

转基因作物检测技术研究进展

罗建兴^{1,2}, 刘国强¹, 呼李乐², 郭梁^{1*}

[1. 锡林郭勒职业学院, 锡林郭勒生物工程研究院, 锡林浩特 026000;
2. 中化现代农业(陕西)有限公司, 榆林 719000]

摘要: 转基因作物的广泛种植为人类社会带来了巨大的经济利益和社会效益, 有效缓解了因土地不足或病虫害导致的粮食减产和不足的现状。由于目前转基因食品的生物安全仍存在不确定性, 随着其种植面积的逐年增加, 转基因食品检测在转基因生物安全监管中的作用越来越重要。因此, 建立简单、快速、适用性强的转基因检测方法对转基因食品监管、评估和风险防范等具有重大的意义。本文针对目前三大类, 分别为基于核酸水平的检测、基于蛋白水平的检测和基于代谢物水平检测的具体转基因检测技术的原理、应用和研究进展进行概述, 并对相关的检测方法及其适用范围进行了简单概括, 对比不同检测技术的优势和劣势, 指出了目前转基因生物检测技术存在的问题, 展望了未来转基因检测技术的发展方向, 以期使人们对转基因检测技术的现状和发展趋势有较为清晰和全面的了解。

关键词: 转基因; 检测技术; 发展趋势

Research progress on detection technology of genetically modified crops

LUO Jian-Xing^{1,2}, LIU Guo-Qiang¹, HU Li-Le², GUO Liang^{1*}

[1. Xilingol Vocational College, Institute of Bioengineering, Xilinhot 026000, China;
2. Sinochem Modern Agriculture (Shanxi) Limited Company, Yulin 719000, China]

ABSTRACT: The widespread cultivation of genetically modified crops has brought huge economic and social benefits to human society, effectively alleviating the current situation of grain yield and shortage caused by land shortage or diseases and pests. As the biosafety of genetically modified food is still uncertain at present, with the increase of planting area year by year, the detection of genetically modified food plays an increasingly important role in the safety supervision of genetically modified organisms. Therefore, it is of great significance to establish a simple, rapid and adaptable genetically modified organisms detection method for the supervision, evaluation and risk prevention of genetically modified food. This paper summarized the principle, application and research progress of specific genetically modified organisms detection technologies based on nucleic acid level, protein level and metabolite level, and briefly summarized relevant detection methods and their applicable scope, and compared the advantages and disadvantages of different detection technologies, pointed out the ongoing problems of detection

基金项目: 2022 年内蒙古自治区自然科学基金项目(2022FX14)、锡林郭勒盟博士教学科研项目(XMB202301)、锡林郭勒职业学院科研项目(2023-26、2023-27)、内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY22715)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation of Inner Mongolia in 2022 (2022FX14), the Xilingol League Doctoral Teaching and Research Project (XMB202301), the Xilingol Vocational College Research Projects (2023-26, 2023-27), and the Scientific Research Project of Universities in Inner Mongolia Autonomous Region (NJZY22715)

*通信作者: 郭梁, 博士, 研究员, 主要研究方向为动物源性成分检测和转基因成分检测以及微生物资源开发。E-mail: herdman86@163.com

*Corresponding author: GUO Liang, Ph.D, Professor, Xilingol Vocational College, No.11, Mingantu Street, Xilinhot 026000, China. E-mail: herdman86@163.com

techniques of genetically modified organisms. This paper prospected the development direction of genetically modified organisms detection technology in the future, in order to make people have a clear and comprehensive understanding of the present situation and development trend of genetically modified organisms detection technology.

KEY WORDS: genetically modified organisms; detection technology; development trend

0 引言

随着 21 世纪工业化水平进程的加快和医学治疗手段的提高,全球人口数量急剧上涨,目前全球总人数为 77 亿,预计 2100 年全球人口总量将达到 123 亿^[1],庞大的人口增长基数给世界农业粮食生产带来了巨大的压力,据 2019 年《世界粮食安全与营养状况》报告指出 2018 年全球有 8.21 亿人长期受粮食短缺影响^[2]。目前粮食生产面对的问题不仅包括匮乏的土地资源和严重的自然灾害,而且还面临着多种植食性昆虫的攻击,温饱问题越来越受到各国政府的重视。为解决粮食日益减产和不足的状况,各国科学家加大了对农业种植作物增产的研究和经济投入。

1996 年全球正式开启了对转基因作物商业化种植的新时代,据国际农业生物技术应用获取服务处(International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, ISAAA)统计,2017 年转基因作物的全球种植面积达到 1.898 亿公顷^[3],截止 2018 年底,全球转基因作物种植面积已达到 1.917 亿公顷,相比前一年上涨了 190 万公顷,涨幅将近 1%^[4-6]。排在最前的几种转基因作物分别是大豆、棉花、玉米和油菜,通过近几年的转基因作物种植情况分析,其种植面积还将逐年递增,由于目前对于转基因长期使用的风险性和安全性尚无定论,广大消费者对于转基因生物的生产和使用仍然心存顾虑。为应对转基因技术在农业等领域的滥用,我国在 2001—2006 年出台了一系列关于转基因生物安全的管理细则,包括《农业转基因生物安全管理条例》《农业转基因生物进口管理办法》《农业转基因生物标识管理办法》《农业转基因生物安全许可管理办法》《转基因不基因生物加工审批办法》等^[7]。相应的检测标准也在不断地更新和制定当中,同时在转基因作物 20 多年商业化种植的时间里,建立了很多新型且快捷的转基因检测技术。其中已经开发了多种基于核酸或基于蛋白质水平的分析技术用于转基因分析^[8],为了达到较高的准确性和灵敏度,食品分析和安全验证主要依靠传统的色谱法^[9-10],而色谱法主要是基于代谢物水平进行检测分析。因此,本文针对目前基于核酸水平、蛋白质水平和代谢物水平的转基因检测技术的发展及应用作以综述,并进行了广泛的介绍和讨论,以便检测工作者进行方法的比较和技术理解。

1 基于核酸水平的检测

基于核酸的检测方法可以用经典的聚合酶链式反应

(polymerase chain reaction, PCR)方法定性或定量地检测含转基因产品中所含的转基因成分^[11],也可以通过毛细管电泳检测方法、基因芯片、等温扩增技术和新型生物传感器等方法检测,这些方法的检测原理即为检测转基因作物中外源基因(相对于内源基因),主要步骤包括核酸的制备、核酸分子杂交和核酸扩增^[12]。

1.1 毛细管电泳检测方法

毛细管电泳也称高效毛细管电泳,是以毛细管为分离通道,根据电场作用下不同离子迁移速度的差异对样品组分进行分离和分析^[13],不仅灵敏度高、速度快,而且在分离生物活性分子方面具有很好的速度和效率优越性,目前已广泛应用于中药、食品、临床、生命科学等领域^[14]。在食品检测方面,相比于其他检测方法,毛细管电泳具有分离模式多、分析时间短、操作步骤简单的特点^[15]。毛细管电泳的方法可以直接分离 DNA,但由于试管很薄,灵敏度低,通过 PCR 和毛细管电泳结合的方法不仅提高了检测灵敏度,而且提高了检测速度^[16]。关于转基因事件的检测,国内已有研究人员^[17]将该技术与微滴 PCR 结合进行玉米中转基因成分的检测,刘亚攀等^[18]将毛细管电泳、激光诱导荧光分析手段、分子生物学技术三者结合建立了转基因稻米的快速检测方法,且对市场上的稻米进行检测,结果具有很好的适用性。陈洪等^[19]、周颖^[20]、张春桥等^[21]利用毛细管电泳结合其他先进检测技术分别建立了对转基因油菜、大豆、玉米等常规种植作物转基因成分的检测方法,更加说明了毛细管电泳技术对转基因检测具有的广泛适用性。FU 等^[22]利用 PCR 芯片毛细管电泳技术可同时检测棉花、马铃薯、玉米、菜籽油等混合物基因组中的 DNA,通过靶向事件特异性核苷酸序列对混合物中的特定转基因生物进行鉴定。此外,将毛细管电泳结合质谱仪对小鼠的血浆样品进行分析,研究人员可对生活中常见的偏头痛脑部疾病进行研究和治疗^[23]。但毛细管电泳存在一些缺点,在进行新事件检测分析时,需要大量的引物设计和优化工作。它的实施还需要专门的设备,而这些设备需要专门的购买和安装^[24]。由于该技术在转基因事件定量中应用较少,需要进一步的研究来对其进行绝对的验证和确认^[25]。

1.2 PCR

目前最常用、最可靠的转基因初筛技术为 PCR 分析,PCR 用于从少量靶标中产生大量核酸,使用常规或实时技术。基本试剂是热稳定的 DNA 聚合酶,合成的寡核苷酸引

物, dNTPs 和平衡的缓冲系统。目标可以从各种不同的源材料中分离出来, 并且 PCR 反应是自动化的(交替变性、退火和延伸的许多重复循环), 由此合成的产品(放大器)可以用各种各样的技术进行表征^[26]。该技术因其灵活性、敏感性、特异性以及对广泛材料的适用性而得到广泛应用^[27], 主要有普通定性 PCR、单管巢式和半巢式 PCR 技术、多重 PCR 检测技术、实时荧光定量 PCR 技术、竞争性 PCR 技术、数字 PCR 技术(分为芯片式数字 PCR 和微滴数字 PCR 检测技术)等, 不同 PCR 技术特征对比如表 1 所示。相关检测技术的发展极大促进了食品、生物等领域的检测进度。筛选方法主要针对植物转化过程中最常用的遗传元件(启动子、终止子和选择标记基因)^[28]。各种基于 PCR/q-PCR 的筛选方法已经发展起来, 针对最常用的标记基因(例如 *aadA*、*bar*、*hpt*、*nptII*、*pat*、*uidA*)来确认样品的转基因状态, 而不考虑作物和转基因性状^[29]。刘晓等^[30]通过微滴式数字 PCR 建立了大豆中 3 种外源基因的双重 PCR 方法, 该方法的定量和定性检出限分别是 0.5% 和 0.05%, 能很好地满足实际检测需求。邓婷婷等^[31]建立了常见转基因大米的 5 重数字 PCR 定量方法, 解决了复杂转基因产品和多品系杂交的多价转基因原料的高通量精准定量难题, 为未知和复杂的转基因成分的精准定量提供了全新技术手段。杨镇州等^[32]采用逆转录芯片式数字 PCR 建立了一套定量检测基于 RNAi 技术的转基因玉米品系方法。除此以外, 利用不同 PCR 技术检测转基因成分的标准和专利也在不断申请和制定当中, 如 GB/T 33526—2017《转基因植物产品数字 PCR 检测方法》、GB/T 38132—2019《转基因植物品系定量检测数字 PCR 法》和利用普通 PCR、巢式 PCR、实时荧光 PCR 及微滴数字 PCR 等技术检测转

基因成分的专利^[33-36]。实时荧光 PCR 因其通量大, 比普通 PCR 更有优势。由于转基因生物产量的不断增加, 需要不断设计更多的识别标记, 并使用更多的标记来完全覆盖其识别, 这可能会使实验过程更加困难和烦琐^[37]。因此, 为了克服这些问题, 已经设计了新的替代方法(如微滴数字 PCR), 目前微滴数字 PCR 技术的发展使多重反应成为可能^[38], 微滴数字 PCR 由于其在定量上的覆盖线性更广, 在成本上的有效性更高, 目前被认为是对给定样本中转基因事件进行完美定量的最可靠的技术^[39]。

1.3 基因芯片法

基因芯片是利用样品与探针间基因的碱基配对原理进行杂交^[40], 将带有标记的基因寡核苷酸以特定排列方式固定于硅片、玻璃等载体, 与靶基因片段分子杂交后, 通过计算机对杂交信号的综合分析来获取样品中基因的大量序列及表达信息, 从而对样品进行定性和定量^[41]。它与蛋白质芯片、芯片微缩实验室共同组成生物芯片的三大领域, 目前已广泛应用于临床医学研究、食品检测及农业等行业^[42-43]。在食品检测方面, 利用基因芯片可以对食源性病原微生物、转基因食品、生物毒素等进行检测, 并对现代食品中的新成分进行筛选。以转基因为例, 张广远^[44]以转基因玉米、大豆、油菜为研究对象, 应用寡核苷酸基因芯片技术建立了 7 种转化事件的特异性检测方法。浙江理工大学梁彦君^[45]也将基因芯片技术用于对转基因番茄的检测。与其他检测技术相比, 基因芯片由于自动化程度高、检测效率高、成本低的特点成为转基因食品检测人员比较钟爱的技术之一, 相信随着科学技术水平的不断发展, 未来基因芯片将会有更加广阔的应用前景。

表 1 不同 PCR 技术特征对比
Table 1 Comparison of characteristics of different PCR techniques

技术名称	优点	缺点	应用
普通定性 PCR	操作简单, 成本较低。	产物分析易造成气溶胶污染, 费时。	目前广泛应用于病原微生物、动物源性成分及转基因检测等领域。
巢式 PCR 技术	灵敏度和特异性较强、有效杜绝由于扩增意外引物结合位点(误引)而导致的产品污染。	使用跨越两个或 3 个遗传元素边界的两对引物, 扩增次数多, 费时。	检测和鉴定特定的转基因菌株或品系。
多重 PCR 检测技术	同时扩增多个目标, 快速、廉价和可靠。	前期引物设计和反应体系优化难度较高。	应用于转基因生物的定性检测和鉴定。
实时荧光定量 PCR 技术	扩增时间短, 同一个 PCR 管中跟踪和定量扩增不同目标序列的两个或多个不同的 PCR 反应。	荧光探针和染料成本高。	目前广泛应用于病原体检测、肿瘤基因检测、动物源性成分检测和转基因检测。
竞争性 PCR 技术	能自动纠正部分 PCR 抑制, 绕过扩增效率差异的“金标准”。	每个样品执行多个 PCR 的低通量和烦琐的程序, 难以同时定量多个目标序列的多重分析。	应用于对混合物中的特定物种进行定量分析。
数字 PCR 技术	精确度和灵敏度高, 可以在不使用校准曲线的情况下提供食品样品中核酸浓度的绝对测量; 对 PCR 抑制剂或其他影响 PCR 的因素(如交叉反应的 DNA 模板和引物二聚体)具有更强的耐受性。	操作复杂, 分析难度大。	广泛应用于定量基因表达分析、罕见变异和单核苷酸多态性分析、基因分型、拷贝数变异检测和 非编码 RNA 研究等领域。

1.4 等温扩增技术

等温扩增技术是一种新型的核酸分析技术,它摆脱了传统扩增技术对精密温控设备的需求,无需热循环仪器,通过简易的水浴锅或恒温槽即可满足对样品的实际检测需求,具有耗时短、反应灵敏、特异性强、扩增效率高优点^[46-47]。随着现代科技的发展,等温扩增技术可分为环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)、依赖解旋酶等温扩增(helicase dependent amplification, HDA)、重组酶介导等温扩增(recombinase polymerase amplification, RPA)、链置换等温扩增(strand displacement amplification, SDA)以及全基因组扩增(whole-genome amplification, WGA)和滚环式等温扩增等(rolling circle amplification, RCA)。此类技术的发展对于基础研究、实时检测、医疗诊断等具有非常重要的推动作用。本文将几种等温扩增技术优缺点及应用范围进行比较和整理,如表 2 所示。在转基因检测方面,陶震等^[48]已成功将超分支滚环扩增技术应用于对转基因烟草的检测,闫兴华等^[49]、甄贞等^[50]、邵碧英等^[51]关于转基因玉米不同品系的 LAMP 检测方法灵敏度均达到 0.1% 以下,在实际检测工作中都具有很好的特异性和稳定性。2014 年李志勇等制定了利用环介导等温扩增技术对进出口食品中转基因成分的检测标准

SN/T 3767.1—2014《出口食品中转基因成分环介导等温扩增(LAMP)检测方法 第 1 部分:通用要求和定义》,并对包括玉米、大豆、水稻、甜菜、小麦和油菜在内的 6 种转基因作物约 30 个不同品系的基因进行规范检测方法。MOURA-MELO 等^[52]建立了电化学基因传感器与 HDA 相结合技术成功地应用于检测启动子花椰菜花叶病毒 35S 启动子(cauliflower mosaic virus 35s promoter, CaMV35S)特异性。LIU 等^[53]建立了一种灵敏、特异和稳定的检测转基因生物 p-35S 和 t-NOS 的 RPA 结合侧流条带的田间筛选方法,用于的大规模田间筛选转基因作物。刘华等^[54]开发的 RPA 结合簇状规则间隔短链重复序列及相关蛋白和聚噻吩显色技术快速检测转基因植物外源基因 CP4-5-烯醇式丙酮酸莽草酸-3-磷酸合酶(CP4-5-5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene, CP4-EPSPS)的方法同样适用于转基因作物的田间大规模快速筛选。DENG 等^[55]建立了双链位移探针环介导等温扩增方法定量检测转基因水稻 M12 事件的方法,定量准确度为 0.5%,定性检测准确度为 0.1%。PANG 等^[56]通过靶触发的 DNAzyme 结合 RCA 检测 CaMV35S 启动子,方法线性范围宽,检出限低,已成功应用于转基因大豆实际样品的检测。近年来,等温扩增技术因其简单、省时、耐多种 PCR 抑制剂(如酸性多糖)等优点被广泛应用

表 2 不同等温扩增技术特征对比
Table 2 Comparison of characteristics of different isothermal amplification techniques

技术名称	优点	缺点	应用
LAMP	耗时短、扩增效率高、无需昂贵仪器。	低浓度的 DNA 模板污染易造成假阳性。	目前广泛应用于医学和制药、环境卫生、病原微生物、转基因检测等领域。
HDA	引物设计简单、特异性强、效率高、灵敏度高、耗时短、可用于大量检测需求	扩增片段具有局限性,仅适用于扩增短片段。	目前应用于转基因标准物质的制备。
RPA	检测灵敏度、特异性较高,结果直观,对检测设备要求低,可满足现场检测需求。	探针设计过程中没有完善的操作流程,探针结构稳定性无法测定,导致起始信号值过高影响检测结果,扩增产物片段 500 bp 以下,易出现大量引物二聚体和非特异性条带,且反应结束后开盖处理产生大量气溶胶,会对实验室环境造成很大的污染。	现多用于对致病菌和病毒的研究,转基因方面也有所涉及。
SDA	扩增反应可在高温条件下进行,相较其他靶标扩增技术,可实现半定量,与荧光偏振技术结合,能大大提高检测灵敏度。	不能有效扩增长片段靶标序列,扩增产物不够均一,产物电泳检测易出现拖尾现象。	目前该方法主要应用于分枝杆菌的检测、体外进化模型的建立、病原微生物的检测、核酸定量及芯片杂交等多个方面。
WGA	不需要使用任何引物以及对模板进行预变性处理,产量高,对模板质和量要求低,操作简单。	使用的蛋白(酶)以及试剂较多,效果有待验证,保真性较差。	可直接对血液或组织细胞进行检测,已广泛应用于单核苷酸多态性分析、卵植入前遗传学诊断、遗传学研究、法医鉴定和临床诊断。
RCA	具有高灵敏度、高特异性、多元性、高通量、简单易操作的优点且该技术兼具高效的持续合成能力和扩增能力。	适用于分子量较小的环状 DNA 复制,线性 RCA 用于核酸扩增时对靶核酸的结构要求较高,或者说应用范围较窄,只能用于一些具有环状核酸的病毒、质粒和环状染色体等。	目前在基础研究、实时检测、医疗诊断等方面都有很好的应用。

于各种诊断领域的定性检测^[57]。然而, 这种技术有一些局限性, 即每个序列设计一个以上引物对的限制非常耗时。此外, 使用多重方法检测不同的转基因事件也是一个问题^[58]。检测转基因事件的定量等温扩增分析有可能取代现有技术, 但还需要进一步发展。

1.5 新型生物传感器

生物传感器是新一代分析技术, 目前已广泛应用于生物、食品、医疗和环境等领域, 它以生物材料及其衍生物为分子识别元件, 然后通过换能元件将识别元件与待测物特异性结合产生的物理、化学信号转化为光电信号达到检测的目的^[59-60]。与传统基于核酸和蛋白质的检测技术相比, 具有体积小、操作简单、灵敏度高、分析速度快和易于联机的特点, 受到多个研究领域的注意。根据信号的不同, 可简单分为热生物传感器、电化学生物传感器、半导体生物传感器、压电生物传感器和光学生物传感器^[61], 同时根据分子扩增技术、信号输出方式、及纳米材料等不同, 又可以对其进行分类, 结合其他检测手段, 使新型生物传感器技术在转基因安全检测方面也起着非常重要的作用^[62]。在众多生物传感器技术中尤以电化学生物传感器和光学生物传感器中的表面等离子共振传感器是目前应用最为广泛。山东农业大学明华蜜^[63]曾利用表面等离子共振传感器检测两种禽类病毒和转基因抗虫蛋白基因 *CryIAb*; 许凯等^[64]利用电化学 DNA 生物传感器定量检测根癌农杆菌终止子基因片段; 长春大学张玉昆^[65]将表面等离子共振传感技术应用于对转基因元件胭脂碱合酶终止子的检测, 成功构建出了一种针对转基因样品的高特异性和高灵敏度的多维电化学-表面等离子共振技术。相信随着生物传感技术的成熟和不断深入, 未来的检测将变得更加高效和方便。

2 基于蛋白质水平的检测

基于蛋白质水平的检测原理实质为基于免疫测定的检测, 需要抗原-抗体(即单克隆或多克隆抗体)特异性结合。单克隆抗体比多克隆抗体具有更高的特异性。多克隆抗体通常取决于识别系统的特异性^[66]。由于特异性结合, 免疫分析显示出高水平的特异性, 从而能够鉴定从转基因生物中表达的新蛋白质, 如蛋白质免疫印迹法、酶联免疫吸附技术(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、免疫层析试纸条法(immune chromatography test strip, ICTS)和蛋白质芯片法, 这是各种科学家探索和描述的最常见的检测方法^[67]。然而, 基于蛋白质的诊断方法通常不适合检测范围广泛的转基因生物, 特别是加工食品, 因为它们具有更大的不稳定性^[68]。

2.1 蛋白质免疫印迹法

蛋白质免疫印迹法也称 western 杂交, 它根据蛋白质分子量进行电泳分离, 可以被有效地用来鉴定某一蛋白质

的性质、定量分析小分子抗原、筛选及纯化抗体、分析蛋白质的结构域、检测转基因表达结果等。目前该技术已被广泛应用于对转基因植物的研究, 兰金苹等^[69]利用该技术建立了转基因水稻中的 NPTII 蛋白质检测方法, 为转基因材料的快速鉴定提供了重要选项。张彤^[70]也使用同样技术对水稻中的病程相关蛋白 OsPR10A 进行检测, 以了解该蛋白在水稻生长不同时期、不同组织部位及多种非生物逆境胁迫下的表达特征。柴帅杰等^[71]、郭亚璐等^[72]及杨烁等^[73]也分别利用蛋白质免疫印迹(western blot, WB)技术对转基因水稻进行检测和研究, 一致都得出了蛋白质免疫印迹法在对转基因蛋白质表达丰度检测具有得天独厚的优势和应用价值。

2.2 酶联免疫吸附技术

酶联免疫吸附技术是以免疫酶为基础延伸出来由免疫荧光和组织化学共同发展一种新型免疫测定技术, 最早出现在上世纪 60 年代, 具有选择性强、灵敏度高、检测结果准确、实用性高等特点^[74-75], 现今随着技术的成熟已广泛应用于临床医学和食品安全检测等多个领域。以食品检测为例, 可对农药、兽药残留、病原微生物、生物毒素以及转基因等进行检测^[76]。刘志浩^[77]使用双抗体夹心酶联免疫吸附技术为检测平台, 建立了转基因玉米中针对膦丝菌素乙酰转移酶的检测方法。此方法不仅特异性强、稳定性好且具有高通量的特点, 大大提高了转基因检测的效率。酶联免疫吸附技术虽然以其方便快捷、价格低廉特点应用广泛, 却仍旧存在很多不足, 比如对试剂选择要求高, 抗体制备困难、容易起交叉反应等等。WU 等^[78]综述了纳米-ELISA 的研究进展及其在食品分析中的应用, 纳米-ELISA 将会代替传统的 ELISA 技术。相信未来随着科学技术的进步, 该技术存在的不足也将被逐步改进, 从而更好地为安全、健康的生活保驾护航。

2.3 免疫层析试纸条法

免疫层析试纸条是上世纪 80 年代初发展起来的一种快速免疫分析技术。具有层析法和免疫检测法的双重技术优点, 适用于对转基因产品中外源蛋白的大规模筛查和即时检测^[79]。依据检测的抗原分子大小主要分为夹心法和竞争法两类, 按照检测对象的不同分为蛋白试纸条和核酸试纸条^[80]。生活中, 可以利用免疫层析试纸条对致病菌、植物病虫害及食品中农药及兽药残留物等进行检测^[81-84]。MA 等^[85]、BULCKE 等^[86]使用该方法对转基因植物进行检测发现, 免疫层析试纸条虽然具有检测快、携带方便、成本低、通用性广等很多优点, 但同时也存在检测灵敏度偏低、假阴性和假阳性频出的问题, 另外蛋白试纸条的缺点就是该法不适用于对深加工转基因产品的检测。综上所述, 试纸条法虽能够很好地给予现实生活检测方便, 但同时存在较多的缺点, 在普及和检测结果的准确度方面仍有较长

的改进路要走。

2.4 蛋白质芯片法

蛋白质芯片是一种蛋白质组学技术, 诞生于 20 世纪 90 年代末, 是生物芯片领域最有潜力的研究之一^[87]。根据应用范围的不同分为分析型芯片和功能型芯片, 按照载体性质的不同分为三维基质载玻片芯片、微孔板芯片, 载玻片芯片相比其他传统检测技术具有特异性好、通量高、应用性强的特点^[88-89]。目前该技术已被广泛应用于临床检测、药物研发以及环境监测、蛋白质组学研究等领域^[90]。汪琳等^[91]曾利用该技术对 3 种转基因成分进行检测发现, 运用蛋白芯片检测技术对已知标准样品进行单独和混合检测具有很好的特异性, 且检测限度能够达到 ng/mL 级别, 表明该技术向转基因成分检测和技术研发的可能性。浙江大学沙莎^[92]通过构建微流体蛋白质芯片对 6 种转基因蛋白进行了检测, 检测结果的灵敏度与 ELISA 相当, 具有很好的可靠性, 同样肯定了合成的蛋白质芯片能够适用于对转基因的检测。虽然利用蛋白质芯片对转基因成分检测技术目前还不太成熟, 但是具有很好的潜在价值, 加上蛋白芯片具有的优势, 当该技术成熟后能大大推动检测机构对于食品安全的检测力度, 保障人民生命财产安全。

3 基于代谢物水平的检测

现在的检测转基因技术主要集中于基于核酸和蛋白质水平上, 色谱技术和光谱学分析检测技术可以作为有力补充, 以可靠地筛选转基因食品。代谢物分析的基本原理是通过色谱等技术识别和量化一类或多类化学相关代谢物, 这些代谢物都与外源基因有关, 通常具有相同的化学性质^[93]。

色谱技术是一种物理化学分离分析方法, 源于 20 世纪初期由俄国植物学家 TSWETT 提出和命名^[94], 它能够将不同样品组分成功从混合物中分离出来。发展至今, 已有包括气相-质谱和液相-质谱结合等不同技术检测方法, 已被广泛应用于农畜产品安全检测领域, 可检测的项目包括兽药残留、农药残留、违禁添加物、畜禽动物体内生物毒素等等^[95-96]。除此以外, 色谱技术在植物转基因成分检测方面也发挥出巨大的作用。何龙凉等^[97]通过气相-质谱结合法检测抗草甘膦转基因大豆中多种除草剂的残留量, 结果表明方法准确可靠, 回收率和精密度符合残留检测要求, 对转基因大豆监管工作效率和转基因大豆的食用安全性评估有一定的参考价值。杨才琼等^[98]建立黑豆异黄酮和花色苷含量的高效液相色谱和质谱结合技术方法, 方法简便、稳定、耗时少, 灵敏度、重现性和回收率等较好, 对黑豆种质资源的化学评价及质量控制有一定的作用。综上所述, 色谱技术可以扩展到检测食物基质中的其他外源性或内源性靶蛋白, 对农畜产品中转基因成分的检测有着非常广泛的应用潜力和价值。

4 结束语

随着转基因技术的不断发展和稳步提升, 各种不同转基因作物的类型也在不断扩增和优化当中, 技术的进步不仅为现实生产生活带来了巨大的经济效益, 同时也稳步推进了社会的发展。但任何技术的发展都有其两面性, 因此才需要在国家和政府的有效监管范围内合法合规地去发展, 从而也进一步催生了很多对转基因产品检测的新技术。目前, 针对转基因产品的检测方法仍以 PCR 定性和定量检测为主, 相信未来随着科学技术水平的不断提升转基因食品检测技术将会向着更高效、更准确、费用更低, 应用范围更广的趋势发展。同时具有绝对量化能力和在一次实验中产生大量信息的新方法, 如下一代测序技术将在转基因生物鉴定中越来越重要。

参考文献

- [1] 王志理. 世界人口增速放缓人类进入低增长时代——《世界人口展望 2019》研讨会在京召开[J]. 人口与健康, 2019, (7): 14-15.
WANG ZL. The world has entered an era of low growth——World Population Prospects 2019 seminar was held in Beijing [J]. Popul Health, 2019, (7): 14-15.
- [2] 李茂奇. 2018 年 10 月 16 日是第 38 个世界粮食日全球饥饿人数持续上升, 世界粮食安全令人关切[J]. 粮食科技与经济, 2018, 43(10): 5.
LI MQ. The 38th World Food Day on October 16 2018, the number of hungry people in the world continues to rise, raising concerns about world food security [J]. Food Sci Technol and Econ, 2018, 43(10): 5.
- [3] The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. Global status of commercialized Biotech/GM crops in 2017 [M]. ISAAA: Ithaca, New York, 2017.
- [4] 国际农业生物技术应用服务组织. 2018 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, 2019, 39(8): 1-6.
International Service Organization for Agricultural Biotechnology Applications. Global trend of commercialization of biotechnology/genetically modified crops in 2018 [J]. China Biotechnol, 2019, 39(8): 1-6.
- [5] 于滔, 曹士亮, 张建国, 等. 全球转基因作物商业化种植概况(1996—2018 年)[J]. 中国种业, 2020, (1): 13-16.
YU T, CAO SL, ZHANG JG, et al. Overview of global commercial cultivation of genetically modified crops (1996—2018) [J]. China Seed Ind, 2020, (1): 13-16.
- [6] CLIVE JAMES. Preview: Global status of commercialized Biotech/GM crops in 2018 [J]. ISAAA Briefs, 2018. <https://www.ledevoir.com/documents/pdf/isaaa.pdf>
- [7] 李凯. RPA 等温扩增技术在转基因玉米检测中的应用[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
LI K. The application of RPA technology in detection of transgenic maizes [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Dissertation, 2017.
- [8] RANDHAWA G, SINGH M, SOOD P. DNA-based methods for detection of genetically modified events in food and supply chain [J]. Curr Sci, 2016, 110(6): 1000-1009.
- [9] BADOUD F, ERNEST M, HAMMEL YA, et al. Artifact-controlled

- quantification of folpet and phthalimide in food by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Food Control*, 2018, 91: 412–420.
- [10] CORDERO C, SCHMARR HG, REICHENBACH SE, *et al.* Current developments in analyzing food volatiles by multidimensional gas chromatographic techniques [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66: 2226–2236.
- [11] GUERTLER P, GROHMANN L, NAUMANN H, *et al.* Development of event-specific qPCR detection methods for genetically modified alfalfa events J101, J163 and KK179 [J]. *Biomol Detect Quantif*, 2019, 17: 100076.
- [12] JI YS, WAN YS, CHEN JW. Application of sampling and detection methods in agricultural plant biotechnology: Chapter 4 principles of nucleic acidbased detection methods [M]. Woodhead Publishing: Sawston Cambridge, 2022.
- [13] 真亚培, 宋荣娜. 毛细管电泳技术的研究应用[J]. *山东工业技术*, 2015, (17): 194.
YUN YP, SONG RN. Study and application of capillary electrophoresis [J]. *J Shandong Ind Technol*, 2015, (17): 194.
- [14] 聂燕芳. 毛细管电泳原理及其应用[J]. *中山大学研究生学刊(自然科学与医学版)*, 2002, (2): 38–43.
NIE YF. Principle and application of capillary electrophoresis [J]. *J Graduates Sun Yat-sen Univ (Nat Sci Med)*, 2002, (2): 38–43.
- [15] 陈琴华, 李鹏, 朱军. 毛细管电泳技术在黄酮类化合物分析中的应用进展[J]. *医药导报*, 2012, 31(10): 1329–1333.
CHEN QH, LI P, ZHUN J. Application progress of capillary electrophoresis in flavonoids analysis [J]. *Her Med*, 2012, 31(10): 1329–1333.
- [16] ARAKAWA H. Development of highly sensitive analytical methods for biologically relevant materials and their pharmaceutical applications [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2017, 65(12): 1099–1112.
- [17] ZHAO X, ZHANG Q, TANG X, *et al.* Multiplex detection of transgenic maize by microdroplet PCR combined with capillary gel electrophoresis [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51(5): 535–538.
- [18] 刘亚攀, 欧阳华学, 孙成均, 等. 转 Bt 基因稻米的降落 PCR-毛细管电泳快速检测研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2012, 22(11): 2531–2533.
LIU YP, OUYANG HX, SUN CJ, *et al.* Rapid detection of genetically modified rice with Bt gene by touchdown PCR-capillary electrophoresis [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2012, 22(11): 2531–2533.
- [19] 陈洪, 张文, 武玉花, 等. 转基因油菜检测新方法: 在线富集动态涂层毛细管电泳分离-UV 检测 DNA 片段[C]. 第十二届国际油菜大会筹备委员会. 第十二届国际油菜大会论文集. 第十二届国际油菜大会筹备委员会: 第十二届国际油菜大会筹备委员会, 2007.
CHEN H, ZHANG W, WU YH, *et al.* A new method for the detection of transgenic rapeseed: On-line enrichment dynamic coating capillary electrophoresis separation and UV detection of DNA fragments [C]. Preparatory Committee for the 12th International Rape Congress. Proceedings of the twelfth International Rape Congress. Preparatory Committee for the Twelfth International Rape Congress: Preparatory Committee for the Twelfth International Rape Congress, 2007.
- [20] 周颖. 食品中转基因成分的多重 PCR-毛细管电泳快速检测方法的研究[D]. 成都: 四川大学, 2004.
ZHOU Y. Study on rapid analysis of genetically modified organizes by the multiplex PCR-capillary electrophoresis system with laser-induced fluorescence detection [D]. Chengdu: Sichuan University, 2004.
- [21] 张春娇, 许文涛, 程国灵, 等. 转基因玉米的多重 PCR-毛细管电泳紫外检测技术研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(2): 328–333.
ZHANG CJ, XU WT, CHENG GL, *et al.* Study on genetically modified maize by multiplex polymerase chain reaction-capillary electrophoresis with UV detection [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2011, 32(2): 328–333.
- [22] FU W, WEI S, WANG C, *et al.* A temperature-tolerant multiplex elements and genes screening system for genetically modified organisms based on dual priming oligonucleotide primers and capillary electrophoresis [J]. *Food Chem*, 2017, 229: 396–402.
- [23] SHYTI R, KOHLER I, SCHOENMAKER B, *et al.* Plasma metabolic profiling after cortical spreading depression in a transgenic mouse model of hemiplegic migraine by capillary electrophoresis-mass spectrometry [J]. *Mol Biosyst*, 2015, 11(5): 1462–1471.
- [24] MILAVEC M, DOBNIK D, YANG L, *et al.* GMO quantification: Valuable experience and insights for the future [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(26): 6485–6497.
- [25] FRAITURE MA, HERMAN P, TAVERNIERS I, *et al.* Current and new approaches in GMO detection: Challenges and solutions [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 392872.
- [26] DEBODE F, BERBEN G. PCR Techniques for detection and quantification of GMOs [M]. Boca Raton: CRC Press, 2019.
- [27] VERKUIL VP, WITT ET. Principles of PCR [M]. Singapore: Springer, 2019.
- [28] FORTE VT, PINTO AD, MARTINO C, *et al.* A general multiplex-PCR assay for the general detection of genetically modified soya and maize [J]. *Food Control*, 2005, 16(6): 535–539.
- [29] RANDHAWA G, SINGH M, SOOD P, *et al.* DNA-based methods for detection of genetically modified events in food and supply chain [J]. *Curr Sci*, 2016, 110(6): 1000–1009.
- [30] 刘晓, 朱鹏宇, 景小艳, 等. 双重数字 PCR 在转基因大豆检测中的应用[J]. *生物技术进展*, 2020, 10(1): 60–66.
LIU X, ZHU PY, JING XY, *et al.* Application of duplex droplet digital PCR for detection of genetically modified soybean [J]. *Curr Biotechnol*, 2020, 10(1): 60–66.
- [31] 邓婷婷, 黄文胜, 张九凯, 等. 常见转基因大米数字聚合酶链式反应多重定量检测方法研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(21): 6979–6986.
DENG TT, HUANG WS, ZHANG JK, *et al.* Multiple quantitative analysis of genetically modified rice ingredient by digital polymerase chain reaction [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(21): 6979–6986.
- [32] 杨镇州, 刘刚, 许丽. 基于 RNAi 技术的转基因玉米逆转录数字 PCR 检测方法[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(5): 56–63.
YANG ZZ, LIU G, XU L. Reverse transcription digital PCR detection method for RNAi-based transgenic maize [J]. *Curr Biotechnol*, 2020, 36(5): 56–63.
- [33] 修伟明, 鲁军, 李刚, 等. 一种检测转基因油菜转化载体的五重 PCR 引物及方法: 中国, CN107513573A[P]. 2017-12-26.
XIU WM, LU J, LI G, *et al.* The invention relates to a quintuple PCR primer and a method for detecting transformation vector of transgenic rape: China, CN107513573A [P]. 2017-12-26.
- [34] 敖金霞, 高学军, 曲波, 等. 粮食作物深加工制品高通量五重巢式 PCR 转基因检测方法: 中国, CN101402996[P]. 2009-04-08.
AO JX, GAO XJ, QU B, *et al.* High throughput quintuple nested PCR

- method for genetically modified detection of highly processed food crops: China, CN101402996 [P]. 2009-04-08.
- [35] 王仲敏, 赵璟源, 姜一, 等. 一种 *Cry3Bb1* 实时荧光 PCR 检测方法及其试剂盒: 中国, CN105543363A [P]. 2016-05-04.
WANG ZM, ZHAO JY, JIANG Y, *et al.* A real-time fluorescence PCR assay for *Cry3Bb1* and its kit: China, CN105543363A [P]. 2016-05-04.
- [36] 张明哲, 张晓峰, 尹文秀, 等. 转基因水稻 Bt63 的微滴式数字 PCR 检测方法及其试剂盒: 中国, CN106636360A [P]. 2017-05-10.
ZHANG MZ, ZHANG XF, YIN WX, *et al.* Microdrop digital PCR method and kit for detection of genetically modified rice Bt63: China, CN106636360A [P]. 2017-05-10.
- [37] BROEDERS SR, KEERSMAECKER SC, ROOSENS NH. How to deal with the upcoming challenges in GMO detection in food and feed [J]. *J Biomed Biotechnol.* 2012, 2012: 402418.
- [38] MCDERMOTT GP, DO D, LITTERST CM, *et al.* Multiplexed target detection using DNA-binding dye chemistry in droplet digital PCR [J]. *Anal Chem.* 2013, 85(23): 11619–11627.
- [39] IBRAHIM BS, AHMAD AS, AMINA Y, *et al.* Detection of genetically modified organisms through genomics approaches [J]. *Compr Foodomics.* 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22706-6>
- [40] GRAHAM NS, MAY ST, DANIEL ZC, *et al.* Use of the affymetrix human GeneChip array and genomic DNA hybridisation probe selection to study ovine transcriptomes [J]. *Animal.* 2011, 5(6): 861–866.
- [41] 沈泓, 李超, 李珏. 分子生物学技术在转基因食品检测领域中的研究进展[J]. *中国农业信息*, 2017, (15): 57–59, 61.
SHEN H, LI C, LI Y. Research progress of molecular biology technology in the field of genetically modified food detection [J]. *China Agric Informat.* 2017, (15): 57–59, 61.
- [42] 苗小草, 陈万义, 张娟, 等. 生物芯片在食品检测中的应用进展[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2017, 38(1): 114–121.
MIAO XC, CHEN WY, ZHANG J, *et al.* Application progress of biochip in food detection [J]. *J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2017, 38(1): 114–121.
- [43] 苏宁, 杨丽, 刘娟, 等. 基因芯片技术的国内应用研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2016, 27(2): 289–292.
SU N, YANG L, LIU J, *et al.* Application research progress of gene chip technology in China [J]. *Lett Biotechnol.* 2016, 27(2): 289–292.
- [44] 张广远. 转基因食品基因芯片检测及鉴定方法的建立[D]. 济南: 山东师范大学, 2013.
ZHANG GY. The detection and identification methods of genetically modified foods using oligonucleotide microarray[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2013.
- [45] 梁彦君. 转基因番茄外源基因检测方法研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2013.
LIANG YJ. Research on the detection methods of exogenous genes in transgenic tomato [D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-tech University, 2013.
- [46] 梁晋刚, 徐俊锋, 焦悦, 等. 转基因作物快速检测技术进展与展望[J]. *江苏农业科学*, 2019, 47(21): 71–74.
LIANG JG, XU JF, JIAO Y, *et al.* Progress and prospect of rapid detection of genetically modified crops [J]. *Jiangsu Agric Sci.* 2019, 47(21): 71–74.
- [47] 李夏莹, 高鸿飞, 刘鹏程, 等. 转基因作物快速检测技术的研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(3): 5–9.
LI XY, GAO HF, LIU PC, *et al.* Research progress in rapid detection of genetically modified crops [J]. *Jiangsu Agric Sci.* 2018, 46(3): 5–9.
- [48] 陶震, 蔡兴锋, 颜志强, 等. HRCA 技术在转基因植物检测中的应用[J]. *生物工程学报*, 2003, (3): 294–300.
TAO Z, CAI XF, YAN ZQ, *et al.* HRCA and application in detection of genetically modified plant [J]. *Chin J Biotechnol.* 2003, (3): 294–300.
- [49] 闫兴华, 许文涛, 商颖, 等. 环介导等温扩增技术(LAMP)快速检测转基因玉米 LY038[J]. *农业生物技术学报*, 2013, 21(5): 621–626.
YAN XH, XU WT, SHANG Y, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification method (LAMP) for the Rapid detection of transgenic maize (*Zea mays* L.) LY038 [J]. *J Agric Biotechnol.* 2013, 21(5): 621–626.
- [50] 甄贞, 张明辉, 刘营, 等. 转基因玉米 NK603 品系成分 LAMP 快速 PCR 检测方法的建立[J]. *中国农业大学学报*, 2015, 20(3): 24–29.
ZHEN Z, ZHANG MH, LIU Y, *et al.* Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for rapid detection of transgenic maize NK603 [J]. *J China Agric Univ.* 2015, 20(3): 24–29.
- [51] 邵碧英, 陈文炳, 曾莹, 等. LAMP 法检测转基因大豆 A2704-12 品系[J]. *食品科学*, 2013, 34(24): 202–207.
SHAO BY, CHEN WB, ZENG Y, *et al.* Detection of genetically modified soybean line A2704-12 in soybean and its products by LAMP method [J]. *Food Sci.* 2013, 34(24): 202–207.
- [52] MOURA-MELO S, MIRANDA-CASTRO R, DE-LOS-SANTOS-ÁLVAREZ N, *et al.* Targeting helicase-dependent amplification products with an electrochemical genosensor for reliable and sensitive screening of genetically modified organisms [J]. *Anal Chem.* 2015, 87(16): 8547–8554.
- [53] LIU H, WANG JB, LI P, *et al.* Rapid detection of P-35S and T-nos in genetically modified organisms by recombinase polymerase amplification combined with a lateral flow strip [J]. *Food Control.* 2020, 107: 106775.
- [54] 刘华, 曾海娟, 唐雪明, 等. 基于 RPA-CRISPR-Cas12a 和聚苯胺显色技术快速检测转基因植物外源基因 *CP4-EPSPS* [J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(23): 7758–7764.
LIU H, ZENG HJ, TANG XM, *et al.* Rapid detection of transgenic plant exogenous *CP4-EPSPS* gene based on RPA-CRISPR-Cas12a and polythiophene chromogenic technology [J]. *J Food Saf Qual.* 2022, 13(23): 7758–7764.
- [55] DENG TT, HUANG WS, XING RR, *et al.* Establishment and application of a loop-mediated isothermal amplification method with double-stranded displacement probes to quantify the genetically modified rice M12 event [J]. *Eur Food Res Technol.* 2020, 246: 631–641.
- [56] PANG YH, WANG YY, SUN MM, *et al.* Visual detection of CaMV35S promoter via target-triggered rolling circle amplification of DNzyme [J]. *J Food Compos Anal.* 2022, 106: 104304.
- [57] ZHANG M, LIU Y, CHEN L, *et al.* One simple DNA extraction device and its combination with modified visual loop-mediated isothermal amplification for rapid on-field detection of genetically modified organisms [J]. *Anal Chem.* 2013, 85(1): 75–82.
- [58] ANGERS-LOUSTAU A, PETRILLO M, BONFINI L, *et al.* JRC GMO-Matrix: A web application to support genetically modified organisms detection strategies [J]. *BMC Bioinform.* 2014, 15(1): 417.
- [59] 杜方, 纪淑娟, 黄新. 表面等离子共振传感器检测转基因植物中苏云金芽孢杆菌 *cryIac* 蛋白的方法研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2014, 45(4): 482–486.
DU F, JI SJ, HUANG X. Using a surface plasmon resonance sensor for the detection of Bt *cryIac* protein [J]. *J Shenyang Agric Univ.* 2014, 45(4):

- 482-486.
- [60] 黄新, 郭欣硕, 李明福, 等. 生物传感器在转基因产品检测中的研究进展[J]. 生物技术通报, 2009, (10): 83-87.
HUANG X, GUO XS, LI MF, *et al.* Advances in research of biosensors in transgenic products detection[J]. Lett Biotechnol, 2009, (10): 83-87.
- [61] 段星阳, 田晶晶, 张园, 等. 转基因成分功能核酸生物传感检测技术[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(12): 2265-2271.
DUAN XY, TIAN JJ, ZHANG Y, *et al.* Functional Nucleic acid-based biosensing technique for genetically modified ingredients detection [J]. J Agr Biotechnol, 2019, 27(12): 2265-2271.
- [62] 李晖, 廖跃华, 徐晓慧, 等. 纳米材料修饰电化学生物传感器在食品检测中的应用[J]. 分析科学学报, 2020, 36(6): 900-905.
LI H, LIAO YH, XU XH, *et al.* Application of biosensor with nanomaterial modified electrode in food detection [J]. J Anal Sci, 2020, 36(6): 900-905.
- [63] 明华蜜. SPR 生物传感器用于检测两种禽类病毒和转基因蛋白 Cry1Ab 的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015.
MING HM. Study on detection of two avian viruses and transgenic protein Cry1Ab by SPR biosensors [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015.
- [64] 许凯, 叶尊忠, 应义斌. 电化学 DNA 生物传感器定量检测根癌农杆菌终止子基因片段[J]. 分析化学, 2008, (8): 1113-1116.
XU K, YE ZZ, YING YB. Electrochemical deoxyribonucleic acid biosensor for quantitative detection of NOS gene sequence [J]. Chin J Anal Chem, 2008, (8): 1113-1116.
- [65] 张玉昆. 基于 SPR 和电化学的转基因检测 DNA 传感器研究[D]. 长春: 长春理工大学, 2020.
ZHANG YK. Study on DNA biosensor for detection of genetically modified organisms based on SPR and electrochemistry [D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2020.
- [66] MAHGOUB SE, NOLLET LM. Testing and analysis of GMO-containing foods and feed [M]. Boca Raton: CRC Press, 2019.
- [67] KAMLE S, LI D, OJHA A, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of GM proteins in transgenic crops/produce [J]. Method Mol Biol, 2019, 1902: 159-166.
- [68] GOMEZ-MORTE T, AYALA-HERNÁNDEZ M, YÁNEZ-GASCÓN M, *et al.* Immunoassay for food quality evaluation [M]. Sawston, Cambridge: Woodhead Publishing, 2019.
- [69] 兰金苹, 武鹏程, 郭美岑, 等. NPTII 蛋白质在转基因水稻中的表达特征研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 2015, 42(3): 268-276.
LAN JP, WU PC, GUO MC, *et al.* Expression characteristics of NPTII protein in genetically modified rice [J]. Prog Biochem Biophys, 2015, 42(3): 268-276.
- [70] 张彤. 水稻 OsPR10A 蛋白质的表达特征及其在早胁迫应答中的功能研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2019.
ZHANG T. Expression characterization of rice OsPR10A protein and its functional investigation in the response to drought stress [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2019.
- [71] 柴帅杰, 武鹏程, 荣瑞娟, 等. 转基因水稻中 CP4-EPSPS 蛋白质的检测及其表达特征研究[J]. 核农学报, 2017, 31(1): 44-50.
CAI SJ, WU PC, RONG RJ, *et al.* Detection and expression characteristics of CP4-EPSPS protein in transgenic rice [J]. J Nucl Agric Sci, 2017, 31(1): 44-50.
- [72] 郭亚璐, 马晓飞, 史佳楠, 等. 转基因水稻中 CAS9 蛋白质的免疫印迹检测[J]. 中国农业科学, 2017, 50(19): 3631-3639.
GUO YL, MA XF, SHI JN, *et al.* Western blot detection of CAS9 protein in transgenic rice [J]. Sci Agric Sin, 2017, 50(19): 3631-3639.
- [73] 杨烁, 郝俊杰, 兰金苹, 等. 转基因水稻中 HPT 蛋白质的检测及表达特征研究[J]. 中国生物工程杂志, 2015, 35(6): 61-67.
YANG S, HAO YJ, LAN JP, *et al.* HPT protein detection and expression pattern in transgenic rice [J]. China Biotechnol, 2015, 35(6): 61-67.
- [74] 史艳艳. 酶联免疫吸附技术在饲料及食品安全检测中的应用[J]. 中国畜禽种业, 2021, 17(4): 95-96.
SHI YY. Application of enzyme-linked immunosorbent assay in feed and food safety detection [J]. Chin Livest Poul Breed, 2021, 17(4): 95-96.
- [75] 候吉超, 李忠鹏, 梁雨欣, 等. CP4-EPSPS 蛋白抗原表位鉴定及其快速 DAS-ELISA 检测方法的建立[J]. 农业生物技术学报, 2021, 29(1): 159-168.
HOU JC, LI ZP, LIANG YX, *et al.* Mapping of antigenic epitopes on CP4-EPSPS protein and detection method establishment of rapid DAS-ELISA [J]. J Agric Biotechnol, 2021, 29(1): 159-168.
- [76] 徐镇. 酶联免疫吸附技术在食品检测领域中的应用进展[J]. 食品安全导刊, 2017, (27): 122.
XU Z. Progress in the application of enzyme-linked immunosorbent in food detection [J]. China Food Saf Mag, 2017, (27): 122.
- [77] 刘志浩. 转基因玉米中膦丝菌素乙酰转移酶(PAT)双抗体夹心 ELISA 检测方法的建立[D]. 济南: 山东农业大学, 2013.
LIU ZH. Detection of genetically modified maize by monoclonal antibodies based sandwich ELISA targeting the PAT protein [D]. Jinan: Shandong Agricultural University, 2013.
- [78] WU L, LI G, XU X, *et al.* Application of nano-ELISA in food analysis: Recent advances and challenges [J]. TrAC Trends Anal Chem, 2019, 113: 140-156.
- [79] 闫灵芝. 免疫层析试纸条信号放大技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 34-44.
YAN LZ. Research progress of signal amplification strategies in immunochromatographic test strip [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(11): 34-44.
- [80] 夏启玉, 李美英, 杨小亮, 等. 免疫层析试纸条技术及其在转基因检测中的应用[J]. 中国生物工程杂志, 2017, 37(2): 101-110.
XIA QY, LI MY, YANG XL, *et al.* Immunochromatography test strip and its applications in detection of genetically modified organisms [J]. China Biotechnol, 2017, 37(2): 101-110.
- [81] 李敬敏. 兽药及非法添加物免疫层析检测试纸条的研制[D]. 天津: 天津科技大学, 2017.
LI JM. Development of the colloidal gold immunochromatographic rapid test strip for the determination of veterinary drug and illegal additions [D]. Tianjin: Tianjin Science and Technology University, 2017.
- [82] 李怀明, 许恒毅, 熊勇华. 免疫层析试纸条技术及其在食源性致病菌检测中应用的研究进展[J]. 食品科学, 2011, 32(17): 380-383.
LI HM, XU HY, XIONG YH. Research progress on the application of immunochromatographic test strip technology in foodborne pathogen detection [J]. Food Sci, 2011, 32(17): 380-383.
- [83] 陈诗胜, 张正荣, 任建鸾, 等. 奶牛乳房炎四种致病菌 PCR 核酸免疫层析试纸条快速检测方法的建立及应用[J]. 中国兽医学, 2020, 50(3): 283-293.

- CHEN SS, ZHANG ZR, REN JL, *et al.* Establishment and application of PCR nucleic acid immunochromatographic strip for rapid detection of four pathogenic bacteria in dairy cow mastitis [J]. *Chin Vet Sci*, 2020, 50(3): 283–293.
- [84] 朱亮亮, 王琳琛, 王兆芹, 等. 检测 4 种有机磷农药胶体金免疫层析试纸条的研制[J]. *山东畜牧兽医*, 2019, 40(8): 10–12.
- ZHU LL, WANG LC, WANG ZQ, *et al.* Preparation of colloidal gold immunochromatographic strips for the detection of four organophosphorus pesticides [J]. *Shandong J Anim Sci Vet Med*, 2019, 40(8): 10–12.
- [85] MA BL, SUBEDI K, EVENSON L, *et al.* Evaluation of detection methods for genetically modified traits in genotypes resistant to European corn borer and herbicides [J]. *J Environ Sci Heal B*, 2005, 40(4): 633–644.
- [86] BULCKE M, SCHRIJVER A, BERNARDI D, *et al.* Detection of genetically modified plant products by protein strip testing: an evaluation of real-life samples [J]. *Eur Food Res Technol*, 2007, 225(1): 49–57.
- [87] 胡娟. 可视化蛋白质芯片快速检测 CGMMV 的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- HU J. Study on detection of CGMMV by antibody macroarray [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2014.
- [88] 周树敏. 助力肿瘤生物学标志物发现的蛋白质芯片技术[J]. *张江科技评论*, 2020, 21(4): 13.
- ZHOU SM. Protein chip technology to facilitate tumor biomarker discovery [J]. *Zhangjiang Technol Rev*, 2020, 21(4): 13.
- [89] 孙平, 张逢春, 张影. 蛋白质芯片技术的研究及应用现状[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2009, 10(2): 115–120.
- SUN P, ZHANG FC, ZHANG Y. Protein microarray technology and application status [J]. *J Beihua Univ (Nat Sci)*, 2009, 10(2): 115–120.
- [90] 侯江淇, 郭蕾, 贺文彬, 等. 蛋白质芯片技术在中医药研究中的应用概况[J]. *中医杂志*, 2016, 57(19): 1702–1706.
- HOU JQ, GUO L, HE WB, *et al.* Application of protein chip technology in Chinese medicine research [J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, 57(19): 1702–1706.
- [91] 汪琳, 邢佑尚, 周琦, 等. 3 种转基因成分检测蛋白芯片的研制[J]. *植物检疫*, 2011, 25(3): 1–6.
- WANG L, XING YS, ZHOU Q, *et al.* Development of protein chip for detection three elements of GMO [J]. *Plant Quarant*, 2011, 25(3): 1–6.
- [92] 沙莎. 转基因成分高通量检测体系—微流体蛋白质芯片的构建[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- DU S. Development of a microfluidic protein microarray based high-throughput detection system for genetically modified organisms [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [93] HEGEMAN AD. Plant metabolomics-meeting the analytical challenges of comprehensive metabolite analysis [J]. *Brief Funct Genomics*, 2010, 9(2): 139–148.
- [94] 刘桂荣. 色谱技术研究进展及应用[J]. *山西化工*, 2006, (1): 22–26.
- LIU GR. Research progress and application of chromatography technology [J]. *Shanxi Chem Ind*, 2006, (1): 22–26.
- [95] 王激铄. 色谱技术在畜产品安全检测中的应用[J]. *农家参谋*, 2021, (18): 123–124.
- WANG WS. Application of chromatography in the safety detection of animal products [J]. *Farmers Consult*, 2021(18): 123–124.
- [96] 李洪波, 李永彬. 色谱技术在畜产品安全检测中的应用[J]. *现代牧业*, 2019, 3(2): 51–53.
- LI HB, LI YB. Application of chromatographic technology in safety detection of livestock products [J]. *Mod Anim Husband*, 2019, 3(2): 51–53.
- [97] 何龙凉, 陈延伟, 李小琴, 等. GC-MS 法同时测定抗草甘膦转基因大豆中多种除草剂的残留量[J]. *大众科技*, 2019, 21(12): 17–19.
- HE LL, CHEN YW, LI XQ, *et al.* Simultaneous determination of herbicide residues in glyphosate resistant transgenic soybeans by GC-MS [J]. *Pop Sci Technol*, 2019, 21(12): 17–19.
- [98] 杨才琼, 吴海军, 张潇文, 等. LC-MS 测定黑豆中异黄酮和花色苷的含量[J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(5): 817–822.
- YANG CQ, WU HJ, ZHANG XW, *et al.* Determination of isoflavone and anthocyanin in black soybean seed (*Glycine max*) by LC-MS [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2018, 30(5): 817–822.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



罗建兴, 推广农艺师, 主要研究方向为转基因成分检测及农业种植技术推广。
E-mail: ljxylyh@126.com



郭梁, 博士, 研究员, 主要研究方向为动物源性成分检测和转基因成分检测以及微生物资源开发。
E-mail: herdman86@163.com