

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018 年 5 月 31 日 (31.05.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/094779 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 27/414 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2016/109398

(22) 国际申请日: 2016 年 12 月 12 日 (12.12.2016)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201611054180.7 2016 年 11 月 25 日 (25.11.2016) CN

(71) 申请人: 深圳大学(SHENZHEN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区南海大道 3688 号, Guangdong 518060 (CN)。

(72) 发明人: 林鹏(LIN, Peng); 中国广东省深圳市南山区南海大道 3688 号, Guangdong 518060 (CN)。宋家俊(SONG, Jiajun); 中国广东省深圳市南山区南海大道 3688 号, Guangdong 518060 (CN)。魏伟伟(WEI, Weiwei); 中国广东省深圳市南山区南海大道 3688 号, Guangdong 518060 (CN)。柯善明(KE, Shanming); 中国广东省深圳市南山区南海大道 3688 号, Guangdong 518060 (CN)。曾燮榕(ZENG, Xierong); 中国广东省深圳市南山区南海大道 3688 号, Guangdong 518060 (CN)。

(74) 代理人: 深圳市君胜知识产权代理事务所(普通合伙)(JOHNSON INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY(SHENZHEN)); 中国广东省深圳市南山区麒麟路 1 号南山知识服务大楼 308-309 号, Guangdong 518052 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: PHOTOELECTROCHEMICAL BIOSENSOR AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称: 一种光电化学生物传感器及其制备方法

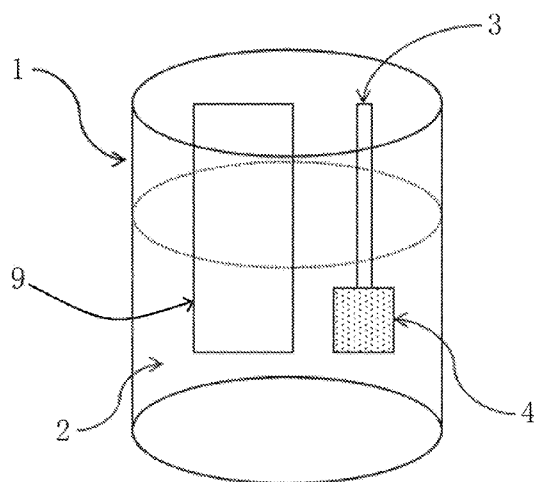


图 1

(57) Abstract: A photoelectrochemical biosensor and a preparation method therefor. The photoelectrochemical biosensor comprises: an electrolytic cell (1), electrolyte (2) provided in the electrolytic cell (1), an organic electrochemical transistor (9) provided in the electrolytic cell (1), and a gate electrode (3) provided in the electrolytic cell (1); the organic electrochemical transistor (9) comprises a substrate (5), a source electrode (7) and a drain electrode (8) provided on the substrate (5), and an organic semiconductor film layer (6) applied over the substrate (5) and connected to the source electrode (7) and the drain electrode (8); the gate electrode (3) is modified with a photoelectrically active semiconductor material (4) serving as a sensitive functional layer of the sensor. The photoelectrochemical biosensor has extremely high sensitivity, a simple structure, and a small device size, and therefore, the problem of difficulty in miniaturization of the photoelectrochemical biosensor is resolved. The photoelectrochemical biosensor is generally applicable in the field of biological detection, and can be widely applied to biosensors such as enzyme biosensors and cell sensors, besides DNA sensors and immunosensors.

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要：一种光电化学生物传感器及其制备方法，光电化学生物传感器包括：电解池(1)，设置在电解池(1)内的电解液(2)，设置在电解池(1)内的有机电化学晶体管(9)，及设置在电解池(1)内的栅电极(3)；有机电化学晶体管(9)包括：衬底(5)，设置在衬底(5)之上的源电极(7)和漏电极(8)，及涂覆在衬底(5)之上连接源电极(7)和漏电极(8)的有机半导体薄膜层(6)；栅电极(3)上修饰有光电活性半导体材料(4)作为传感器的敏感功能层。光电化学生物传感器具有极高的灵敏度，且结构简单、器件尺寸小，解决了光电化学生物传感器不易微型化的问题。光电化学生物传感器在生物检测领域具有普适性，除可以应用于DNA传感器和免疫传感器外，在酶生物传感、细胞传感等生物传感方面也都可以广泛适用。

一种光电化学生物传感器及其制备方法

技术领域

本发明涉及生物传感技术领域，尤其涉及一种光电化学生物传感器及其制备方法。

背景技术

光电化学（PEC）生物传感技术是在电化学分析方法的基础上发展起来的一种生物传感技术，由于其灵敏度高、价格低廉及设备简单等优点，已被广泛应用于酶生物传感、DNA 传感、免疫传感、及细胞传感等各种生物传感。PEC 的检测原理是基于在光照下识别元件和目标分子之间的生物识别作用而产生相应电信号的改变。目前，对于 PEC 生物传感器中信号的检测主要通过电化学工作站，建立一个由工作电极、参比电极、及对电极组成的三电极测试系统来检测光电流的大小。该系统虽然结构简单，但不利于器件化，也为该传感器的微型化带来不便。

因此，现有技术还有待于改进和发展。

发明内容

鉴于上述现有技术的不足，本发明的目的在于提供一种光电化学生物传感器及其制备方法，从而进一步提高光电化学生物传感器的灵敏度及解决现有的光电化学生物传感器不易微型化的问题。

本发明的技术方案如下：

一种光电化学生物传感器，包括：电解池，设置在所述电解池内的电解液，设置在所述电解池内的有机电化学晶体管，及设置在所述电解池内的栅电极；所述有机电化学晶体管包括：衬底，设置在所述衬底之上的源电极和漏电极，及涂覆在衬底之上连接源电极和漏电极的有机半导体薄膜层；所述栅电极上修饰有光电活性半导体材料作为传感器的敏感功能层。

所述的光电化学生物传感器，其中，所述光电活性半导体材料为有机半导体材料、无机半导体材料或二者的组合。

所述的光电化学生物传感器，其中，所述衬底是由玻璃、聚合物柔性材料或硅片制成。

所述的光电化学生物传感器，其中，所述源电极、漏电极及栅电极是由金属材料、金属氧化物半导体材料、合金材料构成。

所述的光电化学生物传感器，其中，所述有机半导体薄膜层由聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸、聚吡咯、聚噻吩、聚苯胺、聚卟啉或者聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸、聚吡咯、聚噻吩、聚苯胺、聚卟啉的两种或两种以上的共聚物中的至少一种构成。

所述的光电化学生物传感器，其中，所述源电极和漏电极的厚度为 50-500nm。

所述的光电化学生物传感器，其中，所述有机半导体薄膜层的厚度为 10-300nm。

一种如以上任一项所述的光电化学生物传感器的制备方法，包括步骤：

A、彻底清洗衬底并干燥，在衬底上制备源电极和漏电极，在源电极和漏电极之间制备有机半导体薄膜层，得到有机电化学晶体管；

B、彻底清洗栅电极并干燥，在栅电极上修饰光电活性半导体材料作为传感器的敏感功能层，得到修饰后的栅电极；

C、将有机电化学晶体管和修饰后的栅电极放置于装有电解液的电解池中，制得所述光电化学生物传感器。

所述的光电化学生物传感器的制备方法，其中，所述步骤 A 中，所述的源电极和漏电极是通过真空热蒸镀、磁控溅射或气相沉积中的一种方法制备。

所述的光电化学生物传感器的制备方法，其中，所述步骤 A 中，制备有机半导体薄膜层的方法为旋涂或喷墨印刷；退火温度为 100-250℃，退火氛围为氮气，时间为 20-60min。

有益效果：本发明首次将光电化学生物传感技术与有机电化学晶体管相结合，由于有机电化学晶体管兼具传感和信号放大的作用，可对栅电极上微弱的电流信号变化进行放大，因此该传感器具有极高的灵敏度。本发明结构简单、器件尺寸小，所有部件都可以集成到一个微小衬底上，解决了现有的光电化学生物传感器不易微型化的问题。本发明在生物检测领域具有普适性，除可以应用于 DNA 传感器和免疫传感器外，在酶生物传感、细胞传感等各种生物传感方面也都可以广泛适用。

附图说明

图 1 是本发明光电化学生物传感器的整体结构示意图。

图 2 是本发明所述有机电化学晶体管的结构示意图。

图 3 为光照“关-开”下栅电极修饰有 CdS QDs 的器件的 I_{ds} -T 曲线。

图 4 为 DNA 杂化前后（目标 DNA 浓度为 10^{-13} M）所测的 I_{ds} -T 曲线（a 为 CdS QDs 修饰的栅电极的 I_{ds} -T 曲线，b 为探针 ssDNA 在 CdS QDs 修饰的栅电极的 I_{ds} -T 曲线，c 为目标 ssDNA 和探针 ssDNA 杂化后的 I_{ds} -T 曲线）。

图 5 为沙门氏菌（沙门氏菌浓度为 10^8 cells/ml）与抗体结合前后所测的 I_{ds} -T 曲线（a 为 CdS QDs 修饰的栅电极的 I_{ds} -T 曲线，b 为固定抗体在 CdS QDs 修饰的栅电极上的 I_{ds} -T 曲线，c 为沙门氏菌与抗体结合后的 I_{ds} -T 曲线）。

图 6 为采用光电化学分析方法测试不同浓度沙门氏菌的结果。

图 7 为基于有机电化学晶体管的光电化学传感器测试不同浓度沙门氏菌的结果。

具体实施方式

本发明提供一种光电化学生物传感器及其制备方法，为使本发明的目的、技术方案及效果更加清楚、明确，以下对本发明进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

本发明提供一种光电化学生物传感器，用于生物分子的检测，如图 1、图 2 所示，包括：电解池 1，设置在所述电解池 1 内的电解液 2，设置在所述电解池 1 内的有机电化学晶体管 9，及设置在所述电

解池内的栅电极 3；所述有机电化学晶体管 9 包括：衬底 5，设置在所述衬底 5 之上的源电极 7 和漏电极 8，及涂覆在衬底 5 之上连接源电极 7 和漏电极 8 的有机半导体薄膜层 6；所述栅电极 3 上修饰有光电活性半导体材料 4 作为传感器的敏感功能层。

进一步的，本发明实施例中，所述光电活性半导体材料为有机半导体材料、无机半导体材料或二者的组合；例如 CdS、TiO₂。

进一步的，本发明实施例中，所述衬底是由玻璃、聚合物柔性材料（例如 PET）或硅片制成。

进一步的，本发明实施例中，所述源电极、漏电极及栅电极是由金属材料、金属氧化物半导体材料、合金材料构成；例如 Au、Ag、Pt、Cu、ITO 等。

进一步的，本发明实施例中，所述有机半导体薄膜层由聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸（PEDOT:PSS）、聚吡咯、聚噻吩、聚苯胺、聚卞唑或者聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸、聚吡咯、聚噻吩、聚苯胺、聚卞唑的两种或两种以上的共聚物中的至少一种构成。

进一步的，本发明实施例中，所述源电极和漏电极的厚度为 50-500nm。

进一步的，本发明实施例中，所述有机半导体薄膜层的厚度为 10-300nm。

进一步的，本发明实施例中，将源电极、漏电极和栅电极放置于装有电解液的电解池中进行检测，所述电解液用于作为电子给体。

本发明所述有机电化学晶体管(OECT)为有机薄膜晶体管(OTFT)

中的其中重要一类，其具有成本低、容易制备、工作电压低 ($<1V$)、生物兼容性好、易微型化、可制成柔性器件等诸多优点。由于 OEET 同时具有传感和信号放大的功能，因此在生物分子检测中具有非常高的灵敏度和低的检测极限。与此同时，OEET 可制备成小尺寸器件，有利于传感器的微型化和可集成性。

本发明将 OEET 和 PEC 两种生物检测技术完美结合在一起，开发出一种基于有机电化学晶体管的光电化学新型生物传感技术。由于该技术结合了 OEET 和 PEC 的各自优势，因此具有更高的灵敏度和更低的检测极限，且器件可微型化并制作阵列检测系统，有望在生物传感领域得到广泛的应用。

在本发明所述光电化学生物传感器的基础上，可以通过进一步在光电活性半导体材料修饰的栅电极表面上固定探针 ssDNA (单链 DNA)、抗体等，分别对应制得光电化学 DNA 传感器和光电化学免疫传感器，从而达到对应检测目标 ssDNA 和沙门氏菌等细菌浓度的目的。

本发明实施例还提供了一种如以上所述的光电化学生物传感器的制备方法，包括步骤：

S100、彻底清洗衬底并干燥，在衬底上制备源电极和漏电极，在源电极和漏电极之间制备有机半导体薄膜层，得到有机电化学晶体管；

S200、彻底清洗栅电极并干燥，在栅电极上修饰光电活性半导体材料作为传感器的敏感功能层，得到修饰后的栅电极；

S300、将有机电化学晶体管和修饰后的栅电极放置于装有电解液

的电解池中，制得所述光电化学生物传感器。

优选地，所述步骤 S100 中，所述的源电极和漏电极是通过真空热蒸镀、磁控溅射或气相沉积中的一种方法制备。

优选地，所述步骤 S100 中，制备有机半导体薄膜层的方法为旋涂或喷墨印刷；退火温度为 100-250℃，退火氛围为氮气，时间为 20-60min。

本发明将有机电化学晶体管（OEET）和光电化学（PEC）生物分析方法相结合，以光电活性材料修饰 OEET 中的栅电极，在光照条件下，当待测物引起栅电极上光电流的变化时，会进一步引起 OEET 相关电学参数（界面电势、有效栅电压、沟道电流等）的变化，最终通过测量 OEET 沟道电流的变化来实现对生物分子的检测。由于 OEET 兼具传感和信号放大的作用，可对栅电极上微弱的电流信号变化进行放大，因此该传感器具有极高的灵敏度。此外，该传感器还有结构简单、易微型化、可制成柔性器件、工作电压低（<1V）等诸多优点。该新型传感技术目前已成功应用于 DNA 检测和免疫传感，其在酶生物传感和细胞传感等各种传感领域将具有广泛的应用前景。

下面以具体实施例对本发明作详细说明：

实施例 1 基于有机电化学晶体管的光电化学 DNA 传感器

原理：栅电极选用组装有硫化镉量子点（CdS QDs）的 ITO 电极，在光照条件下，当光的能量大于 CdS 中电子跃迁所需的能量时，CdS 中价带的电子会跃迁至导带，形成电子-空穴对。当导带中的电子注入电极，溶液中电子给体提供电子给价带中的空穴，会形成光电流，

该电流的产生会降低电解质/栅电极界面的电位，从而增加施加在 OEET 器件上的有效栅电压。OEET 的沟道电流如以下方程所示：

$$I_{DS} = \frac{q\mu p_0 t W}{L V_p} (V_p - V_g^{eff} + \frac{V_{DS}}{2}) V_{DS} \quad (|V_{DS}| \ll |V_p - V_g^{eff}|)$$

$$V_p = q p_0 t / C_i$$

$$V_G^{eff} = V_G + V_{offset}$$

其中 q 代表电子电量， μ 代表空穴迁移率， p_0 代表有机半导体层中的初始空穴密度， W 和 L 分别代表器件沟道的宽度和长度， t 代表有机半导体膜的厚度， C_i 代表 OEET 器件的有效栅电容， V_p 代表夹断电压， V_G^{eff} 代表有效栅电压， V_{offset} 代表补偿电压，补偿电压与栅极-电解质、电解质-沟道这两个界面的电压降有关系。

由于有机电化学晶体管的沟道电流 I_{ds} 受到栅电压 V_G 的调控，由以上方程可以看出，当有效栅电压增大时沟道电流 I_{ds} 会减小。图 3 中光照“关-开”（off-on）形成的台阶大小间接反映了栅电极上产生光电流的大小，并且对该信号进行了放大，因此当栅电极上产生的光电流大小改变时， I_{ds} - T 曲线中光照“关-开”所形成的台阶大小也会随之改变，通过比较 DNA 杂化前后台阶变化的大小可以达到检测的目的。

在该实例中，本发明还设计了基于硫化镉量子点（CdS QDs）和金纳米颗粒（Au NPs）之间的激子-等离子体效应的体系来进一步提升传感器的灵敏度，由于 CdS QDs 的荧光光谱和 Au NPs 的紫外吸收光谱重叠，光照条件下 CdS QDs 的荧光可以激发 Au NPs 发生表面等离子体共振，它们间的相互作用会改变 CdS QDs 内的激子状态，引起光电流的降低。因此，在目标 ssDNA（单链 DNA）上修饰 Au NPs，

在栅电极上连接探针 ssDNA，其发生杂化后会导致光电流的降低，在 I_{ds} -T 曲线上表现为光照“关-开”台阶的减小，根据不同浓度目标 ssDNA 引起光电流猝灭的效果不同达到检测不同浓度 DNA 的效果，其中图 4 为浓度为 10^{-13} M 目标 ssDNA 杂化前后的 I_{ds} -T（沟道电流-时间）曲线，该 DNA 传感器具有极高的灵敏度，检测极限可达 10^{-13} M 以下浓度。

基于有机电化学晶体管的光电化学 DNA 传感器的制备过程

1. 制作有机电化学晶体管（OECT）的源电极、漏电极及有机半导体薄膜层：将清洗好的玻璃贴紧在设计好图案的掩模板上，通过热蒸镀沉积金属电极，分别沉积 10nm 的 Cr 和 100nm 的 Au 以得到 Au/Cr/玻璃电极，在该电极上旋涂一层掺有二甲基亚砜（DMSO）的聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸（PEDOT:PSS），将不需要覆盖 PEDOT:PSS 膜的地方擦除干净；在氮气氛围 180℃退火 30min，使 PEDOT:PSS 膜更加牢固的附着在电极表面并最终得到了 OECT 器件。

2. TGA（巯基乙酸）修饰的 CdS QDs 的合成：在三口烧瓶中加入 50 mL 0.01 M CdCl_2 溶液，搅拌，通入氮气，升温至 40℃后加入 250 μ L TGA，反应 30 min；在此期间，使用 1 M 的 NaOH 溶液调节混合液的 pH 到 11；然后，加入 5.0mL 0.1M Na_2S 溶液，氮气氛围下 110℃加热，回流 4 h，用水(体积比 1:1)稀释后，保存于 4℃冰箱待用。

3. Au NPs 的合成：Au NPs 通过常见的 NaBH_4 还原 HAuCl_4 的方法来进行；0.6mL 0.1M 冰水配制的 NaBH_4 加入到不停搅拌的 20mL 2.5×10^{-4} M HAuCl_4 溶液中；溶液迅速变为橘红色代表 Au NPs 的形成，

该溶液继续在冰水浴中搅拌 10 min, 随后在常温条件下搅拌 3h, 在此过程中, 溶液颜色会逐渐变为酒红色; 搅拌结束后, 金胶溶液保存于 4 °C 冰箱待用。

4. CdS QDs 修饰的栅电极的制备: 将洗净干燥后的 ITO 电极依次浸入 2% PDDA(聚合物电解质, 0.5 M NaCl 溶液配制)和 CdS QDs 溶液中各 10 min, 每次浸泡完用水清洗, 该过程重复 3 次, 得到所需的多层膜修饰电极, CdS QDs 干燥稳定后在光照下测量 I_{ds} -T 曲线。

5. 探针 ssDNA 在 CdS QDs 修饰的栅电极表面的固定: 通过探针 ssDNA 上的 NH_2 基团和 CdS QDs 上的 $COOH$ 基团之间的偶联反应进行; 将 CdS QDs 修饰的电极浸入 20mg/ml EDC(1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐)和 10mg/ml NHS(N-羟基琥珀酰亚胺)的溶液中 1h, 随后用水小心冲洗, 将 25 μ L 探针 ssDNA (1 μ M)滴在电极表面并 4°C 孵化过夜后, 使用 10 mM PBS 小心冲洗, 以便去除未固定的 ssDNA; 然后, 使用 1 mM MEA(乙醇胺)于 4°C 封闭电极 2h, 再用 10 mM PBS(磷酸盐缓冲液)小心冲洗后, 在光照下, 测量 I_{ds} -T 曲线。

6. Au NPs 对目标 ssDNA 的标记: 首先使用 10 mM TCEP 活化目标 DNA 上的巯基, 还原双硫键; 在 50 μ L 10 μ M 的活化过的目标 DNA 中加入 1 ml 所制备的 Au NPs 溶液, 摇床震荡过夜, 期间加入 0.5M NaCl 溶液, 离心收集后 4°C 保存备用, 不同浓度的 Au NPs 修饰的目标 DNA 通过加入对应体积的 10mM PBS 进行稀释。

7. 目标 ssDNA 和探针 ssDNA 之间的杂化: 25 μ L 的不同浓度 Au

NPs 标记的目标 DNA 滴在探针 ssDNA 修饰的栅电极表面, 在浓度为 20mM 的 MgCl_2 条件下 37°C 孵化 1h, 之后用 10 mM PBS 冲洗, 去除未杂化的目标 ssDNA, 然后, 在光照下, 测量 $I_{\text{ds}}\text{-T}$ 曲线。

在该实例中, CdS QDs 修饰、连接探针 ssDNA 以及和目标 ssDNA 杂化后的栅电极的 $I_{\text{ds}}\text{-T}$ 曲线在 0.1M AA (抗坏血酸) 溶液 (0.1M PBS 溶液配制) 中测量, $V_{\text{G}}=0\text{V}$, $V_{\text{DS}}=0.1\text{V}$, 激发波长为 420nm。

实施例 2 基于有机电化学晶体管的光电化学免疫传感器

原理: 同样是通过测量器件的 $I_{\text{ds}}\text{-T}$ 曲线来反应栅电极上光电流的变化, 在栅电极上连接抗体, 当抗体与沙门氏菌发生特异性结合时, 由于沙门氏菌的位阻效应会使得栅电极光电流下降, 并且不同浓度沙门氏菌引起光电流的下降值不同, 据此可以对不同浓度的沙门氏菌进行检测。

图 5 为浓度为 10^8cells/ml 沙门氏菌与抗体结合前后的电学信号变化图。图 6 为采用传统的光电化学分析方法测试不同浓度沙门氏菌的结果, 检测极限为 10^3cells/ml 。图 7 为基于有机电化学晶体管的光电化学传感器测试不同浓度沙门氏菌的结果, 检测极限为 10^2cells/ml 。由此可见, 该新型传感技术的灵敏度要高于传统的光电化学传感技术。

基于有机电化学晶体管的光电化学免疫传感器的制备过程

1. 制作有机电化学晶体管 (OECT) 的源电极、漏电极及有机半导体薄膜层: 将清洗好的玻璃贴紧在设计好图案的掩模板上, 通过热蒸镀沉积金属电极, 分别沉积 10nm 的 Cr 和 100nm 的 Au 以得到 Au/Cr/玻璃电极, 在该电极上旋涂一层掺有二甲基亚砷 (DMSO) 的

聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸 (PEDOT:PSS), 将不需要覆盖 PEDOT:PSS 膜的地方擦除干净; 在氮气氛围 180℃退火 1h, 使 PEDOT:PSS 膜更加牢固的附着在电极表面并最终得到了 OECT 器件。

2. TGA 修饰的 CdS QDs 的合成: 在三口烧瓶中加入 50 mL 0.01 M CdCl_2 溶液, 搅拌, 通入氮气, 升温至 40℃后加入 250 μL TGA, 反应 30 min; 在此期间, 使用 1 M 的 NaOH 溶液调节混合液的 pH 到 11; 然后, 加入 5.0mL 0.1M Na_2S 溶液, 氮气下 110℃加热, 回流 4 h, 用水(体积比 1:1)稀释后, 保存于 4℃冰箱待用。

3. CdS QDs 修饰的栅电极的制备: 将洗净干燥后的 ITO 电极依次浸入 2% PDDA(0.5 M NaCl 溶液配制)和 CdS QDs 溶液中各 10 min, 每次浸泡完用水清洗, 该过程重复 3 次, 得到所需的多层膜修饰电极, 在光照下, 测量 $I_{\text{ds}}\text{-T}$ 曲线。

4. 抗体在 CdS QDs 修饰的栅电极表面的固定: 通过抗体上的 NH_2 基团和 CdS QDs 上的 COOH 基团之间的偶联反应进行; 将 CdS QDs 修饰的电极浸入 20mg/ml EDC (1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐) 和 10mg/ml NHS (N-羟基琥珀酰亚胺) 的溶液中 1h, 随后用水小心冲洗, 将 25 μL 抗体 (2mg/ml) 滴在电极表面并 4℃孵化过夜后, 使用 10 mM PBS 小心冲洗, 以便去除未固定的抗体; 然后, 使用 1 mM MEA 于 4℃封闭电极 2h, 再用 10 mM PBS 小心冲洗后, 在光照下, 测量 $I_{\text{ds}}\text{-T}$ 曲线。

5. 沙门氏菌与抗体的结合: 修饰有抗体的栅电极在 1ml 在不同浓度的沙门氏菌溶液中 (10mM PBS 溶液配制) 室温下浸泡 1h 以便其

充分结合，然后用 10mM PBS 小心冲洗，除去未结合的沙门氏菌，在光照下，测量 I_{ds} -T 曲线。

在该实例中，CdS QDs 修饰、连接抗体以及和沙门氏菌结合后的栅电极的 I_{ds} -T 曲线在 0.1M 抗坏血酸 (AA) 溶液 (0.1M PBS 溶液配制) 中测量， $V_G=0V$ ， $V_{DS}=0.1V$ ，激发波长为 420nm。

本发明首次将光电化学 (PEC) 生物传感技术与有机电化学晶体管 (OECT) 相结合，由于 OECT 兼具传感和信号放大的作用，可对栅电极上微弱的电流信号变化进行放大，因此该传感器具有极高的灵敏度。本发明器件制备方法多样，结构简单、器件尺寸小，所有部件都可以集成到一个微小衬底上，易集成化、微型化、阵列化，适合大规模生产；该传感器工作电压低 ($<1V$)，有机半导体薄膜层和组装于栅电极上的半导体材料都可选用生物兼容性好的材料，为传感器提供良好的稳定性；此外，本发明在生物检测领域具有普适性，除可以应用于 DNA 传感器和免疫传感器外，在酶生物传感、细胞传感等各种生物传感方面也都可以广泛适用。

另外需要说明的是，本发明有机电化学晶体管中的有机半导体薄膜层也可换成其他无机半导体薄膜材料如石墨烯。本发明是在 OECT 栅电极上修饰光电活性材料，光照下引起电解质/栅电极界面电位变化来达到生物分子检测目的，而在有机电化学晶体管中的有机半导体薄膜层上修饰光电活性材料，光照下引起电解质/沟道界面电位变化亦可同样达到传感检测目的。

综上所述，本发明所述光电化学生物传感器具有极高的灵敏度，

且结构简单、器件尺寸小，解决了现有的光电化学生物传感器不易微型化的问题。本发明光电化学生物传感器在生物检测领域具有普适性，除可以应用于 DNA 传感器和免疫传感器外，在酶生物传感、细胞传感等生物传感方面也都可以广泛适用。

应当理解的是，本发明的应用不限于上述的举例，对本领域普通技术人员来说，可以根据上述说明加以改进或变换，所有这些改进和变换都应属于本发明所附权利要求的保护范围。

权 利 要 求 书

1、一种光电化学生物传感器，其特征在于，包括：电解池，设置在所述电解池内的电解液，设置在所述电解池内的有机电化学晶体管，及设置在所述电解池内的栅电极；

所述有机电化学晶体管包括：衬底，设置在所述衬底之上的源电极和漏电极，及涂覆在衬底之上连接源电极和漏电极的有机半导体薄膜层；

所述栅电极上修饰有光电活性半导体材料作为传感器的敏感功能层。

2. 根据权利要求 1 所述的光电化学生物传感器，其特征在于，所述光电活性半导体材料为有机半导体材料、无机半导体材料或二者的组合。

3. 根据权利要求 1 所述的光电化学生物传感器，其特征在于，所述衬底是由玻璃、聚合物柔性材料或硅片制成。

4. 根据权利要求 1 所述的光电化学生物传感器，其特征在于，所述源电极、漏电极及栅电极是由金属材料、金属氧化物半导体材料、合金材料构成。

5. 根据权利要求 1 所述的光电化学生物传感器，其特征在于，所述有机半导体薄膜层由聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸、聚吡咯、聚噻吩、聚苯胺、聚吡唑或者聚(3,4-乙烯二氧噻吩)-聚苯乙烯磺酸、聚吡咯、聚噻吩、聚苯胺、聚吡唑的两种或两种以上的共聚物中的至少一种构成。

6. 根据权利要求 1 所述的光电化学学生物传感器, 其特征在于, 所述源电极和漏电极的厚度为 50-500nm。

7. 根据权利要求 1 所述的光电化学学生物传感器, 其特征在于, 所述有机半导体薄膜层的厚度为 10-300nm。

8. 一种如权利要求 1-7 任一项所述的光电化学学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 包括步骤:

A、彻底清洗衬底并干燥, 在衬底上制备源电极和漏电极, 在源电极和漏电极之间制备有机半导体薄膜层, 得到有机电化学晶体管;

B、彻底清洗栅电极并干燥, 在栅电极上修饰光电活性半导体材料作为传感器的敏感功能层, 得到修饰后的栅电极;

C、将有机电化学晶体管和修饰后的栅电极放置于装有电解液的电解池中, 制得所述光电化学学生物传感器。

9. 根据权利要求 8 所述的光电化学学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 所述步骤 A 中, 所述的源电极和漏电极是通过真空热蒸镀、磁控溅射或气相沉积中的一种方法制备。

10. 根据权利要求 8 所述的光电化学学生物传感器的制备方法, 其特征在于, 所述步骤 A 中, 制备有机半导体薄膜层的方法为旋涂或喷墨印刷; 退火温度为 100-250℃, 退火氛围为氮气, 时间为 20-60min。

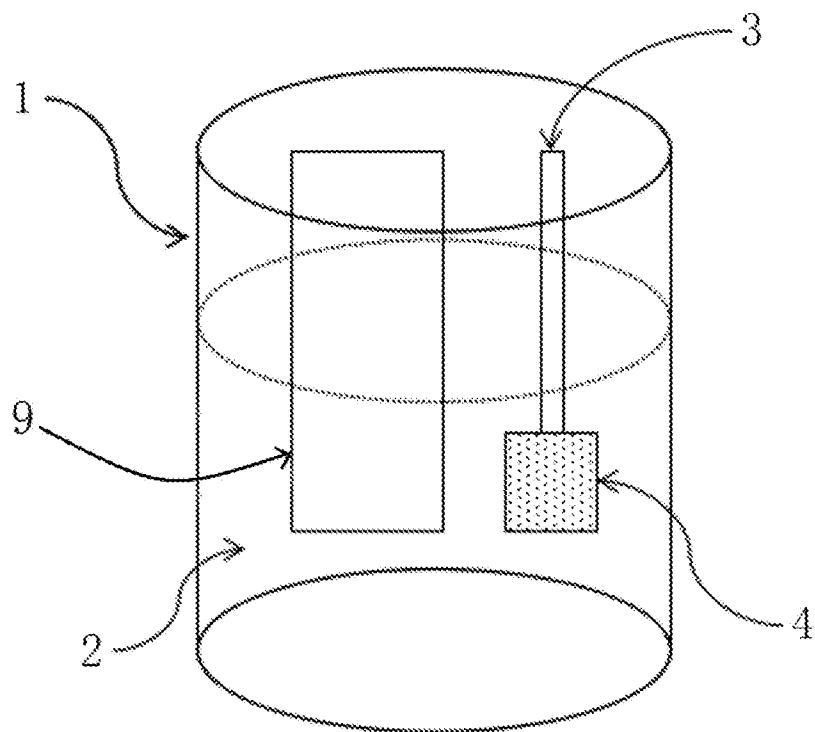


图 1

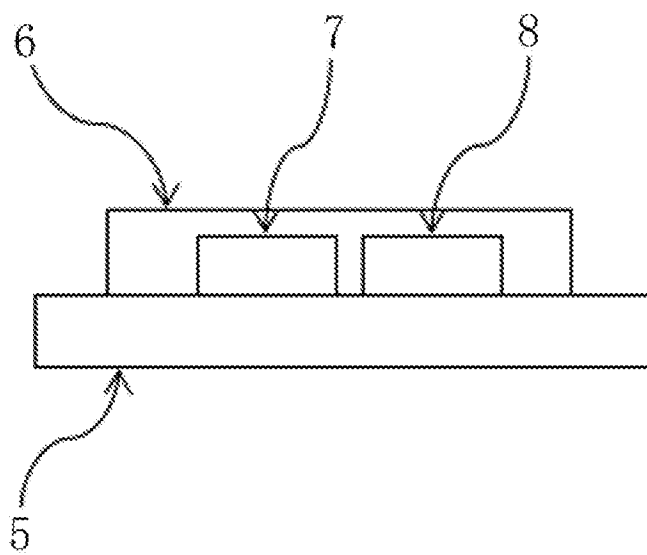


图 2

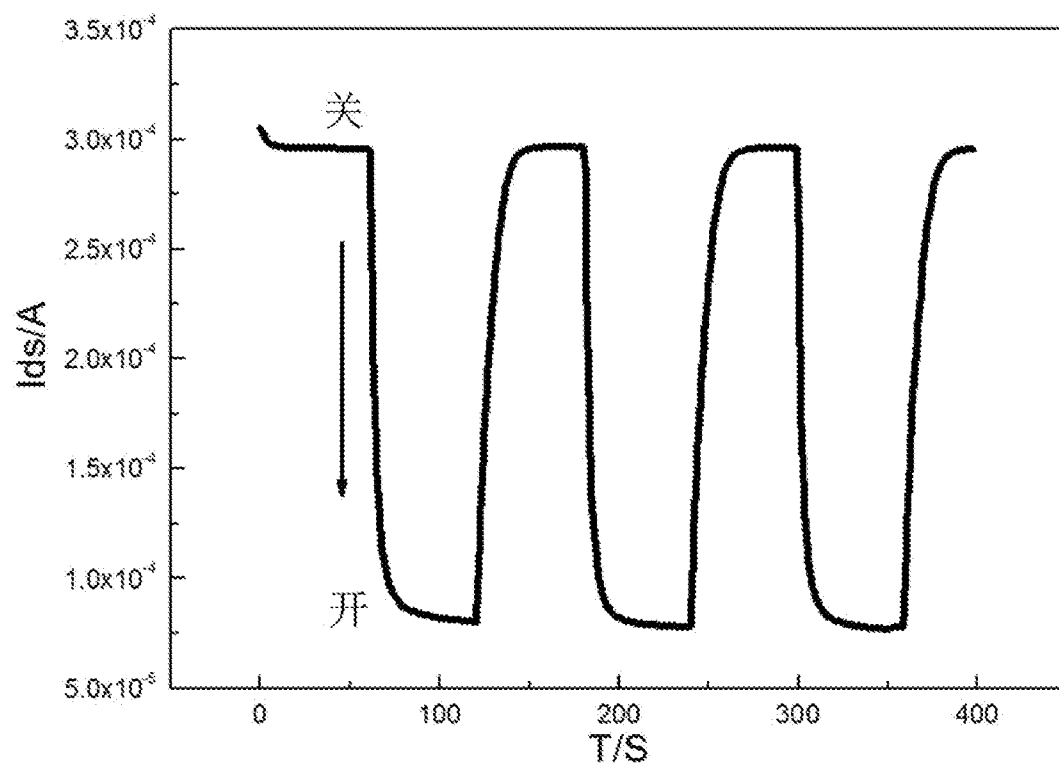


图 3

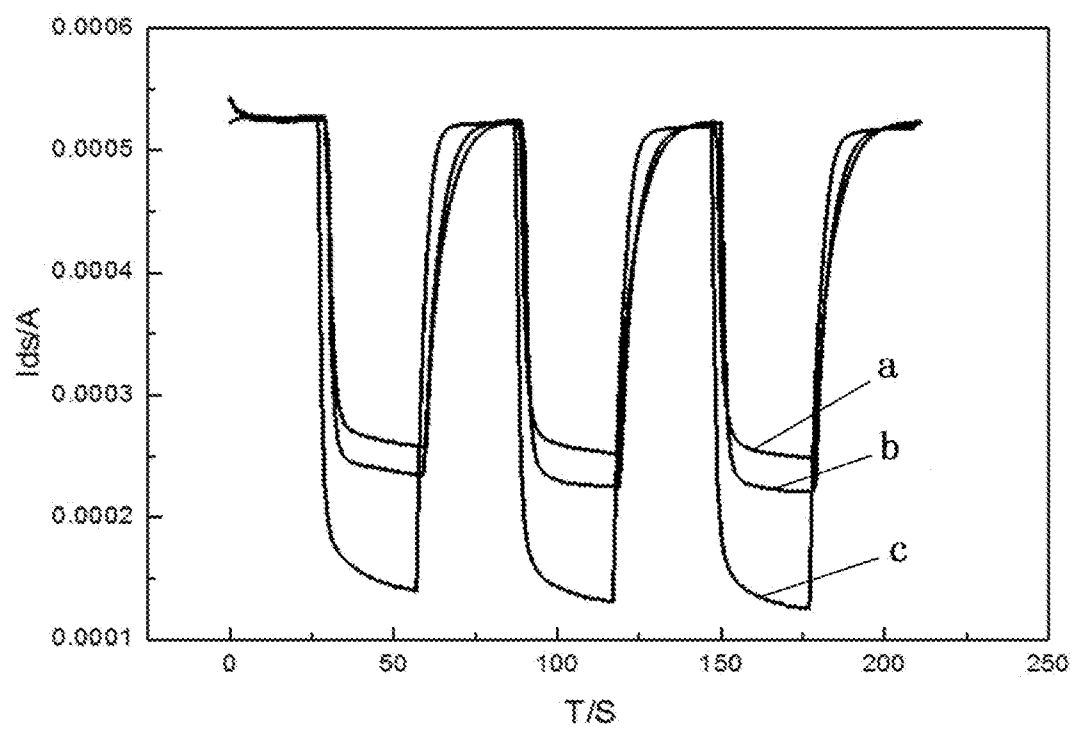


图 4

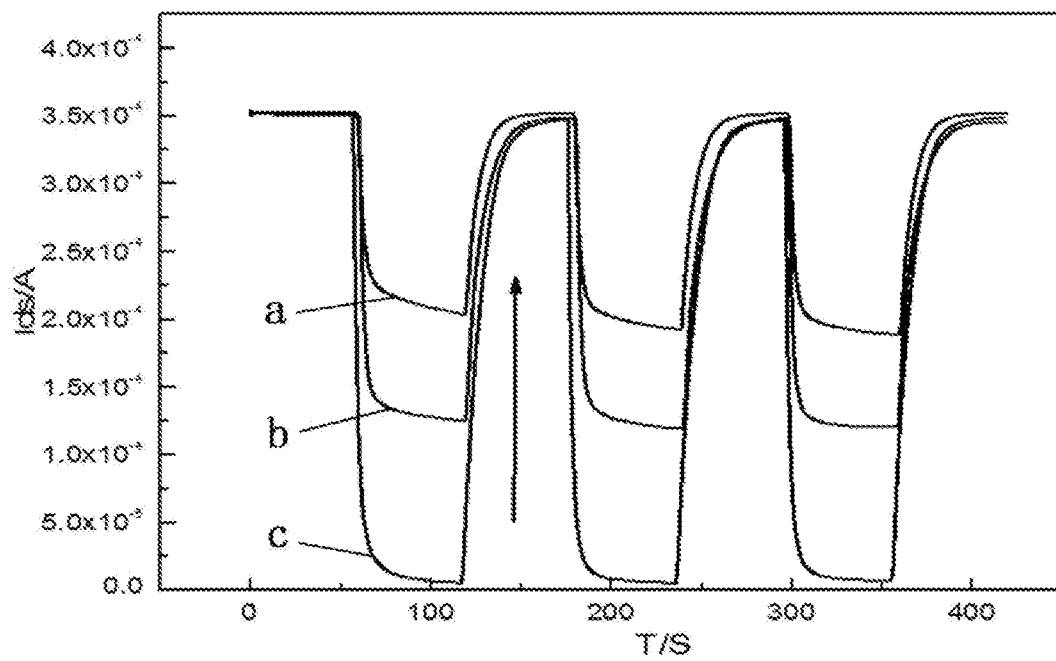


图 5

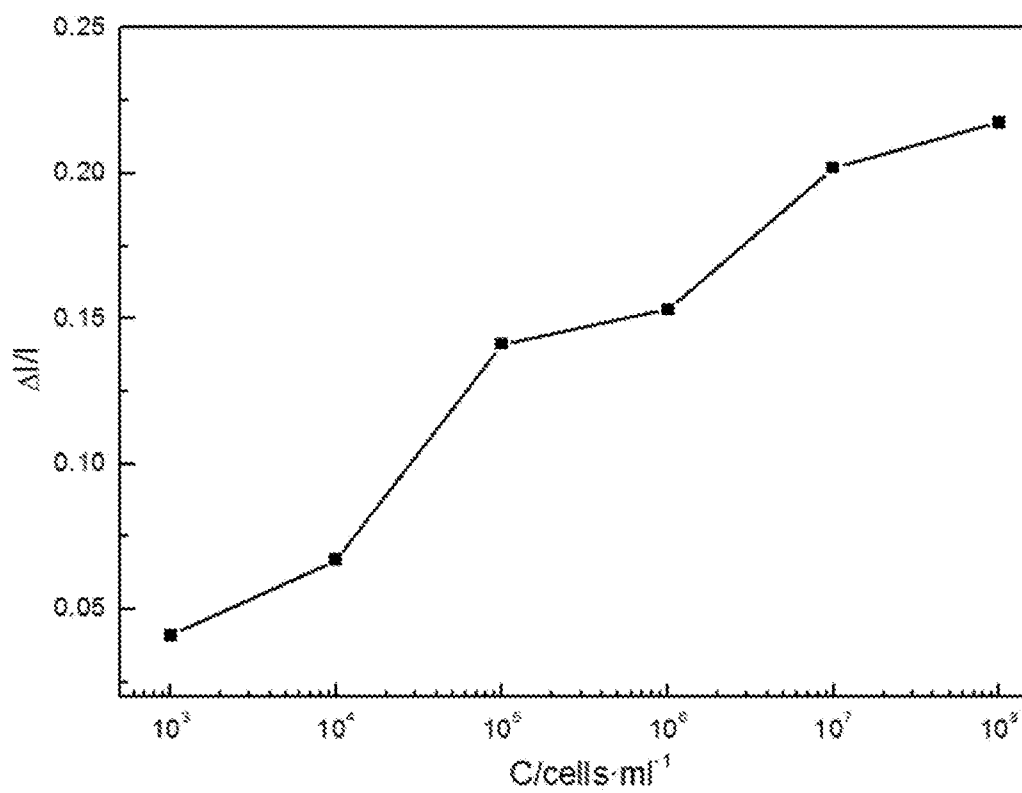


图 6

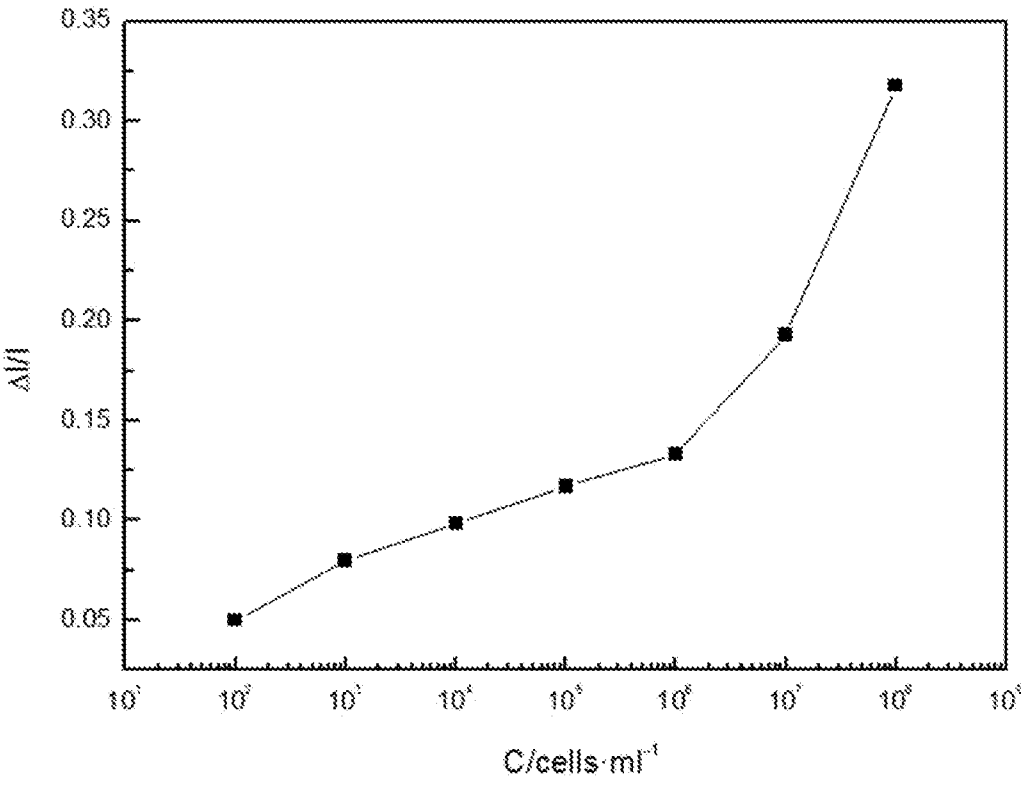


图 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2016/109398

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 27/414 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 27/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI: 深圳大学, 林鹏, 宋家俊, 魏伟伟, 柯善明, 曾變榕, 光电, 化学, 生物, 传感器, 电解池, 电解液, 晶体管, 半导体, 栅电极, 薄膜, 漏电极, 源电极, 衬底, 基底, photoelectric+, biologic, sensor, electrolytic w cell, transistor, semiconductor, film, substrate, gate w electrode, source w electrode, drain w electrode

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102735734 A (THE HONG KONG POLYTECHNIC UNIVERSITY), 17 October 2012 (17.10.2012), description, paragraphs [0006] and [0051]-[0052], and figure 1	1-10
A	CN 104950023 A (NLT TECHNOLOGIES, LTD.), 30 September 2015 (30.09.2015), entire document	1-10
A	CN 103558270 A (HAINAN UNIVERSITY), 05 February 2014 (05.02.2014), entire document	1-10
A	CN 102507659 A (UNIVERSITY OF ELECTRONIC SCIENCE AND TECHNOLOGY OF CHINA), 20 June 2012 (20.06.2012), entire document	1-10
A	CN 105136893 A (NINGBO INSTITUTE OF MATERIAL TECHNOLOGY AND ENGINEERING, CAS), 09 December 2015 (09.12.2015), entire document	1-10
A	US 8895340 B1 (GEORGETOWN UNIVERSITY), 25 November 2014 (25.11.2014), entire document	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 06 July 2017	Date of mailing of the international search report 28 July 2017
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer ZHANG, Meng Telephone No. (86-10) 62413511

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2016/109398

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102735734 A	17 October 2012	US 9632058 B2	25 April 2017
		CN 102735734 B	18 May 2016
		US 2012247976 A1	04 October 2012
CN 104950023 A	30 September 2015	US 2015276663 A1	01 October 2015
		US 9664642 B2	30 May 2017
		JP 2015190848 A	02 November 2015
CN 103558270 A	05 February 2014	None	
CN 102507659 A	20 June 2012	CN 102507659 B	13 November 2013
CN 105136893 A	09 December 2015	None	
US 8895340 B1	25 November 2014	WO 2015038204 A1	19 March 2015

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2016/109398

A. 主题的分类 G01N 27/414(2006.01) i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																							
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) G01N27/- 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI: 深圳大学, 林鹏, 宋家俊, 魏伟伟, 柯善明, 曾燮榕, 光电, 化学, 生物, 传感器, 电解池, 电解液, 晶体管, 半导体, 栅电极, 薄膜, 漏电极, 源电极, 衬底, 基底, photoelectric+, biologic, sensor, electrolytic w cell, transistor, semiconductor, film, substrate, gate w electrode, source w electrode, drain w electrode																							
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 102735734 A (香港理工大学) 2012年 10月 17日 (2012 - 10 - 17) 说明书第[0006]、[0051]-[0052]段, 附图1</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104950023 A (NLT科技股份有限公司) 2015年 9月 30日 (2015 - 09 - 30) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103558270 A (海南大学) 2014年 2月 5日 (2014 - 02 - 05) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 102507659 A (电子科技大学) 2012年 6月 20日 (2012 - 06 - 20) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 105136893 A (中国科学院宁波材料技术与工程研究所) 2015年 12月 9日 (2015 - 12 - 09) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 8895340 B1 (GEORGETOWN UNIVERSITY) 2014年 11月 25日 (2014 - 11 - 25) 全文</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 102735734 A (香港理工大学) 2012年 10月 17日 (2012 - 10 - 17) 说明书第[0006]、[0051]-[0052]段, 附图1	1-10	A	CN 104950023 A (NLT科技股份有限公司) 2015年 9月 30日 (2015 - 09 - 30) 全文	1-10	A	CN 103558270 A (海南大学) 2014年 2月 5日 (2014 - 02 - 05) 全文	1-10	A	CN 102507659 A (电子科技大学) 2012年 6月 20日 (2012 - 06 - 20) 全文	1-10	A	CN 105136893 A (中国科学院宁波材料技术与工程研究所) 2015年 12月 9日 (2015 - 12 - 09) 全文	1-10	A	US 8895340 B1 (GEORGETOWN UNIVERSITY) 2014年 11月 25日 (2014 - 11 - 25) 全文	1-10
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
X	CN 102735734 A (香港理工大学) 2012年 10月 17日 (2012 - 10 - 17) 说明书第[0006]、[0051]-[0052]段, 附图1	1-10																					
A	CN 104950023 A (NLT科技股份有限公司) 2015年 9月 30日 (2015 - 09 - 30) 全文	1-10																					
A	CN 103558270 A (海南大学) 2014年 2月 5日 (2014 - 02 - 05) 全文	1-10																					
A	CN 102507659 A (电子科技大学) 2012年 6月 20日 (2012 - 06 - 20) 全文	1-10																					
A	CN 105136893 A (中国科学院宁波材料技术与工程研究所) 2015年 12月 9日 (2015 - 12 - 09) 全文	1-10																					
A	US 8895340 B1 (GEORGETOWN UNIVERSITY) 2014年 11月 25日 (2014 - 11 - 25) 全文	1-10																					
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																							
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																							
国际检索实际完成的日期 2017年 7月 6日		国际检索报告邮寄日期 2017年 7月 28日																					
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 张萌 电话号码 (86-10)62413511																					

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/109398

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102735734	A	2012年 10月 17日	US	9632058	B2	2017年 4月 25日
				CN	102735734	B	2016年 5月 18日
				US	2012247976	A1	2012年 10月 4日
CN	104950023	A	2015年 9月 30日	US	2015276663	A1	2015年 10月 1日
				US	9664642	B2	2017年 5月 30日
				JP	2015190848	A	2015年 11月 2日
CN	103558270	A	2014年 2月 5日	无			
CN	102507659	A	2012年 6月 20日	CN	102507659	B	2013年 11月 13日
CN	105136893	A	2015年 12月 9日	无			
US	8895340	B1	2014年 11月 25日	WO	2015038204	A1	2015年 3月 19日