

Optimization Design of Electrical Cell-Substrate Impedance Sensor and Application to Toxicant Monitoring*

HU Zhaoying¹, LIU Qingjun^{1,2}, ZHANG Yuanfan¹, ZHANG Wei¹,
LI Rong¹, WANG Ping^{1,2*}

(1. Biosensor National Special Laboratory, Department of Biomedical Engineering, Key Laboratory of Biomedical Engineering of National Education Ministry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; 2. State Key Laboratory of Transducer Technology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China)

Abstract: A continuous monitoring technique based on electrical cell-substrate impedance sensor was demonstrated for measuring physiological changes of endothelial cell line ECV304. The response mainly reflected the resistant changes as a result of cell adhesion and spreading. Cell impedance as a frequency and time function was analyzed based on the interdigitated electrode model to extract some guidelines for optimization design of impedance sensor. Finally, preliminary experiments were carried out to analyze cytotoxicity of toxicant on the vessel cells by monitoring the impedance time functions. The results demonstrated this sensor to be a rapid, online, label-free approach on monitoring toxicant.

Key words: cell-based biosensor; frequency characterization of interdigitated electrodes; electrical cell substrate impedance sensing; toxicant monitoring

EEACC: 7230J

细胞阻抗传感器优化设计及其在毒素监测中的应用*

胡朝颖¹, 刘清君^{1,2}, 张远帆¹, 张威¹, 李蓉¹, 王平^{1,2*}

(1. 浙江大学生物传感器国家专业实验室, 生物医学工程教育部重点实验室, 生物医学工程与仪器科学学院, 杭州 310027; 2. 中国科学院, 传感技术联合国家重点实验室, 上海 200050)

摘要: 介绍我们设计的微结构细胞阻抗传感器, 采用微电子加工技术在硅基底上制作了以叉指结构金电极为工作电极的传感芯片, 将脐静脉内皮细胞系 ECV304 培养和固定在器件上, 进行连续的细胞阻抗监测。研究细胞阻抗随频率和时间改变的定量关系。结合细胞贴附前后的叉指电极等效电路模型, 进一步分析细胞贴附对阻抗变化的影响, 给出细胞阻抗传感器的优化设计方法。最后, 采用该细胞传感器对有毒毒素进行实验分析, 分析毒素对哺乳动物血管的毒性作用, 初步的实验结果表明, 该设计的细胞阻抗传感器具有实时无标记快速检测的优点, 可应用于毒素监测等生物医学领域。

关键词: 细胞传感器; 叉指电极频率特性; 细胞阻抗传感; 细胞毒素检测

中图分类号: TP212.3

文献标识码: A

文章编号: 1004-1699(2010)03-0291-06

细胞贴附是细胞生长、迁移、细胞间连接形成、代谢、分裂、分化和凋亡等组织或肿瘤形成过程的初始步骤。无论研究细胞外基质, 还是生物材料改性与组织移植, 细胞黏附性是一个非常重要的参数。伴随着细胞黏附和伸展, 细胞会启动更复杂的过程以达到在基质上的某种形态分布。细胞在生长增殖过程中会受到外部环境和化学分子的调控, 以往的细胞测试方法都是基于终点测验, 不能提供实时监测细胞状态的变化。因此, 拥有一种在线实时无标记的方法是非常有利的。在过去的研究中, 评估药

品的药理和毒理需要对动物整体进行测试, 实验十分昂贵和繁琐。细胞阻抗传感器的出现大大改善了这种状况, 仅仅利用一定量体外培养的细胞, 在传感器上对细胞活性状态变化进行检测便可实现快速、高通量的药物筛选。基于细胞阻抗传感器的药效测试, 在药物筛选和临床诊断方面可以发挥巨大的作用, 不仅可以通过细胞的响应来确定药物对细胞的效用, 而且还可以确定对药物响应的细胞特异性。

ECIS (Electric Cell-Substrate Impedance Sensing) 是测量由于细胞形态变化、细胞移动或者细胞间相

互接触而引起细胞层电阻变化的技术。细胞电阻抗传感器为研究细胞与基质间的静态和动态相互作用、生物材料生物相容性、药物毒性测试、细胞形态变化等提供了一种新的实验技术。Giaever 和 Keese 首次发表示范如何用阻抗测量研究细胞功能^[1]。他们采用哺乳动物的成纤维细胞,用金电极(2 cm^2 对电极和 $3 \times 10^{-4}\text{ cm}^2$ 工作电极)在培养皿进行了细胞培养。用一个带有函数发生器的锁相放大器和一个相位敏感探测器搭建测试电路,并用电阻限制电流约为 1 mA ,在 4 kHz 正弦波小信号下测量细胞与基底阻抗。Kovacs^[2]也利用了微电极阵列定量测量了细胞膜完整性、细胞伸展、活性和生长。他们采用的电极都是采用面积较小的微电极作为工作电极进行阻抗测量。小电极的缺点是细胞不容易分布在电极上,需要播种大密度的细胞以确保细胞能附着在电极表面。由于电极面积占基底总面积的比例较小,因此小电极测量到的阻抗值只能反映一小部分细胞的状态,容易造成实验组之间的差异。

Wolf 研究组也提出了基于叉指电极 (Interdigitated Electrodes, IDEs) 的细胞阻抗测量方法作为集成细胞培养系统^[3], PhysioControlMicrosystem^[4] 和细胞监测系统^[5] 的一部分,用于细胞动力学的多参数检测。Solly 等人也将基于叉指电极的细胞电阻抗测量系统应用于各类细胞实验^[6]。叉指电极能覆盖基底大部分面积,因此大大增加了有效测量细胞数目。无论接种的细胞数目多少,都能保证细胞以一定得概率落在电极上,产生有效阻抗。同时叉指电极利于微型化,为其在药物或毒素的高通量应用奠定了基础。由于叉指电极结构较典型的 ECIS 电极结构复杂,因此其电极模型和频谱特征的分析没有较为统一明确的定论^[7-9]。

本文利用微加工工艺在硅基底上制作了叉指微

电极,结合叉指电极等效电路模型分析了内皮细胞在体外培养的阻抗频谱特性,并提出了细胞阻抗传感器的设计原则。连续监测了细胞贴附伸展过程以及毒性物质对细胞的毒性作用过程。

1 理论分析

细胞膜被认为是高容值、低电导的一个复杂结构,细胞膜主要是由磷脂双分子层构成的,其厚度为 7 nm 左右,细胞通过改变膜的通透性来控制其内部环境,细胞膜的破坏会导致细胞死亡。磷脂双分子层的导电性很低,上面分布着许多各种类型的通道,水分子和离子都只能通过特殊通道进出,膜电导率为 10^{-6} S/m 数量级。水化作用在细胞膜表面形成一层双电层,使整个细胞带有一定的静电荷。由于细胞膜很薄,其具有较高的电容值,范围大概为 $1\text{ }\mu\text{F/cm}^2$ ^[10]。

在细胞贴附过程中,细胞先与电极发生物理接触,然后通过与胞外基质形成蛋白连接,如图 1 所示的黏着斑是细胞与电极结合的位点,黏着斑只占细胞贴附面积中的一小部分^[11]。随着细胞逐渐生长分裂,细胞之间开始互相接触并产生连接。细胞改变了从电极流出的电流通路。当频率较低时,电流主要从细胞与电极间隙流过并且从细胞旁侧流出,这时所测的阻抗能够反映细胞与电极的贴附紧密程度和细胞之间的连接;当频率较高时,电流能够穿透细胞膜及基质流出,此时测得的阻抗能反映细胞内部的状态及膜上的变化。电极细胞膜受体与其配体的相互作用以及其他外部物理、化学、生物等因素对细胞代谢和细胞骨架结构产生影响,从而改变细胞的形态,而细胞形态的变化可以反应在阻抗的变化上,ECIS 就是通过检测这些阻抗变化从而得到细胞对这些因素的响应信息。

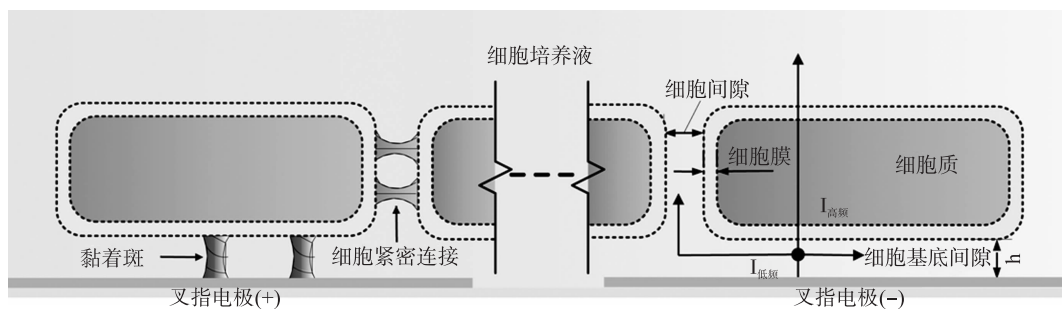


图1 细胞在叉指电极上贴附原理图

Giaever 和 Keese 建立了一个基于电极电流流向及分布的数学解析模型^[12],引入了三个参数 h , R_b , α 来定量描述细胞贴附、迁移以及细胞间的紧密程度。除了数学解析模型之外,Wegener 利用 R 和

C 并联的等效电路对数据进行分析^[13]。后来他在等效电路中引入了常相位角元件 (Constant Phase Element, CPE) 来更精确地描述电极的双电层^[14]。随后,Cho 又将 CPE 用于表征细胞膜阻抗^[15]。

在上述研究的基础上,本文提出了平行叉指电极的等效电路(图 2)。为了有效分析电极及细胞覆盖电极的等效电路,这里暂不考虑由于测试系统带来的寄生电阻和电容,这对于微波频段以下(10 MHz)的阻抗测量不会造成很大影响。未贴附细胞的单个叉指电极对可以用如图 2(a)的等效电路表示,每个电极对有两个等效分支构成,每个分支由相应的双电层电容 C_D 和溶液电阻 R_S 构成,由于一般培养液不包含氧化还原对,因此等效电路中也不考虑法拉第回路。假设叉指电极有 N 个分支,则它们的总阻抗可以用公式 1 表示:

$$Z_{\text{电极}}(f) = 2(R_S + (j2\pi f C_D)^{-1})N^{-1} \quad (1)$$

该等效电路的特征频率如公式 2 所示,

$$f_{\text{低频-电极}} \approx \frac{1}{2\pi R_S C_D} \quad (2)$$

当细胞贴附生长在电极上时,这时电极就成为细胞覆盖的电极,等效电路也发生了改变,如图 2(b)所示。其中 C_{cell} 代表细胞膜电容, R_{cell} 代表贴附细胞之间形成连接的电阻效应,贴附细胞是通过黏着斑与基底形成连接,因此细胞与基底之间存在 10 ~ 20 nm 的,充满着培养液的空隙。可以用 R_{gap} 和 C_{gap} 分别代表该间隙的电阻效应和电容效应。所以细胞覆盖的电极阻抗可以用公式 3 表示:

$$Z_{\text{细胞-电极}}(f) = \{ Z_{\text{电极}}(f) + 2[R_{\text{gap}}^{-1} + (j2\pi f C_{\text{gap}})^{-1}]^{-1} + 2[R_{\text{cell}}^{-1} + (j2\pi f C_{\text{cell}})^{-1}]^{-1} \} N^{-1} \quad (3)$$

该等效电路的特征频率如公式 4 所示,

$$f_{\text{低频-细胞}} \approx \frac{1}{2\pi(R_S + R_{\text{cell}} + R_{\text{gap}})C_D} \quad (4)$$

由于图 2(b)等效电路中包含的元件较多,不利于分析,因此可以将细胞贴附电极后对电流产生的效应等效为电容因素和电阻因素综合效应的结果,分别用 CPE_m 和 R_e 表示,如图 2(c)所示。由于双电层电容和膜电容的阻抗值都会随着频率的上升而下降,但具有一定的非线性,因此采用常相位角代替更能接近真实情况。

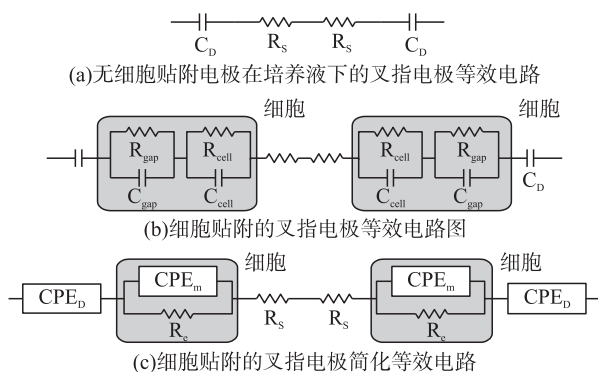


图 2 细胞贴附前后等效电路图

2 材料与方法

2.1 叉指电极芯片设计与制作

叉指电极是由许多相互独立的叉指电极单元分别与两端的电极引线共同构成了两对互相交错的叉指电极区域,相邻的两个电极之间由绝缘材料相间隔。整个电极区域由两个大的电极分支构成,它们具有相同的几何尺寸以及对称的位置关系,因此在细胞阻抗测量中的贡献相近。当细胞无论落在哪个电极分支上,阻抗的变化都是相近的。由于电极尺寸的参数设计对电极的频谱特性、重复性、灵敏度等指标具有很大影响,因此对参数进行优化设计对传感器性能至关重要。这些参数包括:电极宽度,相邻电极的间距,电极的长度,以及总有效面积。本文采用的电极参数为:由 12 对宽度为 50 μm 的微电极以交错的方式间隔 50 μm 排列。

图 3(a)展示了基于标准光刻技术的微加工工艺过程。首先,选取厚度为 450 μm 的 4 inch N 型硅片作为基底,经氧化后表面形成 1 μm 厚的 SiO_2 绝缘层。为提高金膜和衬底之间的粘附力,先溅射约 30 nm 厚的 Cr 薄膜,随后磁控溅射约 350 nm 厚的金膜作为电极材料。然后甩胶均匀涂上正胶,用 UV 光刻出叉指对和焊盘区。显影后去除曝光区域的胶,然后湿法腐蚀去掉该区域上面的金属,剩余电极和引线。然后再用等离子增强化学气相淀积厚度分别为 100 nm/500 nm/100 nm 厚的 $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{SiO}_2$ 的绝缘层,最后用湿法刻蚀 SiO_2 ,干法蚀刻 Si_3N_4 露出电极区域。芯片制作完成后一定要将残留的光刻胶清洗干净,以利于细胞贴附。制作完成的叉指电极如图 3(b)所示。将电极焊盘区与 PCB 底座用超声波金丝点焊连接,再用环氧树脂对焊盘区点焊的引线进行绝缘保护,只露出 IDA 叉指电极部分,最后用环氧树脂将底部带孔的塑料培养腔粘贴在 PCB 上,正好露出芯片区域。

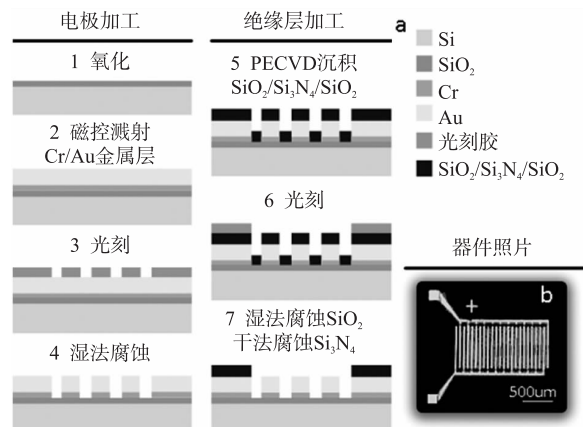


图 3(a) 叉指电极微加工工艺的剖视图;

(b) 叉指电极器件照片

2.2 细胞阻抗测试系统

图4是基于无损交流小信号进行交流阻抗测试的系统。传感器芯片置于在5% CO₂和37℃的培养箱环境中,以避免在整个测试过程中受到外界环境变化的影响。传感芯片通过导线与放在外面的电化学工作站(上海辰华CHI660)相连,CHI660通过设定内部产生一个幅值频率可调的正弦信号,作用于细胞阻抗传感器,其响应电流被CHI660采集并进行锁相放大同时得到阻抗的实部与虚部数值,最后CHI660通过串口与电脑通讯,由此实现整个阻抗测量过程。电化学工作站能够在1 Hz~100 kHz频率范围内测量阻抗的幅值与相位变化,也能在固定频率下测量阻抗幅值和相位随时间的变化。进行阻抗测量时采用两电极体系,即分别与叉指电极两端连接的工作电极和连接在一起的对电极与参比电极。

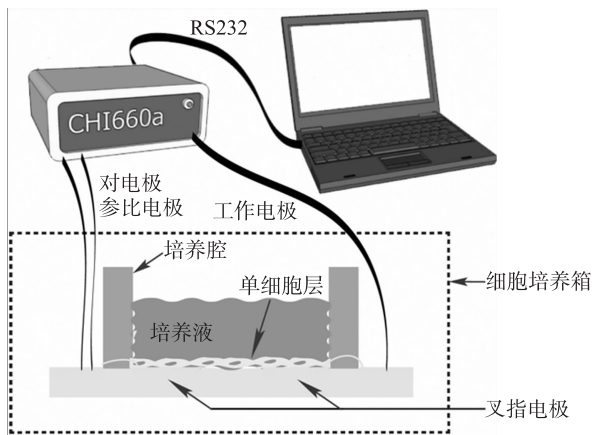


图4 细胞阻抗测量系统

2.3 内皮细胞培养

由于毒素以各种渠道进入人体后,许多毒性化合物最终都会汇聚到血液循环中,然后这些毒素会分布到全身,引起二次损伤。因为内皮细胞在体外能形成一个屏障结构,因此评估毒素对血管内皮细胞的毒性作用具有重大意义。将人脐静脉内皮细胞系ECV304接种于含有10%牛血清及100 U/mL青霉素、100 g/L链霉素双抗液的RPMI-1640培养基中,置于37℃、5% CO₂培养箱中培养。待细胞生长到铺满培养皿大约80%时,吸去培养基,用PBS冲洗,加入0.25%的胰酶+0.02%的EDTA,37℃下消化1 min,加入含有10%小牛血清的DMEM终止消化,吸管轻轻打散细胞,离心去上清液,然后加入少量培养液重悬,利用细胞计数板计算细胞密度。

2.4 细胞阻抗测量

在频谱特性测试实验中,于器件培养腔中加入100 μL细胞培养液,将其置于培养箱内静置5 min,然后开始进行频谱扫描测试,测试频率范围为从1 Hz

到100 kHz对数等间隔的60个频率点,正弦交流电压幅值为50 mV。单次频率扫描可在5 min内完成。对未加入细胞的芯片进行频率扫描的结果记为 Z_0 。然后加入100 μL密度为 60×10^4 /mL细胞悬液,将器件置于培养箱培养8 h后,取出再次进行频谱扫描。

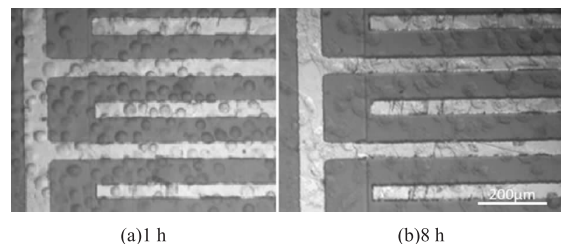
在细胞动态贴附及毒性监测实验中,于器件培养腔中加入100 μL细胞培养液,将其置于培养箱内静置5 min,然后加入100 μL密度为 30×10^4 /mL细胞接种于细胞培养腔中,在25 kHz下对芯片阻抗进行长时程监测,当细胞贴附稳定后,取出20 μL培养液,并在培养液中加入20 μL的3.68 mmol/L的HgCl₂溶液(用超纯水和高纯度HgCl₂盐配制,HgCl₂购自海洋二所),检测细胞在毒性物质作用下的阻抗变化情况。

3 结果与讨论

3.1 频谱特性分析

选取人脐静脉细胞系ECV304作为实验材料,ECV304对表面要求不高,无需做表面处理即可良好生长。其传代后生长迅速,2至3 d即可长满培养瓶表面的80%,在电极表面贴附效果良好。

图5(a)和(b)分别为细胞加入1 h与8 h后显微镜下观察到的细胞形态。可以明显看出,在1 h时,细胞多悬浮在电极表面,呈现圆形颗粒状;而在8 h时,细胞已经在电极表面贴附生长并且伸展开来呈单层生长。贴附面积变大。内皮细胞扁平,形态较为规则,细胞大致呈多角形,细胞近中央处有扁平的细胞核。从细胞分布来看,电极区域和非电极区域并无明显的选择性差异。



从图6(a)中可以看出阻抗整体变大,尤其当 $f > 10$ kHz时,增幅较大。在低频($1 \sim 10^3$ Hz以下)时,整个等效电路被容性元件主导,此时总体阻抗较大,但 CPE_m 远大于 CPE_D ,因此电流基本从 R_e 流过,此时阻值主要是由电极双电层电容决定,尤其在10 Hz以下,细胞贴附对阻抗基本没有影响。当频率继续升高($10^3 \sim 10^5$ Hz), CPE_D 值和 CPE_m 值逐渐减小到与 R_e 相当的时候, R_s 相对较小,于是 CPE_m 和 R_e 开始在整体阻抗中占主导,该频段也正是反应细胞贴附状况和细胞膜内外变化的最佳频段。阻抗变化主要是因为

细胞在电极上贴附生长,与基底形成较紧密的连接,使电极的电流要从细胞与基底的间隙流出,相当于对电流起到了阻碍作用。从图6(b)中可以看出当频率达到80 kHz的时候,细胞贴附前后的阻抗变化最大。就细胞而言,阻抗比率(即细胞贴附时测得的阻抗和无细胞贴附时测得的阻抗的比率)的峰值和产生此峰值时的频率取决于细胞贴附于电极表面的多少,贴附的紧密程度,细胞的大小,浆膜和胞内成分的介电特性等^[16-18]。鉴于本实验电化学工作站频率测试范围,限制了对更高频率的阻抗响应。根据上述细胞模型的理论分析,当频率继续升高($>10^5$ Hz)时,CPE_D和CPE_m开始变小,溶液电阻逐渐开始成为主导。

由于高频测试对系统要求较高,研究如何降低器件的低频截止频率以及灵敏度最高的频率点对于阻抗器件的设计以及测试系统的制作具有重要意义。根据公式2和4,可以得知无细胞电极的低频截止频率主要是由溶液电阻 R_s 和双电层 C_D 电容决定的,细胞贴附后电极的低频截止频率主要是由 R_s 、 R_{cell} 和 R_{gap} 引起的电阻效应和双电层 C_D 电容决定的,而且 $f_{\text{低频-电极}} > f_{\text{低频-细胞}}$ 。因此单纯从电极角度分析,我们可以通过增加溶液 R_s 和 C_D 来达到降低低频截止频

率的目的,在不改变细胞培养液成分的前提下,可以增大电极面积来增大 C_D ,但这会引起 R_s 的减小,因此需要权衡电极尺寸的设计^[19-20]。增大 R_{cell} 和 R_{gap} 会使细胞贴附后电极的低频截止频率降低,但细胞引起的电阻效应是一个动态变化的过程,与温度、细胞种类以及表面状态有关。因此很难作为阻抗器件设计的依据,但可以通过一定的处理方法使器件表面更利于细胞紧密贴附,从而提高电阻值。

3.2 细胞动态贴附及毒素的初步检测

细胞阻抗传感技术可以用于环境毒素的毒性监测^[21-22],如对人体危害较大的重金属离子。汞离子易与巯基结合,使与巯基有关的细胞色素氧化酶、丙酮酸激酶、琥珀酸脱氢酶等失去活性。汞还与氨基、羧基、磷酸基结合而影响功能基团的活性。由于这些酶和功能基团的活性受影响,阻碍了细胞生物活性和正常代谢,可最终导致细胞变性和坏死。

本实验采用 $HgCl_2$ 作为毒素物质研究对细胞作用的结果。将无细胞时的阻抗值 Z_0 作为相对参考,将测量得到的细胞阻抗值与之相减得到细胞贴附过程引起的电极阻抗的相对变化,如图6(c)所示曲线。

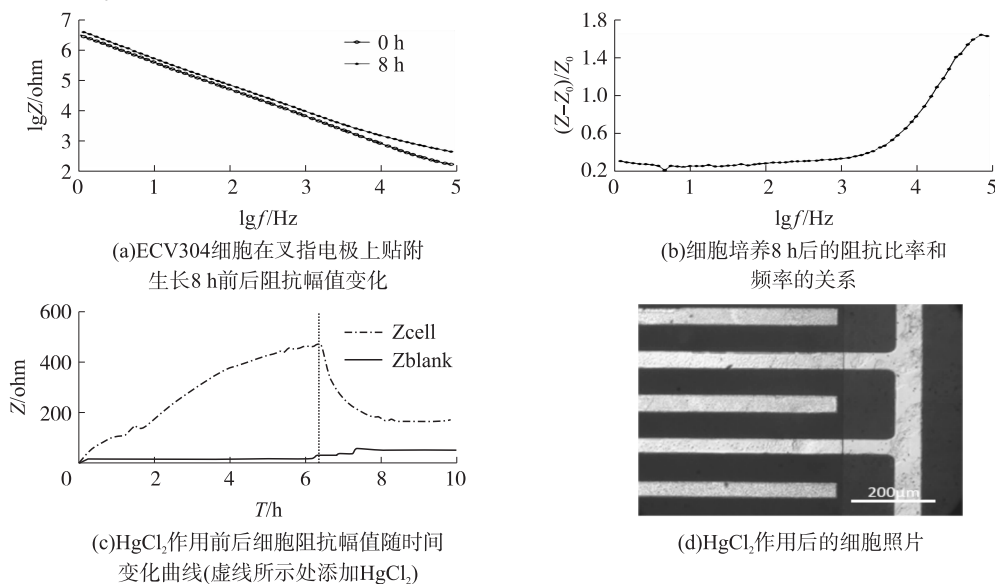


图6

从加入细胞悬液开始,随着细胞与电极的贴附,阻抗值不断增大,当阻抗变化趋于平缓时,即图6(c)中虚线所示处,加入 $HgCl_2$ 。细胞阻抗值开始明显下降,而空白对照的芯片阻抗值变化却非常小,其原因可能在于 $HgCl_2$ 对细胞的毒性作用,使部分细胞死亡或脱离电极表面,从而使这些细胞原本引起的阻抗值下降,但到8 h的时候,细胞阻抗开始趋于平缓,可能是由于浓度不够大,仍有部分细胞存活。当到10 h时,从图6(d)中可以看出细胞数目明显减少,但仍有部分细胞残

留,且部分细胞镜下观察胞内有黑点,这是细胞开始死亡的形态改变之一。整个实验过程可以分成两部分,前期的细胞贴附伸展过程,这部分时间可看做细胞传感器的准备时间;另一部分是毒素检测阶段,从上述实验结果可以看到阻抗值的变化主要集中于 $HgCl_2$ 加入后1 h内,证明了该传感器具有快速响应的特性。

4 结论

本文基于微加工技术制作了一种用于细胞阻抗

监测的平面电极芯片,分析了细胞贴附前后的电极阻抗频谱响应特性,阻抗变化较大的频带集中在几十kHz,与等效电路的分析相符。在此基础上,提出了降低低频截止频率的关键在于降低溶液阻抗和双电层电容,以及增加细胞与电极贴附的紧密程度。在此技术上,我们进行了初步的细胞毒性实验用以验证了它在毒素检测的可行性。进一步的研究将比较不同剂量或不同毒素造成的毒性响应来分析化合物毒性,从而筛选出对细胞毒性较大或较小的化合物。

阻抗响应较难区分细胞数目和细胞贴附所引起的阻抗变化,而且能引起阻抗变化的细胞生理状态改变纷繁复杂,进一步的工作包括克服阻抗的非特异性。通过监测多种细胞参数来更好的解释细胞的响应,另一方面可以研究阻抗随时间变化的特定响应模式,并通过分析来区分不同毒素物质的作用机理。结合高通量筛选技术和模式识别技术,可望从大量有毒物质中发现作用机理相似的化合物。

参考文献:

- [1] Giaever I, Keese C R. Monitoring Fibroblast Behavior in Tissue Culture with an Applied Electric Field[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1984, 81(12): 3761-3764.
- [2] Kovacs G T A. Electronic Sensors with Living Cellular Components[J]. Proc. IEEE, 2003, 91(6): 915-929.
- [3] Ehret R, Baumann W, Brischwein M, et al. Monitoring of Cellular Behaviour by Impedance Measurements on Interdigitated Electrode Structures[J]. Biosens Bioelectron, 1997, 12(1): 29-41.
- [4] Wolf B, Baumann W, Brischwein M, et al. Monitoring of Cellular Signalling and Metabolism with Modular Sensor-Technique: the Physio Control-Microsystem(PCM®)[J]. Biosens Bioelectron, 1998, 13(5): 501-509.
- [5] Henning T, Brischwein M, Baumann W, et al. Approach to a Multiparametric Sensor-Chip-Based Tumor Chemosensitivity Assay [J]. Anti-Cancer Drugs, 2001, 12(1): 21-32.
- [6] Solly K, Wang X B, Xu X, et al. Application of Real-Time Cell Electronic Sensing (RT-CES) Technology to Cell-Based Assays [J]. Assay Drug Dev Technol, 2004, 2(4): 363-372.
- [7] Jacobs P, Varlan A, Sansen W. Design Optimisation of Planar Electrolytic Conductivity Sensors [J]. Med Biol Eng Comput, 1995, 33(6): 802-810.
- [8] Zhou H, Tilton R D, White L R. The Role of Electrode Impedance and Electrode Geometry in the Design of Microelectrode Systems[J]. J Colloid Interface Sci, 2006, 297(2): 819-831.
- [9] Sun T, Green N G, Gawad S, et al. Analytical Electric Field and Sensitivity Analysis for Two Microfluidic Impedance Cytometer Designs[J]. IET Nanobiotechnol, 2007, 1(5): 69-79.
- [10] Grimnes S, Martin ØG. Bioimpedance and Bioelectricity Basic, 2nd Edition[M]. San Diego: Academic Press, 2008.
- [11] Davies P F, Robotewskyj A, Griem M L. Endothelial Cell Adhesion in Real Time. Measurements in Vitro by Tandem Scanning Confocal Image Analysis[J]. J Clin Invest, 1993, 91(6): 2640-2652.
- [12] Giaever I, Keese C R. Micromotion of Mammalian Cells Measured Electrically[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1991, 88(17): 7896-7900.
- [13] Wegener J, Sieber M, Galla H J. Impedance Analysis of Epithelial and Endothelial Cell Monolayers Cultured on Gold Surfaces[J]. J Biochem Biophys Methods, 1996, 32(3): 151-170.
- [14] Wegener J, Zink S, Rösen P, et al. Use of Electrochemical Impedance Measurements to Monitor β -Adrenergic Stimulation of Bovine Aortic Endothelial Cells[J]. Pflug Arch Eur J Phy, 1999, 437(6): 925-934.
- [15] Cho S B, Thielecke H. Electrical Characterization of Human Mesenchymal Stem Cell Growth on Microelectrode[J]. Microelectron Eng, 2008, 85(5-6): 1272-1274.
- [16] Xu X, Wu X B. Impedance Based Devices and Methods for Use in Assays[P]. US Patent. 0112544, 2005.
- [17] Ceriotti L, Kob A, Drechsler S, et al. Online Monitoring of BALB/3T3 Metabolism and Adhesion with Multiparametric Chip-Based System[J]. Anal Biochem, 2007, 371(1): 92-104.
- [18] Abdur Rahman A R, Price D T, Bhansali S. Effect of Electrode Geometry on the Impedance Evaluation of Tissue and Cell Culture [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2007, 127(1): 89-96.
- [19] Hong J, Yoon D S, Kim S K, et al. AC Frequency Characteristics of Coplanar Impedance Sensors as Design Parameters [J]. Lab Chip, 2005, 5: 270-279.
- [20] Wang L, Wang H, Mitchelson K, et al. Analysis of the Sensitivity and Frequency Characteristics of Coplanar Electrical Cell-Substrate Impedance Sensors[J]. Biosens Bioelectron, 2008, 24(1): 14-21.
- [21] Xing J Z, Zhu L, Jackson J A, et al. Dynamic Monitoring of Cytotoxicity on Microelectronic Sensors [J]. Chem Res Toxicol, 2005, 18(2): 154-161.
- [22] Ceriotti L, Pont J, Colpo P, et al. Assessment of Cytotoxicity by Impedance Spectroscopy [J]. Biosens Bioelectron, 2007, 22(12): 3057-3063.



胡朝颖(1986-),男,浙江大学生物医学工程硕士,就读于浙江大学生物传感器国家专业实验室。主要研究方向:生物传感器及检测技术,细胞阻抗传感器,微电极阵列,纳米传感器,joyin.hu@gmail.com;



王平(1962-),男,教授,博士生导师。浙江大学生物传感器国家专业实验室副主任,生物医学工程国家教育部重点实验室常务副主任。国家杰出青年基金获得者。主要研究方向为传感器与检测技术、生物芯片与生物电子学、人工嗅觉与人工味觉等,cnpwang@zju.edu.cn.