



面向活体分析的核酸适体电化学生物传感研究

李欣, 靳莹, 江迎*

北京师范大学化学学院, 北京 100875

*通讯作者, E-mail: yingjiang@bnu.edu.cn

收稿日期: 2022-01-10; 接受日期: 2022-02-07; 网络版发表日期: 2022-02-17

国家自然科学基金(编号: 22104006)、北京市科技新星计划项目(编号: Z191100001119108)和北京市分子科学国家重点实验室(编号: BNLMS202009)资助项目

摘要 化学是生命活动的物质基础. 在活体层次上精准获取生理活性分子的分布和含量的变化规律对于了解和研究生理和病理过程具有重要的意义. 电化学方法, 特别是基于核酸适体的电化学生物传感器, 由于兼具高特异性识别、检测对象广以及易于微型化等优良特性, 已成为复杂生理环境中实现快速、灵敏和高选择性检测的有效工具. 本文综述了核酸适体电化学生物传感器的设计以及在活体分析中的应用, 并对其未来发展趋势进行了展望.

关键词 活体分析, 核酸适体, 电化学生物传感器, 微电极

1 引言

化学是有机体开展一切生命活动的物质基础^[1]. 在活体层次实现对生理与疾病过程相关的化学物质的检测对了解生命体运行的分子机制、探索疾病发病机理、发展医学诊断、检测与治疗方法具有重要意义^[2,3]. 近年来, 国内外已开发了包括微透析技术、荧光成像技术以及电化学方法等在内的一系列检测手段用于活体层次的分析^[4-8]. 其中, 微透析技术由于可在不干扰体内正常生命过程的情况下进行实时、在体或在线取样, 特别适用于研究生命过程的动态变化. 与此同时, 高速发展的成像技术使得利用小分子荧光探针或可编码的荧光蛋白实现实时监测生物分子事件成为可能^[9-12]. 与这些技术相比, 电化学方法因具有识别灵敏、响应速度快、样本量要求小、易于小型化、与多

重分析技术兼容等优点, 目前已成为活体分析研究的重要手段之一^[13,14].

近年来, 电化学方法中伏安法和电位法在脑神经化学过程的研究中备受关注^[15-20]. 其中, 脉冲伏安法可有效抑制背景充电电流, 降低扩散层变化的影响, 具有灵敏度高、选择性高、可同时区分多种电化学活性物质等优势^[17,21]. 快速扫描循环伏安法(Fast-scan cyclic voltammetry, FSCV)因具有高时间分辨率, 被广泛应用于生理活性分子的活体原位分析. 通过对电极施加高扫速的三角波, 可实现对具有较快电子转移速率的电化学活性物质, 如儿茶酚胺类神经递质的选择性检测^[22,23]. 然而, 在复杂的生物环境中, 因蛋白质等生物大分子易于在电极表面非特异性吸附, 上述基于电流为输出信号的传感器在活体分析应用中常出现灵敏度降低、重现性差等问题. 近期提出的原电池型氧

引用格式: Li X, Jin Y, Jiang Y. Electrochemical aptamer-based biosensors for *in vivo* analysis. *Sci Sin Chim*, 2022, 52: 826–836, doi: [10.1360/SSC-2022-0008](https://doi.org/10.1360/SSC-2022-0008)

化还原电位法(Galvanic redox potentiometry, GRP)由于其检测灵敏度不依赖于电极的有效面积, 为神经化学物质活体原位电化学分析提供了新思路. 此外, GRP 电化学传感器检测过程中, 回路处于开路状态, 近乎零电流通过, 能够降低同步记录时产生噪音干扰^[24], 特别适用于检测神经化学物质的动力学. 例如, Mao 等人^[25]利用该方法在大鼠大脑皮层, 实现了全脑缺血/再灌注过程中脑内抗坏血酸(AA)的活体原位测定. 此外, 基于GRP原理的电化学传感器可与电生理记录高度兼容^[26,27], 从而实现化学信号和电信号的同步记录. 通过合理设计和调节碳纤维两端的电化学反应, 该类传感器可用于未来多种神经化学物质的活体在线监测.

近期, 得益于生物识别元件的不断发展, 尤其是核酸适体亲和配体研究的迅速发展, 面向活体层次的高选择性电化学生物传感研究迎来了新的机遇^[28-30]. 本文将简要综述核酸适体电化学生物传感器(Electrochemical aptamer-based sensor, E-AB)的设计原理, 以及其活体分析化学应用进展, 并对其未来发展趋势进行展望.

2 传感器设计原理

核酸适体(Aptamer)是经体外筛选技术得到的具有特定结构和功能的寡聚核苷酸^[31-34]. 它不仅具有和抗体相媲美的亲和力和特异性, 还兼具识别对象广、合成简单、易于修饰、稳定性高等优势^[35-37]. 尤其是以Tan 等人^[34,38,39]首创的以活细胞为靶标的核酸适体筛选新方法(Cell-SELEX), 极大丰富了可在复杂生理环境中应用的识别元件种类. 近年来, 以核酸适体为识别元件构筑的电化学生物传感器, 在体外和活体层次实现了一系列生理活性分子的高选择性分析^[13,40]. 设计原理是通过核酸适体与靶标分子之间的特异性识别引起电极界面电化学信号(电流、阻抗、电位、电荷等)的变化, 进而实现对分析物的定性、定量分析^[41,42]. 根据靶标分子本身的电化学特性, 传感器可以分为无标记型和标记型电化学传感器.

2.1 无标记型适体电化学传感器

针对具有优良电化学活性的物质, 如神经递质多巴胺(DA)^[43,44]、血清素(5-HT)^[45-47]等, 可通过电极界面的核酸适体选择性地捕获目标物, 使其靠近电极表

面发生电化学反应, 进而产生显著的电化学信号以实现检测的目的. 因此, 核酸适体在电极界面的可控修饰是实现选择性的关键. 核酸适体可以通过静电吸附或共价作用固定在金电极表面用于构建电化学传感器. 例如, Ferapontova 等人^[48]通过预先在金电极表面修饰上带正电荷的半胱胺自组装单层膜, 利用其与带负电荷的核酸适体之间的静电作用, 实现了多巴胺核酸适体在电极界面的修饰. 如图1a所示, 该电极有效降低了干扰物(如去甲肾上腺素(NE)、左旋多巴(L-DOPA)等)对多巴胺检测的影响. 为了提高适体传感器的灵敏度及稳定性, Ferapontova 等人^[49]进一步设计了基于共价作用固定核酸适体的策略. 如图1b所示, 利用

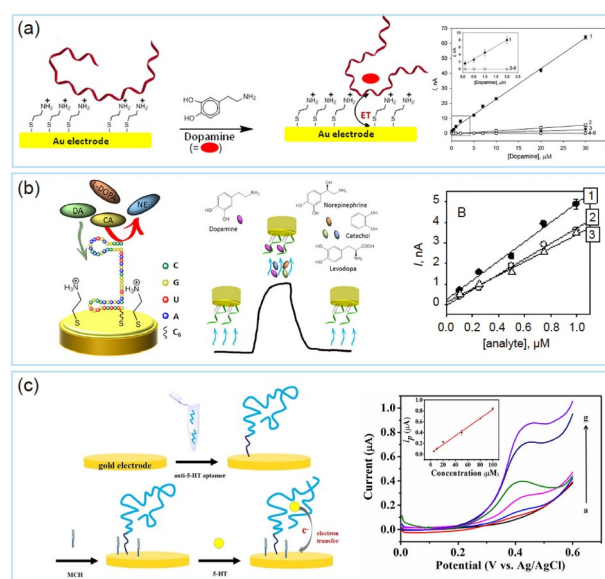


图 1 (a) 基于静电吸附作用固定核酸适体的电化学传感器. 多巴胺检测示意图和选择性数据图, (1) 多巴胺和(2~8) 其他神经递质^[48]; (b) 基于共价作用固定核酸适体的电化学传感器. 多巴胺检测示意图和传感器在血清中暴露不同时间的电流响应, (1) PBS/10%血清和(2) 血清暴露30 min和(3) 20 h后的初始多巴胺信号^[49]; (c) 基于电化学适体传感器检测5-HT的示意图以及人工脑脊液中检测不同浓度5-HT的典型方波伏安(SWV)图^[50] (网络版彩图)

Figure 1 (a) Schematic and selectivity diagram of aptamers for dopamine detection by the modified electrode based on electrostatic adsorption, (1) dopamine and (2–8) other neurotransmitters^[48]; (b) Schematic diagram of a covalently modified electrode for dopamine detection by aptamer and the current response of the electrode at different times of the exposure in serum, (1) Initial dopamine signals in PBS/10% serum and after (2) 30 min and (3) 20 h exposure to serum^[49]; (c) schematic diagram of 5-HT detection based on electrochemical aptamers and representative cyclic square-wave voltammetry (SWV) curves of 5-HT-apt1-modified gold electrodes in 10-diluted artificial cerebrospinal fluid containing different concentrations of 5-HT^[50] (color online).

Au-S相互作用, 将巯基修饰的适配体共价修饰在金电极表面. 同时, 选用半胱氨酸作为封闭剂, 不仅可以有效地封闭电极表面剩余的活性修饰位点, 也可以拉近核酸适体与电极界面的距离, 利于电子传输. 与其它带正电荷的物质(如儿茶酚胺类物质)之间的非特异性静电吸附. 该传感器稳定性良好, 在10%血清环境下工作20 h仍保持优异的选择性, 有望用于在活体层次监测多巴胺. 利用巯基化核酸适体自组装至金电极表面的高选择性分析策略具有良好的普适性. 近期, Qi等人^[50]利用类似的原理, 构筑了5-HT适体修饰电极(图1c). 该传感器对5-HT有优异的电化学响应, 成功实现了人工脑脊液中5-HT的电化学检测.

针对不具有电化学活性物质的检测, 可通过向检测体系中外加电化学探针, 利用分析物与电极表面适体识别前后电化学探针信号的变化实现定量分析^[51,52]. 例如, Tan等人^[53]设计了纳米四面体(NTH)辅助的核酸适体传感平台(图2a), 利用适体与外泌体孵育后 $K_3[Fe(CN)_6]$ 氧化还原探针在电极表面电信号的变化实现了外泌体的电化学检测. 在此基础上, 他们^[54]通过巧妙的适体结构设计(图2b), 发展了末端锁定的适体电化学传感器, 进一步提高了这一类型传感器的亲和力和灵敏度, 有望在食品、医药、细胞、活体等复杂生物体系的检测中发挥重要作用.

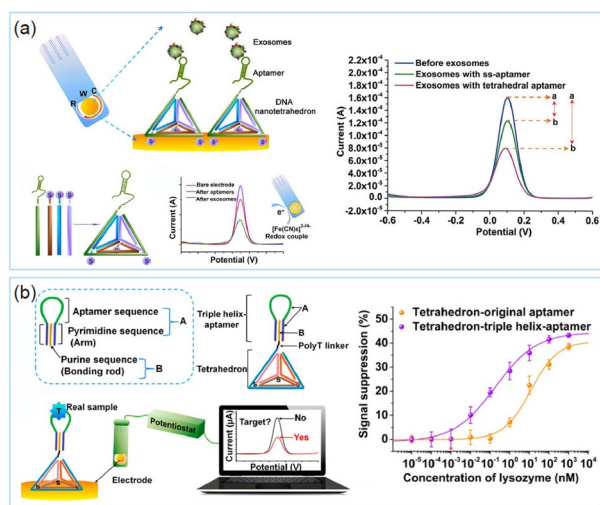


图2 (a) NTH-辅助的核酸适体电化学传感器示意图^[53]; (b) 四面体辅助三螺旋适体纳米结构修饰的电化学传感器示意图^[54] (网络版彩图)

Figure 2 (a) Schematic illustration of the NTH-assisted electrochemical aptasensor ^[53]; (b) an electrochemical sensor modified by tetrahedron-assisted trihelix adaptor nanostructure ^[54] (color online).

2.2 标记型适体电化学传感器

标记型适体电化学传感器主要通过目标分析物与适体之间的识别作用导致适体构象的变化, 改变标记在适体上的氧化还原探针与电极表面之间的距离, 从而产生了电信号变化^[55,56]. 以目标分析物与适体结合后所导致的电化学信号的衰减或增强程度为定量分析的基础^[57,58]. 这一类型的传感器因不依赖于分析物质本身的电化学特性, 在非电化学活性物质的分析检测中得到了广泛应用. 其中, 电极界面的合理设计是实现稳定性以及高灵敏度分析的关键. Plaxco等人^[59]将亚甲基蓝(MB)标记的阿霉素适体固定在金电极表面. 无目标物时, 亚甲基蓝远离电极; 与目标物结合后, 适体折叠成信标结构使亚甲基蓝靠近电极, 提高了电子传递效率, 增强电流信号. 进一步研究发现, 利用仿细胞膜结构的磷脂酰胆碱(PC)作为适体电极的封闭剂, 不仅有利于快速电子转移, 还降低了蛋白质或细胞等在电极表面的非特异性吸附, 显著提高了适体电化学传感器在复杂生理环境中的稳定性. 利用此传感器, 他们成功实现了阿霉素在全血中的高选择性、定量检测. 近期, Xia等人^[60]系统研究了封闭剂的分子结构和适体传感器稳定性能的关系(图3a). 以阿霉素为靶标, 研究发现, 与低聚乙二醇(OEG)和6-巯基-1-己醇(MCH)等作为封闭剂相比, 单电荷的三甲基氯化铵(AC)、甲基丙烯酸磺丙酯钾(SP)以及两性离子部分的烷硫醇分子(二甲基铵)丙烷磺酸盐(AP)和PC, 具有优异的抗污染性能. 选择合适的封闭剂对电极界面的润湿性和防污性能有良好的调节, 满足复杂的生物基质(例如, 尿液、全血、汗液等)中检测的需求.

为了进一步提高标记型适体传感器的分析性能, Fan等人^[61]将组装成四面体结构的核酸适体(NTHs)共价固定与金电极表面. 通过精准调控NTHs横向间距, 可优化单个适体分布的最佳距离, 从而减少空间位阻效应, 提高分子识别特异性和捕获效率. 基于此策略, Zuo等人^[62]采用四面体DNA框架(TDF)对微尺度生物传感界面进行编程, 用于代谢物(三磷酸腺苷, ATP)的分析, 如图3b所示. 与基于单链适体的传感器相比, DNA纳米结构支撑的适体传感器稳定性高, 在复杂基体中(胎牛血清和全血)对ATP的响应动力学快, 空间分辨率高, 在实现体内植入检测方面具有广阔的应用前景.

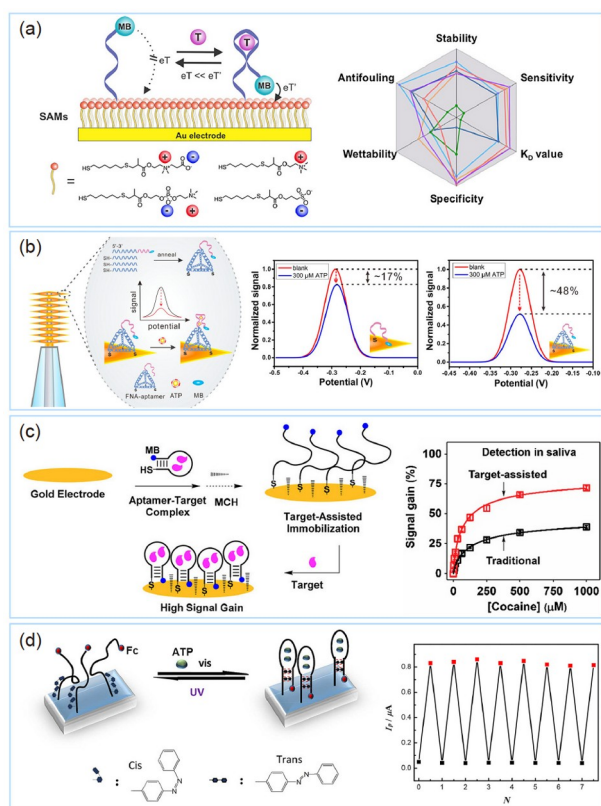


图 3 (a) 基于不同封闭剂的E-AB原理图及稳定性图^[60]; (b) 基于微纳复合探针的传感器^[62]; (c) 靶辅助核酸适体固定修饰电极策略以及传感性能对比图^[66]; (d) 以偶氮苯和Fc标记适体为探针的光可再生电化学适体传感器的机理示意图^[67] (网络彩图版)

Figure 3 (a) Schematic diagram and stability diagram of the E-AB based on different sealants [60]; (b) electrochemical response of the micro-/nano-composite probes [62]; (c) the strategy of target-assisted aptamer fixation and modification of electrodes and the comparison diagram of sensing performances [66]; (d) schematic illustration of the mechanism of photorenewable electrochemical aptasensors with azobenzene-tethered and ferrocene-labeled aptamers as the probe [67] (color online).

近年来, 基于核酸适体的纳米探针也被应用于提高适体传感器检测的灵敏度^[63,64]。以ATP的检测为模型, Xiao等人^[65]通过将ATP适体的两个片段分别组装到Au电极和AuNPs上(MB作为电化学响应信号), 当溶液中含有ATP时, ATP将适体片段拉近, 促使MB修饰的金纳米粒子靠近电极表面, 进而大幅提高了MB在电极表面的局部浓度, 提高了检测灵敏度。与传统方法相比, 这一策略不仅极大地降低了电极的背景信号, 传感器的灵敏度也提升了1000倍。为进一步提高电化学适体传感器响应的稳定性, Xiao等人^[66]提出靶辅助核酸适体固定修饰电极策略。如图3c所示, 将亚甲基

蓝标记的核酸适体与分析物可卡因共同孵育, 形成适体-靶标的复合物, 进一步将复合物通过Au-S键自组装到电极表面, 以此优化适体-靶标复合物在微观水平上的距离, 保证核酸适体在识别靶标时具有足够的折叠空间, 显著提高了该核酸适体传感器的信噪比和灵敏度。近期, Lu等人^[67]为了提升ATP适体电化学传感器的可再生性(如图3d所示), 将光敏感的偶氮苯基团修饰到ATP核酸适体结构中, 成功实现了紫外光调控的ATP传感器的再生, 为实现适体传感器在生理条件下的多次使用提供了新思路。

3 核酸适体传感器的应用

3.1 体外分析

生理活性分子, 如小分子^[27,68]、核酸^[69,70]、蛋白质^[71,72]等在生命活动过程中扮演着重要的角色, 其选择性分析对于了解生命活动过程的化学本质具有重要意义。近些年来, 利用核酸适体电化学传感器实现了体外及细胞层次生理活性分子定性和定量分析^[73~75]。

在复杂的生物体液(如血液、唾液、尿液等)或细胞环境中, 多种物种与靶标物质共存, 尤其是蛋白质等生物大分子在电极界面的非特异性吸附, 对核酸适体电化学传感器的选择性及灵敏度影响较大^[13,76~78]。例如, 全血中苯丙氨酸的浓度与帕金森症、阿尔茨海默病等神经系统疾病有密切联系, 其选择性分析对于了解大脑发育以及认知功能障碍的分子机制具有重要意义^[79]。鉴于此, Plaxco等人^[80]设计研发了一个可在全血中检测苯丙氨酸的核酸适体电化学传感器。如图4a所示, 为了提高核酸适体与底物的特异性和亲和力, 他们引入了可与苯丙氨酸相互作用的铈基受体 $[(Cp^*RhCl_2)_2]$, 形成可被适体识别的复合靶标。该复合靶标不仅与适体作用力更强, 识别前后空间构型变化更加显著, 因此通过核酸适体与复合靶标的特异性识别可以产生更大的电流变化。值得一提的是, 非特异性吸附对这类构象连接的信号输出机制没有显著影响, 该E-AB可满足在血液中长达数小时的连续监测。在此基础上, 他们将传感策略应用于印刷式超薄金电极, 实现了临床检测范围内苯丙氨酸的快速分析, 为推进个性化医疗的发展提供了强大的工具。

在细胞层次实时动态检测生理活性物质, 对于探究这些物质的生物功能尤为重要^[81~85]。近年来, 基于

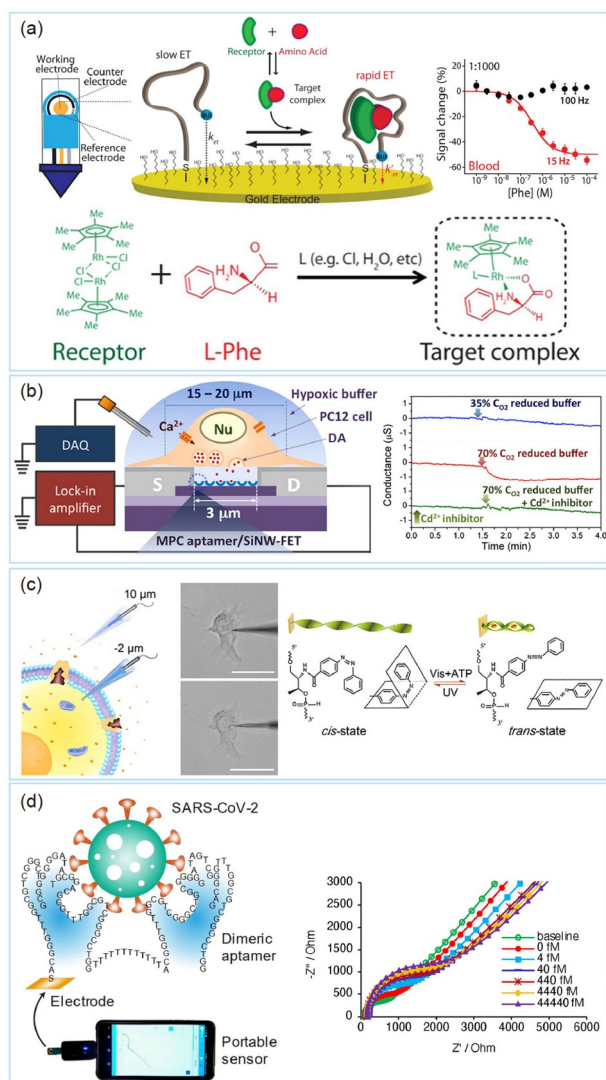


图 4 (a) 检测苯丙氨酸的E-AB示意图和复杂目标的配位结构^[80]; (b) 适体修饰的硅纳米线场效应晶体管(FET)装置用于检测PC12细胞在缺氧刺激下释放的DA^[89]; (c) 基于光控的离子整流生物传感器用于单细胞的ATP分析, 以及AIDAS在顺(左)和反(右)状态下的构象变化. AIDAS的结构开关导致ATP分子的选择性捕获和释放^[94]; (d) 基于核酸适体二聚体的传感器示意图以及不同浓度的三聚体刺突蛋白的Nyquist图^[98] (网络彩图版)

Figure 4 (a) Electrochemical aptamer-based sensors for the measurement of phenylalanine and coordination structures of complex targets^[80]; (b) illustration of an aptamer-modified silicon nanowire field-effect transistor device for detecting exocytotic DA under hypoxic stimulation from living PC12 cells^[89]; (c) an ion-rectifying biosensor based on light control for ATP analysis of single cells, and conformational change of AIDAS under *cis* (left) and *trans* (right) states. Structure-switch of AIDAS led to alternative capture and release of the ATP molecules^[94]; (d) schematic diagram of the sensor and aptamer structure based on nucleic-acid aptamer dimer and Nyquist plot of the different concentrations of trimeric spike protein spiked in buffer incubated on the chip for 5 min^[98] (color online).

核酸适体为识别元件的场效应晶体管传感器, 由于具有良好的生物相容性和高灵敏度, 在原位、实时检测等领域有广泛的应用^[86,87]. 例如, Nakatsuka等人^[88]在超薄金属氧化物场效应晶体管阵列上修饰多巴胺(DA)核酸适体, 通过其与多巴胺特异性结合诱导适体磷酸骨架发生构象变化, 引起半导体通道导电性的变化, 进而实现了多巴胺等的高灵敏检测. 基于相似的策略, Chen等人^[89]利用DA特异性核酸适体对多并联硅纳米线场效应晶体管(MPC/SiNW-FET)进行了修饰, 研制了一种基于场效应晶体管的适体传感器(如图4b所示). 该传感器具有高灵敏度, 不仅可实现低浓度(10 pM)DA的准确测定, 还成功监测到了细胞在缺氧刺激下DA的原位释放, 进一步研究揭示了缺氧刺激后的DA释放与细胞外 Ca^{2+} 内流存在关联, 为了解细胞间信号传递的分子基础提供了新思路.

纳米电极, 因易植入到细胞中, 在细胞内重要生理活性分子的电化学分析中应用前景广阔^[90-93]. 如图4c所示, Xu等人^[94]将纳米管反应器的离子电流整流特性与光调控的ATP特异性核酸适体识别模式相结合, 设计了一种光控的纳米管电极, 利用偶氮苯(Azo)结合的DNA核酸适体(AIDAS), 通过紫外/可见光调控AIDAS构象变化, 实现了单个活细胞中ATP的电化学检测. 这一方法赋予电化学传感器良好的选择性和可逆性, 为无创再生和重复检测提供了新思路. 纳米管电极的电化学特性和核酸适体靶标广的特性相结合为其他内源物种的细胞层次分析提供了新策略.

与小分子生理活性物质相比, 病毒, 例如新型冠状病毒、人类免疫缺陷病毒、乙型肝炎病毒和寨卡病毒等具有极高的传染性和致病性^[95,96]. 近两年来爆发的COVID-19对人类生命健康造成了严重的威胁, 更加凸显发展针对病毒的特异性和即时检测传感器的重要性. 由于病毒不具有电化学活性, 无标记型适体电化学传感器有望为快速检测各种病毒提供新方法^[86,97]. 近期, 基于适配体为捕获剂的电化学传感器被应用于冠状病毒的检测. 如图4d所示, Li等人^[98]将具有识别病毒刺突蛋白功能的核酸适体二聚体(或三聚体)通过Au-S键修饰到芯片电极上, 当SARS-CoV-2病毒存在时, 核酸适体与病毒表面的刺突蛋白结合, 进而可通过监测电化学阻抗的变化检测SARS-CoV-2病毒. 与其他诊断技术, 如qRT-PCR和ELISA方法相比较, 该检测过程可在10 min内完成, 且易于和可穿戴的电子设

备相结合,可满足对SARS-CoV-2病毒的快速以及便捷检测. 此外, 由于该传感器具备优异的选择性和灵敏度, 已成功用于临床唾液样本中原SARS-CoV-2病毒的刺突蛋白及其阿尔法和德尔塔变种的评估, 展示了适体传感器作为一种精确、实时和快速的检测手段的优势^[98-100].

3.2 活体分析

以活体为研究对象的在线、原位或在体的分析方法, 因能够更加真实、直接地反映机体中生物分子的时空运动, 对研究各种生理、病理过程的分子本质以及疾病的发生发展规律具有重要意义^[101,102]. 电化学分析方法具有易微型化、高灵敏、高时空分辨率等优势, 是在活体层次上精准描述生物分子动态变化的有效工具^[103]. 核酸适体电化学传感器通过与在线分析技术、微电极在体植入特性相结合, 在实现神经化学物质的活体原位以及高时空分辨率分析中发挥着重要作用^[104-107].

以活动物脑内ATP测量为例, Mao等人^[108]通过将亚甲基蓝修饰的ATP适体作为组装单元, 在电极表面构筑了基于适体的超级纳米结构, 实现了大鼠脑脊液中ATP的高灵敏度检测. 如图5a所示, 通过在电极界面组装MB修饰的核酸适体, 并调控其与ATP之间的识别作用导致适体组装结构从电极表面解体, 进而引起电化学信号变化. 与传统的单链修饰的适体传感器相比, 这一方法具有更高的灵敏度和可再生性. 通过与微透析活体取样技术相结合, 实现了大鼠脑脊液中ATP的高灵敏度和选择性检测. 为了进一步提高ATP适体传感器的选择性, Mao等人^[109]提出了一种双识别单元策略(DRUS)来构建高选择性ATP生物传感器. 如图5b所示, 通过在Au电极表面引入一层聚咪唑(Pim)阳离子刷, 利用其与磷酸骨架之间的强静电作用吸引并固定ATP适体. 在适当的离子强度溶液中, 由于Pim与ATP的三磷酸基团具有更强的作用力, 以及核酸适体与ATP结构中A碱基的强结合力, 该生物传感器可以高选择性地测定细胞外ATP浓度, 而不受ADP和AMP以及其他类型的重要生理物种的干扰. 这种双识别单元策略不仅提高了选择性, 还将检测灵敏度提高至aM级别. 近期, 他们^[110]将DRUS策略应用于基于微米尺度离子电流整流(MICR)的在线ATP传感器设计, 如图5c所示, 与无靶标时相比, ATP可促进核酸适体从微米管电

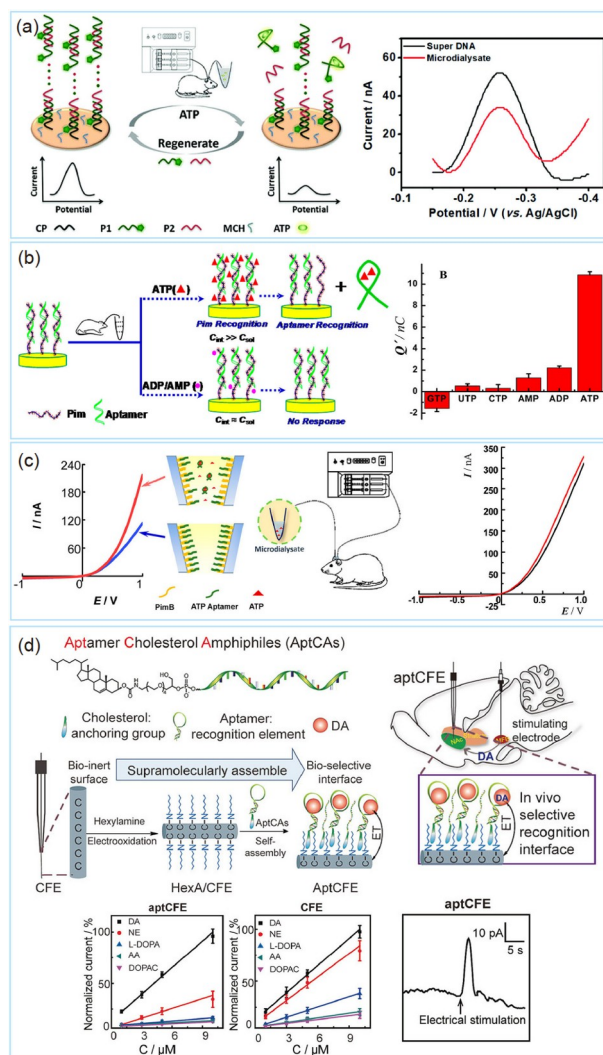


图 5 (a) 基于核酸适体传感器检测大鼠脑微透析液中ATP^[108]; (b) DRUS示意图和选择性数据图^[109]; (c) 基于离子整流的传感器检测大脑中ATP^[110]; (d) 基于核酸适体的电化学传感器实现多巴胺的活体原位测定^[111] (网络彩图版)

Figure 5 (a) Schematic illustration of the detection of ATP in rat's brain microdialysate with the aptasensor. The marked sequences in the probe 1 (P1) are the aptamer sequences for ATP and detection diagram^[108]; (b) schematic illustration of DRUS for cerebral ATP assay with an ATP aptamer-based biosensor and selectivity diagram^[109]; (c) schematic illustration of a MICR-based sensor for the cerebral ATP assay^[110]; (d) schematic illustration of aptCFE for *in vivo* DA sensing^[111] (color online).

极内表面解离, 导致净表面电荷增加, 整流率提高. 该传感器在ATP浓度为5~100 nM的范围内呈现良好线性响应, 成功实现了大鼠脑内ATP基础浓度的(~10 nM)电化学检测, 有望为活体原位测定ATP提供重要的分析工具.

近期, 我们^[111]发展了核酸适体碳纤维电极表面修饰新策略, 率先研发了活体可植入的核酸适体微电极 AptCFE, 为面向活体脑内生物分子的原位分析提供了重要工具. 如图5d所示, 通过设计两亲性核酸适体结构, 利用其末端胆固醇与电极界面预修饰的烷基链之间的超分子相互作用, 高效地实现了适体在微电极界面的组装. 以DA为靶标分析物, AptCFE对DA展示出了较好的响应性, 表明适体修饰微电极能成功“捕获”DA, 这在DA选择性分析检测中发挥了关键作用. 进一步研究发现, AptCFE对神经系统中其它生理相关物质, 如AA、去甲肾上腺素(NE)、L-DOPA和3,4-二羟基苯乙酸(DOPAC)等响应较低. 与未经适体修饰的CFE相比, AptCFE对NE和L-DOPA的分析选择性分别提高了4倍和3倍, 并具有良好的活体稳定性. 利用AptCFE, 成功实现了电刺激过程中DA变化的活体检测. 鉴于上述组装化学策略的普适性以及识别基元的多功能性, AptCFE可以拓展应用于多种神经化学物质的活体电化学检测, 为探索脑化学的活体传感器提供重要的分析化学工具.

4 总结与展望

核酸适体电化学传感器具有优异的选择性、高灵敏度和高时空分辨等优点, 在针对复杂生物体系中待测物的精准测量方面具有极大优势, 为细胞以及活体层次的分析化学研究提供了有力工具^[112,113]. 然而由于活体层次物质种类繁多, 分布各异且动态变化, 使得核酸适体电化学传感器的活体分析应用仍然存在诸多待解决的问题.

首先活体可植入的核酸适体电化学传感器的可控制备难. 目前适体传感器多采用金电极体系, 而由于微纳米尺寸的金电极机械性能较差, 难以准确植入到组

织中, 活体应用鲜有报道. 针对这一问题, 我们提出了碳纤维电极表面功能化核酸适体的新策略, 快速、高效的实现了核酸适体在活体可植入电极上的修饰, 初步建立了基于核酸适体微电极的活体分析新方法. 然而基于非共价相互作用构筑的传感器界面受温度及时间等因素影响较大, 因此亟需发展高效的微纳电极修饰方法来实现传感器的可控制备以及优化传感器的分析稳定性.

在活体环境中, 蛋白质等生物大分子易吸附在电极表面, 而核酸酶的共存则有可能直接造成核酸适体结构的破坏, 因而对传感器稳定性及选择性带来难以预测影响. 因此, 适体的筛选以及结构的优化有望提高传感器的在体稳定性, 进而保证活体连续监测时所需的精度. 此外, DNA在电极界面电化学行为的机理研究仍不清楚. 例如, Barton等人^[114]认为DNA电荷传输依赖于碱基对堆积的完整性, 碱基对堆积的扰动(如DNA碱基对错配)会中断DNA电荷传输. 而Plaxco等人^[115]认为氧化还原报告分子修饰的双链DNA的电子转移主要是通过报告分子与电极表面之间的接触介导交换发生的, 不涉及通过DNA碱基对的电荷转移. 因此, 探究DNA电化学的基础研究对于优化适体电化学传感器的性能, 如降低传感器的基线漂移等至关重要, 也是未来值得深入研究的方向之一.

尽管基于核酸适体的电化学传感器研究发展迅速, 但其临床应用或转化还有许多问题亟需解决. 为了实现即时检验以及个性化诊疗的目标, 传感器不仅需要进一步和柔性电子技术、无线传感、人工智能数据处理技术等联用, 提供快速准确的测定, 同时需要能够对大量复杂生物分子进行实时多通道同时监测^[116,117]. 以上问题和挑战的解决, 将助力核酸适体电化学传感器在脑化学研究、生命科学研究、疾病诊断等领域有广阔的应用.

参考文献

- 1 Labib M, Sargent EH, Kelley SO. *Chem Rev*, 2016, 116: 9001–9090
- 2 Das J, Kelley SO. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 2554–2564
- 3 Povedano E, Valverde A, Montiel VRV, Pedrero M, Yáñez-Sedeño P, Barderas R, San Segundo-Acosta P, Peláez-García A, Mendiola M, Hardisson D, Campuzano S, Pingarrón JM. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 8194–8198
- 4 Deng J, Tian F, Liu C, Liu Y, Zhao S, Fu T, Sun J, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 7261–7266
- 5 He X, Zhang K, Li T, Jiang Y, Yu P, Mao L. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 1396–1399
- 6 Jiang Y, Feng Y, Su J, Nie J, Cao L, Mao L, Jiang L, Guo W. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 18739–18746

- 7 Yang XJ, Xu JJ, Chen HY. *Sci Sin-Chim*, 2020, 50: 583–593 (in Chinese) [杨雪娇, 徐静娟, 陈洪渊. 中国科学: 化学, 2020, 50: 583–593]
- 8 Zhao S, Tian R, Wu J, Liu S, Wang Y, Wen M, Shang Y, Liu Q, Li Y, Guo Y, Wang Z, Wang T, Zhao Y, Zhao H, Cao H, Su Y, Sun J, Jiang Q, Ding B. *Nat Commun*, 2021, 12: 358
- 9 Sun F, Zhou J, Dai B, Qian T, Zeng J, Li X, Zhuo Y, Zhang Y, Wang Y, Qian C, Tan K, Feng J, Dong H, Lin D, Cui G, Li Y. *Nat Methods*, 2020, 17: 1156–1166
- 10 Wan J, Peng W, Li X, Qian T, Song K, Zeng J, Deng F, Hao S, Feng J, Zhang P, Zhang Y, Zou J, Pan S, Shin M, Venton BJ, Zhu JJ, Jing M, Xu M, Li Y. *Nat Neurosci*, 2021, 24: 746–752
- 11 Yu Y, Yin T, Peng Q, Kong L, Li C, Tang D, Yin X. *ACS Sens*, 2019, 4: 471–478
- 12 Zhang Y, Du Y, Zhuo Y, Qiu L. *Front Chem*, 2020, 8: 598013
- 13 Clifford A, Das J, Yousefi H, Mahmud A, Chen JB, Kelley SO. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 5281–5294
- 14 Tang L, Li Y, Xie H, Shu Q, Yang F, Liu YL, Liang F, Wang H, Huang W, Zhang GJ. *Sci Rep*, 2017, 7: 6446
- 15 Xue YF, Xiao TF, Jiang YN, Wu F, Yu P, Mao LQ. *Chin J Anal Chem*, 2019, 47: 1443–1454 (in Chinese) [薛亦飞, 肖通方, 蒋亚楠, 吴菲, 于萍, 毛兰群. 分析化学, 2019, 47: 1443–1454]
- 16 Wan JX, Li YL. *Chin J Anal Chem*, 2020, 48: 307–315 (in Chinese) [万金霞, 李毓龙. 分析化学, 2020, 48: 307–315]
- 17 Li R, Guo D, Ye J, Zhang M. *Analyst*, 2015, 140: 3746–3752
- 18 Li R, Liu X, Qiu W, Zhang M. *Anal Chem*, 2016, 88: 7769–7776
- 19 Xiao T, Wu F, Hao J, Zhang M, Yu P, Mao L. *Anal Chem*, 2017, 89: 300–313
- 20 Zhang C, Liu Z, Zhang L, Zhu A, Liao F, Wan J, Zhou J, Tian Y. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 20499–20507
- 21 Liu X, Xiao T, Wu F, Shen MY, Zhang M, Yu HH, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 11802–11806
- 22 Rodeberg NT, Johnson JA, Bucher ES, Wightman RM. *ACS Chem Neurosci*, 2016, 7: 1508–1518
- 23 Xue Y, Ji W, Jiang Y, Yu P, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 23777–23783
- 24 Wu F, Yu P, Mao L. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 2692–2704
- 25 Wu F, Cheng H, Wei H, Xiong T, Yu P, Mao L. *Anal Chem*, 2018, 90: 13021–13029
- 26 Wei H, Li L, Jin J, Wu F, Yu P, Ma F, Mao L. *Anal Chem*, 2020, 92: 10177–10182
- 27 Yu P, Wei H, Zhong P, Xue Y, Wu F, Liu Y, Fei J, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 22652–22658
- 28 Du ZH, Li XY, Tian JJ, Zhang YZ, Tian HT, Xu WT. *Chin J Anal Chem*, 2018, 46: 995–1004
- 29 Lu S, Shen J, Fan C, Li Q, Yang X. *Adv Sci*, 2021, 8: 2100328
- 30 Yu L, Zhu L, Yan M, Feng S, Huang J, Yang X. *Anal Chem*, 2021, 93: 11809–11815
- 31 Han Z, Lv W, Li Y, Chang J, Zhang W, Liu C, Sun J. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, 3: 2666–2673
- 32 Jiang Y, Shi M, Liu Y, Wan S, Cui C, Zhang L, Tan W. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 11916–11920
- 33 Li J, Hong CY, Wu SX, Liang H, Wang LP, Huang G, Chen X, Yang HH, Shangguan D, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 11210–11213
- 34 Xie S, Ai L, Cui C, Fu T, Cheng X, Qu F, Tan W. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 9542–9560
- 35 Dong Z, Tang C, Zhang Z, Zhou W, Zhao R, Wang L, Xu J, Wu Y, Wu J, Zhang X, Xu L, Zhao L, Fang X. *ACS Appl Bio Mater*, 2019, 3: 2560–2567
- 36 Sun M, Liu S, Song T, Chen F, Zhang J, Huang JA, Wan S, Lu Y, Chen H, Tan W, Song Y, Yang C. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 21541–21548
- 37 Zhu L, Xu Y, Wei X, Lin H, Huang M, Lin B, Song Y, Yang C. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 18111–18115
- 38 Song Y, Song J, Wei X, Huang M, Sun M, Zhu L, Lin B, Shen H, Zhu Z, Yang C. *Anal Chem*, 2020, 92: 9895–9900
- 39 Zhou W, Zhao L, Yuan H, Xu L, Tan W, Song Y, Fang X. *Exp Cell Res*, 2019, 382: 111478
- 40 Minter SD. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 2701–2703
- 41 Ferapontova EE. *Annu Rev Anal Chem*, 2018, 11: 197–218
- 42 Zhu L, Yu L, Yang X. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 42250–42257
- 43 Nuriya M, Ashikari Y, Iino T, Asai T, Shou J, Karasawa K, Nakamura K, Ozeki Y, Fujimoto Y, Yasui M. *Anal Chem*, 2021, 93: 9345–9355
- 44 Park SJ, Lee SH, Yang H, Park CS, Lee CS, Kwon OS, Park TH, Jang J. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 28897–28903
- 45 Sun X, Zu Y, Li X, Zhao S, Sun X, Li L, Zhang X, Wang W, Liang Y, Wang W, Liang X, Gao M, Sun C, Guan X, Tang M. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12: 845–856
- 46 Walsh JJ, Christoffel DJ, Heifets BD, Ben-Dor GA, Selimbeyoglu A, Hung LW, Deisseroth K, Malenka RC. *Nature*, 2018, 560: 589–594

- 47 Wang Y, Gu C, Patel BA, Ewing AG. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 23552–23556
- 48 Farjami E, Campos R, Nielsen JS, Gothelf KV, Kjems J, Ferapontova EE. *Anal Chem*, 2013, 85: 121–128
- 49 Álvarez-Martos I, Ferapontova EE. *Anal Chem*, 2016, 88: 3608–3616
- 50 Li R, Li X, Su L, Qi H, Yue X, Qi H. *Electroanalysis*, 2021, doi:10.1002/elan.202100373
- 51 Wang Q, Zheng H, Gao X, Lin Z, Chen G. *Chem Commun*, 2013, 49: 11418
- 52 Zhao J, He X, Bo B, Liu X, Yin Y, Li G. *Biosens Bioelectron*, 2012, 34: 249–252
- 53 Wang S, Zhang L, Wan S, Cansiz S, Cui C, Liu Y, Cai R, Hong C, Teng IT, Shi M, Wu Y, Dong Y, Tan W. *ACS Nano*, 2017, 11: 3943–3949
- 54 Zhao L, Qi X, Yan X, Huang Y, Liang X, Zhang L, Wang S, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 17493–17497
- 55 Pandey R, Chang D, Smieja M, Hoare T, Li Y, Soleymani L. *Nat Chem*, 2021, 13: 895–901
- 56 Zhang D, Yan Y, Que H, Yang T, Cheng X, Ding S, Zhang X, Cheng W. *ACS Sens*, 2020, 5: 557–562
- 57 Hu J, Wang T, Kim J, Shannon C, Easley CJ. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 7066–7072
- 58 Thomas JM, Chakraborty B, Sen D, Yu HZ. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 13823–13833
- 59 Li H, Dauphin-Ducharme P, Arroyo-Currás N, Tran CH, Vieira PA, Li S, Shin C, Somerson J, Kippin TE, Plaxco KW. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 7492–7495
- 60 Li S, Wang Y, Zhang Z, Wang Y, Li H, Xia F. *Anal Chem*, 2021, 93: 5849–5855
- 61 Lin M, Wang J, Zhou G, Wang J, Wu N, Lu J, Gao J, Chen X, Shi J, Zuo X, Fan C. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 2151–2155
- 62 Li M, Liu J, Zhao H, Song L, Mao X, Ge Z, Li Q, Li F, Zuo X. *ACS Appl Bio Mater*, 2019, 3: 53–58
- 63 Jiang Y, Liu N, Guo W, Xia F, Jiang L. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 15395–15401
- 64 Wang P, Wan Y, Deng S, Yang S, Su Y, Fan C, Aldalbahi A, Zuo X. *Biosens Bioelectron*, 2016, 86: 536–541
- 65 Zhao T, Liu R, Ding X, Zhao J, Yu H, Wang L, Xu Q, Wang X, Lou X, He M, Xiao Y. *Anal Chem*, 2015, 87: 7712–7719
- 66 Liu Y, Canoura J, Alkhamis O, Xiao Y. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13: 9491–9499
- 67 Zhang X, Song C, Yang K, Hong W, Lu Y, Yu P, Mao L. *Anal Chem*, 2018, 90: 4968–4971
- 68 Jin J, Ji W, Li L, Zhao G, Wu W, Wei H, Ma F, Jiang Y, Mao L. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 19012–19016
- 69 Shi L, Wang L, Ma X, Fang X, Xiang L, Yi Y, Li J, Luo Z, Li G. *Anal Chem*, 2021, 93: 16646–16654
- 70 Yang Y, Xu J, Sun Y, Mo L, Liu B, Pan X, Liu Z, Tan W. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 8391–8401
- 71 Liu J, Chang J, Jiang Y, Meng X, Sun T, Mao L, Xu Q, Wang M. *Adv Mater*, 2019, 31: 1902575
- 72 Tang J, Liu J, Zheng Q, Li W, Sheng J, Mao L, Wang M. *Angew Chem Intl Edit*, 2021, 60: 22315–22321
- 73 Liu J, Liu Z, Wang W, Tian Y. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 21351–21359
- 74 Liu Y, Liu Z, Zhao F, Tian Y. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 14429–14437
- 75 Malinick AS, Lambert AS, Stuart DD, Li B, Puente E, Cheng Q. *ACS Sens*, 2020, 5: 3617–3626
- 76 Feng T, Ji W, Zhang Y, Wu F, Tang Q, Wei H, Mao L, Zhang M. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 23445–23449
- 77 Jiang C, Wang G, Hein R, Liu N, Luo X, Davis JJ. *Chem Rev*, 2020, 120: 3852–3889
- 78 Lin PH, Li BR. *Analyst*, 2020, 145: 1110–1120
- 79 Cheung KM, Yang KA, Nakatsuka N, Zhao C, Ye M, Jung ME, Yang H, Weiss PS, Stojanović MN, Andrews AM. *ACS Sens*, 2019, 4: 3308–3317
- 80 Idili A, Parolo C, Ortega G, Plaxco KW. *ACS Sens*, 2019, 4: 3227–3233
- 81 Ruan YF, Wang HY, Shi XM, Xu YT, Yu XD, Zhao WW, Chen HY, Xu JJ. *Anal Chem*, 2021, 93: 1200–1208
- 82 Song J, Xu CH, Huang SZ, Lei W, Ruan YF, Lu HJ, Zhao W, Xu JJ, Chen HY. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 13226–13230
- 83 Wang HY, Ruan YF, Zhu LB, Shi XM, Zhao WW, Chen HY, Xu JJ. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 13244–13250
- 84 Xu YT, Ruan YF, Wang HY, Yu SY, Yu XD, Zhao WW, Chen HY, Xu JJ. *Small*, 2021, 17: 2100503
- 85 Zheng J, Shi H, Wang M, Duan C, Huang Y, Li C, Xiang Y, Li G. *Anal Chem*, 2020, 92: 2194–2200
- 86 Kong D, Wang X, Gu C, Guo M, Wang Y, Ai Z, Zhang S, Chen Y, Liu W, Wu Y, Dai C, Guo Q, Qu D, Zhu Z, Xie Y, Liu Y, Wei D. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 17004–17014
- 87 Kwon J, Lee Y, Lee T, Ahn JH. *Anal Chem*, 2020, 92: 5524–5531
- 88 Nakatsuka N, Yang KA, Abendroth JM, Cheung KM, Xu X, Yang H, Zhao C, Zhu B, Rim YS, Yang Y, Weiss PS, Stojanović MN, Andrews AM. *Science*, 2018, 362: 319–324

- 89 Li BR, Hsieh YJ, Chen YX, Chung YT, Pan CY, Chen YT. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 16034–16037
- 90 Downs AM, Gerson J, Hossain MN, Ploense K, Pham M, Kraatz HB, Kippin T, Plaxco KW. *ACS Sens*, 2021, 6: 2299–2306
- 91 Feng T, Ji W, Tang Q, Wei H, Zhang S, Mao J, Zhang Y, Mao L, Zhang M. *Anal Chem*, 2019, 91: 10786–10791
- 92 Xiao T, Jiang Y, Ji W, Mao L. *Anal Chem*, 2018, 90: 4840–4846
- 93 Zhang L, Xu T, Ji W, Wang X, Cheng S, Zhang S, Zhang Y, Zhang M. *Anal Chem*, 2021, 93: 7063–7070
- 94 Yu SY, Ruan YF, Liu YL, Han DM, Zhou H, Zhao WW, Jiang D, Xu JJ, Chen HY. *ACS Sens*, 2021, 6: 1529–1535
- 95 Wu L, Wang Y, Zhu L, Liu Y, Wang T, Liu D, Song Y, Yang C. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, 3: 2743–2764
- 96 Zhang J, Lin B, Wu L, Huang M, Li X, Zhang H, Song J, Wang W, Zhao G, Song Y, Yang C. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 14115–14119
- 97 Bao L, Deng W, Huang B, Gao H, Liu J, Ren L, Wei Q, Yu P, Xu Y, Qi F, Qu Y, Li F, Lv Q, Wang W, Xue J, Gong S, Liu M, Wang G, Wang S, Song Z, Zhao L, Liu P, Zhao L, Ye F, Wang H, Zhou W, Zhu N, Zhen W, Yu H, Zhang X, Guo L, Chen L, Wang C, Wang Y, Wang X, Xiao Y, Sun Q, Liu H, Zhu F, Ma C, Yan L, Yang M, Han J, Xu W, Tan W, Peng X, Jin Q, Wu G, Qin C. *Nature*, 2020, 583: 830–833
- 98 Zhang Z, Pandey R, Li J, Gu J, White D, Stacey HD, Ang JC, Steinberg CJ, Capretta A, Filipe CDM, Mossman K, Balion C, Miller MS, Salena BJ, Yamamura D, Soleymani L, Brennan JD, Li Y. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 24266–24274
- 99 Idili A, Parolo C, Alvarez-Diduk R, Merkoçi A. *ACS Sens*, 2021, 6: 3093–3101
- 100 Kacherovsky N, Yang LF, Dang HV, Cheng EL, Cardle II, Walls AC, McCallum M, Sellers DL, DiMaio F, Salipante SJ, Corti D, Veessler D, Pun SH. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 21211–21215
- 101 Ji W, Liu K, Zhao G, Wu F, Jiang Y, Hou L, Zhang M, Mao L. *ACS Sens*, 2021, 6: 546–552
- 102 Xu C, Wu F, Yu P, Mao L. *ACS Sens*, 2019, 4: 3102–3118
- 103 Mao L. *ACS Sens*, 2020, 5: 2659–2660
- 104 Leung KK, Downs AM, Ortega G, Kurnik M, Plaxco KW. *ACS Sens*, 2021, 6: 3340–3347
- 105 Li H, Arroyo-Currás N, Kang D, Ricci F, Plaxco KW. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 15809–15812
- 106 Ortega G, Kurnik M, Gautam BK, Plaxco KW. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 15349–15354
- 107 Parolo C, Idili A, Ortega G, Csordas A, Hsu A, Arroyo-Currás N, Yang Q, Ferguson BS, Wang J, Plaxco KW. *ACS Sens*, 2020, 5: 1877–1881
- 108 Jiang Y, Ma W, Ji W, Wei H, Mao L. *Analyst*, 2019, 144: 1711–1717
- 109 Yu P, He X, Zhang L, Mao L. *Anal Chem*, 2015, 87: 1373–1380
- 110 Zhang K, He X, Liu Y, Yu P, Fei J, Mao L. *Anal Chem*, 2017, 89: 6794–6799
- 111 Hou H, Jin Y, Wei H, Ji W, Xue Y, Hu J, Zhang M, Jiang Y, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 18996–19000
- 112 Shen H, Wang J, Liu H, Li Z, Jiang F, Wang FB, Yuan Q. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8: 19371–19378
- 113 Wang J, Wang Y, Hu X, Zhu C, Ma Q, Liang L, Li Z, Yuan Q. *Anal Chem*, 2019, 91: 823–829
- 114 Nano A, Furst AL, Hill MG, Barton JK. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 11631–11640
- 115 Dauphin-Ducharme P, Arroyo-Currás N, Plaxco KW. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 1304–1311
- 116 Joe C, Lee BH, Kim SH, Ko Y, Gu MB. *Biosens Bioelectron*, 2022, 199: 113884
- 117 Yu H, Chen Z, Liu Y, Alkhamis O, Song Z, Xiao Y. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 2993–3000

Electrochemical aptamer-based biosensors for *in vivo* analysis

Xin Li, Ying Jin, Ying Jiang^{*}

College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

^{*}Corresponding author (email: yingjiang@bnu.edu.cn)

Abstract: Chemistry is the molecular basis of life activities. Accurate acquisition of the distribution and composition variation of physiologically important molecules *in vivo* is of great significance for understanding sophisticated physiological and pathological processes of the human body. Electrochemical approaches, especially electrochemical aptamer-based biosensors, have the excellent characteristics of high specificity, a wide range of target molecules, and easy miniaturization, providing an effective tool for rapid, sensitive, and highly selective detection in complex physiological environments. In this review, we briefly summarize the design of the nucleic-acid-aptamer-based electrochemical biosensor and its application in *in vivo* analysis, and its future prospects and challenges were also discussed.

Keywords: *in vivo* analysis, aptamer, electrochemical biosensor, microelectrode

doi: [10.1360/SSC-2022-0008](https://doi.org/10.1360/SSC-2022-0008)