科学通报
脉冲电场消融专题 评 述
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS

微纳米电穿孔技术在生物医学中的研究进展

李瑞阳[1,2†], 张若雯[1,2†], 常凌乾[1,3*], 董再再[1,3*]

1. 北京航空航天大学青岛研究院, 青岛 266100
2. 北京航空航天大学生物与医学工程学院, 北京 100191
3. 北京航空航天大学医学科学与工程学院, 北京 100191
† 同等贡献
* 联系人, E-mail: lingqianchang@buaa.edu.cn; dongzaizai@buaa.edu.cn

2026-01-29 收稿, 2026-03-17 修回, 2026-05-09 接受, 2026-05-13 网络版发表
山东省自然科学基金(ZR2024QB014)和国家自然科学基金(22304006, 62471021, T2425021)资助

摘要 微纳米电穿孔技术利用微米或者纳米级结构对电场进行精确操控, 在实现细胞膜高效穿孔的同时, 能够维持细胞的高存活率, 为细胞基因编辑、疾病精准治疗等领域提供了高效且安全的技术平台. 本文系统介绍了微纳米电穿孔技术的基本原理, 并从细胞膜穿孔、分子跨膜传输及细胞膜修复三个关键阶段进行了机制解析, 为新一代电穿孔器件的设计提供了理论依据. 另外, 从离体、介体与在体三个层面, 分别阐述了该技术在生物医学中的具体应用, 涵盖基础细胞研究、细胞改造治疗及在体疾病治疗领域. 最后, 本文总结了微纳米电穿孔技术的核心优势与局限性, 并展望了其与柔性电子、人工智能等前沿技术相结合的未来发展方向.

关键词 细胞电穿孔, 微纳米生物器件, 细胞分子递送, 活细胞取样, 基因治疗

细胞膜作为调控细胞内外物质交换的重要屏障, 其可控开合是实现胞内物质提取与外源物质递送的核心[1]. 电穿孔技术(electroporation)通过施加外部电场诱导细胞膜上形成瞬时亲水性孔道, 是人为调控细胞膜通透性的关键技术之一[2]. 根据电场处理后细胞膜能否自行修复, 电穿孔可分为不可逆电穿孔(irreversible electroporation, IRE)和可逆电穿孔(reversible electroporation, RE)[3]. 其中, 可逆电穿孔能够在保证较高细胞存活率的条件下, 对细胞膜进行可控的透化处理, 已经在电化学疗法、基因电转染等生物医学领域得到了广泛的应用[4]. 例如, 在肿瘤治疗中, 可逆电穿孔能通过局部电脉冲促进化疗药物精准进入肿瘤细胞, 提高了药物疗效, 同时降低了对非靶标器官的损伤[5]. 在基因递送方面, 可逆电穿孔是目前最有效的非病毒转染方法之一, 可以大幅度提高转染细胞的成功率, 并且增强目标基因的表达水平[6].

传统的细胞可逆电穿孔技术(bulk electroporation, BEP)最早报道于1982年, Neumann等人[7]将细胞悬浮液置于两个平板电极之间, 成功利用脉冲电场将质粒DNA导入哺乳动物细胞. 然而, 由于电场分布不均匀, 各细胞实际承受的场强存在较大差异. 为确保多数细胞达到电穿孔阈值, 往往需要施加较高的电压和较长的电脉冲持续时间, 这使得大量细胞长时间暴露于高强度电场环境中而凋亡. 与此同时, 持续的电场作用易导致焦耳热积累和局部pH变化, 进一步加剧了细胞损伤, 从而限制了BEP技术的广泛应用[8].

微纳米电穿孔技术(micro/nano electroporation, MNEP)通过在电极间构建微米/纳米结构, 或者利用微米/纳米尺度电极阵列, 实现了电场强度分布的精准控制, 显著改善了BEP技术中存在的转染效率低及细胞

引用格式: 李瑞阳, 张若雯, 常凌乾, 等. 微纳米电穿孔技术在生物医学中的研究进展. 科学通报
Li R, Zhang R, Chang L, et al. Advances in micro-/nano-electroporation technology for biomedical applications (in Chinese). Chin Sci Bull, doi: 10.1360/CSB-2026-0128

© 2026《中国科学》杂志社

活性差等问题，逐渐拓展了电穿孔技术的适用领域[9] (图1). 其中, 基于电极间特定微纳米结构的方法, 如纳米孔芯片[10,11,16]、微吸管芯片[12,17]等, 利用电场穿过微纳米结构时的聚焦作用，能够在较低电压下获得高细胞转染效率，同时还能利用定向电场控制分子的移动方向, 实现高效细胞取样或分子递送的目的[13]. 另一方面，基于微纳米尺度电极阵列的方法，如叉指电极芯片[18]、微针芯片[19]等，将电极间的距离缩短至微米级别, 能够形成更加均匀的电场分布, 保证了细胞所处电场强度的均一性. 通过与柔性基底集成, 该类器件已广泛用于在体基因转染、靶向药物递送等前沿研究方向[14,15,20]. 本文将从细胞膜电穿孔的原理出发，详细介绍微纳米电穿孔技术近年来在生物医学领域中的研究进展.

1 细胞膜电穿孔原理

细胞膜在电场的作用下发生可逆电穿孔主要经历三个过程: 细胞膜穿孔、膜内外分子的交互输运, 以及细胞膜闭合. 每个过程均由包括电场强度在内的多重参数共同协调作用. 本章节将通过对细胞膜电穿孔过程中的参数介绍，为微纳米电穿孔技术提供高效、安全的细胞膜穿孔以及分子传递系统的理论基础.

1.1 细胞膜穿孔

细胞膜的基本骨架是磷脂分子双分子层. 磷脂分子具有亲水性头部和疏水性尾部，其尾部相对排列形成磷脂双分子层, 内部构成疏水区域[21,22]. 根据水孔理论, 在正常生理状态下, 细胞膜会自发形成纳秒级的亲水孔道，但由于热力学不稳定，这种孔道会迅速闭合[23]. 因此, 极性物质, 如水、DNA、大多数氨基酸等, 通常无法直接透过细胞膜. 在外加电场的作用下, 磷脂双分子层中原本紧密的疏水结构会发生松动，水分子在局部电场梯度驱动下渗入膜内的疏水区域，形成初始的亲水性缺口. 随着疏水区域水分子不断累积并通过氢键相互连接, 周围磷脂分子的取向发生改变, 其亲水头部逐渐向进入细胞膜间隙的水分子移动，最终形成整个细胞膜的稳定亲水孔道，从而完成细胞膜电穿孔[22,24].

细胞膜电穿孔形成的关键影响因素是跨膜电压. 在电穿孔过程中，细胞膜可以等效看作一个非理想的

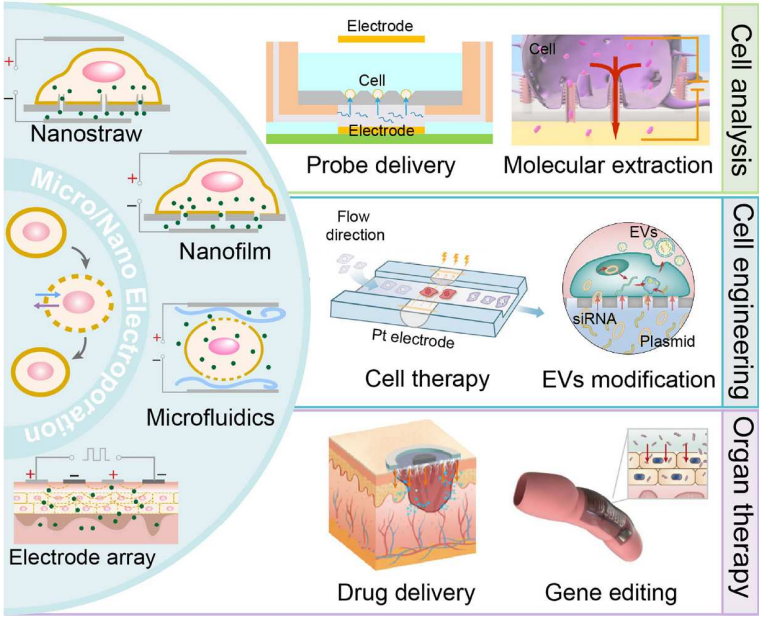


图 1 (网络版彩色)微纳米电穿孔器件类型及应用场景总述[10~15]. 微纳米电穿孔器件类型包括纳米吸管电穿孔芯片、纳米孔膜电穿孔芯片、微流控芯片电穿孔平台和阵列化可扩展电穿孔平台等, 其应用场景已拓展至细胞检测、细胞改造和器官治疗等领域. 细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs). Copyright © 2020, 2023, 2024 Springer Nature; 2019, 2024 American Chemical Society; 2025 Wiley

Figure 1 (Color online) The types and application scenarios of MNEP devices[10–15]. MNEP devices include nanostraw-based electroporation chips, nanofilm-based electroporation chips, microfluidic-based electroporation platforms, and electrode array-based electroporation systems. Their application scenarios mainly encompass cell analysis, cell engineering, and organ therapy. Extracellular vesicles (EVs). Copyright © 2020, 2023, 2024 Springer Nature; 2019, 2024 American Chemical Society; 2025 Wiley

电容器，而外加电压的作用本质来说是向该电容器充电的过程. Schwan方程将细胞内液、外液与细胞膜视为混联阻抗系统，此方程已经被广泛用于描述细胞在外电场中的极化与充电行为. 方程的具体形式如下:

$$U = -fER\cos\theta\left(1-e^{-\frac{t}{\tau}}\right), \tag{1}$$

其中, U为细胞膜两侧的跨膜电压; f为由细胞形状决定的形状因子(对于理想球形细胞f取1.5); E为外加电场强度; R为细胞半径; θ为细胞膜表面法线与电场方向之间的夹角; τ为膜充电时间常数，由细胞内液、细胞膜及细胞外液的电学性质共同决定. 该方程表明, 细胞在外加电场作用下通过极化过程逐渐建立跨膜电压.

需要指出的是，在无外加电场的情况下，细胞本身具有约−60~−90 mV的静息电位，但由于电穿孔击穿细胞膜所施加的外加电压远大于细胞膜静息电位，因此，在讨论细胞膜电穿孔时通常不考虑静息电位的影响[25,26].

当跨膜电压略高于阈值时，细胞膜尚未形成可检测的亲水孔. 随着跨膜电压不断增加, 细胞膜上开始出现瞬态亲水孔. 若此时撤除外加电场, 细胞膜可以重新恢复到原形态, 此过程属于可逆电穿孔阶段. 若跨膜电压继续增加, 亲水孔将转变为不可逆状态, 导致细胞膜结构损伤与功能丧失, 进入不可逆电穿孔阶段[27]. 微纳米电穿孔通过微纳米级的结构对电场进行空间约束，使细胞局部的膜结构获得较高的跨膜电压，从而能够在细胞高活性的前提下，通过局部穿孔的细胞膜实现高效的分子递送.

1.2 细胞膜内外分子交互

细胞膜发生电穿孔后，膜内外的分子交互通量一般从浓度梯度、电势梯度和对流作用三方面进行描述[28]. 对于单种物质i, 其输运通量J_i可表示为以下公式:

$$J_i = -D_i\nabla c_i - \frac{z_i e D_i}{k_B T}c_i\nabla\varphi + c_i v, \tag{2}$$

其中, J_i为第i种物质的输运通量; D_i为扩散系数; c_i为局部浓度; z_i为离子价; e为元电荷; k_B为Boltzmann常数; T为绝对温度; φ为电势; v为流体平均流速. 方程中第一项表示由浓度梯度驱动的扩散通量，第二项表示电场作用下的电泳通量，第三项表示由流体运动引起的对流输运.

基于该公式，物质的跨膜输运可以从电脉冲施加期间和脉冲结束后两个阶段进行分析. 对于离子等小分子, 在脉冲期间, 外加电场主导输运行为, 小分子主要通过电泳和电渗透的耦合作用完成跨膜迁移. 脉冲结束后, 细胞膜上已形成的亲水孔道保持开放, 离子和小分子主要以自由扩散的形式进行跨膜输运. 尽管有研究指出脉冲后的自由扩散速率远低于脉冲期间电泳-电渗透耦合作用，但由于脉冲后亲水孔存在的时间远大于脉冲时间，因此脉冲后的自由扩散过程在整个物质输运中具有不可忽略的贡献[29,30].

蛋白质、核酸等大分子物质的跨膜输运机制与小分子物质存在显著差异. 由于分子尺寸较大, 大分子难以通过电渗透和脉冲后的自由扩散进行跨膜运输，而主要依赖电脉冲期间的电泳作用[31]. 传统BEP中, 大分子需通过延长脉冲时间或提高外加电场强度以获得足够的跨膜输运通量，这往往会显著增加细胞损伤风险. 而微纳米电穿孔技术能将细胞与大分子设置在不同区域, 使得大分子在脉冲期间的电泳迁移更具方向性, 从而在短时间内完成跨膜输运, 提升递送效率[32].

1.3 细胞膜闭合

细胞膜上亲水孔的形成与闭合均为阈值依赖性过程. 若以亲水孔的半径作为阈值判据, 则存在一个临界亲水孔半径r_c, 当亲水孔的实际半径r小于r_c时，亲水孔倾向于扩张; 而当r大于r_c时，亲水孔则趋于收缩，即细胞膜进入闭合阶段. 该过程可通过自由能变化ΔW对不同半径下亲水孔的演化趋势进行描述:

$$\Delta W = 2\pi r\gamma - \pi r^2\sigma - \frac{(\varepsilon_e-\varepsilon_m)\pi r^2}{2d}U^2, \tag{3}$$

其中, γ为亲水孔边缘线张力; σ为细胞膜表面张力; r为亲水孔半径; ε_e和ε_m分别为细胞外液和细胞膜的介电常数; d为亲水孔深度; U为跨膜电压. 由该表达式可知, 亲水孔尺寸由边缘线张力、膜表面张力以及电场作用共同决定. 其中, 膜表面张力和电场作用倾向于促进亲水孔扩张, 而边缘线张力则驱动其收缩. 当外加电场撤除后, 电场项突变为零, 亲水孔不能维持原本的尺寸, 随即开始坍缩. 在电脉冲结束后的几微秒内, 亲水孔开始快速坍缩, 随后进入持续数分钟的缓慢坍缩过程, 最终实现细胞膜的完全重封[30,33].

除了上述分子动力学分析以外，细胞在感知到细胞膜穿孔信号后会激活多种膜损伤修复机制，主动完成细胞膜重封. 例如, Hai和Spira[34]使用微形金电极对贴壁培养的神经元细胞进行细胞膜穿孔与修复过程的实时监测, 证明了在亲水孔快速坍缩阶段, 其行为符合

“膜补丁模型”, 即穿孔引起的Ca^{2+}内流触发了预先存在的细胞内囊泡向质膜靶向转运; 而在缓慢坍缩阶段, 亲水孔的闭合可能与Ca^{2+}诱导的囊泡胞吐作用降低膜表面张力有关. Lira等人[35]通过电脉冲在巨型单层囊泡中诱导成孔, 发现膜表面电荷及介质离子条件可显著调控孔的重封行为, 其机制与孔边缘线张力降低导致孔闭合受阻有关, 从而延长孔寿命并影响膜稳定性. 这项研究提示, 膜表面物质分布的不对称性可能在细胞膜穿孔后的闭合过程中发挥关键作用.

结合现有研究对细胞膜电穿孔基本原理的解析, 细胞膜发生电穿孔的过程受电场条件、周围微环境及细胞自主修复机制等多重因素共同调控, 且不同细胞类型对电场的响应特性存在显著差异[36~41](表1). 原代免疫细胞膜流动性高, Ca^{2+}介导的囊泡修复通路激活速度快, 对电场刺激更为敏感, 实现有效穿孔所需的临界跨膜电压更低[42]. 干细胞(如间充质干细胞、诱导多能干细胞)膜厚度更大、表面电荷密度更高, 穿孔阈值场强显著偏高, 且其膜恢复依赖自噬通路与囊泡修复的协同作用, 孔道闭合速率相对缓慢[43]. 肿瘤细胞膜脂组成紊乱、膜完整性更差, 介电常数与正常体细胞存在明显差异, 穿孔所需电场强度更低且亲水孔道更易扩张[44]. 而正常体细胞膜结构稳定、修复机制更完善, 在相同电场条件下穿孔效率更低且能更快完成膜重封, 这种差异也成为肿瘤精准电穿孔治疗的重要理论基础[45].

综上, 细胞膜在经历电穿孔的过程中受到不同关键参数的调控, 共同决定电穿孔效率与细胞存活率. 膜穿孔阶段主要受到电场参数(电脉冲强度、周期、波形等)与细胞类型影响, 这些参数的影响最终表现为亲水孔两侧的跨膜电压[46]. 而对于分子跨膜输运, 除了器件电场参数以外, 递送分子的理化性质也对输运过程具有关键影响, 小分子物质的跨膜运输主要依赖电泳与电渗透的协同作用, 并在电脉冲结束后通过一定程度的自由扩散进一步完成跨膜转运, 而生物大分子则主要依赖电脉冲期间产生的定向电泳驱动实现跨膜输运[47]. 在膜恢复阶段, 亲水孔道的闭合主要由边缘线张力与膜表面张力调控, 同时也受到多种细胞内源性膜修复机制的复杂调控[48]. 基于此, 微纳米电穿孔技术能通过设计器件微纳结构有效实现电场的精细化调控, 并结合微流控与柔性电子等技术实现协同控制, 从而在降低细胞损伤的同时提高递送效率.

2 微纳米电穿孔技术的应用

微纳米电穿孔技术凭借其独特的电场调控方式, 能在维持细胞高活性的前提下, 实现从体外细胞到在体模型的分子递送研究与应用转化. 本章将从细胞检测、细胞改造与组织治疗三个方面, 分类阐述该技术在生物医学中的应用研究.

2.1 离体-细胞检测

作为一种增加细胞膜通透性的物理方法, 微纳米电穿孔技术通过结合探针递送和细胞取样, 已广泛应用于离体细胞的检测[49].

2.1.1 探针递送

微纳米电穿孔技术通过将分子探针导入活细胞内, 能够实现细胞内特定生物标志物的实时监测, 从而为

表 1 不同生物分子递送技术的性能比较[36~41]

Table 1 Comparison of representative biomolecular delivery technologies

递送技术	递送效率	细胞存活率	可递送分子类型	可递送分子量	生物安全性	优势	局限
微纳米电穿孔	60%~95%	80%~95%	DNA mRNA 蛋白质 纳米颗粒	分子量 可达100 kD	高	递送效率高; 适用范围广; 无需载体	需要提供电场; 参数优化复杂
病毒载体递送	80%~99%	70%~90%	DNA RNA	通常<10 kb	中等	转染效率高; 表达稳定	潜在免疫反应; 生产复杂; 递送分子量受载体尺寸限制
脂质体转染	40%~80%	70%~90%	DNA mRNA siRNA	通常<100 kD	较高	操作简单; 商业试剂成熟	受细胞类型影响较大
聚合物载体递送	30%~70%	60%~85%	DNA RNA	通常<100 kD	中等	易于化学修饰; 成本较低	细胞毒性可能较高
细胞穿透肽递送	20%~60%	80%~95%	小分子 蛋白质	通常<100 kD	高	生物相容性好; 操作简单	递送效率较低, 稳定性有限

疾病的早期诊断、药物筛选和个体化治疗提供精确的分子信息[50].

基于纳米孔膜的电穿孔技术是活细胞内分子递送的代表性方法之一[51](图2(a)). 纳米孔膜能够将电场限制于细胞与膜贴附的界面, 达到电场聚焦的效果, 从而能在低电压下, 实现细胞膜的高效穿孔. 该方法在HeLa等细胞中成功递送约1.3 kb的mCherry mRNA及约4.7 kb的绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)表达质粒, 转染效率超过80%, 同时细胞存活率保持在95%以上. 这表明纳米尺度电场聚焦能够在显著降低细胞损伤的同时, 实现对kb级核酸探针的高效递送, 为活细胞内分子检测提供了低损伤、高均匀性的递送方法.

采用微纳米电穿孔技术进行探针递送具有多重优势, 其核心在于能够实现对活细胞内分子的动态分析. 例如, 常凌乾团队[52]利用纳米电穿孔技术将用于增强子活性分析的核酸探针直接递送至细胞核内, 通过探针的荧光信号实现了活细胞中增强子活性的快速分析, 将原本需数天完成的检测过程缩短至约1 h. 此外, 该团队[53]利用纳米电穿孔技术实现细胞核内鼠双微体2 (mouse double minute 2, MDM2)表达分析的同时, 证明细胞在完成探针递送后仍能保持正常迁移行为, 并在单细胞水平成功建立了细胞内蛋白表达水平与细胞迁移行为的联系, 为肺癌转移预测提供了新的评价参考.

微纳米电穿孔技术通过集成在微流控芯片上, 进一步拓展了其在细胞检测领域的应用场景. 例如, Dong等人[54]将纳米电穿孔技术集成于循环肿瘤细胞

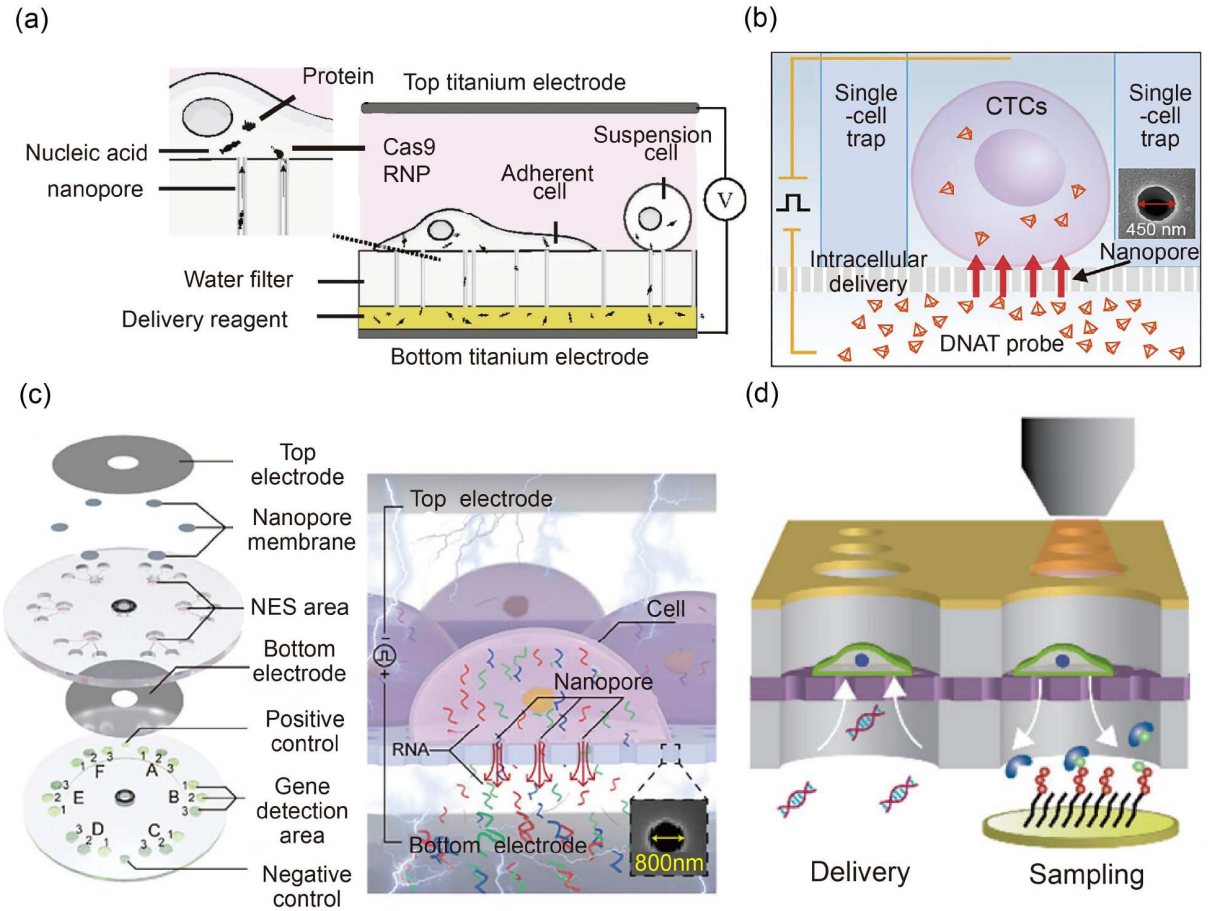


图 2 (网络版彩色)微纳米电穿孔技术用于细胞检测. (a) 基于纳米多孔膜的纳米孔电穿孔平台用于核酸探针递送[51]. Copyright © 2019 National Academy of Sciences. (b) 循环肿瘤细胞捕获及基因分析芯片[54]. Copyright © 2024 National Academy of Sciences. (c) 活细胞采样与原位检测平台[58]. Copyright © 2025 Wiley. (d) 集成细胞培养、细胞取样和细胞递送功能的纳米电穿孔平台[60]. Copyright © 2022 American Chemical Society

Figure 2 (Color online) MNEP for cell analysis. (a) Nanoporous membrane-based electroporation platform for the intracellular delivery of nucleic acid probes[51]. Copyright © 2019 National Academy of Sciences. (b) Circulating tumor cells capture and probe delivery chip[54]. Copyright © 2024 National Academy of Sciences. (c) Live-cell sampling and *in situ* detection platform[58]. Copyright © 2025 Wiley. (d) A nano-electroporation system integrating cell culture, intracellular sampling, and intracellular delivery functions[60]. Copyright © 2022 American Chemical Society

(circulating tumor cells, CTCs)捕获芯片(图2(b)), 用于高效安全地向活CTCs内递送程序性死亡配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1)基因检测探针, 并在单细胞尺度同步获取细胞形态与迁移等表型信息, 实现了基因表达与行为特征的联合分析, 为肺癌免疫治疗的疗效预测提供了更加精准的标志物. 由于检测对象为数量稀少且高度异质的活细胞, 传统转染或载体递送方法难以实现单细胞水平的长期追踪. 相比之下, 微纳米电穿孔技术与微流控芯片的集成展现出其在精准细胞检测中的独特优势.

2.1.2 细胞取样检测

提取活细胞内的分子在胞外进行检测能够避免细胞内分子的干扰, 并且更加高通量地进行分子特征的分析[55]. 传统的细胞取样技术往往需要通过裂解细胞以释放细胞内容物, 无法实现无损取样和活细胞长时间监测[56]. 而基于微纳米电穿孔技术的细胞取样技术, 能够在保持细胞活性的前提下, 实现长期多次取样, 为研究疾病机制、细胞衰老、组织分化等提供了重要的支撑.

Melosh团队[57]提出并系统验证了基于纳米吸管结构的无损活细胞内取样策略. 在该体系中, 细胞贴附于纳米吸管阵列表面, 通过短暂施加电脉冲, 仅在细胞膜与纳米吸管接触处产生膜穿孔, 从而在保持95%以上的细胞活性的前提下, 获得了细胞内的蛋白质和RNA. 该装置实现了同一细胞群的多次取样, 并成功应用于中国仓鼠卵巢细胞(Chinese hamster ovary cells, CHO cells)、人诱导多能干细胞来源的心肌细胞(human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, hiPSC-CMs)和星形胶质细胞(astrocytes, Acs)中.

微纳米电穿孔技术通过集成微流控芯片系统, 实现了样本的快速提取与原位检测, 显著提升了分析效率. 例如, Huang等人[58]开发了一种集成纳米电采样和智能分析的芯片装置(图2(c)). 在完成细胞内RNA取样后, 细胞存活率保持在90%以上. 提取出来的样品直接通过芯片旋转转移至检测区域, 再结合等温扩增反应对靶标基因进行特异性荧光信号放大和智能图像识别量化. 以非小细胞肺癌相关的EGFR突变RNA为检测目标, 该方法实现了不同时间点连续取样与活细胞基因表达变化的动态监测, 进一步展示了微纳米电穿孔在细胞取样与分子检测集成方面的应用潜力.

值得注意的是, 微纳米电穿孔技术不仅能实现探针递送或取样检测的单一功能, 还能将两种应用集成在同一装置上[59]. 例如, Espinosa团队[60]开发了一种基于纳米电穿孔技术与微孔阵列的芯片分析平台(图2(d)). 该装置由聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)微流控通道层、微孔培养阵列、纳米孔聚碳酸酯膜以及嵌入式金电极组成, 其中阵列包含约400个培养微孔, 单个孔径为100 μm. 通过在器件两侧施加30 V、20 Hz的电脉冲, 可实现对细胞膜的局域电穿孔. 研究团队利用该系统成功实现了质粒和siRNA的多次递送以及胞内分子的动态采样与分析, 并维持细胞存活率达到93%.

2.2 介体-细胞改造

微纳米电穿孔技术凭借其基于物理场的方式进行分子递送, 有效规避了基于传统慢病毒或脂质体递送方法可能存在的生物安全风险, 为实现大分子量质粒的高效、安全细胞改造提供了可靠平台[61,62]. 近年来, 该技术已广泛应用于细胞重编程, 或利用改造后的细胞分泌的外囊泡, 开展体内靶向治疗相关研究.

2.2.1 细胞治疗

细胞治疗是利用基因工程改造活细胞, 包括免疫细胞及干细胞等, 使细胞发挥修复、替代或调控受损组织的功能, 为癌症等多种难治性疾病提供了高效的治疗策略[63].

基于免疫细胞的治疗方法通过将嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)导入T淋巴细胞(T lymphocytes, T cells)、自然杀伤细胞(natural killer cells, NK cells)等免疫细胞, 使其重新获得识别并杀伤肿瘤细胞的能力[64]. 其中, 嵌合抗原受体T细胞疗法(chimeric antigen receptor T-cell therapy, CAR-T cell therapy)已经在复发/难治性血液系统恶性肿瘤中展现出显著的临床疗效, 但由于CAR质粒分子量较大, 实现T细胞的高效转染仍是制约其规模化应用的关键瓶颈之一[65]. Roey团队[66]基于纳米吸管结构开发了一种可重复使用的电活性纳米注射(electroactive nano-injection, ENI)芯片(图3(a)). 该纳米吸管高度2 μm, 间距3 μm, 内外直径300/500 nm. 采用该芯片, 研究者们向人原代T细胞的靶向递送了抗CD19 CAR质粒, 并使细胞活力保持在90%以上. 虽然该方法的递送效率略低于传统BEP, 但质粒的表达效率提升近3倍, 且所需质粒用量减少至千分之一, 为CAR-T细胞的大规模制备提供了更加安全、高效的生产方案.

相较于CAR-T细胞疗法, 近年来发展的嵌合抗原

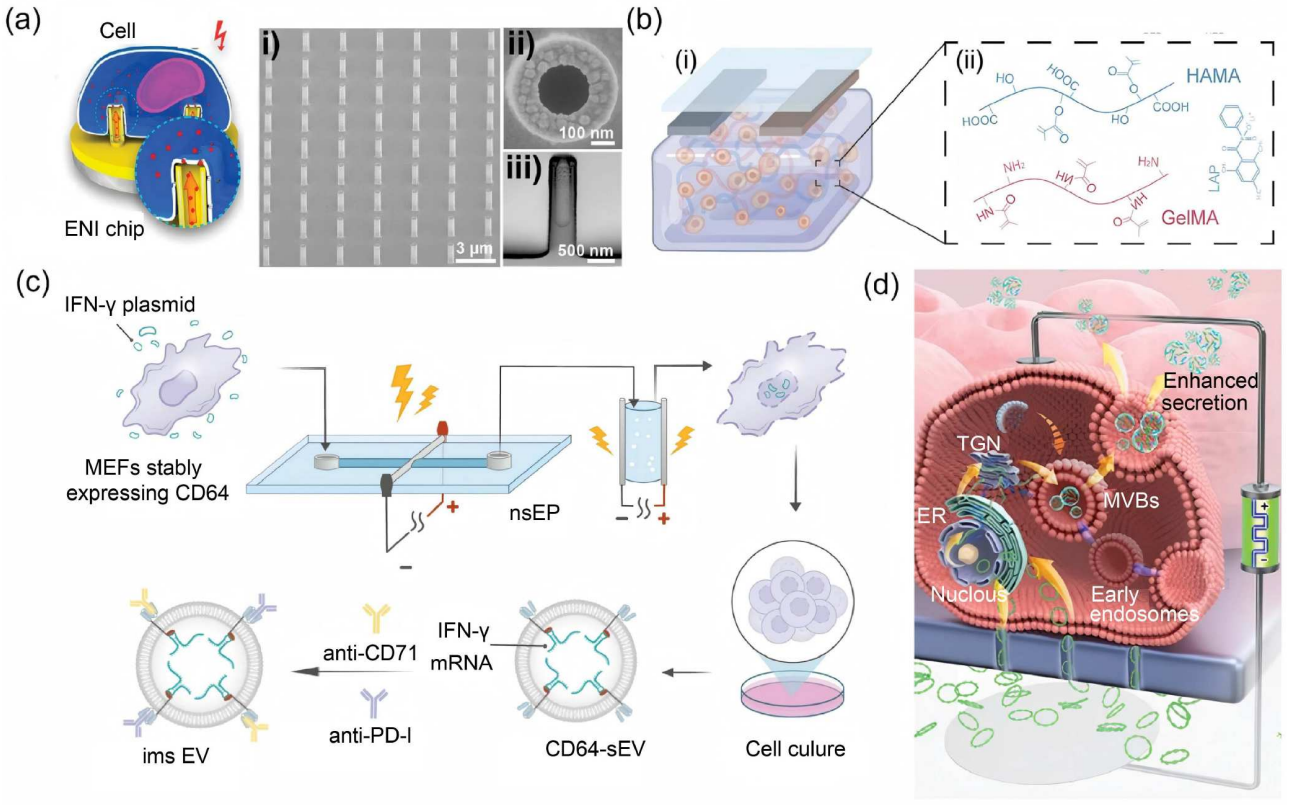


图 3 (网络版彩色)微纳米电穿孔技术用于细胞改造治疗. (a) 电活性纳米注射芯片将CAR导入T细胞的示意图及其关键结构的扫描电子显微镜图像[66]. Copyright © 2023 Wiley. (b) 可降解生物电子芯片结构示意图[70]. Copyright © 2025 Wiley. (c) 微流控纳米电穿孔改造细胞用于生产具有治疗功能的细胞外囊泡[13]. Copyright © 2023 Springer Nature. (d) 采用纳米电穿孔技术对人脂肪间充质干细胞进行基因转染以增强治疗性细胞外囊泡分泌的示意图[75]. Copyright © 2023 Wiley

Figure 3 (Color online) MNEP for cell therapy. (a) Schematic of the ENI chip for CAR delivery into T cells and scanning electron microscopy images of its key structures[66]. Copyright © 2023 Wiley. (b) Schematic diagram of the degradable bioelectronic chip[70]. Copyright © 2025 Wiley. (c) Microfluidic nano-electroporation for cell modification to produce therapeutically functional EVs[13]. Copyright © 2023 Springer Nature. (d) A schematic of gene transfection into human adipose-derived mesenchymal stem cells using nano-electroporation to enhance the secretion of therapeutic extracellular vesicles[75]. Copyright © 2023 Wiley

受体自然杀伤细胞疗法(chimeric antigen receptor natural killer cell therapy, CAR-NK cell therapy)在提升抗肿瘤效果的同时, 显著降低了全身副作用[67]. Lee团队[68]开发了一种可扩展的3D纳米电穿孔系统, 通过晶圆级工艺结合光刻与刻蚀技术在硅衬底上制备出有序的纳米通道阵列, 同时利用介电泳技术将NK细胞精准捕获并定位至纳米通道出口处, 在低电压下实现了CAR质粒向活细胞内的高效递送. 该系统的细胞转染效率达到了74%, 远超传统电穿孔方法的28%, 且细胞存活率更高, 质粒表达水平更稳定. 该技术为肿瘤过继免疫治疗提供了高效且可控的细胞工程化平台, 有力推动了CAR-NK疗法的临床转化与应用拓展.

基于干细胞的治疗方法利用干细胞本身自我更新和多向分化的潜能, 用于器官修复中的组织再生与功能重建. Ren等人[69]提出一种快速、高效且安全的非病毒环状RNA重编程策略, 采用纳米电穿孔技术, 在低电压下成功将6种环形RNA高效导入人源成纤维细胞, 进而将其重编程为诱导多能干细胞, 该策略达到大于90%的转染效率, 提升了细胞存活率, 并减少了促炎细胞因子, 为再生医学的细胞替代治疗提供了安全的细胞来源. 此外, 基于微纳米电穿孔技术的工程化器件还可实现干细胞在体内的靶向激活与组织修复. 例如, Xiao等人[70]开发了一种可降解的生物电子芯片(图3(b)). 该芯片由两层构成, 上层是聚乳酸-三亚甲基碳酸酯基底的锌钼电极原电池膜, 下层是负载干细胞的明胶甲基丙烯酰-透明质酸甲基丙烯酰水凝胶. 原电池层可放电产

生低电压电场, 协同间充质干细胞用于盆底器官脱垂治疗, 不仅提升了盆底肌肉的强度和弹性, 减轻了局部炎症, 并且器件可完全降解, 避免了体内残留带来的安全性风险.

除了处于研究阶段的细胞治疗方法, 目前也有已商品化的设备. 例如, MICRO-ePORE针点细胞穿透器, 施加局部振荡电场, 在微注射针尖下方的细胞膜特定区域形成可逆的纳米级孔隙, 精准递送了基因编辑试剂. 与传统电穿孔随机打开多个膜孔不同, 该设备有聚焦式电穿孔机制, 能够在完成物质导入的同时避免细胞膜破碎, 显著提升了细胞存活率, 为高效、安全的活细胞改造操作提供了成熟的技术工具.

2.2.2 细胞外囊泡改造

细胞外囊泡是由细胞主动分泌的、具有脂质双分子层结构的纳米级囊泡, 可携带蛋白质、核酸等生物活性分子, 能够介导细胞间通讯并参与多种生理与病理过程的调控[71]. 微纳米电穿孔技术改造的细胞外囊泡凭借其优异的靶向性、良好的稳定性及低免疫原性, 已成为靶向药物递送领域的研究热点[72].

针对脑肿瘤治疗中血脑屏障难以穿透的问题, Yang等人[73]利用纳米电穿孔芯片对供体细胞进行工程化改造, 实现了治疗性mRNA与肿瘤靶向肽在细胞外囊泡内的高效共装载. 该技术使细胞外囊泡的产量提升了近50倍, 同时将mRNA的装载量增加了1000倍. 改造后的细胞外囊泡能够有效穿透血脑屏障, 该芯片已在磷酸酶基因缺陷型胶质瘤模型中显著抑制肿瘤生长并延长小鼠生存期. 该研究不仅证实了工程化细胞外囊泡在突破生理屏障方面的潜力, 也为基于纳米电穿孔技术的细胞外囊泡改造奠定了技术基础. Dong等人[13]则通过微流控电穿孔技术改造细胞(图3(c)), 使其生成表面过表达CD64的细胞外囊泡, 通过增强免疫反应实现抗肿瘤效果. 该技术先通过纳秒脉冲穿透细胞器膜, 再采用毫秒脉冲穿透细胞膜, 实现了IFN–γ mRNA的高效装载与囊泡表面CD64的过表达. 改造后的细胞外囊泡表现出强效抗肿瘤免疫活性, 同时该方法也为细胞外囊泡的规模化生产提供了可行的工艺方案.

除肿瘤治疗外, 基于微纳米电穿孔技术的细胞外囊泡工程化改造也逐步拓展至组织修复领域[74]. 例如, Ma等人[75]利用纳米孔膜对人脂肪间充质干细胞进行电穿孔(图3(d)), 高效递送质粒DNA, 促使其分泌的细胞外囊泡携带多种功能mRNA. 进一步将该类修饰后的细胞外囊泡装载在水凝胶中, 可高效促进大鼠股骨临界缺损部位的血管生成与骨生成, 进而实现骨组织缺损修复. You等人[76]则通过纳米电穿孔技术改造人真皮成纤维细胞, 使其分泌含有COL1A1 mRNA的细胞外囊泡, 并将该囊泡负载于微针贴片中进行透皮递送. 以小鼠模型为例, 该方法有效减少了皮肤皱纹, 并恢复了真皮层厚度与胶原蛋白含量, 在皮肤抗衰老领域有良好的应用前景.

2.3 在体-组织治疗

针对临床上药物递送与基因改造靶向性差的痛点, 微纳米电穿孔技术凭借精准、微创的特性, 结合柔性电子器件和可降解材料等前沿技术, 为体内治疗提供了更加安全高效的解决方案.

2.3.1 药物递送

在体药物递送是实现精准治疗的关键环节. 传统药物递送方法, 如静脉注射、口服给药等, 存在靶向性差、生物利用度低、系统毒性大等问题. 微纳米电穿孔技术通过微纳尺度结构对电场进行精确聚焦, 可在局部组织瞬时、可控地提升膜通透性, 实现药物的高效靶向递送[77]. 微纳米电穿孔技术皮肤透皮给药、肿瘤局部治疗等领域展现出了独特潜力, 为在体精准药物递送提供了创新性解决方案.

在经皮药物递送场景中, Kougkolos等人[78]基于纳米电穿孔技术开发了一种非侵入式药物递送系统. 该系统采用含碳纳米管的复合水凝胶作为药物储库与电极, 将其贴附于皮肤表面后, 施加50–300 V的脉冲电场, 电场能够在角质层中形成局部运输区域, 高效促进药物透皮递送. 相比传统经皮涂抹给药方式, 该方法显著提升了药物渗透率, 并具备良好的拓展性, 适用于胰岛素、核酸疫苗等多种生物大分子的高效透皮递送. 纳米电穿孔技术已展现出良好的产业化应用前景. 例如, 由约600 nm孔径的纳米孔阵列、微通道与微电极构成的Ultra-NEP超透仪, 能够在20 V的低电压驱动下, 在皮肤细胞膜上瞬时打开纳米级通道, 与传统被动扩散相比, 该设备将药物分子等的跨膜递送效率提升了上万倍, 同时避免了对皮肤屏障造成不可逆的损伤. 该设备主要用于皮肤健康领域的高效透皮给药, 其衍生技术平台正在向眼科、整形修复等临床医疗器械领域拓展, 为微纳米电穿孔技术在精准药物递送中的临床应用提供了重要验证.

尽管微纳米电穿孔技术能够实现药物的局部透皮递送, 但其电场作用深度有限, 很难实现体内深层组织

的药物递送. 为突破这一局限, Ghosh等人[79]将电穿孔技术与微针技术相结合, 制备了由甲基丙烯酰化明胶混合碳纳米管的导电微针. 该微针负载咪康唑药物后贴敷在皮肤上, 先通过物理穿刺突破皮肤屏障, 再在外加电刺激的作用下, 促进药物向深层组织渗透, 显著提升了药物胞内递送效率. 与传统制剂相比, 该方法显著提高了真菌清除率, 还能激活神经-免疫轴, 促进伤口愈合并诱导机体产生保护性免疫反应.

进一步地, 微纳米电穿孔技术结合微针递送系统已拓展至体内肿瘤治疗的领域. 例如, Lin等人[80]研发了一种多微通道微针的药物递送芯片系统(图4(a)). 该系统有中空微针的微通道结构, 能够聚焦电场, 从而在微针周围的肿瘤细胞膜上进行局部电穿孔递送药物, 提升了药物向细胞内的递送效率. 在活体实验中, 该系统在抗肿瘤药物阿霉素的递送能力、肿瘤生长抑制效果以及体内安全性方面均有显著优势, 在实体肿瘤治

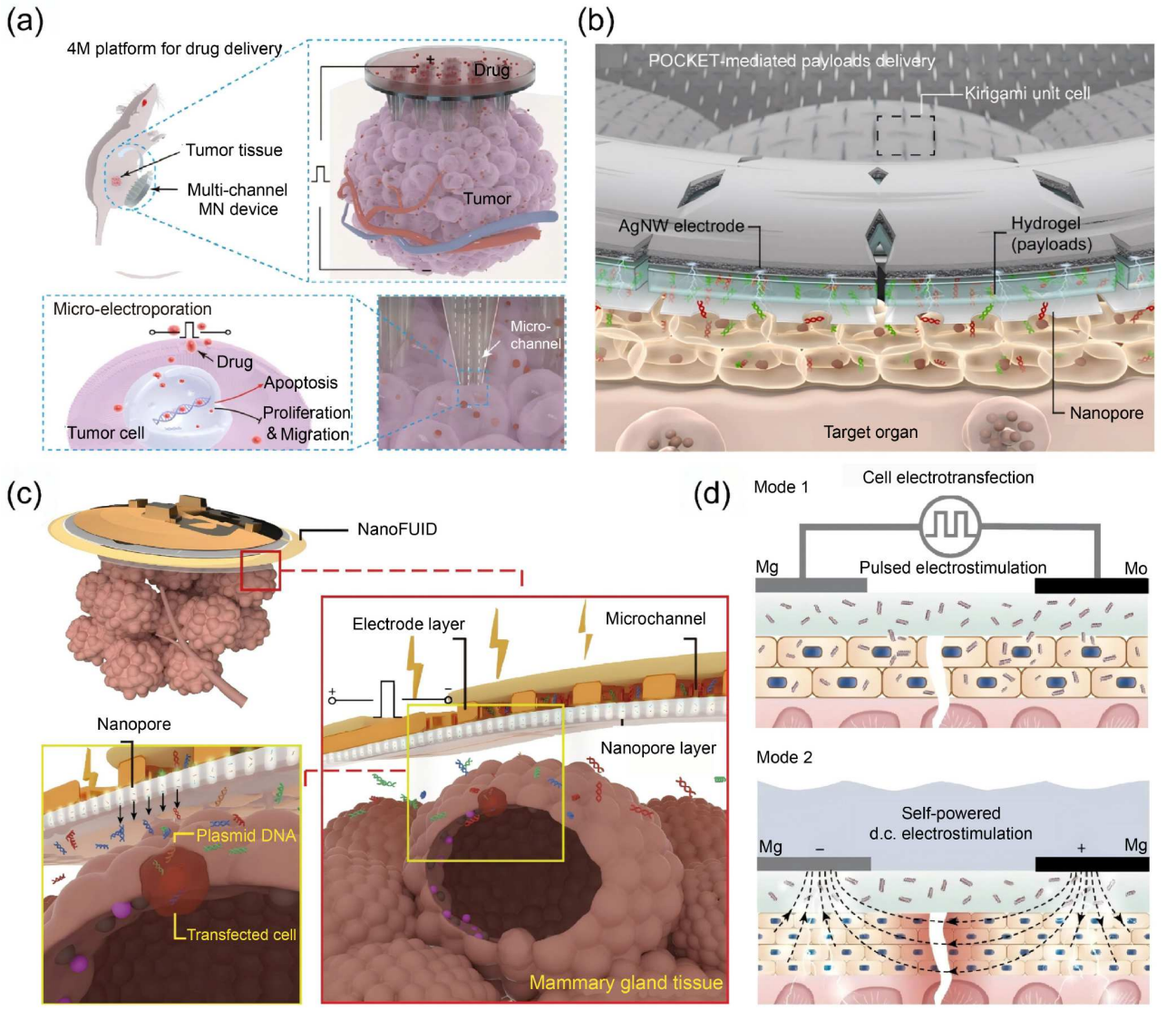


图 4 (网络版彩色)微纳米电穿孔技术用于在体组织治疗. (a) 中空微针芯片用于肿瘤局部药物递送的示意图[80]. Copyright © 2022 Wiley. (b) 智能贴片用于目标器官的细胞内递送的示意图[81]. Copyright © 2026 Elsevier. (c) 柔性电子芯片进行体内组织的基因转染工作原理[83]. Copyright © 2025 Springer Nature. (d) 双电刺激电子绷带用于肠道损伤修复的示意图[15]. Copyright © 2024 Springer Nature

Figure 4 (Color online) MNEP for *in vivo* tissue therapy. (a) Schematic diagram of a hollow microneedle chip for local drug delivery to tumors[80]. Copyright © 2022 Wiley. (b) Schematic diagram of the smart patch for intracellular delivery in the target organ[81]. Copyright © 2026 Elsevier. (c) Working principle of a flexible electronic chip for *in vivo* gene transfection[83]. Copyright © 2025 Springer Nature. (d) Schematic diagram of a dual-electrostimulation electronic bandage for intestinal injury repair[15]. Copyright © 2024 Springer Nature

疗药物递送场景中具有较大应用潜力. 为了进一步提升器件的贴附能力, Wang等人[81]结合柔性材料与激光“剪纸”技术, 研发了能够完全贴附大体积器官表面的柔性贴片(图4(b)). 该贴片采用纳米电穿孔技术在肾脏表面持续递送抗炎药物地塞米松, 降低了肾移植中肾脏缺血再灌注导致的损伤. 这种植入式器件通过无线功能实现精准递送操控与长效工作, 可扩展至多种内脏器官的疾病治疗与再生修复, 为生物电子医学的发展开辟了新途径.

2.3.2 基因改造

基因改造技术通过人工干预对生物体基因组进行定向编辑, 可以实现基因的敲除、敲入或修饰[82]. 微纳米电穿孔技术作为一种物理递送方法, 在基因改造过程中, 能精准调控电场, 在细胞膜上形成瞬时纳米孔, 从而高效、低损伤地向细胞内递送基因编辑工具(如CRISPR-Cas9系统)或治疗性核酸, 已广泛应用于疾病模型构建及基因治疗等领域.

在疾病模型构建方面, Yin等人[83]发展了一种集成纳米孔-微通道-微电极递送模块与无线供电模块的纳米流体贴片 (图4(c)). 该器件通过无线感应生成20 V低压脉冲, 能够安全穿孔细胞膜并加速递送多重基因质粒. 研究人员将贴片植入小鼠乳腺, 通过纳米电穿孔向乳腺细胞内转染致癌基因, 诱发在体细胞基因突变, 成功实现活体原发性乳腺癌发生模型的构建. 该纳米流体贴片介导的递送方法不仅比转基因肿瘤模型更早识别和监测初始肿瘤发生过程, 并且轻便、易操作, 展现了微纳米电穿孔技术在体基因改造的应用前景.

在基因治疗领域, Yang等人[84]设计了一种集成微针阵列与滚动结构的分子递送装置. 实际操作时, 先在肿瘤局部注射靶向PD-L1的siRNA, 再将该装置贴合组织并滚动刺入, 同时施加50 V电压, 使组织中形成均匀电场并诱导细胞电穿孔, 该装置显著提升了分子向细胞内的递送效率. 在黑色素瘤与结直肠癌模型中, 该装置有效抑制了肿瘤生长, 提高了动物存活率, 且无明显组织损伤或系统毒性, 为皮肤及皮下肿瘤的免疫治疗提供了新思路. 为进一步实现对组织内部的基因改造, Wu等人[15]研发了用于肠道损伤修复的柔性可降解电子绷带(图4(d)). 该器件结合了脉冲电与直流电双重模式: 先施加脉冲电刺激诱导上皮细胞电转染, 以促进愈合因子的表达; 再利用原电池产生直流电, 刺激转染细胞增强愈合因子分泌. 小鼠模型实验表明, 该电子绷带能有效增强局部细胞外环境中上皮生长因子的水平, 进而促进肠道组织修复与再生.

3 总结与展望

微纳米电穿孔技术利用微纳米级的结构进行精准的电场分布调控, 在低电压的条件下实现了高场强的输出, 在维持细胞高活性的同时, 高效地完成了细胞内外分子的可控传输, 展现了在细胞检测、细胞改造及在体递送等生物医学领域中的应用潜力(表2). 在细胞检测层面, 其与微流控技术结合, 凭借高通量、单细胞精度的优势, 为解析活细胞内分子动态与细胞行为的关联提供了通用平台. 在细胞改造层面, 其凭借物理递送的安全性与高效性, 为规模化制备工程化细胞及功能化细胞外囊泡提供了可靠手段, 推动了肿瘤等疾病的靶向治疗新策略发展. 在组织治疗层面, 通过集成柔性电子器件, 该技术展现出优异的组织贴附与局部渗透能力, 可实现大分子药物与核酸质粒的靶向递送, 为器官特异性修复与基因治疗提供了新一代的技术途径. 综上, 微纳米电穿孔技术以其精准、高效、安全的特性, 为基础研究、细胞工程与临床治疗提供了重要技术支撑.

面向未来发展, 微纳米电穿孔技术仍需解决以下关键科学问题与技术瓶颈.

(1) 电穿孔理论模型的系统构建. 现有电穿孔理论研究多局限于单一物理量或生物学因素的独立分析, 难以全面揭示电场-细胞膜-分子输运之间的动态关联机制. 未来亟需建立包括外加电场分布、膜介电响应及分子输运动力学等在内的多重因素参与的物理模型, 总结接近真实状态下的细胞膜穿孔机制, 为实现高效可逆电穿孔的理论预测及参数选择奠定基础.

(2) 单细胞精度的高通量电穿孔技术. 如何在高通量操作中兼顾对单个细胞穿孔效率的精准调控, 仍是当前技术发展的核心瓶颈. 探索基于电生理信号或膜阻抗实时响应的闭环反馈调控策略, 结合智能的穿孔条件控制, 可在提升样本处理通量的同时, 实现按需穿孔, 从而突破现有方法在操作精度上的局限性.

(3) 规模化的制造工艺. 现有微纳电极的制备多依赖复杂昂贵的光刻工艺, 器件一致性与可扩展生产能力不足, 严重制约了微纳米电穿孔技术的临床转化. 发展基于自组装纳米材料、3D打印或柔性印刷的规模化制备方法, 在确保器件性能一致性及生物相容性的前提下, 将提升技术的实用性与临床适配度.

(4) 自动化的分析处理系统. 单一的电穿孔功能难

表 2 微纳米电穿孔技术应用汇总

Table 2 Applications of MNEP

应用场景	主要适用器件类型	结构特点	作用机制	典型应用指标	优势	局限
细胞检测	纳米孔膜电穿孔芯片[48]	采用具有高密度纳米孔道的聚合物膜	通过纳米孔道实现电场的聚焦与增强, 仅在细胞膜与纳米孔接触的局部区域发生高效、可控的电穿孔	转染效率70%~90% 细胞存活率90%~95%	电场高度局域化、细胞损伤小, 且易与微流控芯片集成	细胞需贴附膜表面, 且长时间培养稳定性有限
	纳米吸管电穿孔芯片[51]	采用中空管状结构阵列	通过纳米吸管贴近细胞膜, 使细胞膜发生变形, 在低电压下实现局部电穿孔	转染效率70%~90% 细胞存活率90%~95% 可重复采样>10次	可实现无损活细胞取样, 支持长期重复采样监测	细胞需贴附膜表面, 且通量较低
	纳米针电穿孔平台[59]	采用单个纳米尺度针状电极	通过将纳米针尖端精确接触细胞膜特定位置, 施加高度局域化的电脉冲, 实现对单个细胞的低损伤电穿孔	单细胞递送效率60%~80% 空间分辨率达到单细胞级	单细胞精确操作能力强, 可实现高空间分辨率操作	依赖精密定位, 且难以规模化
细胞改造	微流控芯片电穿孔平台[13]	在微流控芯片内集成微电极和细胞操控结构	通过流体动力操控细胞使其通过或停留在特定电场区域, 实现高通量、高均一性的电穿孔	转染效率60%~90% 细胞存活率70%~90% 处理通量10^4~10^6 cells/min	高通量, 可实现连续流式处理, 且易与自动化系统集成, 适合大规模细胞工程化(如CAR-T制备)	单细胞控制精度有限, 且微流控系统设计复杂
	阵列化可扩展电穿孔平台[68]	采用微电极阵列作为电穿孔单元	通过独立的电学控制和流体路径设计, 可在同一平台上同时对多个样本进行条件化的电穿孔处理	转染效率70%~95% 细胞存活率90%~95%	多电极阵列可实现并行处理, 电场分布均匀, 处理效率高	受电极污染影响大, 且器件加工复杂
组织治疗	柔性电子电穿孔系统[78]	基于柔性聚合物基底集成超薄/可拉伸电极	通过与组织或器官表面形成共形贴合, 施加均匀、可控的电脉冲, 实现对大面积或曲面生物组织的高效、低损伤电穿孔	基因表达增强10~100× 组织损伤低	器件可覆盖较大面积组织, 适合局部治疗, 柔性电极可与皮肤或器官表面共形贴合, 提高电场均匀性	电场作用深度有限, 主要适用于浅层组织, 且器件长期稳定性和封装要求较高
	微针阵列电穿孔系统[80]	结合数十至数百个微米尺度针尖组成的阵列	通过微针物理穿透皮肤或组织屏障, 直接在靶组织内建立微电极阵列, 实现高效、低电压的局部电穿孔	基因递送效率30%~70% 组织穿透深度0.5~1.5 mm	可突破皮肤屏障, 组织穿透深度可控	存在轻微组织损伤, 且制备成本较高
	可降解植入式电穿孔系统[15]	采用生物相容性良好的可降解材料	通过无线供电或自供电方式提供能量, 在目标组织局部产生可控的温和电脉冲, 实现高效、低损伤的基因或药物递送	在体基因表达提升5~50×	可在体内长期稳定工作, 实现持续或重复电刺激, 能够直接作用于深部组织, 提高局部递送效率	需要手术植入, 存在一定创伤风险, 器件生物相容性和长期稳定性要求高

以满足当前生物医学研究对获取多维信息的需求. 未来技术平台应朝着“原位检测—实时分析—精准递送”的闭环系统发展, 通过整合微流控操纵、生物传感与电场递送模块, 构建智能化的自动分析处理系统, 推动其在基因治疗等前沿领域的应用.

综上所述, 微纳米电穿孔技术正朝着理论驱动、智能调控与规模集成的方向持续发展. 通过聚焦上述关键科学问题与技术瓶颈, 有望在提升技术性能的同时, 加速临床转化进程, 为精准生物研究及个性化医疗提供新一代平台工具.

参考文献

1 Vandenabeele P, Bultynck G, Savvides S N. Pore-forming proteins as drivers of membrane permeabilization in cell death pathways. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24: 312–333

2 Sevenler D, Toner M. High throughput intracellular delivery by viscoelastic mechanoporation. Nat Commun, 2024, 15: 115

3 Cai Y, Sun S, Nie J, et al. Emerging cancer electrotherapeutic technologies: a biomedical engineering paradigm. Sci Bull, 2026, 71: 1875–1879

4 Geboers B, Scheffer H J, Graybill P M, et al. High-voltage electrical pulses in oncology: irreversible electroporation, electrochemotherapy, gene electrotransfer, electrofusion, and electroimmunotherapy. Radiology, 2020, 295: 254–272

5 Yarmush M L, Golberg A, Serša G, et al. Electroporation-based technologies for medicine: principles, applications, and challenges. Annu Rev Biomed Eng, 2014, 16: 295–320

6 Muralidharan A, Boukany P E. Electrotransfer for nucleic acid and protein delivery. Trends Biotechnol, 2024, 42: 780–798
7 Neumann E, Schaefer-Ridder M, Wang Y, et al. Gene transfer into mouse lyoma cells by electroporation in high electric fields. EMBO J, 1982, 1: 841–845
8 Gharia A A, Bradfield C J, Jenkins E P W, et al. Efficient electroporation in primary cells with PEDOT:PSS electrodes. Sci Adv, 2024, 10: eado5042
9 Huang S, Chen J, Huang X, et al. Advancements in micro- and nanoelectronic devices for minimally invasive disease diagnosis and treatment (in Chinese). Chin Sci Bull, 2025, 70: 205–222 [黄爽, 陈家宜, 黄新烁, 等. 微纳电子器件在疾病微创诊断与治疗中的研究进展. 科学通报, 2025, 70: 205–222]
10 Dong Z, Jiao Y, Xie B, et al. On-chip multiplexed single-cell patterning and controllable intracellular delivery. Microsyst Nanoeng, 2020, 6: 2
11 Liu F, Sun H, Liu B, et al. A nano-electro-platform enabling evolutionary screening and remodeling of tumor cells for metastasis inhibition. Adv Sci, 2025, 12: e07684
12 He G, Feng J, Zhang A, et al. Multifunctional branched nanostraw-electroporation platform for intracellular regulation and monitoring of circulating tumor cells. Nano Lett, 2019, 19: 7201–7209
13 Dong S, Liu X, Bi Y, et al. Adaptive design of mRNA-loaded extracellular vesicles for targeted Immunotherapy of cancer. Nat Commun, 2023, 14: 6610
14 Wang Y, Wu H, Xiao A, et al. Combined amniotic membrane and self-powered electrical stimulator bioelectronic dress promotes wound healing. ACS Appl Mater Interfaces, 2024, 16: 15809–15818
15 Wu H, Wang Y, Li H, et al. Accelerated intestinal wound healing via dual electrostimulation from a soft and biodegradable electronic bandage. Nat Electron, 2024, 7: 299–312
16 Boukany P E, Morss A, Liao W, et al. Nanochannel electroporation delivers precise amounts of biomolecules into living cells. Nat Nanotech, 2011, 6: 747–754
17 He G, Yang C, Hang T, et al. Hollow nanoneedle-electroporation system to extract intracellular protein repetitively and nondestructively. ACS Sens, 2018, 3: 1675–1682
18 Huang D, Zhao D, Wang X, et al. Efficient delivery of nucleic acid molecules into skin by combined use of microneedle roller and flexible interdigitated electroporation array. Theranostics, 2018, 8: 2361–2376
19 Xia D, Jin R, Byagathvalli G, et al. An ultra-low-cost electroporator with microneedle electrodes (ePatch) for SARS-CoV-2 vaccination. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118: e2110817118
20 Kim J, Campbell A S, de Ávila B E F, et al. Wearable biosensors for healthcare monitoring. Nat Biotechnol, 2019, 37: 389–406
21 Poirier M, Semaoune R. Polarization effects in autoionization processes of alkaline-Earth-metal atoms: Coulomb Green ’s-function analysis. Phys Rev A, 1999, 59: 3471–3479
22 Tieleman D P. The molecular basis of electroporation. BMC Biochem, 2004, 5: 10
23 Wang F, Lin S, Yu Z, et al. Recent advances in microfluidic-based electroporation techniques for cell membranes. Lab Chip, 2022, 22: 2624–2646
24 Bennett W F D, Tieleman D P. The importance of membrane defects—lessons from simulations. Acc Chem Res, 2014, 47: 2244–2251
25 Zhang Y, Luo Z, Guo F. Simulation of electroporation threshold based on the evolution of transmembrane potential and pore density. PeerJ, 2025, 13: e19356
26 Campelo S N, Huang P H, Buie C R, et al. Recent advancements in electroporation technologies: from bench to clinic. Annu Rev Biomed Eng, 2023, 25: 77–100
27 Liu Y, Wang P, Wang C, et al. Self-powered electroporation technologies based on triboelectric nanogenerators. Nano Energy, 2024, 123: 109354
28 Movahed S, Li D. Electrokinetic transport through the nanopores in cell membrane during electroporation. J Colloid Interface Sci, 2012, 369: 442–452
29 Li J, Lin H. Numerical simulation of molecular uptake via electroporation. Bioelectrochemistry, 2011, 82: 10–21
30 Kotnik T, Rems L, Tarek M, et al. Membrane electroporation and electropermeabilization: mechanisms and models. Annu Rev Biophys, 2019, 48: 63–91
31 Wen C, Schmid S, Dekker C. Understanding electrophoresis and electroosmosis in nanopore sensing with the help of the nanopore electro-osmotic trap. ACS Nano, 2024, 18: 20449–20458
32 Pan J, Chiang C, Wang X, et al. Cell membrane damage and cargo delivery in nano-electroporation. Nanoscale, 2023, 15: 4080–4089
33 Batista Napotnik T, Polajžer T, Miklavčič D. Cell death due to electroporation – A review. Bioelectrochemistry, 2021, 141: 107871
34 Hai A, Spira M E. On-chip electroporation, membrane repair dynamics and transient in-cell recordings by arrays of gold mushroom-shaped microelectrodes. Lab Chip, 2012, 12: 2865–2873
35 Lira R B, Leomil F S C, Melo R J, et al. To close or to collapse: the role of charges on membrane stability upon pore formation. Adv Sci, 2021, 8: e2004068

36 Stewart M P, Sharei A, Ding X, et al. *In vitro* and *ex vivo* strategies for intracellular delivery. Nature, 2016, 538: 183–192
37 Mohammadi R, Stavrakis S, deMello A J. Microfluidic transfection systems. Adv Drug Deliv Rev, 2026, 232: 115818
38 Ji C, Song Y, Fan Z, et al. Physical intracellular delivery based on microfluidic technology. Small, 2025, 21: e2504048
39 Hur J, Chung A J. Microfluidic and nanofluidic intracellular delivery. Adv Sci, 2021, 8: e2004595
40 Chen J, Bu Z, Zhan Q. Targeting focal adhesion kinase: from molecular mechanisms to next-generation cancer therapeutics. Sci Bull, 2026, 71: 1812–1830
41 Xu Y, Ren X, Yu M, et al. Nanotechnology-based drug delivery strategies for cancer therapy (in Chinese). Chin Sci Bull, 2023, 68: 4346–4372 [徐寅生, 任翔宇, 余梦真, 等. 基于纳米技术的药物递送策略及其在癌症治疗中的应用. 科学通报, 2023, 68: 4346–4372]
42 Seki A, Rutz S. Optimized RNP transfection for highly efficient CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in primary T cells. J Exp Med, 2018, 215: 985–997
43 Okita K, Matsumura Y, Sato Y, et al. A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. Nat Methods, 2011, 8: 409–412
44 Mansell R P, Müller S, Yang J S, et al. Ether lipids influence cancer cell fate by modulating iron uptake. Nat Commun, 2026, 17: 1835
45 Dias C, Nylandsted J. Plasma membrane integrity in health and disease: significance and therapeutic potential. Cell Discov, 2021, 7: 4
46 Blažič A, Guinard M, Leskovar T, et al. Long-term changes in transmembrane voltage after electroporation are governed by the interplay between nonselective leak current and ion channel activation. Bioelectrochemistry, 2025, 161: 108802
47 Liu F, Su R, Jiang X, et al. Advanced micro/nano-electroporation for gene therapy: recent advances and future outlook. Nanoscale, 2024, 16: 10500–10521
48 Emon S, Amin A, Hossain M, et al. Optimizing electroporation via pulse modulation: a molecular dynamics study. Eur Biophys J, 2025, 54: 477–490
49 Kang W, McNaughton R L, Espinosa H D. Micro- and nanoscale technologies for delivery into adherent cells. Trends Biotechnol, 2016, 34: 665–678
50 Zhao X, Huang X, Wang X, et al. Nanochannel electroporation as a platform for living cell interrogation in acute myeloid leukemia. Adv Sci, 2015, 2: 1500111
51 Cao Y, Ma E, Cestellos-Blanco S, et al. Nontoxic nanopore electroporation for effective intracellular delivery of biological macromolecules. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116: 7899–7904
52 Wan F, Dong Z, Liu B, et al. Sensitive interrogation of enhancer activity in living cells on a nanoelectroporation-probing platform. ACS Sens, 2022, 7: 3671–3681
53 Sun H, Dong Z, Zhang Q, et al. Companion-probe & race platform for interrogating nuclear protein and migration of living cells. Biosens Bioelectron, 2022, 210: 114281
54 Dong Z, Wang Y, Xu G, et al. Genetic and phenotypic profiling of single living circulating tumor cells from patients with microfluidics. Proc Natl Acad Sci USA, 2024, 121: e2315168121
55 Quek Y J, Tay A. Nanoscale methods for longitudinal extraction of intracellular contents. Adv Mater, 2024, 36: e2314184
56 Higgins S G, Stevens M M. Extracting the contents of living cells. Science, 2017, 356: 379–380
57 Cao Y, Hjort M, Chen H, et al. Nondestructive nanostraw intracellular sampling for longitudinal cell monitoring. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114: E1866–E1874
58 Huang Z, Liu F, Zhi D, et al. Nano-electro-sampling and intelligent analysis system for real-time gene profiling of living cells. Small, 2025, 21: e06688
59 Actis P, Maalouf M M, Kim H J, et al. Compartmental genomics in living cells revealed by single-cell nanobiopsy. ACS Nano, 2014, 8: 546–553
60 Patino C A, Mukherjee P, Berns E J, et al. High-throughput microfluidics platform for intracellular delivery and sampling of biomolecules from live cells. ACS Nano, 2022, 16: 7937–7946
61 Peng L, Sferruzza G, Yang L, et al. CAR-T and CAR-NK as cellular cancer immunotherapy for solid tumors. Cell Mol Immunol, 2024, 21: 1089–1108
62 Chang L, Li L, Shi J, et al. Micro-/nanoscale electroporation. Lab Chip, 2016, 16: 4047–4062
63 Tang R, Xu Z. Gene therapy: a double-edged sword with great powers. Mol Cell Biochem, 2020, 474: 73–81
64 Lin M H, Hu L J, Miller J S, et al. CAR-NK cell therapy: a potential antiviral platform. Sci Bull, 2025, 70: 765–777
65 Kumar A R K, Low J, Lim J, et al. Non-viral, high throughput genetic engineering of primary immune cells using nanostraw-mediated transfection. Biomaterials, 2025, 317: 123079
66 Shokouhi A, Chen Y, Yoh H Z, et al. Engineering efficient CAR-T cells via electroactive nanoinjection. Adv Mater, 2023, 35: e2304122
67 Liu E, Marin D, Banerjee P, et al. Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors. N Engl J Med, 2020, 382: 545–553
68 Chang L, Gallego-Perez D, Zhao X, et al. Dielectrophoresis-assisted 3D nanoelectroporation for non-viral cell transfection in adoptive

Immunotherapy. Lab Chip, 2015, 15: 3147–3153
69 Ren X, Weng Y, Zhang Z, et al. Nanopore-based electroporation enables high-efficiency, rapid RNA-mediated reprogramming of primary fibroblasts into human iPSCs. Nano Lett, 2025, 25: 10310–10320
70 Xiao A, Wang J, Chen X, et al. Galvanic cell-stimulated mesenchymal stem cell mesh for enhanced pelvic organ prolapse treatment. Adv Healthcare Mater, 2025, 14: e2403603
71 Wang Y, Hu M, Spanos M, et al. Bioengineering extracellular vesicles for enhanced therapeutic functionality and clinical potential in the cardiovascular system. Sci Bull, 2026, 71: 1524–1545
72 Pan Y, Li Z. Research progress and prospects of medical applications of nanomaterials based on exosomes (in Chinese). Chin Sci Bull, 2025, 70: 3889–3908 [潘玉璇, 李振华. 基于外泌体纳米材料的医学研究进展与前景展望. 科学通报, 2025, 70: 3889–3908]
73 Yang Z, Shi J, Xie J, et al. Large-scale generation of functional mRNA-encapsulating exosomes via cellular nanoporation. Nat Biomed Eng, 2020, 4: 69–83
74 Qian S, Mao J, Zhao Q, et al. "Find-eat" strategy targeting endothelial cells via receptor functionalized apoptotic body nanovesicle. Sci Bull, 2023, 68: 826–837
75 Ma Y, Sun L, Zhang J, et al. Exosomal mRNAs for angiogenic-osteogenic coupled bone repair. Adv Sci, 2023, 10: 2302622
76 You Y, Tian Y, Yang Z, et al. Intradermally delivered mRNA-encapsulating extracellular vesicles for collagen-replacement therapy. Nat Biomed Eng, 2023, 7: 887–900
77 Qu J, Wang Y, Xiong C, et al. *In vivo* gene editing of T-cells in lymph nodes for enhanced cancer Immunotherapy. Nat Commun, 2024, 15: 10218
78 Kougkolos G, Laudebat L, Dinculescu S, et al. Skin electroporation for transdermaldrug delivery: electrical measurements, numerical model and molecule delivery. J Control Release, 2024, 367: 235–247
79 Ghosh S, Zheng M, He J, et al. Electrically-driven drug delivery into deep cutaneous tissue by conductive microneedles for fungal infection eradication and protective immunity. Biomaterials, 2025, 314: 122908
80 Lin L, Wang Y, Cai M, et al. Multimicrochannel microneedle microporation platform for enhanced intracellular drug delivery. Adv Funct Mater, 2022, 32: 2109187
81 Wang Y, Du L, Wu H, et al. An organ-conformal, kirigami-structured bioelectronic patch for precise intracellular delivery. Cell, 2026, 189: 1086–1107.e32
82 Hsu P D, Lander E S, Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. Cell, 2014, 157: 1262–1278
83 Yin D, Wang P, Hao Y, et al. A battery-free nanofluidic intracellular delivery patch for internal organs. Nature, 2025, 642: 1051–1061
84 Yang T, Huang D, Li C, et al. Rolling microneedle electrode array (RoMEA) empowered nucleic acid delivery and cancer Immunotherapy. Nano Today, 2021, 36: 101017

Summary for “微纳米电穿孔技术在生物医学中的研究进展”

Advances in micro-/nano-electroporation technology for biomedical applications

Ruiyang Li[1,2†], Ruowen Zhang[1,2†], Lingqian Chang[1,3*] & Zaizai Dong[1,3*]

[1] *Qingdao Research Institute, Beihang University, Qingdao 266100, China*
[2] *School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China*
[3] *School of Engineering Medicine, Beihang University, Beijing 100191, China*
† Equally contributed to this work
* Corresponding authors, E-mail: lingqianchang@buaa.edu.cn; dongzaizai@buaa.edu.cn

Micro–/nano–electroporation (MNEP) technology represents a significant advancement in the field of physical cell manipulation by leveraging micro– and nanoscale structures to precisely control electric field distributions. By confining the field to near–cellular dimensions, this approach achieves efficient permeabilization of cell membrane while maintaining high cell viability. Consequently, MNEP provides a powerful platform for advanced biomedical applications, including cell analysis, targeted drug delivery, and precision disease therapy.

This article systematically reviews the fundamental principles of MNEP and dissects the underlying mechanisms through three sequential stages: membrane poration, molecular transmembrane transport, and membrane resealing. First, the localized enhanced electric field, often generated by nanotips, nanochannels, or constriction microstructures, triggers rapid nanoscale pore formation within microseconds. The pore size, density, and lifetime can be finely tuned by adjusting pulse parameters, including voltage, duration, and number of pulses. Second, electrophoretic forces drive exogenous molecules, such as plasmid DNA, messenger RNA, and small interfering RNA, across the permeabilized membrane. Conversely, this technology also enables the extraction of intracellular contents, including proteins, metabolites, and nucleic acids, for single-cell analysis and diagnostic applications. Importantly, the nanoscale confinement reduces the required voltage by orders of magnitude compared with conventional bulk electroporation, minimizing irreversible cell damage. Third, the natural resealing of the lipid bilayer, typically occurring within seconds to minutes, traps functional molecules inside the cytoplasm or even directs them toward the nucleus for genome integration. These mechanistic insights provide a robust theoretical foundation for the development of electroporation devices with enhanced safety, throughput, and precision.

Subsequently, the biomedical applications of MNEP are discussed from three key perspectives: *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo*. *In vitro*, the technology enables high–throughput single–cell analysis, real–time intracellular delivery, and the study of complex signaling pathways with minimal perturbation to cellular homeostasis. *Ex vivo*, it facilitates efficient genetic modification of primary cells and stem cells for adoptive cell therapies, such as chimeric antigen receptor T–cell (CAR–T) engineering, where traditional viral vectors pose safety concerns and bulk electroporation compromises cell viability. *In vivo*, minimally invasive MNEP devices, including implantable microneedle arrays and flexible nanoelectrode patches, offer new opportunities for targeted therapeutic interventions in diseased tissues, enabling localized cancer immunotherapy and regeneration of damaged neural circuits via direct delivery of gene editors.

Finally, the advantages of MNEP are summarized, including high delivery efficiency, low cellular damage, scalability for high–throughput workflows, and compatibility with a wide range of molecular cargos. Despite its promise, several technical challenges require further investigation: (1) the development of a unified cross-scale physical model that couples field distribution, membrane deformation, pore energetics, and transport dynamics; (2) the implementation of closed-loop feedback control to achieve single-cell resolution in high-throughput systems; (3) the establishment of scalable manufacturing strategies, such as 3D printing or self-assembly, to replace costly photolithography; and (4) the integration of *in situ* detection, precision delivery, and real-time analysis into a single platform. Addressing these challenges will be instrumental in advancing smart, closed-loop electroporation platforms with the potential to transform next-generation gene therapy and precision medicine.

cell electroporation, micro–/nano–biodevices, intracellular molecule delivery, live–cell sampling, gene therapy

doi: 10.1360/CSB-2026-0128