

激光与光电子学进展

基于类石墨烯二维材料的光学生物传感

张家辉^{1,2}, 王秀翊^{1,2*}¹北京市激光应用技术工程技术研究中心, 跨尺度激光成型制造技术教育部重点实验室,
北京工业大学材料与制造学部, 北京 100124;²北京工业大学材料与制造学部激光工程研究院, 北京 100124

摘要 二维材料在许多方面相较于常规材料的优异性能, 引发了研究人员对于二维材料的广泛关注。目前二维材料已经成为了各个领域内的研究热点, 被广泛应用于生物医学、电子、光电子和催化等诸多方面。本文主要就二维材料在生物医学领域内的光学传感应用做了总结与讨论。主要论述了二维材料的产生和发展、优缺点, 基于二维材料的光学生物传感器类型、原理及其制造方法, 以及这些传感器在单细胞、RNA、蛋白质分子高灵敏探测技术上的一些成果, 并结合这些成果简要分析了利用二维材料的实验方案相较于传统方法的一些优势。最后对二维材料的发展现状做了简要总结, 并对其未来发展作出了展望。

关键词 二维材料; 光学生物传感; 表面等离子体共振; 荧光淬灭; 表面增强拉曼散射

中图分类号 TB383.1; TP212.3

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP231130

Optical Biosensors Based on Graphene-Like Two-Dimensional Materials

Zhang Jiahui^{1,2}, Wang Xiuhong^{1,2*}¹Beijing Engineering Research Center of Laser Technology, Key Laboratory of Tran-Scale Laser Manufacturing Technology, Ministry of Education, Faculty of Materials and Manufacturing, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China;²Institute of Laser Engineering, Faculty of Materials and Manufacturing, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

Abstract Due to the excellent performance of two-dimensional materials compared with conventional materials in many aspects, researchers have paid extensive attention to two-dimensional materials. At present, two-dimensional materials have become a research hotspot in various fields, and are widely used in biomedicine, electronics, optoelectronics and catalysis. This paper mainly summarizes and discusses the application of two-dimensional materials in optical sensing in the biomedical field. This paper mainly discusses the generation and development of two-dimensional materials, the advantages and disadvantages of two-dimensional materials and the types, principles and manufacturing methods of optical biosensors based on two-dimensional materials, as well as some achievements of these sensors in single-cell, RNA, protein molecule highly sensitive detection technology, and combines these results to briefly analyze some advantages of experimental schemes using two-dimensional materials compared with traditional methods. Finally, the development status of two-dimensional materials is briefly summarized, and their future development is prospected.

Key words two-dimensional materials; optical biosensing; surface plasmon resonance; fluorescence quenching; surface-enhanced Raman scattering

1 引言

二维材料是指电子仅可在两个维度的纳米尺度(1~100 nm)上自由运动(平面运动)的材料,如石墨

烯、纳米膜、超晶格、量子阱等,其中最有代表性的二维材料是石墨烯。众所周知,微观尺度的物体与宏观尺度物体的性质差异很大,前者表现出的表面效应、小尺寸效应、宏观量子隧道效应和量子限域效应等特点,使

收稿日期: 2023-02-16; 修回日期: 2023-03-10; 录用日期: 2023-04-28; 网络首发日期: 2023-05-08

基金项目: 国家自然科学基金(92053116, 62035002)

通信作者: *wxh2012@bjut.edu.cn

其具有异于常规材料的光、电、磁、热和力学等性能^[1-3]。

薄膜厚度的减小会使其熔点急剧降低,最终薄膜会在减小到十几个单原子层厚度时发生彻底的分解,因此在 20 世纪 30 年代, Landau 和 Peierls^[4-5]认为严格意义上的二维材料因其在热力学上的不稳定性而无法独立存在。所以单原子层厚的结构被认为只能作为完整三维结构的一部分而存在,并且通常是以匹配的晶格结构在单晶上层延伸生长。直到 2004 年,英国曼彻斯特大学的 Novoselov 等^[6]利用微机械法从高取向的裂解石墨中剥离得到了可稳定独立存在的石墨烯(Graphene),且发现其具有卓越的电学传输性能。如图 1^[7]所示,石墨烯是一种由碳原子紧密堆积成二维蜂窝状晶格结构的单层碳材料,而且能够形成其余任意维度的石墨材料结构。

石墨烯的发现引起了科研人员的广泛关注,之后人们对石墨烯进一步研究发现其相较于块状石墨具有许多独特的物理性质,比如高热导率(热导率大于 $3000 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)^[8]、高电子迁移率(电子密度为 $2 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ 时,迁移率超过 $2 \times 10^5 \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)^[9]、高机械强度(1 TPa 的高杨氏模量)^[10]以及一些其他优异的光学性能^[11]。石墨烯的诸多优异性能^[12]不仅使研究人员看到了其广阔且深远的应用前景,还促进了人们对于其他种类二维材料的探索。其中有被广泛应用于光学传感领域的石墨烯衍生物,例如,氧化石墨烯(GO)^[13]、还原氧化石墨烯(rGO)^[14]和石墨烯量子点(GQDs)^[15]等。此外,还研究了一系列类似于石墨烯结构的层状二维材料(图 2^[16]),如六方氮化硼(h-

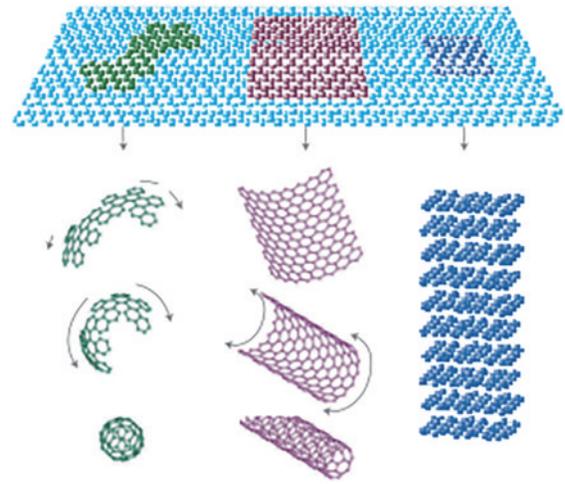


图 1 单层石墨烯组成的零维富勒烯、一维单壁碳纳米管及三维石墨^[7]

Fig. 1 Zero-dimensional fullerene, one-dimensional single-wall carbon nanotube, and three-dimensional graphite formed by graphene^[7]

BN)^[17]、贵金属二硫化物(NMDs)^[18]、过渡金属二硫化物(TMDs)^[19]、层状金属氧化物^[20]和元素二维材料^[21]等,这些二维材料具有相互迥异的原子结构,表现出十分优异且多样的物理化学性质。另外,还通过各种方法合成出了石墨相碳氮化物(g-C₃N₄)^[22]、层状双氢氧化物(LDHs)^[23]、金属-有机框架结构(MOFs)^[24]、共价-有机框架结构(COFs)^[25]等材料。这些材料被制备出来后逐步成为了各个领域的研究热点,广泛运用于生物医学^[26]、电子^[27]、光电子^[28]、传感器^[29]、催化^[30]及能源存储^[31]等方面。

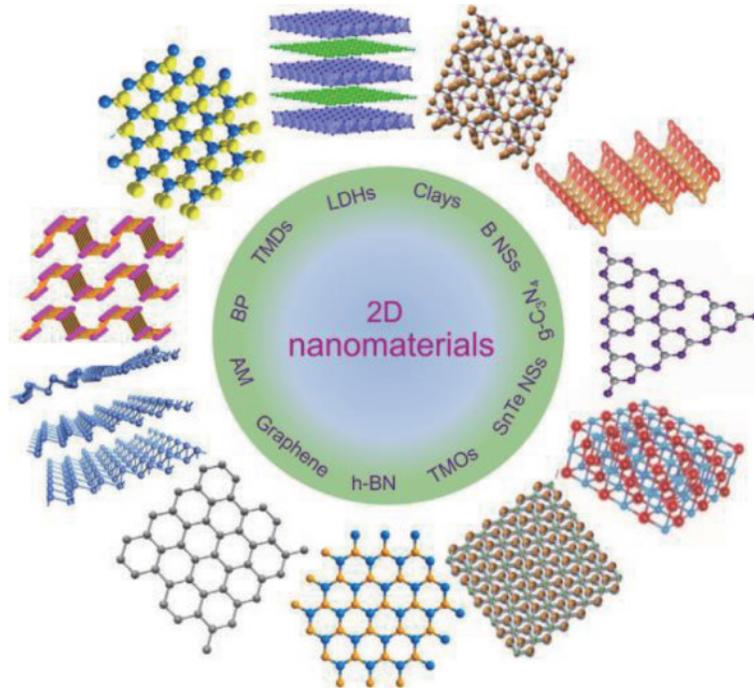


图 2 典型二维材料的原子结构^[16]

Fig. 2 Atomic structure of typical two-dimensional materials^[16]

2 二维材料光学生物传感原理

近年来,二维材料被广泛用于各种生物医学应用领域,包括生物传感器、可穿戴设备、生物成像和药物递送等方面,以克服传统诊断和治疗过程中传统材料的局限性。在生物传感器中,二维材料通常作为信号转换元件来传感所需的生物信号。相较于传统的金属材料,二维材料具有更大的比表面积、更强的掺杂敏感度以及更高的电子迁移率,所制备的生物传感器具有更强的传感性能。在生物传感器应用中,二维材料相较于传统材料的优越性不仅体现在传感性能方面,而且二维材料的高生物相容性、高化学稳定性以及更高的材料强度、更小的尺寸和重量等优点,使得二维材料成为传统材料的优秀替代品。

根据传感机理,基于二维材料的光学生物传感器目前主要有三种类型。

第一种是二维材料荧光生物传感器,这种传感器主要利用了某些二维材料的荧光淬灭能力。一些二维材料例如石墨烯、氧化石墨烯和二硫化钼(MoS_2)等之所以具备荧光淬灭的能力,主要是因为其在共振能量转移的体系中充当了良好的能量受体的角色,因而荧光染料能量容易向这些二维材料转移,从而发生荧光淬灭。2008年,Swathi等^[32]从理论上证明了这点。目前也已经有多项实验工作证明了一些二维材料确实具有淬灭荧光的能力^[33-35]。例如,在2013年,Zhu等^[36]首次揭示了 MoS_2 具有很强的荧光淬灭能力,而且还具备对单链DNA(ssDNA)和双链DNA(dsDNA)不同亲和力的特性,基于此设计的 MoS_2 的荧光传感器对于DNA定量分析有着接近于氧化石墨烯荧光传感器的检测限,但前者检测流程更简单,可在几分钟内完成。

第二种则是利用二维材料的表面等离子体共振(SPR)效应制成的SPR生物传感器。利用表面等离子体共振技术可以实现无标签、高灵敏度的实时检测,是一种常用的传感技术^[37]。当横磁(TM)偏振的入射光照射到金属和电介质之间的界面时,会激发出电子密度振荡、表面等离子体波以及沿法线方向强度指数衰减的倏逝波,这种现象就是表面等离子体共振。生物分子浓度的变化使得传感表面附近产生折射率的局部变化,而折射率的变化反过来会导致SPR传播常数的变化,从而可通过衰减全反射(ATR)的方法实现光学测量^[38]。传统的SPR传感器通常使用贵金属中的金、银和铂等作为产生SPR效应的材料,其中金通常是首选材料,因为其具有良好的抗氧化性以及耐腐蚀性。不过金对于生物分子的吸附性很差,从而限制了基于贵金属的SPR生物传感器的灵敏度。而二维材料同样具有很强的SPR效应,而且对光相位的变化十分敏感,并且能够稳定地吸附一些生物分子,如果基于二维材料构造出一些特殊的三维结构或阵列,还能够进一步增强吸附能力,从而提高传感器的传感性能^[39]。

因此将二维材料引入传统的SPR传感器能够有效提高其灵敏度。

第三种是基于二维材料的表面增强拉曼散射传感器。2010年,Ling等^[40]首先就石墨烯能否作为拉曼增强的基底进行了研究。目前被广为接受的拉曼增强机制主要有两种,一种是电磁机制(EM),主要利用局部电磁场的增强来增大拉曼散射截面,增强大小大致与 $|E|^4$ 成比例,通常在 10^8 量级或更高。另一种化学机制(CM)主要基于分子与基底之间的电荷转移。由于电荷转移,分子中正电荷和负电荷分离程度增大,即极化率增大,这同样使得拉曼散射截面增大,增强大小通常在 $10\sim 100$ 左右,并且CM通常表现出第一层吸收分子的SERS截面比第二层大得多的特点。在多数情况下,这两种机制是并存的。Ling等通过实验发现,单层石墨烯基底的拉曼信号比 SiO_2/Si 基底更强,而随着石墨烯层数的增加,拉曼信号强度有下降的趋势,并且拉曼增强因子的大小取决于分子模式的振动对称性。基于实验结果,并且由于可见光在石墨烯表面的透过率超过95%,而且石墨烯上的表面等离子体在太赫兹范围内,而不是可见光范围,所以石墨烯中的拉曼增强应归因于化学增强的机制。此后有多种二维材料被报道可作为SERS的基底^[41-42],其拉曼增强因子大小在 $10\sim 100$ 之间。这种较低的拉曼增强水平限制了二维材料在SERS传感器中的应用,目前可通过二维材料与贵金属纳米结构杂交来解决这一问题^[43]。

二维材料,例如石墨烯等,由于其诸多优异的性能,其制成的传感器相较于基于传统材料的传感器具有灵敏度更高、响应更快等优点,但其同样具备一些缺点。例如,石墨烯在有氧环境下稳定性较差,加之其良好的导热性能,在高温下与氧反应会生成氧化石墨烯,从而导致其导电以及导热性能的下降。而在生物医学应用方面,其目前也存在一些缺陷。例如,石墨烯具有极为锋利的边缘,产生的薄膜应力将损伤细胞膜,破坏细胞正常功能。此外,由于石墨烯和还原氧化石墨烯具有很高的疏水性,使其难以作为生物体环境中的有效药物载体^[44]。并且,石墨烯与氧化石墨烯等碳纳米材料还具有一定的细胞毒性,其中氧化应激反应是有关其毒性的主要机制,其通常会导致细胞内大分子如蛋白质、脂质和DNA等的损伤^[45]。

3 二维材料光学生物传感器的制造

下面针对前文提到的三种类型的二维材料光学生物传感器的制造技术进行分类说明。

1)二维材料荧光生物传感器。这种传感器的制造主要内容在于光学生物传感界面的构筑。在这种传感界面的构筑中,最常用的方法类似于免疫荧光测定的方法,即将荧光标记的配体修饰在具有荧光淬灭能力的二维材料表面,其荧光被二维材料淬灭,这种构筑方法的可行性通常来自于二维材料对于配体分子的高亲

和力。之后,加入与配体分子具有更高亲和力的受体分子,配体从二维材料表面解吸,发生荧光恢复,比较前后荧光强度变化即可实现对受体分子的检测。例如,在 2008 年二维材料被证明具有荧光淬灭能力不久之后,2009 年 Lu 等^[46]利用二维材料荧光淬灭的特性制造出了一种可用于检测 DNA 分子的 GO 传感器。

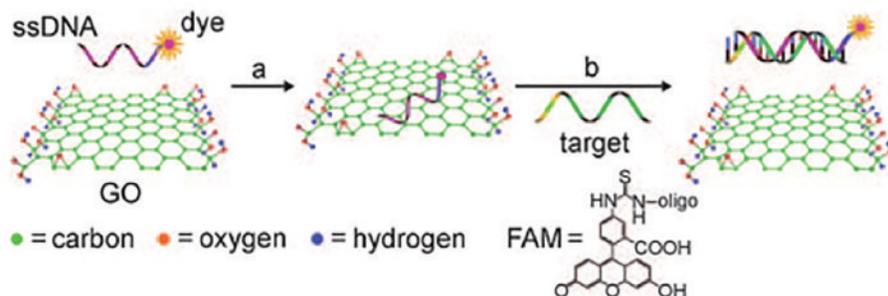


图 3 基于 GO 的荧光生物传感器检测原理示意图^[46]

Fig. 3 Schematic diagram of the detection principle of GO-based fluorescent biosensor^[46]

2) 二维材料 SPR 生物传感器。目前最常见的制造方法是将二维材料与传统 SPR 传感器相结合。2010 年, Song 等^[47]首次对二维材料与贵金属的结合进行了开拓式的探究。他们首先通过数值模拟发现, 金表面覆盖石墨烯片组成的复合材料显示出优异的导电性和稳定吸附碳基环结构生物分子的能力, 使用这种材料作为基底, 可以大大提高信噪比。之后, 他们利用石英晶体微天平实现了将石墨烯涂覆于金表面。据他们描述的实验流程为: 首先将深度清洁后涂有金膜的石英晶体在氮气下吹干, 并放入微天平的测量室。然后, 蒸馏水通过腔室达到稳定后, 加入 5 mg/mL 的石墨烯溶液完成吸附, 石墨烯即被覆于金表面之上。2010 年, Wu 等^[48]基于这种石墨烯涂覆于金表面的方法, 首次将石墨烯与传统基于金膜的 SPR 传感器相结合, 获得了超越了传统 SPR 传感器的灵敏度。

3) 基于二维材料的表面增强拉曼散射传感器。虽然目前已证实多种二维材料可用作 SERS 基底, 但其拉曼信号强度均较低 (在 10~100 之间), 而与贵金属纳米颗粒杂交可解决这一问题。因而, 目前二维材料 SERS 传感器主要的制造方法以采用贵金属纳米颗粒提高二维材料 SERS 信号强度为主。2018 年, Singha 等^[49]利用水热法实现了在 MoS₂ 表面原位生长金纳米颗粒 (Au NPs)。他们首先将 2.4 mmol/L 的 HAuCl₄ 在助溶剂中沸腾, 然后向其中加入 50 mg 的 MoS₂ 纳米片, 在剧烈搅拌下再加热 3 min。之后将混合物搅拌 30 min, 冷却至室温。其中 HAuCl₄ 和 MoS₂ 的摩尔比维持在 2.4:1, 并且为了避免反应过程中的氧化, 在整个过程中均通入高纯氩气。将金纳米颗粒修饰的 MoS₂ 洗涤后, 便可利用 SERS 技术对分子进行检测, 他们通过这种方法制造出的二维材料 SERS 传感器实现了 10⁹ 倍的信号增强。

其检测原理如图 3 所示, 首先将羧基荧光素标记的 ssDNA 以非共价结合的方式修饰在 GO 表面, GO 的强荧光淬灭能力使荧光素完全淬灭。之后, 随着目标 DNA 分子的加入, 荧光素标记的 ssDNA 从 GO 表面解吸, 从而发生荧光恢复, 进而实现对目标 DNA 分子的检测。

4 二维材料光学生物传感器检测单细胞和生物分子

4.1 二维材料在单细胞水平高灵敏光学探测中的应用

患病细胞经常携带着有别于正常细胞的特殊信息, 准确探测病变细胞, 特别是癌细胞, 对于了解疾病发展来说是至关重要的。而对于活细胞的无标记检测一直都非常具有挑战性。目前比较成熟的无标记活细胞检测方法是基于石墨烯晶体管阵列的电学传感器^[50], 虽然这种方法有着极快的响应速度, 但这种电学传感器通常需要测量石墨烯表面电流的变化, 因此相对于光学传感, 这种电学传感器的时间和空间分辨率会受到很大的限制。此外, 电流测量可能会对活细胞造成损害, 从而影响检测结果的准确性, 而利用光进行传感则能显著降低这种损害。因而作为单细胞的检测平台, 光学传感器相较于电学传感器具有明显的优势, 不过其仍有部分缺点。表 1 列举出了石墨烯电学传感器与光学传感器的优缺点对比。

目前利用二维材料的光学特性对癌症的相关研究已经取得了诸多进展, 下面将从利用二维材料进行癌细胞检测和癌细胞对于抗癌药物反应的监测两个方面介绍相关的工作。2014 年, Xing 等^[52]利用石墨烯在全内反射下的偏振相关吸收, 设计了一种基于石墨烯的光学折射率传感器, 其分辨率高达 1.7×10^{-8} , 灵敏度为 4.3×10^7 mV/RIU, 并且具有较宽的动态范围。这种传感器主要利用了石墨烯的宽频带、强吸收的特点, 使其在全内反射下对横电 (TE) 和 TM 模表现出不同的反射率, 从而对接触物质的折射率变化十分敏感。而不同的细胞, 特别是正常细胞和癌细胞之间细胞折射率差异明显, 因而可基于此实现对不同细胞的区分。

表 1 石墨烯基电学传感器和石墨烯基光学传感器之间的区别^[51]

Table 1 Difference between a graphene-based electrical sensor and a graphene-based optical sensor^[51]

Sensor	Work principle	Advantage	Disadvantage
Graphene electrical sensor	Since graphene exhibits ambipolar behavior, the p-type or n-type behavior can be tuned effectively by the gate voltage. The principle of sensing is based on changes in drain-source conductivity of the graphene channel upon the binding of the sample to the receptor-functionalized graphene	Small size, large surface area, fast electron transfer, fast response time, high sensitivity and reduced surface contamination	Only measure current changes, low spatial resolution, damage samples, affect results
Graphene optical sensor	Under total internal reflection, graphene exhibits characteristics of enhanced polarization absorption and broadband absorption. The sensor uses the attenuated total reflection method to detect the refractive index change near the sensor surface	High spatial resolution, wide and deep detection range, high sensitivity and high precision, accurate and fast detection, unlabeled samples	Since the light absorption rate of single-layer graphene is too low, the area generated by the active photocurrent is too small. Aggregation and precipitation of high concentration samples may affect optical detection

这种传感系统如图 4(a) 所示,其主要原理为:利用激光照射处于微流控通道内的细胞后产生反射光,反射光经偏振分束器(PBS)分离成 TE 和 TM 模式后,由平衡光电探测器接收转化为电压信号显示,以电压信号的强弱反应细胞折射率的不同,实现对细胞的区分。这种高灵敏度的石墨烯光学生物传感器能够在正常细胞不失活的前提下,在单细胞水平上实现对正常细胞中的少量癌细胞的无标记高精度检测,而且能够同时检测和区分两个细胞系,并提供正常细胞和癌细胞准确统计分布。如图 4(a) 所示,混合在一起的淋巴细胞

和 Jurkat 细胞同时通入微流控芯片。两种细胞经过检测窗口后被激光照射产生反射光,反射光经平衡光电探测器转化出来的电压信号表现出明显的强度区别,电压信号强度比较结果如图 4(b)、(c) 所示,其中 Jurkat 细胞相关的电压信号明显强于淋巴细胞,可以清晰地将两种细胞区分开来。图 4(d) 所展示的两种细胞电压信号强度的统计图更加直观地表现出了这种区别。这项工作对于癌细胞的无标记精确识别与癌细胞特性的研究具有重要的指导价值。

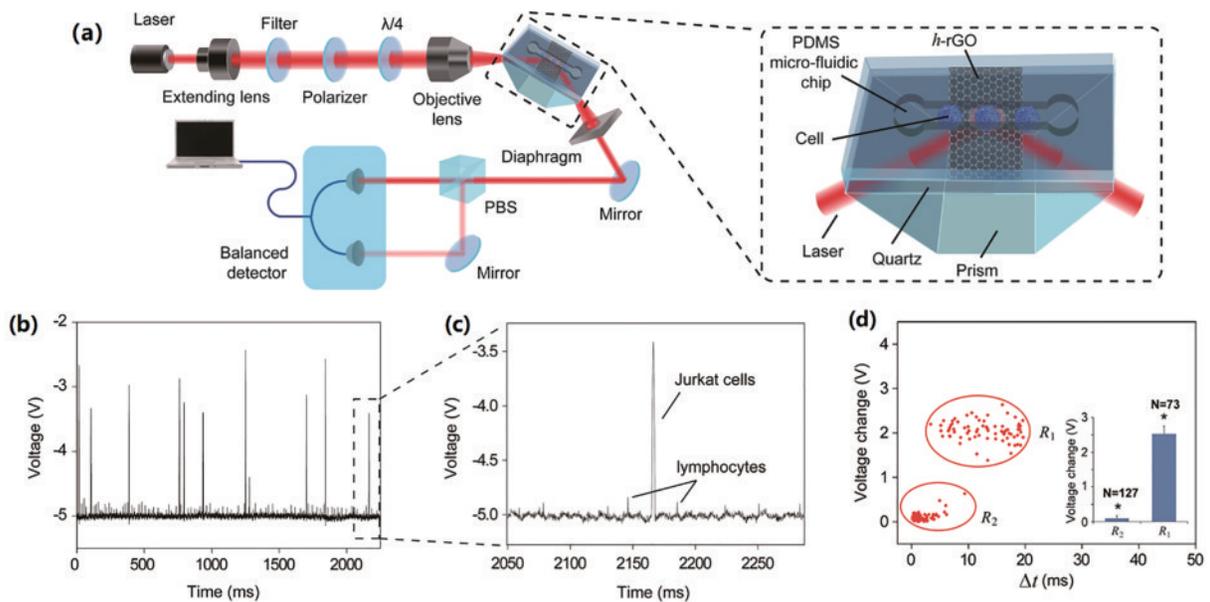


图 4 石墨烯光学传感器进行细胞识别。(a)用于单细胞检测的传感系统;(b)当混合在一起的淋巴细胞和 Jurkat 细胞经过检测窗口时,电压随离散时间的变化;(c)图(b)某些位置电压信号的放大图;(d)检测到的 Jurkat 细胞和淋巴细胞的混合细胞统计图(区域 R1 和 R2 分别代表 Jurkat 细胞和淋巴细胞的统计分布,插图是每个细胞群计数数量的直方图)^[52]

Fig. 4 Graphene optical sensors for cell recognition. (a) Flow-sensing system for a single-cell setup; (b) discrete time-dependent changes in voltage that correspond to mixed lymphocytes and Jurkat cells as they roll across the detection window; (c) enlarged images of voltage signal at certain positions in Fig. (b); (d) statistical plot of mixed cells of Jurkat cells and lymphocytes detected (regions R1 and R2 represent the statistical distribution of Jurkat cells and lymphocytes, respectively, inset is the histograms with the number of counts for each cell population)^[52]

活细胞对于药物或者其他外界环境刺激的反应微弱且短促^[53]。分析活细胞这种对于药物或外界刺激的细微、迅速反应,对于癌症治疗或者抗癌药物的筛选来说十分重要,要具备这种水平的分析能力,通常要求传感系统具有足够的灵敏度、响应速度和探测深度。2018年,Wang等^[54]提到在其2014年工作的基础上,利用其设计的石墨烯光学生物传感器继续探究了不同癌细胞对于抗癌药物紫杉醇的反应,总体传感系统结构如图5(a)所示。在这项工作中,作者通过精确控制偏振光混合比、光程差和石墨烯膜参数,首次在信噪比5.3的实验中直接测量到了 1.35×10^{-7} 的超小折射率变化,将灵敏度提高到 1.2×10^8 mV/RIU,甚至可满足单分子检测的要求。如图5(b)所示,传感器成功检测到了1 kPa 超声波所产生的超小折射率变化(1.35×10^{-7}),其相应电压信号为17 mV,可知灵敏度约为 1.2×10^8 mV/RIU。除此之外,这种传感系统还具有对于折射率变化短至260 ns的超快响应速度,如

图5(c)中插图所标注,比先前报道的高灵敏 SPR 生物传感器快4个数量级^[55]。并且这种传感器还同时具备超过2 μm 的探测深度,而传统 SPR 生物传感器的探测深度仅有几十纳米。基于这些优异的传感性能,作者对HCT116细胞和LoVo细胞两种结直肠癌细胞系进行了检测。以LoVo细胞为例,作者比较了未经药物处理和经过6 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇溶液处理的LoVo细胞的折射率变化,如图5(d)所示,当不使用药物治疗时,LoVo细胞在500 min内折射率几乎不变。当对LoVo细胞施加6 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇溶液时,随着治疗时间的增加,其表现出强烈的反应,并在400 min时逐渐趋于饱和,饱和时其折射率变化约为 1.9×10^{-5} RIU。这些结果表明,该传感器可以准确测量癌细胞对紫杉醇的反应。总之,该传感器能够实现超灵敏和实时动态检测未标记的癌细胞对紫杉醇的反应,有望被应用于癌症治疗、抗癌药物筛选和其他基于细胞的研究领域。

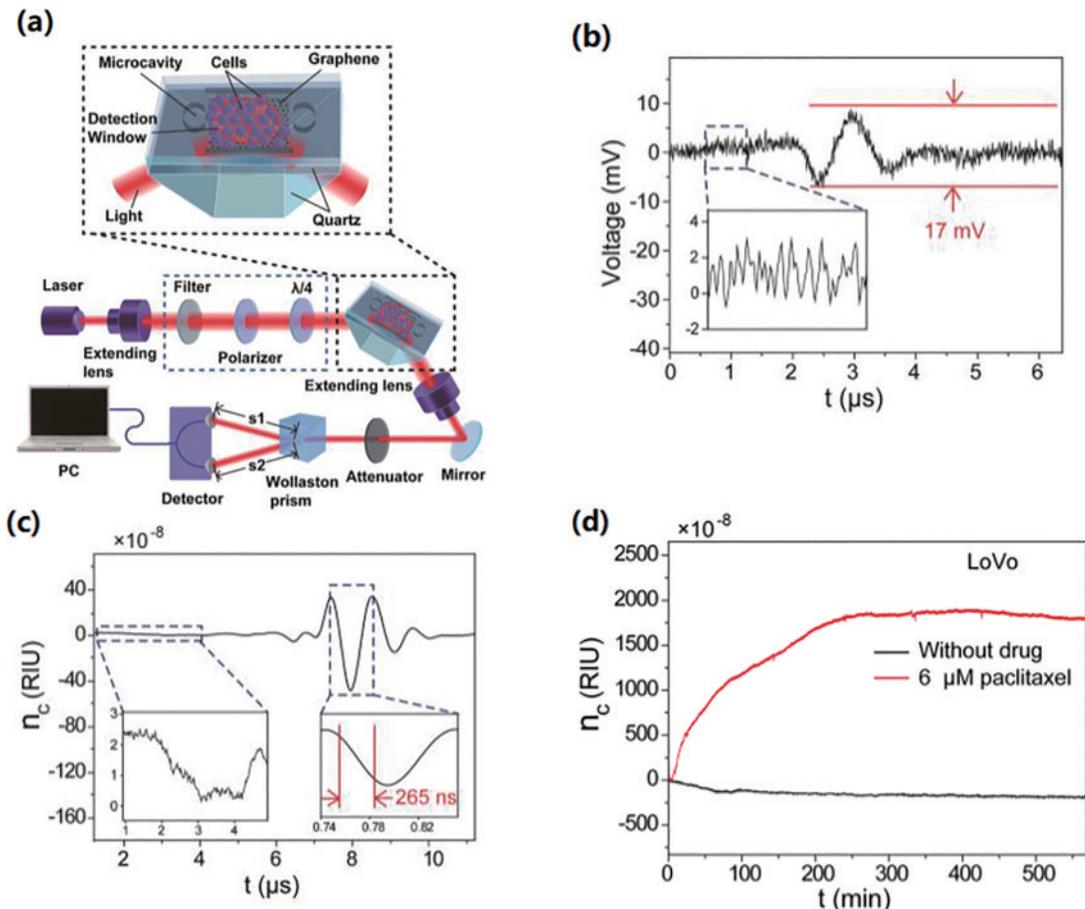


图5 石墨烯传感器监测癌细胞对药物的反应。(a)石墨烯光学传感系统示意图;(b)超声波产生的微弱折射率变化;(c)石墨烯光学传感器的响应时间;(d)LoVo细胞对紫杉醇的反应^[54]

Fig. 5 Monitoring the response of cancer cells to drugs using graphene sensors. (a) Schematic diagram of graphene optical sensing system; (b) weak refractive index change generated by ultrasonic; (c) response time of the graphene-based optical sensor; (d) response of LoVo cell to paclitaxel^[54]

4.2 二维材料光学传感器对RNA分子高灵敏探测

实时逆转录定量聚合酶链反应通常被认为是能够定量检测小至单个细胞中的RNA含量的标准方

案,虽然这种技术是实验室研究中的有力工具,但在检测准备和数据分析中所需的技术技能水平和专业设备往往要求较高,因此限制了这类方法的泛用性。

在基于能量转移的传感器中,GO 因为其在水中的高溶解度、高比表面积、高效荧光淬灭以及对各种生物分子的特性亲和力,成为一种理想的生物传感材料。2017 年, Vilela 等^[56]设计了一种 GO/上转换纳米颗粒(UCNPs)传感器,用以检测阿尔茨海默病和前列腺癌相关的 mRNA 生物标志物 BACE-1 和 PCA3。其检测原理如图 6 所示,他们将修饰有目标 mRNA 分子互补序列的 UCNPs 与含有目标 mRNA 分子的细胞裂解液混合,然后向其中加入 GO 溶液。由于 GO 具有很强的荧光淬灭能力并且对于 UCNPs 具有一定的亲和力,核苷酸链修饰的 UCNPs 与 GO 结合后发生荧光淬灭。而由于加入的细胞裂解液中的目标 mRNA 分子与其互补序列具有更强的亲和能力,两者结合使得 UCNPs 脱离 GO 表面,从而使得荧光恢复。基于此,他们采用单光子计数的方案,将光子数与目标 mRNA 分子浓度建立起关系,光子数越多代表目标检测分子浓度越高。他们通过这一设计,成功建立起了光子数与 PCA3、BACE-1 和 poly-T 三种分子之间的关系。与以前的报道相比,该传感器具有很高的灵敏度,检测限在飞摩量级范围内,而且没有光闪烁或生物分子吸光度干扰的缺点。同时该传感器平台对特定目标具有高度选择性,即使在复杂的介质(如血浆和血细胞裂解液)中,这种传感器也具有特异性强、灵敏度高的优势,适用于 mRNA 等生物标志物的检测,有助于阿尔茨海默病、前列腺癌等重大疾病的早期诊断。

由于血脑屏障的存在,抗癌药物进入脑细胞的途径非常有限。但近来一项研究表明,利用聚焦超声波

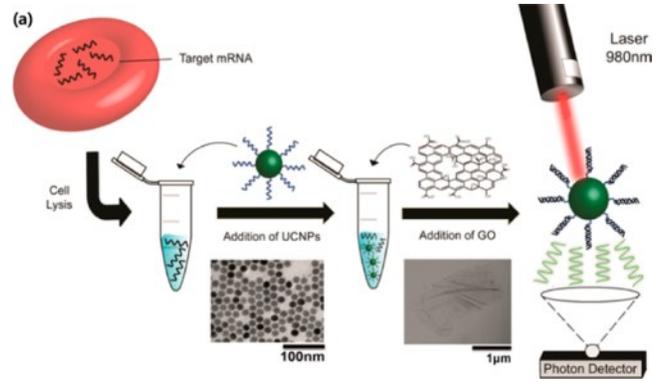


图 6 氧化石墨烯/上转换纳米颗粒传感器检测流程示意图^[56]
Fig. 6 Schematic illustration of the graphene oxide/up conversion nanoparticle sensor detection flow^[56]

控制的振荡充气脂质体,可以通过可逆、无创和瞬态的方式剥离血脑屏障^[57]。这种方法为药物越过血脑屏障创造了一种有效的解决方法,使得利用纳米载体进行药物输送的研究更有意义。所以在 2016 年, Stobiecka 等^[58]利用氧化石墨烯纳米片(GONS)载体和寡核苷酸荧光“开启”survivin 分子信标(SurMB)来检测星形胶质细胞中的癌症生物标志物,并通过利用 GONS@SurMB 纳米载体转染 U-87 MG 星形胶质细胞进行传感。其实验原理如图 7 所示,在 37 °C 下 SurMB 呈现出一种闭合的构象,由于其荧光基团和淬灭剂之间的荧光共振能量转移效应从而表现出低发射强度的特征。在 GONS 存在的情况下,由于核苷酸碱基与 GONS 芳香族环的相互作用, SurMB 与 GONS 便会形成超分子络合物 GONS@SurMB。利用其对细胞

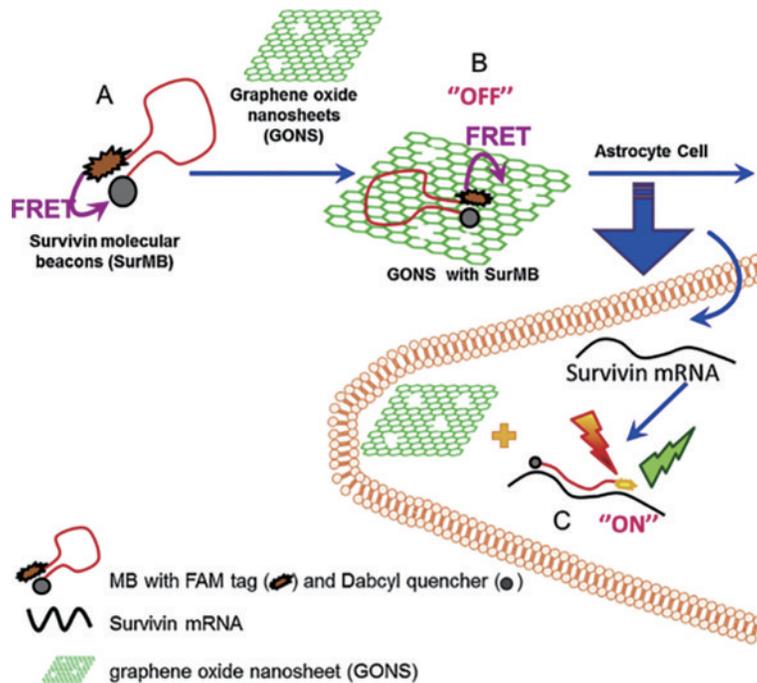


图 7 GONS@SurMB 形成示意图,可将其运送到星形胶质细胞检测 survivin mRNA^[58]

Fig. 7 Schematic view of the formation of GONS@SurMB and delivery of the nanocarriers to the astrocyte cells to detect survivin mRNA^[58]

转染后,当其在细胞质中遇到 Sur mRNA 后,将 SurMB 从 GONS 表面释放, SurMB-mRNA 的结合状态使得 SurMB 切换到打开的构象,短距离起作用的荧光共振能量转移效应消失,细胞中的 SurMB 发出荧光信号,证明目标 mRNA 的存在。实验表明,即使 GONS 载体浓度高达 133 g/mL,对正常星形胶质细胞也没有毒性,该方法可用于恶性细胞中 Sur mRNA 的特异性检测,其中与这种 Sur mRNA 相关的蛋白质能够促进肿瘤细胞的增殖并防止其凋亡,与肿瘤恶化的密切相关。利用目前打开血脑屏障的技术,GONS@SurMB 纳米载体或许也可作为未来脑癌基因治疗和通过降低耐药性提高化疗疗效的可行候选。

miRNA 在不同癌症中表现出的不同表达水平及其对于细胞转化、癌变和转移等方面的诸多影响,使其成为了癌症研究的一类重要生物标志物。miRNA 的超高灵敏度检测对于癌症的早期诊断和监测具有重要意义。虽然目前已经开发出了使用染料分子标记的荧光技术,但 miRNA 的无标记定量检测仍存在一定的空白,并且由于 miRNA 约仅占总 RNA 质量的 0.01%,所以这项检测技术也具有相当大的挑战性。2019 年,

Xue 等^[59]通过第一性原理密度泛函理论计算了 ssDNA 和 dsDNA 与二维材料锑烯的化学相互作用,发现锑烯比之前用于 DNA 传感的石墨烯具有更高的灵敏度。受这一理论发现的启发,作者利用锑烯开发了一种 SPR 传感器,利用了 SPR 信号对于折射率敏感的特点,首次实现了利用锑烯对临床相关核酸的检测,其检测流程如图 8(a)所示。他们首先将锑纳米片组装在金膜表面,然后把用于放大 SPR 信号的金纳米棒 (AuNRs) 与 ssDNA 相结合形成 AuNRs-ssDNA 杂交靶,并吸附在锑纳米片上。再然后加入与纳米片上 ssDNA 互补的 miRNA,与之形成 dsDNA,由于 dsDNA 对锑的亲和力相对较低,所以杂交靶很容易从锑界面上解吸。最后 SPR 表面上杂交靶的减少,使得 SPR 角显著减小,从而可通过 SPR 信号的负移量来对 miRNA 进行定量。如图 8(b)所示,随着 miRNA 浓度由 10^{-17} mol/L 增加到 10^{-11} mol/L,SPR 角逐渐减小,图中箭头指向更清晰地表达了这种 SPR 角随 miRNA 浓度增加的变化趋势。该传感器检测极限为 10 amol/L,是迄今为止对于 miRNA 直接定量检测的最低检测极限。

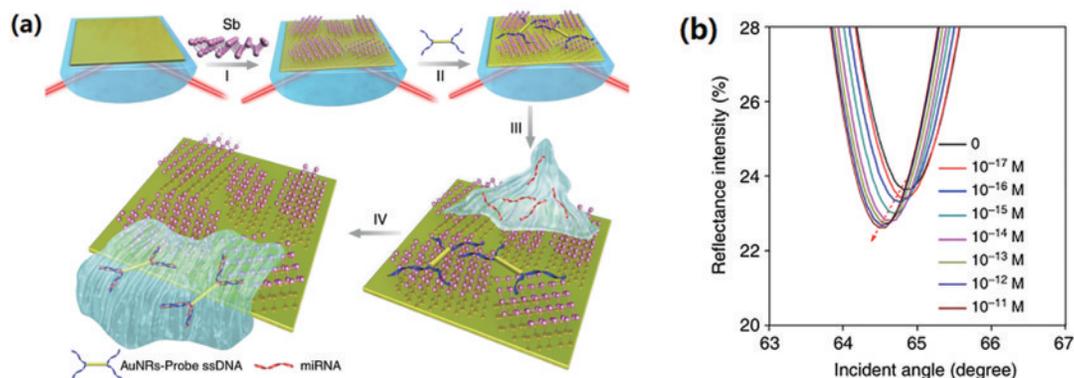


图 8 锑烯 SPR 传感器检测 miRNA。(a)用于检测 miRNA 杂交事件的锑烯传感器示意图;(b)miRNA 浓度范围为 10^{-17} ~ 10^{-11} mol/L 的 SPR 光谱(箭头表示 SPR 角度的变化)^[59]

Fig. 8 Detection of miRNA using antimonene SPR sensor. (a) Schematic diagram of an antimonene sensor for detecting miRNA hybridization events; (b) SPR spectra with miRNA concentrations ranging from 10^{-17} mol/L to 10^{-11} mol/L (arrow indicates the changes in SPR angle)^[59]

4.3 二维材料在蛋白质特异性检测中的应用

GO 表现出几个独特的拉曼散射特征峰,比如能够反映石墨烯层数的主要特征峰 G 峰、表征石墨烯结构缺陷的 D 峰以及表征石墨烯中碳原子的层间堆垛方式的 2D 峰。这些特征峰尖锐、明显,并且可以容易地与荧光背景区分开来,使其成为一种优秀的拉曼报告信号^[60]。然而,GO 的拉曼信号强度较弱,几乎不能直接用于拉曼检测,目前这一问题主要可通过将其与贵金属纳米结构杂交来解决。

2018 年, Yang 等^[61]利用 GO 和银纳米颗粒 (AgNPs) 制造了一种可用于检测前列腺特异性抗原 (PSA) 的超灵敏 SERS 传感器。其中 PSA 是一种糖蛋白,由前列腺产生,当前列腺发生病变时,被大量分

泌到血液中,已被广泛用作癌症生物标志物,用于前列腺癌的早期诊断和监测^[62]。具体的实验方案如图 9(a)所示。第一步,使用涂有 PSA 抗体的 96 孔板从真实的生物样品中获取 PSA,然后将生物素化抗体和链霉亲和素 (SA) 标记的葡萄糖氧化酶 (GOx) 用作信号标签以形成夹心结构。第二步,在免疫反应过程后加入 GOx 的底物葡萄糖,葡萄糖可被 GOx 氧化产生 H_2O_2 。由于 H_2O_2 的强氧化性能,GO-AgNPs 复合材料中的 AgNPs 被溶解,从而直接减小了 GO-AgNPs 复合材料上的 AgNPs 的尺寸。由于 AgNPs 的大小与 SERS 信号的增强密切相关,当其被 H_2O_2 溶解后,GO 的 SERS 信号随之降低,从而可间接反映出 PSA 的浓度。通过这种方法,检测到的 SERS 光谱图和可用于

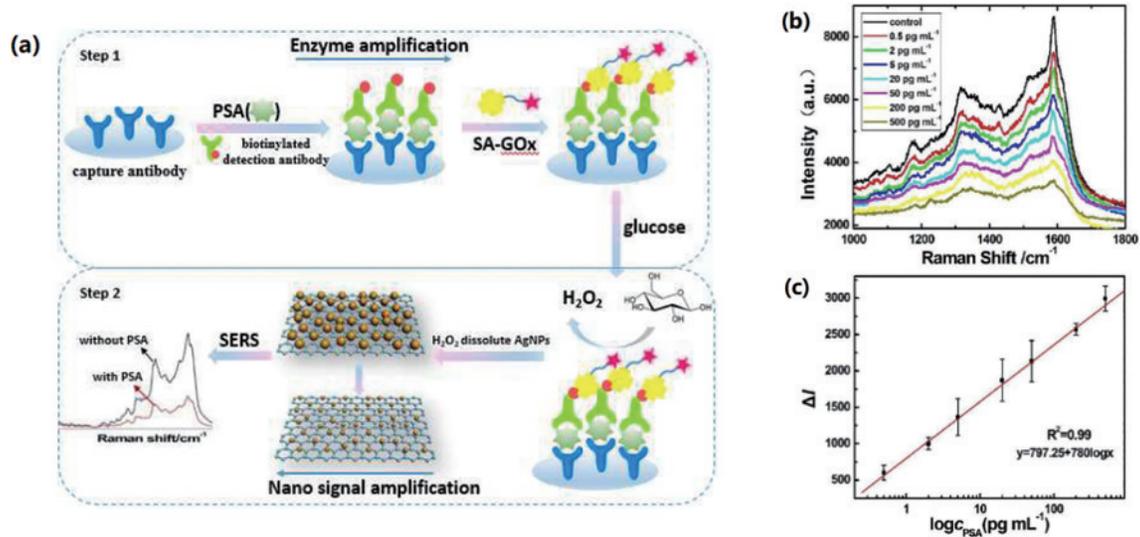


图 9 氧化石墨烯-银纳米颗粒 SERS 传感器检测 PSA。(a)用于检测 PSA 的 SERS 免疫分析图解;(b) SERS 光谱;(c) PSA 检测线性曲线^[61]

Fig. 9 The GO-AgNPs SERS sensor detects PSA. (a) Illustration for SERS immunoassay of PSA; (b) SERS spectra; (c) linear curve for PSA detection^[61]

PSA 检测的标准曲线分别如图 9(b)、(c)所示,GO 的拉曼信号随着 PSA 浓度的增加而有规律地降低。将 G 波段,即在 1580 cm^{-1} 处的 GO 的典型拉曼信号峰值线性拟合后得到如图 9(c)所示的结果。图 9(c)中 PSA 检测标准曲线所展示的浓度范围为 $0.5\sim 500\text{ pg/mL}$,经计算其检测限约为 0.23 pg/mL 。这个检测限与通常检

测限为 ng/mL 量级的商业 ELISA 试剂盒相比降低了 3~4 个数量级,具有明显的提升。而相较于其他类型的传统免疫测定方法,检测限则降低了 4 个数量级以上。表 2 是各种检测方法的比较。可以看出,该检测方法相较于其他方法的检测限有显著的降低,并且具有相对宽广的检测范围。

表 2 多种 PSA 检测方法的比较

Table 2 Comparison of multiple PSA detection methods

Immunoassay method	Detection range / ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Detection limit / ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Years	Reference
SERS immunoassay	$5\times 10^{-4}\sim 0.5$	2.3×10^{-4}	2018	[61]
SERS assay	0.05–200	0.05	2016	[64]
Colorimetric assay	0.05–20	0.03	2013	[65]
Colorimetric assay	0–10	4	2016	[66]
Fluoroimmunoassay	0–128	0.33	2014	[67]
light scattering assay	0.05–10	0.02	2017	[68]
light scattering assay	1–20	1	2017	[69]
Electrochemiluminescence	1.4–70	3.5	2013	[70]
Electrochemical assay	0.14–1400	0.14	2013	[71]
Electrochemical assay	0.01–10	0.006	2012	[72]

石墨烯因其优异的发光性能、高表面积比和可通过表面功能化调节的生物相容性,成为了 SPR 传感器的优秀候选材料。2013 年 Kim 等^[63]利用了石墨烯显著的等离子体特性,将其作为传统 SPR 传感器中金属薄膜的替代物,制造了一种基于表面等离子体共振的石墨烯涂层光纤传感器。他们利用热化学气相沉积法合成石墨烯薄膜,然后将其转移到光纤的传感区域,通过 SPR 信号随分析物折射率变化的原理来进行检测。他们利用了生物素化双交叉 DNA (DXB) 晶格和链霉亲和素的结合评估了这种传感器的性能。石墨烯由于其强 SPR 效应而对周围环境折射率变化十分敏感,当在其表面发生分子结合事件

时,由分子结合引起的环境折射率变化可被其灵敏地响应,可实现对分子结合事件的检测。并且还由于生物素和链霉亲和素特异性结合的特点,这种传感器可以实现对蛋白质分子的特异性检测。实验中,他们首先用不同浓度的分析物对传感器进行了标定,然后在 DXB 和 SA 的结合实验中观察到了由于结合后分子量增加导致折射率增大而引起的 7.276 nm 显著红移,如图 10(b)所示。这项研究首次尝试将石墨烯应用于 SPR 生物传感器并用其取代传统的金属膜,且成功实现了对蛋白质分子的特异性检测,是一项十分有代表性的二维材料代替传统贵金属进行 SPR 传感的工作。

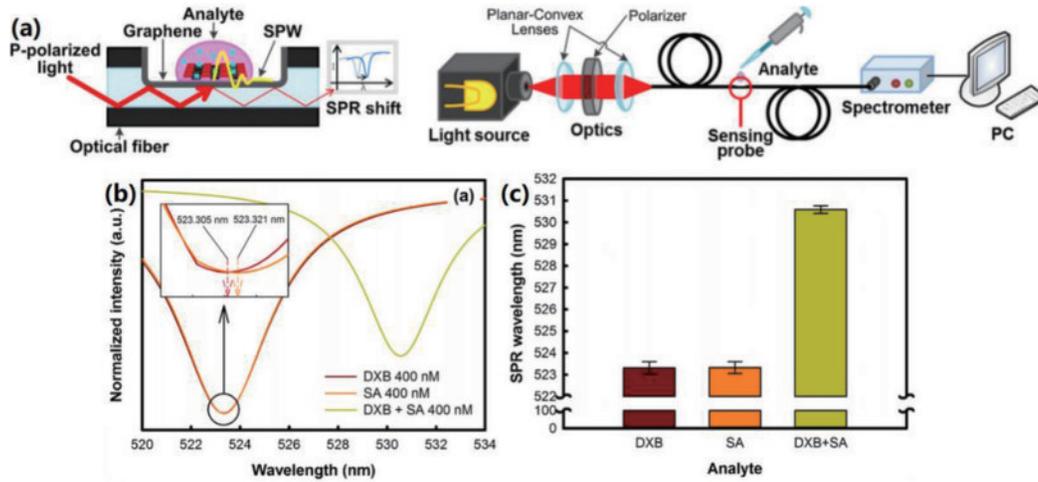


图 10 石墨烯 SPR 传感器特异性检测蛋白质。(a) 基于石墨烯的光纤 SPR 生物传感器原理及实验装置; (b) 每个分析物的 SPR 光谱; (c) 每个分析物对应的 SPR 波长^[63]

Fig. 10 Graphene SPR sensors specifically detect proteins. (a) Principle of graphene-based fiber optic SPR biosensor and the experimental setup; (b) SPR spectra for each analyte; (c) SPR wavelengths for each analyte^[63]

5 结束语

本文就二维纳米材料的概念、产生与发展、性质, 以及其在光学生物传感领域中的传感器原理、传感器的制造与应用做了总结与讨论。首先介绍了二维材料的由来与发展, 描述了第一种二维材料石墨烯的多种优异性能, 而后列举了目前已经成功制备出来的诸多种类的二维材料以及这些二维材料的各种应用领域。之后, 列举了现有的主要三种二维材料光学生物传感器类型, 即二维材料荧光生物传感器、SPR 生物传感器以及 SERS 生物传感器, 简要阐述了其理论基础的由来、基本的概念、研究的跟进以及一些目前的工作成果, 探讨了某些二维材料(例如石墨烯、氧化石墨烯)目前用于生物医学领域的存在一些缺陷, 并且介绍了目前三种二维材料光学生物传感器的常用制造方法。之后, 分别从单细胞水平传感、生物小分子和大分子检测入手, 针对二维材料在单细胞、RNA 以及蛋白质传感方面的应用各给出了其具有代表性的研究工作。在单细胞传感方面分别从癌细胞检测、癌细胞对于抗癌药物反应的监测两个主要癌症研究方向进行了举例说明。在 RNA 检测方面, 给出了两种十分重要的 RNA 类型 mRNA 和 miRNA 的例子。在蛋白质的特异性检测方面, 给出了 SPR 和 SERS 两类光学生物传感器的研究工作实例, 这些传感器均表现出极高的灵敏度。文中, 还对二维材料光学传感器与其他类型传感器的优劣势以及检测范围、检测限等进行了列表比较, 凸显了前者的特点和优势。最后, 对全文进行了总结, 并对二维材料未来发展进行了讨论。

有关二维材料的制备与应用目前方兴未艾。尽管在过去的十几年中, 二维材料领域取得了非凡的进展, 但仍然存在着许多挑战。首先是二维材料的制备方面。

由于二维材料的性质和应用与其结构特征高度相关, 例如尺寸、层数、层间间隔、结晶度、掺杂和缺陷等都深刻影响着二维材料的性质和应用场景。因此如何高度可控地合成具有所需结构特征的二维材料成为了目前亟需深入探索的问题。其次是对二维材料性质的研究方面。虽然目前二维材料已有许多成功的应用, 但对二维材料性质及其与其他物质相互作用机制的进一步研究有利于我们在现有应用基础上进行再拓展。再次, 二维材料的低成本、大规模生产也是目前的一大挑战。虽然目前已有多种湿化学合成和各种剥离的方法来制造二维材料, 但仍不满足实际工业生产应用的需求。最后, 在生物传感领域, 材料的生物相容性一直是需要重点考虑的问题。许多二维材料都表现出较好的生物相容性, 但这需要建立在合适的制备方法和流程的基础之上, 因此在材料制备上平衡调节有害试剂的使用、产率以及最终材料的性质结构等方面仍需要进行深入考虑。除了与二维材料制备相关的发展之外, 二维材料生物传感器的商品化的发展也值得关注。目前二维材料生物传感器的商品化方面仍存在着空白。对于其商品化产品的出现不仅需要优秀的产品设计、生产和成本控制, 而且还要考虑其市场需求以及使用的便捷性, 从而使其从实验室走向产业, 完成研究成果的转化。随着对二维材料各方面更深入的探索, 其具有更广泛且深入的应用, 并有可能进而引发新一轮的技术革新。

参 考 文 献

- [1] Sadri R, Hosseini M, Kazi S N, et al. A facile, bio-based, novel approach for synthesis of covalently functionalized graphene nanoplatelet nano-coolants toward improved thermo-physical and heat transfer properties[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2018, 509: 140-

- 152.
- [2] Hübler A W, Osuagwu O. Digital quantum batteries: energy and information storage in nanovacuum tube arrays[J]. *Complexity*, 2010, 15(5): 48-55.
- [3] Portela C M, Vidyasagar A, Krödel S, et al. Extreme mechanical resilience of self-assembled nanolabyrinthine materials[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(11): 5686-5693.
- [4] Peierls R. Quelques propriétés typiques des corps solides[J]. *Annales de l'institut Henri Poincaré*. 1935, 5(3): 177-222.
- [5] Landau L D. Zur theorie der phasenumwandlungen II[J]. *Physikalische Zeitschrift der Sowjetunion*, 1937, 11(545): 26-35.
- [6] Novoselov K S, Geim A K, Morozov S V, et al. Electric field effect in atomically thin carbon films[J]. *Science*, 2004, 306(5696): 666-669.
- [7] Geim A K, Novoselov K S. The rise of graphene[J]. *Nature Materials*, 2007, 6: 183-191.
- [8] Balandin A A, Ghosh S, Bao W Z, et al. Superior thermal conductivity of single-layer graphene[J]. *Nano Letters*, 2008, 8(3): 902-907.
- [9] Bolotin K I, Sikes K J, Jiang Z, et al. Ultrahigh electron mobility in suspended graphene[J]. *Solid State Communications*, 2008, 146(9/10): 351-355.
- [10] Han J, Ryu S, Sohn D, et al. Mechanical strength characteristics of asymmetric tilt grain boundaries in graphene[J]. *Carbon*, 2014, 68: 250-257.
- [11] Bonaccorso F, Sun Z, Hasan T, et al. Graphene photonics and optoelectronics[J]. *Nature Photonics*, 2010, 4(9): 611-622.
- [12] Novoselov K S, Geim A K, Morozov S V, et al. Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene[J]. *Nature*, 2005, 438(7065): 197-200.
- [13] Dong H F, Gao W C, Yan F, et al. Fluorescence resonance energy transfer between quantum dots and graphene oxide for sensing biomolecules[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(13): 5511-5517.
- [14] Robinson J T, Perkins F K, Snow E S, et al. Reduced graphene oxide molecular sensors[J]. *Nano Letters*, 2008, 8(10): 3137-3140.
- [15] Sun H J, Wu L, Wei W L, et al. Recent advances in graphene quantum dots for sensing[J]. *Materials Today*, 2013, 16(11): 433-442.
- [16] Hu T T, Mei X, Wang Y J, et al. Two-dimensional nanomaterials: fascinating materials in biomedical field[J]. *Science Bulletin*, 2019, 64(22): 1707-1727.
- [17] Dean C R, Young A F, Meric I, et al. Boron nitride substrates for high-quality graphene electronics[J]. *Nature Nanotechnology*, 2010, 5(10): 722-726.
- [18] Miró P, Ghorbani-Asl M, Heine T. Two dimensional materials beyond MoS₂: noble-transition-metal dichalcogenides[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(11): 3015-3018.
- [19] Mak K F, Lee C G, Hone J, et al. Atomically thin MoS₂: a new direct-gap semiconductor[J]. *Physical Review Letters*, 2010, 105(13): 136805.
- [20] Kumbhakar P, Gowda C C, Mahapatra P L, et al. Emerging 2D metal oxides and their applications[J]. *Materials Today*, 2021, 45: 142-168.
- [21] Si J J, Yu J Q, Shen Y, et al. Elemental 2D materials: progress and perspectives toward unconventional structures[J]. *Small Structures*, 2021, 2(3): 2000101.
- [22] Wang Y H, Liu L Z, Ma T Y, et al. 2D graphitic carbon nitride for energy conversion and storage[J]. *Advanced Functional Materials*, 2021, 31(34): 2102540.
- [23] Rives V, Ulibarri M A. Layered double hydroxides (LDH) intercalated with metal coordination compounds and oxometalates[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 1999, 181(1): 61-120.
- [24] Eddaoudi M, Kim J, Rosi N, et al. Systematic design of pore size and functionality in isoreticular MOFs and their application in methane storage[J]. *Science*, 2002, 295(5554): 469-472.
- [25] Furukawa H, Yaghi O M. Storage of hydrogen, methane, and carbon dioxide in highly porous covalent organic frameworks for clean energy applications[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(25): 8875-8883.
- [26] Wu Q, Li N B, Wang Y, et al. A 2D transition metal carbide MXene-based SPR biosensor for ultrasensitive carcinoembryonic antigen detection[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 144: 111697.
- [27] Das S, Demarteau M, Roelofs A. Ambipolar phosphorene field effect transistor[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(11): 11730-11738.
- [28] Leong W S, Luo X, Li Y D, et al. Low resistance metal contacts to MoS₂ devices with nickel-etched-graphene electrodes[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(1): 869-877.
- [29] Yang S X, Jiang C B, Wei S H. Gas sensing in 2D materials[J]. *Applied Physics Reviews*, 2017, 4(2): 021304.
- [30] Wang F M, Shifa T A, Zhan X Y, et al. Recent advances in transition-metal dichalcogenide based nanomaterials for water splitting[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(47): 19764-19788.
- [31] Li W F, Yang Y M, Zhang G, et al. Ultrafast and directional diffusion of lithium in phosphorene for high-performance lithium-ion battery[J]. *Nano Letters*, 2015, 15(3): 1691-1697.
- [32] Swathi R S, Sebastian K L. Resonance energy transfer from a dye molecule to graphene[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 129(5): 054703.
- [33] Peng X Y, Zhang Y L, Lu D T, et al. Ultrathin Ti₃C₂ nanosheets based "off-on" fluorescent nanoprobe for rapid and sensitive detection of HPV infection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 286: 222-229.
- [34] Wu W H, Hu H Y, Li F, et al. A graphene oxide-based nano-beacon for DNA phosphorylation analysis[J]. *Chemical Communications*, 2011, 47(4): 1201-1203.
- [35] Sheng A Z, Wang P, Yang J Y, et al. MXene coupled with CRISPR-Cas12a for analysis of endotoxin and bacteria[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(10): 4676-4681.

- [36] Zhu C F, Zeng Z Y, Li H, et al. Single-layer MoS₂-based nanoprobe for homogeneous detection of biomolecules[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(16): 5998-6001.
- [37] Homola J. Present and future of surface plasmon resonance biosensors[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 377(3): 528-539.
- [38] Raether H. Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings [M]//Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings. Springer tracts in modern physics. Heidelberg: Springer, 1988, 111: 91-116.
- [39] Mohanty N, Berry V. Graphene-based single-bacterium resolution biodevice and DNA transistor: interfacing graphene derivatives with nanoscale and microscale biocomponents[J]. *Nano Letters*, 2008, 8(12): 4469-4476.
- [40] Ling X, Xie L M, Fang Y, et al. Can graphene be used as a substrate for Raman enhancement?[J]. *Nano Letters*, 2010, 10(2): 553-561.
- [41] Ling X, Fang W J, Lee Y H, et al. Raman enhancement effect on two-dimensional layered materials: graphene, h-BN and MoS₂[J]. *Nano Letters*, 2014, 14(6): 3033-3040.
- [42] Sarycheva A, Makaryan T, Maleski K, et al. Two-dimensional titanium carbide (MXene) as surface-enhanced Raman scattering substrate[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2017, 121(36): 19983-19988.
- [43] Li X H, Choy W C H, Ren X G, et al. Highly intensified surface enhanced Raman scattering by using monolayer graphene as the nanospacer of metal film-metal nanoparticle coupling system[J]. *Advanced Functional Materials*, 2014, 24(21): 3114-3122.
- [44] Leenaerts O, Partoens B, Peeters F M. Water on graphene: hydrophobicity and dipole moment using density functional theory[J]. *Physical Review B*, 2009, 79(23): 235440.
- [45] Zhang Y B, Ali S F, Dervishi E, et al. Cytotoxicity effects of graphene and single-wall carbon nanotubes in neural pheochromocytoma-derived PC12 cells[J]. *ACS Nano*, 2010, 4(6): 3181-3186.
- [46] Lu C H, Yang H H, Zhu C L, et al. A graphene platform for sensing biomolecules[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, 48(26): 4785-4787.
- [47] Song B, Li D, Qi W P, et al. Graphene on Au(111): a highly conductive material with excellent adsorption properties for high-resolution bio/nanodetection and identification[J]. *ChemPhysChem*, 2010, 11(3): 585-589.
- [48] Wu L, Chu H S, Koh W S, et al. Highly sensitive graphene biosensors based on surface plasmon resonance [J]. *Optics Express*, 2010, 18(14): 14395-14400.
- [49] Singha S S, Mondal S, Bhattacharya T S, et al. Au nanoparticles functionalized 3D-MoS₂ nanoflower: an efficient SERS matrix for biomolecule sensing[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 119: 10-17.
- [50] Ang P K, Li A, Jaiswal M, et al. Flow sensing of single cell by graphene transistor in a microfluidic channel[J]. *Nano Letters*, 2011, 11(12): 5240-5246.
- [51] Li Z W, Zhang W F, Xing F. Graphene optical biosensors[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(10): 2461.
- [52] Xing F, Meng G X, Zhang Q, et al. Ultrasensitive flow sensing of a single cell using graphene-based optical sensors[J]. *Nano Letters*, 2014, 14(6): 3563-3569.
- [53] Backman V, Wallace M B, Perelman L T, et al. Detection of preinvasive cancer cells[J]. *Nature*, 2000, 406(6791): 35-36.
- [54] Wang Y J, Zhang S W, Xu T, et al. Ultra-sensitive and ultra-fast detection of whole unlabeled living cancer cell responses to paclitaxel with a graphene-based biosensor [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 263: 417-425.
- [55] Slavik R, Homola J. Ultrahigh resolution long range surface plasmon-based sensor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2007, 123(1): 10-12.
- [56] Vilela P, El-Sagheer A, Millar T M, et al. Graphene oxide-upconversion nanoparticle based optical sensors for targeted detection of mRNA biomarkers present in Alzheimer's disease and prostate cancer[J]. *ACS Sensors*, 2017, 2(1): 52-56.
- [57] Sun T, Samiotaki G, Wang S T, et al. Acoustic cavitation-based monitoring of the reversibility and permeability of ultrasound-induced blood-brain barrier opening[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2015, 60(23): 9079-9094.
- [58] Stobiecka M, Dworakowska B, Jakiela S, et al. Sensing of survivin mRNA in malignant astrocytes using graphene oxide nanocarrier-supported oligonucleotide molecular beacons[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 235: 136-145.
- [59] Xue T Y, Liang W Y, Li Y W, et al. Ultrasensitive detection of miRNA with an antimonene-based surface plasmon resonance sensor[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1-9.
- [60] Schedin F, Lidorikis E, Lombardo A, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy of graphene[J]. *ACS Nano*, 2010, 4(10): 5617-5626.
- [61] Yang L, Zhen S J, Li Y F, et al. Silver nanoparticles deposited on graphene oxide for ultrasensitive surface-enhanced Raman scattering immunoassay of cancer biomarker[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(25): 11942-11947.
- [62] Kaya T, Kaneko T, Kojima S, et al. High-sensitivity immunoassay with surface plasmon field-enhanced fluorescence spectroscopy using a plastic sensor chip: application to quantitative analysis of total prostate-specific antigen and GalNAc β 1-4GlcNAc-linked prostate-specific antigen for prostate cancer diagnosis[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(3): 1797-1803.
- [63] Kim J A, Hwang T, Dugasani S R, et al. Graphene based fiber optic surface plasmon resonance for biochemical sensor applications[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 187: 426-433.
- [64] Gao R K, Cheng Z Y, DeMello A J, et al. Wash-free magnetic immunoassay of the PSA cancer marker using SERS and droplet microfluidics[J]. *Lab on a Chip*, 2016,

- 16(6): 1022-1029.
- [65] Gao Z Q, Xu M D, Hou L, et al. Magnetic bead-based reverse colorimetric immunoassay strategy for sensing biomolecules[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(14): 6945-6952.
- [66] Yang Y C, Tseng W L. 1, 4-benzenediboronic-acid-induced aggregation of gold nanoparticles: application to hydrogen peroxide detection and biotin-avidin-mediated immunoassay with naked-eye detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(10): 5355-5362.
- [67] Li X, Li W B, Yang Q H, et al. Rapid and quantitative detection of prostate specific antigen with a quantum dot nanobeads-based immunochromatography test strip[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(9): 6406-6414.
- [68] Vial S, Wenger J. Single-step homogeneous immunoassay for detecting prostate-specific antigen using dual-color light scattering of metal nanoparticles[J]. *The Analyst*, 2017, 142(18): 3484-3491.
- [69] Wu X, Li T, Tao G Y, et al. A universal and enzyme-free immunoassay platform for biomarker detection based on gold nanoparticle enumeration with a dark-field microscope[J]. *The Analyst*, 2017, 142(22): 4201-4205.
- [70] Wu M S, Yuan D J, Xu J J, et al. Electrochemiluminescence on bipolar electrodes for visual bioanalysis[J]. *Chemical Science*, 2013, 4(3): 1182-1188.
- [71] Liu J, Lu C Y, Zhou H, et al. A dual-functional electrochemical biosensor for the detection of prostate specific antigen and telomerase activity[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(59): 6602-6604.
- [72] Wu D, Li R, Wang H X, et al. Hollow mesoporous silica microspheres as sensitive labels for immunoassay of prostate-specific antigen[J]. *The Analyst*, 2012, 137(3): 608-613.