

مقدمه

از آنجا که در حال حاضر بیش از یکصد محصول اصلاح شده ژنتیکی (GMO) تولید شده و در سطح جهان بطور تجاری عرضه می شود، یافتن روشهای آنالیز و ردیابی GMO به منظور الزام و اجبار رعایت قوانین برچسب گذاری GMO ها ضروری می باشند. امروزه میلیون ها هکتار زمین در جهان زیرکشت گیاهان ترانس ژنیک قرار دارد و گیاهانی مانند سویا، پنبه، برنج و گندم با روش ترانس ژنیک دستکاری شده اند تا محصول آنها افزایش یابد. علاوه بر افزایش محصول، دلایل دیگری هم برای دستکاری ژنتیکی وجود دارد. از جمله گیاهان را به شوری و خشکی مقاوم می کنند تا آنها را در زمین های شور و خشک پرورش دهند. با استفاده از این روش، گیاهان را می توان نسبت به عوامل زیستی نامساعد مقاوم ساخته و گیاهانی را تولید کرد که در مقابل حشرات، باکتری ها، ویروس ها، قارچ ها و آفات زیستی مقاوم هستند.

تولید گیاهان تراریخته نیاز به سم پاشی و استفاده از سموم شیمیایی را کاهش می دهد و از این طریق به حفظ محیط زیست کمک می کند، اما تاثیرات سوء احتمالی آنها بر اندام های انسان و سایر مزارع طبیعی مجاور آنها، هنوز کاملا مشخص نیست. هم اکنون محصولات تراریخته در ۲۹ کشور جهان کشت می شود، به عنوان مثال بیش از ۷۰ درصد سویای مصرفی در دنیا سویای تراریخته است که از کیفیت بسیار بالایی برخوردار است و این محصول علاوه بر محصولات دیگر تراریخته، در بیش از ۲۰۰ کشور دنیا به مصرف می رسد.

در کشور ما نهادی تحت عنوان "شورای ایمنی زیست" که به تازگی قانون آن تصویب شده است با تشکیل دبیرخانه ای در سازمان حفاظت محیط زیست، مسئولیت تولید و عرضه محصولات تراریخته در ایران بر عهده گرفته است. هشت نوع محصول تراریخته (دستکاری ژنتیکی شده) در کشور تولید شده است که فعلا هیچکدام اجازه عرضه در بازار را ندارند. با این وجود کنترلی بر محصولات وارداتی به کشور وجود ندارد. طبق بررسی های انجام شده توسط موسسه تحقیقات برنج متاسفانه برنج های هندی وارداتی با توجه به ویژگی های غیر معمول و غیر طبیعی که دارند مشکوک به دستکاری ژنتیکی هستند و مصرف آن ها می تواند منجر به بروز مشکلات گوارشی و سایر مشکلات برای سلامت انسان شود. آن چه به طور غیررسمی در این خصوص مطرح شده است، آلوده بودن این برنج ها به ماده شیمیایی «فنول» است که به شدت سرطان زا است. ضمن آن که موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی نیز به عنوان اصلی ترین و مهم ترین مرجعی که در این زمینه می تواند اظهار نظر کند تنها نسبت به آلودگی شیمیایی این برنج ها هشدار داده است.

امروزه برای شناسایی و ردیابی محصولات اصلاح شده ژنتیکی، روشهای ردیابی مبتنی بر DNA و مبتنی بر پروتئین در تحقیقات مختلف مورد بررسی قرار گرفته اند. تغییری که سبب می شود یک محصول GM شود اغلب بصورت انتقال یک قطعه از DNA به ژنوم ارگانیسم است که قطعه DNA وارد شده اصطلاحاً insert نامیده می شود. برای شناسایی محصول GM باید insert ردیابی شود. بدین منظور در روشهای مختلف یا ژن های تغییر یافته هدف یعنی DNA و یا محصولات ژن یعنی RNA و پروتئین مورد ردیابی و شناسایی قرار می گیرند. در حال حاضر بیشتر روشهای بر پایه DNA برای ردیابی محصولات تغییر یافته ژنتیکی مورد استفاده قرار می گیرند زیرا DNA مولکول نسبتاً پایداری است. معمولترین روش شناسایی نیز روش PCR است که بسیار حساس و دقیق می باشد. محدودیت روش PCR آنست که برای انجام هر نوع ردیابی مبتنی بر PCR باید اطلاعات مربوط به توالی DNA وارد شده (insert) را در اختیار داشت تا بتوان پرایمر الیگونوکلوئیدی مناسب آن را طراحی و انتخاب نمود. بنابراین PCR روش مناسبی برای ردیابی مستقیم محصولات GMO ناشناخته نمی تواند باشد.

با توجه به توسعه سریع گیاهان GM که دارای ژن های مخلوط، جدید و ناشناخته می باشند محققان لزوم دستیابی به تکنولوژی های نوین و ابزارهای جایگزین برای ردیابی insert های ناشناخته را احساس می کنند. از این رو در مطالعات مختلف کاربرد روش های متفاوتی جهت ردیابی محصولات GM مورد بررسی قرار گرفته است که مهمترین آنها شامل:

- روشهای کروماتوگرافی
- اسپکتروسکوپی نزدیک مادون قرمز (NIR)
- میکرواری (ریزآرایه) و میکرو چیپ
- تکنیک بلاتینگ
- تکنیک پلی مورفیسم طول قطعات تکثیر شده (AFLP)
- می باشند که در زیر به تفکیک مورد بحث قرار می گیرند.

۱- روش های کروماتوگرافی

زمانی که ترکیب اجزای یک محصول GMO مانند محتوی اسیدهای چرب یا تری گلیسیریدهای آن تغییر کند، روش های شیمیایی متداول بر پایه کروماتوگرافی می تواند برای ردیابی تفاوت های ایجاد شده در ترکیب شیمیایی مورد استفاده قرار گیرد.

بردول و نف (۱۹۹۶) روغن حاصل از کانولای GM را با روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) تلفیق شده با اسپکترومتری جرمی- یونیزاسیون شیمیایی فشار اتمسفری (APCI-MS) مورد بررسی قرار دادند. در این روش شناسایی بر اساس قطعات دی آسیل گلیسرول و نیز یونهای تری گلیسیرید پروتونه شده بود. تعیین مقدار کمی یونها توسط دکتور یونیزاسیون شعله ای (FID) انجام شد. این محققان در بررسی الگوی تری گلیسیریدی نمونه ها دریافتند که در روغن واریته های GM کانولا، مقدار تری آسیل گلیسرول ها افزایش یافته است که نشان دهنده پایداری اکسیداتیو بیشتر برای روغن کانولای حاوی اسید استئاریک بالا و نیز برای روغن کانولای حاوی اسید لوریک بالا می باشد. این نتایج، مطالعات قبلی بر

روی پایداری اکسیداتیو روغن واریته های جدید سویا و روغن کانولای حاوی اسید اولئیک بالا که توسط نیف و همکاران به روش HPLC-FID بدست آمده بود را تأیید می کرد. این روش تنها زمانی کاربرد خواهد داشت که تغییر مهمی در ترکیب گیاهان GM یا محصولات آنها ایجاد شده باشد از این رو مخلوط شدن مقادیر اندک از روغن کانولای GM با ترکیب تری گلیسیریدی تغییر یافته را در روغن کانولای معمولی نمی توان با روش فوق تشخیص داد. همچنین تفاوت های طبیعی الگوی ترکیبات را در واریته های مختلف گیاهان باید مد نظر قرار داد.

۲- اسپکتروسکوپی نزدیک مادون قرمز

برخی از تغییرات ژنتیکی خاص ممکن است ساختار فیبری در گیاهان را تغییر دهد در حالیکه تغییر چشمگیری در محتوی پروتئین یا اسید چرب محصول ایجاد نکند مانند سویای GM (سویای RR). این موارد را می توان بوسیله اسپکتروسکوپی نزدیک مادون قرمز (NIR) ردیابی نمود (هربرگ و همکاران ۲۰۰۰).

لازم به ذکر است روش NIR هم مانند روش کروماتوگرافی قادر به تشخیص مقادیر اندک واریته های GM مخلوط شده با محصولات غیر GM نیست.

۳- تکنولوژی ریزآرایه ها (میکرو آری)

یکی از چالش هایی که ارزیابان محصولات GMO در آینده نزدیک با آن روبرو خواهند شد، توسعه سریع گیاهان GM است که دارای ویژگیهای جدید و عوامل کنترل ژنی مختلف و متعدد می باشند. به عنوان مثال هم (۱۹۹۷) گزارش کرد که برخی محصولات GM تصویب شده نه حاوی پروموتور S ۳۵ و نه ترمیناتور می باشند (این توالی ها معمولا در روش های تشخیص محصولات GM مورد ردیابی قرار می گیرند) که این امر تشخیص آنها را با روشهای متداول مشکل می سازد. با وجود آنکه ثبت ژن ها و استفاده از سیستم های بیوانفورماتیک پیشرفته می تواند در فراهم آوردن اطلاعات ابتدایی درباره انواع اصلاحات ژنتیکی ممکن مفید و موثر باشد، تکنولوژی های جدید و ابزارهایی مورد نیاز خواهند بود که عملکرد ردیابی بالا و هزینه پایین داشته باشند. به نظر می رسد تکنولوژی های جدید بدست آمده از تلفیق میکروسیستم های بر پایه چیپ نظیر میکروآری (ریزآرایه) می تواند در کاربردهای آنالیز GMO در آینده بسیار کارا و موثر باشد.

مارک شنا، پدر تکنولوژی ریزآرایه ها، اولین مقاله خود در رابطه با ریز آرایه ها را در سال ۱۹۹۵ منتشر کرد. اولین داده های مربوط به ریزآرایه های انسانی نیز در همان سال ارائه گردید. این آرایه ها موجب بهبود هیبریدیزاسیون اختصاصی DNA شده و روش آنالیز نوینی را برای پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک، ژن ها و سایر مولکول های زیستی در مقیاس ژنوم فراهم می آورند. تا چندی پیش بحث در زمینه تولید آرایه ها به مقیاس میکرو محدود بود اما با پیشرفت امکانات و دستیابی به روش های نوین، این بحث وارد فاز نانو گردیده است. آرایه به صورت مجموعه ای از نقاط منظم تعریف می شود که هر نقطه حاوی یک گونه مشخص از اسیدهای نوکلئیک تک رشته ای می باشد. تکنیک ریز آرایه ها بر ویژگی هیبریداسیون اسیدهای نوکلئیک استوار است بطوریکه توالی های مولکول های اسید نوکلئیک تک رشته که بر روی یک زمینه تثبیت شده اند، می توانند با توالی های مکمل خود هیبرید شوند.

تکنولوژی میکروآری امکان ردیابی هزاران ژن را بصورت همزمان فراهم می آورد. از جمله مزایای عمده این تکنولوژی را می توان در کوچک سازی واکنش ها به سبب کوچک بودن اندازه چیپ، بررسی نمونه های متفاوت بصورت همزمان و اتوماسیون چه در مرحله ساخت چیپ ها و چه در مرحله افزودن واکنشگرها دانست.

۴- تکنولوژی بلاتینگ

۴-۱- وسترن بلات

روش انتقال پروتئین از یک ژل به یک غشا (سطح جامد) بطور طنزآمیزی، وسترن بلاتینگ (لکه گذاری غربی) نامیده شد. ساترن نام دانشمندی بود که نخستین بار در سال ۱۹۷۵ مولکول های DNA را از یک ژل جدا کننده به یک غشا انتقال داد. روش مزبور از آن روز ساترن بلاتینگ نام گرفت. بطور مشابه روش انتقال مولکول RNA از یک ژل به غشا را که در سال ۱۹۷۷ توسط Kemp و Alwine ابداع گردید، نورترن بلاتینگ نامیدند. بدین ترتیب بلاتینگ پروتئین که به آن وسترن بلاتینگ نیز می گویند، به عنوان شاخه جدیدی از انتقال مولکول ها به غشا معرفی گردید. همچنین از آنجایی که غالباً وسترن بلاتینگ را به کمک اتصال آنتی بادی ها مورد تحلیل و بررسی قرار می دهند، این روند را گاهی ایمونوبلاتینگ نیز می نامند. پس از ابداع روش بلاتینگ پروتئین ها و بدنال آن شناسایی پروتئین ها به کمک آنتی بادی ها، این روش به سرعت به ابزاری قدرتمند و رایج برای شناسایی و تعیین مشخصات پروتئین ها تبدیل شد.

ساده ترین روش پروتئین بلاتینگ، دات بلاتینگ نامیده می شود. در روش مزبور مولکول های پروتئینی محلول در نمونه به کمک پی پت متغیر یا سرنگ هامیلتون به طور مستقیم به غشا منتقل می شوند. در حالیکه با انجام دات بلاتینگ اطلاعات کیفی در مورد بروز پروتئین بدست می آید اما با این روش نمی توان اطلاعاتی از وزن مولکولی آنتی ژن پروتئینی مورد نظر بدست آورد. همچنین ممکن است اختصاصی بودن روش دات بلاتینگ نیز تحت تأثیر محصولات شکسته شده پروتئین مورد نظر و یا حضور همزمان ایزوفرم های حاصل از تغییرات پس از ترجمه قرار گیرد.

روش پیچیده تر دیگر تحت عنوان وسترن بلاتینگ، شامل جداسازی مخلوط پروتئینی بر روی ژل و سپس انتقال آنها به غشای مناسب (نظیر PVDF) می باشد. در این روش یک مولکول پروتئینی از طریق میان کنش آن با آنتی بادی اختصاصی نشاندار شناسایی می گردد. به کمک این روش

می توان اطلاعات ارزشمندی از خصوصیات مختلف آنتی ژن های پروتئینی شامل وجود و مقدار آنتی ژن، وزن مولکولی پروتئین، ایزوفرم ها و محصولات شکسته شده آن، کارایی روش استخراج آنتی ژن بدست آورد. این روش به خصوص در مواقعی که آنتی ژن های پروتئینی نا محلول بوده و یا نشاندار کردن آن مشکل باشد و یا به آسانی تجزیه می گردند، مفید می باشد. پس از انتقال پروتئین ها به غشای مناسب، مولکول های پروتئین های انتقال یافته (بلات شده) را می توان با به کارگیری روش های رنگ آمیزی مناسب قابل رویت ساخت و همچنین بطور مستقیم توسط تعیین توالی ناحیه N-ترمینال، اسپکترومتر جرمی و روشهای شناسایی ایمونولوژیک مورد بررسی و شناسایی قرار داد.

در آزمایشگاه های طبی از وسترن بلاتینگ (یا ایمونوبلاتینگ) برای مواردی نظیر تأیید تشخیص بیماریهای عفونی و انگلی، بیماری های خود ایمنی و آلرژی استفاده می شود. همچنین وسترن بلاتینگ به عنوان آزمایش تأییدی برای تشخیص عفونت HIV و HTLV-1 بعد از نتایج مثبت آزمایش ELISA و همچنین انسفالوپاتی اسفنجی گاو (موسوم به بیماری جنون گاوی)، در نظر گرفته می شود. برخی دیگر از کاربردهای وسترن بلاتینگ عبارتند از: بررسی میزان بروز مولکول های پروتئینی توسط آنالیز کمی نتایج وسترن بلاتینگ و شناسایی ارگانسیم های تغییر یافته با مهندسی ژنتیک (GMO) در صنایع غذایی.

اصول عملی وسترن بلاتینگ

بطور کلی مراحل آزمایش وسترن بلاتینگ به چندین مرحله تقسیم می شود:

۱- آماده سازی نمونه: نمونه ها (کل بافت یا کشت سلولی) بصورت مکانیکی توسط بلندر (برای نمونه های با حجم بالا) و یا هموژنایزر (برای نمونه های با حجم کم) و یا تکنیک های سونیکاسیون شکسته می شوند. در این مرحله ممکن است نمک ها، دترژنت ها و یا بافرهای خاصی برای تسهیل لیز شدن سلولها و محلول شدن پروتئین ها بکار گرفته شود. بازدارنده های پروتئاز و فسفاتاز نیز به منظور ممانعت از هضم نمونه توسط آنزیم های خودش بکار گرفته می شود. همچنین واکنش در دمای پایین و محیط سرد انجام می شود تا از دناتوره شدن پروتئین ممانعت بعمل آید.

۲- جداسازی پروتئین های موجود در نمونه بر روی ژل (SDS-PAGE): جداسازی ممکن است بر اساس نقطه ایزوالکتریک، بار الکتریکی و وزن مولکولی و یا ترکیبی از هر سه باشد. این ژل پلی پپتید را در حالت دناتوره نگه می دارد تا ساختارهای نوع دوم و سوم از بین بروند یعنی پیوندهای دی سولفید S-S به گروههای سولفیدریل S-H تبدیل می شوند. برای انجام SDS-PAGE اندازه کاست تقریباً ۸۰ میلی متر بوده و در هر چاهک حدود ۲۰-۵ میکروگرم پروتئین لود می شود. ولتاژ مورد استفاده معمولاً ۲۰۰ ولت به مدت ۲-۱ ساعت است

۳- انتقال پروتئین های جداسازی شده بر روی ژل، به غشا که انواع روشهای انتقال قبلاً ذکر گردید.

۴- رنگ آمیزی پروتئین های بلات شده بر روی غشا (در صورت نیاز، برش غشا) و رنگ بری آن برای ارزیابی روند انتقال

۵- بلوکه کردن: این مرحله شامل پوشاندن جایگاه های غیر اختصاصی بر روی غشا با محلول های اشباع کننده (بلوکه کننده) مانند آلومین سرم گاوی (BSA) و یا شیر خشک بدون چربی می باشد. پروتئین های موجود در محلول های بلوک کننده در همه نقاطی که پروتئین هدف نجسبیده است، می چسبند بنابراین وقتی آنتی بادی افزوده شود فضای خالی در غشاء به جز جایگاه اتصال پروتئین های هدف برای چسبیدن آن وجود ندارد. این امر میزان نویز را در محصول نهایی بلات کاهش داده و نتایج واضح تری را ایجاد می کند.

۶- مجاور کردن غشا با آنتی بادی اولیه اختصاصی پروتئین هدف: پس از بلوکه کردن یک محلول رقیق از آنتی بادی اولیه (۵-۵۰ میکروگرم در میکرولیتر) با غشاء تحت همزدن ملایم و آهسته اینکوبه می شود. مدت اینکوباسیون از ۳۰ دقیقه تا یک شبانه روز متغیر است. دمای اینکوباسیون نیز متفاوت می باشد و بالا رفتن دما باندهای اختصاصی (سیگنال) و غیر اختصاصی (نویز) بیشتری تشکیل می شود.

۷- مجاور کردن غشا با آنتی بادی ثانویه (این آنتی بادی اختصاصی آنتی بادی اولیه است): این آنتی بادی معمولاً با بیوتین و یا یک آنزیم گزارشگر مانند آلکالین فسفاتاز و یا هورسرادیش پراکسیداز نشاندار شده است.

۸- افزودن سوبسترای مناسب آنزیم مورد استفاده

۹- ردیابی مثبت و آنالیز نتایج بدست آمده در اثر واکنش آنزیمی: ردیابی با یکی از روشهای کالریمتریک، کمی لومینسانس، رادیواکتیو و یا فلورسنت انجام می شود. پس از آنکه پروب های متصل نشده شسته شدند، وسترن بلات بدست آمده آماده ردیابی پروتئین هایی است که نشاندار شده و به پروتئین های هدف متصل شده اند.

شایان توجه این که از مرحله چهارم، پیش از افزودن هر معرف غشا با بافر مناسب شستشو داده می شود.

۴-۲- نورترن بلات

نورترن بلات تکنیکی است که برای مطالعه بیان ژن در نمونه ها از طریق ردیابی RNA یا mRNA ایزوله شده مورد استفاده قرار می گیرد.

اصول کلی نورترن بلات مشابه وسترن بلات می باشد با این تفاوت که مولکول مورد ردیابی در نورترن RNA و در وسترن پروتئین است. مراحل کلی نورترن بلات بصورت زیر است:

-استخراج کل RNA از نمونه

-ژل الکتروفورز و جداسازی قطعات بر اساس اندازه: نمونه های RNA معمولا بر روی ژل آگاروز حاوی فرمالدئید به عنوان عامل دناتورده کننده RNA و ممانعت کننده از تشکیل ساختار ثانویه، جداسازی می شوند.
-انتقال به غشای نایلونی: که معمولا از طریق پدیده خلا یا موبینگی انجام می شود.
-ریدیابی: پروب ها معمولا از اسیدهای نوکلئیک باتوالی مکمل همه یا بخشی از RNA مورد نظر تشکیل شده اند. این توالی ها ممکن است از جنس DNA ، RNA و یا الیگونوکلئوتیدهای دارای حداقل ۲۵ باز مکمل با توالی هدف باشند. این توالی ها با ترکیبات رادیواکتیو و یا فلورسنتس نشان دار شده اند.
-آنالیز داده ها

۳-۴- ساترن بلات

ساترن بلات روشی است که بطور معمول برای ریدیابی حضور یک توالی خاص DNA در یک نمونه DNA بکار می رود. به عبارت دیگر تفاوت آن با دو روش قبلی ذکر شده مولکول مورد ریدیابی است که DNA می باشد. نامگذاری این تکنیک بر اساس نام مبدع آن ادوین ساترن صورت گرفته است.
ساترن بلات مرکب از الکتروفورز ژل آگاروز برای جداسازی DNA بر اساس اندازه به همراه روشی برای انتقال DNA های جدا شده با فیلتر غشایی و در نهایت هیبریداسیون پروب می باشد. مراحل عملی ساترن بلات بصورت زیر است:
-استفاده از اندونوکلازهای برشی برای برش دادن زنجیر DNA با وزن مولکولی بالا به قطعات کوچکتر
-الکتروفورز بر روی ژل آگاروز به منظور جداسازی قطعات بر اساس اندازه
-انتقال بر روی غشاء: اگر انتقال قلبایی مورد استفاده قرار گیرد، ژل حاوی DNA در داخل محلول قلبایی که معمولا سدیم هیدروکسید است، قرار می گیرد تا زنجیره دورشته ای DNA دناتورده شود.
دنانوراسیون در محیط قلبایی می تواند اتصال DNA باردار شده منفی را به غشای دارای بار مثبت افزایش داده و آن را بصورت تک رشته ای درآورد که مرحله بعد یعنی هیبریداسیون با پروب را تسهیل می کند. ضمن اینکه کلیه آلودگی های RNA که ممکن است همراه DNA وجود داشته باشند را از بین می برد. غشای مورد استفاده معمولا نیتروسولوز و یا نایلون می باشد. عامل اتصال DNA به غشاء ، واکنش های تعویض یونی است که بین DNA با بار منفی و غشاء با بار مثبت صورت می گیرد.
-سپس غشاء تحت خلا و یا در آن ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت پخت می شود (شرایط استاندارد برای غشاهای نایلونی یا نیتروسولوزی) و یا در معرض اشعه ماورابنفش قرار داده می شود تا DNA منتقل شده بر روی غشاء تثبیت گردد.
-هیبریداسیون: غشاء سپس در معرض پروب ها قرار می گیرد که شامل DNA های تک رشته می باشند که توالی آنها مکمل توالی DNA هدف می باشد.

-ریدیابی و آنالیز داده ها

۵- پلی مورفیسم طول قطعات تکثیر شده

استراتژی دیگری که در سالهای اخیر برای شناسایی محصولات GMO مورد بحث قرار گرفته است ، تکنیک پلی مورفیسم طول قطعات تکثیر شده (AFLPS) یا نوعی روش انگشت نگاری DNA می باشد که در ابتدا برای تمایز بین وارته های مختلف گیاهی با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته است .

AFLP- PCR یک روش بسیار حساس برای شناسایی پلی مورفیسم در DNA است که اولین بار توسط واس و زابئو در ۱۹۹۳ معرفی گردید. مطالعات اخیر نشان داده است که تکنولوژی AFLP را با استفاده از یک پرایمر اختصاصی GMO ، می توان برای ریدیابی محصولات اصلاح شده ژنتیکی مورد استفاده قرار داد.

نشانگر AFLP یا چند شکلی از جمله نشانگرهای مبتنی بر PCR است. این نشانگر بر مبنای تکثیر قطعات ژنومی هضم شده توسط آنزیم های برشی پس از اتصال الیگونوکلئوتیدهای آغازگر از طریق PCR استوار است. در این روش ابتدا DNA مورد نظر توسط یک آنزیم برشی هضم می شود و پس از آن الیگونوکلئوتیدهای کوتاه به انتهای هر یک از قطعات وصل می شوند. سپس این قطعات برش یافته در طی PCR به وسیله آغازگرهای مکمل یا الیگونوکلئوتیدها و مکان های برش یافته تکثیر می شوند. آنچه که سبب تکثیر اختصاصی قطعات می شود، داشتن تعداد کمی نوکلئوتیدهای خاص است که در انتهای ۳' آغازگرها وجود دارد. هر بازی که به انتهای ۳' آغازگر افزوده شود به طور متوسط قطعات تکثیری را تا ۱۶ برابر کاهش می دهد، زیرا احتمال انتخاب هر انتها ۴ بار کاهش می یابد. با استفاده از این روش می توان قطعات برش یافته ای را که هیچ گونه اطلاعاتی از توالی نوکلئوتیدی آنها در دست نیست، با PCR مورد بررسی قرار داد. این روش امکان تکثیر همزمان تعداد زیادی قطعات برش یافته را فراهم می نماید. تعداد قطعاتی که می توان بطور همزمان تحلیل و بررسی نمود بستگی به میزان وضوح سیستم تشخیصی دارد. به عنوان مثال قطعات برش یافته ۵۰ تا ۱۰۰ نوکلئوتیدی تکثیر شده و روی ژل های پلی اکریل آمید واسرشت شده بررسی شدند.

نتیجه گیری کلی:

در حال حاضر هشت نوع محصول تراریخته (دستکاری ژنتیکی شده) در داخل کشور تولید شده است که فعلا هیچکدام اجازه عرضه در بازار ندارند، اما کنترلی بر محصولات وارداتی نظیر اقلام برنج وارداتی از هند و پاکستان و سایر کشورها صورت نمی‌گیرد. روش‌های بررسی شده در این مقاله با ضریب اطمینان بالا قادرند محصولات تراریخته را از محصولات طبیعی تفکیک نموده و ایمنی مصرف کنندگان را تأمین نمایند.

منابع

- ۱- باقری، عبدالرضا. مشتاقی، نسرین. شریفی، احمد. ۱۳۸۶. بیوتکنولوژی گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ص ۱۱۸-۱۱۶.
- ۲- مرتضوی، سید علی و همکاران. ۱۳۸۷. کاربرد نانوبیوتکنولوژی در صنایع غذایی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. جلد ۱. فصل ۳. ص ۸۳-۹۴.
- ۳- نصیری، محمدرضا. جواد منش، علی. پور سیفی، رضا. ۱۳۸۵. درسنامه کارگاه آموزشی " نشانگر AFLP در بررسی ژنوم ". قطب علمی علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۴- وارسته، عبدالرضا. سنکیان، مجتبی. عصاره زادگان، محمد علی. ۱۳۸۷. راهنمای نظری و عملی وسترن بلاتینگ. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- 5-Ahmed F.E.2002. Detection of genetically modified organisms in foods. TRENDS in Biotechnology Vol.20 No.5.215-223.
- 6-Anklam E. Ferruccio Gadani . Petra Heinze Hans Pijnenburg • Guy Van Den Eede.2002.Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products. Eur Food Res Technol 214:3-26.
- 7-Byrdwell WC, Neff WE (1996) J Liq Chromatogr Relat Technol 19(15): 2203-2225.
- 8-Deisingh A.K & Badrie N. 2005.Detection approaches for genetically modified organisms in foods. Food Research International 38 . 639-649.
- 9-Ehlert A. Ulrich Busch F.M. Engel K.H .Development of a modular system for detection of genetically modified organisms in food based on ligation-dependent probe amplificationEur Food Res Technol.
- 10-F. SPIEGELHALTER, F-R. LAUTER, AND J.M. RUSSELL.2001. Detection of Genetically Modified Food Products in a Commercial Laboratory. JOURNAL OF FOOD SCIENCE—Vol. 66, No. 5.
- 11-Hurburgh CR, Rippke GR, Heithoff C, Roussel SA, Hardy CL (2000) Detection of genetically modified grains by near-infrared spectroscopy. Proceedings PITTCON 2000 – Science for the 21st Century, #1431. New Orleans, LA 12-17 March 2000 or Internet <http://pittcon24857.omnibooksonline.com>
- 12-Knut G. Berdal,2005. Design of a DNA chip for detection of unknown genetically modified organisms (GMOs). Bioinformatics. Vol. 21 no. 9, pp 1917-1926.
- 13-Laura B. Heinze Petra, Kay Simon, Van den Eede Guy.2001. REVIEW OF GMO DETECTION AND QUANTIFICATION TECHNIQUES. European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, Food Products and Consumer Goods Unit, I-21020 Ispra, Italy.
- 14-M. Miraglia et al. 2004. Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain. WG4 ENTRANSFOOD.
- 15-Meyer R.1999.Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. Food Control 10 .391-399.
- 16-Nagarajan, M.M & Boer, S.H.D. 2003.An oligonucleotide array to detect genetically modified events in potato. Plant molecular biology reporter. 21:259-270.
- 17-Neff WE, Mounts TL, Rinsch WM, Konishi H, El-Agaimy MA (1994) J Am Oil Chem Soc 71:1101-1109.
- 18-Neff WE, Selke E, Mounts TL, Rinsch WM, Frankel EN, Zeitoun MAM (1992) J Am Oil Chem Soc 69: 111-118.
- 19-Nesvold H. Anja Brathen Kristoffersen, Arne Holst-Jensen and Hemmer W. (1997). Foods derived from genetically modified organisms and detection methods.BATS-Report 2/1997, Agency for Biosafety Research and Assessment of Technology Impacts of the Swiss Priority Programme Biotechnology of the Swiss National Science Foundation, Basel,Switzerland.
- 20-P. Markoulatos. 2004.Qualitative and Quantitative Detection of Protein and Genetic Traits in Genetically Modified Food. FOOD REVIEWS INTERNATIONAL.Vol. 20, No. 3, pp. 275-296.
- 21-PATRINOS G.P.& ANSORGE. W.2005. MOLECULAR DIAGNOSTICS. Elsevier Academic Press.
- 22-Stave J.W. 1999. Detection of new or modified proteins in novel foods derived from GMO - future needs. Food Control 10 . 367-374.
- 23-Yoke-Kqueen C., Son Radu b, Michael Clemente Wong Vui Ling.2006. Membrane based detection of genetically modified organisms in some representatives food. Food Control 17 .631-636.