

可实现免疫标记磁珠的高灵敏度及高通量检测的石英晶体天平 微流体传感器

陈冬雨, 杜宇, 管志斌, 王国达, 杭欣欣, 文玉梅

(上海交通大学电子信息与电气工程学院 上海 200240)

摘要: 鉴于免疫标记磁珠在生物分子检测技术中的重要性, 寻求简单可靠的高灵敏高通量的磁珠检测方法一直是生物分子检测的检测基础。在以往报道的探测方法中, 为了提高检测信号的信噪比, 无一例外地需要通过生化功能层或与基体液分离将磁珠固定在传感器表面。这使得开发一个多功能传感器和通用探测平台的不同磁颗粒标记的分子分析变得困难。针对此问题我们提出了一种基于石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)的探测技术, 利用磁场影响下磁珠与 QCM 的磁耦合直接传感分析溶液中的标记磁珠数量, 实验验证对常用的 $0.28\mu\text{m}$ 磁珠的传感灵敏度达到 1.68×10^5 个/mL, 对应的分子检测灵敏度低至 $10^4\sim 10^5$ 个/mL, 且无需将标记分子从溶液中分离等复杂操作。QCM 与微流道集成即形成高通量快速磁标记分子检测芯片。

关键词: 磁珠;石英晶体微天平;频率频移;微流体

High sensitivity and high throughput detection of immune-labeling magnetic beads via quartz crystal microbalance microfluidic sensor

Chen Dongyu, Du Yu, Guan Zhibin, Wang Guoda, Hang Xinxin, Wen Yumei

(School of Electronic Information and Electrical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240,

China)

Abstract: In view of the importance of immunolabeled magnetic beads in biomolecular detection technology, it has been the basis of biomolecular detection to find a simple and reliable method for detecting magnetic beads with high sensitivity and high throughput. In previous reported detection methods, in order to improve the signal to noise ratio of the detection signal, it is invariably necessary to fix the magnetic particles on the sensor surface through biochemical functional layer or separation from the base body fluid. This makes it difficult to develop a multifunctional sensor and general detection platform for molecular analysis of different magnetic particle markers. Here,

we propose a QCM-based detection technology, which uses the magneto-mechanical coupling between magnetic beads and QCM under the influence of magnetic field to directly detect the number of labeled magnetic beads in the solution. The experimental results show that the sensing sensitivity of the commonly used $0.28\mu\text{m}$ magnetic beads reaches 1.68×10^5 /mL, and the corresponding molecular detection sensitivity is as low as 10^4 - 10^5 /mL. Moreover, QCM can be integrated with the microchannel to form a high-throughput and rapid magnetically labeled molecular detection chip without complex operations such as separating labeled molecules from solution.

Keywords: magnetic beads, quartz crystal microbalance, resonance frequency shift, microfluidics

1 传感器设计背景和应用价值

设计背景: 疾病的早期诊断对于疾病的预防和治疗及恶劣疾病的死亡率的抑制至关重要。研究者们发现,首先对致病因子进行有效的标记,再进行对应的检测可以有效的提高检测分辨率和灵敏度。作为现有标记检测方法中最常用的检测方法,磁标记分析是利用纳米或亚纳米级的超顺磁磁珠通过免疫反应对靶分子进行标记,在通过对磁珠的磁性检测对被标记分子进行分析。与上述方法不同磁性粒子标记检测具有非接触、安全性好、可定量测量以及在生物体内的传播不会失真等许多特点。不过,由于磁性标记粒子其具有尺度小,磁场小,且检测过程中容易受外界噪声干扰的特性,因此对磁性标记粒子的高灵敏高分辨检测成为了亟待解决根据问题之一。以往的报道,目前根据检测原理对磁性标签的测量可分为间接测量和直接测量。间接测量是通过测量外侧线圈电感等方式测量因磁性粒子引起线圈磁导率的变化进而表征标志物浓度,Choi 等^[1]利用集成电磁线圈并结合免疫磁珠技术,设计了微流控免疫分析系统;此外,Smistrup 等^[2]、Lee 等^[3]、Jiang 等^[4]及 Rostaing 等^[5]在利用集成微线圈对磁珠操控的领域也做出了重要的工作。近些年来随着微机电技术的发展,有许多不同的磁传感器可以通过微加工技术实现微型化如霍尔传感器^[6]、磁阻传感器(MR)^[7]、巨磁阻抗(GMI)器件^[8]和微型磁通门^[9]。基于微磁传感器和免疫磁珠技术发展的微磁生物传感器,由于具有小型化、灵敏度高、易操作、成本低、功耗低、易集成以及可手持化得到研究人员的广泛的关注。主动测量是利用利用霍尔元件,超导量子干涉器件(SQUID)等的检测方法可以实现对磁性标记物剩磁的高灵敏度检测,这种方法每次只能检测较少的标记物,无法实现的高通量检测。Besse 等^[10]提出了采用霍尔传感器的磁性标记粒子的测量方法,实现了磁珠浓度的快速

测量；Carvalho^[11]提出了采用 SQUID 的测量方法，高分辨的测量了标记磁珠的浓度。相比之下 2017 年上海交通大学孙等人^[12]提出了一种基于 GMR 的免疫磁珠检测的方法，实现了 GMR 磁珠检测微流控芯片的制备，做到了快速和高效的检测，Klein T^[13]等和 Wang Y^[14]等针对 GMR 磁珠检测微流控芯片的发展也做出了重要贡献。然而，虽然 GMR 和互感线圈等检测方法可以实现高通量检测，但由于被测目标与传感器之间必然存在差距，检测极限无法进一步提高。因此，免疫磁珠标记在实现高灵敏度和高通量检测方面存在瓶颈。2010 年湖南大学 Pan^[15]等人首次提出了基于 QCM 的生物传感器，其采用注射器将免疫磁珠溶液喷淋在 QCM 电极表面，并通过永磁体吸引溶液中磁珠，再经过重力脱水后测量因免疫结合后的磁珠质量引起的 QCM 频移，不过该方法忽略了永磁铁对已偶联在 QCM 表面磁珠的影响。在此基础上 2016 年，西南大学 Liao^[16]等人提出了借助外磁场的灵敏增强型 QCM 生物免疫传感器，其通过外磁场吸引磁珠观察通过因磁力引起的 QCM 频移再与初始状态进行对比，有效的提高了观测到的 QCM 频移，提高了检测限。然而，尽管之前报道的方法都证明了具有 QCM 生物免疫传感器具有良好的检测特性，但是不可避免的都需要检测样品需要被抗体固定在 QCM 表面，需要对溶液进行脱水处理，因此无法实现快速且高通量的检测。针对这一问题，本文拟利用鲁棒性强、稳定性高的石英晶体制备了高分辨率、低检测限的 QCM-微流道系统，通过外加强磁场促使溶液中的免疫磁珠团聚以改变溶液密度，实现高效，快速，准确的检测。

因此针对这个问题，本文报道了一种通用磁性粒子传感器，在不固定或吸附磁珠的情况下，对测试溶液中的磁珠达到 ng/ml 级别的分辨率。该传感器作为探测平台的核心组件，基于带有微通道的 QCM 微流控芯片，可实时和长期监测磁珠。测量了在双峰磁场作用下流过 QCM 表面的磁珠溶液的力学性能，以反映溶液中磁珠的浓度。该方法可以在不受被测磁珠任何形式的约束或固定的情况下实现高灵敏度的检测，不仅大大降低了测量中吸附层引起的背景噪声，而且提高了检测速度和灵活性。鉴于磁珠检测的广泛应用，本技术为目标分子检测中的通用磁珠标记分析提供了一种轻便、快速的测量技术。

应用价值：磁珠标记生物分子，可以分离、富集靶分子提高其可检测性，因此被广泛应用于肿瘤早期诊断等分子检测技术中。现有技术达到的检测极限是 10⁴ 分子/mL 量级，但是必须要将磁标记分子从分析液分离。本文提出用磁场调控磁标记分析液，引起液体力学特性变化并采用 QCM 进行传感以检测标记分子，检测极限可低至 10⁴-10⁵ 分子/mL 量级。

以甲胎蛋白(AFP)为例，作为目前早期肝癌诊断最好的血清肿瘤标志物，当浓度超过 400ng/mL 时可作为肝癌的诊断标准。在每个磁珠只捕获一个 AFP 的通常条件下，该浓度对

应磁标记检测中磁珠浓度约为 $5\mu\text{g/mL}$ ，本文所设计的传感芯片的磁珠浓度最低检测限为 10ng/mL ，完全具备早期肝癌的诊断能力。此外，该传感装置检测快、操作方便且造价低，可有效降低肿瘤标志物检测所需的时间及金钱成本，实现家庭式自助检测并对比诊断，极大地降低就医成本，缓解国家的医疗压力。

2 实现方案简介

2.1 设计原理

QCM 的关键部件是在厚度剪切模式(TSM)下工作的 AT-cut 石英圆盘，电极作为晶体两侧的传感面。石英作为一种超高稳定性的压电材料，具有极低的机械损耗和较高的质量因数。TSM 波是一种通过表面的体波，对作用于振动晶体表面的力学条件非常敏感。这些特性使得 QCM 具有超高的质量检测灵敏度，可实现极微小的 LOD。QCM 质量灵敏度的物理机制是表面载荷质量的变化改变了其 TSM 振动的力学条件。谐振频率和 Q 值等振动参数也会受到相应的影响。1959 年，人们提出了 Sauerbrey 方程(Eq.(1))来描述空气或真空中质量负荷与 QCM 频移的线性关系。

$$\Delta m_f = -\frac{\rho_q h_q \Delta f}{f_0 n} = -C \Delta f \quad (1)$$

石英的密度和厚度由 ρ_q 和 h_q 表示，参数 n 为奇数倍频阶数，可以是 1、3、5、7、... 等。方程中常数 C 可计算为: $C = \rho_q h_q / n f_0$ 。

相比空气或真空的工作环境 QCM 在液相中的机械振动能量消耗太大，期初很难找到一个合适的电气驱动系统来维持 QCM 石英压电振子在液相中的稳定运动。直到 1982 年，Nomura 和 Okuhara 克服了这一困难，实现了石英振子在液相中的稳定振动，在此基础上，1985 年，Kanazawa 和 Gordon 通过解边界条件约束下剪切波在石英压电振子和牛顿流体间的传播方程，得出石英压电振子频率变化和牛顿流体性质间的关系，即 Kanazawa-Gordon 方程(Eq.(2))，

$$\Delta f = -f_0^{3/2} \sqrt{\frac{\eta_v \rho_v n}{\pi \rho_q c_q}}, \quad (2)$$

液体的密度和粘度分别用 η_v 和 ρ_v 表示。而 c_q 是剪切模量(\bar{C}_{66})，通常为 60GPa 。进一步的，1996 年，Rodahl 等利用 Navier-Stokes 方程得到了有关耗散因子变化(ΔD)与牛顿流体性质之间的关系的方程，

$$\Delta D = \sqrt{\frac{4f_0 \eta_v \rho_v}{\pi \rho_q c_q n}}, \quad (3)$$

为了进一步描述 QCM 的电学行为，引入了 Butterworth-Van Dyke (BVD)等效电路来分析从电测量中提取的信息。如图 1(b)所示，其中电容 C_0 代表远离谐振频率时，石英振子等效于简单平行板电容器的电容量，电容 C_1 代表石英晶体的机械弹性，电感 L_1 代表石英晶体的初始质量，电阻 R_1 代表石英晶体的能量耗散。由液体黏性耦合效应的影响可以由动态电感 L_2 和动态电阻 R_2 来等效，其与液体的物理性质（粘度和密度）高度相关，而由液体质量负载效应的影响则以 L_3 来等效。通过对石英晶体的等效电路进行推导，可以把上述参数与石英晶体的物理特性及尺寸联系起来可得到等式 4，

$$\begin{cases} C_0 = \frac{\varepsilon_{22}\varepsilon_0 A_q}{h_q} f_s \\ C_1 = \frac{8k_0^2 C_0}{(n\pi)^2} \\ L_1 = \frac{(n\pi)^2}{8k_0^2 C_0 \omega_s^2} \\ R_1 = \frac{\eta_q}{C_1 \bar{C}_{66}} \left(\frac{\omega}{\omega_s}\right)^2 \end{cases} \quad \begin{cases} L_2 = \frac{\omega_s L_1}{n\pi} \sqrt{\frac{2\rho_1 \eta_1}{\omega \bar{C}_{66} \rho_q}} \\ R_2 = \frac{\omega_s L_1}{n\pi} \sqrt{\frac{2\omega \rho_1 \eta_1}{\bar{C}_{66} \rho_q}} \\ L_3 = \frac{2\omega_s L_1 \rho_s}{n\pi \sqrt{\bar{C}_{66} \rho_q}} \end{cases} \quad (4)$$

其中 $k_0 = e_{26}^2 / (\bar{C}_{66} \varepsilon_{22})$ 为 AT 切石英晶体机电耦合常数，和 ω_s 为 QCM 无扰动串联谐振角频率。QCM 的串联谐振频率为 $f_s = 1/2\pi(LC_1)^{0.5}$ ，其中 L 为 $L_1 + L_2 + L_3$ 之和， C_1 不受质量或液体粘度的影响而发生改变。由于串联谐振频率只与石英晶体本身的特性有关，因此串联谐振频率 f_s 通常被作为 QCM 的基频 f_0 被用作在测量中。当石英晶体表面接触溶液负载时， f_s 所产生的微小变化为，

$$\frac{\Delta f_s}{f_s} = -\frac{\Delta L}{2L} = -\frac{L_2 + L_3}{2(L_1 + L_2 + L_3)} \quad (5)$$

当质量和液体负载较小时，即 $L_2 + L_3 \ll L_1$ 。联合方程(4)和(5)可以得到谐振频率的变化 Δf_s 。

$$\Delta f_s \approx -\frac{2f_s^2}{N\sqrt{\bar{C}_{66}\rho_q}} \left[\rho_s + \left(\frac{\rho_1 \eta_1}{4\pi f_s}\right)^{0.5} \right] \quad (6)$$

根据公式 6 可发现，QCM 接触面质量引起的变化 ρ_s 及液体性质发生的变化 $\rho_1 \eta_1$ 都对 QCM 频移有影响，因此为了进一步探究溶液性质变化引起的 QCM 频移必须对电路最大导纳进行测量。对于 $Y_{\max} \approx 1/(R_1 + R_2)$ ，可得到

$$\frac{1}{Y_{\max}} \approx \frac{\eta_q}{C_1 \bar{C}_{66}} + \frac{1}{N\pi C_1} \left(\frac{\rho_1 \eta_1}{\bar{C}_{66} \pi f_s \rho_q}\right)^{0.5} \quad (7)$$

等式 7 最终表明，最大导纳随着液体的密度 ρ_1 和粘度 η_1 的增大而减小，但与质量负载 ρ_s

无关, 不过此时所提及的液体密度是接近 QCM 表面的液体面密度而非液体的体密度。因此, 可通过 QCM 接触不同溶液时产生的频率偏移响应的不同, 实现溶液的密度及粘度的测量。

由于包含待测目标的被测溶液其基载液大都为水这类经典的牛顿流体, 其溶液内任一点上的剪应力都同剪切变形速率呈线性函数关系, 其溶液粘度不会发生变化。不过当被测溶液中加入免疫磁珠后, 不仅溶液的初始粘度及密度会随之增大, 且其力学性能就能由外加磁场引起溶液内部磁性粒子分布改变而变化。因此根据溶液特性, 检测原理如图 1(c)所示, 初始阶段 QCM 表面仅有流动的基载液, 当向被测溶液中加入密度远大于溶液密度的磁珠后, 因为在相同体积内 QCM 表面被测溶液质量增加, 因此 QCM 的谐振频率随之降低。此时采用永磁体放置于 QCM 正上方以施加垂直表面的静态磁场, 近似均匀分布在溶液中的磁珠在磁场的影响下停止布朗运动而被磁化后向磁极方向聚集。由于磁珠在磁场诱导下的运动方向与 QCM 的溶液接触面方向相反, 因此 QCM 接触面的溶液密度及粘度剧烈降低, 进而使得 QCM 的频率增加。此外, 由于呈现超顺磁性的磁珠其剩磁和矫顽力都近似为零, 所以, 当撤去磁场时, 磁珠聚集消失并在重力的作用下在溶液中重新分散, 此时 QMC 接触面的溶液密度及粘度恢复至上一阶段。由于不同磁珠浓度下的溶液其初始粘度及密度不同, 因此可利用相同磁场下 QCM 频率偏移响应的不同判断溶液磁珠的浓度。总而言之, 本方法通过外磁场诱导包含磁珠的被测溶液力学特性发生变化, 利用 QCM 对负载溶液的敏感性以对其力学特性进行持续监测, 最终实现对磁珠的浓度的高灵敏检测。

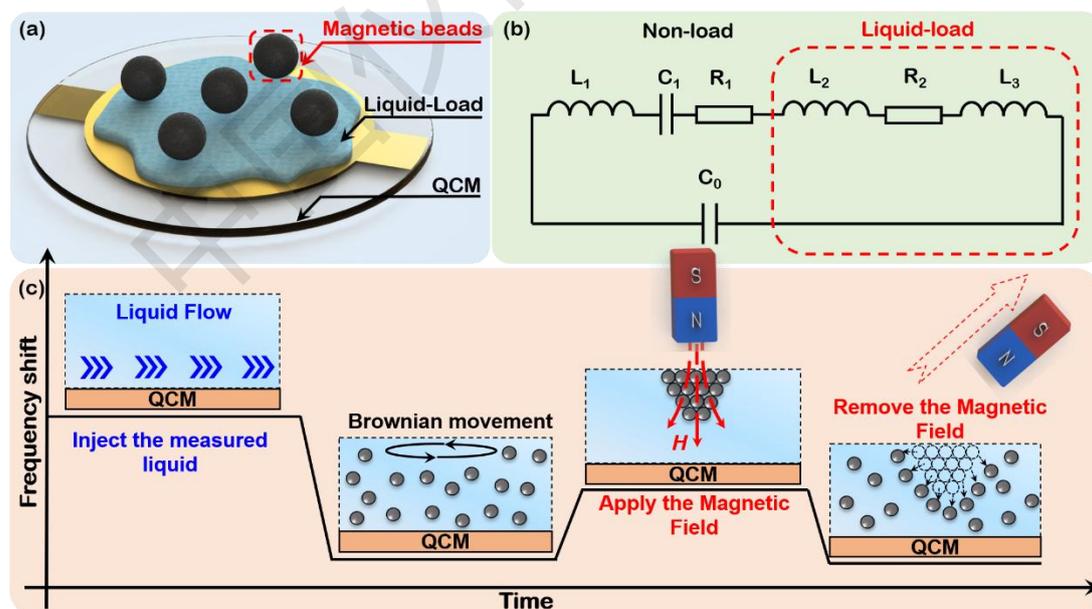


图 1 设计原理图: 图 (a) 负载磁珠溶液的石英晶体微天平示意图; 图 (b) 负载磁珠溶液的石英晶体微天平的等效电路图; 图 (c) 检测原理示意图。

2.2 设计方法

根据上述检测原理，本文设计的高灵敏磁标记分子传感芯片，如图 2 所示，藉由 QCM 同时获取磁标记试剂的磁信息和质量信息，并结合多传感数据融合处理，准确提取和磁性相关信息，实现目标生物分子的精准检测。

如图 2 所示，该传感器采用透明树脂 3D 打印制作，由微流控外壳、QCM 和印刷电路板(PCB)三个主要部分组成。采用微流体筒边缘 6 个对称定位孔作为两层螺栓连接点(图 1(c))。微通道层上部设计有样品进样口和样品出样口，由直径为 1mm 的嵌入式微通道连接。在基础层的右中央有一个中心圆形槽，用于放置质谱仪，质谱仪的上表面被 o 型橡胶圈密封在凹槽内，与微通道形成体积为 3.5 μ L 的测试室。QCM 的下表面与底部的铜箔接触，以引导电极到 PCB 层。一对 80mm 直径的粘接垫被设计在 PCB 上，为微流体盒中的 QCM 电极提供接触垫，并在板的末端为 BNC 连接器提供导电线。在 PCB 上钻了 6 个孔，聚乙烯螺钉插入其中，在组装墨盒期间作为对齐结构。垫片的图案形成一个中心孔，与 QCM 最终组件相匹配并对齐。首先将 QCM 置于微流控检测腔基层垫片的中心孔内，将石英晶体底侧的电极与基层铜箔接触，完成上述三部分的组装。最后，电极由具有高导电性的铜箔引导到放置在 PCB 层上的粘接垫上。

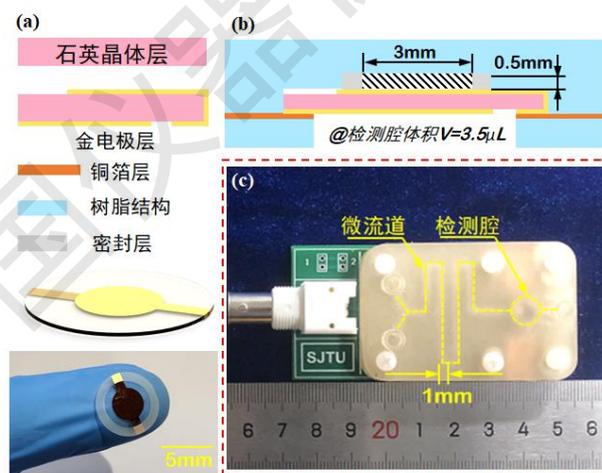


图 2 QCM+微流道检测芯片设计图及实物图

如图 3 所示，所设计的检测系统除了本文提出的传感器外，还包括蠕动泵、外磁场和频率计。其中蠕动泵用以为所制备的微流传感器提供稳定的流体，其中溶液在外磁场的影响下，传感器的相应输出进入频率计被实时分析，以反映传感器中磁珠的浓度，最终形成了高通量、快速且检测成本低的全自动检测系统。

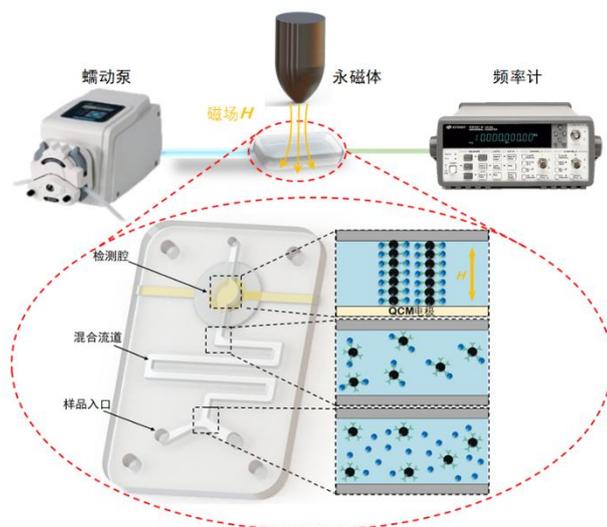


图3 本文装置结构图

2.4 实验验证过程

如图4所示,为了评估所设计的传感器对磁珠混合液的检测能力,实验采用QCM微流检测系统分别对浓度比为10ng/ml, 100 ng/ml, 1 μ g/ml及10 μ g/ml进行检测。图4(a)和图4(d)分别显示了两种不同粒径的磁珠溶液在外加0.3T直流磁场下的QCM频率变化。其实验过程为,首先需经过15-20min的溶液稳定,再在第6秒通过永磁装置立即施加0.3T直流磁场,在第12秒撤除,再在第18秒时再次施加同样的磁场并维持6秒后撤除。通过实验可观察到,在不同浓度下的两种磁珠溶液施加磁场后QCM的频率都会有不同频移,且由于施加的磁场较大,因此QCM的响应时间较短,在秒量级内即可实现较为稳定的响应。不过,通过进一步分析可发现,第二次施加磁场时,QCM频移相比第一次稍有下降,这是因为,溶液中发生团聚的磁珠无法在短时间内分散,使溶液恢复为初始状态,这使得该检测方法在单次测量中重复施加磁场将会导致其检测的准确性及重复性受到较大的影响。因此为了避免这一现象的发生,实验通过多次测量得到了QCM频移与磁珠溶液浓度变化的趋势,如图4(f)所示。实验结果显示,粒径为0.28 μ m的磁珠溶液在浓度为10ng/ml, 100 ng/ml, 1 μ g/ml, 10 μ g/ml及100 μ g/ml时QCM频移分别为1.7Hz, 12.5 Hz, 22.4Hz, 48.6 Hz及77.8 Hz; 粒径为1 μ m的磁珠溶液在多种浓度下的频移为4.1 Hz, 22 Hz, 45.6 Hz, 78.2 Hz及195.3 Hz。相比之下,粒径较小的磁珠溶液在外加磁场下引起的频移为较大者的1.76-2.51倍,进一步说明了小磁珠溶液中的密度变化对外加磁场更敏感。

实验结果显示,传感芯片对粒径为0.28 μ m磁珠(磁标记最常用)的最低检测浓度为10ng/mL,对应的磁珠检测灵敏度为1.68 \times 10⁵个/mL。采用提出的传感器无需对被测样品进

行分离、固定等复杂操作处理，在保证了测量灵敏度的同时，实现了全自动的高通量快速的检测。

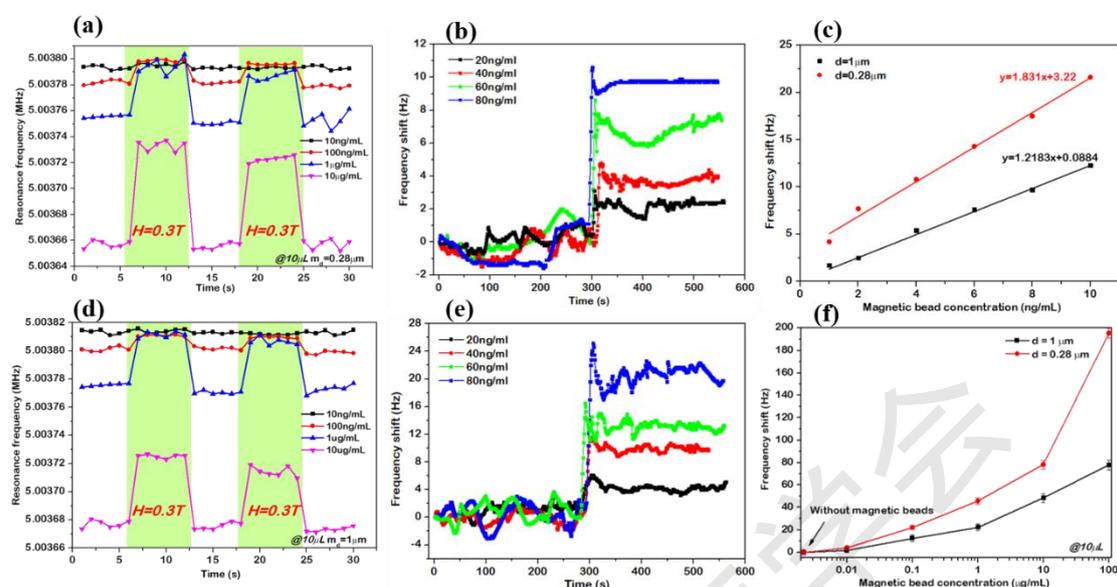


图 4 多种浓度比的大小磁珠混合液在外磁场影响下的频移图，图 (a) (d) 为两种磁珠混合液在 30s 内对骤变外磁场的响应，图 (b) (e) 为磁珠混合液在 600s 内对缓变外磁场的响应，图 (c) (f) 分别两种磁珠混合溶液在浓度比为 10-100ng/ml 及 10-10000ng/ml 的频移曲线图

参考文献:

- [1] Choi J W, Oh K W, Thomas J H, et al. An integrated microfluidic biochemical detection system for protein analysis with magnetic bead-based sampling capabilities[J]. Lab on A Chip, 2001, 2(1):27-30.
- [2] Smistrup K, Bruus H, Hansen M F. Towards a programmable magnetic bead microarray in a microfluidic channel[J]. Journal of Magnetism & Magnetic Materials, 2007, 311(1):409-415.
- [3] Lee H, Yong L, Westervelt R M, et al. IC/microfluidic hybrid system for magnetic manipulation of biological cells[J]. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2006, 41(6):1471-1480.
- [4] Jiang Z, Llandro J, Mitrelias T, et al. An integrated microfluidic cell for detection, manipulation, and sorting of single micron-sized magnetic beads[J]. Journal of Applied Physics, 2006, 99(8):702.
- [5] Meydan T. Application of amorphous materials to sensors[J]. Journal of Magnetism &

Magnetic Materials, 1994, 133(1-3):525-532.

- [6] Ripka P. Magnetic Sensors and Magnetometers[J]. Measurement Science & Technology, 2002, 13(4):645.
- [7] Mohri K, Uchiyama T, Panina L V. Recent advances of micro magnetic sensors and sensing application[J]. Sensors & Actuators A Physical, 1997, 59(1):1-8.
- [8] Schotter J, Shoshi A, Brueckl H. Development of a magnetic lab-on-a-chip for point-of-care sepsis diagnosis[J]. Journal of Magnetism & Magnetic Materials, 2009, 321(10):1671-1675.
- [9] Rostaing H, Chetouani H, Gheorghe M, et al. A micromagnetic actuator for biomolecule manipulation[J]. Sensors & Actuators A Physical, 2007, 135(2):776-781.
- [10] Besse, Pierre-A, Boero, et al. Detection of a single magnetic microbead using a miniaturized silicon Hall sensor.[J]. Applied Physics Letters, 2002.
- [11] Carvalho H R, Bruno A C, Louro S, et al. Application of an RF-SQUID to Detect Magnetic Particles Used in Immunoassays[J]. IEEE Transactions on Applied Superconductivity, 2007, 17(2):820-822.
- [12] 孙学成, 基于巨磁电阻效应的生物传感器研究. 上海交通大学, 2017.
- [13] Klein T, Wei W, Yu L, et al. Development of a multiplexed giant magnetoresistive biosensor array prototype to quantify ovarian cancer biomarkers[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2018, 126.
- [14] Wang Y, Wang W, Yu L, et al. Giant magnetoresistive-based biosensing probe station system for multiplex protein assays[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2015, 70:61-68.
- [15] Pan Y, Guo M, Nie Z, et al. Selective collection and detection of leukemia cells on a magnet-quartz crystal microbalance system using aptamer-conjugated magnetic beads[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2010, 25(7):1609-1614.
- [16] Liao J, D Tang, Lu M. Enhanced sensitivity of quartz crystal microbalance immunosensor via back-conjugation of biofunctionalized magnetic beads with an external magnetic field[J]. Biochemical Engineering Journal, 2016, 114:276-282.