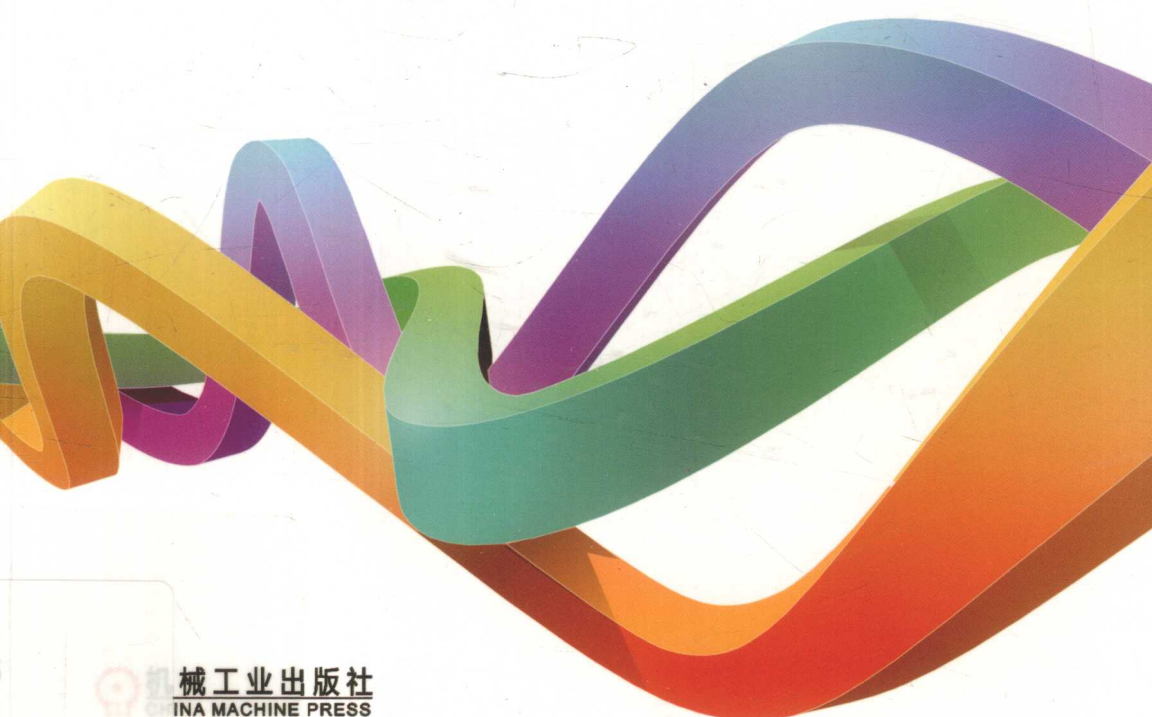



智能传感技术丛书

System Theory and Technology of
Magnetostrictive Biosensor

磁致伸缩生物传感器 系统理论和技术

张克维 著



 机械工业出版社
CHINA MACHINE PRESS

智能传感技术丛书

磁致伸缩生物传感器 系统理论和技术

张克维 著



机械工业出版社

本书共5章,第1章为绪论,主要介绍了研究背景、常规检测技术及生物传感技术原理和优缺点;第2章为磁致伸缩生物传感器换能材料磁性物理基础,介绍了与磁致伸缩生物传感器换能材料相关的磁学基础理论,包括磁学物理量、物质的磁性、磁畴结构、磁化及磁性能等;第3章为磁致伸缩生物传感器换能材料中的电磁场,介绍了与磁致伸缩生物传感器驱动力相关的电磁场基础理论,包括麦克斯韦方程、时谐电磁场在空间的传播、平面波在介质中的传播、波动方程、涡流损耗等;第4章为磁致伸缩弹性体振动,介绍了与磁致伸缩生物传感器系统紧密相关的振动基础理论,包括单自由度振动、多自由度振动、连续弹性体无阻尼受迫振动、阻尼受迫振动、模态分析等;第5章为磁致伸缩生物传感器系统设计和检测技术,介绍了磁致伸缩生物传感器的制备与检测技术、灵敏度影响因素、系统优化设计理论、当前的不足及未来的发展趋势。

本书可供高等院校传感器技术及相关专业的学生、教师,以及食品安全、医疗卫生、药检质检、环境监测等部门的工程师、科研人员和分析检验人员学习参考。

图书在版编目(CIP)数据

磁致伸缩生物传感器系统理论和技术/张克维著. —北京:机械工业出版社, 2019.5

(智能传感技术丛书)

ISBN 978-7-111-62502-5

I. ①磁… II. ①张… III. ①磁致伸缩-生物传感器 IV. ①TP212.3

中国版本图书馆CIP数据核字(2019)第070559号

机械工业出版社(北京市百万庄大街22号 邮政编码100037)

策划编辑:任鑫 责任编辑:任鑫

责任校对:佟瑞鑫 封面设计:马精明

责任印制:李昂

北京云浩印刷有限责任公司印刷

2019年6月第1版第1次印刷

169mm×239mm·13.5印张·262千字

标准书号:ISBN 978-7-111-62502-5

定价:59.00元

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页,由本社发行部调换

电话服务

服务咨询热线:010-88361066

读者购书热线:010-68326294

网络服务

机工官网:www.cmpbook.com

机工官博:weibo.com/cmp1952

金书网:www.golden-book.com

教育服务网:www.cmpedu.com

封面无防伪标均为盗版

前 言

磁致伸缩生物传感技术是近十几年发展起来的新兴传感技术,由于其具有低成本、快速、无线无源、原位检测、无线互联网连接便利的特色和优势,使其在多个领域具有广泛的应用前景。本书详细介绍了磁致伸缩生物传感器工作原理、系统理论和应用进展。由于磁致伸缩生物传感器系统设计和应用系多学科融合技术,涉及的学科领域比较广泛,包括材料科学、机械振动、电磁场理论、生物学、电子工程等方面的知识,为了让读者能够深入地系统地掌握磁致伸缩生物传感器系统设计和优化技术,本书将详细介绍相关学科的基础理论,以及在磁致伸缩生物传感器系统设计和优化中的应用。

本书共5章,第1章为绪论,主要介绍了研究背景、常规检测技术及生物传感技术原理和优缺点;第2章为磁致伸缩生物传感器换能材料磁性物理基础,介绍了磁致伸缩生物传感器换能材料相关的磁学基础理论,包括磁学物理量、物质的磁性、磁畴结构、磁化及磁性能等;第3章为磁致伸缩生物传感器换能材料中的电磁场,介绍了与磁致伸缩生物传感器驱动力相关的电磁场基础理论,包括麦克斯韦方程、时谐电磁场在空间的传播、平面波在介质中的传播、波动方程、涡流损耗等;第4章为磁致伸缩弹性体振动,介绍了与磁致伸缩生物传感器系统紧密相关的振动基础理论,包括单自由度振动、多自由度振动、连续弹性体无阻尼受迫振动、阻尼受迫振动、模态分析等;第5章为磁致伸缩生物传感器系统设计和检测技术,介绍了磁致伸缩生物传感器的制备与检测技术、灵敏度影响因素、系统优化设计理论、当前的不足及未来的发展趋势。

本书可供高等院校传感器技术及相关专业的学生、教师,以及食品安全、医疗卫生、药检质检、环境监测等部门的工程师、科研人员和检验人员学习参考。

本书的出版得到了国家自然科学基金项目(No. 51305290)、山西省重点研发计划(国际科技合作)(No. 201803D421046)、山西省研究生联合培养基地人才培养项目(No. 2018JD35)、山西省高校“131”领军人才工程支持计划项目、

IV 磁致伸缩生物传感器系统理论和技术

人力资源和社会保障部 2016 年度留学回国人员科技活动择优资助项目、磁电功能材料及应用山西省重点实验室、磁电子材料与器件山西省“1331 工程”重点创新团队、清洁能源与现代交通装备关键材料及基础件山西省服务产业创新学科群、山西省关键基础材料协同创新中心建设计划的支持。

由于作者水平有限，书中难免存在不足和疏漏之处，恳请读者批评指正。

张克维

目 录

前 言

第1章 绪论	1
1.1 常见食源性病菌	1
1.2 常规检测技术	3
1.2.1 平板菌落计数法	3
1.2.2 酶联免疫吸附测定法	5
1.2.3 聚合酶链反应	7
1.2.4 荧光免疫分析法	8
1.2.5 放射免疫分析法	9
1.3 生物传感器概述	9
1.3.1 生物传感器系统的组成	9
1.3.2 生物传感器系统的常见种类	11
第2章 磁致伸缩生物传感器换能材料磁性物理基础	18
2.1 原子磁矩	18
2.2 磁化及磁化强度	21
2.3 物质的磁性	22
2.4 磁畴结构	28
2.5 物质的磁化	31
2.6 磁性物质的基本现象	36
第3章 磁致伸缩生物传感器换能材料中的电磁场	40
3.1 麦克斯韦方程	40
3.1.1 全电流定律	41
3.1.2 复矢量形式的麦克斯韦方程	42
3.1.3 限定形式的麦克斯韦方程	43
3.2 电磁波的波动方程	44
3.2.1 无源区电磁波的波动方程	44
3.2.2 有源区电磁波的波动方程	45

VI 磁致伸缩生物传感器系统理论和技术

3.3 电磁场的达朗贝尔方程	45
3.4 电磁场的边界条件	46
3.5 坡印廷定理和坡印廷矢量	53
3.5.1 坡印廷定理	53
3.5.2 等效复介电常数和复磁导率	55
3.5.3 平均坡印廷矢量和复数形式的坡印廷定理	57
3.6 理想介质中的均匀平面波	60
3.6.1 理想介质中的均匀平面波函数	61
3.6.2 理想介质中的均匀平面波的传播特点	62
3.7 导电媒质中的均匀平面波	66
3.7.1 导电媒质中的均匀平面波函数	66
3.7.2 弱导电媒质中的均匀平面波函数	69
3.7.3 良导体中的均匀平面波函数	70
3.7.4 色散媒质中电磁波的群速	73
3.8 磁化铁氧体中的均匀平面波	74
3.8.1 磁化铁氧体中的张量磁导率	75
3.8.2 磁化铁氧体中的均匀平面波	78
3.9 平面波的极化特性	79
3.10 均匀平面电磁波在边界上的反射及透射	82
3.10.1 均匀平面电磁波向平面分界面的垂直入射	82
3.10.2 均匀平面电磁波向多层边界的垂直入射	87
3.11 双材料磁致伸缩换能器的涡流计算	89
3.11.1 双材料内部磁场强度分布	90
3.11.2 换能器复合材料内部磁场强度和涡流分布	94
3.12 常见电磁场传播方程的求解	100
3.12.1 直角坐标系的分离变量法	100
3.12.2 极坐标系下的分离变量法	103
3.12.3 球坐标系下的分离变量法	106

第4章 磁致伸缩弹性体振动

4.1 有阻尼单自由度系统的自由振动	112
4.1.1 过阻尼状态 ($\zeta > 1$)	113
4.1.2 欠阻尼状态 ($\zeta < 1$)	114
4.1.3 临界阻尼状态 ($\zeta = 1$)	116
4.2 简谐激励下有阻尼单自由度系统的受迫振动	116

4.2.1	简谐激励下受迫振动的解	116
4.2.2	简谐激励下稳态振动响应的特点	119
4.3	任意周期激励下有阻尼单自由度系统的受迫振动	126
4.3.1	周期激励下的受迫振动	126
4.3.2	非周期激励下的受迫振动	127
4.3.3	积分变换法求解非周期激励下的受迫振动	131
4.4	简谐激励下有阻尼多自由度系统的受迫振动	135
4.4.1	二自由度系统的受迫振动	136
4.4.2	三自由度系统的受迫振动	137
4.5	拉格朗日方程	139
4.6	模态叠加法对运动解耦	143
4.7	简谐激励下连续系统的受迫振动	148
4.7.1	磁致伸缩弹性杆的纵向自由振动	148
4.7.2	磁致伸缩弹性杆的纵向受迫振动	154
4.7.3	磁致伸缩弹性梁的自由弯曲振动	157
4.7.4	磁致伸缩弹性梁的横向受迫振动	161
4.7.5	悬臂梁无阻尼强迫振动的稳态响应	161
4.7.6	微悬臂梁传感器的应用	163
第5章	磁致伸缩生物传感器系统设计和检测技术	164
5.1	磁致伸缩生物传感器系统的功能模块	164
5.1.1	磁致伸缩生物传感器系统的组成	164
5.1.2	磁致伸缩生物传感器信号激励检测设备及其原理	166
5.2	频域技术检测	167
5.3	时域技术检测	172
5.4	磁致伸缩生物传感器的制备	175
5.4.1	磁致伸缩换能器的制备	175
5.4.2	生物探针的固定	176
5.4.3	病菌检测实验装置	177
5.5	MSP 生物传感器对病菌的检测	178
5.5.1	沙门氏菌的检测	178
5.5.2	大肠杆菌的检测	181
5.5.3	金黄色葡萄球菌的检测	181
5.5.4	阻断剂对磁致伸缩生物传感器性能的影响	182
5.6	MSMC 生物传感器对病菌的检测	184

VIII 磁致伸缩生物传感器系统理论和技术

5.7	MSP 生物传感器对食品表面病菌原位检测	187
5.8	磁致伸缩生物传感器灵敏度优化	189
5.8.1	集中病菌载荷对 MSP 传感器的影响	189
5.8.2	均布病菌载荷对 MSP 传感器的影响	194
5.8.3	集中病菌载荷对磁致伸缩悬臂梁传感器的影响	199
5.8.4	几何尺寸对磁致伸缩悬臂梁传感器灵敏度的影响	203
5.9	进一步的研究	205
	参考文献	206

第 1 章 绪 论

食品安全事关人民群众身体健康和生命安全，事关经济发展与社会和谐。2017 年，国务院印发的“十三五”国家食品安全规划中明确提出“十三五”是加快构建食品安全保障体系，形成全社会共治格局的重要时期，强调要把食品安全纳入国家公共安全体系。据有关食品安全事故起因的调查显示，食源性疾病引发的食品安全问题是全世界当前首要的食品安全问题。全球每年发生食源性疾病病例高达 40 亿~60 亿例，且呈逐年上升趋势，其中约 300 万个 5 岁以下儿童死亡。在我国，平均每年有 2 亿多人次罹患食源性疾病，即平均 6.5 人中就有 1 人罹患食源性疾病。根据中国疾病预防控制中心统计，在食源性疾病中，95% 以上是致病菌引起的，其发病率居各类疾病总发病率的前列。目前，人们日常生活中比较常见且危害较大的致病菌主要有大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、李斯特菌、霍乱弧菌。

1.1 常见食源性病菌

1. 沙门氏菌

沙门氏等在 1885 年霍乱流行时分离得到猪霍乱沙门氏菌，故定名为沙门氏菌 (*Salmonella*) 属。沙门氏菌为革兰氏阴性直杆菌，直径为 0.8~1.5 μm ，长度为 2~5 μm ，兼性厌氧，无芽孢、无荚膜，大多具有周身鞭毛，生长温度范围为 5~46 $^{\circ}\text{C}$ 。其不仅能导致鸡白痢、仔猪副伤寒、流产等动物疾病，还能使人类发生伤寒、副伤寒、败血症、胃肠炎和食物中毒，是全球范围内主要的食源性致病菌之一。食品在加工、运输、出售过程中往往会被沙门氏菌污染。沙门氏菌在粪便、土壤、食品、水中可生存 5 个月至 2 年之久。据报道，全球每年由沙门氏菌引起的肠胃炎有 9400 万例，导致死亡的约有 15.5 万病例。在我国，每年发生的病菌性食物中毒事件中，由沙门氏菌引起的屡居首位，约占 40%。

2. 大肠杆菌

大肠杆菌 (*Escherichia Coli*) 是埃希氏在 1885 年发现的，在相当长的一段时间内，一直被当作正常肠道菌群的组成部分，认为是非致病菌。到 20 世纪中叶，才认识到一些特殊血清型的大肠杆菌对人和动物有病原性，尤其对婴儿和幼畜 (禽)，常会引起严重腹泻和败血症。大肠杆菌是一种普通的原核生物为革兰氏阴性短杆菌，大小为 1~3 μm ，无芽孢，周生鞭毛，生长温度范围为 7~49 $^{\circ}\text{C}$ 。

可经食物和饮用水在人群中广泛传播，人体感染后，会发生严重的痉挛性腹痛和反复发作的出血性腹泻，同时伴有发热、呕吐等表现。某些严重感染者毒素随血行播散造成溶血性贫血，红细胞、血小板减少；肾脏受到波及时还会发生急性肾功能衰竭甚至死亡。我国规定，每毫升饮用水中的菌落总数应小于 100，每 100mL 水中不得检出总大肠菌群。

3. 葡萄球菌

葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 为革兰氏阳性菌，球形，直径为 $0.8\mu\text{m}$ 左右，显微镜下排列成葡萄串状，无芽孢、鞭毛，大多数无荚膜，需氧或兼性厌氧，生长温度范围为 $7\sim 50^{\circ}\text{C}$ ，干燥环境下可存活数周。葡萄球菌的致病力强弱主要取决于其产生的毒素和侵袭性酶。它是人类化脓感染中最常见的病原菌，可引起局部化脓感染，如疖、痈、毛囊炎、蜂窝组织炎、伤口化脓、骨、关节的感染；也可以引起内脏器官感染，如肺炎、脓胸、中耳炎、心包炎、心内膜炎等，甚至引起败血症、脓毒症等全身感染。其引起的感染占第二位，仅次于大肠杆菌。

4. 李斯特菌

李斯特菌 (*Listeria*) 是 1926 年科学家穆里在病死的兔子体内首次发现的。但为纪念近代消毒手术创始人、生理学家李斯特 (1827—1912)，该病菌于 1940 年被第三届国际微生物学大会命名为李斯特菌。李斯特菌是一种可导致人畜共患病的病原菌，为革兰阳性杆菌，兼性厌氧，无孢子，长 $1\sim 3\mu\text{m}$ ，有鞭毛及动力，耐碱不耐酸，生长温度范围为 $0.3\sim 45^{\circ}\text{C}$ 。据报道，健康人粪便中李斯特菌的携带率为 $0.6\%\sim 16\%$ ，有 70% 的人可短期带菌，4%~8% 的水产品、5%~10% 的奶及其产品、30% 以上的肉制品及 15% 以上的家禽均被该菌污染。人主要通过食用软奶酪、鲜牛奶、生牛排、卷心菜沙拉、西红柿等而感染，85%~90% 的病例是由被污染的食品引起的。患者通常会在进食受污染食物后 3~70 天内出现症状，包括类似感冒症状、恶心、呕吐、腹部痉挛、腹泻、头痛、便秘及持续发烧，严重的感染个案也可能出现败血症和脑膜炎。该菌也可通过眼及破损皮肤、黏膜进入体内而造成感染，孕妇感染后通过胎盘感染胎儿。

5. 霍乱弧菌

霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 是人类霍乱的病原体，包括两个生物型：古典生物型 (Classical biotype) 和埃尔托生物型 (EL-Tor biotype)。其为革兰阴性菌，菌体短小，弯曲成弧形，有单鞭毛、菌毛，部分有荚膜，霍乱弧菌菌体大小为 $(0.5\sim 0.8)\mu\text{m} \times (1.5\sim 3)\mu\text{m}$ ，生长繁殖的温度范围广 ($18\sim 37^{\circ}\text{C}$)，故可在外环境中生存。耐碱不耐酸，在 pH 值为 8.8~9.0 的碱性蛋白胨水或碱性琼脂平板上生长良好。共分为 139 个血清群，其中 O1 群和 O139 群主要通过污染水源或食物而引起烈性肠道传染病，人感染后的主要表现为剧烈的呕吐、腹泻

失水，发病急、传染性强、死亡率甚高，属于国际检疫传染病。自1817年以来，全球共发生了7次世界性大流行，前6次的病原是古典型霍乱弧菌，第7次病原是埃尔托型所致。霍乱弧菌分布于热带和亚热带河口、海湾的水域和一些海洋动物体内。

如表1-1所示，致病菌的感染剂量及感染周期范围比较广，有的致病菌感染剂量小且感染周期短（如大肠杆菌），而有的致病菌感染剂量大但感染周期短（如葡萄球菌）。

表1-1 上述五种食源性致病菌感染剂量及周期

致病菌名称	感染剂量	感染周期
沙门氏菌	$>10^5$ cfu	6~24h
大肠杆菌	50~100cfu	3~9h
葡萄球菌	$10^5 \sim 10^8$ cfu	0.5~8h
李斯特菌	$10^2 \sim 10^3$ cfu	7~14天
霍乱弧菌	$10^4 \sim 10^{10}$ cfu	6~5天

注：感染周期是病毒完成整个感染的过程，包括识别、吸附、入侵、生物大分子的合成、装配和释放。

由于食品在生产制作、运输、储存以及售卖过程中的诸多环境均可受到病菌的污染，特别是我国人民日常食品从田野到高山森林、从陆地到江湖海洋、品种日益丰富，饮食习惯的改变、生活节奏的加快、环境的污染均为食品安全监管工作提出了更高更全面的要求，而阻止被病菌污染的食品进入人类食物链的一个有效的途径就是在最初的监测点进行控制。在此背景下，快速灵敏地检测出食源性致病菌已成为控制食品安全问题的关键。

1.2 常规检测技术

1.2.1 平板菌落计数法

平板菌落计数法（Plate counting method）是根据致病菌在固体培养基上所形成的单个菌落，即由一个单细胞繁殖而成的计数方法。计数时，将待测致病菌经适当稀释之后涂布到培养基表面，经过恒温培养（通常为2天），便由单个细胞繁殖形成肉眼可见的菌落，即一个单菌落代表原样品中的一个单细胞。参照GB4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》，统计菌落数并根据其稀释倍数和取样接种量即可换算出原样品中的含菌数，如图1-1所示。

具体计算方法如下：

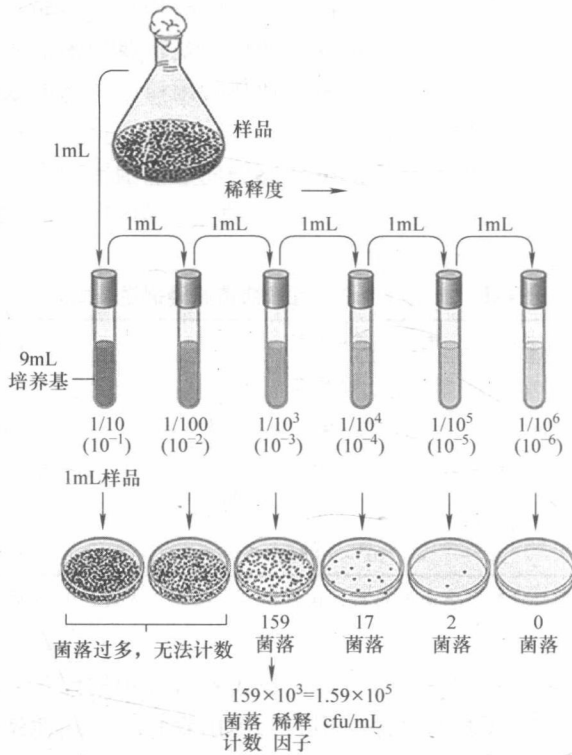


图 1-1 平板菌落计数法操作流程示意图

1) 如果只有一个稀释度平板的菌落数在适宜范围 (30 ~ 300 个菌落), 则计算该稀释度两个平板菌落的平均数, 再乘以稀释倍数, 作为每克或者每毫升样品中菌落总数结果。

2) 若有两个连续稀释度的平板菌落数均在适宜范围, 则按照以下公式计算:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d} \quad (1-1)$$

式中, N 为样品中菌落数; $\sum C$ 为含适宜范围 cfu 的平板菌落数之和; n_1 为第一稀释度 (低稀释度) 平板个数; n_2 为第二稀释度 (高稀释度) 平板个数; d 为稀释因子 (第一稀释度)。

虽然该方法被作为黄金标准, 但是前期需要病菌的繁殖和分离培养, 操作繁琐, 耗时长且易出现假阳性、假阴性, 不适应目前对病原检测灵敏、快速、特异性的要求。因此, 很多检测病菌的更快的方法发展了起来, 包括酶联免疫吸附测定法、聚合酶链反应、放射免疫分析法、荧光免疫分析法等。

1.2.2 酶联免疫吸附测定法

酶联免疫吸附测定法 (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 利用抗体能与抗原 (Antigen, 简称为 Ag) 特异性结合的特点, 将游离的杂蛋白和结合于固相载体的目的蛋白分离, 并利用特殊的标记物对其定性或定量分析的一种检测方法。其原理是: 抗原或抗体物理性地吸附于某种固相载体表面, 并且保持其免疫活性; 抗原或抗体与酶通过共价键结合形成酶标定抗原或抗体, 同时保持各自的免疫活性或酶活性; 酶标定抗原或抗体与相应的抗体或抗原结合后, 通过洗涤移除固相载体上非酶标定抗原 - 抗体结合物; 加入底物与酶发生催化反应变为有色产物, 产物的量与标本中受检物质的量直接相关, 故可通过产物颜色深浅确定标本中相应抗原或抗体的量。由于酶的催化效率很高, 故可极大地放大反应效果, 从而达到很高的灵敏度。根据 ELISA 操作流程不同, 将其分为直接 ELISA、间接 ELISA、夹心 ELISA 等方法。

1. 直接 ELISA

如图 1-2 所示, 直接 ELISA (Direct ELISA) 将抗原包被于固相载体, 封闭后加入酶标记抗体, 洗去未结合的酶标抗体, 加入底物显色, 显色深浅与包被抗原量和酶标抗体量成正比。所谓的“直接”是指在固相载体上加入酶标抗体之后, 直接加底物显色。同时, 直接也是指引入酶的过程是否“直接”。这是最简单的直接 ELISA, 常用于抗原活性检测或标记抗体的效价和质量的检测。

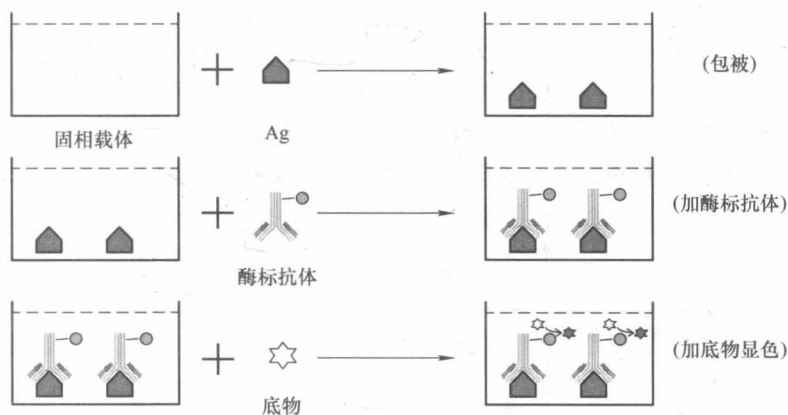


图 1-2 直接 ELISA 示意图

2. 间接 ELISA

如图 1-3 所示, 间接 ELISA (Indirect ELISA) 与直接 ELISA 的区别是抗原包被于固相载体后, 不是直接加酶标抗体, 而是先加抗体, 洗涤后再加入酶标的抗体 (酶标二抗), 然后洗涤加入底物显色。所谓间接和直接是针对酶标抗体是

“直接”还是“间接”引入的而言的，引入了酶标二抗后检测信号将放大数十倍。间接 ELISA 主要适用范围包括抗体效价检测、单抗筛选、临床上很多定性检测等。间接 ELISA 应用十分广泛，也是最重要的一种 ELISA。

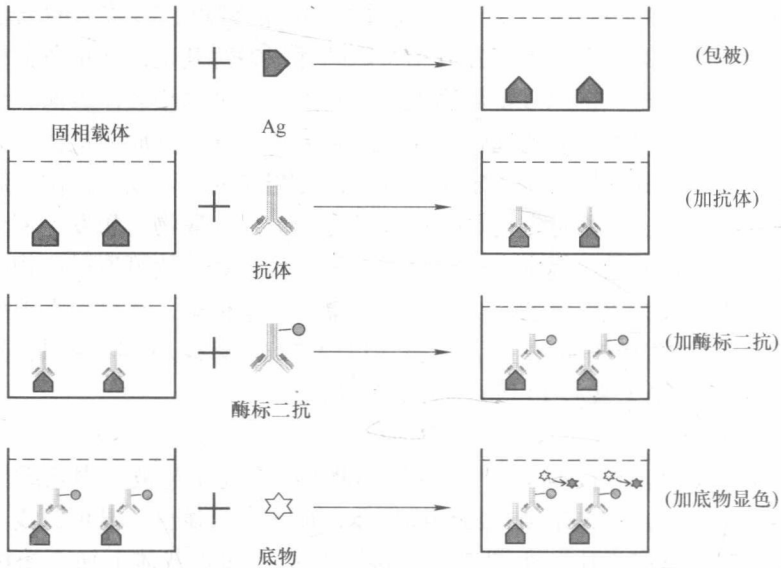


图 1-3 间接 ELISA 示意图

3. 双抗体夹心 ELISA

夹心 ELISA (Sandwich ELISA) 是把待检物放中间，结构上像三明治。其又分为双抗体夹心 ELISA 和双抗原夹心 ELISA。如图 1-4 所示，固相载体包被一个抗体 (Capture antibody, 捕捉抗体)，封闭后洗涤，加入抗原进行反应，洗涤后再加入另外一个抗体 (Detection antibody, 检测抗体)，检测抗体上需要标记有酶。双抗体夹心法中的抗原至少应该包含 2 个及以上的表位。

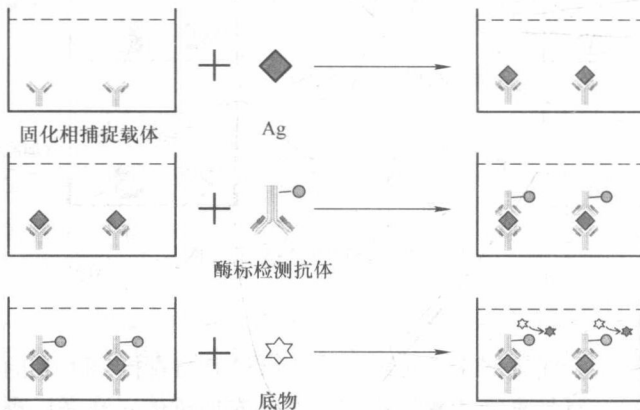


图 1-4 双抗体夹心 ELISA 示意图

4. 双抗原夹心 ELISA

双抗原夹心 ELISA (Double sandwich ELISA) 的基本原理和层次与双抗体夹心 ELISA 相同, 不同点是固相化和检测的酶标记物为抗原, 中间的夹心是抗体, 也就是待检物为抗体, 如图 1-5 所示。

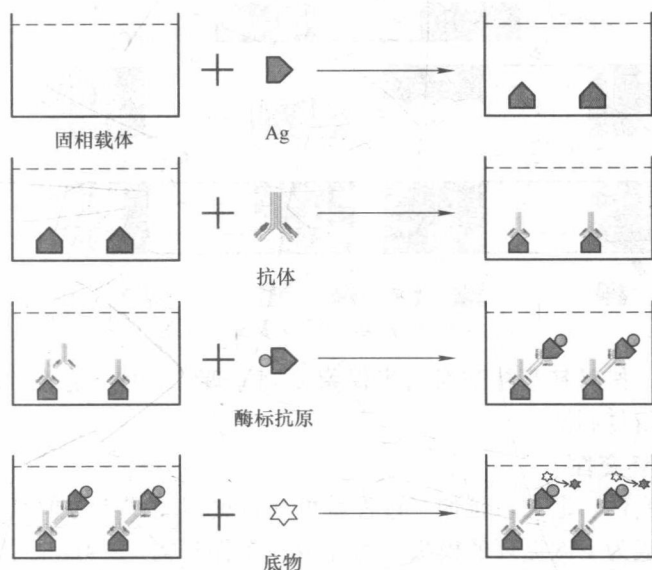


图 1-5 双抗原夹心 ELISA 示意图

1.2.3 聚合酶链反应

聚合酶链反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 的基本原理类似于 DNA 的天然复制过程, 其特异性依赖于与靶序列两端互补的寡核苷酸引物。PCR 主要包括变性、退火、延伸三个基本反应步骤, 如图 1-6 所示。

1. 模板 DNA 的变性

模板 DNA 经加热至 90℃ 左右 (约 93℃) 一定时间后, 使模板 DNA 双链或经 PCR 扩增形成的双链 DNA 解离, 成为单链, 以便与引物结合, 为下轮反应做准备。

2. 模板 DNA 与引物的退火 (复性)

模板 DNA 经加热变性成单链后, 温度降至 50℃ 左右 (约 55℃), 引物与模板 DNA 单链的互补序列配对结合。

3. 引物的延伸

引物与模板的正确结合是关键。DNA 模板与引物的结合物在 DNA 聚合酶 (如 TaqDNA 聚合酶) 的作用下, 在 70℃ 以上 (约 75℃), 以 dNTP 为反应原料,

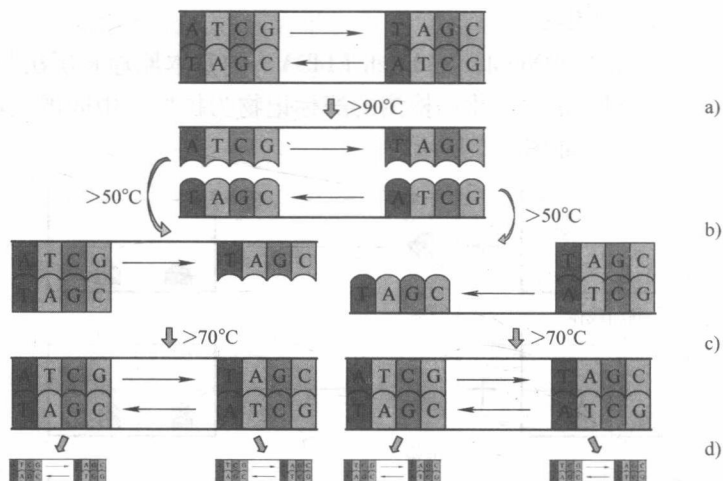


图 1-6 PCR 基本反应步骤示意图

靶序列为模板，按碱基互补配对与半保留复制原理，合成一条新的与模板 DNA 链互补的半保留复制链。

4. 重复循环变性

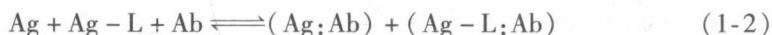
重复循环变性、退火、延伸三过程就可获得更多的“半保留复制链”，而且这种新链又可成为下次循环的模板。每完成一个循环需 2~4min，2~3h 就能将待扩目的基因扩增放大几百万倍。PCR 扩增产物用核酸染料染色，在进行琼脂糖凝胶电泳图上由条带显示。

1.2.4 荧光免疫分析法

荧光免疫分析 (Fluoroimmunoassay, FIA) 法是根据抗原或抗体反应的原理将不影响抗原或抗体活性的荧光色素标记在抗体或抗原上制成荧光标记物，再用这种荧光抗体或抗原作为生物探针检查相应抗原或抗体。在待测样品中形成的抗原-抗体复合物上含有荧光素，利用荧光显微镜观察标本，荧光素受激发光的照射而发出明亮的荧光 (黄绿色或橘红色)，从而定量检测抗原或抗体。该方法存在两种模式，即竞争型和夹心型。

1. 竞争型

在 Ab 和 Ag-L 的混合物中加入未标记的 Ag，Ag 和 Ab 的结合使得 Ag-L 与 Ab 免疫复合物的量减少。从 Ag-L:Ab 免疫复合物的减少或游离 Ag-L 的增加，可以定量测定出样品中待测抗原的含量。其反应过程如下：



2. 夹心型

在载体上固定过量的 Ab，然后加入一定量的 Ag，免疫反应后，再加入过量