مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۷، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

توسعه زیست‌حسگرها به‌عنوان رویکردی نوآورانه در تشخیص محصولات تراریخته

نوع مقاله: مروری

ثریا شیری[۱]، امیر موسوی*[۲]، محمد واحدی[۳]، ایوب آرپنائی[۴]، کسری اصفهانی[۵]

۱-دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه زیست فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

۳-، استادیار، دانشکده فیزیک، دانشگاه علم و صنعت، تهران، ایران

۴- دانشیار، موسسه پژوهشی سایون، روتوروا، نیوزیلند

۵- استادیار، گروه زیست فراورده های گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

m-amir@nigeb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۵

صفحه ۵۸-۳۷

چکیده

در گیاهان تغییریافته ژنتیکی که به اصطلاح تراریخته نامیده می‌شوند، ساختار ژنوم به صورت مصنوعی دستکاری شده است تا صفات مطلوب‌تری مانند مقاومت در برابر آفات و علف‌کش‌ها، تحمل به خشکی یا افزایش عملکرد را به دست آورند. توسعه این گیاهان و اهمیت تأیید رخدادهای مجاز و تعیین کمیت آن‌ها در محصولات غذایی، نیاز به روش‌های سریع، دقیق و حساس برای تشخیص آنها را نمایان ساخته است. با اینکه روش‌های مانند انواع PCR برای تشخیص محصولات تراریخته استفاده می‌شود، اما محدودیت‌هایی مانند نیاز به تجهیزات، زمانبر بودن و هزینه بالا، کاربرد آن‌ها را با چالش روبرو ساخته است. بنابراین توسعه روش‌های جایگزین به یک ضرورت تبدیل شده است. در این میان، زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ به‌عنوان ابزارهایی قدرتمند برای تشخیص اختصاصی و کمی توالی‌های نوکلئوتیدی مورد توجه قرار گرفته‌اند. زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ بر اساس برهمکنش اختصاصی یک کاوشگر تک رشته‌ای متصل شده به سطح حسگر و توالی هدف در نمونه عمل می‌کنند. دورگ شدن این دو رشته، سیگنالی ایجاد می‌کند که با روش‌های مختلف نوری، الکتروشیمیایی یا پیزوالکتریک قابل شناسایی و اندازه‌گیری است. با توجه به پیشرفت‌های اخیر در زمینه نانوتکنولوژی و زیست‌حسگرها، انتظار می‌رود در آینده شاهد توسعه زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ با حساسیت، اختصاصیت و سرعت بالاتر باشیم.

واژه‌های کلیدی: الکتروشیمیایی، پیزوالکتریک، تشخیص GMO، زیست‌حسگرها، نوری.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

مقدمه

ظهور و استفاده از موجودات تغییر یافته ژنتیکی (genetically modified organisms: GMOs) در سه دهه گذشته تحولات زیادی را در شیوه‌های مدیریت زراعی و بهبود شرایط تولید ایجاد کرده است. بر اساس مستندات سازمان بهداشت جهانی، موجودات تغییریافته ژنتیکی یا به اصطلاح "تراریخته" موجوداتی به استثنای انسان‌ها هستند، که در آن‌ها ماده ژنتیکی به گونه‌ای تغییر یافته است که به‌طور طبیعی با تلاقی و یا نوترکیبی طبیعی اتفاق نمی‌افتد (Tagliabue. 2016)؛ نتیجه آن می‌تواند بیان پروتئین‌های جدید و خاصی باشد که خصوصیات مطلوبی مانند مقاومت در برابر آفات و علف‌کش‌ها را به محصولات دستکاری شده ژنتیکی اعطا می‌کنند. از جمله مزایای کشت محصولات تراریخته می‌توان به افزایش عملکرد محصولات، کاهش هزینه تولید مواد غذایی، کاهش نیاز به سموم دفع آفات، بهبود ارزش و کیفیت مواد غذایی و مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها اشاره کرد (Phillips. 2008). هدف اصلی از توسعه این محصولات، رویارویی با چالش تولید مواد غذایی کافی برای جمعیت رو به رشد انسان‌ها است که در آب و هوای متغیر و ناپایدار زندگی می‌کنند (Altpeter et al. 2016). بر اساس گزارش سرویس بین‌المللی دستیابی و استفاده از بیوتکنولوژی کشاورزی (International Service for the Acquisition of Agribiotech Application: ISAAA)، کشت محصولات تراریخته از سال ۱۹۹۶ با ۱/۷ میلیون هکتار در دنیا آغاز شده (James. 2019) و این میزان تا به امروز همواره رو به پیشرفت و فزونی بوده و به حدود ۲۰۶/۳ میلیون هکتار در سال ۲۰۲۳ رسیده است (AgbioInvestor. 2024).

با توجه به اینکه در چند سال گذشته توجه عموم به استفاده از مهندسی ژنتیک در تولید محصولات کشاورزی و غذایی افزایش یافته، نگرانی در مورد تاثیر احتمالی این محصولات بر سلامت عمومی و محیط زیست، برخی دولت‌ها را به تنظیم مقررات سیستم برچسب‌گذاری (labeling system) مواد غذایی سوق داده است (García-Cañas et al. 2004; Holst-Jensen. 2009). برچسب‌گذاری مواد غذایی باعث حفظ حقوق مصرف‌کنندگان می‌شود و به آنها کمک می‌کند تا از محتویات محصول آگاه بوده و امکان انتخاب داشته باشند (Premanandh. 2011). سطح آستانه تعیین شده برای برچسب‌گذاری در کشورهای مختلف از صفر تا ۵ درصد متغیر است. برچسب‌گذاری در برخی کشورها مانند استرالیا، اتحادیه اروپا، برزیل و شیلی اجباری و در برخی کشورها مانند آرژانتین، کانادا و ایالات متحده آمریکا اختیاری است (Fraiture et al. 2016). مطابق قوانین اتحایه اروپا، حضور مواد تغییریافته

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

ژنتیکی (GM) در مواد غذایی و خوراک دام تحت قوانین EC 1829/2003 پارلمان اروپا و شورای اتحادیه اروپا است که روی یک روش برچسب‌گذاری برای همه محصولات حاوی مواد تراریخته تاکید دارد. این قوانین توسط قانون EC 1830/2003 تکمیل شده است که ردیابی و برچسب‌گذاری محصولات تراریخته عرضه شده در بازار را تضمین می‌کند. هنگامی که محتوای مواد تراریخته مجاز از ۰/۹ درصد مواد غذایی یا خوراک دام بیشتر شود، برچسب‌زدن اجباری است. در این حالت، عبارت " تغییریافته ژنتیکی" باید روی محصول ذکر شود. اگر مقدار مواد تراریخته زیر حد آستانه باشد، وجود مواد تراریخته تصادفی بوده یا از نظر فنی غیرقابل اجتناب تلقی می‌شود. در این صورت محصولات را می‌توان بدون برچسب به بازار عرضه نمود. برای رخدادهای تراریخته غیرمجاز و تایید نشده توسط مراجع ذی‌صلاح، و یا اینکه منبع GMO از قبل ارزیابی نشده باشد، حد تحمل صفر درصد تعیین می‌شود. به‌طور کلی سیاست تحمل صفر (zero tolerance policy) بیان می‌کند که هر ماده غذایی یا خوراک دام وارداتی نمی‌تواند حتی حاوی مقادیر کمی از مواد GMO باشد که در کشور واردکننده مجاز نیست. برخلاف قوانین اتحادیه اروپا، برچسب‌گذاری محصولات تراریخته در ایالات متحده آمریکا غالبا اختیاری است (European Commission. 2003 a,b). موضوعی که در حال حاضر بین گروه‌های مصرف کنندگان و دوستداران محیط زیست مورد بحث است. با در نظر گرفتن جمیع موارد فوق، نیاز به نظارت و تعیین میزان GMOها در محصولات کشاورزی، غذا و خوراک دام وارداتی، چه از لحاظ تعیین وضعیت (تراریخته بودن یا نبودن نمونه) و یا تعیین نوع رخداد تراریخته است. این ضرورت موجب توسعه روش‌های آنالیز کارا برای تشخیص دقیق، حساس، سریع و ارزان این محصولات شده است. در این راستا، حسگرهای دی.ان.اِ به‌عنوان یک فناوری جدید مبتنی‌بر تشخیص اطلاعات ژنتیکی معرفی شده‌اند که در آینده می‌تواند جایگزین روش‌های کنونی شده و امکان شناسایی سریع و بسیار حساس در سطح ژنوم را فراهم سازند. هدف از این بررسی، ارزیابی پژوهش‌های انجام شده در مورد کاربرد فناوری زیست‌حسگرهای بر پایه دی.ان.اِ برای تعیین کمی و کیفی حضور مواد تراریخته در غذا و خوراک دام است. هدف از این مطالعه، در وهله اول مروری بر اهمیت و ضرورت شناسایی محصولات تراریخته و سپس بررسی کاربرد زیست حسگرهای نوری، الکتروشیمیایی و پیزوالکتریک به‌عنوان یک فناوری پیشرفته برای غربالگری و تعیین کمیت این محصولات و ارزیابی پتانسیل آن‌ها برای جایگزینی روش‌های مرسوم است. در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

این مقاله، ضمن معرفی انواع زیست‌حسگرها و اصول عملکرد آن‌ها، کاربردهای هر یک در تشخیص گیاهان تراریخته مورد بررسی قرار می‌گیرد. همچنین، آخرین پیشرفت‌ها در این زمینه و چالش‌های موجود برای تجاری‌سازی این فناوری‌ها مورد بحث قرار خواهد گرفت.

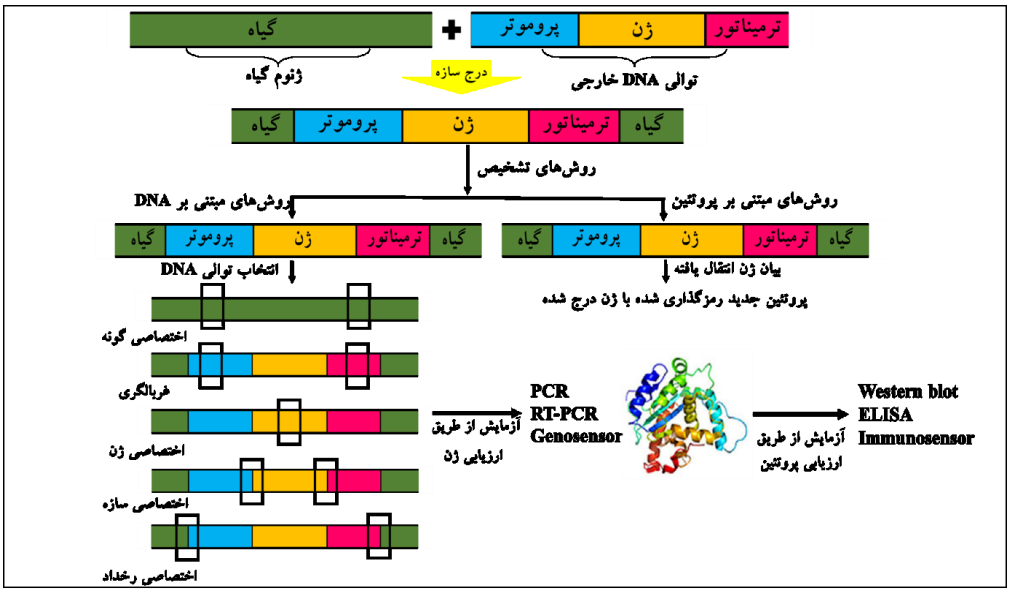
شناسایی و کمیت‌سنجی گیاهان تراریخته

امروزه روش‌های تشخیصی مناسبی برای شناسایی و کمیت‌سنجی GMOها در سطوح بسیار کم دی.ان.اِ (مثلا ده‌ها نسخه ژنوم) در انواع مختلف نمونه‌ها، از مواد خام گرفته تا نمونه‌های تجاری بذر، غذا و خوراک دام توسعه یافته است. دو روش معمول برای شناسایی دو نوع ماکرومولکول، پروتئین و دی.ان.اِ، به‌منظور آشکار نمودن حضور محصولات تراریخته استفاده می‌شود (Ahmed. 2002; Hernández et al. 2005; Kok et al. 2002; Elenis et al. 2008). روش‌های مبتنی‌بر پروتئین، پروتئین‌های جدیدی که توسط ژن‌های تلفیق شده رمزگذاری می‌شوند را شناسایی می‌کنند. این روش‌ها غالبا براساس اتصال بین پروتئین و آنتی‌بادی اختصاصی حاصل می‌شوند و اکثر این روش‌ها براساس روش الایزا (ELISA) هستند. به‌طور کلی آزمون‌های پروتئینی با توجه به محدودیت دامنه تشخیصی (محدود به آنزیم‌ها و پروتئین‌های رمز شده توسط تراژن‌ها) و پایداری کمتر، برای تشخیص مواد تراریخته در طیف وسیع محصولات مانند انواع غذاها و خوراک دام فرآوری شده مناسب نیستند (Holst-Jensen et al. 2012; Lian et al. 2017). متداول‌ترین روش تشخیص براین اساس است که بخشی از اطلاعات ژنتیکی در گیاهان تراریخته با اطلاعات ژنتیکی لاین نوع وحشی (غیر تراریخته) متفاوت است؛ بنابراین، تغییرات ژنتیکی اعمال شده در سطح دی.ان.اِ قابل ردیابی و تشخیص است.

با توجه به دی.ان.ای هدف موجود در محصولات تراریخته، روش‌های مبتنی‌بر دی.ان.اِ را می‌توان در سطوح مختلف طبقه‌بندی کرد (Lian et al. 2017; Holst-Jensen et el. 2016) (شکل ۱)؛ ۱- روش‌های غربالگری، که کمترین میزان اختصاصیت را دارند؛ هدف آنها عناصر دی.ان.ای مشترک در اکثر محصولات تراریخته هستند. مانند پیش‌برها و پایانبرها که در بسیاری از رخدادها حضور دارند. گاهی اوقات، ژن‌های نشانگر نیز به‌عنوان اهداف غربالگری استفاده می‌شوند، مانند ژن مقاوم به نئومایسین-کانامایسین به نام ژن نئومایسین فسفوترانسفراز II (*nptII*)؛ ۲- روش‌های اختصاصی ژن، که معمولا بخشی از توالی ژن عامل صفت جدید (مرتبط با تغییرات اختصاصی ژنتیکی) را شناسایی می‌کنند. ۳- روش‌های اختصاصی سازه، که اتصال بین دو عنصر دی.ان.اِ مانند ژن: پیش‌بر یا پایانبر: ژن را هدف قرار می‌دهند، و ۴- روش‌های اختصاصی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

رخداد، که بالاترین سطح اختصاصی بودن را ارائه می‌دهند، زیرا توالی هدف، اتصال منحصر به فردی است که در محل ادغام بین دی.ان.ای خارجی وارد شده و ژنوم گیرنده ایجاد می‌شود.



شکل ۱- روش‌های تشخیص محصولات تراریخته بر اساس شناسایی توالی‌های دی.ان.ای انتقال یافته به ژنوم میزبان و یا محصول پروتئینی بیان یافته. اقتباس از (Holst-Jensen et al. 2012)

روش‌های تشخیص کیفی (مبتنی‌بر تکثیر توالی هدف) را می‌توان به‌عنوان غربالگری اولیه محصولات غذایی در نظر گرفت که برای بررسی وجود قطعات اختصاصی GMO استفاده می‌شود. بنابراین تجزیه و تحلیل کیفی می‌تواند بر روی نمونه‌های محصولات بسته‌بندی شده از قفسه سوپرمارکت‌ها، محموله‌های موجودی در زنجیره تامین مواد غذایی یا از مواد خام انجام شود. اگر آنالیز کیفی وجود محصولات تراریخته را تایید کند، با انجام یک آزمایش کمّی می‌توان جهت لزوم برچسب‌گذاری محصول اطمینان حاصل کرد (Querci et al. 2006).

روش آنالیز محصولات تراریخته، یک فرآیند چند مرحله‌ای است. این مراحل شامل جمع‌آوری نمونه و سایر مراحلی که برای تعیین حضور، شناسایی و در صورت لزوم تعیین کمیت محصولات تراریخته هستند و در نهایت یک نتیجه برحسب درصد مقدار محصول تراریخته (GMO٪) ارائه می‌دهند (Holst-Jensen et al. 2012). بر این اساس، آماده‌سازی نمونه، استخراج دی.ان.اِ و تشخیص توالی‌های هدف را می‌توان به‌عنوان مراحل جداگانه‌ای در نظر گرفت که با هم یک روش را تشکیل می‌دهند. بنابراین هرکدام از مراحل را می‌توان به‌عنوان یک عملیات مجزا و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

محدود تعریف کرد که هر یک شامل مواد یا داده‌های ورودی و خروجی خاص خود هستند. به‌طور معمول برای پایش محصولات تراریخته مراحل زیر انجام می‌شود. ۱) آماده‌سازی نمونه که در آن مواد مورد استفاده به شکل همگن فرآوری می‌شوند. مثلا تبدیل دانه‌ها به آرد؛ ۲) استخراج و خالص‌سازی دی.ان.اِ که در آن ماده ورودی، نمونه همگن و ماده خروجی دی.ان.ای خالص شده در محلول آبی است ؛ ۳) مرحله تکثیر که در آن ناحیه توالی هدف جداسازی و به صورت نمایی بسط داده می‌شود تا مقادیر قابل تشخیصی از آن به دست آید (برای مثال از طریق PCR یا روش تکثیر هم‌دما). ۴) مرحله شناسایی، که در آن ماده ورودی دی.ان.ای تکثیرشده در واکنش و خروجی کار، داده‌های اندازه‌گیری شده است، به‌عنوان مثال جمع‌آوری داده‌های فلورسانس و ترجمه به یک عدد نمایانگر نسخه‌های توالی هدف ۵) ارزیابی داده‌ها، برای مثال تعداد کپی‌های توالی هدف اختصاصی تاکسون و اختصاصی رخداد به یک نتیجه کمّی نهایی پردازش می‌شوند (Sánchez-Paniagua López et al. 2018).

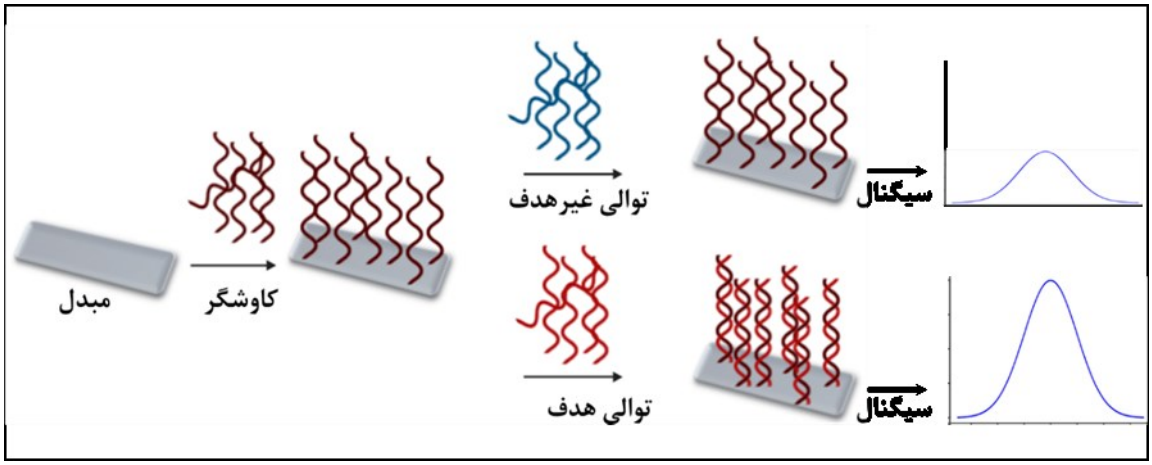
تشخیص محصولات تراریخته عموماً با تکثیر آنزیمی توالی‌های دی.ان.ای اختصاصی درج شده در تراژن با روش‌های مبتنی‌بر دی.ان.اِ انجام می‌شود. برای کمیت‌سنجی از روش‌های مبتنی‌بر Real-time PCR استفاده می‌شود. این تکنیک از مولکول‌های فلورسنت برای تولید داده‌های در زمان واقعی در طول مراحل مختلف تکثیر استفاده می‌کند و به ما امکان می‌دهد میزان فلورسانس را در فاز نمایی جمع‌آوری کنیم، جایی که امکان دستیابی به میزان قطعه دی.ان.ای تکثیرشده (آمپلیکون) وجود دارد. علیرغم این واقعیت که PCR روشی مرجع برای تشخیص و تعیین کمیت دی.ان.اِ است، اما وجود برخی ایرادها باعث شده که پژوهشگران برای توسعه روش‌های جایگزینی ترغیب شوند. روش‌هایی که بوسیله آنها بتوان با هزینه پایین‌تر و صرف زمان کمتر دی.ان.اِ را با حساسیت و دقت بالاتری و در تعداد زیاد نمونه تشخیص و تعیین کمیت کرد (Sánchez-Paniagua López et al. 2018). در این راستا، زیست‌حسگرها و سامانه‌های سنجش دی.ان.اِ به‌عنوان جایگزین‌های کم‌هزینه، حساس و قوی‌تر برای تشخیص توالی‌های اختصاصی در سطح دی.ان.اِ در سطوح پژوهشی و به‌صورت مدل‌های اولیه ارائه شده‌اند.

روش‌های مبتنی‌بر زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ

زیست‌حسگرها ابزاری هستند که یک رویداد زیستی را به سیگنالی قابل اندازه‌گیری تبدیل می‌کنند. هنگامی‌که در این سیستم تشخیص از نوکلئیک اسیدها به‌عنوان گیرنده زیستی استفاده شود، از اصطلاح "زیست‌حسگر"دی.ان.اِ یا "حسگر ژنی" استفاده می‌شود (Labuda et al.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

2010). در این حسگرها، واکنش دورگه‌سازی (هیبریداسیون) از طریق جفت شدن بازی مبتنی‌بر اصل واتسون-کریک بین دو توالی مکمل، یعنی کاوشگر تثبیت شده و توالی هدف، صورت می‌گیرد. مولکول دی.ان.اِ به دلیل توانایی بالای برهمکنش بین جفت بازهای مکمل حتی در صورت وجود نوکلئوتیدهای غیرمکمل (Mismatches) برای توسعه ابزارهای انتخاب‌پذیر مناسب است. برای طراحی و ساخت یک حسگر ژنی به‌طور معمول مواردی مانند انتخاب مبدل، انتخاب توالی هدف و توالی کاوشگر، بکارگیری یک راهکار مناسب برای تثبیت کاوشگر، برچسب‌گذاری و خوانش در نظر گرفته می‌شوند (شکل ۲).

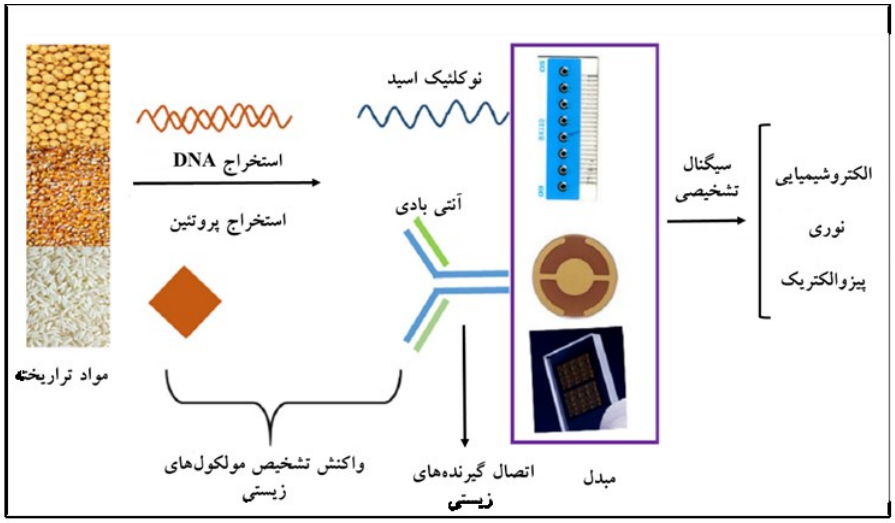


شکل ۲- نمای کلی از فرآیند شناسایی توالی هدف (تراژن) با استفاده از یک زیست‌حسگر دی.ان.اِ.

با اینکه مبدل‌های مختلفی برای زیست‌حسگرها استفاده می‌شود، اما زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ با مبدل نوری، پیزوالکتریک و الکتروشیمیایی با موفقیت بیشتری برای تشخیص توالی GMO توسعه یافته‌اند (شکل ۳). در تشخیص محصولات تراریخته، انتخاب توالی هدف ساده بوده و به هدف سنجش (یعنی غربالگری، شناسایی کیفی یا کمی) بستگی دارد. اکثر زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ برای اهداف غربالگری و روش‌های اختصاصی ژن توسعه یافته‌اند. همچنین مرحله تثبیت کاوشگر نقش مهمی در تعیین عملکرد زیست‌حسگر دی.ان.اِ ایفا می‌کند. کنترل شیمی سطح و پوشش آن برای عملکرد زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ و روش‌های سنجش، بسیار مهم است. چگالی دی.ان.اِ روی سطح و قابلیت دسترسی به هیبریداسیون نقش کلیدی در طراحی زیست‌حسگرها دارند (Arugula et al. 2015; Kasry et al. 2009). با توجه به اینکه مبدل مورد استفاده در شناسایی محصولات تراریخته اهمیت بالایی دارد، زیست‌حسگرهای متفاوتی را که

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

تاکنون براساس نوع مبدل پیشنهاد شده‌اند، شرح می‌دهیم. این مقاله، با هدف مروری بر زیست‌حسگرها به‌عنوان یک فناوری پیشرفته با مبدل‌های الکتروشیمیایی، نوری و پیزوالکتریک برای تشخیص (غربالگری) و تعیین کمیت محصولات تراریخته تدوین شده است.



شکل ۳- تصویر کلی از روش تشخیص محصولات تراریخته با استفاده از زیست‌حسگرها (Sousa et al. 2018)

.

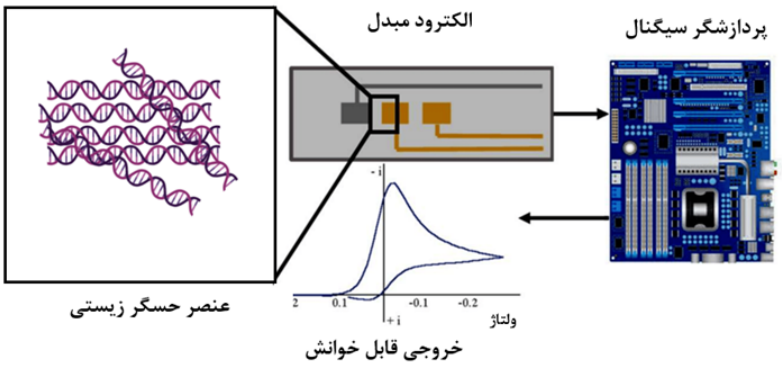
زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی

تشخیص الکتروشیمیایی، یکی از ابزارهای موجود برای شناسایی و انتقال علایم است که به‌طور گسترده در زیست‌حسگرها استفاده می‌شود. این تکنیک بر اساس پتانسیل شیمیایی یک گونه خاص در محلول (آنالیت) است که در مقایسه با یک الکترود مرجع اندازه‌گیری می‌شود. به عبارت دیگر، بسیاری از واکنش‌های شیمیایی، یون‌ها یا الکترون‌هایی را تولید یا مصرف می‌کنند که به نوبه خود باعث ایجاد تغییراتی در خصوصیات الکتریکی محلول می‌شود. این تغییرات قابل حس کردن و اندازه‌گیری به‌عنوان یک پارامتر هستند (شکل ۴). بنابراین، پاسخ الکتروشیمیایی به فعالیت گونه‌های آنالیت بستگی دارد، نه غلظت آنها. زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی زیست‌حسگری با مبدل الکتروشیمیایی هستند که جریان تولید شده از واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء را اندازه‌گیری می‌کنند. این جریان می‌تواند با غلظت گونه‌های الکتریکی فعال موجود و میزان تولید یا مصرف آنها مرتبط باشد. این زیست‌حسگرها قادرند به‌طور مستقیم یک رویداد حاصل از شناسایی زیستی را به یک سیگنال

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

الکتریکی تبدیل کنند. این ویژگی آنها را برای آنالیز ترکیب یا غلظت نمونه زیستی مورد نظر کاملاً مطلوب و جذاب می‌کند. بسته به ماهیت تشخیص تغییرات الکتروشیمیایی در طی یک رویداد تشخیص زیستی، زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی به پنج نوع آمپرومتری، پتانسیومتری، ولتامتری، امپدیمتری و هدایت‌سنجی طبقه‌بندی می‌شوند (Karunakaran et al. 2015).

زیست‌حسگرهای دی.ان.ای الکتروشیمیایی برای سنجش GMO مناسب درنظر گرفته می‌شوند. این حسگرها ابزاری ساده و نسبتا ارزان هستند که با حساسیت و گزینش‌پذیری بالایی فرآیند شناسایی زیستی جفت بازهای دی.ان.اِ (دورگه‌سازی دی.ان.اِ) را پایش می‌کنند (Sánchez-Paniagua López et al. 2018).



شکل ۴- ساختار کلی از یک زیست‌حسگر الکتروشیمیایی برای تشخیص توالی دی.ان.ای هدف (Hernandez-Vargas et al. 2018).

روش‌های تثبیت مختلفی در ساخت زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی برای سنجش GMO مورد بررسی قرار گرفته‌اند. تشکیل لایه خودتجمع (self assembled monolyer: SAM) از کاوشگرهای تیول‌دار روی الکترودهای طلا، اتصال کووالانسی، جذب فیزیکی، برهمکنش میل ترکیبی غیرکووالانسی و الکتروپلیمریزاسیون از جمله روش‌هایی هستند که در طراحی زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی استفاده شده‌اند (Civit et al. 2012). از مهمترین روش‌های الکتروشیمیایی که برای تشخیص GMO استفاده می‌شوند می‌توان به پتانسیومتری، ولتامتری چرخه‌ای (cyclic voltammetry: CV)، ولتامتری موج مربعی (square wave voltammetry: SWV)، ولتامتری پالس تفاضلی (differential pulse voltammetry: DPV)، طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (electrochemical impedance spectroscopy: EIS) اشاره کرد (Drummond et al. 2003). بسیاری از زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی براساس روش غربالگری یعنی کمترین سطح

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

اختصاصیت گزارش شده‌اند. برخی نیز توالی‌های دیگر نظیر ژن‌های *PAT* (القای تحمل به علفکش گلوفوسینیت)، *nptII* (عامل مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌های نئومایسین)، CP4 EPSPS (عامل القای تحمل به علف‌کش گلایفوسیت) و *Cry1Ab* (ایجاد مقاومت در برابر حشرات) مورد هدف قرار داده‌اند که در حال حاضر در مقیاس آزمایشگاهی هستند. در جدول ۱، زیست‌حسگرهای ژنی الکتروشیمیایی گزارش شده برای شناسایی محصولات تراریخته به‌صورت خلاصه آورده شده‌اند.

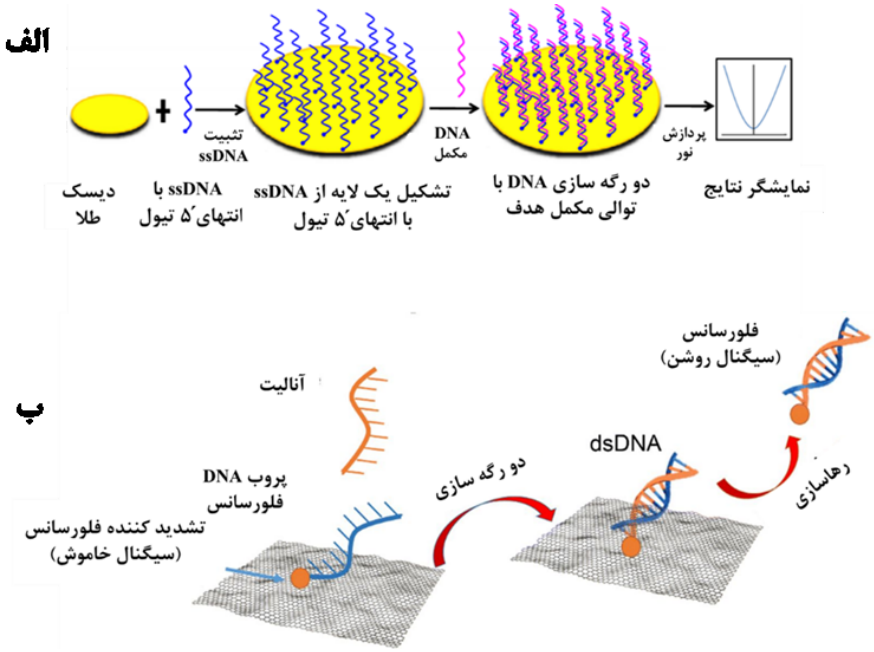
جدول ۱- زیست‌حسگرهای ژنی الکتروشیمیایی گزارش شده برای شناسایی محصولات تراریخته (PEP: phosphoenolpyruvate carboxylase; 35S: Cauliflower Mosaic Virus 35S promoter; SAM: Self (Assembled Monolyer; SWCNT: single-walled carbon nanotube

روش تشخیص	توالی هدف	روش تثبیت کاوشگر	محدوده تشخیص (LOD)	منبع
طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)	PEP	جذب روی نانو (Au-Pt) پلی‌تیرامین	$3/6 \times 10^{-13}$M	Yang et al. 2012
طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)	Roundup Ready (RR)	الکترواستاتیک	1×10^{-11}M	Manzanares-Palenzuela et al. 2016
طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)	35S	پیوند کووالانسی و الکترواستاتیک با SWCNT	1×10^{-9}M	Tam. 2015
ولتامتری پالس تفاضلی (DPV)	35S	SAMs	6×10^{-4}M	Zhan et al. 2017
ولتامتری چرخه‌ای (CV) و طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)	MON89788	SAMs	$4/5 \times 10^{-17}$M	Chen et al. 2019
ولتامتری پالس تفاضلی (DPV)	MIR162	SAMs	$2/5 \times 10^{-15}$M	Liu et al. 2020
ولتامتری پالس تفاضلی (DPV)	35S	SAMs	13×10^{-15}M	Aghili et al. 2017
کرونوآمپرومتری با SPCE	Roundup Ready (RR)	SAMs	20×10^{-15}M -50×10^{-15}M	Plácido et al. 2018
طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)	35S	SAMs	$3/3 \times 10^{-17}$M	Wang et al. 2016
طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)	35S	SAMs	1/792 ng/mL	Chou et al. 2022
امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)	Maize Ruifeng12-5	SAMs	0/10%	Cui et al. 2022

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

زیست‌حسگرهای نوری

زیست‌حسگرهای نوری ابزاری قدرتمند برای ردیابی و آنالیز هستند که در آنها تشخیص براساس تغییر در خصوصیات نوری سامانه به علت میانکنش مولکول هدف و لایه تشخیص دهنده زیستی انجام می‌شود. به‌طور کلی سنجش نوری به دو روش بدون برچسب و مبتنی‌بر برچسب انجام می‌شود. در حالت بدون برچسب سیگنال شناسایی شده به‌طور مستقیم با برهمکنش بین ماده آنالیزشونده و مبدل تولید می‌شود اما در روش مبتنی‌بر برچسب، از برچسب استفاده می‌شود و سپس سیگنال نوری با روش رنگ‌سنجی، فلورسنت یا لومینسانس تولید می‌شود (شکل ۵). از جمله مزایای زیست‌حسگرهای نوری می‌توان به انتخاب‌پذیری بالا، سنجش از راه دور، عدم تداخل الکترومغناطیسی، اندازه‌گیری سریع، امکان حمل سیگنال‌های مختلف برای تشخیص چند پارامتری و اندازه کوچک آنها اشاره کرد که این ویژگی‌ها باعث شده برای سنجش دی.ان.اِ مناسب باشند (Karunakaran et al. 2015).



شکل ۵- ساختار یک زیست حسگر نوری دی.ان.اِ مبتنی‌بر تشدید پلاسمون سطحی، SPR، (الف) و مبتنی‌بر فلورسنت (ب) برای شناسایی توالی دی.ان.ای هدف (برگرفته از Peña-Bahamonde et al. 2018; Singh et al. 2015).

در میان زیست‌حسگرهای نوری، زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ مبتنی‌بر تشدید پلاسمون سطحی (surface Plasmon resonance: SPR) برای تشخیص GMO به‌طور گسترده‌ای

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

استفاده شده‌اند. در روش SPR تغییرات ضریب شکست در سطح مشترک فلز-مایع شناسایی و کمیت‌سنجی می‌شود. این تغییرات ناشی از دورگه‌سازی دی.ان.ای هدف با کاوشگر تثبیت‌شده روی سطح حسگر است. تغییر در بازتاب، سیگنالی را تولید می‌کند که متناسب با جرم ماده هدف متصل شده به سطح است. SPR یک روش بدون برچسب است زیرا می‌تواند اتصال آنالیت بر روی یک سطح بدون هیچ برچسبی تشخیص دهد. الکترولومینسانس و طیف‌سنجی پراکندگی رامان ارتقاء یافته سطحی (Surface Enhanced Raman-(Scattering) Spectroscopy: SERS) نیز به میزان محدودتری استفاده می‌شوند. لازم به ذکر است که مکانیسم‌های سنجش نوری به صورت فلورسانس، جذب، رنگ‌سنجی، رامان، ضریب شکست (Refractive Index: IR)، تشدید پلاسمون سطحی (SPR)، لومینسانس و سایر موارد مشابه هستند (Karunakaran et al. 2015; Sánchez-Paniagua López et al. 2018). در ساخت زیست‌حسگرهای نوری می‌توان از روش‌های تثبیت مختلفی مانند تشکیل لایه خودتجمع (SAM) (Guven et al. 2012)، اتصال کووالانسی (Bai et al. 2010)، جذب فیزیکی (Nourisaeid et al. 2016) و برهمکنش میل ترکیبی غیرکووالانسی (Zhao et al. 2013) استفاده کرد. همانند زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی، بیشتر زیست‌حسگرهای نوری برای غربالگری GMOها از طریق شناسایی پیش‌بر 35S و پایانبر NOS به کار می‌روند. تشخیص ژن‌های *Cry1Ab* یا *CP4 EPSPS* با استفاده از این روش نیز گزارش شده‌اند. غالب این سیستم‌ها به شناسایی الیگونوکلئوتیدهای مصنوعی و در برخی موارد با استفاده از مواد مرجع معتبر (Certified Reference Material (CRM)) پرداخته‌اند. در جدول ۲ زیست‌حسگرهای ژنی نوری گزارش شده برای تشخیص تراریخته ها به‌صورت خلاصه آورده شده است.

جدول ۲ - زیست‌حسگرهای ژنی نوری گزارش شده برای تشخیص محصولات مختلف تراریخته (Bt: *Bacillus thuringiensis*; NOS: nopaline synthase; 35S: Cauliflower Mosaic Virus 35S promoter; SAM: Self Assembled Monolyer; CP4-EPSPS: *A. tumefaciens* CP4 5-enolpyruvulshikimate-3-phosphate synthase, (Cry: crystal proteins

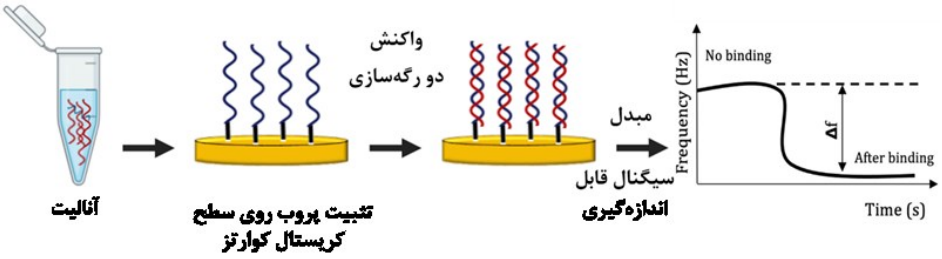
روش تشخیص	توالی هدف	روش تثبیت کاوشگر	محدوده تشخیص (LOD)	منبع
رنگ‌سنجی	Bt11, Bt176, GA21, MON810, NK603,T25	پیوند کووالانسی	گزارش نشده است	Bai et al. 2010
الکترولومینسانس	35S and NOS	میانکنش استرپتاویدین-بیوتین	5×10^{-9}M	Zhu et al. 2010
طیف‌سنجی SERS	Cry1Ab and Cry1Ac	اتصال بواسطه گلوتارآلدهید	0/1 pg/mL	Chen et al. 2012

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

Chen et al. 2018	12×10^{-12}M	SAMs	35S	فیبر نوری بر پایه SPR
An et al. 2021	$0/1 \times 10^{-9}$M	میانکنش استرپتاویدین-بیوتین	T-NOS, CaMV35S and Cry1A	MR- SPR (multiplex and regenerable surface plasmon resonance)
Li et al. 2020	$0/04 \times 10^{-9}$M -$0/07 \times 10^{-9}$M	SAMs	35S و NOS	رنگ‌سنجی فلورسنت
Grześkowiak et al. 2019	1×10^{-12}M	میانکنش استرپتاویدین-بیوتین	آنتی‌ژن استرپتوکوک موتانس	SPR
Nourisaeid et al. 2016	2×10^{-7}M	اتصال فیزیکی	35S	رنگ‌سنجی
Zhou et al. 2021	$6/31 \times 10^{-18}$M	میانکنش استرپتاویدین-بیوتین	CTP2 CP4-EPSPS	طیف‌سنجی SERS
Cao et al. 2020	$0/19 \times 10^{-9}$M	SAMs	NOS	رنگ‌سنجی

زیست‌حسگرهای پیزوالکتریک

زیست‌حسگرهای پیزوالکتریک یک دسته از سیستم‌های میکروالکترومکانیکی (micro electromechanical systems: MEMS) هستند که بر اساس اصول اندازه‌گیری تغییر در فرکانس رزونانس کریستالی نوسانی ناشی از برهمکنش گیرنده زیستی و آنالیت عمل می‌کنند. در زیست‌حسگرهای پیزوالکتریک، مبدل از مواد پیزوالکتریک (مانند کوارتز) ساخته شده است. مواد مورد سنجش روی ماده پیزوالکتریک که در فرکانس طبیعی ارتعاش می‌کند؛ پوشانده می‌شوند. مواد پیزوالکتریک مرکز تقارن ندارند و هنگامی که تحت فشار مکانیکی قرار می‌گیرند، یعنی با اعمال فشار بر روی آنها، سیگنال الکتریکی تولید می‌کنند (شکل۶). به‌طور کلی یک کریستال در فرکانس خاصی نوسان می‌کند که محیط آن می‌تواند این فرکانس را تنظیم کند. هنگامی که کریستال با مواد حسگر زیستی پوشش داده می‌شود، فرکانس واقعی به جرم کریستال و پوشش آن بستگی دارد. در این حالت فرکانس کریستال را می‌توان با دقت زیادی اندازه‌گیری کرد، بنابراین جرم آنالیت جذب شده روی سطح کریستال قابل محاسبه است (Karunakaran et al. 2015).



شکل ۶- طرح کلی از ساختار یک زیست‌حسگر پیزوالکتریک برای تشخیص توالی دی.ان.ای هدف.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

کریستال کوارتز میکروبالانس (quartz crystal microbalances: QCM) متداولترین ابزارهای زیست‌حسگری هستند که از مواد پیزوالکتریک حجیم مانند کریستال کوارتز که بین دو الکترود فلزی (به‌طور معمول طلا) قرار دارند، ساخته شده است. دستگاه‌های پیزوالکتریک کریستال کوارتز به دلیل سنجش مستقیم مولکول‌های زیستی بدون نیاز به برچسب یا استفاده از مواد شیمیایی اضافی، حائز اهمیت هستند. در حسگرهای QCM، سطح طلای کریستال کوارتز با کاوشگرهای دی.ان.اِ پوشیده شده است که قادر به هیبرید شدن با توالی‌های هدف مکمل موجود در آنالیت هستند (Sánchez-Paniagua López et al. 2018). روش‌های تثبیت مختلفی مانند استفاده از تیول (Minunni et al. 2001)، بیوتین (Mannelli et al. 2003) و گروه‌های آمینی (Karamollaoğlu et al. 2009) برای ساخت زیست‌حسگرهای پیزوالکتریک جهت غربالگری GMO استفاده شده است.

چندین گزارش مربوط به تشخیص GMOها با استفاده از QCM وجود دارد که نه تنها توالی‌های غربالگری هدف، مانند قطعات دی.ان.ای پیش‌بر (35S) و پایانبر (NOS)، بلکه ژن‌های *Cry1Ab* و *CP4 EPSPS* را نیز مورد هدف قرار می‌دهند. این ابزارها نتایج امیدوارکننده‌ای برای تشخیص بدون برچسب، در زمان واقعی و مستقیم دی.ان.اِ برای آنالیز GMOها را نشان می‌دهند. جدول ۳ زیست‌حسگرهای ژنی پیزوالکتریک گزارش شده برای GMOها را خلاصه می‌کند.

جدول ۳ – زیست‌حسگرهای ژنی پیزوالکتریک گزارش شده برای شناسایی محصولات تراریخته (NOS: nopaline synthase; 35S: Cauliflower Mosaic Virus 35S promoter; SAM: Self Assembled Monolyer; (CP4-EPSPS: *A. tumefaciens* CP4 5-enolpyruvulshikimate-3-phosphate synthase, Cry: crystal proteins

روش تشخیص	توالی هدف	روش تثبیت کاوشگر	محدوده تشخیص (LOD)	منبع
QCM (اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	35 S	SAM و میانکنش استرپتاویدین- بیوتین	مشخص نشده است	Minunni et al. 2005
QCM (اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	35 S	SAM و پیوند کووالان با $-NH_2$	5×10^{-7}M	Karamollaoğlu et al. 2009
QCM (اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	35 S	جذب روی پلی پیرول-MWCNT	4×10^{-11}M	Lien et al. 2010
QCM (اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	35S and NOS	میانکنش استرپتاویدین- بیوتین	1×10^{-9}M	Minunni et al. 2001
QCM(اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	35S and NOS	SAMو میانکنش استرپتاویدین- بیوتین	مشخص نشده است	Mannelli et al. 2003
QCM (اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	35S and CP4 EPSPS	میانکنش آویدین- بیوتین	مشخص نشده است	Bogani et al. 2009
QCM (اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	CP4 EPSPS	میانکنش آویدین- بیوتین	$4/7 \times 10^{5}$ تعداد کپی از ژنوم	Stobiecka et al. 2007

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

QCM (اندازه‌گیری تغییر فرکانس)	Cry1Ab	میانکنش استرپتاویدین- بیوتین	۱٪	Passamano et al. 2006

چالش های موجود در استفاده از زیست‌حسگرها در سنجش GMO و روش های پیشنهادی

هر کدام از سیستم‌های تشخیص الکتروشیمیایی، نوری و پیزوالکتریک براساس خصوصیات اصلی خود یعنی روش تشخیص، پیچیدگی و زمان آماده سازی زیست‌حسگر، تکرارپذیری با توجه به استحکام روش تثبیت کاوشگر و فرآیند دورگه‌سازی کاوشگرها محدودیت‌هایی دارند.

اکثر روش‌های مبتنی‌بر سامانه الکتروشیمیایی مقرون به صرفه بوده و حساسیت بالایی دارند. در سیستم‌های تشخیص الکتروشیمیایی مبتنی‌بر برچسب، با وجود حساسیت بالا و قابلیت تشخیص همزمان چند پارامتر، محدودیت‌هایی وجود دارد. استفاده از این سیستم‌ها زمانبر بوده و اغلب به معرف‌های گران قیمت برای برچسب‌گذاری نیاز دارند.

سیستم‌های نوری و پیزوالکتریک می‌توانند واکنش‌های اتصال مولکول‌ها را با دقت بالایی شناسایی کنند و همچنین سرعت و چگونگی این واکنش‌ها را ارزیابی نمایند. برای مثال SPR می‌تواند در طراحی انواع مختلفی از چیپ‌ها استفاده شود و به دلیل نیاز نداشتن به برچسب‌های شیمیایی، فرآیند اندازه‌گیری را ساده‌تر و سریع‌تر می‌کند. این ویژگی‌ها، SPR را به یک ابزار مفید و انعطاف‌پذیر برای پژوهش‌های زیستی و تشخیص محصولات تراریخته تبدیل کرده است. روش‌های بدون برچسب اغلب توانایی آنالیز همزمان چند پارامتر را ندارند. همچنین زیست‌حسگرهای نوری مبتنی‌بر برچسب که به سنجش بصری متکی هستند، روش‌های کارایی برای غربالگری محسوب می‌شوند و بنابراین به‌عنوان روش پیشنهادی در ارزیابی اولیه نمونه‌های ارسالی به یک آزمایشگاه در تعداد و حجم بالا و با هدف تشخیص وضعیت تراریختی آنها مطرح می‌شوند، البته برای تعیین کمیت توالی‌های دی.ان.اِ شاید بهتر باشد از سایر روش های مبتنی‌بر فلورسنت کمک گرفت. در فرآیند آماده‌سازی زیست‌حسگرها و در راستای ارتقاء کارایی، در بسیاری از موارد از نانومواد (ازجمله نانوذرات طلا) یا نانوپلیمرها برای افزایش حساسیت و دقت تشخیص این سیستم‌ها استفاده می‌شود؛ اما بدلیل مراحل سنتز طولانی و گاهی دشوار و پرهزینه، کاربرد نانومواد می‌تواند یک محدودیت نیز محسوب شود (Ghasemalipour and Ghasemi, 2023).

تا به امروز، زیست‌حسگرهای گزارش شده توانایی تشخیص نمونه مصنوعی یا در برخی موارد مواد مرجع را دارند. علاوه‌بر این، بسیاری از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

حسگرهای مورد استفاده در تشخیص مواد حاوی GMO، برای غربالگری گزارش شده‌اند و تعداد بسیار کمی به تشخیص رخدادها پرداخته‌اند. اولین جنبه‌ای که در طراحی زیست‌حسگرهای GMO باید در نظر گرفته شود این است که این سیستم‌ها برای شناسایی یک قطعه خاص موجود در عصاره دی.ان.ای ژنومی طراحی می‌شوند، و در بسیاری از موارد نسبت بین توالی هدف و گونه‌های مداخله‌گر بسیار کم است. با اینکه تعداد نسخه‌های بالایی برای برخی از ژن‌ها در ژنوم برخی از گونه‌ها وجود دارد، اما معمولاً هنگام کار با گیاهان تراریخته با ژن‌های تک نسخه‌ای سروکار داریم که تکثیر آن ضروری بنظر می‌رسد. به این دلیل در بسیاری از گزارش‌ها از روش‌های تکثیر مانند PCR به همراه حسگرهای ژنی استفاده شده است. برای حل این چالش به دستگاه‌های فوق حساس نیاز است. روش‌هایی که سطوح اصلاح شده با میکرو یا نانومواد رسانا و افزایش دهنده سطح ترکیب کنند، عمومِاً بالاترین حساسیت را نشان می‌دهند. اما همانطوری‌که قبلا ذکر شد ساخت این حسگرها به دلیل سنتز و ساخت چندمرحله‌ای، زمانبر و پرهزینه است. بنابراین توسعه پرتکل‌های ساده و آسانتر همچنان یک چالش باقی می‌ماند. جنبه دیگری که باید در نظر گرفته شود این است که برای تشخیص محتوای GMO، شناسایی یک ژن اختصاصی تاکسون نسبت به تشخیص توالی یک نشانگر مطلوب‌تر است. این باعث محدودیت روش‌هایی است که تاکنون گزارش شده‌اند. برای رفع این مشکل، طراحی یک سیستم که بتواند همزمان توالی‌های مختلفی از GMO را شناسایی کند، ضروری به نظر میرسد. بنابراین یکی از اهداف مهم، ارائه یک دستگاه چندگانه است که امکان تعیین همزمان حداقل دو توالی دی.ان.ای مختلف (ژن مرجع و ژن درج شده) را فراهم کند. آنالیز نمونه‌های بسیار فراوری شده، جنبه دیگری است که هنگام طراحی زیست حسگر GMO باید در نظر گرفته شود. البته، فقط زیست‌حسگرهای دی.ان.اِ برای این منظور مناسب هستند؛ زیرا ساختار پروتئین‌ها هنگام فراوری مواد غذایی تخریب می‌شود. هرچند که، استخراج دی.ان.اِ مناسب و با کیفیت از نمونه‌های فراوری شده خود به‌عنوان یک چالش باقی می‌ماند.

اگرچه پیشرفت قابل توجهی در فناوری زیست‌حسگرها برای سنجش محصولات تراریخته حاصل شده است، با توجه به نیاز روزافزون به تدوین و اجرای مقررات کنترل مواد غذایی و تضمین شفافیت در مورد ترکیب مواد غذایی برای مصرف‌کنندگان، هنوز فرصت‌های زیادی برای کاوش و دستیابی به روش‌های تکامل‌یافته‌تر مبتنی‌بر زیست حسگرها وجود دارد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

نتیجه‌گیری

حدود سه دهه از استفاده موفقیت آمیز مواد تراریخته به‌عنوان محصولات کشاورزی مصرفی می‌گذرد که مزایای قابل توجهی را در حوزه اجتماعی، اقتصادی و سلامت برای کشاورزان و سایر دست اندرکارن فراهم آورده است. از زمان معرفی محصولات تراریخته در سال ۱۹۹۶ تا به امروز، افزایش بیش از ۱۰۰ برابری در تولید آنها به ثبت رسیده است. پذیرش سریع این محصولات مستلزم توسعه روش‌های تشخیص دقیق و حساس برای غربالگری حضور GMO در توده‌های بذری و سایر محصولات کشاورزی و غذایی قبل از عرضه آنها به بازار است. درعین حال، آستانه برچسب‌گذاری محصولات تراریخته باید در سراسر زنجیره تولید مواد غذایی رعایت شود و برای این امر نیاز است حضور GMO به صورت کمی نیز تعیین شود. در حال حاضر روش‌های متداول چه برای غربالگری اولیه و چه تعیین میزان محصولات تراریخته، استفاده از روش‌های مبتنی‌بر PCR به‌صورت کیفی و کمی است که البته دسترسی به آن محدود به آزمایشگاه‌های مرجع معتبر بوده و اغلب برای آنالیزهای غیرمتمرکز و میدانی کافی نیستند و یا موجب بروز خطا در آنالیز نمونه‌های در حجم بالا می‌شوند.

در این راستا، زیست‌حسگرهای مبتنی‌بر دورگه‌سازی دی.ان.ای هدف با مولکول کاوشگر (شامل سامانه‌های تشخیصی الکتروشیمیایی، نوری و پیزوالکتریک)، به دلیل مزیت‌هایی مانند سادگی، هزینه پایین، قابل حمل بودن و قابلیت تطابق برای سنجش نمونه‌های با مقیاس بالا، جایگزین مناسبی برای این هدف بشمار رفته و کاربردهای امیدوارکننده‌ای در شناسایی محصولات تراریخته دارند. اما با این حال، محدودیت‌های موجود در رابطه با عملکرد این سامانه‌ها در سنجش کمی و آستانه حساسیت آنها باید مرتفع شوند تا از آنها بتوان به‌عنوان روش های جایگزین درشرایط فعلی و با استاندارد قابل قبول جهت تشخیص مواد GMO استفاده کرد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

References فهرست منابع

Aghili Z, Nasirizadeh N, Divsalar A, Shoeibi S, Yaghmaei, P. 2017. A nanobiosensor composed of exfoliated graphene oxide and gold nano-urchins, for detection of GMO products. Biosensors and Bioelectronics. 95: 72-80.

AgbioInvestor. 2024. Total GM crops area increased in 2023. AgriBusiness Global, https://www.agribusinessglobal.com/agrochemicals/seeds-traits/agbioinvestor-total-gm-crop-areas-increased-in-2023/

Ahmed FE. 2002. Detection of genetically modified organisms in foods. TRENDS in Biotechnology. 20(5): 215-223.

Altpeter F, Springer NM, Bartley LE, Blechl AE, Brutnell TP, Citovsky V, Conrad LJ, Gelvin SB, Jackson DP, Kausch AP, Lemaux PG, Medford JI, Orozco-Cárdenas ML, Tricoli DM, Van Eck J, Voytas DF, Walbot V, Wang K, Zhang ZJ, Stewart Jr CN. 2016. Advancing crop transformation in the era of genome editing. The Plant Cell. 28(7): 1510-1520.

An N, Li K, Zhang Y, Wen T, Liu W, Liu G, Li L, Jin W. 2021. A multiplex and regenerable surface plasmon resonance (MR-SPR) biosensor for DNA detection of genetically modified organisms. Talanta. 231: 122361.

Arugula M, Chanysheva A, Vaglenov K, Simonian A. 2015. Biosensors for detecting genetically modified organisms in food and feed. ECS Transactions. 66(36): 31.

Bai S, Zhang J, Li S, Chen H, Terzaghi W, Zhang X, Chi X, Tian J, Luo H, Huang W, Chen Y, Zhang Y, Zhang Y. 2010. Detection of six genetically modified maize lines using optical thin-film biosensor chips. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58(15): 8490-8494.

Bogani P, Minunni M, Spiriti MM, Zavaglia M, Tombelli S, Buiatti M, Mascini M. 2009. Transgenes monitoring in an industrial soybean processing chain by DNA-based conventional approaches and biosensors. Food Chemistry. 113(2): 658-664.

Cao X, Xia Z, Yan W, He S, Xu X, Wei Z, Ye Y, Zheng H. 2020. Colorimetric biosensing of nopaline synthase terminator using Fe_3O_4@ Au and hemin-functionalized reduced graphene oxide. Analytical Biochemistry. 602: 113798.

Chen D, Zhang M, Ma M, Hai H, Li J, Shan Y. 2019. A novel electrochemical DNA biosensor for transgenic soybean detection based on triple signal amplification. Analytica Chimica Acta. 1078: 24-31.

Chen K, Han H, Luo Z, Wang Y, Wang X. 2012. A practicable detection system for genetically modified rice by SERS-barcoded nanosensors. Biosensors and Bioelectronics. 34(1): 118-124.

Chen Z, Chengjun S, Zewei L, Kunping L, Xijian Y, Haimin Z, Yongxin L, Yixiang D. 2018. Fiber optic biosensor for detection of genetically modified food based on catalytic hairpin assembly reaction and nanocomposites assisted signal amplification. Sensors and Actuators B: Chemical. 254: 956-965.

Chou CC, Lin YT, Kuznetsova I, Wang GJ. 2022. Genetically modified soybean detection using a biosensor electrode with a self-assembled monolayer of gold nanoparticles. Biosensors. 12(4): 207.

Civit L, Fragoso A, O'Sullivan CK. 2012. Evaluation of techniques for generation of single-stranded DNA for quantitative detection. Analytical Biochemistry. 431(2): 132-138.

Cui D, Zhai S, Yang Y, Wu Y, Li J, Yan X, Shen P, Gao H, Wu G. 2022. A Label-Free electrochemical impedance genosensor coupled with recombinase polymerase amplification for genetically modified maize detection. Agriculture. 12(4): 454.

Drummond TG, Hill MG, Barton JK. 2003. Electrochemical DNA sensors. Nature Biotechnology. 21(10): 1192-1199.

Elenis DS, Kalogianni DP, Glynou K, Ioannou PC, Christopoulos TK. 2008. Advances in molecular

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

techniques for the detection and quantification of genetically modified organisms. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 392: 347-354.

European Commission. 2003a. Regulation (EC) No. 1829/2003 on genetically modified food and feed. 1–23.

European Commission. 2003b. Regulation (EC) No. 1830/2003 concerning the traceability and labeling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. 24–28.

Fraiture MA, Roosens NH, Taverniers I, De Loose M, Deforce D, Herman P. 2016. Biotech rice: current developments and future detection challenges in food and feed chain. Trends in Food Science Technology. 52: 66-79.

García-Cañas V, Cifuentes A, González R. 2004. Detection of genetically modified organisms in foods by DNA amplification techniques. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 44(6): 425-436.

Ghasemalipour A and Ghasemi F. 2023. Gold and silver nanoparticles: green synthesis, characterization and applications in biotechnology. Journal of Biosafety. 16(2): 31-62.

Grześkowiak BF, Tuśnio K, Woźniak A, Szalata M, Lipiński D, Jurga S, Słomski R. 2019. Transgenic plant detection using an AuNPs based SPR biosensor. Biosensors. 9(4): 116.

Guven B, Boyacı İH, Tamer U, Çalık P. 2012. A rapid method for detection of genetically modified organisms based on magnetic separation and surface-enhanced Raman scattering. Analyst. 137(1): 202-208.

Hernández M, Rodríguez-Lázaro D, Ferrando A. 2005. Current methodology for detection, identification and quantification of genetically modified organisms. Current Analytical Chemistry. 1(2): 203-221.

Hernandez-Vargas G, Sosa-Hernández JE, Saldarriaga-Hernandez S, Villalba-Rodríguez AM, Parra-Saldivar R, Iqbal HM. 2018. Electrochemical biosensors: A solution to pollution detection with reference to environmental contaminants. Biosensors. 8(2): 29.

Holst-Jensen, A. 2009. Testing for genetically modified organisms (GMOs): Past, present and future perspectives. Biotechnology advances. 27(6): 1071-1082.

Holst-Jensen A, Bertheau Y, De Loose M, Grohmann L, Hamels S, Hougs L, Morisset D, Pecoraro S, Pla M, Van den Bulcke M, Wulff D. 2012. Detecting unauthorized genetically modified organisms (GMOs) and derived materials. Biotechnology advances. 30(6): 1318-1335.

Holst-Jensen A, Spilsberg B, Arulandhu AJ, Kok E, Shi J, Zel J. 2016. Application of whole genome shotgun sequencing for detection and characterization of genetically modified organisms and derived products. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 408: 4595-4614.

James C. 2019. Global status of commercialized biotech/GM crops in 2019. ISAAA Briefs.

Karamollaoğlu İ, Öktem HA, Mutlu M. 2009. QCM-based DNA biosensor for detection of genetically modified organisms (GMOs). Biochemical Engineering Journal. 44(2-3): 142-150.

Karunakaran C, Rajkumar R, Bhargava K. 2015. Introduction to biosensors. In Biosensors and bioelectronics. Elsevier. 1-68.

Kasry A, Borri P, Davies PR, Harwood A, Thomas N, Lofas S, Dale T. 2009. Comparison of methods for generating planar DNA-modified surfaces for hybridization studies. ACS applied materials interfaces. 1(8): 1793-1798.

Kok EJ, Aarts HJ, Hoef AAV, Kuiper HA. 2002. DNA methods: critical review of innovative approaches. Journal of AOAC International. 85(3): 797-800.

Labuda J, Brett AMO, Evtugyn G, Fojta M, Mascini M, Ozsoz M, Palchetti I, Paleček E, Wang J.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

2010. Electrochemical nucleic acid-based biosensors: Concepts, terms, and methodology (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry. 82(5): 1161-1187.

Li Y, Hao N, Luo S, Liu Q, Sun L, Qian J, Cai J, Wang K. 2020. Simultaneous detection of TNOS and P35S in transgenic soybean based on magnetic bicolor fluorescent probes. Talanta. 212: 120764.

Lian DS, and Zeng HS. 2017. Capillary electrophoresis based on nucleic acid detection as used in food analysis. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 16(6): 1281-1295.

Lien TTN, Dai Lam T, An VTH, Hoang TV, Quang DT, Khieu DQ, Tsukahara T, Lee YH, Kim JS. 2010. Multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs)-doped polypyrrole DNA biosensor for label-free detection of genetically modified organisms by QCM and EIS. Talanta. 80(3): 1164-1169.

Liu F, Li K, Zhang Y, Ding J, Wen T, Pei X, Yan Y, Ji W, Liu J, Zhang X, Li L. 2020. An electrochemical DNA biosensor based on nitrogen-doped graphene nanosheets decorated with gold nanoparticles for genetically modified maize detection. Microchimica Acta. 187: 1-8.

Mannelli I, Minunni M, Tombelli S, Mascini M. 2003. Quartz crystal microbalance (QCM) affinity biosensor for genetically modified organisms (GMOs) detection. Biosensors and Bioelectronics. 18(2-3): 129-140.

Manzanares-Palenzuela CL, Fernandes EGR, Lobo-Castañón MJ, López-Ruiz B, Zucolotto V. 2016. Impedance sensing of DNA hybridization onto nanostructured phthalocyanine-modified electrodes. Electrochimica Acta. 221: 86-95.

Minunni M, Tombelli S, Fonti J, Spiriti MM, Mascini M, Bogani P, Buiatti M. 2005. Detection of fragmented genomic DNA by PCR-free piezoelectric sensing using a denaturation approach. Journal of the American Chemical Society. 127(22): 7966-7967.

Minunni M, Tombelli S, Pratesi S, Mascini M, Piatti P, Bogani P, Buiatti M. 2001. A piezoelectric affinity biosensor for genetically modified organisms (GMOs) detection. Analytical letters. 34(6): 825-840.

Nourisaeid E, Mousavi A, Arpanaei A. 2016. Colorimetric DNA detection of transgenic plants using gold nanoparticles functionalized with L-shaped DNA probes. Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures. 75: 188-195.

Passamano M and Pighini M. 2006. QCM DNA-sensor for GMOs detection. Sensors and Actuators B: Chemical. 118(1-2): 177-181.

Peña-Bahamonde J, Nguyen HN, Fanourakis SK, Rodrigues DF. 2018. Recent advances in graphene-based biosensor technology with applications in life sciences. Journal of Nanobiotechnology. 16(1): 75.

Phillips T. (2008). Genetically modified organisms (GMOs): Transgenic crops and recombinant DNA technology. Nature Education. 1(1): 213.

Plácido A, Pereira C, Guedes A, Barroso MF, Miranda-Castro R, de-Los-Santos-Álvarez N, Delerue-Matos C. 2018. Electrochemical genoassays on gold-coated magnetic nanoparticles to quantify genetically modified organisms (GMOs) in food and feed as GMO percentage. Biosensors and Bioelectronics. 110: 147-154.

Premanandh, J. (2011). Global consensus–Need of the hour for genetically modified organisms (GMO) labeling. Journal of Commercial Biotechnology, 17, 37-44.

Querci M, Guy V, Den E, Jermini M. 2006. Overview, general introduction on genetically modified organisms (GMOs); EU Legislation Joint Research Centre (European Commission): Ispra, Italy.

Sánchez-Paniagua López M, Manzanares-Palenzuela CL, López-Ruiz B. 2018. Biosensors for GMO testing: nearly 25 years of research. Critical reviews in Analytical Chemistry. 48(5): 391-405.

Singh A, Verma HN, Arora K. 2015. Surface plasmon resonance based label-free detection of

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

Salmonella using DNA self-assembly. Applied Biochemistry and Biotechnology. 175: 1330-1343.

Sousa JB, Ramos-Jesus J, Fonseca RAS, Delerue-Matos C, Barroso MF, Santos Jr JR. 2018. Biosensors as advanced device for the transgenic plants and food and detection. In Genetically engineered foods. Academic Press. 221-245.

Stobiecka M, Cieśla JM, Janowska B, Tudek B, Radecka H. 2007. Piezoelectric sensor for determination of genetically modified Soybean Roundup Ready® in samples not amplified by PCR. Sensors. 7(8): 1462-1479.

Tagliabue G. 2016. The meaningless pseudo-category of "GMOs". EMBO Rep. 17: 10–13.

Tam PD. 2015. Genetically modified organism (GMO) detection by biosensor based on SWCNT material. Current Applied Physics. 15(3): 397-401.

Wang S, Liu Q, Li H, Li Y, Hao N, Qian J, Zhu W, Wang K. 2016. Fabrication of label-free electrochemical impedimetric DNA biosensor for detection of genetically modified soybean by recognizing CaMV 35S promoter. Journal of Electroanalytical Chemistry. 782: 19-25.

Yang T, Zhou N, Li Q, Guan Q, Zhang W, Jiao K. 2012. Highly sensitive electrochemical impedance sensing of PEP gene based on integrated Au–Pt alloy nanoparticles and polytyramine. Colloids and surfaces B: Biointerfaces. 97: 150-154.

Zhan F, Liao X, Gao F, Qiu W, Wang Q. 2017. Electroactive crown ester-Cu2+ complex with in-situ modification at molecular beacon probe serving as a facile electrochemical DNA biosensor for the detection of CaMV 35s. Biosensors and Bioelectronics. 92: 589-595.

Zhao Z, Chen Y, Xu W, Ma M. 2013. Surface plasmon resonance detection of transgenic Cry1Ac cotton (*Gossypium* spp.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 61(12): 2964-2969.

Zhou X, Ge S, Sun Y, Ran M, Liu Y, Mao Y, Cao X. 2021. Highly sensitive SERS assay of genetically modified organisms in maize via a nanoflower substrate coupled with hybridization chain reaction amplification. New Journal of Chemistry. 45(44): 20586-20595.

Zhu D, Liu J, Tang Y, Xing D. 2010. A reusable DNA biosensor for the detection of genetically modified organism using magnetic bead-based electrochemiluminescence. Sensors and Actuators B: Chemical. 149(1): 221-225.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

Development of Biosensors as an Innovative Approach in Detecting Transgenic Products

Soraya Shiri[1], Amir Mousavi[*2], Mohamad Vahedi[3], Ayyoob Arpanaei[4], Kasra Esfahani[5]

1- Ph.D. Student of Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.

2- Associate Professor, Department of Plant Molecular Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.

3- Assistant Professor, School of Physics, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran.

4- Associate Professor, Scion Research Institute, Rotorua, New Zealand.

5- Assistant Professor, Department of Plant Bioproducts, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.

m-amir@nigeb.ac.ir

Abstract

In genetically modified organisms (GMOs), the genome structure is artificially manipulated to achieve desirable traits such as pest and herbicide resistance, drought tolerance, or increased yield. The development and widespread cultivation of these plants in the last three decades, and the significance of verifying and quantifying authorized events in food and feed, have driven the development of rapid, accurate, and sensitive detection methods. Although PCR-based methods are frequently utilized for GMO detection, limitations such as the need for complex equipment, time-intensive procedure, and high costs have made their use challenging in some cases. Therefore, alternative methods for identifying and quantifying genetically modified organisms are necessary. In this context, DNA biosensors have emerged as promising tools for specific and quantitative detection of nucleotide sequences. DNA biosensors operate based on the specific interaction between a single-stranded DNA probe immobilized on the sensor surface and a complementary target sequence. This DNA hybridization event produces a detectable signal that can be measured using an optical, electrochemical, or piezoelectric transduction. Recent advancements in nanotechnology and biosensor development hold the potential to enhance the sensitivity, specificity, and speed of DNA biosensors, paving the way for their broader application.

Keywords: Electrochemical, Piezoelectric, GMO Detection, Biosensors, Optical.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]