

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

ارزیابی و مدیریت ریسک رهاسازی محصولات تغییر شکل یافته ژنتیکی

دکتر محمد علی ملبوبی
پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری
شهریور ۱۳۹۷

سر فصل ها:

- مبانی فکری موضوع
- مرور قوانین
- جزییات تکنیکی
- ارزیابی مخاطرات و مدیریت آنها
- اطلاع رسانی مخاطرات

تنوع زیستی

سلسله	تعداد گونه شناخته شده	تخمین تعداد کل
Bacteria	4000	1,000,000
Protocitista	8000	600,000
Fungi	72,000	1,500,000
Plantae	270,000	320,000
Animal	1,618,876	11,225,000
(Birds, Mamals, insects,...)		
Total	1,750,000	14,000,000

اهمیت تنوع زیستی

- تنوع زیستی نقش اصلی در حفظ تعادل چرخه های زیست - شیمی کره زمین را دارد.
- تنوع زیستی فراهم آورنده انواع غذا، دارو و مواد اولیه برای انسان است.

**نتیجه: حفظ محیط زیست و تنوع زیستی،
مواد زیستی بیشتر**

تهدیدات در تنوع زیستی جهانی

(براساس نظر کنوانسیون تنوع زیستی یا CBD)

- انقراض موجودات (۲/۵ گونه در روز)
- جابجایی گونه های بیگانه (مثال خرگوش یا تبدیل مراتع به زمین کشاورزی و ...)
- تغییرات آب و هوایی (سیل، خشکی، طوفان و ...)
- فناوری های نو

انقلاب سبز در دهه ۱۹۵۰:

- بکارگیری کودهای شیمیایی
• (رشد بیشتر اما آلودگی محیط زیست)
- بکارگیری کودهای سموم شیمیایی
• (خسارت کمتر آفات اما آلودگی محیط زیست)
- بکارگیری ارقام پرمحصول
• (محصول بیشتر اما یکنواختی ژنتیکی)
- مکانیزه کردن کشاورزی
• (گسترش مزارع اما کاهش تنوع زیستی و تخریب جنگلها و مراتع)

7000 گونه کشت می‌شوند ولی 30 گونه
فراهم آورنده 90٪ غذای انسان است.

بیوتکنولوژی

استفاده از موجودات زنده و اجزای آنها در ابزارها و فرآیندها
برای تولید محصول و ارائه خدمات

• مهندسی ژنتیک: دست ورزی ژن ها - انتقال ژنها

بیوتکنولوژی گیاهی:

- مهندسی ژنتیک گیاهی
- استفاده از نشانگرهای مولکولی
- کشت بافت
- استفاده از میکروب های مفید برای مبارزه زیستی و یا به عنوان کود زیستی

تنها مهندسی ژنتیک مورد بحث است

Is GE inherently unsafe?

- Two diametrically opposite trends of thought
- US-Canada
 - No new risks associated with GM crops
 - New regulations not considered necessary
 - Safety assessments
 - ‘Product’ rather than ‘process’ based
 - In comparison and contrast to their ‘familiarity’ and ‘substantial’ equivalence to conventional crops

...Is GE inherently unsafe?

- EU
 - GE crops considered new and special
 - Existing legislation not considered sufficient
- Safety assessment
 - Process based
 - Principle of ‘substantial equivalence’ is beginning rather than the end
- Adoption of ‘Precautionary Principle’ as guide

- هر کشوری استقلال در تصمیم گیری با استفاده از مبانی علمی و منافع ملی دارد.
- تعریف ایمنی زیستی در ایران:

مجموعه ای از تدابیر؛ سیاست ها، مقررات و روش هایی برای تضمین بهره برداری از فواید زیست فناوری نوین و پیشگیری از آثار سوء احتمالی کاربرد این فناوری بر محیط زیست، تنوع زیستی و سلامت انسان، دام و گیاه

تصویب قانون ملی ایمنی زیستی

- مشتمل بر ۱۱ ماده و هفت تبصره
- مصوب شورای اسلامی در تاریخ ۸۸/۵/۷
- تایید شورای نگهبان در تاریخ ۸۸/۵/۲۱

شمول قانون ایمنی زیستی جمهوری اسلامی ایران

ماده ۲ این قانون "کلیه امور مربوط به تولید، رهاسازی، نقل و انتقال داخلی و فرامرزی، صادرات، واردات، عرضه، خرید، فروش، مصرف و استفاده از موجودات زنده تغییر شکل یافته ژنتیکی"

این ماده تراریختی را با رعایت مفاد این قانون "**مجاز**" اعلام می‌کند بلکه فراتر از آن دولت را "**مکلف**" به فراهم آوردن تمهیدات لازم برای انجام این امور می‌کند.

مستثنی شدن پژوهش از اخذ هر نوع مجوز:

- تعاریف

آزمایش میدانی: بررسی صرفاً علمی صفات مختلف موجود زنده تغییر شکل یافته در شرایط محصور و بدون امکان رهاسازی می باشد.

- بند ج ماده ۵ قانون

«کلیه اشخاص حقیقی و حقوقی که بعد از انجام آزمایشات میدانی، قصد رهاسازی موجودات زنده تغییر شکل یافته ژنتیکی در محدوده های مسئولیتی فوق الذکر را دارند، ضمن تهیه شناسنامه موجود زنده مزبور و رعایت مفاد بند (ج) ماده (۴) این قانون، موظف به اخذ مجوز از دستگاههای یاد شده می باشند.»

- بر اساس این ماده می توان نتیجه گیری کرد که آزمایشات میدانی نیز نیازمند به کسب مجوز نیستند.

سایر مبانی قانون ایمنی زیستی ایران

- اصرار بر مستندات علمی و اثبات **این همانی** به جای اصرار بر اصل پیش احتیاطی
- حذف فراورده های حاصل از موجودات تراریخت از شمول قانون

What is a Living Modified Organism (LMO)?

- Living Modified Organism (LMO) is defined in the Cartagena Protocol on Biosafety as “any living organism that possesses a novel combination of genetic material obtained through the use of modern biotechnology”.

LMO vs. GMO

LMOs, Living modified organisms or

موجودات زنده تغییر ژنتیک یافته یا تراریخت .

GMO, Processed products containing dead modified organisms or **non-living** components including:

- food and food additives; many processed, canned, and preserved foods like corn and soybean derivatives used in many foods
- non-foods like cotton, cornstarch used for cardboard and adhesives, fuel ethanol for gasoline,
- vitamins,
- vaccines
- pharmaceuticals, and
- yeast-based foods such as beer and bread.

۳ نوع کاربرد موجودات زنده تغییر ژنتیک یافته

- استفاده محصور مانند کشت برای تولید داروی نو ترکیب (وزارت بهداشت)

LMOs for contained use (*e.g. recombinant drugs*)

- خوراک انسان و دام یا استخراج و عصاره گیری مانند قند و روغن (FFP) (وزارت بهداشت و جهاد کشاورزی)

LMOs intended for direct use as food, feed or processing

(*e.g. genetically modified fruits for human consumption*)

- رهاسازی به منظور کشت و زرع (وزارت جهاد کشاورزی)

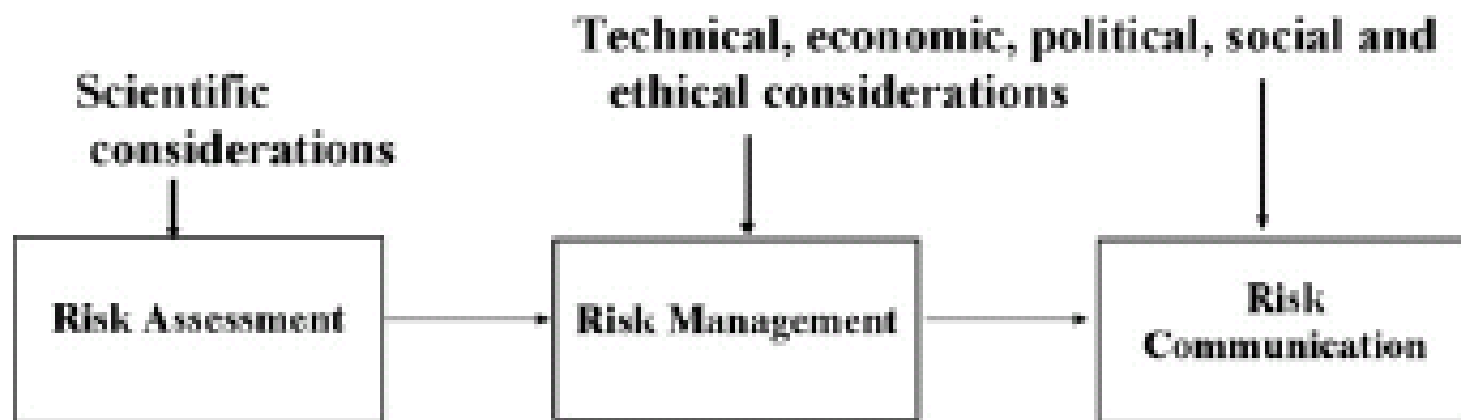
LMOs for intentional introduction into the environment (*e.g. seed*)

چه کسی مسئول است؟

در آمریکا:

- وزارت کشاورزی (USDA APHIS): سرویس بازرسی گیاه و جانور مسئول اجرای مقررات آزمایش مزرعه واردات و صادرات مواد بین ایالت ها.
- اداره غذا و دارو (FDA): مسئول ارزیابی GMOها برای تجارت به عنوان غذای دام یا انسان.
- اداره محیط زیست (EPA): مسئول آزمایش و مطالعه اثرات گیاهان زراعی بویژه از نظر کنترل حشرات.

وضعیت مشابهی در قانون ایمنی زیستی ایران



Risk Assessment & management

From beginning

نکات مهم

ارزیابی مخاطرات مورد به مورد است.

ارزیابی مخاطرات توسط پژوهشگر به انجام می رسد.

مستندات ارزیابی مخاطرات توسط مجوز دهنده بررسی می شود.

ارزیابی و مدیریت مخاطرات از همان آغاز پژوهش شروع می شود.

کدام ژن؟

کدام پروموتور؟

کدام ژن انتخابگر

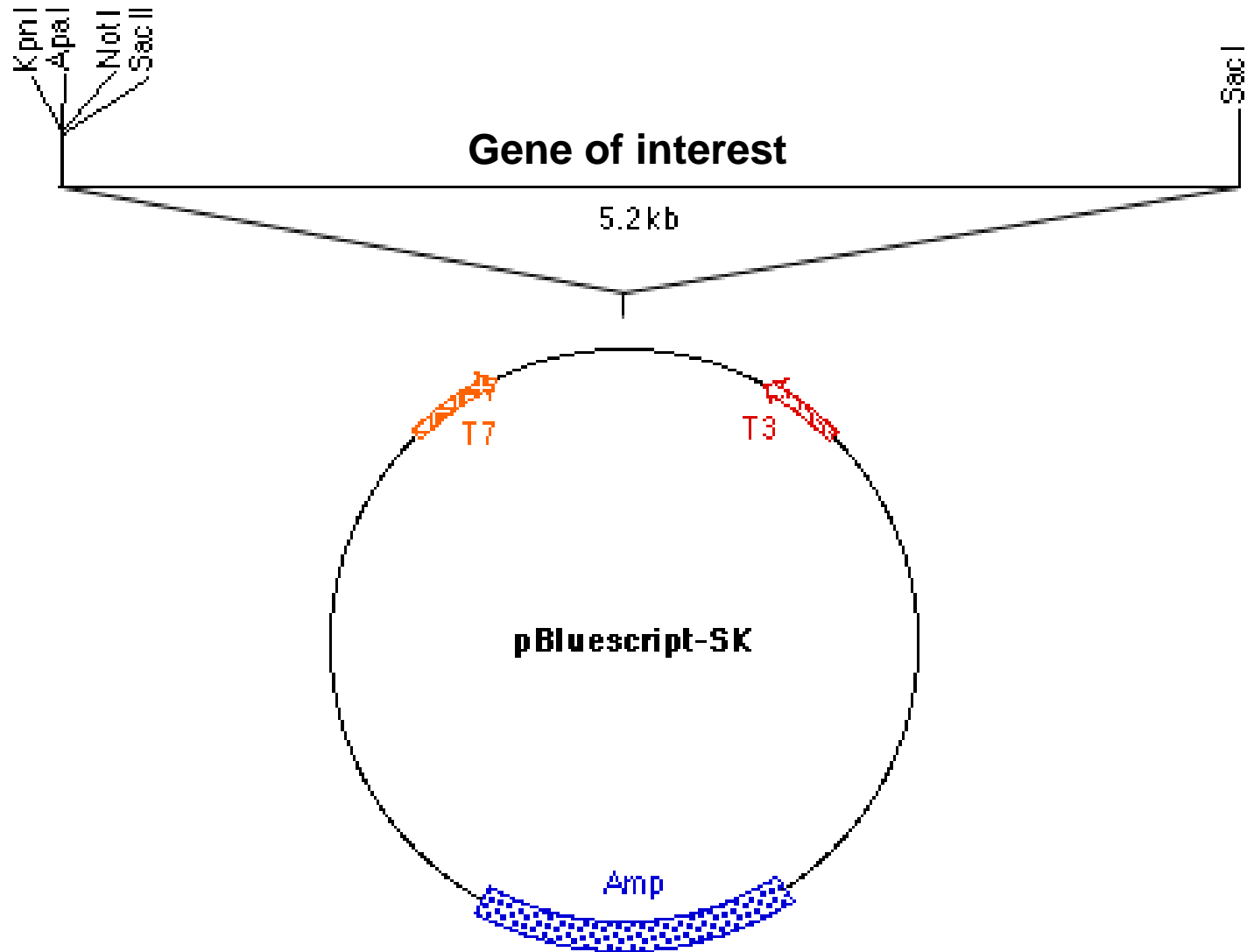
کدام ناقل؟

کدام سازه؟

کدام روش انتقال ژن؟

.....

Molecular Cloning



برخی صفات گیاهان ترانس ژن معرفی شده به بازار

Bromoxynil herbicide tolerance
Coleopteran insect resistance (Colorado potato beetle)
Cucumber mosaic virus (CMV) resistance
Fruit ripening altered
Fungal (Ustilago maydis) resistance
Glyphosate herbicide tolerance
Higher amylopectin starch content
Imidazolinone herbicide tolerance
Increased vase life
Lepidopteran insect resistance (European corn borer)

برخی ژنهای مقاومت به آنتی بیوتیک ها یا علف کش

aadA (streptomycin adenylyltransferase (3''(9)-O-nucleotidyltransferase) from transposon Tn7 - E. coli

acc (1-aminocyclopropane 1-carboxylate synthase gene) from Lycopersicon esculentum

acc (1-aminocyclopropane 1-carboxylate synthase gene) from Dianthus caryophyllus

acc deaminase from Pseudomonas

als (surB)- (acetolactate synthase) from Arabidopsis thaliana

als (surB)- (acetolactate synthase) from Nicotiana tabacum

aminoglycoside phosphotransferase type III (npt III) from Streptococcus faecalis

aroA (3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyl transferase, EPSP synthase) from Agrobacterium tumefaciens, CP4 strain

bar (pat) - (phosphinothricin acetyl transferase gene) from Streptomyces viridochromogenes

bar (phosphinothricin acetyl transferase gene) from Streptomyces hygrosopicus

استفاده از پروموتورهای بیان دائم یا بیان در مرحله یا مکان اختصاصی

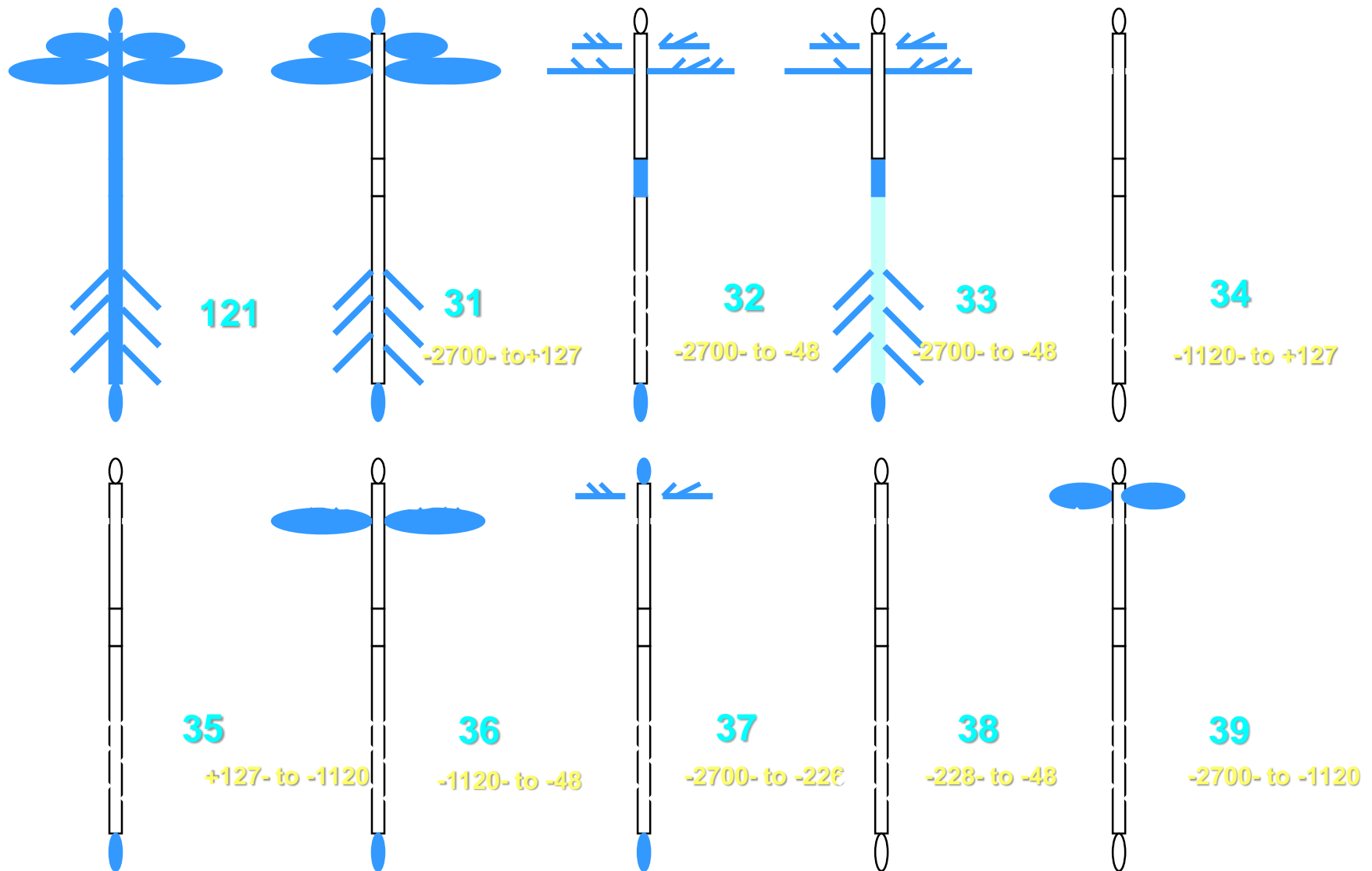
CaMV 35S: پروموتر رایج در بیشتر گیاهان دولپه‌ای از جمله چغندر قند (Odell et al., 1985)



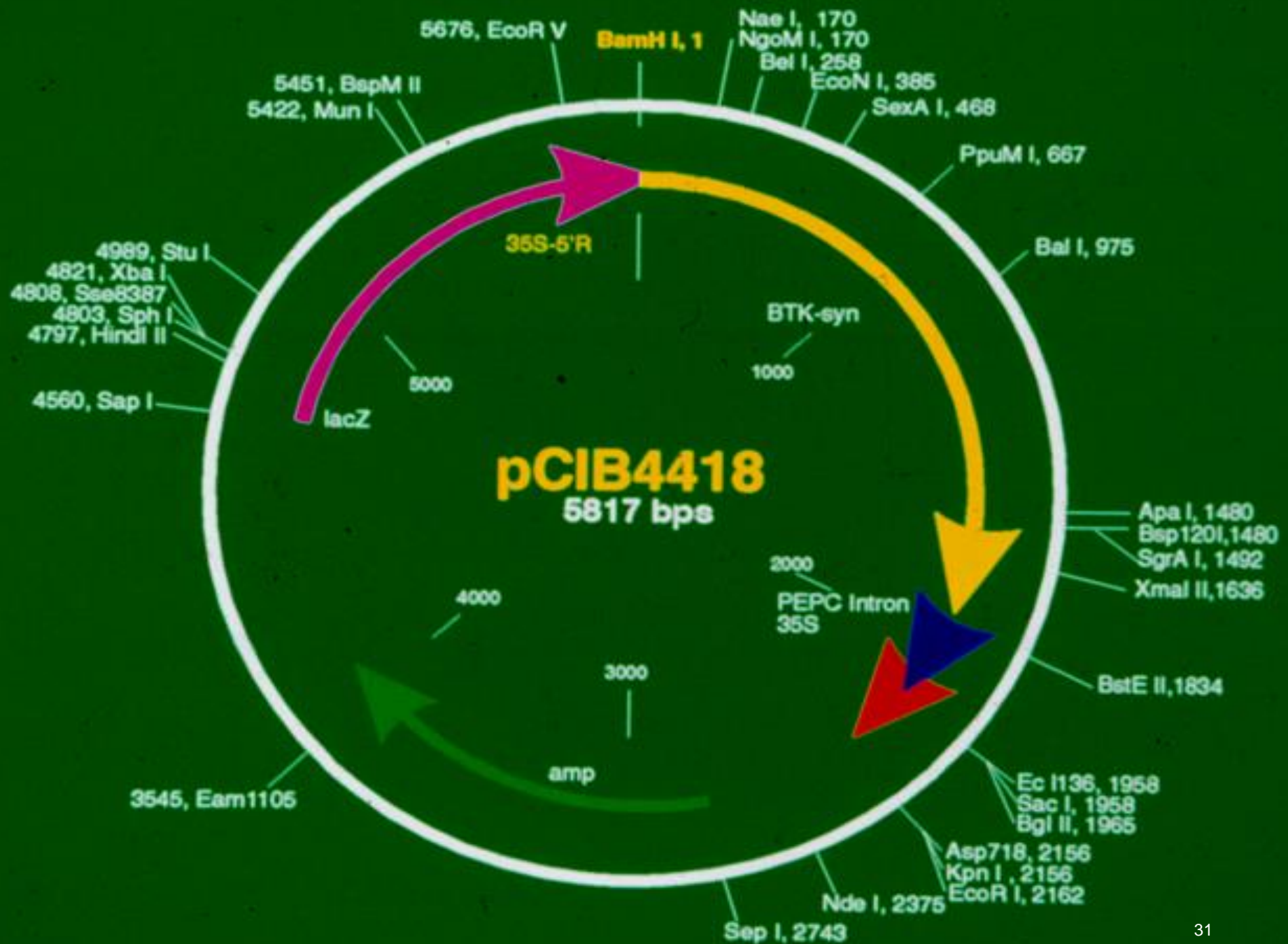
بیان دائمی قوی

MI: پروموتر اختصاصی ریشه چغندر قند (EMBL/GenBank, AX449164)

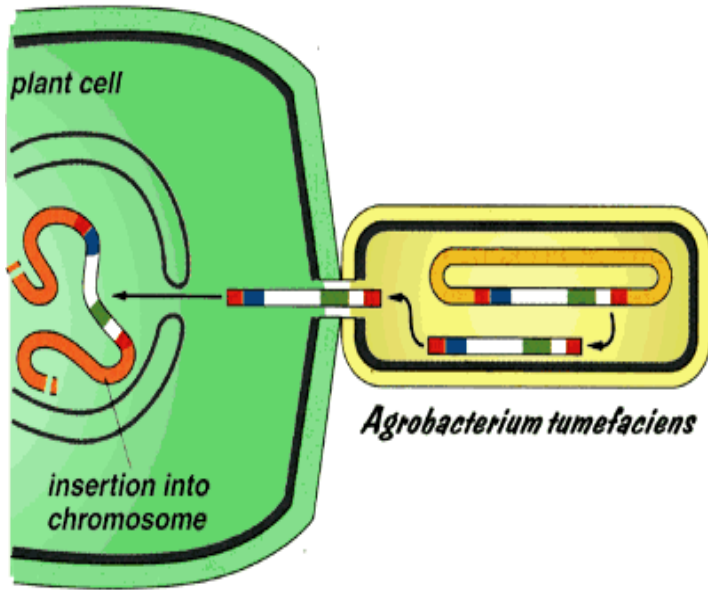
- فعالیت بسیار اختصاصی اندام طی مراحل نموی چغندر قند
- دارای قوی‌ترین بیان در این بافت نسبت به سایر پروموتورهای اختصاصی ریشه شناخته شده چغندر قند



Expression pattern of promoter activity in 14 days old transgenic Tobacco plants.



روش های انتقال ژن به گیاهان



۱- روشهای غیر مستقیم

الف: استفاده از باکتری *Agrobacterium*

ب: استفاده از برخی ویروسها نظیر *TMV*

۲- روشهای مستقیم

الف: استفاده از الکتروپوریشن

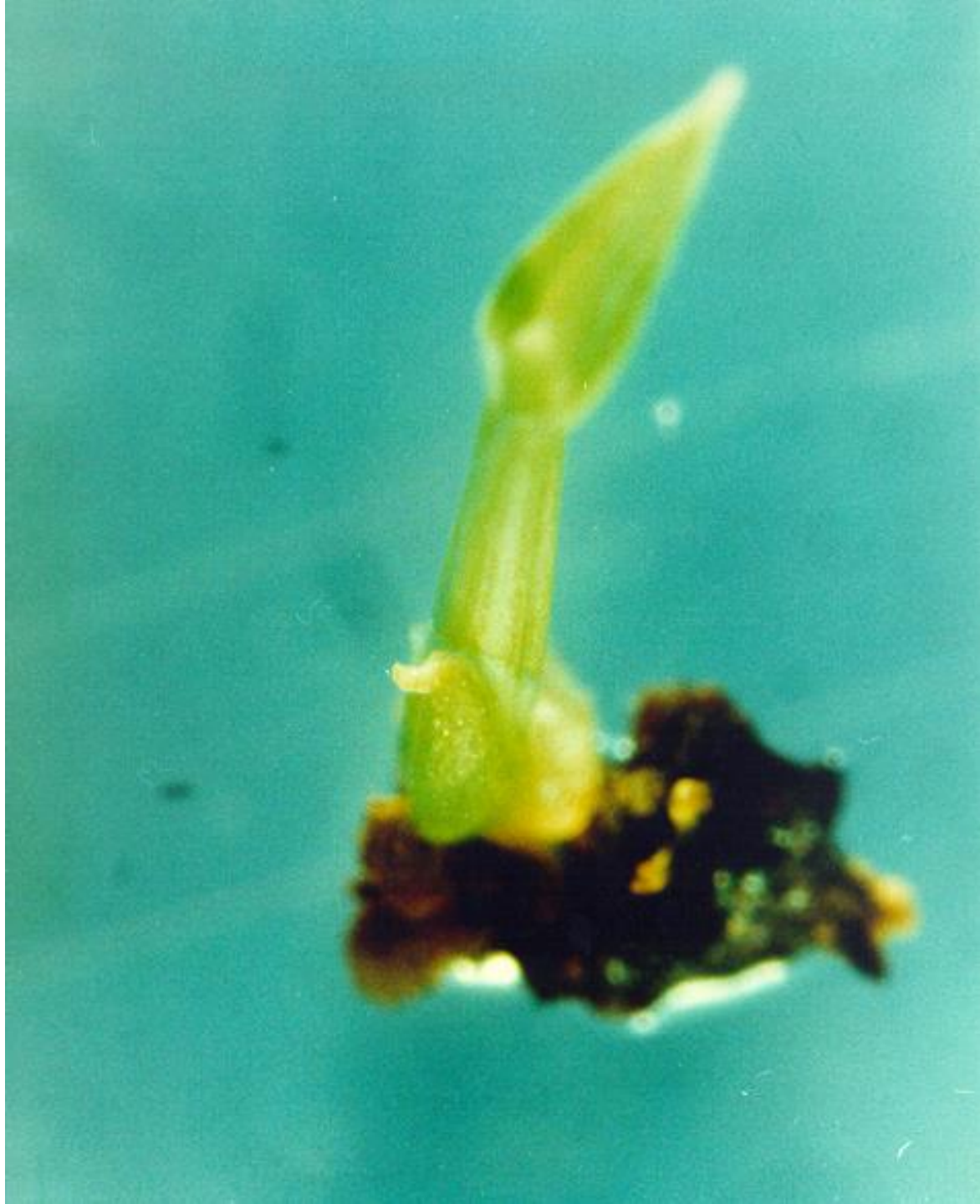
ب: استفاده از میکرو ایجکشن

ج: استفاده از بمباران ذره ای با تفنگ ژنی

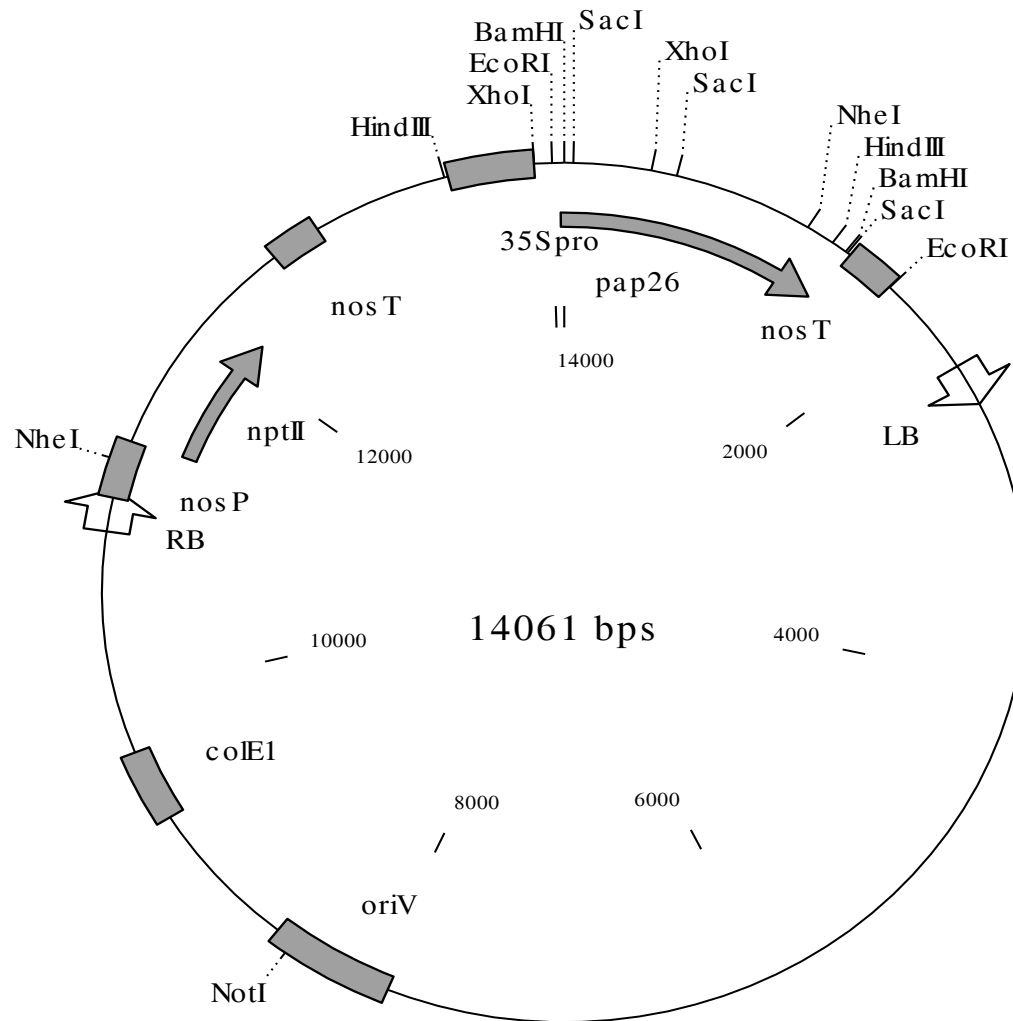


Gene Gun





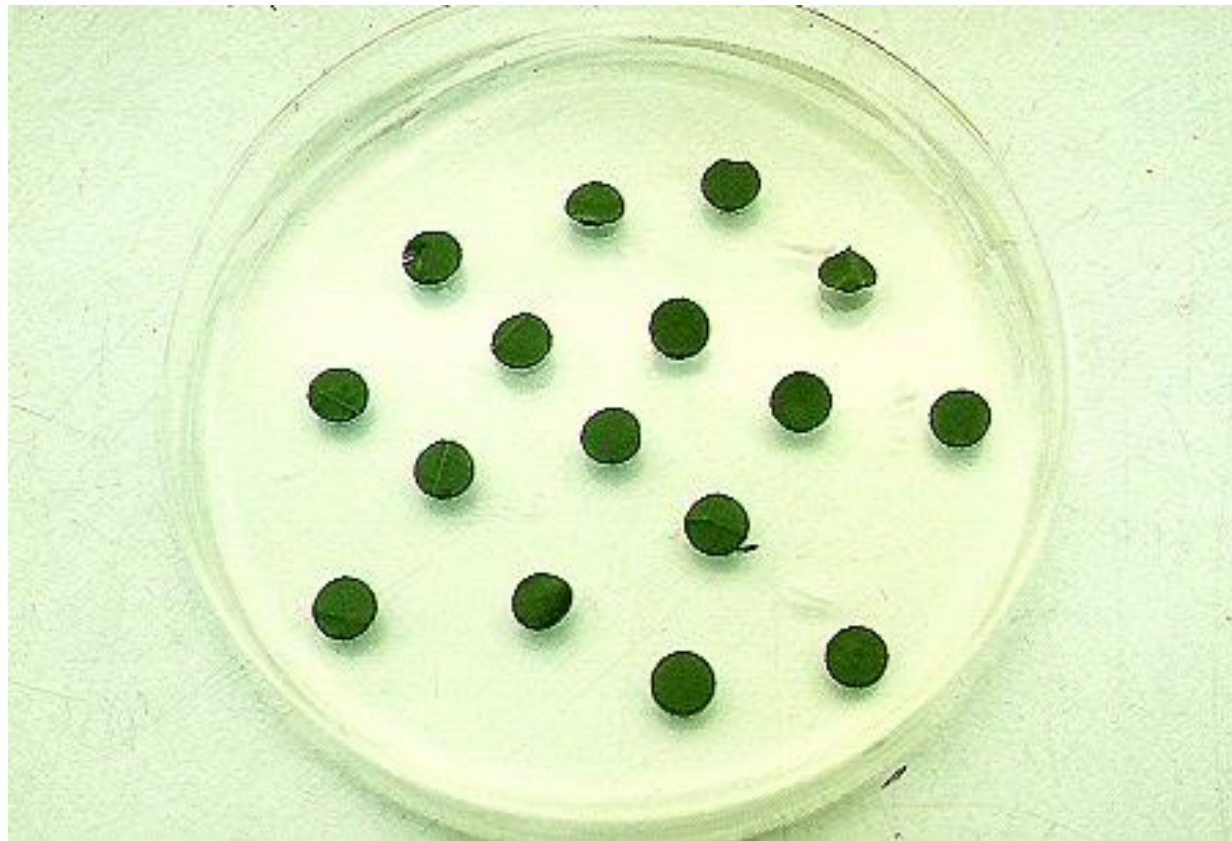
استفاده از *Agrobacterium*



Leaf sterilization and punching



Leaf disks infection and culture in shoot induction medium



Leaf disks transfer to selection medium with Antibiotic





Regenerated tobacco transgenic plants carrying different regions of *psr3* promoter::*gus* gene fusions.

مهندسی ژنتیک پنبه برای ایجاد مقاومت به آفات

شاهد

تراریخته



استفاده از توالی های P-DNA برای کاهش توالی های باکتریایی

- وجود توالی های شبه مرزهای T-DNA در ژنوم گیاهان (Rommens et al., 2004)

```
TGGCAGGATATATTGTGGTGTAAC
||| ||||| ||||| ||| |
TGGTAGGATACATTCTGATGTAGATATGGCAGATATTGTGGT
AGATCAGGATGGAAG//1,029 bp//TCAACGACGATGCTT
GGATGCATATCTGCATTACGAAAGCCAACAACCTTAAGAAAGA
TCATGACTATGGCATTGTGACAGGATATATCGTGATGTCAAC
|| ||||| ||||| ||| |||
TGGCAGGATATATTGTGGTGTAAC
```

– آرابیدوپسیس (GenBank, NM114337)

```
GTTTACACCACAATATATCCTGCCA
||| | | | ||||| |||||
GTTTCATATCGATATATATCCTGACAAAGTCAGTCCAATGGAT
ATATAAATCTAGCCT//2,429-bp//GGGCTGCTTGTGAAA
TTTCACAAGCAGCCCCGTCTGTGGCTGAGGCTAGATTTATAT
ATCCACTGGACTGACTTTGTCAGGATATATATCGATATGAAC
|| ||||| ||||| | | | |||
TGGCAGGATATATTGTGGTGTAAC
```

– برنج (GenBank, AC097279)

```
TGGCAGGATATATTGTGGTGTAAC
||||| ||||| ||||| |||
TGGCAGGATATATACCGGTGTAACGAAGTGTGTGTGGTTGA
TCCAAAATCTATCGTACCTTTAGAAAGTGTAGCTATGAAGGA
TAGTCTCACTTATGAAGAACTACCTATTGAGATTCTTGATCG
TCAGGTCCGAAGGTTGAGAAAAATAGAAGTCGCTTCAGTTAC
GGCTTTTGTGGAGGAGTAAGGAATTCGAGCTCGGTACCTACTC
TAGAATCGAGCTCATCTGCAGTTATGCTATAAATTTTCATATA
TTTAGTTGGGAGTAGGCTTTATACCGAGTTGGACTACGGTCA
GTCACTTTCAAGTCCTAGAACTACGTGCCCCCTGTAGGTTATA
AGTCTCCTCTGTGGGCATCAATTTAGTGATCATGCCAGTCAT
GCCTCTATACCTCTGACAGGATATATGGTACTGTAAAC
|| ||||| ||||| ||| |||||
TGGCAGGATATATTGTGGTGTAAC
```

– سیب زمینی (GenBank, AY566555)

• P-DNA فاقد ORF و دارای محتوای A/T بالا

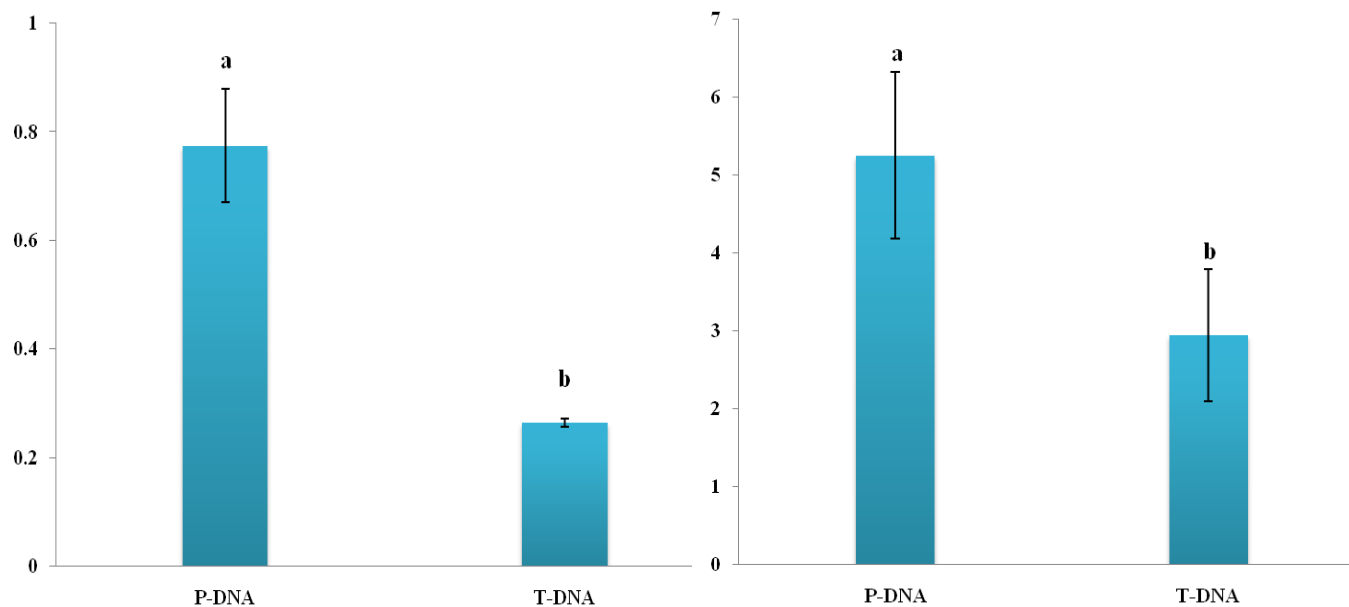
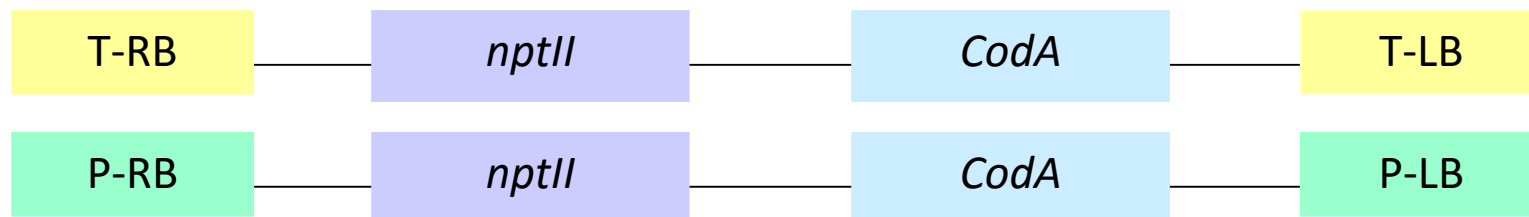


توانایی آغاز فرآیند انتقال DNA (Depicker et al, 2001)

42

• بالاتر بودن فراوانی تراسیختی P-DNA از T-DNA موجود در pBI121 در گیاهانی مانند توتون و سیب زمینی (Rommens et al., 2004) و چغندر قند (زارع و ملبوبی، منتشر نشده)

طراحی سازه هایی برای کارآمدی تراریختی توسط P-DNA در مقایسه با T-DNA



استفاده از سیستم انتخاب منفی علیه انتقال بدنه حامل باکتریایی

- انتقال بخشی از بدنه حامل باکتریایی همراه با T-DNA

عدم پخش صحیح مرز چپ

فعالیت‌های شبه مرز راستی در مرزهای چپ

44

- تشخیص توالی‌های بدنه حامل در ۷۵ درصد گیاهان توتون تراریخته

(Kononov et al., 1997)

- تشخیص کل بدنه حامل در ژنوم گیاه

(De Buck et al., 2000)

- تشخیص توالی‌های بدنه حامل در ۷۲ درصد گیاهان سیب زمینی تراریخته

(Rommens et al., 2004)

• ادغام ژن نشانگر قابل انتخاب منفی *ipt* (GenBank: AF242881.1)

در بخش بدنه مجاور مرز چپ T-DNA



• انتخاب منفی روی محیط حاوی ۵-فلوئوروسیتوزین

• فنوتیپ گیاه دارای توالی بدنه حامل

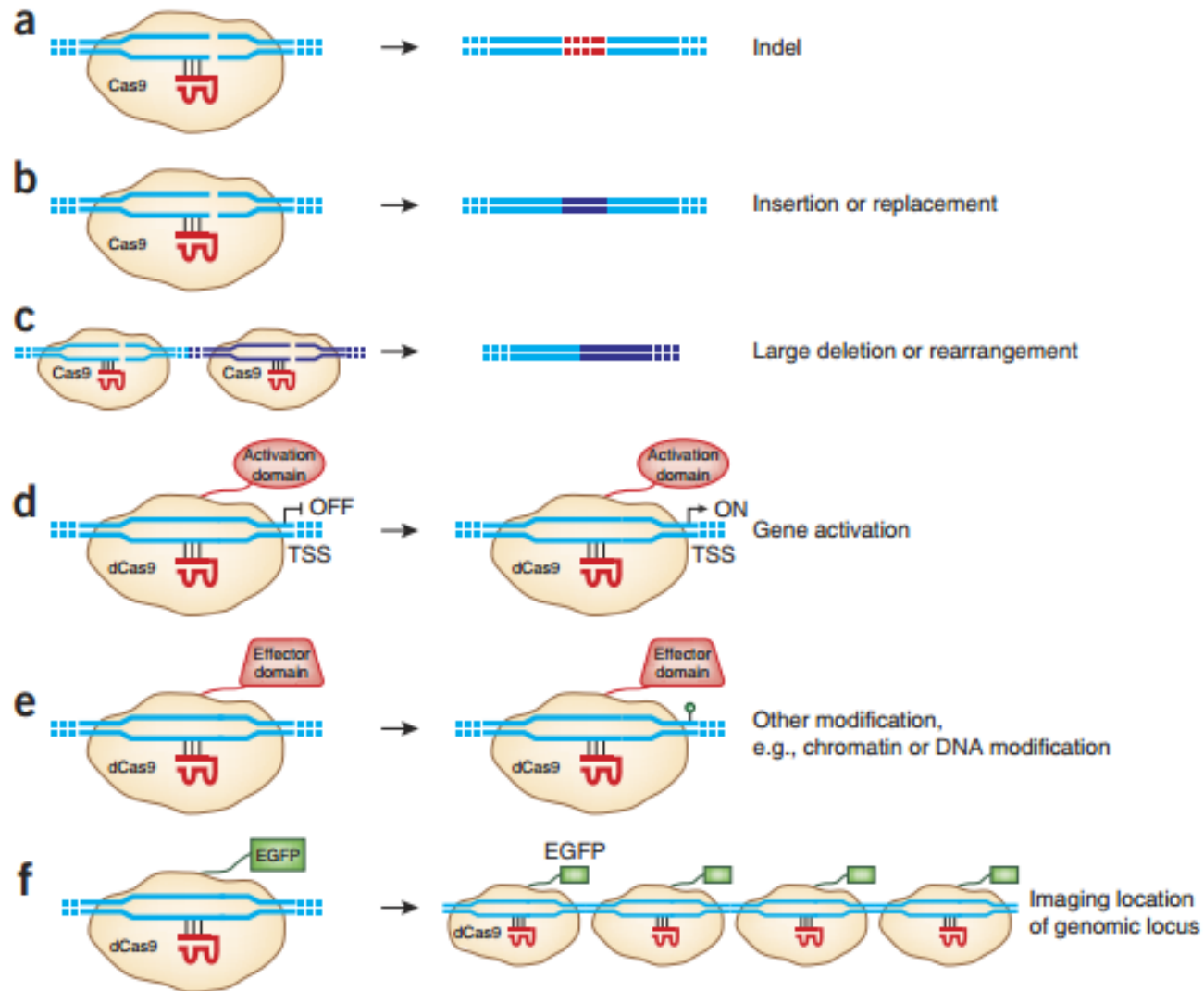
- کوتولگی

- برگ‌های کوچک

- رنگ سبز روشن مایل به زرد

- ناتوانی در ریشه‌زایی به محض انتقال به محیط فاقد هورمون

Crispr/cas9



Risk Assessment & management

For release

Risk Assessment

- Carry out in a scientific sound manner
- Conduct in accordance with a technical annex containing general principles and methodologies

۷ سال آزمایش گلخانه و مزرعه برای هر
رها سازی

بررسی‌های مربوط به معرفی گیاه



بررسی‌های مربوط به مخاطرات زراعی



آ بررسی‌های مربوط به مخاطرات زیست محیطی



بررسی‌های مربوط به مخاطرات بهداشتی و غذایی



بررسی‌های مولکولی

- توصیف جزء به جزء خصوصیات مولکولی
- منشأ ژن
- نوع سازه و وکتور
- محل ورود ژن
- تعداد نسخه تراژن
- احتمال شیمر بودن
- مکانیسم ایجاد صفت (مانند چگونگی مقاومت به ویروس)

بررسی های زراعی

- سابقه زراعت در ایران و جهان
- سابقه بیماری
- علائم بیماری
- میزان خسارت زایی بیماری
- بررسی شاخص های زراعی مربوط
-

آزمایش مزرعه‌ای گیاهان تراریخته



بررسی‌های بهداشتی و غذایی

- میزان بیان پروتئین و mRNA
- میزان حضور پروتئین و mRNA در محصول
- مطالعات سم‌شناسی حاد و مزمن قند حاصله
- مطالعات آلرژی‌زایی حاد و مزمن برای کشاورز در حین کشت گیاه
- مطالعات آلرژی‌زایی حاد و مزمن برای مصرف کننده
- کاربردهای قسمت های مختلف گیاهان تراریخت در زنجیره غذایی
- در صورت کاربرد: سم‌شناسی و ...
- مخاطرات مربوط به ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک منتقل شده به گیاه تراریخت

بررسی‌های زیست‌محیطی

- مبدأ گیاه و تنوع آن
- توزیع جغرافیایی گیاهان در ایران و کشورهای هم‌جوار
- خویشاوندان وحشی گیاه
- توزیع جغرافیایی خویشاوندان وحشی
- احتمال دگر کرده افشانی با خویشاوندان وحشی
- امکان فرار ژن
- امکان تثبیت فرار ژن در خویشاوندان وحشی
- فراوانی تثبیت فرار ژن در خویشاوندان وحشی
- اثرات سوء فرار ژن در خویشاوندان وحشی
- مزیت‌های گیاه تراریخت
- تاثیر بر موجودات هدف و غیر هدف

بررسی تجاری

• ثبت رقم (بر اساس قانون ثبت ارقام گیاهی و کنترل و گواهی بذر و نهال، مصوب ۱۳۸۲)

• وجوه تمایز این ارقام

• یکنواختی ژنتیکی و ظاهری

• میزان پایداری ژنتیکی و ظاهری

• سلامت بذر

• کشت در منطقه

• کشت در جهان

• گیاهان تراریخت مشابهی که مجوز گرفته‌اند

• ملاحظات اقتصادی

• مدل Cost-benefit

• ملاحظات اجتماعی

• ملاحظات سیاسی



Substantial equivalence

اثبات این همانی:
گیاه ترانسژن با گیاه عادی
فرقی نمی کند.

- ۷ سال آزمایش گلخانه و مزرعه برای هر رها سازی
- تولید هزاران گیاه تراریخت در سال
- فقط برخی رها سازی می شوند

Breeding programs

Transforming O-type line (pollinator, 2n)
& using in only in the 2nd cross

Trait	Male-Sterile (261)		Homozygote, O-type (231)
Cross 1	CMS/rrfftt	X	N/rrfftt
Progenies	All CMS/rrfftt		
Cross 2	CMS/rrfftt	X	N/rrffTT (Transgenic)
Progenies	All CMS/rrffTt		
Phenotypes	All Tolerant, Heterozygot & Sterile		

Risk management

After release

قوانین مربوط به برچسب گذاری مواد GM در دنیا

قوانین برچسب گذاری در سطح بین الملل
یکنواخت نمی باشد.

- برچسب گذاری در آمریکا اختیاری است
- حد مجاز برچسب گذاری در استرالیا ۱٪، ژاپن ۵٪ و کره ۳٪ می باشد
- اتحادیه اروپا حد مجاز ۱٪ را بکار میبرد ولی قرار است:
 - آن را به ۰/۵٪ کاهش دهد.
 - بجای محصول نهایی مواد مورد استفاده در فرایند تولید را آزمون نماید
 - استفاده از ژنهای آنتی بیوتیک به عنوان نشانگر را ممنوع نماید

مقررات برچسب گذاری در کشور

ماده ۷ قانون - بند ب - شرایط لازم از نظر بسته بندی و حمل و نقل و برچسب گذاری را رعایت نمایند. شرایط بسته بندی و برچسب گذاری و حمل و نقل داخلی و فرامرزی، توسط شورای ملی ایمنی زیستی ظرف شش ماه تهیه و پس از تایید رئیس جمهور ابلاغ می گردد.

ماده ۱۸ پروتکل کارتاها - تنها کسانی را که به تبادل فرامرزی (واردات، صادرات و ترانزیت) موجودات زنده تراریخته مبادرت می کنند را موظف به برچسب گذاری می کند تا بر روی محموله خود بنویسند **"این محموله ممکن است حاوی موجودات زنده تراریخته باشد"**.

آیین نامه - ...چنانچه محصولات، (اعم از وارداتی یا تولید داخلی) حاوی **زیر ۲ درصد** موجود زنده تغییر ژنتیکی یافته باشد، نیازی به برچسب گذاری ندارد. حد آستانه برای وجود موجودات تغییر ژنتیکی یافته بدون مجوز از کشور مبدأ و ثبت نشده در سایت BCH (دارای کد شناسایی خاص) و همچنین بدون مجوز از مراجع ذی صلاح ملی در محصولات غذایی **صفر** است.

چالش های موجود در راه تشخیص و آزمون GMOها

- ۱- تعداد گیاهان **GMO** بسیار زیاد بوده و روز به روز در حال گسترش است
- ۲- بسیار محتمل است که یک غذا شامل بیش از یک ترکیب **GMO** باشد.
- ۳- مواد غذایی فراوری شده تحت فرایندهای آماده سازی مختلفی قرار می گیرند که میتواند بر روی تشخیص **GMO** ها اثر گذارد.

دو روش تشخیص LMOs:

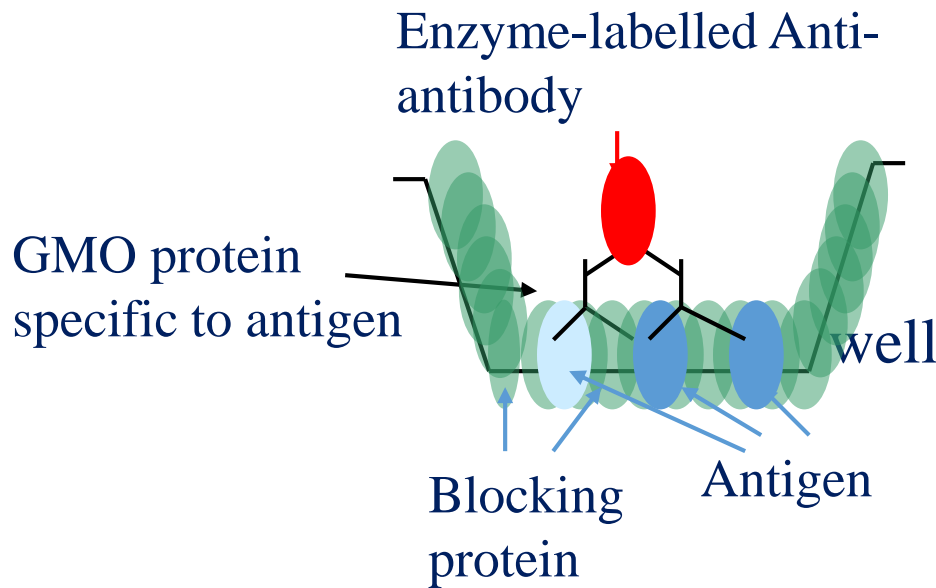
- جستجو برای پروتئین (الایزا)
- جستجو برای ژن : PCR (۱۰۰ برابر حساس تر از پروتئین)

شامل

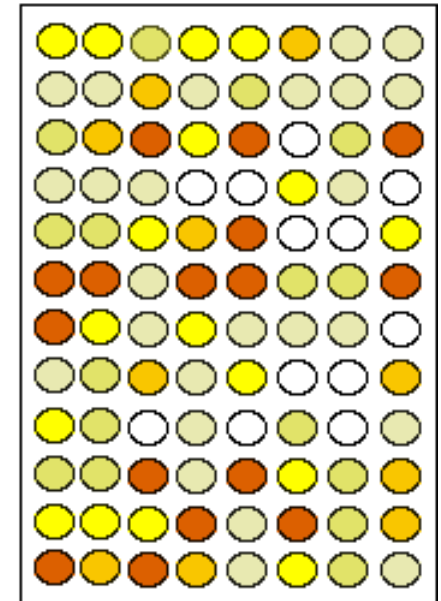
- نمونه برداری
- استخراج DNA
- انجام PCR کمی
- آنالیز نتایج
- تعیین درصد مواد LMO در محصول (تا ۱/۰ درصد)

روش های تشخیص بر اساس پروتئین

روش (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ELISA



Colour
Response
Concentration
Dependent



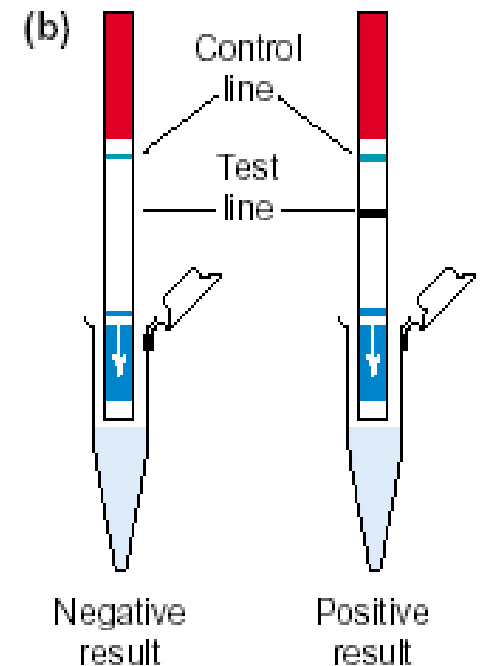
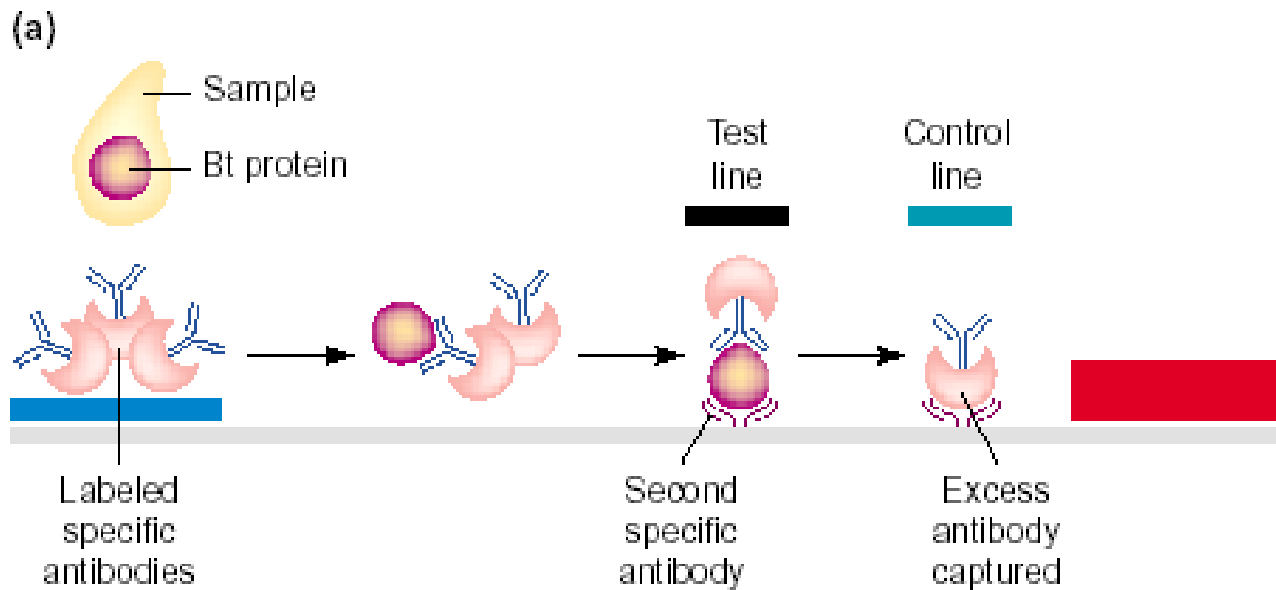
ELISA Plate

Antibody-coated Tube

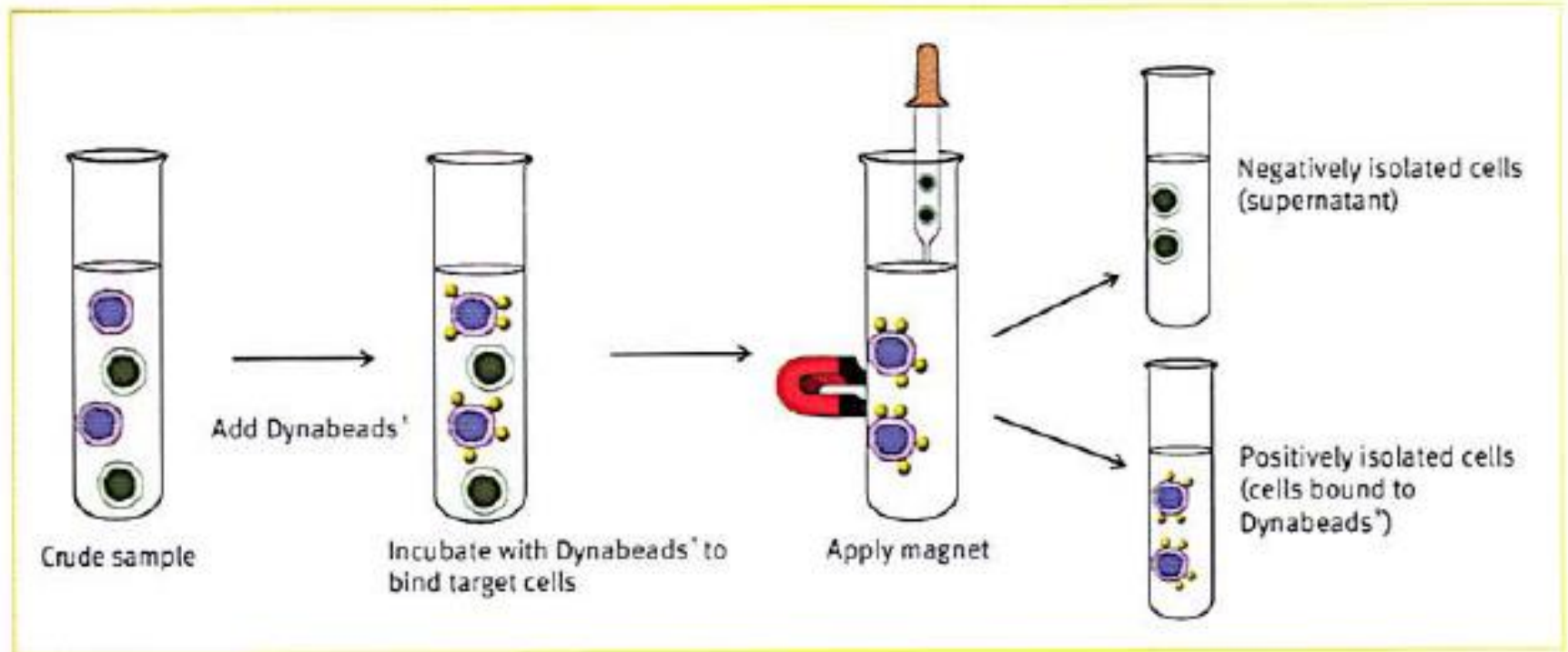
روش سریع، ساده و ارزانی است و همانند **ELISA** است
قابل استفاده در مزرعه و یا انبارها (خارج از آزمایشگاه می باشد)
بیشتر کیفیت را نشان داده و برای نشان دادن مقدار کمی **GMO** مناسب نیست



Lateral Flow Strip Assay

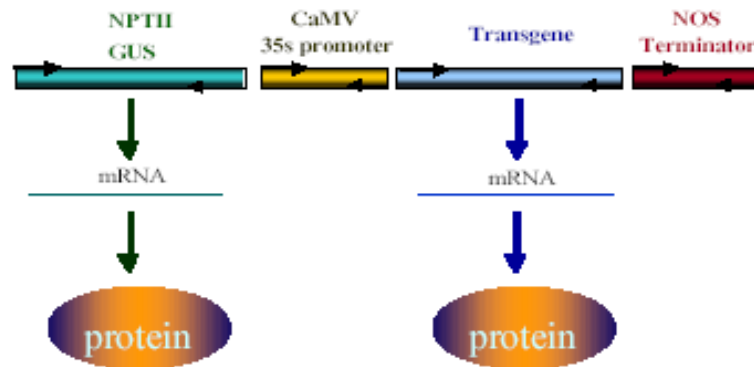


Magnetic Particles



روش تشخیص بر اساس DNA

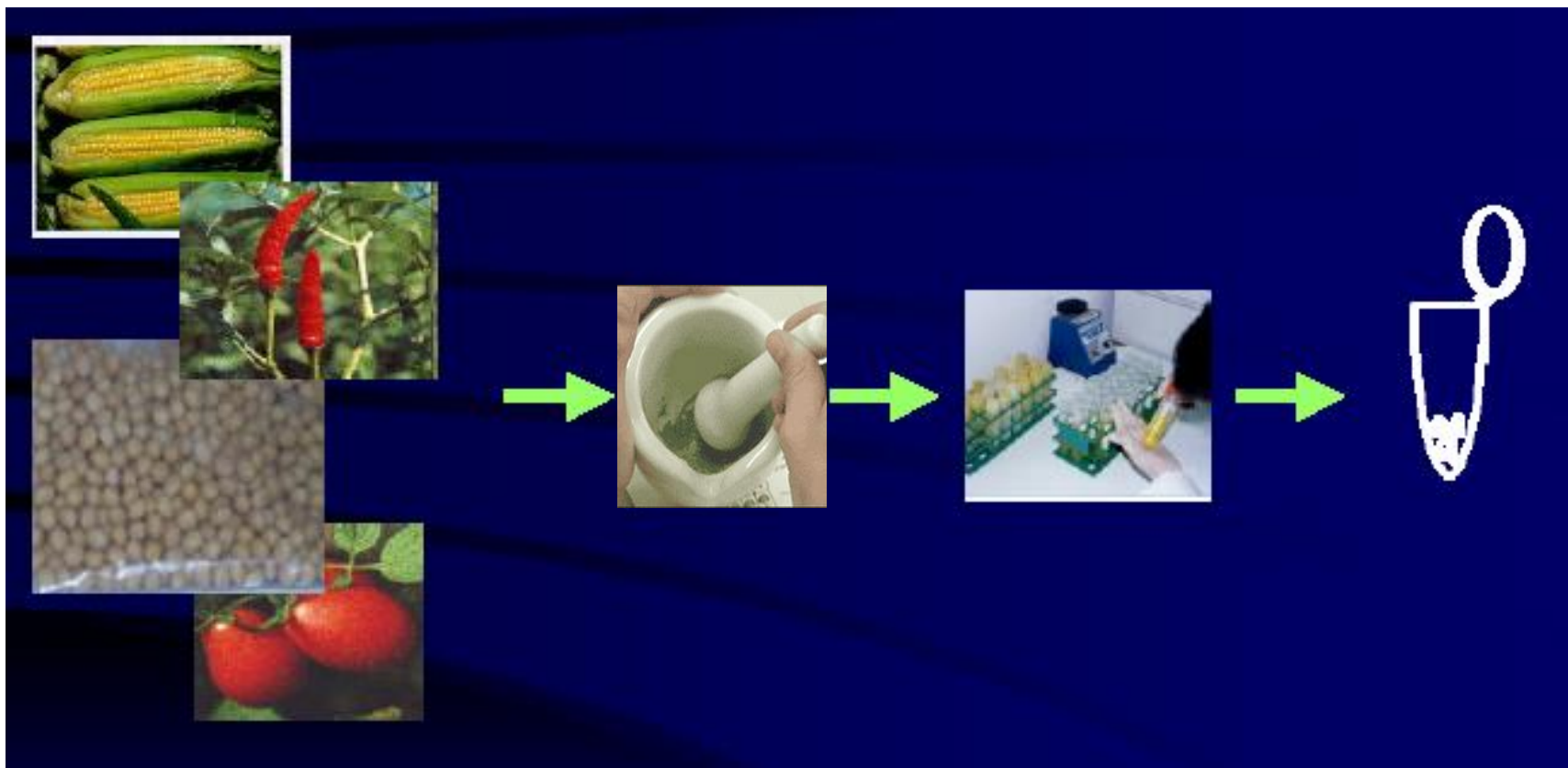
1. Selectable
2. Transgene
3. Promotor
4. Terminator



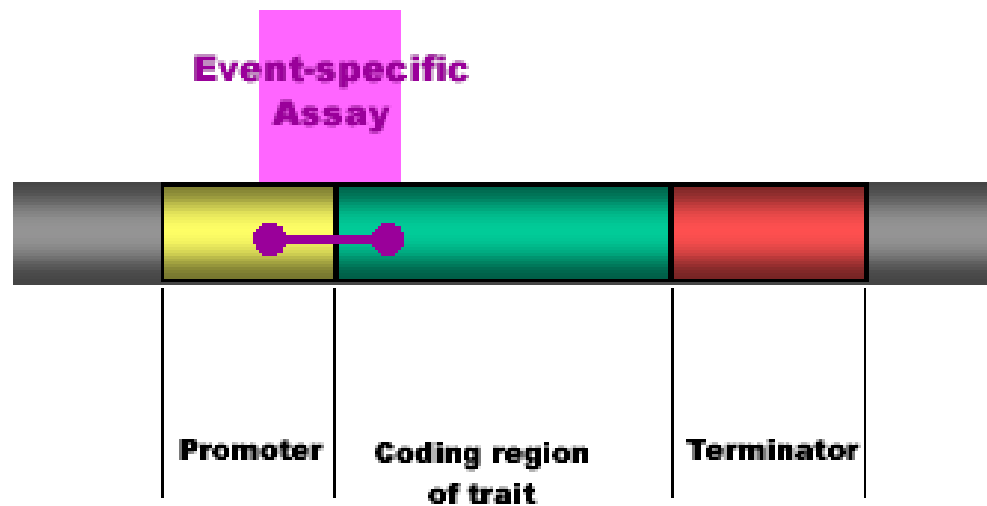
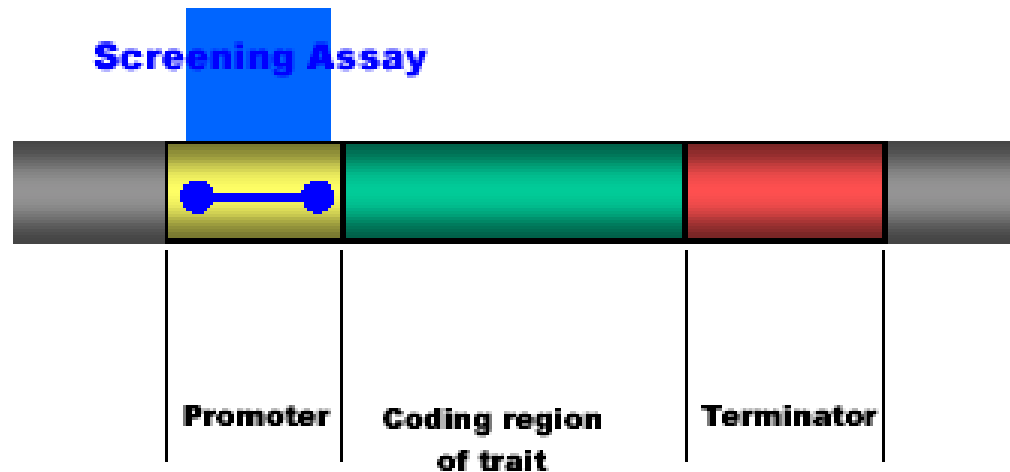
مراحل تشخیص بر اساس DNA

به طور کلی روش‌های تشخیص بر اساس DNA شامل مراحل زیر می‌باشد:

۱- استخراج DNA



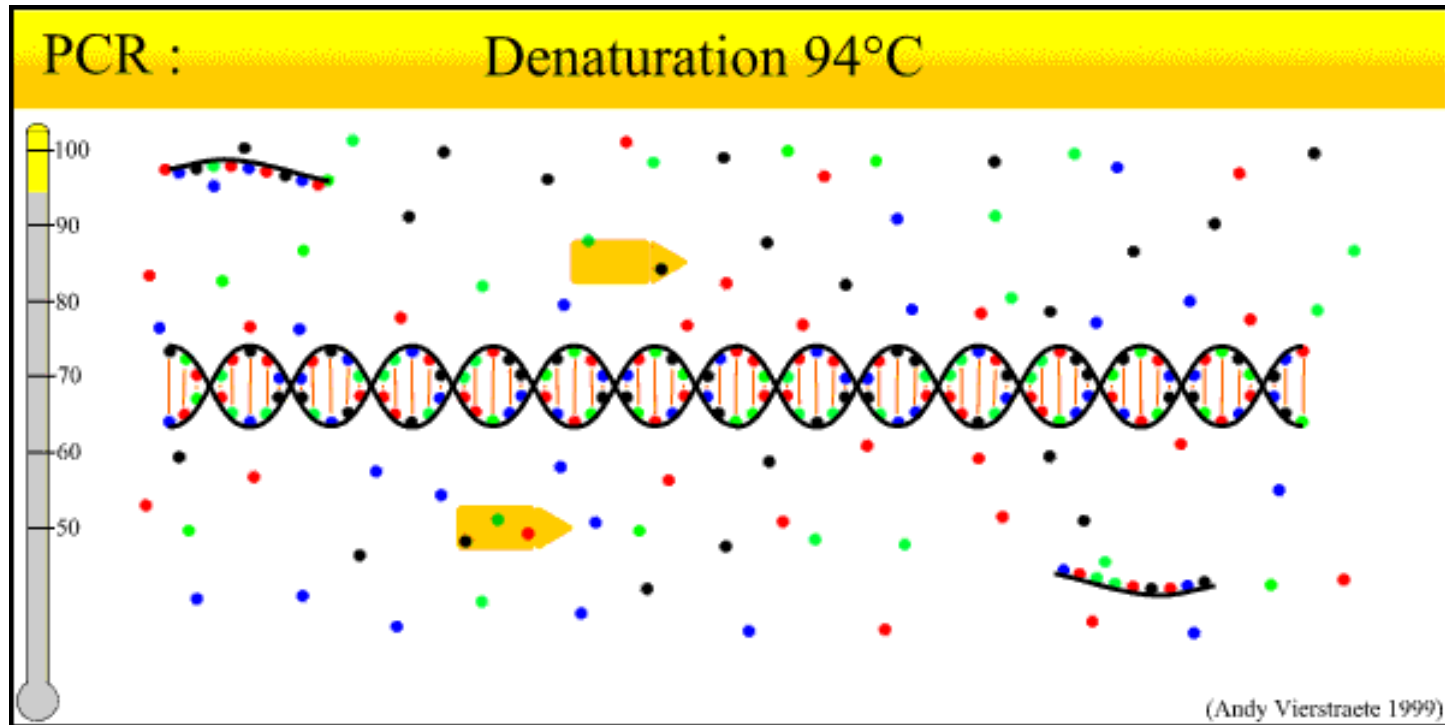
۲- طراحی آغازگر مناسب



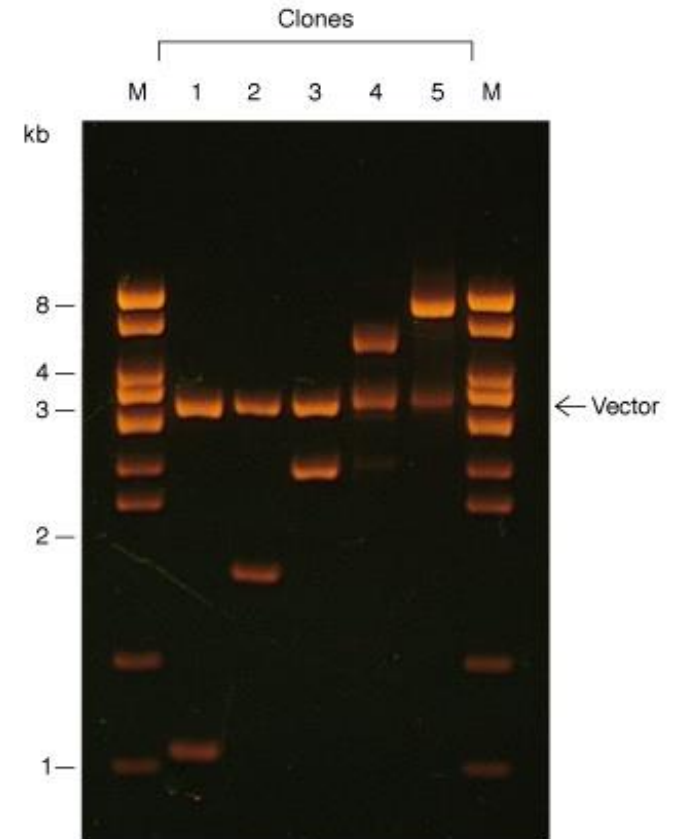
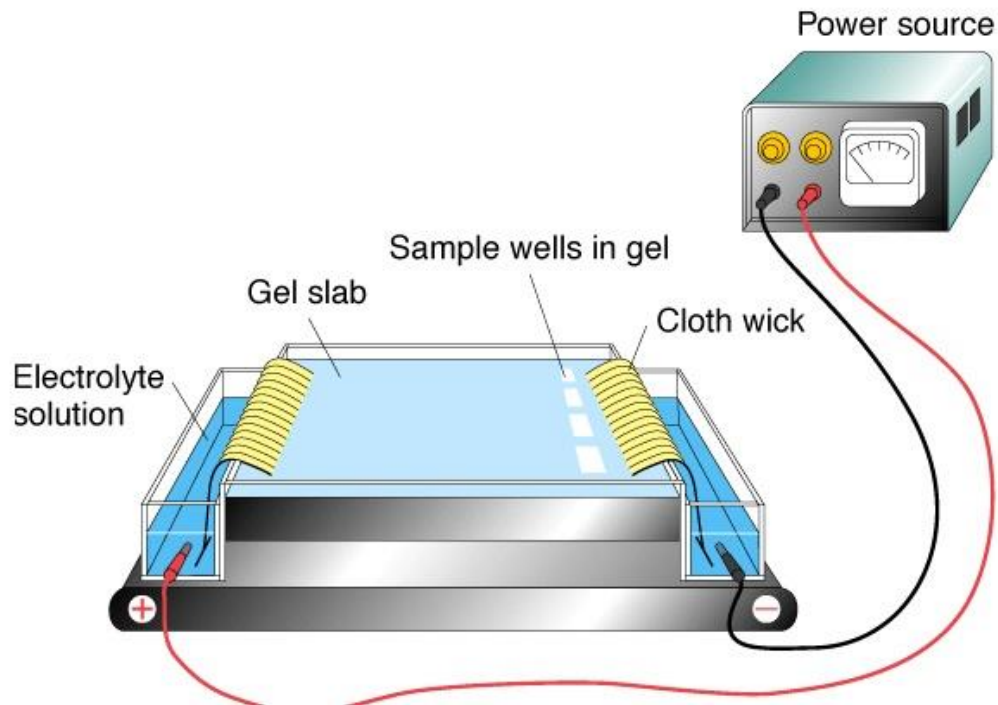
۳- انجام PCR (Polymerase Chain Reaction)

۱- DNA استخراج شده ۲- آغازگر مناسب ۳- نوکلئوتیدها

۴- آنزیم پلیمراز ۵- بافر مناسب

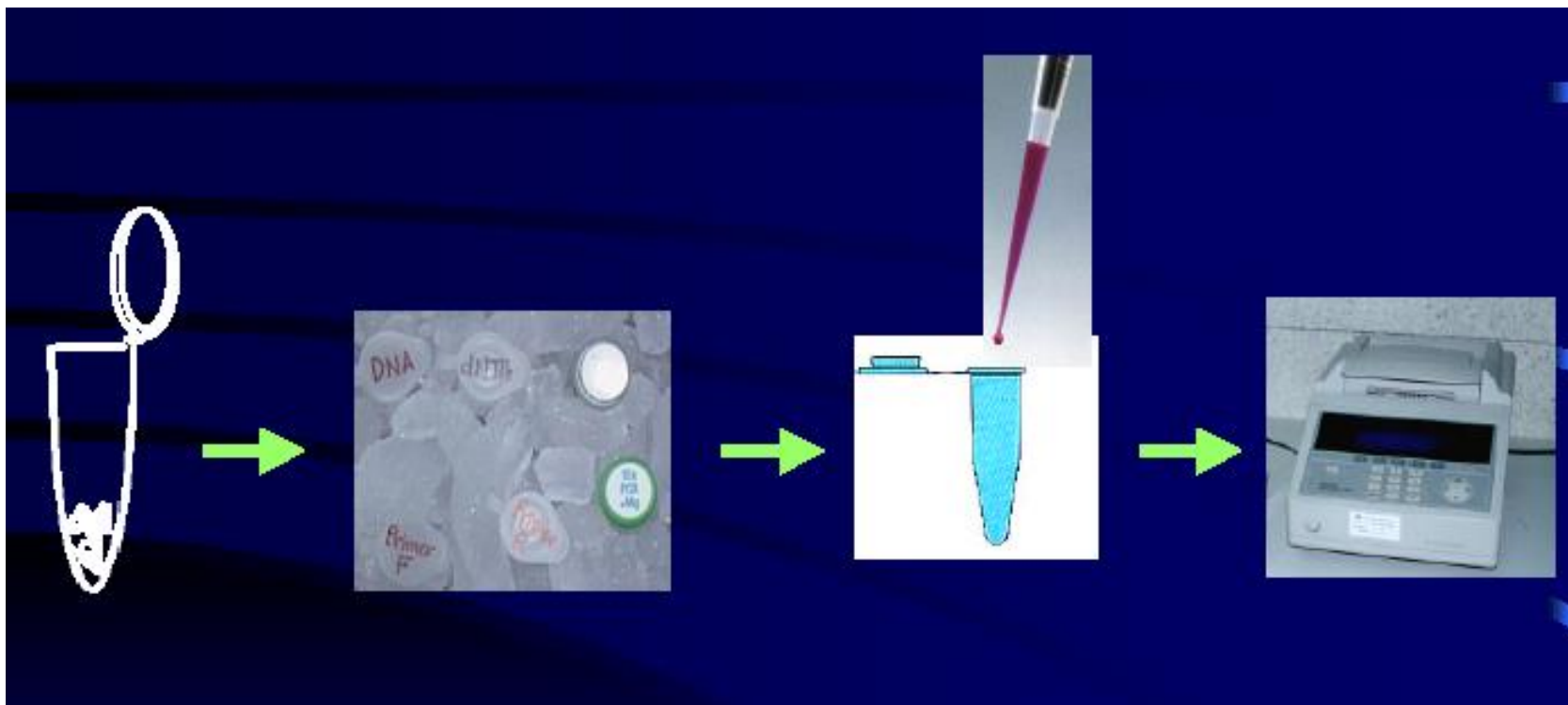


٤- مشاهده نتایج و تجزیه و تحلیل آنها

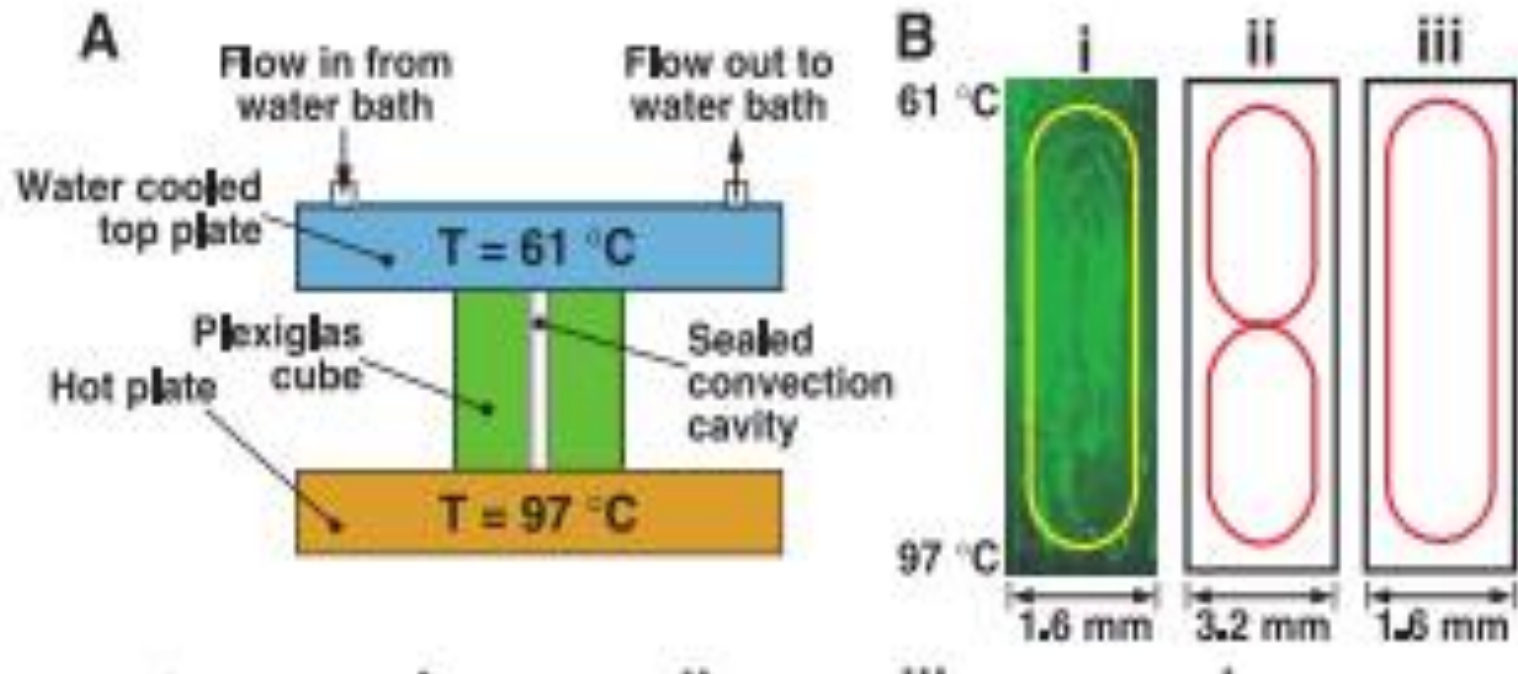


روش های تشخیص بر اساس DNA

الف – PCR معمولی



Rayleigh-Bénard Convection PCR, 2002



Palm PCR دستگاه تجاری شده

Technology Key

In marked contrast to the conventional thermal cycling, there is no temperature ramping in the Palm PCR device, thus not requiring the huge, hundreds of watts of electric power and cumbersome programming of many parameters typical in the conventional PCR machines.

Palm PCR device features three stages of specially structured heat blocks that are maintained at temperatures suitable for each of the three PCR steps, and the sample is circulated across the high- and low-temperature zones inside the sample tube. Ahram's proprietary Palm PCR technology enables accurate and robust control of the sample circulation for performing ultra-fast PCR amplification.

Palm PCR system is designed to perform high-speed and high-efficiency PCR amplification for 12 samples of 20 μ L volume.

Palm PCR Control

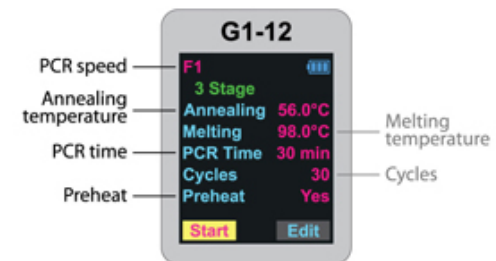
A protocol to perform a PCR reaction in the Palm PCR device can be programmed in a simple, convenient manner. It requires setting up only four control parameters: PCR speed, Annealing temperature, PCR time, and Preheat. Other control parameters such as melting and extension temperatures are automatically controlled by the operating software. Annealing temperature can be selected in the range from 52.0°C to 60.0°C.

PCR Speed and Dynamic Range

In the Palm PCR device, speed of the thermal cycling is controlled by setting up the PCR speed level. Seven PCR speed levels available are categorized into the following three modes:

- *Standard Fast mode:* F1, F2 and F3
- *Standard Slow mode:* S1 and S2
- *Turbo Fast mode:* T1 and T2

Selecting a PCR speed level makes the Palm PCR device perform PCR amplification in a pre-defined speed as listed in the Palm PCR Selection Chart. Dynamic range of the amplification depends on the PCR speed level. It is broader at a lower speed and narrower at a higher speed.

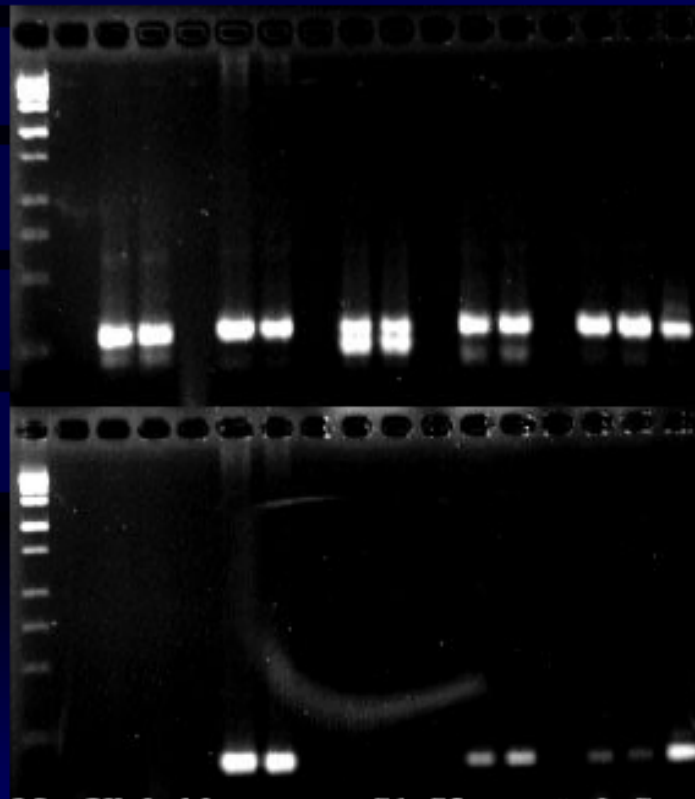


< Palm PCR Selection Chart >

PCR Speed Level	PCR Time 30 cycles	Dynamic Range
T2	18 min	≤ 400 bp
T1	21 min	≤ 500 bp
F3	24 min	≤ 600 bp
F2	27 min	≤ 800 bp
F1	30 min	≤ 1 kbp
S2	34 min	≤ 1.5 kbp
S1	39 min	≤ 2 kbp

Qualitative PCR or End point PCR

M N S1 S2 N S2 S2 N S3 S3 N S4 S4 N S5 S5 P



M = Kb ladder

S1, S2 = sample S

N = negative control

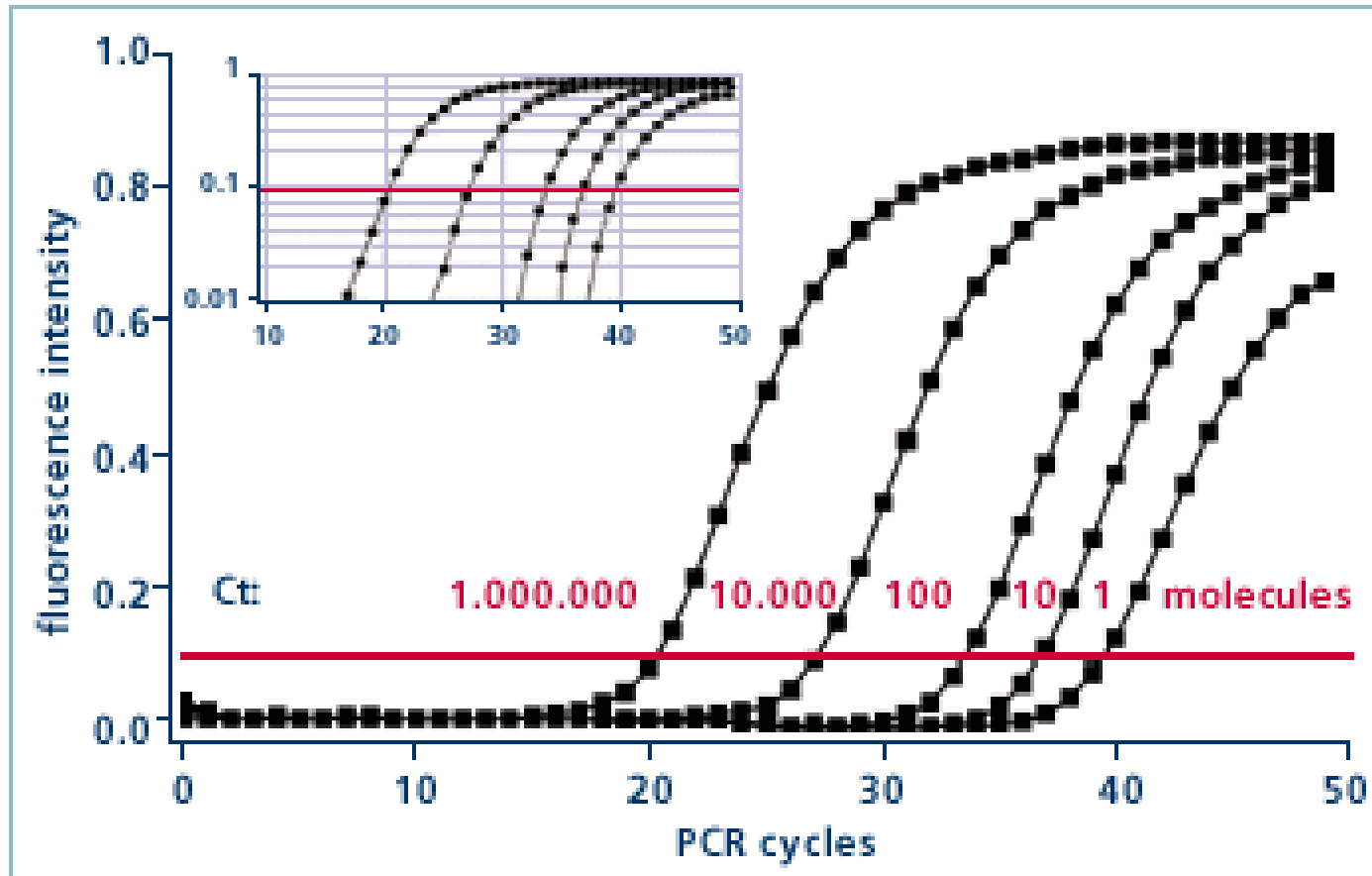
P = positive control

Results

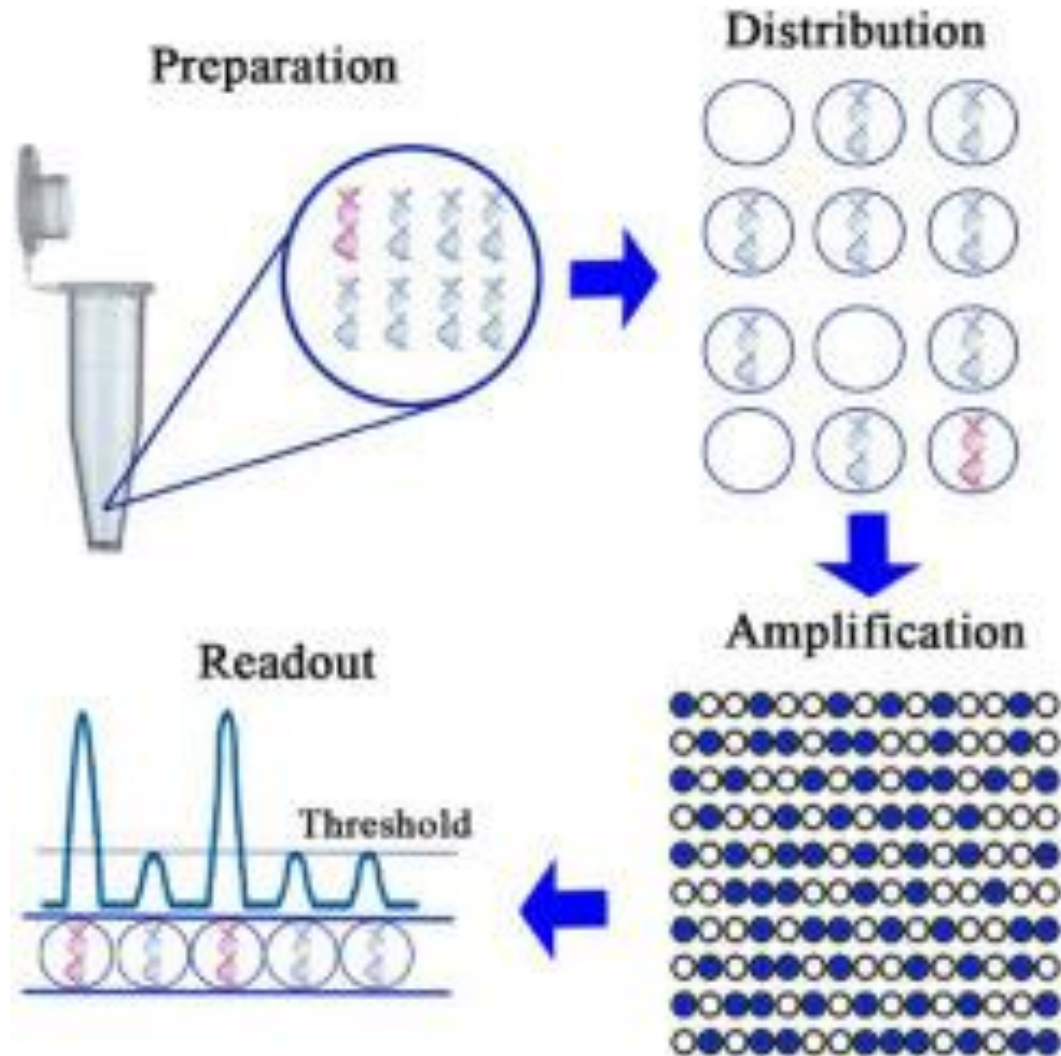
Sample	GMO
S1= Control	negative
S2= soybean seed	positive
S3= chili	negative
S4= cotton	positive
S5= corn	positive



Quantitative PCR, Real time PCR

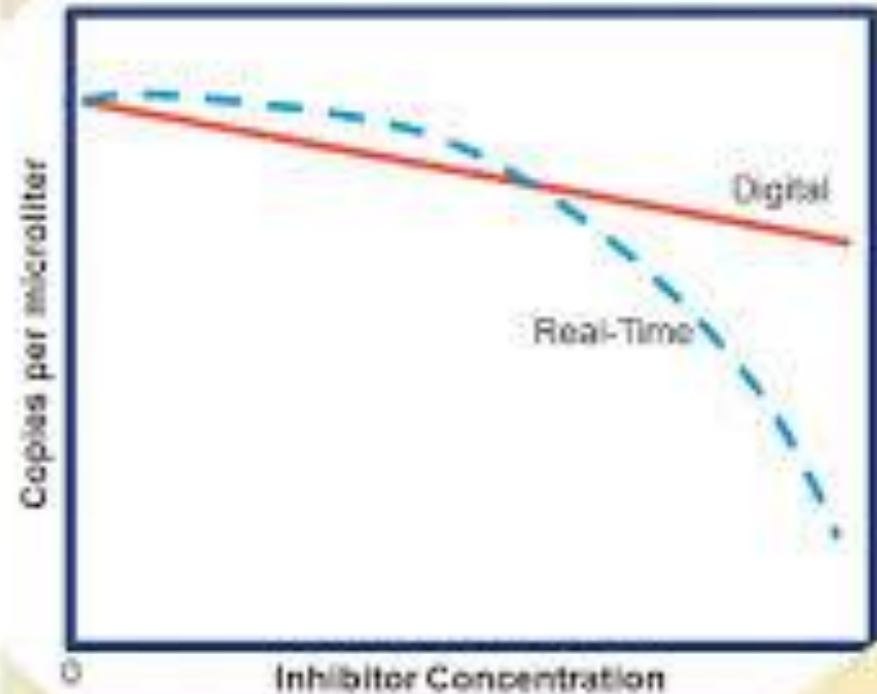


Quantitative PCR, Digital PCR



Quantitative PCR, Digital PCR

DIGITAL PCR VS REAL-TIME PCR



Risk Communication




Results of RASM Query - Microsoft Internet Explorer

File Edit View Favorites Tools Help

Back Forward Stop Home Search Favorites Media RSS Print Mail News Groups

Address http://www.igeb.org/~biofserv/db/query_rasm.php Go Links

 **IGEB Biosafety Web Pages**

Risk Assessment Searching Mechanism

*an index of the official and technical documents on risk assessment of genetically modified organisms
authored by biosafety competent national authorities*

The query found 75 entries.

IGEB Risk Assessment Searching Mechanism Accession Number: 1
Common name and taxonomic classification of the released organism: Maize: Zea mays, subsp. mays, Fam. Poaceae
LMO Unique Identifier OR Company Identifier: [Maize: Novartis \(Ciba-Geigy, Ciba-Geigy Canada and Novartis, Ciba Sciences\) Event 176 United States 1995](#)
Trait: Lepidoptera: insect resistance (European corn borer)
Trait: Phosphinothricin (Glufosinate ammonium) herbicide tolerance
Inserted gene: [cryIAb from Bacillus thuringiensis ssp. tenebrionis](#)
Inserted gene: [hpt \(phosphinothricin acetyl transferase gene\) from Streptomyces hygroscopicus](#)
Inserted gene: [tks \(tRNA-leucine gene\) from E. coli](#)
Assessment date: 1995
Country: United States Of America (USA)
Assessment responsible authority: USDA/APHIS (USA)
Title of the Risk Assessment document: [USDA/APHIS Petition 94-119-01 for Determination of Nonregulated Status for Event 176 Corn](#)

Opening page: http://www.igeb.org/~biofserv/db/query_rasm.php Internet

Start | Quick Launch | Quick Launch | Quick Launch | Quick Launch | Internet | 09:44 AM | Monday

Results of RASM Query | EP8\Green Alliance Wo... | Microsoft PowerPoint - ... | untitled - Paint

در چشم انداز بیست ساله:

- ایران کشوری توسعه یافته با جایگاه اول اقتصادی؛ علمی و فناوری در سطح منطقه...
- برخوردار از دانش پیشرفته؛ توانا در تولید علم و فناوری؛ متکی بر سهم برتر منابع انسانی و سرمایه اجتماعی در تولید ملی...
- دست یافته به جایگاه اول اقتصادی؛ علمی و فناوری در سطح منطقه آسیای جنوب غربی با تاکید بر جنبش نرم افزاری تولید علم...

از توجه شما متشکرم



توان داخلی:

1. برنج تراریخت متوقف در مرحله رهاسازی
2. مهندسی ژنتیک چغندر قند برای ایجاد مقاومت به آفات حشره‌ای و بیماری‌های ویروسی تحت هدایت دکتر محمدعلی ملبوبی و همکارانشان در موسسه تحقیقات چغندر قند (دکتر پیمان نوروزی) و دانشگاه تبریز.
3. تولید پنبه تراریخته مقاوم به آفات حشره‌ای و بیماری ورتیسیلیوم توسط دکتر مسعود توحید فر و همکاران و دانشجویان وی در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی
4. زراعت مولکولی (**Molecular Farming**) و تولید گیاهان تراریخته تولید کننده مولکولهای مهم با مصرف پزشکی توسط دکتر مختار جلالی و دانشجویان وی در دانشگاه تربیت مدرس
5. پروژه تولید حیوانات تراریخته در پژوهشکده رویان که مورد بازدید مقام معظم رهبری قرار گرفت و دهها پروژه تحقیقاتی دیگر که توسط دانشمندان فرهیخته و دانشجویان جوانتر در سراسر کشور در دست اجراست.
6. تولید گندم تراریخته توسط دکتر حبشی و همکاران وی در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی
7. تولید برنج تراریخته متحمل به تنش های شوری و خشکی توسط دکتر مرتضوی، نگارنده و دانشجویان آنها در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی
8. تولید عدس و نخود تراریخته توسط دکتر باقری، دکتر قره یاضی و دانشجویان آنها در دانشگاه فردوسی مشهد.
9. انتقال ژنهای کیتیناز و گلوکوناز به برنج به منظور تولید واریته تراریخته مقاوم به شیت بلایت توسط دکتر سوهانی و همکاران در دانشگاه گیلان
10. انتقال ژن های مقاومت به تنش های غیر زیستی به برنج توسط دکتر عالم زاده و همکاران در دانشگاه شیراز
11. پروژه های مختلف انتقال ژن که توسط دکتر باغبان، دکتر مهنا و همکارانشان در دانشگاه تبریز در دست انجام است
12. تولید آزمایشی نخل تراریخته توسط دکتر امیر موسوی، دکتر حبشی و همکاران در پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی
13. تولید محصولات زراعی تراریخته توسط دکتر علیزاده و همکاران در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
14. تولید آزمایشی کلزای تراریخته متحمل به علف کش توسط دکتر سلیمانان در پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک، دکتر کهریزی و همکاران و دهها پروژه دیگر که در دانشگاه های تهران، تبریز، آزاد، همدان و... در دست اجراست.
15. چغندر و کلزای تراریخت مقاوم به قارچ توسط آقایان دکتر زمانی و مطلبی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک

سند ملی زیست فناوری (مصوب هیئت وزیران):

□ ایران باید در کوتاه مدت ۲/ درصد و در بلند مدت نیم درصد از سطح زیر کشت گیاهان تراریخته جهان را به خود اختصاص دهد.

□ این میزان برابر با ۱۸۰ تا ۴۵۰ هزار هکتار در حال حاضر است.



”علم گرایی و علم محوری باید گفتمان مسلط
جامعه در همه بخش ها باشد“

”مقام معظم رهبری“