

# 离子选择性电极在脑神经化学活体分析中的研究进展

赵丽君<sup>1</sup> 郑卫<sup>\*1</sup> 毛兰群<sup>\*2,3</sup>

<sup>1</sup>(哈尔滨工程大学材料科学与化学工程学院, 哈尔滨 150001)

<sup>2</sup>(北京分子科学国家研究中心, 中国科学院化学研究所活体分析化学重点实验室, 北京 100190)

<sup>3</sup>(中国科学院大学, 北京 100048)

**摘 要** 脑功能的实现需要多种离子的共同参与,因此,在活体层次实时监测脑内离子的动态变化,对于理解许多生理病理事件具有重要意义。离子选择性电极作为一类电化学传感器,具有成本低、操作简单、能耗低等特点,被广泛应用于活体分析等领域。本文以离子选择性电极的发展历程为主线,主要对其基本构造及其在脑神经化学活体分析领域的应用进行了评述。

**关键词** 离子选择性电极; 活体分析; 脑神经化学; 评述

## 1 引言

脑内信息传递及与脑神经相关的各种生理病理过程都有化学物质参与,而脑内的各种离子(如  $\text{H}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 等)对维持中枢神经系统(CNS)的正常生理功能发挥了重要作用<sup>[1~10]</sup>。例如,脑内  $\text{H}^+$ 与细胞生长与凋亡、酶的活性、信号转导和离子传输等密切相关<sup>[1,2]</sup>。 $\text{K}^+$ 对于维持细胞正常的渗透压、保持细胞正常的形态具有重要作用;同时,还直接参与神经信号的传导过程<sup>[3,4]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$ 是参与基因表达、神经递质释放、突触形成和突触传导等生理活动的重要信号转导元素;并且,作为第二信使, $\text{Ca}^{2+}$ 参与了调节肌肉收缩、激素分泌、神经递质释放、细胞代谢和细胞凋亡等<sup>[5~9]</sup>。由此可见,脑内离子的浓度必须维持在一定的稳态范围内才能实现正常的脑神经活动,任何离子浓度的失衡都会对神经系统造成严重的影响<sup>[9,11~14]</sup>。因此,建立脑内离子动态变化的活体实时分析方法,对于了解脑神经活动的基本过程和神经系统性疾病(如帕金森症、阿兹海默症、脑缺血等)的发病机制、探索生命活动的化学本质具有重要意义<sup>[4,5,9,15]</sup>。早在 1968 年,Bradbury 等<sup>[16]</sup>就利用火焰原子吸收分光光度法,实现了对脑内  $\text{Ca}^{2+}$ 和  $\text{Mg}^{2+}$ 的检测。随着分析方法的不断发展,目前离子的检测方法主要有原子吸收光谱法、电感耦合等离子体质谱法、核磁共振和荧光成像等<sup>[17~21]</sup>,然而这些分析方法无法满足在活体动物水平上进行离子浓度的在线实时检测的要求<sup>[22,23]</sup>。与上述方法相比,电化学方法具有仪器设备简单、操作方便,且可以通过灵活设计电化学界面来实现选择性和稳定性等优点<sup>[24,25]</sup>。离子选择性电极(Ion-selective electrode, ISE)作为一类电化学传感器,具有体积小、携带方便、能耗低、成本低等特点,因此被广泛应用于生命科学、环境监测和过程控制等领域<sup>[26,27]</sup>。此外,使用 ISE 进行检测时无需对复杂样品进行预处理,能够实现样品的连续检测,因此在活体分析领域得到了迅速发展。本文对液体接触式 ISE 和固态 ISE 在活体分析领域的应用进行了综述。

## 2 液体接触式 ISE 在脑神经化学中的应用

传统的 ISE 通常称为液体接触式离子选择性电极,它主要是由敏感膜、内参比溶液、内参比电极和惰性腔体组成。其中,敏感膜是 ISE 的核心,它可将待测离子的活度转化为可测量的电位值。敏感膜的种类较多,从最早的玻璃膜、卤化银薄膜,逐渐发展到聚合物敏感膜。目前,聚合物膜敏感膜的主要成分是离子载体、离子交换剂、增塑剂和聚合物基体材料。其中,离子载体是敏感膜的重要组成部分,它可与待测离子键合形成配合物,从而实现对待测离子的选择性分析;离子交换剂主要是亲脂性盐,其作用是

2019-08-03 收稿; 2019-08-26 接受

本文系国家自然科学基金项目(No. 21874139)资助

\* E-mail: zhengwei@hrbeu.edu.cn; lqmao@iccas.ac.cn

促进离子的交换过程,降低带相反电荷的离子对检测结果的干扰;增塑剂能够增强敏感膜的塑性;聚合物基体用于保证敏感膜具有良好的机械稳定性。 $\text{Ag}/\text{AgCl}$  电极通常用作 ISE 的内参比电极。

将液接式 ISE 插入到含有待测离子的溶液中,由于离子敏感膜只允许待测离子通过,这使得敏感膜内外两侧的离子活度不同,因此待测离子会由高浓度向低浓度扩散,导致敏感膜内外两侧电荷分布不均,产生界面电势,即为 ISE 的电极电位。ISE 的电极电位与溶液中待测离子的活度遵守能斯特方程:

$$\varphi = \varphi^0 + \frac{RT}{z_L F} \ln a_L \quad (1)$$

其中,  $\varphi$  为电极电位,  $\varphi^0$  为标准电极电位,  $a_L$  为待测离子活度,  $z_L$  为待测离子的带电荷数,  $R$  为气体常数,  $T$  为绝对温度,  $F$  为法拉第常数。当  $a_L = 1$  时,可以得到电极的标准电极电位  $\varphi^0$ 。当工作电极和参比电极在溶液中组成原电池时,所测原电池的电动势为:

$$E = E^0 + S \ln a_L \quad (2)$$

其中,  $E$  为测得的电动势;当  $a_L = 1$  时,得到电极的标准电动势  $E^0$ ;  $S$  是响应斜率,在理想情况下  $S = 2.3026RT/F$ 。在  $25^\circ\text{C}$  时,  $S = 59.18/z_L$ 。

ISE 不受待测样品溶液悬浮物、浑浊度、颜色等因素的影响,且无需样品分离,因此可直接进行原液或原位的分析。自 1959 年 Hinke 等<sup>[28]</sup>首次将微管电极用于细胞内离子活度的测量以来,基于玻璃管的离子选择性微电极 (Ion-selective microelectrode, ISME) 得到了越来越广泛的应用,特别是在生命科学领域。该类 ISME 尖端的尺寸可以小到  $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{ m}$ 。在测量时,通常采用两根玻璃管电极,一根为 ISE,尖端填充敏感膜,管内填充内充液,作为指示电极 (图 1A)<sup>[29]</sup>,另一根作为参比电极;或者直接采用将 ISME 和参比电极整合在一起的双管微电极 (Double-barreled microelectrode, 图 1B)<sup>[30]</sup>;甚至是可实现两种离子同时检测的三管微电极 (Three-barreled microelectrode, 图 1C)<sup>[31]</sup>。

## 2.1 脑片层次

脑内相关神经生理病理过程的研究主要是基于细胞层次、脑片层次和活体层次展开的。其中,细胞层次的研究主要是对相应生理病理模型的神经细胞进行离体培养,然后再以单独的神经细胞为研究对象,对其进行生物及化学性质的分析。在进行离体培养的体外研究时,神经细胞由于脱离了细胞赖以生存的环境,阻断了神经细胞与其它细胞之间的相互联系,因此获得的研究结果无法还原脑内真实的神经生理病理过程。而脑片层次的研究能够在一定程度上解决细胞层次研究的局限性,因为单个脑片中包含了研究对象的基本微环境,能够在一定程度上保留不同细胞之间的神经连接,保证了大脑神经功能的完整性,因此在脑片层次开展脑内离子的研究能够更加准确的反映出神经生理病理过程的真实情况。

早在 1980 年, Benninger 等<sup>[32]</sup>就开始利用两根双管 ISME 检测了海马脑切片 CA1 区在顺行电刺激下的离子浓度变化,所使用的电极由两根  $\theta$  管分别拉制而成 (图 2),电极尖端直径为  $2 \sim 4 \mu\text{m}$ ,  $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  敏感膜分别采用  $\text{K}^+$  交换树脂和  $\text{Ca}^{2+}$  中性载体,发现海马切片中  $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化与在体内刺激下获得的结果相似,该结果对于研究相关离子在脑内微环境中变化的机制和影响具有潜在的应用价值。1983 年, Yaari 等<sup>[33]</sup>通过降低大鼠海马脑切片中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度来诱导 CA1 区中的自发癫痫,利用两根双管 ISME 发现癫痫发作期间细胞外  $\text{Na}^+$  浓度降低和  $\text{K}^+$  浓度升高。1987 年, Hablitz 等<sup>[34]</sup>用两根双管 ISME 在大鼠新皮质切片上进一步研究了癫痫发作期间细胞外  $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  的变化。Sick 等<sup>[35]</sup>采用双管 ISME 研究了缺氧状态下海马脑切片细胞外  $\text{K}^+$  浓度的变化与神经元兴奋性的关系。1990 年, McBain

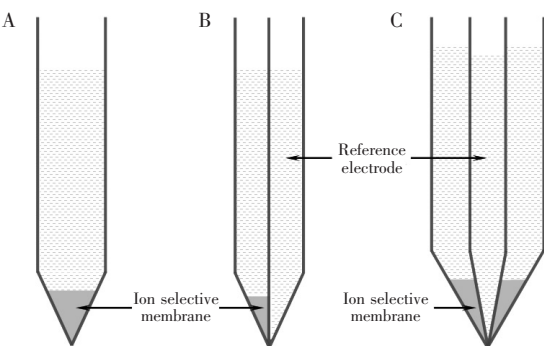


图 1 ISME 的示意图: (A) 单管 ISME<sup>[29]</sup>; (B) 双管微电极<sup>[30]</sup>; (C) 三管微电极<sup>[31]</sup>

Fig. 1 Schematic of ion-selective microelectrode (SME): (A) single-barreled microelectrode<sup>[29]</sup>; (B) double-barreled microelectrode<sup>[30]</sup> and (C) three-barreled microelectrode<sup>[31]</sup>

等<sup>[36]</sup>利用 ISME 实时测量了四甲基铵根离子( $\text{TMA}^+$ )在海马脑切片不同脑区中的扩散情况,并通过扩散方程进行拟合计算得到了细胞外体积分数(EVF),发现 CA1 区锥体细胞层 EVF 为 0.12,而 CA3 区的锥体细胞层和颗粒细胞层的 EVF 分别为 0.18 和 0.15。而且,当海马脑切片细胞外  $\text{K}^+$  的浓度从 3.5 mmol/L 升高至 8.5 mmol/L 时,CA1 区的 EVF 可逆地减少了 30%,这主要是由于  $\text{K}^+$  浓度的升高,诱导了 CA1 区中的自发性癫痫。这些结果表明,海马脑区不同亚区的细胞外间隙存在差异,这可能是海马脑区的 CA1 区在病理条件下更容易遭受损伤的原因。1993 年,Leschinger 等<sup>[37]</sup>采用  $\text{K}^+$  浓度升高和  $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  浓度降低来诱导癫痫发作,利用双管 ISME 研究了癫痫发作期间的场电位和细胞外离子浓度的变化。2000 年,Holthoff 等<sup>[38]</sup>用 ISME 研究了电刺激引起的新大脑皮层脑片细胞外间隙和  $\text{K}^+$  浓度的变化,进一步揭示了皮层脑组织的细胞外间隙缓冲机制。由此可见,在脑片层次利用 ISME 可以实现细胞周围或完整组织细胞外一种或多种离子的同时检测,并可结合电生理和膜片钳等技术,揭示生理病理条件下离子变化机制以及神经元之间的相互关系。

## 2.2 活体层次

在脑片层次上开展的与离子相关的研究虽然取得了很多成果,但是由于脑片不能进行长时间培养,因此无法进行长期生理病理过程的研究;并且在动物死亡过程中细胞也会发生一系列的变化,如细胞膜通透性的改变使得细胞会发生一定程度的水肿。因此,脑片层次上的研究结果不能完全揭示神经系统发生的变化。为了能够真实地反映出神经系统在各种生理病理过程中对外界刺激的响应,更多的研究者开始在活体层次上开展脑内神经化学物质的研究,这也将使我们可以同时结合行为学研究去更好地认识神经生理病理过程。目前采用 ISME 开展的针对脑神经化学活体分析的研究主要集中在酸中毒、低血糖症、癫痫、电刺激、SD 和缺血以及物质干预等病理模型引起的离子的变化等方面。

### 2.2.1 酸中毒

1975 年,Heuser 等<sup>[39]</sup>通过两根

ISME 连续记录了猫大脑皮层细胞外 pH 值和  $\text{K}^+$  浓度的变化。当静脉注射乙酰唑胺引起脑酸中毒大概 10 min 后,大脑皮层细胞外 pH 值下降至  $0.203 \pm 0.0046$  ( $n=8$ ),但在该过程中并未发现细胞外  $\text{K}^+$  浓度的变化。该结果与 Severinghaus 等<sup>[40]</sup>的观点相吻合,即碳酸性酸中毒是由乙酰唑胺对脑组织的直接作用引起的。

### 2.2.2 低血糖症

Astrup 等<sup>[41]</sup>在 1976 年使用双微管 ISME(尖端直径 1~2  $\mu\text{m}$ )研究了大鼠发生严重低血糖时大脑皮层细胞外的  $\text{K}^+$  浓度变化,发现低血糖引起的脑缺氧会导致大脑皮层中细胞外  $\text{K}^+$  浓度显著快速增加,表明  $\text{K}^+$  释放到了细胞外。1984 年,Harris 等<sup>[42]</sup>利用三管 ISME 研究了胰岛素诱导的低血糖症中细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  与  $\text{K}^+$  浓度的变化趋势以及不稳定化合物三磷酸腺苷(ATP)和磷酸肌酸(PCr)的浓度变化与能量负荷(EC)之间的关系。

### 2.2.3 癫痫

1977 年,Heinemann 等<sup>[43]</sup>用 ISME 对猫大脑皮层阵发性活动(电刺激或癫痫)中体感皮层细胞外  $a_{\text{Ca}}$  和  $a_{\text{K}}$  进行了研究,发现重复电刺激对侧前爪、丘脑腹外侧核和皮层表面时可同时引起  $a_{\text{Ca}}$  的下降和  $a_{\text{K}}$  的增加,而在癫痫发作期间  $a_{\text{Ca}}$  显著下降(下降最多可达 0.7 mmol/L),而且  $a_{\text{Ca}}$  的下降发生在阵发性放电和  $a_{\text{K}}$  升高之前。1985 年,Siesjö 等<sup>[44]</sup>用 ISME 研究了癫痫发作和停止后恢复期间大脑皮层细胞内外 pH 值的变化。

### 2.2.4 电刺激、SD 和缺血

扩散性抑制(Spreading depression, SD)是一种脑内神经细胞去极化后神经活动受到抑制的现象,该过程伴随离子的重新分布、神经元的肿胀以及神经元和胶质细胞活动的抑制<sup>[45~47]</sup>。1977 年,Nicholson 等<sup>[48]</sup>对大鼠小脑平行纤维-浦肯野细胞回路进行反复电刺激时,用双管

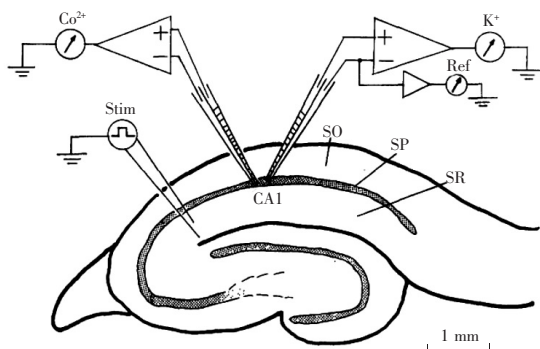


图2 海马脑片 CA1 区  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$  浓度变化测定的示意图<sup>[32]</sup>

Fig. 2 Schematic representation of the experimental setup with calcium and potassium ion sensitive electrodes situated in stratum pyramidale (SP) of the CA1 region of a hippocampal slice and a bipolar stimulating electrode in stratum radiatum (SR)<sup>[32]</sup>. SO, stratum oriens.

ISME 研究了其细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{K}^{+}$  的浓度变化,发现在该过程中细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下降到基线浓度的 80% 左右, $\text{K}^{+}$  浓度增加。而在 SD 过程中和缺氧末期,细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度下降到基线的 10% 左右。但是,在 SD 和缺氧过程中,细胞外  $\text{K}^{+}$  浓度均显著增加。这些结果表明,在神经元活动期间, $\text{Ca}^{2+}$  浓度会发生变化,并且在 SD 和缺氧病理模型下  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化可能是极端的。由于低浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{K}^{+}$  会影响神经元集合的能力,如细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的减少会提高轴突的兴奋性、减少化学突触传递,因此,他们认为脑细胞外微环境中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化可能是神经元整体行为的重要参数。

Kraig 等<sup>[49]</sup>在 1978 年利用 ISME 测定了 SD 过程中鲰鱼小脑细胞外  $\text{K}^{+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}$  和  $\text{Cl}^{-}$  的浓度变化。他们发现在 SD 过程中,细胞外  $\text{K}^{+}$  的浓度从静息水平的 2.3 mmol/L 开始上升,大约在  $\text{K}^{+}$  浓度上升后的 20 ~ 40 s 内( $\text{K}^{+}$  浓度超过 10 mmol/L 时), $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}$  和  $\text{Cl}^{-}$  的浓度才开始下降。在 SD 最强烈时, $\text{K}^{+}$  上升至 35 mmol/L,  $\text{Ca}^{2+}$  浓度降至 0.8 mmol/L(基础值为 2.2 mmol/L),  $\text{Na}^{+}$  浓度 57 mmol/L(基础值为 149 mmol/L),  $\text{Cl}^{-}$  浓度降至 47 mmol/L(基础值为 137 mmol/L); 这些结果表明了 SD 过程中细胞外主要离子浓度变化的幅度和时间顺序。1981 年, Hansen 等<sup>[50]</sup>用 ISME 比较了大鼠在 SD 和缺血两种情况下大脑皮层间隙离子浓度的变化。在 SD 和缺血的最初阶段,他们观察到细胞外  $\text{K}^{+}$  浓度从 3 mmol/L 增加到约 10 mmol/L, 但其它离子的浓度的变化很小。随着 SD 和缺血时间的延长, $\text{K}^{+}$  浓度在 2 ~ 3 s 的时间内快速增加至 55 mmol/L,而此时  $\text{Na}^{+}$ 、 $\text{Cl}^{-}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度则分别下降至 60、75 和 0.08 mmol/L,同时,这些变化还伴随着局部电势的迅速负移。然而,在 SD 和缺血两种生理过程中,离子的变化还是存在一些差异。一方面,在 SD 发生的 5 ~ 10 s 内, $\text{K}^{+}$  的浓度开始增大,而缺血持续 1 ~ 2 min 后才开始出现  $\text{K}^{+}$  浓度的增大。另一方面,各离子浓度的扰动在 SD 结束后均恢复正常,但在缺血结束后,离子浓度的失衡会持续一段时间,在 5 min 后  $\text{K}^{+}$  浓度变为 75 mmol/L,  $\text{Na}^{+}$  为 50 mmol/L,  $\text{Cl}^{-}$  为 72 mmol/L,  $\text{Ca}^{2+}$  为 0.06 mmol/L。这些结果表明在 SD 和缺血期间离子浓度的变化可能与细胞的离子通透性有关。

1978 年, Nicholson 等<sup>[51]</sup>采用两根双管 ISME 同时检测了猫小脑皮层细胞外微环境中  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{K}^{+}$  浓度的变化。当给予小脑皮层 30 s 的局部电刺激时,该脑区的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度从基线的 1.2 mmol/L 降至 0.8 mmol/L,  $\text{K}^{+}$  浓度从 3 mmol/L 增加至 8 mmol/L, 并且离子浓度的变化幅度与刺激的频率直接相关。同样地, Hansen 等<sup>[52]</sup>利用 ISME 对大鼠皮层缺血和皮层 SD 时细胞外间隙的体积变化进行了研究。采用含有标记物的 50 mmol/L 胆碱或 50 mmol/L 三甲基-3-(羟甲基)-甲基铵离子(N-TRIS)的等渗人工脑脊液冲洗皮层表面,并通过双管 ISME 监测它们在大脑皮层细胞外的浓度变化。由于这两种物质都具有较低的细胞渗透性,因此其浓度的变化反映了细胞外间隙的体积变化。该研究发现在 SD 和缺血期间,细胞外间隙体积收缩为初始体值的 50% 左右。

1980 年, Krnjevic 等<sup>[53]</sup>通过 ISME 记录了电刺激海马伞部和内嗅区时海马 CA3 脑区不同深度的细胞外  $\text{K}^{+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  活度( $a_{\text{K}}$ 、 $a_{\text{Ca}}$ )的变化,发现在锥体细胞层中  $a_{\text{K}}$  和  $a_{\text{Ca}}$  变化最大。而且,当施加 10 Hz 的刺激时, $a_{\text{K}}$  在 CA3 脑区较宽的深度范围内都出现了不同程度的升高;而  $a_{\text{Ca}}$  则仅在锥体细胞层中出现了明显下降,他们认为大量  $\text{Ca}^{2+}$  流入锥体细胞层可能与海马功能的“可塑性”有关。

Ekholm 等<sup>[54]</sup>在 1993 年探讨了短暂性脑缺血过程中能量恢复与  $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$  转运之间的关系,其中  $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$  转运是通过 ISME 测定的细胞外  $\text{K}^{+}$  的浓度变化来反映的。1984 年, Mutch 等<sup>[55]</sup>利用双管 ISME 研究了 SD 和全脑缺血过程中大鼠顶叶皮层细胞外 pH 的变化。Moghaddam 等<sup>[56]</sup>采用 ISME 测定了 SD 和缺氧时纹状体脑区细胞外  $\text{K}^{+}$  浓度,同时用碳纤维微电极测定脑内多巴胺的浓度。在 SD 过程中,随着  $\text{K}^{+}$  浓度的急剧升高产生了多巴胺的释放,而在缺氧状态下,多巴胺的释放则明显先于细胞外  $\text{K}^{+}$  浓度的快速上升。这表明,虽然 SD 和缺血过程中纹状体脑区内存在明显的多巴胺释放,但在这两种生理过程中, $\text{K}^{+}$  浓度升高与多巴胺释放的先后顺序是不同的,这可能是由不同的机制造成的。Silver 等<sup>[57]</sup>采用 ISME 对大鼠脑缺血缺氧时细胞内外游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化进行了研究。Nedergaard 等<sup>[58]</sup>采用 ISME 研究了大鼠局灶性缺血模型中细胞内和细胞外 pH 值之间的关系。

**2.2.5 物质干预** Zhang 等<sup>[59]</sup>用 ISME 研究了地佐环平(MK-801)对重度低血糖患者脑细胞  $a_{\text{K}}$  和  $a_{\text{Ca}}$  的影响。Young 等<sup>[60]</sup>用 ISME 研究了猫实验性脊髓损伤时大剂量皮质类固醇对血流量、诱发电位和细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的影响,采用大剂量皮质类固醇进行治疗对实验性脊髓损伤血流量、诱发电位和细胞外

$\text{Ca}^{2+}$  浓度的影响。Heinemann 等<sup>[61]</sup>用 ISME 检测了兴奋性和抑制性氨基酸电渗作用引起的猫感觉运动皮层细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度变化。Pumain 等<sup>[62]</sup>用 ISME 研究了兴奋性氨基酸诱导的大鼠运动皮层中的离子浓度变化。

由于 ISE 使用方法简单,数据容易处理,仪器设备操作简单,响应时间较快(在 0.1 s 到几秒之间),因此非常适合用于活体脑内离子的检测。并且,在活体层次利用 ISME 开展的研究非常有利于探索生理病理条件下离子的变化及其与其他物质或神经元放电等的相互关系,这对于理解疾病的发病机制非常重要,对于疾病的预防和治疗具有指导作用。

### 3 固态离子选择性电极的发展及在活体分析中的应用

虽然液体接触式 ISE 在单细胞和活体分析方面得到了广泛地应用,但仍然存在一定的局限性。液体接触式 ISE 含有将敏感膜与内参比电极分开的内部填充溶液(通常称为内充液),因此液体接触式 ISE 对内充液的蒸发、样品温度和压强的变化非常敏感<sup>[27,63]</sup>。此外,样品和内充液之间存在离子强度的差异,由此产生的渗透压会导致水流入或流出内充液,从而引起内充液较大的体积变化,导致 ISE 敏感膜的分层和灵敏度的降低<sup>[27]</sup>。因此,液体接触式 ISE 需要良好的维护,如定期更换内充液。此外,将内充液的体积降低到远低于毫升水平是比较困难的,这就限制了传感器的微型化<sup>[64]</sup>。尽管目前由玻璃微米管制备的有效面积小于 100 nm 的液体接触式 ISE 已经得到了广泛应用,但由于其具有较大的电阻,使得检测过程噪音增加、响应速率降低<sup>[65]</sup>,从而限制了液体接触式 ISE 的发展和应用。固态 ISE(solid-state ion-selective electrode, SS-ISE)可以通过在敏感膜和导电基底之间形成固体接触来消除液体接触式 ISE 内充液的影响。1970 年, Hirata 等<sup>[66]</sup>提出了一种全固态  $\text{Cu}^{2+}$  的 ISE( $\text{Cu}^{2+}$ -ISE),该电极是将  $\text{Cu}_2\text{S}$  浸渍的敏感膜直接滴涂在铂丝上构成。随后, Cattrall 等<sup>[67]</sup>用涂有  $\text{Ca}^{2+}$  掺杂聚合物膜的铂丝构建了第一个包含离子载体的涂丝电极(即覆丝电极, Coated-wire electrode, CWE),该电极通常被认为是最早的 SS-ISE。

为了探索 SS-ISE 在活体分析中的应用, Hao 等<sup>[23]</sup>以碳纤维电极为基底电极,以氢离子敏感膜为识别元件,设计并制备了微型化的氢离子 SS-ISE( $\text{H}^{+}$ -ISE),制备的  $\text{H}^{+}$ -ISE 在较窄的生理 pH 范围内(pH 6.0 ~ 8.0)对溶液 pH 值的变化表现出良好的响应和可逆性,并且不受中枢神经系统中内源性物质的干扰。更重要的是,  $\text{H}^{+}$  敏感膜无论是在体外 BSA 溶液中,还是在鼠脑内,都表现出了良好的抗蛋白吸附性能,这使得鼠脑内 pH 值的检测具有很好的可靠性。因此,利用该  $\text{H}^{+}$ -ISE 发展了一种电位分析方法,实时监测了酸碱紊乱模型下大鼠杏仁核脑区 pH 值的变化(图 3)。

尽管这类电极制备简单,但是其电位稳定性却很难与液体接触式 ISE 相媲美。这是由于 CWE 是将敏感膜直接修饰在导电基底上形成的,由于敏感膜是离子导电的,而导电基底是电子导电的,因此在敏感膜和导电基底之间会形成“block”界面,阻碍了敏感膜与导电基底之间离子与电子的相互转导,从而产生了一个纯电容界面<sup>[27,68]</sup>。为了提高 CWE 的电位稳定性,需要在 ISM 与金属基底之间引入固态转导层,用于离子与电子的可逆转导。正如 Nikolskii 等<sup>[69]</sup>总结的,为了得到电位稳定且可靠的 SS-ISEs,转导层必须具备以下 3 个条件:(1)可逆的离子-电子相互转导;(2)具有较高交换电流密度的理想非极化界面;(3)没有副反应。目前,最常用的中间转导层主要是导电聚合物、碳纳米材料和金属纳

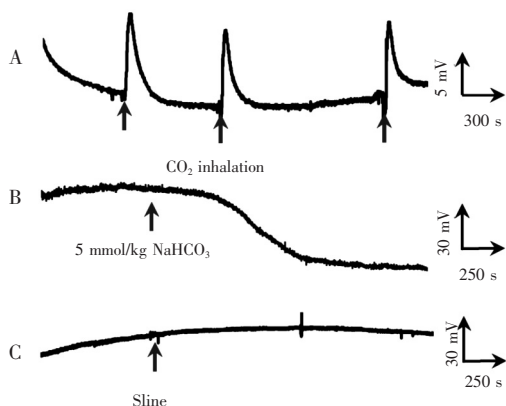


图3 在不同的模型下用  $\text{H}^{+}$ -ISE 记录的电位变化:(A)吸入  $\text{CO}_2$  (B)腹腔注射  $\text{NaHCO}_3$  和 (C)生理盐水时大脑皮层的电位变化<sup>[23]</sup>

Fig. 3 Potential responses recorded with the carbon fiber/ $\text{H}^{+}$ -ISE in amygdaloid nucleus (A) and cerebral cortex (B, C) under different conditions of  $\text{CO}_2$  inhalation (A) and intraperitoneal injection of  $\text{NaHCO}_3$  (B) or saline (C)<sup>[23]</sup>

米颗粒等<sup>[27,70~75]</sup>。

目前, SS-ISE 的离子-电子的转导机制主要有两种<sup>[27,75]</sup>。一种是在转导层和敏感膜之间形成类似于不对称电容器的双电层电容<sup>[27,75~77]</sup>, 如图 4A 所示, 一侧是离子(敏感膜中的阴离子和阳离子), 另一侧是电荷(转导层中的电子或空穴), 在敏感膜和转导层之间的界面电容依赖于双电层的电荷量。转导层主要是碳纳米材料和金属纳米颗粒<sup>[27,75]</sup>。另一种是基于转导层的氧化还原反应提供的可逆离子-电子的转导<sup>[27,75,78]</sup>, 转导层的氧化还原反应涉及到了待测离子或者其疏水的对离子, 如图 4B 所示。该类氧化还原反应包括掺杂小阴离子或者大电解质的导电聚合物, 掺杂物质的含量由氧化还原电容和聚合物的导电性控制。导电聚合物既可以被氧化, 又可以被还原, 使得它具有氧化还原的缓冲能力。这种类型的转导层通常是导电聚合物, 如聚吡咯(PPy)、聚苯胺(PANI)、聚 3-辛基噻吩(POT)和聚(3,4-乙烯二氧噻吩)(PEDOT)等<sup>[27,75]</sup>。

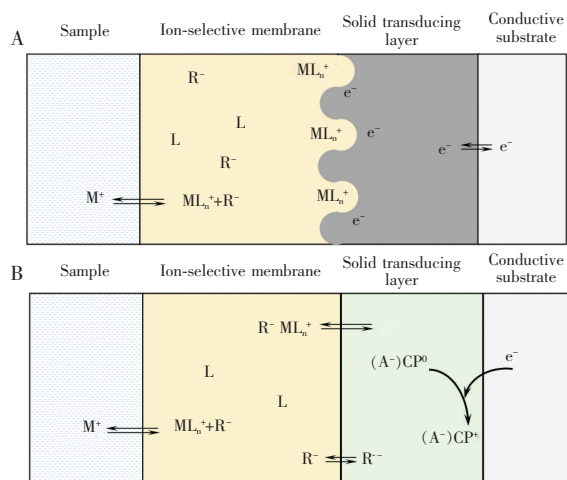


图 4 具有阳离子( $M^+$ )选择性膜的不同类型 SS-ISE 的转换机理示意图:(A) 基于双电层电容的 SS-ISE 和(B) 基于氧化还原电容的 SS-ISE<sup>[27]</sup>

Fig. 4 Schematic representation of the transduction mechanism of different types of solid state (SS)-ISE with cation ( $M^+$ ) selective membranes: (A) SS-ISE based on the double layer capacitance and (B) SS-ISE based on a high redox capacitance<sup>[27]</sup>

在 SS-ISE 应用过程中, 研究人员发现 SS-ISE 仍面临着一个关键问题: 导电基底/ISM 界面水层的存在<sup>[27,63]</sup>使得 SS-ISE 对渗透压的变化非常敏感, 而且不可避免地会发生电位漂移。为了提高电位的稳定性, 必须采取有效措施防止形成水层。目前, 将疏水的纳米材料引入转导层是阻止水层形成的有效方法, 最常用材料主要是碳材料, 如碳纳米管、炭黑、三维多孔碳、石墨烯、富勒烯、胶体印迹多孔碳和多孔碳球等<sup>[27,63]</sup>。Zhao 等<sup>[5]</sup>以空心碳纳米球(Hollow carbon nanospheres, HCNs)作为转导层构建了固态  $Ca^{2+}$ -ISE, 发现无转导层的  $Ca^{2+}$ -ISE 电位漂移为 2.2 mV/h, 而 HCNs 作为转导层改善了 SS-ISE 电位的长期稳定性(0.020 mV/h)。他们用内部结构为 3 层的 HCNs 作为转导层构建了微型化的  $Ca^{2+}$ -ISE, 并将该电极用于电刺激引起的 SD 过程中细胞外  $Ca^{2+}$  浓度动态变化的研究(图 5), 发现在 SD 过程中大鼠大脑皮层细胞外  $Ca^{2+}$  浓度降低了 50.0%  $\pm$  7.5%, 这表明 SD 过程中有大量的  $Ca^{2+}$  会流入细胞内。该研究成果为 SS-ISE 的微型化、活体脑内金属离子和 pH 值的测量提供了新的平台。

另外, Zhao 等<sup>[4]</sup>发现氧化石墨炔(Graphdiyne oxide, GDYO)与水的结合速度优于其它含碳材料。因此, 他们首次将 GDYO 用作 SS-ISE 的转导层, 同时采用  $MnO_2$  作为辅助中间层, 构建了  $K^+$ -ISE。通过计时电位法发现, 以 GDYO- $MnO_2$  为转导层的  $K^+$ -ISE 的电位漂移( $(11 \pm 2) \mu V/s$ )明显低于以  $MnO_2$  为转导层的  $K^+$ -ISE( $(39 \pm 3) \mu V/s$ ), 这表明 GDYO 独特的结构和疏水性能够阻碍和稳定水层, 进而提高 SS-ISE 的电位稳定性。他们进一步以 GDYO- $MnO_2$  为转导层构建了微型的  $K^+$ -ISE, 研究了电刺激条件下大鼠大脑皮层细胞外  $K^+$  浓度的变化, 发现电刺激手段使得细胞外的  $K^+$  浓度增加了 3 倍。GDYO 作为

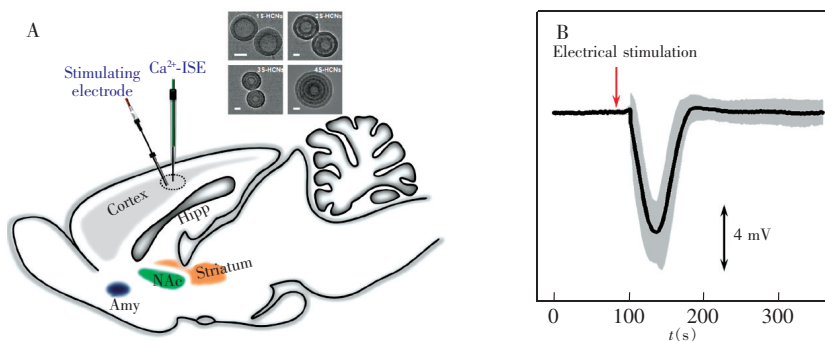


图 5 (A)用微型  $\text{Ca}^{2+}$ -ISE 记录大鼠电刺激诱导的 SD 过程中脑内  $\text{Ca}^{2+}$  变化的示意图,单层 HCNs、双层 HCNs、三层 HCNs 和四层 HCNs 的透射电镜图附在插图中,比例尺为 100 nm; (B)在局部电刺激诱导的 SD 过程中用微型  $\text{Ca}^{2+}$ -ISE 记录大脑皮层细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  的动态变化,对每个刺激序列采用连续的单相电流脉冲( $600 \mu\text{A}$ , 5 s)<sup>[5]</sup>

Fig. 5 (A) Schematic illustration of *in vivo* monitoring of  $\text{Ca}^{2+}$  in rat brain during spreading depression induced by electrical stimulation with micro-sized  $\text{Ca}^{2+}$ -ISE. Inset, TEM images of single-shelled (1s-HCNs), two-shelled (2s-HCNs), three-shelled (3s-HCNs), and four-shelled (4s-HCNs) hollow carbon nanospheres. Scale bar, 100 nm; (B) *In vivo* monitoring the dynamics of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in cerebral cortex following SD induced by local electrical stimulation. Potential response was recorded with the micro-sized  $\text{Ca}^{2+}$ -ISE. A continuous monophasic current pulse ( $600 \mu\text{A}$ , 5 s) was applied for each stimulation train<sup>[5]</sup>

转导层可推广到不同的 ISE,且不需要复杂的处理步骤,这为脑内离子传感提供了新的机会。

离子的动态变化越来越多地被认为在许多脑疾病的生理病理学中发挥着关键作用,因此,在脑神经科学研究中测量活体大脑中细胞外离子的浓度显得尤为重要。然而,目前大多数用于直接测量活体脑组织细胞外离子浓度的电极一般是基于玻璃毛细管的液体接触式 ISE,不仅在制作过程中易碎、耗时,而且这种探针只能用于测量大脑中单一深度和位置的细胞外离子浓度。最近,Odijk 等<sup>[79]</sup>设计并制备了一种可在活体动物脑内同时测量不同深度和位置的微型 ISE 电极,如图 6 所示,他们首先在阵列电极上电沉积导电聚合物 PEDOT(如图 6D 所示),然后再修饰  $\text{K}^+$  的敏感膜,形成的  $\text{K}^+$ -ISE 用于研究野生型小鼠 KCl 刺激导致的 SD 过程中大脑皮层细胞外  $\text{K}^+$  浓度的变化,该电极不受 pH、值或  $\text{O}_2$  的干扰,具有很好的稳定性和选择性。而且,单纯裸露的 PEDOT 电极也可用于电位和神经元活动的记录,该研究为同一电极同时检测不同深度和不同位置的离子变化和和相关神经元的活动奠定了基础。另外,这种微制造技术还可以将不同种类的传感器集成到同一个平台上,实现不同物质的同时检测。大脑功能的实现依赖于多种化学物质的共同作用,而单一化学物质的检测难以阐明其信号转导和疾病发生的生理病理机制。因此,实现大脑中多种物质的同时检测尤为重要。赵凡等<sup>[80]</sup>设计并构建了一种能够同时检测谷氨酸和  $\text{Ca}^{2+}$  的新型双功能微电极 (DFME) 生物传感器。

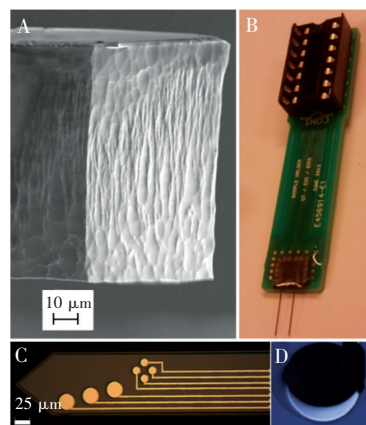


图 6  $\text{K}^+$ -ISE 的图像<sup>[79]</sup>: (A)尖端侧面的高分辨扫描电镜图; (B)两根轴的电极,安装在印刷电路板上; (C)电极尖端(宽度 100  $\mu\text{m}$ ); (D) PEDOT 修饰的电极位点的放大图像

Fig. 6 Images of the fabricated ISE probe<sup>[79]</sup>: (A) High resolution scanning electron microscope image of a side view of the tip; (B) Probe with two shafts, mounted on a printed circuit board; (C) One of two tips (width 100  $\mu\text{m}$ ) with electrodes. The diameter of each of the three electrode pads is 20  $\mu\text{m}$  and 10  $\mu\text{m}$  for the tetrode structure; (D) Zoom of PEDOT functionalized electrode pad

该传感器通过在 Pt 微电极 (Pt-ME) 上同时修饰谷氨酸氧化酶 GluOX 和 Pt 纳米颗粒 (PtNPs) 用作谷氨酸的电流记录通道,电沉积的 PtNPs 大大提高了谷氨酸生物传感器的灵敏度;采用全固态  $\text{Ca}^{2+}$  选择性微电极作为  $\text{Ca}^{2+}$  的电位记录通道(图 7)。该双功能微电极不仅两个通道的检测信号互不干扰,并且具有良好的选择性和较低检测限,已成功应用于大鼠 SD 和缺血过程中谷氨酸和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的实时检测。该研究对理解生理病理过程中谷氨酸和  $\text{Ca}^{2+}$  的共同作用提供了很好的平台,而且为两种或多种化学物质同时检测提供了一种新的分析方法。

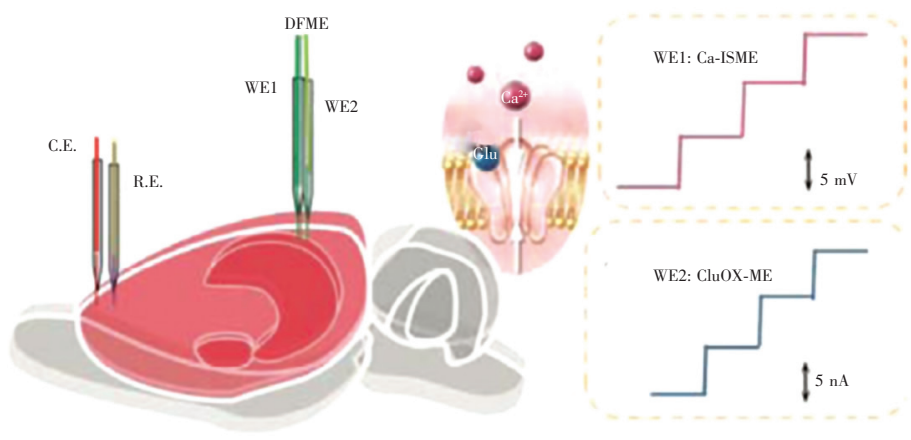


图 7 鼠脑内  $\text{Ca}^{2+}$  和谷氨酸同时测定的示意图<sup>[80]</sup>

Fig. 7 Schematic diagram of simultaneous detection of  $\text{Ca}^{2+}$  and glutamate in rat brain<sup>[80]</sup>. Ca-ISME:  $\text{Ca}^{2+}$  ion selective microelectrode; DFME: double functioned microelectrode; WE: working electrode; CE: counter electrode; RE: reference electrode; GluOX: L-glutamate oxidase

## 4 ISE 在脑神经活体分析化学领域的新进展

近年来,ISE 在脑神经化学活体分析中得到了迅速发展和广泛应用,其中液接式 ISE 和全固态 ISE 在脑神经化学活体分析领域仍然占有重要的地位。Filippidis 等<sup>[81]</sup>将液接式 ISME 和颅内压(ICP)探针植入大鼠顶叶皮层,用于实时监测大鼠局灶性脑损伤后血管加压素-1a 受体(V1aR)选择性抑制剂 SR49059 对细胞外  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  浓度和 ICP 的调节作用。Haj-Yasein 等<sup>[82]</sup>用液接式 ISME 评估了水通道蛋白-4(AQP4)缺失对成年小鼠海马脑区和胼胝体急性切片中活性诱导的  $\text{K}^+$  变化的影响。Yao 等<sup>[83]</sup>研究了 AQP4 介导的细胞外  $\text{K}^+$  和细胞外间隙(ECS)体积变化对野生型和 AQP4 缺陷型小鼠皮层扩散性抑制(CSD)去极化的速度、频率和幅度的影响。Odackal 等<sup>[84]</sup>利用双管液接式 ISME 研究了低钠血症发生和恢复正常时冠状脑切片中  $\text{Ca}^{2+}$  变化的幅度、时间及相应的机制。Haack 等<sup>[85]</sup>演示了双管液接式 ISME 的制备和校准,并将该电极用于小鼠海马脑区急性脑切片,研究了外源性给与谷氨酸受体激动剂或癫痫活动期间细胞外  $\text{K}^+$  浓度的变化。他们还进一步描述了同心 ISME 的构建,并对比了  $\text{Na}^+$  敏感的双管电极和同心电极的响应特性。Moon 等<sup>[86]</sup>开发了一种用于同时检测 NO 和  $\text{K}^+$  的双电化学微型传感器。该传感器由 Pt 和 Ag 的微盘电极构成,其中采用电镀法对 Pt 盘表面进行改性,然后用氟化干凝胶对其进行包覆用于检测 NO,将 Ag 盘表面氧化成 AgCl,在硅烷化后涂覆  $\text{K}^+$  选择性膜,用于  $\text{K}^+$  的检测。该传感器具有良好的选择性,响应时间快,在体内 6 h 内具有稳定性,而且该电极尺寸较小,可插入生物组织,因此被用于大鼠癫痫发作时 NO 和  $\text{K}^+$  动态变化的检测。Octeau 等<sup>[87]</sup>详细讲述了液接式单极  $\text{K}^+$ -ISME 的制备、校准和使用,并将该电极用于成年海马脑切片电刺激引起的  $\text{K}^+$  的浓度变化的检测。Zhao 等<sup>[88]</sup>使用 TMA<sup>+</sup> 作为 ECS 的离子示踪剂,研究了大鼠躯体感觉皮层在 SD 过程中 ECS 体积分数  $\alpha$  和扩散迂曲度  $\lambda$  的动态变化,其中 TMA<sup>+</sup> 的扩散采用液接式双管 ISME 进行检测。另外,ISE 本身性能的提高也成为该领域的研究热点之一,如开发新型的离子载体<sup>[89]</sup>、寻找合适的转导层,提高电位的稳定性和重现性<sup>[90~94]</sup>、发展新的信号输出方法<sup>[95,96]</sup>、发展可同时检测两种或多种离子的多通道或阵列电极<sup>[97,98]</sup>等,这些研究将为 ISE 在活体分析领域提供更多的发展机会和应用前景。

## 5 总结与展望

目前,离子选择性电极的研究取得了较大的发展和进步。相较于传统 ISE,SS-ISE 无需特别维护、制备方法简单、使用寿命较长、响应速度更快、检测限更低,因此在活体分析领域发挥着越来越重要的作用。未来以下几个方面将倍受研究者的关注:(1)虽然在过去的几十年内 SS-ISE 取得了较大的进步和发展,但是获得具有可重复的标准电位仍然是 SS-ISE 发展面临的一个巨大挑战,因此开发具有较大双电层电容或氧化还原电容的转导层仍是 SS-ISE 主要的研究方向之一;(2)SS-ISE 与先进微制造技术的兼容性,为制造包含多功能传感器和可穿戴电子设备的微型化芯片提供了可能,这对于生物活体以及单细胞检测具有较大的发展前景;(3)SS-ISE 有望重振离子选择性场效应晶体管领域,并与纳米线器件相结合,开辟新的可能性;(4)SS-ISE 可与无线传感技术结合实现远程监控,这对于实现活体动物清醒条件下的测量也十分有效,也可与柔性器件相结合,实现对活体动物的无损伤检测。

## References

- 1 Li S, Zhang M, Wang J, Yang F, Kang B, Xu J, Chen H. *Anal. Chem.*, **2019**, 91(13): 8398–8405
- 2 Chesler M. *Physiol. Rev.*, **2003**, 83(4): 1183–1221
- 3 YANG Cheng, SONG Cai-Qiao, ZHANG Ya-Qi, QU Yao. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2019**, 47(5): 765–771  
杨成, 宋彩侨, 张亚旗, 曲瑶. 分析化学, **2019**, 47(5): 765–771
- 4 Zhao L, Jiang Y, Hao J, Wei H, Mao L. *Sci. China Chem.*, doi: 10.1007/s11426-019-9516-5
- 5 Zhao L, Jiang Y, Wei H, Jiang Y, Ma W, Zheng W, Cao A, Mao L. *Anal. Chem.*, **2019**, 91(7): 4421–4428
- 6 Pan X, Liu J, Nguyen T, Liu C, Sun J, Teng Y, Fergusson M M, Rovira I I, Allen M, Springer D A, Aponte A M, Gucek M, Balaban R S, Murphy E, Finkel T. *Nat. Cell Biol.*, **2013**, 15(12): 1464–1472
- 7 Bading H. *Nat. Rev. Neurosci.*, **2013**, 14(9): 593–608
- 8 Nelson M T, French R J, Krueger B K. *Nature*, **1984**, 308(5954): 77–80
- 9 Mattson M P. *Aging Cell*, **2007**, 6(3): 337–350
- 10 Assaf S Y, Chung S H. *Nature*, **1984**, 308(5961): 734–736
- 11 Jentsch T J, Hubner C A, Fuhrmann J C. *Nat. Cell Biol.*, **2004**, 6(11): 1039–1047
- 12 Yu J, Chang R C, Tan L. *Prog. Neurobiol.*, **2009**, 89(3): 240–255
- 13 Vitvitsky V M, Garg S K, Keep R F, Albin R L, Banerjee R. *Biochim. Biophys. Acta*, **2012**, 1822(11): 1671–1681
- 14 Khanna A, Kahle K T, Walcott B P, Gerzanich V, Simard J M. *Transl. Stroke Res.*, **2014**, 5(1): 3–16
- 15 Mani G K, Miyakoda K, Saito A, Yasoda Y, Kajiwara K, Kimura M, Tsuchiya K. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, 9(26): 21651–21659
- 16 Bradbury M W, Kleeman C R, Bagdoyan H, Berberian A. *J. Lab. Clin. Med.*, **1968**, 71(5): 884–892
- 17 XIAO Qing, CHEN Lin, LI Wen-Feng, YANG Li-Qing, CAO Zhong, YU Xin-Yao, LONG Shu, HE Jing-Lin, XIAO Zhong-Liang. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2018**, 46(12): 1886–1894  
肖情, 陈琳, 李文锋, 杨丽琴, 曹忠, 于鑫垚, 龙姝, 何婧琳, 肖忠良. 分析化学, **2018**, 46(12): 1886–1894
- 18 Rossol M, Pierer M, Raulien N, Quandt D, Meusch U, Rothe K, Schubert K, Schoneberg T, Schaefer M, Krugel U, Smajilovic S, Brauner-Osborne H, Baerwald C, Wagner U. *Nat. Commun.*, **2012**, 3(1): 1–9
- 19 Petit-Pierre G, Colin P, Laurer E, Deglon J, Bertsch A, Thomas A, Schneider B L, Renaud P. *Nat. Commun.*, **2017**, 8(1): 1–8
- 20 Lautenschlager J, Stephens A D, Fusco G, Strohl F, Curry N, Zacharopoulou M, Michel C H, Laine R, Nespovitaya N, Fantham M, Pinotsi D, Zago W, Fraser P, Tandon A, St George-Hyslop P, Rees E, Phillips J J, De Simone A, Kaminski C F, Schierle G S K. *Nat. Commun.*, **2018**, 9(1): 1–13
- 21 Raza M, Blair R E, Sombati S, Carter D S, Deshpande L S, DeLorenzo R J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2004**, 101(50): 17522–17527
- 22 Xiao T, Wu F, Hao J, Zhang M, Yu P, Mao L. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(1): 300–313
- 23 Hao J, Xiao T, Wu F, Yu P, Mao L. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(22): 11238–11243

- 24 JIANG Xiao-Jing, LIANG Rong-Ning, QIN Wei. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2018**, 46(9): 1350–1356  
姜晓晶, 梁荣宁, 秦伟. 分析化学, **2018**, 46(9): 1350–1356
- 25 CUI Lin, Li Meng, ZOU Xiao-Ran, ZHANG Chun-Yang. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2018**, 46(11): 1685–1694  
崔琳, 李萌, 邹笑然, 张春阳. 分析化学, **2018**, 46(11): 1685–1694
- 26 QIN Tai-Chun, LI Xiao-Gang, HAO Jie, YU Ping, Mao Lan-Qun. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2015**, 43(3): 457–462  
秦泰春, 李晓钢, 郝洁, 于萍, 毛兰群. 分析化学, **2015**, 43(3): 457–462
- 27 Hu J, Stein A, Buhlmann P. *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2016**, 76: 102–114
- 28 Hinke J A. *Nature*, **1959**, 184(4694): 1257–1258
- 29 Khuri R N, Agulian S K, Hajjar J J. *J. Appl. Physiol.*, **1972**, 32(3): 419–422
- 30 Zeuthen T. *How to Make and Use Double-barreled Ion-selective Microelectrodes*, Salt Lake: Academic Press, **1980**, 13: 31–47
- 31 Tanaka K, Amano N, Satoda T, Murata T, Kawagishi S, Yoshino K, Mizuno N. *Neuroscience*, **2008**, 155(3): 969–982
- 32 Benninger C, Kadis J, Prince D A. *Brain Res.*, **1980**, 187(1): 165–182
- 33 Yaari Y, Konnerth A, Heinemann U. *Exp. Brain Res.*, **1983**, 51(1): 153–156
- 34 Hablitz J J, Heinemann U. *Dev. Brain Res.*, **1987**, 36(2): 299–303
- 35 Sick T J, Solow E L, Roberts E L. *Brain Res.*, **1987**, 418(2): 227–234
- 36 McBain C J, Traynelis S F, Dingledine R. *Science*, **1990**, 249(4969): 674–677
- 37 Leschinger A, Stabel J, Igelmund P, Heinemann U. *Exp. Brain Res.*, **1993**, 96(2): 230–240
- 38 Holthoff K, Witte O W. *Glia*, **2000**, 29(3): 288–292
- 39 Heuser D, Astrup J, Lassen N A, Betz E. *Acta Physiol. Scand.*, **1975**, 93(3): 385–390
- 40 Severinghaus J W, Cotev S. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **1968**, 21(102): 1–3
- 41 Astrup J, Norberg K. *Brain Res.*, **1976**, 103(2): 418–423
- 42 Harris R J, Wieloch T, Symon L, Siesjo B K. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1984**, 4(2): 187–193
- 43 Heinemann U, Lux H D, Gutnick M J. *Exp. Brain Res.*, **1977**, 27(3-4): 237–243
- 44 Siesjo B K, Vonhanwehr R, Nergelius G, Nevander G, Ingvar M. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1985**, 5(1): 47–57
- 45 Dreier J P. *Nat. Med.*, **2011**, 17(4): 439–447
- 46 Charles A C, Baca S M. *Nat. Rev. Neurol.*, **2013**, 9(11): 637–644
- 47 Pietrobon D, Moskowitz M A. *Nat. Rev. Neurosci.*, **2014**, 15(6): 379–393
- 48 Nicholson C, Tenbruggencate G, Steinberg R, Stockle H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1977**, 74(3): 1287–1290
- 49 Kraig R P, Nicholson C. *Neuroscience*, **1978**, 3(11): 1045–1059
- 50 Hansen A J, Zeuthen T. *Acta Physiol. Scand.*, **1981**, 113(4): 437–445
- 51 Nicholson C, Tenbruggencate G, Stockle H, Steinberg R. *J. Neurophysiol.*, **1978**, 41(4): 1026–1039
- 52 Hansen A J, Olsen C E. *Acta Physiol. Scand.*, **1980**, 108(4): 355–36550
- 53 Krnjevic K, Morris M E, Reiffenstein R J. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **1980**, 58(5): 579–583
- 54 Ekholm A, Katsura K, Kristian T, Liu M, Folbergrova J, Siesjo B K. *Brain Res.*, **1993**, 604(1-2): 185–191
- 55 Mutch W A C, Hansen A J. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1984**, 4(1): 17–27
- 56 Moghaddam B, Schenk J O, Stewart W B, Hansen A J. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **1987**, 65(5): 1105–1110
- 57 Silver I A, Erecinska M. *J. Gen. Physiol.*, **1990**, 95(5): 837–866
- 58 Nedergaard M, Kraig R P, Tanabe J, Pulsinelli W A. *Am. J. Physiol.*, **1991**, 260(3): R581–R588
- 59 Zhang E T, Hansen A J, Wieloch T, Lauritzen M. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1990**, 10(1): 136–139
- 60 Young W, Flamm E S. *J. Neurosurg.*, **1982**, 57(5): 667–673
- 61 Heinemann U, Pumain R. *Exp. Brain Res.*, **1980**, 40(3): 247–250
- 62 Pumain R, Kurcewicz I, Louvel J. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **1987**, 65(5): 1067–1077
- 63 Lindner E, Gyurcsanyi R E. *J. Solid State Electrochem.*, **2009**, 13(1): 51–68
- 64 CUI Guang-Wen, HE Run-He, YAO Jian, WANG Jian-Ping, ZHANG Xing-Xiang. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2018**, 46(10): 1669–1676  
崔光文, 何润合, 药健, 王建平, 张兴祥. 分析化学, **2018**, 46(10): 1669–1676

- 65 Nicholson C, Rice M E. *Neuronal microenvironment*, Edited by Boulton A A, Baker G B, Walz W, New Jersey: Humana Press, **1988**: 247–361
- 66 Hirata H, Date K. *Talanta*, **1970**, 17(9): 883–887
- 67 Catrall R W, Freiser H. *Anal. Chem.*, **1971**, 43(13): 1905–1906
- 68 Ivanova N M, Levin M B, Mikhelson K N. *Russ. Chem. Bull.*, **2012**, 61(5): 926–936
- 69 Nikolskii B P, Materova E A. *Ion-Selective Electrode Rev.*, **1985**, 7(1): 3–39
- 70 Bobacka J. *Electroanalysis*, **2006**, 18(1): 7–18
- 71 Bobacka J, Ivaska A, Lewenstam A. *Chem. Rev.*, **2008**, 108(2): 329–351
- 72 Bakker E. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(1): 395–413
- 73 Bieg C, Fuchsberger K, Stelzle M. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2017**, 409(1): 45–61
- 74 Zdrachek E, Bakker E. *Anal. Chem.*, **2019**, 91(1): 2–26
- 75 AN Qing-Bo, JIA Fei, XU Jia-Nan, LI Feng-Hua, NIU Li. *Scientia Sinica Chimica*, **2017**, 47(5): 524–531  
安清波, 贾菲, 许佳楠, 李风华, 牛利. *中国科学: 化学*, **2017**, 47(5): 524–531
- 76 Crespo G A, Macho S, Bobacka J, Rius F X. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(2): 676–681
- 77 Cuartero M, Bishop J, Walker R, Acres R G, Bakker E, De Marco R, Crespo G A. *Chem. Commun.*, **2016**, 52(62): 9703–9706
- 78 Bobacka J. *Anal. Chem.*, **1999**, 71(21): 4932–4937
- 79 Odijk M, van der Wouden E J, Olthuis W, Ferrari M D, Tolner E A, van den Maagdenberg A, van den Berg A. *Sens. Actuators B*, **2015**, 207: 945–953
- 80 ZHAO Fan, SHI Guo-Yue, TIAN Yang. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2019**, 47(3): 347–354  
赵凡, 施国跃, 田阳. *分析化学*, **2019**, 47(3): 347–354
- 81 Filippidis A S, Liang X, Wang W, Parveen S, Baumgarten C M, Marmarou C R. *J. Neurotrauma*, **2014**, 31(14): 1258–1267
- 82 Haj-Yasein N N, Bugge C E, Jensen V, Ostby I, Ottersen O P, Hvalby O, Nagelhus E A. *Brain Struct. Funct.*, **2015**, 220(4): 2469–2474
- 83 Yao X, Smith A J, Jin B, Zador Z, Manley G T, Verkman A S. *Glia*, **2015**, 63(10): 1860–1869
- 84 Odackal J, Sherpa A D, Patel N, Colbourn R, Hrabetova S. *Exp. Neurol.*, **2015**, 273: 105–113
- 85 Haack N, Durr S, Kafitz K W, Chesler M, Rose C R. *J. Vis. Exp.*, **2015**, 103: 1–15
- 86 Moon J, Ha Y, Kim M, Sim J, Lee Y, Suh M. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(18): 8942–8948
- 87 Oteau J C, Faas G, Mody I, Khakh B S. *J. Vis. Exp.*, **2018**, 135: 1–8
- 88 Zhao H, Du H, Cai Y, Liu C, Xie Z, Chen K. *J. Neurophysiol.*, **2019**, 121(5): 1735–1747
- 89 Guinovart T, Hernandez-Alonso D, Adriaenssens L, Blondeau P, Rius F X, Ballester P, Andrade F J. *Biosens. Bioelectron.*, **2017**, 87: 587–592
- 90 He N, Papp S, Lindfors T, Hoffer L, Latonen R M, Gyuresanyi R E. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(4): 2598–2605
- 91 Wang S, Wu Y, Gu Y, Li T, Luo H, Li L, Bai Y, Li L, Liu L, Cao Y, Ding H, Zhang T. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(19): 10224–10231
- 92 Boeva Z A, Lindfors T. *Sens. Actuators B*, **2016**, 224: 624–631
- 93 Ishige Y, Klink S, Schuhmann W. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, 55(15): 4831–4835
- 94 Szucs J, Lindfors T, Bobacka J, Gyuresanyi R E. *Electroanalysis*, **2016**, 28(4): 778–786
- 95 Vanamo U, Hupa E, Yrjana V, Bobacka J. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(8): 4369–4374
- 96 Jarolimova Z, Han T T, Mattinen U, Bobacka J, Bakker E. *Anal. Chem.*, **2018**, 90(14): 8700–8707
- 97 Eylem C C, Tastekin M, Kenar A. *Talanta*, **2018**, 183: 184–191
- 98 Zdrachek E, Bakker E. *Anal. Chem.*, **2018**, 90(12): 7591–7599

# Recent Advances of Ion-Selective Electrode for *in Vivo* Analysis in Brain Neurochemistry

ZHAO Li-Jun<sup>1</sup>, ZHENG Wei<sup>\*1</sup>, MAO Lan-Qun<sup>\*2,3</sup>

<sup>1</sup>(College of Materials Science and Chemical Engineering, Harbin Engineering University, Harbin 150001, China)

<sup>2</sup>(Beijing National Laboratory for Molecular Science, Key Laboratory of Analytical Chemistry for Living Biosystems, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

<sup>3</sup>(University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** In the central nervous system, the realization of brain functions cannot be achieved without the participation of many ions, therefore, it is of great significance to real-time monitor the dynamic of ions in the living brain for understanding many physiological and pathological events. As a kind of electrochemical sensor, ion-selective electrode has been widely used for *in vivo* analysis and other fields in the past half century due to its low cost, simple operation and low energy consumption. This review mainly focuses on the development of ion-selective electrodes, and introduces its basic structure and application in the field of brain neurochemical analysis.

**Keywords** Ion-selective electrode; *In vivo* analysis; Brain neurochemistry; Review

(Received 3 August 2019; accepted 26 August 2019)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21874139).

## 《分析化学》入选新中国成立 70 周年精品出版物展——获奖期刊展区

2019 年 8 月 21 日至 25 日,由中共中央宣传部、北京市人民政府主办,中国图书进出口(集团)总公司承办的第二十六届北京国际图书博览会在中国国际展览中心新馆(顺义)举行。

为了向伟大祖国 70 华诞献礼,致敬中国期刊光辉历程,中国期刊协会主办的“庆祝中华人民共和国成立 70 周年精品期刊展”将作为第二十六届北京国际图书博览会主要主题展览重要内容在中国国际展览中心新馆同时、同地举办。

据悉,这是中国期刊首次在北京图书博览会集中亮相。“庆祝中华人民共和国成立 70 周年精品期刊展”共设四大主题,分别是“新中国获奖期刊”、“期刊主题宣传好文章”、“致敬创刊 70 周年”、中国期刊记忆,共计展出 1099 种期刊。展览旨在回顾我国期刊业 70 年的光辉历程,展示新中国成立以来,特别是党的十八大以来,我国期刊业取得的重要成就,展望新时代期刊业的发展前景,推动我国期刊业高质量发展。

《分析化学》陈列在“获奖期刊”展区。本部分展区是国家新闻出版行政管理部门组织开展的历届国家期刊奖、中国出版政府期刊奖、中国百强报刊、中国期刊方阵等评优活动中的获奖期刊,还有中国期刊协会组织的“中国最美期刊”和“期刊数字影响力 100 强”遴选活动的入选期刊。这些期刊作为我国精品期刊的优秀代表,积极发挥示范引领和品牌带动,为推动期刊高质量发展,满足人民群众精神文化需求发挥了重要作用。本部分展出各类获奖期刊 783 种。