

单细胞结构和电学特征检测方法

梁红雁^{①②} 陈德勇^{①②③} 王军波^{①②③} 陈健^{*①②③}

^①(中国科学院空天信息创新研究院传感技术国家重点实验室 北京 100190)

^②(中国科学院大学电子电气与通信工程学院 北京 100049)

^③(中国科学院大学未来技术学院 北京 100049)

摘要: 单细胞固有生物物理学特征, 主要包括结构特征如细胞直径和细胞核直径, 以及电学特征如细胞膜比电容和细胞质电导率, 已经被应用于细胞亚类型分类和细胞状态评估, 在生物医学研究和临床诊断方面具有广阔的应用前景。该文综述了不同类型的单细胞结构和电学特征检测方法, 介绍了固定式、流动式以及基于微流控的方法。归纳总结了这些方法的工作原理、发展和主要优缺点, 探讨了单细胞结构和电学特征检测所面临的挑战以及未来的研究机遇。

关键词: 单细胞分析; 结构特征; 电学特征; 微流控

中图分类号: TP212.3

文献标识码: A

文章编号: 1009-5896(2022)08-2966-11

DOI: 10.11999/JEIT211459

Methods for Measuring Single-Cell Structural and Electrical Properties

LIANG Hongyan^{①②} CHEN Deyong^{①②③} WANG Junbo^{①②③} CHEN Jian^{①②③}

^①(State Key Laboratory of Transducer Technology, Aerospace Information Research Institute of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

^②(School of Electronic, Electrical and Communication Engineering of University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

^③(School of Future Technology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Single-cell intrinsic biophysical properties including structural properties (e.g., cellular diameter and nuclear diameter) and electrical properties (e.g., specific membrane capacitance and cytoplasmic conductivity) have been applied to cell subtype classifications, and cell status evaluations are promising in biomedical research and clinical diagnosis. Different types of single-cell structural and electrical properties detection methods are reviewed in this paper, then fixed and flow methods and microfluidic methods are introduced. The working principles, developments, main advantages and disadvantages of these methods are summarized, and the challenges and future research opportunities for measurements of single-cell structural and electrical properties are discussed.

Key words: Single-cell analysis; Structural properties; Electrical properties; Microfluidics

1 引言

单细胞生物物理学特征主要包括结构特征(如细胞直径和细胞核直径)和电学特征(细胞膜比电容和细胞质电导率)。其中, 细胞与细胞核直径反映细胞形态特征, 细胞膜由磷脂双分子层和膜蛋白组成, 通常等效为电容模型, 细胞质由基质、骨架和

内容物组成, 通常等效为电阻模型, 其数值的变化与其组成结构、数量的改变有关。目前, 已有研究表明, 单细胞结构和电学特征变化与血液细胞生理病理机制^[1-8]、肿瘤细胞恶性程度^[9-16]以及干细胞分化阶段^[17-23]密切相关。

单细胞结构和电学特征检测存在细胞体积微小难以操纵、缺乏有效模型支撑等难度。面对这些难度, 发展的单细胞结构和电学特征常规检测方法主要分为两类: 固定式和流动式。固定式检测方法包括膜片钳、电旋转和介电电泳等, 可检测数十、百个细胞的细胞膜比电容、细胞质电导率和细胞直径等固有参数, 但存在细胞操纵复杂、检测通量低等

收稿日期: 2021-12-08; 改回日期: 2022-03-17; 网络出版: 2022-04-16

*通信作者: 陈健 chenjian@mail.ie.ac.cn

基金项目: 国家自然科学基金(61825107, 61922079, 62121003)

Foundation Items: The National Natural Science Foundation of China (61825107, 61922079, 62121003)

问题, 无法获取具有统计学意义的大量单细胞数据。而流动式检测方法包括电阻抗、光散射和光成像等, 可获取细胞及细胞核直径等参数, 但无法同时收集细胞电学特征等参数, 使其应用受限。

近年来, 随着MEMS(Micro-ElectroMechanical Systems)迅速地发展, 微流控技术, 即在微通道中对微尺度流体的控制技术^[24], 由于特征尺寸($\sim\mu\text{m}$)与细胞尺寸相匹配, 已经成为表征单细胞结构和电学特征的一种有效工具^[25]。基于该技术的方法较为明显地提高了检测通量, 可检测成千上万细胞的结构和电学参数, 但仍存在检测参数少等问题, 限制了细胞的综合评估。

在此背景下, 本文综述了以上不同单细胞结构和电学特征检测方法, 主要分为固定式、流动式及基于微流控的方法。针对这些方法的原理、发展和主要优缺点进行了阐述分析和对比总结, 同时探讨了单细胞结构和电学特征检测所面临的问题, 以及发展研究的方向。

2 固定式检测方法

常规的单细胞结构和电学特征的固定式检测方法主要是基于频率扫描的原理, 将细胞固定在待测区域, 通过施加电信号, 记录细胞的频率响应, 再基于相应的等效模型转换为细胞的固有电学特征, 如细胞膜比电容和细胞质电导率等, 同时, 可利用成像获取细胞的结构特征。这类方法主要包括膜片钳、电旋转和介电电泳等。

2.1 膜片钳

膜片钳检测单细胞电学特征的工作原理如图1(a)所示^[26, 27]。该方法是将细胞膜的一部分吸入微移液管尖端以形成高电阻密封, 通过将微移液管尖端电极施加的电流解释为频率的函数, 即可获得等效的细胞膜电容。

作为这一领域的先驱者, Neher等人^[28-30]使用全细胞膜片钳研究单细胞电学特征, 评估了细胞处于静息状态下的等效膜电容约为几皮法(pF), 而细胞进入胞吐过程(将细胞内的物质运出的过程中), 等效膜电容以0.01 pF逐步变化。后续膜片钳进一

步发展, 主要表现在以下4个方面: (1)双频激励信号的应用^[31, 32]; (2)计算机系统的集成^[33, 34]; (3)测量噪声的详细分析^[35, 36]; (4)系统的自动化^[37, 38]。

作为一项成熟的技术, 膜片钳已经成为表征单细胞电学特征的金标准。该方法虽然可以精确评估细胞膜电容, 但由于高度依赖微移液管的精准操作以及与目标细胞形成高阻封接, 造成了检测通量过低的问题, 仅获取来自十几或几十个细胞的电学特征数据。因此膜片钳无法从大量细胞中获取数据, 从而使其在细胞分类分型等应用上受限。

2.2 电旋转

电旋转检测单细胞电学特征的工作原理如图1(b)所示^[39, 40]。在电旋转中, 基于麦克斯韦-瓦格纳(Maxwell-Wagne)极化原理, 施加的旋转电场使悬浮的单细胞旋转, 通过测量旋转速率对施加频率的响应来量化单细胞的细胞膜介电常数和细胞质电导率。

作为该领域的先驱, Zimmermann等人^[41, 42]利用电旋转研究单细胞电学特征, 表征了紫菜叶肉单细胞、不同酸碱条件下的类囊体囊泡单细胞的膜比电容分别为 $\sim 0.48, 0.93(\text{pH}=8.1)$ 和 $0.77 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ ($\text{pH}=4.4$)。后续电旋转在表征单细胞膜电容方面的进一步发展, 主要体现在以下3个方面: (1)高频电场中的模型扩展^[43, 44]; (2)计算机辅助数据处理^[45-46]; (3)自动化操作^[47-50]。

作为一项成熟的技术, 电旋转已经被广泛应用于单细胞电学特征检测领域。该方法报道的电学特征参数差异证明了与肿瘤发展^[9, 51, 52]和血液疾病相关^[53, 54], 然而仍存在高度依赖对目标细胞的精确操作, 导致检测通量有限的问题。尽管后续致力于提高细胞操作速度^[47-50], 但仍只能获取数百个单细胞的电学特征数据, 不能得到具有统计学意义的单细胞电学特征差异。

2.3 介电电泳

介电电泳检测单细胞电学特征的工作原理如图1(c)所示^[40]。在介电电泳中, 施加电信号的电极使细胞附着其上, 获取细胞数量关于频率的函数, 然后通过克劳修斯-莫索提因子(Clausius-Mossotti

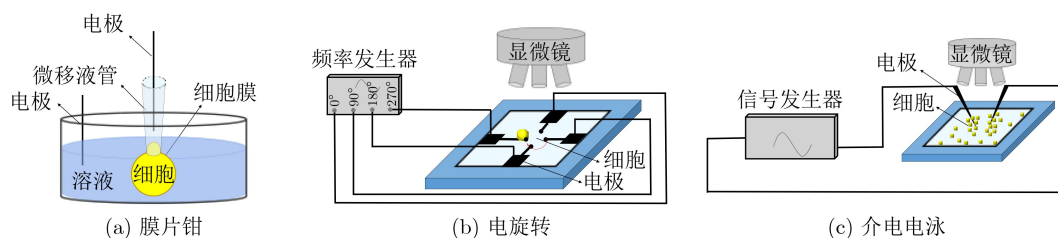


图1 固定式检测方法

Factor, CMF) 频谱曲线拟合将其转化为细胞膜比电容。

作为该领域的先驱, Labeed等人^[55]利用介电电泳表征细胞电学特征, 报道了人类髓性白血病细胞(K562)及其耐药性细胞的膜比电容和细胞质电导率分别为 $0.82 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ 和 $0.23 \text{ S}/\text{m}$ (K562)、 $0.76 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ 和 $0.50 \text{ S}/\text{m}$ (耐药性K562); 此外表征了人乳腺癌细胞(MCF-7)及其不同耐药基因表达细胞(MCF-7 TaxR, MCF-7 DoxR和MCF-7 MDR1)的细胞质电导率分别为0.23, 0.14, 0.40和 $0.27 \text{ S}/\text{m}$ 。

介电电泳作为一种基于细胞群体检测的方法, 相对于膜片钳和电旋转来说, 操作简便, 但在检测过程中邻近细胞之间相互作用的潜在问题无法得到适当的解决, 同时采集的频谱是基于群体细胞层面, 所以转化的特征是细胞群体的平均性能, 而不是单个细胞的电学特征。

综上所述, 检测单细胞结构和电学特征的固定式方法均可获取细胞固有的电学特征参数, 但存在无法表征单细胞层面性能(如介电电泳)或者检测通量低(如膜片钳和电旋转)等问题, 难以采集具有统计学意义的大量单细胞数据用于细胞评估。

3 流动式检测方法

针对固定式单细胞结构和电学特征检测方法通量低的主要问题, 发展了常规的流动式方法, 驱动单个细胞依次流动通过检测区域, 引起电信号或者光信号的产生或变化, 以此为依据, 转换为细胞的电参量或结构特征参数。这类方法主要包括电阻抗、光散射和光成像等, 目前据此形成的两大类重要仪器, 流式细胞仪和血细胞分析仪, 已经被应用于生物医学领域, 作为大部分细胞的分类和状态评估, 具有广阔的市场价值和应用前景。

3.1 电阻抗

电阻抗检测单细胞结构和电学特征的工作原理如图2(a)所示^[56]。基于库尔特原理, 悬浮在电解液

的细胞通过小孔时取代相同体积的电解液, 导致小孔两侧电极间电阻发生瞬时变化, 产生电位脉冲, 通过脉冲信号的大小和次数反映细胞大小和数目。

作为该领域的先驱, 文献^[57,58]利用电阻抗研究单细胞结构和电学特征, 测量了单细胞通过小孔的直流电脉冲, 转换为细胞体积, 用于白细胞3分群(淋巴细胞、单核细胞和粒细胞); 随后, 在直流的基础上加入交流成分, 额外表征了单细胞的细胞膜和细胞质部分的电学特征, 初步应用于白细胞5分类(淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞)^[59,60]。

作为细胞计数金标准的技术, 基于库尔特原理的电阻抗提供了一种对细胞直径(体积)及细胞粒度进行测量的方法。相对传统显微镜细胞观察分析, 电阻抗能够快速、准确地获取细胞大小和数量, 但仍无法获取细胞核直径等结构特征参数以及细胞膜比电容和细胞质电导率等固有电学特征参数, 导致其在单细胞分析领域功能受限。

3.2 光散射

光散射检测单细胞结构特征的工作原理如图2(b)所示^[56]。在光散射中, 穿行的单细胞被激光照射, 并与部分光子发生碰撞, 使光子的运动方向发生改变而向不同角度散射。通过记录激光中断次数进行细胞计数, 同时根据散射的数量和角度表征细胞大小、细胞核特征等对细胞进行分类。

作为该领域的先驱, Grooth等人^[56,61,62]利用光散射研究单细胞结构特征, 用于区分淋巴细胞亚群以及从正常淋巴细胞中区分出毒性细胞, 同时用于对白细胞进行3分群、5分类。后续光散射发展主要体现在两方面: (1)多角度散射光分离技术^[63,64]; (2)形态计量模型解释散射模式^[65,66]。

作为白细胞分类的一种有效手段, 光散射可以收集到细胞大小、细胞颗粒度以及细胞质复杂性相关的信息, 但仍无法准确获取细胞核直径等结构特征, 也无法收集单细胞电学特征信息, 所以光散射在单细胞分析领域应用有限。

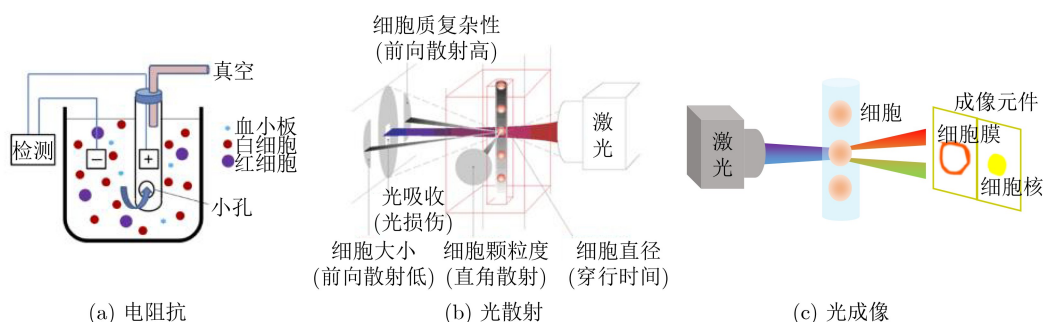


图2 流动式检测方法

3.3 光成像

光成像检测单细胞结构特征的工作原理如图2(c)所示^[67]。在光成像方法中,细胞膜及细胞核染色的细胞流经检测区域被不同波长激光照射,产生相应的不同发射荧光,利用成像元件(如CCD相机)捕获对应的荧光图像,表征细胞及细胞核的结构特征。

作为该领域的先驱,Luminex(Amnis)公司研究人员在流式细胞仪的基础上发展了FlowSight成像流式细胞仪,后续针对激光种类、放大倍数以及灵活性等方面进行改进,形成了ImagingStream X Mark II成像流式细胞仪,可实现至多12通道光成像,广泛应用于血液学、肿瘤学、干细胞分化等领域。

光成像广泛应用于细胞形态学研究,能够快速、准确地对细胞及亚细胞定位,提取细胞及细胞核的关键结构特征。相比于光散射,光成像能够提供更准确、全面的细胞形态学分析,然而仍无法同时收集单细胞电学特征信息。

综上所述,检测单细胞结构和电学特征的流动式方法显著提高了检测通量,但着重于获取细胞结构特征,而没有实现同时采集细胞固有电学特征的功能(电阻抗方法得到的电脉冲也仅反映了细胞大小的信息),由于检测参数的有限性限制了单细胞分析的应用。

4 基于微流控检测方法

随着微流控技术的发展,其特征尺寸可以很好地与细胞尺寸相匹配,能够更方便、快速地用于细胞检测,适用于高通量获取细胞结构和电学特征参数。随之发展的基于微流控检测方法,驱动单个细胞依次通过检测区域,引起阻抗信号的变化,依据等效模型,转换为表征细胞结构和电学特征的参量。这类方法主要的发展,其一在于电极数量、结构布局等方面的改变,主要包括共面电极、对面电极、对面电极集成光学透镜;其二在于针对微通道的横截面特征尺寸的改变,较于微通道结构(微通道横截面积的特征尺寸大于细胞直

径)提出了压缩通道(微通道横截面积特征尺寸小于细胞直径)的结构。

4.1 共面电极

作为基于微流控的方法检测单细胞结构和电学特征的前驱,Gawad等人^[68]提出了基于共面电极(电极处于同一平面)的微流控阻抗流式细胞仪,工作原理如图3(a)所示。细胞在微通道中穿行,依次通过底部嵌入的3个共面电极,其中中间电极作为公共电极,与两端电极分别组成一组电极对,构成差分阻抗检测配置(细胞通过其中一组电极对时,另一组电极对作为参考,消除检测噪声等干扰),测量细胞通过时的阻抗变化,反映细胞的结构特征和电学特征等信息。

Gawad等人^[68]利用该结构,成功区分了不同粒径的乳胶珠子(5 μm 和8 μm)以及正常红细胞与血影细胞(红细胞经低渗处理后,质膜破裂将胞质内容物释放至胞外后恢复原来形态和大小的细胞膜结构)。然而,该方法采用的共面电极在通道高度上产生电场分布不均匀,从而影响阻抗变化,更重要的是,由于缺乏有效模型的支撑,获取的阻抗信号无法进一步转化为细胞固有电学特征参数。

4.2 对面电极

针对通道高度上电场分布不均匀的问题,Cheung等人^[69]提出了基于对面电极(电极面平行相对)的微流控阻抗流式细胞仪,工作原理如图3(b)所示。细胞在微通道中穿行,依次通过两对对面电极,其中底部电极共同接地,构成差分阻抗检测配置,测量细胞通过时的阻抗变化,并提出“不透明度”(opacity)的概念,即高频阻抗与低频阻抗的比值,映射细胞结构和电学特征等信息。

Cheung等人^[69]利用该结构,成功区分了不同粒径的乳胶珠子(4 μm , 5 μm 和6 μm)、正常红细胞与血影细胞、正常红细胞与不同化学处理的红细胞。该方法提出的对面电极结构,使得测量细胞周围的电流密度更加均匀,一定程度上消除了电场分布不均对阻抗检测的影响,但也增加了电极制备的

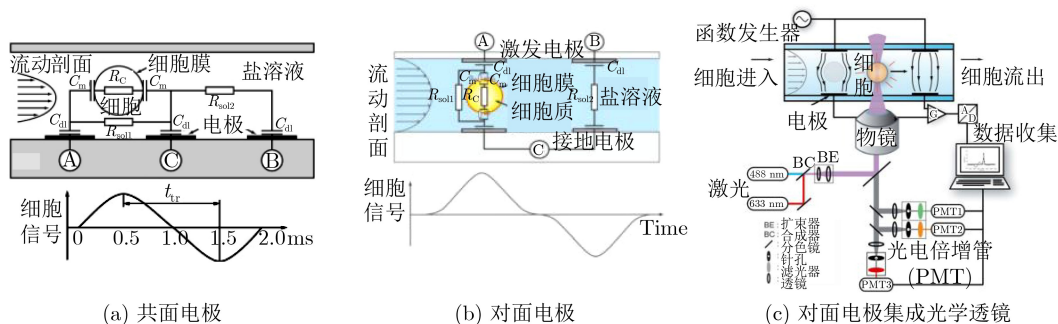


图3 基于微流控检测方法

复杂度,同时仍未解决表征单细胞结构和电学特征的根本问题。

4.3 对面电极集成光学透镜

为了更好地表征单细胞结构和电学特征,增强检测功能,Holmes等人^[70]集成了对面电极与光学透镜,形成了微流控阻抗荧光流式细胞仪,工作原理如图3(c)所示。细胞在微通道中穿行,通过两对对面电极,采集差分阻抗信号变化,同时细胞内荧光抗体被激光照射激发,产生相应的发射荧光信号被光电器件(光电倍增管PMT)接收,从而实现细胞结构和电学特征的多维表征。

Holmes等人^[70]利用该装置,结合阻抗信号和荧光信号,实现了白细胞3分群^[70]或淋巴细胞亚群分类^[71],相较于上述微流控方法,该方法增加了维度参数,有利于更全面地理解单细胞结构和电学特征,但同样无法获取单细胞固有的电学特征。

4.4 多电极

近年来,该领域研究人员通过增加电极个数、改变电极布局等,消除现有方法存在的细胞位置影响测量结果的问题。Caselli等人^[72-74]一直致力于此,首先提出了一种新型共面5电极结构^[72],工作原理如图4(a)所示。细胞在微通道中穿行,依次通过底部的5个电极,其中在第3电极上施加交流信号,第2和第4电极处于浮动,第1和第5电极测量流经的电流差。该结构中的电极布局形成的非均匀电场,包括4个高场强区域和之间间隔的弱场区域,从而形成的信号趋势与细胞大小及所处垂直位置相关,并可用于补偿细胞垂直位置变化引起的细胞尺寸测量的误差,从而达到高精度表征细胞结构特征,但该方法只能得到阻抗数据,无法得到细胞固有电学特征。

后续,Reale等人^[73]在上述共面5电极的基础上,增加了两对相对共面电极用于表征单细胞结构和电学特征,结构示意图如图4(b)所示。两对相对共面电极位于侧通道底部,将交流电压施加在其中一组对角电极,另一组对角电极收集差分电流,用于测量细胞横向位置;5个共面电极位于主通道底部,检测配置同上,用于测量细胞垂直位置。通过确定细胞在通道中横截面位置,消除位置对细胞尺寸测量的影响,但同样无法获取固有电学特征。

另一方面,Honrado等人^[74]在保留两对相对共面电极的基础上,将共面5电极更改为两对对面电极,结构示意图如图4(c)所示。相对共面电极的检测配置同上,而对面电极检测配置同样更改为对角激励及检测。该方法同样用于确定细胞在通道中的横截面位置,更准确地获取细胞结构特征,但仍不能得到细胞固有电学特征信息。

Yang等人^[75]针对电极布局进行改进,提出了一种新型N型电极结构,用于表征单细胞结构和电学特征,结构示意图如图4(d)所示。N型电极由两个外侧电极和中间一个倾斜电极组成。由于倾斜电极的设计,不同横向位置细胞通过前端两个电极和后端两个电极的时间不同,从而精确细胞的横向位置,校准细胞的结构特征。相对于Caselli等人^[72]的新型共面5电极结构,该结构电极相对更简单,获取的信号波形更易于处理,但仍无法将阻抗数据转换为细胞固有电学特征。

与此同时,Spencer等人^[76]对此也做了一些工作,提出了一种对面5电极结构,结构示意图如图4(e)所示。其中第2和第4电极对,顶部电极施加多种频率电压激励,底部电极用于收集差分电流,其余电极接地。获取的阻抗频谱通过单壳模型(即假设一

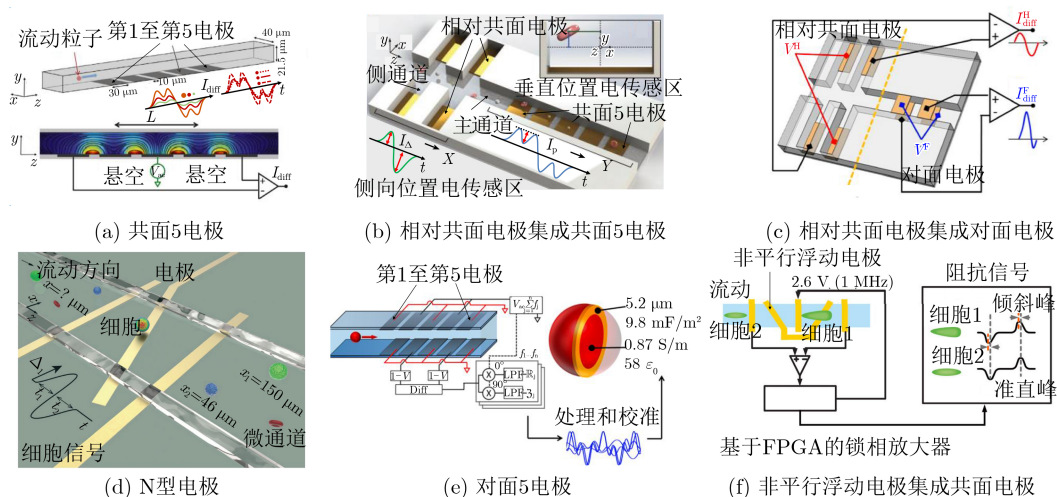


图4 基于微流控检测方法(多电极)

一个一定厚度的球形壳体将内部相与环境相分离)进一步处理校准, 可得到细胞结构和电学特征, 如细胞大小、细胞膜比电容、细胞质电导率和介电常数。然而由于模型中的某些参量非实际检测确定的, 而是依据前人数据进行假设设定的, 同时又由于细胞与通道壁之间存在较大的间隙, 导致细胞通过时阻抗变化较低, 无法精确获取细胞结构和电学特征。

近来, 文献[77]观察到非对称细胞产生的阻抗脉冲存在倾斜的现象, 为了进一步表征细胞的形状, 提出了一种新型电极布局结构, 其工作原理如图4(f)所示。在该结构中, 使用一个非平行浮动电极来分离共面3电极形成的两个检测区域, 同时浮动电极间形成等电场区域, 细胞通过时, 阻抗保持不变。依据细胞通过时间来确定细胞的横向位置校准细胞大小, 同时通过得到的阻抗信号倾斜指数作为细胞形态表型。该方法提供了更多细胞结构特征的信息, 但仍未获取细胞固有电学特征参数。

综上所述, 以上单细胞结构和电学特征的微流控检测方法更多地在于通过获取细胞在微通道横截面中位置, 以此来校准细胞尺寸, 进一步修正阻抗信号, 但缺乏有效的模型将阻抗数据进一步转化为细胞固有电学特征。

4.5 压缩通道

针对上述方法, 细胞在微通道中穿行, 与通道内壁存在很大的间隙, 总体来说, 很难提出有效的等效电学模型获取细胞固有电学特征, 如细胞膜比电容和细胞质电导率。所以对此, 本课题组减小微通道的横截面积, 提出了压缩通道的概念。

本课题首先提出了基于“一字型”压缩通道的微流控阻抗流式细胞仪, 工作原理如图5(a)所示[78]。细胞连续通过压缩通道, 利用锁相放大器检测压缩通道两端双频阻抗信号, 同时利用高速照相机记录细胞通过压缩通道的形态(如细胞拉伸长度, 即细胞被压缩后在穿行方向上的长度)。然后依据该方法提出的压缩通道等效电学模型进行转换拟合得到单细胞膜比电容、细胞质电导率以及细胞直径。然

而, 该方法由于图像采集处理过程得到数据用于后续计算, 限制了检测通量, 无法获取具有统计学意义的大量数据。

为了进一步提高检测通量, 本课题组提出了基于“十字型”压缩通道的微流控阻抗流式细胞仪, 工作原理如图5(b)所示[79]。细胞通过“十字型”主压缩通道的同时, 利用锁相放大器测量侧压缩通道两端之间的双频阻抗信号, 基于提出的等效电学模型转换拟合得到单细胞膜比电容和细胞质电导率。该方法虽然极大地提高了检测通量, 但缺少了单细胞结构特征检测。

针对“一字型”和“十字型”压缩通道的限制, 本课题后续提出了基于“双T型”压缩通道的微流控阻抗流式细胞仪, 工作原理如图5(c)所示[80]。细胞通过双T型压缩通道时, 利用锁相放大器测量侧通道两端之间的双频阻抗信号, 根据阻抗信号波形与细胞穿行距离进行匹配得到细胞拉伸长度, 进一步得到细胞直径, 同时阻抗幅值、相位拟合于等效电学模型可得到单细胞膜比电容和细胞质电导率。该方法在满足高通量的条件下, 尽可能更多地检测单细胞结构和电学特征参数, 但针对细胞核的结构和电学特征仍未表征。

为了进一步提高检测参数, 本课题组最新开展了具有荧光检测窗口的“双T型”压缩通道的微流控流式细胞仪。“双T型”压缩通道结构用于进行阻抗检测, 得到细胞直径、细胞膜比电容和细胞质电导率; 同时荧光检测窗口用于进行荧光检测, 得到细胞核直径。该方法可以在保证一定的高通量前提下, 获取单细胞相对完整的结构和电学特征, 但针对细胞核形态不规则(如杆状或分叶状), 该方法仍无法做出表征, 同时也无法获取细胞核的电学特征等, 但这也给后续的研究提供了方向。

以上, 就目前已有的单细胞结构和电学特征检测方法进行了阐述概括, 主要介绍了不同检测方法的原理、发展及主要优缺点, 并提出了目前该领域所面临的机遇挑战。最后, 针对单细胞结构和电学特征检测方法主要的标志性发展及检测参数和成

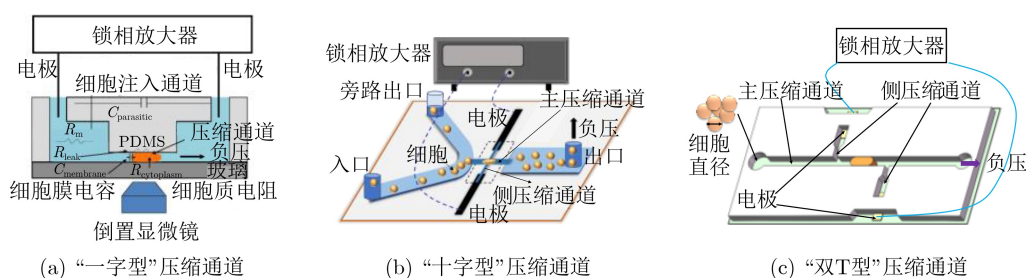


图5 基于微流控检测方法(“压缩通道”)

就, 归纳总结如表1所示, 有望对后续单细胞结构和电学特征检测方法的发展有一定指导意义。

表1 单细胞结构和电学特征检测方法标志性发展

方法	检测参数	区分目标细胞/关键成就	参考文献
固定式	膜片钳	细胞膜电容	表征数十个细胞电学特征 [30]
	电旋转	细胞膜比电容	表征数百个细胞电学特征 [47]
	介电电泳	细胞膜比电容和细胞质电导率	表征细胞群体平均电学特征 [55]
流动式	电阻抗	直流阻抗数据; 直流+交流阻抗数据	白细胞3分群; 白细胞5分类 [56]
	光散射	前向+侧向散射光; 多角度散射光	白细胞3分群; 白细胞5分类 [56]
	光成像	荧光成像	表征细胞直径和细胞核直径 [67]
	共面电极	双频阻抗数据	5, 8 μm 珠子; 红细胞及其血影细胞 [68]
	对面电极	双频阻抗数据	5, 6 μm 珠子; 红细胞及其固定细胞 [69]
微流控方法	对面电极+光学透镜	双频阻抗数据和荧光信号	白细胞3分群 [70]
	多电极	单频阻抗数据; 多频阻抗数据	5, 6, 7, 10 μm 珠子; 红细胞; 酵母细胞 [72-77]
	“一字型”压缩通道	细胞膜比电容、质电导率和细胞直径	表征数百个肿瘤细胞固有电学特征 [78]
	“十字型”压缩通道	细胞膜比电容和细胞质电导率	表征数十万个肿瘤细胞固有电学特征 [79]
	“双T型”压缩通道	细胞膜比电容、质电导率和细胞直径	表征数十万个肿瘤细胞固有生物电学特征 [80]

5 结束语

单细胞结构和电学特征检测揭示了细胞之间的差异, 能够更好地应用于分析血液细胞生理病理机制、肿瘤细胞恶性程度以及干细胞分化阶段。面对单细胞固有结构和电学特性应用的需求越来越多, 基于微流控技术的检测方法在迎接更多的挑战的同时也面临一些潜在方向的机遇。其中提升检测通量是一大方向, 随着检测通量的提高, 大量具有统计学意义的数据的获取对于分析更多样本(如血液中痕量存在的循环肿瘤细胞的分析)以及分析的准确性都有巨大意义。另一潜在方向在于检测参数的增加及综合检测的实现, 随着更多解耦参数的应用十分有利于细胞亚类型的分类(如白细胞5分类以及粒细胞系统划分为早幼、中幼、晚幼、杆状核和分叶核粒细胞等)。总而言之, 基于微流控的单细胞结构和电学特征检测方法仍处于探索、发展阶段, 还需要进一步的技术创新, 高通量地实现单细胞结构和电学特征多参数表征以对单细胞进行综合评估。

参 考 文 献

- [1] HAN Xiaojun, BERKEL C, GWYER J, *et al.* Microfluidic lysis of human blood for leukocyte analysis using single cell impedance cytometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(2): 1070-1075. doi: 10.1021/ac202700x.
- [2] DU E, HA S, DIEZ-SILVA M, *et al.* Electric impedance microflow cytometry for characterization of cell disease states[J]. *Lab on A Chip*, 2013, 13(19): 3903-3909. doi: 10.1039/c3lc50540e.
- [3] NWANKIRE C E, VENKATANARAYANAN A,

GLENNON T, *et al.* Label-free impedance detection of cancer cells from whole blood on an integrated centrifugal microfluidic platform[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 68: 382-389. doi: 10.1016/j.bios.2014.12.049.

- [4] TRAN A K, SAPKOTA A, WEN Jianming, *et al.* Linear relationship between cytoplasm resistance and hemoglobin in red blood cell hemolysis by electrical impedance spectroscopy & eight-parameter equivalent circuit[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 119: 103-109. doi: 10.1016/j.bios.2018.08.012.
- [5] RAILLON C, CHE J, THILL S, *et al.* Toward microfluidic label-free isolation and enumeration of circulating tumor cells from blood samples[J]. *Cytometry Part A*, 2019, 95(10): 1085-1095. doi: 10.1002/cyto.a.23868.
- [6] GRIFFITHS T M, PAGE L, WEYRICH A S, *et al.* Platelet electrical resistance for measuring platelet activation and adhesion in human health and disease[J]. *Thrombosis Research*, 2021, 198: 204-209. doi: 10.1016/j.thromres.2020.12.012.
- [7] LIU Jia, QIANG Yuhao, and DU E. Dielectric spectroscopy of red blood cells in sickle cell disease[J]. *Electrophoresis*, 2021, 42(5): 667-675. doi: 10.1002/elps.202000143.
- [8] MAN Yuncheng, MAJI D, AN Ran, *et al.* Microfluidic electrical impedance assessment of red blood cell-mediated microvascular occlusion[J]. *Lab on A Chip*, 2021, 21(6): 1036-1048. doi: 10.1039/d0lc01133a.
- [9] COLEY H M, LABEED F H, THOMAS H, *et al.* Biophysical characterization of MDR breast cancer cell lines reveals the cytoplasm is critical in determining drug sensitivity[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-*

- General Subjects*, 2007, 1770(4): 601–608. doi: [10.1016/j.bbagen.2006.12.002](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.12.002).
- [10] LIANG X, GRAHAM K A, JOHANNESSEN A C, *et al.* Human oral cancer cells with increasing tumorigenic abilities exhibit higher effective membrane capacitance[J]. *Integrative Biology*, 2014, 6(5): 545–554. doi: [10.1039/C3IB40255J](https://doi.org/10.1039/C3IB40255J).
- [11] ZHAO Yang, ZHAO Xiaoting, CHEN Deyong, *et al.* Tumor cell characterization and classification based on cellular specific membrane capacitance and cytoplasm conductivity[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 57: 245–253. doi: [10.1016/j.bios.2014.02.026](https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.02.026).
- [12] KUMAR R T K, LIU Shanshan, MINNA J D, *et al.* Monitoring drug induced apoptosis and treatment sensitivity in non-small cell lung carcinoma using dielectrophoresis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2016, 1860(9): 1877–1883. doi: [10.1016/j.bbagen.2016.05.039](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.05.039).
- [13] TANG Wenlai, TANG Dezhi, NI Zhonghua, *et al.* Microfluidic impedance cytometer with inertial focusing and liquid electrodes for high-throughput cell counting and discrimination[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(5): 3154–3161. doi: [10.1021/acs.analchem.6b04959](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04959).
- [14] SANO M, KAJI N, ROWAT A C, *et al.* Microfluidic mechanotyping of a single cell with two consecutive constrictions of different sizes and an electrical detection system[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(20): 12890–12899. doi: [10.1021/acs.analchem.9b02818](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02818).
- [15] DABIGHI A and TOGHRAIE D. A new microfluidic device for separating circulating tumor cells based on their physical properties by using electrophoresis and dielectrophoresis forces within an electrical field[J]. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 2020, 185: 105147. doi: [10.1016/j.cmpb.2019.105147](https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2019.105147).
- [16] HOSSAIN S. Malignant cell characterization via mathematical analysis of bio impedance and optical properties[J]. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2021, 40(1): 65–83. doi: [10.1080/15368378.2020.1850471](https://doi.org/10.1080/15368378.2020.1850471).
- [17] SONG Hongjun, WANG Yi, ROSANO J M, *et al.* A microfluidic impedance flow cytometer for identification of differentiation state of stem cells[J]. *Lab on A Chip*, 2013, 13(12): 2300–2310. doi: [10.1039/c3lc41321g](https://doi.org/10.1039/c3lc41321g).
- [18] ZHOU Ying, BASU S, LAUE E, *et al.* Single cell studies of mouse embryonic stem cell (mESC) differentiation by electrical impedance measurements in a microfluidic device[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 81: 249–258. doi: [10.1016/j.bios.2016.02.069](https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.02.069).
- [19] XAVIER M, DE ANDRÉS M C D, SPENCER D, *et al.* Size and dielectric properties of skeletal stem cells change critically after enrichment and expansion from human bone marrow: Consequences for microfluidic cell sorting[J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2017, 14(133): 20170233. doi: [10.1098/rsif.2017.0233](https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0233).
- [20] EL-BATTRA I, ZHAO Zhilan, LAN Huan, *et al.* Estradiol protection against toxic effects of catecholamine on electrical properties in human-induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes[J]. *International Journal of Cardiology*, 2018, 254: 195–202. doi: [10.1016/j.ijcard.2017.11.007](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.11.007).
- [21] ZHOU Wenli, GRAHAM K, LUCENDO-VILLARIN B, *et al.* Combining stem cell-derived hepatocytes with impedance sensing to better predict human drug toxicity[J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2019, 15(1): 77–83. doi: [10.1080/17425255.2019.1558208](https://doi.org/10.1080/17425255.2019.1558208).
- [22] ZHANG Zhizhong, ZHENG Tianyang, and ZHU Rong. Microchip with single-cell impedance measurements for monitoring osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells under electrical stimulation[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(18): 12579–12587. doi: [10.1021/acs.analchem.0c02556](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02556).
- [23] LEI Kinlong, HO Y C, HUANG C H, *et al.* Characterization of stem cell-like property in cancer cells based on single-cell impedance measurement in a microfluidic platform[J]. *Talanta*, 2021, 229: 122259. doi: [10.1016/J.TALANTA.2021.122259](https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2021.122259).
- [24] GRAVESEN P, BRANEBJERG J, and JENSEN O S. Microfluidics-a review[J]. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 1993, 3(4): 168–182. doi: [10.1088/0960-1317/3/4/002](https://doi.org/10.1088/0960-1317/3/4/002).
- [25] REECE A, XIA Bingzhao, JIANG Zhongliang, *et al.* Microfluidic techniques for high throughput single cell analysis[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2016, 40: 90–96. doi: [10.1016/j.copbio.2016.02.015](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.02.015).
- [26] GOLOWASCH J, THOMAS G, TAYLOR A L, *et al.* Membrane capacitance measurements revisited: Dependence of capacitance value on measurement method in nonisopotential neurons[J]. *Journal of Neurophysiology*, 2009, 102(4): 2161–2175. doi: [10.1152/jn.00160.2009](https://doi.org/10.1152/jn.00160.2009).
- [27] SAKABA T, HAZAMA A, and MARUYAMA Y. Patch-clamp capacitance measurements[M]. OKADA Y. Patch clamp techniques: From Beginning to Advanced Protocols. Tokyo, 2012: 277–286. doi: [10.1007/978-4-431-53993-3_17](https://doi.org/10.1007/978-4-431-53993-3_17).
- [28] NEHER E and MARTY A. Discrete changes of cell membrane capacitance observed under conditions of enhanced secretion in bovine adrenal chromaffin cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1982, 79(21): 6712–6716. doi: [10.1073/pnas.79.21.6712](https://doi.org/10.1073/pnas.79.21.6712).

- [29] FERNANDEZ J M, NEHER E, and GOMPERTS B D. Capacitance measurements reveal stepwise fusion events in degranulating mast cells[J]. *Nature*, 1984, 312(5993): 453–455. doi: [10.1038/312453a0](https://doi.org/10.1038/312453a0).
- [30] LINDAU M and NEHER E. Patch-clamp techniques for time-resolved capacitance measurements in single cells[J]. *Pflügers Archiv*, 1988, 411(2): 137–146. doi: [10.1007/BF00582306](https://doi.org/10.1007/BF00582306).
- [31] DONNELLY D F. A novel method for rapid measurement of membrane resistance, capacitance, and access resistance[J]. *Biophysical Journal*, 1994, 66(3): 873–877. doi: [10.1016/S0006-3495\(94\)80863-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(94)80863-X).
- [32] ROHLICEK V and SCHMID A. Dual-frequency method for synchronous measurement of cell capacitance, membrane conductance and access resistance on single cells[J]. *Pflügers Archiv*, 1994, 428(1): 30–38. doi: [10.1007/BF00374749](https://doi.org/10.1007/BF00374749).
- [33] O'SHAUGHNESSY T J and KIM Y I. A computer-based system for the measurement of membrane capacitance to monitor exocytosis in secretory cells[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 1995, 57(1): 1–8. doi: [10.1016/0165-0270\(94\)00104-O](https://doi.org/10.1016/0165-0270(94)00104-O).
- [34] NEEF A, HEINEMANN C, and MOSER T. Measurements of membrane patch capacitance using a software-based lock-in system[J]. *Pflügers Archiv*, 2007, 454(2): 335–344. doi: [10.1007/s00424-006-0191-1](https://doi.org/10.1007/s00424-006-0191-1).
- [35] CHEN Peng and GILLIS K D. The noise of membrane capacitance measurements in the whole-cell recording configuration[J]. *Biophysical Journal*, 2000, 79(4): 2162–2170. doi: [10.1016/S0006-3495\(00\)76464-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76464-2).
- [36] ZHANG Hao, QU Anlian, LUO Jie, *et al.* Error analysis of C_m measurement under the whole-cell patch-clamp recording[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2010, 185(2): 307–314. doi: [10.1016/j.jneumeth.2009.10.003](https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.10.003).
- [37] KODANDARAMAIAH S B, FRANZESI G T, CHOW B Y, *et al.* Automated whole-cell patch-clamp electrophysiology of neurons in vivo[J]. *Nature Methods*, 2012, 9(6): 585–587. doi: [10.1038/nmeth.1993](https://doi.org/10.1038/nmeth.1993).
- [38] FRANZ D, OLSEN H L, KLINK O, *et al.* Automated and manual patch clamp data of human induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons[J]. *Scientific Data*, 2017, 4(1): 170056. doi: [10.1038/sdata.2017.56](https://doi.org/10.1038/sdata.2017.56).
- [39] GOATER A D and PETHIG R. Electrorotation and dielectrophoresis[J]. *Parasitology*, 1998, 117 Suppl: S177–S189. doi: [10.1017/s0031182099004114](https://doi.org/10.1017/s0031182099004114).
- [40] GIMSA J. A comprehensive approach to electro-orientation, electrodeformation, dielectrophoresis, and electrorotation of ellipsoidal particles and biological cells[J]. *Bioelectrochemistry*, 2001, 54(1): 23–31. doi: [10.1016/S0302-4598\(01\)00106-4](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(01)00106-4).
- [41] ARNOLD W M and ZIMMERMANN U. Rotating-field-induced rotation and measurement of the membrane capacitance of single mesophyll cells of *Avena sativa*[J]. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 1982, 37(10): 908–915. doi: [10.1515/znc-1982-1010](https://doi.org/10.1515/znc-1982-1010).
- [42] ARNOLD W M, WENDT B, ZIMMERMANN U, *et al.* Rotation of a single swollen thylakoid vesicle in a rotating electric field. Electrical properties of the photosynthetic membrane and their modification by ionophores, lipophilic ions and pH[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1985, 813(1): 117–131. doi: [10.1016/0005-2736\(85\)90352-9](https://doi.org/10.1016/0005-2736(85)90352-9).
- [43] FUHR G, GLASER R, and HAGEDORN R. Rotation of dielectrics in a rotating electric high-frequency field. Model experiments and theoretical explanation of the rotation effect of living cells[J]. *Biophysical Journal*, 1986, 49(2): 395–402. doi: [10.1016/S0006-3495\(86\)83649-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(86)83649-9).
- [44] FUHR G and KUZMIN P I. Behavior of cells in rotating electric fields with account to surface charges and cell structures[J]. *Biophysical Journal*, 1986, 50(5): 789–795. doi: [10.1016/S0006-3495\(86\)83519-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(86)83519-6).
- [45] HUGHES M P, WANG X B, BECKER F F, *et al.* Computer-aided analyses of electric fields used in electrorotation studies[J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 1994, 27(7): 1564–1570. doi: [10.1088/0022-3727/27/7/035](https://doi.org/10.1088/0022-3727/27/7/035).
- [46] HUGHES M P. Computer-aided analysis of conditions for optimizing practical electrorotation[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 1998, 43(12): 3639–3648. doi: [10.1088/0031-9155/43/12/019](https://doi.org/10.1088/0031-9155/43/12/019).
- [47] DE GASPERIS G, WANG Xiaobo, YANG Jun, *et al.* Automated electrorotation: Dielectric characterization of living cells by real-time motion estimation[J]. *Measurement Science and Technology*, 1998, 9(3): 518–529. doi: [10.1088/0957-0233/9/3/029](https://doi.org/10.1088/0957-0233/9/3/029).
- [48] ZHOU X F, BURT J P H, and PETHIG R. Automatic cell electrorotation measurements: Studies of the biological effects of low-frequency magnetic fields and of heat shock[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 1998, 43(5): 1075–1090. doi: [10.1088/0031-9155/43/5/003](https://doi.org/10.1088/0031-9155/43/5/003).
- [49] CRISTOFANILLI M, DE GASPERIS G, ZHANG Lisha, *et al.* Automated electrorotation to reveal dielectric variations related to HER-2/neu overexpression in MCF-7 sublines[J]. *Clinical Cancer Research*, 2002, 8(2): 615–619.
- [50] MIETCHEN D, SCHNELLE T, MÜLLER T, *et al.* Automated dielectric single cell spectroscopy- temperature dependence of electrorotation[J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2002, 35(11): 1258–1270. doi: [10.1088/0022-3727/35/11/324](https://doi.org/10.1088/0022-3727/35/11/324).

- [51] BECKER F F, WANG Xujing, HUANG Y, *et al.* Separation of human breast cancer cells from blood by differential dielectric affinity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(3): 860–864. doi: [10.1073/pnas.92.3.860](https://doi.org/10.1073/pnas.92.3.860).
- [52] LANNIN T, SU W W, GRUBER C, *et al.* Automated electrorotation shows electrokinetic separation of pancreatic cancer cells is robust to acquired chemotherapy resistance, serum starvation, and EMT[J]. *Biomicrofluidics*, 2016, 10(6): 064109. doi: [10.1063/1.4964929](https://doi.org/10.1063/1.4964929).
- [53] HU Xun, ARNOLD W M, and ZIMMERMANN U. Alterations in the electrical properties of T and B lymphocyte membranes induced by mitogenic stimulation. Activation monitored by electro-rotation of single cells[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1990, 1021(2): 191–200. doi: [10.1016/0005-2736\(90\)90033-K](https://doi.org/10.1016/0005-2736(90)90033-K).
- [54] YANG Jun, HUANG Ying, WANG Xujing, *et al.* Dielectric properties of human leukocyte subpopulations determined by electrorotation as a cell separation criterion[J]. *Biophysical Journal*, 1999, 76(6): 3307–3314. doi: [10.1016/S0006-3495\(99\)77483-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77483-7).
- [55] LABEED F H, COLEY H M, THOMAS H, *et al.* Assessment of multidrug resistance reversal using dielectrophoresis and flow cytometry[J]. *Biophysical Journal*, 2003, 85(3): 2028–2034. doi: [10.1016/S0006-3495\(03\)74630-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)74630-X).
- [56] DENICOLA P D B. Advances in hematology analyzers[J]. *Topics in Companion Animal Medicine*, 2011, 26(2): 52–61. doi: [10.1053/j.tcam.2011.02.001](https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.02.001).
- [57] CHOI H, KIM K B, JEON C S, *et al.* A label-free DC impedance-based microcytometer for circulating rare cancer cell counting[J]. *Lab on A Chip*, 2013, 13(5): 970–977. doi: [10.1039/c2lc41376k](https://doi.org/10.1039/c2lc41376k).
- [58] RHO J, JANG W, HWANG I, *et al.* Multiplex immunoassays using virus-tethered gold microspheres by DC impedance-based flow cytometry[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 102: 121–128. doi: [10.1016/j.bios.2017.11.027](https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.11.027).
- [59] SIMON P, FRANKOWSKI M, BOCK N, *et al.* Label-free whole blood cell differentiation based on multiple frequency AC impedance and light scattering analysis in a micro flow cytometer[J]. *Lab on A Chip*, 2016, 16(12): 2326–2338. doi: [10.1039/c6lc00128a](https://doi.org/10.1039/c6lc00128a).
- [60] CAREY T R, COTNER K L, LI B, *et al.* Developments in label-free microfluidic methods for single-cell analysis and sorting[J]. *WIREs:Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2019, 11(1): e1529. doi: [10.1002/wnan.1529](https://doi.org/10.1002/wnan.1529).
- [61] TERSTAPPEN L W M M, DE GROOTH B G, TEN NAPEL C H H, *et al.* Discrimination of human cytotoxic lymphocytes from regulatory and B-lymphocytes by orthogonal light scattering[J]. *Journal of Immunological Methods*, 1986, 95(2): 211–216. doi: [10.1016/0022-1759\(86\)90408-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90408-4).
- [62] CIFANI N, PROIETTA M, TAURINO M, *et al.* Monocyte Subsets, stanford-a acute aortic dissection, and carotid artery stenosis: New evidences[J]. *Journal of Immunology Research*, 2019, 2019: 9782594. doi: [10.1155/2019/9782594](https://doi.org/10.1155/2019/9782594).
- [63] DANNHAUSER D, ROSSI D, RIPALDI M, *et al.* Single-cell screening of multiple biophysical properties in leukemia diagnosis from peripheral blood by pure light scattering[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 12666. doi: [10.1038/s41598-017-12990-4](https://doi.org/10.1038/s41598-017-12990-4).
- [64] SCHMIT T, KLOMP M, and KHAN M N. An overview of flow cytometry: Its principles and applications in allergic disease research[M]. NAGAMOTO-COMBS K. *Animal Models of Allergic Disease: Methods and Protocols*. New York, USA, 2021, 2223: 169–182. doi: [10.1007/978-1-0716-1001-5_13](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1001-5_13).
- [65] RUBAN G I, KOSMACHEVA S M, GONCHAROVA N V, *et al.* Investigation of morphometric parameters for granulocytes and lymphocytes as applied to a solution of direct and inverse light-scattering problems[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2007, 12(4): 044017. doi: [10.1117/1.2753466](https://doi.org/10.1117/1.2753466).
- [66] LIU Shanshan, YUAN Zeng, QIAO Xu, *et al.* Light scattering pattern specific convolutional network static cytometry for label-free classification of cervical cells[J]. *Cytometry Part A*, 2021, 99(6): 610–621. doi: [10.1002/cyto.a.24349](https://doi.org/10.1002/cyto.a.24349).
- [67] STAVRAKIS S, HOLZNER G, CHOO J, *et al.* High-throughput microfluidic imaging flow cytometry[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 55: 36–43. doi: [10.1016/j.copbio.2018.08.002](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.08.002).
- [68] GAWAD S, SCHILD L, and RENAUD P. Micromachined impedance spectroscopy flow cytometer for cell analysis and particle sizing[J]. *Lab on A Chip*, 2001, 1(1): 76–82. doi: [10.1039/b103933b](https://doi.org/10.1039/b103933b).
- [69] CHEUNG K, GAWAD S, and RENAUD P. Impedance spectroscopy flow cytometry: On-chip label-free cell differentiation[J]. *Cytometry Part A*, 2005, 65A(2): 124–132. doi: [10.1002/cyto.a.20141](https://doi.org/10.1002/cyto.a.20141).
- [70] HOLMES D, PETTIGREW D, RECCIUS C H, *et al.* Leukocyte analysis and differentiation using high speed microfluidic single cell impedance cytometry[J]. *Lab on A Chip*, 2009, 9(20): 2881–2889. doi: [10.1039/b910053a](https://doi.org/10.1039/b910053a).
- [71] HOLMES D and MORGAN H. Single cell impedance cytometry for identification and counting of CD4 T-cells in human blood using impedance labels[J]. *Analytical*

- Chemistry*, 2010, 82(4): 1455–1461. doi: [10.1021/ac902568p](https://doi.org/10.1021/ac902568p).
- [72] CASELLI F and BISEGNA P. Simulation and performance analysis of a novel high-accuracy sheathless microfluidic impedance cytometer with coplanar electrode layout[J]. *Medical Engineering & Physics*, 2017, 48: 81–89. doi: [10.1016/j.medengphy.2017.04.005](https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2017.04.005).
- [73] REALE R, DE NINNO A, BUSINARO L, *et al.* High-throughput electrical position detection of single flowing particles/cells with non-spherical shape[J]. *Lab on A Chip*, 2019, 19(10): 1818–1827. doi: [10.1039/C9LC00071B](https://doi.org/10.1039/C9LC00071B).
- [74] HONRADO C, MCGRATH J S, REALE R, *et al.* A neural network approach for real-time particle/cell characterization in microfluidic impedance cytometry[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2020, 412(16): 3835–3845. doi: [10.1007/s00216-020-02497-9](https://doi.org/10.1007/s00216-020-02497-9).
- [75] YANG Dahou and AI Ye. Microfluidic impedance cytometry device with N-shaped electrodes for lateral position measurement of single cells/particles[J]. *Lab on A Chip*, 2019, 19(21): 3609–3617. doi: [10.1039/c9lc00819e](https://doi.org/10.1039/c9lc00819e).
- [76] SPENCER D and MORGAN H. High-speed single-cell dielectric spectroscopy[J]. *ACS Sensors*, 2020, 5(2): 423–430. doi: [10.1021/acssensors.9b02119](https://doi.org/10.1021/acssensors.9b02119).
- [77] TANG Tao, LIU Xun, KIYA R, *et al.* Microscopic impedance cytometry for quantifying single cell shape[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 193: 113521. doi: [10.1016/j.bios.2021.113521](https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113521).
- [78] ZHAO Yang, CHEN Deyong, LI Hao, *et al.* A microfluidic system enabling continuous characterization of single-cell specific membrane capacitance and cytoplasm conductivity[C]. The 8th Annual IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, Suzhou, China, 2013: 344–347. doi: [10.1109/NEMS.2013.6559747](https://doi.org/10.1109/NEMS.2013.6559747).
- [79] ZHAO Yang, WANG Ke, CHEN Deyong, *et al.* Development of microfluidic impedance cytometry enabling the quantification of specific membrane capacitance and cytoplasm conductivity from 100, 000 single cells[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 111: 138–143. doi: [10.1016/j.bios.2018.04.015](https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.04.015).
- [80] ZHANG Yi, LIANG Hongyan, TAN Huiwen, *et al.* Development of microfluidic platform to high-throughput quantify single-cell intrinsic bioelectrical markers of tumor cell lines, subtypes and patient tumor cells[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 317: 128231. doi: [10.1016/j.snb.2020.128231](https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128231).

梁红雁: 女, 1994年生, 博士生, 研究方向为单细胞检测分析.

陈德勇: 男, 1967年生, 研究员, 研究方向为MEMS传感技术.

王军波: 男, 1973年生, 研究员, 研究方向为MEMS传感技术.

陈健: 男, 1981年生, 研究员, 研究方向为单细胞检测分析.

责任编辑: 陈倩