PIBB 生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
2022,49(2):303~317
www.pibb.ac.cn

单细胞机械性能检测方法与应用研究进展*

张孝哲　项　楠**　倪中华
（东南大学机械工程学院，江苏省微纳生物医疗器械设计与制造重点实验室，南京 211189）

摘要　细胞机械性能与细胞的生理状态与功能存在密切联系。早期对于细胞机械性能的研究受制于技术条件，只能获得细胞群的弹性或剪切模量，使得少量异质细胞的机械表型被淹没。近年来，单细胞机械性能检测技术得到了蓬勃发展。原子力显微镜、微吸管技术、光镊与光学拉伸、磁扭转流变仪与磁镊等单细胞机械性能检测技术展现出非常高的检测精度，但检测通量相对较低。新型微流控高通量检测方法的出现使检测通量呈几何式增长，有望解决大样本快速检测的需求。本文首先综述原子力显微镜、微吸管、光镊与光学拉伸和磁扭转流变仪与磁镊等单细胞机械性能检测技术。在此基础上，重点介绍细胞过孔、剪切诱导细胞变形和拉伸诱导细胞变形3种新兴微流控高通量检测技术的工作原理及最新研究进展，探讨各类方法的优缺点。最后，本文展望单细胞机械性能检测技术的未来发展方向。

关键词　单细胞检测，机械性能，高通量，微流控
中图分类号　Q274，O351.2　　**DOI**：10.16476/j.pibb.2021.0115

理解细胞的生物化学和机械力学性能是生物物理、医学及基础生物学领域的重要研究方向。近年来，细胞的机械性能被发现与细胞的生理状态和功能直接相关。人体在患病后，体内部分细胞的细胞膜[1]、细胞骨架[2-4]和细胞核[5-6]等细胞器结构发生改变，导致细胞机械性能改变。例如，研究发现，人体在感染疟疾或患镰刀型贫血症后，体内红细胞硬度高于正常红细胞，导致其穿越血管壁受阻[7-9]。另有研究表明，红细胞在长期存储过程中的硬度亦会略有提升[10]，且在不同存储条件下呈现不同程度的改变[11]。癌症的发生和发展过程通常也伴随着细胞机械性能的改变，如乳腺癌[12-13]、肺癌[14]、前列腺癌[15-16]等癌细胞比相对应的良性细胞表现出更高的变形性与弹性，甚至细胞在癌症的不同发展进程中也表现出硬度、变形性等性质的差异[3, 17]，而这些特性往往与肿瘤的转移性和侵袭性有关[18-20]。

近年来，研究者们开发了多种单细胞机械性能检测技术（图1），基于细胞机械性能的差异实现不同细胞的鉴别，并研究细胞机械性能与其生物学特性之间的关系。早期典型单细胞机械性能检测技术包括：原子力显微镜[21]、微吸管技术[22]和光镊与光学拉伸[23-24]，这些技术对于细胞机械性能的表征都具有非常高的精度。然而，这些技术的检测通量相对较低（一般低于1 cell/min）。此外，亦有其他技术被应用于单细胞机械性能的检测，如声学方法、磁扭转流变仪与磁镊和粒子追踪微流变法。随着微流控技术的发展与广泛应用，研究人员基于微流控方法开发出多种新兴的高通量单细胞机械性能检测技术，如利用流体拉伸[25]或剪切细胞[26]以及使细胞过孔挤压变形[27]，其通量一般可达数百至数千cells/min，甚至上百万cells/min。

本文首先介绍了目前单细胞机械性能检测领域经典的检测技术，阐述了原子力显微镜、微吸管技术和光镊与光学拉伸的检测原理及最新研究进展并简要概述了声学方法、磁扭转流变仪与磁镊以及粒子追踪微流变法。之后，本文从细胞受力方式的角度介绍了近10年来发展迅猛的微流控高通量检测技术。最后，本文对单细胞机械性能检测方法未来的研究与发展方向进行了探讨。

* 国家自然科学基金（81727801，51875103，51775111），江苏省优秀青年基金（BK20190064），江苏省六大高峰高层次人才（SWYY-005）和东南大学至善青年学者计划资助项目。
** 通讯联系人。
Tel：025-52090508，E-mail：nan.xiang@seu.edu.cn
收稿日期：2021-04-28，接受日期：2021-06-09

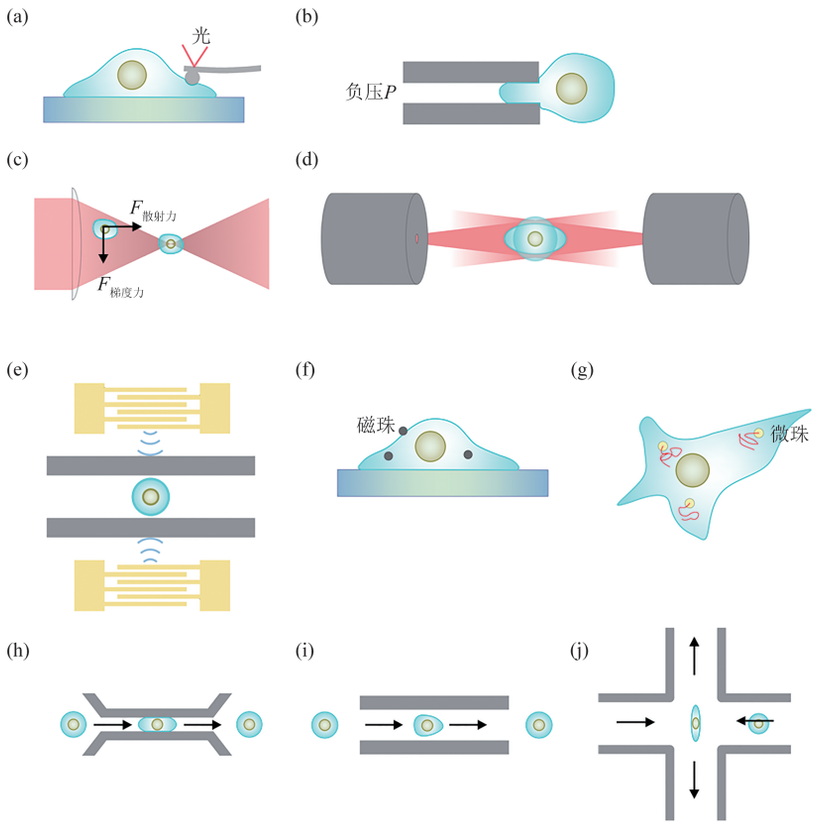


Fig. 1　Technologies for the detection of single cell mechanical properties

图1　单细胞机械性能检测技术

（a）原子力显微镜；（b）微吸管技术；（c）光镊；（d）光学拉伸；（e）声学方法；（f）磁扭转与磁镊；（g）粒子追踪微流变法；（h）细胞过孔；（i）剪切诱导变形；（j）拉伸诱导变形。

1　传统单细胞机械性能检测技术

随着细胞机械性能在生物医学应用上表现出越来越重要的作用，细胞的机械性能受到了国内外学者的广泛关注。由于细胞的异质性，单细胞的检测相比于细胞群的检测，在获取稀有目标细胞机械性能时具有更大的优势。传统的单细胞机械性能检测方法主要包括：原子力显微镜、微吸管技术和光镊与光学拉伸；此外，声学方法、磁扭转流变仪与磁镊以及粒子追踪微流变法也被用于单细胞机械性能的检测。

1.1　原子力显微镜

压痕实验是检测材料机械性能最常用的方法之一，可以给出材料广泛的机械力学参数，如弹性、粘弹性，甚至是动态流变学特性。细胞作为一种生物材料，压痕实验亦是单细胞机械性能检测的重要方法。自1986年原子力显微镜被Binnig等[21]提出，原子力显微镜的应用范围不断扩大[28-29]。由于原子力显微镜不依赖于样品表面的电导率，适用于各种实验样品及环境，Radmacher等[30]提出将其用于测量细胞机械性能，并应用力学中经典的梁理论来确定细胞的力学参数。

原子力显微镜的工作原理是基于扫描隧道显微镜与针形轮廓仪的结合。测量细胞的力学特性时，原子力显微镜执行端的弹性悬臂（一般由硅微制造而成，弹簧常数一般在0.02~0.08 N/m之间[31]）受预设程序控制下压（图1a）。弹性悬臂前端附着有与细胞接触的探针，其外形一般为球形、金字塔形和锥形。其中球形尖端与细胞有更大的接触面积和更低的局部应变，受细胞局部力学响应的影响较小，在全细胞机械性能的测量中具有明显的优势[32]。通常尖端所造成的细胞压痕深度一般不超过细胞高度的15%。当压痕深度接近或大于尖端高度时，除了悬臂末端附着的探针与细胞接触外，悬臂的底部还可能与细胞接触，导致测量的细胞弹性高于实际值[32]。Pogoda等[33]对成纤维细胞、黑色

素瘤细胞和红细胞的力学特性分析结果表明：当压痕深度增加时，测得的细胞杨氏模量逐渐下降。然而，Hayashi等[34]的研究结果与之相反，他们发现与低悬臂受力阈值相比，较高的阈值所测得的细胞弹性模量更高。产生上述差异的原因尚不清楚，有待后续研究的进一步探索。

虽然原子力显微镜对于单细胞机械性能的检测通量极低，但极高的精度使其常被作为衡量其他高通量检测方法的评估工具。

1.2　微吸管

微吸管技术使用一个内径小于被测细胞的微管，利用负压将细胞吸入管内，并记录不同负压下细胞进入微管内的长度（图1b）。细胞进入管内的长度一般使用光学显微镜跟踪测量，精度可达几十纳米。不同的管内负压（一般为1~1 000 Pa）可用于实现红细胞[35]、肿瘤细胞[13, 36-38]、干细胞[6]等不同细胞以及同种细胞中细胞骨架[39]、细胞核[6]等不同细胞组成的机械性能表征。

微吸管技术的测量精度可与原子力显微镜媲美，但其复杂的实验操作要求实验者具备熟练的操作技术。为简化实验操作，Shojaei-Baghini等[40]设计了一种基于自动微吸管技术的单细胞机械性能表征系统。该系统使用基于视觉的位置控制系统，操纵微管接近细胞，并将细胞吸入微管中，实现细胞弹性、粘弹性及黏度的定量分析。此外，新兴微流控技术的引入使得基于微吸管技术原理的单细胞机械性能检测技术的实验操作方式获得极大简化，同时在一定程度上克服了传统微吸管技术中因蒸发损失导致的吸入压力基线漂移问题[22]。Davidson等[41]设计的基于微吸管原理的微流体装置可以同时测量多个细胞（图2a）。通过控制3个出口端的压强，该装置允许快速加载和清洗细胞，并将大颗粒或细胞团簇造成的堵塞最小化。然而，由于芯片不同，并行流道内细胞受到的压力不同，一定程度上影响了检测精度。为使并行测量中每一通路内细胞所受压力基本相同，Myrand-Lapierre等[37]设计出一种多路流体柱塞装置，该装置形成了自补偿流体网络，使细胞在任何一个流道中承受的流道两端压差相同，不受其所在位置以及邻近通路细胞的影响（图2b）。

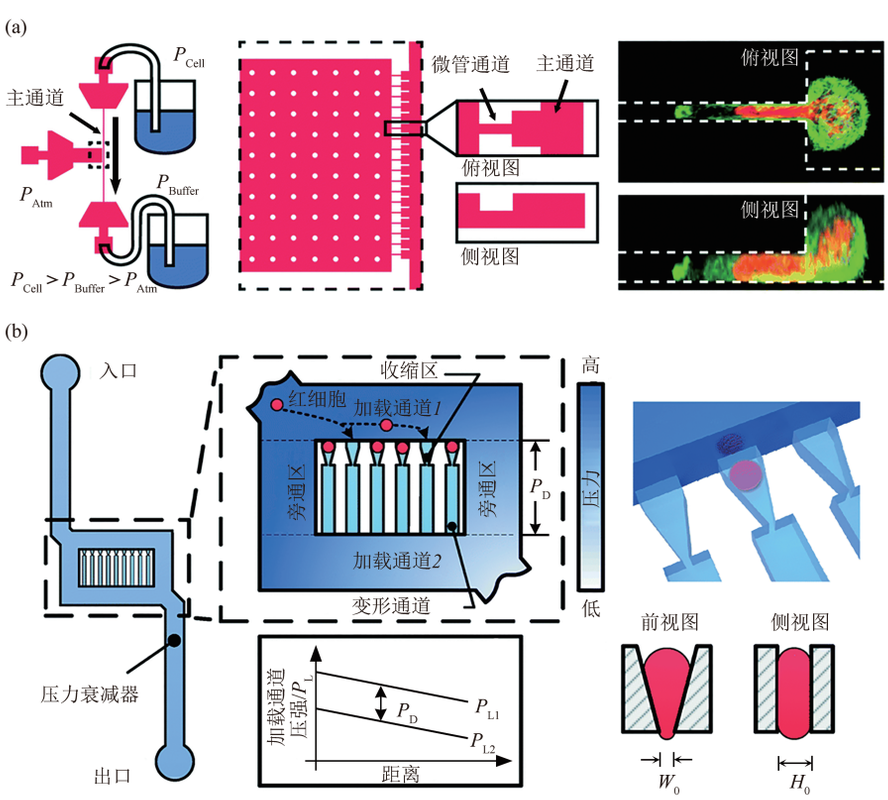


Fig. 2　High throughput detection devices based on micropipette technology

图2　基于微吸管技术的高通量检测装置

（a）基于微吸管技术的微流控装置[41]；（b）形成自补偿流体网络的多路流体柱塞装置[37]。P_{Cell}、P_{Buffer}、P_{Atm}分别表示细胞样品液入口压强、缓冲端压强、标准大气压，P_L、P_D、P_{L1}、P_{L2}分别表示压强、加载通道*1*与加载通道*2*的压强差、加载通道*1*的压强、加载通道*2*的压强。

微吸管技术是一种可以替换原子力显微镜的单细胞机械性能检测技术。相比于原子力显微镜适于测量黏附细胞的局部力学特性，微吸管技术多被用于测量悬浮细胞的全细胞机械响应[42]。此外，在微吸管技术中，细胞往往在同一位置同一受力下变形数秒到数分钟，故可实现细胞长期受载时的粘弹性与蠕变特性的测量。

1.3 光镊与光学拉伸

光镊最初由Ashkin等[43]提出，该技术利用高度聚焦的激光束创建三维光梯度，使细胞受到光子冲击产生的散射力和由场强梯度诱导的梯度力，其中细胞所受的散射力和梯度力取决于激光波长（λ）和粒子半径（r）[44]（图1c）。利用光镊技术，Foo等[45]测量了脂质体在恒定温度下，以不同流速突然停止运动所引起的随时间变化的形状改变和恢复；Titushkin等[24]研究了人骨髓间充质干细胞和分化成纤维细胞的膜力学特性。光镊施加于细胞的力一般不足以使有核细胞产生大变形，因而多用于细胞膜与细胞骨架的机械性能检测。

光学拉伸是一种基于光镊原理的单细胞机械性能检测方法，当一个细胞被置于非聚焦的两相对激光束之间时，作用在该细胞上的总力为零（任何沿着光束移动的细胞受净散射力作用回到中心，而任何远离光束轴线的细胞在指向光束中心的梯度力作用下回到中心[46]），但相加的表面力将导致该细胞沿激光束的轴线被拉伸[23, 44]（图1d）。相比于光镊，光学拉伸作用于细胞上的力可达数纳牛，能够使大多数有核细胞发生全细胞变形。光学拉伸常用的激光波长一般为1 064 nm[47-48]，激光功率在数毫瓦至1.5瓦[49]，更大的激光功率可以使细胞产生更大的变形，但高强度激光可能会损伤细胞。

与微吸管技术相似，由于光镊与光学拉伸中的细胞悬浮于溶液中，因而更容易与微流控方法相结合以提高检测通量。Morawetz等[50]开发了一种新型流式光学拉伸器，该装置通过光力使整个细胞在连续流动中变形，避免了光学拉伸装置中所需的细胞定位步骤（图3a）。Yao等[51]通过将光镊和微流控技术结合，展示了一种基于“捕获-拖拽”机制的光流控细胞拉伸器。该器件利用高度聚焦的激光束生成光镊以捕获细胞，同时利用流动诱导的拽力对微流道中被捕获的细胞进行横向拉伸。此外，他们利用一个频率为2 Hz的斩波器阻断光束，使被拉伸的细胞可随流体从光镊中释放；当光束再次被打开时，另一个流经的细胞将会被捕获（图3b）。虽然与微流控结合可在一定程度上提高光学方法的检测通量，但受限于技术本身的低应变率，其检测通量仍较低，约每分钟数个细胞[51]。

与原子力显微镜和微吸管技术不同，光镊或光学拉伸不需要与细胞进行机械接触，是一种非接触测量方法，避免了接触测量中潜在的干扰因素。

1.4 其他用于单细胞机械性能检测的技术

除原子力显微镜、微吸管和光镊与光学拉伸等典型传统单细胞机械性能检测技术外，声学方法、磁扭转与磁镊以及粒子追踪微流变法等技术也被应用于单细胞机械性能的检测。

近年来，利用声场在流道内产生驻面声波被用于测量细胞机械性能（图1e）。当细胞进入微流道时，声辐射力使细胞移动到声压节点，其移动速度取决于细胞可压缩性[52]。利用细胞间有效声阻抗值的差异，Augustsson等[53]对单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞、BA-F3和MCF7细胞的机械性能进行了表征。由于细胞向声节点的迁移往往需要数秒钟，故其检测通量较低且其测量参数常需要转化为传统的粘弹性参数。

磁扭转流变仪通过磁场对附着于细胞表面或内部的磁化微珠进行操控（图1f）。附着特定受体的配体的铁磁性微珠与细胞粘连并在某一方向上被磁化；再在垂直于磁化方向施加磁场使磁珠产生扭转，从而对结合的细胞表面受体施加可控的作用力并量化磁珠旋转角度。细胞的机械性能可以从施加于磁珠的扭矩与磁珠的旋转角度中获得。磁扭转流变仪已被应用于细胞膜[54]、细胞骨架[55-56]等细胞成分的动态机械响应。磁镊的工作原理与磁扭转流变仪相似，也常被用来测量细胞的机械特性[57-58]。磁扭转与磁镊适于测量在细胞内部组织的机械性能，但受限于施加在磁珠上的力较小（pN），使其多用于测量细胞的局部机械性能而难以评估细胞整体机械性能。

在粒子追踪微流变中，直径小于1 μm的荧光珠被直接注射到活细胞的细胞质中，这些荧光珠在细胞质中迅速分散，随后荧光显微镜跟踪这些荧光珠的运动轨迹，从而评估细胞的力学特性[59]（图1g）。粒子追踪微流变是一种被动测量单细胞机械性能的方法，可对处于复杂环境中（如三维基质与体内）的细胞进行机械性能检测[60]。

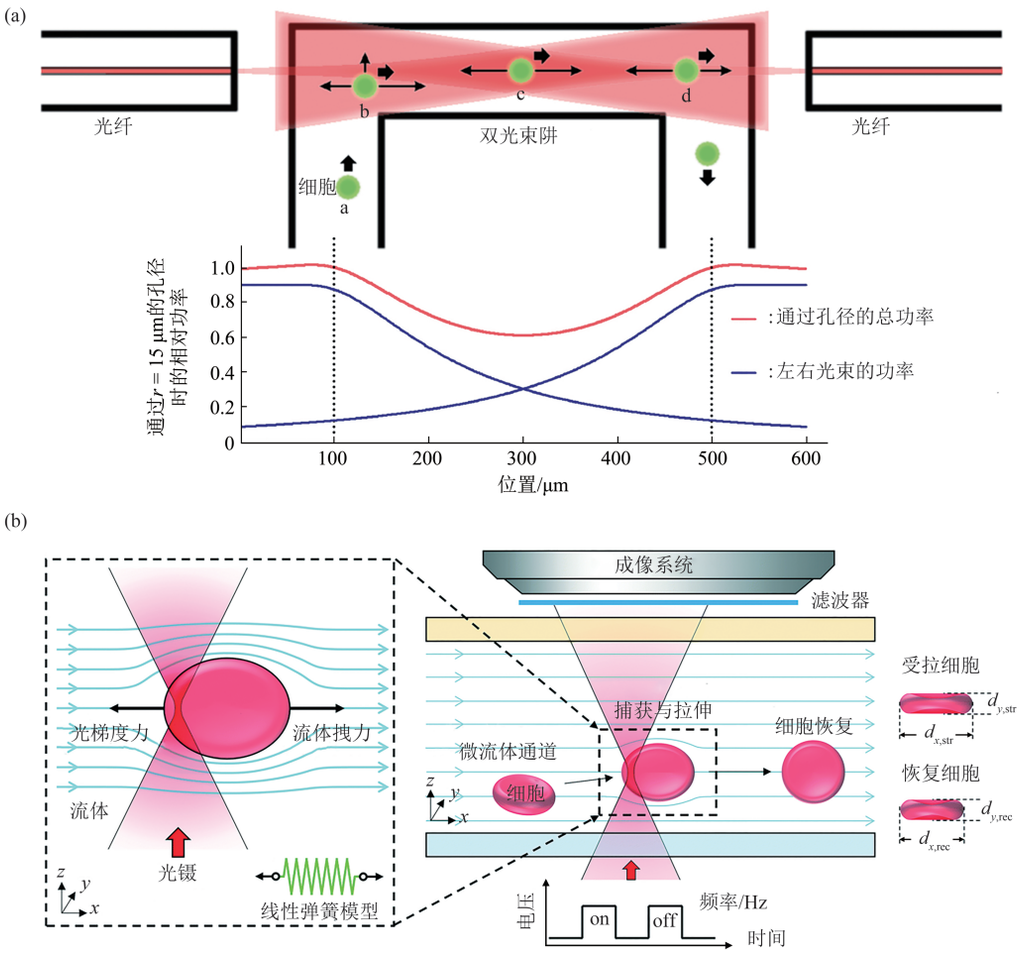


Fig. 3　Detection of mechanical properties of cells based on optical tweezers and stretcher

图3　基于光镊与光学拉伸的细胞机械性能检测技术

（a）流动光学拉伸器[50]；（b）“捕获-拖拽”机制的光流控细胞拉伸器[51]。$d_{y,\mathrm{str}}$、$d_{x,\mathrm{str}}$、$d_{y,\mathrm{rec}}$、$d_{x,\mathrm{rec}}$分别表示受拉细胞在y轴方向上的长度、受拉细胞在x轴方向上的长度、回复细胞在y轴方向上的长度、回复细胞在x轴方向上的长度。

2　单细胞机械性能检测的高通量方法

传统的单细胞分析技术在面对大量样本时难以快速获得样本的检测数据。随着微流控技术的发展，基于微流控技术的流式检测方法不断出现，使单细胞机械性能检测的通量呈几何式增长。接下来，本文将从细胞受力方式的角度对不同的微流控变形性细胞术（deformability cytometry，DC）进行介绍，具体包括：细胞过孔受迫挤压、剪切诱导变形以及拉伸诱导变形。

2.1　细胞过孔

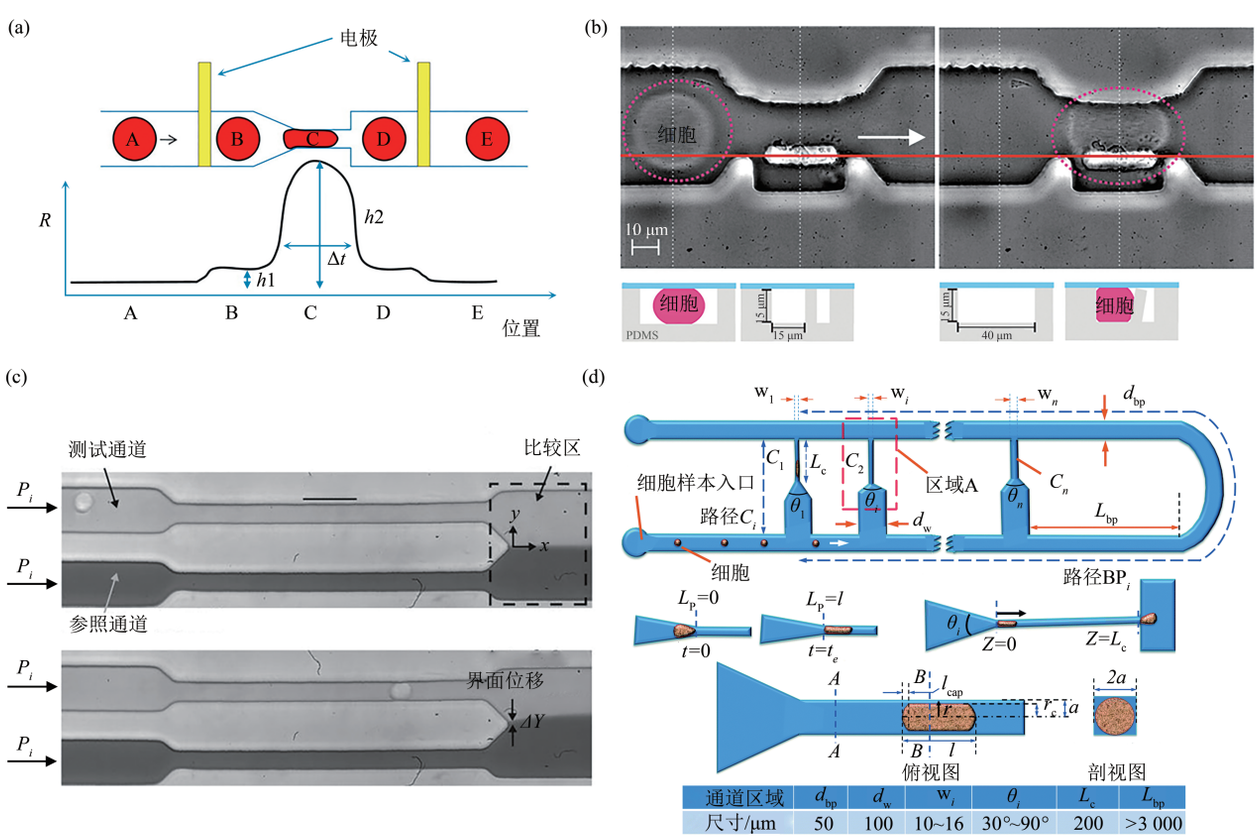
测量细胞过孔时物理参数的机械性能检测方法最先在微流控领域得到应用。该技术（图1h）通过驱动悬浮液中的细胞穿过一个比其自身直径略小的狭窄流道，当细胞在狭窄流道内运动时，由于细胞抵抗流道壁挤压变形的能力不同，其通过时间（细胞通过狭窄流道的时间）[7, 61-64]、进入时间（细胞由接触入口到完全进入狭窄流道的时间）[12, 65]、通过速度[19, 27, 66]、细胞形态[5, 67-68]、驰豫时间（离开狭窄流道后细胞恢复初始形态的时间）[69-70]及流体压降[71-72]等物理参数各不相同。通过分析这些参数，研究者可确定细胞的变形性[5, 9, 73]、弹性[74-75]及粘弹性[76-78]等机械性能。

目前细胞过孔时的数据获取方式主要有两种：一是通过高速摄像机捕获细胞图像，二是在检测流道区域布置电极获得电信号。Hou等[12]利用高速摄像机拍摄到的细胞图像获得了细胞的进入时间，并计算出细胞截面投影的长短轴之比，成功区分了人正常乳腺上皮细胞（MCF-10A）与人乳腺癌细胞（MCF-7）。Adamo等[61]在狭窄流道的两端布置电极，当细胞穿过收缩区时，两侧电极之间的电阻值发生变化（图4a）。通过比较电阻值峰宽，即

细胞的通过时间，可以得到不同细胞的变形能力。利用这一方法，该课题组实现了正常HeLa细胞、经微丝解聚剂处理的HeLa细胞和经细胞松弛素B处理的HeLa细胞的鉴别。

细胞在通过狭窄流道时，变形的细胞膜与流道壁之间存在摩擦力，并影响细胞的通过时间、通过速度等参数，而摩擦力的大小与细胞机械性能有关。Gabriele等[2]发现白细胞与流道壁面的摩擦力受到细胞硬度的影响，较硬细胞的膜与壁面之间的作用力更大，摩擦力更高，从而导致不同硬度白细胞的通过速度不同。为尽可能减小摩擦力的影响，直接考察细胞受迫变形能力，Walter等[79]提出一种直接量化狭窄流道内细胞变形能力的方法来研究红细胞变形时的力学响应。通过在狭窄流道处设置悬臂式弹性微瓣作为变形传感器，当细胞经过流道并被压缩时，高速摄像机将记录弹性微瓣的挠度及细胞的变形（图4b）。

除细胞膜与流道壁面间的摩擦力外，细胞两侧的流体压降以及细胞大小等因素也会影响测量结果。细胞通过狭窄流道时造成的压降对于准确获得细胞力学参数十分重要，更大的压降导致更短的细胞过孔时间。然而，直接测量细胞两侧的流体压力十分困难，为此，Khan等[71]设计了一对完全相同的平行狭窄流道，两平行流道的入口分离，出口联通。当上流道有细胞经过时，出口处联通区域的两种不同液体之间的界面由于压差而产生偏移（图4c）。通过对界面偏移量的分析，得到细胞通过流道时的压降。多数微流控芯片中的狭窄流道尺寸单一，难以实现尺寸差异较大细胞群体的精确检测。Raj等[75]设计了一种包含多个不同尺寸的平行微收缩流道器件，实现了在单个器件上同时表征具有较大尺寸差异的细胞机械性能（图4d）。



通道区域	d_{bp}	d_w	w_i	θ_i	L_c	L_{bp}
尺寸/μm	50	100	10~16	30°~90°	200	>3 000

Fig. 4　Different detection methods of micro-constriction

图4　细胞过孔的不同检测方式

（a）细胞变形能力的电学测量[61]；（b）微流道内的悬臂式变形传感器[79]；（c）细胞通过流道时压降的简易测量[71]；（d）具有多个不同尺寸的平行微收缩装置[75]。（a）中$h1$表示基线值，$\triangle t$表示峰宽（细胞通过收缩所需时间），$h2$表示峰值。（c）中P_i表示测试通道与参照通道压力。（d）中w_1，w_i，w_n表示第1至第n个挤压流道宽度，d_{bp}表示主通道宽度，C_1等为挤压通道标识，θ_1等表示每个挤压通道道出口处扩张的角度，d_w表示挤压通道出口处扩张的宽度，L_P表示细胞进入挤压区的长度，L_c表示挤压通道的长度，l_{cap}表示细胞在挤压通道受迫变形后细胞前缘突出长度，Z表示细胞在挤压通道运动的路程长度、t表示细胞进入挤压通道的过程所经历的时间，r表示细胞在挤压通道中的中心横截面到通道壁的距离，r_c表示细胞在挤压通道中的中心横截面到贴近通道壁的细胞膜的距离，a表示挤压通道的1/2边长。

虽然细胞的进入时间、通过时间、通过速度等参数可以作为区分不同变形性细胞的间接衡量指标，但仅通过这些指标的测量难以量化细胞的杨氏模量、剪切模量、幂律指数等机械性能参数。为获得细胞的具体机械性能参数值，诸多理论模型被应用于分析实验数据。Luo等[74]在二维平面中采用不可压缩新胡克粘超弹性固体（neo-Hookean visco-hyperelastic solid）模拟生物细胞，观察其进入收缩流道的过程，并采用库仑定律模拟了细胞与固体壁间的摩擦。通过将实验数据代入数值模拟结果，得到了相应的拟合公式，并计算出细胞瞬时杨氏模量。Ye等[80]使用光滑耗散粒子动力学研究了细胞通过时间和机械性能之间的关系。通过分析模拟数据，推导出了3种关于细胞通过时间的表达式，分别对应于狭窄流道尺寸、细胞剪切模量和弯曲模量。

细胞检测精度一直是研究者所关注的重要问题，部分研究者希望通过引进先进的精准测量方法以提高测量精度。Byun等[27]制造出带有狭窄流道的悬浮微通道谐振器，通过激光束的偏转来检测谐振频率（图5a）。该方法采用增益控制振荡器电路连续跟踪单个细胞流过狭窄流道时悬臂谐振频率的变化，从而得到有关细胞进入狭窄流道和通过狭窄流道的信息，进而对具有不同物理特性的细胞系（如两种不同的人肺腺癌细胞HCC827与H1975）实现有效区分。Yang等[81]设计了一种具有一对平行多段狭窄流道的芯片，该芯片流道两边布置了自对准3D电极对细胞进行差分电阻抗测量（图5b）。当细胞流经其中一个流道时，与之接触的两个电极测量单细胞阻抗，而另一对电极则测量介质阻抗，进而形成差分测量以消除介质电导率波动和共模漂移对信号的影响，使细胞通过流道时测得的阻抗变化更为精准，从而获得更为准确的细胞机械性能[82]。

多参量检测与机器学习的结合亦是提高检测精度的重要趋势。Nyberg等[83]使用高通量变形细胞仪（quantitative deformability cytometry，q-DC）测量了细胞的6种物理表型，包括弹性模量、细胞流动性、通过时间、进入时间、细胞尺寸和最大应变，借助K邻接机器学习算法训练已知数据集，并将训练结果应用于未知实验数据，实现了对目标细胞的精准识别。Apichitsopa等[84]将两种单细胞机械性能检测方法集成在同一平台上，并使用基于图像的细胞跟踪将所有测量参数与细胞对应，同时得到尺寸、变形性（通过时间）和3种频率下的极化率等细胞内在属性（图5c）。

为进一步提高检测通量，Lange等[77]设计了一种集成8个平行流道的微流控芯片，基于图像方法表征人红白血病细胞系K562和人乳腺癌细胞MDA-MB-231细胞的进入时间及形态变化，检测通量高达160 cells/min（图5d）。然而，受显微镜镜视场的限制，利用显微镜捕获变形细胞图像的方法不能无限增加并行流道数。Ren等[85]设计了一种基于阻抗谱检测的芯片，该芯片包含4个并行流道，其中每个流道包括2个由突扩腔分隔的狭窄流道（图5e）。虽然四流道的并行集成所提升的通量较小，但由于电学测量方法不受观测区域的限制，有望大规模并行集成，从而极大提高整体通量。

利用高速摄像机或电阻抗技术测量细胞通过小于其自身直径的狭窄流道时，各种物理参数的差异可以很好地区分不同变形性的细胞，同时结合数值模型可以得到细胞的杨氏模量、幂律指数等机械性能参数值。由于涉及到细胞与流道壁的物理接触，这种方法适合用于研究在微循环等过程中细胞的摩擦或滞留。然而，该类技术往往对细胞尺寸十分敏感，其检测流道必须与被测细胞大小相匹配，细胞过大或过小都会造成测量结果的偏差。因此，该类技术往往适用于细胞尺寸较为均一的细胞群体。此外，由于其检测流道尺寸小于细胞，实验过程中易造成流道堵塞。

2.2　剪切流诱导变形

细胞在流体作用下的剪切变形是一种高通量非接触的单细胞机械性能检测技术（图1i）。细胞在经过一个比其自身直径略大的微流道时，由于流道截面的流体速度呈抛物线分布，其诱导产生的剪切力以及流体正压力作用于细胞，使细胞产生变形。细胞的变形图像一般通过高速摄像机捕获，以获得细胞变形指数（$1-4\pi A/C^2$，其中A为细胞投影面积、C为细胞投影周长[26, 86-88]；b/a或$(b-a)/(b+a)$，其中b为细胞变形后投影截面的长轴尺寸、a为短轴尺寸[89-91]；）、形状恢复过程[91-92]、荧光强度[11, 93-94]等信息。基于获得的数据，结合理论研究与数据分析，研究者能够获得细胞的各种力学参数[95-98]，甚至是生物学特征[93-94]。

细胞剪切变形作为一种非接触的水动力变形方法，相比于细胞过孔，检测通量得到进一步提升。Zheng等[91]在截面尺寸为8 μm × 8 μm的流道两侧通入相同流量的鞘液，使中间样品液中红细胞稳定

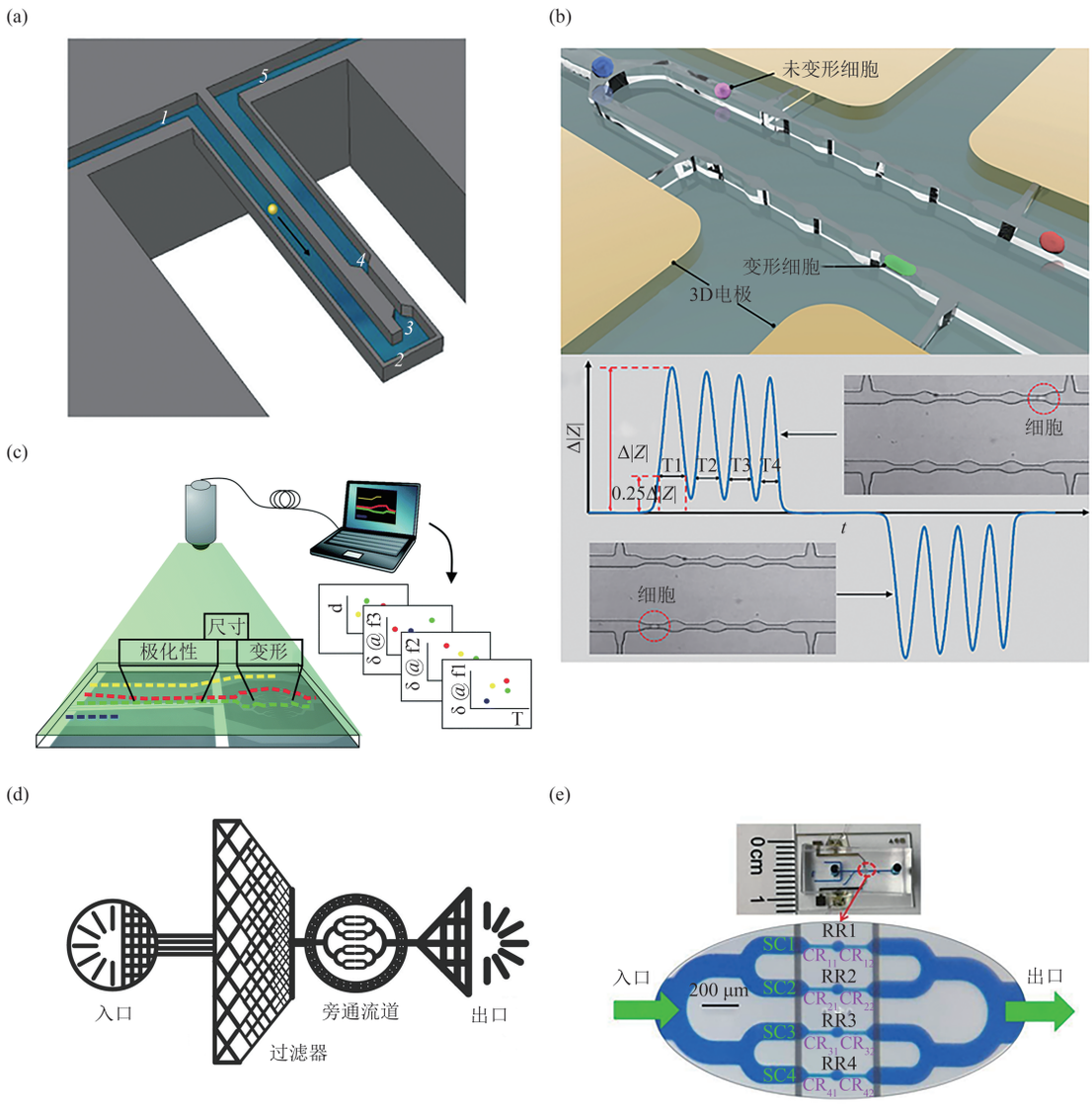


Fig. 5　High precision and high throughput detection of micro-constriction

图5　细胞过孔的高精度与高通量检测

（a）悬浮微通道谐振器[27]；（b）差分阻抗检测芯片[81]；（c）两种单细胞机械性能检测方法的集成[84]；（d）8流道并行的微流控芯片[77]；（e）电学检测的并行流道结构[85]。（b）中Δ|Z|表示差分阻抗。（e）中CR表示不同的挤压通道，RR表示四个并行通道的弛豫区。

在流道中心并对其施加剪切力（图6a）。利用高速摄像机捕获红细胞的动态变形过程，量化了红细胞圆度（$4\pi A/C^2$）、变形指数（a/b）、形状恢复速率（变形指数与时间的指数拟合）等多个参数，实现了超过300个红细胞/min的表征。然而，由于检测过程中所获得的大量数据需要后期处理，降低了整个系统的实际通量。为此，Otto等[26]开发了一种实时变形性细胞术（real-time deformability cytometry，RT-DC），利用在线图像分析算法，实现细胞变形性的实时表征，使系统实际通量达到了6 000 cells/min以上（图6b）。

实时变形性细胞术所检测到的细胞机械性能不仅与细胞自身硬度有关，同时也会受到细胞尺寸的影响。为了解释细胞尺寸与细胞变形能力之间的关系，Mietke等[95]利用斯托克斯方程求解一个圆柱微流道内球形物体周围的流场以得到作用于球形物体表面的应力，进而将其作为边界条件并结合线弹性理论量化弹性球体表面的位移场，成功解释了细胞尺寸对于细胞变形性的影响。但由于该模型忽略了细胞变形后产生的形状改变与周围流体间的相互作用，因而仅适用于较小的细胞变形量。为进一步扩大数值模型对于细胞剪切变形的适用范围，并探讨细胞膜内物质和细胞膜对细胞力学响应的影响，Mokbel等[96]将细胞膜内物质表示为粘弹性材料，

而细胞膜被表示为受弯曲刚度和表面张力影响的薄壳皮层，使模型对于细胞的大变形依然适用。

实际应用中常常需要对多个样本进行同时分析，如在药物筛选中需要对大量经过不同方式处理的样本进行测试。为满足实际应用中的多样本分析需求，Ahmmed等[87]结合分离的并行微流道阵列，开发了一种多样本变形性细胞术（multi-sample deformability cytometry，MS-DC），实现了对多个样本中细胞剪切诱导变形的检测（图6c）。

实验中流体速度在一定程度上影响着细胞机械性能的检测精度，不同的流速下细胞受到的力不同，导致同等变形能力的细胞变形程度不同，从而干扰细胞机械性能的测量。由于难以直接测量流速，Saadat等[99]通过两次数值模拟构建了流道中细胞运动速度与流体流速之间的关系，从而由细胞运动速度得到流速。

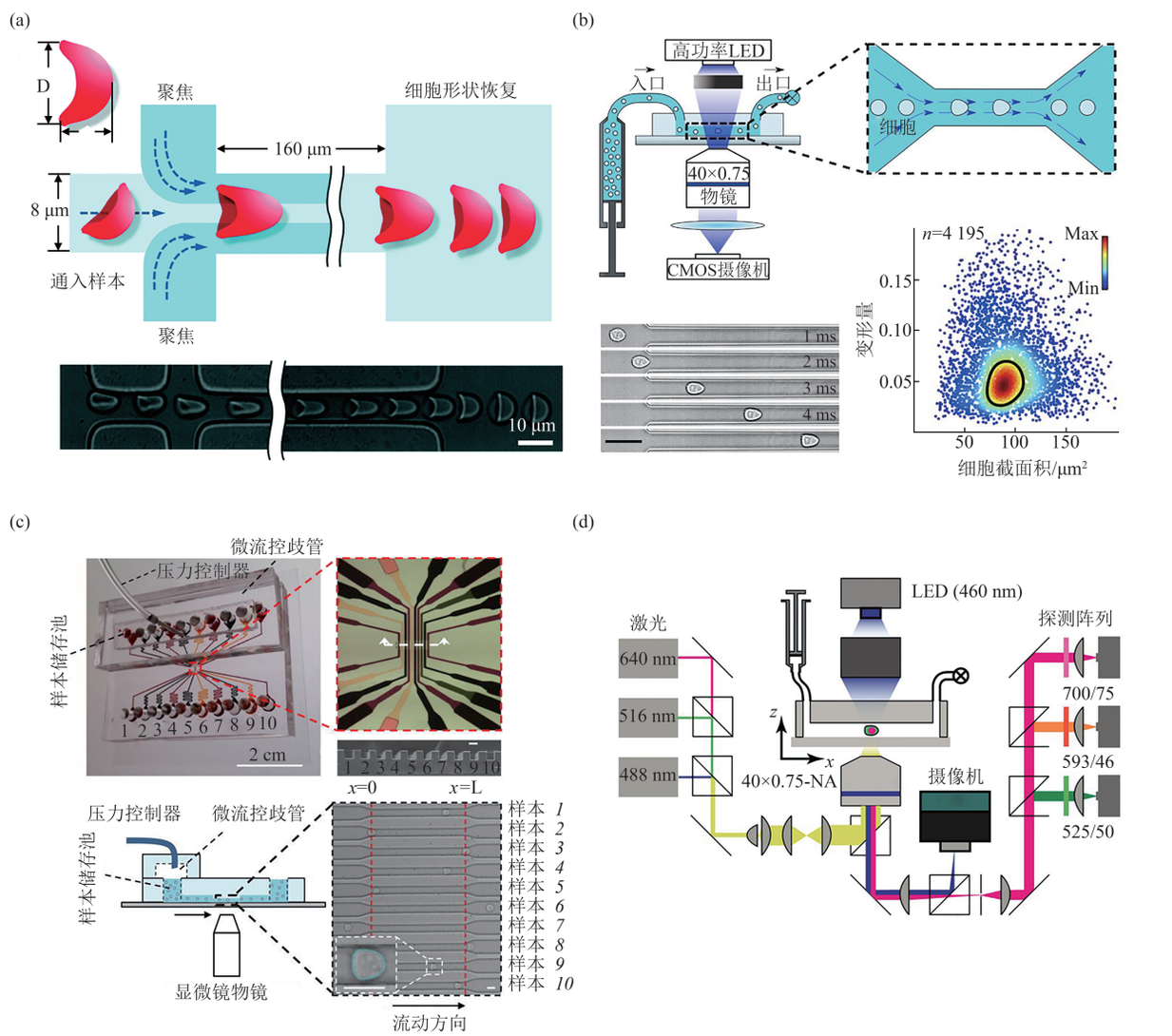


Fig. 6　The schematic of microfluidic shear-induced deformation chip structure

图6　微流控剪切诱导变形芯片结构示意图

（a）基于剪切诱导变形的变形性细胞术[91]；（b）实时变形性细胞术[26]；（c）多样本变形性细胞术[87]；（d）实时荧光和变形性细胞术[93]。

为进一步将细胞的机械性能与细胞分子特异性相关联，Rosendahl等[93]将荧光成像技术引入实时细胞变形性检测，设计了实时荧光和变形性细胞术（real-time fluorescence and deformability cytometry，RT-FDC）（图6d）。基于获得的荧光信号以及形变数据，实现了对果蝇Kc167细胞系不同有丝分裂阶段的有效鉴别。为进一步提高分类准确率，Nawaz等[94]应用深度神经网络处理实验数据，对红细胞

缺失血液中的中性粒细胞进行实时分选，分选纯度达到89.7%，表达$CD66^+/CD14^-$的细胞被富集10倍。

基于流体剪切力诱导细胞变形的微流控细胞机械性能检测方法可以达到数千cells/min的极高通量。虽然相比于细胞挤压变形，剪切诱导变形受细胞尺寸的影响较小，但由于流场中作用于细胞的应力场会受到细胞尺寸与形状的影响，导致参数测量存在误差，因而需要准确的建模方法来校准流道中的流场，以获得更准确的细胞机械性能参数。

2.3　拉伸流诱导变形

除剪切流诱导细胞变形的高通量非接触检测技术外，另一种检测方法采用拉伸流使细胞产生轴向拉伸。该技术利用两股相同的流体在十字形流道处汇聚形成的拉伸流场对细胞施加拉应力，细胞在拉应力的作用下沿流场方向拉伸（图1j）。

与剪切力主导的水动力变形方法相比，拉应力主导的细胞变形方式由于流道内流速更高，因而其通量得到进一步提升。Gossett等[25]设计的检测芯片利用两侧的蛇形流道使细胞惯性聚焦形成一列，并逐一进入汇聚点处的拉伸流场（图7a）。细胞在拉伸流场中产生的变形被高速摄像机记录并量化细胞初始直径与变形量。在不考虑后期图像处理的情况下，该方法能够以超过十万cells/min的速率获得细胞的原始图像数据。在此基础上，Dudani等[100]对流道结构进行改进，采用液压回路设计对细胞所

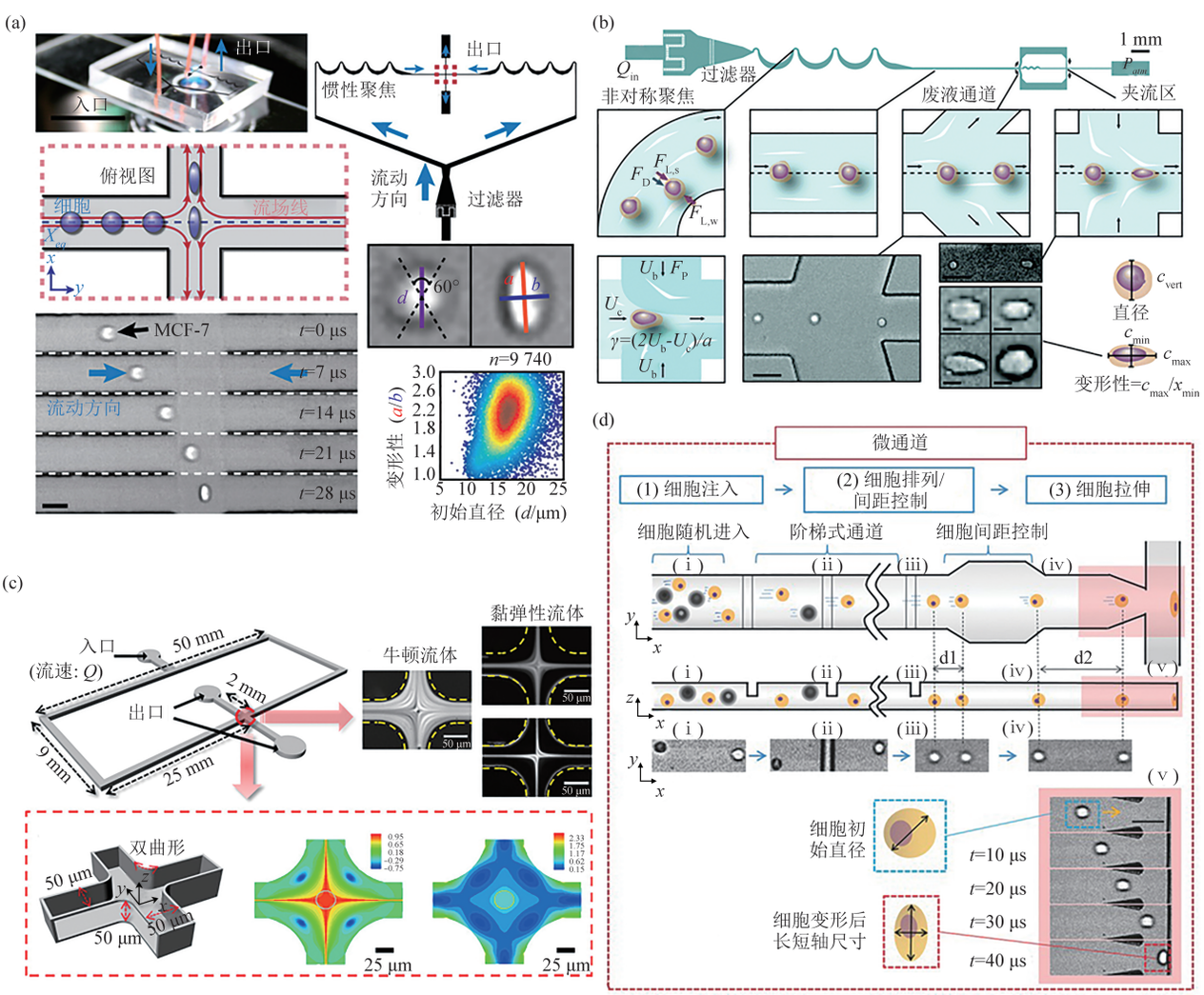


Fig. 7　The schematic of microfluidic stretch-induced deformation chip structure

图7　微流控拉伸诱导变形芯片结构示意图

（a）基于拉伸流的微流控变形性细胞检测技术[25]；（b）捏流拉伸方法的芯片结构[100]；（c）基于三维黏弹性粒子聚焦的细胞拉伸[101]；（d）一种基于惯性聚焦的新型微流控细胞拉伸器[102]。（b）中上部的F_D表示迪恩力，$F_{L,s}$表示剪切诱导惯性升力，$F_{L,w}$表示壁面诱导惯性升力；下部的F_p表示压力阻力，$F_p=0.5\rho U^2C_DA_p$，其中U为流体截面平均流速，C_D为球体的阻力系数，A_p为球体的横截面积。U_b，U_c也为流体截面平均流速。γ表示剪切速率，a表示细胞直径。

受拉应力进行优化。细胞进入流道后首先经过蛇形聚焦流道，之后流道分为3股，细胞由中间流道向下游运动，而两侧流体形成高速夹流，在下游垂直汇入中间流道，对细胞进行拉伸（图7b）。这种方式避免了细胞长时间停留在拉伸流场，将检测通量提高到近4百万cells/min。

虽然利用惯性微流控的蛇形流道聚焦可以将细胞排列至流道宽度方向的单一位置，但细胞在流道高度方向上并未实现单一位置聚焦，导致显微成像系统不能获得高质量的细胞图像且细胞受力不均。为克服上述问题，Cha等[101]引入黏弹性微流控技术，黏弹性液体中细胞在惯性力和弹性力的协同作用下在流道截面中心实现三维聚焦（图7c）。除利用黏弹性溶液对细胞进行三维聚焦外，Deng等[102]提出一种直流道中均布着一系列垂直排列的矩形障碍物的芯片结构，实现了惯性流下的细胞三维聚焦。在惯性升力的作用下，每个障碍物产生一对螺旋二次流，将细胞引导到一个单一的平衡位置（图7d）。

除细胞在特定时刻特定位置的变形外，细胞的动态变形过程亦包含了大量信息。Masaeli等[103]从细胞在微流体拉伸流场中变形的过程中提取出15个生物物理参数（包括细胞的尺寸和应变、基于时间的变形和细胞形态学等），应用机器学习方法处理15维数据集，该技术可以对单个细胞进行精确的分类，准确率超过95%。

相比于流体剪切力主导的细胞变形，细胞在十字形流道中受到的应力更大。Armistead等[104]通过调整流体黏度及流速，分别测试了剪切主导与拉伸主导下的细胞变形。研究结果表明，与高黏度、低流速的环境相比，细胞在低黏度、高流速测得的硬度更高。Urbanska等[105]对于两者的比较研究亦证明了上述研究结论。这一差异产生的可能原因是低应变下细胞骨架主导了细胞的变形性，而当细胞承受高应变时，更硬的细胞核主导了细胞的力学响应[19]。

虽然该方法的检测通量是目前微流控单细胞机械性能检测技术中最高的，但高流速下对于细胞的运动捕捉需要高性能的高速摄像机和大量的数据后处理，检测成本较高。

3　结论与展望

细胞机械性能与细胞生理功能之间有着紧密的联系，细胞迁移、分裂与分化等重要的生物过程以及许多疾病的发生与发展都伴随着细胞机械性能的改变。传统的单细胞机械性能检测技术的通量与流式细胞术相比非常低，使其难以在大量异质细胞中识别出少数感兴趣的稀有细胞，如在癌症病人的外周血液中寻找稀有循环肿瘤细胞。近年来发展起来的微流控技术给这一问题提供了解决方案，一些微流控机械性能检测技术的通量达到甚至超过了流式细胞术。然而，这些新兴技术仍面临着诸多问题亟待解决。例如，各种方法的检测结果存在较大差异，甚至同一类型的细胞使用不同方法测得的细胞力学参数亦相差甚远。此外，需要昂贵的设备与复杂的操作亦是微流控机械性能检测技术走向应用所需解决的问题。

未来单细胞机械性能的检测势必会向着高通量、自动化及集成化等方向发展以满足不同应用场景的需求。高通量对于临床中疾病的快速筛查和诊断具有非常重要的作用，特别是当样本细胞数量非常庞大，达到数万甚至数百万个细胞时，高通量的处理方法可以在短时间内得获得样本的测试结果，以避免细胞在测量过程中发生潜在特性改变。缩减检测过程中人工操作，实现检测过程的自动化不仅可以省去在人员培训中所耗费的大量时间，同时也可避免检测过程中可能存在的各种人为误差。检测设备的小型化与集成化是这些检测方法实现市场化应用需要解决的重要问题之一。

除了细胞机械性能检测本身外，细胞在水动力作用下的变形亦有了新的应用方向。已有研究证明，细胞的大变形伴随着细胞表面顺态孔的出现，使加入细胞悬液的合成生物分子或功能性纳米材料通过扩散与溶液交换将这些物质传递到细胞内部[106-109]。相比于传统的电穿孔、脂肪分离或病毒传导，这种方式成本更低、操作更简单[110]。

本文介绍了6种单细胞机械性能检测方法的物理原理及最新研究进展，阐明了每种测量方法的优缺点。未来，期望通过这些技术的不断改进与完善，使其广泛应用于生物医学及临床诊断等领域，为疾病诊断和生物学研究提供新的工具手段。

参　考　文　献

[1] Barjas-Castro M L, Brandão M M, Fontes A, *et al*. Elastic properties of irradiated RBCs measured by optical tweezers. Transfusion, 2002, **42**(9): 1196-1199

[2] Gabriele S, Benoliel A M, Bongrand P, *et al*. Microfluidic investigation reveals distinct roles for actin cytoskeleton and myosin ii activity in capillary leukocyte trafficking. Biophys J,

2009, **96**(10): 4308-4318

[3] Xu W, Mezencev R, Kim B, *et al*. Cell stiffness is a biomarker of the metastatic potential of ovarian cancer cells. PLoS One, 2012, **7**(10): e46609

[4] Golfier S, Rosendahl P, Mietke A, *et al*. High-throughput cell mechanical phenotyping for label-free, titration assays of cytoskeletal modifications. Cytoskeleton, 2017, **74**(8): 283-296

[5] Hodgson A C, Verstreken C M, Fisher C L, *et al*. A microfluidic device for characterizing nuclear deformations. Lab Chip, 2017, **17**(5): 805-813

[6] Pajerowski J D, Dahl K N, Zhong F L, *et al*. Physical plasticity of the nucleus in stem cell differentiation. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, **104**(40): 15619-15624

[7] Yang X, Chen Z, Miao J, *et al*. High-throughput and label-free parasitemia quantification and stage differentiation for malaria-infected red blood cells. Biosens Bioelectron, 2017, **98**: 408-414

[8] Mauritz J M A, Tiffert T, Seear R, *et al*. Detection of plasmodium falciparum-infected red blood cells by optical stretching. J Biomed Optics, 2010, **15**(3): 030517

[9] Handayani S, Chiu D T, Tjitra E, *et al*. High deformability of plasmodium vivax-infected red blood cells under microfluidic conditions. J Infect Dis, 2009, **199**(3): 445-450

[10] Xu Z, Zheng Y, Wang X, *et al*. Stiffness increase of red blood cells during storage. Microsyst Nanoeng, 2018, **4**: 17103

[11] Aurich K, Fregin B, Palankar R, *et al*. Label-free on chip quality assessment of cellular blood products using real-time deformability cytometry. Lab Chip, 2020, **20**(13): 2306-2316

[12] Hou H W, Li Q S, Lee G Y H, *et al*. Deformability study of breast cancer cells using microfluidics. Biomed Microdevices, 2009, **11**(3): 557-564

[13] Kim D, Choi E, Choi S S, *et al*. Measurement of single-cell deformability using impedance analysis on microfluidic chip. Japanese Journal of Applied Physics, 2010, **49**: 127002

[14] Che J, Yu V, Garon E B, *et al*. Biophysical isolation and identification of circulating tumor cells. Lab Chip, 2017, **17**(8): 1452-1461

[15] Belotti Y, Tolomeo S, Conneely M J, *et al*. High-throughput, time-resolved mechanical phenotyping of prostate cancer cells. Sci Rep, 2019, **9**(1): 5742

[16] Deliorman M, Janahi F K, Sukumar P, *et al*. AFM-compatible microfluidic platform for affinity-based capture and nanomechanical characterization of circulating tumor cells. Microsyst Nanoeng, 2020, **6**:20

[17] Armistead F J, Gala De Pablo J, Gadêlha H, *et al*. Physical biomarkers of disease progression: on-chip monitoring of changes in mechanobiology of colorectal cancer cells. Sci Rep, 2020, **10**(1): 3254

[18] Martinez Vazquez R, Nava G, Veglione M, *et al*. An optofluidic constriction chip for monitoring metastatic potential and drug response of cancer cells. Integr Biol (Camb), 2015, **7**(4): 477-484

[19] Babahosseini H, Strobl J S, Agah M. Microfluidic iterative mechanical characteristics (iMECH) analyzer for single-cell metastatic identification. Anal Methods, 2017, **9**(5): 847-855

[20] Li F, Cima I, Vo J H, *et al*. Single cell hydrodynamic stretching and microsieve filtration reveal genetic, phenotypic and treatment-related links to cellular deformability. Micromachines, 2020, **11**(5): 486

[21] Binnig G, Quate C F, Gerber C. Atomic force microscope. Phys Rev Lett, 1986, **56**(9): 930-933

[22] Hochmuth R M. Micropipette aspiration of living cells. J Biomech, 2000, **33**: 15-22

[23] Guck J, Ananthakrishnan R, Mahmood H, *et al*. The optical stretcher: a novel laser tool to micromanipulate cells. Biophys J, 2001, **81**(2): 767-784

[24] Titushkin I, Cho M. Distinct membrane mechanical properties of human mesenchymal stem cells determined using laser optical tweezers. Biophys J, 2006, **90**(7): 2582-2591

[25] Gossett D R, Tse K T K, Lee S A, *et al*. Hydrodynamic stretching of single cells for large population mechanical phenotyping. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, **109**(20): 7630-7635

[26] Otto O, Rosendahl P, Mietke A, *et al*. Real-time deformability cytometry on-the-fly cell mechanical phenotyping. Nat Methods, 2015, **12**(3): 199-206

[27] Byun S, Son S, Amodei D, *et al*. Characterizing deformability and surface friction of cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, **110**(19): 7580-7585

[28] 李密, 席宁, 王越超, 等. 基于多参数成像 AFM 的细胞及分子力学特性探测研究进展. 生物化学与生物物理进展, 2018, **45**(11): 1106-1114
Li M, Xi N, Wang C Y, *et al*. Prog Biochem Biophys, 2018, **45**(11): 1106-1114

[29] 党丹, 项荣武, 刘斌, 等. 基于 AFM 单细胞力谱技术的淋巴瘤细胞黏附力测量. 生物化学与生物物理进展, 2019, **46**(1):89-98
Dang D, Xiang R W, Liu B, *et al*. Prog Biochem Biophys, 2019, **46**(1):89-98

[30] Radmacher M, Tillmann R W, Fritz M, *et al*. From molecules to cells: imaging soft samples with the atomicforce microscope. Science, 1992, **257**(25): 1900-1905

[31] Chiou Y W, Lin H K, Tang M J, *et al*. The influence of physical and physiological cues onatomic force microscopy-based cell stiffness assessment. PLoS One, 2013, **8**(10): e77384

[32] Harris A R, Charras G T. Experimental validation of atomic force microscopy-based cell elasticity measurements. Nanotechnology, 2011, **22**(34): 345102

[33] Pogoda K, Jaczewska J, Wiltowska-Zuber J, *et al*. Depth-sensing analysis of cytoskeleton organization based on AFM data. Eur Biophys J, 2011, **41**(1): 79-87

[34] Hayashi K, Iwata M. Stiffness of cancer cells measured with an AFM indentation method. J Mech Behav Biomed Mater, 2015, **49**: 105-111

[35] Lee G Y H, Lim C T. Biomechanics approaches to studying human diseases. Trends Biotechnol, 2007, **25**(3): 111-118

[36] Lee L M, Liu A P. A microfluidic pipette array for mechanophenotyping of cancer cells and mechanical gating of mechanosensitive channels. Lab Chip, 2015, **15**(1): 264-273

[37] Myrand-Lapierre M E, Deng X, Ang R R, *et al*. Multiplexed fluidic plunger mechanism for the measurement of red blood cell deformability. Lab Chip, 2015, **15**(1): 159-167

[38] Mohammadalipour A, Burdick M M, Tees D F J. Deformability of breast cancer cells in correlation with surface markers and cell rolling. FASEB J, 2018, **32**(4): 1806-1817

[39] Wu Y, Cheng T, Chen Q, *et al*. On-chip surface acoustic wave and

micropipette aspiration techniques to assess cell elastic properties. Biomicrofluidics, 2020, **14**(1): 014114

[40] Shojaei-Baghini E, Zheng Y, Sun Y. Automated micropipette aspiration of single cells. Ann Biomed Eng, 2013, **41**(6): 1208-1216

[41] Davidson P M, Fedorchak G R, Mondésert-Deveraux S, *et al*. High-throughput microfluidic micropipette aspiration device to probe time-scale dependent nuclear mechanics in intact cells. Lab Chip, 2019, **19**(21): 3652-3663

[42] Darling E M, Di Carlo D. High-throughput assessment of cellular mechanical properties. Ann Rev Biomed Eng, 2015, **17**: 35-62

[43] Ashkin A, Dziedzic J M. Observation of radiation-pressure trapping of particles by alternating light beams. Phys Rev Lett, 1985, **54**(12): 1245-1248

[44] Zhang H, Liu K K. Optical tweezers for single cells. Journal of the Royal Society Interface, 2008, **5**(24): 671-690

[45] Foo J J, Chan V, Liu K K. Shape recovery of an optically trapped vesicle: effect of flow velocity and temperature. IEEE Trans Nanobioscience, 2004, **3**(2): 96-100

[46] Lincoln B, Schinkinger S, Travis K, *et al*. Reconfigurable microfluidic integration of a dual-beam laser trap with biomedical applications. Biomed Microdevices, 2007, **9**(5): 703-710

[47] Nève N, Kohles S S, Winn S R, *et al*. Manipulation of suspended single cells by microfluidics and optical tweezers. Cell Mol Bioeng, 2010, **3**(3): 213-228

[48] Schulze C, Wetzel F, Kueper T, *et al*. Stiffening of human skin fibroblasts with age. Biophys J, 2010, **99**(8): 2434-2442

[49] Guck J, Schinkinger S, Lincoln B, *et al*. Optical deformability as an inherent cell marker for testing malignant transformation and metastatic competence. Biophys J, 2005, **88**(5): 3689-3698

[50] Morawetz E W, Stange R, Kießling T R, *et al*. Optical stretching in continuous flows. Convergent Science Physical Oncology, 2017, **3**(2): 024004

[51] Yao Z, Kwan C C, Poon A W. An optofluidic "tweeze-and-drag" cell stretcher in a microfluidic channel. Lab Chip, 2020, **20**(3): 601-613

[52] Hartono D, Liu Y, Tan P L, *et al*. On-chip measurements of cell compressibility *via* acoustic radiation. Lab Chip, 2011, **11**(23): 4072-4080

[53] Augustssor P, Karlsen J T, Su H W, *et al*. Iso-acoustic focusing of cells for size-insensitive acousto-mechanical phenotyping. Nat Commun, 2016, **7**: 11556

[54] Puig-de-Morales-Marinkovie M, Turber K T, Butler James, *et al*. Viscoelasticity of the human red blood cell. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, **293**(2): C597-C605

[55] Puig F, Gavara N, Sunyer R, *et al*. Stiffening and contraction induced by dexamethasone in alveolar epithelial cells. Experimental Mechanics, 2009, **49**: 47-55

[56] Coughlin M F, Fredberg J J. Changes in cytoskeletal dynamics and nonlinear rheology with metastatic ability in cancer cell lines. Phys Biol, 2013, **10**(6): 065001

[57] Alenghat F J, Fabry B, Tsai K Y, *et al*. Analysis of cell mechanics in single vinculin-deficient cells using a magnetic tweezer. Biochem Biophy Res Commun, 2000, **277**(1): 93-99

[58] Wang X, Ho C, Tsatskis Y, *et al*. Intracellular manipulation and measurement with multipole magnetic tweezers. Sci Robot, 2019, **4**(28): eaav6180

[59] Wirtz D. Particle-tracking microrheology of living cells: principles and applications. Ann Rev Biophys, 2009, **38**: 301-326

[60] Moeendarbary E, Harris A R. Cell mechanics: principles, practices, and prospects. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med, 2014, **6**(5): 371-388

[61] Adamo A, Sharei A, Adamo L, *et al*. Microfluidics-based assessment of cell deformability. Anal Chem, 2012, **84**(15): 6438-6443

[62] Zheng Y, Shojaei-Baghini E, Azad A, *et al*. High-throughput biophysical measurement of human red blood cells. Lab Chip, 2012, **12**(14): 2560-2567

[63] Chen L, Wang K X, Doyle P S. Effect of internal architecture on microgel deformation in microfluidic constrictions. Soft Matter, 2017, **13**(9): 1920-1928

[64] Nyberg K D, Scott M B, Bruce S L, *et al*. The physical origins of transit time measurements for rapid, single cell mechanotyping. Lab Chip, 2016, **16**(17): 3330-3339

[65] Zhou Y, Yang D, Zhou Y, *et al*. Characterizing deformability and electrical impedance of cancer cells in a microfluidic device. Anal Chem, 2018, **90**(1): 912-919

[66] Xing F, Xun S, Zhu Y, *et al*. Microfluidic assemblies designed for assessment of drug effects on deformability of human erythrocytes. Biochem Biophys Res Commun, 2019, **512**(2): 303-309

[67] Cognart H A, Viovy J L, Villard C. Fluid shear stress coupled with narrow constrictions induce cell type-dependent morphological and molecular changes in SK-BR-3 and MDA-MB-231 cells. Sci Rep, 2020, **10**(1): 6386

[68] Horade M, Tsai C H D, Ito H, *et al*. Red blood cell responses during a long-standing load in a microfluidic constriction. Micromachines, 2017, **8**(4): 100

[69] Amirouche A, Esteves J, Lavoignat A, *et al*. Dual shape recovery of red blood cells flowing out of a microfluidic constriction. Biomicrofluidics, 2020, **14**(2): 024116

[70] Nakamura M, Ono D, Sugita S. Mechanophenotyping of B16 melanoma cell variants for the assessment of the efficacy of (-)-epigallocatechin gallate treatment using a tapered microfluidic device. Micromachines, 2019, **10**(3): 207

[71] Khan Z S, Vanapalli S A. Probing the mechanical properties of brain cancer cells using a microfluidic cell squeezer device. Biomicrofluidics, 2013, **7**(1): 11806

[72] Chen Z, Zhu Y, Xu D, *et al*. Cell elasticity measurement using a microfluidic device with real-time pressure feedback. Lab Chip, 2020, **20**(13): 2343-2353

[73] Zheng Y, Wen J, Nguyen J, *et al*. Decreased deformability of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. Sci Rep, 2015, **5**: 7613

[74] Luo Y N, Chen D Y, Zhao Y, *et al*. A constriction channel based microfluidic system enabling continuous characterization of cellular instantaneous Young's modulus. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014, **202**: 1183-1189

[75] Raj A, Dixit M, Doble M, *et al*. A combined experimental and theoretical approach towards mechanophenotyping of biological cells using a constricted microchannel. Lab Chip, 2017, **17**(21): 3704-3716

[76] Hoelzle D J, Varghese B A, Chan C K, *et al*. A microfluidic technique to probe cell deformability. J Vis Exp, 2014, **91**: e51474

[77] Lange J R, Steinwachs J, Kolb T, *et al*. Microconstriction arrays for high-throughput quantitative measurements of cell mechanical properties. Biophys J, 2015, **109**(1): 26-34

[78] Hu S, Lam R H W. Characterization of viscoelastic properties of normal and cancerous human breast cells using a confining microchannel. Microfluid Nanofluid, 2017, **21**(4): 68

[79] Walter N, Micoulet A, Seufferlein T, *et al*. Direct assessment of living cell mechanical responses during deformation inside microchannel restrictions. Biointerphases, 2011, **6**(3): 117-125

[80] Ye T, Shi H, Phan-Thien N, *et al*. Relationship between transit time and mechanical properties of a cell through a stenosed microchannel. Soft Matter, 2018, **14**(4): 533-545

[81] Yang D, Zhou Y, Zhou Y, *et al*. Biophysical phenotyping of single cells using a differential multiconstriction microfluidic device with self-aligned 3D electrodes. Biosens Bioelectron, 2019, **133**: 16-23

[82] Zhou Y, Basu S, Laue E D, *et al*. Dynamic monitoring of single cell lysis in an impedance-based microfluidic device. Biomed Microdevices, 2016, **18**(4): 56

[83] Nyberg K D, Bruce S L, Nguyen A V, *et al*. Predicting cancer cell invasion by single-cell physical phenotyping. Integr Biol (Camb), 2018, **10**(4): 218-231

[84] Apichitsopa N, Jaffe A, Voldman J. Multiparameter cell-tracking intrinsic cytometry for single-cell characterization. Lab Chip, 2018, **18**(10): 1430-1439

[85] Ren X, Ghassemi P, Strobl J S, *et al*. Biophysical phenotyping of cells *via* impedance spectroscopy in parallel cyclic deformability channels. Biomicrofluidics, 2019, **13**(4): 044103

[86] Xavier M, Rosendahl P, Herbig M, *et al*. Mechanical phenotyping of primary human skeletal stem cells in heterogeneous populations by real-time deformability cytometry. Integr Biol (Camb), 2016, **8**(5): 616-623

[87] Ahmmed S M, Bithi S S, Pore A A, *et al*. Multi-sample deformability cytometry of cancer cells. APL Bioeng, 2018, **2**(3): 032002

[88] Liu N, Du P, Xiao X, *et al*. Microfluidic-based mechanical phenotyping of androgen-sensitive and non-sensitive prostate cancer cells lines. Micromachines, 2019, **10**(9): 602

[89] Eluru G, Srinivasan R, Gorthi S S. Deformability measurement of single-cells at high-throughput with imaging flow cytometry. Journal of Lightwave Technology, 2015, **33**(16): 3475-3480

[90] Zeng N F, Mancuso J E, Zivkovic A M, *et al*. Red blood cells from individuals with abdominal obesity or metabolic abnormalities exhibit less deformability upon entering a constriction. PLoS One, 2016, **11**(6): e0156070

[91] Zheng Y, Chen J, Cui T, *et al*. Characterization of red blood cell deformability change during blood storage. Lab Chip, 2014, **14**(3): 577-583

[92] Fregin B, Czerwinski F, Biedenweg D, *et al*. High-throughput single-cell rheology in complex samples by dynamic real-time deformability cytometry. Nat Commun, 2019, **10**(1): 415

[93] Rosendahl P, Plak K, Jacobi A, *et al*. Real-time fluorescence and deformability cytometry. Nat Methods, 2018, **15**(5): 355-358

[94] Nawaz A A, Urbanska M, Herbig M, *et al*. Intelligent image-based deformation-assisted cell sorting with molecular specificity. Nat Methods, 2020, **17**(6): 595-599

[95] Mietke A, Otto O, Girardo S, *et al*. Extracting cell stiffness from real-time deformability cytometry: theory and experiment. Biophys J, 2015, **109**(10): 2023-2036

[96] Mokbel M, Mokbel D, Mietke A, *et al*. Numerical simulation of real-time deformability cytometry to extract cell mechanical properties. ACS Biomater Sci Eng, 2017, **3**(11): 2962-2973

[97] Zheng Y, Cachia M A, Ge J, *et al*. Mechanical differences of sickle cell trait (SCT) and normal red blood cells. Lab Chip, 2015, **15**(15): 3138-3146

[98] Pires R H, Shree N, Manu E, *et al*. Cardiomyocyte mechanodynamics under conditions of actin remodelling. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2019, **374**(1786): 20190081

[99] Saadat A, Huyke D A, Oyarzun D I, *et al*. A system for the high-throughput measurement of the shear modulus distribution of human red blood cells. Lab Chip, 2020, **20**(16): 2927-2936

[100] Dudani J S, Gossett D R, Tse H T K, *et al*. Pinched-flow hydrodynamic stretching of single-cells. Lab Chip, 2013, **13**(18): 3728-3734

[101] Cha S, Shin T, Lee S S, *et al*. Cell stretching measurement utilizing viscoelastic particle focusing. Anal Chem, 2012, **84**(23): 10471-10477

[102] Deng Y, Davis S P, Yang F, *et al*. Inertial microfluidic cell stretcher (iMCS): fully automated, high-throughput, and near real-time cell mechanotyping. Small, 2017, **13**(28): 1700705

[103] Masaeli M, Gupta D, O'Byrne S, *et al*. Multiparameter mechanical and morphometric screening of cells. Sci Rep, 2016, **6**: 37863

[104] Armistead F J, Gala De Pablo J, Gadêlha H, *et al*. Cells under stress: an inertial-shear microfluidic determination of cell behavior. Biophys J, 2019, **116**(6): 1127-1135

[105] Urbanska M, Muñoz H E, Shaw Bagnall J, *et al*. A comparison of microfluidic methods for high-throughput cell deformability measurements. Nat Methods, 2020, **17**(6): 587-593

[106] Sharei A, Zoldan J, Adamo A, *et al*. A vector-free microfluidic platform for intracellular delivery. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, **110**(6): 2082-2087

[107] Liu A, Islam M, Stone N, *et al*. Microfluidic generation of transient cell volume exchange for convectively driven intracellular delivery of large macromolecules. Mater Today (Kidlington), 2018, **21**(7): 703-712

[108] Kang G Y, Carlson D W, Kang T H, *et al*. Intracellular nanomaterial delivery *via* spiral hydroporation. ACS Nano, 2020, **14**(3): 3048-3058

[109] Kizer M E, Deng Y, Kang G Y, *et al*. Hydroporator: a hydrodynamic cell membrane perforator for high-throughput vector-free nanomaterial intracellular delivery and DNA origami biostability evaluationt. Lab Chip, 2019, **19**(10): 1747-1754

[110] Hur J, Park I, Lim K M, *et al*. Microfluidic cell stretching for highly effective gene delivery into hard-to-transfect primary cells. ACS Nano, 2020, **14**(11): 15094-15106

Advances in Methods and Applications for The Detection of Single Cell Mechanical Properties*

ZHANG Xiao-Zhe, XIANG Nan**, NI Zhong-Hua

(*Jiangsu Key Laboratory of Micro/Nano Biomedical Device Design and Manufacture, School of Mechanical Engineering, Southeast University, Nanjing* 211189, China)

Abstract　The cell mechanical properties are closely related to the physiological states and functions of cells. Early studies on the cell mechanical properties could only provide the elasticity or shear modulus of the whole cell population, which results in the loss of the mechanical phenotypes of the heterogeneous cells. In recent years, new methods for the detection of single-cell mechanical properties have been widely reported. The conventional technologies of atomic force microscopy, micropipette aspiration technology, optical tweezers and stretching, magnetic twisting cytometry and magnetic tweezers exhibit a very high detection accuracy, but have a relatively low detection throughput. The new emergence of microfluidic high-throughput detection methods could provide the possible solution for increasing the throughput. This article firstly reviews typical single-cell mechanical property detection techniques such as atomic force microscopy, micropipettes, optical tweezers and optical stretching, magnetic twisting cytometry and magnetic tweezers. Next, the working principles and the recent progresses of the newly emerging microfluidic high-throughput detection technologies, including micro-constrictions, shear-induced and stretch-induced cell deformation, are introduced. Then, the advantages and disadvantages of each method are discussed. Finally, the prospects for future development in the detection of single cell mechanical properties are also discussed.

Key words　single-cell detection, mechanical property, high-throughput, microfluidics

DOI：10.16476/j.pibb.2021.0115

---

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81727801, 51875103, 51775111), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20190064), the Six Talent Peaks Project of Jiangsu Province (SWYY-005) and the Zhishan Youth Scholar Program of SEU.

** Corresponding author.

Tel：86-25-52090501，E-mail：nan.xiang@seu.edu.cn

Received：April 28，2021　Accepted：June 9，2021