

高速自动化细胞机械特性测量系统

王智博^{1,2} 刘连庆² 王越超² 席宁^{2,3} 董再励² 黄树涛¹

摘要 细胞机械特性作为一种无标签 (Label-free) 的生物标记, 正得到越来越多的关注. 然而现有进行细胞机械特性测量的方法多以手工模式进行, 耗时长、效率低下, 无法满足生物学统计分析对大批量样品测试的要求. 针对该问题, 本文在原子力显微镜 (Atomic force microscopy, AFM) 基础上, 建立了一套高速自动化的细胞机械特性测量系统. 该系统利用图像处理方法来识别细胞, 利用局部扫描来实现 AFM 针尖和细胞相对位置的精确标定, 进而不需要 AFM 成像就能实现细胞机械特性的连续测定, 配合上程序化控制的运动载物平台, 可以高速自动化完成大范围区域内细胞机械特性的批量规模化测量. 实验结果表明, 该系统可以使得细胞机械特性的测量效率提高 27 倍, 从而为 Label-free 生物标记的批量化测试提供了技术支撑.

关键词 自动化, 细胞机械特性, 原子力显微镜, 局部扫描

引用格式 王智博, 刘连庆, 王越超, 席宁, 董再励, 黄树涛. 高速自动化细胞机械特性测量系统. 自动化学报, 2012, 38(10): 1639–1645

DOI 10.3724/SP.J.1004.2012.01639

A High-speed Automatic System for Measuring the Mechanical Properties of Cells

WANG Zhi-Bo^{1,2} LIU Lian-Qing² WANG Yue-Chao² XI Ning^{2,3} DONG Zai-Li² HUANG Shu-Tao¹

Abstract As a novel effective label-free biomarker, the mechanical properties of cells have become increasingly important. However, the current methods of mapping the cellular mechanical properties are mostly carried out manually and this results in that the measurements are time consuming, which can not meet the demand of testing a large quantity of cell samples for biological statistical analysis. In this paper, a high-speed automatic system for measuring the mechanical properties of cells based on atomic force microscopy (AFM) is proposed. In this system, cells are recognized using an image processing method and the relative position of the cell with respect to AFM tip is accurately calibrated by the local scan method, i. e., the mechanical properties of cells can be measured sequentially without performing the step of AFM imaging. Besides, with the automation implementation, the high-throughput measurement of cellular mechanical properties can be performed rapidly. Experimental results show that the measurement efficiency of our system is 27 times faster than that of the traditional method.

Key words Automation, mechanical properties of cells, atomic force microscopy (AFM), local scan

Citation Wang Zhi-Bo, Liu Lian-Qing, Wang Yue-Chao, Xi Ning, Dong Zai-Li, Huang Shu-Tao. A high-speed automatic system of measuring the mechanical properties of cells. *Acta Automatica Sinica*, 2012, 38(10): 1639–1645

为活体细胞寻找无标签 (Label-free) 的生物标记, 是生命科学发展中越来越为关注的研究方向. 这些生物标记不仅可以在新药研发中作为药物生物效

力的衡量指标, 甚至可以作为某些重大疾病早期检测的诊断标准. 细胞机械特性就是这样一种 Label-free 的生物标记, 作为细胞的固有属性, 它与细胞功能状态有着更深层次的联系, 在细胞关键活动 (迁移、分裂、形变等) 中起着重要作用^[1]. 举例来讲, 2007 年, 加州大学洛杉矶分校的科学家率先报道了细胞硬度可以作为癌细胞的生物标记, 他们发现转移性癌细胞与正常细胞相比其硬度要小 70%^[2], 后来, 新加坡国立大学的科学家又分别测定了人类正常乳腺上皮细胞 (MCF-10A) 和乳腺癌上皮细胞 (MCF-7) 的弹性, 发现在生理温度 37°C 下乳腺癌细胞 (MCF-7) 的杨氏模量比正常细胞明显低了 1.4 倍~1.8 倍^[3]. 此外, 研究人员还发现具有生物学效能的药物能够使细胞的机械特性发生显著改变^[4-5], 因此细胞的机械特性有望成为一种新的生物标记, 在重大疾病的早期诊断和新药研发中发挥着重要作用^[6].

收稿日期 2011-11-03 录用日期 2012-05-10
Manuscript received November 3, 2011; accepted May 10, 2012
国家自然科学基金 (60904095, 61175103), 中国科学院、国家外国专家局创新团队国际合作伙伴计划资助

Supported by National Natural Science Foundation of China (60904095, 61175103), Chinese Academy of Sciences State Foreign Expert Bureau International Partnership Program for Creative Research Teams

本文责任编辑 姚力

Recommended by Associate Editor YAO Li

1. 沈阳理工大学机械工程学院 沈阳 110159, 中国 2. 中国科学院沈阳自动化研究所机器人国家重点实验室 沈阳 110016, 中国 3. 美国密西根州立大学电气与计算机工程学院 东兰辛 48824, 美国

1. School of Mechanical Engineering, Shenyang Ligong University, Shenyang 110159, P. R. China 2. State Key Laboratory of Robotics, Shenyang Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, P. R. China 3. Department of Electrical and Computer Engineering, Michigan State University, East Lansing 48824, USA

目前能够进行细胞机械特性测量的方法包括:光镊、磁镊、生物膜力显微镜以及原子力显微镜 (Atomic force microscopy, AFM) 等^[7]. 但是无论哪种方法, 都是依靠手工操作的模式进行, 存在测定效率低、花费时间长等缺点, 不能满足生物学研究对批量样品进行规模化测试的要求, 阻碍着细胞机械特性作为生物标记研究的进程. 因此, 发展一种高速、自动化的细胞机械特性测量方法, 对发展 Label-free 的生物标记, 以及未来潜在的疾病诊断和 新药研发具有重要的意义.

在各种测量方法中, 由于 AFM 具有力学灵敏度高、细胞损伤小、环境适应性强等优点, 而成为目前细胞机械特性研究的首选工具. 近年来关于不同领域的科学家利用 AFM 进行细胞机械特性测量的报道层出不穷^[1-5, 8-14], 其测量程序基本上完全相似, 可以归结为: 扫描成像-手工测量-手工移动-扫描成像, 即首先对细胞样品进行扫描成像找到细胞的中心位置, 然后, 以手工的方式进行力-距离曲线的测量, 进而计算出细胞的机械特性, 然后, 将样品手工移到另外一个区域, 再次进行成像和测量, 周而复始, 进而完成细胞机械特性的批量测定. 由于整个过程依靠手工没有实现自动化, 再加上 AFM 成像速度极其缓慢往往需要几分钟的时间, 这种扫描-测量-移动-扫描的方法非常耗时、效率低下, 难以满足大批量细胞机械特性的测量需求, 因而迫切需要自动化方法的引入来提升检测效率. 针对该问题, 本文在 AFM 的基础上建立了一套高速自动化的细胞机械特性测量系统. 在测量过程中, 该系统不需要进行 AFM 成像, 而是利用图像处理方法来识别细胞并标定出细胞间的相对位置, 通过局部扫描^[15] 来实现 AFM 针尖坐标系和细胞坐标系的位置标定, 进而利用图像信息来导引 AFM 探针的运动, 实现细胞机械特性的序列化测定. 当该区域内的细胞测量完毕后, 程序控制载物平台自动将样品移动到新的测量区域, 通过这种全自动化的循环进而实现大范围区域内细胞机械特性的批量测定. 实验结果表明, 该系统可以使得测量效率提高 20 余倍, 从而为生物学研究迫切需要的细胞机械特性批量化测试提供了技术支撑.

1 高速自动化细胞机械特性测量系统工作流程

系统的整体工作流程如图 1 所示, 它具体包括: 1) 细胞识别及相对位置标定: 即对光学显微镜得到的图片进行分析处理, 识别细胞并得到各个细胞与探针悬臂梁的相对位置关系. 2) 针尖真实位置确定与测量点选择: 由于针尖极其纤细并处于悬臂梁的下方, 因此, 光学图像并不能得到探针针尖与细胞的

真实位置关系, 还需要利用局部扫描方法来精确确定出针尖与细胞的相对位置关系; 为了克服基底效应对细胞机械特性测量的影响, 细胞机械特性的测量点通常选择在细胞的中心位置^[14], 此步骤还将通过图像处理的方法确定细胞的中心位置. 3) 细胞机械特性测量: 当完成针尖与细胞相对位置的标定, 并确定完细胞机械特性测量点后, 利用力-距离曲线方法实现细胞机械特性的测量, 力-距离曲线获取方法与手工模式相同, 详细描述参看文献 [12]. 4) 判断工作空间内所有细胞机械特性是否测试完成: 如果没有则以图像信息为导引, 由一个细胞中心移动到下一个细胞中心, 完成细胞机械特性测量, 循环往复直至完成工作空间内所有细胞机械特性的测量. 5) 控制平台移动到新的被测区域: 对重新获得的光学图像进行处理, 重复以上步骤, 完成新一轮的细胞机械特性测量, 直至大区域范围内的细胞机械特性测量完成.

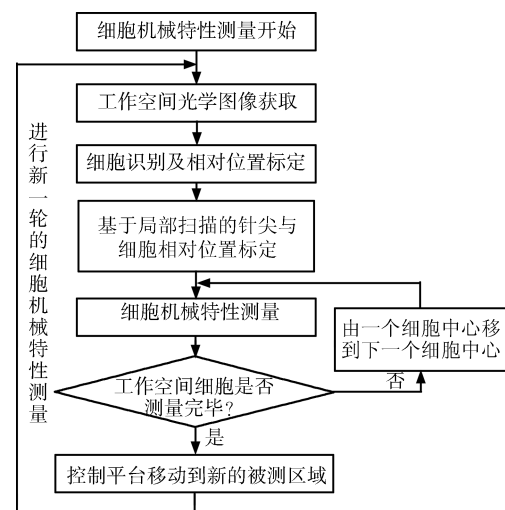


图 1 自动化细胞机械特性测量系统流程图

Fig. 1 Flowchart of measuring the mechanical properties of cells for the automated system

按照上述流程, 所设计出的高速自动化细胞机械特性测量系统框架如图 2 所示. 其中, 细胞相对位置标定可以依靠基于标准栅格的图像处理方法进行, 即将已知大小的标准栅格放在 AFM 光学显微镜下观察, 标定出每个光学图像像素所代表的实际二维空间距离. 在实际测量过程中, 对 AFM 光学显微镜得到的细胞图像进行处理并标定出各个细胞与探针悬臂梁之间的位置关系. 由于已经标定出每个像素所代表的实际空间距离, 因此, 通过光学图像就可以确定各个细胞与探针悬臂梁之间的实际位置.

2 细胞识别与细胞相对位置的标定

为了克服基底效应对细胞机械特性测量的影响,

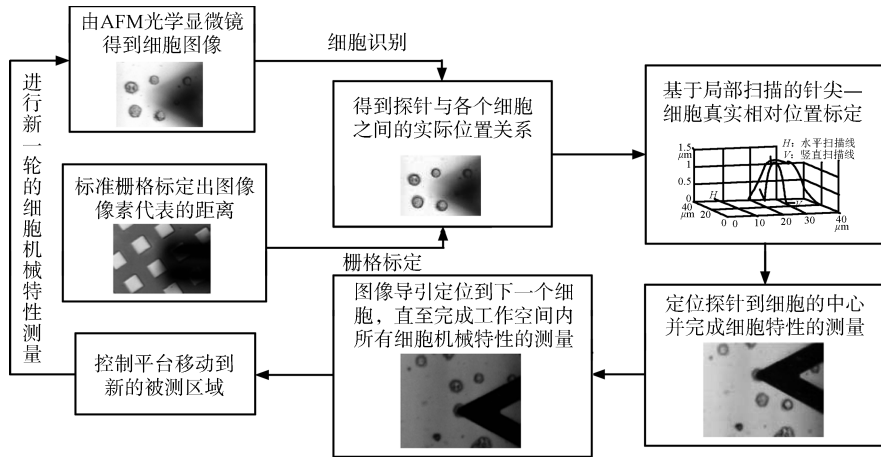


图 2 高速自动化细胞机械特性测量系统框架

Fig. 2 Framework for the high-speed automatic system of measuring the mechanical properties of cells

测量位点通常选择在细胞的中心附近, 因而实现细胞机械特性自动化快速测量的前提就要求具备将探针针尖从一个细胞中心快速定位到另一个细胞中心的能力, 为了便于程序化的控制, 这就要求对各个细胞与探针之间的相对位置进行精确标定. 本节将给出细胞的图像识别以及相对位置标定的方法.

获得工作空间内的一幅细胞图像后, 利用 Canny 算子边缘检测方法对其进行边缘检测, 得到细胞边缘的二值图像. 由于实验所用细胞 (如图 3(a) 所示) 形状比较规则, 故采用在细胞边缘图像中实施霍夫变换^[16] 检测圆形的方式以实现细胞识别, 同时获得各个待测细胞的中心坐标以及半径信息. 如图 3(b) 所示, 图中的圆表示识别出来的细胞边缘, 而各个细胞中心的坐标是以图像中心为原点确定的. 利用得到的各个细胞的中心坐标以及半径信息, 计算出各个细胞与探针悬臂梁在光学图像中的相对位置关系. 但是这并不能表示各个细胞与探针悬臂梁之间的实际位置关系, 因此, 需要依靠基于标准栅格的图像处理方法确定出在特定放大倍数下由 AFM 光学显微镜得到的光学图像中的实际距离.

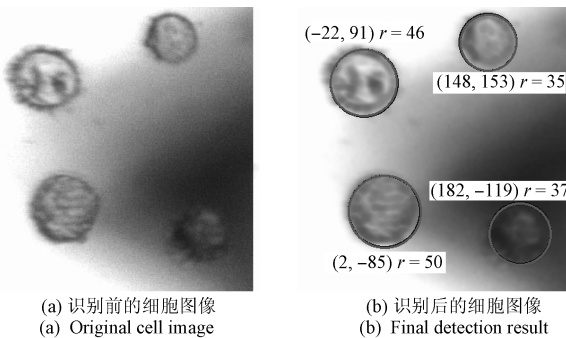


图 3 细胞识别与细胞相对位置标定结果

Fig. 3 The results of cell recognition and position calibration between cells

选用大小为 $m \times n$ (μm) 的标准方形栅格放在 AFM 光学显微镜下进行观察, 获得放大倍数为 p 时的栅格图片 (如图 4 所示). 对栅格图片进行边缘识别后, 通过轮廓提取方法计算出一个栅格轮廓占去的像素点个数 L , 则:

$$L = L_1 + L_2 + L_3 + L_4 \quad (1)$$

那么在放大倍数为 p 时, 每个像素点所对应的实际距离 D_p 为

$$D_p = 2 \times \frac{m+n}{L} \quad (2)$$

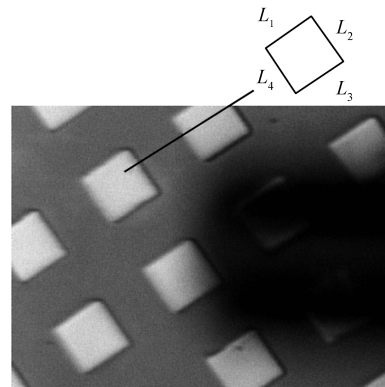


图 4 AFM 光学显微镜捕获的栅格图片 (L_1, L_2, L_3, L_4 分别表示栅格的一个边所占像素点个数)

Fig. 4 Lattice image captured by optical microscope mounted on AFM (L_1, L_2, L_3, L_4 represent the number of pixels of each edge of the standard lattice.)

与此同时, 可以计算得到在任意放大倍数 q 下每个像素点对应的实际距离 D_q 为

$$D_q = \frac{2 \times (m+n) \times p}{\frac{q}{L}} \quad (3)$$

这样由于已知在特定放大倍数下图像中每个像素所代表的实际空间距离, 就可以计算出各个细胞与探针悬臂梁的实际位置关系, 从而实现各个细胞与探针悬臂梁相对位置的精确标定.

3 针尖位置确定与测量点选择

利用 AFM 在细胞的边缘进行细胞机械特性测量很容易受到基底效应的影响, 所以必须在细胞的中心区域完成细胞机械特性的测量. 尽管通过前述图像处理方法实现了各个细胞中心与探针悬臂梁相对位置的标定, 但是由于探针针尖位于探针下方, 真实位置无法观测, 所以仅仅依靠光学图像处理的方法并不能实现探针针尖与细胞相对位置的精确标定. 实验室发展的局部扫描技术能够很好地解决该问题, 并精确确定出针尖与细胞的相对位置关系, 进而最终将探针针尖定位到细胞的中心完成细胞机械特性的测量.

由于通过对光学图像进行处理可以得到探针悬臂梁与细胞的相对位置关系, 因而可以首先利用图像导引的方法, 将探针移动到细胞的左侧, 随后利用局部扫描方法来具体确定探针针尖与细胞的精确相对位置. 局部扫描的原理如图 5 所示, 当悬臂移动到细胞的左侧后, 开始向右进行水平扫描, 可以得到水平扫描线 H 与细胞边缘的两个交点 P 和 Q , 这时竖直扫描线 V 就可以确定了. 这条通过 P 和 Q 的中点 O_1 自上而下的竖直扫描线 V 与细胞边缘也有两个交点 M 和 N , 其中, M 和 N 的中点 O 就是细胞的中心, 而此时探针针尖所在位置即为竖直扫描线的底端 T 点. 通过这种方法可实现探针针尖与各个待测细胞中心的精确定位.

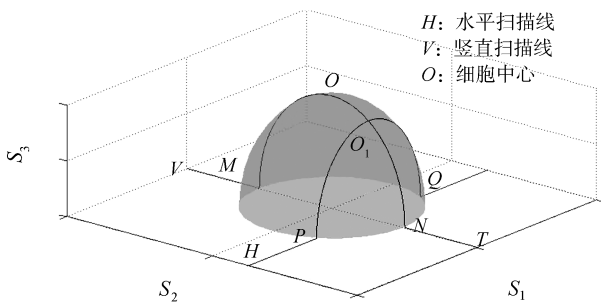


图 5 局部扫描示意图

Fig. 5 Schematic diagram of the mechanism of local scan

同时考虑到对于不同型号的 AFM, 探针坐标系可能会不同于样品坐标系, 所以为了实现探针对工作空间内待测细胞的精确定位, 还需实现探针坐标系与样品坐标系的标定. 其中, 探针坐标系 $[T_1, T_2, T_3]^T$ 与样品坐标系 $[S_1, S_2, S_3]^T$ 的关系如图

6 所示, 探针坐标系可以看作是由样品坐标系逆时针旋转角 φ 得来的. 设样品坐标系内任一待测细胞中心 K 坐标为 (S_1, S_2, S_3) , 则其在探针坐标系中的坐标 (T_1, T_2, T_3) 可由式 (4) 确定.

$$\begin{bmatrix} T_1 \\ T_2 \\ T_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \varphi & \sin \varphi & 0 \\ -\sin \varphi & \cos \varphi & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} \quad (4)$$

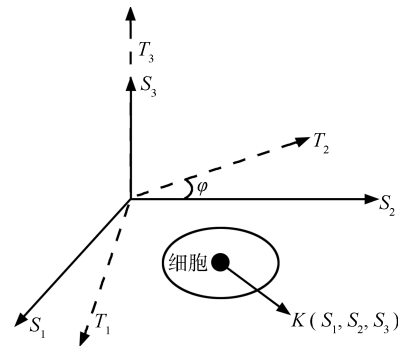


图 6 探针坐标系与样品坐标系的关系示意图

Fig. 6 Schematic diagram of the relation between the tip coordinate and the sample coordinate

为进一步提高细胞机械特性的测量效率, 在控制探针依次定位到各个待测细胞中心时, 对探针的行走路径进行了规划. 由于探针初始位置位于图像的中心, 在对工作空间内的多个细胞完成机械特性的测量后, 最终回到图像的中心, 所以探针的路径规划可以看成是一个旅行商问题 (Traveling salesman problem, TSP). 考虑到工作空间内细胞的平均个数以及现存的各种解决 TSP 的算法所用时间, 我们采用贪心算法找出每个小的局部最优路径, 最终将这些局部最优路径合起来形成整体上的一个近似最优路径, 以此来指导探针的运动.

4 实验结果与分析

实验所用 AFM 系统为美国 Veeco 公司生产的 Dimension 3100, 最大移动范围为 $90 \mu\text{m} \times 90 \mu\text{m}$, Z 向伸缩范围为 $7 \mu\text{m}$. 为了实现全自动化的细胞机械特性测量, 除利用 AFM 系统提供的接口自行开发了自动化测试程序 (包括: 平台的运动控制、光学图像的获取、力曲线的测试等) 外, 还加入了局部扫描控制模块 (一台装有 NI 公司多功能数据采集卡 PCI-6036E 的实时 Linux 计算机^[17]), 该模块通过硬件直接实现对 AFM 压电陶瓷管的控制, 避免了软件指令传输对执行速度的影响, 极大提升了局部扫描的执行速度. 所组建的自动化细胞机械特性测量系统框图如图 7 所示, 软件模块完成细胞显微图像获取、细胞识别、相对位置标定等功能; 局部扫

描控制模块直接将 AFM 探针的运动控制命令通过 6036E 转化为模拟信号, 通过控制器直接输出到压电陶瓷管上, 实现 AFM 探针的高速运动控制, 进而完成细胞机械特性的测量. 在完成工作空间内所有细胞机械特性的测量后, 由自动化程序发送命令给 AFM 控制器控制运动载物平台移动到新的被测区域, 接着进行新一轮的细胞机械特性测量, 循环往复直至完成整个区域内的细胞机械特性测量.

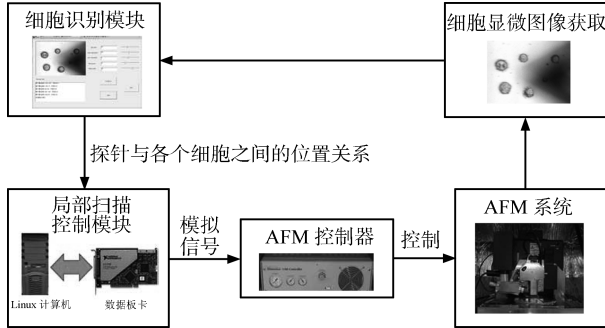
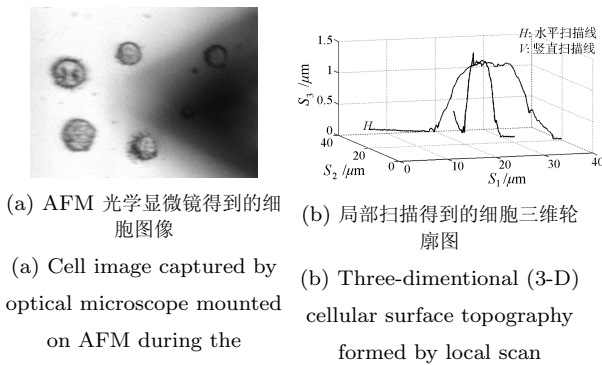


图 7 高速自动化细胞机械特性测量系统框图

Fig. 7 Block diagram of the high-speed automatic system of measuring the mechanical properties of cells

实验过程中, 所用细胞样品为在载玻片上固定的淋巴瘤 Raji 细胞 (如图 8(a) 所示), 采用的标准栅格大小为 $20\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$, AFM 系统样品坐标系与探针坐标系偏转角 $\varphi = 0^\circ$. 由 AFM 光学显微镜获取细胞图片并计算出各个待测细胞与探针悬臂梁的实际位置关系后, 对待测细胞进行局部扫描以实现探针针尖与待测细胞相对位置的精确标定, 图 8(b) 所示即为局部扫描获得的细胞轮廓图, 其中, H 为水平扫描线, V 为竖直扫描线, 按照第 3 节介绍的方法可方便地确定出针尖的真实位置.



(a) AFM 光学显微镜得到的细胞图像
(a) Cell image captured by optical microscope mounted on AFM during the measurement
(b) 局部扫描得到的细胞三维轮廓图
(b) Three-dimensional (3-D) cellular surface topography formed by local scan

图 8 细胞机械特性测量实验结果

Fig. 8 The results of cellular mechanical property measurement

为了验证本文所提出自动化方法的高效性, 我们随后采用传统的方法对同一种类同批次的细胞样

品进行了细胞机械特性的测量, 并将测量所需时间进行了对比. 为方便比较, 两种测量方法的时间参数定义如表 1 所示.

表 1 进行细胞机械特性测量时间计算所用到的主要时间参数定义

Table 1 Definition of important time parameters used for calculating the time taken for measuring the mechanical properties of cells

参数名	意义
$t_{\text{MoveStage}}$	移动平台所需时间
t_{Engage}	下针所需时间
t_{Scan}	实现探针针尖与各个细胞中心的相对位置标定所需时间
t_{MoveTip}	移动探针由一个细胞中心到下一个细胞中心所需时间
t_{Measure}	进行一次细胞机械特性测量所需时间
T	完成工作空间内所有细胞机械特性测量所需时间

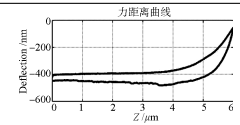
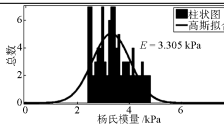
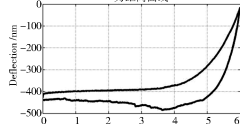
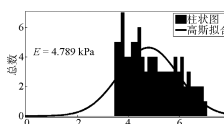
采用传统的方法进行细胞机械特性测量时, 需要对细胞样品进行大范围扫描成像以获取多个细胞的中心位置, 实验中扫描范围设为 $90\ \mu\text{m} \times 90\ \mu\text{m}$, 扫描频率设为 $0.5\ \text{Hz}$, 扫描线设为 256 条, 每条扫描线上取 256 个采样点. 实验所用细胞样品 $90\ \mu\text{m} \times 90\ \mu\text{m}$ 范围内平均有 6 个细胞, 所以将采用传统的方法测量工作空间内的所有细胞的机械特性所用时间记为 T_o , 则 $T_o = t_{\text{MoveStage}} + t_{\text{Engage}} + t_{\text{Scan}} + t_{\text{MoveTip}} \times 6 + t_{\text{Measure}} \times 6 = 564\ \text{s}$.

而采用本文提出的自动化方法, 由于利用图像处理和局部扫描相结合的方法来实现 AFM 针尖和细胞相对位置的精确标定, 进而不需要 AFM 成像就能实现细胞机械特性的连续测定, 所以测量时间得到大幅缩短, 所需时间 $T_n = t_{\text{MoveStage}} + t_{\text{Scan}} + t_{\text{MoveTip}} \times 6 + t_{\text{Measure}} \times 6 = 20\ \text{s}$.

表 2 同时给出了同一批次细胞手工方式和自动化方式的测试结果, 分别为 $(3.305 \pm 0.9)\ \text{kPa}$ 和 $(4.789 \pm 1.3)\ \text{kPa}$, 尽管上述结果略有差异, 但是考虑到被测细胞不可能完全一致, 同一批次细胞在机械特性上存在微小差异是合理的. 需要指出的是, 细胞机械特性测量的准确与否取决于力曲线的获取方式, 本文所提出的自动化系统, 并没有从本质上改变力曲线的获取方式, 唯一不同的是将力曲线的获取由手动改成了自动, 提高了获取速率, 因此, 在原理方法上与手工模式并无本质区别. 表 2 的数据同时显示出, 本文提出的自动化测试方法与现有手工方式相比, 使得测试效率得到了 20 余倍的提高, 这充分证明了所建立系统的先进性和有效性.

表2 两种方法进行细胞机械特性测量的效率对比

Table 2 Performace comparison of the automated method and the traditional method

所用方法	$t_{\text{MoveStage}}$ (s)	t_{Engage} (s)	t_{Scan} (s)	t_{MoveTip} (s)	t_{Measure} (s)	T (s)	力距离曲线	细胞机械特性
传统的方法	4	30	512	1	2	564		
论文中方法	1	0	1	1	2	20		

5 实验结果与分析

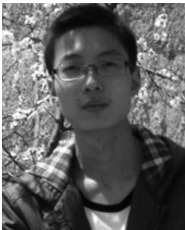
细胞机械特性作为一种 Label-free 的生物标记得到了越来越为广泛的关注,然而受现有测量方法效率的制约,批量化、规模化的测量一直未能实现,导致生物学意义上的统计分析难以进行. 本文在 AFM 的基础上,建立了一种高速自动化的细胞机械特性测量系统,通过图像处理以及局部扫描方法的结合,在不需要进行 AFM 图像扫描的情况下,能够实现探针与细胞的精确位置的标定,进而实现细胞机械特性的自动化、批量化快速测量,实验结果验证了该系统的先进性和高效性. 本文所建立的方法和系统不局限于细胞机械特性的测量,还可扩展到其他基于 AFM 应用领域,本研究所提出的图形化处理方法、探针针尖位置标定技术和自动化实现策略,对基于 AFM 的规模化纳米制造、纳米检测提供了可以借鉴的指导思路.

References

- Müller D J, Dufrêne Y F. Atomic force microscopy as a multifunctional molecular toolbox in nanobiotechnology. *Nature Nanotechnology*, 2008, **3**(5): 261–269
- Cross S E, Jin Y S, Rao J Y, Gimzewski J K. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients. *Nature Nanotechnology*, 2007, **2**(12): 780–783
- Li Q S, Lee G Y H, Ong C N, Lim C T. AFM indentation study of breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, **374**(4): 609–613
- Wu H W, Kuhn T, Moy V T. Mechanical properties of 1929 cells measured by atomic force microscopy: effects of anticytoskeletal drugs and membrane crosslinking. *Scanning*, 1998, **20**(5): 389–397
- Li M, Liu L Q, Xi N, Wang Y C, Dong Z L, Tabata O, Xao X B, Zhang W J. Imaging and measuring the rituximab-induced changes of mechanical properties in B-lymphoma cells using atomic force microscopy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, **404**(2): 689–694
- Lee G Y H, Lim C T. Biomechanics approaches to studying human diseases. *Trends in Biotechnology*, 2007, **25**(3): 111–118
- Neuman K C, Nagy A. Single-molecule force spectroscopy: optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy. *Nature Methods*, 2008, **5**(6): 491–505
- Lekka M, Laidler P, Gil D, Lekki J, Stachura Z, Hryniewicz A Z. Elasticity of normal and cancerous human bladder cells studied by scanning force microscopy. *European Biophysics Journal*, 1999, **28**(4): 312–316
- Yim E K F, Darling E M, Kulangara K, Guilak F, Leong K W. Nanotopography-induced changes in focal adhesions, cytoskeletal organization, and mechanical properties of human mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, 2010, **31**(6): 1299–1306
- Cai X F, Yang X X, Cai J Y, Wu S X, Chen Q. X. Atomic force microscope-related study membrane-associated cytotoxicity in human pterygium fibroblasts induced by mitomycin C. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2010, **114**(11): 3833–3839
- Katan A J, Dekker C. High-speed AFM reveals the dynamics of single biomolecules at the nanometer scale. *Cell*, 2011, **147**(5): 979–982
- Li Mi, Liu Lian Qing, Xi Ning, Wang Yue-Chao, Dong Zai-Li, Xiao Xiu-Bin, Zhang Wei-Jing. Imaging and measuring the mechanical properties of lymphoma cells using atomic force microscopy. *Chinese Science Bulletin*, 2010, **55**(22): 2188–2196
(李密, 刘连庆, 席宁, 王越超, 董再励, 肖秀斌, 张伟京. 基于 AFM 的淋巴瘤细胞成像及其机械特性测定. 科学通报, 2010, **55**(22): 2188–2196)
- Fernandes A N, Chen X Y, Scotchford C A, Walker J, Wells D M, Roberts C J, Everitt N M. Mechanical properties of

epidermal cells of whole living roots of *Arabidopsis thaliana*: an atomic force microscopy study. *Physical Review E*, 2012, **85**(2): id.021916

- 14 Saha R, Nix W D. Effects of the substrate on the determination of thin film mechanical properties by nanoindentation. *Acta Materialia*, 2002, **50**(1): 23–38
- 15 Chen H P, Xi N, Li G Y. CAD-guided automated nanoassembly using atomic force microscopy-based non-robotics. *IEEE Transactions on Automation Science and Engineering*, 2006, **3**(3): 208–217
- 16 Ioannou D, Huda W, Laine A F. Circle recognition through a 2D hough transform and radius histogramming. *Image Vision Computing*, 1997, **17**(1): 15–26
- 17 Liu L Q, Luo Y L, Xi N, Wang Y C, Zhang J B, Li G Y. Sensor referenced real-time videolization of atomic force microscopy for nanomanipulations. *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*, 2008, **13**(1): 76–85



王智博 沈阳理工大学硕士研究生。2010 年获得上海理工大学学士学位。主要研究方向为基于 AFM 的纳米操作技术与单细胞操作技术。

E-mail: zbwang@sia.cn

(**WANG Zhi-Bo** Master student at the Shenyang Ligong University. He received his bachelor degree from University of Shanghai for Science and Technology in 2010. His research interest covers AFM based nanomanipulation and cell manipulation technology.)

University of Shanghai for Science and Technology in 2010. His research interest covers AFM based nanomanipulation and cell manipulation technology.)



刘连庆 中国科学院沈阳自动化研究所机器人学国家重点实验室研究员。主要研究方向为纳米机器人学, 智能控制, 微纳生物传感技术。本文通信作者。

E-mail: lqliu@sia.cn

(**LIU Lian-Qing** Professor at the State Key Laboratory of Robotics, Shenyang Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences. His research interest covers nano

robotics, intelligent control, and micro-nano biological sensing technology. Corresponding author of this paper.)



王越超 中国科学院沈阳自动化研究所研究员。主要研究方向为机器人学。

E-mail: yewang@sia.cn

(**WANG Yue-Chao** Professor at Shenyang Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences. His main research interest is robotics.)



席宁 美国密西根州立大学电气与计算机工程系教授。主要研究方向为机器人控制, 网络遥操作, 微纳米操作。

E-mail: xin@egr.msu.edu

(**XI Ning** Professor in the Department of Electrical and Computer Engineering, Michigan State University, USA. His research interest covers robot

control, internet-based teleoperation, and micro-nano manipulation.)



董再励 中国科学院沈阳自动化研究所机器人学国家重点实验室研究员。主要研究方向为模式识别, 机器人系统, 微纳米作业系统与制造技术。

E-mail: dzl@sia.cn

(**DONG Zai-Li** Professor at the State Key Laboratory of Robotics, Shenyang Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences. His research interest covers pattern

recognition, robot system, micro-nano operation system, and manufacturing technology.)



黄树涛 沈阳理工大学机械工程学院教授。主要研究方向为超硬材料刀具技术, 高速切削加工技术, 装备设计及制造技术。E-mail: sythst@yahoo.com.cn

(**HUANG Shu-Tao** Professor at the College of Mechanical Engineering, Shenyang Ligong University. His research interest covers superhard cutting

tool, high-speed machining, equipment design, and manufacture technology.)