

• 综 述 •

石墨烯场效应晶体管生物传感器在医学检测中的研究进展

郑 超 综述, 卢忠心[△] 审校

(华中科技大学同济医学院附属武汉市中心医院检验科, 湖北武汉 430014)

摘 要:近年来,将纳米材料石墨烯与电子元件场效应晶体管整合构建生物传感器检测生物分子越来越受到关注,这主要得益于石墨烯场效应晶体管具备以下优点,如灵敏度高和特异度好、分析速度快、免标记、廉价、能够微型化和一体化等。文章概述了石墨烯场效应晶体管结构及工作原理,石墨烯的制备及功能化方法,石墨烯场效应晶体管在医学检测中的运用。

关键词:石墨烯; 场效应晶体管; 生物传感器; 医学检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.03.026

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2019)03-0364-04

文献标识码:A

Research progress of graphene field effect transistor biosensor in medical detections

ZHENG Chao, LU Zhongxin[△]

(Department of Clinical Laboratory, the Central Hospital of Wuhan Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430014, China)

Abstract: In recent years, more and more attention has been paid to the integration of nano-material graphene and field effect transistor to construct biosensor for detecting biomolecules. This is mainly due to the following advantages of graphene field effect transistor including high sensitivity and specificity, rapid analysis, label-free detection, cheap price, miniaturization and integration. This review summarizes the structure and working principle of graphene field effect transistor biosensor, the preparation and functionalization of graphene, and the application of graphene field effect transistor in medical detections.

Key words: graphene; field effect transistor; biosensor; medical detections

医学检测的关键在于快速准确检测生物分子,研究建立灵敏度高、特异度好、快速简便的检测新方法、新技术、新装备对于疾病的诊断具有重要意义。纳米材料科学技术和电子技术的快速发展助力生物传感器在医学检测中得以广泛运用,特别是石墨烯场效应晶体管生物传感器。与传统检测技术相比,在核酸、蛋白质、细菌等的检测方面,石墨烯场效应晶体管具备一定的优势,主要表现在灵敏度高和选择性高、分析速度快、免标记、廉价、能够微型化和一体化等^[1],这些优点助力石墨烯场效应晶体管在生物分子的床旁化检测中发挥重要作用。

迄今为止,关于石墨烯场效应晶体管在医学检测中的研究越来越多。本文简要综述石墨烯器件的制备及工作原理,石墨烯的制备及功能化,重点综述石墨烯场效应晶体管在医学检测中的运用,包括核酸、蛋白质、细菌的检测等。

1 石墨烯场效应晶体管传感器制备

1.1 石墨烯场效应晶体管生物传感器结构及工作原

理 石墨烯的场效应晶体管生物传感器结构如图 1 所示^[6],包括源漏两极及两极之间的导电材料石墨烯,基底材料和银/氯化银作为栅极,研究者可以在石墨烯上修饰各种生物识别元件检测生物分子。石墨烯场效应晶体管生物传感器在医学检测中的机理主要有电荷掺杂效应和静电效应^[2-5]。当带有电荷的生物分子靠近石墨烯表面时会影响石墨烯的电荷密度,从而影响石墨烯器件的导电性或者狄拉克点(电导率最低点)的偏移,通过电学信号的变化对生物分子进行定性或定量检测。

1.2 石墨烯的制备 石墨烯的制备方法主要有微机械剥离法^[7]、化学剥离法^[8]、化学气相沉积法^[9]。

1.2.1 微机械剥离法 即用胶带对高定向热解石墨反复剥离制备石墨烯,此法称为“scotch-tape”法。微机械剥离法制备石墨烯过程复杂繁琐,但保证了石墨烯结构的完整和质量,更多地被运用于石墨烯器件的本征性能研究。但是微机械剥离法难以控制石墨烯大小、层数和形状,并且产量很低,难以实现规模化制

[△] 通信作者, E-mail: lzx71@yahoo.com。

本文引用格式: 郑超, 卢忠心. 石墨烯场效应晶体管生物传感器在医学检测中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(3): 364-367.

备,限制了其在传感器中的应用。

1.2.2 化学剥离法 在强酸强氧化剂作用下制备石墨烯的方法称为化学剥离法,制备得到的石墨烯为氧化石墨烯。化学剥离法简单、廉价,石墨烯溶液均一稳定,并且能大规模制备。但是由于制备过程对石墨烯的结构产生了很大的破坏,导致电子迁移率低,往往需要通过化学还原或者热还原等方法去除氧化石墨烯上的含氧官能团,得到导电性能好的还原氧化石墨烯。

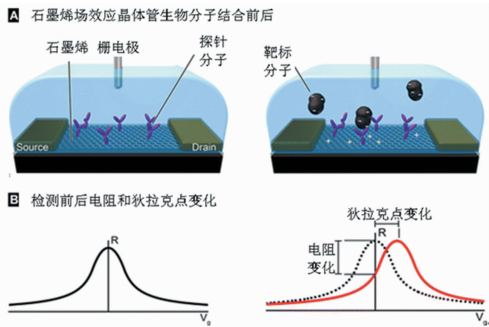


图 1 石墨烯场效应晶体管生物传感器示意图及传感原理图

1.2.3 化学气相沉积法(CVD) 即甲烷和氢气在高温的作用下可以在金属(铜、铂、镍等)表面催化生长,该方法可以快速大规模地制备高质量单层石墨烯,但是化学气相沉积法需要将生长在金属表面的石墨烯转移到相应基底上,转移的过程常常涉及到有机物的使用,因此会影响到石墨烯本征优越性能和后续生物分子的修饰。

1.3 石墨烯的功能化 为了保证传感器件的灵敏度、特异度和稳定性,可以对石墨烯进行功能化修饰。化学剥离法制备的石墨烯含有大量的含氧官能团,如羟基、羧基等,可以利用这些官能团共价修饰生物分子,例如羧基可以与蛋白质的氨基或酯基反应。共价结合方法丰富了生物分子的修饰方法,但石墨烯的本征性能会受到一定影响。微机械剥离法和化学气相沉积法制备的石墨烯,表面不含有任何官能团,为提高传感器的检测性能,同样可以在石墨烯表面通过共价或者非共价的方式修饰生物分子。由于共价修饰会在一定程度上影响石墨烯的性能,所以非共价修饰更多被运用于石墨烯的功能化。非共价修饰的方法主要有范德华力、 π - π 堆积、静电吸附等^[10-11]。在石墨烯表面固定纳米颗粒也是一种被广泛运用的非共价修饰方法。

2 石墨烯场效应晶体管生物传感器在医学检测中的应用

2.1 核酸检测

2.1.1 DNA 传感器 石墨烯的场效应晶体管生物传感器被广泛运用于核酸的检测。DONG 等^[12]使用多层 CVD 石墨烯场效应晶体管检测 DNA,探针

DNA 通过静电吸附在石墨烯表面,该器件对 DNA 的检测限为 10 pM,作者也通过在石墨烯表面沉积金纳米颗粒来提高检测上限。CHEN 等^[13]报道了使用单层 CVD 石墨烯作为沟道材料,检测限比 DONG 等^[12]报道的低一个数量级,这得益于单层石墨烯更大的体表比。ZHENG 等^[14]在单层 CVD 基础上进一步利用电中性的肽核酸(PNA)代替 DNA 作为识别探针,检测限进一步低至 10 fM。

2.1.2 miRNA 传感器 miRNA 是一类约 18~25 个核苷酸组成的单链非编码 RNA,研究表明 miRNA 与许多疾病的发生、发展有密切关系,如肿瘤、心血管疾病等。XU 等^[15]发明了一种石墨烯场效应晶体管阵列传感器,并且利用该传感器特异性检测 let-7g,通过链霉亲和素-生物素的放大作用实现检测信号的放大,最低检测到了 100 fM 的靶标。CAI 等^[16]在还原氧化石墨烯表面沉积金纳米颗粒,用电中性的 PNA 代替 DNA 作为探针分子,金纳米颗粒及 PNA 的使用提高了传感器对 miRNA 的检测灵敏度及特异性。

2.2 蛋白质的检测

2.2.1 肿瘤标志物的检测 肿瘤标志物的筛查对于肿瘤的早期发现和诊疗具有重要意义,因此研究简单、快速、经济、有效的方法、技术,对于肿瘤标志物的检测非常重要。石墨烯场效应晶体管在肿瘤标志物的筛查中具有一定优势。KIM 等^[17]将前列腺特异性抗原(PSA)抗体固定在还原氧化石墨烯表面检测前列腺癌标志物——前列腺特异性抗原-抗糜蛋白酶复合物(PSA-ACT),当 PSA 抗体结合 PSA-ACT 后,狄拉克点发生偏移,根据狄拉克点偏移多少进行检测,检测限低至飞摩尔,检测范围跨越 6 个数量级。MYUNG 等^[18]为了提高传感器的检测灵敏度,将二氧化硅纳米颗粒(NPs)包裹石墨烯检测乳腺癌标志物——人表皮生长因子受体 2(HER2)和表皮生长因子受体(EGFR),NPs 经 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES)处理后表面有带正电的氨基,可以与带负电的氧化石墨烯(GO)静电结合形成 GO-NPs,化学还原后形成 rGO-NPs。HER2 和 EGFR 抗体被固定在 rGO-NPs,该传感器对 HER2 和 EGFR 的检测限分别为 1 pM 和 100 pM,并且在高浓度的蛋白质干扰下也能检测到低浓度的靶标,具有很高的特异性。ZHOU 等^[19]也使用石墨烯场效应晶体管实现了实时检测肿瘤标志物癌胚抗原(CEA),传感器的电流变化越大,CEA 的浓度越高,通过电流的变化大小可对 CEA 进行定量检测。同样,最近 MANOSOURI 等^[20]使用聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)作为柔性基底和羧基化的多壁碳纳米管/还原氧化石墨烯作为沟道材料构件场效应晶体管,然后将 CA125 适配体修饰

在沟道上,该适配体传感器检测范围宽($1.0 \times 10^{-9} \sim 1.0 \text{ U/mL}$),检测限低($5.0 \times 10^{-10} \text{ U/mL}$)。

2.2.2 心血管疾病标志物检测 脑钠肽(BNP)是心力衰竭的重要标志物,LEI 等^[21]将铂纳米颗粒沉积在石墨烯场效应晶体管上,然后将 BNP 抗体修饰在纳米铂颗粒上,提高传感器的检测灵敏度,该传感器结合微滤系统实现了对全血中 BNP 的高灵敏度、高特异度检测,灵敏度达 100 fM,其他蛋白质对 BNP 的检测几乎没有影响,该传感器有望运用于临床检测。WANG 等^[22]采用微加工工艺实现了规模化制备微米级别的 CVD 石墨烯场效应晶体管,并将凝血酶适配体通过 1-苾丁酸-琥珀酰亚胺酯(PASE)连接剂修饰在石墨烯表面,通过电流的变化实现了实时检测凝血酶,并且研究了凝血酶适配体与凝血酶的相互作用的情况。

2.2.3 免疫球蛋白定量 免疫球蛋白 E(IgE)和 G(IgG)是人体免疫系统的重要组成部分,它们与过敏、感染、肿瘤等密切相关。OHNO 等^[23]将 IgE 适配子修饰在石墨烯表面检测 IgE, IgE 的适配子的使用可以增强与 IgE 的作用和降低反应体系的德拜长度,降低检测限,因此该传感器最低能检测到 0.29 nM 的 IgE。MAO 等^[24]在还原氧化石墨烯表面修饰金纳米颗粒提高检测灵敏度,抗 IgG 抗体固定在金颗粒表面检测 IgG,该传感器的检测限为 0.2 ng/mL。

2.3 细菌的检测 快速、正确鉴定细菌对于疾病的诊断和治疗也非常重要。石墨烯场效应晶体管在细菌的检测中同样具有很大的优势与前景。MOHANTY 等^[25]将化学修饰的石墨烯与细菌整合构建器件,当带负电荷的革兰阳性细菌(蜡样芽孢杆菌)静电吸附在带正电荷的石墨烯上时,石墨烯的电导率增大,通过电导率的变化来检测细菌,遗憾的是静电吸附的方式导致了该法特异度不高。HUANG 等^[3]报道了一种高灵敏检测细菌的传感器,在 CVD 石墨烯表面修饰大肠杆菌抗体,当加入的大肠杆菌浓度越大时,电导率变化也越大,检测灵敏度达 10 cfu/mL,其他细菌也没有对信号产生干扰,特异度很高,该研究团队进一步运用该传感器进行抗菌药物的筛选。最近,CHANG 等^[26]报道了利用超声辅助自组装氧化石墨烯构建传感器,金纳米颗粒被溅射在石墨烯表面,后将大肠杆菌抗体固定在金纳米颗粒表面,灵敏度同样也是 10 cfu/mL,虽然灵敏度没有提高,但是这种方法更加简单、廉价,可以大规模运用。

2.4 其他 外伤患者动脉血中乳酸的水平与病死率有很大关联,及时检测患者血中的乳酸水平对降低患者病死率具有重要意义。LABROO 等^[27]将石墨烯转移到柔性基底 PET 上,后将乳酸氧化酶修饰在石墨

烯表面检测血中的乳酸水平,传感器检测线性范围为 0.08 M~20 M。HUANG 等^[28]在石墨烯表面修饰葡萄糖氧化酶和谷氨酸脱氢酶检测葡萄糖和谷氨酸,检测限分别为 0.1 mM 和 5 mM。

3 结 论

本文简要综述了石墨烯场效应晶体管的结构及工作原理、石墨烯的制备方法、石墨烯的功能化方法及石墨烯场效应晶体管在医学检测中的研究进展。石墨烯的优越电学性能,对于构建快速、灵敏、廉价的场效应晶体管检测系统提供了巨大的优势,石墨烯制备技术的快速发展更是为制备性能优越的石墨烯场效应晶体管生物传感器提供了保障。石墨烯场效应晶体管生物传感器用于医学检测目前还处于刚刚兴起的阶段,转化为商业诊断器材仍然存在一些问题:(1)对实际样本的检测能力不够,生物传感器对于血液或者体液中的复杂物质抗干扰能力较差;(2)德拜长度和沟道材料石墨烯有限的面积限制了石墨烯场效应晶体管具备更高灵敏度;(3)如何规模化制备性能均一稳定的廉价石墨烯场效应晶体管及阵列仍然具有很大挑战。需要解决以上问题可能需要从以下几个方面入手:(1)研究石墨烯功能化的新方法和发现更多的生物识别元件,提高传感器检测灵敏度、特异度及对实际样本的检测能力;(2)研究大规模制备低价高质量石墨烯的方法,寻找廉价且不影响器件本身性质的基底。相信在更多研究人员的努力下,石墨烯场效应晶体管能够在医学检测中扮演越来越重要的角色。

参考文献

- [1] ZHANG A, LIEBER C M. Nano-bioelectronics[J]. Chem Rev, 2016, 116(1): 215-257.
- [2] LIN P, YAN F. Organic thin-film transistors for chemical and biological sensing[J]. Adv Mater, 2012, 24(1): 34-51.
- [3] HUANG Y, DONG X, LIU Y, et al. Graphene-based biosensors for detection of bacteria and their metabolic activities[J]. J Mater Chem, 2011, 21(33): 12358-12362.
- [4] LIN C T, LOAN P T K, Chen T Y, et al. Label-free electrical detection of dna hybridization on graphene using hall effect measurements: revisiting the sensing mechanism[J]. Adv Funct Mater, 2013, 23(18): 2301-2307.
- [5] HE R X, LIN P, LIU Z K, et al. Solution-gated graphene field effect transistors integrated in microfluidic systems and used for flow velocity detection[J]. Nano Lett, 2012, 12(3): 1404-1409.
- [6] STINE R, MULVANEY S P, ROBINSON J T, et al. Fabrication, optimization, and use of graphene field effect sensors[J]. Anal Chem, 2013, 85(2): 509-521.
- [7] NOVOSELOV K S, GEIM A K, MOROZOV S V, et al.

- Electric field effect in atomically thin carbon films[J]. *Science*, 2004, 306(5696): 666.
- [8] HE Q. Graphene-based electronic sensors[J]. *Chem Sci*, 2012, 3(6): 1764-1772.
- [9] BAE S, KIM H, LEE Y, et al. Roll-to-roll production of 30-inch graphene films for transparent electrodes[J]. *Nat Nanotechnol*, 2010, 5(8): 574-578.
- [10] CUI Y, KIM S N, JONES S E, et al. Chemical functionalization of graphene enabled by phage displayed peptides [J]. *Nano Letters*, 2010, 10(11): 4559-4565.
- [11] CUI Y, KIM S N, NAIK R R, et al. Biomimetic peptide nanosensors[J]. *Acc Chem Res*, 2012, 45(5): 696-704.
- [12] DONG X, SHI Y, HUANG W, et al. Electrical detection of dna hybridization with single-base specificity using transistors based on cvd-grown graphene sheets[J]. *Adv Mater*, 2010, 22(14): 1649-1653.
- [13] CHEN T Y, LOAN P T, HSU C L, et al. Label-free detection of dna hybridization using transistors based on cvd grown graphene[J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 41(1): 103-109.
- [14] ZHENG C, HUANG L, ZHANG H, et al. Fabrication of ultrasensitive field-effect transistor dna biosensors by a directional transfer technique based on cvd-grown graphene[J]. *Acs Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(31): 16953-16959.
- [15] XU G, ABBOTT J, QIN L, et al. Electrophoretic and field-effect graphene for all-electrical dna array technology[J]. *Nat Commun*, 2014, 5(9): 4866.
- [16] CAI B, HUANG L, ZHANG H, et al. Gold Nanoparticles-decorated graphene field-effect transistor biosensor for femtomolar microrna detection[J]. *Biosensors Bioelectron*, 2015, 74(6): 329-334.
- [17] KIM D J, SOHN I Y, JUANG J H, et al. Reduced graphene oxide field-effect transistor for label-free femtomolar protein detection[J]. *Biosensors Bioelectron*, 2013, 41(1): 621-626.
- [18] MYUNG S, SOLANKI A, KIM C, et al. Graphene-encapsulated nanoparticle-based biosensor for the selective detection of cancer biomarkers [J]. *Adv Mater*, 2011, 23(19): 2221-2225.
- [19] ZHOU L, MAO H, WU C, et al. Label-free graphene biosensor targeting cancer molecules based on non-covalent modification [J]. *Biosensors Bioelectron*, 2017, 87: 701-707.
- [20] MANOSOURI S M, SALIMI A. Ultrasensitive flexible fet-type aptasensor for ca125 cancer marker detection based on carboxylated multiwalled carbon nanotubes immobilized onto reduced graphene oxide Film [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1000(2): 273-282.
- [21] LEI Y M, XIAO M M, LI Y T, et al. Detection of heart failure-related biomarker in whole blood with graphene field effect transistor biosensor [J]. *Biosensors Bioelectron*, 2017, 91(5): 1-7.
- [22] WANG Y, XIAO Y, MA X, et al. Label-free and sensitive thrombin sensing on a molecularly grafted aptamer on graphene[J]. *Chem Commun*, 2012, 48(5): 738-740.
- [23] OHNO Y, MAHASHI K, MATSUMOTO K. Label-free biosensors based on aptamer-modified graphene field-effect transistors[J]. *J Ame Chem Soc*, 2010, 132(51): 18012-18013.
- [24] SHUN M, KEHAN Y, GANHUA L, et al. Highly sensitive protein sensor based on thermally-reduced graphene oxide field-effect transistor[J]. *Nano Res*, 2011, 4(10): 921-930.
- [25] MOHANTY N, BERRY V. Graphene-based single-bacterium resolution biodevice and dna transistor: interfacing graphene derivatives with nanoscale and microscale bio-components[J]. *Nano Lett*, 2015, 8(12): 4469-4476.
- [26] CHANG J, MAO S, ZHANG Y, et al. Ultrasonic-assisted self-assembly of monolayer graphene oxide for rapid detection of escherichia coli bacteria[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(9): 3620-3626.
- [27] LABROO P, CUI Y. Flexible graphene bio-nanosensor for lactate[J]. *Biosensors Bioelectron*, 2013, 41(6): 852-856.
- [28] HUANG Y, DONG X, SHI Y, et al. Nanoelectronic biosensors based on CVD grown graphene [J]. *Nanoscale*, 2010, 2(8): 1485-1488.

(收稿日期: 2018-09-03 修回日期: 2018-11-11)