

· 综 述 ·

基于微流控芯片集成电阻抗传感在细胞检测中的研究进展

贡光杰¹, 王洁¹, 张腾汉¹, 李庆勇¹, 孙漩嵘^{1,2*}

1 浙江工业大学药学院, 浙江 杭州 310006

2 长三角绿色制药协同创新中心, 浙江 杭州 310006

贡光杰, 王洁, 张腾汉, 李庆勇, 孙漩嵘. 基于微流控芯片集成电阻抗传感在细胞检测中的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(6): 1792-1805.

GONG Guangjie, WANG Jie, ZHANG Tenghan, LI Qingyong, SUN Xuanrong. Research progress of integrating electrical impedance sensors with microfluidic chips in cell detection[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(6): 1792-1805.

摘 要: 细胞培养技术是各种以细胞测定为基础进行生物学和临床前研究的基础性手段。细胞培养的相关测定, 即培养期间细胞数量、活力和代谢活动的研究, 可以反映各种培养条件下的细胞情况。传统细胞培养及检测手段存在试剂和样本消耗量大、无法实时监控细胞状态且难以对细胞微环境进行时空调节等问题。细胞阻抗传感器通过交流电流测量细胞的电阻抗变化, 可实现实时监控细胞贴附、生长、增殖、迁移等细胞活动引起的阻抗特性变化。微流控芯片具有将复杂的生物过程缩小、集成多种分析模式以及实现检测的高度自动化等优点。利用微流控芯片与细胞阻抗传感的集成, 可以大大提高细胞相关分析能力和效率。文中概括了基于微流体的阻抗传感器在 2D 和 3D 细胞体系中的应用, 总结了其在细胞生长、增殖、活力、代谢活动以及药物筛选应用方面的研究进展, 最后展望了未来发展趋势以及可能的挑战, 为电阻抗传感集成微流控芯片在药物筛选领域的发展提供一些思路。

关键词: 微流控; 阻抗; 生物传感; 2D 及 3D 细胞培养; 药物筛选

资助项目: 国家自然科学基金(22075247); 浙江省基础公益研究计划(LGF21C100001)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (22075247) and the Basic Public Welfare Research Project of Zhejiang Province (LGF21C100001).

*Corresponding author. E-mail: sunxr@zjut.edu.cn

Received: 2023-09-27; Accepted: 2024-03-27; Published online: 2024-04-03

Research progress of integrating electrical impedance sensors with microfluidic chips in cell detection

GONG Guangjie¹, WANG Jie¹, ZHANG Tenghan¹, LI Qingyong¹, SUN Xuanrong^{1,2*}

¹ College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310006, Zhejiang, China

² Collaborative Innovation Center of Yangtze River Delta Region Green Pharmaceuticals, Hangzhou 310006, Zhejiang, China

Abstract: Cell culture is a fundamental tool for cell-based assays in biological and preclinical research. The measurements of cell culture, including cell count, viability, and metabolic activity, can reflect the conditions of cells under culture conditions. The conventional cell culture and detection methods have problems such as high consumption of reagents and samples, inability to monitor cell status in real time, and difficulty in spatiotemporally adjusting the cell microenvironment. A cell impedance sensor measures changes in the electrical impedance of cells through alternating current, enabling real-time monitoring of impedance changes caused by cell activities such as attachment, growth, proliferation, and migration. Microfluidic chips are praised for reducing complex biological processes, integrating multiple analysis modes, and achieving high automation in detection. Integrating microfluidic chips with cell impedance sensors greatly improves the capability and efficiency of cell-related analysis. This review outlines the application of microfluidic chip-based impedance sensors in 2D and 3D cell systems and summarizes the research progress in application of such sensors in research on cell growth, proliferation, viability, metabolic activity, and drug screening. Finally, this review prospects the future development trends and possible challenges, providing ideas for the development of microfluidic chips integrated with electrical impedance sensors in drug screening.

Keywords: microfluidic; impedance; biosensing; 2D and 3D cell culture; drug screening

细胞培养是指细胞在体外人工设计环境中增殖发育的过程。细胞通常在细胞培养容器(如培养皿或微孔板)表面贴壁生长,也可以在基质中悬浮生长。二维细胞培养因操作简单、易于重复、低成本等优势而广泛应用于细胞相关研究。二维细胞的检测手段可以检测以下指标:细胞数量可以提供细胞增殖的信息,细胞活力可以了解特定测试物质下细胞死亡的百分比,细胞代谢可以指示细胞生理学活动变化等。

传统上,采用血细胞计数细胞、共聚焦显微镜获得细胞高分辨率图像、光学显微镜与荧光

染料染色结合以及酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)等检测手段进行细胞增殖、活力分析等。这些方法虽已成为基于细胞培养测定的标准方案,但通常耗时耗力,并且要求昂贵的精密仪器和试剂配合使用,限制了其高通量和高效率的应用。同时,指示性成分和进行荧光染料染色的细胞分析通常很耗时,并且有损细胞,影响了对后续细胞反应的观察。因此,寻找合适的替代分析方法对于实现有效且高效的检测至关重要。

为了解决上述问题,细胞-基质阻抗传感

(electric cell-substrate impedance sensing, ECIS)作为一种非侵入、免标记、实时监测细胞行为的检测方法,引起了广泛的关注^[1]。如下所示为典型的 ECIS 系统分析细胞体系的示意图^[2] (图 1)。

与荧光染料染色法、酶联免疫吸附测定等传统检测方法相比,阻抗传感器具有非侵入性、操作简单、检测快速等诸多优点^[3]。细胞阻抗传感是一种用于实时监测细胞贴附、生长、增殖、迁移等系列细胞活动引起的细胞阻抗特性变化的技术。其作用原理是将正弦电压施加到特定频率,并经由交流电测量细胞与电极之间的电容和电阻变化,以获得细胞的生理功能^[4]。当细胞附着并铺展在电极上时,电流受到物理阻碍,导致阻抗增加。目前,ECIS 已广泛应用于细胞增殖^[5]、伤口愈合^[6-8]、癌细胞识别^[9-10]和细胞毒性^[11-13],也可以联合其他分析手段进一步研究细胞^[14]。

微流控技术是用于控制小规模流体的装置

和系统的技术,可以使用微量样本模拟和分析小型装置中的特定生物活动^[15]。微流控装置与传统装置相比尺寸更小,减少了能源和试剂的浪费,可以缩短实验时间,降低污染风险,提高自动化效率,拥有更高的灵敏度和可靠性^[16]。微流控芯片的构件尺寸和细胞大小相吻合,可同时测定物理量、化学量和生物量,已成为对哺乳动物细胞及其微环境进行操控的最具潜力的平台^[17]。目前已可以构建 μm 量级且相对封闭的三维细胞培养、分选等操作单元,并成功将这些单元延伸到组织和器官培养。

例如,类器官芯片是一种更接近仿生体系的模式,可在一块几 cm^2 的芯片中培养各种活体细胞,形成组织器官,乃至由不同器官芯片进一步组成活体芯片,从而模拟一个活体的行为并研究活体中整体和局部的种种关系^[18]。在药领域,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)目前已批准,利用

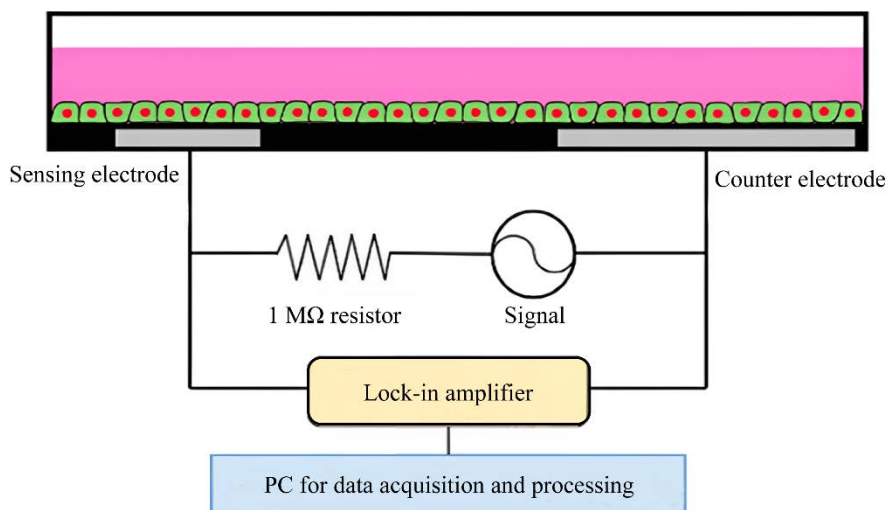


图 1 典型的 ECIS 系统示意图^[2] 电极连接到阻抗分析仪上,分析仪连接到计算机以进行数据采集、存储和分析解释

Figure 1 Diagrammatic representation of a standard ECIS system^[2]. For data collection, storage, analysis, and interpretation, the electrodes are connected to an impedance analyzer linked to a computer.

一些类器官芯片可替代模型动物实验,用于开展候选药物的临床前研究,进行毒理和药效活性等工作^[19]。

有研究表明,在微流控体系中培养细胞,可以获得更高的通量和可靠性^[20]。现如今,用于高通量筛选的微流控芯片设计和生产工艺较为成熟。

将阻抗传感器集成在微流控芯片平台上,可实时、高效、高通量监测芯片上的细胞反应。早在 20 世纪 80 年代,斯坦福大学就基于气相色谱原理构建的微型气体分析系统,首次实现了微型实验平台^[21]。90 年代初,研究者在芯片上实现了电泳分离,并提出了微型全分析系统的概念,开启了微流控芯片技术的研究热潮^[22]。到 90 年代末,研究人员更加深入地探索微流控技术,尤其是集中在细胞生物学领域的应用发展迅速,大量开展生物化学操作的微型化研究。Giaever 和 Keese 首次提出基于细胞的阻抗分析技术^[23],用来评价附着在金电极表面上成纤维细胞的密度和运动情况;随后他们再次对该技术进行了详细的总结和阐述,进一步促进了 ECIS 的发展和应用^[24]。之后,越来越多的研究者们将微流控技术和电阻抗分析技术结合,用来进行微流体系统中的细胞分析。

目前,研究人员已经可以将从样品采集到最终分析的步骤,整合到一块芯片上,并集成各种电极进行阻抗分析。这样的实验平台,不仅拥有微流系统的微尺寸、自动化程度高、高通量和操控便捷性等特点,还能通过阻抗传感,进行实时快速、非侵入性且无须拆卸便可进行的片上原位分析,充分展示了微流控芯片平台和阻抗技术结合的巨大应用潜力。

值得提出的是,阻抗的变化是由细胞和物理、化学、生物效应的多因素混合所致的。例如,阻抗检测的灵敏度与细胞状态、检测频率、

电极构造及尺寸等因素有关。本文将从细胞生长、增殖、生理活动、活力以及细胞对外界的刺激反应等角度,探讨结合细胞阻抗分析的微流控平台在 2D 细胞和 3D 细胞培养体系的应用。

1 2D 细胞阻抗分析

2D 细胞培养因其操作简单、成本较低而广泛使用。但应用于其上的检测手段如荧光染色、酶联免疫等,不仅繁琐且低效,而且会影响细胞后续状态,无法适应快速有效的细胞检测过程,对需要长期多次检测的细胞培养过程来说,也是巨大的挑战。因此,基于生物阻抗原理,使用交流电评估生理条件下的细胞行为的细胞阻抗传感技术 ECIS,因其检测过程简单、操作便捷、非侵入性、可高通量以及实时监测等突出优势,日益受到研究者们的关注^[25]。

1.1 阻抗在 2D 细胞体系的基础研究

细胞阻抗传感(ECIS)可以提供有关细胞或组织中电化学过程的信息,并用于监测其在环境条件下的生理变化。利用阻抗传感进行监测,可以避免传统检测手段对细胞自然过程的负面影响,保持细胞的天然和生理相关状态。

一般来说,ECIS 系统的结构设计包括 2 个电极,如图 2A 所示:一个小型工作电极,另一个位于培养板底部阻抗可忽略不计的大型参考电极。通过使用小电极阵列,对工作电极的局部细胞进行测量。绝对阻抗通常在选定的频率下进行评估,实验期间观察到的阻抗变化足够大,足以对细胞活动的变化进行定性测量。此外,相比于单电极,叉指电极的参考电极可以发挥与工作电极等同的作用(图 2B),提高了电极的利用率。

ECIS 系统中细胞培养过程的各种细胞事件,能够通过阻抗的变化反映。接种后,细胞向下漂移并逐渐附着在电极层上;随着部分细

胞逐渐扩散到电极表面并附着在其上, 由于细胞具有优异的绝缘性能, 会影响细胞-基质界面的局部环境^[26]; 随着细胞更多地黏附到电极表面, 通过细胞的电流将受到阻碍, 测量到的阻抗也随之逐渐增加, 直至细胞全部黏附在电极上。

在此过程中, 如图 2C 所示, 起初细胞与电极之间的直接接触面积很小; 但当细胞进入黏附阶段时, 细胞形状从球形变为不规则多边形, 直到细胞完全黏附。之后, 当细胞开始在电极表面增殖, 测量到的阻抗随着细胞生长而增加, 直到细胞在电极顶部形成汇合单层时达到一个

稳定态^[27]。

此时, 细胞在基底上形成单层, 就可以进行有关细胞反应的实验, 如药物筛选或细胞毒性实验, 并通过同步监测阻抗的变化, 反馈细胞状态。若在有限营养物质或者毒性药物的环境下, 细胞会发生凋亡并逐渐从电极表面脱离, 测量的阻抗将下降。

为了更加标准化和可重复性地观察阻抗对细胞行为的反应情况, 对 ECIS 分析中的频率和灵敏度等进行考察必不可少。基于 ECIS 测定的检测灵敏度主要通过细胞变化的阻抗响应的精细程度来反映。

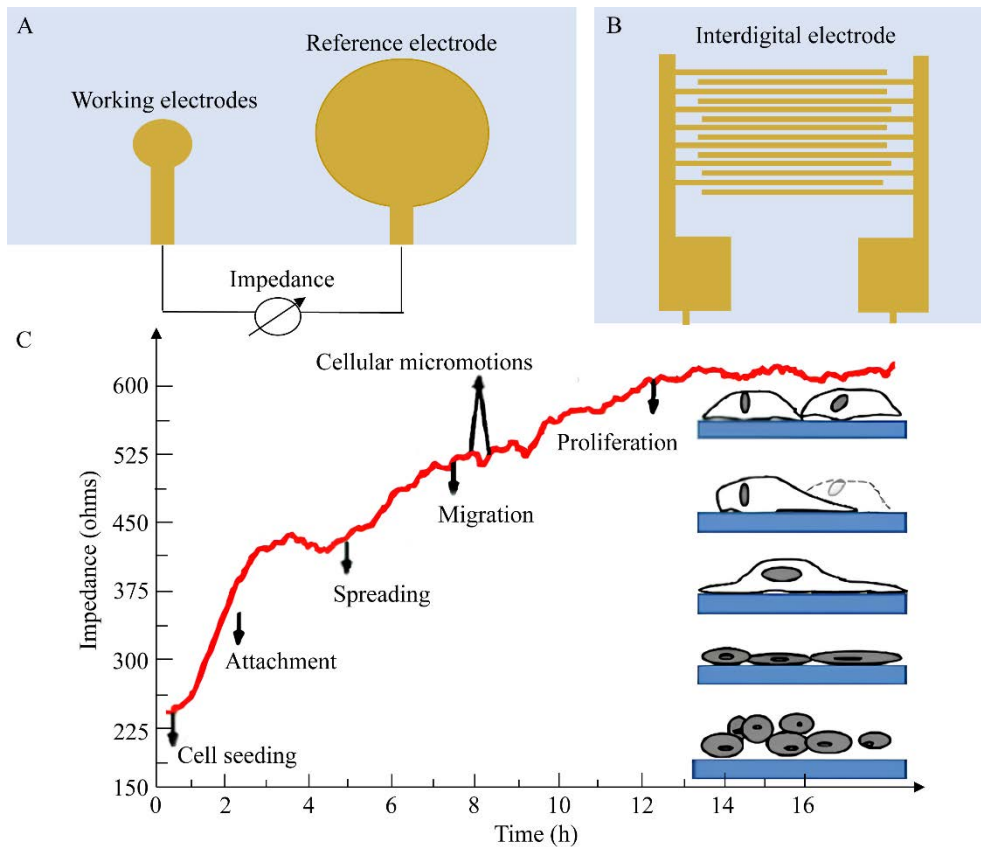


图 2 ECIS 检测电极示意图及细胞形态与阻抗变化图^[27] A: 经典电极. B: 叉指电极. C: 细胞在接种、微黏附、完全黏附、迁移、微运动以及增殖等过程中, 阻抗变化情况

Figure 2 ECIS detection electrode schematic and diagram of cell morphology with impedance variation^[27]. A: Classic electrodes. B: Interdigital electrode. C: The impedance variations during processes such as cell seeding, initial attachment, full adhesion, migration, micromotion, and proliferation.

对检测灵敏度的影响中,传感电极尺寸是关键因素^[28]。较小半径的工作电极对细胞密度变动会产生更敏感的阻抗变化。同时,工作电极半径越小,检测得到的阻抗值越高,信噪比也会提高。其次,工作电极和参考电极或对电极之间的距离一般不会影响阻抗测量。然而实际应用中应该保持两者的距离足够大,以防止电流绕过电极之间的细胞。

另外,不同频率下阻抗数据反映的细胞情况也不完全一致。在低频下,电流被迫在相邻细胞下方和之间流动,在这种情况下测得的阻抗与细胞-基质黏附和细胞-细胞紧密连接的特性直接相关。而在高频下,电流才能通过质膜电容耦合,阻抗可以深入了解细胞膜的完整性和介电特性^[29]。

通常实验中为了消除培养基和电极电导率对抗响应的影响,阻抗数据用不含细胞培养基的阻抗进行归一化,可写为归一化阻抗(NI)。

$$NI = \frac{Z_{cell} - Z_{NoCell}}{Z_{NoCell}} \quad (1)$$

其中 Z_{cell} 和 Z_{NoCell} 是相同条件下,芯片中含有和不含细胞系统的阻抗^[30]。

阻抗传感器的灵敏度可以通过以下公式计算^[31]:

$$\text{Sensitivity}(f) = \frac{|Z_{cell}(f)| - |Z_{nocell}(f)|}{Q_{cell}} \quad (2)$$

其中 f 是传感频率, Q_{cell} 是细胞数量。

此外, Zhang 等^[32]提出了一种多频率阻抗测定方法,以提高肿瘤细胞活力评估的稳定性和准确性。并针对电容性和电阻性元件对不同频段的总阻抗的贡献不同问题进行优化。选择 9 个不同频率构建的模型进行阻抗测定,并将最终结果与单频法相比,发现多频法更接近标准终点评估法的结果,具有更高的准确性。

1.2 阻抗在 2D 细胞体系的应用研究

1.2.1 2D 细胞生长、增殖

Chawla 等^[33]开发了一种新的微流体平台,该设备具有多个培养室和多组传感电极,因此能以基于阵列的形式进行组合显微镜和阻抗测量。通过将阻抗测量和高分辨显微镜结合,阻抗测量反映非贴壁细胞群体的生长速率,以及对一系列细胞事件进行长期、高分辨率成像。通过阻抗测量确定所获得的生长速率的变化,并且与使用标准方法观察到的变化相似。此外,与显微镜相比,阻抗评估能够对生长速率进行高通量监测,而不会因光照而对细胞施加额外的应变。

Podunavac 等^[34]也提出了一种具有微生物反应器和集成阻抗传感器的微流体平台,在给定有限的营养物质培养过程中监测细胞生长情况。采用叉指电极进行阻抗传感器检测。该传感器能够在 96 h 培养期内精确检测细胞生长的所有阶段,包括滞后期、指数期、稳定期和死亡期。而 Järvinen 等^[35]开发的有机改性陶瓷微流控平台,集成平面电极,能够在微流体通道中培养并检测 2D 单层细胞。

1.2.2 2D 细胞迁移

Liu 等^[36]开发了一种 Y 形微通道的阻抗微流控芯片,并沿微通道嵌入 16 个电极用于阻抗测量,来定量监测细胞迁移活动。通过微流体构建无损伤伤口,并分别研究在细胞因子、抗癌药物白细胞介素 6 以及阿霉素刺激下的细胞迁移活性。微通道中培养 2D 细胞单层后,通过消化单层细胞来构建伤口边缘。随后在细胞因子和抗癌药物的刺激下进行了细胞迁移的定量阻抗监测。

1.2.3 2D 细胞活力及药物筛选

基于细胞的药物筛选因其能够实现高速、有效、快速的评估而成为主要的筛选模式。然

而,传统基于微孔板体系的高通量筛选,存在细胞培养条件简单、操作费力费时、试剂消耗高等缺点。同时,常用的细胞毒性测定还依赖于各种标记分子,包括噻唑蓝比色法(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)和腺嘌呤核苷三磷酸法(adenosine 5'-triphosphate, ATP)等。这些方法虽然都已在实验室中证明了它们的价值,但几乎所有方法都大量耗时且属于终点评估手段,也难以实现复杂的药物组合筛选。

相比之下,基于阻抗和微流体的测定技术,允许在足够长的时间内连续监测细胞培养物,具有低消耗、高效率、高通量和自动化等优点^[37],为建立高通量细胞筛选提供了高效可靠的技术解决方案^[38-39]。

在一项研究中,Tran等^[40]开发了一种高通量细胞活性检测和药物芯片平台。该平台具有长期稳定性的水凝胶组织结构模型,用来模拟药物扩散;并装载有水凝胶的细胞芯片和细胞基质阻抗传感集成,以应用于高通量、实时细胞活力测定和药物筛选。该芯片可形成沿着水凝胶的药物浓度梯度线,安装多个单独的微电极,记录药物作用下细胞活力引起的阻抗信号变化。通过细胞阻抗的变化,成功地评估了沿通道的扩散过程产生的各种刺激浓度值相对应的细胞毒性。

此外,有研究者提出了一种单通道集成阻抗微流控芯片,可通过计算电极上细胞的黏附强度来评估细胞活性。还可通过阻抗监测微流控芯片中流体的剪切应力对细胞黏附的影响,为细胞在微流控芯片中的长期培养提供一定参考^[41]。

2 3D 细胞阻抗分析

最初,阻抗谱技术集中应用于悬浮液或二维培养物中的细胞研究。近年来,传统 2D 细胞培养模型固有的缺陷越发明显^[42-43],3D 细胞

培养模型因其能更好地保留原始细胞特性,更加接近真实模型,而被广泛应用于各种细胞反应进程研究^[44-45]。

然而,随着 3D 细胞培养的大规模应用,多数监测方法和工具仍然是为 2D 培养系统设计的^[46]。如亮场显微镜是 2D 细胞观察的主要手段,而 3D 培养细胞通常嵌入透明性较低的细胞外基质,不适合使用。另外,虽然终点评估法和荧光显微镜是目前 3D 细胞培养中最常用的工具^[47]。但它们很耗时,而且在大多数情况下,需要损耗细胞样本进行切片和染色,这类手段的广泛使用具有局限性。

有研究表明,阻抗分析方法在 2D 和 3D 细胞培养系统中均有效^[48],即对于单层贴壁细胞和悬浮液中的自由漂浮细胞都有效^[49-50]。随着 3D 细胞培养技术的日趋发展,为细胞提供了生理相关的微环境^[51],ECIS 技术开始应用于 3D 细胞体系。鉴于 3D 细胞模型的复杂程度远远比 2D 细胞模型高,想要进行合理高效的表征,将变得更加困难和耗时。特别是在 3D 结构中观察到的散射效应,由于其厚度阻碍了传统光学技术的使用。阻抗谱可以无创地实时监测 3D 细胞培养物的生理状况,代替光学显微镜或破坏性方法。

2D 细胞培养体系中的阻抗检测,依赖于细胞附着在电极表面。然而,2D 培养由于平面细胞生长的接触抑制现象,导致缺乏维持原位表型所需的细胞-细胞和细胞-基质相互作用,无法模拟生理组织中存在的细胞功能和信号通路^[52]。同时纯化的原代细胞群在 2D 培养时也会失去其表型。这些情况在 3D 细胞培养模型中不会发生,通过将细胞封装在 3D 支架中,允许细胞在各个方向生长,并与周围环境相互作用,从而重建细胞的细胞-细胞和细胞-细胞外基质相互作用,模拟体内的特异性和稳态微环境^[53]。

这种模型可以更好地反映体内细胞行为或药物反应，例如细胞迁移、形态发生和细胞代谢。本节主要总结了适用于 3D 细胞培养的阻抗传感器设计及应用情况。

2.1 阻抗在 3D 细胞体系的基础研究

不同于 2D 细胞培养体系，3D 细胞培养一般需要细胞支架。例如使用琼脂糖凝胶或基质胶进行 3D 细胞培养，两者在组成和特性上有差异，阻抗检测结果也有不同^[54]。

一般而言，单个活细胞因其细胞膜的存在，而被视为非导体。然而当多细胞聚集时，由于细胞间链接的存在，细胞之间可以形成电气通路^[55]。在 3D 细胞培养体系中，施加外部电场时，电流可以在整个凝胶/细胞混合体系内通过。图 3 为一种微槽阻抗传感检测装置原理示意图^[56]。基于此原理，3D 体系中细胞的增殖、迁移以及活力等情况，影响体系内的电气通路继而通过阻抗的变化体现出来。

平面电极应用于 3D 细胞的检测已有报道^[57]。Lei 等^[58]将悬浮于琼脂糖凝胶内的细胞活力通过平面电极阻抗检测进行了简单的量化，也有研究者使用平面型有机电化学晶体管代替平面

电极进行阻抗传感，成功测量了 3D 细胞球的阻抗^[59]。然而，单平面电极由于电场的分布特性，难以对 3D 细胞培养物进行有效的检测。电极对因其能提供更加稳定均匀的电场环境，有利于 3D 细胞培养物的阻抗检测^[60]。目前电极结构主要是微槽电极对和平行电极对^[61]。

为了提高对 3D 细胞培养物的阻抗检测灵敏度，研究者构建了一个带有 4 块嵌入式垂直金板电极的大型矩形培养室，可用于两端和三端(2T 和 3T)测量配置^[62]。通过在电极对的不同组合进行切换，收集 3D 矩形培养室内的空间分布信息，包括灵敏场分布和阻抗测量行为，继而以最合适的空间分辨率来获得 3D 细胞培养物的空间分布信息。这些研究都为 3D 细胞的阻抗测定提供了有效的测量基础。

2.2 阻抗在 3D 细胞体系的应用研究

2.2.1 3D 细胞生长、增殖

早在 2008 年，Kloß 等^[63]为了对 3D 细胞球体培养物进行非侵入式实时监测，设计制造了集成电极的微腔阵列芯片。该传感器芯片具有 15 个单独的方形微腔，每个微腔包含 4 个金电极，用于阻抗谱分析。而在最近的一项研究中，

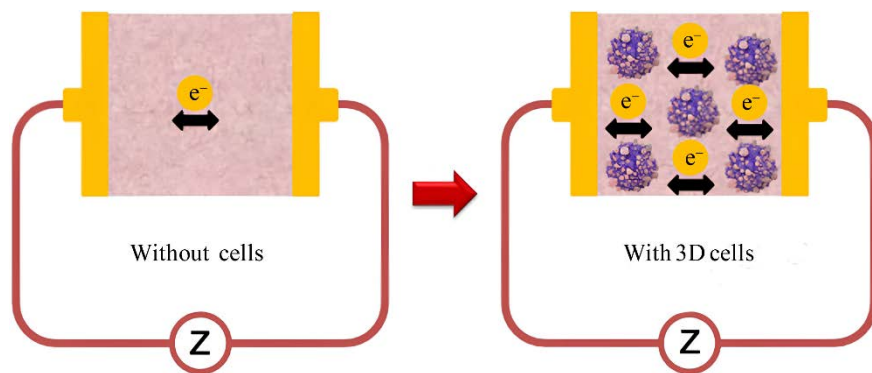


图 3 细胞凝胶混合体系阻抗传感器检测原理示意图^[56] 在垂直电极对施加的电场作用下，有细胞和无细胞体系中电气通路

Figure 3 Schematic diagram of the detection principle of impedance sensor in cell gel mixed system^[56]. Electrical pathways in cellular and cell-free systems under the action of an electric field applied by a vertical electrode pair.

Pan 等^[56]开发了一种微槽阻抗传感器。3D 细胞被捕获在相对壁上带有金电极的微槽中, 以进行原位阻抗测量。活细胞数量的变化引起整个细胞/基质胶构建体的阻抗大小成反比的变化, 并反映了 3D 细胞的增殖和凋亡。

2.2.2 3D 细胞迁移

细胞迁移过程是高度集成多步骤分子过程后的复杂细胞反应, 会导致癌症转移、组织修复和再生和伤口愈合等。细胞迁移研究对于理解细胞内潜在的分子机制至关重要。同时, 癌症死亡率高居不下的一个重要原因就是肿瘤细胞通过 3D 组织的迁移^[64]。

然而, 如何量化 3D 细胞迁移/侵袭的时空动态仍具有挑战性。基于微流控平台的 3D 细胞培养, 能够更接近地模拟复杂的肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME), 具有生理和病理相关的生物和生物物理信息, 弥合传统 2D 体外细胞培养和动物模型之间的差距^[65]。同时结合阻抗监测具有非侵入性、实时动态监测的特性, 能较好地分析 3D 细胞的侵袭或迁移过程。

Huang 等^[66]开发了一种集成阻抗测量的微流体装置, 该装置由 2 个带有连接微通道和嵌入式阻抗测量系统的储液器组成。微通道内充满基质胶来模拟体内细胞存在的基底膜环境。在微通道的上表面和下表面间隔一定距离, 集成有 5 对相对平行电极, 用于量化肿瘤细胞的迁移过程。在测试条件下, 细胞从一个储液器被引导沿着微通道迁移。当细胞到达每一对相对电极之间时, 电极之间的阻抗增加, 以指示细胞存在的特定位置。因此可以通过检测迁移距离和时间, 得到迁移速率。研究者证明了在白介素 6 的细胞外刺激下细胞迁移的阻抗定量。而且与传统的 Transwell 检测相比, 该方

法拥有更可观的灵敏度。

2.2.3 3D 细胞活力、药物筛选

化疗治疗产生耐药性是对抗癌症的主要挑战。如何根据肿瘤细胞的化疗耐药性, 来快速识别正确药物, 成为一种亟待发展的技术。集成微流控阻抗传感的 3D 细胞培养综合分析, 有高通量、高灵敏度、较高准确率、低成本等优势, 能快速评估一系列药物对肿瘤细胞的作用, 实现更精准化寻找到适合治愈不同患者的药物。

与传统 2D 细胞培养相比, 3D 细胞模型可以提供与人体生理条件相似的微环境^[67], 提高了药物测试的准确性, 而被广泛用于癌症领域的相关研究, 如抗肿瘤药物的筛选^[68]。有研究表明, 通过阻抗监测药物化疗毒性产生的数据, 通常与传统细胞毒性终点测定的结果一致^[69-71]。

Lei 等^[72]开发了一种具有 6 个腔室的微流控芯片(图 4A), 并在每个培养室内部嵌入一对垂直电极用于阻抗测量。随后将人口腔癌细胞封装在琼脂糖水凝胶支架中, 在培养室中连续灌注培养。并监测灌注培养下的细胞反应, 即细胞增殖和细胞活力。实验中施加不同浓度的药物刺激, 阻抗信号也随之发生不同程度的变化, 结合终点评估结果验证。结果显示阻抗测量和终点测定之间存在良好的相关性。

Pan 等^[73]开发了一种 3D 细胞基质微流体阻抗传感装置(图 4B), 用于实时、非侵入性监测 3D 细胞活力和药物敏感性。该装置由一对垂直的金电极组成, 利用交流模式来评估 3D 细胞球与基质胶构建体的阻抗, 构建了 8 通道检测系统。该装置能够在微流体室内培养三维癌细胞, 通过测量垂直电极之间的阻抗变化来反映细胞活动情况, 可用于评估 3D 培养肿瘤细胞的抗癌药物疗效。

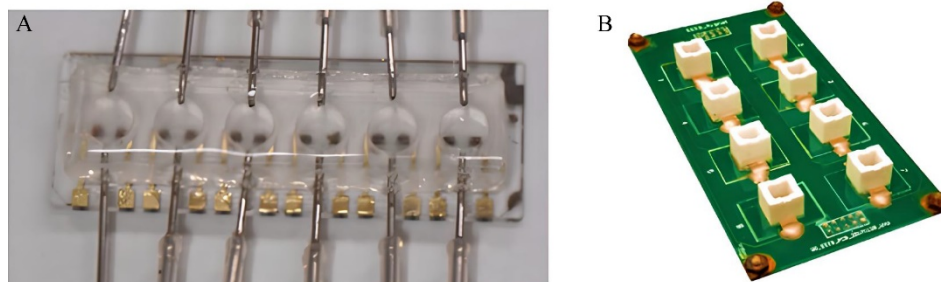


图4 用于3D细胞活力检测的阻抗芯片^[72-73] A: Lei等^[72]开发的6腔室集成电极微流控芯片. B: Pan等^[73]开发具有8通道的微流体阻抗传感装置

Figure 4 Impedance chip for 3D cell viability detection^[72-73]. A: The 6-chamber integrated electrode microfluidic chip developed by Lei et al. B: A microfluidic impedance measuring device with eight channels was created by Pan et al.

3 总结与展望

与微流体技术集成的阻抗生物传感器是理解微观和亚微观生物体中电信息的强大工具。集成传感器具有提高灵敏度、减少试剂消耗、缩短分析时间、缩小仪器尺寸和操作简单等关键特点。微流控阻抗传感平台,可在无标记、非侵入性的条件下,实现实时、高效的生物测定。其突出特点是与高通量格式的兼容性,并支持高时间分辨率的实时测量,从而可以追踪动力学因素。

当前,阻抗传感技术因其操作简便、高自动化等特点,已广泛应用于各类生物检测分析。除了应用于细胞生长、增殖、迁移以及药物筛选等方面,有研究报道,阻抗还可用于从培养物中实时获取细胞浓度^[74],以及进行细胞密度情况的相关检测^[75]。

基于阻抗的生物传感器也已被开发用于检测微生物等病原物当中,如金黄色葡萄球菌^[76]、阿尔法疱疹病毒^[77]等。同时,此类传感器也被用作能够检测脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)杂交的基因传感器以及蛋白质传感器。如检测选择性DNA或蛋白质生物标志物,

以进行早期疾病的诊断和治疗^[78]。此外,由于阻抗技术对细胞密度、细胞-基质黏附以及形态变化敏感,因而其作为一种无标记测定工具,对药物发现的应用前景可观^[79]。

当前,基于3D细胞的阻抗微流体平台,因3D细胞的组织特性,可以更准确地进行药物测试,应用潜力巨大。但这些芯片,往往停留在较低数量的培养应用中,通常是10个以内,且少有能同时进行多浓度梯度筛选的设计。为了提高筛选效率,进行高通量的候选药物测试,采用简单、高效且便捷的非终点评估法,如阻抗传感分析,同时设计出具有多浓度梯度,高通量特性的微流体平台尤为关键。

在此前研究中,本课题组成功使用阻抗分析了细胞及其屏障完整性问题^[80]。目前正在探索集成阻抗电极微流控芯片的设计和制作相关工作,以及进行阻抗传感技术应用于高通量细胞毒性检测等方面的研究工作。

总而言之,阻抗生物传感器的使用相比传统检测手段(如ELISA),不需要训练有素的技术人员和实验室设施,自动化程度高,能实现快速高效准确的检测。

然而,基于阻抗的技术广泛应用仍存在局

限性, 包括对影响阻抗的参数理解不完善, 尤其是在 3D 细胞模型中, 电极集成的成本相对较高。此外, 由于 ECIS 的理论源于电磁理论且相当复杂, 因此需要多学科交叉领域的人才交流沟通等, 这些因素都限制了阻抗技术在生物细胞应用方面的进一步发展。

微纳技术的发展尤其是在阻抗传感应用方面, 微电极的微细加工和化学物质的键合都是目前面临的难点问题, 这些都对阻抗集成微流控系统进行标准化、规模化、产业化发展提出了挑战。未来阻抗微流控芯片技术有望在提高临床医疗水平、推动医疗产业健康发展发挥出更大的潜力。

REFERENCES

- [1] GUPTA N, RENUGOPALAKRISHNAN V, LIEPMANN D, PAULMURUGAN R, MALHOTRA BD. Cell-based biosensors: recent trends, challenges and future perspectives[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2019, 141: 111435.
- [2] HUNG YH, CHIU WC, FUH SR, LAI YT, TUNG TH, HUANG CC, LO CM. ECIS based electric fence method for measurement of human keratinocyte migration on different substrates[J]. *Biosensors*, 2022, 12(5): 293.
- [3] DAZA P, OLMO A, CAÑETE D, YÚFERA A. Monitoring living cell assays with bio-impedance sensors[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 176: 605-610.
- [4] GROSSI M, RICCÒ B. Electrical impedance spectroscopy (EIS) for biological analysis and food characterization: a review[J]. *Journal of Sensors and Sensor Systems*, 2017, 6(2): 303-325.
- [5] ASHOORIRAD M, BAGHBANI R, FALLAH A, JOOYAN N, GAFFARI M. A collagen thin film-based bioimpedance sensor for cell proliferation rate assessment[J]. *IEEE Sensors Journal*, 2022, 22(1): 61-67.
- [6] GU AY, KHO DT, JOHNSON RH, GRAHAM ES, O'CARROLL SJ. *In vitro* wounding models using the electric cell-substrate impedance sensing (ECIS)-z0 technology[J]. *Biosensors*, 2018, 8(4): 90.
- [7] YANG JM, CHEN SW, YANG JH, HSU CC, WANG JS. A quantitative cell modeling and wound-healing analysis based on the electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) method[J]. *Computers in Biology and Medicine*, 2016, 69: 134-143.
- [8] YAMAGUCHI E, YAO J, AYMOND A, CHRISEY DB, NIEMAN GF, BATES JHT, GAVER DP. Electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) as a platform for evaluating barrier-function susceptibility and damage from pulmonary atelectrauma[J]. *Biosensors*, 2022, 12(6): 390.
- [9] FENG YX, CHENG Z, CHAI HC, HE WH, HUANG L, WANG WH. Neural network-enhanced real-time impedance flow cytometry for single-cell intrinsic characterization[J]. *Lab on a Chip*, 2022, 22(2): 240-249.
- [10] SALAHI A, HONRADO C, MOORE J, ADAIR S, BAUER TW, SWAMI NS. Supervised learning on impedance cytometry data for label-free biophysical distinction of pancreatic cancer cells versus their associated fibroblasts under gemcitabine treatment[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2023, 231: 115262.
- [11] WU Y, ZHOU YY, QIN XC, LIU YL. From cell spheroids to vascularized cancer organoids: microfluidic tumor-on-a-chip models for preclinical drug evaluations[J]. *Biomicrofluidics*, 2021, 15(6): 061503.
- [12] LIM W, PARK S. A microfluidic spheroid culture device with a concentration gradient generator for high-throughput screening of drug efficacy[J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3355.
- [13] HU N, FANG JR, ZOU L, WAN H, PAN YX, SU KQ, ZHANG X, WANG P. High-efficient and high-content cytotoxic recording *via* dynamic and continuous cell-based impedance biosensor technology[J]. *Biomedical Microdevices*, 2016, 18(5): 94.
- [14] QIU YL, LIAO R, ZHANG X. Real-time monitoring primary cardiomyocyte adhesion based on electrochemical impedance spectroscopy and electrical cell-substrate impedance sensing[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(4): 990-996.
- [15] KULKARNI MB, AYACHIT NH, AMINABHAVI TM. Biosensors and microfluidic biosensors: from fabrication to application[J]. *Biosensors*, 2022, 12(7): 543.
- [16] CHI CW, AHMED AR, DERELI-KORKUT Z, WANG SH. Microfluidic cell chips for high-throughput drug screening[J]. *Bioanalysis*, 2016, 8(9): 921-937.
- [17] BALAGADDÉ FK, YOU LC, HANSEN CL, ARNOLD FH, QUAKE SR. Long-term monitoring of bacteria undergoing programmed population control in

- a microchemostat[J]. *Science*, 2005, 309(5731): 137-140.
- [18] PARK SE, GEORGESCU A, HUH D. Organoids-on-a-chip[J]. *Science*, 2019, 364(6444): 960-965.
- [19] YAN JS, LI ZW, GUO JC, LIU S, GUO JH. Organ-on-a-chip: a new tool for *in vitro* research[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2022, 216: 114626.
- [20] MEYVANTSSON I, BEEBE DJ. Cell culture models in microfluidic systems[J]. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 2008, 1: 423-449.
- [21] TERRY SC, JERMAN JH, ANGELL JB. A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer[J]. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 1979, 26(12): 1880-1886.
- [22] MANZ A, GRABER N, WIDMER HM. Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1990, 1(1/6): 244-248.
- [23] GIAEVER I, KEESE CR. Monitoring fibroblast behavior in tissue culture with an applied electric field[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81(12): 3761-3764.
- [24] GIAEVER I, KEESE CR. A morphological biosensor for mammalian cells[J]. *Nature*, 1993, 366(6455): 591-592.
- [25] FUCHS S, JOHANSSON S, TJELL AØ, WERR G, MAYR T, TENJE M. In-line analysis of organ-on-chip systems with sensors: integration, fabrication, challenges, and potential[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2021, 7(7): 2926-2948.
- [26] LEI LJ, MA B, XU CT, LIU H. Emerging tumor-on-chips with electrochemical biosensors[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2022, 153: 116640.
- [27] RAMASAMY S, BENNET D, KIM S. Drug and bioactive molecule screening based on a bioelectrical impedance cell culture platform[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2014, 9: 5789-5809.
- [28] ZHANG XD, WANG W, NORDIN AN, LI F, JANG S, VOICULESCU I. The influence of the electrode dimension on the detection sensitivity of electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) and its mathematical modeling[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 247: 780-790.
- [29] WEGENER J, KEESE CR, GIAEVER I. Electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) as a noninvasive means to monitor the kinetics of cell spreading to artificial surfaces[J]. *Experimental Cell Research*, 2000, 259(1): 158-166.
- [30] PRADHAN R, MANDAL M, MITRA A, DAS S. Monitoring cellular activities of cancer cells using impedance sensing devices[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 193: 478-483.
- [31] WANG L, WANG H, WANG L, MITCHELSON K, YU ZY, CHENG J. Analysis of the sensitivity and frequency characteristics of coplanar electrical cell-substrate impedance sensors[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2008, 24(1): 14-21.
- [32] ZHANG YC, WEI MJ, ZHANG F, GUO JJ. High-accuracy gastric cancer cell viability evaluation based on multi-impedance spectrum characteristics[J]. *Heliyon*, 2023, 9(4): e14966.
- [33] CHAWLA K, BÜRCEL SC, SCHMIDT GW, KALTENBACH HM, RUDOLF F, FREY O, HIERLEMANN A. Integrating impedance-based growth-rate monitoring into a microfluidic cell culture platform for live-cell microscopy[J]. *Microsystems & Nanoengineering*, 2018, 4: 8.
- [34] PODUNAVAC I, KNEŽIĆ T, DJISALOV M, OMEROVIC N, RADOVIC M, JANJUŠEVIĆ L, STEFANOVIC D, PANIC M, GADJANSKI I, RADONIC V. Mammalian cell-growth monitoring based on an impedimetric sensor and image processing within a microfluidic platform[J]. *Sensors*, 2023, 23(7): 3748.
- [35] JÄRVINEN P, BONABI A, JOKINEN V, SIKANEN T. Simultaneous culturing of cell monolayers and spheroids on a single microfluidic device for bridging the gap between 2D and 3D cell assays in drug research[J]. *Advanced Functional Materials*, 2020, 30(19): 2000479.
- [36] LIU L, XIAO X, LEI KF, HUANG CH. Quantitative impedimetric monitoring of cell migration under the stimulation of cytokine or anti-cancer drug in a microfluidic chip[J]. *Biomicrofluidics*, 2015, 9(3): 034109.
- [37] HEILEMAN K, DAOUD J, TABRIZIAN M. Dielectric spectroscopy as a viable biosensing tool for cell and tissue characterization and analysis[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, 49: 348-359.
- [38] DU XB, KONG JL, LIU Y, XU QM, WANG KQ, HUANG D, WEI Y, CHEN WY, MAO HY. The measurement and analysis of impedance response of HeLa cells to distinct chemotherapy drugs[J]. *Micromachines*, 2021, 12(2): 202.
- [39] VIT FF, NUNES R, WU YT, PRADO SOARES MC, GODOI N, FUJIWARA E, CARVALHO HF, GAZIOLA

- deLa TORRE L. A modular, reversible sealing, and reusable microfluidic device for drug screening[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1185: 339068.
- [40] TRAN TB, CHO S, MIN JH. Hydrogel-based diffusion chip with electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) integration for cell viability assay and drug toxicity screening[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, 50: 453-459.
- [41] WEI MJ, ZHANG RB, ZHANG F, ZHANG YC, LI GX, MIAO RJ, SHAO SH. An evaluation approach of cell viability based on cell detachment assay in a single-channel integrated microfluidic chip[J]. *ACS Sensors*, 2019, 4(10): 2654-2661.
- [42] DE S, SINGH N. Advancements in three dimensional *in-vitro* cell culture models[J]. *Chemical Record*, 2022, 22(9): e202200058.
- [43] URZI O, GASPARRO R, COSTANZO E, de LUCA A, GIAVARESI G, FONTANA S, ALESSANDRO R. Three-dimensional cell cultures: the bridge between *in vitro* and *in vivo* models[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(15): 12046.
- [44] TEVLEK A, KECILI S, OZCELIK OS, KULAH H, TEKIN HC. Spheroid engineering in microfluidic devices[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(4): 3630-3649.
- [45] ZINGALES V, ESPOSITO MR, TORRIERO N, TARONCHER M, CIMETTA E, RUIZ MJ. The growing importance of three-dimensional models and microphysiological systems in the assessment of mycotoxin toxicity[J]. *Toxins*, 2023, 15(7): 422.
- [46] HABANJAR O, DIAB-ASSAF M, CALDEFIE-CHEZET F, DELORT L. 3D cell culture systems: tumor application, advantages, and disadvantages[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12200.
- [47] LI S, YANG KF, CHEN XY, ZHU XL, ZHOU HY, LI P, CHEN Y, JIANG Y, LI TT, QIN X, YANG H, WU CH, JI B, YOU FM, LIU YY. Simultaneous 2D and 3D cell culture array for multicellular geometry, drug discovery and tumor microenvironment reconstruction[J]. *Biofabrication*, 2021, 13(4): 045013.
- [48] de LEON SE, CLEUREN L, OO ZY, STODDART PR, McARTHUR SL. Extending in-plane impedance measurements from 2D to 3D cultures: design considerations[J]. *Bioengineering*, 2021, 8(1): 11.
- [49] TANG DZ, JIANG L, TANG WL, XIANG N, NI ZH. Cost-effective portable microfluidic impedance cytometer for broadband impedance cell analysis based on viscoelastic focusing[J]. *Talanta*, 2022, 242: 123274.
- [50] HUANG XC, LIANG F, HUANG BX, LUO HY, SHI J, WANG L, PENG J, CHEN Y. On-chip real-time impedance monitoring of hiPSC-derived and artificial basement membrane-supported endothelium[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2023, 235: 115324.
- [51] RIVNAY J, RAMUZ M, LELEUX P, HAMA A, HUERTA M, OWENS RM. Organic electrochemical transistors for cell-based impedance sensing[J]. *Applied Physics Letters*, 2015, 106(4): 043301.
- [52] YIN XL, MEAD BE, SAFAEE H, LANGER R, KARP JM, LEVY O. Engineering stem cell organoids[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 18(1): 25-38.
- [53] SARASWATHIBHATLA A, INDANA D, CHAUDHURI O. Cell-extracellular matrix mechanotransduction in 3D[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2023, 24: 495-516.
- [54] de LEÓN SE, PUPOVAC A, McARTHUR SL. Three-dimensional (3D) cell culture monitoring: opportunities and challenges for impedance spectroscopy[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2020, 117(4): 1230-1240.
- [55] TAGHIAN T, NARMONEVA DA, KOGAN AB. Modulation of cell function by electric field: a high-resolution analysis[J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2015, 12(107): 20150153.
- [56] PAN YX, JIANG DM, GU CL, QIU Y, WAN H, WANG P. 3D microgroove electrical impedance sensing to examine 3D cell cultures for antineoplastic drug assessment[J]. *Microsystems & Nanoengineering*, 2020, 6: 23.
- [57] INAL S, HAMA A, FERRO M, PITSALIDIS C, OZIAT J, IANDOLO D, PAPPAM AM, HADIDA M, HUERTA M, MARCHAT D, MAILLEY P, OWENS RM. Conducting polymer scaffolds for hosting and monitoring 3D cell culture[J]. *Advanced Biosystems*, 2017, 1(6): 1700052.
- [58] LEI KF, LIU TK, TSANG NM. Towards a high throughput impedimetric screening of chemosensitivity of cancer cells suspended in hydrogel and cultured in a paper substrate[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2018, 100: 355-360.
- [59] CURTO VF, FERRO MP, MARIANI F, SCAVETTA E, OWENS RM. A planar impedance sensor for 3D spheroids[J]. *Lab on a Chip*, 2018, 18(6): 933-943.
- [60] GRIMNES S, MARTINSEN ØG. History of bioimpedance and bioelectricity[M]//*Bioimpedance and Bioelectricity Basics*. Amsterdam: Elsevier, 2015: 495-504.

- [61] GERASIMENKO T, NIKULIN S, ZAKHAROVA G, POLOZNIKOV A, PETROV V, BARANOVA A, TONEVITSKY A. Impedance spectroscopy as a tool for monitoring performance in 3D models of epithelial tissues[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 7: 474.
- [62] CANALI C, HEISKANEN A, MUHAMMAD HB, HØYUM P, PETERSEN FJ, HEMMINGSEN M, WOLFF A, DUFVA M, MARTINSEN ØG, EMNÉUS J. Bioimpedance monitoring of 3D cell culturing: complementary electrode configurations for enhanced spatial sensitivity[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2015, 63: 72-79.
- [63] KLOß D, FISCHER M, ROTHERMEL A, SIMON JC, ROBITZKI AA. Drug testing on 3D *in vitro* tissues trapped on a microcavity chip[J]. *Lab on a Chip*, 2008, 8(6): 879-884.
- [64] CASSETTA L, POLLARD JW. Targeting macrophages: therapeutic approaches in cancer[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2018, 17: 887-904.
- [65] MEHTA P, RAHMAN Z, TEN DIJKE P, BOUKANY PE. Microfluidics meets 3D cancer cell migration[J]. *Trends in Cancer*, 2022, 8(8): 683-697.
- [66] HUANG CH, LEI KF. Impedimetric quantification of migration speed of cancer cells migrating along a matrigel-filled microchannel[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1121: 67-73.
- [67] RO J, KIM J, CHO YK. Recent advances in spheroid-based microfluidic models to mimic the tumour microenvironment[J]. *The Analyst*, 2022, 147(10): 2023-2034.
- [68] ANTUNES J, GASPAR VM, FERREIRA L, MONTEIRO M, HENRIQUE R, JERÓNIMO C, MANO JF. In-air production of 3D co-culture tumor spheroid hydrogels for expedited drug screening[J]. *Acta Biomaterialia*, 2019, 94: 392-409.
- [69] ABD TALIB FNA, MARZUKI M, HOE SLL. Analysis of NK-92 cytotoxicity in nasopharyngeal carcinoma cell lines and patient-derived xenografts using impedance-based growth method[J]. *Heliyon*, 2023, 9(7): e17480.
- [70] HUANG CC, CHIU SC, CHAO SC, LIAO HY, LEE SP, HUANG CC, CHO DY. Real-time monitoring of the cytotoxic and antimetastatic properties of cannabidiol in human oral squamous cell carcinoma cells using electric cell-substrate impedance sensing[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(24): 15842.
- [71] XIAO CD, LACHANCE B, SUNAHARA G, LUONG JHT. Assessment of cytotoxicity using electric cell-substrate impedance sensing: concentration and time response function approach[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74(22): 5748-5753.
- [72] LEI KF, WU MH, HSU CW, CHEN YD. Real-time and non-invasive impedimetric monitoring of cell proliferation and chemosensitivity in a perfusion 3D cell culture microfluidic chip[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 51: 16-21.
- [73] PAN YX, HU N, WEI XW, GONG L, ZHANG B, WAN H, WANG P. 3D cell-based biosensor for cell viability and drug assessment by 3D electric cell/matrigel-substrate impedance sensing[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2019, 130: 344-351.
- [74] SERRANO JA, PÉREZ P, DAZA P, HUERTAS G, YÚFERA A. Predictive cell culture time evolution based on electric models[J]. *Biosensors*, 2023, 13(6): 668.
- [75] WARREN MA, SHAKOURI A, PACHECO-PEÑA V, HALLAM T. Development of a novel design of microfluidic impedance cytometry for improved sensitivity and cell identification[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(21): 18882-18890.
- [76] ESTRADA-LEYPON O, MOYA A, GUIMERA A, GABRIEL G, AGUT M, SANCHEZ B, BORROS S. Simultaneous monitoring of *Staphylococcus aureus* growth in a multi-parametric microfluidic platform using microscopy and impedance spectroscopy[J]. *Bioelectrochemistry*, 2015, 105: 56-64.
- [77] PENNINGTON MR, van de WALLE GR. Electric cell-substrate impedance sensing to monitor viral growth and study cellular responses to infection with alphaherpesviruses in real time[J]. *mSphere*, 2017, 2(2): e00039-e00017.
- [78] JAVANMARD M, DAVIS RW. A microfluidic platform for electrical detection of DNA hybridization[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011, 154(1): 22-27.
- [79] GAMAL W, WU H, UNDERWOOD I, JIA J, SMITH S, BAGNANINCHI PO. Impedance-based cellular assays for regenerative medicine[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2018, 373(1750): 20170226.
- [80] WANG Y, ZHANG XL, ZHUANG WY, YU YL, SUN XR, WANG H, LI FZ, LI QY. Investigation of the uptake and transport of two novel camptothecin derivatives in caco-2 cell monolayers[J]. *Molecules*, 2022, 27(12): 3669.

(本文责编 郝丽芳)