



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107475072 B

(45) 授权公告日 2020.12.11

(21) 申请号 201710733087.7

G01N 15/10 (2006.01)

(22) 申请日 2017.08.24

审查员 邓生达

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107475072 A

(43) 申请公布日 2017.12.15

(73) 专利权人 浙江理工大学

地址 310018 浙江省杭州市江干经济开发区2号大街928号

(72) 发明人 陈本永 刘爱萍 王夏华 吴化平

邢赞 许为中 周奇

(74) 专利代理机构 杭州求是专利事务有限公司

33200

代理人 黄欢娣 邱启旺

(51) Int. Cl.

C12M 1/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图16页

(54) 发明名称

基于三维石墨烯界面电极的细胞动态特性监测系统及方法

(57) 摘要

本发明提供了一种基于三维石墨烯界面电极的细胞动态特性监测系统及方法,具体涉及微流控芯片、PCB板、阻抗仪、注射系统、电流放大器、带有CCD的倒置显微镜等部分。通过对单个细胞/两个细胞在整个生命周期(捕获、黏附、迁移、增殖分化)内细胞阻抗变化的实时采集和细胞表面形貌的实时监测,探究单个癌细胞以及两个癌细胞之间的相互作用在癌变不同阶段的细胞内部状态和表面形貌对应的生理特征,为探究细胞生物学提供了新思路和新研究技术。与传统的金电极相比,本发明系统所采用的石墨烯电极的单个细胞传感性能平均提高100%,双细胞传感性能平均提高50%。

1. 一种基于三维石墨烯界面电极的细胞动态特性监测系统,其特征在于,该系统包括:微流控芯片、PCB板、阻抗仪、注入系统、带有CCD的倒置显微镜;

所述微流控芯片包括由两个储液槽(22)和位于两个储液槽(22)之间的测试流道(21)构成H形PDMS流道,以及布置在测试流道中的子芯片;

两个储液槽(22)和测试流道(21)分别具有盖板,储液槽的槽壁或密封该储液槽的盖板具有开孔,其中一开孔与所述注入系统相连;

所述子芯片包括设置在其对称轴上的中心参考电极(20),以及对称布置于中心参考电极(20)两侧的一个或多个相互独立的细胞电极(10);两侧细胞电极的捕获方向相反,且垂直于中心参考电极(20),一侧构成工作电极,另一侧构成对电极;工作电极、对电极、中心参考电极分别与阻抗仪相连,阻抗仪向中心参考电极输出电信号,以施加电场;同时获取工作电极和对电极采集的细胞信号;所述细胞电极(10)包括电极底座(11)和位于电极底座(11)上的捕获槽(12),所述捕获槽(12)由多个微电极组成,相邻的微电极之间具有 $5\mu\text{m}$ 的缝隙(13);多个微电极有序排列构成一个垂直于电极底座(11)的弧形捕获面,其弧线为沿短轴分割的半椭圆;且所述电极底座(11)包括金层和位于金层上表面的石墨烯层(14),捕获结构的弧形捕获面覆盖有石墨烯层(14),石墨烯层(14)与金层导通;所述石墨烯层(14)具有和细胞表面的丝状伪足相匹配的微纳褶皱和纹理结构;电极底座(11)中的金层通过引线与布置在芯片边缘的接线端子相连,以连接阻抗仪,倒置显微镜的镜头对准子芯片。

2. 根据权利要求1所述的系统,其特征在于,所述细胞电极(10)为单细胞电极或双细胞电极,对于单细胞电极,其弧形捕获面对应的半椭圆的短轴长度为 $16\text{--}20\mu\text{m}$ ,长轴长度为 $32\text{--}36\mu\text{m}$ ;对于双细胞电极,其弧形捕获面对应的半椭圆的短轴长度为 $27\text{--}33\mu\text{m}$ ,长轴长度为 $40\text{--}45\mu\text{m}$ 。

3. 根据权利要求1所述的系统,其特征在于,所述捕获槽(12)的高度为 $30\mu\text{m}$ 。

4. 根据权利要求1所述的系统,其特征在于,测试流道处的盖板是可以打开的,使得光学显微镜的物镜镜头可以直接深入流道的内部,物体表面和物镜镜头的距离小于 $1\text{mm}$ ,以清楚地观察细胞的运动。

5. 根据权利要求1所述的系统,其特征在于,还包括电流放大器,与所阻抗仪配套使用,电流放大器的放大倍数为 $10\text{k}$ 。

6. 根据权利要求1所述的系统,其特征在于,还包括流速控制系统,用于控制注入系统的流速。

7. 根据权利要求1所述的系统,其特征在于,还包括与微流控芯片相匹配的PCB板,用于固定微流控芯片,并且增加信号的稳定性。

8. 一种权利要求1所述系统的癌细胞动态特性实时监测方法,其特征在于,该方法包括:

(1) 通过注入系统向其中一储液槽注入细胞液,细胞液流经测试流道,部分被捕获槽(12)捕获,其余部分流向另一储液槽,通过开孔排出;

(2) 阻抗仪产生一个幅值为 $0.5\text{V}$ ,频率为 $5\text{k}$ 和 $10\text{kHz}$ 的交流信号,采样率为 $220$ 个/秒,用于时域测试;或产生一个幅值为 $500\text{mVP}$ ,频率从 $100$ 到 $10^6\text{Hz}$ 的正弦信号,用于频域测试;

(3) 捕获细胞的一侧为工作电极,另一侧为对电极;阻抗仪的两个通道分别获得实时的工作电极和对电极的阻抗信号,将工作电极的阻抗值减去对电极的阻抗值,即获得单细

胞/多细胞生理活动的电阻抗信号；

(4) 采集电阻抗信号的同时，倒置显微镜的物镜深入微流控流道内部，CCD实时记录细胞表面形貌的变化。

## 基于三维石墨烯界面电极的细胞动态特性监测系统及方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于微流控细胞研究领域,具体涉及一种基于三维石墨烯界面电极的细胞动态特性监测系统及方法。

### 背景技术

[0002] 细胞是生物体基本的结构和功能单位,细胞是最基本的生命系统。传统的细胞研究通常以大量细胞样本为对象,期望获得同类细胞的普遍性质。然而,同一类型的细胞之间也或多或少存在差异,由于细胞与细胞之间具有相互作用。这种分析实际上仅能提供细胞整体样本的平均响应,而忽略了单个细胞的详细信息。因此,设计一种微流控芯片,应用于对单个细胞传感性能的研究是至关重要的。

[0003] 微流控芯片技术是把生物、化学、医学分析过程的样品制备、反应、分离、检测等基本操作单元集成到一块微米尺度的芯片上。由于它在生物、化学、医学等领域的巨大潜力,已经发展成为一个生物、化学、医学、流体、电子、材料、机械学科交叉的崭新研究领域。近些年发展起来的微流控技术为细胞操控及分析提供了新的发展思路。基于微尺度下不同的物理化学原理,科学家已发展出具有各种功能和不同应用的微流控细胞芯片。目前,用于芯片上细胞分离和捕获的手段涉及光、电、声、磁、流体力学、机械加工以及化学方法等众多领域,主要分为接触式和非接触式两种。例如,光学手段是激光光镊技术与芯片技术的结合,它可实现单细胞捕获和操控,但其涉及仪器复杂,操控单一,捕获效率低。电学方法是与微流控芯片最成功的结合手段,有多种作用方式,如电渗、电泳、介电泳等方式。

[0004] 微流控芯片在研究细胞生物特性领域有独特的优势,尤其是研究单个细胞的生物学问题,可以避免细胞与细胞之间的相互作用,排除其他因素对细胞的影响。在制造微流控芯片的整个过程中,芯片的微结构设计至关重要。不同形状的捕获结构,使得检测信号的大小有天壤之别。目前大多数微流控芯片的传感电极都是经典的是平面二维金电极结构,此电极与细胞的接触面积小,获取的细胞信号微弱,而且不能反应细胞在竖直方向上的微运动和迁移,因此不利于研究细胞生物学特性,尤其是单细胞。我们根据石墨烯薄膜天然的电导性和表面粗糙纹理特性等优势提出一种集成三维石墨烯界面的微流控芯片,本微流控芯片可用于高效率的单细胞捕获和超灵敏的单细胞电信号的检测,对癌细胞的研究和诊断有一定的指导意义。尤其在医学上,对于癌细胞的检测和诊断越来越精准和深入。不但要求区分不同的癌细胞,更加要求区别同一细胞的不同癌变阶段,甚至是同一癌变阶段细胞的各种不同的生理行为,来对癌症的病理和诊断治疗有指导作用。而且对于单细胞检测来说,此微流控芯片摒弃了传统的芯片需要复杂的化学修饰和化学标记等过程对细胞的活性有很大的影响,而且操作复杂,条件苛刻。

[0005] 将微流控芯片与PCB板、阻抗仪、注射系统、电流放大器、带有CCD的倒置显微镜等部分相结合构成一套系统,实现对单个或者两个癌细胞电阻抗信号和细胞膜表面形貌的实时定量采集和记录,研究癌细胞的病理和细胞学。

## 发明内容

[0006] 本发明的目的在于针对现有技术的不足,提供一种基于三维石墨烯界面电极的细胞动态特性监测系统及方法,用于癌细胞的捕获及传感和形貌实时监测。

[0007] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:一种基于三维石墨烯界面电极的细胞动态特性监测系统,该系统包括:微流控芯片、阻抗仪、注入系统、带有CCD的倒置显微镜。所述微流控芯片包括由两个储液槽和位于两个储液槽之间的测试流道构成H形PDMS流道,以及布置在测试流道中的子芯片;

[0008] 两个储液槽和测试流道分别具有盖板,储液槽的槽壁或密封该储液槽的盖板具有开孔,其中一开孔与所述注入系统相连;

[0009] 所述子芯片包括设置在其对称轴上的中心参考电极,以及对称布置于中心参考电极两侧的一个或多个相互独立的细胞电极;两侧细胞电极的捕获方向相反,且垂直于中心参考电极,一侧构成工作电极,另一侧构成对电极;工作电极、对电极、中心参考电极分别与阻抗仪相连,阻抗仪向中心参考电极输出电信号,以施加电场;同时获取工作电极和对电极采集的细胞信号。所述细胞电极包括电极底座和位于电极底座上的捕获槽,所述捕获槽由多个微电极组成,相邻的微电极之间具有 $5\mu\text{m}$ 的缝隙;多个微电极有序排列构成一个垂直于电极底座的弧形捕获面,其弧线为沿短轴分割的半椭圆;且所述电极底座包括金层和位于金层上表面的石墨烯层,所述捕获结构的弧形捕获面覆盖有石墨烯层,石墨烯层与金层导通;所述石墨烯层具有和细胞表面的丝状伪足相匹配的微纳褶皱和纹理结构。电极底座中的金层通过引线与所述布置在芯片边缘的接线端子相连,以连接阻抗仪,倒置显微镜的镜头对准子芯片。

[0010] 进一步地,所述细胞电极为单细胞电极或双细胞电极,对于单细胞电极,其弧形捕获面对应的半椭圆的短轴长度为 $16\text{--}20\mu\text{m}$ ,长轴长度为 $32\text{--}36\mu\text{m}$ ;对于双细胞电极,其弧形捕获面对应的半椭圆的短轴长度为 $27\text{--}33\mu\text{m}$ ,长轴长度为 $40\text{--}45\mu\text{m}$ 。

[0011] 进一步地,所述捕获槽的高度为 $30\mu\text{m}$ 。

[0012] 进一步地,测试流道处的PDMS盖板是可以打开的,使得光学显微镜的物镜镜头可以直接深入流道的内部,物体表面和物镜镜头的距离小于 $1\text{mm}$ ,以清楚地观察细胞的运动。

[0013] 进一步地,还包括电流放大器,与所阻抗仪配套使用,电流放大器的放大倍数为 $10\text{k}$ 。

[0014] 进一步地,还包括流速控制系统,用于控制注入系统的流速。

[0015] 进一步地,还包括与微流控芯片想匹配的PCB板,用于固定微流控芯片,并且增加信号的稳定性。

[0016] 一种癌细胞动态特性实时定量监测方法,该方法包括:

[0017] (1) 通过注入泵向其中一储液槽注入细胞液,细胞液流经测试流道,部分被捕获槽(12)捕获,其余部分流向另一储液槽,通过开孔排出。

[0018] (2) 阻抗仪产生一个幅值为 $0.5\text{V}$ ,频率为 $5\text{k}$ 和 $10\text{kHz}$ 的交流信号,采样率为 $220$ 个/秒,用于时域测试;或产生一个幅值为 $500\text{mVP}$ ,频率从 $100$ 到 $10^6\text{Hz}$ 的正弦信号,用于频域测试。

[0019] (3) 捕获细胞的一侧为工作电极,另一侧为对电极。阻抗仪的两个通道分别获得实时的工作电极和对电极的阻抗信号,将工作电极的阻抗值减去对电极的阻抗值,即获得单

细胞/多细胞生理活动的电阻抗信号。

[0020] (4) 采集电阻抗信号的同时,倒置显微物镜深入微流控流道内部,CCD实时记录细胞表面形貌的变化。

[0021] 本发明具有以下优点:微流控芯片中三维还原氧化石墨烯微柱电极具有一个和细胞大小、形状一致的弧面凹槽,显著的增大了细胞和电极的接触面积,与传统的平面金电极相比,将细胞和电极的接触从二维平面延伸到三维空间,使得采集到的电信号不但能够反应细胞水平方面的运动而且可以反应细胞垂直方向上的迁移。而且石墨烯薄膜界面的纳米结构和纹理和细胞表面的丝状伪足微结构十分的一致,增大了细胞和电极之间的相互作用,从而使得传感性能和灵敏度有个很大程度的提高,与传感的金电极相比传感性能平均提高了一倍;H形PDMS流道的设计可以防止细胞缓冲液注入时造成通道阻塞。打开H形通道的水平排上方的盖子,光学显微镜的目标可以直接进入内部的流动通道,因此可以非常清楚地观察细胞的运动。而且本发明的微流控芯片可以多次循环使用,提高了芯片的利用率和成本,具有良好的应用前景。将微流控芯片与阻抗仪、显微镜等部分结合在一起构成一套测试系统,可以实时定量研究单个癌细胞的内部电阻抗和外部形貌的实时变化,为癌细胞研究提供新思路。

#### 附图说明

[0022] 图1为本系统的所有装置搭建图;

[0023] 图2为测试装置的电路模型;

[0024] 图3为整体的实物系统测试图;

[0025] 图4为整个微流控芯片的结构示意图;

[0026] 图5为微流控芯片的平面结构部位图;

[0027] 图6为放大的芯片捕获区域的效果图;

[0028] 图7为单细胞阻抗电极的结构示意图;

[0029] 图8为具有三维石墨烯仿生界面的单细胞阻抗电极捕获细胞的效果图,具有微纳褶皱和纹理的石墨烯界面清晰可见;

[0030] 图9为所设计的微流控芯片的实物图和修饰石墨烯后微柱电极的显微图片;

[0031] 图10为石墨烯微柱电极和整个微流控芯片的性能表征;

[0032] 图11为单细胞和双细胞捕获在金界面和石墨烯界面凹槽上的显微照片;

[0033] 图12为单个转移性强的乳腺癌细胞(MDA-MB-231)在2D金界面和3D石墨烯界面上不同接种阶段的伯德阻抗谱和相位谱;

[0034] 图13为五次重复实验阻抗幅值做统计分析得到结果(图示是五次重复实验的均值±方差);

[0035] 图14是实时的CCD采集和电信号提取在微流控上的单个癌细胞,包括单细胞的各个生理阶段(捕获、贴附、迁移、增殖),每种电信号的变化都和表面形貌的变化相对应;

[0036] 图15为用有限元计算得到的捕获微柱内部和周围流速分布模拟图;

[0037] 图16为用有限元计算得到的捕获细胞后电场分布模拟图。

[0038] 图中,细胞电极10、电极底座11、捕获槽12、缝隙13、石墨烯层14、中心参考电极20、测试流道21、储液槽22、开孔23。

## 具体实施方式

[0039] 下面结合附图对本发明做进一步详细说明。

[0040] 如图1为所示为本系统的所有装置搭建图,包括固定在PCB板上的微流控芯片,注射泵,阻抗仪和电流放大器,以及带有CCD的显微镜,每部分都通过电脑控制。

[0041] 该微流控芯片由两个储液槽22和位于两个储液槽22之间的测试流道21构成H形PDMS流道,可以打开的PDMS盖板(图4阴影部分)以及布置在测试流道中的子芯片,如图4所示;H形PDMS流道的设计可以防止细胞注入时造成芯片的阻塞;平面结构部位如图5所示,储液槽22的槽壁或密封该储液槽的盖板具有开孔23,其中一开孔与所述注入系统相连,用于注入细胞液,另一储液槽的开孔23用于排出细胞液。

[0042] 所述子芯片包括中心参考电极20,以及对称布置于中心参考电极20两侧的一个或多个相互独立的细胞电极10,实体结构如图6所示。两侧细胞电极的捕获方向相反,且垂直于中心参考电极20,一侧构成工作电极,另一侧构成对电极;工作电极、对电极、中心参考电极分别与阻抗仪相连,阻抗仪向中心参考电极输出电信号,以施加电场;同时获取工作电极和对电极采集的细胞信号。通过两侧细胞电极的反向设置,对两侧电极获得的电信号做差分,即得到细胞生理行为引起的阻抗信号。

[0043] 子芯片采用如图7所示的细胞电极10,包括电极底座11和位于电极底座11上的捕获槽12,所述捕获槽12由多个微电极组成,相邻的微电极之间具有 $5\mu\text{m}$ 的缝隙13;多个微电极有序排列构成一个垂直于电极底座11的弧形捕获面,其弧线为沿短轴分割的半椭圆。其中,捕获槽12具有一个切合细胞大小、形状的弧面凹槽,最大限度的增加了细胞膜和电极材料作用的接触点和接触力。与传统的平面金电极相比,将细胞和电极的接触从二维平面延伸到三维空间,使得采集到的电信号不但能够反应细胞水平方面的运动而且可以反应细胞垂直方向上的迁移。而狭缝13的设计,允许细胞缓冲液流动,但不排出细胞,以确保微柱的弧形捕获区域不会积累太多的细胞缓冲液而影响细胞捕获效率。

[0044] 所述细胞电极10可以为单细胞电极或双细胞电极,对于单细胞电极,其弧形捕获面对应的半椭圆的短轴长度为 $16\text{--}20\mu\text{m}$ ,长轴长度为 $32\text{--}36\mu\text{m}$ ;对于双细胞电极,其弧形捕获面对应的半椭圆的短轴长度为 $27\text{--}33\mu\text{m}$ ,长轴长度为 $40\text{--}45\mu\text{m}$ 。

[0045] 如图8所示,上述电极底座11包括金层和位于金层上表面的石墨烯层14,构成三维石墨烯仿生界面。石墨烯层14具有和细胞表面的丝状伪足相匹配的微纳褶皱和纹理结构,可以大大增强细胞和电极材料之间的地形相互作用和纹理作用,显著的提高细胞传感性能。

[0046] 图9为所设计的微流控芯片的实物图。(a)是芯片的实物图;(b)捕获位置的显微照片;(c)形状测量显微镜得到捕获微柱的高度大约 $30\mu\text{m}$ ,略大于单细胞的高度;(d)为修饰石墨烯后微柱电极的显微图片;(e)为微柱狭缝的放大显微照片;(f)为微柱内壁的大倍率扫描电镜照片,可以看到有明显的表面纹理;(g)是原子力显微镜得到的微柱内壁的粗糙形貌;(h)为飞秒激光刻蚀后得到单细胞捕获单元;(i)为切割后的单个捕获单元。

[0047] 图10是微槽的性能表征,包括拉曼、四探针电阻、伏安特性曲线。(a)和(b)分别是平面和微柱位置的拉曼测试,表明氧化石墨烯已经连续的修饰在平面和微柱上,并被还原;(c)是用四探针法测得氧化石墨烯和不同厚度的还原氧化石墨烯薄膜的电导性,其中 $2\mu\text{m}$ 厚的还原氧化石墨烯的电阻达到千欧,基本可以传感单个细胞的信号;(d)是氧化石墨烯和石

墨烯薄膜的循环伏安曲线测试,氧化石墨烯基本没有电化学活性,而石墨烯膜有明显的氧化还原峰,证明制备得到的石墨烯微柱具有很好的电化学活性。

[0048] 图11为单细胞和双细胞捕获在金界面和石墨烯界面凹槽上的显微照片。(a) 是金界面捕获单细胞;(b) 是金界面捕获双细胞;(c、d) 分别是石墨烯界面捕获多个单细胞和双细胞;细胞捕获在石墨烯界面上后,单细胞会被石墨烯微柱的凹槽紧紧的包裹(e) 并且和微柱内壁有明显的挤压接触并产生一定数量的细胞丝状伪足(g);双细胞会被石墨烯微柱的凹槽紧紧的包裹(f) 并且和微柱内壁有明显的挤压接触并产生一定数量的细胞丝状伪足(h)。

[0049] 图12为单个转移性强的乳腺癌细胞(MDA-MB-231)在2D金界面和本发明的3D石墨烯界面上不同接种阶段,包括:空载、捕获、贴附(培养2h)、迁移(培养5h)和增殖(培养9h)等的伯德阻抗谱和相位谱。(a、b) 分别是癌变中期乳腺癌细胞接种在金界面上各个生理行为的伯德阻抗谱和相位谱,(c、d) 是相应石墨烯界面的情况,由图可知,石墨烯界面的阻抗值和相位值都比金界面的高,更重要的是石墨烯界面上各条曲线间距更大,证明细胞每种生理行为在石墨烯界面上反应的更为强烈。

[0050] 图13是将单个转移性强的乳腺癌细胞(MDA-MB-231)接种在2D金界面和本发明的3D石墨烯界面上不同接种阶段,包括:空载、捕获、贴附(培养2h)、迁移(培养5h)和增殖(培养9h)等的五次重复实验阻抗幅值做统计分析得到结果(图示是五次重复实验的均值±方差)。由图可知,石墨烯界面的传感效果是经典金界面的2倍。

[0051] 图14是实时的CCD采集和电信号提取在微流控上的单个癌细胞,包括单细胞的各个生理阶段(捕获、贴附、迁移、增殖),每种电信号的变化都和表面形貌的变化相对应。具体来说,空载情况下,电信号是处于最小值;当单个细胞捕获在微槽内部时,细胞破坏了电极之间的电场,导致电阻抗信号增强;单细胞进一步培养2个小时后,细胞贴附在电极表面,进一步的破坏了电极之间的电场,导致进一步的电阻抗信号增强;单细胞培养5个小时后,细胞发生进一步的迁移,包括向水平和垂直方向等三维空间迁移,微槽被进一步的占据,导致进一步的电阻抗信号增强,并且由于细胞的迁移能力是有限的,这时候电信号增加率降低;最后单细胞培养9个小时后,细胞发生增殖,一个细胞变成了两个细胞,微槽被最大程度的占据,导致最大电阻抗信号。

[0052] 通过有限元计算(COMSOL软件)的方法模拟上述三维阻抗电极的流速分布和捕获细胞前后的电场分布,流速分布模拟结果如图15所示,从速度分布的模拟结果可以看出,弧形凹槽的捕获区的流速远小于侧间隙。由于每个弧形凹槽的内部空间仅能容纳一个细胞或者两个细胞,并且捕获区和外部狭缝之间的速度差,所以设计的捕获结构捕获细胞概率可以证明为100%。电场分布计算时电极、细胞以及溶液的介电常数和电导率如表1所示,电场分布的计算结果在图16中,最中间没有捕获细胞的凹槽电场基本为0,两侧捕获细胞的凹槽电场有明显的增强,说明制作的电极可以很有效传感单细胞的信号,并且增加的电场转化为电极增加的电阻抗,这与实验现象保持一致。

[0053] 表1

Parameters	Values
cell diameter	20 $\mu$ m
cell relative permittivity	200

cell conductivity	0.84S/m
medium relative permittivity	80
medium conductivity	0.01S/m
graphene relative permittivity	4.5
graphene conductivity	6.5S/m

[0055] 上述系统通过搭建如图2所示的电路模型进行监测,整个模型包括细胞与电极的相互作用 $R_{seal}$ ,电解液电阻 $R_{solution}$ ,和细胞阻抗 $Z_{cell}$ 。电信号的记录采用一种差分的形式,即当在时域下测试时,阻抗仪的input1产生一个幅值为 0.5V,频率为5k和10kHz的交流信号,采样率为220个/秒;在频域下测试时,阻抗仪的input1产生一个幅值为500mVP,频率从100到 $10^6$ Hz的正弦信号。施加到中心参考电极上,捕获细胞的工作电极收集到的电信号通过电流放大器的output2进入阻抗仪output2,没有捕获细胞的对电极收集到的电信号通过电流放大器的output1进入阻抗仪output1,仪器将output1和output2的电信号做差分,得到的就是细胞生理行为引起的阻抗信号。这样就很好的去除掉细胞液对细胞阻抗的干扰。整体的系统测试图如图3所示,步骤如下:

[0056] (1) 通过注入泵向其中一储液槽22注入细胞液,细胞液流经测试流道21,部分被捕获槽12捕获,其余部分流向另一储液槽22,通过开孔排出。

[0057] (2) 阻抗仪产生一个幅值为0.5V,频率为5k和10kHz的交流信号,采样率为220个/秒,用于时域测试;或产生一个幅值为500mVP,频率从100到 $10^6$ Hz 的正弦信号,用于频域测试。

[0058] (3) 捕获细胞的一侧为工作电极,另一侧为对电极。阻抗仪的两个通道分别获得实时的工作电极和对电极的阻抗信号,将工作电极的阻抗值减去对电极的阻抗值,即获得单细胞/多细胞生理活动的电阻抗信号。

[0059] (4) 采集电阻抗信号的同时,倒置显微物镜深入微流控流道内部,CCD实时记录细胞表面形貌的变化。

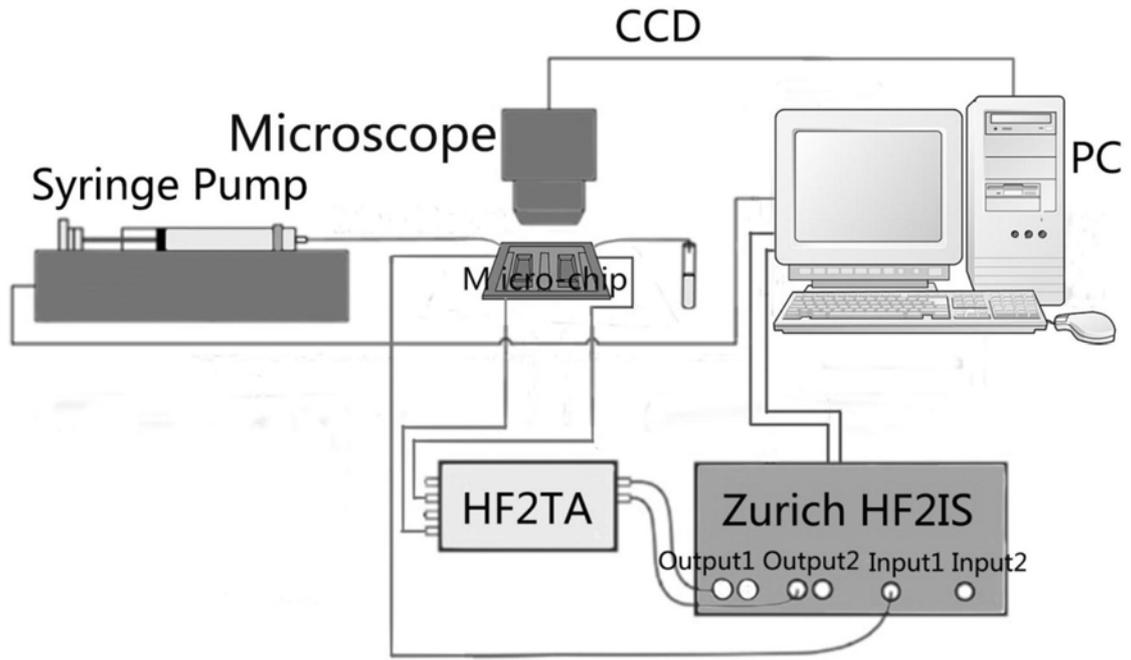


图1

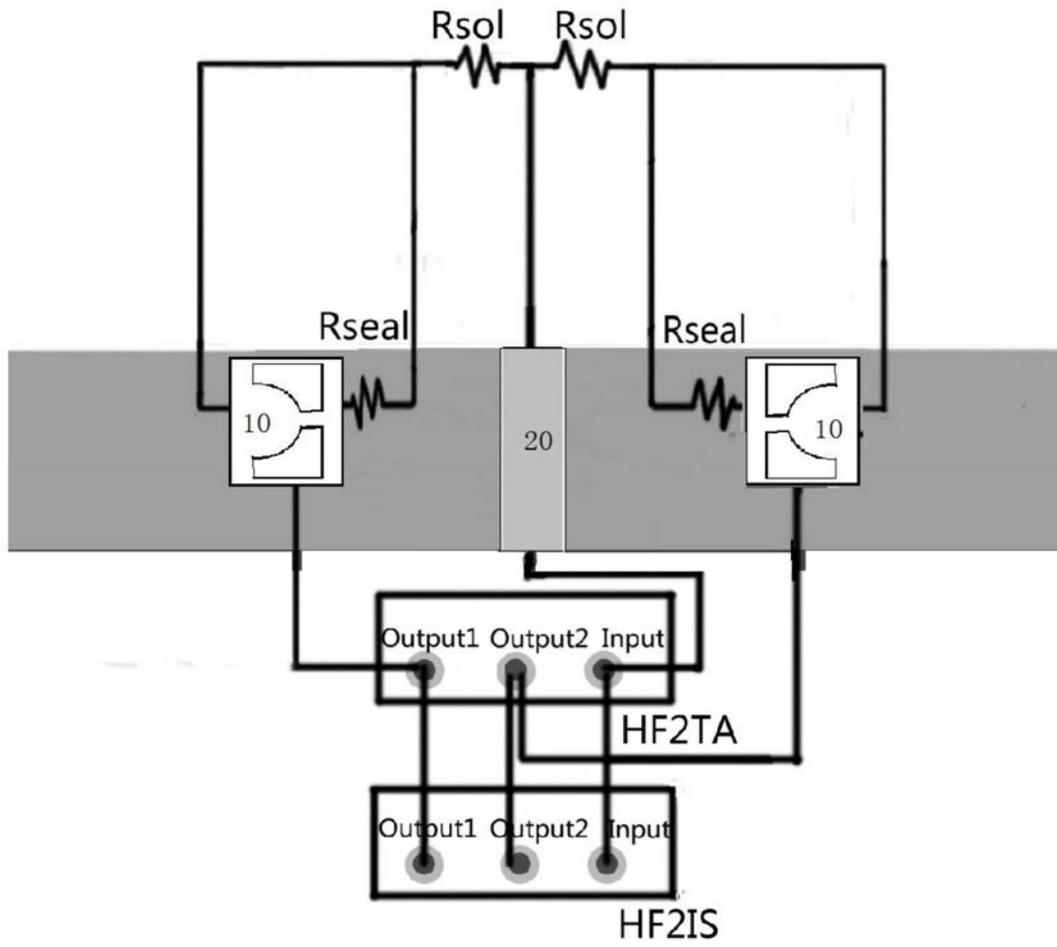


图2

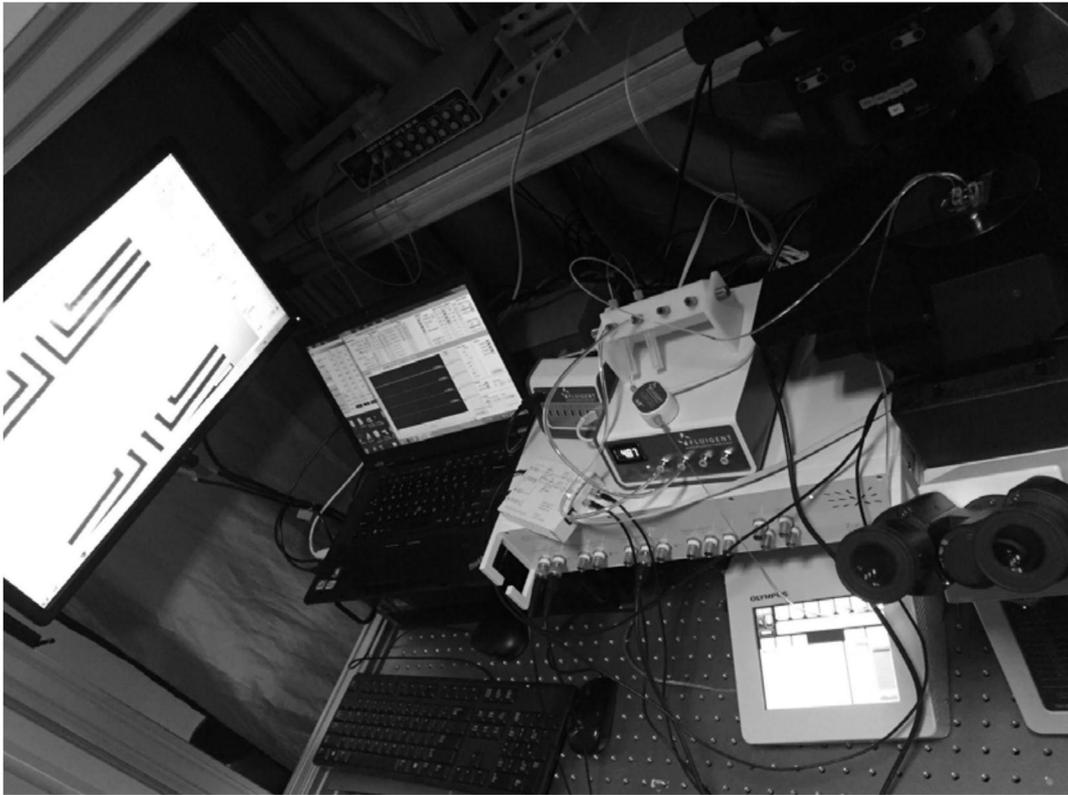


图3

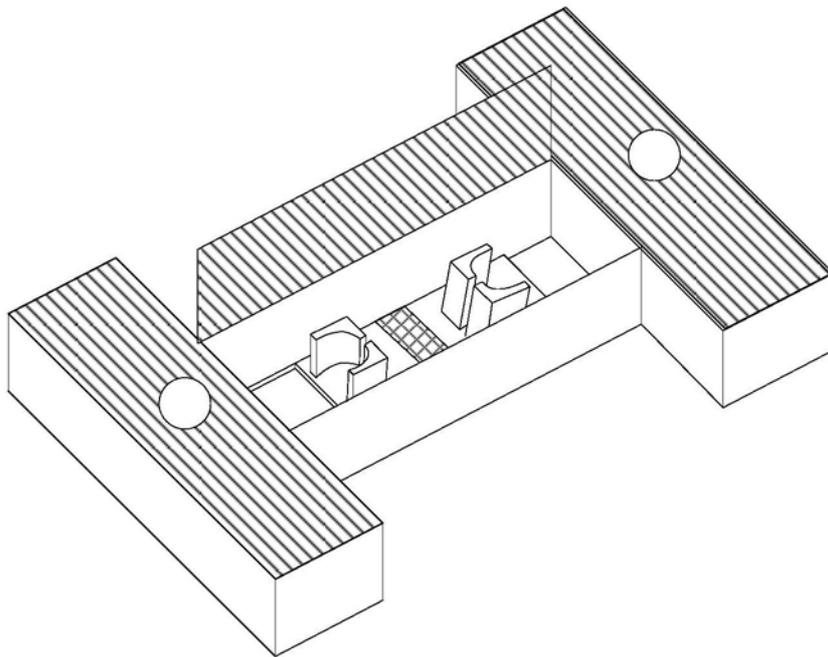


图4

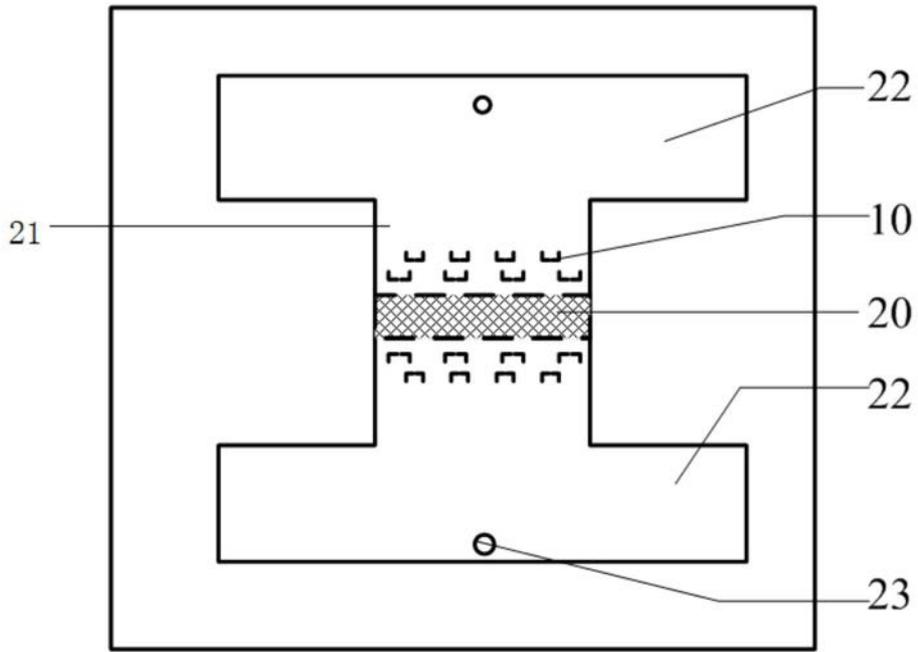


图5

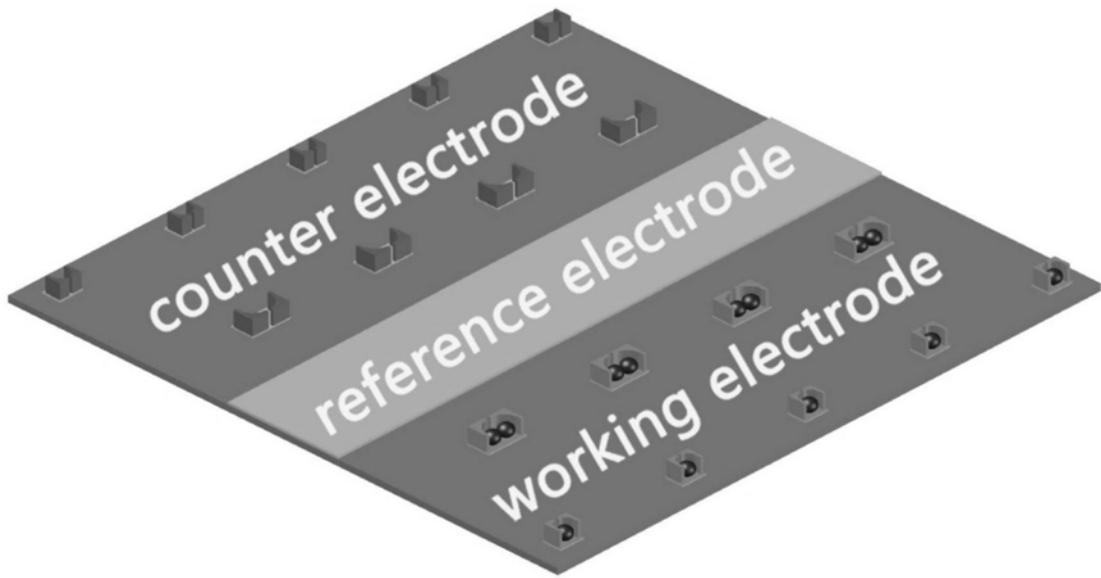


图6

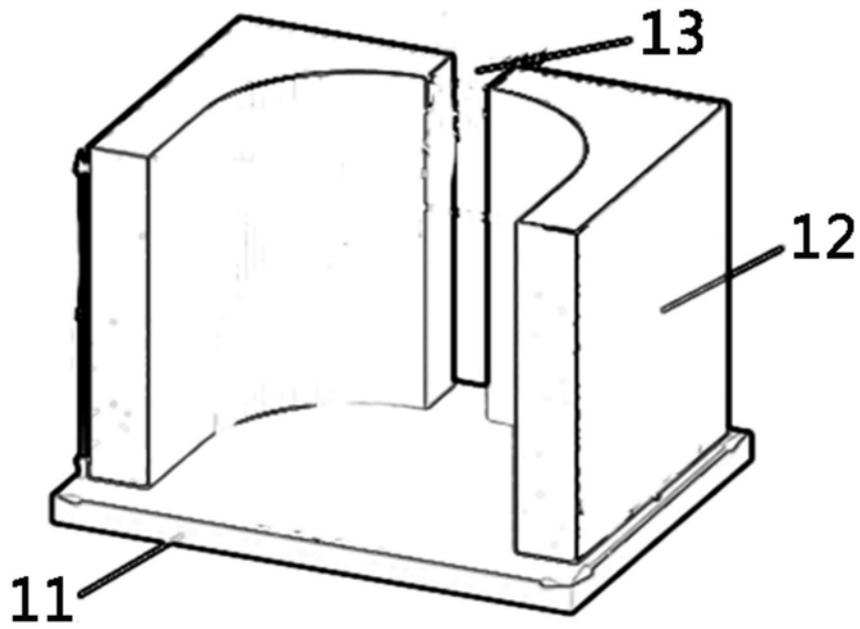


图7

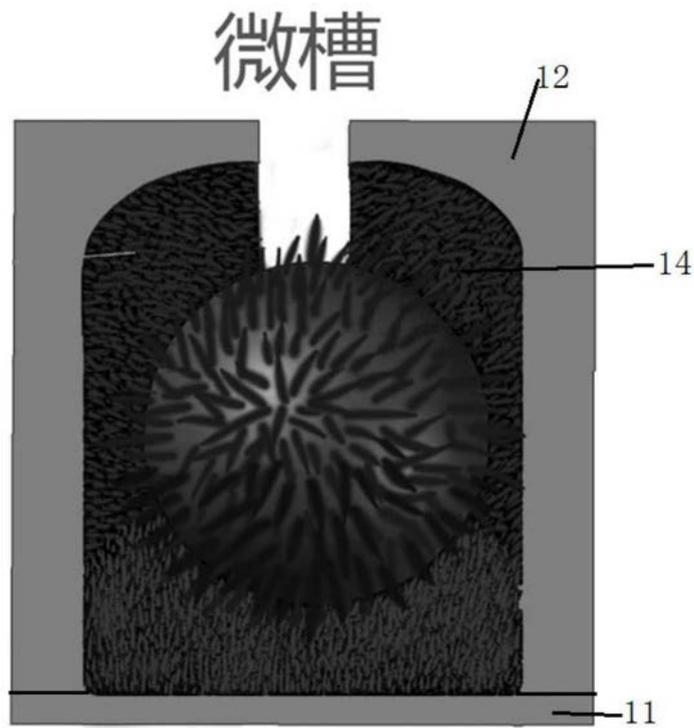


图8

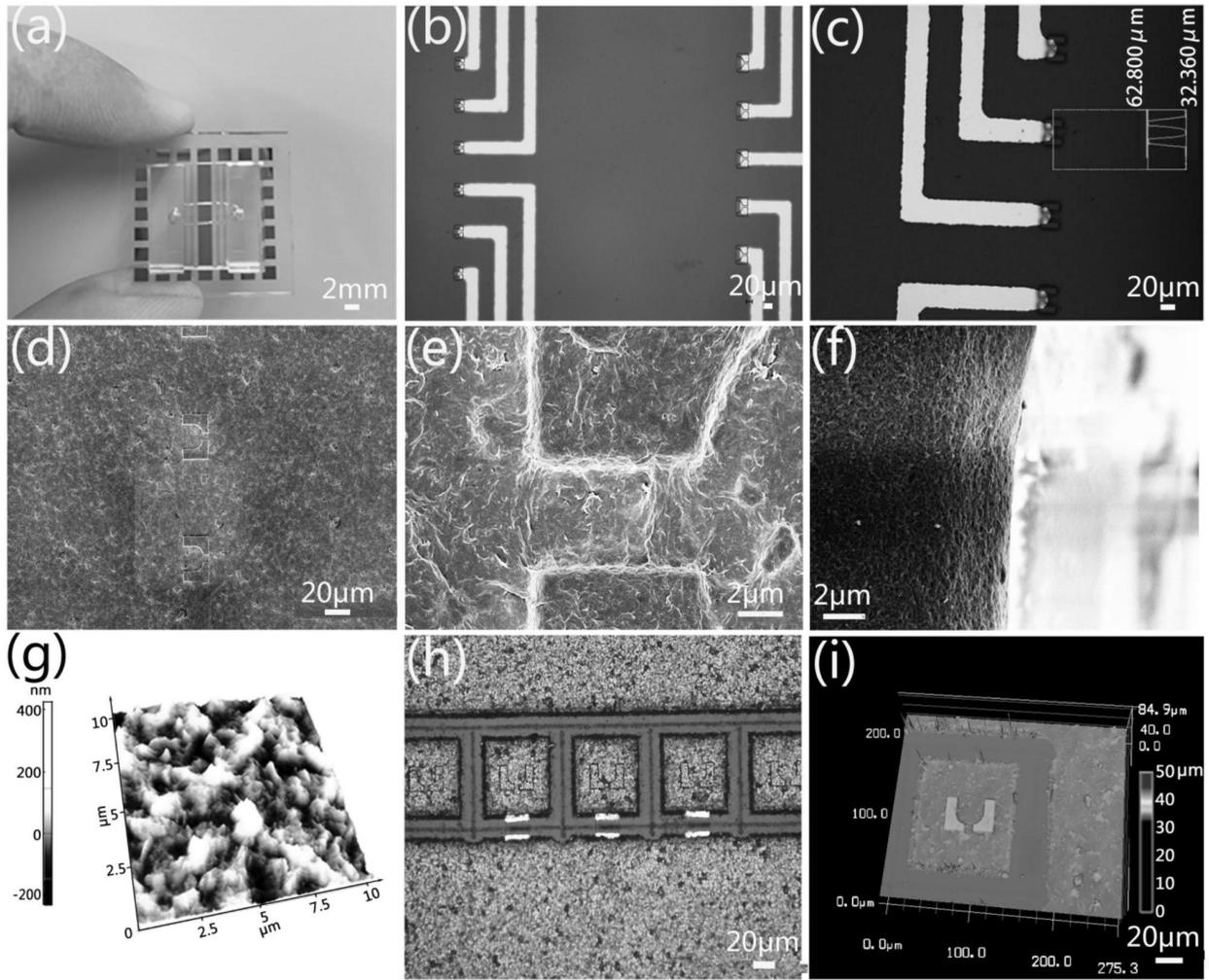


图9

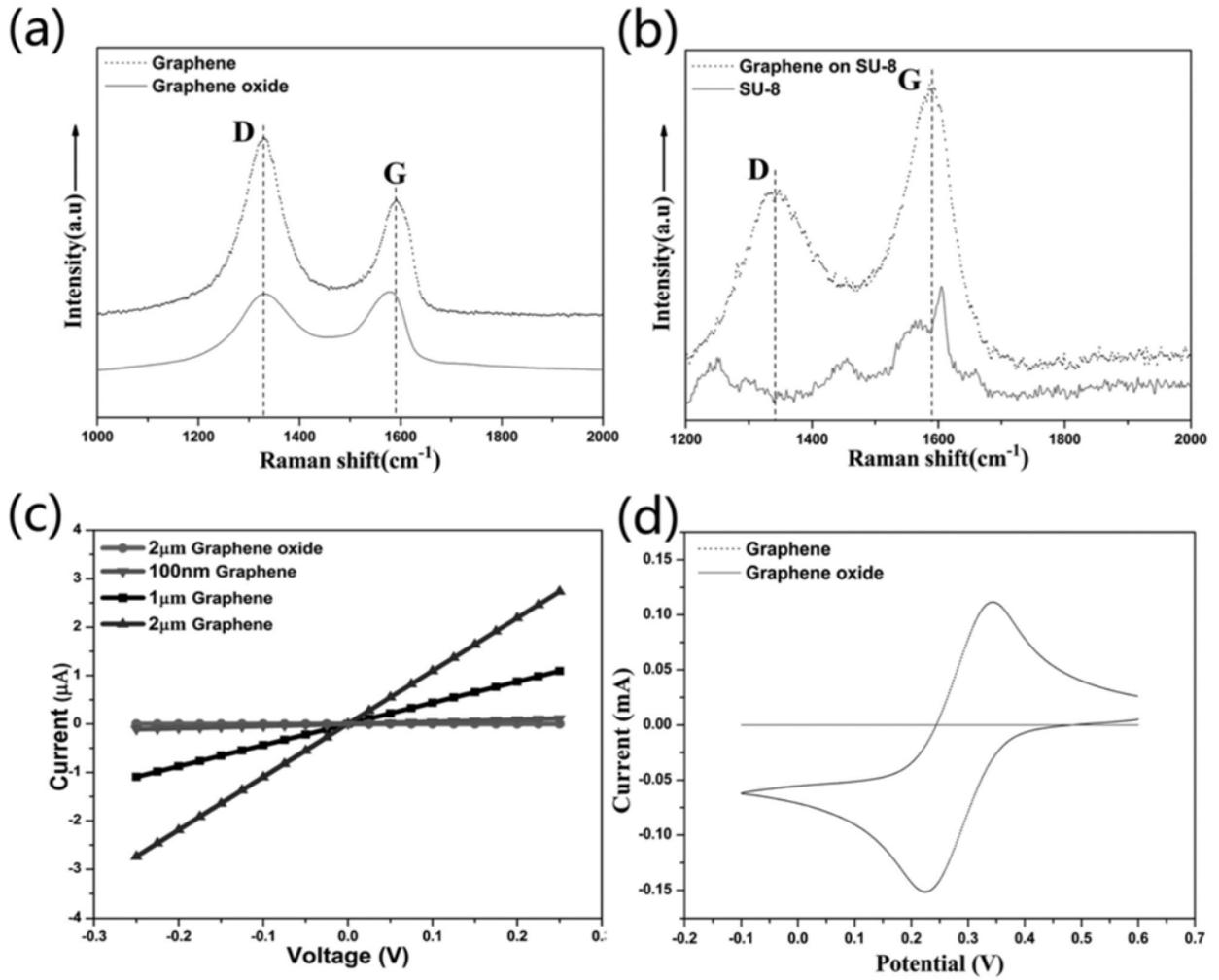


图10

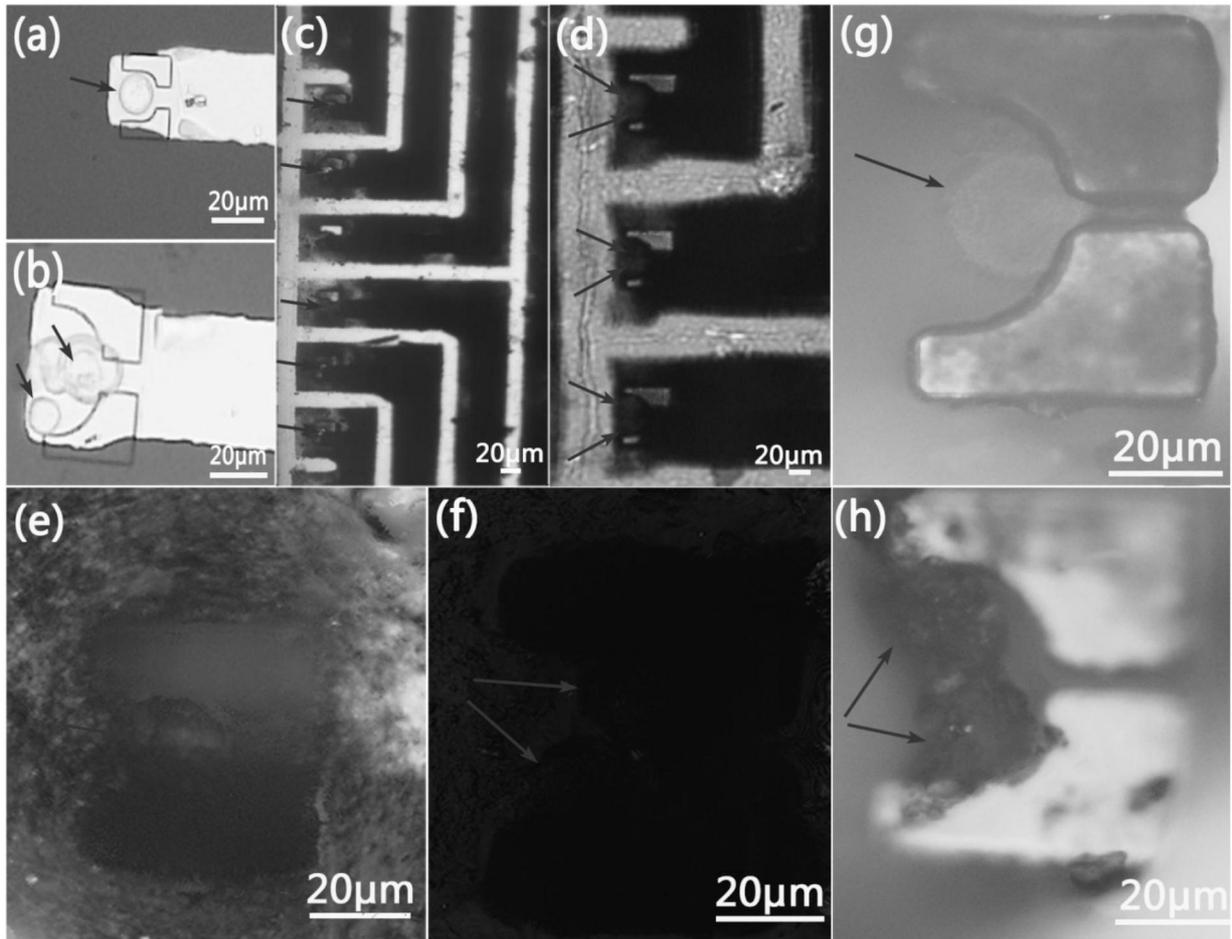


图11

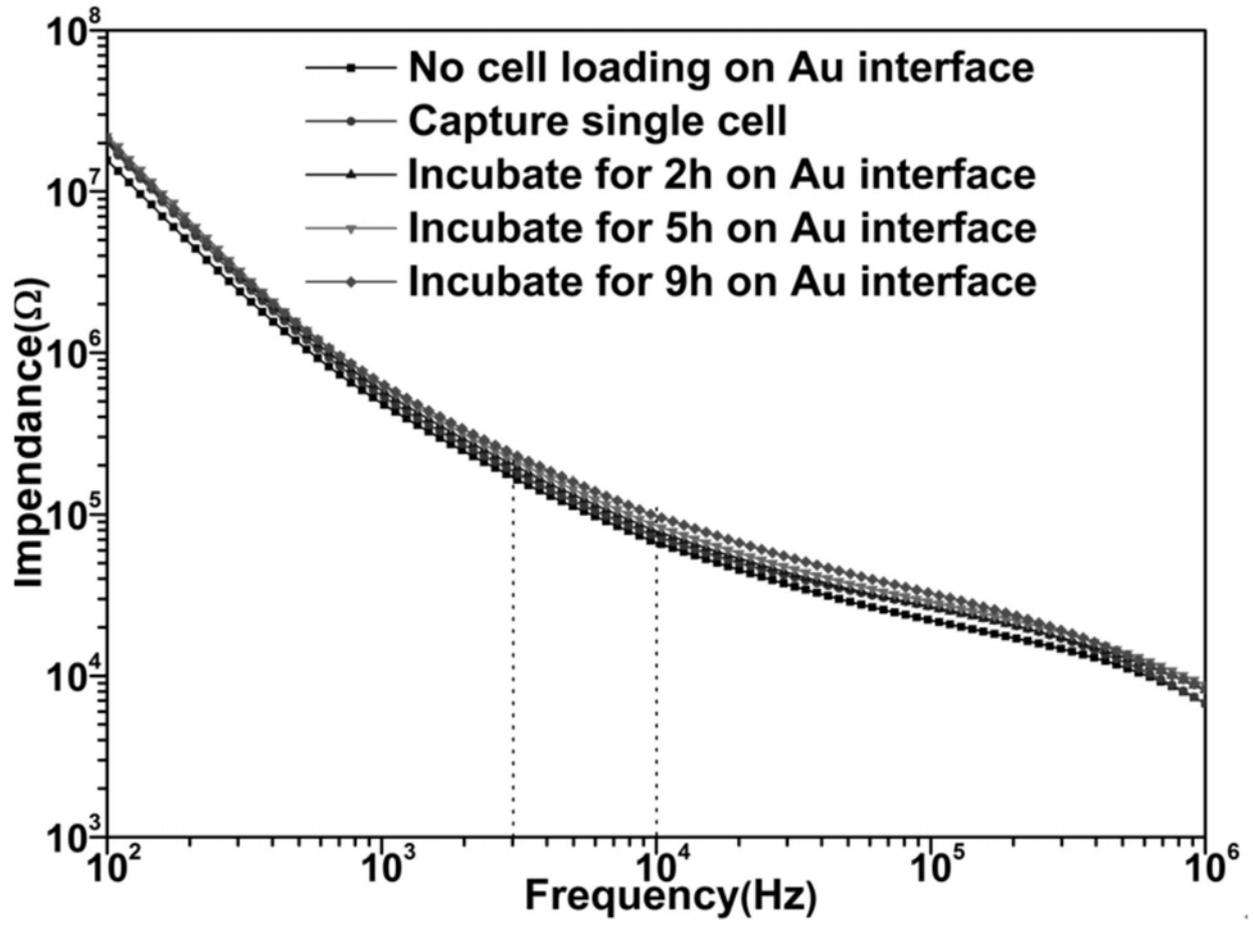


图12a

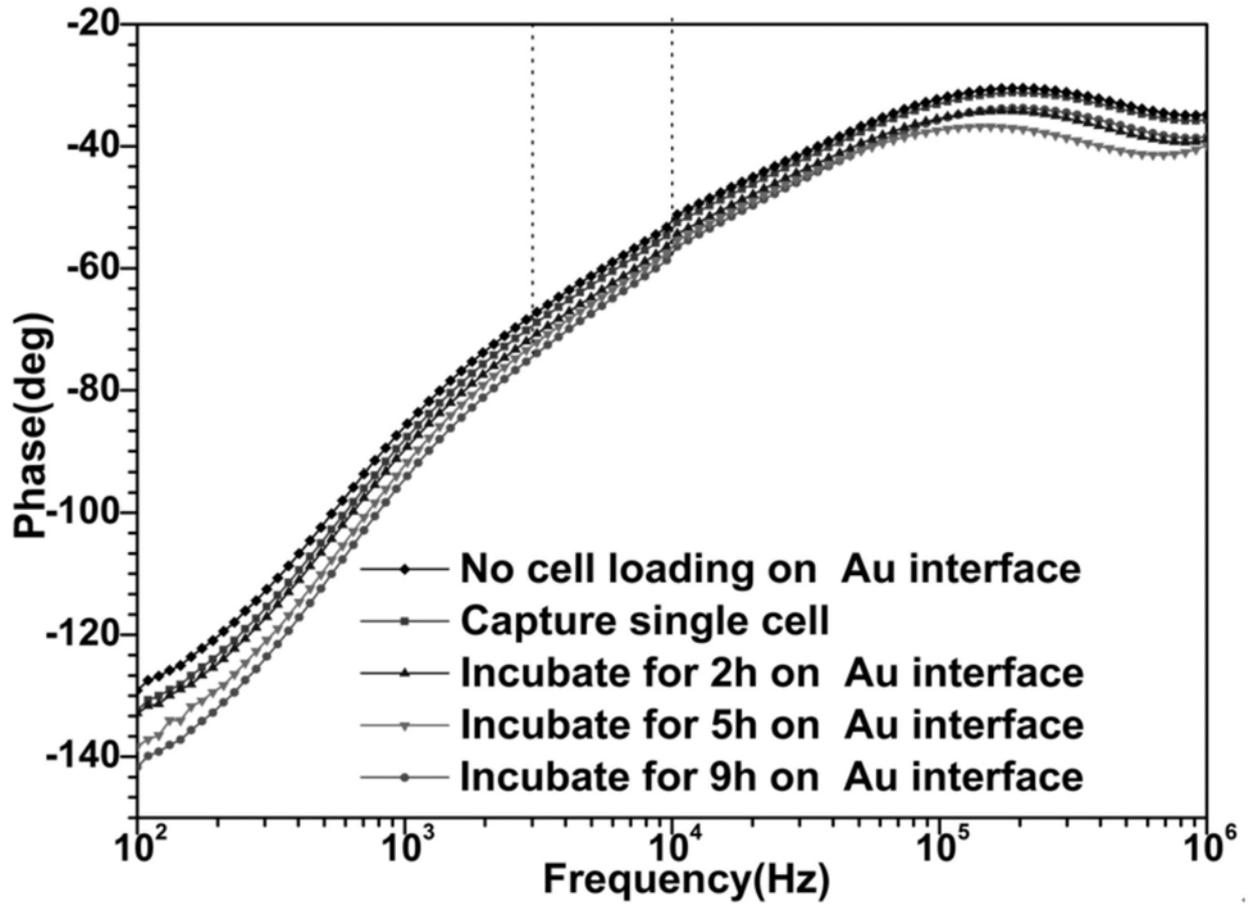


图12b

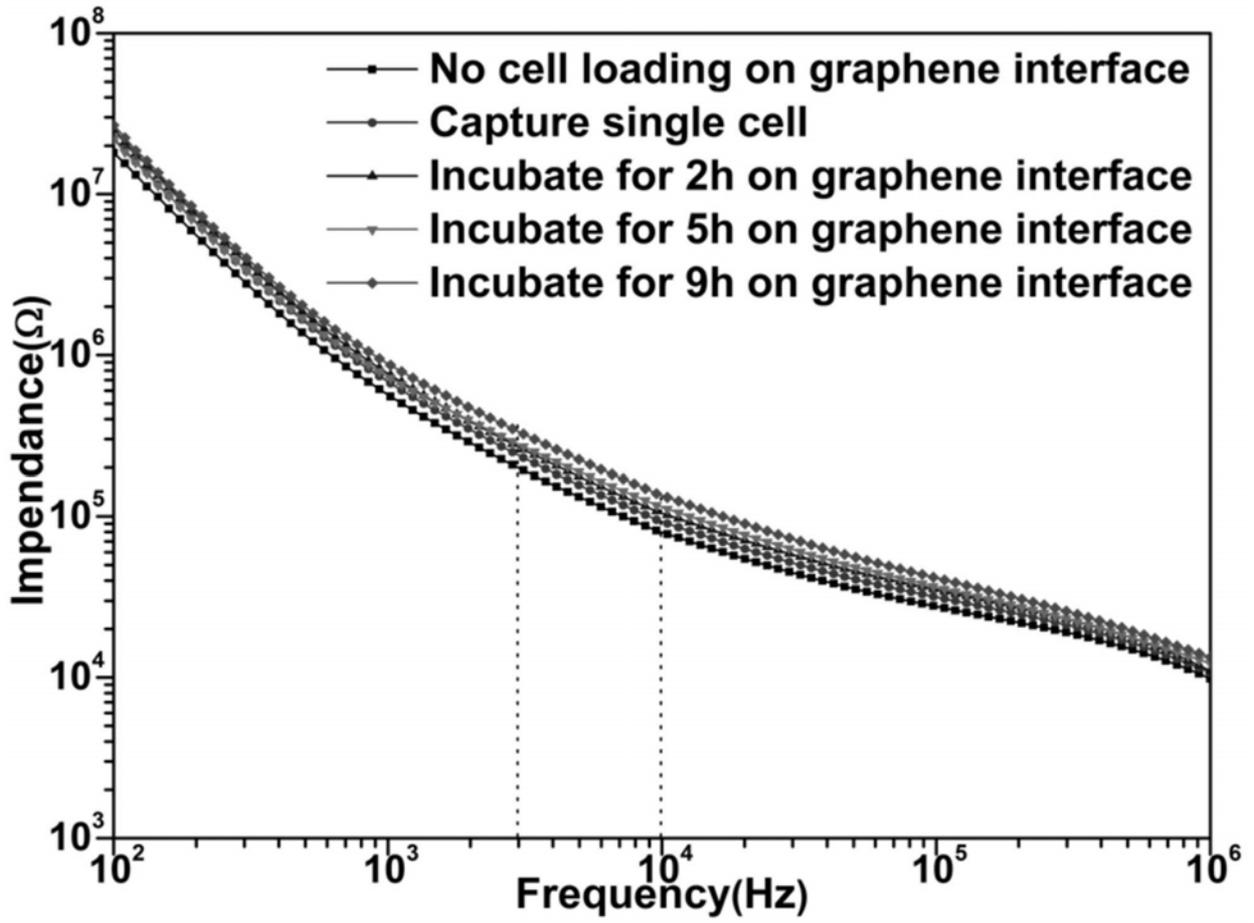


图12c

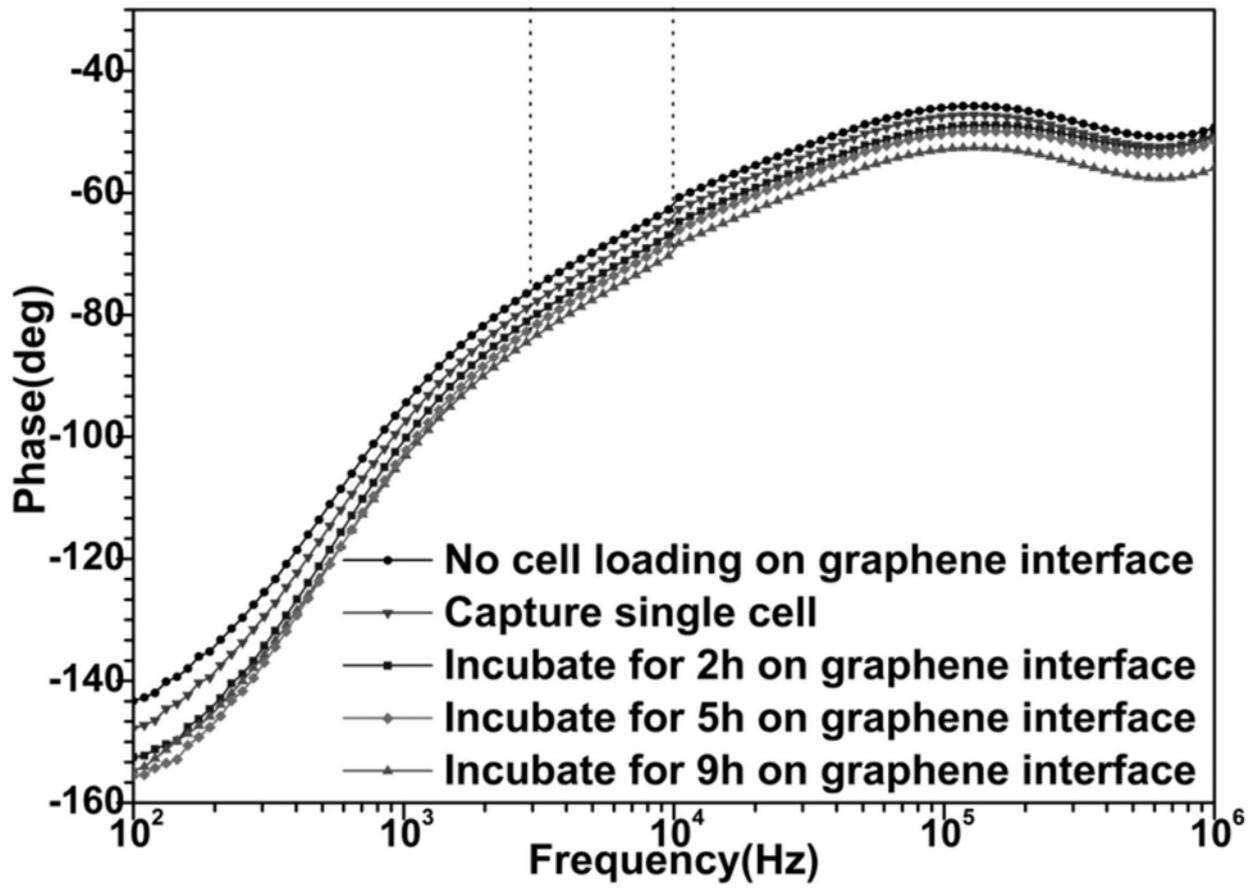


图12d

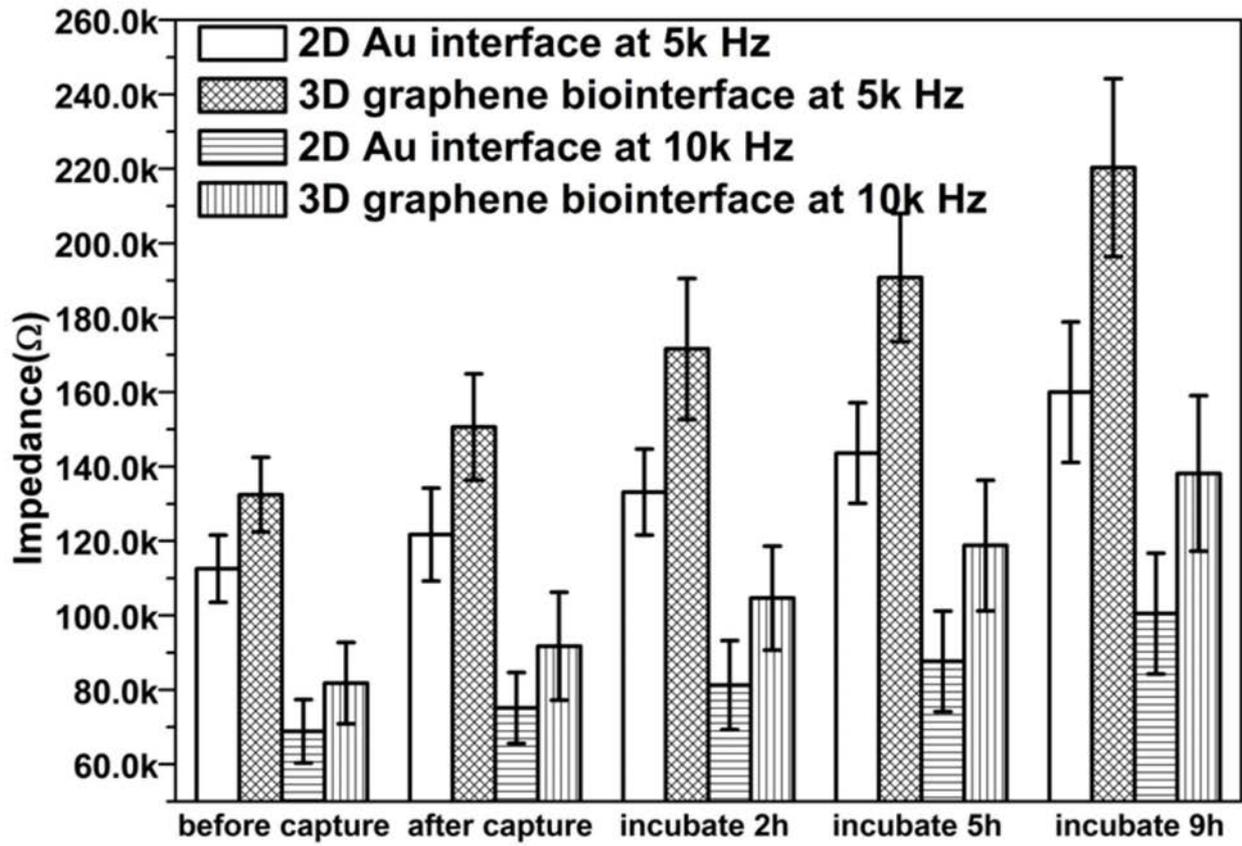


图13

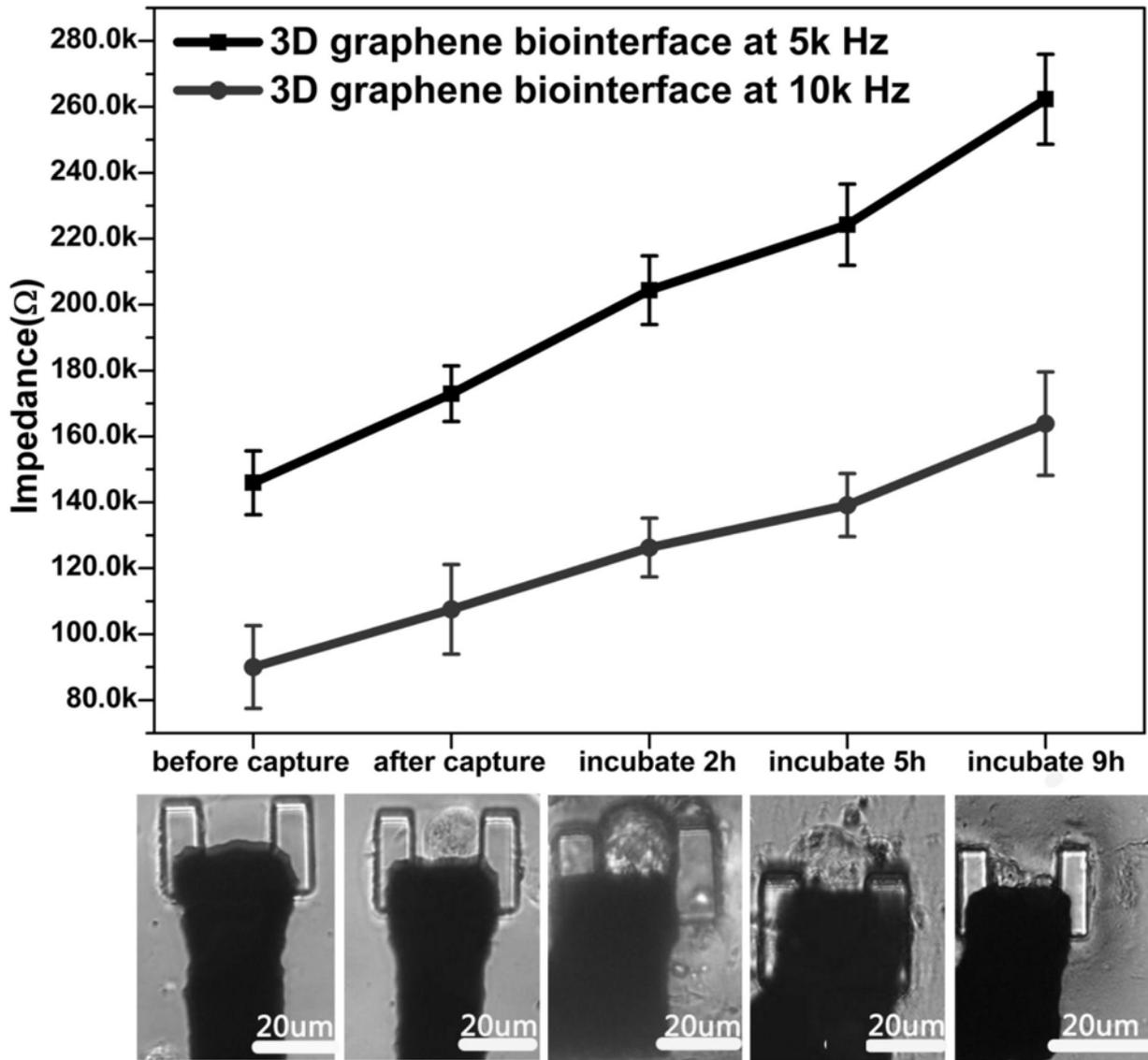


图14

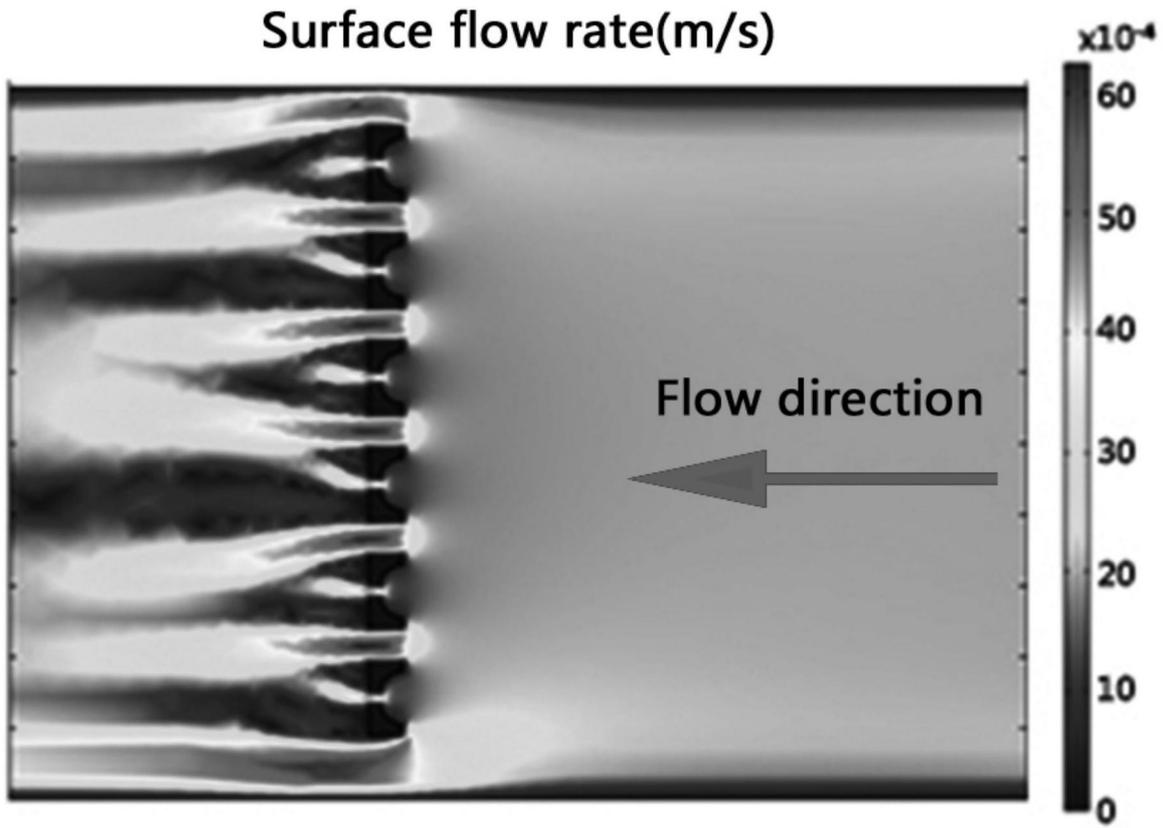


图15

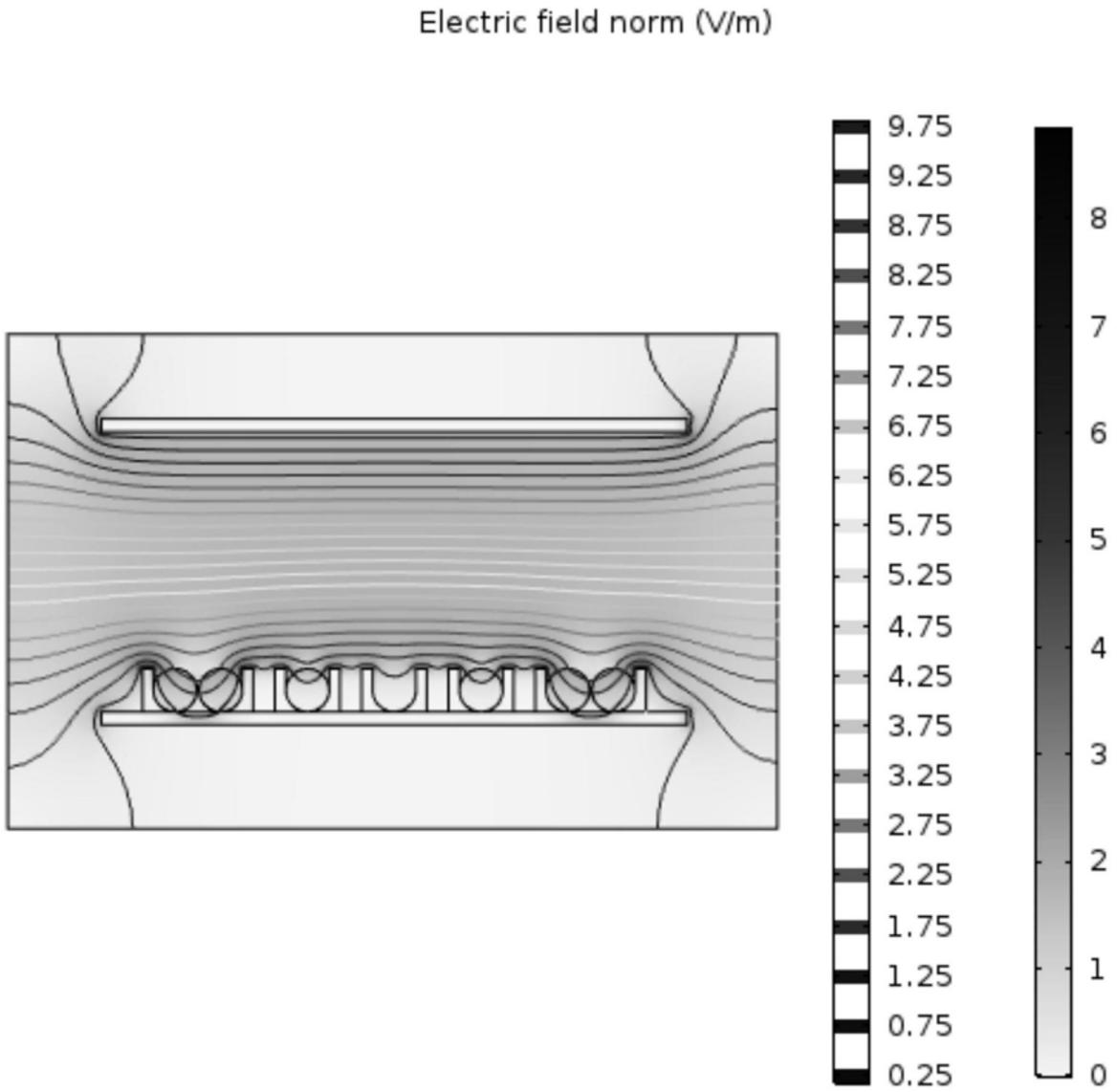


图16