

文章编号: 1674-7054(2015)01-098-07

# 转基因作物安全评价的检测技术

易小平, 谭燕华, 彭存智, 谢翔, 贺萍萍

(中国热带农业科学院 热带生物技术研究所/农业部转基因植物  
及植物用微生物环境安全监督检测中心 海南 海口 571101)

**摘要:** 转基因作物的生物安全问题已成为全球的关注焦点,世界各国和各国际组织相继制定了相关的法律法规来加强转基因作物的安全管理。转基因作物的安全问题需要对其进行转基因生物安全评价,而转基因作物的检测评价技术是判定转基因作物是否安全的关键。笔者综述了当前转基因作物的主要检测技术和安全评价技术,重点阐述了非目标的组学技术包括转录组学、蛋白质组学和代谢组学,在转基因作物的非预期影响的安全评价中的应用。

**关键词:** 转基因作物; 安全评价; 组学技术

**中图分类号:** Q 819 **文献标志码:** A

转基因作物商业化种植始于1996年,截至2013年,其种植面积已增长了100倍,全球30多个国家数百万农民种植了转基因作物<sup>[1]</sup>,许多重要的农作物如玉米、土豆、水稻、小麦、大豆、烟草、番茄、棉花等都有转基因作物,为应对当前国际社会面临的可持续性发展、减轻贫困和饥饿、环境保护等做出了贡献,但转基因作物在造福人类的同时也可能对人类和生态环境造成潜在的危害。随着基因工程技术的发展以及转基因作物商业化种植面积的不断增加,转基因作物安全问题已成为全球的关注焦点和争论热点,主要是因为担心意想不到的影响可能会对人类的健康产生危害<sup>[2]</sup>。为此,世界各国和各国际组织相继制定了相关的法律法规来加强转基因作物的安全管理,包括安全性评价制度和转基因成分标识制度等。加强对转基因作物安全管理的核心和基础是进行安全性评价。转基因作物安全问题需要进行转基因作物安全评价,而转基因作物的检测技术是安全性评价的关键。基于DNA和蛋白质的不同的检测方法已用于转基因作物及其产品的检测<sup>[3]</sup>。近年来新的检验检测方法不断涌现,各种新的检测技术也被应用到转基因检测中,如特定DNA的PCR扩增检测技术、外源蛋白检测技术等。转基因作物的安全性评价包括两个方面,即对环境影响的安全评价和对人类与动物影响的安全评价。目前,国际通用的转基因作物的安全性评价的指导性原则是实质等同性原则(substantial equivalence)。根据实质等同性原则,与转基因作物相对应的非转基因作物由于有长期的食用历史,因而被认为是安全的。已商业化的转基因作物进行安全性评价时,将转基因作物与其对应的等位基因的非转基因作物进行比较,任何差异如果落在农作物正常变化范围内的,就认为是安全的,否则就必须对它们进行安全评价<sup>[4]</sup>。根据实质等同性原则,对转基因作物影响的评价又可分为预期的影响和不可预期的影响进行评价。笔者综述了转基因作物主要的检测和评价技术,以期为进一步完善检测评价体系奠定基础。

## 1 转基因作物检测技术

### 1.1 特定DNA的PCR扩增检测技术 以PCR为基础的基因检测技术,可以区分转基因和非转基因之

收稿日期: 2014-07-12

基金项目: 海南省重大科技专项(ZDZX2013010); 中国热带农业科学院热带生物技术研究所基本科研业务费专项资助(ITBB2015ZD09)

作者简介: 易小平(1972-),男,副研究员,研究方向:转基因作物安全评价。E-mail: yixiaoping@itbb.org.cn

通信作者: 谭燕华(1974-),女,副研究员,研究方向:转基因作物安全评价。E-mail: tanyanhua518@163.com

间的 DNA<sup>[5]</sup>。目前,PCR 法因其具有多功能性、灵敏性、特异性和高通量性<sup>[6]</sup>,通过 PCR 法检测特定的 DNA 是转基因作物检测的首选方法,也是最直接、最有效的方法。PCR 扩增法主要包括定性 PCR 和定量 PCR。定性 PCR 首先对非目的基因进行检测,如果检测结果为阳性,就可初步判定为转基因作物,然后再进一步对外源序列结构基因检测。目前,定性 PCR 除了传统的 PCR 方法,现已有复合 PCR、巢式 PCR 及多重巢式 PCR 等<sup>[7]</sup>。定量 PCR 可确定样品中转基因作物的百分比,其方法主要有定量竞争性 PCR (QC-PCR)、实时荧光定量 PCR 技术和 PCR 与免疫酶联反应(ELISA)结合在一起的 PCR-ELISA 定量检测方法,其中实时荧光定量 PCR 技术是当前定量检测目标 DNA 分子的主要方法,已应用于转基因玉米、木薯、小麦、油菜、棉花和茄子等作物<sup>[8-12]</sup>。但由于用于定量的标准物的研究相对滞后,实时荧光定量 PCR 技术还不能完全满足现有转基因检测的需要。由于受体基因组和插入的 DNA 之间的结合位点的交界处的侧翼序列特异性高,基于侧翼序列的事件特异性 PCR 方法已成为转基因定性定量检测的关键趋势<sup>[13-14]</sup>。目前,研究人员已开发出用于玉米<sup>[15-16]</sup>、水稻<sup>[17]</sup>、小麦<sup>[18]</sup>、棉花<sup>[19-20]</sup>和 大豆<sup>[21-23]</sup>等许多基于侧翼序列的转基因作物的定性定量检测方法。

1.2 外源蛋白质检测技术 转基因作物除了检测其特定 DNA,还可对转基因作物外源蛋白质进行检测,以抗原、抗体为基础的免疫学方法检测技术<sup>[24]</sup>,可通过检测外源基因表达的蛋白质来定性、定量检测转基因产品。外源蛋白质的检测方法有酶联免疫吸附法(ELISA)、试纸条法、免疫-PCR 法、Western 杂交法<sup>[3,25]</sup>。其中,ELISA 分析法具有特异性高、获得结果快、仪器操作简单,不需要核酸提取等优点,在转基因作物及其产品的蛋白质分析中具有重要优势。在美国 FDA 用双夹心 ELISA 法检测食品中是否含有转基因玉米成分中,毛细管电泳竞争性免疫测定<sup>[26]</sup>和高灵敏的定量荧光酶联免疫吸附测定<sup>[27]</sup>已被开发用于 Cry1Ab 蛋白的检测。试纸条法可以在 5~10 min 就给出“是”与“不是”的结果,是一种经济、操作简单、迅速、适合现场的检测方法。试纸条法使用的是硝酸纤维素膜,而不是微量滴定孔,现已开发出横向流试纸、试纸条、免疫试纸条技术。目前,商品化的检测试纸条可用于转 Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Ab CP4-EPSPS 基因的检测。免疫-PCR 法用特定的 DNA 分子作标记,是一个潜在的、灵敏的、特异的检测抗原的方法。Western 杂交法特异性高,可用于定性检测,但该方法操作繁琐且费用较高,不适合高通量检测,也不能进行定量分析<sup>[25]</sup>。

1.3 其它技术 近年来,复合性状转基因作物已成为转基因作物开发的热点。2013 年有 13 个转基因作物种植国已种植了 2 个或以上复合性状的转基因作物,其种植面积为 4 700 万  $\text{hm}^2$ ,占全球的 27%,且更多性状转基因作物的种植将稳定增长<sup>[1]</sup>。对于一个转化事件的 PCR 的特异性检测方法,大多数都可用于复合性状转基因作物的检测,但随着越来越多的转基因作物的商业化,迫切需求建立可以高通量的检测多个基因、多种转基因作物的高效、廉价的检测方法。Xu 等开发了一种新型通用引物多重 PCR 技术 (UPM-PCR),可以同时检测 5 种目标序列(NOS, 35S, BT11, GA21 和 IVR)<sup>[28]</sup>; Bai 等研究开发了一种光学薄膜生物传感器芯片检测系统,可以同时检测 6 个转基因玉米品种(Bt11, Bt176, GA21, MON810, NK603 和 T25)<sup>[29]</sup>; Shao 等使用 readout onan oligo microarray (MACRO) 系统开发出一个用于监测转基因生物的一个芯片多重扩增的方法,该方法可以覆盖 97.1% 的自 2012 年已商业化的所有转基因事件,其特异性可达 100%,检测限(LOD)适于目前实际应用的要求<sup>[30]</sup>。

## 2 转基因作物的安全性评价

基因改变通常是一把双刃剑,除了诱导所需的特质,植物基因组的改变可能会导致意想不到的影响。有些影响可能由基因重组或转基因编码的蛋白质引起的生物相互作用产生,这些影响可通过转基因重组位点、基因功能和转基因相关的代谢途径进行预测。对可预期影响的安全性评价,需要对可能的有害影响有先验知识,并对其进行有针对性的检测。

在转基因的过程中,基因重组或转移和组织培养可能会导致转基因作物不可预期的基因改变,如删除、插入和重排,都可能会产生 2 次或更多重影响<sup>[31, 32-33]</sup>。随着转基因作物的商业化,这些不可预期的未知影响是辩论转基因作物生物安全最具争议的问题之一。这就需要有一个系统的比较分析方法从 GM 作物的分子特征来澄清这些未知影响<sup>[32-33]</sup>。转基因作物基因的改变,除了诱导所需的特质产生预期影响外,作物基因组的改变可能会导致意想不到的影响,从而影响人类的健康或环境<sup>[34]</sup>。在评价由外源基因的引入

而导致的不可预期的影响时,非目标的“组学”技术,包括转录组学、蛋白质组学和代谢组学,可以同时表征和比较一个有机体的基因组、蛋白质组和代谢组,从而提高检测到未知影响的机会<sup>[35]</sup>。这些非目标方法比目标方法在鉴定转基因作物的组成和性能上更全面、更客观,从而为建立理想的转基因作物安全评价技术提供了契机<sup>[36]</sup>。

**2.1 目标分析法对转基因作物可预期影响的安全性评价** 转基因作物安全评价的主要内容是对转基因作物进行可预期影响的评价,该评价的重要模式是针对特定目标进行检测的目标分析法,其关键因素是转基因作物与其对应的传统作物的化学成分的比较。通过目标分析法定性/定量分析转基因作物与其对应的传统作物成分的差异来确认和排除转基因作物是否存在非预期影响,对转基因作物进行安全性评价。色谱/质谱联用技术等传统的方法是目标分析法检测转基因作物可预期效应的重要方法。该类方法的关键点是进行分析的化合物的选择,包括主要成分分析(例如氨基酸、脂肪酸)和次要成分分析(如矿物),重点分析的是自然产生的有毒物(如生物碱)和必需的营养物质(如维生素)或抗营养因子(如胰蛋白酶抑制剂)。该类方法的分析还包括从目前的生物和生化知识可以预测响应特定的遗传修饰的变化的化合物,例如文献<sup>[32]</sup>所述,苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸水平分析,是抗农达大豆可能的“可预见的意外影响”的测定,因为 *EPSPS* 基因通过改变芳香族氨基酸的合成而产生抗草甘膦抗性。

目标分析法检测转基因作物可预期效应的其他方法还有比较转基因作物与其对应的传统作物的农艺性状<sup>[37]</sup>、环境适应性<sup>[38]</sup>等,通过实验室、温室和小规模的田间试验评价,对作物的活力、生长习性、产量、作物品质以及昆虫和疾病的易感性评价,确定遗传修饰的事件后,意外的影响是否可以影响潜在的农艺性状表现。意外的影响,也可以出现在转基因生物对环境条件变化的影响<sup>[39-40]</sup>,例如品种中引入了 *BAR* 基因、*uidA* 基因和耐热的  $\beta$ -葡萄糖甙酶基因的转基因大麦,它的  $\beta$ -葡萄糖甙酶保持恒定的水平,但与传统大麦相比,有些表型特征表现较差,这是基因-环境相互作用的结果<sup>[41]</sup>。有针对性的目标分析方法对单一化合物的分析,特别是对主要营养因子和关键毒物的关注已被国际机构广泛接受,并已成功应用于第一代的转基因作物的安全性评价<sup>[32]</sup>。然而目标分析通常分析的是一个有限数量作物的组成,不能涵盖未知的毒素、抗营养因子或其他因基因改变而导致的次生物质<sup>[31]</sup>。因此,目标分析法主要用于检测基因改变而产生的原始的或已知的影响,不能检测未知的影响,故认为这种方法有失偏颇<sup>[42]</sup>。

## 2.2 非目标分析法对转基因作物不可预期影响的安全性评价

**2.2.1 转录组学技术** 转基因插入的外源基因首先引起作物内源基因转录和表达的变化,进而在生理代谢水平上引起作物生物学代谢途径的变化,最终导致转基因植物非预期效应的出现<sup>[43]</sup>。在比较转基因作物与其对应的非转基因作物中的“实质等同性”中,使用非靶标的整体图谱技术(如微阵列分析)来确定作物体系中的意想不到的影响,已证明是一种有效的手段<sup>[44]</sup>。转录组学检测技术是各种“组学”技术中最成熟的技术<sup>[45]</sup>。随着转基因技术的快速发展和植物基因组序列数据的急剧增加,这些技术更易于检测和了解不同发展过程产生的基因表达的变化,或环境变化造成的基因表达的变化。近年来,利用基因芯片技术检测和比较转基因作物与其对应的非转基因作物间的非预期影响的研究日渐增多。转录组学图谱已被用于鉴定几种转基因作物,包括玉米、大麦和水稻<sup>[46-47]</sup>,大多检测的转基因作物与其对应的非转基因作物间只存在少量差异表达的基因,没有产生明显的非预期影响。转录组学图谱可用来探讨转基因作物的基因表达的变化,还可检测到未知的影响,但这些研究对象主要集中在简单的单基因性状、已商业化种植的作物,目前亟需加强对更复杂性状的转基因作物的分析。转录组对转基因作物差异基因的检测,是在特定的发育阶段或特定环境条件下进行的,目前的技术甚至全基因组都不足以检测所有的转录基因表达的变化。此外,在转录组的变化并不一定会导致在蛋白质组学和代谢组学的变化,也并不一定可以预测食品成分和质量的变化<sup>[48]</sup>,因此,转录组学技术能否在一定程度上反映转基因植物非预期效应出现的可能,仍值得进一步研究。

**2.2.2 代谢组学检测技术** 对转基因作物产品特征代谢产物的分析也越来越受到人们的重视。利用代谢组学技术从代谢水平上比较转基因作物与非转基因作物的代谢差异,是筛查转基因作物非预期效应的一个重要的技术手段。由于基因和蛋白表达的微小变化会在代谢物上得到放大,因而从代谢组学上对转基因作物进行检测更容易。代谢组学研究中采用的技术都是比较通用的方法,不需要进行全基因组测序,因此,近年来在转基因作物非预期影响安全评价中,代谢组学分析已成为普遍的分析方法<sup>[49]</sup>。常用的

代谢组学分析技术主要有核磁共振(NMR)技术和色谱-质谱联用技术。利用核磁共振(NMR)技术和色谱-质谱技术或多平台分析法,对转基因玉米<sup>[50-51]</sup>、水稻<sup>[52-54]</sup>、马铃薯<sup>[55-56]</sup>、大豆<sup>[57]</sup>、番茄<sup>[58]</sup>等转基因作物都进行了代谢组学分析评价。由于代谢组学可以分析大量的代谢产物从而减少每个分析样品的成本,其曾被认为可以替代传统的成分分析<sup>[59]</sup>,但这种方法只能测量数以百计的代谢物,而不是植物中含有的成千上万的代谢产物<sup>[60]</sup>。此外,代谢组学的方法不同,其数据分析和统计分析都会导致重现性小<sup>[51]</sup>,因此,代谢组学可能并不利于进行转基因作物安全评价<sup>[59]</sup>。

2.2.3 蛋白质组学分析 蛋白质是基因功能的关键角色,直接参与代谢和细胞的生长,是转录组和代谢组学之间的中心桥梁<sup>[61]</sup>,多数外源基因的表达或调控产物是蛋白质,转基因作物外源基因的导入可能会导致蛋白质种类和含量的改变。此外,蛋白质还可作为毒素、抗营养因子或过敏原对人体健康产生很大的影响。因此,蛋白质组学研究将为基因改变后的生物程序的变化理解提供重要的信息,对转基因作物的生物安全性评价非常重要<sup>[62]</sup>。蛋白质组学技术是一类高灵敏度、高分辨率的方法,可高通量的对转基因作物进行检测分析。常规的蛋白质组学分析方法是以前转基因作物表达的差异蛋白为检测对象,利用双向电泳技术比较转基因作物和相对应的非转基因作物在蛋白质组学上的差异,再对差异蛋白质进行质谱分析研究<sup>[25]</sup>。以2-DE和MS或液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)相结合的比较蛋白质组学方法已广泛用于评价各种转基因作物(包括玉米、豌豆、土豆、水稻、大豆、烟草、番茄和小麦等<sup>[62]</sup>)蛋白质组的影响,在转基因作物安全性检测与研究中,蛋白质组学发挥着重要的作用。Ren等<sup>[63]</sup>首次在T-DNA插入的拟南芥中检测到靶标蛋白草丁膦乙酰基转移酶(PAT),然而,在以2-D为基础的蛋白质组学在转基因作物分析的差异点中,往往检测不到靶标蛋白,这可能是由于靶标蛋白表达水平低于染色技术检测极限所致<sup>[64-66]</sup>。因此,应该研究一种更有效的蛋白质组学方法或采用现代更灵敏的蛋白质组检测技术,以利于转基因作物靶标蛋白的检测。

近年来随着蛋白质组学的迅速发展,一系列新技术融入了蛋白质组学研究中,如同位素标记的iTRAQ定量蛋白质组学技术方法,已成为蛋白质定性和定量研究的主要工具之一。iTRAQ定量蛋白质组学技术方法在转基因作物的比较研究中,用iTRAQ试剂多重标签进行差异标记后可直接对所有差异表达蛋白质快速、精确的鉴定和比较。已用4种或8种同位素标记的iTRAQ试剂对转基因水稻<sup>[67]</sup>、番茄<sup>[68]</sup>、大豆<sup>[69]</sup>等的蛋白质组进行了蛋白质鉴定和比较研究。蛋白质组学是一门新兴的学科,目前,以2-DE与MS结合为基础的方法,仍然是转基因作物的蛋白质组分析的最广泛使用的方法。新一代的MS仪器为蛋白质组学提供了更准确的定性和定量数据,在转基因作物安全性检测与研究中,仍需要进行大量的研究积累,以便建立转基因作物基于蛋白质组学的新检测评价技术体系,实现对转基因作物蛋白变化情况的深入了解,以及对目标基因表达蛋白质的快速精确检测,为转基因作物的安全评价提供新的有效的技术支撑和理论基础。

### 3 展 望

目前,转基因作物在许多国家与地区已经成为常规农业的一部分,发展转基因作物已经成为必然趋势<sup>[70]</sup>。已有很多国家实施了转基因产品的标识制度,转基因安全管理实施定量标识和阈值管理是将来发展的必然趋势。要实施转基因成份定量标识制度,转基因成份的检测技术将面临更大挑战。根据标识阈值的要求,应加强转基因作物及其产品的定量检测方法的研究,特别是多基因叠加的转基因作物及其产品以及新型外源基因的检测方法的研究;同时还应加强标准物质的研制,以满足转基因成份定量检测的要求。随着新的转基因作物的发展,近年来用于转基因作物检测的新技术不断涌现,其中与大规模、高通量的质谱技术联用的同位素标记技术是目前蛋白质组学定量方法中一个十分重要的技术,在转基因作物蛋白质的检测中可以进行准确的定量比较,是今后转基因作物检测技术发展的方向之一。在转基因作物与传统方法培育的农作物的安全性评价中,应将组学技术与传统的检测技术相结合,依据转基因生物安全问题国际通用的规则,建立快速、准确、高通量的转基因作物安全评价技术体系,促进转基因作物的发展。

### 参考文献:

- [1] CLIVE JAME. 2013 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J]. 中国生物工程杂志, 2014, 34(1): 1-8.

- [2] FREWER L, LASSEN J, KETTLITZ B, et al. Societal aspects of genetically modified foods [J]. *Food Chem. Toxicol* 2004, 42(7): 1181 – 1193.
- [3] SUCHITRA KAMLE, SHER ALI. Genetically modified crops: Detection strategies and biosafety issues [J]. *Gene*, 2013, 522(2): 123 – 132.
- [4] ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. An Introduction to the Food/Feed Safety Consensus Documents of the Task Force [M]. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, 2006, 14: 7 – 9.
- [5] MORISSET D, DEMSAR T, GRUDEN K, et al. Detection of genetically modified organisms-closing the gaps [J]. *Nat. Biotechnol*, 2009, 27(8): 700 – 701.
- [6] HOLST-JENSEN A, RONNING S B, LEVSETH A, et al. PCR technology for screening and quantification of genetically modified organisms (GMOs) [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, 375(8): 985 – 993.
- [7] 苏锐, 熊嫣, 庆宏, 等. 转基因作物检测新技术研究进展 [J]. *化学通报*, 2012, 75(2): 121 – 125.
- [8] AGUILERA M, QUERCI M, PASTOR S, et al. Assessing copy number of MON810 integrations in commercial seed maize varieties by 5'-event-specific real-time PCR validated method coupled to 2<sup>ΔΔCT</sup> analysis [J]. *Food Anal. Methods.*, 2009, 2(1): 73 – 79.
- [9] BALLARI R V, MARTIN A, GOWDA L R. Detection and identification of genetically modified EE-1 brinjal (*Solenum melongena*) by single, multiplex and SYBR (R) real time PCR [J]. *J. Sci. Food Agric.*, 2013, 93(2): 340 – 347.
- [10] BELTRÁN J, JAIMES H, ECHEVERRY M, et al. Quantitative analysis of transgenes in cassava plants using real-time PCR technology [J]. *In Vitro Cell Dev. Biol. -Plant.*, 2009, 45(1): 48 – 56.
- [11] LI Z, HANSEN J L, LIU Y, et al. Using realtime PCR to determine transgene copy number in wheat [J]. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2004, 22(2): 179 – 188.
- [12] WU Y, WU G, XIAO L, et al. Event-specific qualitative and quantitative PCR detection methods for transgenic rapeseed hybrids MS1 × RF1 and MS1 × RF2 [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55(21): 8380 – 8389.
- [13] MIRAGLIA M, BERDAL K G, BRERA C, et al. Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain [J]. *Food Chem. Toxicol.*, 2004, 42(7): 1157 – 1180.
- [14] YANG R, XU W T, LUO Y B, et al. Event-specific qualitative and quantitative PCR detection of roundup ready event GT73 based on the 3'-integration junction. [J] *Plant Cell Rep.*, 2007, 26(10): 1821 – 1831.
- [15] 许文涛, 杨蓉, 陆姣, 等. 转基因玉米 59122 品系的特异性检测 [J]. *食品科学*, 2011, 32(4): 139 – 142.
- [16] PAN A H, YANG L T, XU S C, et al. Event specific qualitative and quantitative PCR detection of MON863 maize based upon the 3'-transgene integration sequence [J]. *J. Cereal Sci.*, 2006, 43(2): 250 – 257.
- [17] WANG W X, ZHU T H, LAI F X, et al. Event-specific qualitative and quantitative detection of transgenic rice Kefeng-6 by characterization of the trans-gene flanking sequence [J]. *Eur. Food Res. Technol.*, 2011, 232(4): 297 – 305.
- [18] XU J Y, CAO J J, CAO D M, et al. Flanking sequence determination and event-specific detection of genetically modified wheat B73-6-1 [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2013, 45(5): 416 – 421.
- [19] YANG L T, PAN A H, ZHANG K W. Qualitative and quantitative PCR methods for event specific detection of genetically modified cotton Mon1445 and Mon531 [J]. *Transgenic Research*, 2005, 14(6): 817 – 831.
- [20] YANG L T, JIANG L X, SHEN K L, et al. Event-specific qualitative and quantitative PCR detection methods for genetically modified cotton MON88913 [J]. *Food Safety and Quality Detection Technology*, 2009(1), 1: 10 – 19.
- [21] LI X, PAN L W, LI J Y, et al. Establishment and application of event-specific polymerase chain reaction methods for two genetically modified soybean events, A2704-12 and A5547-127 [J]. *J. Agr. Food Chem.*, 2011, 59(24): 13188 – 13194.
- [22] LIU J, GUO J C, ZHANG H B, et al. Development and in-house validation of the event specific polymerase chain reaction detection methods for genetically modified soybean MON89788 based on the cloned integration flanking sequence [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57(22): 10524 – 10530.
- [23] LIU Y, ZHANG M H, YU Y B, et al. Event-Specific Qualitative and Quantitative Detection in Transgenic Soybean OsDREB3 Based on the 5' Flanking Sequence [J]. *Food Biotechnology*, 2014, 28(1): 63 – 78.
- [24] BRETT G M, CHAMBERS S J, HUANG L, et al. Design and development of immunoassays for detection of proteins [J]. *Food Control*, 1999, 10(1): 401 – 406.
- [25] 郭斌, 祁洋, 尉亚辉. 转基因植物检测技术的研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(2): 120 – 126.
- [26] GIOVANNOLI C, ANFOSSI L, BAGGIANI C, et al. Binding properties of a monoclonal antibody against the Cry1Ab from *Bacillus thuringiensis* for the development of a capillary electrophoresis competitive immunoassay [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, 392: 385 – 393.
- [27] ZHU X, CHEN L, SHEN P, et al. High sensitive detection of Cry1Ab protein using a quanti-dot based fluorescence linked

- immunosorbant assay [J]. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59(6): 2184 – 2189.
- [28] XU W, YUAN Y, LUO Y, et al. Event-specific detection of stacked genetically modified maize Bt11 x GA21 by UP-MPCR and Real-time PCR [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(2): 395 – 402.
- [29] BAI S L, ZHANG J, LI S C, et al. Detection of Six Genetically Modified Maize Lines Using Optical Thin-Film Biosensor Chips [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58(15): 8490 – 8494.
- [30] SHAO N, JIANG S M, ZHANG M, et al. MACRO: A Combined Microchip-PCR and Microarray System for High Through put Monitoring of Genetically Modified Organisms [J]. *Anal. Chem.*, 2014, 86(2): 1269 – 1276.
- [31] KUIPER H A, KLETER G A, NOTEBORN H P J M, et al. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods [J]. *Plant J.* 2001, 27(6): 503 – 528.
- [32] CELLINI F, CHESSON A, COLQUHOUN I, et al. Unintended effects and their detection in genetically modified crops [J]. *Food Chem. Toxicol.*, 2004, 42(7): 1089 – 1125.
- [33] GARCIA-CANAS V, SIMO C, LEON C, et al. Ms-based analytical methodologies to characterize genetically modified crops [J]. *Mass Spectrom. Rev.* 2011, 30(3): 396 – 416.
- [34] IOSET J R, URBANIAK B, NDJOKO-IOSET K, et al. Flavonoid profiling among wild type and related GM wheat varieties [J]. *Plant Mol. Biol.*, 2007, 65(5): 645 – 654.
- [35] AGNÈS E RICOCH, JEAN B BERGÈ, MARCEL KUNTZ. Evaluation of Genetically Engineered Crops Using Transcriptomic, Proteomic, and Metabolomic Profiling Techniques [J]. *Plant Physiology*, 2011, 155(4): 1752 – 1761.
- [36] BARROS ELS, LEZAR S, ANTONEN M J, et al. Comparison of two GM maize varieties with a near-isogenic non-GM variety using transcriptomics, proteomics and metabolomics [J]. *Plant Biotechnol J*, 2010, 8(4): 436 – 451.
- [37] YAO Y Y, NI Z F, ZHANG Y H, et al. Identification of differentially expressed genes in leaf and root between wheat hybrid and its parental inbreds using PCR-based cDNA subtraction [J]. *Plant Mol. Biol.*, 2005, 58(3): 367 – 384.
- [38] ANDOW D A. Assessing unintended effects of GM plants on biological species [J]. *J. Verbrauch. Lebensm*, 2011(1): 119 – 124.
- [39] SOROCHINSKII B V, BURLAKA O M, NAUMENKO V D, et al. Unintended Effects of Genetic Modifications and Methods of their Analysis in Plants [J]. *Cytology and Genetics*, 2011, 45(5): 324 – 332.
- [40] CHEN D, YE G, YANG C, et al. The Effects of High Temperature on the Insecticidal Properties of Bt Cotton. *Environ [J]. Experiment. Bot.*, 2005, 53(3): 333 – 342.
- [41] HORVATH H, JENSEN L G, WONG O T, et al. Stability of Transgene Expression, Field Performance and Recombination Breeding of Transformed Barley Lines [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2001, 102(1): 1 – 11.
- [42] MILLSTONE E, BRUNNER E, MAYER S. Beyond ‘substantial equivalence’ [J]. *Nature*, 1999, 401(6753): 525 – 526.
- [43] 赵洁, 刘峙, 彭于发, 等. 转基因植物非预期效应检测评价技术的发展 [J]. *中国农业科技导报*, 2013, 15(2): 64 – 69.
- [44] ASHRAF ABDEEN, JAIMIE SCHNELL, BRIAN MIKI. Transcriptome analysis reveals absence of unintended effects in drought-tolerant transgenic plants overexpressing the transcription factor ABF3 [J]. *BMC Genomics*. 2010, 11(1): 1 – 21.
- [45] LEE K M, KIM J H, KANG D. Design issues in toxicogenomics using DNA microarray experiment [J]. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 2005, 207(2): 200 – 208.
- [46] COLL A, NADAL A, PALAUDELMÀS M, et al. Lack of repeatable differential expression patterns between MON810 and comparable commercial varieties of maize [J]. *Plant Mol. Biol.*, 2008, 68(1/2): 105 – 117.
- [47] KOGEL K H, VOLL L M, SCHÄFER P, et al. Transcriptome and metabolome profiling of field-grown transgenic barley lack induced differences but show cultivar-specific variances [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2010, 107(14): 6198 – 6203.
- [48] MONTERO M, COLL A, NADAL A, et al. Only half the transcriptomic differences between resistant genetically modified and conventional rice are associated with the transgene [J]. *Plant Biotechnol. J.*, 2011, 9(6): 693 – 702.
- [49] VIRGINIA GARCÍA-CAÑAS, CAROLINA SIMÓ, CARLOS LEÓN, et al. MS-based analytical methodologies to characterize genetically modified crops [J]. *Mass Spectrometry Reviews.*, 2011, 30(3): 396 – 416.
- [50] FRANK T, ROHLIG R M, DAVIES H V, et al. Metabolite profiling of maize kernels-genetic modification versus environmental influence [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2012, 60(12): 3005 – 3012.
- [51] LEON C, RODRIGUEZ-MEIZOSO I, LUCIO M, et al. Metabolomics of transgenic maize combining Fourier transform ion cyclotron resonance-mass spectrometry, capillary electrophoresis-mass spectrometry and pressurized liquid extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(43): 7314 – 7323.
- [52] KIM J K, HA S H, PARK S Y, et al. Determination of lipophilic compounds in genetically modified rice using gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2012, 25(1): 31 – 38.
- [53] KIM J K, PARK S Y, LEE S M, et al. Unintended polar metabolite profiling of carotenoid-biofortified transgenic rice reveals

- substantial equivalence to its non-transgenic counterpart [J]. *Plant biotechnology reports* ,2013 ,7( 1) : 121 – 128.
- [54]CHANG Y W , ZHAO C X , ZHU Z , et al. Metabolic profiling based on LC/MS to evaluate unintended effects of transgenic rice with cry1Ac and sck genes [J]. *Plant molecular biology* ,2012 ,78( 4/5) : 477 – 487.
- [55]CATCHPOLE G S , BECKMANN M , ENOT D P , et al. Hierarchical metabolomics demonstrates substantial compositional similarity between genetically modified and conventional potato crops [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* ,2005 ,102( 40) : 14458 – 14462.
- [56]KIM H S , KIM S W , PARK Y S , et al. . Metabolic profiles of genetically modified potatoes using a combination of metabolite fingerprinting and multivariate analysis [J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* ,2009 ,14( 6) : 738 – 747.
- [57]GARCIA-VILLALBA R , LEON C , DINELLI G , et al. Comparative metabolomic study of transgenic versus conventional soybean using capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J. Chromatogr. A* ,2008 ,1195( 1/2) : 164 – 173.
- [58]KUSANO M , REDESTIG H , HIRAI T , et al. Covering chemical diversity of genetically-modified tomatoes using metabolomics for objective substantial equivalence assessment [J]. *PLoS One* ,2011 ,6( 2) : e16989.
- [59]CHASSY B M. Can-omics inform a food safety assessment? [J]. *Regul. Toxicol. Pharmacol* ,2010 ,58( 3) : S62 – S70.
- [60]DAVIES H. A role for “omics” technologies in food safety assessment [J]. *Food Control* ,2010 ,21( 12) : 1601 – 1610.
- [61]SALEKDEH G H , KOMATSU S. Crop proteomics: aim at sustainable agriculture of tomorrow [J]. *Proteomics* ,2007 ,7( 16) : 2976 – 2996.
- [62]GONG C Y , WANG T. Proteomic evaluation of genetically modified crops: current status and challenges [J]. *Front Plant Sci.* ,2013 ,4: 41 – 48.
- [63]REN Y F , LV J , WANG H , et al. A comparative proteomics approach to detect unintended effects in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Journal of Genetics and Genomics* ,2009 ,36( 10) : 629 – 639.
- [64]ALBO A G , MILA S , DIGILIO G , et al. Proteomic analysis of a genetically modified maize flour carrying Cry1Ab gene and comparison to the corresponding wild-type [J]. *Maydica* ,2007 ,52( 4) : 443 – 455.
- [65]ZOLLA L , RINALDUCCI S , ANTONIOLI P , et al. Proteomics as a complementary tool for identifying unintended side effects occurring in transgenic maize seeds as a result of genetic modifications [J]. *J. Proteome Res.* ,2008 ,7( 5) : 1850 – 1861.
- [66]GONG C Y , LI Q , YU H T , et al. Proteomics insight into the biological safety of transgenic modification of rice as compared with conventional genetic breeding and spontaneous genotypic variation [J]. *J. Proteome Res.* ,2012 ,11( 5) : 3019 – 3029.
- [67]LUO J , NING T , SUN Y , et al. Proteomic analysis of rice endosperm cells in response to expression of hGM-CSF [J]. *J. Proteome Res.* ,2009 ,8( 2) : 829 – 837.
- [68]FRANCESCA P , ROBERTSON P , KAISA KOISTINEN , et al. Bramley. Proteome changes in tomato lines transformed with phytoene synthase-1 in the sense and antisense orientations [J]. *Journal of Experimental Botany* ,2012 ,63( 16) : 6035 – 6043.
- [69]OCAÑA M F , FRASER P D , PATEL R K P , et al. Evaluation of stable isotope labelling strategies for the quantitation of CP4 EPSPS in genetically modified soya [J]. *Analytica Chimica Acta* ,2009 ,634( 1) : 75 – 82.
- [70]祁潇哲 , 黄昆仑. 转基因食品安全评价研究进展 [J]. *中国农业科技导报* ,2013 ,15( 4) : 14 – 19.

## A Review of Detection Technologies for Safety Evaluation of Genetically Modified Crops

YI Xiaoping , TAN Yanhua , PENG Cunzhi , XIE Xiang , HE Pingping

( Institute of Tropical Biotechnology and Bioscience , Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Ministry of Agriculture  
Transgenic Plants and Plant Environment for Microbial Safety Inspection and Testing Center , Haikou 571101 , China)

**Abstract:** The bio-safety of genetically modified crops has attracted a global attention. Many countries and international organizations have formulated relevant laws and regulations for safety management of the genetically modified crops. For the bio-safety of the genetically modified crops these crops need bio-safety evaluation , and detection and evaluation technologies for the transgenic crops are key to tell whether the genetically modified crops are biologically safe. The main detection technologies for safety evaluation of the genetically modified crops were reviewed , especially the untargeted “omics” technologies such as transcriptomics , proteomics and metabolomics and their use in bio-safety evaluation of unintended effects of the genetically modified crops.

**Key words:** genetically modified crops; detection; safety evaluation; omics technologies