

片上脑机接口的构建与应用

乔冠吉 邵文威 李晓红

先进医用材料与医疗器械全国重点实验室 天津大学 天津 300072

摘要 片上脑机接口 (Brain-on-a-Chip Interface, BoCI) 通过将实验室培养“大脑”与微电极阵列耦合, 构建生物-电子混合系统, 利用刺激编码与神经信号解码实现与外界的信息交互。BoCI不仅为研究神经网络的信息处理、学习记忆机制提供了高度可控的实验平台, 也为开发新一代生物智能系统奠定了技术基础, 同时在神经调控与修复领域展现出重要应用潜力。本文系统综述了BoCI的研究进展, 首先阐述了构建BoCI的三大核心要素: 生物基础、电极接口及信息交互方法。在此基础上, 重点回顾了BoCI的两大应用方向, 生物计算和神经调控与修复。最后, 探讨了其面临的挑战及未来发展方向。

关键词 片上脑机接口; 脑类器官; 微电极阵列; 生物计算; 神经调控

The Construction and Applications of Brain-on-a-Chip Interfaces

Qiao Guan-ji, Shao Wen-wei, Li Xiao-hong

State Key Laboratory of Advanced Medical Materials and Medical Devices, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: Brain-on-a-Chip Interface (BoCI, Brain-on-a-chip Interface) couples laboratory-cultured “brains” with microelectrode arrays to form bioelectronic hybrid systems. These systems enable information exchange with external environments through stimulation encoding and neural signal decoding. BoCI provides a highly controllable experimental platform for studying neural network information processing and learning-memory mechanisms. It also establishes a technical foundation for developing next-generation biological intelligent systems. Additionally, BoCI shows significant potential in neuromodulation and neural repair applications. This review systematically summarises recent advances in BoCI research. First, it described three core components for building BoCI: biological foundations, electrode interfaces, and information interaction methods. Then, it focused on two major application directions: biological computing, neuromodulation and repair. Finally, it discussed current challenges and future development trends.

Keywords: Brain-on-a-Chip Interfaces; Brain Organoid; Microelectrode Arrays; Aiocomputing; Neuromodulation

脑机接口 (Brain-Machine Interfaces, BCI) 经过约20年的深入发展, 正在快速迈向各种临床应用。BCI已被用于为感知或运动障碍患者提供辅助工具, 并进一步被用作主动康复手段, 利用大脑可塑性实现神经功能恢复^[1-3]。然而由于伦理审查和干预手段的限制, 阻碍了脑机接口技术在解析大脑智能与信息交互机制方面的深入应用。

2008年, Bruce Wheeler首次提出了“芯片上的大脑 (Brain-on-a-Chip)”, 即片上脑, 这一新概念, 强调了片上脑是一种有效的简化体外模型, 不受体内研究的限制, 进而应用于神经机制解析、疾病建模及药物筛选等场景^[4]。其中的“大脑”主要包括取自于动物皮层, 海马, 脊髓的原代培养神经网络或脑切片。随着干细胞分化及细胞培养技术的发展, 实验室中构建“大脑”的方法已日益成熟。当前, 人胚胎干细胞

(Embryonic Stem Cells, ESCs) 或人诱导多能干细胞 (induced Pluripotent Stem Cells, iPSCs) 能够被诱导分化为二维神经网络或三维脑类器官, 这些模型不仅在结构和功能上与人脑具有更高的相似性, 而且能够模拟人类大脑的发育过程及其特征。电极芯片技术的进步提升了神经活动检测的分辨率, 为神经网络动态行为的解析提供了强大的工具, 此外, 片上脑缺乏自然的感觉输入, 需要通过刺激编码及神经信号的解码实现与外界的交互, 片上脑在交互过程中表现出计算能力并可以完成特定任务, 例如口语数字分类^[5-6]、图像识别^[7]和机器人控制^[8]。

片上脑与外部设备的交互过程和脑机接口存在相似性, “片上脑机接口 (Brain-on-a-Chip Interfaces, BoCI)” 的概念由此产生, 即体外培养的“大脑”与电极芯片耦合形成片上脑, 通过编解码和刺激-反馈系统, 实现其与外界进行信息

*[基金项目] 基金项目: 国家重点研发计划项目(2024YFB4707700); 国家自然科学基金资助项目 (No. 82171861)。

交互的技术^[9]。基于BoCI,可以深入研究生物脑的神经网络结构、信号传递规律以及学习记忆机制,为开发具有更强适应性、学习能力的生物智能系统提供理论基础和技术支持。此外,虽然脑机接口针对在体的人类或动物大脑,但两个系统都利用电极作为接口并采用编解码技术与外界交互。因此BoCI可以作为脑机接口的体外模型,避免侵入性人体或动物试验带来的安全性及伦理争议,提供神经调控方案或神经修复技术以及药物的开发和验证平台。另一方面,将片上脑移植到体内,并通过神经调控技术引导神经成熟及整合,在神经损伤修复领域具有重大意义。

本综述首先将介绍构建BoCI的三个主要部分,即生物基础(实验室“大脑”)、电极接口、信息交互。接下来,将从生物计算以及神经调控与修复两个方面回顾BoCI的应用。最后,将讨论BoCI研究面临的挑战及发展前景。

1 片上脑机接口的构建

片上脑机接口的构建主要涵盖生物基础、电极接口和信息交互三大核心部分。生物基础包括原代神经网络、脑切片及由多能干细胞分化而来的二维神经网络和三维脑类器官。电极接口以微电极阵列为主,分为平面和立体两种类型,具备刺激与记录双重功能。信息交互涵盖刺激编码和神经活动解码,通过编解码实现片上脑与外界的信息交互。图1所示为片上脑机接口的架构图。

1.1 生物基础

BoCI的生物基础即实验室培养“大脑”,是BoCI核心组成部分。取自于大鼠胎鼠皮层或海马的原代神经网络由于培养技术成熟,培养周期短,在研究中广泛使用^[10-11]。神经元培养三周后表现出同步放电特性,代表了神经网络的广泛连接及功能成熟^[12]。与解离的细胞培养相比,体外培养脑切片部分保留了神经元之间的生理连接环路^[13-14]。但脑切片制备过程中往往会造成组织损伤,最近的研究工作通过优化培养条件能够使脑切片在长达三周的培养过程中维持活力^[15-16]。

以上所述的体外培养原代神经网络及脑切片多取材于动物,人类样本少,成本高,且个体差异显著。2001年,Zhang等^[17]首次报道了从人ESCs进行神经分化的研究成果。自此以来,由ESCs或iPSCs分化为二维神经网络的方案不断建立和优化^[18-19]。通过加入不同的诱导因子可以诱导干细胞分化为不同类型的神经元,如谷氨酸能神经元^[20],GABA能神经元^[21]等。

二维神经网络无法准确模拟和复制真实脑组织的复杂性、细胞多样性以及三维结构化的特征^[22]。2013年,第一项在体外生成脑类器官并用于人类疾病研究的工作被报道^[23]。人脑类器官是从人类多能干细胞衍生的自组织三维结构,其发育过程模拟了胎儿发育的神经发育时间轨迹,并在类似的时间框架内重现了相应的细胞类型和基因表达谱^[24]。从功能成熟度来看,类器官中生成的神经元被证实能够形成突触结构,产生动作电位和钙瞬变^[25]。脑类器官可非定向分化为能够产生代表多种脑区的神经元和神经胶质细胞的全脑类器官。但由于缺乏精确的诱导和调控,全脑类器官的分化方向和结构组成具有较大的随机性和异质性^[26]。定向分化的脑类器官通过各种模式化因子来规范拟胚体的发育走向,从而分化为不同的大脑区域,如皮层^[27]、小脑^[28]、海马体^[29]、内侧神经节隆起(Medial Ganglion Eminence, MGE)^[30]等。

近年来,定向分化的脑类器官受到广泛关注,但其目前也存在局限性。首先,由于缺乏血管结构和循环系统,类器官内部不可避免地会形成坏死区域,限制了类器官的长期培养与成熟^[31]。目前开发了多种策略在类器官中建立血管结构,包括类器官与血管内皮细胞(Endothelial Cells, ECs)共培养^[32-33]、在脑类器官分化过程中同时调控血管内皮细胞的定向分化^[34]、引入微流体装置^[35]、3D生物打印血管系统^[36-37]、以及将类器官移植到免疫缺陷小鼠体内^[38]等。尽管这些方法在类器官血管化研究中取得了突破性进展,但仍无法生成完整的血管系统,在体外尚未实现完全灌注,缺乏血管功能。改善类器官内部营养缺乏的另一个方式是类器官的切片培养。Lancaster团队^[39]将大脑类器官切片培养在气液界面上,这种方法有助于氧气获取,并改善了轴突投射,其中深层神经元具有水平投射,而表层神经元则垂直投射。Ming团队(Sliced Human Cortical Organoids for Modeling Distinct Cortical Layer Formation)将皮质类器官切片置于在培养基中,并在摇床上培养,能够保持通常因位于类器官缺氧中心而死亡的脑室区的健康。

此外,单个脑区无法模拟体内的环路结构,为了克服这一问题,研究者们尝试通过类器官的融合培养来构建更复杂的神经网络。最初被报道的融合脑类器官是前脑类器官组装体,该研究^[41]通过融合背侧和腹侧脑类器官来模拟大脑中不同区域之间的复杂相互作用。研究人员成功地观察到GABA能中间神经元从腹侧脑类器官迁移到背侧脑类器官,并与背侧来源的谷氨酸能皮层神经元形成功能性突触。这与人类发育过程中的中间神经元迁移模式一致。皮层—丘脑融合模型是研究轴突投射的

有效模型，能够重现了人类丘脑和脑皮质之间的双向轴突投射发育过程^[42]。此外，中脑—纹状体—皮层^[43]、下丘脑—垂体^[45]等多种融合类器官模型被构建，用于模拟人类大脑发育过程的脑区交互作用。

尽管上述类器官的优化培养方法为构建与人类大脑更具相

似性的体外模型提供了有效的解决方案，但当前类器官在成熟度、细胞组成等方面仍与人类大脑存在显著差距。因此，亟需开发创新性方法来解决这些问题，以进一步提升类器官模型的生物学相关性和应用价值。

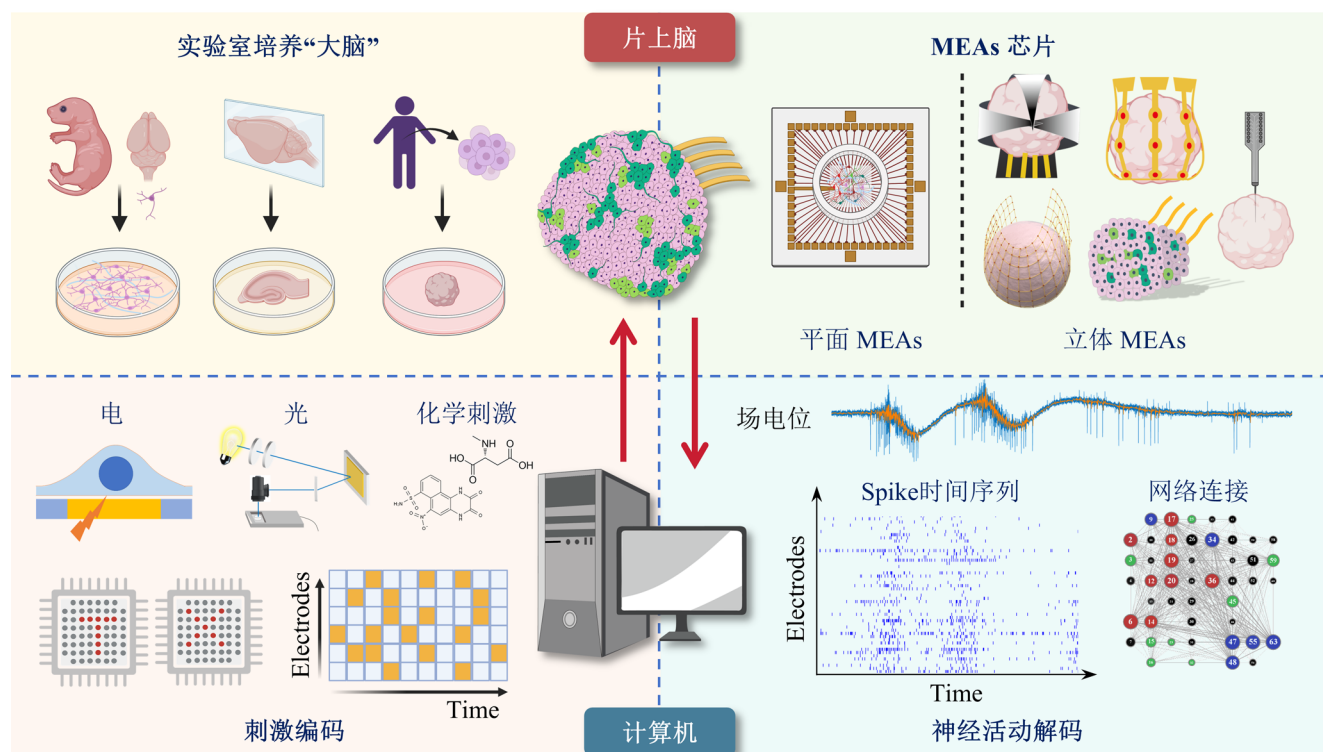


图1 片上脑机接口架构图

Fig.1 Architecture overview of BoCI

1.2 电极接口

微电极阵列 (Microelectrode Arrays, MEAs) 芯片具有非侵入性，可同步长期记录大量神经元，兼具刺激及记录双重功能的优势^[46]，适合用作片上脑机接口的电极接口。MEAs目前有多种类型，包括平面MEAs及立体MEAs^[9]。平面MEAs用于监测二维平面上的神经信号，其发展呈现出从低密度向高密度的趋势。低密度MEAs通常包含64~256个微电极，电极间距大于100微米^[47]。这种设计使得MEAs能够记录神经网络中生长于电极上的神经信号，但仅能覆盖少部分神经元。由于电极间距较大，MEAs更适合用于网络层面的电生理分析，而非单个神经元的详细记录。2015年，Lab Chip上发表了瑞士的研究人员利用互补金属氧化物半导体 (CMOS) 技术开发的具有26400个微电极的高密度电极阵列，电极间距为17.5 μm ，能够在不同空间尺度上实现对神经网络内电生理信号的精确分析^[48]。有研究

采用CMOS 技术进一步增大了电极密度，在5.5 mm × 5.9 mm的面积上集成了236880个，电极间距减小到了0.25 μm ，为网络内单细胞识别、重建和单突触连接的分析提供了支持^[49]。

由于平面MEAs只能记录与MEAs接触的一小部分区域的电生理信号，其更适用于二维神经网络，而非脑类器官。为了解决这一问题，有研究将针状刚性MEAs植入类器官用于电生理记录^[50-51]，但植入式刚性的MEAs不可避免地会造成类器官的损伤，且刚性电极在记录神经活动时存在机械不匹配、长期植入稳定性差等问题。为解决以上问题，研究者开发了多种三维柔性微电极阵列以适应脑类器官信号检测的需求。受脑电图帽的启发，美国研究团队设计了柔性3D壳状MEAs，采用自折叠透明聚合物壳体，集成金属电极及导电高分子涂层，通过可折叠策略适配不同尺寸脑类器官，实现对400~600 μm 类器官的电生理记录，可稳定记录超过4周^[52]。此外，Science Advance

报道了具备机械柔性或多模态集成能力的三维壳状MEAs,可贴合类器官表面实现高分辨率电记录、光刺激、热调控与生化感知功能,通过改变电极的组装方式,这种壳状MEAs还适用于类器官的融合^[53]。浙江大学研究团队^[54]开发了一种基于液态金属-聚合物导体(Metal-Polymer Conductor, MPC)的3D网状MEAs,具有柔性和延展性,在捕捉神经信号能够保证类器官与外界的营养交换。该领域另一个令人瞩目的研究成果是共生式MEAs的开发,Le Floch等^[55]设计了一种柔性网状MEAs,其在类器官生成过程中通过自身形变嵌入类脑组织内部,可在类器官体积和形态变化过程中保持稳定接触。研究显示,该网状电子结构不会干扰神经组织发育,可实现对神经元从早期发育阶段开始的长期单细胞动作电位记录,为脑类器官的神经动力学研究提供了新范式支持。

1.3 信息交互

信息交互是片上脑机接口实现功能的关键环节,涉及将外界信息编码为神经网络可识别的刺激信号,以及将神经网络的活动解码为有意义的输出。以下将分别介绍刺激编码和神经活动解码的方法及其研究进展。

1.3.1 刺激编码

通过将外界信息编码为刺激信号,片上脑能够对外界信息进行读取及处理。目前在片上脑机接口中应用的刺激方式包括电刺激、光刺激及化学刺激。化学刺激通过特定的化学物质改变神经网络兴奋性,如应用NMDA和5-HT的混合物触发神经活动,NBQX和APV处理可以抑制神经活动^[56]。化学刺激往往作用于全局网络,无法用于精确的神经编码。电刺激通过MEAs芯片施加,能够对电极位点上的神经元进行刺激,在片上脑机接口系统中被广泛使用。但由于刺激及记录共用电极,存在刺激伪迹,导致刺激后数毫秒时间窗口内的神经信号无法准确检测^[57]。光刺激系统通过集成数字微镜反射器(Digital Micromirror Device, DMD),能够灵活施加任意图案的刺激,且不会产生刺激伪迹^[7]。此外,通过结合显微成像技术,光刺激系统能够实现对特定单个神经元的刺激^[58]。神经细胞本身无法感受光刺激,需要通过光遗传技术将外源光敏感蛋白基因导入活细胞中,光敏蛋白可分为激活型和抑制型,片上脑机接口的构建常使用激活型光敏蛋白,ChR2是最常用的激活型通道蛋白之一,能够在470 nm的蓝光下产生膜电位变化,从而控制神经元的兴奋性^[59]。

为了利用片上脑的生物计算能力,神经编码方案旨在通过不同的刺激输入,使网络产生可分离的输出,目前的编码方式

主要有空间位点编码^[60],时间编码^[5-6]以及时空刺激编码^[61]。空间编码对特定的空间位点进行刺激,受限于刺激位点数量,可产生的刺激图案有限,而时间编码及时空编码允许通过刺激时间序列的设计产生大量刺激模式。

1.3.2 神经活动解码

神经活动可以从锋电位(Spike),局部场电位(Local Field Potential, LFP),网络连接的角度进行解码分析。研究表明,片上脑将输入刺激编码为更高维度的表示。通过提取刺激后几十毫秒内的Spike响应信号输入解码器(如支持向量机),可以识别原本无法线性分离的输入刺激模式^[62-63]。Spike是神经元在兴奋性刺激下发生的快速且短暂的膜电位改变,在网络信息传递中起关键作用。检测Spike时,首先对每个电极通道的信号进行带通滤波(如300~3000 Hz),之后采用阈值检测法进行检测。由于一个电极可能检测到多个神经元的Spike,同一神经元发放的Spike也可能被多个电极检测,为了对单个神经元的电生理特征进行分析,研究者开发了用于Spike分类的算法程序,如Kilosort^[64]、Spiking Circus^[65]、Wave_clus^[66]等。在识别出单个神经元的Spike后,还可以基于神经元Spike的平均波形识别兴奋性神经元及抑制性神经元,从而对网络结构及动力学特征开展进一步分析。研究表明,相比于兴奋性神经元,抑制性神经元的Spike波形具有更大的不对称性指数,更小的半波宽度和谷一峰间隔,且抑制性神经元表现出更高的放电率^[67-68]。

局部场电位由神经元群体的同步活动产生,是低频信号,可通过300 Hz低通滤波提取^[69]。有研究表明,通过重复刺激对片上脑进行训练后,可以提高局部场电位中与学习记忆有关的低频(1~8 Hz)能量的占比^[60]。

片上脑网络连接的识别基于Spike放电序列建立,通过计算神经元放电序列的互相关系数或峰值时间平铺系数识别神经元之间的连接强度,可以用于构建功能连接网络^[70]。Lamberti等^[71]使用最大熵模型用于神经网络功能连通性的估计,这种方法能够在外部刺激的条件下检测神经元之间连接的变化,并且能够推断出神经元间的兴奋性与抑制性连接。此外,通过传递熵能够识别神经元连接的强度和方向性,从而建立有效连接网络。Antonello等^[72]通过建立培养的海马神经网络的有效网络,基于网络中节点度、网络密度、介数中心性以及邻近中心性4个网络指标确定了在网络中起关键作用的枢纽节点。该研究团队^[73]还通过传递熵分析,研究了大鼠海马神经元培养中有效连接网络的形成过程。研究发现,随着发育时间的推移,网络连接数量逐渐增加,网络拓扑从分离的结构转变为更整合的架构。小

世界架构和模块化拓扑逐渐显现，高度活跃的神经元成为网络的关键节点和模块整合者。以上分析方法为理解神经网络的信息流动和调控机制提供新手段和强有力的工具。

2 片上脑机接口的应用

片上脑机接口在生物计算和神经调控与修复领域展现出广阔的应用前景。在生物计算方面，片上脑机接口表现出模式识别能力，且可处理复杂任务，如小车避障、机械臂控制等。在神经调控与修复领域，片上脑机接口技术可用于测试神经调控方案，助力神经假体开发，并促进神经功能修复。

2.1 生物计算

近年来，人工智能发展迅速，在某些特定任务上超越了人类大脑^[74-75]。然而，当涉及到需要适应性学习和更抽象的认知任务时，人工智能尚无法与生物脑相匹敌，且生物脑在学习效率和能源效率上远高于人工智能^[76]。对片上脑生物计算的研究一方面旨在帮助我们理解生物神经网络在信息处理，学习记忆等方面的机制，启发人工智能的进步；另一方面，可直接利用片上脑的生物计算优势，以体外培养“大脑”为信息处理中心，应用于各种复杂任务。

研究证明，片上脑在接收到特定的图像或声音编码刺激后，能够产生相应的神经活动模式，表现出与体内大脑类似的初步识别能力^[6-7,60]。片上脑在接受重复的刺激训练后，体现出突触可塑性。即片上脑可以根据刺激输入动态调整网络结构，进而提升模式识别能力^[60,77]。片上脑机接口在信息处理过程中展现出一些与体内大脑相似的特点，如泛化能力^[5]、预测^[78]、盲源分析^[79]和并行记忆^[80]等。这些特点使得片上脑机接口在处理复杂信息时具有独特的优势。在产业化应用方面，瑞士初创公司FinalSpark^[81]推出的开放式远程硬件—软件平台，专门为基于脑类器官的生物计算研究提供支持；而Cortical Labs公司研发的生物计算机CL1已实现商业化生产，标志着片上脑机接口技术在商业化应用方面迈出了重要一步。

为进一步验证片上脑机接口在复杂任务中的应用，部分研究利用体外生物神经网络的计算能力进行外部控制。目前已实现了基于片上脑机接口控制的小车跟踪^[82]及避障^[83]任务，机械臂控制任务^[84]，模拟飞行任务^[85]等。Kagan等人构建了基于大鼠原代及人源分化神经网络的片上脑机接口系统，将其用于乒乓球游戏任务。通过构建一条连接神经网络与游戏环境的感觉运动通路，其中球和球拍的位置被编码为特定的电刺激信号，输

入至培养的神经网络。神经网络运动区域的神经活动被记录并解码，用于控制游戏中球拍的运动。系统根据神经网络的表现提供反馈：未能成功拦截球时给予负反馈，而成功拦截时给予正反馈，能够使得神经网络能够快速学习并优化游戏表现^[86]。为了提升训练效率，有研究在训练过程中引入自适应机制，基于任务表现不断更新刺激或训练策略，类似于体内的强化学习过程^[87-88]，为建立更具智能的控制系统提供了参考方案。

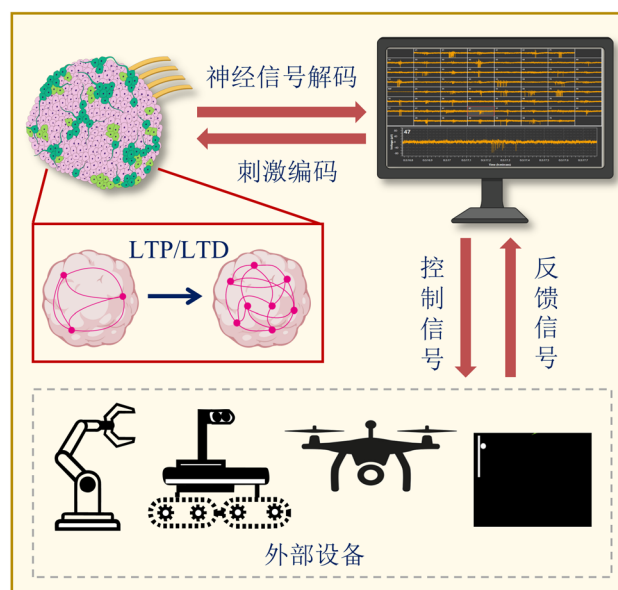


图2 基于片上脑机接口的闭环控制

Fig.2 BoCI based closed-loop control system

2.2 神经调控与修复

与体内相比，BoCI可以被更加便捷和全面地进行监测、调控和建模，为神经调控策略的开发和验证提供了重要平台，如图3所示。研究表明，在癫痫、帕金森等神经系统疾病中，异常的神经网络振荡是关键的病理特征^[89]。De Castro团队^[90]利用大鼠海马神经元构建的BoCI系统，系统评估了延迟反馈控制（DFC）对神经振荡的调控效果。值得注意的是，研究发现传统DFC方案可能加剧神经振荡，而改进后的自适应DFC方案则能有效抑制异常放电，使神经元活动恢复至更接近生理状态。此外，BoCI为神经假体的开发提供了可控的测试平台。Bonifazi等^[91]将体外培养大鼠原代网络作为开发计算机模型的范例，基于Izhikevich神经元的神经网络模型能够重现培养生物神经网络的爆发特征。该模型被整合到神经形态设备中，将其与缺血性损伤的脑组织建立双向连接，能够准实时（10 ns精度）重现受损部分的功能组织。Beaubeis等^[92]开发了一个名为BioemuS的实时仿真平台，能够模拟多达1024个Hodgkin-Huxley神经元，这些神经元具有完全可配置的突触。通过调整突触噪

声、突触权重和抑制性/兴奋性神经元比例等参数，将模型的平均放电率，平均爆发率，爆发持续时间与从皮质类器官或体内记录的进行比较，能够获得最佳配置以模拟生物神经网络的活动。该研究为构建更贴近生物网络特性的神经假体提供了创新的方法和平台。

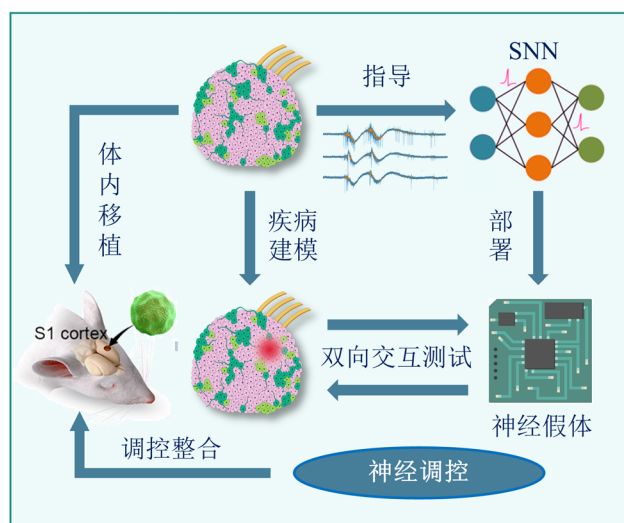


图3 基于片上脑机接口的神经调控与修复

Fig.3 BoCI based neural modulation and repair

基于脑机接口的刺激调控能够调节神经组织的可塑性，有助于受损大脑组织的恢复。但当损伤区域形成较大的空腔时，由于缺乏生物基础，脑机接口难以有效工作。脑类器官是在体外培养的三维（3D）神经组织，能够模拟人类大脑的神经发生、神经元迁移、皮层分层以及神经回路，将其移植到宿主损伤区域能够与宿主大脑整合，进而实现神经修复治疗^[23]。然而，类器官移植仍然存在一些不可忽视的问题。未成熟的类器官含有大量的脑室区（Ventricular Zone, VZ）细胞，可能会在宿主大脑中过度生长^[93]。此外，从移植体到宿主大脑的传出投射是自发的，限制了移植体和宿主之间目标神经回路的重建^[94]。天津大学团队通过结合类器官及脑机接口的优势，在移植到小鼠体内的脑类器官内植入电极构建类器官—脑机接口。在早期阶段进行刺激调控后，类器官的分化和成熟得到增强。

参考文献:

- [1] LEBEDEV M A, NICOLELIS M A L. Brain-machine interfaces: from basic science to neuroprostheses and neurorehabilitation[J]. *Physiological reviews*, 2017, 97(2): 767-837.
- [2] LIU Y, HUANG S, WANG Z, et al. Functional reorganization after four-week brain-computer interface-controlled supernumerary robotic finger training: a pilot study of longitudinal resting-state fMRI[J]. *Frontiers in neuroscience*, 2021, 15: 766648.

在晚期阶段进行刺激调控后，类器官和宿主大脑之间发展出结构—功能连接，显示出增加的突触连接，并最终促进宿主受损功能的修复^[95]。作为片上脑机接口在体内的一种创新应用方式，类器官-脑机接口为神经损伤的修复提供了新方法。

3 总结与展望

片上脑机接口作为新兴的交叉学科研究领域，通过将体外培养的神经组织与电子系统有机结合，为理解大脑工作机制、开发神经修复技术和构建新型智能系统提供了独特的研究平台。本综述系统梳理了构建BoCI的三个核心组成部分：生物基础、电极接口以及信息交互技术。研究表明，BoCI不仅能够模拟神经网络的动态特性与学习机制，还可应用于复杂任务控制（如机器人操作）。片上脑机接口作为有效的体外模型，在神经调控与修复领域的应用也日益受到关注。

然而，该领域仍面临诸多挑战：在生物模型方面，二维神经网络的结构简化性和脑类器官的血管化不足、区域特异性缺乏以及功能成熟度有限等问题亟待解决；在接口技术方面，电极与神经组织的机械失配、长期植入的稳定性、多模态刺激集成等瓶颈制约着系统性能；在信息交互方面，低效的神经编解码、刺激伪迹干扰以及大规模神经数据处理等难题仍需突破；此外，随着类器官复杂度的提升，相关的伦理和安全问题也日益凸显。

BoCI研究需要从多个维度寻求突破：首先，通过合成生物学、材料科学和微纳加工等跨学科技术创新，优化类器官培养体系，开发新型生物相容性接口；其次，建立更完善的神经信息处理理论和生物—机器混合学习算法，提升系统性能。最后，追求技术突破的同时，必须重视相关的伦理考量，建立完善的监管框架。随着这些关键问题的逐步解决，BoCI有望从基础研究走向临床应用，不仅将深化我们对大脑工作机制的理解，还将为神经系统疾病的治疗和类脑智能的发展提供全新的技术路径。

- [3] DONATI A R C, SHOKUR S, MORYA E, et al. Long-term training with a brain-machine interface-based gait protocol induces partial neurological recovery in paraplegic patients[J]. *Scientific reports*, 2016, 6: 30383.
- [4] WHEELER B C. Building a brain on a chip[C]//2008 30th annual international conference of the IEEE engineering in medicine and biology society. Vancouver, BC: IEEE, 2008: 1604-1606.
- [5] SUMI T, YAMAMOTO H, KATORI Y, et al. Biological neurons

- act as generalization filters in reservoir computing[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 2023, 120(25): e2217008120.
- [6] CAI H, AO Z, TIAN C, et al. Brain organoid reservoir computing for artificial intelligence[J]. Nature electronics, 2023, 6(12): 1032–1039.
- [7] ZHANG X, YE H F C, JU H, et al. Familiarity detection and memory consolidation in cortical assemblies[J]. eNeuro, 2020, 7(3): ENEURO.0253–19.2020.
- [8] CHEN Z, LIANG Q, WEI Z, et al. An overview of in vitro biological neural networks for robot intelligence[J]. Cyborg and bionic systems, 2023, 4: 0001.
- [9] SHAO W, MENG W, ZUO J, et al. Opportunities and challenges of brain-on-a-chip interfaces[J]. Cyborg and bionic systems, 2025, 6: 0287.
- [10] KAECH S, BANKER G. Culturing hippocampal neurons[J]. Nature protocols, 2006, 1(5): 2406–2415.
- [11] BJÖRKLUND U, PERSSON M, RÖNNBÄCK L, et al. Primary cultures from cerebral cortex and hippocampus enriched in glutamatergic and GABAergic neurons[J]. Neurochemical research, 2010, 35(11): 1733–1742.
- [12] CHEN W J, XIANG N, FENG X, et al. Long-term characterization of functional structure of cultured hippocampal neuronal networks[J]. Chinese science bulletin, 2010, 55(25): 2531–2538.
- [13] JOHNSON H A, GOEL A, BUONOMANO D V. Neural dynamics of in vitro cortical networks reflects experienced temporal patterns[J]. Nature neuroscience, 2010, 13(8): 917–919.
- [14] LIU B, BUONOMANO D V. Ex vivo cortical circuits learn to predict and spontaneously replay temporal patterns[J]. Nature communications, 2025, 16(1): 3179.
- [15] SCHWARZ N, UYSAL B, WELZER M, et al. Long-term adult human brain slice cultures as a model system to study human CNS circuitry and disease[J]. eLife, 2019, 8: e48417.
- [16] SCHWARZ N, HEDRICH U B S, SCHWARZ H, et al. Human cerebrospinal fluid promotes long-term neuronal viability and network function in human neocortical organotypic brain slice cultures[J]. Scientific reports, 2017, 7(1): 12249.
- [17] ZHANG S C, WERNIG M, DUNCAN I D, et al. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells[J]. Nature biotechnology, 2001, 19(12): 1129–1133.
- [18] ÁLVAREZ Z, ORTEGA J A, SATO K, et al. Artificial extracellular matrix scaffolds of mobile molecules enhance maturation of human stem cell-derived neurons[J]. Cell stem cell, 2023, 30(2): 219–238.
- [19] SHI Y, KIRWAN P, SMITH J, et al. Human cerebral cortex development from pluripotent stem cells to functional excitatory synapses[J]. Nature neuroscience, 2012, 15(3): 477–486.
- [20] D'AIUTO L, ZHI Y, KUMAR DAS D, et al. Large-scale generation of human iPSC-derived neural stem cells/early neural progenitor cells and their neuronal differentiation[J]. Organogenesis, 2014, 10(4): 365–377.
- [21] LIU Y, LIU H, SAUVEY C, et al. Directed differentiation of forebrain GABA interneurons from human pluripotent stem cells[J]. Nature protocols, 2013, 8(9): 1670–1679.
- [22] VASHISHAT A, PATEL P, DAS GUPTA G, et al. Alternatives of animal models for biomedical research: a comprehensive review of modern approaches[J]. Stem cell reviews and reports, 2024, 20(4): 881–899.
- [23] LANCASTER M A, RENNER M, MARTIN C A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly[J]. Nature, 2013, 501(7467): 373–379.
- [24] RENNER M, LANCASTER M A, BIAN S, et al. Self-organized developmental patterning and differentiation in cerebral organoids[J]. The EMBO journal, 2017, 36(10): 1316–1329.
- [25] TRUJILLO C A, GAO R, NEGRAES P D, et al. Complex oscillatory waves emerging from cortical organoids model early human brain network development[J]. Cell stem cell, 2019, 25(4): 558–569.
- [26] XIANG Y, PARK I H. Brain organoids: from unguided to regionalized to nucleus-specific[J]. Life medicine, 2024, 3(2): lnae014.
- [27] PAŞCA A M, SLOAN S A, CLARKE L E, et al. Functional cortical neurons and astrocytes from human pluripotent stem cells in 3D culture[J]. Nature methods, 2015, 12(7): 671–678.
- [28] MUGURUMA K, NISHIYAMA A, KAWAKAMI H, et al. Self-organization of polarized cerebellar tissue in 3D culture of human pluripotent stem cells[J]. Cell reports, 2015, 10(4): 537–550.
- [29] SAKAGUCHI H, KADOSHIMA T, SOEN M, et al. Generation of functional hippocampal neurons from self-organizing human embryonic stem cell-derived dorsomedial telencephalic tissue[J]. Nature communications, 2015, 6: 8896.
- [30] XIANG Y, TANAKA Y, PATTERSON B, et al. Fusion of regionally specified hPSC-derived organoids models human brain development and interneuron migration[J]. Cell stem cell, 2017, 21(3): 383–398.

- [31] LI M, GAO L, ZHAO L, et al. Toward the next generation of vascularized human neural organoids[J]. *Medicinal research reviews*, 2023, 43(1): 31–54.
- [32] TAKEBE T, ENOMURA M, YOSHIZAWA E, et al. Vascularized and complex organ buds from diverse tissues via mesenchymal cell-driven condensation[J]. *Cell stem cell*, 2015, 16(5): 556–565.
- [33] PHAM M T, POLLOCK K M, ROSE M D, et al. Generation of human vascularized brain organoids[J]. *Neuroreport*, 2018, 29(7): 588–593.
- [34] HAM O, JIN Y B, KIM J, et al. Blood vessel formation in cerebral organoids formed from human embryonic stem cells[J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2020, 521(1): 84–90.
- [35] ZHANG S, WAN Z, KAMM R D. Vascularized organoids on a chip: strategies for engineering organoids with functional vasculature[J]. *Lab on a chip*, 2021, 21(3): 473–488.
- [36] YUE H, XIE K, JI X, et al. Vascularized neural constructs for ex-vivo reconstitution of blood-brain barrier function[J]. *Biomaterials*, 2020, 245: 119980.
- [37] MILLER J S, STEVENS K R, YANG M T, et al. Rapid casting of patterned vascular networks for perfusable engineered three-dimensional tissues[J]. *Nature materials*, 2012, 11(9): 768–774.
- [38] MANSOUR A A F, GONÇALVES J T, BLOYD C W, et al. An in vivo model of functional and vascularized human brain organoids[J]. *Nature biotechnology*, 2018, 36(5): 432–441.
- [39] GIANDOMENICO S L, MIERAU S B, GIBBONS G M, et al. Cerebral organoids at the air-liquid interface generate diverse nerve tracts with functional output[J]. *Nature neuroscience*, 2019, 22(4): 669–679.
- [40] QIAN X, SU Y, ADAM C D, et al. Sliced human cortical organoids for modeling distinct cortical layer formation[J]. *Cell stem cell*, 2020, 26(5): 766–781.
- [41] BIREY F, ANDERSEN J, MAKINSON C D, et al. Assembly of functionally integrated human forebrain spheroids[J]. *Nature*, 2017, 545(7652): 54–59.
- [42] XIANG Y, TANAKA Y, CAKIR B, et al. hESC-derived thalamic organoids form reciprocal projections when fused with cortical organoids[J]. *Cell stem cell*, 2019, 24(3): 487–497.
- [43] REUMANN D, KRAUDITSCH C, NOVATCHKOVA M, et al. In vitro modeling of the human dopaminergic system using spatially arranged ventral midbrain-striatum-cortex assembloids[J]. *Nature methods*, 2023, 20(12): 2034–2047.
- [44] KASAI T, SUGA H, SAKAKIBARA M, et al. Hypothalamic contribution to pituitary functions is recapitulated in vitro using 3D-cultured human iPS cells[J]. *Cell reports*, 2020, 30(1): 18–24.
- [45] SPIRA M E, HAI A. Multi-electrode array technologies for neuroscience and cardiology[J]. *Nature nanotechnology*, 2013, 8(2): 83–94.
- [46] XU S, DENG Y, LUO J, et al. High-throughput PEDOT:PSS/PtNPs-modified microelectrode array for simultaneous recording and stimulation of hippocampal neuronal networks in gradual learning process[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2022, 14(13): 15736–15746.
- [47] MÜLLER J, BALLINI M, LIVI P, et al. High-resolution CMOS MEA platform to study neurons at subcellular, cellular, and network levels[J]. *Lab on a chip*, 2015, 15(13): 2767–2780.
- [48] SUZUKI I, MATSUDA N, HAN X, et al. Large-area field potential imaging having single neuron resolution using 236 880 electrodes CMOS-MEA technology[J]. *Advanced science*, 2023, 10(20): 2207732.
- [49] QUADRATO G, NGUYEN T, MACOSKO E Z, et al. Cell diversity and network dynamics in photosensitive human brain organoids[J]. *Nature*, 2017, 545(7652): 48–53.
- [50] SHARF T, VAN DER MOLEN T, GLASAUER S M K, et al. Functional neuronal circuitry and oscillatory dynamics in human brain organoids[J]. *Nature communications*, 2022, 13(1): 4403.
- [51] HUANG Q, TANG B, ROMERO J C, et al. Shell microelectrode arrays (MEAs) for brain organoids[J]. *Science advances*, 2022, 8(33): eabq5031.
- [52] PARK Y, FRANZ C K, RYU H, et al. Three-dimensional, multifunctional neural interfaces for cortical spheroids and engineered assembloids[J]. *Science advances*, 2021, 7(12): eabf9153.
- [53] WU Y, CHENG J, QI J, et al. Three-dimensional liquid metal-based neuro-interfaces for human hippocampal organoids[J]. *Nature communications*, 2024, 15(1): 4047.
- [54] LE FLOCH P, LI Q, LIN Z, et al. Stretchable mesh nanoelectronics for 3D single-cell chronic electrophysiology from developing brain organoids[J]. *Advanced materials*, 2022, 34(11): 2106829.
- [55] YIN Y, ZHOU W, ZHU J, et al. Generation of self-organized neuromusculoskeletal tri-tissue organoids from human pluripotent stem cells[J]. *Cell stem cell*, 2025, 32(1): 157–171.
- [56] RUARO M E, BONIFAZI P, TORRE V. Toward the neurocomputer: image processing and pattern recognition with neuronal cultures[J]. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, 2005, 52(3): 371–383.
- [57] KOBAYASHI T, SHIMBA K, NARUMI T, et al. Revealing single-

- neuron and network-activity interaction by combining high-density microelectrode array and optogenetics[J]. *Nature communications*, 2024, 15(1): 9547.
- [58] TAKAHASHI H, SAKURAI T, SAKAI H, et al. Light-addressed single-neuron stimulation in dissociated neuronal cultures with sparse expression of ChR2[J]. *Bio systems*, 2012, 107(2): 106–112.
- [59] SHAO W W, SHAO Q, XU H H, et al. Repetitive training enhances the pattern recognition capability of cultured neural networks[J]. *PLoS computational biology*, 2025, 21(4): e1013043.
- [60] JU H, DRANIAS M R, BANUMURTHY G, et al. Spatiotemporal memory is an intrinsic property of networks of dissociated cortical neurons[J]. *The journal of neuroscience: the official journal of the society for neuroscience*, 2015, 35(9): 4040–4051.
- [61] GEORGE J B, ABRAHAM G M, RASHID Z, et al. Random neuronal ensembles can inherently do context dependent coarse conjunctive encoding of input stimulus without any specific training[J]. *Scientific reports*, 2018, 8(1): 1403.
- [62] GEORGE J B, ABRAHAM G M, SINGH K, et al. Input coding for neuro-electronic hybrid systems[J]. *Biosystems*, 2014, 126: 1–11.
- [63] PACHITARIU M, SRIDHAR S, PENNINGTON J, et al. Spike sorting with Kilosort4[J]. *Nature methods*, 2024, 21(5): 914–921.
- [64] YGER P, SPAMPINATO G L, ESPOSITO E, et al. A spike sorting toolbox for up to thousands of electrodes validated with ground truth recordings in vitro and in vivo[J]. *eLife*, 2018, 7: e34518.
- [65] CHAURE F J, REY H G, QUIAN QUIRÓGA R. A novel and fully automatic spike-sorting implementation with variable number of features[J]. *Journal of neurophysiology*, 2018, 120(4): 1859–1871.
- [66] DAI Y, SONG Y, XIE J, et al. CB1-antibody modified liposomes for targeted modulation of epileptiform activities synchronously detected by microelectrode arrays[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2020, 12(37): 41148–41156.
- [67] ENGLISH D F, MCKENZIE S, EVANS T, et al. Pyramidal cell-interneuron circuit architecture and dynamics in hippocampal networks[J]. *Neuron*, 2017, 96(2): 505–520.
- [68] MENG W W, SHAO Q, SHAO W W, et al. Plasticity of cultured neural networks in vitro[J]. *Progress in biochemistry and biophysics*, 2024, 51(5): 1000–1009.
- [69] RUBINOV M, SPORNS O. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations[J]. *NeuroImage*, 2010, 52(3): 1059–1069.
- [70] LAMBERTI M, HESS M, DIAS I, et al. Maximum entropy models provide functional connectivity estimates in neural networks[J]. *Scientific reports*, 2022, 12(1): 9656.
- [71] KAJIWARA M, NOMURA R, GOETZE F, et al. Inhibitory neurons exhibit high controlling ability in the cortical microconnectome[J]. *PLOS computational biology*, 2021, 17(4): e1008846.
- [72] ANTONELLO P C, VARLEY T F, BEGGS J, et al. Self-organization of in vitro neuronal assemblies drives to complex network topology[J]. *eLife*, 2022, 11: e74921.
- [73] VINYS O, BABUSCHKIN I, CZARNECKI W M, et al. Grandmaster level in StarCraft II using multi-agent reinforcement learning[J]. *Nature*, 2019, 575(7782): 350–354.
- [74] SILVER D, SCHRITTWIESER J, SIMONYAN K, et al. Mastering the game of Go without human knowledge[J]. *Nature*, 2017, 550(7676): 354–359.
- [75] SMIRNOVA L, CAFFO B S, GRACIAS D H, et al. Organoid intelligence (OI): the new frontier in biocomputing and intelligence-in-a-dish[J]. *Frontiers in science*, 2023, 1: 1017235.
- [76] SHAO Q, MENG W W, LI X H. Plasticity of cultured neural networks in vitro[J]. *Progress in biochemistry and biophysics*, 2024, 51(5): 1000–1009.
- [77] LAMBERTI M, TRIPATHI S, VAN PUTTEN M J A M, et al. Prediction in cultured cortical neural networks[J]. *PNAS nexus*, 2023, 2(6): pgad188.
- [78] ISOMURA T, KOTANI K, JIMBO Y. Cultured cortical neurons can perform blind source separation according to the free-energy principle[J]. *PLoS computational biology*, 2015, 11(12): e1004643.
- [79] LE FEBER J, WITTEVEEN T, VAN VEENENDAAL T M, et al. Repeated stimulation of cultured networks of rat cortical neurons induces parallel memory traces[J]. *Learning & memory*, 2015, 22(12): 594–603.
- [80] JORDAN F D, KUTTER M, COMBY J M, et al. Open and remotely accessible Neuroplatform for research in wetware computing[J]. *Frontiers in artificial intelligence*, 2024, 7: 1376042.
- [81] MASUMORI A, MARUYAMA N, SINAPAYEN L, et al. Emergence of sense-making behavior by the stimulus avoidance principle: experiments on a robot behavior controlled by cultured neuronal cells[C]//European conference on artificial life 2015. York, UK: MIT Press, 2015: 373–380.
- [82] TESSADORI J, BISIO M, MARTINOIA S, et al. Modular neuronal assemblies embodied in a closed-loop environment: toward future integration of brains and machines[J]. *Frontiers in neural circuits*, 2012, 6: 99.

- [83] BAKKUM D J, GAMBLE P M, BEN-ARY G, et al. MEART: the semi-living artist[J]. *Frontiers in neurorobotics*, 2007, 1: 5.
- [84] DEMARSE T B, DOCKENDORF K P. Adaptive flight control with living neuronal networks on microelectrode arrays[C]//*Proceedings of the 2005 IEEE international joint conference on neural networks*. Montreal, Que., Canada: IEEE, 2005: 1548-1551.
- [85] KAGAN B J, KITCHEN A C, TRAN N T, et al. In vitro neurons learn and exhibit sentience when embodied in a simulated game-world[J]. *Neuron*, 2022, 110(23): 3952-3969.
- [86] CHAO Z C, BAKKUM D J, POTTER S M. Shaping embodied neural networks for adaptive goal-directed behavior[J]. *PLoS computational biology*, 2008, 4(3): e1000042.
- [87] ROBBINS A, SCHWEIGER H E, HERNANDEZ S, et al. Goal-directed learning in cortical organoids[J]. *bioRxiv*, 2024: 2024.12.07.627350.
- [88] UHLHAAS P J, SINGER W. Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology[J]. *Neuron*, 2006, 52(1): 155-168.
- [89] LEITE DE CASTRO D, AROSO M, AGUIAR A P, et al. Disrupting abnormal neuronal oscillations with adaptive delayed feedback control[J]. *eLife*, 2024, 13: e89151.
- [90] BONIFAZI P, DIFATO F, MASSOBRIO P, et al. In vitro large-scale experimental and theoretical studies for the realization of bi-directional brain-prostheses[J]. *Frontiers in neural circuits*, 2013, 7: 40.
- [91] BEAUBOIS R, CHESLET J, DUENKI T, et al. BicemuS: a new tool for neurological disorders studies through real-time emulation and hybridization using biomimetic spiking neural network[J]. *Nature communications*, 2024, 15(1): 5142.
- [92] KITAHARA T, SAKAGUCHI H, MORIZANE A, et al. Axonal extensions along corticospinal tracts from transplanted human cerebral organoids[J]. *Stem cell reports*, 2020, 15(2): 467-481.
- [93] MENG X, LI W, YOUNG F, et al. Electric field-controlled directed migration of neural progenitor cells in 2D and 3D environments[J]. *Journal of visualized experiments: JoVE*, 2012(60): 3453.
- [94] HU N, SHI J X, CHEN C, et al. Constructing organoid-brain-computer interfaces for neurofunctional repair after brain injury[J]. *Nature communications*, 2024, 15(1): 9580.