中国科学: 化学 2026 年 第 56 卷 第 9 期: 2789 ~ 2807
SCIENTIA SINICA Chimica chemcn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS

专题论述

基于纳米电极电化学分析技术的亚细胞分析

马园园, 江德臣, 潘荣容*

南京大学化学化工学院, 生命分析化学全国重点实验室, 南京 210023
*通讯作者, E-mail: rongrongpan@nju.edu.cn

收稿日期: 2026-03-31; 接受日期: 2026-05-28; 网络版发表日期: 2026-08-07
国家自然科学基金(编号: 22522404)资助项目

摘要 活细胞中的亚细胞结构是维系细胞生命活动的核心功能单元, 其异质性与动态变化和生理病理进程密切相关. 纳米电极电化学分析技术兼具高时空分辨率、高灵敏度与亚细胞结构尺寸适配等优势, 成为亚细胞水平原位检测的重要工具之一. 本文系统综述了纳米电极电化学分析技术在活细胞内亚细胞分析领域的研究进展: 首先, 阐述纳米毛细管电极和实心碳纤维/金属丝/铂化碳化硅纳米电极两大类纳米电极的可控制备及表面功能化修饰策略; 进而, 探讨其在单囊泡、细胞器邻近微区和单个细胞器原位实时定量检测三个层面的应用; 最后, 展望了该领域面临的挑战及未来发展方向.

关键词 纳米电极, 高时空分辨分析, 单细胞器, 细胞器邻近微区, 单囊泡

1 引言

细胞作为生命活动的基本功能单元, 其内部各类亚细胞结构通过高度区室化精准分工与协同作用维系着复杂的生命过程[1~8]. 线粒体、溶酶体等细胞器, 以及承担转运功能的囊泡, 共同构成生物分子合成、能量代谢、信号传导及物质储存的核心功能区域. 各类亚细胞结构的功能异质性与动态变化直接关联细胞增殖、分化、凋亡等生命活动, 并与多种疾病的发生发展密切相关[9~11]. 然而, 传统基于群体平均值的分析方法, 往往会丢失亚细胞层面的异质性信息与原位动态特征, 难以精准阐释亚细胞水平的分子调控机制[2,12~14]. 因此, 在活细胞内实现亚细胞水平原位、高时空分辨的高灵敏检测, 已成为解析细胞生命活动规律与阐明疾病病理机制的核心研究需求.

活细胞内亚细胞分析仍面临诸多技术挑战. 亚细胞结构不仅尺寸仅为(亚)微米级别, 还存在内部成分复杂、目标分子丰度低、动态过程瞬息多变等特征, 极大增加了原位定量检测的难度. 近年来, 荧光成像、流式细胞术、质谱分析等技术, 为亚细胞层面的研究提供了重要支撑, 但各类技术仍存在固有局限. 其中, 流式细胞术[15~17]与质谱分析[18~21]需要对细胞器进行分离提取, 破坏了细胞器的原生微环境, 无法还原真实的生理状态. 荧光成像技术依赖外源性探针标记, 在一定程度上干扰细胞器的生理活性, 且时间分辨率仍有待进一步提高[22,23]. 超分辨荧光成像技术虽打破了光学衍射极限的限制, 却难以实现生物分子的实时定量检测与动态追踪[24~29]. 相比之下, 纳米电极电化学分析技术凭借高时空分辨率、高灵敏度及对细胞损伤小等独特优势, 逐渐成为亚细胞原位分析领域的理想检

引用格式: Ma Y, Jiang D, Pan R. Subcellular analysis based on nanoelectrode electrochemical methods. *Sci Sin Chim*, 2026, 56: 2789–2807, doi: 10.1360/SSC-2026-0073

© 2026 《中国科学》杂志社

测手段[30~37].

本文系统梳理了纳米电极电化学分析技术在亚细胞分析领域的研究进展，并从技术基础与应用实践两大维度展开论述. 其中，技术基础章节围绕功能化纳米电极的构建展开，涵盖纳米毛细管电极和实心碳纤维/金属丝/铂化碳化硅纳米电极的结构设计、制备工艺与表面修饰策略等. 应用实践部分依次从单囊泡、细胞器邻近微区、单个细胞器原位实时定量检测三个研究层面展开阐述: (1) 活细胞内单囊泡电化学检测. 通过精细操控纳米电极穿透细胞膜，检测囊泡与电极碰撞释放儿茶酚胺、活性氧(reactive oxygen species, ROS)与活性氮(reactive nitrogen species, RNS)等电活性分子，同时该方法还涵盖非电活性分子的酶催化转化检测方法. (2) 活细胞内细胞器邻近微区电化学分析. 实现目标细胞器邻近微区内还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)、ROS/RNS、核酸、氨基酸等生物分子的精准识别与实时动态监测. (3) 活细胞内单细胞器电化学分析. 完成单个线粒体、溶酶体等细胞器的靶向检测与功能表征，于亚细胞尺度揭示细胞器特征与细胞功能调控的内在联系. 最后，文中总结了该领域现存的关键科学难题与技术瓶颈，并对未来发展趋势进行展望，以期为亚细胞层面的生命机制研究及相关疾病诊断工作提供参考.

2 纳米电极的制备

纳米电极电化学分析技术凭借其高灵敏度与高时空分辨的显著优势，已成为活细胞内亚细胞分析的核心研究工具. 按材料类型可分为碳基纳米电极与金属基纳米电极. 前者生物相容性优异且制备成本较低，后者具备高电导率与优良的电化学响应. 按电极结构不同，可分为纳米毛细管电极和实心碳纤维/金属丝/铂化碳化硅纳米电极等. 本节系统梳理了各类纳米电极的制备策略，为后续亚细胞层面的分析研究奠定理论与技术基础.

2.1 纳米毛细管电极

纳米毛细管电极通常以非导电的石英或硼硅酸盐毛细管作为基底，借助激光微电极拉制仪可制备出不同尖端孔径的纳米毛细管. 随后通过在管壁可控沉积碳、金、铂等导电材料构建电化学传感界面. 在导电层沉积工艺中，物理气相沉积(physical vapor deposition, PVD)因成膜均匀性好、基底适用性广、工艺可控性强等优势而成为目前最常用的制备技术，主要包括磁控溅射与电子束蒸镀两类[38,39]. 我们课题组前期采用磁控溅射技术在硼硅酸盐毛细管外壁沉积铂层，结合聚二甲基硅氧烷与绝缘蜡封装外壁，仅在毛细管尖端暴露约1 μm长的铂层作为电化学传感界面(图1a)[40,41]. 通过调控溅射角度，可在毛细管尖端内壁构筑长度约5 μm的电化学传感界面，高效采集管内待测分子的电化学信号，显著提升其检测灵敏度. 近期，徐静娟课题组[42]采用磁控溅射技术，于纳米毛细管外壁依次沉积钛黏附层与银层，并通过化学氧化处理成功构筑银/氯化银(Ag/AgCl)纳米电极，该电极可同时兼具工作电极与参比电极双重功能. 此外，为进一步拓展毛细管壁功能层的应用维度，可先通过电子束蒸发在毛细管外壁制备钛黏附层，再分区沉积铂与镍功能层. 随后采用原子层沉积技术在管壁包覆氧化铝绝缘层，以提升电极稳定性与抗干扰能力. 最后利用聚焦离子束对尖端进行精密切割，即可制备集ROS检测与温度传感于一体的双功能纳米电极(图1b)[43].

上述基于PVD的制备策略多聚焦于在纳米毛细管外壁修饰导电材料. 若需构筑内壁传感界面, 可通过刻蚀去除外壁导电层，或采用绝缘遮蔽手段封闭外壁导电区域以抑制背景信号. 例如，利用电子束蒸发在纳米毛细管内外壁同时沉积金层后，借助盐酸刻蚀去除外壁金层，即可制备仅内壁含金的纳米电极并应用于后续检测. 然而，此类操作不仅会增加制备工序复杂度，还易因工艺不稳定性降低电极制备的重复性. 为简化制备流程、提高电极性能稳定性，热解法与化学气相沉积法(chemical vapor deposition, CVD)被广泛用于纳米毛细管内壁导电层的可控构建. 热解法以甲烷、乙炔等作为碳源，在惰性气氛下对碳源进行高温裂解，使碳材料沉积于石英纳米毛细管内壁形成导电碳层[44~49]. 具体流程如下: 将拉制好的石英纳米毛细管封装于大尺寸石英套管内部，通入氩气维持惰性保护氛围; 再从石英纳米毛细管后端通入甲烷与乙炔碳源气体，经高温煅烧使碳源在毛细管尖端内壁沉积，最终形成导电碳层. 但是，该方法仍存在管内碳层沉积不均匀的现象.

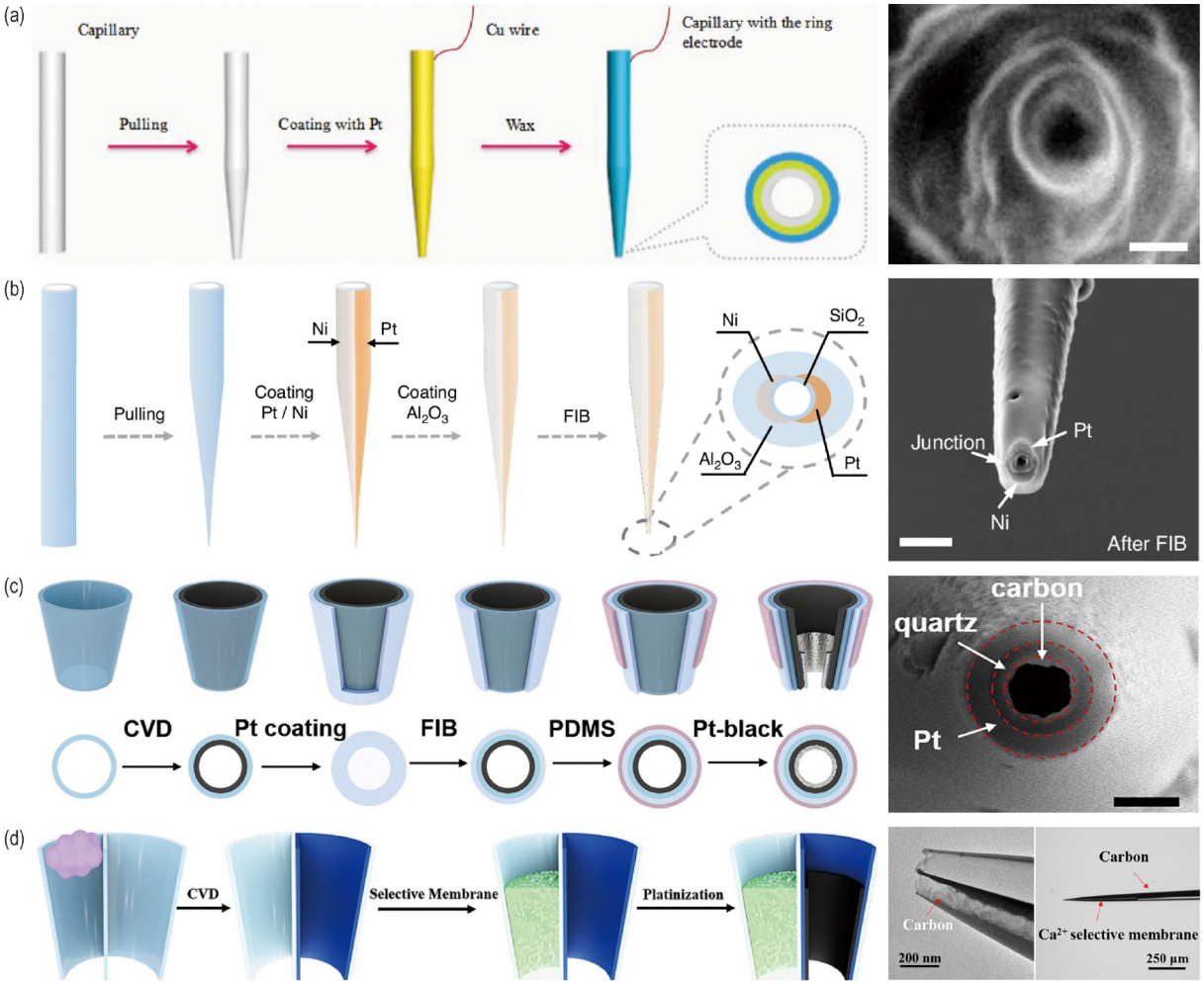


图 1　(网络版彩图) (a) 磁控溅射法制备铂层修饰纳米毛细管电极的示意图及扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)图像[41]. 比例尺=200 nm. (b) 外壁分区沉积铂、镍层的双功能纳米电极制备示意图及氦离子显微镜表征图像[43]. 比例尺=400 nm. (c) 集成双分离传感器的双回路纳米毛细管电极的制备流程示意图及SEM图像[68]. 比例尺=200 nm. (d) 集成Ca^{2+}与ROS传感器的θ型纳米毛细管制备示意图, 透射电子显微镜(TEM)图像和明场图像[35]

Figure 1　(Color online) (a) Schematic diagram showing the fabrication of a Pt-coated nanopipette electrode via magnetron sputtering and scanning electron microscope (SEM) image [41]. Scale bar=200 nm. (b) Schematic illustration of dual-functional nanoelectrode with regionally deposited Pt and Ni layers on the outer wall, and helium ion microscopy characterization image [43]. Scale bar=400 nm. (c) Schematic illustration of the fabrication procedure for dual-circuit nanopipette electrode integrated with two independent sensors, along with an SEM image [68]. Scale bar=200 nm. (d) Schematic diagram showing the fabrication process of a θ-nanopipette integrated with a Ca^{2+} sensor and a ROS sensor, transmission electron microscope (TEM) image, and bright-field image [35].

为此, Mirkin课题组[50~53]通过调控CVD工艺中甲烷/氩气流量比与反应时间, 实现了碳纳米毛细管电极均匀、可控且可批量的制备. 将拉制完成的石英纳米毛细管置于管式炉中, 通入特定比例的甲烷与氩气混合气氛, 在700~900 °C条件下恒温反应0.5~1 h, 随后于氩气保护氛围中自然冷却. 碳层厚度与微观结构受毛细管几何形貌、沉积温度、反应时长及气体流量比共同调控[54~56]. 缩短沉积时间并降低甲烷/氩气比例可制备带有空腔的碳纳米毛细管电极, 而延长沉积时间并提高气体比例, 则易形成开口式碳纳米毛细管电极[57~59]. 此类碳基纳米毛细管电极的尖端开口内径可低至十余纳米, 且导电层整体处于等电位状态, 可最大限度降低沿毛细管轴线的电压降. 管内壁碳层不仅具有优异的电化学性能, 还可作为金、铂等导电材料及酶反应体系的修饰基底[50,52,60~62]. 同时, 其中空结构特征可在电化学原位检测基础上, 实现单细胞内物质

输运、微量胞质抽取及单细胞器精准捕获等功能，进一步拓展电极的应用场景[35,63~66].

此外, 基于纳米毛细管内外壁的复合修饰策略, 可构筑具备双传感界面的纳米毛细管电极，实现多靶点、抗干扰的电化学传感. 黄卫华课题组[67]采用热解法, 在毛细管内壁距管口5~10 μm处沉积碳层. 随后在碳层表面通过电沉积铂纳米颗粒、共价交联固定葡萄糖氧化酶等工艺, 构建特异性目标检测界面. 再通过磁控溅射法在管口内壁及毛细管外壁沉积铂层，并调控溅射角度实现碳层与管内铂层的空间隔离. 其中，管内铂层可作为“电化学法拉第笼”，有效屏蔽胞内电化学活性干扰分子的响应信号. 碳层表面修饰的铂纳米颗粒及共价交联固定葡萄糖氧化酶作为传感器，可实现活细胞内葡萄糖的原位精准检测. 我们课题组[68]通过CVD工艺在纳米毛细管内壁沉积碳层作为内电路检测单元，同时在外壁溅射铂层构建外电路检测单元(图1c). 利用聚焦离子束对毛细管尖端进行加工, 隔离内壁碳层与外壁铂层并形成两套独立的电化学电路. 该结构可同步检测活细胞内单个线粒体与细胞质中的ROS，为解析线粒体与胞质间的亚细胞信号交流提供技术支撑.

除在单通道纳米毛细管内外构筑双电化学检测电路外, 还可以利用双通道θ型纳米毛细管设计出多组分同步检测的双电化学传感界面[35]. 如图1d所示，密封其中一个通道的末端，对另一通道采用CVD技术沉积导电碳层并修饰铂黑，构建基于计时电流法的ROS检测传感器. 再向密封通道内注入离子选择性膜，制备出基于电位法的Ca^{2+}传感器. 该双通道传感器可同步监测线粒体中Ca^{2+}与ROS的动态变化，阐明二者的相互作用规律及其在线粒体、溶酶体与胞质等亚细胞区域的信号调控机制.

此外，通过液相化学沉积或光化学还原等策略，同样可实现纳米毛细管内壁的金属层修饰. 例如, 在紫外光照射下，填充于纳米毛细管内的氯金酸溶液可在管壁发生缓慢还原反应，形成2~4 nm厚的金膜，再经洗涤、干燥与退火处理后制备出超薄镀金纳米毛细管[69]. 还可通过在纳米毛细管内引入氯金酸与过氧化氢反应体系，原位合成厚度约2~5 nm的金膜[70]. 此外, 通过在纳米毛细管内部填充氯金酸、氯铂酸等金属前驱体溶液，在管外引入硼氢化钠、盐酸羟胺等还原剂. 通过调控施加的偏压, 调控还原反应速率, 可实现金属材料在毛细管尖端区域的可控沉积[71~73].

以上电极制备方法是通过在毛细管内外壁构建电化学传感界面, 利用分子的电化学氧化还原, 引起法拉第电流的变化实现分子测量. 除此之外, 还可以利用流经毛细管内外的离子电流变化实现分子测量. 1997年, Bard课题组[74]发现纳米毛细管电极在0.1 mol L^{-1}氯化钾电解质溶液中呈现非线性电流-电压响应特征，即在相同幅值的正负偏压条件下，正向电流的绝对值显著小于负向电流，该现象被定义为离子电流整流效应(ion current rectification, ICR). 纳米毛细管内壁自带固有表面电荷，会吸附溶液中的反离子并形成扩散双电层(diffuse double layer, DDL), 这也是ICR效应产生的根本原因[75~77]. 在低浓度电解质溶液中，DDL厚度与纳米毛细管孔径相当. 受内壁固有电荷的静电作用影响，离子在负偏压下更易穿过孔道，而在正偏压下则受到静电排斥, 最终产生ICR现象. DDL厚度主要受孔道内径、表面电荷密度与电解质浓度共同调控. 基于该机制，在纳米毛细管内壁修饰功能性核酸或蛋白质分子，可精准调控内壁电荷分布与孔道内分子构象，显著提升电极对ROS、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、RNA和氨基酸等目标分子的检测选择性与灵敏度[78~87].

2.2 实心碳纤维/金属丝/铂化碳化硅纳米电极

碳纤维微电极由碳纤维与毛细管组装而成，制备过程对操作精度要求极高[88~91]. 需借助真空泵或镊子将单根碳纤维插入空心纳米毛细管内部，毛细管的尖端内径需略大于碳纤维尺寸. 随后采用环氧树脂对电极尖端进行绝缘封装，以避免因管内填充物泄漏而引发的背景信号波动. 最后, 回填电解质溶液或碳粉, 并连接导电金属丝, 即可完成碳纤维微电极的制备. 该类电极尺寸由碳纤维基材决定，通常为数微米至数十微米. 为了进一步缩小电极尺寸, Ewing课题组[92,93]采用碳纤维火焰蚀刻改性工艺. 如图2a所示, 碳纤维嵌入毛细管后经激光拉制, 获得内嵌碳纤维的纳米毛细管. 随后，用手术刀切割碳纤维端部，使其暴露长度缩小至100~150 μm. 再将电极置于丁烷火焰中旋转缓慢刻蚀, 通过精准调控火焰温度，实现碳纤维尖端尺寸的可控缩减与形貌调控.

为进一步缩短碳纤维暴露长度并优化检测信噪比, 黄卫华课题组[94,95]对制备工艺进行了优化. 将火焰

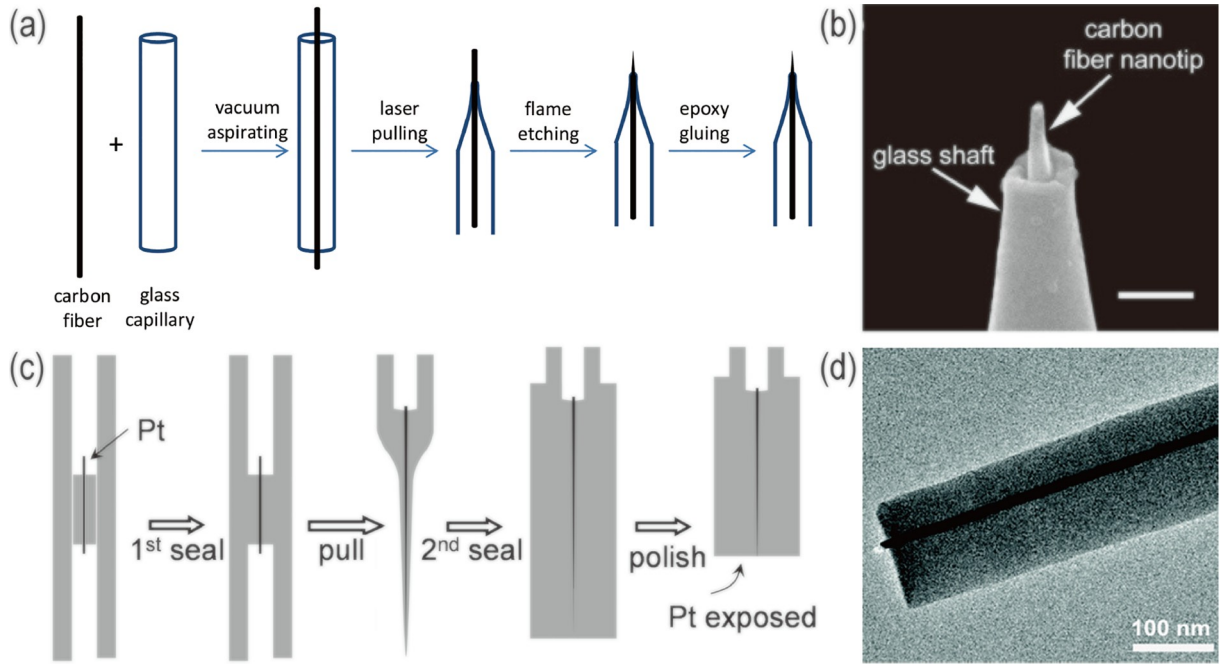


图 2　(网络版彩图) (a) 锥形碳纤维纳米电极的制备示意图[92]. (b) 锥形碳纤维纳米电极尖端的SEM图像[94]. 比例尺=1 μm. (c) 激光辅助拉伸法制备铂纳米电极的示意图[101]. (d) 金纳米电极的TEM图像[104]

Figure 2　(Color online) (a) Schematic diagram showing the fabrication of the conical carbon fiber nanoelectrode [92]. (b) SEM image of the tip of a conical carbon fiber nanoelectrode [94]. Scale bar=1 μm. (c) Schematic illustration of the Pt nanoelectrode prepared by the laser-assisted pulling method [101]. (d) TEM image of a single Au nanowire electrode [104].

刻蚀处理后的碳纤维插入硼硅酸盐毛细管内部，通过加热熔融毛细管尖端玻璃实现绝缘封装(图2b). 该工艺可将碳纤维的暴露长度控制在1 μm以内，并且电极尖端直径小于100 nm. 火焰蚀刻还能够激活碳纤维表面活性位点，显著提升对抗坏血酸、3,4-二羟苯乙酸和血清素等电活性分子的检测灵敏度[96]. 在此基础上，通过化学或电化学沉积法在电极表面修饰金属纳米颗粒，可进一步增强电极的电催化性能[97]. 通过在电极表面共价交联酶反应体系，可实现乙酰胆碱等非电活性物质的特异性检测[30]. 此外，利用θ型双通道石英纳米毛细管封装两根不同功能的碳纤维，还可实现双组分信号的同步检测[98].

金、铂等贵金属具备优异的电化学活性，常被用于构筑纳米电极的电化学传感界面. 通过电化学刻蚀、激光辅助拉制等工艺精准调控其微观形貌，是实现纳米电极尖端可控制备的主流技术路径. (1) 电化学刻蚀法. 该方法操作简便、尺寸调控灵活，被广泛应用于金属基纳米电极的制备研究中. 邵元华课题组[99]以直径20 μm的铂丝为基材，将其插入硼硅酸盐微米毛细管. 随后，置于刻蚀液中并施加+2 V电压开展电化学刻蚀，再经聚酰亚胺绝缘处理，获得针尖直径约100 nm的铂纳米圆盘电极. 朱安伟课题组[100]则以直径15 μm的钨丝为基材，利用电化学刻蚀将其加工为钨纳米探针，再利用静电吸附作用在探针表面修饰金纳米颗粒，制备出针尖直径低至16 nm的复合纳米电极. 此类研究均依托电化学刻蚀实现电极尖端纳米化，并通过后续表面修饰进一步优化电极界面性能，以适配电化学传感检测需求.

(2) 激光辅助拉制法. 该工艺适配金、铂等高延展性金属，可实现金属针尖一体化成型制备. 如图2c所示，Mirkin课题组[101~103]提出将金属丝插入玻璃毛细管，置于激光微电极拉制仪进行拉制的一体化制备方案. 激光加热使毛细管熔融封装金属丝，施加适当拉力使金属丝断裂. 最后通过抛光或刻蚀暴露金属尖端活性区域，得到金属丝纳米电极. 李永新课题组[104]在激光拉制法制备金纳米盘电极的基础上，通过氢氟酸刻蚀制得金纳米电极(图2d). 在此基础上，通过欠电位沉积法在金纳米电极表面沉积铜纳米颗粒，再利用铜

与氯铂酸的化学置换反应，制备出负载铂纳米颗粒的金纳米电极，实现电极功能化改性. 然而，这些工艺仍存在明显应用局限，后期抛光与刻蚀处理极易破坏电极原生活性界面，既削弱了纳米电极制备尺寸与结构的可控性，也会直接造成电极电化学传感性能衰减[39]. 总体而言，电化学刻蚀与激光辅助拉制是当前贵金属纳米电极尖端制备的两大核心手段，前者适配基材范围广、易实现复合改性，后者更适合高延展性金属一体化成型，实际研究中可依据电极材质、目标尖端尺寸与应用场景择优选用.

此外，以纳米线、纳米管等一维导电纳米材料为基底，可通过微加工与组装工艺制备单根纳米线/纳米管电极. 以碳化硅纳米线电极的制备为例，如图3a所示，利用超声振荡将碳化硅纳米线均匀分散于乙醇溶液中；随后将悬浮液涂覆于载玻片表面，待溶剂完全蒸发后切割载玻片，使纳米线随机裸露于切割边缘. 最后借助显微操纵仪拾取单根纳米线，将其部分插入预先填充液态金属并以石蜡密封的毛细管尖端，纳米线尖端的暴露长度可通过显微操控系统精准调控[105].

针对碳化硅本征电导率偏低的问题，组装前可通过CVD工艺沉积碳层，或采用电化学或化学方法修饰铂纳米颗粒，以此提升电极导电性能[105~107]. 黄卫华课题组[105]通过CVD法在碳化硅纳米线表面沉积导电碳层，制备得到碳层包覆碳化硅(carbon layer-coated silicon carbide, SiC@C)纳米线电极. 该电极兼具优异的柔韧性与机械稳定性，多次弯曲后电化学性能仍可保持稳定. 相较于后期表面修饰策略，近年来发展的一锅法合成策略可实现导电核壳纳米线电极的规模化制备，可选用的导电材料包括导电聚合物、铂纳米颗粒及铱钌氧化物纳米颗粒等[108~110]. 该方法可在非导电纳米线表面原位生长致密导电层，不仅简化了制备工艺，还拓展了电极基材的选择范围，且电极的电化学响应相对标准偏差低于3%，具备高重现性、高稳定性、优异电化学活性与功能化潜力. 在应用方面，基于铂纳米颗粒与生物酶的协同修饰，该纳米线电极可实现活细胞内亚细胞区中非电活性分子的特异性检测

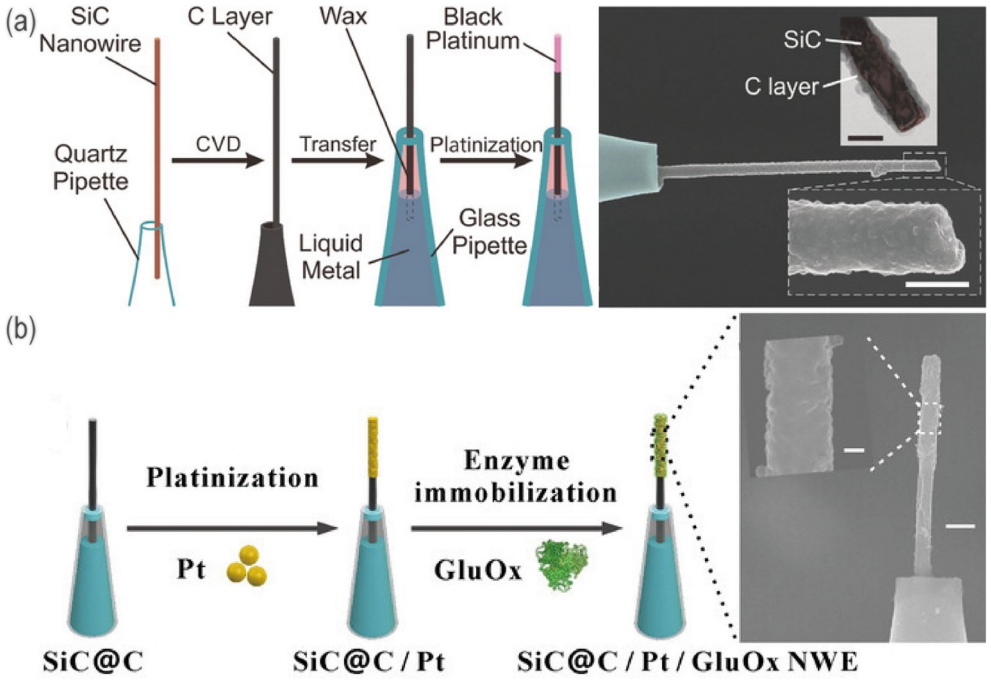


图 3 (网络版彩图) (a) 铂化SiC@C纳米线电极的制备示意图及SEM图像[105]. 比例尺=1 μm. 插图(下方: 500 nm; 上方: 500 nm). (b) 铂纳米颗粒与谷氨酸氧化酶共修饰SiC@C纳米线电极的制备示意图和SEM图像[111]. 主图比例尺=1 μm; 放大图比例尺=200 nm

Figure 3 (Color online) (a) Schematic of the fabrication of platinized SiC@C nanowire electrode and SEM image [105]. Scale bar=1 μm. Inset (bottom: 500 nm; top: 500 nm). (b) Schematic description of the fabrication of SiC@C nanowire co-modified with Pt nanoparticles and glutamate oxidase, and corresponding SEM image [111]. Scale bar=1 μm for the main image; scale bar=200 nm for the magnified inset.

(图3b)[111,112]. 此外, 以θ型毛细管作为封装载体, 将两种功能化修饰的纳米线或碳纤维分别嵌入双通道内部, 通过物理隔离即可完成双组分信号的同步原位检测[113~115].

3　细胞内单囊泡电化学分析

神经递质在胞内合成后会特异性富集于囊泡中, 囊泡递质储存量、胞外释放水平与动态释放动力学, 对神经元活动及机体稳态调控具有关键作用[116~119]. 囊泡主要分为大致密核心囊泡(large dense-core vesicles, LDCV)与小突触囊泡(small synaptic vesicles, SSV)两类. LDCV直径为150~300 nm, 多分布于肾上腺嗜铬细胞、胰腺β细胞等内分泌细胞中; SSV直径约50 nm, 主要参与神经元突触传递[120,121]. LDCV内部含有致密核心, 可在微小腔体内富集海量化学信使分子(可达数百万级别), 并调控囊泡内部渗透压稳态[121,122]. 为实现活细胞内囊泡神经递质含量的原位精准电化学分析, Ewing课题组[92]建立了细胞内囊泡碰撞电化学计数法(intracellular vesicle impact electrochemical cytometry, IVIEC), 可原位定量检测单细胞内单个囊泡的儿茶酚胺总量, 为囊泡递质电化学检测开辟了新路径(图4a). 将纳米电极刺入大鼠嗜铬细胞瘤细胞后, 胞内囊泡可扩散并吸附至电极表面. 在+700 mV (vs. Ag/AgCl)极化电位下, 囊泡膜发生电化学氧化裂解, 释放的电活性递质随即被氧化. 依据法拉第定律可将电流信号换算为递质分子数量, 从而实现亚毫秒级时间分辨的囊泡内容物定量分析.

为进一步解析胞吐动力学机制, 研究人员将IVIEC与单细胞安培法(single-cell amperometry, SCA)联用, 分别定量检测胞吐前囊泡递质总储量与刺激后的胞吐释放量, 进而计算神经递质的释放比例[92,121,123]. 如图4b所示, 毛兰群课题组[124]采用碳纤维纳米电极与微米圆盘电极分别开展胞内IVIEC检测与胞外SCA检测, 探究帕金森病相关蛋白7缺失对儿茶酚胺囊泡储存及胞吐行为的调控作用. 结果表明, 该蛋白缺失不改变囊泡内儿茶酚胺储存总量, 但会促进α-突触核蛋白聚集, 并显著上调完全胞吐的占比. 在此基础上, 他们课题组[31,33,125,126]进一步探究了性别差异、纳米塑料暴露等因素对囊泡递质储存与释放的调控规

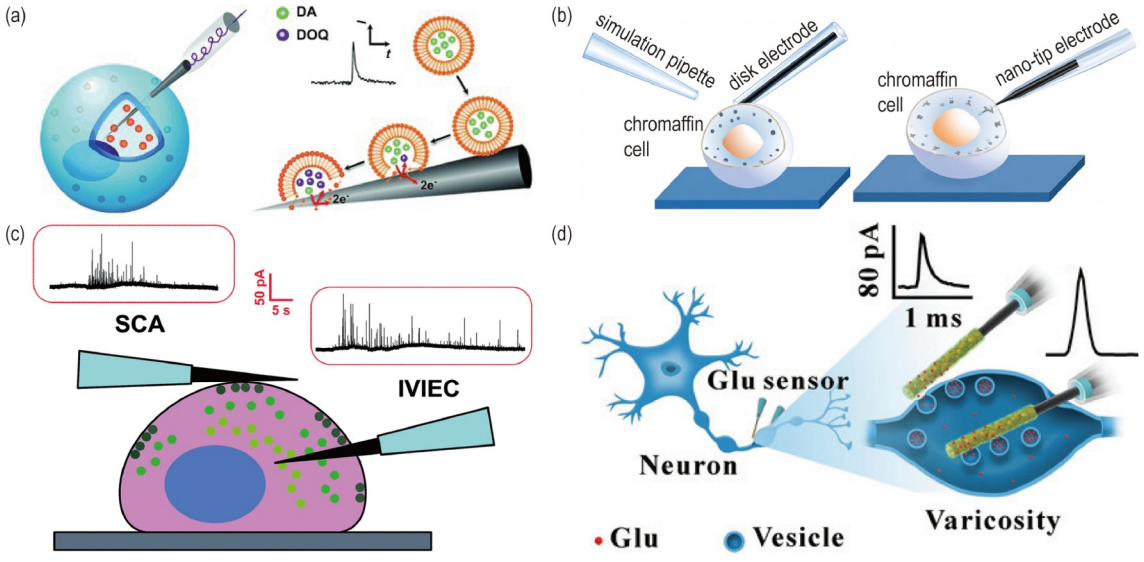


图 4　(网络版彩图) (a) 基于锥形碳纤维纳米电极对单个囊泡内电活性神经递质进行电化学定量分析的示意图[92]. (b) 基于纳米尖端电极与圆盘电极定量检测囊泡内儿茶酚胺含量及胞外儿茶酚胺释放过程的示意图[124]. (c) 基于双电极体系同步检测囊泡内含物与胞吐释放过程的示意图[127]. (d) 基于酶修饰SiC纳米线电极监测囊泡内谷氨酸含量的示意图[111]

Figure 4　(Color online) (a) Schematic illustration of electrochemical quantification of electroactive neurotransmitters within individual vesicles using a conical carbon fiber nanoelectrode [92]. (b) Schematic illustration for quantifying intravesicular catecholamine content and extracellular catecholamine release using a nano-tip electrode and a disk electrode [124]. (c) Schematic illustration of the simultaneous detection of vesicular content and exocytotic release via a two-electrode system [127]. (d) Schematic illustration of intravesicular glutamate monitoring based on enzyme-modified SiC nanowire electrodes [111].

律. 其中运动调控研究证实, 运动可显著提升单囊泡儿茶酚胺储量、增大囊泡及致密核心体积, 促进递质释放并加快囊泡融合孔的开合动力学进程[32]. 机制研究进一步表明, 运动可通过上调胞吐相关蛋白表达、促进Ca^{2+}内流, 进而增强囊泡分泌功能, 为阐明运动改善神经功能的化学分子机制提供了实验依据.

为实现递质储存与胞吐释放的同步实时定量检测, Ewing课题组[127]开发了双电极联用检测体系, 整合SCA与IVIEC两种电化学技术. 将两根碳纤维纳米电极分别置于细胞膜表面与细胞质内部, 实现同一细胞在100 mmol L^{-1} K^+刺激前后, 囊泡递质储存与胞吐释放行为的同步监测(图4c). 研究发现, 化学刺激后囊泡递质储量呈动态变化, 且总储量始终高于胞吐释放量, 提示囊泡之间以及囊泡与其他细胞器之间存在内容物转运交流. 推动该技术更贴近在体生理环境的脑组织研究, 李鲜婵课题组[126]构建单囊泡电化学检测平台并应用于离体脑切片分析. 研究发现, 黑质致密部、腹侧被盖区、背侧纹状体等不同脑区的神经元, 在神经递质储存与释放特性上存在显著的脑区异质性.

谷氨酸与乙酰胆碱同样是囊泡内重要的神经递质, 其囊泡储存与胞吐释放过程可直接调控中枢神经系统的认知功能[128]. 但是由于谷氨酸和乙酰胆碱均属于非电活性物质, 无法在裸电极表面直接发生电化学氧化还原反应, 因此需对电极进行功能化修饰, 以实现间接电化学定量检测. 黄卫华课题组[111,129]构建酶修饰碳纤维电极, 完成了单个海马神经元囊泡内谷氨酸储量的定量分析. 该生物传感器利用谷氨酸氧化酶催化谷氨酸氧化生成电活性H_2O_2, 通过检测H_2O_2在电极表面的氧化电流信号, 实现谷氨酸的精准定量检测(图4d). 谷氨酸代谢紊乱与阿尔茨海默病的发生发展密切相关, 但在单囊泡层面, β-淀粉样蛋白(amyloid β-protein$_{1-42}$, $A\beta_{1-42}$)寡聚体对谷氨酸储存及胞吐过程的调控机制尚未阐明. 黄卫华课题组[130]利用前期发展的谷氨酸电化学传感器, 定量监测可溶性$A\beta_{1-42}$寡聚体对神经元囊泡谷氨酸储存与释放的动态影响; 结合分子生物学表征与动物模型验证, 系统揭示了阿尔茨海默病不同病程中$A\beta_{1-42}$寡聚体诱发胞吐功能紊乱的分子机制. 在阿尔茨海默病发病早期, $A\beta_{1-42}$寡聚体通过上调I型囊泡谷氨酸转运蛋白(VGLUT1)的表达, 促进囊泡对谷氨酸的装载过程, 提升单囊泡谷氨酸储量与胞吐释放水平, 进而诱发神经元兴奋性损伤. 随着病程进展, $A\beta_{1-42}$寡聚体上调自发释放相关蛋白Vti1a的表达, 提高囊泡谷氨酸自发释放频率. 同时伴随VGLUT1蛋白表达下调, 最终造成疾病晚期囊泡谷氨酸储量与释放量显著降低, 引发神经元功能衰退.

囊泡群体存在显著异质性, 其数量、尺寸分布、内容物含量及释放频率均表现出明显群体差异. 传统群体检测仅能获取平均化信号, 无法区分有效释放囊泡与静默囊泡, 难以精准表征释放频率、转运规律及内容物分布等关键生物学信息. 我们课题组[50,52]基于碳纳米毛细管电极构建电化学电阻脉冲传感技术(resistive-pulse sensing, RPS), 不仅可实现溶液中脂质体的精准计数, 还能完成单个脂质体内电活性组分的定性与定量分析. 在此基础上, 结合扫描电化学显微成像技术, 以铂化碳纳米毛细管电极为扫描探针, 实现活细胞内单囊泡中ROS/RNS多组分的原位定量检测[50]. 如图5所示, 基于常规电阻脉冲传感技术, 可通过识别囊泡穿过孔道时产生的瞬时离子电流阻塞信号, 完成囊泡计数. 在此基础上, 该研究将氧化还原探针装载于细胞内, 当铂化碳纳米毛细管电极逼近并刺穿细胞膜时, 针尖法拉第电流发生特征变化, 可实时监测电极刺入细胞质的全过程. 随后利用电化学电阻脉冲技术原位采集胞内单个囊泡, 并对囊泡内四种ROS/RNS活性组分开展同步定性与定量分析. 检测过程中, 囊泡迁移进入毛细管孔道后会阻塞离子传导通路, 引发法拉第电流下降并产生负向脉冲信号. 随后孔道内囊泡与管壁发生接触破裂, 内部ROS/RNS组分释放并在修饰电极表面发生电化学氧化反应, 进而诱导法拉第电流升高并形成正向脉冲信号. 通过单实体计数可获得囊泡数量、活动频率与尺寸分布特征, 结合内容物定量结果建立“数量-含量-功能”的关联模型, 精准阐释囊泡分泌与细胞间通讯的核心规律, 为病理状态评估及药物作用机制研究提供全面可靠的分析依据.

为进一步探究囊泡尺寸与内容物储量、胞吐动力学之间的内在关联, Ewing课题组[64]采用尖端半径50~500 nm的碳纳米毛细管电极开展胞内IVIEC检测, 实现不同粒径囊泡群体的电化学分选与表征. IVIEC结果证实, 经帕金森病临床药物左旋多巴干预后, 不同尺寸囊泡的平均递质含量均显著上调, 证明左旋多巴可有效提升单囊泡儿茶酚胺的储存能力. 近年来, IVIEC技术已进一步拓展应用于神经元体外培养体系,

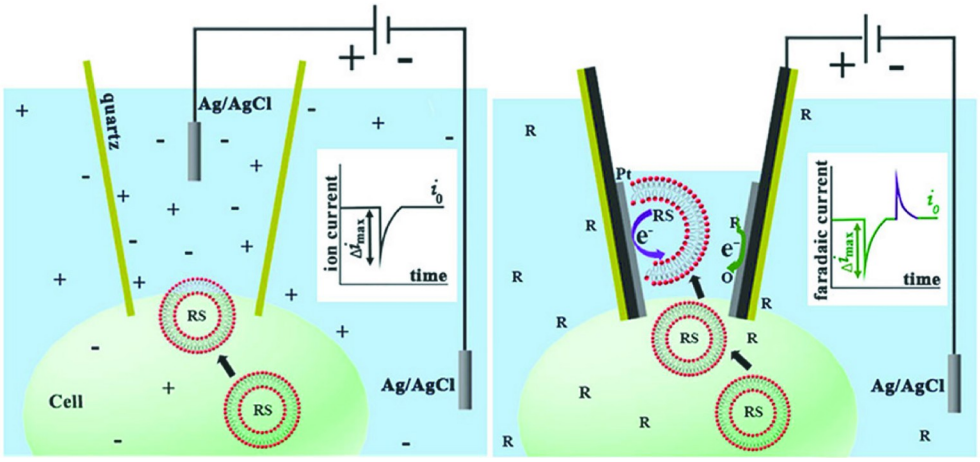


图 5　(网络版彩图)基于铂化碳纳米毛细管电极对单个囊泡进行取样，并同步完成囊泡内ROS/RNS定性与定量分析的示意图[50]

Figure 5　(Color online) Schematic illustration of single vesicle sampling and simultaneous qualitative and quantitative analysis of intravesicular ROS/RNS based on platinized carbon nanopipette electrode [50].

可监测不同生长阶段胞内囊泡的神经递质储存水平[131]. 研究发现, 随着神经元发育成熟, 囊泡内神经递质储量呈渐进式增长，为神经网络体外发育机制研究提供了精准的定量数据支撑.

4　细胞内细胞器邻近微区电化学分析

细胞器邻近微区的电化学分析，可在亚细胞水平实时监测NADH、ROS/RNS等小分子及核酸、蛋白质等生物大分子的时空分布与动态变化，为阐释细胞凋亡、代谢调控等生理病理过程提供定量实验依据[132]. 黄卫华课题组[106]将构建的纳米电极精准定位于活细胞的线粒体富集区域，实现了紫杉醇诱导线粒体释放ROS的原位动态监测(图6a). 通过对线粒体电子传递链复合物I~IV, 进行选择性抑制, 研究证实紫杉醇诱导线粒体产生活性氧的关键作用位点为线粒体复合体IV，为阐明化疗药物调控ROS生成的分子机制提供了亚细胞层面的直接实验证据[104]. 徐静娟课题组[133]以G-四链体DNA酶为仿生识别元件，结合纳米毛细管的ICR传感特性，实现了线粒体源性ROS的高灵敏检测. 当体系中存在ROS时，可显著促进DNA酶介导的催化氧化反应，进而改变纳米毛细管内壁的电荷分布. 结合精准定位技术，最终实现了线粒体邻近微区ROS的高空间分辨率原位分析.

NADH在细胞有氧呼吸过程中发挥关键作用，但其氧化反应具有较高过电位，且氧化产物NAD^+易吸附于电极表面, 造成电极钝化污染. 为此, 龙亿涛课题组[39]在不对称金纳米孔内壁修饰4-巯基儿茶酚，构建双极电化学纳米传感平台(图6b). 氧化态邻苯醌可电催化NADH发生氧化反应，并生成还原性儿茶酚. 该反应过程产生的氢气泡能够诱发离子电流阻塞效应, 将传统法拉第电流信号转化为易检测的瞬时离子电流电阻脉冲响应. 该设计使信号放大倍数提升3个数量级以上，实现了人乳腺癌MCF-7细胞线粒体邻近微区中NADH的实时原位监测.

针对NADH检测过程中的高过电位与电极钝化问题, 黄卫华课题组[134]通过在SiC@C纳米线表面复合修饰导电聚合物与碳纳米管材料，有效降低NADH氧化过电位并显著提升电极抗污染稳定性，进而实现活细胞线粒体释放至邻近微区中NADH的动态监测(图6c). 为进一步实现胞内ROS与NADH的同步检测，该研究团队研制双通道纳米线电极，集成两根功能化导电纳米线，其中一根修饰铂纳米颗粒用于ROS检测，另一根修饰导电聚合物复合材料用于NADH检测[115]. 基于该电极体系, 研究成功实现了在白藜芦醇刺激下MCF-7细胞线粒体释放ROS与NADH的同步追踪；结果证实ROS的释放时间较NADH提前数十毫秒，为阐明白藜芦醇调控下二者氧化还原通路的时序作用机制提供了重要技术支撑.

传统固相修饰策略能负载的识别元件种类与数量

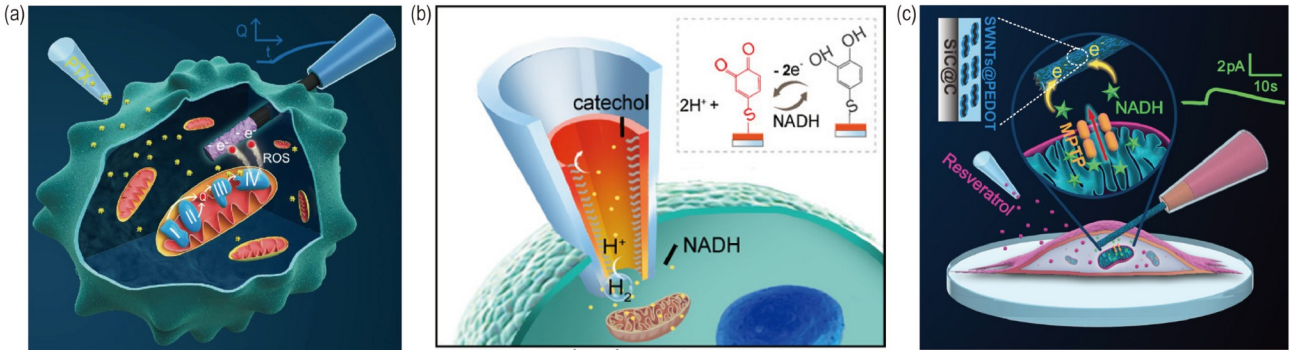


图 6 (网络版彩图) (a) 基于纳米线电极检测线粒体释放ROS的示意图[106]. (b) 基于非对称纳米孔电极原位检测线粒体释放NADH的示意图[39]. (c) 基于纳米线电极检测线粒体释放NADH的示意图[134]

Figure 6 (Color online) (a) Schematic showing a nanowire electrode for detecting ROS released from mitochondria [106]. (b) Schematic diagram of an asymmetric nanopore electrode for intracellular detection of mitochondrial NADH release [39]. (c) Schematic diagram of a nanowire electrode for monitoring NADH released from mitochondria [134].

有限, 限制了电化学可检测的分子类型与分析灵敏度. 基于此, 我们课题组[41]提出"液态酶试剂盒"策略, 通过将试剂盒组分封装于毛细管内部, 实现了单细胞内葡萄糖含量的同步定量检测. 该体系可维持识别组分的液态微环境, 有效保留其天然生物活性. 同时, 仅需更换试剂盒内对应的待测目标组分, 即可拓展多种生物分子的检测模式, 大幅提升纳米电极对非电活性物质的分析能力. 我们课题组[62]借助铂化碳纳米腔电极尖端的表面张力, 将液态试剂盒组分限域固定于纳米空腔内. 该策略利用尖端液态修饰层, 成功建立空间分辨率高达70 nm的单细胞原位分析方法, 实现了鞘磷脂酶活性的精准定量检测(图7a).

为突破光电化学技术难以应用于胞内原位分析的局限, 我们课题组[38]构建硒化镉量子点修饰的纳米毛细管电极, 实现了单细胞内碱性磷酸酶活性的原位光电化学检测. 将抗坏血酸磷酸酯预装载于纳米毛细管中, 借助电化学泵将底物推送至胞内; 胞内碱性磷酸酶催化底物生成抗坏血酸, 可为硒化镉量子点提供高效电子供体, 从而建立光电流信号与酶活性的定量关联. 进一步利用光电化学反应的零背景优势, 徐静娟课题组[135]结合杂交链式反应扩增策略, 以$[Ru(bpy)_2(dppz)]^{2+}$金属嵌入剂作为信号报告分子, 实现单细胞内微小RNA的近零背景高灵敏检测(图7b). 基于该检测体系发现, 细胞核邻近微区的微小RNA浓度显著低于细胞质主体区域, 同时可有效区分正常乳腺细胞与癌细胞的微小RNA表达差异.

针对亚细胞水平氨基酸的精准定量难题, 徐静娟课题组[136]制备DNA酶功能化的纳米毛细管电极, 通过识别*L*-组氨酸(*L*-histidine, *L*-His)诱导DNA链切割所产生的ICR信号响应, 实现胞质内*L*-His的高选择性定量分析. 通过对细胞质边缘、中心及核周区域的*L*-His的分布进行电化学定量分析, 系统揭示了其亚细胞时空分布特征, 为活细胞内氨基酸相关生理过程研究提供可靠分析方法. 基于电极表面ATP适配体的构象转变调控, 可实现ATP的高灵敏、高选择性电化学检测. 借助偶氮苯修饰的ATP特异性DNA适配体, 通过紫外-可见光交替辐照诱导适配体光异构构象切换, 建立单细胞ATP梯度的可逆检测方法, 同时可完成亚细胞水平ATP生成与消耗过程的循环监测[137]. 夏帆与黄福建课题组[138]构建光学-电化学双功能探针, 实现线粒体、细胞质与细胞核等亚细胞区域内细胞色素C (cytochrome C, Cyt C)的定量分析(图7c). 该探针经光响应硝基苯磷酸酯笼状Cyt C适配体功能化修饰后, 可在单细胞亚结构内通过光照激活识别位点. 依托细胞凋亡不同阶段Cyt C与适配体的结合差异, 实现Cyt C动态分布的时空追踪, 为阐明细胞凋亡调控机制及癌症靶向治疗研究提供了高灵敏分析工具.

5 细胞内单细胞器电化学分析

单细胞器水平的动态分析, 是精细解析细胞生命活动机制的重要研究手段. 传统采用细胞破碎裂解、细胞器分离提纯的研究策略, 往往会丢失细胞器个体异质性与原位空间分布信息[12]. 正因如此, 活细胞内

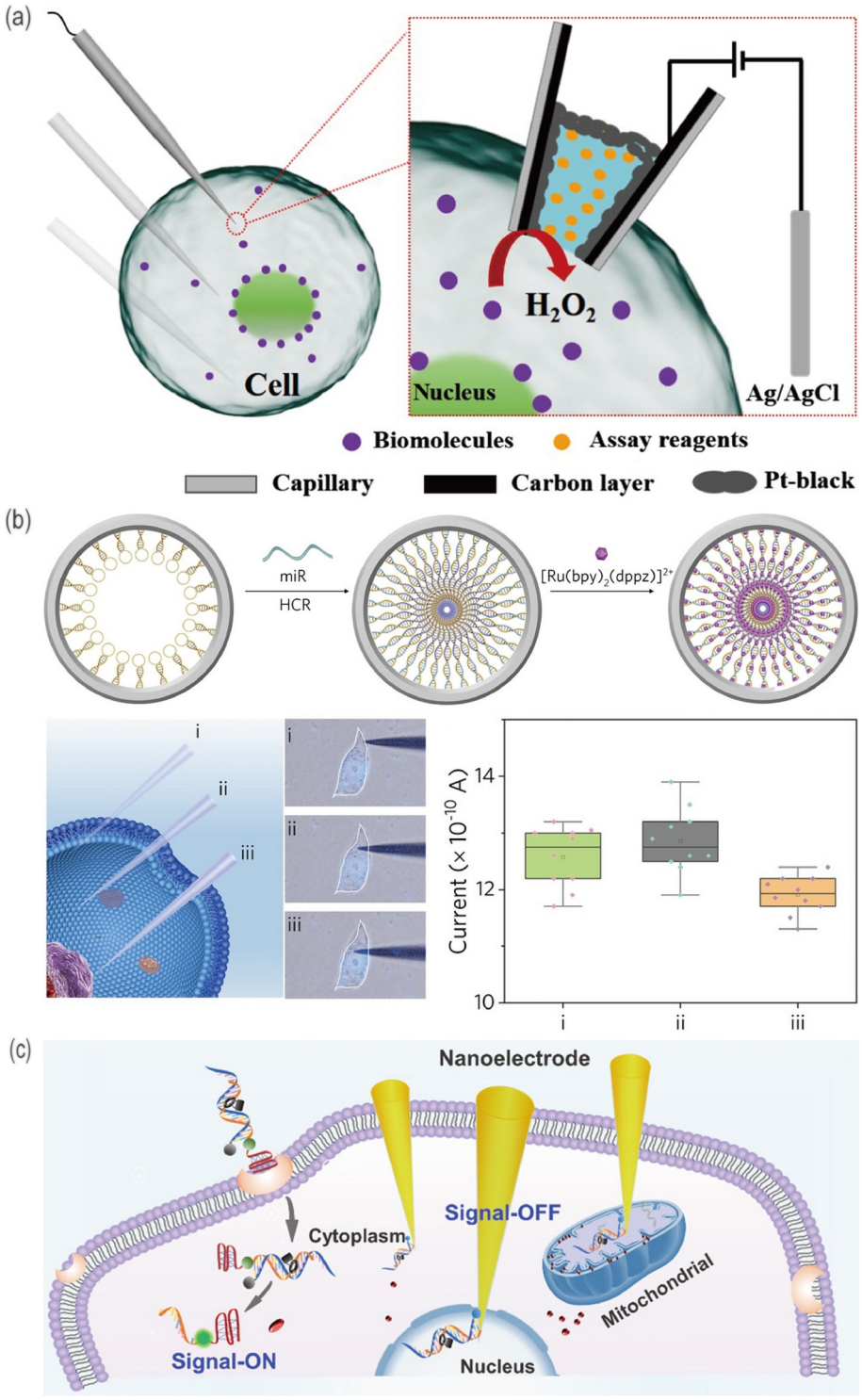


图 7　(网络版彩图) (a) 基于液相修饰铂化碳纳米腔电极的活细胞内亚细胞区室生物分子分析示意图[62]. (b) 基于光电化学纳米反应器检测细胞内微小RNA的示意图及相应显微图像[135]. (c) 基于核酸修饰纳米电极监测亚细胞区室内Cyt C的示意图[138]

Figure 7　(Color online) (a) Schematic illustration of biomolecular analysis in subcellular compartments of living cells based on a liquid-phase modified platinized carbon nanocavity electrode [62]. (b) Schematic diagram of a photoelectrochemical nanoreactor for the detection of intracellular microRNA and the corresponding microscopic image [135]. (c) Schematic illustration of nucleic acid-modified nanoelectrodes for monitoring Cyt C in subcellular compartments [138].

单细胞器的精准原位测量, 仍是分析化学领域的关键挑战之一. 近年来, 纳米电极制备及原位检测技术飞速发展, 为单细胞器水平的精细化研究提供了坚实的技术支撑.

我们课题组[40]开发了一种集单细胞器提取与电化学检测功能于一体的纳米毛细管电极, 实现了活细胞内单个溶酶体的精准提取及内部酶活性的定量分析(图8a). 该方法首先在纳米毛细管尖端内部构建铂层电化学传感界面, 并在管内预装载含β-*D*-吡喃葡萄糖苷、辅酶葡萄糖氧化酶及破膜剂曲拉通X-100的试剂盒反应组分. 借助荧光成像技术精准定位单个目标溶酶体, 通过电渗流作用将该溶酶体定向输运至毛细管内部. 进入管内的溶酶体破裂后释放的β-葡萄糖苷酶, 与管内预装载的试剂盒组分反应生成葡萄糖, 再经葡萄糖氧化酶转化产生H_2O_2. 最终, 产生的H_2O_2可被毛细管内壁的铂电化学界面检测, 进而实现活细胞内单个溶酶体中β-葡萄糖苷酶活性的定量分析. 进一步施加正向电压, 可将管口处的反应残留物推出管外, 从而实现同一电极对细胞内多个溶酶体的连续提取与分析. 研究发现, 同一细胞内不同溶酶体中的β-葡萄糖苷酶活性具有高度一致性, 而不同细胞的溶酶体内酶活性存在显著异质性, 为亚细胞水平酶功能机制研究提供了可靠的技术手段. 该技术成功实现了"单细胞器定向输运与限域检测"的一体化, 将单细胞电化学分析的空间分辨率提升至细胞器水平.

传统单细胞电化学检测常将工作电极置入胞内、参比电极置于胞外, 电压施加过程中易产生跨膜电势差, 干扰细胞生理活动和电化学测量. 精准检测细胞核内生物分子对于阐释细胞生理与病理调控机制同样具有重要研究意义[139]. 我们课题组[140]提出将参比电极集成于纳米毛细管内部, 与电极尖端外侧的铂环工作电极形成闭合回路, 由此构建出自参比纳米电极体系. 该结构可将施加电势限定于毛细管腔体内部, 削弱了跨膜电势差引发的检测干扰(图8b). 细胞核内

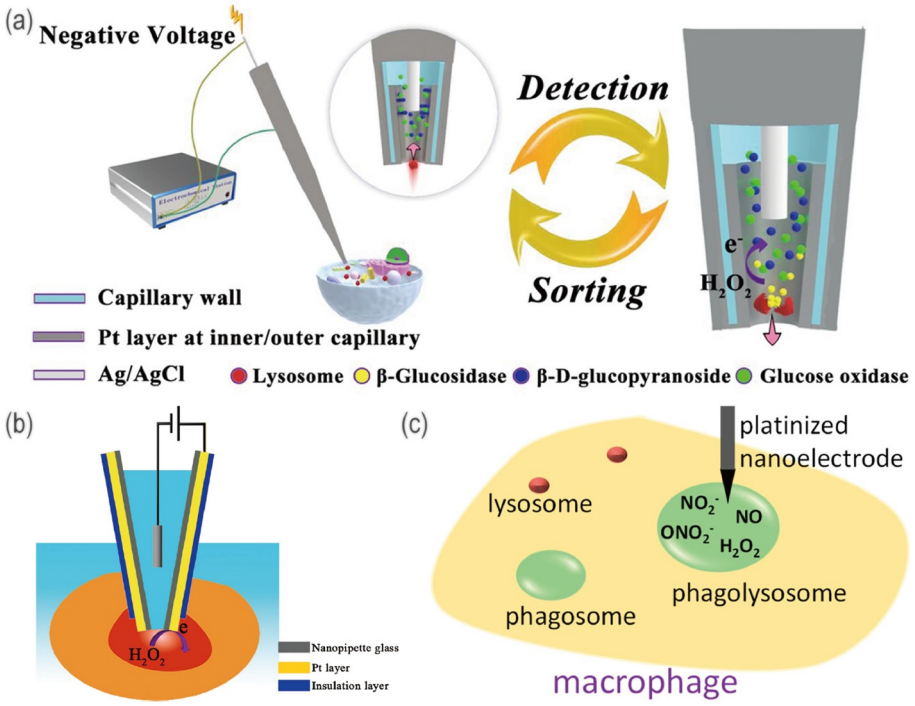


图 8 (网络版彩图) (a) 基于铂化碳纳米腔电极的单个溶酶体提取及溶酶体内葡萄糖苷酶活性定量分析示意图[40]. (b) 基于自参比纳米电极的单个活细胞细胞核分析示意图[140]. (c) 基于铂化碳纳米电极的单个吞噬溶酶体内ROS/RNS分子产生速率检测示意图[141]

Figure 8 (Color online) (a) Schematic illustration of single lysosome extraction and quantitative analysis of intralysosomal glucosidase activity using platinized carbon nanocavity electrodes [40]. (b) Schematic illustration of a self-referenced nanoelectrode for the analysis of a nucleus in a single living cell [140]. (c) Schematic illustration of ROS/RNS production rate detection inside a single phagolysosome with platinized carbon nanoelectrodes [141].

H_2O_2原位电化学定量检测结果表明，核内H_2O_2水平显著低于胞质区域，证明氧化应激相关活性分子存在显著的亚细胞分布异质性.

为实现单细胞器水平ROS/RNS的精准检测高时空分辨率精准检测, Mirkin和Amatore课题组[141]通过γ-干扰素联合脂多糖刺激小鼠巨噬细胞RAW264.7, 模拟巨噬细胞的体内活化生理状态. 该处理可促使细胞内溶酶体膨胀至微米级尺度，解决了常规亚细胞结构尺寸过小、难以原位检测的技术难题(图8c). 研究以铂化碳纳米电极作为扫描电化学显微镜探针，成功实现单个膨大吞噬溶酶体内四种关键ROS/RNS分子的动态追踪与信号采集. 单个吞噬溶酶体内部ROS/RNS生成速率具有显著个体异质性，为解析巨噬细胞吞噬过程的复杂动态动力学规律，提供了直接的单细胞器实验依据. 为进一步深入探究吞噬溶酶体内ROS/RNS的氧化还原调控机制，黄卫华课题组[34]基于IVIEC技术, 建立了吞噬溶酶体内ROS/RNS的精准定量检测方法, 完成了亚细胞尺度微量活性分子的高效量化分析. 统计分析表明，单个吞噬溶酶体中ROS/RNS分子含量呈对数正态分布，反映了吞噬溶酶体成熟过程的异质性[105]. 该电极结构为亚细胞生理过程的原位实时定量监测提供了新型工具. 后续研究进一步提升检测时间分辨率，以亚毫秒级精度动态追踪吞噬溶酶体内ROS/RNS的瞬时释放规律. 相关结果直接证实, 吞噬溶酶体内存在完善且灵敏的氧化还原稳态调控体系，可通过动态平衡ROS/RNS的生成与清除速率，维持细胞器微环境的稳定状态[107].

为最大程度保持细胞器的生理环境，利用纳米毛细管尖修饰的二苯并环辛炔(dibenzocyclooctyne, DBCO)基团与线粒体中富集的叠氮基三苯基膦(triphenylphosphine-N_3, TPP-N_3)发生快速点击化学反应, 实现了活细胞内单个线粒体的原位精准捕获(图9a)[63]. 通过在纳米毛细管内构建电化学传感界面，借助线粒体膜的封闭效应，实现对单个线粒体ROS释放过程的动态追踪，在单细胞器水平清晰观测到ROS诱导ROS释放(ROS-induced ROS release, RIRR)过程[142]. 近年来，细胞铁死亡机制研究逐渐成为亚细胞分析领域的研究热点，其中关于线粒体中的谷胱甘肽过氧化物酶4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)是否直接参与细胞铁死亡过程尚存争议. 这是因为GPX4同时存在于细胞质和线粒体中，常规技术难以对二者进行区分分析. 为此，我们课题组基于已构建的单线粒体原位分析技术展开直接探究，为线粒体中GPX4不直接参与细胞铁死亡过程提供了直接实验证据，也为在活单细胞内深入探索细胞器功能机制提供了技术支撑.

在此基础上, 我们课题组进一步开发了基于θ型双通道纳米毛细管的电化学检测体系，通过在毛细管两个通道内分别嵌入Ca^{2+}选择性传感膜和ROS电化学传感器，实现单个线粒体释放的Ca^{2+}与ROS动态变化的同步定量监测[35]. 如图9b所示，自噬过程中溶酶体释放的Ca^{2+}可通过RIRR机制直接触发线粒体ROS爆发, 而线粒体ROS则反过来激活溶酶体上的瞬时受体电位黏脂蛋白1 (transient receptor potential mucolipin 1, TRPML1)通道，驱动次级Ca^{2+}波产生并加速ROS清除. 该电化学装置实现了单细胞器水平多种分子的同步电化学分析，为深入解析溶酶体-线粒体-细胞质间的细胞器信号通信提供了强有力的分析工具，对深入理解细胞内稳态调控机制具有重要意义.

细胞器与胞质间的通讯机制对维持细胞稳态至关重要. 为此，我们课题组[68]构建了基于双电路纳米毛细管电极的高时空分辨电化学测量体系，利用纳米毛细管内外独立的电化学测量电路，可在同一活细胞内同步追踪单个线粒体及其相邻胞质中ROS的动态变化(图9c). 同步定量分析结果表明，线粒体是细胞内ROS的主要来源，其生成量约占细胞总ROS生成量的83.62%. 通过长时间高时空分辨动态监测，揭示了线粒体ROS可通过正反馈放大胞质ROS生成，又能够触发自噬形成负反馈机制，提升ROS清除效率. 该技术为揭示细胞器与胞质间亚细胞通讯的复杂分子机制提供了有力的实验研究平台.

6　总结与展望

纳米电极电化学分析技术突破了传统细胞分析的固有局限，为亚细胞生命活动机制研究建立了全新的研究范式. 近年来，该领域围绕单囊泡分析、细胞器邻近微区检测及单细胞器原位定量测量三大方向，取得了一系列标志性研究成果. 但是，在应用中仍然存在诸多问题.

6.1　总结

在电极制备技术层面，已构建出纳米毛细管电极

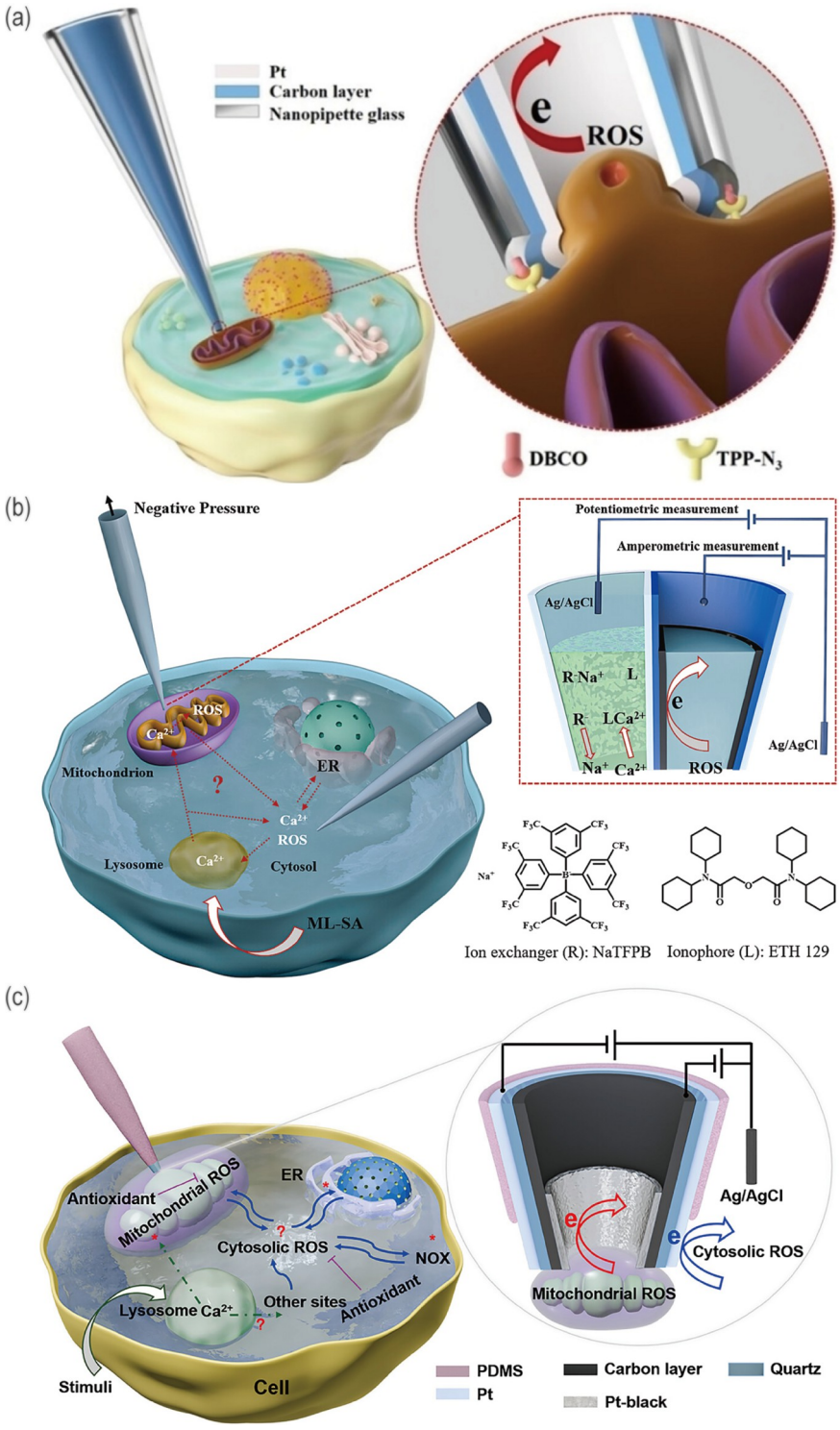


图 9 (网络版彩图) (a) 基于点击化学反应原位捕获单个线粒体, 并检测其ROS释放过程的示意图[63]. (b) 基于θ型纳米毛细管电极同步分析单个线粒体释放Ca^{2+}与ROS的示意图[35]. (c) 基于双通路纳米毛细管电极同时分析单个线粒体及相邻胞质ROS释放过程的示意图[68]

Figure 9 (Color online) (a) Schematic diagram of capture and dynamic detection of ROS released from a single mitochondrion via click reaction [63]. (b) Schematic diagram of simultaneous analysis of Ca^{2+} and ROS released from a single mitochondrion with a θ-type nanopipette electrode [35]. (c) Schematic illustration of a dual-circuit nanopipette for simultaneous analysis of ROS release from a single mitochondrion and the adjacent cytosol [68].

和实心纳米电极两大类基础电极结构. 通过优化并完善气相沉积、激光辅助拉制、电化学刻蚀等制备工艺, 实现了电极由微米至纳米尺寸的精准调控. 在此基础上, 通过高活性纳米颗粒修饰, 实现活性分子的高灵敏测量; 进一步结合酶分子的固相/液相修饰策略, 实现了各类非电活性功能分子的特异性识别; 此外, 基于点击化学反应等功能化改性策略, 为单细胞器原位、靶向分析筑牢了技术根基. 整体而言, 当前电极制备已形成精细化基础工艺体系. 尽管如此, 在目前的制备工艺中, 纳米电极的稳定性、选择性和重复性仍存在一定的短板, 功能化纳米电极的批量、可控制备技术尚未成熟, 是限制规模化应用的核心工艺瓶颈. 希望未来微纳米加工技术的进一步发展, 能够解决这些问题.

在应用层面, 纳米电极电化学分析技术在单囊泡、细胞器邻近微区及单细胞器原位实时定量检测方面均取得重要进展. (1) 依托IVIEC技术, 实现了单囊泡内神经递质的原位定量检测; 联用SCA技术, 证实了“部分释放”是细胞胞吐的主流模式, 阐明神经退行性疾病进程中囊泡功能的调控规律. (2) 实现了细胞器邻近微区中NADH、ROS/RNS等关键活性分子的高时空分辨率动态监测; 进一步通过多通道电极设计, 完成多组分分析, 揭示生物分子在亚细胞区域的分布异质性. (3) 突破活细胞内单细胞器原位分析瓶颈, 完成线粒体等细胞器的靶向功能解析, 阐明细胞器间信号交流机制与功能异质性, 为亚细胞尺度生命活动研究提供重要技术支撑. 虽然纳米电化学分析技术在单细胞分析领域已取得显著性成果, 但是现阶段研究多聚焦于单一场景、单一维度的机制研究, 多细胞器联动分析、长时程动态追踪能力不足, 难以适配复杂细胞生理、病理动态过程的系统性研究需求.

6.2 展望

随着分析化学与细胞生物学、分子医学等学科的深度交叉融合, 纳米电极电化学分析技术在亚细胞分析领域迎来了广阔的发展前景. 特别地, 在精细解析活细胞内细胞器与细胞质、细胞器与细胞器之间的动态相互作用, 揭示生命基本规律, 实现重大疾病早期诊断等方面具有重要意义.

然而, 纳米电化学分析技术在亚细胞分析领域应用中仍存在一些问题:

(1) 活细胞亚细胞原位精准测量的前提是测量过程仍能够维持细胞原生生理稳态, 避免检测操作诱发的细胞应激、代谢重编程及功能异常. 然而, 当前主流纳米电极电化学分析技术在检测过程中往往会消耗胞内内源性活性分子、产生外源性干扰产物, 使得测量过程不仅会对细胞微环境及生理状态造成不可逆的微弱扰动, 还会导致检测数据出现偏差, 无法真实反映细胞原生状态. 因此, 未来需要构建近无痕的纳米电极电化学测量方法, 尽可能降低对细胞生理活动的干扰, 获取准确信息.

(2) 细胞器的动态互作是细胞生命活动的基础, 也是当前细胞生物学研究的重点, 而实现细胞器靶向干预与传感检测的时空协同, 是解析细胞器功能异质性与互作机制的突破口. 目前, 亚细胞功能调控技术普遍存在递送可控性差、非特异性泄漏、靶向空间精度不足等问题. 其次, 受限于调控技术与电化学检测技术在时间和空间维度上的不匹配, 无法实现单一目标细胞器的原位精准调控及分析一体化, 进而难以厘清复杂的细胞器通信网络与功能调控机制. 因此, 未来需重点攻关单细胞器原位调控及传感一体化技术. 通过优化调控单细胞器的递送策略, 实现活细胞内单细胞器的精准干预、实时追踪与定量分析, 为解析细胞器功能异质性、阐明细胞器互作分子机制提供技术支撑.

(3) 单一纳米电极电化学分析仅能获取分子浓度动态变化的一维定量信息, 存在空间可视化不足、分子分析种类不足、测量通量低等局限, 难以全面解读胞内复杂的亚细胞信号通信. 因此, 推进多技术深度融合与多维度数据整合, 是未来研究的发展趋势. 例如, 通过与超分辨荧光成像技术联用, 可实现“高空间分辨可视化与高时间分辨动态测量”. 此外, 还可以进一步融合扫描电化学显微镜、膜片钳、单细胞组学、人工智能数据分析等前沿技术. 通过多技术联用, 可整合分子定量数据、微观结构形貌、细胞膜电生理特征、全景组学分子图谱等多维度信息, 实现从单点动态信号检测到全局分子调控网络、从静态结构观测到动态功能演化的全链条解析. 结合人工智能算法, 实现海量数据的智能分析与机制挖掘, 大幅提升在亚细胞层面解析疾病病理机制的能力, 进而推动纳米电极电化学分析技术从基础机制研究向临床疾病诊断、药物研发等实际应用场景落地转化.

参考文献

1 Wang J, Ye F, Chai H, Jiang Y, Wang T, Ran X, Xia Q, Xu Z, Fu Y, Zhang G, Wu H, Guo G, Guo H, Ruan Y, Wang Y, Xing D, Xu X, Zhang Z. *Sci China Life Sci*, 2024, 68: 1226–1282

2 Harbauer AB, Schneider A, Wohlleber D. *Annu Rev Anal Chem*, 2022, 15: 1–16

3 Nunnari J, Walter P. *Cell*, 1996, 84: 389–394

4 Li MK, Yu RJ, Chen KL, Zhao Y, Yang C, Wan YJ, Long YT, Ying YL. *Chem BioMed Imag*, 2024, 3: 191–198

5 Tedeschi G, Navarro MX, Scipioni L, Sondhi TK, Prescher JA, Digman MA. *Chem BioMed Imag*, 2024, 2: 765–774

6 Han D, Jiang M, Pan R. *Chem BioMed Imag*, 2026, 4: 602–609

7 Ubeysinghe S, Sebilleau CO, Thotamune W, Rajarathna C, Azibere S, Tennakoon M, Payton JL, Sprague RS, Martin RS, Sucheck SJ, Karunarathne A. *Chem BioMed Imag*, 2025, 3: 95–110

8 Wang Y, Gao H, Han C, Liu L, Deng J, Fan H, Zhou Z, Zhang M, Zhang X, Cheng F, Zhan X, Ge H, Liu YL, Zhang X, Huang WH, Yan W, Zhang J, Zhang W, Xiang L. *Chem BioMed Imag*, 2025, 3: 605–614

9 Yu X, Huang Y, Tao Y, Fan L, Zhang Y. *Anal Chim Acta*, 2024, 1289: 342060

10 Saminathan A, Zajac M, Anees P, Krishnan Y. *Nat Rev Mater*, 2021, 7: 355–371

11 Winterbourn CC. *Nat Chem Biol*, 2008, 4: 278–286

12 Pekkurnaz G, Wang X. *Nat Metab*, 2022, 4: 802–812

13 Li GW, Xie XS. *Nature*, 2011, 475: 308–315

14 Altschuler SJ, Wu LF. *Cell*, 2010, 141: 559–563

15 Liang H, Zhang Y, Chen D, Tan H, Zheng Y, Wang J, Chen J. *Micromachines*, 2019, 10: 740

16 Takahashi T, Okeyo KO, Ueda J, Yamagata K, Washizu M, Oana H. *Sci Rep*, 2018, 8: 13684

17 Kumar S, Wolken GG, Wittenberg NJ, Arriaga EA, Oh SH. *Anal Chem*, 2015, 87: 11973–11977

18 Sun N, Youle RJ, Finkel T. *Mol Cell*, 2016, 61: 654–666

19 Raimundo N. *Trends Mol Med*, 2014, 20: 282–292

20 Nunnari J, Suomalainen A. *Cell*, 2012, 148: 1145–1159

21 Neupert W. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 1–33

22 Chen X, You Q, Guo Y, Zhang J, Hu Q, Huang C, Wu Z, Deng J, Xu J, Zhao P, Hu M. *Chem BioMed Imag*, 2024, 3: 369–378

23 Chen X, Jiang Y, Liu J, Tian Y, Deng Y, Li X, Wu W, Zhang R, Deng Y. *Chem BioMed Imag*, 2024, 2: 775–783

24 Chen Q, Gou W, Lu W, Li J, Wei Y, Li H, Wang C, You W, Li Z, Dong D, Bi X, Xiao B, Chen L, Shi K, Fan J, Huang X. *Nat Photon*, 2025, 19: 567–576

25 Ouyang Z, Wang Q, Li X, Dai Q, Tang M, Shao L, Gou W, Yu Z, Chen Y, Zheng B, Chen L, Ping C, Bi X, Xiao B, Yu X, Liu C, Chen L, Fan J, Huang X, Zhang Y. *Nat Meth*, 2024, 22: 335–347

26 Zhao Y, Zhang M, Zhang W, Zhou Y, Chen L, Liu Q, Wang P, Chen R, Duan X, Chen F, Deng H, Wei Y, Fei P, Zhang YH. *Nat Meth*, 2022, 19: 359–369

27 Wu Y, Han X, Su Y, Glidewell M, Daniels JS, Liu J, Sengupta T, Rey-Suarez I, Fischer R, Patel A, Combs C, Sun J, Wu X, Christensen R, Smith C, Bao L, Sun Y, Duncan LH, Chen J, Pommier Y, Shi YB, Murphy E, Roy S, Upadhyaya A, Colón-Ramos D, La Riviere P, Shroff H. *Nature*, 2021, 600: 279–284

28 Wombacher R, Heidbreder M, van de Linde S, Sheetz MP, Heilemann M, Cornish VW, Sauer M. *Nat Meth*, 2010, 7: 717–719

29 Betzig E, Patterson GH, Sougrat R, Lindwasser OW, Olenych S, Bonifacino JS, Davidson MW, Lippincott-Schwartz J, Hess HF. *Science*, 2006, 313: 1642–1645

30 Zhu W, Zhang Y, Yu H, Wang D, Zhang X, Du X, Wu S, Li B, Zhang Y, Xin H, Guo X, Liu Y. *Angew Chem Int Ed*, 2026, 65: e20854

31 Ma W, Zhao G, Liu R, Li K, Wu W, Liu J, He X, Hou L, Yu P, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202502163

32 Liu R, He X, Liu J, Sun Z, Yu P, Hou L, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202511277

33 Liu J, Jiang Y, Liu R, Jin J, Wei S, Ji W, He X, Wu F, Yu P, Mao L. *J Am Chem Soc*, 2024, 146: 17747–17756

34 Guo BY, Qi YT, Wu HQ, Zha RY, Wang LJ, Zhang XW, Huang WH. *Chem Commun*, 2025, 61: 97–100

35 Liu K, Wu L, Ma Y, Chen D, Liu R, Zhang X, Jiang D, Pan R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, 122: e2424591122
36 Wu HQ, Qi YT, Guo BY, Zhao Y, Zhang XW, Huang WH. *Chem Commun*, 2024, 60: 5546–5549
37 Jin XK, Jin KQ, Yang XK, Wen MY, Liu YL, Huang WH. *Anal Bioanal Chem*, 2024, 416: 4779–4787
38 Wang N, Pan R, Ji L, Jiang D, Chen HY. *Analyst*, 2021, 146: 5528–5532
39 Ying YL, Hu YX, Gao R, Yu RJ, Gu Z, Lee LP, Long YT. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 5385–5392
40 Pan R, Xu M, Burgess JD, Jiang D, Chen HY. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 4087–4092
41 Pan R, Xu M, Jiang D, Burgess JD, Chen HY. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 11436–11440
42 Zhang TY, Liu FQ, Li Z, Xu YT, Zhao WW, Chen HY, Xu JJ. *Chem Commun*, 2024, 60: 2373–2376
43 Ma Y, Hu W, Hu J, Ruan M, Hu J, Yang M, Zhang Y, Xie H, Hu C. *Microsyst Nanoeng*, 2024, 10: 171
44 Nadappuram BP, McKelvey K, Al Botros R, Colburn AW, Unwin PR. *Anal Chem*, 2013, 85: 8070–8074
45 McKelvey K, Nadappuram BP, Actis P, Takahashi Y, Korchev YE, Matsue T, Robinson C, Unwin PR. *Anal Chem*, 2013, 85: 7519–7526
46 Takahashi Y, Shevchuk AI, Novak P, Zhang Y, Ebejer N, Macpherson JV, Unwin PR, Pollard AJ, Roy D, Clifford CA, Shiku H, Matsue T, Klenerman D, Korchev YE. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 9638–9642
47 McNally M, Wong DKY. *Anal Chem*, 2001, 73: 4793–4800
48 Wong DKY, Xu LYF. *Anal Chem*, 1995, 67: 4086–4090
49 Kim YT, Scarnulis DM, Ewing AG. *Anal Chem*, 1986, 58: 1782–1786
50 Pan R, Hu K, Jia R, Rotenberg SA, Jiang D, Mirkin MV. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 5778–5784
51 Yang C, Hu K, Wang D, Zubi Y, Lee ST, Puthongkham P, Mirkin MV, Venton BJ. *Anal Chem*, 2019, 91: 4618–4624
52 Pan R, Hu K, Jiang D, Samuni U, Mirkin MV. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 19555–19559
53 Bae JH, Wang D, Hu K, Mirkin MV. *Anal Chem*, 2019, 91: 5530–5536
54 Hu K, Wang Y, Cai H, Mirkin MV, Gao Y, Friedman G, Gogotsi Y. *Anal Chem*, 2014, 86: 8897–8901
55 Hu K, Gao Y, Wang Y, Yu Y, Zhao X, Rotenberg SA, Gökmeşe E, Mirkin MV, Friedman G, Gogotsi Y. *J Solid State Electrochem*, 2013, 17: 2971–2977
56 Singhal R, Bhattacharyya S, Orynbayeva Z, Vitol E, Friedman G, Gogotsi Y. *Nanotechnology*, 2010, 21: 015304
57 Li Y, Hu K, Yu Y, Rotenberg SA, Amatore C, Mirkin MV. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 13055–13062
58 Yu Y, Noël JM, Mirkin MV, Gao Y, Mashtalir O, Friedman G, Gogotsi Y. *Anal Chem*, 2014, 86: 3365–3372
59 Vitol EA, Schrlau MG, Bhattacharyya S, Ducheyne P, Bau HH, Friedman G, Gogotsi Y. *Chem Vapor Deposition*, 2009, 15: 204–208
60 Yan B, Han X, Zhao R, Guo Z, Li D, Yan Y, Wang D, Yao X. *Anal Chem*, 2025, 97: 23858–23867
61 Liu K, Liu R, Wang D, Pan R, Chen HY, Jiang D. *Anal Chem*, 2022, 94: 13287–13292
62 Liu K, Liu R, Wang D, Pan R, Chen HY, Jiang D. *CCS Chem*, 2023, 5: 1285–1292
63 Liu K, Zhang Z, Liu R, Li JP, Jiang D, Pan R. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62: e202303053
64 Hu K, Le Vo KL, Hatamie A, Ewing AG. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61: e202113406
65 Hu K, Jia R, Hatamie A, Le Vo KL, Mirkin MV, Ewing AG. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 16910–16914
66 Ma Y, Ma Y, Liu K, Wang D, Liu R, Chen Q, Jiang D, Pan R. *Talanta*, 2024, 269: 125503
67 Tian SY, Gao RX, Du ZQ, Qi YT, Chen Y, Xia F, Zhang XW, Huang WH. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202504520
68 Ma Y, Chen D, Wang H, Xu Y, Li Y, Zhang X, Han W, Jiang D, Pan R. *Angew Chem Int Ed*, 2026, 65: e4039681
69 Xu X, He H, Jin Y. *Anal Chem*, 2015, 87: 3216–3221
70 He H, Xu X, Jin Y. *Anal Chem*, 2014, 86: 4815–4821
71 Wang Y, Jin R, Sojic N, Jiang D, Chen HY. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 10416–10420
72 Li HN, Yang D, Liu AX, Liu GH, Shan YP, Yang GC, He J. *Chin J Anal Chem*, 2019, 47: e19104–e19112
73 Gao R, Ying YL, Li YJ, Hu YX, Yu RJ, Lin Y, Long YT. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 57: 1011–1015
74 Wei C, Bard AJ, Feldberg SW. *Anal Chem*, 1997, 69: 4627–4633
75 Zhang S, Chen W, Song L, Wang X, Sun W, Song P, Ashraf G, Liu B, Zhao YD. *Sens Actuat Rep*, 2021, 3: 100042
76 Xiong T, Zhang K, Jiang Y, Yu P, Mao L. *Sci China Chem*, 2019, 62: 1346–1359
77 Jiang Y, Feng Y, Su J, Nie J, Cao L, Mao L, Jiang L, Guo W. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 18739–18746
78 Zhang X, Pang JX, Kang YH, Wang YF, Zhao WW, Xu JJ. *Anal Chem*, 2025, 97: 22548–22554

79 Song J, Xia CW, Zhang X, Xu JJ. *Anal Chem*, 2025, 97: 21150–21157
80 Duan ZM, Xu YT, Li Z, Pang JX, Xu JJ, Zhao WW. *Angew Chem Int Ed*, 2025, 64: e202420602
81 Xiong Y, Ma T, Zhang H, Qiu L, Chang S, Yang Y, Liang F. *Microchim Acta*, 2022, 189: 251
82 Gao T, Xu C, Chen ML, Wang JH, Mao L, Yu P. *Anal Chem*, 2022, 94: 8187–8193
83 Xu C, Liu Y, Xiong T, Wu F, Yu P, Wang J, Mao L. *ACS Sens*, 2021, 6: 2330–2338
84 Liu Y, Xu C, Gao T, Chen X, Wang J, Yu P, Mao L. *ACS Sens*, 2020, 5: 2351–2358
85 Chen W, Ding S, Wu J, Shi G, Zhu A. *Chem Commun*, 2020, 56: 13225–13228
86 Zhang S, Liu G, Chai H, Zhao YD, Yu L, Chen W. *Electrochem Commun*, 2019, 99: 71–74
87 Wang Y, Wang D, Mirkin MV. *Proc R Soc A*, 2017, 473: 20160931
88 Liu YD, Li JR, Zhang LM, Tian Y. *J Electrochem*, 2023, 29: 2218004 (in Chinese) [刘原东, 李佳润, 张立敏, 田阳. 电化学, 2023, 29: 2218004]
89 Xu C, Jiang Y, Yu P, Mao LQ. *J Electrochem*, 2022, 28: 2108551 (in Chinese) [徐聪, 江迎, 于萍, 毛兰群. 电化学, 2022, 28: 2108551]
90 Wightman RM, Jankowski JA, Kennedy RT, Kawagoe KT, Schroeder TJ, Leszczyszyn DJ, Near JA, Diliberto Jr. EJ, Viveros OH. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 10754–10758
91 Kawagoe KT, Jankowski JA, Wightman RM. *Anal Chem*, 1991, 63: 1589–1594
92 Li X, Majdi S, Dunevall J, Fathali H, Ewing AG. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 11978–11982
93 Strein TG, Ewing AG. *Anal Chem*, 1992, 64: 1368–1373
94 Li YT, Zhang SH, Wang L, Xiao RR, Liu W, Zhang XW, Zhou Z, Amatore C, Huang WH. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 12456–12460
95 Huang WH, Pang DW, Tong H, Wang ZL, Cheng JK. *Anal Chem*, 2001, 73: 1048–1052
96 Strand AM, Venton BJ. *Anal Chem*, 2008, 80: 3708–3715
97 Hu K, Relton E, Locker N, Phan NTN, Ewing AG. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 15302–15306
98 Liu R, Zhang S, Zeng H, Gao N, Yin Y, Zhang M, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2024, 63: e202318973
99 Sun P, Zhang Z, Guo J, Shao Y. *Anal Chem*, 2001, 73: 5346–5351
100 Ding S, Li M, Gong H, Zhu Q, Shi G, Zhu A. *Anal Chem*, 2020, 92: 2543–2549
101 Li Y, Bergman D, Zhang B. *Anal Chem*, 2009, 81: 5496–5502
102 Katemann B, Schuhmann W. *Electroanalysis*, 2002, 14: 22–28
103 Shao Y, Mirkin MV, Fish G, Kokotov S, Palanker D, Lewis A. *Anal Chem*, 1997, 69: 1627–1634
104 Zhang Y, Xu S, Xiao X, Liu Y, Qian Y, Li Y. *Chem Commun*, 2017, 53: 2850–2853
105 Zhang XW, Qiu QF, Jiang H, Zhang FL, Liu YL, Amatore C, Huang WH. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 12997–13000
106 Jiang H, Zhang XW, Liao QL, Wu WT, Liu YL, Huang WH. *Small*, 2019, 15: 1901787
107 Zhang XW, Oleinick A, Jiang H, Liao QL, Qiu QF, Svir I, Liu YL, Amatore C, Huang WH. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 7753–7756
108 Qi YT, Zhang FL, Tian SY, Wu HQ, Zhao Y, Zhang XW, Liu YL, Fu P, Amatore C, Huang WH. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19: 524–533
109 Qi YT, Jiang H, Wu WT, Zhang FL, Tian SY, Fan WT, Liu YL, Amatore C, Huang WH. *J Am Chem Soc*, 2022, 144: 9723–9733
110 Wu WT, Jiang H, Qi YT, Fan WT, Yan J, Liu YL, Huang WH. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 19337–19343
111 Yang XK, Zhang FL, Wu WT, Tang Y, Yan J, Liu YL, Amatore C, Huang WH. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 15803–15808
112 Liao QL, Jiang H, Zhang XW, Qiu QF, Tang Y, Yang XK, Liu YL, Huang WH. *Nanoscale*, 2019, 11: 10702–10708
113 Wen MY, Qi YT, Jiao YT, Zhang XW, Huang WH. *Small*, 2024, 21: 2406796
114 Jiao YT, Kang YR, Wen MY, Wu HQ, Zhang XW, Huang WH. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62: e202313612
115 Jiao YT, Jiang H, Wu WT, Qi YT, Wen MY, Yang XK, Kang YR, Zhang XW, Amatore C, Huang WH. *Biosens Bioelectron*, 2023, 222: 114928
116 Zhang XW, Hatamie A, Ewing AG. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61: e202210224
117 Liu X, Tong Y, Fang PP. *TrAC Trends Anal Chem*, 2019, 113: 13–24
118 Phan NTN, Li X, Ewing AG. *Nat Rev Chem*, 2017, 1: 0048
119 Amatore C, Arbault S, Guille M, Lemaitre F. *Chem Rev*, 2008, 108: 2585–2621
120 Ren L, Mellander LJ, Keighron J, Cans AS, Kurczy ME, Svir I, Oleinick A, Amatore C, Ewing AG. *Quart Rev Biophys*, 2016, 49: e12
121 Li X, Dunevall J, Ewing AG. *Acc Chem Res*, 2016, 49: 2347–2354
122 Borges R, Díaz-Vera J, Domínguez N, Arnau MR, Machado JD. *J Neurochem*, 2010, 114: 335–343
123 Wang Y, Ewing A. *ChemBioChem*, 2021, 22: 807–813

124 Yue Q, Li X, Wu F, Ji W, Zhang Y, Yu P, Zhang M, Ma W, Wang M, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 11061–11065
125 Wei S, Wu F, Liu J, Ji W, He X, Liu R, Yu P, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62: e202315681
126 Yue Q, Wang K, Guan M, Zhao Z, Li X, Yu P, Mao L. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61: e202117596
127 Gu C, Ewing AG. *Chem Sci*, 2021, 12: 7393–7400
128 Wang Y, Fathali H, Mishra D, Olsson T, Keighron JD, Skibicka KP, Cans AS. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 17507–17511
129 Qiu QF, Zhang FL, Tang Y, Zhang XW, Jiang H, Liu YL, Huang WH. *Electroanalysis*, 2018, 30: 1054–1059
130 Yang XK, Zhang FL, Jin XK, Jiao YT, Zhang XW, Liu YL, Amatore C, Huang WH. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120: e2219994120
131 Zhang Y, Liu J, Jing X, Li F, Mao X, Li M. *Electroanalysis*, 2022, 34: 1041–1047
132 Bilal M, Iqbal HMN. *Int J Biol Macromol*, 2020, 151: 1–18
133 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
134 Jiang H, Qi YT, Wu WT, Wen MY, Liu YL, Huang WH. *Chem Sci*, 2020, 11: 8771–8778
135 Wang HY, Xu YT, Wang B, Yu SY, Shi XM, Zhao WW, Jiang D, Chen HY, Xu JJ. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61: e202212752
136 Xu YT, Ruan YF, Wang HY, Yu SY, Yu XD, Zhao WW, Chen HY, Xu JJ. *Small*, 2021, 17: 2100503
137 Yu SY, Ruan YF, Liu YL, Han DM, Zhou H, Zhao WW, Jiang D, Xu JJ, Chen HY. *ACS Sens*, 2021, 6: 1529–1535
138 Duan Z, Ouyang Y, Fu Y, Huang F, Xia F, Willner I. *Angew Chem Int Ed*, 2023, 62: e202301476
139 Kalukula Y, Stephens AD, Lammerding J, Gabriele S. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23: 583–602
140 Wang N, Wang D, Pan R, Wang D, Jiang D, Chen HY. *Anal Chem*, 2021, 93: 10744–10749
141 Hu K, Li Y, Rotenberg SA, Amatore C, Mirkin MV. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 4564–4568
142 Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. *Physiol Rev*, 2014, 94: 909–950

Subcellular analysis based on nanoelectrode electrochemical methods

Yuanyuan Ma, Dechen Jiang, Rongrong Pan*

State Key Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, China
**Corresponding author (email: rongrongpan@nju.edu.cn)*

Abstract: Subcellular compartments in living cells are the core units responsible for the execution of cellular functions, and their heterogeneity as well as dynamic variations are closely associated with physiological and pathological processes. Nanoelectrode-based electroanalytical techniques, which take advantage of high spatiotemporal resolution, excellent sensitivity, and dimensional compatibility with subcellular compartments, have emerged as one of the most important tools for in situ detection at the subcellular level. This review systematically summarizes recent advances in the application of nanoelectrode-based electrochemical analysis for subcellular analysis in living cells: first, it elaborates the controllable fabrication and surface functionalization strategies of nanopipette-based nanoelectrode, as well as solid-state nanoelectrode based on platinum, gold, carbon fibers, and other materials; subsequently, it discusses their applications in electrochemical detection of individual vesicles, analysis of the organelle-adjacent microdomain, and *in situ* real-time quantitative monitoring of single organelles; finally, the existing challenges and future development directions in this field are discussed.

Keywords: nanoelectrode, high-spatiotemporal-resolution analysis, single organelle, organelle-adjacent microdomain, individual vesicles

doi: 10.1360/SSC-2026-0073