِ است. در سال 2005 Tripathi روش‌های مختلف شناسایی محصولات تراریخته که شامل روش‌های برپایه دی.ان.اِ، روش‌های برپایه پروتئین و خصوصیات فنوتیپ بود را مورد بررسی قرار داد و اظهار داشت که مزیت روش پی.سی.آر به‌دیگر روش‌ها حساس و دقیق بودن از نظر حدود آشکار سازی و همچنین تشخیص کیفی و کمی آن است. Seong-Hun Lee و همکارانش نیز در سال 2004 از روش پی.سی.آر جهت تشخیص دو گونه ذرت NK603 و TC1507 در پژوهش خود استفاده کردند.

در سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی بر روی محصولات تراریخته و گسترش آن‌ها در سرتاسر دنیا و همچنین قضیه‌ی رعایت قوانین و برچسب‌گذاری این محصولات انجام شده است. مقاله‌ها مشابه متعددی جهت آگاهی، شناسایی، فواید و مضرات احتمالی که در آینده ممکن است بر روی نسل‌های بعد و یا اکوسیستم بگذارند منتشر شده و بررسی وضعیت تراریختی این محصولات در کشورهای مختلف صورت گرفته است. درصدهای متفاوتی از حضور محصولات تراریخته در کشورهای مختلف گزارش شده است. کشورهای آسیایی متعددی از جمله چین، عربستان، ترکیه و اردن حضور محصولات مختلف تراریخته را گزارش کرده‌اند. در اُردن در سال ۲۰۱۲ N. AL-Hmoud و همکارانش پس از پژوهش بر روی بیست‌ودو نمونه ذرت و سویا (۱۹ ذرت و ۳ سویا) حضور نشانگر P35S را در ۱۸/۲ درصد نمونه‌ها گزارش کرد. در کشور ما نیز مریم ربیعی بیست‌وپنج نمونه از انواع ذرت فرآوری شده را بررسی کرد و ۲۰ درصد تراریختی را گزارش کرد. ۱۰۰ درصد ذرت‌های آرژانتینی مورد پژوهش لیلا سرمدی حاوی توالی‌های P35S یا TNOS بود. در این پژوهش نیز ٥٦ درصد نمونه‌ها حاوی P35S بودند. این گزارش‌ها نمایانگر حضور انواع ذرت‌های تراریخته در ایران شامل ذرت‌های وارداتی، فراوری شده و دانه‌های ذرت موجود در بازارمصرف است.

به این علت که ذرت به طور عمده از کشورهایی که بیشترین سطح زیر کشت گیاهان تراریخته را در دنیا دارا هستند وارد کشور ما می‌شود، استفاده از فناوری و بررسی تراریخته بودن دانه‌های ذرت با یک روش شناسایی‌سریع از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Leila Sarmadi 1391). در نتیجه پیش‌بینی می‌شود دیگر محصولات تراریخته نظیر سویا، برنج، گوجه‌فرنگی و... نیز در



[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]

سطح کشور حضور دارند. همان‌طور که Helt , 2004 و Meyer , 1996 در مقاله‌های خود به‌این مطلب اشاره‌کردند که امروزه میلیون‌ها هکتار زمین زیر کشت محصولات تراریخته است و تا به حال هیچ‌گونه مشکل بهداشتی ناشی از مصرف محصولات تراریخته یا فرآورده‌های آن‌ها در انسان مشاهده نشده و بارها سلامت وکیفیت آن‌ها به اثبات رسیده است؛ ما نیز معتقدیم استفاده از محصولات تراریخته و حتی کشت آن‌ها در کشور می‌تواند سبب بهبود وضعیت جامعه و رسیدن به سطح بالایی از خودکفایی باشد. با درنظر گرفتن این موضوع که ورود این محصولات به‌هر حال از مبادی رسمی و غیررسمی صورت می‌گیرد و با توجه به این‌که ایران چند سال است که به پروتکل کارتاهنا و تصویب قانون ایمنی زیستی پیوسته نیاز مبرم به بررسی و کنترل بیشتر و همچنین اجرای قانون برچسب‌گذاری و علاوه‌بر آن آموزش و فرهنگ‌سازی در این زمینه به‌شدت احساس می‌شود. بدین‌صورت حق مصرف‌کننده ضایع نشده و به او قدرت انتخاب داده می‌شود.

## سپاسگزاری

بدین‌وسیله کمال تشکر و قدردانی خود را از کمک‌های بی‌شایبه موسسه دانش‌بنیان ایرانیان ژن‌فناور و پرسنل محترم این موسسه به‌خصوص آقای سام مساحی، محمدامین محمودی و همچنین موسسه اصلاح و تهیه بذر و نهال (جناب آقای دکتر مظفری) و آقای دکتر عباس عالم‌زاده به جهت در اختیار گذاشتن تعدادی نمونه وارداتی ابراز می‌کنم.

## منابع

**Adugna A and Mesfin T. 2008.** Detection and quantification of genetically engineered crops. Journal of SAT Agricultural Research Volume 6.

**Ajdukovic T, Nikolic K, Vujakovic Z, Milosevic M, *et al*. 2009.** Detection of genetically modified organisms in processed meat products on the Serbian food market. Meat Science, 81: 230-232.

**Ajdukovic T, Yilmaz F, Muratoglu K. 2013.** PCR detection of genetically modified maize and soy in mildly and highly processed foods. Food control 32: 525-531.

**Arun Ö, Yılmaz F, Murato_glu K. 2013.** PCR detection of genetically modified maize and soy in mildly and highly Processed foods.Food Control 32: 525-531

**Cankar K, Chauvensy-Ancel V, Fortabat M, Gruden K , Kobilinsky A, Zˇ el J, Bertheau Y .2005.** Detection of nonauthorized genetically modified organisms using differential quantitative polymerase chain reaction: application to 35S in maize. Analytical Biochemistry 376:189–199

**Cantrill R. 2008.** International development of methods of analysis for the presence of products of modern biotechnology. Asia Pac J Clin Nutr 17(S1): 233-236.

**Chaouachi M, Alaya A, Ali IB, Hafsa AB, Nabi N, Berard A, Romaniuk M, Skhiri F, Said K.2013.** Development of PCR method for the detection and quantification of a new endogenous reference gene in sugar beet “Beta vulgaris L”: GMO application. Planet cell Rep 32:117-28

**Constable A, Jonas D, Cockburn A, and *et al*. 2007.** History of safe use as applied to the safety assessment of novel foods and foods derived from genetically modified organisms. Food and Chemical Toxicology. 45: 2513-2525.

**Gachet E, G.Martin G, Vigneau F, and .Meyer G .1999.** Detection genetically modified organisms (GMOs) by PCR: a brief review of methodologies available. Trend in food science & Technology, 0: 380-388.

**Helt HW.2004.** Are there hazards for the consumer when eating food from genetically modified plants Union of the German Academies of Science and Humanities, Commission on Green Biotechnology.

**James C.2011.** GM crops, executive summary of global status of commercialized biotech.

**JamesC.2012.**GM crops, Global Status of Commercialized Biotech. ISAAA Brief No. 16.

**Khush GS .2005.** What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. Planet Molecular biology 59:1-6.

**Lee S, Park Y, Kim J, Park K and Kim Y .2004.** Qualitative PCR Method for Detection of Genetically Modified Maize.Lines NK603 and TC1507. Agric. Chem. Biotechnol. 47(4), 185-188

**Maryam Rabiei, Mehrangiz Mehdizadeh, Hossein Rastegar, Hossein Vahidi and Mahmoud Alebouyeh .2012.** Detection of Genetically Modified Maize in Processed Foods Sold Commercially in Iran by Qualitative PCR. Iranian Journal of Pharmaceutical Research (2013), 12 (1): 25-30 Received: December 2011 Accepted: July 2012.

**Meyer R. 1999.** Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. Food Control 10: 391-399.

**Meyer R, Chardonnens F, Hübner P, Lüthy J .1996.**



[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]

Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: Detection of soy in processed meat products. Zeitschrift fur Lebensmittel - Untersuchung und – Forschung 203: 339–344.

**N. Al-Hmoud, H. Al-rousan, B.O. Hayek and M.A Ibrahim .2010.** Detection of Genetically Modified Maize and Soybean Food Product in the Jordanian Market, Biotechnology 9 (4); 499-505. ISSN 1682-296X.

**Philips P W & McNill H .2000.** A Survey of National Labeling Policies for GM Foods, AgBioForum, Journal of Agro Biotechnology Management & Economics, Vol.3, No.4, Article 7.

**Sarmadi L.1391.** Molecular analysis of the transgenic maize seed Imported to Iran. Genetic engineering and biosafety Volume1, NO.2: 103-112.( In Farsi with English abstract)

**TengelC,SchüßlerP,Setzke E,Balles J, and Sprenger-Haußels M4a. 2001.** PCR-Based Detection of Genetically Modified Soybean and Maize in Raw and Highly Processed Foodstuffs, BioTechniques 31: 426-429

**Tripathi L .2005.**Techniques for detecting genetically modified crops and products. African Journal of Biotechnology Vol. 4 (13), pp. 1472-1479, December, 2005

**Wen-Tao X, Kun-Lun H, Ai-Ke D and Yun-Bo L .2004.** PCR for the detection of the anti-herbicide genes in genetically modified organisms. College of Food Science and Nutrition Engineering, Chinese Journal of Agricultural Biotechnology/ Volume 3 / Issue 01 / April 2006, pp. 53-57

**Zhang D, Guo J. 2011.** The development and standardization of testing methods forgenetically modified organsms and their derived products .J. Integr. Plant Biol. 53(7):539–551.

[ Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1392.2.2.3.9 ]