1、PCR：PCR是聚合酶链式反应，在引物指导下由酶催化的对特定模板的扩增反应，是模拟体内DNA复制过程，在体外特异性扩增DNA片段的一种技术。

2、多重PCR：是在同一PCR反应体系里加入两对以上引物，同时扩增出多个核酸片段的PCR反应。

3、RAPD（随机扩增多态性DNA）：利用大量的、各不相同的、碱基顺序随机排列的寡聚单核苷酸链为引物（约8-10个碱基），以待研究的基因组DNA片段为模板，进行PCR扩增。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳分离可对基因组DNA进行多态性分析的技术。

4、RFLP多态性：假如DNA顺序中的某个碱基发生了突变，使突变所在部位的DNA序列产生（或缺失）某种限制性内切酶的位点。这样，利用该限制性内切酶消化此DNA时，便会产生与正常不同的限制性片段。在同种生物的不同个体中会出现不同长度的限制性片段类型。

5、AFLP：基于PCR技术扩增基因组DNA限制性片段，基因组DNA先用限制性内切酶切割，然后将双链接头连接到DNA片段的末端，接头序列和相邻的限制性位点序列，作为引物结合位点的技术。

6、核酸探针：是指带有标记物的已知序列的核酸片段，能和与其互补的核酸序列杂交形成双链。

7、限制性核酸内切酶：是一类具有特殊功能的核酸切割酶，不同的内切酶可辨认并作用于特异的DNA序列，并将DNA切断。

是一种能够识别双链DNA分子中特定核苷酸序列，并在特定位置切割DNA链中的磷酸二酯键的一类酶。

8、免疫：是人和动物机体的一种保护性反应，作用是识别和排除抗原性异物，以维持机体的平衡和稳定。

9、ELISA：是酶联免疫吸附测定，将可溶性抗原或抗体结合到固相载体上，利用抗原抗体特异性结合在固相载体上进行酶免疫反应的定性和定量检测方法。

10、生物传感器：指由一种生物敏感部件和转化器紧密结合，对特定种类化合物质或生物活性物质具有选择性和可逆响应的分析装置。

11、接触点样法：将样品直接点在基体上，其优点是仪器结构简单、容易研制，是一种快速、经济、多功能的仪器，可以在3.6平方厘米面积内点上10000个cDNA。不足之处是每个样品都必须合成好、经过纯化、事先保存的。

12、原位合成法：在玻璃等硬质表面上直接合成寡核苷酸探针阵列。

喷黑法：是以定量供给的方式，通过压电晶体或其他推进形式从很小的喷嘴内把生物样品喷射到玻璃载体上。同样需要合成好的纯样品，包括cDNA、染色体DNA片段和抗体。在1平方厘米面积上可喷射10000个点。

13、Southern印迹杂交：将待检测的DNA样品固定在固相载体上，与标记的核酸探针杂交，通过碱基互补显示出杂交的信号。

14、蛋白质芯片：选择一种能够牢固地结合蛋白质分子的固相载体，按预先设计的方式固定大量蛋白质（抗原或抗体），形成蛋白质的微阵列，然后加入与之特异性结合的带有特殊标记的蛋白质分子（抗原或抗体），通过对标记物的检测来实现抗原抗体的互检。

15、基因芯片：将大量DNA（cDNA）探针分子固定于支持物上，根据碱基互补配对原理，与标记的样品分子进行杂交，通过检测杂交信号的强度及分布进而获取样品中靶分子的数量和序列信息。

16、PCR的基本反应过程：

高温变性：DNA变性形成单链

低温退火：DNA单链与引物复性

适温延伸：子链延伸，DNA加倍

17、PCR常见问题

1）无扩增产物：正对照有条带，而样品则无。

模板：含有抑制物，含量低（解决方法：纯化模板或者使用试剂盒提取模板DNA或加大模板的用量）

Buffer对样品不合适（解决方法：更换Buffter或调整浓度）

引物设计不当或者发生降解（解决方法：重新设计引物，避免链间二聚体和链内二级结构，或者换一管新引物）

反应条件：退火温度太高，延伸时间太短（解决方法：降低退火温度、延长延伸时间）

2）非特异性扩增：PCR扩增后出现的条带与预计的大小不一样，或大或小，或者同时出现特异性扩增带与非特异性扩增带。

引物特异性差（解决方法：重新设计引物或者使用巢式PCR）

模板或引物浓度过高（解决方法：适当降低浓度）

酶量过多（解决方法：适当减少酶量）

Mg2+浓度偏高（解决方法：降低镁离子浓度）

退火温度偏低、循环次数过多（解决方法：适当提高退火温度，减少循环次数）

3）拖尾：产物再凝胶上呈Smear状态。

模板不纯（解决方法：纯化模板）

Buffer不合适（解决方法：更换）

退火温度偏低、循环次数过多（解决方法：适当提高退火温度，减少循环次数）

酶量过多

dNTP、Mg2+浓度偏高

4）假阳性：空白对照出现目的扩增产物。

原因：靶序列或扩增产物的交叉污染。

对策：操作时应小心轻柔，防止将靶序列吸入加样枪内或溅出离心管外；除酶及不能耐高温的物质外，所有试剂或器材均应高压消毒。所用离心管及加样枪头等均应一次性使用；各种试剂最好先进行分装，然后低温贮存。

18、AFLP引物组成：引物由5，端核心序列（CORE）与人工接头互补，特异性酶切序列（ENZ）对应于限制性酶切片段的限制性末端，3，端选择性碱基的黏性末端（EXT），只有那些在两个酶切末端内测具有与选择性碱基互补的限制性片段才能被引物识别并扩增。

19、抗原：凡能与刺激有机物（人或动物体）产生抗体，并能与相应抗体发生特异性结合的物质。

20、ELISA的方法类型：双抗体夹心法、间接法、竞争法、捕获法。

21、生物活性物质固定化模式：夹心法、吸附法、包埋法、交联法、共价结合法、微胶囊法。

22、生物传感器按输出信号的产生方式分类：生物亲和型生物传感器、代谢型或催化型生物传感器。

23、生物传感器特点及主要部件：高灵敏度高特异性，选择性好、简便快速准确，可连续分析、重复使用

24、DNA芯片的检测内容：芯片方针的构建，样品制备，生物分子反应，信号的检测及分析

25、PCR扩增条件

反应成分

1）DNA模板：单、双链均可。

模板浓度过高会导致反应的非特异性增加。

2）引物浓度：浓度过高易使模板与引物错配，反应特异性下降。

3）Taq-DNA聚合酶：酶量增加使反应特异性下降；酶量过少影响反应产量

4）dNTP：dNTP浓度取决于扩增片段的长度；四种dNTP浓度应相等；浓度过高易产生错误碱基的掺入，浓度过低则降低反应产量；dNTP可与Mg2+结合，使游离的Mg2+浓度下降，影响DNA聚合酶的活性。

循环参数

1）变性：使双链DNA解链为单链，95℃20-30s

2）退火：温度由引物长度和GC含量决定；增加温度能减少引物与模板的非特异性结合；降低温度可增加反应的灵敏性。

3）延伸：70-75℃，延伸时间由扩增片段长度决定。

4）循环次数：主要取决于模板DNA的浓度，一般为25-35次，次数过多，扩增效率降低，错误掺入率增加。

26、巢式PCR：是一种变异的聚合酶链反应，使用两对PCR引物扩增完整的片段。第一对PCR引物扩增片段与普通PCR相似。第二对引物成为巢式引物结合在第一次PCR产物内部，使得第二次PCR扩增片段短于第一次扩增。

27、ELISA：封闭和洗涤

封闭：是继包被之后用高浓度的无关蛋白质溶液再包被的过程。封闭就是让大量不相关的蛋白质充填这些空隙，从而排斥ELISA后的步骤中干扰物质的再吸附。

洗涤：达到分离游离的和结合的酶标记物的目的。清除残留在板孔中游离的物质，以及非特异性地吸附的干扰物质。

手工洗板方法：吸去（不可触及板壁）或甩掉酶标板内的液体；在试验台上铺垫几层吸水纸，酶标板朝下用力拍几次；根据需要重复此过程。

自动洗板

28、抗原抗体结合

抗原与相应抗体之间在体内或体外所发生的特异性结合反应。一般具有特异性与交叉性、可逆性、定比性、阶段性、敏感性。

29、芯片制备：载体材料

*载体表面必须具有可以进行化学反应的活性基因，以便与生物分子进行偶联；使单位载体上结合的生物分子达到最佳容量；载体应当是惰性的和由足够的稳定性，包括机械的、物理的和化学的稳定性*。

30、生物芯片优势：可以在很小的面积上并分析成千上万种生物分子；分析结果的可比性好；试剂的消耗量少；自动化程度高；成本低、效率高。

31、生物传感器选择性测定发生在生物敏感膜部位。

32、传感器分类：酶传感器、微生物传感器、组织传感器、细胞器传感器、免疫传感器、核酸生物传感器。

33、固定化酶优点：可重复使用，提高酶的使用效率，降低使用成本；极易与反应体系分离，简化了提纯工艺，而且产品收率高质量好；酶经固定化后稳定性提高；固定化酶的催化反应过程更易控制；具有一定的机械强度，便于酶催化反应的连续化和自动化操作；适于多酶体系的使用，不仅可利用多酶体系中的协同效应使酶催化反应速率提高，还可以控制反应按一定顺序进行。

34、PCR原理、引物设计、非特异性扩增

原理：

高温变性：DNA变性形成liangtiao 单链

低温退火：DNA单链与引物复性

适温延伸：子链延伸DNA加倍

重复以上三步25-30轮

引物设计要求：

（1）序列应位于高度保守区，与非扩增区无同源序列。

（2）引物长度以15-40bp为宜。

（3）碱基尽可能随机分布，G+C占40-60％。

（4）引物内部避免形成二级结构。

（5）两引物间避免有互补序列。

（6）引物3‘端为关键碱基；5’端无严格限制。

非特异性扩增：PCR扩增后出现的条带与预计的大小不一样，或大或小，或者同时出现特异性扩增带与非特异性扩增带。

引物特异性差（解决方法：重新设计引物或者使用巢式PCR）

模板或引物浓度过高（解决方法：适当降低浓度）

酶量过多（解决方法：适当减少酶量）

Mg2+浓度偏高（解决方法：降低镁离子浓度）

退火温度偏低、循环次数过多（解决方法：适当提高退火温度，减少循环次数）

35、RFLP、RAPD、AFLP原理、特点

RFLP：非常稳定，RFLP标记座位的等位基因之间呈共显性，所需DNA量大，实验操作繁琐，检测周期长，成本高昂， 不适于大规模的分子育种，无表型效应。

RAPD：不需DNA探针，设计引物无须知道序列信息；DNA样品需要量少，引物价格便宜，成本较低；技术简便，不涉及分子杂交和放射性自显影等技术；显性遗传，不能有效区分杂合子和纯合子；实验重复性较差，结果可靠性较低。

AFLP：

优点：所需DNA用量少；能够获得更高的信息量；试验重复性好，可信度高；样品适用性广，基因组覆盖面大；AFLP标记表现为典型的孟德尔方式遗传；AFLP可作为物理图谱和遗传图谱的联系桥梁；AFLP分析不需要预先指导扩增基因组的序列特征等信息。

缺点：所需仪器和药品价格昂贵，实验成本较高；操作复杂，对实验员的技术水平要求较高。

36、夹心ELISA

37、生物传感器，与其他分析方法相比特点，在食品安全中的应用

微型化

集成化：检测系统的集成化一体化。

智能化、实用化

食品添加剂的分析；农药和抗生素残留量的分析；微生物和生物毒素的检验；食品鲜度的检测；重金属、硝酸盐等有害物质检测。

38、食品安全生物技术检测意义、特点，有哪些，学的这些属不属于

食品安全监管人员的有力工具；实现产地准出与市场准入有效衔接的手段；实验室常规检测的有益补充；及时发现食品安全问题，将问题解决在萌芽状态；大型活动食品安全保障、应急事件处理的有效措施；提高市民的参与度与知晓度，有利于促进食品安全社会共治。

特点：检测速度快，应用范围广，准确度高，灵敏度高，微量快速