

场效应晶体管生物传感器在核酸检测中的应用进展

施玥^{1,2}, 韩尧², 李浩², 孙岩松^{1,2*}

1.牡丹江医科大学公共卫生学院, 黑龙江 牡丹江 157011;

2.军事科学院军事医学研究院, 病原微生物生物安全全国重点实验室, 北京 100071

摘要: 场效应晶体管生物传感器是一种基于场效应晶体管原理检测生物分子或生物标志物的传感器, 由于其电场效应的信号放大特性可以检测到极低浓度的生物分子相互作用, 进一步实现生物分子识别, 在核酸检测领域具有无需核酸扩增的独特优势, 核酸检测时间更短。此外, 场效应晶体管生物传感器在核酸检测性能、便携性和成本效益等方面也有优势。总体而言, 场效应晶体管生物传感器可实现超快速、超高灵敏度的病毒基因靶向识别, 其结合微流控技术、纳米材料、柔性电子材料等, 在食品安全、临床诊断、基因分型、生物安全等领域具有巨大的应用潜力。为了更好地将场效应晶体管传感器应用于生物检测领域, 回顾了场效应晶体管生物传感器在核酸检测中的应用, 从生物识别层面对场效应晶体管生物传感器进行了分类讨论, 以期在场效应晶体管生物传感器在核酸检测中的应用研究提供参考。

关键词: 场效应晶体管; 核酸检测; 传感器

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2024.0204

中图分类号: Q78, R373

文献标志码: A

Application Progress of Biosensors Based on Field-effect Transistors in Nucleic Acid Detection

SHI Yue^{1,2}, HAN Yao², LI Hao², SUN Yansong^{1,2*}

1.College of Public Health, Mudanjiang Medical University, Heilongjiang Mudanjiang 157011, China;

2.State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

Abstract: The field-effect transistor (FET) biosensor is a type of sensor based on the principle of detecting biomolecules or biomarkers. Due to the signal amplification characteristics of its electric field effect, it enables the detection of biomolecular interactions at extremely low concentrations, further enabling biomolecular recognition. In the field of nucleic acid detection, this approach offers the unique advantage of eliminating the need for nucleic acid amplification, resulting in shorter detection times. Additionally, FET biosensors also excel in nucleic acid detection performance, portability, and cost-effectiveness. Overall, FET biosensors can achieve ultra-rapid and ultra-sensitive targeted identification of viral genes. Combined with microfluidic technology, nanomaterials, or flexible electronic materials, they hold significant promise for application in food safety, clinical diagnosis, genotyping, biosafety, and other fields. To facilitate the better application of FET sensors in biological detection, this review summarized the current applications of FET biosensors in nucleic acid detection and provided a classification and discussion based on the biological recognition layer, aiming to offer insights for future research in this area.

Keywords: field-effect transistors; nucleic acid; biosensors

伴随着世界经济全球化, 国家与地区之间来往频繁, 也带来了传染病大流行的风险。例如 2003 年的严重急性呼吸综合征 (severe acute re-

spiratory syndrome, SARS), 2019 年的新型冠状病毒感染 (corona virus disease 2019, COVID-19) 等, 这些传染病的流行给全球经济和公共安全带来了

收稿日期: 2024-12-23; 接受日期: 2025-03-05

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFC2605100)。

联系方式: 施玥 E-mail: shiyue22@163.com; *通信作者 孙岩松 E-mail: sunys6443@126.com

严重的负担^[1]。传染病防治的三大原则是控制传染源、切断传播途径与保护易感人群^[2]。病原体检测能够及时识别感染者,阻止传染病的进一步扩散,对疫情控制具有重要意义。目前,病原体检测的主要方法有核酸检测、基于免疫学的方法以及平板培养和菌落计数方法^[3]。平板培养计数法至今仍是传统微生物检测的标准方法,其适用性强、成本低、准确性高,但培养方法过于耗时,检测过程需要数天时间^[4]。免疫测定通过抗原抗体相互作用灵活检测病原体,所需时间大幅缩短,快速抗原检测可在几分钟之内得到结果^[5]。然而,抗体可用性有限,并且生物体中存在有病原体但没有显著抗体的情况,这种情况通常采用核酸检测方法(nucleic acid testing, NAT)。

核酸检测是指通过检测生物体内的DNA或RNA来识别特定的病原体或遗传信息的一种实验方法。聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)是核酸检测中广泛使用的金标准,但检测时间需要1 h左右,同时对温度控制设备的依赖,限制了PCR的应用场景^[6]。PCR反应的核酸扩增过程需要特定的序列、复杂的引物和多种酶的参与,同时可能导致假阳性污染。场效应晶体管(field-effect transistors, FET)生物传感器在核酸即时检测领域有着独特的优势,FET传感器的工作原理是通过将核酸检测具有选择性响应的生物识别材料修饰在栅极区域,以此来实现对目标物的检测,当目标核酸与生物识别材料发生相互作用时,会引起敏感材料微弱电学性质的改变,通过FET信号放大,从而改变源极与漏极之间较大的电流信号,通常这种相互作用反应和电信号转换速度非常快,能在极短的时间内产出检测结果,进而实现快速、高灵敏度的病毒诊断。本文回顾了用于核酸检测的FET生物传感器,从生物识别层方面对FET生物传感器进行了分类讨论,探讨了用于核酸检测的FET生物传感器面临的挑战与未来方向,以为FET生物传感器的优化提供参考。

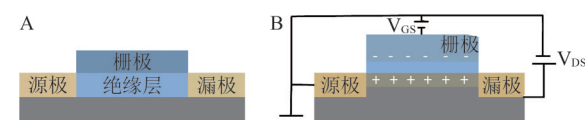
1 场效应晶体管生物传感器

场效应晶体管传感器是基于场效应晶体管工作原理的一类传感器,广泛应用于食品安全、疾病预防与诊断、环境监测等领域。在FET传感器中,传感器敏感层与待检测物质之间的相互作用会进

一步被场效应管放大导致输出电信号的变化,再通过后端的电脑系统判读,从而实现对物质的检测。FET生物传感器将场效应晶体管的传感器技术与生物分子的识别结合,可用于检测生物样品中的分子、细胞或其他生物活性物质。

1.1 场效应晶体管传感器的结构与基本原理

场效应晶体管是由源极、漏极、栅极组成的三极管半导体固态器件,利用电场效应来控制晶体管的电流(图1)。场效应晶体管通过施加在半导体沟道层的栅极电压的改变来控制源极与漏极之间的电流^[7]。FET的器件按照参与导电的载流子主要分为两种——n型与p型,这两种器件的电荷载流子分别为电子和空穴。目标分子带正电时,n型FET传感器的响应为电子聚集的电导增加;目标分子带负电时,n型FET传感器的响应为电导降低,p型FET传感器的响应正好相反^[8]。场效应晶体管为构建生物传感器提供了一个固有的信号放大平台,在特定分析物存在时产生强烈的电响应,微弱的检测信号几乎无损地被后端平台接收到,这也是场效应晶体管生物传感器灵敏度高的关键。



A: 典型 FET 器件示意图; B: p 沟道型 FET 的工作原理

图1 场效应晶体管(FET)传感器的工作原理

Fig. 1 Operating mechanism of FET sensors

1.2 场效应晶体管生物传感器的结构与工作原理

常见的生物传感器主要由三个部分组成:一是具有特异性的敏感层,作为具有高特异性的生物分子或者有机物分子可以选择性识别待测生物分子,它是引起理化反应的主要结构;二是信号转换系统,可以将敏感层与待测生物分子相互作用之后产生的理化信号转化为其他光学或者电学信号;三是信号处理系统,可将收集到的信号经后续的放大与降噪处理后,实现对待测信号的直接读取。

场效应晶体管生物传感器采用生物敏感层代替栅极层,通过影响沟道表面电子的迁移,将生物层面的变化转变为FET电信号的变化,从而实现

对生物分子的高灵敏检测。FET生物传感器的结构和材料有许多类型,按照结构可分为金属氧化物半导体场效应晶体管(metal-oxide-semiconductor field-effect transistor, MOSFET)、结型场效应晶体管(junction field-effect transistor, JFET)、隧穿场效应晶体管(tunneling field-effect transistor, TFET)等,按照材料类型分为传统半导体材料、二维材料

和有机半导体材料等^[9-10]。不同结构和材料的FET传感器组合不同的目标分析物可以构成多种不同的传感器系统。这些传感器系统整体结构类似,目标分析物的浓度/活性或生物分子的存在/数量通过场效应转导成被放大的电信号,经过处理并显示到电子系统中(图2)。

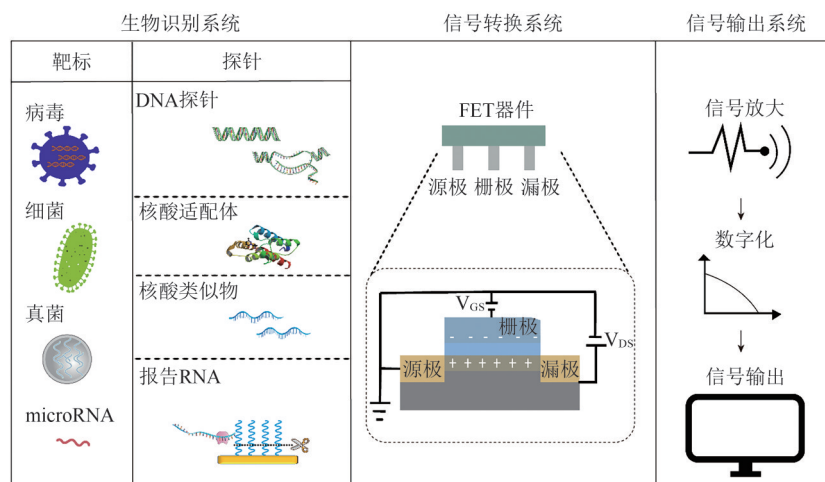


图2 生物场效应管传感器示意图

Fig. 2 Schematic representation of the biofield effect tube sensor

2 场效应晶体管生物传感器在核酸检测中的应用进展

场效应晶体管生物传感器应用于核酸检测中,有一个重要的影响因素是溶液中的离子屏蔽效应,即德拜屏蔽(Debye屏蔽)。每一个带电粒子产生的电场会束缚众多携带相反电荷的粒子环绕在该粒子周围,而随着距离的增大,该粒子的电场强度将会被众多携带相反电荷的粒子所屏蔽,该距离即为德拜长度。在Debye长度之外,电荷被有效屏蔽。因此,当目标分子在器件表面吸附引起的电荷变化超出Debye长度,电位波动很难被传感器检测到。为避免这一现象,一方面可以通过超短适配体筛选、脱盐稀释处理及高频检测来克服,另一方面当前研究主要选择RNA、核酸适配体、核酸类似物等可以发生在德拜长度内的探针分子固定在器件沟道表面作为生物识别元件进行检测^[11](表1)。场效应晶体管生物传感器的生物敏感层作为直接接触待测物质的部分,对于后续的检测信号至关重要。

2.1 基于DNA探针的FET生物传感器

2.1.1 基于DNA探针的FET生物传感器的原理 当前,FET传感器在核酸检测中最常用的生物识别元件是DNA探针,DNA探针可以作为识别靶序列的探针分子,结合FET组成生物传感器。DNA-FET通常将与靶序列互补的DNA探针固定在导电沟道表面,当DNA探针与靶序列杂交时由于额外负电荷的引入,表面电位发生变化,从而改变场效应管阈值电压和源极至漏极电流^[12]。使用静电吸附或共价键结合的方式固定单链DNA可以将寡核苷酸非常紧密地附着在栅极氧化物上,并在固定过程带来较高的FET信号振幅,但是杂交效率不高^[24-25]。此外,使用官能化硅烷共价连接探针和其他方法(如ED-NHS偶联)也可实现稳定且精准高效的电荷转移,并有助于保持受体分子的生物活性^[26]。

2.1.2 基于DNA探针的FET生物传感器的应用 常规使用的柔性单链DNA(single-stranded DNA, ssDNA)探针作为单链长探针容易在导电沟道出现聚集和纠缠,无法识别目标序列,导致

表1 不同类型FET传感器相关参数

Table 1 Specifications and parameters of various types of FET sensors

FET传感器探针类型		靶标类型	样本前处理	检测时间	检测限	参考文献
DNA	y形DNA双探针	SARS-CoV-2 RNA	模拟唾液样本	1 min	0.03 copy·μL ⁻¹	[12]
	三茎结构DNA探针	SARS-CoV-2变异株RNA	模拟咽拭子样本	15 min	0.03 copy·μL ⁻¹	[13]
	四面体DNA纳米结构探针	SARS-CoV-2 RNA	加热释放核酸	80 s	0.02 copy·μL ⁻¹	[14]
	四面体DNA结构三探针	SARS-CoV-2 RNA	50℃加热20 min	5 min	0.025 copy·μL ⁻¹	[15]
核酸适配体	核酸适配体+ssDNA	SARS-CoV-2 RNA	15 min快速提取咽拭子样本核酸	1 min	C _t >35	[16]
	核酸适配体	SARS-CoV-2 RNA	加热释放核酸	4 min	0.02 copy·μL ⁻¹	[17]
核酸类似物	PMO	SARS-CoV-2 RNA	呼吸道样本RNA提取试剂盒	2 min	2.29 fmol·L ⁻¹	[18]
	PMO	DNA	/	5 min	6 fmol·L ⁻¹	[19]
	PNA	microRNA	模拟血清样本	30 min	10 fmol·L ⁻¹	[20]
报告RNA	报告RNA+crRNA	CoV ORF1ab、CoV N、HCV RNA	模拟唾液样本	30 min	25 amol·L ⁻¹	[21]
	报告RNA+双crRNA	CoV ORF1ab、CoV N RNA	模拟咽拭子样本	30 min	1.56 amol·L ⁻¹	[22]
	报告RNA+crRNA	SARS-CoV-2 N RNA	95℃加热5 min	30 min	1 amol·L ⁻¹	[23]

ssDNA 探针失活并影响检测的灵敏度。为了解决这个问题,可以对 DNA 探针进行变形和结构上的优化,ssDNA 可组装成不同形态以阻止 DNA 链的缠绕与聚集。Kong 等^[12]将由 3 条 DNA 单链组装而成的“y”形 DNA 双探针结合石墨烯场效应晶体管(graphene FET,gFET)直接用于核酸检测,探针可在石墨烯界面上直立且能够减少探针在石墨烯表面的非特异性吸附,该方法可在 1 min 内检测到目标片段。与 ss-DNA 探针相比,探针的“y”形结构具有更高的生物识别率,两个识别位点的协同作用极大地提高了探针与靶标的杂交率^[26]。除了“y”形结构,3 条 DNA 单链也可以组装成另一种形式。Zhang 等^[13]报告了一种基于回形针状核酸探针(pin-shaped nucleic acid probe, PNprobe)功能化场效应晶体管生物传感器的多路检测方法用于检测严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型(severe acute respiratorg syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)变体。在 PNprobe 中,正向和反向序列与识别序列的不同部分互补配对,形成稳定的三茎结构,疏基功能化的 PNprobe 通过磺基-SMCC 交联试剂固定在氨基处理的 IGZO FET 传感界面上,在 FET 沟道表面形成平均高度约为 9.1 nm、均匀垂直的 PNprobe 功能层,结构优化的 PNprobe 能够在单核苷酸分辨率下特异性识别突变的病毒 RNA。

四面体 DNA 纳米结构(tetrahedral DNA nano-

structure,TDN)由 4 个适当设计的 ssDNA 基于碱基配对的互补规则合成,相对更容易合成,在几秒钟内一步法工艺中产率高达 95%^[27]。由于可编程性,TDN 拥有丰富的功能修饰位点,寡核苷酸可以通过合成过程中延伸 ssDNA 或通过互补序列进行杂交,以单价或多价修饰到 TDN 的顶点或侧面^[14]。基于这些特性,TDN 被广泛运用到生物传感领域中。Wang 等^[14]报告了一种用于 SARS-CoV-2 核酸快速检测的基于四面体 DNA 纳米结构的晶体管。该方法的生物识别部分由刚性四面体碱基和柔性臂组成,四面体碱基具有 6 个双链 DNA(double-stranded DNA,dsDNA)边缘,底部的每个顶点携带一个用于石墨烯固定的氨基,整体高度约为 5 nm。四面体结构作为基座,顶端的柔性臂包括一个用于分析物识别的探针和增加手臂灵活性的 5-胸腺嘧啶核苷酸间隔器。TDN 的刚性四面体基座使探针垂直定向,探针之间没有纠缠也没有吸附在石墨烯表面,与 ssDNA 相比,柔性臂上的悬垂探针活性更强并以更高的效率识别目标序列。除了单四面体,也有研究将四面体框架二聚体结合 FET 传感器进行核酸检测。TDN 的金字塔状顶端只有 1 个点可进行修饰,而四面体框架二聚体顶端有 3 个顶点可用于固定多个探针。Wu 等^[15]开发了一种用 3 探针四面体 DNA 框架二聚体修饰的石墨烯场效应晶体管传感器,可用于

10合1的SARS-CoV-2 RNA池测试。3探针的协同效应以及特殊的纳米结构使其具有更高的结合亲和力、更快的响应速度和更好的特异性。该传感器在不需要核酸扩增的情况下,可在平均74 s的诊断时间内识别出30份鼻咽拭子中的全部阳性病例。

2.2 基于核酸适配体探针的FET生物传感器

2.2.1 基于核酸适配体探针的FET生物传感器的原理 核酸适配体(apptamer)是通过体外筛选技术得到的单链核酸序列(DNA或RNA),能够形成独特且多功能的三级结构,可以与靶序列结合,具有高选择性和亲和力^[28]。核酸适配体与目标分子结合时,自身的构象会发生变化形成独特的三维结构。空间构象不同,适配体对靶标的特异性及亲和力也不同,通过指数富集配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)筛选出的候选适配体能够通过碱基互补配对、范德华力、 π - π 堆积以及氢键等作用与靶标特异性识别并结合^[29]。核酸适配体化学稳定性好,体积小,尺寸仅为3~5 nm,结构紧凑,可以密集地固定在传感界面上,从而提高靶标结合效率。同时,由于核酸适配体体积小能够显著缩小目标分子与沟道材料之间的距离,其形态改变更容易发生在德拜长度内,有效克服德拜屏蔽现象导致的传感器灵敏度降低问题,提高传感性能^[30]。基于以上特点,核酸适配体也作为FET生物传感器的生物识别层,被应用于核酸检测领域(表1)。

2.2.2 基于核酸适配体探针的FET生物传感器的应用 核酸检测的目标分子是病原体提取的核酸,有研究表明只有直接从临床样品中提取的长链RNA中的短序列才能被捕获并接近传感器表面^[31]。适配体只识别靶RNA的一个位点,导致靶RNA的结合松散,未结合RNA片段中的大量负电荷远远超出德拜长度,难以被碳纳米管通道检测,从而限制了检测的灵敏度。基于这一问题,Liang等^[16]结合核酸适配体和浮栅型碳纳米管场效应晶体管开发了一种无标记、高灵敏度的多探针双检测技术。该方法识别目标病毒长RNA序列的3个不同位点,提高了对真实病毒核酸样本的识别率,同时捕获的长RNA更接近传感器表面,克服了溶液中德拜长度的限制,有效提高了传感器的灵敏度。

作为单链核酸序列,单纯的适配体在传感器导电沟道表面组装时所面临的挑战与DNA探针类似,即如何避免核酸链的纠缠以及非特异性吸附在器件表面影响结合效率,达到更高的传感效率。四面体DNA纳米结构的优势如前文所述,也被应用到基于核酸适配体的FET生物传感器。Wei等^[17]将“分子机电系统”(molecular electromechanical system, MolEMS)集成到石墨烯场效应管中实现传感器的优化。MolEMS由1个与柔性单链DNA悬臂结合的适配体探针组成,该悬臂与自组装的刚性四面体双链DNA结构相连。核酸适配体作为探针特异性识别目标片段,高密度的刚性碱作为防污层,抵抗非目标生物分子,避免非特异性吸附。该方法可以在2 min内直接检测鼻咽样本中的SARS-CoV-2核酸。

2.3 基于核酸类似物的场效应晶体管生物传感器

2.3.1 基于核酸类似物的场效应晶体管生物传感器的原理 核酸类似物是一类通过化学修饰或结构改造得到的与核酸类似的分子,能够模拟天然核酸的功能,同时具有更高的稳定性、特异性和其他特殊的生物学特性^[32]。目前,用于场效应晶体管生物传感器的核酸类似物有磷酸二胺吗啉代寡核苷酸(phosphorodiamidate morpholino oligos, PMO)和肽核酸(peptide nucleic acids, PNA)。PMO由吗啉环和磷酸二胺骨架构成,PNA由肽骨架(聚酰胺)和核酸碱基构成,与传统的ssDNA探针相比,核酸类似物探针特异性更高,对核酸酶和蛋白酶具有较高的抗性,在生物环境中更稳定^[33-34]。PMO与PNA和目标RNA或DNA碱基配对,与靶标核酸杂交后触发FET传感器狄拉克点的偏移,通过测量偏移的电信号变化,将生物信号转换为电信号^[18]。

2.3.2 基于核酸类似物的场效应晶体管生物传感器的应用 与DNA探针相比,属于第三代反义寡核苷酸的PMO能够对DNA进行低噪声和高灵敏度检测,所持有的吗啉环中性骨架对PMO和DNA之间的杂交行为影响微弱。Mei等^[19]报告的基于二硫化钼的FET生物传感器以PMO作为探针分子,可检测低于6 fM的DNA分子。对传感器表面材料的优化,也进一步提升了基于PMO的FET生物传感器的检测性能。Li等^[18]报告了一种用PMO功能化的AuNP修饰的G-FET纳米传感器,

利用 AuNP 的高表面体积比以及 PMO 探针的高稳定性和有效性,检测限低至 2.29 fM,可以在 2 min 内区分 COVID-19 患者和非 COVID-19 个体。与 PMO 类似,PNA 也作为探针固定在器件表面作为生物识别层。Cai 等^[20]报告了一种金纳米颗粒修饰的 FET 生物传感器用于 miRNA 的检测,将 PNA 探针固定在 AuNPs 表面后,通过 PNA-miRNA 杂交进行 miRNA 检测,能够实现低至 10 fmol·L⁻¹ 的检测限,能够准确区分互补 miRNA 与单碱基错配 miRNA 和非互补 miRNA。

2.4 基于 CRISPR 非特异报告 RNA 探针的场效应晶体管生物传感器

2.4.1 基于 CRISPR 非特异报告 RNA 探针的场效应晶体管生物传感器的原理

规律成簇的间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR) 系统作为第三代基因编辑工具,在核酸检测领域也有着出色的表现,具有高度特异性,可分辨单碱基突变序列^[35]。CRISPR/Cas13 系统通过 crRNA 特异性识别目标片段,激活 Cas 蛋白的侧切能力,切割溶液中的报告 RNA^[36]。结合 CRISPR 系统的 FET 生物传感器将报告 RNA 固定在器件生物识别层表面,通过 CRISPR 系统特异性识别目标片段,场效应晶体管产生的电信号变化进行信号放大,从而实现高灵敏度与特异度的核酸检测^[21-22]。

2.4.2 基于 CRISPR 非特异报告 RNA 探针的场效应晶体管生物传感器的应用

Li 等^[21]利用 Cas13a 的反式切割机制和超灵敏石墨烯场效应晶体管的无扩增核酸检测生物传感器,可实现检测线低至 1 amol·L⁻¹ 的 SARS-CoV-2 检测。CRISPR/Cas13 系统中的报告 RNA 具有通用性,通过 crRNA 的设计筛选即可实现对不同靶序列的检测。报告 RNA 固定在 FET 传感器表面作为传感器的生物识别层,无需更改传感器的设计,改变体系中的 crRNA 即可实现 FET 生物传感器对不同目标序列的检测。Li 等^[22]报告了一种双 CRISPR/Cas13a 的 FET 生物传感器检测 SARS-CoV-2 RNA 的方法,设计靶向 ORF1ab 与 N 基因的 crRNA,提高了检测的灵敏度。FET 生物传感器由于尺寸较小,可将多个器件组成传感器阵列同时对不同目标序列进行检测。已有研究报告了基于 CRISPR 的无扩增病毒 RNA 电检测平台 (catalytic amplification-free viral RNA electrical detection, CAVRED),该方法将基于

CRISPR 的 FET 传感器形成阵列,可实现对 SARS-CoV-2 及其 7 个变异株的同时检测^[23]。

3 场效应晶体管生物传感器在核酸检测中面临的挑战

3.1 检测信号的选择

场效应晶体管的高灵敏度使其在检测中具有优势,但信号的特异性和稳定性问题一直是实现准确检测的障碍。狄拉克点的位移已被广泛运用于石墨烯场效应晶体管传感器检测生物标志物的特征信号,但是研究发现在溶液中狄拉克点会随时间自发移动,干扰检测信号^[37-38]。Sun 等^[39]发现对石墨烯 FET 衬底进行疏水处理可以有效地解决这种不稳定性,结合 CRISPR/Cas13a 的石墨烯场效应晶体管生物传感器,为检测 SARS-CoV-2 提供了具有右移特征的“大减法”信号,而任何非靶标都会产生左移特征信号,该方法检测 SARS-CoV-2 RNA 可以低至 0.25 amol·L⁻¹。然而,该方法检测时间需要 2 h,同时灵敏度有所下降。这一方法虽然提升了信号的抗干扰能力,但检测时间的延长与灵敏度的下降限制了这一方法的进一步应用。类似的还有双链特异性核酸酶 (duplex-specific nuclease, DSN) 方法^[40]。因此,如何获取稳定且高特异性的信号同时保留场效应晶体管生物传感器在快速检测与高灵敏度的优点仍需进一步研究,同时,如何提升信噪比也是一个值得关注的问题。采用具有超低噪声特性的倍频 FET 器件是这方面一个有益尝试^[41]。

3.2 生物识别层的选择与优化

目前,FET 生物传感器主要选择 DNA 探针、报告 RNA、核酸适配体、PNA、PMO 这些可以发生在德拜长度内的探针分子固定在器件沟道表面进行核酸检测。DNA 探针作为最常使用的生物识别元件,有其特有的优势,成本较低同时组装方式较为简单。DNA 的缠绕与非特异性吸附在 FET 器件表面影响了生物传感器的检测效率。结构优化后 DNA 探针如“y”形、三茎结构克服了这一缺点,但带来了新的问题,如组装步骤复杂并增加了器件的制作成本,以及组装后的器件保存较为困难。四面体 DNA 纳米结构由于合成更为容易且体积小也被运用于组装新的 DNA 探针结构以保

持DNA探针的垂直定向^[42]。与DNA探针相似,核酸适配体面对同样的问题,四面体DNA纳米被用于组装新的核酸适配体探针结构避免检测效率的降低。DNA探针与核酸适配体都需要识别靶序列,对器件表面的形态有更高的要求。抗降解型PMO和PNA对核酸酶和蛋白酶具有较高的抗性,而核酸适配体(尤其是DNA适配体)也可以通过化学修饰提高稳定性。对比同样呈电中性的PNA探针,PMO的合成成本更低,且碱基长度更灵活。CRISPR/Cas13系统中crRNA与报告RNA发挥了不同的作用,在结合CRISPR的FET生物传感器中,crRNA识别目标序列激活Cas蛋白,切割固定在器件表面的报告RNA。报告RNA不需要识别目标序列,对其形态没有高要求,制备工艺较为简单。目前,关于报告RNA形态优化是否能够提高检测效率的研究较少,仍需进一步探讨^[21-22]。

4 展望

场效应晶体管生物传感器由生物识别部件与传感器部件两个部件组成,目前提升场效应晶体管生物传感器主要从两个方面开展。一方面提升固定在传感通道上探针的性能,优化探针的类型、结构等,另一方面随着材料学的发展,场效应晶体管的制备和处理的优化,应用于生物传感领域的场效应晶体管的性能也在不断提升。FET生物传感器作为一个高灵敏的传感平台,正朝着低成本、便携化、集成化的方向发展。随着纳米技术、材料学以及智能化信号分析的不断进步,FET生物传感器将在生物医学、环境监测和食品安全等领域发挥越来越重要的作用,具有广阔的应用前景。

FET生物传感器的尺寸较小,信号读取设备可微型化,可以多路复用组成传感器阵列实现多重检测。有研究报道FET传感器同一器件分4个区固定不同抗体以实现不同病原的检测^[43]。核酸适配体和DNA探针作为识别元件,具有特异性,可以组合识别不同序列的探针分子在同一器件中,实现多重检测。基于CRISPR的场效应晶体管生物传感器由于报告RNA的通用性,无法在同一器件中实现,当前报道的多重检测大多是分隔开传感区域多个单独的通道形成阵列。多重检测方案有望大大提高传感器在临床诊断、环境监测

等领域的应用价值。此外,FET生物传感器的集成化与便携化也是未来发展的一个重要方向,可实现快速、简便、低成本的检测。高通量技术能够在短时间内对大量样本进行检测,极大地提升了检测效率。这对于药物筛选、基因组学研究、疾病早期诊断等领域具有重要意义。微型化的FET生物传感器设备可以通过并行化检测多个样本或不同目标分子,快速完成大规模筛查工作。随着技术的进步,FET传感器可以进一步小型化、集成化,并与智能手机、可穿戴设备结合。目前,有报道用于监测汗液中C-反应蛋白的可穿戴电化学传感器,将传感器贴片与微流控技术结合集成无线可穿戴系统用于实时监测^[44]。这种便携的生物传感器能够为个人健康监测、食品安全检测等方面提供快速而便捷的方案。

自最早的FET传感器研发出后,相继有很多高灵敏、高特异的FET生物传感器被报道,但大多数都停留在实验室阶段,没有得到商业化应用。早期受限于FET传感器的材料限制,传感器的性能受限,且居高不下的成本无法实现大规模制备,限制了传感器的商业化。近年来,随着纳米材料的发展,石墨烯等新型材料的应用与大规模制备带来了FET传感器商业化的希望。然而,FET生物传感器的制备也带来了生物化器件的制备与保存问题,同时,生物化传感器器件的大规模制备工艺与成本问题也限制了传感器的商业化。当前所报道的FET生物传感器的基本原理均是将生物探针固定在器件表面,通过电子迁移将生物信号转换成电信号。生物化器件的不可重复使用增加了单次检测的成本,器件的可重复使用或者在阴性样本中的可重复使用均能够大大降低检测的成本,如何实现这一期望仍有待研究。同时,当前FET生物传感器的报道重点主要集中在器件的材料、工艺的进步,生物识别层优化作为生物传感器的重要组成部分也需要重点关注。

参考文献

- [1] 世界卫生组织. 国际卫生条例(2005)突发事件委员会第十四次会议关于新型冠状病毒肺炎(COVID-19)大流行的声明[EB/OL]. (2023-01-30) [2024-12-20]. [https://www.who.int/news/item/30-01-2023-statement-on-the-fourteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/news/item/30-01-2023-statement-on-the-fourteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic).
- [2] MERCER A. Protection against severe infectious disease in

- the past[J]. *Pathog. Glob. Health*, 2021, 115(3): 151-167.
- [3] LAZCKA O, DEL CAMPO F J, MUÑOZ F X. Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2007, 22(7): 1205-1217.
 - [4] GRACIAS K S, MCKILLIP J L. A review of conventional detection and enumeration methods for pathogenic bacteria in food[J]. *Can. J. Microbiol.*, 2004, 50(11): 883-890.
 - [5] CESEWSKI E, JOHNSON B N. Electrochemical biosensors for pathogen detection[J/OL]. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, 159: 112214[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112214>.
 - [6] 张春雷. 病原微生物检测技术研究进展[J]. *生物技术进展*, 2024, 14(2): 189-195.
ZHANG C L. Pathogens detection technology: a review[J]. *Curr. Biotechnol.*, 2024, 14(2): 189-195.
 - [7] AHMAD W, GONG Y, ABBAS G, *et al.* Evolution of low-dimensional material-based field-effect transistors[J]. *Nanoscale*, 2021, 13(10): 5162-5186.
 - [8] SADIGHBAYAN D, HASANZADEH M, GHAFAR-ZADEH E. Biosensing based on field-effect transistors (FET): recent progress and challenges[J/OL]. *Trends Analyt. Chem.*, 2020, 133: 116067[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116067>.
 - [9] KAISTI M. Detection principles of biological and chemical FET sensors[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, 98: 437-448.
 - [10] WANG J, CHEN D, HUANG W, *et al.* Aptamer-functionalized field-effect transistor biosensors for disease diagnosis and environmental monitoring[J/OL]. *Exploration*, 2023, 3(3): 20210027 [2025-03-25]. <https://doi.org/10.1002/EXP.20210027>.
 - [11] ZHANG X, LIU T, BOYLE A, *et al.* Dielectric-modulated biosensing with ultrahigh-frequency-operated graphene field-effect transistors[J/OL]. *Adv. Mater.*, 2022, 34(7): e2106666 [2025-03-25]. <https://doi.org/10.1002/adma.202106666>.
 - [12] KONG D, WANG X, GU C, *et al.* Direct SARS-CoV-2 nucleic acid detection by Y-shaped DNA dual-probe transistor assay[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, 143(41): 17004-17014.
 - [13] ZHANG Y, CHEN B, CHEN D, *et al.* Electrical detection assay based on programmable nucleic acid probe for efficient single-nucleotide polymorphism identification[J]. *ACS Sens.*, 2023, 8(5): 2096-2104.
 - [14] WANG X, KONG D, GUO M, *et al.* Rapid SARS-CoV-2 nucleic acid testing and pooled assay by tetrahedral DNA nanostructure transistor[J]. *Nano Lett.*, 2021, 21(22): 9450-9457.
 - [15] WU Y, JI D, DAI C, *et al.* Triple-probe DNA framework-based transistor for SARS-CoV-2 10-in-1 pooled testing[J]. *Nano Lett.*, 2022, 22(8): 3307-3316.
 - [16] LIANG Y, XIAO M, XIE J, *et al.* Amplification-free detection of SARS-CoV-2 down to single virus level by portable carbon nanotube biosensors[J/OL]. *Small*, 2023, 19(34): e2208198 [2025-03-25]. <https://doi.org/10.1002/smll.202208198>.
 - [17] WANG L, WANG X, WU Y, *et al.* Rapid and ultrasensitive electromechanical detection of ions, biomolecules and SARS-CoV-2 RNA in unamplified samples[J]. *Nat. Biomed. Eng.*, 2022, 6(3): 276-285.
 - [18] LI J, WU D, YU Y, *et al.* Rapid and unamplified identification of COVID-19 with morpholino-modified graphene field-effect transistor nanosensor[J/OL]. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, 183: 113206[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113206>.
 - [19] MEI J, LI Y T, ZHANG H, *et al.* Molybdenum disulfide field-effect transistor biosensor for ultrasensitive detection of DNA by employing morpholino as probe[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2018, 110: 71-77.
 - [20] CAI B, HUANG L, ZHANG H, *et al.* Gold nanoparticles-decorated graphene field-effect transistor biosensor for femtomolar microRNA detection[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2015, 74: 329-334.
 - [21] LI J, TANG L, LI T, *et al.* Tandem Cas13a/crRNA-mediated CRISPR-FET biosensor: a one-for-all check station for virus without amplification[J]. *ACS Sens.*, 2022, 7(9): 2680-2690.
 - [22] 李加好. 基于石墨烯场效应晶体管生物传感器的病毒核酸免扩增、高灵敏检测[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
 - [23] LI H, YANG J, WU G, *et al.* Amplification-free detection of SARS-CoV-2 and respiratory syncytial virus using CRISPR Cas13a and graphene field-effect transistors[J/OL]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61(32): e202203826[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1002/anie.202203826>.
 - [24] USLU F, INGE BRANDT S, MAYER D, *et al.* Label-free fully electronic nucleic acid detection system based on a field-effect transistor device[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2004, 19(12): 1723-1731.
 - [25] HAN Y, OFFENHÄUSSER A, INGE BRANDT S. Detection of DNA hybridization by a field-effect transistor with covalently attached catcher molecules[J]. *Surf. Interface Anal.*, 2006, 38(4): 176-181.
 - [26] HUA Y, MA J, LI D, *et al.* DNA-based biosensors for the biochemical analysis: a review[J/OL]. *Biosensors*, 2022, 12(3): 183[2025-03-25]. <https://doi.org/10.3390/bios12030183>.
 - [27] HONG S, JIANG W, DING Q, *et al.* The current progress of tetrahedral DNA nanostructure for antibacterial application and bone tissue regeneration[J]. *Int. J. Nanomedicine*, 2023, 18: 3761-3780.
 - [28] NING Y, HU J, LU F. Aptamers used for biosensors and targeted therapy[J/OL]. *Biomed. Pharmacother.*, 2020, 132: 110902 [2025-03-25]. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110902>.
 - [29] 戴邵亮. 基于适配体的沙门氏菌检测方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(14): 4589-4596.
DAI S L. Research progress of detection method of *Salmonella* based on aptamer[J]. *J. Food Saf. Qual.*, 2019, 10(14): 4589-4596.
 - [30] MA H, LIU J, ALI M M, *et al.* Nucleic acid aptamers in cancer research, diagnosis and therapy[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44(5): 1240-1256.
 - [31] ZHANG G J, ZHANG G, CHUA J H, *et al.* DNA sensing by silicon nanowire: charge layer distance dependence[J]. *Nano Lett.*, 2008, 8(4): 1066-1070.
 - [32] PELLESTOR F, PAULASOVA P. The peptide nucleic acids, efficient tools for molecular diagnosis (review)[J]. *Int. J. Mol. Med.*, 2004, 13(4): 521-525.
 - [33] GUO D, ZHUO M, ZHANG X, *et al.* Indium-tin-oxide thin film transistor biosensors for label-free detection of avian influenza virus H5N1[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2013, 773: 83-88.
 - [34] LIANG Y, XIAO M, WU D, *et al.* Wafer-scale uniform carbon nanotube transistors for ultrasensitive and label-free detection of disease biomarkers[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(7): 8866-8874.

- [35] RAJAN A, SHRIVASTAVA S, JANHAW I, *et al.* CRISPR-Cas system: from diagnostic tool to potential antiviral treatment[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2022, 106(18): 5863-5877.
- [36] ZHAO L, QIU M, LI X, *et al.* CRISPR-Cas13a system: a novel tool for molecular diagnostics[J/OL]. Front. Microbiol., 2022, 13: 1060947[2025-03-25]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1060947>.
- [37] FORSYTH R, DEVADOSS A, GUY O J. Graphene field effect transistors for biomedical applications: current status and future prospects[J/OL]. Diagnostics, 2017, 7(3): 45[2025-03-25]. <https://doi.org/10.3390/diagnostics7030045>.
- [38] HWANG M T, WANG Z, PING J, *et al.* DNA nanotweezers and graphene transistor enable label-free genotyping[J/OL]. Adv. Mater., 2018: e1802440[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1002/adma.201802440>.
- [39] SUN Y, YANG C, JIANG X, *et al.* High-intensity vector signals for detecting SARS-CoV-2 RNA using CRISPR/Cas13a couple with stabilized graphene field-effect transistor[J/OL]. Biosens. Bioelectron., 2023, 222: 114979[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114979>.
- [40] WANG Q, BAO L, WANG L, *et al.* Duplex-specific-nuclease-assisted graphene field-effect transistor biosensor: a novel platform for preamplification-free detection of cancer related miRNA[J/OL]. Carbon, 2024, 230: 119670[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2024.119670>.
- [41] FU W, FENG L, MAYER D, *et al.* Electrolyte-gated graphene ambipolar frequency multipliers for biochemical sensing[J]. Nano Lett., 2016, 16(4): 2295-2300.
- [42] 陈硕,高佳奇,王迪,等. DNA四面体纳米结构及其在生物技术领域的应用进展[J]. 生物技术进展, 2020, 10(6): 661-667.
CHEN S, GAO J Q, WANG D, *et al.* DNA tetrahedral nanostructure and its application progress in biotechnology[J]. Curr. Biotechnol., 2020, 10(6): 661-667.
- [43] JEONG S, SON S U, KIM J, *et al.* Rapid and simultaneous multiple detection of a tripledemic using a dual-gate oxide semiconductor thin-film transistor-based immunosensor[J/OL]. Biosens. Bioelectron., 2023, 241: 115700[2025-03-25]. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2023.115700>.
- [44] TU J, MIN J, SONG Y, *et al.* A wireless patch for the monitoring of C-reactive protein in sweat[J]. Nat. Biomed. Eng., 2023, 7(10): 1293-1306.