

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023 年 3 月 30 日 (30.03.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/046166 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 33/483 (2006.01) **G01N 21/55** (2014.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/121338

(22) 国际申请日: 2022 年 9 月 26 日 (26.09.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202111126875.2 2021 年 9 月 26 日 (26.09.2021) CN

(71) 申请人: 瑞新 (福州) 科技有限公司 (RUIXIN FUZHOU TECHNOLOGY CO., LTD) [CN/CN]; 中国福建省福州市闽侯县南屿镇乌龙江南大道 26-1 号医工科技大楼北楼九层 910、912 室林哲, Fujian 350100 (CN)。

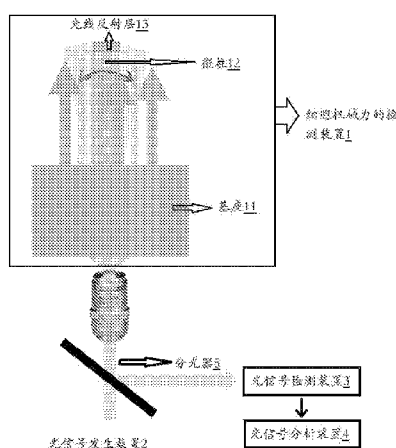
(72) 发明人: 林哲 (LIN, Zhe); 中国福建省福州市闽侯县南屿镇乌龙江南大道 26-1 号医工科技大楼北楼九层 910、912 室林哲, Fujian 350100 (CN)。

(74) 代理人: 福州市景弘专利代理事务所 (普通合伙) (FUZHOU GEMHOPE PATENT AGENCY); 中国福建省福州市鼓楼区铜盘路软件大道 89 号福州软件园 C 区 34# 楼七层 703 林祥翔, Fujian 350003 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,

(54) **Title:** CELLULAR MECHANICAL FORCE DETECTION SYSTEM, METHOD AND APPARATUS AND MANUFACTURING METHOD THEREFOR

(54) 发明名称: 细胞机械力的检测系统、方法、装置及其制备方法



- 1 Cellular mechanical force detection apparatus
- 2 Light signal generation apparatus
- 3 Light signal detection apparatus
- 4 Light signal analysis apparatus
- 5 Light splitter
- 11 Base
- 12 Micro-column
- 13 Light reflecting layer

图 3

(57) **Abstract:** A cellular mechanical force detection apparatus (1), comprising: a base (11), and a micro-column array formed by a plurality of micro-columns (12) that are provided on the base (11) and can be deformed by means of the cellular mechanical force. The top of the micro-column (12) or the upper portion of the column surface has a light reflecting layer (13). Moreover, a detection system, a detection method, and a manufacturing method are provided. The solution has the advantages of high throughput, low cost, single cell resolution, real-time monitoring, high sensitivity, capability of simulating a cellular microenvironment, capability of simulating components and forms of extracellular matrixes, and the like, and can cope with richer technical demand scenarios.

(57) **摘要:** 一种细胞机械力的检测装置 (1), 包括: 基座 (11), 以及设置于基座 (11) 上的, 可受细胞机械力作用而产生形变的多个微柱 (12) 构成的微柱阵列, 微柱 (12) 的顶部或柱面上部具有光线反射层 (13)。同时提供了检测系统、检测方法以及制备方法。方案具有高通量低成本、单细胞分辨率、实时监测、高灵敏度、可模拟细胞微环境、可模拟细胞外基质的组分和形态等优势, 可应付更丰富的技术需求场景。

PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 关于发明人身份(细则4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

细胞机械力的检测系统、方法、装置及其制备方法

技术领域

本发明涉及生物技术领域，尤其涉及一种细胞机械力的检测系统、细胞机械力的检测方法、细胞机械力的检测装置、细胞机械力的检测装置的制备方法。

5 背景技术

细胞对周边微环境会施加微小的机械力，细胞力在包括粘附，迁移，增殖，分化，凋亡等过程中发挥关键作用，并且与其它生化信号一起，在胚胎发育、干细胞分化、免疫过程、伤口修复、癌症转移等过程中起到至关重要的调控作用，因此也成为不少疾病治疗的靶点。例如在之前的研究中发现，正常细胞，良性及恶性肿瘤细胞的最大细胞机械力存在巨大差异，因此对细胞机械力进行高通量且精准的测量将成为多项生物医学应用的核心技术。但测量最大细胞机械力的意义有限，高解析度、实时、高通量的力学传感器将成为下一代细胞力测量工具的核心需求。

10 现有对细胞机械力的测量的技术主要方法包括“机械力显微镜”，微纳米悬臂及微柱阵列。主要原理是通过测量细胞对弹性基底施力引起基底的形变来计算细胞的机械力。迄今为止细胞机械力显微镜（TFM）是运用最广的细胞机械力测量的技术方法，其原理是基于连续弹性基底（例如可起皱的薄硅膜或镶嵌带荧光微珠的聚丙烯酰胺 PA 凝胶）。在弹性基底上进行细胞培养时，细胞会对基底施加机械力使基底发生变形，变形过程中荧光微珠产生相应的位移；利用荧光显微镜等方法跟踪荧光微珠的运动轨迹，通过图像处理等方法获得基底应变信息。基底弹性已知的情况下可通过力学模型，反推出细胞的机械力。然而这种测量方法存在以下缺陷，首先其依赖荧光显微镜成像并需要进行复杂的计算，过程复杂，通量低且成本高。其次 TFM 的原理不是对细胞机械力进行直接测量，而是通过观察基底中荧光微珠的位置变化反推细胞机械力。尽管通过特殊工艺可保证大部分颗粒沉积在表面，但是在长时间浸泡后，其极有可能逸出或下降最终导致表面荧光颗粒的密度降低。荧光显微镜通常景深较大，可能会拍摄到处于不同平面的颗粒，从而导致后期位移计算的偏差，导致测量结果不准确。最后，另外，长期浸泡在培养液中会改变凝胶的弹性模量，势必影响细胞机械力计算的准确性，因此在测量过程中需要对凝胶弹性模量进行检测校准，极大增加了工作量。此外长期激光照射会对细胞产生光毒性，也会引发荧光微珠光淬灭，因此 TFM 难以胜任细胞机械力的长期连续检测，而研究细胞生长和分化及其对药物的反应过程通常都需要较长时间的监测，因此以上所述 TFM 的缺陷极大地限制了其在生物医学领域方面的应用。

20 与 TFM 相比，微纳米传感器（例如微悬臂阵列和微柱阵列）也可用于直接测量细胞机械力。例如微柱阵列，细胞贴附于与微柱上方表面，通过显微镜拍摄微柱底部和顶部的图片即可解算出微柱的弯曲变形，从而反推出该点细胞机械力的大小与方向。和 TFM 一样，微纳米传感器也需要依赖显微镜高解析度拍照对设备要求高，且容易在拍照过程中产生误差造成结果不准确。此外显微镜拍摄得到的图片需要经过复杂的图像处理，并根据力学模型来计算求解细胞机械力的大小。操作复杂且耗时，难以实现实时性，高通量，低成本，及对细胞的长期检测。因此现有技术大都仅限于生物力学领域科研，难以实用化。

发明内容

35 为此，需要提供一种能够克服现有技术的不足，无需显微镜、实时、高通量及低成本的细胞机械力定量测量及监测方案，来解决下一代细胞力测量工具的核心需求。

为实现上述目的，发明人提供了一种细胞机械力的检测装置，包括：

基座，以及

40 设置于基座上的，可受细胞机械力作用而产生形变的多个微柱构成的微柱阵列，所述微柱的顶部或柱面上部具有光线反射层。

进一步地，所述的细胞机械力的检测装置中，所述基座为透光基座，所述微柱的柱体可透射光线；所述微柱顶部具有光线反射层。

进一步地，所述的细胞机械力的检测装置中，所述微柱的柱面具有抗反射层。

45 进一步地，所述的细胞机械力的检测装置中，所述光线反射层为金属箔层，金属氧化物或金属盐，超细玻珠或微棱镜，有机反光材料一种或一种以上的组合。

进一步地,所述的细胞机械力的检测装置中,所述微柱阵列的全部或部分微柱的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质。

进一步地,所述的细胞机械力的检测装置中,所述具有细胞黏附作用的物质包括如下物质中的一种或多种:细胞外基质分子,包括胶原蛋白、纤粘连蛋白、玻璃粘连蛋白、层粘连蛋白或弹性蛋白原;细胞外基质的模拟物质,包括含有 RGD 粘附序列的多肽;具有细胞黏附促进机制的物质,包括聚赖氨酸;与细胞表面受体具有相互作用的物质。

进一步地,所述的细胞机械力的检测装置中,所述微柱阵列的预设区域的部分微柱的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质。

进一步地,所述的细胞机械力的检测装置中,所述微柱阵列在顶部端面上未设有具有细胞黏附作用的物质的微柱的顶部端面上设有具有细胞黏附抑制作用的物质。

进一步地,所述的细胞机械力的检测装置中,所述微柱的横截面形状为圆形、椭圆形或多边形。

进一步地,所述的细胞机械力的检测装置中,所述微柱阵列的尺寸范围包括:柱高 10nm~500 μ m,柱间距 10nm~50 μ m,柱上表面直径 50nm~50 μ m。

进一步地,所述的细胞机械力的检测装置还包括细胞限制机构,所述细胞限制机构包括一个或若干个限制面,所述限制面为与基座所在平面垂直、连接于所述基座或与所述基座一体成型的平面或曲面,且所述限制面的高度高于微柱并将预设数量的微柱包绕在内。

发明人同时提供了一种细胞机械力的检测系统,包括上述技术方案所述的细胞机械力的检测装置、光信号发生装置和光信号检测装置;

所述光信号发生装置具有光源,所述光源发出的光线通过入射光路照射到微柱的光线反射层;

所述光信号检测装置用于检测从微柱的光线反射层反射的光线,所述光线反射层反射的光线经过反射光路进入光信号检测装置。

进一步地,所述的细胞机械力的检测系统中,所述细胞机械力的检测装置的基座为透光基座,所述微柱的柱体可透射光线;所述微柱顶部具有光线反射层;

所述光源发出的光线通过入射光路从细胞机械力的检测装置的基座照射到微柱的光线反射层;

所述光信号检测装置用于检测从微柱顶部的光线反射层反射的光线,所述光线反射层反射的光线经过反射光路进入光信号检测装置。

进一步地,所述的细胞机械力的检测系统中,还包括用于分析光信号的光信号分析装置。

发明人同时还提供了一种细胞机械力的检测方法,包括如下步骤:

使用如上技术方案所述的细胞机械力的检测系统中的光信号发生装置发出光线;

使用如上技术方案所述的细胞机械力的检测系统中的光信号检测装置检测经所述细胞机械力的检测装置作用后的光线。

进一步地,所述的细胞机械力的检测方法中,还包括步骤:使用光信号分析装置对所述细胞机械力的检测装置与待测细胞发生细胞机械力作用前后的反射光线进行对比分析,获取细胞机械力信息。

发明人同时还提供了一种细胞状态的检测方法,其包括:采用上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测系统或上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测方法获取细胞机械力信息,根据所述细胞机械力信息分析并确定细胞状态;

所述细胞状态,具体包括细胞黏附,细胞活力,细胞分化/活化,细胞增殖和/或细胞迁移。

进一步地,所述细胞状态为静止细胞状态或实时细胞状态。

发明人同时还提供了一种细胞识别的方法,其包括:采用上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测系统或上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测方法获取细胞机械力信息,根据所述细胞机械力信息区分不同的细胞种类。

进一步地,所述细胞识别的方法中,步骤“采用上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测系统或上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测方法获取细胞机械力信息,根据所述细胞机械力信息区分不同的细胞种类”具体包括:

获取细胞信息,所述细胞信息包括基于细胞机械力的检测装置获取的细胞中某点的细胞机械力信

息，所述细胞机械力信息包括该点细胞机械力的大小；

对细胞信息做预处理，形成结构化细胞信息；所述结构化细胞信息包括细胞数目、细胞特征数目和各细胞特征的特征信息；

以结构化细胞信息作为输入数据，利用有监督、无监督或半监督的机器学习建立细胞特征模型，并将所述细胞特征模型应用于未知类型或未知状态的细胞的分类或聚类。

进一步地，所述的细胞识别的方法中，所述细胞机械力信息还包括该点细胞机械力的方向。

进一步地，所述的细胞识别的方法中，所述细胞机械力信息还包括该点细胞机械力的大小或方向在一定时间间隔内的变化。

进一步地，所述的细胞识别的方法中，所述细胞信息还包括细胞形貌信息。

100 发明人同时还提供了一种细胞机械力检测装置的制备方法，包括如下步骤：在微柱的顶部或上半柱面铺设一层反射层，获得顶部或上半柱面具有反射层的微柱。

进一步地，所述的细胞机械力检测结构的制备方法中，在步骤“在微柱的顶部或上半柱面铺设一层反射层”之前还包括步骤：

在微柱整体均匀镀一层抗反射层；

105 将顶部或上半柱面的抗反射层去除。

进一步地，所述的细胞机械力检测结构的制备方法中，所述“在微柱的顶部或上半柱面铺设一层反射层，获得顶部或上半柱面具有反射层的微柱”具体为：在微柱的顶部或上半柱面均匀溅射一层反射金属，获得顶部或上半柱面具有金属光线反射层的微柱。

110 进一步地，上述任一方案中，细胞可以是单细胞，或者两个以上细胞形成的任何形态的多细胞聚合体。本发明对单细胞或两个以上多细胞形成的各种形态无限制。

区别于现有技术，上述技术方案具有如下优点：

首先，高通量低成本：与现有 TFM 及普通微柱阵列相比，本发明的技术方案摆脱了对显微镜的依赖，极大地简化了操作流程，因为无需通过显微镜高分辨率成像，只需通过对反射光的强度进行监测，即可实现高通量对细胞进行监测，且成本低廉。

115 其次，**单细胞分辨率**：分辨率高，可对每只细胞进行实时监测，可结合其他单细胞分析技术测量细胞对药物反应的异质性；**实时监测**：无需荧光，可避免激光对细胞的光毒性作用，因此适合长期监测，可用于研究细胞对药物的长期反应；**高灵敏度**：通过反射讯号，将微柱形变信号放大，增加对形变监测的灵敏度。检测微、纳米柱弯曲形变一般依赖光学系统（如显微镜）进行检测，但微柱尺寸越小，对光学系统的精密度和解析度要求越高。例如 2 微米宽，6 微米高的微米柱，需要 20 倍以上的物镜搭配共轭焦系统才可有效观测。而本发明利用镜面反射原理通过探测反射光的衰减，实际使微柱形变的信号得以放大，经实验验证，同样的讯号在 5 倍物镜下即可观测。搭配特殊的读取系统，不需依赖高倍数的光学物镜即可有效检测微/纳米柱形变，从而极大降低系统成本，并有效提升通量。

再次：可模拟细胞微环境；可模拟细胞外基质的组分和形态，可应付更丰富的技术需求场景。

120 再次：可以对多层细胞，包括肿瘤多聚体等细胞机械力进行检测，使其可以应用于药物筛选、再生医学、基因编辑、精准医疗、器官发育、疾病建模中的需要对多细胞聚合体表征的场景。

附图说明

图 1 为本发明第一实施例中一种细胞机械力的检测装置的结构示意图；

图 2 为本发明第一实施例中一种细胞机械力的检测装置的微柱（实物）的扫描电子显微镜（SEM）图像；其中，图 2a 为细胞机械力检测装置的俯视图，图 2b 为细胞机械力检测装置的侧视图；

130 图 3 为本发明第九实施例相关的一种细胞机械力的检测系统的结构示意图；

图 4 为本发明第十实施例相关的一种细胞机械力的检测系统的结构示意图；

图 5 为在顶部位置设有光线反射层（金）的微柱（聚二甲基硅氧烷）的扫描电子显微镜图像；其中，图 5a 为微柱的扫描电子显微镜图像；图 5b 为微柱顶部区域的元素表征图；图 5c 为微柱侧面区域（除顶部区域外）的元素表征图；

135 图 6a 为细胞粘附于顶部设有纤连蛋白的微柱群构成的预设图案的荧光成像图；

图 6b 为细胞粘附于顶部设有纤连蛋白的微柱群上测得的光反射信号解算出来的细胞力分布图；
图 7a 为采用 OKT3 抗体作为具有细胞黏附作用的物质的试验示意图；
图 7b 的上部分图像为细胞分别粘附于顶部设有 OKT3 抗体、纤连蛋白的微柱顶部的荧光成像图；
图 7b 的下部分图像为在微柱上测得的光反射信号解算出的细胞机械力大小分布图；
140 图 7c 为分别在 OKT3 抗体、纤连蛋白涂敷表面测得的力学大小对比图；
图 7d 为将 T 细胞种植于 OKT3 抗体表面（微柱顶部）后发生的细胞力学动态变化图；
图 8 为具有细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的结构示意图 a；
图 9 为具有细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的结构示意图 b；
图 10a 为采用硅薄膜作为细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的实物图；
145 图 10b 为在光反射下采用硅薄膜作为细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的荧光显微镜图；
图 10c 为图 10b 的放大图；
图 11 第十一实施例的细胞机械力的检测系统监测细胞机械力的荧光显微镜图像；
图 12a 为第十二实施例的细胞机械力检测系统的结构示意图；
图 12b 为第十二实施例的光信号检测装置获取到的细胞机械力检测装置光反射讯号的图像；
150 图 12c 为第十二实施例的光信号分析装置处理后的力学大小及分布的可视化效果图；
图 13a 为流体开启前后微流体环境中细胞机械力检测装置的结构示意图；
图 13b 为流体开启前微柱的明视场显微镜图、反射光信号分布图以及二者叠合效果的对比图；其中，
叠合效果图是指将微柱的明视场显微镜图和反射光信号分布图叠合而成的效果图；
图 13c 为流体开启后微柱的明视场显微镜图、反射光信号分布图以及二者叠合效果图的对比图；其
155 中，叠合效果图是指将微柱的明视场显微镜图和反射光信号分布图叠合而成的效果图；
图 13d 为流体开启前后光反射信号的强度值；
图 13e 为光反射信号衰减和微柱顶部平移的线性区间；
图 14a 为细胞机械力的检测装置的微柱与细胞发生接触前后的结构示意图；
图 14b 为光信号检测装置获取的反射光信号分布图；
160 图 14c 为细胞迁移过程的监测图；
图 14d 为细胞迁移过程中的反射光信号分布图；
图 15a 为健康细胞和肺非小细胞癌细胞混合体系的荧光成像图；
图 15b 为光信号检测装置获取到的细胞机械力检测装置光反射讯号分布图；
图 15c 为光信号分析装置处理后的力学大小及分布的可视化效果图；
165 图 15d 为图 15c 中的健康细胞和肺非小细胞癌细胞的代表性单细胞细胞力分布的放大图；
图 15e 为健康细胞和肺非小细胞癌细胞在细胞形态上的对比图；
图 15f 为健康细胞、肺非小细胞癌细胞以及这两种细胞以不同比例混合后的反射信号强弱的对比
图；
图 15g 为将图 15c 经过结构化处理后，基于结构化细胞信息处理得到的聚类分析图；
170 图 16a 为细胞活力检测方法的操作流程示意图；
图 16b 为 A549 细胞在不同剂量的 5FU 处理 24h 后，MTT 法测定得到的细胞活力以及细胞机械力
所反映的细胞活力的对比图；
图 16c 为 A549 细胞在不同剂量的 5FU 处理不同时间后，MTT 法测定得到的细胞活力以及细胞机
械力所反映的细胞活力的对比图；
175 图 17a 为细胞状态检测方法的操作过程图；
图 17b 为 M0 巨噬细胞分化至 M1 状态的荧光显微镜图；
图 17c 为 M0 巨噬细胞分化至 M2 状态的荧光显微镜图；
图 17d 为 M0 巨噬细胞、M1 状态以及 M2 状态的细胞黏附面积对比图；
图 17e 为 M0 巨噬细胞、M1 状态以及 M2 状态的细胞圆度对比图；
180 图 17f 为 M0 巨噬细胞、M1 状态以及 M2 状态的机械力对比图；

图 18a 为具有第一种形态的肿瘤细胞多聚体在有/无 5-Fu 作用后的表征图；图中，从左到右分别是细胞膜荧光和反射讯号的混合图像（1）、光反射讯号（2）、细胞核（3）、细胞膜（4）及经过光信号分析装置（ImageJ）处理后的细胞力可视化图像（5）；

图 18b 为具有第二种形态的肿瘤细胞多聚体在有/无 5-Fu 作用后的表征图；图中，从左到右分别是细胞膜荧光和反射讯号的混合图像（1）、光反射讯号（2）、细胞核（3）、细胞膜（4）及经过光信号分析装置（ImageJ）处理后的细胞力可视化图像（5）。

附图标记说明：

1-细胞机械力的检测装置；2-光信号发生装置；3-光信号检测装置；4-光信号分析装置
5-分光器；

11-基座；12-微柱；13-光线反射层；15-凹陷空间；16-限制面

具体实施方式

为详细说明技术方案的技术内容、构造特征、所实现目的及效果，以下结合具体实施例并配合附图详予说明。

第一实施例 一种细胞机械力的检测装置

请参照图 1，为一种细胞机械力的检测装置的结构示意图 a，图中展示的细胞机械力的检测装置包括透光的基座 11 以及设置在该基座 11 上的、可受细胞机械力作用而产生形变的微柱 12，微柱 12 的顶部涂覆有光线反射层 13，光线反射层 13 的厚度为 5nm（在其他一些实施方式中，光线反射层 13 的厚度可以在 5nm-20nm 之间——涂层的厚度和涂层材料有关，在应用同种涂层材料的前提下，涂层厚度的选择应以保证透光效果、微柱柱体稳定性、保证与微柱柱体的连接不脱落为限）。微柱 12 的柱体可以透射光线，图中方向相反的箭头簇表示入射光线和反射光线。（注意：本实施例中用了“涂层”一词，仅表示本实施例中的光线反射层 13 可以是涂覆工艺制备的，并不限定光线反射层 13 一定是涂覆工艺制备的）

请参照图 2，为本实施例的细胞机械力检测装置的微柱 12（实物）的扫描电子显微镜（SEM）图像，图 2a 为细胞机械力检测装置的俯视图，图 2b 为细胞机械力检测装置的侧视图。由图 2 可以看出，该细胞机械力检测装置的微柱的微结构整齐均一，尺寸可控，相比现有的细胞机械力检测装置，基于本实施例的细胞机械力检测装置测量得到的力学值更为精准。

当本实施方式所述的细胞机械力的检测装置 1 在投入使用时，微柱 12 的数量将不止一个。请参阅图 3，为本发明第九实施例相关的细胞机械力的检测系统的结构示意图；图 3 可用于对本实施例的理解。图 3 展示的系统除了涉及本实施例阐述的细胞机械力的检测装置 1 之外，还涉及：在基座 11 的下方设置的具有光源的光信号发生装置 2 以及光信号检测装置 3，所述光源发出的光线通过入射光路从细胞机械力的检测装置 1 的透光的基座 11 照射到微柱 12 的光线反射层；所述光信号检测装置 3 用于检测从微柱顶部的光线反射层 13 反射后的光线，所述光线反射层 13 反射的光线经过反射光路并经过分光器 5 作用之后进入光信号检测装置 3。在获得反射光信号之后，可以由一个光信号分析装置 4 对所述细胞机械力的检测装置 1 与待测细胞发生细胞机械力作用前后的反射光线进行对比分析，获取细胞机械力信息。当微柱 12 未受力的情况下微柱理应保持直立状态，从而能最大限度地反射探测光；而当微柱 12 与细胞相接触时，在细胞机械力的作用下，微柱 12 发生弯曲，导致光反射水平降低。所以，当细胞机械力越大时，所得到的光反射信号就应越小，这样藉由对光反射信号强度的观测即可轻易反推该点细胞机械力的大小。

此外，本实施例的技术方案中的测量光源可以采用一定强度的红外激光。传统技术方案中的微柱测量需要拍高解析度图像，在该过程中若使用激光容易造成细胞光毒性或是样品荧光淬灭。而本技术方案中若只要测反射信号，因而一定光强度以内的红外激光对细胞影响基本可以忽略不计，因此适合对细胞进行长期监测。

第二实施例 一种细胞机械力的检测装置

与第一实施例不同之处在于，所述微柱 12 不仅顶部端面具有光线反射层 13，在微柱 12 的柱面（即连接柱体两个端面的曲面）的上半部分也设有光线反射层 13。实际上，在其他实施方式中，除了在微

柱 12 的侧柱面的下半部分设置光线反射层 13 的方案因实际效果较差而不予采用之外,只要将光线反射层 13 设置于微柱 12 的侧面的上半部分,基本都能够实现本发明所想达到的检测效果。也就是说,在某些其他实施方式中,光线反射层 13 甚至可以铺设在上半侧柱面的任一局部位置或顶部的局部位置而并不一定要铺满整个上半柱面或整个顶部端面,都能达到预期目的,虽然获取的数据和后期运算的效果上可能有所差别。

此外,本发明的第一实施例和第二实施例出现了对微柱“柱面”和“端面”的定义,也就是说,通常我们理解的独立柱体,应有两个端面以及将两个端面连接的曲面(柱面),而本发明中的微柱由于基座的存在而只具有一个端面即顶端面,另一端则固定连接于基座或与基座一体成型。然而,在另外一些实施方式中,顶部的端面可能与柱面为一个整体光滑连接的曲面,并不必然如第一实施例或第二实施例所示的这样有交线或明显分界。在这种情况下,光线反射层 13 的设置位置也将理解为柱体的上半部分,而并不可被限定为“端面”或“柱面”。

第三实施例 一种细胞机械力的检测装置

请参阅图 4,图 4 为本发明第十实施例中一种细胞机械力的检测系统的结构示意图,用于说明本实施例中的细胞机械力的检测装置 1。本实施例与第一、第二实施例不同之处在于,对所述基座 11 和所述微柱阵列的微柱 12 柱体的透光性能不作要求,即既可透光也可不透光也可半透光。此时,只需要改变光信号发生装置 2 和光信号检测装置 3 的位置,将二者设置于基座 11 的上方,这样每次当微柱发生弯曲的时候,光信号检测装置 3 所接收到的光信号都将相对于微柱 12 直立不形变时发生变化,通过对前后光信号的变化情况进行分析同样也可以得到细胞机械力的相对大小情况,在与标准值经过校正之后可以得到细胞机械力的绝对大小数值。

第四实施例 一种细胞机械力的检测装置

本实施例与第一至第三实施例不同之处在于,在微柱 12 表面,除设有光线反射层 13 区域之外的区域,设置有对光线的抗反射层。这样的设计可以减少柱体表层可能带来的反射光信号的干扰,增强信噪比,使检测结果更加精确。

在某些实施例中,所述光线反射层 13 可以是一层金箔。在其他实施例中,光线反射层 13 还可以是其他具有光线反射功能的金属层或其他反光材料。不同材料带来的反光效果、反射层制备难易程度以及成本等可能存在差异,在实际操作中可以根据具体条件进行考量和抉择。

在第一至第四实施例中,所述微柱 12 的横截面形状为圆形。在其他实施方式中,所述微柱 12 的横截面形状还可以是椭圆形或多边形。在本发明的各种不同具体情况的实施方式中,横截面的不同可以达到不同的目的,例如圆形横截面具有各向同性的特点,即微柱本身的力学特性对方向不敏感。而如截面为椭圆形的情形则为各项异性,即微柱本身的力学特性对方向敏感,可以此控制不同方向对力场的敏感度,并且能在一定程度上调控细胞的向性(大部分细胞的几何形态其实都是不对称的,本发明中细胞的向性指的是细胞表现出的形态上的不对称性、极性或方向性。例如,假若用一个椭圆来拟合细胞投影的形状,椭圆的长轴可以认为是细胞具有的方向)。因为如截面是椭圆形的话,截面具有长轴和短轴,则沿着短轴比长轴要推动微柱要容易得多,则相对受力条件下形变也大。在一些延伸实施方式中,如果把细胞种在这种微柱上,细胞和微柱存在各向异性的力学交互,将会导致细胞沿着某一侧生长。而应用在流体上,则可用来测定流体的方向。

在第一至第四实施例中,所述微柱阵列的尺寸为:柱高 10nm~500 μ m,柱间距 10nm~50 μ m,柱上表面直径 50nm~50 μ m。该尺寸范围内的微柱可以满足作为传感器使用的微柱的基本使用条件,即至少可形变且不倒伏。在此基础上,不同微柱阵列尺寸的调控还可以实现如下功能:例如,通过调控微柱的纵横比 Aspect Ratio(在微柱的层面可以理解为高度和横截面直径/边长/长径之比)可以实现一定的微柱形变性能调控功能,从而对体内器官组织环境(例如不同硬度的骨组织和神经组织)实现更好的模拟。

此外,阵列的整体规格或者说一定面积基座 11 上的微柱 12 数量也会影响配体密度 Ligand Density,即细胞在表面能找到可粘附的点的数量。如果微柱 12 阵列越稀疏,则细胞能找到的粘附点越小,对细胞行为会产生不小的影响。

微柱的形状中的截面积大小也将影响细胞黏附行为,因为细胞黏附形成黏附斑 Focal Adhesion 是需

要一定面积的。如果是纳米微柱，则微柱截面面积小，对 Focal Adhesion 的形成会产生影响。

总而言之，结合材料本身特性和一定的微柱阵列尺寸，能够达到更符合需求的细胞支撑效果、芯片稳定性、测量精度。通过调控微柱阵列的分布还可以在在一定程度上对细胞附着状态进行调控和影响。

在第一至第四实施例中，所述微柱 12 的材质为聚二甲基硅氧烷（PDMS）。在其他一些本发明的主要实施方式中，微柱 12 的材质还可以是其他一些高分子材料，例如硅基高分子聚合物、光阻高分子材料、导电高分子材料、温敏高分子材料等。本发明主要实施方式主要采用高分子材料的原因是当前高分子材料具有比较适合于本发明应用的可形变性能，但本发明的实施并不需要把微柱材质限定为高分子材料，而完全应当和可以扩展至所有具有相应可形变性的材料，均可实现本发明的发明构思。简言之，微柱的材质必须满足的条件是具有一定的受力可形变性，以及在一些实施方式中，需要有一定的透光性，后者并非所有实施方式的必要条件，在选用透光性能受限的材料制备微柱的情形下，只要适当设置光信号发生装置和光信号检测装置的位置，同样也能够实现本发明的发明构思。

总体而言，微柱 12 的硬度（可形变性）可根据实际需求，通过尺寸（Aspect Ratio 为主）、材料类型的选择以及高分子材料交联程度的控制、化学或物理表面处理等多重技术维度来进行调控。

请参照图 5，图 5 为在顶部位置设有光线反射层（金）的微柱（聚二甲基硅氧烷）的扫描电子显微镜图像；其中，图 5a 为微柱的扫描电子显微镜图像；图 5b 为微柱顶部区域的元素表征图；图 5c 为微柱侧面区域（除顶部区域外）的元素表征图。通过图 5 的扫描电镜图像表征微柱的物质成分构成，可以确认微柱的顶部位置存在有 Au 元素，微柱的其余位置存在有 Si 元素。

第五实施例 一种细胞机械力的检测装置

本实施例与第一至第四实施例的不同之处在于，微柱阵列的部分微柱 12 的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质，本实施方式采用的是细胞外基质分子中的胶原蛋白，在其他实施方式中还可以采用包括胶原蛋白在内、以及纤粘连蛋白、玻璃粘连蛋白、层粘连蛋白以及弹性蛋白原这些细胞外基质分子中的一种或若干种的结合。在另外一些实施方式中，还可以在微柱 12 阵列的全部或部分微柱的顶部端面上设其他类别的具有细胞黏附作用的物质，例如细胞外基质的模拟物质，如含有 RGD 粘附序列的多肽；或具有细胞黏附促进机制的物质，包括聚赖氨酸；又或者是与细胞表面受体具有相互作用的物质。

在微柱 12 顶部端面上设置这样的具有细胞黏附作用的物质可以有效促进细胞对微柱 12 的贴附，从而实现对细胞贴附、增殖、迁移、状态、分化等的调控。此外，如在微柱阵列的预设区域的部分微柱的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质，例如 Fibronectin 等细胞外基质蛋白，则这些微柱可组成一定的形状。从而细胞倾向于粘附在特定位置和形状的微柱上，从而在控制细胞大小，形状及向性特征的情况下进行高通量力学测量。

第六实施例 一种细胞机械力的检测装置

本实施例与第五实施例不同之处在于，如第五实施例所述，微柱阵列的部分微柱 12 的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质，而本实施例中，所述顶部端面未设有具有细胞黏附作用的物质的那部分微柱 12 的柱面（端面或侧面）还设有具有细胞黏附抑制作用的物质，例如 F-127。从而细胞更倾向于粘附在特定位置和形状的微柱上，从而在控制细胞大小，形状及向性特征的情况下进行高通量力学测量。

第七实施例 一种细胞机械力的检测装置

本实施例与第一至第四实施例的不同之处在于，微柱 12 阵列的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质的微柱构成预设的图案。具体而言，可通过微米印刷技术来印刷特定图案的细胞粘附分子层促进细胞在这些区域的贴附。所谓的预设图案可以是三角形、四边形、多边形、圆形、椭圆形等形状，预设图案的作用包括：首先，通过这些具有细胞黏附作用的物质构成的图案来控制细胞和细胞间接触，以方便实现高通量数据获取的诉求。其次，可通过使细胞形状统一达到数据处理中的降维效果，从而降低分析难度。再次，通过限制细胞贴附区域来达到控制细胞的大小，形状、向性、分化状态等的目的，甚至还可以通过控制肌动蛋白丝 Actin filament 调控细胞力学状态，从而达到某些特殊技术要求场景的要求。

在与本实施例大致相似的另一实施例中，未印刷的所述预设图案的部分可用具有细胞贴附抑制作用的物质如 BSA（牛血清白蛋白）或 F127（高分子非离子型表面活性剂）来抑制细胞在这些区域的贴附，从而实现定向贴附、对细胞形态的控制或模拟特定的细胞微环境。

在其它一些实施例中，具有细胞黏附作用的物质选用纤维粘连蛋白（Fibronectin，FN）作为示例性说明，但不用以限制本发明的实施方式。分别使用表面带有凸出正方形及长方形图案的聚二甲基硅氧烷微印章，并在微印章表面黏附纤维粘连蛋白，采用微接触印刷的方式，将印章凸出部分的纤维粘连蛋白转移到位于微柱的顶端金属反射层上方。接着，将微柱浸入 F-127 溶液，使得未设有纤维粘连蛋白的部分具备抑制细胞黏附的效果。最后，将微柱用生理盐水彻底清洗后，将带有细胞膜染色成纤维细胞种植于微柱表面，再对细胞进行荧光成像（如图 6a 所示），同时对细胞内的力场进行高分辨率的测量（如图 6b 所示）。请参照图 6a 和图 6b，图 6a 为细胞粘附于顶部设有纤维粘连蛋白的微柱群构成的预设图案的荧光成像图，可以看出细胞的黏附范围被限制于有纤维粘连蛋白的区域；基于此，可以通过预设的图案来限制细胞贴附区域，进而对细胞的大小，形状、向性、分化状态等进行控制的情况下对细胞进行力学监测，图 6b 为在微柱上测得的光反射信号解算出来的细胞机械力大小分布图。

在其它一些实施例中，具有细胞黏附作用的物质选用 OKT3 抗体（即与细胞表面受体具有相互作用的物质）或纤维粘连蛋白（Fibronectin，FN）作为示例性说明，但不用以限制本发明的实施方式。请参阅图 7a-图 7d，图 7a 为采用 OKT3 抗体作为具有细胞黏附作用的物质的试验示意图；图 7b 的上部分图像为细胞分别粘附于顶部设有 OKT3 抗体、纤维粘连蛋白的微柱顶部的荧光成像图；图 7b 的下部分图像为在微柱上测得的光反射信号（反映细胞机械力大小）分布图；图 7c 为分别在 OKT3 抗体、纤维粘连蛋白涂敷表面测得的力学大小对比图；图 7d 为将 T 细胞种植于 OKT3 抗体表面（微柱顶部）后发生的细胞力学动态变化图。具体的，上述试验可以在同一或不同细胞力检测装置的部分微柱顶端涂敷 OKT3 抗体或纤维粘连蛋白，并将 T 细胞种植于细胞机械力检测装置的具有细胞黏附作用物质的表面。由图 7a-图 7d 可知，在微柱表面涂敷与细胞表面受体有相互作用的物质（例如 OKT3 抗体）或纤维粘连蛋白（Fibronectin，FN）的细胞机械力检测装置，可用于实时监测该物质对细胞的机械力影响及相互作用。

第八实施例 一种细胞机械力的检测装置

本实施例与第一至第七实施例的不同之处在于，所述的细胞机械力的检测装置还包括细胞限制机构，所述细胞限制机构包括一个或若干个限制面 16，所述限制面 16 为与基座 11 所在平面垂直、连接于所述基座 11 或与所述基座 11 一体成型的平面或曲面，且所述限制面 16 的高度高于微柱 12 并将预设数量的微柱 12 包绕在内。

本实施例设置的细胞限制机构的作用是单细胞隔离检测，即避免检测时细胞与细胞之间存在接触或黏连，以及限制细胞形态，从而方便高通量测试。根据不同的需求，细胞位置限定机构中的限制面 16 的数量或者围成的形状可以是不同的。例如，细胞位置限定机构包括的限制面 16 可以是一个圆柱面，也可以是首尾相接形成三角形截面形状并将一定数量微柱包围在内的 3 个平面、彼此垂直并首尾相接形成矩形形状将一定数量微柱包围在内的 4 个平面，首尾相接包围形成 N 边形的 N 个平面、或者横截面为类圆形的一个曲面等。也就是说，限制面 16 构成的横截面形状是可控的封闭形状，且其面积（或可理解为其空间内可容纳的微柱数量）也是可控的。

在实际的实施方式中，根据制程工艺的不同，细胞限制机构还可以通过以下的形式出现：

A，请参照图 8，图 8 为具有细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的结构示意图 a，图中，所述细胞限制机构与基座 11 是一体成型的，即：在形成细胞限制机构的物质具有若干个凹陷空间 15，其凹陷空间 15 的壁面即为限制面 16，凹陷空间 15 的深度即为限制面 16 的高度，凹陷空间 15 的底部即为基座 11，每个凹陷空间 15 中有若干个微柱 12。

B，请参照图 9，图 9 为具有细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的结构示意图 b，图中，限制面 16 是粘结在基座 11 上的结构。

第九实施例 一种细胞机械力的检测装置

本实施例与第八实施例的不同之处在于，本实施例中的细胞限制机构为硅薄膜。

具体的，请参照图 10a-图 10c，图 10a 为采用硅薄膜作为细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的实物图，图 10a 中，硅薄膜在使用激光打孔后，黏附在基座上，每个孔中均设有微柱，通过硅薄膜限制细胞的形态和迁移，同时控制细胞与细胞之间存在接触或黏连；图 10b 为在光反射下采用硅薄膜作为细胞限制机构的细胞机械力的检测装置的荧光显微镜图，图 10c 为图 10b 的放大图。在一些实施例中，硅

薄膜的每个孔的大小可以设置为与单细胞大小相适配，适合单一细胞贴附，从而限制细胞接触、细胞形态及其迁移范围。

第十实施例 一种细胞机械力的检测系统

一种细胞机械力的检测系统，包括第一或第二实施例所述的细胞机械力的检测装置 1、光信号发生装置 2 和光信号检测装置 3；所述光信号发生装置 2 和光信号检测装置 3 均位于所述细胞机械力的检测装置 1 中的基座 11 的下方，所述光信号发生装置 2 具有光源，所述光源发出的光线通过入射光路（相继穿过可透光的基座和可透光的微柱柱体）照射到微柱 12 的光线反射层 13，发生反射，反射光经过反射光路（相继通过可透光的微柱柱体以及可透光的基座）进入光信号检测装置 3。光信号检测装置 3 能够获取到微柱 12 与细胞发生接触前后的反射光信号。在另外一些实施方式中，这种细胞机械力的检测系统还包括光信号分析装置 4，可通过对比、分析、计算微柱 12 与细胞发生接触前后的反射光信号得到细胞机械力信息，包括细胞机械力的大小、方向、在一定时间范围内的变化情况。

第十一实施例 一种细胞机械力的检测系统

请参阅图 4，图 4 为本发明第十一实施例相关的一种细胞机械力的检测系统，包括第三实施例所述的细胞机械力的检测装置 1，还包括光信号发生装置 2 和光信号检测装置 3；所述光信号发生装置 2 和光信号检测装置 3 均位于所述细胞机械力的检测装置 1 中的基座 11 的上方，所述光信号发生装置 2 具有光源，所述光源发出的光线通过入射光路照射到光线反射层 13，发生反射，光信号检测装置 3 能够获取到微柱 12 与细胞发生接触前后的反射光信号。

在本发明的实施例中，光信号检测装置可以是显微镜，电荷耦合元件 CCD，互补金属氧化物半导体 CMOS，光电倍增管 PMT 及光电转换器 PT，胶片，或者其它具有相同功能的光信号检测元件，本发明不作具体限制。需要说明的是，在本发明的一些实施例中，当采用显微镜作为光信号检测装置时，则无需设置独立的光信号发生装置，可以直接将本发明的细胞机械力检测装置放置在显微镜的载物台上，以显微镜的光源作为光信号发生装置，以显微镜的物镜（5 倍物镜即可，不需依赖高倍数的光学物镜）作为光信号检测装置；当采用其它光信号检测装置，例如电荷耦合元件 CCD 时，则需要设置独立的光信号发生装置。在本发明的实施例中，光信号发生装置可以是 LED，卤素灯，激光（例如，红外激光），或其他光源，或其他具有这些光源的装置，本发明不作具体限制。

下面对本实施例相关的一种细胞机械力的检测系统用于细胞机械力监测的可视化过程作具体介绍。

请参阅图 11 为采用本实施例的细胞机械力检测系统监测细胞机械力的荧光显微镜图像。具体的，将细胞（例如，本实施例采用成纤维细胞 Fibroblast）放置于细胞机械力检测装置的微柱上，光信号检测装置（例如，本实施例采用显微镜）可以将细胞机械力信息转化为光学信号并形成图像，以供可视化观测，并且能够实时反馈细胞机械力的变化。

第十二实施例 一种细胞机械力的检测系统

请参阅图 4，图 4 为本发明第十二实施例相关的一种细胞机械力的检测系统，包括第三实施例所述的细胞机械力的检测装置 1，还包括光信号发生装置 2、光信号检测装置 3 和光信号分析装置 4。所述光信号发生装置 2 和光信号检测装置 3 均位于所述细胞机械力的检测装置 1 中的基座 11 的上方；所述光信号发生装置 2 具有光源，所述光源发出的光线通过入射光路照射到光线反射层 13，发生反射；分光器 5 可以为半透半反或其它等效的光学元件，主要目的是简化光路的设计；光信号检测装置 3 能够获取到微柱 12 与细胞发生接触前后的反射光信号；光信号分析装置 4 可通过对比、分析、计算微柱 12 与细胞发生接触前后的反射光信号得到细胞机械力信息，包括细胞机械力的大小、方向、在一定时间范围内的变化情况。

在本发明的实施例中，光信号分析装置可以是光学图像分析软件 ImageJ, Matlab, Fluoview, Python，或者其它具有相同功能的光学图像分析元件，或者这些分析软件的联合使用，本发明不作具体限制。

下面对本实施例相关的一种细胞机械力的检测系统的检测、分析过程作具体介绍。

请参阅图 12a-图 12c，图 12a 为细胞机械力检测系统的结构示意图；图 12b 为光信号检测装置获取得到的细胞机械力检测装置光反射讯号的图像；图 12c 为力学大小及分布的可视化效果图。

如图 12a 所示，在细胞机械力检测装置上，每根微柱的顶部均设有金属反射层，侧面则设有抗反射

层；在无细胞时，光线由下方照射微柱，会完全反射而被光信号检测装置（例如 CCD 相机）完全接收；但当细胞贴附在微柱上时，细胞移动产生的细胞力会使得微柱发生倾斜，从而降低了反射讯号，经过光反射讯号分析后，即可计算出细胞力强度。

进一步地，通过光信号检测装置（例如 CCD 相机）采集细胞机械力检测装置光反射信号的图像以及局部细胞黏附区域放大图像（如图 12b 所示）。接着，通过光信号分析装置对图 12b 的图像进行进一步的处理，使其转化为更为直观的力学大小及分布的可视化效果图 12c。

具体处理过程如下：首先，基于图 12b，获得明视野反射信号图（I，对焦于细胞上）；接着，通过对图像进行傅立叶变换后过滤高频信号，并进行逆傅立叶变换操作，从而计算获得到未偏移情况下的微柱反射讯号图像（I₀）；接着，将 I 和 I₀ 图像进一步处理，以将反射讯号图转为更为直观的细胞力学图（I₀ 讯号值减去 I 讯号值）后标准化获得更为直观的细胞机械力强度图 j。

第十三实施例 机械力的计算方法，力学与光反射信号的相互关系

本实施例结合第十至第十二实施例中任意一个所述的细胞机械力的检测系统或第十四实施例所述的细胞机械力的检测方法，说明本发明实施例中机械力的计算方法；并利用流体当作外加力，以验证力学与光反射信号的相互关系。

请参阅图 13，其中，图 13a 为流体开启前后微流体环境中细胞机械力检测装置的结构示意图；图 13b 和 12c 为流体开启前后微柱的明视场显微镜图、反射光信号分布图以及二者叠合效果图的对比图；图 13d 为流体开启前后光反射信号强度图；图 13e 为光反射信号与微柱偏移的线性关系图。其中，叠合效果图是指将微柱的明视场显微镜图和反射光信号分布图叠合而成的效果图。

首先，如图 13 所示，将细胞机械力检测装置整合于微流体通道中，当外加流速增加，微柱产生位移，同时改变微柱表面反射层的角度（图 13a-图 13c），由图 13d 可以看出，在流体开启前后，光反射信号由强转弱。具体的，利用流速强弱来改变微米柱的偏移量，使用共聚焦显微镜拍摄微柱顶部相对于微柱底部的位移，通过以下公式即可计算出每个微柱所受的机械力：

$$F = k_{\text{bend}} \delta = \frac{3}{64} \pi E \frac{D^4}{L^3} \delta$$

式中，F 代表引起微柱偏转 δ 角度的机械力，E 代表杨氏模量， k_{bend} 代表孤立纳米柱的理想弹簧常数，D 代表微柱的直径，L 代表微柱的高度。

同时，纪录微柱顶部的光反射信号，将光反射信号与微柱偏移量做图 13e，即可得到光反射信号（反映细胞机械力）与微柱偏移的线性关系图及线性范围。

第十四实施例 一种细胞机械力的检测方法

一种细胞机械力的检测方法，包括如下步骤：

使用如第十至第十二实施例中任意一个所述的细胞机械力的检测系统中的光信号发生装置 2 发出光线。

使用如第十至第十二实施例中任意一个所述的细胞机械力的检测系统中的光信号检测装置 3 检测经所述细胞机械力的检测装置 1 作用后的光线。所述光信号检测装置 3 能够获取到细胞机械力的检测装置 1 中的微柱 12 与细胞发生接触前后的反射光信号。在另外一些实施方式中，细胞机械力的检测系统中的光信号分析装置 4 通过对比、分析、计算微柱 12 与细胞发生接触前后的反射光信号得到细胞机械力信息，包括细胞机械力的大小、方向、在一定时间范围内的变化情况。

请参照图 14a-图 14d，图 14a 和图 14b 为细胞机械力的检测装置的微柱与细胞发生接触前以及发生接触后的结构示意图；图 14b 为光信号检测装置（CCD 电子感光元件）获取的反射光信号，在细胞周边力场较大区域可以看到明显的反射讯号衰减；图 14c 为细胞迁移过程的监测图（对细胞膜染色之后，使用荧光光源激发，用 CCD 电子感光元件记录其迁移的过程）；图 14d 为细胞迁移过程中的反射光信号分布图（用 CCD 电子感光元件记录其迁移过程中的反射光信号变化）。由图 14c 和图 14d 可以看出，在细胞施力的部分反射光信号明显衰减。图 14d 示出了在细胞迁移过程中实时监测的反射光信号，并通过反射光信号实时反馈迁移过程中的机械力，可见通过光信号检测装置对细胞迁移过程中的反射光信号

进行监测能够实时反馈细胞迁移过程中的细胞机械力的变化。

第十五实施例 一种细胞机械力检测装置的制备方法

一种细胞机械力检测装置的制备方法，包括如下步骤：

在微柱 12 的顶部或上半柱面铺设一层光线反射层 13，获得顶部或上半柱面具有反射层的微柱 12。

第十六实施例 一种细胞机械力检测装置的制备方法

一种细胞机械力检测装置的制备方法，包括如下步骤：

在微柱 12 整体均匀镀一层抗反射层；

将顶部或上半柱面的抗反射层去除；

在微柱 12 的顶部或上半柱面铺设一层光线反射层 13。

第十七实施例 一种细胞机械力检测装置的制备方法

本实施例与第十五、十六实施例不同之处在于，所述步骤“在微柱 12 的顶部或上半柱面铺设一层光线反射层 13”具体到：在微柱的顶部或上半柱面均匀溅射一层反射金属，获得顶部或上半柱面具有金属光线反射层的微柱。

第十八实施例 一种细胞识别的方法

本实施例提供了一种细胞识别的方法，其包括：采用上述任意一项实施例中所述细胞机械力的检测系统或上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测方法获取细胞机械力信息，根据所述细胞机械力信息区分不同的细胞种类。

在一些实施例中，所述细胞识别的方法中，步骤“采用上述任意一项实施例中所述细胞机械力的检测系统或上述任意一项方案中所述细胞机械力的检测方法获取细胞机械力信息，根据所述细胞机械力信息区分不同的细胞种类”具体包括：

S1、获取细胞信息，所述细胞信息包括基于细胞机械力的检测装置获取的细胞中某点的细胞机械力信息，所述细胞机械力信息包括该点细胞机械力的大小，具体为：使用光信号检测装置（或者和光信号分析装置一起联用）对细胞机械力的检测装置上的多个细胞进行细胞信息采集，其中包括对各个细胞的多点进行细胞机械力大小信息采集，从而获取多个细胞中的多点细胞机械力大小数据；

S2、对获取细胞信息做预处理，形成结构化细胞信息；所述结构化细胞信息包括细胞数目、细胞特征数目和各细胞特征的特征信息，此时结构化细胞信息可以视为一个的二维特征矩阵（Feature matrix），其中 N 为细胞数目，P 为细胞特征数目，此处 $P=1$ ，即细胞特征为细胞机械力大小；

S3、以结构化细胞信息作为输入数据，利用有监督、无监督或半监督的机器学习建立细胞特征模型，并将所述细胞特征模型应用于未知类型或未知状态的细胞的分类或聚类。

在其它一些实施例中，所述的细胞识别的方法中，所述细胞机械力信息还包括该点细胞机械力的方向。

在其它一些实施例中，所述的细胞识别的方法中，所述细胞机械力信息还包括该点细胞机械力的大小或方向在一定时间间隔内的变化。

在其它一些实施例中，所述的细胞识别的方法中，所述细胞信息还包括细胞形貌信息。

第十九实施例 一种细胞识别的方法（包括可视化定性识别，以及精确的定性、定量识别）

本实施例具体提供第十至第十二实施例中任意一个所述的细胞机械力的检测系统或第十四实施例所述的细胞机械力的检测方法获取得到的细胞机械力信息，应用于识别细胞的方法。

请参照图 15a 至图 15g，图 15a 为健康细胞和肺非小细胞癌细胞混合体系的荧光成像图；图 15b 为光信号检测装置获取得到的细胞机械力检测装置光反射讯号分布图；图 15c 为力学大小及分布的可视化效果图；图 15d 为图 15c 中的健康细胞和肺非小细胞癌细胞的代表性单细胞细胞力分布的放大图；图 15e 为健康细胞和肺非小细胞癌细胞在细胞形态上的对比图；图 15f 为健康细胞、肺非小细胞癌细胞以及这两种细胞以不同比例混合后的反射信号强弱的对比图；图 15g 为将图 15c 经过结构化处理后，基于结构化细胞信息处理得到的聚类分析图。

具体的，本实施例以健康细胞（Normal）和肺非小细胞癌细胞系（Cancer）作为检测对象，使用两种不同荧光染料（Dil&DIO）对健康细胞和肺癌细胞的细胞膜预染色，并以一定比例混合后添加到同一

个细胞机械力检测装置（在另一些实施方式中，可以是添加到不同的独立的细胞机械力检测装置）上。

进一步地，通过光信号检测装置（本实施例使用显微镜）采集了细胞机械力检测装置光反射讯号的图像（如图 15b 所示），而两种细胞内高分辨率的力场分布被光信号检测装置直接渲染即可转化成可读取的光强度衰减信号（反映细胞力强度）并显示在图片内（如图 15c 所示）。根据图 15c 图片显示的两种细胞的光衰减程度的不同，可以通过肉眼观察对两种细胞进行直观的区别（定性分析）。

进一步地，通过光信号分析装置对图 15c 中的光反射讯号进行进一步处理。具体地，本实施例通过光信号分析装置（本实施例使用 ImageJ 及 Python 分析软件，在其它实施例中还可以使用其他图像分析软件）对所获得的细胞力场的图 15c 进行信息采集，其中包括对各个细胞的多点进行细胞机械力大小信息采集，从而获取多个细胞中的多点细胞机械力大小数据；对获取的细胞机械力大小信息做预处理，形成结构化细胞信息；并根据结构化细胞信息分析得到健康细胞和肺非小细胞癌细胞在细胞形态上的对比结果图（如图 15e 所示）。

所述结构化细胞信息包括细胞数目、细胞特征数目和各细胞特征的特征信息（例如本实施例中的细胞黏附面积及细胞圆度），此时结构化细胞信息可以视为一个特征矩阵（Feature Matrix）的二维矩阵，其中 N 为细胞数目，P 为细胞特征数目，此处 $P=2$ ，即细胞特征为：细胞机械力大小、细胞机械力在细胞内的分布。

进一步地，以上述的结构化细胞信息作为输入数据，利用有监督机器（与不同的细胞膜染料（Dil&DIO）对两种细胞系进行预染色进行对比）学习建立细胞特征模型，并利用大量细胞的结构化细胞信息对所述细胞特征模型进行训练，得到如图 15g 所示的聚类分析图，然后将所获得的细胞特征模型应用于未知类型或未知状态的细胞的分类识别。由此可知，根据结构化的细胞特征数据（细胞机械力大小、细胞机械力在细胞内的分布）作为输入数据，可以利用光信号分析装置（本实施例使用 ImageJ 及 Python 分析软件，在其它实施例中还可以使用其他聚类分析软件）对正常的健康细胞及癌症细胞进行聚类分型，从而实现了对未知细胞种类的识别。

图 15e 示出了不同细胞在形态（包括细胞黏附面积及细胞圆度）上没有统计学意义上的明显区别；图 15f 示出了正常细胞及肿瘤细胞反射讯号强度（反映细胞力）的明显差异，以及把正常细胞及肿瘤细胞按一定比例混合在一起后反射讯号强度和混合比例呈一定线性关系。由此可知，相比于细胞的其它特征（例如图 15e 中的细胞黏附面积、细胞圆度等形态信息），基于本发明的细胞机械力检测装置测得的细胞力学特征可对细胞的状态及类型进行更直观精确的识别（定量和定性分析）。

此外，从图 15d 和图 15f 的数据得出，肿瘤细胞比正常细胞显示出更高的机械力大小，并且分布更不均匀。可见，细胞机械力以图像方式可视化后，即可通过肉眼直观地看出不同细胞的力场特征具有明显区别；并且进一步地，通过图像分析软件对不同细胞各点的力场大小进行结构化处理后，综合分析得到图 15e 的细胞形态信息，图 15f 的反射讯号强度（反映细胞力）以及图 15g 的聚类分析图。本发明通过细胞各点的力场结构化信息的综合分析可以对不同细胞（例如本实施例中健康细胞以及非小细胞肺癌细胞）进行聚类分型及定量分析，从而实现了对细胞种类的精确识别。

综上所述，基于本发明的细胞机械力检测装置，不仅可以通过肉眼直观区分以进行定性分析，还可以基于测得的细胞力学特征对细胞的状态及类型进行更直观精确的识别（定量和定性分析），并且证实了以细胞力场作为标志物能够更好地对细胞类型进行区分。

第二十实施例 一种细胞活力的检测方法

本实施例具体提供第十至第十二实施例中任意一个所述的细胞机械力的检测系统或第十四实施例所述的细胞机械力的检测方法获取到的细胞机械力信息，应用于监测细胞的活力。

请参阅图 16a-图 16c，图 16a 为细胞活力检测方法的操作流程示意图；图 16b 为 A549 细胞在不同剂量的 5FU 处理 24h 后，MTT 法测定得到的细胞活力以及本发明装置或系统或方法测定得到的细胞机械力的对比图；图 16c 为 A549 细胞在不同剂量的 5FU 处理不同时间后，MTT 法测定得到的细胞活力以及本发明装置或系统或方法测定得到的细胞机械力的对比图。

具体地，本实施例将非小细胞肺癌细胞 A549 培养在多个细胞机械力检测装置上，分别加入不同剂量的抑制细胞增殖的药物 5-氟尿嘧啶（5-FU）进行处理，并通过第十至第十二实施例中任意一个所述的细胞机械力的检测系统或第十四实施例所述的细胞机械力的检测方法监测不同时间点的细胞机械力，通过 CCK-8 试剂盒监测不同时间点的细胞增殖和细胞毒性，同时以 MTT 测定法测定的细胞活力作为对

照组, 得到图 16b 和图 16c 的数据。

从图 16b 和图 16c 显示, 通过传统 MTT 测定法和本发明所述装置或系统或方法进行测定后, MTT 测定法测定的细胞活力以及细胞机械力所反映的细胞活力都是以剂量依赖性呈逐渐降低的趋势, 即细胞机械力与细胞活力呈正相关。

此外, 如图 16b 所示, 在用不同剂量的 5FU 处理 24h 后, 与对照组 DMSO 相比, 通过机械力可以以更大的降低幅度反映细胞活力的降低, 从而更加直观地对细胞活力进行评估。如图 16c 所示, 在用 5FU 处理 12h 内, MTT 法测定的细胞活力变化不明显; 而通过测定机械力, 可以在 MTT 法检测到细胞代谢活性降低之前的更早时间点即观测到细胞机械力的降低, 具体的在 0.5 μM 处理剂量下即可在 6h 时出现明显的降低趋势, 在 1 μM 处理剂量下即可在 3h 时出现明显的降低趋势, 从而可以更加灵敏地表征细胞活力的降低。

综上可知, 本实施例通过细胞机械力检测装置直接检测细胞机械力是评估细胞对药物反应活力的一种高度敏感且有效的方法。

第二十一实施例 一种细胞状态的检测方法

本实施例具体提供第十二实施例所述的细胞机械力的检测系统或第十四实施例所述的细胞机械力的检测方法获取到的细胞机械力信息, 并根据所述细胞机械力信息分析确定细胞状态。

请参阅图 17a 至图 17f, 图 17a 为细胞状态检测方法的操作过程图; 图 17b 为 M0 巨噬细胞分化至 M1 状态的荧光显微镜图; 图 17c 为 M0 巨噬细胞分化至 M2 状态的荧光显微镜图; 图 17d 为 M0 巨噬细胞、M1 状态以及 M2 状态的细胞黏附面积对比图; 图 17e 为 M0 巨噬细胞、M1 状态以及 M2 状态的细胞圆度对比图; 图 17f 为 M0 巨噬细胞、M1 状态以及 M2 状态的机械力对比图。

具体的, 本实施例以巨噬细胞作为检测对象, 将其分别添加到不同的独立的细胞机械力检测装置的微柱上, 并分别采用内毒素 LPS 和白介素 IL4 引导巨噬细胞从 M0 分化为 M1 和 M2 状态, 以 M0 状态作为对照组。在细胞分化后, 通过光信号检测装置 (本实施例采用显微镜) 采集图 17b 和图 17c, 并通过光信号分析软件 (ImageJ 及 Python) 对图 17b 和图 17c 作进一步的图像处理和数据分析, 将其转化为结构化信息, 并分析制得图 17d-图 17f 的数据。由图 17a 至图 f 的数据可知, 不管是从直观的观测 (图 17b 和图 17c) 还是经过结构的数据量化处理 (图 17d-图 17f), M0 巨噬细胞以及分化后的 M1 和 M2 状态之间都具有明显的区别。

第二十二实施例 一种多细胞聚合体的检测方法

本实施例具体提供第十二实施例所述的细胞机械力的检测系统或第十四实施例所述的细胞机械力的检测方法获取到的细胞机械力信息, 根据所述细胞机械力信息分析确定细胞状态。

具体地, 本实施例提供的多细胞聚合体以多种方式结合在细胞机械力检测装置上, 本实施例提供其中的两种具体结合方式:

第一种结合方式: 在细胞机械力检测装置的微柱上设置培养基, 将细胞移植到微柱上的培养基中培养得到多细胞聚合体; 在另一些实施方式中, 这种结合方式, 在细胞机械力信息以可视化形式输出下, 可以实时监控细胞的培养过程, 以应用于如培养基、药物等化学、生物和物理外界刺激对细胞生长的影响;

第二种结合方式: 直接将培养好的多细胞聚合体粘附于细胞机械力检测装置的微柱上, 进行检测。

更具体地, 本实施例提供一种肿瘤细胞多聚体在细胞机械力检测装置上培养, 应用于药物敏感试验, 包括以下步骤:

S1、肿瘤细胞多聚体的生成: 在细胞机械力检测装置的微柱的顶部涂 FN 50 $\mu\text{g/mL}$, 并紫外线杀菌 30 分钟; 取乳腺癌细胞 MCF-7 (大约 $1 \times 10^5 \sim 9 \times 10^5$ 个) 种植于细胞机械力的检测装置的微柱 (无限定微柱的数量) 的顶部表面, 再将细胞机械力监测装置浸置在 3dGRO™ Spheroid Medium (S3077) 培养液中培养 3 天以上, 引导肿瘤细胞多聚体生成;

S2、将上述生成的肿瘤细胞多聚体应用于 5-Fu 药物敏感实验中: 在上述肿瘤细胞多聚体加入 200 μM 的 5-Fu 后培养 1 天; 试验中, 在加 5-Fu 前和加 5-Fu 后培养一天的细胞机械力检测装置 (生成有肿瘤细胞多聚体, 可以连同培养液一起), 通过光信号检测装置 (CCD 感光元件) 获取光反射讯号, 并使用光信号分析装置 (Image J) 获得细胞力分布图像, 如图 18 所示。

请参阅图 18a-图 18b, 图 18a 为具有第一种形态的肿瘤细胞多聚体在有/无 5-Fu 作用后的表征图;

图 18b 为具有第二种形态的肿瘤细胞多聚体在有/无 5-Fu 作用后的表征图；从左到右分别是细胞膜荧光和反射讯号的混合图像(1)、光反射讯号(2)、细胞核(3)、细胞膜(4)及经过光信号分析装置(ImageJ)处理后的细胞力可视化图像(5)。由于细胞具有异质性，肿瘤细胞各不相同，多聚体也有各种各样的形态，因此细胞多聚体会以不同的形态黏附在一起。本实施例选取具有代表性的两种形态进行细胞形态检测，所述第一种形态系指较大的两个细胞黏在一起的细胞形态；所述第二种形态系指一群小细胞黏在一起的细胞形态。

由图 18a-图 18b 可以看出，经抗肿瘤药物处理细胞使之活力降低后，反射讯号明显减弱；并且，从 5-Fu 作用前后的细胞机械力的改变可以看出两种不同形态的肿瘤细胞多聚体对药物的敏感性也有明显差异。由此可知本发明的细胞机械力检测装置能对多细胞聚合体(如肿瘤多聚体)进行细胞机械力测定，并可通过细胞机械力用于监测细胞多聚体的活力状态，并可区分不同的细胞形态。

在本发明的定义中，细胞多聚体指的是：

细胞是生物体基本的结构和功能单位，细胞通常会繁殖或分化形成两个以上细胞团聚一起形成细胞群体，即：多细胞聚合体；多细胞聚合体包括肿瘤多聚体等体外或体内培养所得到的细胞团体。

综上可知，本发明细胞检测装置用于细胞机械力的检测、细胞识别、细胞状态检测、细胞活力检测具有非常高的灵敏度及有效性，并且可以实现实时监测，可以应用于药物处理下，细胞对药物的反应情况。

区别于现有技术，上述技术方案具有如下优点：

首先，**高通量低成本**：与现有 TFM 及普通微柱阵列相比，本发明的技术方案摆脱了对显微镜的依赖，极大地简化了操作流程，因为无需通过显微镜高分辨率成像，只需通过对反射光的强度进行监测，可实现高通量对细胞进行监测。

其次，**单细胞分辨率**：分辨率高，可对每只细胞进行实时监测，可结合其他单细胞分析技术测量细胞对药物反应的异质性；**实时监测**：无需荧光，可避免激光对细胞的光毒性作用，因此适合长期监测，可用于研究细胞对药物的长期反应；**高灵敏度**：通过反射讯号，将微柱形变信号放大，增加对形变监测的灵敏度。检测微、纳米柱弯曲形变一般依赖光学系统(如显微镜)进行检测，但微柱尺寸越小，对光学系统的精密度和解析度要求越高。例如 2 微米宽，6 微米高的微米柱，需要 20 倍以上的物镜搭配共轭焦系统才可有效观测。而本发明利用镜面反射原理通过探测反射光的衰减，实际使微柱形变的信号得以放大，经实验验证，同样的讯号在 5 倍物镜下即可观测。搭配特殊的读取系统，不需依赖高倍数的光学物镜即可有效检测微/纳米柱形变，从而极大降低系统成本，并有效提升通量。

再次：**可模拟**细胞微环境；**可模拟**细胞外基质的组分和形态，可应付更丰富的技术需求场景。

需要说明的是，尽管在本文中已经对上述各实施例进行了描述，但并非因此限制本发明的专利保护范围。因此，基于本发明的创新理念，对本文所述实施例进行的变更和修改，或利用本发明说明书及附图内容所作的等效结构或等效流程变换，直接或间接地将以上技术方案运用在其他相关的技术领域，均包括在本发明的专利保护范围之内。

权 利 要 求 书

1、一种细胞机械力的检测装置，其特征在于，包括：

基座，以及

设置于基座上的，可受细胞机械力作用而产生形变的多个微柱构成的微柱阵列，所述微柱的顶部或柱面上部具有光线反射层。

2、如权利要求1所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述基座为透光基座，所述微柱的柱体可透射光线；所述微柱顶部具有光线反射层。

3、如权利要求2所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述微柱的柱面具有抗反射层。

4、如权利要求1所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述光线反射层为金属箔层，金属氧化物或金属盐，超细玻璃珠或微棱镜，有机反光材料一种或一种以上的组合。

5、如权利要求1至4任意一项所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述微柱阵列的全部或部分微柱的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质。

6、如权利要求5所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述具有细胞黏附作用的物质包括如下物质中的一种或多种：细胞外基质分子，包括胶原蛋白、纤粘连蛋白、玻璃粘连蛋白、层粘连蛋白或弹性蛋白原；细胞外基质的模拟物质，包括含有RGD粘附序列的多肽；具有细胞黏附促进机制的物质，包括聚赖氨酸；与细胞表面受体具有相互作用的物质。

7、如权利要求5所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，部分微柱顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质的微柱群构成预设的图案。

8、如权利要求7所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述微柱阵列的预设区域的部分微柱的顶部端面上设有具有细胞黏附作用的物质。

9、如权利要求1所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述微柱的横截面形状为圆形、椭圆形或多边形。

10、如权利要求1所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，所述微柱和微柱阵列的尺寸范围包括：柱高10nm~500μm，柱间距10nm~50μm，柱上表面直径50nm~50μm。

11、如权利要求1所述的细胞机械力的检测装置，其特征在于，还包括细胞限制机构，所述细胞限制机构包括一个或若干个限制面，所述限制面为与基座所在平面垂直、连接于所述基座或与所述基座一体成型的平面或曲面，且所述限制面的高度高于微柱并将预设数量的微柱包绕在内。

12、一种细胞机械力的检测系统，其特征在于，包括如权利要求1-11任意一项所述的细胞机械力的检测装置、光信号发生装置和光信号检测装置；

所述光信号发生装置具有光源，所述光源发出的光线通过入射光路照射到微柱的光线反射层；

所述光信号检测装置用于检测从微柱的光线反射层反射的光线，所述光线反射层反射的光线经过反射光路进入光信号检测装置。

13、如权利要求12所述的细胞机械力的检测系统，其特征在于，所述细胞机械力的检测装置的基座为透光基座，所述微柱的柱体可透射光线；所述微柱顶部具有光线反射层；

所述光源发出的光线通过入射光路从细胞机械力的检测装置的基座照射到微柱的光线反射层；

所述光信号检测装置用于检测从微柱顶部的光线反射层反射的光线，所述光线反射层反射的光线经过反射光路进入光信号检测装置。

14、如权利要求12所述的细胞机械力的检测系统，其特征在于，还包括用于分析光信号的光信号分析装置。

15、一种细胞机械力的检测方法，其特征在于，包括如下步骤：

使用如权利要求12-14中任一项所述的细胞机械力的检测系统中的光信号发生装置发出光线；

使用如权利要求12-14中任一项所述的细胞机械力的检测系统中的光信号检测装置检测经所述细胞机械力的检测装置作用后的光线。

16、如权利要求15所述的细胞机械力的检测方法，其特征在于，还包括步骤：使用光信号分析装置对所述细胞机械力的检测装置与待测细胞发生细胞机械力作用前后的反射光线进行对比分析，获取细胞机械力信息，所述细胞机械力信息包括细胞机械力的大小、方向或变化频率。

17、一种细胞状态的检测方法，其特征在于，包括：通过如权利要求 12-14 中任意一项所述的细胞机械力的检测系统或权利要求中任意一项 15-16 所述的细胞机械力的检测方法获取细胞机械力信息，根据所述细胞机械力信息分析确定细胞状态；

所述细胞状态包括：细胞黏附，细胞活力，细胞分化/活化，细胞增殖和/或细胞迁移。

50 18、一种细胞识别的方法，其特征在于，包括：通过如权利要求 12-14 中任意一项所述的细胞机械力的检测系统或权利要求 15-16 中任意一项所述的细胞机械力的检测方法获取细胞机械力信息，根据所述细胞机械力信息区分细胞种类。

19、一种细胞机械力检测装置的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：

在微柱的顶部或上半柱面铺设一层反射层，获得顶部或上半柱面具有反射层的微柱。

55 20、如权利要求 19 所述的细胞机械力检测装置的制备方法，其特征在于，在步骤“在微柱的顶部或上半柱面铺设一层反射层”之前还包括步骤：

在微柱整体均匀镀一层抗反射层；

将顶部或上半柱面的抗反射层去除。

60 21、如权利要求 19 或 20 所述的细胞机械力检测装置的制备方法，其特征在于，所述“在微柱的顶部或上半柱面铺设一层反射层，获得顶部或上半柱面具有反射层的微柱”具体为：在微柱的顶部或上半柱面均匀溅射一层反射金属，获得顶部或上半柱面具有金属光线反射层的微柱。

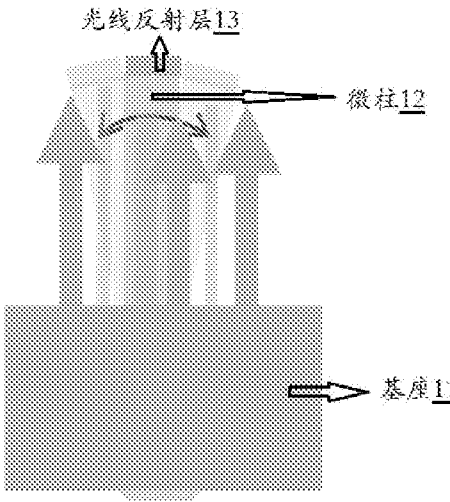


图 1

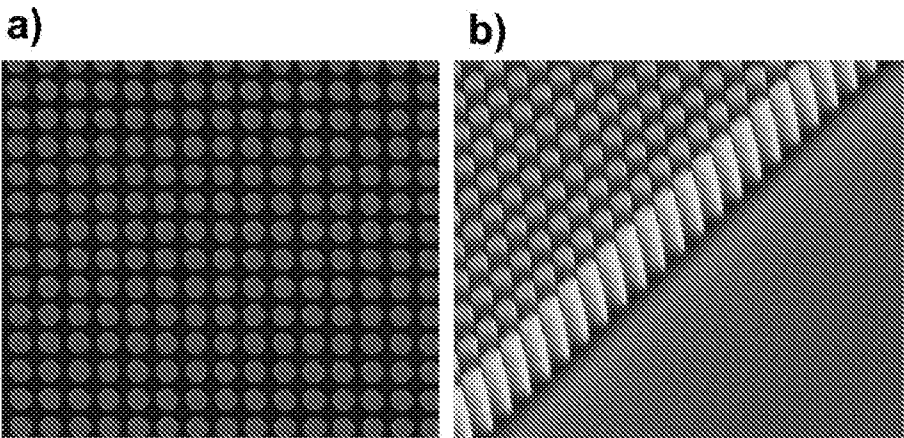


图 2

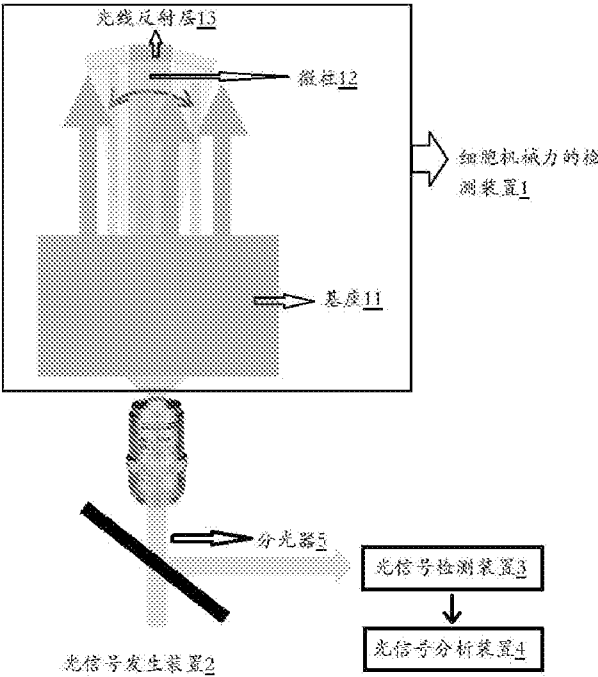


图 3

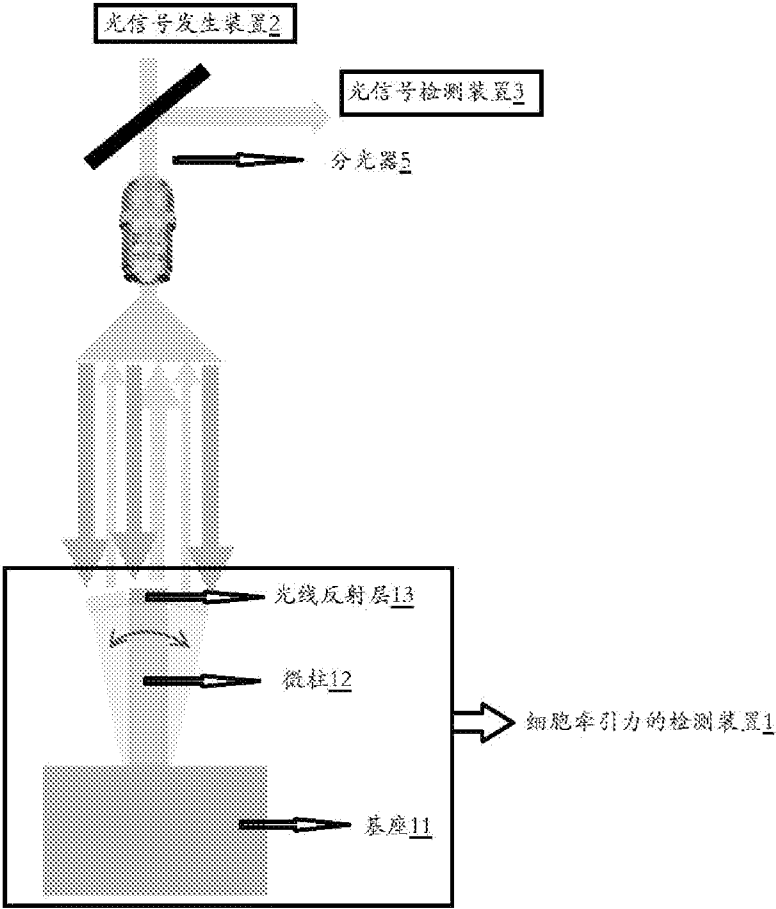


图 4

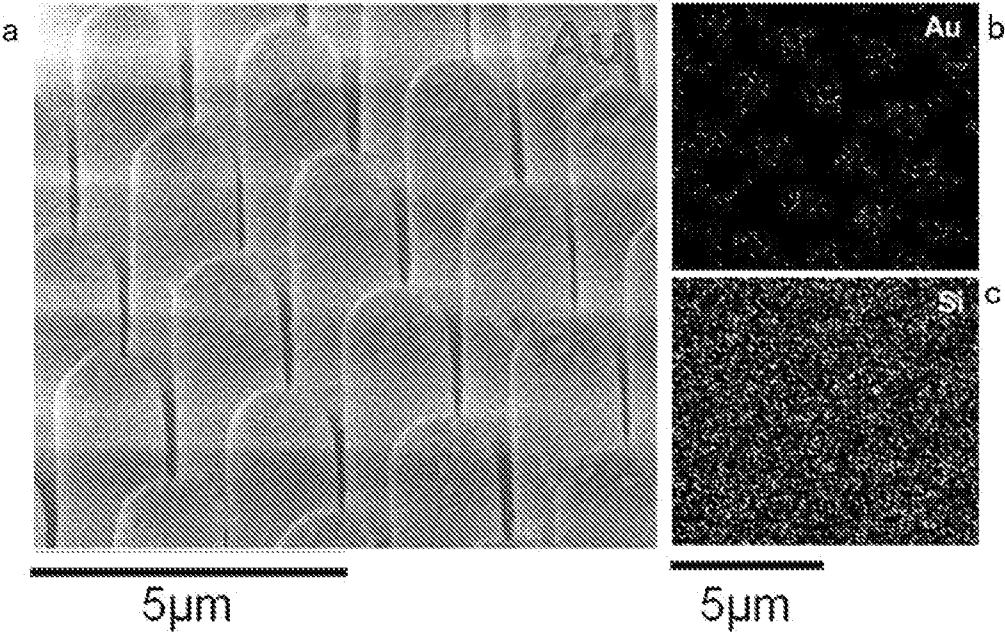


图 5

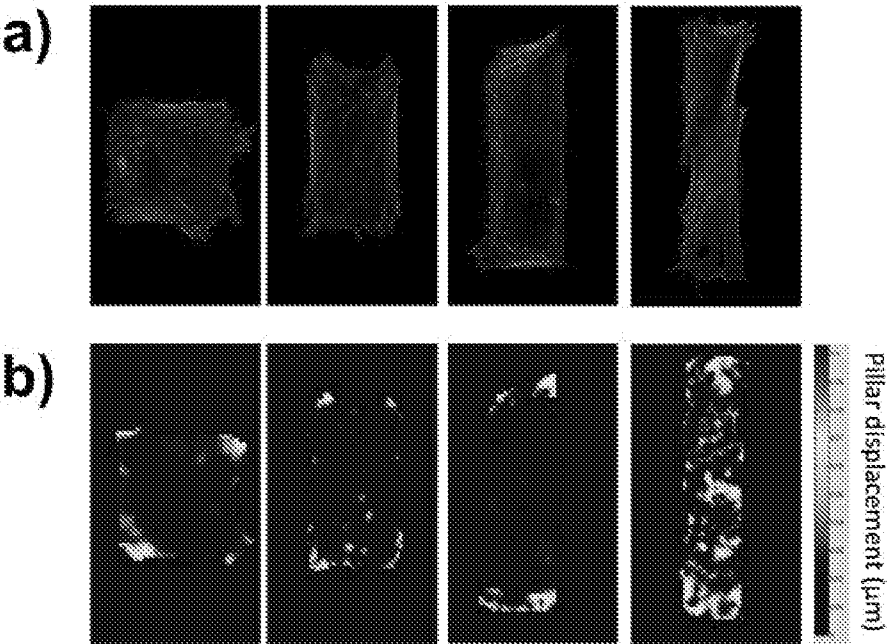


图 6

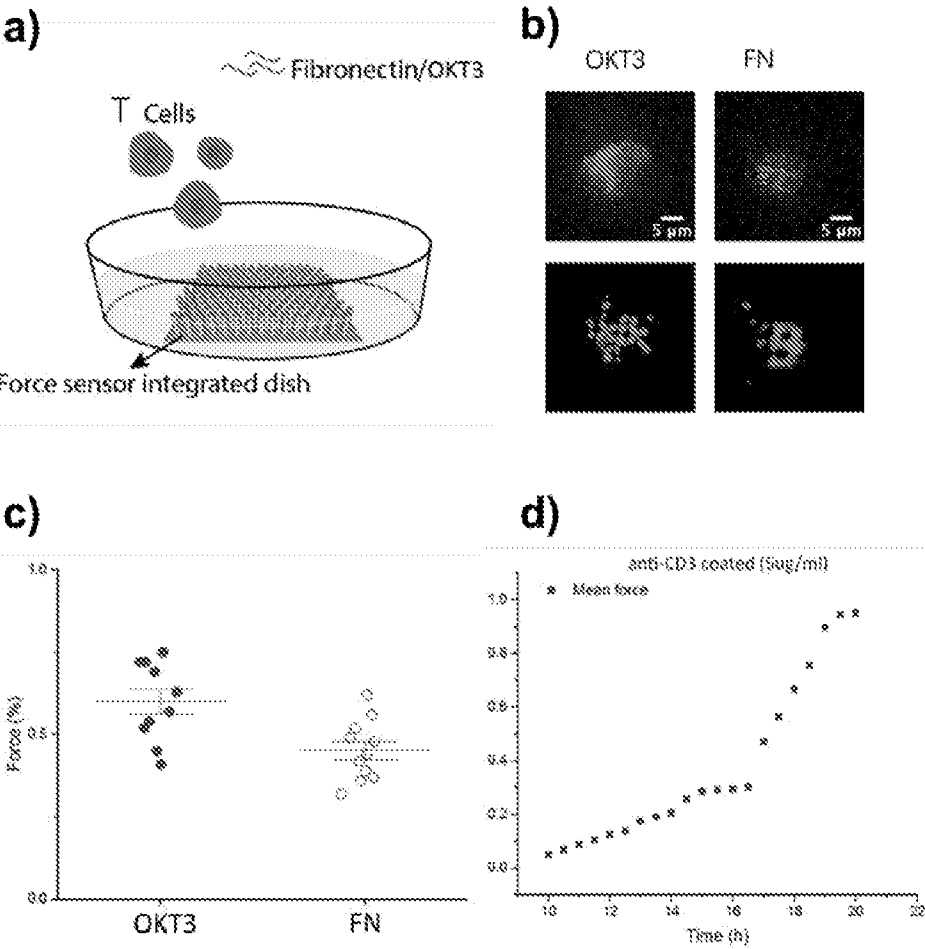


图 7

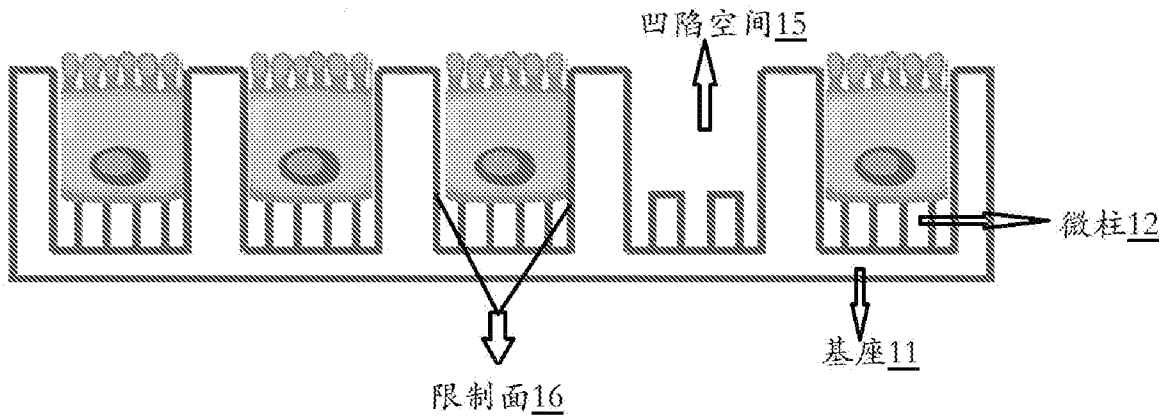


图 8

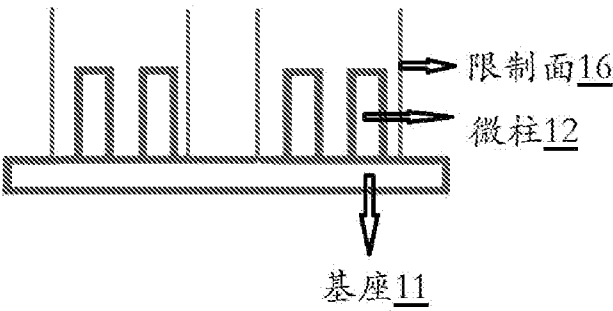


图 9

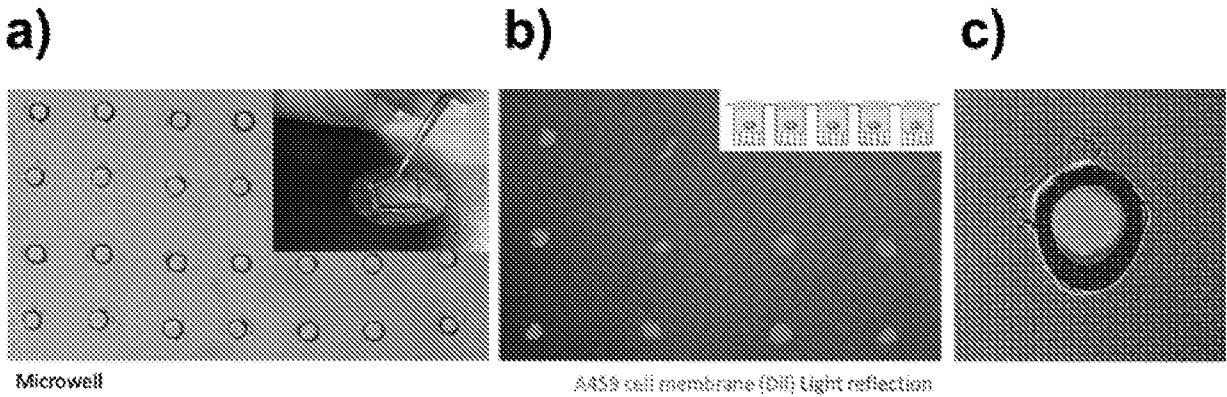


图 10

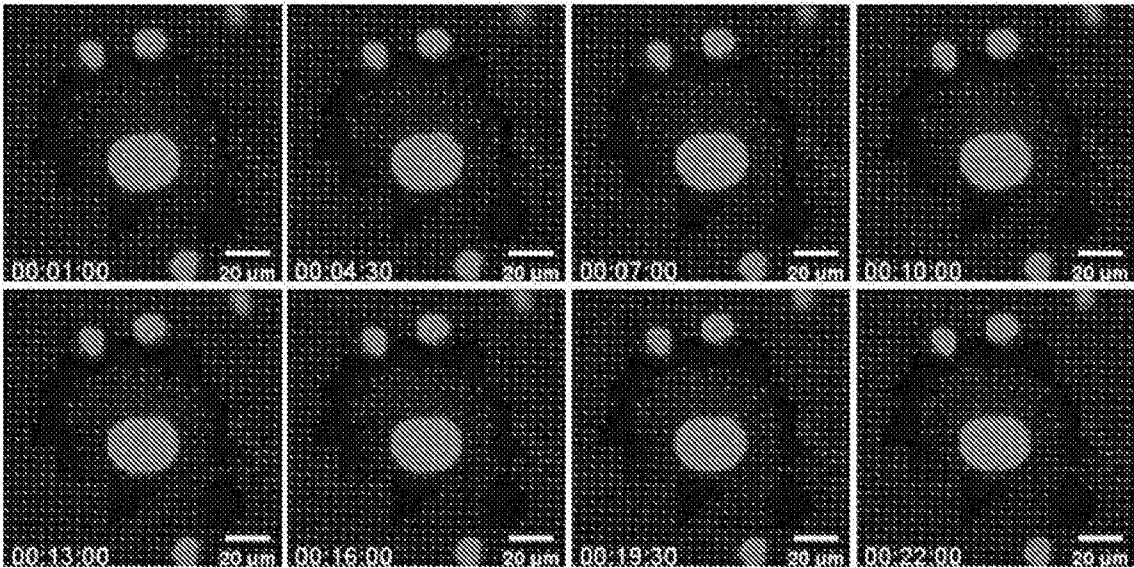


图 11

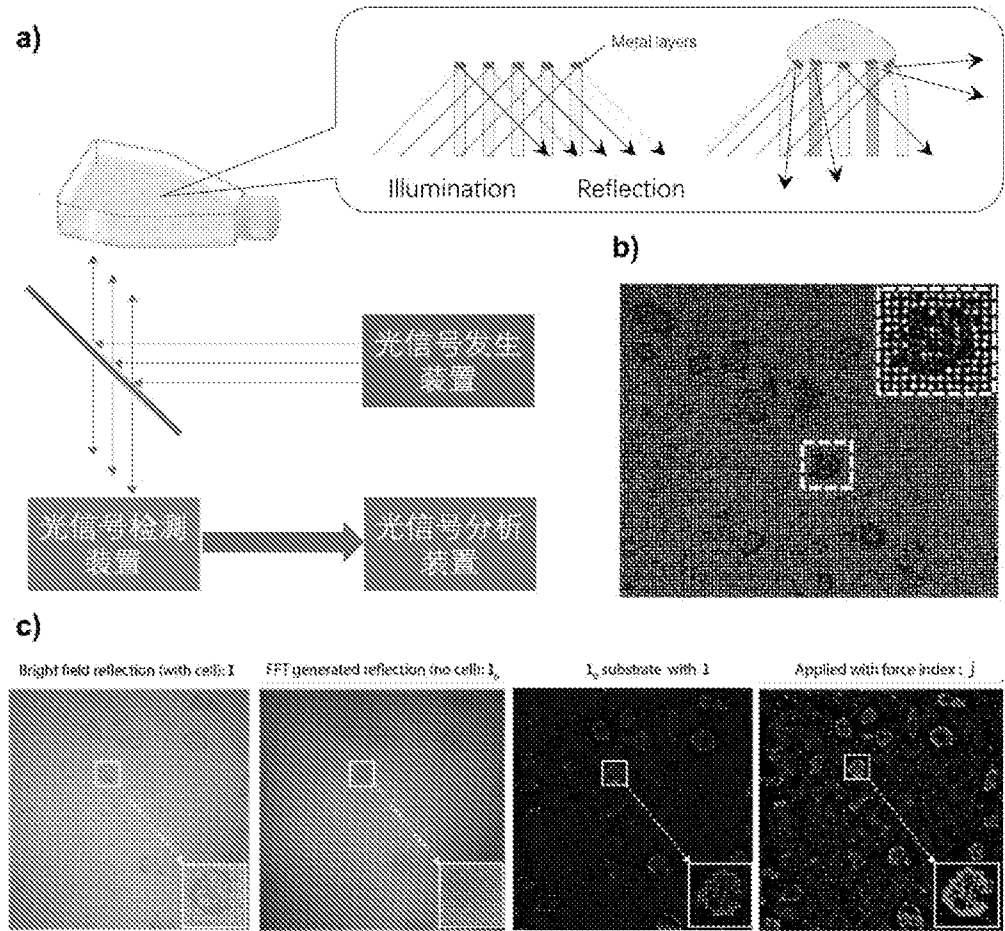


图 12

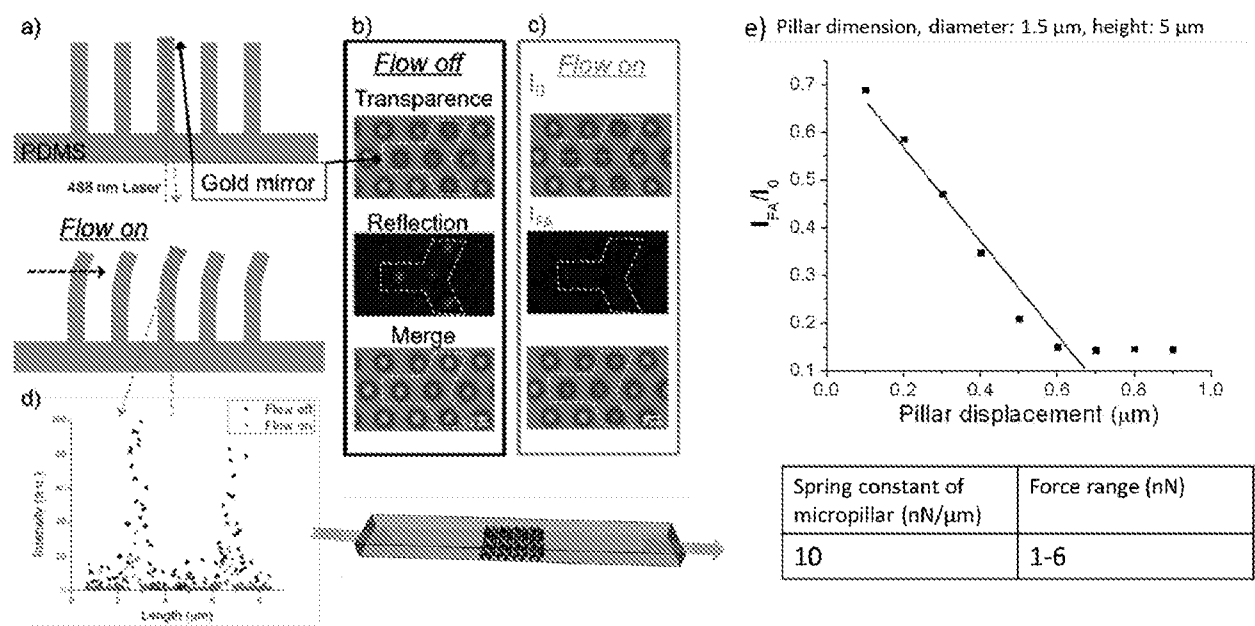


图 13

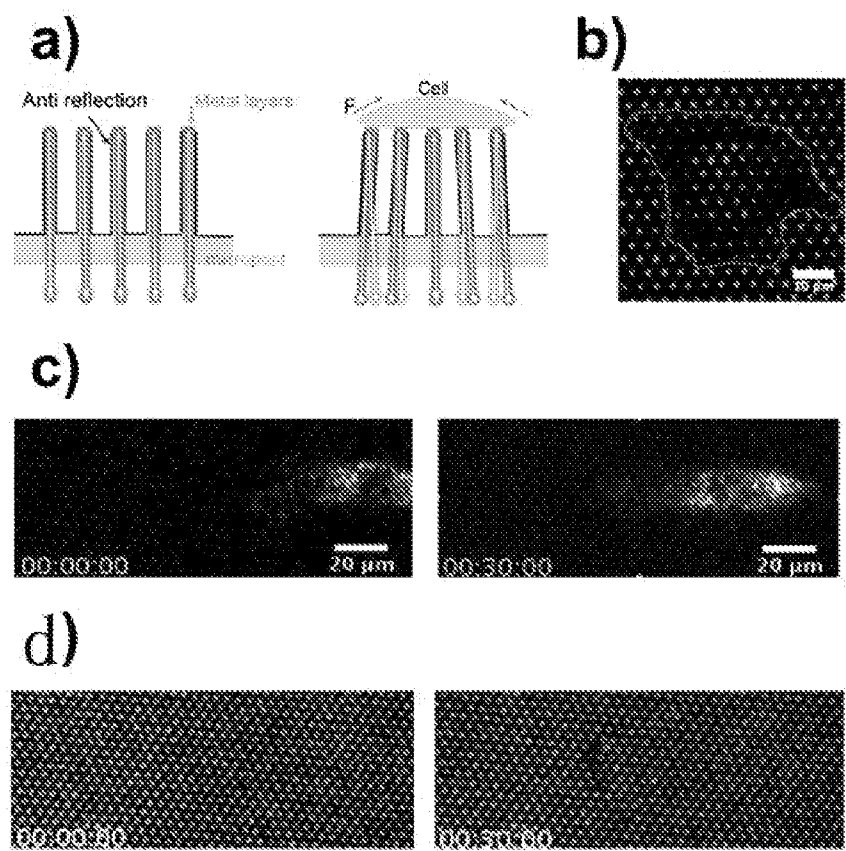


图 14

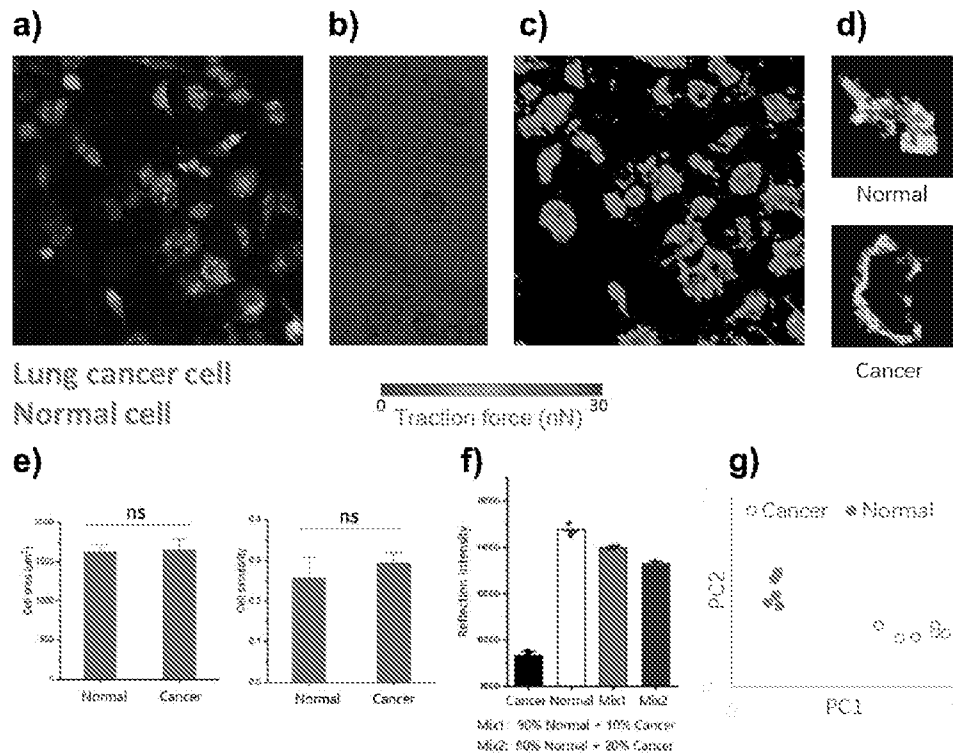


图 15

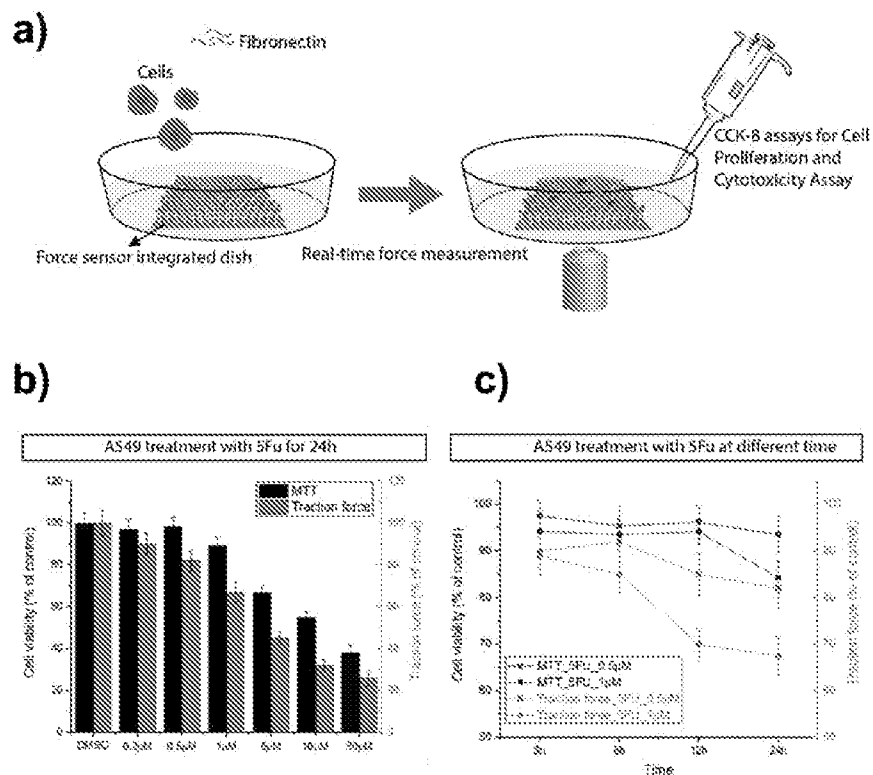


图 16

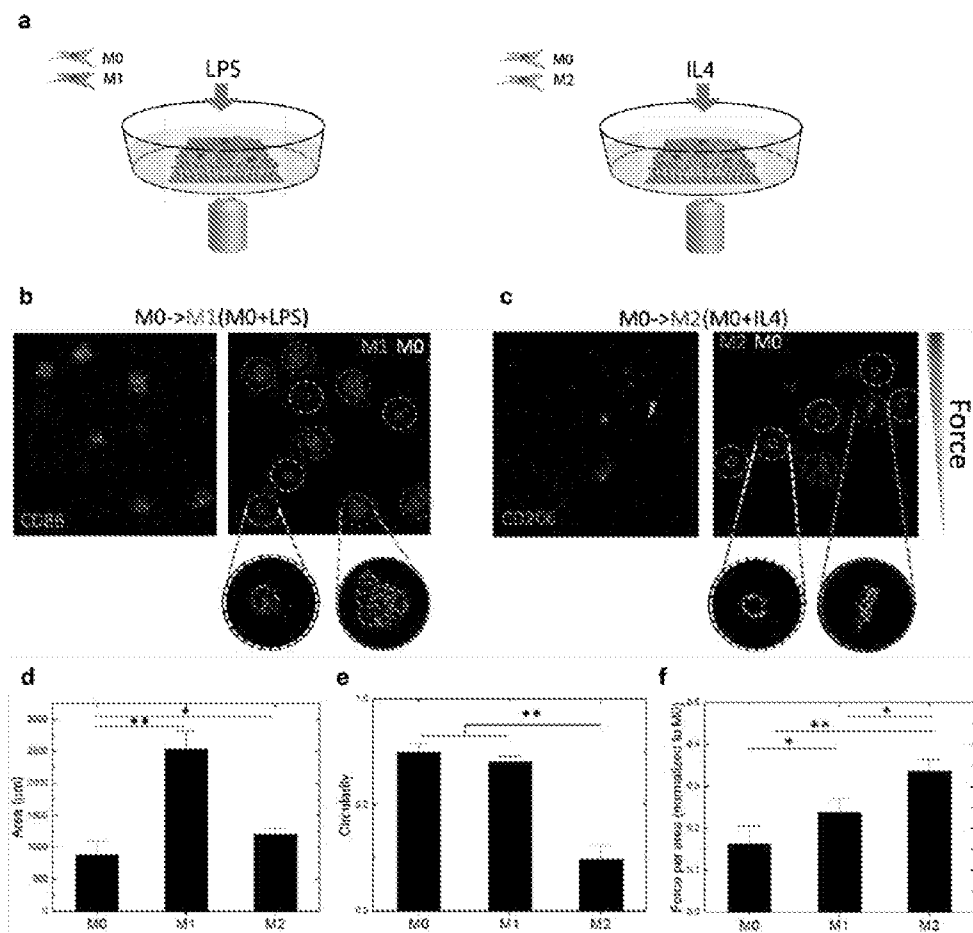


图 17

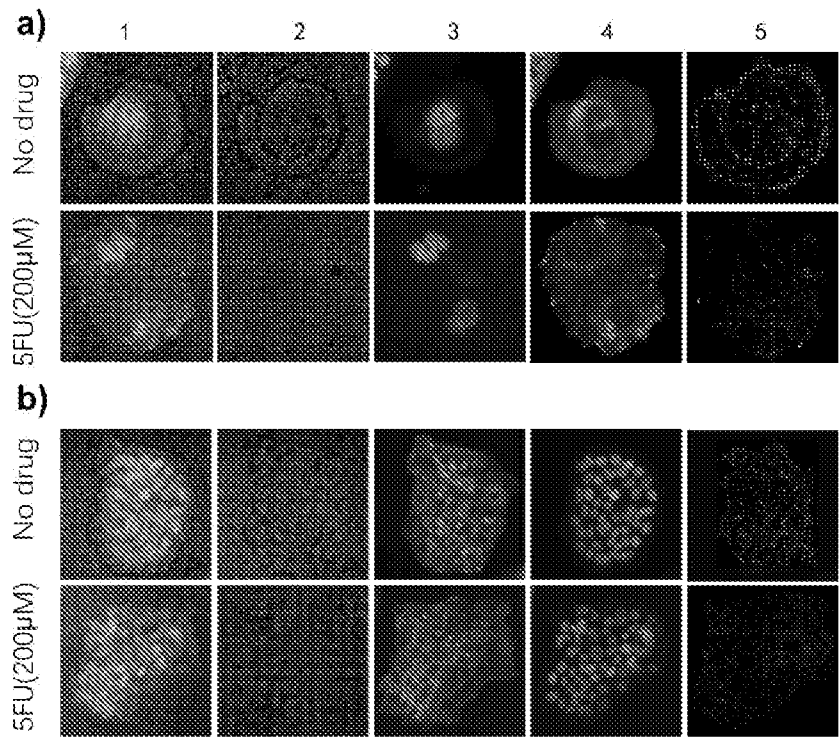


图 18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/121338

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/483(2006.01)i; G01N 21/55(2014.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTXT; ENTXT; VEN; DWPI; ENTXT: 细胞, 力, 机械力, 牵引力, 微, 柱, 反射, 弯, 曲, 形变, 变形, cell, force?, mechanical, traction, physical, micropillar?, reflect+, curv+, deform+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2015300953 A1 (THE UNIVERSITY OF NORTH CAROLINA AT CHAPEL HILL) 22 October 2015 (2015-10-22) description, paragraphs 15-63, and figure 1	1-21
Y	US 2018372635 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 27 December 2018 (2018-12-27) description, paragraphs 31-99, and figure 1	1-21
Y	US 2020116696 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 16 April 2020 (2020-04-16) description, paragraphs 11-117, and figure 3	1-21
Y	CN 109827928 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 31 May 2019 (2019-05-31) description, paragraphs 9-23	1-21
Y	CN 111812095 A (SUZHOU MEDICAL EQUIPMENT RESEARCH INSTITUTE OF SOUTHEAST UNIVERSITY) 23 October 2020 (2020-10-23) description, paragraphs 18-31	1-21
Y	CN 106338500 A (BEIJING INSTITUTE OF NANOENERGY AND NANOSYSTEMS) 18 January 2017 (2017-01-18) description, paragraphs 20-33, and figures 1-2	1-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 November 2022

Date of mailing of the international search report

16 December 2022

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088, China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/121338

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2014024045 A1 (MANUEL, T. et al.) 23 January 2014 (2014-01-23) entire document	1-21
A	US 2010098941 A1 (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 22 April 2010 (2010-04-22) entire document	1-21
A	JP 2008055556 A (NATIONAL INSTITUTE FOR MATERIALS SCIENCE et al.) 13 March 2008 (2008-03-13) entire document	1-21
A	US 2015093823 A1 (HARVARD COLLEGE) 02 April 2015 (2015-04-02) entire document	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/121338

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2015300953	A1	22 October 2015	WO	2014085804	A1	05 June 2014
				EP	2926115	A1	07 October 2015
				US	9952149	B2	24 April 2018
				EP	2926115	B1	26 May 2021
US	2018372635	A1	27 December 2018	WO	2017015063	A1	26 January 2017
				US	10712271	B2	14 July 2020
US	2020116696	A1	16 April 2020	WO	2019010234	A1	10 January 2019
CN	109827928	A	31 May 2019	WO	2020155716	A1	06 August 2020
				WO	2020155324	A1	06 August 2020
				CN	109827928	B	11 October 2019
CN	111812095	A	23 October 2020	CN	111812095	B	25 December 2020
				WO	2022052361	A1	17 March 2022
CN	106338500	A	18 January 2017	WO	2017008699	A1	19 January 2017
				CN	106338500	B	01 November 2019
US	2014024045	A1	23 January 2014	ES	2538985	T3	25 June 2015
				WO	2012107383	A1	16 August 2012
				EP	2485050	A1	08 August 2012
				EP	2485050	B1	01 April 2015
				US	9250241	B2	02 February 2016
US	2010098941	A1	22 April 2010	KR	20100042436	A	26 April 2010
				EP	2177558	A1	21 April 2010
				KR	101027012	B1	11 April 2011
				KR	1EP2177558	B1	28 September 2016
JP	2008055556	A	13 March 2008	JP	5190571	B2	24 April 2013
US	2015093823	A1	02 April 2015	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/121338

A. 主题的分类

G01N 33/483(2006.01)i; G01N 21/55(2014.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

G01N

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNTXT;ENTXTC;VEN;DWPI;ENTXT: 细胞, 力, 机械力, 牵引力, 微, 柱, 反射, 弯, 曲, 形变, 变形, cell, force?, mechanical, traction, physical, micropillar?, reflect+, curv+, deform+

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	US 2015300953 A1 (UNIV NORTH CAROLINA) 2015年10月22日 (2015 - 10 - 22) 说明书第15-63段, 图1	1-21
Y	US 2018372635 A1 (UNIV CALIFORNIA) 2018年12月27日 (2018 - 12 - 27) 说明书第31-99段, 图1	1-21
Y	US 2020116696 A1 (UNIV CALIFORNIA) 2020年4月16日 (2020 - 04 - 16) 说明书第11-117段, 图3	1-21
Y	CN 109827928 A (东南大学) 2019年5月31日 (2019 - 05 - 31) 说明书第9-23段	1-21
Y	CN 111812095 A (东南大学苏州医疗器械研究院) 2020年10月23日 (2020 - 10 - 23) 说明书第18-31段	1-21
Y	CN 106338500 A (北京纳米能源与系统研究所) 2017年1月18日 (2017 - 01 - 18) 说明书第20-33段, 图1-2	1-21
A	US 2014024045 A1 (THERY MANUEL等) 2014年1月23日 (2014 - 01 - 23) 全文	1-21
A	US 2010098941 A1 (KOREA INST SCI & TECH) 2010年4月22日 (2010 - 04 - 22) 全文	1-21

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2022年11月19日

国际检索报告邮寄日期

2022年12月16日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

林梦娜

电话号码 (86-27)59371246

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	JP 2008055556 A (NAT INST FOR MATERIALS SCIENCE等) 2008年3月13日 (2008 - 03 - 13) 全文	1-21
A	US 2015093823 A1 (HARVARD COLLEGE) 2015年4月2日 (2015 - 04 - 02) 全文	1-21

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/121338

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	2015300953	A1	2015年10月22日	WO	2014085804	A1	2014年6月5日
				EP	2926115	A1	2015年10月7日
				US	9952149	B2	2018年4月24日
				EP	2926115	B1	2021年5月26日
US	2018372635	A1	2018年12月27日	WO	2017015063	A1	2017年1月26日
				US	10712271	B2	2020年7月14日
US	2020116696	A1	2020年4月16日	WO	2019010234	A1	2019年1月10日
CN	109827928	A	2019年5月31日	WO	2020155716	A1	2020年8月6日
				WO	2020155324	A1	2020年8月6日
				CN	109827928	B	2019年10月11日
CN	111812095	A	2020年10月23日	CN	111812095	B	2020年12月25日
				WO	2022052361	A1	2022年3月17日
CN	106338500	A	2017年1月18日	WO	2017008699	A1	2017年1月19日
				CN	106338500	B	2019年11月1日
US	2014024045	A1	2014年1月23日	ES	2538985	T3	2015年6月25日
				WO	2012107383	A1	2012年8月16日
				EP	2485050	A1	2012年8月8日
				EP	2485050	B1	2015年4月1日
				US	9250241	B2	2016年2月2日
US	2010098941	A1	2010年4月22日	KR	20100042436	A	2010年4月26日
				EP	2177558	A1	2010年4月21日
				KR	101027012	B1	2011年4月11日
				KR	1EP2177558	B1	2016年9月28日
JP	2008055556	A	2008年3月13日	JP	5190571	B2	2013年4月24日
US	2015093823	A1	2015年4月2日	无			