DOI：10.19789/j.1004-9398.2024.03.007
文献引用：孔凡镇，何瑞煜，顾超越，等．基于可植入电极的活体脑化学电分析研究进展[J]．首都师范大学学报（自然科学版），2024，45（3）：74-86. KONG F Z，HE R Y，GU C Y，et al. Advancements of in vivo brain chemical electroanalysis based on implantable electrodes[J]. Journal of Capital Normal University（Natural Science Edition），2024，45（3）：74-86.

基于可植入电极的活体脑化学电分析研究进展*

孔凡镇，何瑞煜，顾超越**，林雨青**
（首都师范大学化学系，北京　100048）

摘要：基于可植入电极的活体电化学传感研究一直是推动脑神经化学领域分析方法发展的重要助力。脑内结构的复杂性和各项生理活动的实时性对分析方法提出了严苛的要求。分析测量方法的高特异性、高灵敏度、较强的抗干扰能力以及良好的生物相容性是活体原位分析的前提。随着新功能材料的研发和电化学研究方法的进步，可植入电极的活体电化学研究得到了一定的发展，但该领域仍然存在着一系列的挑战。本文综述了目前可植入电极，如酶修饰电极、核酸适配体修饰电极、离子选择性电极、基于液-液界面的电极、离子电流整流类电极在活体电化学传感领域中的应用以及其兼容性、响应性等关键性能研究的主要进展，以期为未来的复杂脑内环境下的精准检测研究提供有益借鉴。

关键词：活体电化学传感；可植入电极；脑神经化学；活体原位分析
中图分类号：O657　　**文献标志码**：A

Advancements of in vivo brain chemical electroanalysis based on implantable electrodes*

KONG Fanzhen，HE Ruiyu，GU Chaoyue**，LIN Yuqing**
（Department of Chemistry，Capital Normal University，Beijing　100048）

Abstract：Implantable electrode-based in vivo electrochemical sensing research has consistently played a pivotal role in driving advancements in analytical methods within the field of neurochemical research. The intricacies of brain structures and the real-time nature of various physiological activities impose rigorous demands on analytical approaches. High specificity，elevated sensitivity，robust interference resistance，and favorable biocompatibility are essential prerequisites for in situ analysis in living systems. With the development of novel functional materials and advancements in electrochemical research methodologies，there has been significant progress in the field of in vivo electrochemical analysis employing implantable electrodes. Nonetheless，this field continues to encounter a series of challenges. This article reviews the current applications of implantable electrodes，such as enzyme-modified electrodes，aptamer-modified electrodes，ion-selective electrodes，liquid-liquid interface-based electrodes，and ion current rectifying electrodes in the field of in vivo electrochemical sensing，as well as the major progress in the research of their key properties such as biocompatibility and sensitivity. The intention is to offer valuable insights for future research in precision detection within the intricate environment of the brain.

收稿日期：2023-12-13
* 国家自然科学基金项目（22104095，22074095，22374103）；北京市自然科学基金面上项目（2222005）
** 通信作者：gucy@cnu.edu.cn；linyuqing@cnu.edu.cn

Keywords: in vivo electrochemical sensors; implantable electrodes; neurochemistry of the brain; in vivo analysis
CLC: O657 **DC**: A

0 引 言

大脑作为由10亿级神经元组成的复杂网络系统,是思考、行为运动、感情等一系列物理和精神方面的生命活动中心。神经元突触的连接以及相互之间电信号的传导,构成了大脑实现各种复杂功能的核心机制。此外,脑中的各种离子、活性氧、神经递质以及蛋白等化学信号及其改变与生命系统的生理和病理过程密切相关。例如,神经递质多巴胺对于哺乳动物的行为和记忆的建立有着重要作用[1]。乙酰胆碱及其受体在体内负责下游神经元的兴奋或抑制[2],如重症肌无力的病理原因便是乙酰胆碱的受体被抗体封锁,导致兴奋信号无法传递[3]。这些化学信号可以通过转化为电信号的方式被采集和研究。在这一方面,电化学因快速采集、易于微型化的特点而具有得天独厚的优势[4]。

尽管脑内复杂而动态的神经化学网络对电化学检测提出了严苛的标准,如高时空分辨率和高选择性[5],但随着材料学的发展和仪器技术的进步,这些问题得到了极大的改善。然而,活体电化学传感领域依然面临着严峻的挑战。一方面,大多数的电化学信号采集依赖于电极表面的氧化还原反应,但是脑内很多神经小分子并不具有电活性,为了解决这一问题,人们采用酶对目标进行催化研究。但是天然酶种类十分有限,面对脑内众多的待测物显得相对匮乏。此外,鉴定过程中反应的不可逆也使得连续检测动态过程十分困难[6-7]。另一方面,相比于体外环境,脑中含有数量众多的蛋白干扰物,这些干扰物极易吸附在电极表面,导致信号的衰减或者丢失,影响实验的准确性[8]。除此之外,由于体内外环境的差异性,使得依赖于人工脑脊液实现的校准曲线对于活体脑内目标物的含量进行定量分析时存在较大误差。

尽管活体电化学传感领域存在一定的挑战,但基于原位分析的活体电化学传感在基础研究和实际应用领域仍具有良好的发展前景。相较于离体检测,原位电化学传感检测不仅可以使研究人员掌握更接近实际生理状态的生物结构和功能,同时,对于相关数据的获取也能更加及时和准确。虽然之前已有对脑活体分析领域的分析和总结[9-11],但是自中国、美国和欧盟提出了各自的脑研究计划以来,脑活体分析领域的发展突飞猛进,特别是基于液-液界面的非电活性物质检测平台和离子整流等技术展现出在植入式脑活体分析领域巨大的潜力和广阔的应用前景。因此十分有必要对该领域的技术进展进行更新和综述,从而为探索人类脑科学秘密提供借鉴。而本文根据不同的识别原理进行分类,主要综述了脑活体电化学传感领域在选择性、灵敏度以及电生理兼容性等关键性能上的研究进展,旨在为活体电化学传感领域的研究提供一定的参考。

1 酶修饰电极

酶具有高选择性,在众多干扰物存在的情况下,酶可以选择性地催化底物。例如,腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)可以使用甘油激酶和甘油醇-3磷酸氧化酶催化,而谷氨酸则采用谷氨酸氧化酶进行催化转化[12]。酶催化过程产生的电子转移(electronic transfer, ET)到电极上或介质上实现检测,前者称直接电子转移(direct electron transfer, DET),后者称介导电子转移(mediated electron transfer, MET)。1967年,Updike 和 Hicks[13]通过固定在凝胶上的葡萄糖氧化酶来测量生物溶液和体外组织中的葡萄糖浓度,自此基于酶的电化学生物传感器研究开始蓬勃发展。至今,以酶为传感识别元件的电化学传感器已经研发了3代。

1.1 第1代

第1代由 Clark 和 Lyons[14]在1962年提出,采用O_2作为电子受体,通过测量葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化反应生成H_2O_2的量来间接定量检测葡萄糖。但H_2O_2本身的高氧化电位使得脑内其他电活性物质如尿酸(uric acid, UA)、抗坏血酸(ascorbic acid, AA)和神经递质严重干扰葡萄糖检测。为了提高选择性,Baker等[15]对电极表面进行电聚合膜修饰,抑制干扰物在电极表面的扩散和氧化过程。同时反应体系中氧的变化规律复杂,对环境变化十分敏感,这使得测定值与实际值之间的误差较大。

1.2　第2代

为了克服第1代电化学传感器的缺陷,利用其他氧化剂作为反应体系的电子受体的第2代酶电化学传感器应运而生。与H_2O_2相比,铁氰化物、有机导电盐、二茂铁及其衍生物和有机染料等[16-18]电子传递介质拥有更合适的氧化电位[19-21],浓度可控且具有可逆的电极反应动力学行为。利用将氧化酶、二茂铁和氧化石墨烯分散在薄膜上的方式,结合微透析技术,毛兰群课题组成功检测了小鼠脑中葡萄糖含量的变化(图1(a)),但电子传递介质一般具有较高的毒性,电极表面较低的ET效率和较高的电极制备工艺要求,使得第2代体系在活体原位检测领域难以施展[22]。

1.3　第3代

1982年,Taniguchi等[23]以Au电极为基础利用细胞色素c修饰,开发了第3代酶传感器。直接将酶固定在电极表面,实现了酶与电极的直接电子传递。但电极表面的修饰也会影响传感器性能。田阳课题组设计了一种改进的方法在电极表面开发不同的金纳米结构[24-26]。Tian等[27]首先将超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)固定在电极表面,开发了用于超氧阴离子自由基($O_2^{-}\cdot$)检测的第3代酶传感器。通过在电极表面修饰ZnO纳米片,SOD可以在电压为0时感应$O_2^{-}\cdot$,从而有效避免H_2O_2、UA和AA等的干扰[28],实现了脑内复杂环境下的高选择性和高灵敏度检测。为了实现活体电化学检测,该团队使用次氮基三乙酸(nitrilotriacetic acid,NTA)/组氨酸标记(Histidine-tag,HT)的策略,将SOD固定在碳纤维电极上,成功地监测了大鼠脑缺血-再灌注过程中的$O_2^{-}\cdot$(图1(b))[29]。

尽管酶本身具有高选择性,但由于天然酶的种类和检测物的种类都是有限的,无法满足脑内数量和种类庞大的待测物体系,这使得其使用范围受到了限制。未来利用纳米材料合成仿生酶结构是解决上述问题的有效途径之一。

2　核酸适配体修饰电极

2.1　发展历程

核酸适配体是一类能与靶分子高特异性、高亲和力结合的DNA或RNA序列[30-31],其作用与抗体类似。Tuerk和Gold[32]、Ellington和Szostak[33]在1990年分别提出指数富集的配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment,

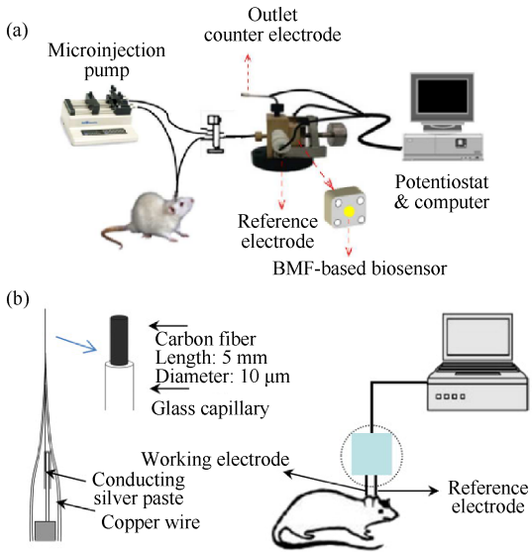


图1　酶电化学传感器的活体应用

(a)微透析传感器在线监测鼠脑微透析液中葡萄糖含量[22];(b)鼠脑中超氧阴离子自由基电分析系统[29]

SELEX)用以筛选适配体后,配合着1985年Mullis开发的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)[34]技术投入应用,核酸适配体得以发展为一种高识别性、低成本的识别单元。2005年,Xiao等[35]首次将核酸适配体用于电化学传感(图2(a)),这种基于电化学适配体(electrochemical aptamer-based,E-AB)的传感器可以在复杂以及受污染的环境中工作的同时,保持足够的灵敏度和选择性。这种传感器在与目标物结合时会产生构象变化,使得传感器末端的亚甲基蓝(methylene blue,MB)与电极表面碰撞产生用于检测的法拉第电流。除了凝血酶之外,血清素[36]、多巴胺(dopamine,DA)[37]以及其他神经化学物质[38]的检测也因与相对应的适配体有快速的响应时间和优异的选择性。与免疫传感器相比,核酸适配体在活体检测方面具有明显的优势。首先,在体外的选择过程就使得为免疫系统本身无法合成的毒性物质制造适配体成为可能;其次,适配体的修饰一般使用氧化性标记或光学官能团,这使得标记物与传感器的结合更为容易;再次,相比与抗原-抗体的夹心实验,适配体的结合产物可以直接通过成像标记物读出,这对低相对分子质量或者低浓度待测物的检出尤为重要,因为实验步骤的增加意味着产物损失的增大[39],进而检出概率降低。在近期的研究中,将适配体通过纳米阵列的形式,与细胞表面蛋白空间分布相匹配,这种提高二者之间的亲和力和识别效果的方式,为核酸适配体用于生理检测提供了一种新的选择[40]。

2.2　与场效应晶体管(field-effect transistor,FET)技术的配合

除了利用适配体本身特异性结合的能力外,另一种电子传导方式涉及选择性FET。该技术的识别过程发生在栅极表面,因此对栅极的电位控制在FET传感器的开发中显得尤为重要[41]。互补核酸与栅极表面的脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic Acid,DNA)杂交时产生的电信号被用于目标物的无标记检测[42-44]。在2018年,Nakatsuka等[45]将FET与茎环受体结合,实现了在多干扰物环境下对多巴胺、血清素和葡萄糖等多种生命相关物质的特异性检测,在实现较宽的检测浓度区间的同时,也表现出极高的稳定性。2022年,高兆理课题组的Huang等[46]通过化学气相沉积(chemical vapor deposition,CVD)的方式,将石墨烯生长在电极上,配合光刻工艺,制备出石墨烯场效应晶体管(graphene FET,GFET)检测阵列;该阵列对Na^+有着出色的选择性,能在含有Ca^{2+}、K^+、Mg^{2+}和NH_4^+等脑脊液中干扰离子的环境中实现高选择性检测,在保证灵敏度的同时,展示出1×10^{-8}~1×10^{-1} mol/L的巨大检测范围。

2020年,毛兰群课题组的Hou等[47]表明非共价胆固醇-烷基链相互作用能够有效地将适配体固定在碳纤维微电极上,设计了将胆固醇两亲适配体固定在烷基链功能化的碳纤维微电极上(alkyl chain-functionalized CFE,aptCFE)的电化学传感平台;该平台对电刺激导致的大鼠伏隔核和内侧前脑束区域中多巴胺浓度快速变化具有优良的检测效果,并且观察结果和以往的研究非常吻合,证明了aptCFE对于体内检测多巴胺的可靠性,具有足够可靠的时空分辨率。2021年,Huang等[48]利用高通量微机电系统(microelectromechanical system,MEMS)制备神经探针,配合采用溶胶-凝胶法制备并功能化5-羟色胺适配体的超薄In_2O_3半导体薄膜,构建了适配体FET生物传感器;该传感器对雌性小鼠脑纹状体经过电刺激释放的血清素具有良好的响应效果(图2(b)),能够实现正常和刺激条件下血清素含量的区分。

尽管核酸适配体作为电化学传感器表现出优异的选择性,但是,在识别过程中构象本身的变化过程是需要一定的反应时间。此外,适配体的筛选复杂,传感稳定性也有待提高[49]。对于时间不敏感的生命分子来说,核酸适配体不失为一个好的检测选择。但对于脑中变化极快的活性分子如神经递质的检测而言,适配体传感器还有较大的改善空间。

3　离子选择性电极(ion-selective electrode,ISE)

3.1　液接式ISE

传统的ISE为液接式,该类电极的核心是可以将目标物活度转化为电位的敏感膜。因此,敏感膜改进的过程伴随着液接式ISE的发展,从早期的玻璃膜、卤化银薄膜到现如今的聚合物薄膜。在溶液体系中,敏感膜只能允许待测离子通过,因此膜的两侧会产生浓度差,待测离子便会由高浓度向低浓度扩散,导致两侧的电荷分布不均,产生界面电势,达到检测目的。同时,ISE不受样品的颜色、浑浊性等因素的干扰,可以实现原位检测。因此,自1959年Hinke[50]将微电极用于测量细胞中Na^+和K^+的活性开始,微型ISE在生命科学领域的应用愈来愈广泛。

1975年,Heuser等[51]通过2个离子选择性微电极记录了静脉注射乙酰唑胺引发酸中毒后,猫大脑皮层细胞外pH的变化情况;1976年,Astrup和Norberg[52]利用双微管ISE分析重度低血糖时大鼠脑皮层细胞外K^+浓度变化,观察到随着低血糖影响到ATP等的转化,K^+在细胞外的浓度快速提高的现象;1987年,Moghaddam等[53]采用ISE测试扩散性抑制(spreading depression,SD)和缺氧时纹状体脑区细

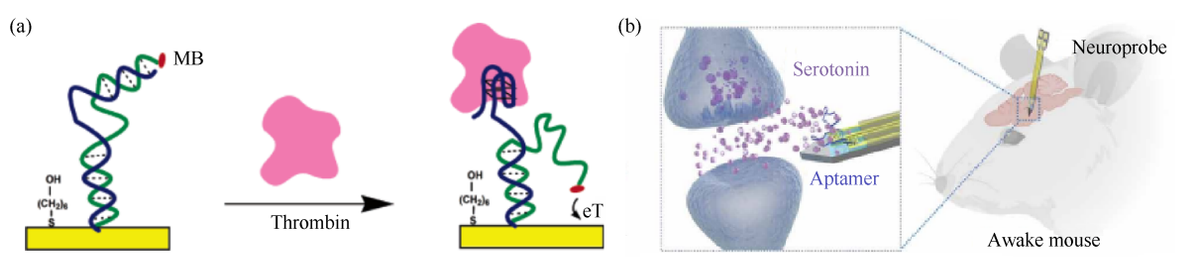


图2　基于核酸适配体的特异性检测和活体神经递质检测

(a)电化学适配体的信号导通机制[35];(b)适配体场效应晶体管生物传感器对小鼠脑内细胞外空间释放的血清素的监测[48]

胞外K^+浓度,同时用碳纤维电极测试脑内的多巴胺浓度,显示在扩散性抑制过程中,多巴胺的释放源于细胞外K^+浓度的快速提升,而缺氧状态下多巴胺的释放则早于K^+浓度的提升。尽管二者最终的结果都呈现出多巴胺细胞外浓度的提高,但是其机制却并不相同。基于液接式ISE的活体电化学检测,由于使用简单、响应快速,同时设备较为简便,成为活体脑内离子检测领域重要的工具之一。

3.2 固体ISE

液接式ISE的应用使得活体检测领域抗干扰能力和选择性得到巨大提升,但本身依然存在着许多不足。如:用于活体电化学传感的液接式ISE一般都是以玻璃毛细管为原材料,其制作耗时、材料易碎,且在放入制备好的探针过程中对操作人员的要求较高,同时仅能对单一区域的数据进行采集。此外,将敏感膜和内参电极分隔开来的内充液,会蒸发并受测试体系温度、压强等影响[54-55]。同时,由于液体体积难以进行微量调控,导致微型化十分困难。而现有的纳米级接触面积的液接式ISE存在电阻大、噪声多以及响应速率低等问题。上述问题严重阻碍了液接式ISE的发展和应用。因此人们开始转向对固态ISE的探索[56]。最早的固体ISE通常认为是Cattrall和Freiser[57]于1971年用Ca^{2+}掺杂聚合物膜涂附在Pt丝上构建出来的。相对于液接式ISE,固态ISE没有内充液的问题,但稳定性却无法与前者媲美。其原因在于将离子导电的敏感膜修饰在电子导电的基底上之后,二者之间产生纯电容界面导致离子与电子的相互转换受到阻碍[54],而解决的办法则是在中间填入固态转导层以供转换,目前最常用的转导层材料为导电聚合物和碳纳米材料获得的复合材料、碳纳米材料、导电聚合物与其他材料结合的材料(金属和金属氧化物的纳米颗粒、离子液体、分子有机材料或沸石等[58])。

2015年,Odijk等[59]设计并制备了在活体脑内同时检测不同区域电信号的微型ISE,导电聚合物聚(3,4-乙烯二氧噻吩)(poly(3,4-ethylenedioxythiophene),PEDOT)通过伏安沉积的方式,附着于阵列电极上,并修饰K^+敏感膜,相距2 mmol/L的2个识别位点可以实现对不同位置的同时检测;在活体检测中,PEDOT由于本身pH敏感性很低,所以在伴随着较大O_2和pH变化的扩散性抑制发病阶段可以对K^+实现较为准确的检测。2019年,赵凡等[60]通过谷氨酸氧化酶(L-glutamate oxidase,GluOx)和Pt纳米颗粒改性的Pt丝微电极与Ca^{2+}选择性电极一起,组成功能微电极(dual function microelectrode,DFME)并实现了谷氨酸和Ca^{2+}的同时活体检测,避免了信号串扰的同时,实现了良好的选择性以及较低的检出限,谷氨酸和Ca^{2+}的检出限分别为0.5和1.0 μmol/L)。此外,毛兰群课题组的Zhao等[61]将氧化石墨炔(graphdiyne oxide,GDYO)作为转导层,同时以MnO_2作为辅助层制作了K^+的ISE;与单纯以MnO_2作为转导层的电极相比,新的ISE电位漂移明显降低,用于检测电刺激条件下大鼠脑皮层细胞外K^+浓度的变化,并观测到细胞外K^+浓度提升了3倍。

2021年,张美宁课题组的Zhang等[62]通过Na_2S预处理的纳米Ag修饰碳纤维电极(Ag_2S/AgNPs/CFE),实现了对H_2S在2.5~160.0 μmol/L内的良好电位响应,同时检出限为0.8 μmol/L;该修饰电极展现出对电活性神经化学物质及其类似物如AA、半胱氨酸等良好的抗干扰能力,在碱性人工脑脊液(artificial cerebrospinal fluid,aCSF)处理后实现了对大鼠海马体内游离H_2S的动态监测(图3(a));Lee等[63]采用电沉积方式对2个半径为25 μm的Pt微盘分别修饰了Au和Ca^{2+}选择性膜,制备了能够同时进行检测电流型H_2S传感器和电位检测Ca^{2+}选择性电极,实现了较短的响应时间和较长的稳定性,在由4-氨基吡啶(4-aminopyridine,4-AP)引发的鼠脑癫痫模型中,可以实现对急性神经元兴奋的快速响应和长时间检测。2022年,田阳课题组的Liu等[64]在碳纤维电极表面沉积氧化石墨烯(graphene oxide,GO)作为离子传导层,GO还有效地提升了电子从识别中心到下电极表面的转移效率,同时在其表面合成Au叶片以提高比表面积作为Ca^{2+}特异性配体的载体,极大地提高了Ca^{2+}识别过程的灵敏度,在10 μmol/L~10 mmol/L具有良好的线性响应曲线;GO的使用使得电极对Cl^-的吸附产生一定的阻碍作用,并在鼠脑缺血模型下Ca^{2+}的检测中表现出良好的抗污染能力和选择性。孙雪梅课题组的Yang等[65]在柔性聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane,PDMS)基底上,通过光刻和化学气相沉积将碳纳米管阵列(carbon nanotube array,CNTA)作为传导层和柔性薄膜皮质电图(electrocorticography,ECoG)电极,制作了可同时记录大脑皮层表面的ECoG和细胞外Na^+、K^+、Ca^{2+}的柔性多功能电极(flexible multifunctional electrode,FME);与传统电极相比,

该电极可以更好地贴合检测区域,具有更佳的柔韧性和生物相容性,在植入后无明显的物理损伤和免疫反应,通过给予大鼠不同浓度的异氟醚,实现了对脑中神经元活性状态的调控;结果表明,FME 可以准确记录脑内神经元动态条件下的皮层电信号和离子信号的变化(图 3(b))。2023 年,张美宁课题组的 Wang 等[66]以湿纺柔性聚 L-乳酸(poly(L-lactic acid),PLLA)纤维为基底,Au 纳米颗粒作为传导层,并通过涂覆 PLLA 基质的 Ca^{2+} 选择性膜制备了可生物降解的微电极,除了实现 10 μmol/L~50 mmol/L 的近能斯特线性响应之外,还对鼠脑皮层细胞外 SD 状态下的 Ca^{2+} 动态变化的监测显示出良好的选择性以及灵敏度(图 3(c))。同时,PLLA 的引入也使得活体探针展示出更好的生物相容性。

从液接式到固体 ISE 的逐步发展,与传统液接式电极相比,固体电极无需特别维护,较长的寿命和更低的检测限等优点使其在活体检测中发挥着重要作用,但敏感膜与基底之间的介导问题依然是固体 ISE 未来发展的严峻挑战。研究者们通过改变转导层的结构和材料来实现传感器性能的提升。因此,开发高电化学性能的转导层依然是未来固体 ISE 的主要研究方向之一。同时,通过 ISE 和微型化芯片的结合,在活体实时检测分析领域具有较大的发展前景。

4　基于液-液界面的传感器

电荷包括电子和离子,在 2 种互不相溶电解质溶液界面(interface between two immiscible electrolyte solutions,ITIES)的转移反应是液-液界面电化学的研究重点。基于液-液界面的可植入电极在活体脑化学分析中展现了十分重要的应用价值。传统电化学检测依靠氧化还原过程产生的电流,所以待测物在电极上是否具备氧化还原活性对能否实现检测至关重要,但 ITIES 有着独特的优势,与传统电化学检测不同,是否具备氧化还原活性并不会影响该类传感器的检测效果[67-69]。在玻璃微管中填充的有机溶液和测试生物流体之间形成液-液界面,在适当的极化条件下,分析物从水相转移到有机相,并且可以通过循环伏安法(cyclic voltammetry,CV)或差分脉冲伏安法(differential pulse voltammetry,DPV)进行活体脑内重要分子的定性和定量检测。带电物质穿过界面即可产生响应电信号,因此离子转移(ion transfer,IT)和 ET 都能被该类传感器很好地检测。

4.1　液-液界面微型化进程

1902 年,Nernst 和 Riesenfeld[70]表明在 H_2O 和苯酚界面的电流信号,但当时对于液-液界面的结构及电势分布缺乏了解和认识,同时所用的高阻抗有机相所引起的欧姆电势降(iR drop,iR 降)使得所获数据并不十分可靠。此后四电极体系被引到该体系中,但当时只能达到 mm 级别,体系中包含 2 个 Ag/AgCl 参比电极分别置于每一相中,Pt 丝则置于 H_2O 中,参比电极与界面的距离拉近使得欧姆电位下降引发的误差尽可能地被降低。但使用常用的 CV 对液-液界面的 IT 反应进行动力学参数的测定是困难的。一方面是由于有机相中较大 iR 降无法完全补偿和解释,导致测量的结果与实际值产生较大偏差;另一方面,为了降低 iR 降而加入相对较高的支持电解质,被研究的离子与部分支持电解质产生了配对效应,反而干扰了实验。为了解决这些问题,1986 年,Taylor 和 Girault[71]提出了对液-液界面微型化的解决方案,在微型化的环境下传质过程为球形扩散更加稳定,同时,微型化也使得 iR 降极大降低,不再需要大量的电解质来维持;该体系装配于 U 型

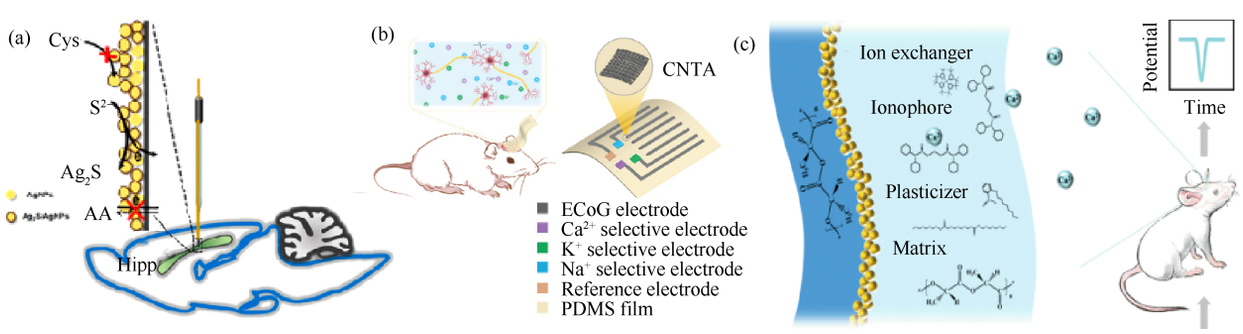


图 3　基于离子选择性电极的脑活体检测

(a)大鼠脑内 H_2S 监测[62];(b)柔性多功能电极获取大脑皮层电信号和离子信号[65];(c)可降解微电极体系检测大鼠脑 Ca^{2+} 浓度[66]

管内,有机相夹在2种水溶液之间,用以维持2种不互溶电解质溶液之间的分配平衡,并防止有机相蒸发引发的实验误差。将电化学分析方法如电流扫描极谱法[72]、时间电位法[73-74]与液-液界面研究相结合在该领域有一定的历史[75-76];1985年,汪尔康院士提出了使用循环线性电流扫描计时电位法来研究液-液界面上IT的思想,为液-液界面电化学在分析领域的应用打下了基础[77];1989年,Campbell和Girault[78]使用了紫外光在聚酯高分子材料上制造微孔来进行液-液界面稳态电流的研究;1997年,Shao和Mirkin[79]利用纳米尺寸的玻璃管,对二苯并-18-冠-6-醚(dibenzo-18-crown-6,DB18C6)促进K^+的IT反应进行了快速动力学测量,实现了纳米级界面下IT的检测和应用。

4.2 液-液界面在生物检测领域的应用

2018年,Shen等[80]利用液-液界面配合扫描电化学显微镜(scanning electrochemical microscopy,SECM)系统,通过半径为15 nm的ITIES电极,实现了对海兔活神经元乙酰胆碱的实时检测(图4(a)),在实现了突触间隙定量检测的同时,对于突触递质不同的释放模式,包括单重态、双重态和多重态事件实现了检测和理论解释,这对于理解大脑交流和疾病的成因提供了一种新的理解方式。2021年,Jetmore等[81]使用2-硝基苯基辛基醚(2-Nitrophenyl octyl ether,NPOE)和H_2O形成的液-液界面成功地检测了乙酰胆碱,检出限为(37.1±1.5)μmol/L,对比之前使用的1,2-二氯乙烷(1,2-dichloroethane,DCE)/H_2O的ITIES检测平台,NPOE/H_2O的检测体系具有更大和更偏向正电位的监测窗口,这意味着更利于检测正电位转移的离子;张美宁课题组的Wang等[82]利用DCE/脑脊液的微米级检测体系实现了大鼠脑内胆碱的原位实时检测(图4(b)),快速的响应时间、较强的抗干扰和抗蛋白污染能力使得该平台为原位检测脑内非电活性物质提供了一种新的策略。

目前,基于ITIES的活体电化学传感器在分析化学、神经科学以及病理学等众多学科领域发挥着越来越重要的作用。能够对微量非电活性物质的检测以及对脑内复杂环境的抗干扰,使得其在活体检测领域具有一定的优势,但本身的微型化同时也带来了易受干扰、界面稳定性不足等问题。在活体脑内电化学传感领域,ITIES还有广阔的潜力值得挖掘。

5 离子电流整流(ion current rectification,ICR)

ICR现象是指在不同方向偏压下离子电流的非线性响应,其来源于通道内电压对离子浓度的依赖,高导电状态往往由离子堆积引起,低导电状态则对应离子的损耗。电压电流的不对称性则是不同电导状态引起双电层结构不对称的结果。微纳米孔道由于孔径与德拜长度相当,当沿轴线方向形成不对称离子分布的环境时,便会出现ICR现象。1991年,Neher和Sakmann因膜片钳技术和细胞内单离子通道而获得诺贝尔生理学或医学奖,而离子通道正是通过ICR技术实现对细胞各种生理功能的控制和调控[83-84],因此,电化学离子整流对深入研究细胞乃至生命体具有重要的科研价值和应用潜力。电化学离子整流始于Wei和Bard,2人在1997年通过研究得出在孔径为微米级别的石英管上可以通过循环伏安法发现电流-电压的依赖关系[85],而当孔径为纳米级别时则出现了电流整流。对于这种现

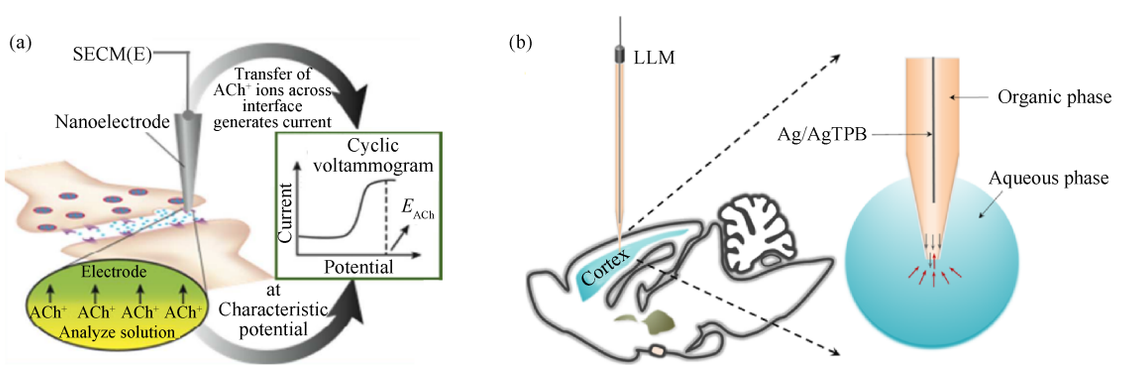


图4 利用微管液-液界面对递质类物质实现活体检测

(a)在突触间隙通过纳米级微电极实现对乙酰胆碱浓度和释放的动态检测[80];(b)通过液-液界面微传感器电极实现大鼠大脑皮层胆碱的动态监测[82]

象二人认为扩散双电层、尖端的预选择性和几何不对称性是主要原因。随后发展出棘齿模型[86]、Space-Charge模型[87]和3层模型[88]等,研究尺度也从开始的纳米水平发展到微米水平[89-90]。

对于整流类传感器,提高灵敏度和选择性关键在于将识别配体修饰在孔道内壁调控表面电层结构以实现更好的整流效果。2009年,Vlassiouk等[91]利用生物素对离子二极管进行修饰构建生物传感检测器,并通过电流-电压曲线实现对亲和素与链亲和素的区分。2011年,Han等[92]利用人工β-环糊精修饰纳米通道实现了组氨酸对映体的高度选择性识别,在纳米水平的尖端通过偶联反应将β-环糊精固定在通道内壁,当传感器暴露于L-组氨酸溶液时,L-组氨酸受限于几何结构与β-环糊精结合,引起跨膜电流的减小,而其他类型的组氨酸和苯丙氨酸、酪氨酸等芳香氨基酸则不会引起电流变化;Actis等[93]将凝血酶适配体利用涂层工艺固定在纳米吸管尖端制成离子纳米通道信号转导(signal transduction by ion nanogating,STING)传感器,与抗体类传感器相比,适配体能够可逆性地结合其目标分析物,实现可逆检测,可对分析物的生物分子相互作用进行连续检测。2018年,Song等[94]利用鸟苷酸-四联体脱氧核酶(G4-DNAzyme)对纳米移液管进行修饰,催化H_2O_2介导的2,2'-偶氮基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate),ABTS)氧化,同时利用G4-DNAzyme的两性特性,改变pH即可实现ICR曲线的反转;该传感器能够用于亚细胞水平对单个活细胞有氧代谢的连续检测(图5(a)),避免多次插入或长期分析带来的活细胞损伤;同时,结合高精度纳米定位仪,能实现对单个活细胞ROS三维分布的准确分析。2021年,Zhang等[95]受反向转运蛋白的启发,利用萘普生(naproxen,NPX)作为研究模型,基于L-酪氨酸、D-酪氨酸分别对S-NPX和R-NPX具有更好的亲和力,以聚对苯二甲酸乙二酯(Polyethylene terephthalate,PET)为基底设计了沙漏状纳米通道并进行不对称性修饰,实现了酪氨酸的手性区分;毛兰群课题组的Zhang等[96]通过原子转移自由基聚合反应将聚咪唑刷固定于微米管尖端内壁,实现对大鼠脑皮层在CO_2吸入刺激下pH变化的实时监测(图5(b)),咪唑在生理pH范围内具有优异的质子化/去质子化能力,咪唑与质子之间的快速、可逆和选择性的识别,有利于构建基于整流的高性能体内微型传感器,不同于以往的稳态离子传输,通过高频方波脉冲调控的瞬态离子传输显著提高了微传感器的分辨率和稳定性,成为首篇报道的基于离子传输的体内微传感器;徐静娟课题组的Xu[97]利用脱氧核糖核酸酶对孔道内壁进行修饰,通过L-组氨酸对其的切割作用,首次实现了对人细胞胞浆中L-组氨酸区域分布的电化学定量。2022年,Shi等[98]基于酪氨酸和酪氨酸酶之间的特异性反应,将酪氨酸修饰在Al_2O_3纳米通道,实现在复杂环境下对细胞裂解物中的酪氨酸酶特异性识别;同时,酪氨酸酶在纳米通道中反应生成的二羟基与加入的Fe^{2+}结合,放大电荷变化,使得检测灵敏度得以提升,检出限低至0.83 U/mL,满足细胞条件下对于酪氨酸酶检测的要求。

在用于活体检测的环境中,微流控类如离子整流已经实现低检出限和灵敏度的检测。在纳米或微米尺度的范围内,范德华力、静电相互作用、水化作用等多种因素可以有效地发挥作用,为提高灵敏度和特异性识别提供了多种途径。从电化学整流体系的构建到机理研究再到实际应用模型各个方

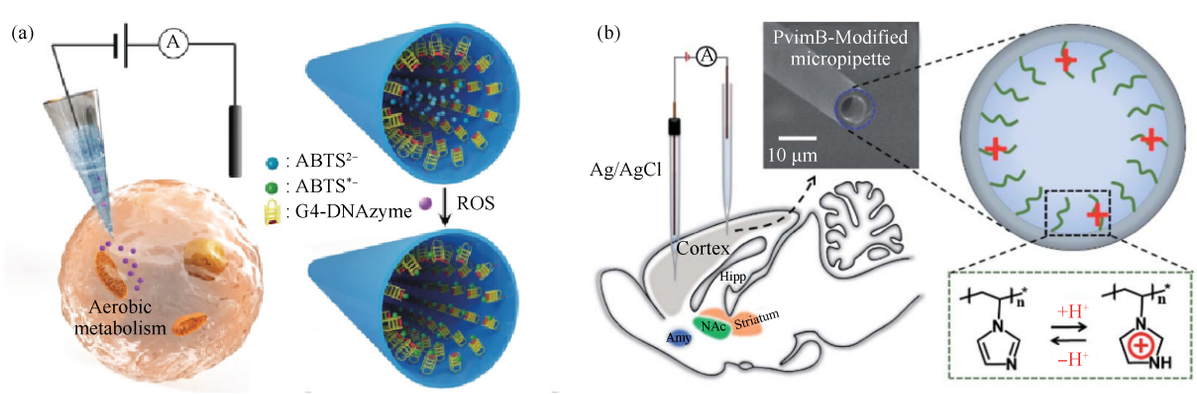


图5　整流传感器在细胞以及活体的应用

(a)纳米整流传感器对单细胞的连续检测[94];(b)基于整流的微型传感器对pH变化的实时检测[96]

面都已经开展了广泛而深入的研究,电化学整流已经成为电化学研究领域的新热点,但依然面临着许多亟待解决的问题,如体系的稳定性,较高的信噪比、修饰过程的复杂性以及高成本,理论体系的不完善和不统一等。以整流为基础,建立面向目标物的识别分子修饰的微电极检测传感平台具有深刻的研究意义和巨大的应用价值,在探究脑部生理过程的同时,还能为相关疾病的前期检测和后期治疗提供新的思路和途径。

6 结论与展望

电化学分析在脑活体研究中的应用已经超越了单一的检测功能,而是成为电化学、生理学、材料科学和微机加工等多个领域交叉研究的焦点。这种研究对于理解脑功能以及相关生理过程的分子本质具有重要的价值。同时,当前活体原位检测更多的是对脑内固定位置的连续在线监测,同时受制于电极材料和脑内复杂环境的要求,多数传感器只能实现单一或双目标的检测,因此在电化学未来的发展过程中,同一探针对多目标物的同时识别和多位点的同时检测可能会成为新的发展点,与之相对应的,长时间连续监测能力和生物相容性也将成为评估传感器性能指标的重要参数之一。在本综述中,根据识别原理对各种方法进行分类,并围绕解决选择性和灵敏度等关键问题,讨论了在脑活体电化学传感领域正在或未来即将使用的相关检测手段。时至今日,活体脑内的实时监测已经取得了一定的进展,对于脑内的电活性物质可以设计合适的识别分子,通过诸如ISE、FET等多种技术手段实现原位检测。而对于非电活性的物质也可以通过液-液界面电化学手段实现检测。因此,相比于简单地获取生理电信号,如何收集到更好的电信号才是未来发展的目标之一,如提高时空分辨率、降低信噪比、增强灵敏度和选择性以及抗环境污染能力等。由此可见,电化学传感器基础性能的提升仍然是电化学活体检测领域未来发展的关键。除了现有识别手段的改进和新识别原理的提出外,对于现有技术的整合,实现多种技术的联合检测,也不失为一条新的研究路径。此外,设计与检测环境尺寸匹配的电极、选择对被识别的目标物有高特异性响应的识别元件、精确调控电化学参数等都是电化学传感器在复杂脑内环境下实现精准检测的必要前提。因此,电化学传感原理和电极材料的创新,以及具有高化学/生物亲和力和高特异性识别体的设计,在活体电化学传感领域将展示出巨大的潜力,为该领域提供新的思路和机遇。

参 考 文 献

[1] UEKI R, YAMAGUCHI K, NONAKA H, et al. ^{1}H NMR probe for in situ monitoring of dopamine metabolism and its application to inhibitor screening[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(30): 12398-12401.

[2] SANTIS G D, TAKEDA N, HIRATA K, et al. Structure of gas phase monohydrated nicotine: implications for nicotine's native structure in the acetylcholine binding protein[J]. Journal of the American Chemical Society, 2022, 144(37): 16698-16702.

[3] GILHUS N E. Myasthenia gravis, respiratory function, and respiratory tract disease[J]. Journal of Neurology, 2023, 270(7): 3329-3340.

[4] SHIN M, VENTON B J. Fast-scan cyclic voltammetry (FSCV) reveals behaviorally evoked dopamine release by sugar feeding in the adult drosophila mushroom body[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2022, 61(44): e202207399.

[5] OSMANSKI B F, PEZET S, RICOBARAZA A, et al. Functional ultrasound imaging of intrinsic connectivity in the living rat brain with high spatiotemporal resolution[J]. Nature Communications, 2014, 5: 5023.

[6] ZHOU Q, ZHANG L M, TIAN Y. Advanced electrochemical strategy for in vivo detection of electrochemically inactive molecules[J]. Journal of Electrochemistry, 2019, 25(2): 160.

[7] DA Y F, LUO S H, TIAN Y. Real-time monitoring of neurotransmitters in the brain of living animals[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 15(1): 138-157.

[8] LIU Y D, LIU Z C, ZHOU Y, et al. Implantable electrochemical sensors for brain research[J]. JACS Au, 2023, 3(6): 1572-1582.

[9] XU C, WU F, YU P, et al. In vivo electrochemical sensors for neurochemicals: recent update[J]. ACS Sensors, 2019, 4(12): 3102-3118.

[10] WU F, YU P, MAO L Q. New opportunities of electrochemistry for monitoring, modulating, and mimicking the brain signals[J]. JACS Au, 2023, 3(8): 2062-2072.

[11] WU F, YU P, MAO L Q. Multi-spatiotemporal probing of neurochemical events by advanced electrochemical sensing methods[J]. Angewandte Chemie International

Edition, 2023, 62(1): e202208872.

[12] LI J, PENG Z Q, WANG E K. Tackling grand challenges of the 21st century with electroanalytical chemistry[J]. Journal of the American Chemical Society, 2018, 140(34): 10629-10638.

[13] UPDIKE S J, HICKS G P. The enzyme electrode[J]. Nature, 1967, 214(5092): 986-988.

[14] CLARK L C, LYONS C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1962, 102(1): 29-45.

[15] BAKER K L, BOLGER F B, LOWRY J P. A microelectrochemical biosensor for real-time in vivo monitoring of brain extracellular choline[J]. Analyst, 2015, 140(11): 3738-3745.

[16] KOWALSKA M, TIAN F, ŠMEHILOVÁ M, et al. Prussian Blue acts as a mediator in a reagentless cytokinin biosensor[J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 701(2): 218-223.

[17] HO P I, KUMAR G G, KIM A, et al. Microbial electricity generation of diversified carbonaceous electrodes under variable mediators [J]. Bioelectrochemistry, 2011, 80(2): 99-104.

[18] GHOLIZADEH A, SHAHROKHIAN S, MOHAJERZADEH S, et al. Mediator-less highly sensitive voltammetric detection of glutamate using glutamate dehydrogenase/vertically aligned CNTs grown on silicon substrate[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2012, 31(1): 110-115.

[19] CASS A E, DAVIS G, FRANCIS G D, et al. Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose [J]. Analytical Chemistry, 1984, 56(4): 667-671.

[20] FORROW N J, WALTERS S J. Transition metal half-sandwich complexes as redox mediators to glucose oxidase[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 19(7): 763-770.

[21] BARTLETT P, BOOTH S, CARUANA D, et al. Modification of glucose oxidase by the covalent attachment of a tetrathiafulvalene derivative [J]. Analytical Chemistry, 1997, 69(4): 734-742.

[22] WANG X Y, LI Q, XU J J, et al. Rational design of bioelectrochemically multifunctional film with oxidase, ferrocene, and graphene oxide for development of in vivo electrochemical biosensors [J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(11): 5885-5891.

[23] TANIGUCHI I, TOYOSAWA K, YAMAGUCHI H, et al. Voltammetric response of horse heart cytochrome C at a gold electrode in the presence of sulfur bridged bipyridines[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1982, 140(1): 187-193.

[24] ZHU A W, LUO Y P, TIAN Y. Plasmon-induced enhancement in analytical performance based on gold nanoparticles deposited on TiO_2 film [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(17): 7243-7247.

[25] LUO Y P, LIU H Q, RUI Q, et al. Detection of extracellular H_2O_2 released from human liver cancer cells based on TiO_2 nanoneedles with enhanced electron transfer of cytochrome c [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(8): 3035-3041.

[26] LI X G, LIU Y, ZHU A W, et al. Real-time electrochemical monitoring of cellular H_2O_2 integrated with in situ selective cultivation of living cells based on dual functional protein microarrays at Au-TiO_2 surfaces [J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(15): 6512-6518.

[27] TIAN Y, MAO L Q, OHSAKA T. Electrochemical biosensors for superoxide anion[J]. Current Analytical Chemistry, 2006, 2(1): 51-58.

[28] DENG Z F, RUI Q, YIN X, et al. In vivo detection of superoxide anion in bean sprout based on ZnO nanodisks with facilitated activity for direct electron transfer of superoxide dismutase[J]. Analytical Chemistry, 2008, 80(15): 5839-5846.

[29] WANG Z, LIU D, GU H, et al. NTA-modified carbon electrode as a general relaying substrate to facilitate electron transfer of SOD: application to in vivo monitoring of $O_2^{-}\cdot$ in a rat brain[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013, 43: 101-107.

[30] KIM Y S, RASTON N H A, GU M B. Aptamer-based nanobiosensors [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2016, 76: 2-19.

[31] DUNN M R, JIMENEZ R M, CHAPUT J C. Analysis of aptamer discovery and technology[J]. Nature Reviews Chemistry, 2017, 1(10): 76.

[32] TUERK C, GOLD L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase[J]. Science, 1990, 249(4968): 505-510.

[33] ELLINGTON A D, SZOSTAK J W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands[J]. Nature, 1990, 346(6287): 818-822.

[34] SAIKI R K, SCHARF S, FALOONA F, et al. Enzymatic amplification of β-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia[J]. Science, 1985, 230(4732): 1350-1354.

[35] XIAO Y, PIOREK B D, PLAXCO K W, et al. A

reagentless signal-on architecture for electronic, aptamer-based sensors via target-induced strand displacement[J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, 127(51):17990-17991.

[36] CHÁVEZ J L, HAGEN J A, KELLEY-LOUGHNANE N. Fast and selective plasmonic serotonin detection with aptamer-gold nanoparticle conjugates[J]. Sensors, 2017, 17(4):681.

[37] FARJAMI E, CAMPOS R, NIELSEN J S, et al. RNA aptamer-based electrochemical biosensor for selective and label-free analysis of dopamine [J]. Analytical Chemistry, 2013, 85(1):121-128.

[38] SANTOS-CANCEL M, SIMPSON L W, LEACH J B, et al. Direct, real-time detection of adenosine triphosphate release from astrocytes in three-dimensional culture using an integrated electrochemical aptamer-based sensor[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2019, 10(4):2070-2079.

[39] WILLNER I, ZAYATS M. Electronic aptamer-based sensors[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2007, 46(34):6408-6418.

[40] MAO M, LIN Z, CHEN L, et al. Modular DNA-origami-based nanoarrays enhance cell binding affinity through the "lock-and-key" interaction [J]. Journal of the American Chemical Society, 2023, 145(9):5447-5455.

[41] SCHÖNING M J, POGHOSSIAN A. Bio FEDs (field-effect devices): state-of-the-art and new directions[J]. Electroanalysis, 2006, 18(19/20):1893-1900.

[42] SHIN J K, KIM D S, PARK H J, et al. Detection of DNA and protein molecules using an FET-type biosensor with gold as a gate metal[J]. Electroanalysis, 2004, 16(22):1912-1918.

[43] KIM D S, JEONG Y T, PARK H J, et al. An FET-type charge sensor for highly sensitive detection of DNA sequence[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 20(1):69-74.

[44] SAKATA T, MIYAHARA Y. Detection of DNA recognition events using multi-well field effect devices [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2005, 21(5):827-832.

[45] NAKATSUKA N, YANG K A, ABENDROTH J M, et al. Aptamer-field-effect transistors overcome Debye length limitations for small-molecule sensing [J]. Science, 2018, 362(6412):319-324.

[46] HUANG T, YEUNG K K, LI J W, et al. Graphene-based ion-selective field-effect transistor for sodium sensing [J]. Nanomaterials (Basel), 2022, 12(15):2620.

[47] HOU H F, JIN Y, WEI H, et al. A generalizable and noncovalent strategy for interfacing aptamers with a microelectrode for the selective sensing of neurotransmitters in vivo [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2020, 59(43):18996-19000.

[48] ZHAO C, CHEUNG K M, HUANG I W, et al. Implantable aptamer-field-effect transistor neuroprobes for in vivo neurotransmitter monitoring [J]. Science Advances, 2021, 7(48):eabj7422.

[49] WANG S D, LIU Y D, ZHU A W, et al. In vivo electrochemical biosensors: recent advances in molecular design, electrode materials, and electrochemical devices [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(1):388-406.

[50] HINKE J. Glass micro-electrodes for measuring intracellular activities of sodium and potassium [J]. Nature, 1959, 184(4694):1257-1258.

[51] HEUSER D, ASTRUP J, LASSEN N A, et al. Brain carbonic acid acidosis after acetazolamide [J]. Acta Physiologica Scandinavica, 1975, 93(3):385-390.

[52] ASTRUP J, NORBERG K. Potassium activity in cerebral cortex in rats during progressive severe hypoglycemia [J]. Brain Research, 1976, 103(2):418-423.

[53] MOGHADDAM B, SCHENK J, STEWART W, et al. Temporal relationship between neurotransmitter release and ion flux during spreading depression and anoxia[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 1987, 65(5):1105-1110.

[54] HU J B, STEIN A, BÜHLMANN P. Rational design of all-solid-state ion-selective electrodes and reference electrodes[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2016, 76:102-114.

[55] LINDNER E, GYURCSÁNYI R E. Quality control criteria for solid-contact, solvent polymeric membrane ion-selective electrodes [J]. Journal of Solid State Electrochemistry, 2009, 13:51-68.

[56] HIRATA H, DATO K. Copper (I) sulphide-impregnated silicone rubber membranes as selective electrodes for copper (II) ions[J]. Talanta, 1970, 17(9):883-887.

[57] CATTRALL R W, FREISER H. Coated wire ion-selective electrodes[J]. Analytical Chemistry, 1971, 43(13):1905-1906.

[58] WARDAK C, PIETRZAK K, MORAWSKA K, et al. Ion-selective electrodes with solid contact based on composite materials: a review [J]. Sensors (Basel), 2023, 23(13):5839.

[59] ODIJK M, VAN DER WOUDEN E, OLTHUIS W, et al. Microfabricated solid-state ion-selective electrode probe for measuring potassium in the living rodent brain: compatibility with DC-EEG recordings to study

spreading depression [J]. Sensors and Actuators B (Chemical), 2015, 207: 945-953.

[60] 赵凡,施国越,田阳.扩散性抑制及缺血过程中Ca^{2+}与谷氨酸的同时在体电化学分析[J].分析化学,2019,47(3):347-354.

[61] ZHAO L J, JIANG Y, HAO J, et al. Graphdiyne oxide enhances the stability of solid contact-based ionselective electrodes for excellent in vivo analysis [J]. Science China Chemistry, 2019, 62: 1414-1420.

[62] ZHANG L, XU T C, JI W L, et al. Ag_2S/Ag nanoparticle microelectrodes for in vivo potentiometric measurement of hydrogen sulfide dynamics in the rat brain [J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(18): 7063-7070.

[63] LEE J, JEONG Y, PARK S, et al. Development of an electrochemical dual H_2S/Ca^{2+} microsensor and its in vivo application to a rat seizure model[J]. ACS Sensors, 2021, 6(11): 4089-4097.

[64] LIU Y D, ZHANG L M, MO J W, et al. Ion selective electrode mediated by transfer layer of graphene oxide for detection of Ca^{2+} with highly sensitivity and selectivity [J]. Journal of the Electrochemical Society, 2022, 169(1): 016514.

[65] YANG H, QIAN Z Y, WANG J J, et al. Carbon nanotube array-based flexible multifunctional electrodes to record electrophysiology and ions on the cerebral cortex in real time[J]. Advanced Functional Materials, 2022, 32(38): 2204794.

[66] WANG H M, ZHANG S, LIU R T, et al. Biodegradable microelectrodes for monitoring the dynamics of extracellular Ca^{2+} in rat brain[J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(22): 8586-8595.

[67] VANÝSEK P, RAMÍREZ L B. Interface between two immiscible liquid electrolytes: a review [J]. Journal of the Chilean Chemical Society, 2008, 53(2): 1455-1463.

[68] SAMEC Z. Dynamic electrochemistry at the interface between two immiscible electrolytes[J]. Electrochimica Acta, 2012, 84: 21-28.

[69] SUÁREZ-HERRERA M F, SCANLON M L D. Quantitative analysis of redox-inactive ions by AC voltammetry at a polarized interface between two immiscible electrolyte solutions [J]. Analytical Chemistry, 2020, 92(15): 10521-10530.

[70] NERNST W, RIESENFELD E. Ueber elektrolytische Erscheinungen an der grenzfläche zweier lösungsmittel [J]. Annalen der Physik, 1902, 313(7): 600-608.

[71] TAYLOR G, GIRAULT H. Ion transfer reactions across a liquid-liquid interface supported on a micropipette tip [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1986, 208(1): 179-183.

[72] KIHARA S, YOSHIDA Z, FUJINAGA T. Current-scan polarography at the aqueous/organic solutions interface [J]. Bunseki Kagaku, 1982, 31(9): E297-E300.

[73] GAVACH C, HENRY F. Chronopotentiometric investigation of the diffusion overvoltage at the interface between two non-miscible solutions: I. Aqueous solution-tetrabutylammonium ion specific liquid membrane [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1974, 54(2): 361-370.

[74] MELROY O R, BUCK R P, STOVER F S, et al. Chronopotentiometry of one-and two-ion transport at immiscible liquid interfaces [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1981, 121: 93-114.

[75] KORYTA J. Ion transfer across water/organic phase boundaries and analytical applications[M]. Amsterdam: Elsevier, 1983: 131-164.

[76] KRAUSE J, UMLAND F. Quantitative bestimmungen mittels cyclischer voltammetrie an der phasengrenze zweier mischbarer elektrolytlösungen[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 1989, 335(7): 791-795.

[77] WANG E K, PANG Z C. A study of ion transfer across the interface of two immiscible electrolyte solutions by chronopotentiometry with cyclic linear current-scanning: part I. Single component system [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1985, 189(1): 1-20.

[78] CAMPBELL J, GIRAULT H. Steady state current for ion transfer reactions at a micro liquid/liquid interface [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 1989, 266(2): 465-469.

[79] SHAO Y H, MIRKIN M V. Fast kinetic measurements with nanometer-sized pipets. Transfer of potassium ion from water into dichloroethane facilitated by dibenzo-18-crown-6[J]. Journal of the American Chemical Society, 1997, 119(34): 8103-8104.

[80] SHEN M, QU Z, DESLAURIER J, et al. Single synaptic observation of cholinergic neurotransmission on living neurons: concentration and dynamics[J]. Journal of the American Chemical Society, 2018, 140(25): 7764-7768.

[81] JETMORE H D, MILTON C B, ANUPRIYA E S, et al. Detection of acetylcholine at nanoscale NPOE/water liquid/liquid interface electrodes [J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(49): 16535-16542.

[82] WANG X F, XU T C, ZHANG Y, et al. In vivo detection of redox-inactive neurochemicals in the rat brain with an

ion transfer microsensor[J]. ACS Sensors, 2021, 6(7): 2757-2762.

[83] VLASSIOUK I, SMIRNOV S, SIWY Z. Nanofluidic ionic diodes. Comparison of analytical and numerical solutions[J]. ACS Nano, 2008, 2(8): 1589-1602.

[84] NEHER E, SAKMANN B. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres[J]. Nature, 1976, 260(5554): 799-802.

[85] WEI C, BARD A J, FELDBERG S W. Current rectification at quartz nanopipet electrodes [J]. Analytical Chemistry, 1997, 69(22): 4627-4633.

[86] SIWY Z, HEINS E, HARRELL C C, et al. Conical-nanotube ion-current rectifiers: the role of surface charge [J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(35): 10850-10851.

[87] PAL SINGH K, KUMAR M. Effect of surface charge density and electro-osmotic flow on ionic current in a bipolar nanopore fluidic diode [J]. Journal of Applied Physics, 2011, 110(8): 8432201-8432210.

[88] HE X L, ZHANG K L, LI T, et al. Micrometer-scale ion current rectification at polyelectrolyte brush-modified micropipets [J]. Journal of the American Chemical Society, 2017, 139(4): 1396-1399.

[89] YUSKO E C, AN R, MAYER M. Electroosmotic flow can generate ion current rectification in nano-and micropores[J]. ACS Nano, 2010, 4(1): 477-487.

[90] CHANG F X, CHEN C, XIE X, et al. A bidirection-adjustable ionic current rectification system based on a biconical micro-channel[J]. Chemical Communications, 2015, 51(83): 15316-15319.

[91] VLASSIOUK I, KOZEL T R, SIWY Z S. Biosensing with nanofluidic diodes [J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(23): 8211-8220.

[92] HAN C P, HOU X, ZHANG H C, et al. Enantioselective recognition in biomimetic single artificial nanochannels [J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(20): 7644-7647.

[93] ACTIS P, ROGERS A, NIVALA J, et al. Reversible thrombin detection by aptamer functionalized STING sensors [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 26 (11): 4503-4507.

[94] SONG J, XU C H, HUANG S Z, et al. Ultrasmall nanopipette: toward continuous monitoring of redox metabolism at subcellular level[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2018, 57(40): 13226-13230.

[95] ZHANG S Y, CHENG M, DHINAKARAN M K, et al. Enantioselective antiport in asymmetric nanochannels [J]. ACS Nano, 2021, 15(8): 13148-13154.

[96] ZHANG K L, WEI H, XIONG T Y, et al. Micrometer-scale transient ion transport for real-time pH assay in living rat brains[J]. Chemical Science, 2021, 12(21): 7369-7376.

[97] XU Y T, RUAN Y F, WANG H Y, et al. A practical electrochemical nanotool for facile quantification of amino acids in single cell[J]. Small, 2021, 17(26): 2100503.

[98] SHI L, ZHANG Z H, ZHANG L M, et al. Electrochemical detection of tyrosinase in cell lysates at functionalized nanochannels via amplifying of ionic current response [J]. Electroanalysis, 2022, 34(6): 1021-1026.

(责任编辑:王 媛)